



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

IGNES REGINA DOS SANTOS

**Nova Geração de Derivados da Ftalimida: Planejamento, Síntese e
Avaliação Biológica**

Recife
2018

IGNES REGINA DOS SANTOS

**Nova Geração de Derivados da Ftalimida: Planejamento, Síntese e
Avaliação Biológica**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Planejamento e Síntese de Fármacos.

Orientadora: Prof^a Dra. Ana Cristina Lima Leite

Co-orientador: Prof^o Dr. Marcos Veríssimo de O. Cardoso

Recife

2018

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S237n Santos, Ignes Regina dos.

Nova Geração de Derivados da Ftalimida: Planejamento, Síntese e Avaliação Biológica /
Ignes Regina dos Santos. – 2018.

97 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Ana Cristina Lima Leite.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-
Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2018.

Inclui referências e apêndices.

1. Ftalimidas. 2. Tiossemicarbazonas. 3. Doença de Chagas. 4. Planejamento e Síntese
de Fármacos. I. Leite, Ana Cristina Lima (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2018-173)

IGNES REGINA DOS SANTOS

Nova Geração de derivados da Ftalimida: Planejamento, Síntese e Avaliação Biológica

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

Aprovada em: 28/02/2018

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Ana Cristina Lima Leite - UFPE
Assinatura

Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior - UEPB
Assinatura

Dra. Aline Caroline da Silva Santos - FIOCRUZ
Assinatura

Aos meus pais, cônjuge, familiares e amigos.

.

AGRADECIMENTOS

Sou grata a Deus, pelo dom da vida, e por me conceder a oportunidade de realizar meus objetivos.

A minha família, principalmente meus pais e cônjuge, por todo apoio e confiança depositados em mim.

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pela oportunidade de aprendizado e realização deste trabalho de pesquisa.

A minha orientadora Professora Dra. Ana Cristina, pelo auxílio e compreensão durante a execução das pesquisas.

Ao meu co-orientador Prof^o Dr. Marcos Veríssimo, pelo apoio inicial no LpQM.

A todos os meus colegas do LpQM presentes no decorrer da minha estadia no laboratório, em especial a Míria, Arsênio, Juliana, Luiz Alberto, Fabiano, Lizandra, Mabilly e Carlos Henrique, pelo apoio nos processos de síntese e pela agradável companhia.

A CAPES, pelo apoio financeiro através de bolsa de mestrado durante a vigência do curso.

A todos que trabalham na secretaria do PPGCF/UFPE, em especial a pessoa de Nerilin, pela disponibilidade e apoio aos alunos.

Ao CETENE, pelas análises de caracterização estrutural, principalmente nas pessoas da Júlia Campos e Amanda Felix, pelo auxílio e atenção no transcorrer das análises.

A Professora Valéria da Fiocruz - CPqAM, e toda a sua equipe, pela realização dos ensaios de atividade anti-*T.cruzi*.

A Central analítica DQF, pelas caracterizações estruturais.

Por fim, a todos que um dia encontrei na caminha, e de alguma forma trouxeram ensinamentos que me ajudaram no crescimento pessoal e profissional.

Muito obrigada!

RESUMO

Doenças negligenciadas são um conjunto de doenças infecciosas que afetam regiões tropicais e subtropicais de países com economias em desenvolvimento. Dentre este conjunto de afecções, destaca-se a Doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Sua transmissão acontece na maioria das vezes por picada do inseto vetor (triatomíneo), quando este está infectado. O fármaco atualmente utilizado na quimioterapia da doença é o benzonidazol, mas este não é eficaz em estágios mais avançados da doença. Fato este que evidencia a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos para a sua terapêutica. Nossa proposta consistiu em desenvolver uma série de compostos, utilizando como blocos principais de construção as estruturas privilegiadas ftalimida e tiossemicarbazona, a fim de produzir 24 moléculas híbridas com atividade anti-*T.cruzi* frente à forma tripomastigota. Após a síntese da ftalimida, foram realizadas reações de ftalimida com oito diferentes halo-acetofenonas, tendo sido cada um destes oito novos compostos adquiridos submetidos a nova reação com três diferentes tiossemicarbazidas substituídas, sendo obtidos por fim as 24 moléculas de interesse. Foram realizados para os compostos finais, testes de CC_{50} frente a células de linhagem macrofágica e IC_{50} frente as formas epimastigota e tripomastigota de *T.cruzi*. Dentre os 24 compostos finais testados a maioria apresentou atividade. Seis destes apresentaram para a forma tripomastigota (na qual o parasita se encontra na corrente sanguínea do infectado) índices de seletividade maiores que o fármaco de referência atualmente utilizado (benzonidazol), com IC_{50} entre 3,60 e 20,39. O composto destaque na série foi o IRSF.03 ($IC_{50} = 3,60$), que se mostrou seis vezes mais seletivo para tripomastigotas *T.cruzi* que o benzonidazol ($IS=11,21$), com IS de 68,22.

Palavras-chave: Estruturas privilegiadas. Ftalimido-tiossemicarbazonas. Doença de Chagas. Moléculas híbridas.

ABSTRACT

Neglected diseases are a cluster of infectious diseases that affect tropical and subtropical regions of countries at developing economies. Among this set of affections, Chagas disease, caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, stands out. Its transmission happens most often through insect vector (triatomine) when it is infected. The drug currently used in the chemotherapy of the disease is benzonidazole, is not effective at ore advanced stages of the disease. This fact highlights the need for new drugs development for its therapeutics. Our proposal was to develop a series of compounds using phthalimide and thiosemicarbazone as the main building blocks in order to produce 24 hybrid molecules with anti-*T.cruzi* activity against the trypomastigote form. After the synthesis of phthalimide, phthalimide reactions were performed with eight different halo-acetophenones, each of the latter being newly acquired and reacted with three different substituted thiosemicarbazides, and finally obtained as 24 molecules of interest. For the final compounds, CC₅₀ testes were tested against cells of macrophagic lineage and IC₅₀ as epimastigote and trypomastigote forms of *T.cruzi*. Among the 24 final compounds tested, the most of them showed activity. Six of these presented greater selectivity indexes than the reference-drug (benzonidazole) for the trypomastigote form, with IC₅₀ between 3,60 and 20,39. The promissory compound in the series was IRSF.03 (IC₅₀ = 3,60), which was six times more selective for *T.cruzi* trypomastigotes than benzonidazole (SI = 11.21), with SI of 68.22.

Keywords: Privileged structures. Phthalimido-thiosemicarbazones. Chagas disease. Hybrid molecules.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Insetos triatomíneos, popularmente conhecidos como barbeiros.....	19
Figura 2	Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i>	20
Figura 3	Benzonidazol, quimioterápico atualmente utilizado para o tratamento de doença de Chagas.....	21
Figura 4	Composição estrutural do núcleo ftalimida.....	22
Figura 5	O núcleo ftalimida e suas principais atividades identificadas na literatura..	23
Figura 6	Compostos ftalimídicos com importante atividade leishmanicida, segundo Aliança et al. (2017).....	24
Figura 7	Compostos ftalimídicos com importante atividade esquistossomicida, segundo SANTIAGO, et al., (2014).....	25
Figura 8	Compostos ftalimídicos com importante atividade tripanocida identificada, segundo GOMES, et al., (2016).....	25
Figura 9	Compostos ftalimídicos com importante atividade anti-inflamatória identificada, segundo Al-Qaisi Jinan et al., (2014).....	26
Figura 10	Composição estrutural das tiossemicarbazonas.....	27
Figura 11	O núcleo tiossemicarbazona e suas principais atividades identificadas na literatura.....	27
Figura 12	Compostos aril-tiossemicarbazonas com importante atividade inibitória da cruzaina segundo Du et al. (2002).....	28
Figura 13	Estruturas de tiossemicarbazonas com atividade anti- <i>T.cruzi</i> , segundo Moreira et al., (2014).....	29
Figura 14	Estrutura da tiossemicarbazona 9c , com promissora atividade anti- <i>T.cruzi</i> , segundo Espíndola et al. (2015).....	29

Figura 15	Estrutura das tiossemicarbazonas 3b , 4b e 5b , com promissora atividade antimalárica, segundo Oliveira et al. (2008).....	30
Figura 16	Estrutura geral das Ftalimido-Tiossemicarbazonas sintetizadas neste trabalho.....	32
Figura 17	Regra dos 5, proposta por Lipinsk, et al. (1997).....	32
Figura 18	Espectro de RMN ^1H da molécula IRSB.04.....	40
Figura 19	Espectro de RMN ^{13}C da molécula IRSB.04 na região de 10ppm a 80ppm.....	41
Figura 20	Espectro de RMN ^{13}C da molécula IRSB.04 na região de 90ppm a 180ppm.....	41
Figura 21	Estruturas moleculares dos compostos finais ftalimido-tiossemicarbazonas que apresentaram IS para forma tripomastigota de <i>T.cruzi</i> acima do valor referente ao padrão utilizado.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dados dos compostos planejados aplicados à “Regra dos 5”.....	33
Tabela 2	Características gerais dos compostos finais e rendimento das reações.....	39
Tabela 3	Resultados obtidos para atividade antichagásica das ftalimido- tiossemicarbazonas.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

BDZ Benzonidazol

CC₅₀ Concentração citotóxica para 50% das células

CCD Cromatografia em camada delgada

d Duplete

DMF Dimetilformamida

DMSO Dimetilsulfoxido

EMAR Espectroscopia de massas de alta resolução

IC₅₀ Concentração inibitória para 50% da população

IS Índice de seletividade

J Constante de acoplamento

OMS Organização Mundial da Saúde

OPAS Organização Pan-Americana de Saúde

PF Ponto de fusão

Ph Fenil

m Multiplete

ND Não definida

LpQM Laboratório de Planejamento em Química Medicinal

q Quarteto

RF Fator de Retenção

RMN ¹³C Ressonância Magnética Nuclear de Carbono -13

RMN ¹H Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio -1

s Singleto

t Tripleto

WHO World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVO	17
2.1	OBJETIVO GERAL	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	DOENÇA DE CHAGAS	18
3.2	ESTRUTURAS PRIVILEGIADAS	21
3.3	FTALIMIDAS	22
3.3.1	Atividade Anti- <i>T.cruzi</i> das Ftalimidas	24
3.4	TIOSSEMICARBAZONAS	26
3.4.1	Atividade Anti- <i>T.cruzi</i> das Tiossemicarbazonas	28
4	CAPÍTULO UM: PLANEJAMENTO, SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE INÉDITAS FTALIMIDO-TIOSSEMICARBAZONAS	31
4.1	PLANEJAMENTO DAS MOLÉCULAS	31
4.2	METODOLOGIA	34
4.2.1	Materiais e Reagentes	34
4.2.2	Rota Sintética	35
4.2.3	Caracterização Estrutural	37
4.3	RESULTADOS	38
4.3.1	Composto Intermediário 2 (IRS.01):	42
4.3.2	Composto IRS.02:	42
4.3.3	Composto IRS.03:	43
4.3.4	Composto IRS.04:	43
4.3.5	Composto Intermediário 2. (IRSA.01):	44
4.3.6	Composto IRSA.02:	44
4.3.7	Composto IRSA.03:	45
4.3.8	Composto IRSA.04:	46
4.3.9	Composto Intermediário IRSB.01:	46
4.3.10	Composto IRSB.02:	47
4.3.11	Composto IRSB.03:	47
4.3.12	Composto IRSB.04:	48

4.3.13 Composto Intermediário IRSC.01:	49
3.3.14 Composto IRSC.02:	49
4.3.15 Composto IRSC.03:	50
4.3.16 Composto IRSC.04:	51
4.3.17 Composto Intermediário IRSD.01:	51
4.3.18 Composto IRSD.02:	52
4.3.19 Composto IRSD.03:	52
4.3.20 Composto IRSD.04:	53
4.3.21 Composto Intermediário IRSE.01:	54
4.3.22 Composto IRSE.02	54
4.3.23 Composto IRSE.03.:	55
4.3.24 Composto IRSE.04:	55
4.3.25 Composto Intermediário IRSF.01:	56
4.3.26 Composto IRSF.02:	56
4.3.27 Composto IRSF.03:	57
4.3.28 Composto IRSF.04:	58
4.3.29 Composto Intermediário IRSG.01:	58
4.3.30 Composto IRSG.02:	59
4.3.31 Composto IRSG.03:	59
4.3.32 Composto IRSG.04:	60
5 CAPÍTULO DOIS: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-<i>T.cruzi</i> DAS	
FTALIMIDO-TIOSSEMICARBAZONAS	61
5.1 MATERIAL E MÉTODO	61
5.1.1 Ensaio de Citotoxicidade (CC ₅₀ Frente a Células de Linhagem Macrofágica J774)	
.....	61
5.1.2 Atividade Biológica Frente a Epimastigotas <i>T.cruzi</i>	61
5.1.3 Atividade Biológica Frente a Tripomastigotas <i>T.cruzi</i>	62
5.2 RESULTADOS	63
6 CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS	68
APÊNDICE A - Espectros de RMN de C¹³ e H¹ dos Compostos Finais	73

1 INTRODUÇÃO

A Química Medicinal é uma ciência multidisciplinar, que envolve várias áreas entre ciência e tecnologia. Esta união é responsável pelo desenvolvimento de inovações quimioterápicas para várias doenças.

As doenças negligenciadas são um grupo de doenças transmissíveis, que afetam regiões tropicais e subtropicais de países com economias em desenvolvimento. São afetadas populações que vivem em situação de pobreza, sem saneamento adequado e em contato com vetores infecciosos. São chamadas “negligenciadas” por haver pouco interesse da indústria farmacêutica no desenvolvimento e pesquisa de novos tratamentos quimioterápicos, devido ao baixo retorno financeiro (TROUILLER et al., 2002).

Dentre esse conjunto de doenças se destaca a doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana. Sua transmissão aos seres humanos ocorre geralmente por ingestão de alimentos contaminados, ou picada do inseto triatomíneo popularmente conhecido como barbeiro, quando este é infectado por *Trypanosoma cruzi*. No Brasil, entre os anos de 2000 e 2013, as maiores incidências da doença na fase aguda se apresentaram na região Norte, detectando-se surtos. A fonte principal sugerida foi a infecção através da ingestão de frutos contaminados pelo *Trypanosoma cruzi* (BRASIL, 2015).

O ciclo de vida do *T.cruzi* é complexo, se apresentando em três formas. Através da picada, o inseto vetor contaminado libera o parasita na forma tripomastigota em suas fezes. Os tripomastigotas, ao alcançar a corrente sanguínea através da ferida, invadem células de diferentes partes do corpo e se transformam em amastigotas. No interior das células, estes se reproduzem assexuadamente e se transformam novamente em tripomastigotas, causando destruição celular e voltando para a corrente sanguínea. Quando um novo inseto pica o infectado, leva consigo o parasita na forma tripomastigota através do sangue. Ao chegar no intestino do vetor, o parasita se transforma em epimastigota e novamente se reproduz. Chegando na região final do intestino do inseto o parasita se transforma novamente para a forma tripomastigota, mantendo o ciclo (RASSI et al., 2010).

O fármaco atualmente utilizado para o tratamento da doença de Chagas é o benzonidazol, o tratamento não é eficaz em estágios mais avançados da doença. Devido

sua alta toxicidade para as células de mamíferos e consequentes efeitos colaterais, a administração do medicamento não pode ultrapassar o tempo de dois meses. Fato este que evidencia a necessidade de desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento a sua terapêutica (BRASIL, 2015).

Estruturas privilegiadas são blocos de construção molecular utilizados no planejamento e síntese de fármacos como uma estratégia para obtenção e otimização de moléculas com atividades farmacológicas direcionadas. Esses núcleos são chamados privilegiados, por terem diversas atividades biológicas já comprovadas e associadas à sua estrutura principal, registradas na literatura. (POLANSKI et al., 2012).

As ftalimidas e as tiossemicarbazonas são grandes alvos de pesquisa e estudos, por serem reconhecidas na literatura como estruturas privilegiadas. Os compostos ftalimídicos possuem diversos registros de diferentes tipos de atividade biológica. Apenas os desenvolvidos pelo grupo LpQM, já apresentaram atividade biológica enquanto anti-inflamatórios (LEITE et al., 2014), antiproliferativo (CARDOSO *et al.*, 2015), imunomodulador (COÊLHO et al., 2014) (LEITE et al., 2014) (PESSOA et al., 2014), antitumoral (CARDOSO et al., 2015), antiangiogênicos (COSTA et al., 2015), esquistossomicidas (SANTIAGO *et al.*, 2014), antichagásicos (GOMES et al., 2016) e leishmanicidas (ALIANÇA et al., 2017). Fora as muitas outras atividades registradas por outros grupos de pesquisa de vários países. Se apresentando o grupo ftalimida, como uma fração muito importante em compostos biologicamente ativos.

As tiossemicarbazonas, assim como as ftalimidas, têm uma ampla variedade de atividades biológicas comprovadas na literatura. Se destacando com potenciais atividades biológicas antifúngicas, antibacterianas, antivirais e antitumorais (BELARDO; GRAMBINO, 2004). Além destas, também há registros na literatura de tiossemicarbazonas com atividade Anti-*T.cruzi* (AGUIRRE et al., 2004), e anticonvulsiva (YOGEE SWARI et al., 2002). Séries de tiossemicarbazonas anteriormente desenvolvidas por nosso grupo de pesquisa, apresentaram também atividade biológica anti-*T.cruzi* interessante (MOREIRA et al., 2014) (ESPÍNDOLA et al., 2015).

Nossa nova proposta, consiste em desenvolver uma série de ftalimido-tiossemicarbazonas, baseada nos resultados de bioatividade de estruturas presentes em séries anteriormente desenvolvidas pelo grupo LpQM. Com a finalidade de produção de 24 moléculas com potencial atividade anti-*T.cruzi* frente a forma tripomastigota do

parasita. Podendo assim, identificar quais seriam os principais eficientes compostos da série.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar 24 inéditas ftalimido-tiossemicarbazonas com potencial atividade anti-*T.cruzi*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar a ftalimida;
- Obter oito derivados de ftalimida através de reação com acetofenonas distintas;
- Reagir cada um dos oito derivados de ftalimida obtidos com três diferentes tiossemicarbazidas, formando 24 ftalimido-tiossemicarbazonas.
- Caracterizar estruturalmente os compostos sintetizados via RMN ^1H e ^{13}C , e EMAR;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* das ftalimidas em células de linhagem de macrófagos;
- Avaliar a atividade anti-*T.cruzi* das novas ftalimidas frente as formas epimastigota e tripomastigota do parasita.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A Química Medicinal, ciência multidisciplinar, integra várias áreas da ciência e tecnologia, entre elas a Química orgânica, Farmacologia, Bioquímica, Informática, Físico-Química e outros. Esta combinação tem resultado em descobertas de inovações quimioterápicas para várias doenças. É da complexidade e alto custo do processo de desenvolvimento de novas substância como potenciais fármacos, que surge a necessidade de desenvolvimento de técnicas e inovações para o planejamento e melhoramento de moléculas bioativas (AMARAL et al., 2017).

A progressiva negligência de certas doenças, se dá principalmente porque os custos de desenvolvimento de uma nova droga para estas, não oferecem perspectiva de retornos financeiros significativos para a indústria farmacêutica, isso diminui o interesse em pesquisa e desenvolvimento de novos métodos quimioterápicos específicos (TROUILLER et al, 2002).

Segundo WHO (2017), as doenças negligenciadas (ou doenças tropicais negligenciadas), são um grupo de doenças transmissíveis geralmente identificadas em regiões tropicais e subtropicais de 149 países. Afetam mais de um bilhão de pessoas, trazendo por ano o custo de bilhões de dólares para economias em desenvolvimento. São afetadas populações que vivem em situação de pobreza, sem saneamento adequado e em contato com vetores infecciosos.

Pertencentes a esse grupo, se destacam como principais causas de morbidade e mortalidade no mundo a doença de Chagas, malária, doença do sono, leishmaniose, filariose, esquistossomose e dengue (VALVERDE, 2017). Segundo dados do DNDi (2018), Apesar de atingirem 11% da carga global de doenças, entre 2000 e 2011 foram desenvolvidos especificamente para as doenças tropicais apenas 4% dos 850 novos produtos terapêuticos aprovados para o momento.

3.1 DOENÇA DE CHAGAS

A tripanossomíase americana (doença de Chagas), é causada pelo parasita protozoário *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*). Potencialmente fatal, é encontrada

principalmente em áreas endêmicas de 21 países da América Latina. Estimativas mostram que no mundo cerca de 6 à 7 milhões de pessoas são infectadas com *T.cruzi* (WHO, 2017).

Descoberta no ano de 1909 pelo pesquisador Carlos Chagas, a tripanossomíase americana posteriormente recebeu o nome de seu descobridor. Apesar de ter apenas um século de descobrimento (108 anos), a doença de Chagas originou-se há milhões de anos como uma infecção enzootica (doenças de rebanho) em animais selvagens. Começou a ser transmitida para humanos como uma antroponose (doenças primárias de animais que podem ser transmitidas para humanos), quando o homem começou a explorar áreas selvagens. Enquanto zoonose, seu estabelecimento ocorreu há cerca de 200 à 300 anos, quando seus transmissores começaram a se adaptar à ambientes domésticos. Porém, há evidências de infecção humana identificada em múmias datadas com até nove mil anos (COURA; DIAS, 2009).

A doença é na maioria das vezes transmitida aos seres humanos através da picada de insetos triatomíneos, vetores do protozoário parasita, popularmente conhecidos como barbeiro (**Figura 1**), por geralmente atacar a região do rosto. Ao picar o inseto suga o sangue e expele suas fezes ao mesmo tempo. O contágio se dá através de contato das fezes do inseto com a corrente sanguínea, quando o local da picada é coçado, ou há contato das mãos infectadas com olhos ou boca (WHO, 2017). Também pode haver infecção por ingestão de alimentos contaminados, transfusão de sangue infectado, transmissão congênita, transplante de órgãos e acidentes de laboratório (OPAS, 2017).

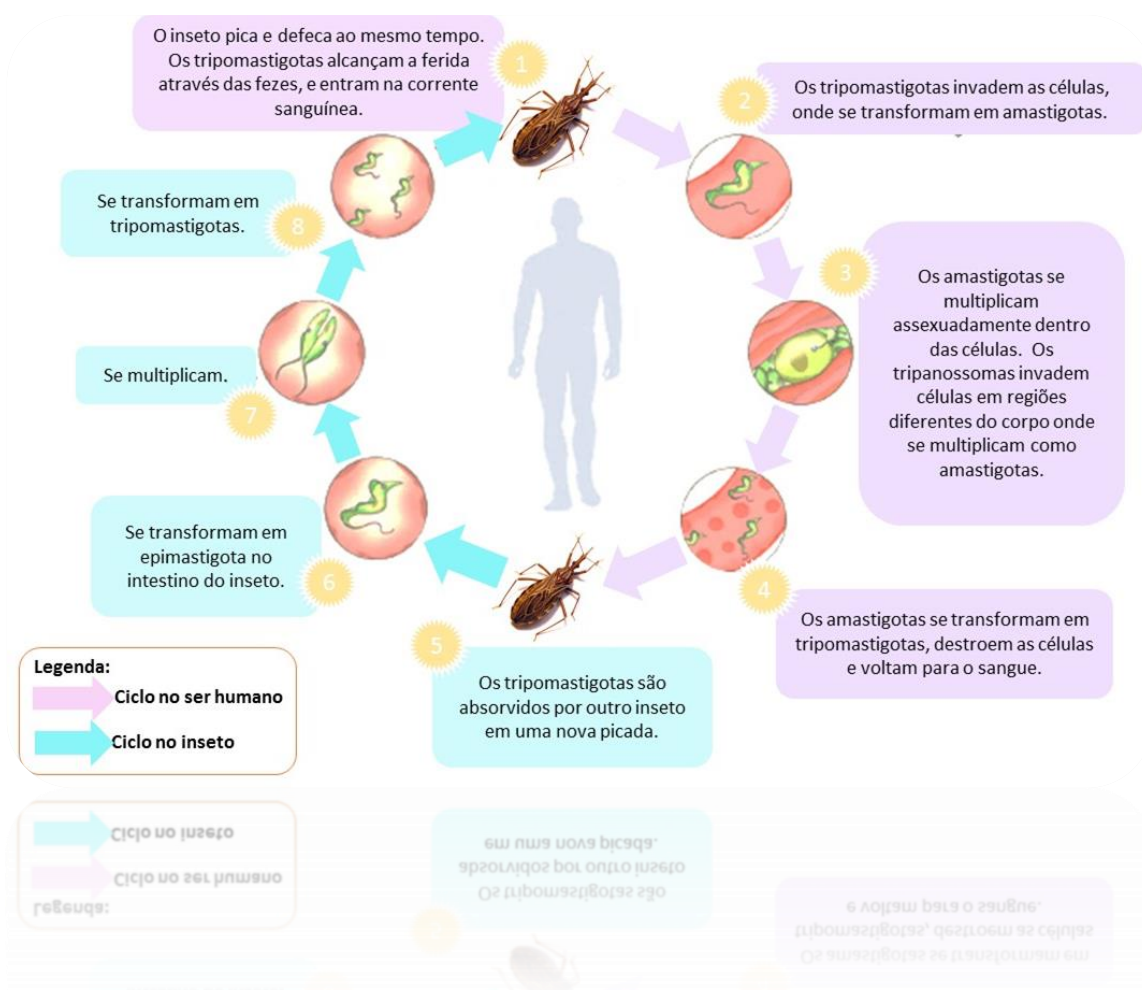
Figura 1- Insetos triatomíneos, popularmente conhecidos como barbeiros.



Fonte: <https://saude.umcomo.com.br/artigo/como-identificar-o-inseto-barbeiro-doenca-de-chagas-28066.html> (Adaptado)

O ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* é complexo (**Figura 2**), se apresentando em três estágios de desenvolvimento. A forma **amastigota** é intracelular, encontrada em hospedeiros mamíferos, na qual o parasita se reproduz após a infecção. A forma **tripomastigota**, é o estágio na qual o parasita se encontra na corrente sanguínea do infectado, e pode ser transmitida à insetos vetores ao picar o enfermo. Na forma **epimastigota**, o parasita se encontra no intestino do vetor triatomíneo. O parasita é ingerido pelo vetor na forma tripomastigota e em seu intestino se transforma em epimastigota, onde sofre reprodução binária. Ao passar pelo reto (porção terminal do intestino) do triatomíneo, o parasita se transforma novamente em tripomastigota (RASSI et al., 2010).

Figura 2 - Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*.

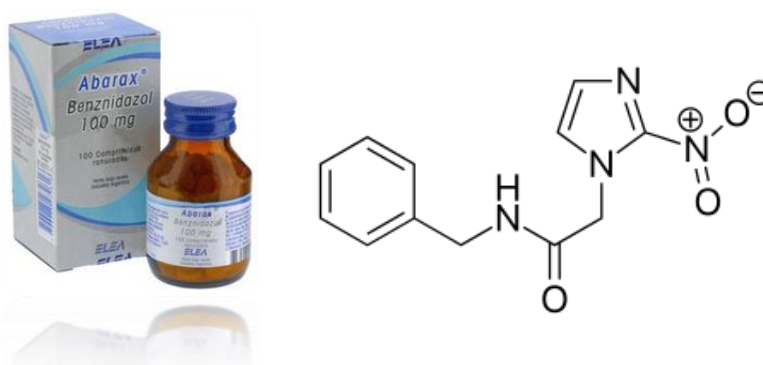


Fonte: <http://www.ideiasedicar.com/sintomas-transmissao-e-prevencao-de-doencas-de-chagas/doenca-de-chagas-infogramas/> (Adaptado)

Em boletim o Ministério da Saúde informa que no Brasil, entre o ano de 2000 e 2013, as maiores incidências da doença na fase aguda se apresentaram na região Norte, detectando-se surtos. A fonte principal sugerida foi a infecção através da ingestão de frutos contaminados pelo *Trypanosoma cruzi* (BRASIL, 2015).

O controle de vetores é o método mais eficaz de prevenção da doença, não existe vacina (WHO, 2017). O Ministério da Saúde recomenda que para prevenção, além do monitoramento dos vetores, também sejam adotadas medidas higiênico-sanitárias e ações de educação e saúde. O tratamento da doença de Chagas é feito através da administração do medicamento benzonidazol para matar o parasita (**Figura 3**). Se administrado logo após a infecção este pode se mostrar 100% eficaz. Porém, sua eficácia diminui quanto mais tempo passar da infecção para o tratamento. Um outro agravante, que pode diminuir os potenciais benefícios do tratamento utilizando Benznidazol, são os efeitos colaterais. Ocorrendo em cerca de 40% dos pacientes tratados, não podendo ser ultrapassado o tempo de tratamento de dois meses (BRASIL, 2015). Diante deste fato, surge a necessidade de desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento da doença.

Figura 3 - Benzonidazol, quimioterápico atualmente utilizado para o tratamento de doença de Chagas.



Fonte 1: <http://www.keshavbiotech.com/product-tag/abarax-benznidazol/> (Adaptado)

Fonte 2: <https://hu.wikipedia.org/wiki/Benznidazol> (Adaptado)

3.2 ESTRUTURAS PRIVILEGIADAS

O conceito de Estruturas Privilegiadas surgiu como uma abordagem eficaz para a síntese e descoberta de novos fármacos. Consiste em dizer que um único “bloco de

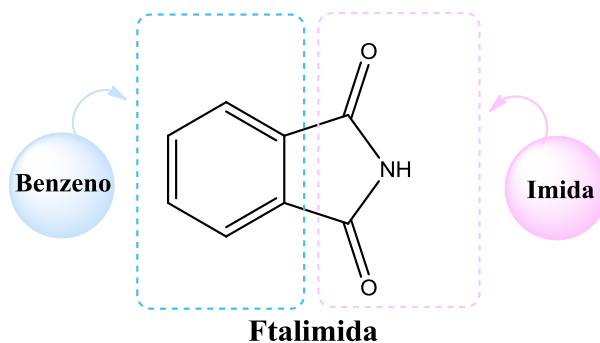
construção” (núcleo a partir do qual a molécula será desenvolvida), é capaz de fornecer ligantes potentes e seletivos para diferentes alvos biológicos (DESIMONE et al., 2004). Partindo desta ideia, entende-se que certas características estruturais produzem efeitos biológicos mais amplos que outras. Este tipo de estrutura é utilizado para enriquecer a atividade de novas moléculas no planejamento de fármacos (POLANSKI et al., 2012).

Enquanto os blocos de construção são apenas uma característica central estrutural comum em um grupo de moléculas, as estruturas privilegiadas se destacam como núcleos que fornecem análogos biologicamente ativos para diversos alvos. Servindo como inspiração para o planejamento de novos fármacos (POLANSKI et al., 2012); (SCHNEIDER; SCHNEIDER, 2017).

3.3 FTALIMIDAS

As ftalimidas são compostos bicíclicos, heterocíclicos de nitrogênio, que possuem em sua estrutura o grupo imida (-CO-N(H)-CO) fechando ciclo com um anel benzeno (C₆H₄), como mostra a (**Figura 4**) (KUSHUAHA, KAUSHIK, 2016).

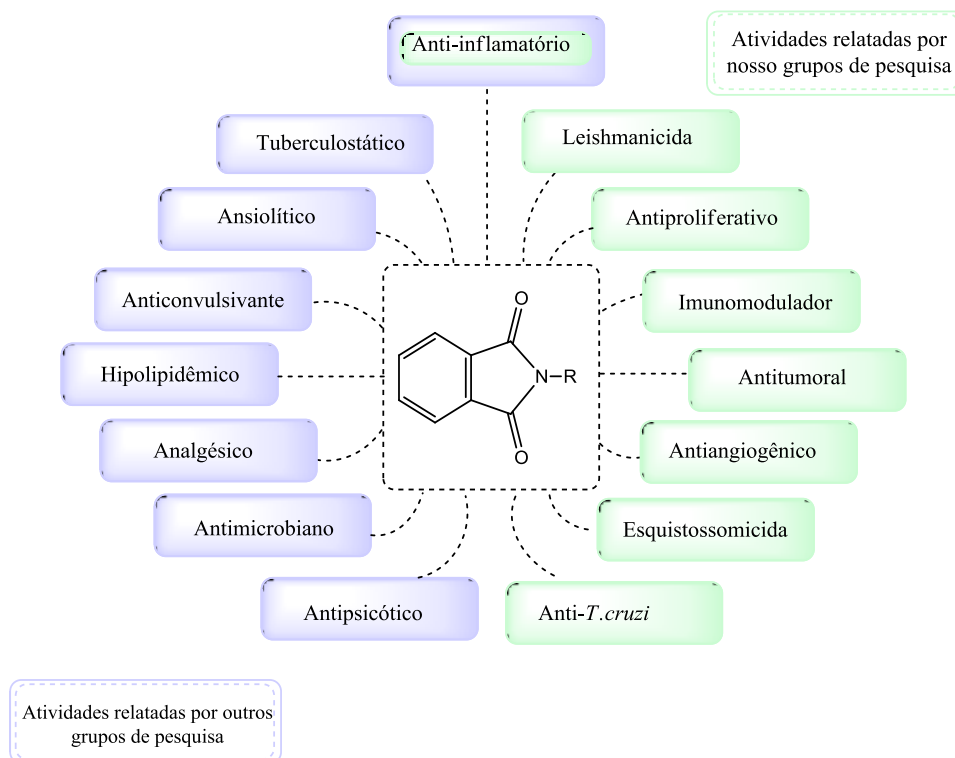
Figura 4 - Composição estrutural do núcleo ftalimida.



Fonte: Autor

Os compostos ftalimídicos tem se mostrado muito interessantes por apresentar diversas comprovações de atividades biológicas distintas, se encaixando perfeitamente o núcleo ftalimida no conceito de estrutura privilegiada (**Figura 5**). Este grupo funcional vem sendo amplamente utilizado como bloco de construção na síntese orgânica, para melhorar a atividade das moléculas e produzir novos compostos com perfis farmacocinéticos de segurança desejáveis, de acordo com as bibliotecas de pesquisa e qualidade. (GOMES et al., 2016) (KUSHUAHA, KAUSHIK, 2016).

Figura 5 - O núcleo ftalimida e suas principais atividades identificadas na literatura.



Fonte: Autor

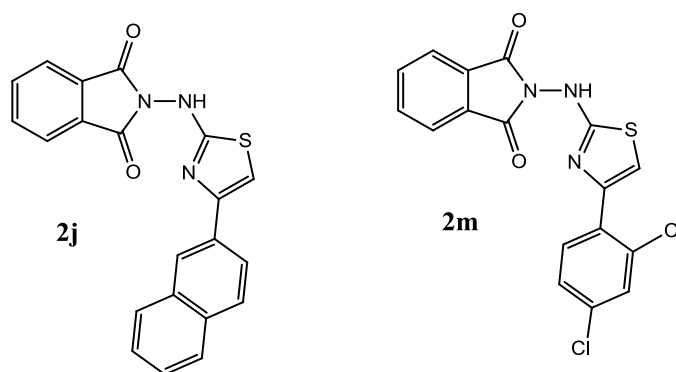
Dentre os registros de bioatividade de compostos ftalimídicos encontrados na literatura (**Figura 5**), destacam-se os anticonvulsivantes (KAMINSKI et al., 2011), ansiolíticos (KUSHUAHA, KAUSHIK, 2016), hipolipidêmicos (ABDEL-AZIZ et al., 2011), analgésicos (ALANAZI et al., 2015), antimicrobianos (AKAGÜN et al., 2012) (SINGH et al., 2015), antipsicóticos (WILLIAMS et al., 2011), antituberculosos (AKGÜN et al., 2012) (ABDEL-AZIZ et al., 2011), anti-inflamatórios (ALANAZI et al., 2015) e outros.

As ftalimidas anteriormente desenvolvidas por nosso grupo de pesquisa apresentaram atividade biológica enquanto anti-inflamatórios (LEITE et al., 2014), antiproliferativo (CARDOSO et al., 2015), imunomodulador (COÊLHO et al., 2014) (LEITE et al., 2014) (PESSOA et al., 2014), antitumoral (CARDOSO et al., 2015), antiangiogênicos (COSTA et al., 2015), esquistossomicidas (SANTIAGO et al., 2014), antichagásicos (GOMES et al., 2016) e leishmanicidas (ALIANÇA et al., 2017).

3.3.1 Atividade Anti-*T.cruzi* das Ftalimidas

Dentre os compostos ftalimídicos produzidos pelo grupo LpQM com atividade antiparasitária identificada, também é possível citar a série de Aliança et al, 2017. Cujos resultados indicam que os ftalimido-tiazóis produzidos, em especial os que contém substituintes aromáticos, são potentes agentes antiparasitários. Exibindo propriedades leishmanicidas substanciais contra *L.infantum*, com dano celular observado microscopicamente e baixa toxicidade para células de mamíferos. Da série se destacaram os compostos **2j** (IC_{50} 19,6 μ M) e **2m** (IC_{50} = 27,8 μ M) (**Figura 6**) como os mais promissores.

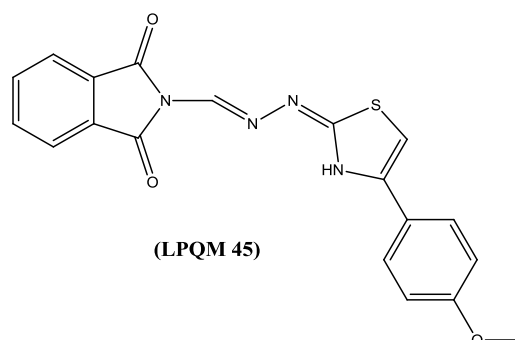
Figura 6 - Compostos ftalimídicos com importante atividade leishmanicida, segundo Aliança et al. (2017).



Fonte: Aliança et al. (2017) (Adaptado)

SANTIAGO et al. (2014) apresentaram uma série de compostos ftalimídicos, avaliados enquanto sua atividade biológica esquistossomicida. Foi verificado que as moléculas apresentaram propriedade anti-*S.mansoni*, com redução da motilidade, deformidades no tegumento, diminuição da ovoposição e mortalidade em vermes adultos. Com toxicidade menor que o do medicamento padrão (Praziquantel). Dentre suas moléculas, se destacou o composto ftalimídico LPQM-45 (IC_{50} =19,97 μ g/ml) (**Figura 7**), como o mais efetivo, sugerindo sua utilização para desenvolvimento de novos protótipos anti-esquistossomicida.

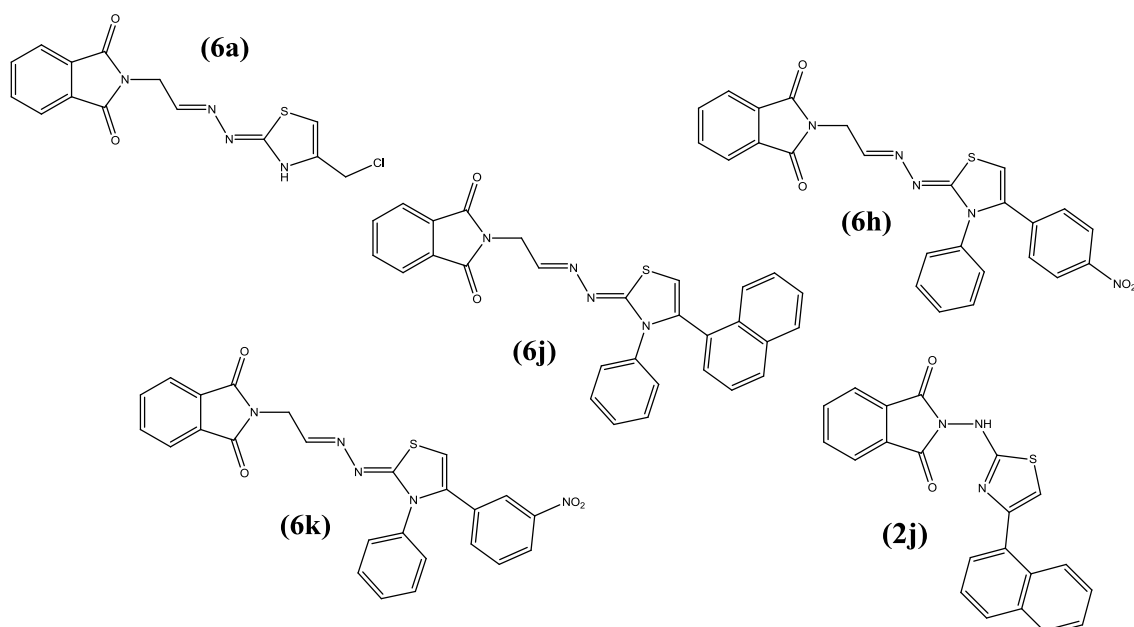
Figura 7 - Compostos ftalimídicos com importante atividade esquistossomicida, segundo SANTIAGO et al. (2014).



Fonte: SANTIAGO et al. (2014) (Adaptado)

GOMES et al. (2016) apresentaram os compostos ftalimido-tiazóis 2j, 6a, 6h, 6j, e 6k (IC_{50} = 27,5 μ M, 2,2 μ M, 3,2 μ M, 0,9 μ M, respectivamente) (**Figura 8**), com importante atividade tripanocida identificada. A citometria de fluxo mostrou que o composto 6k promoveu várias mudanças morfológicas no parasita. O composto 6j, mais promissor agente antichagásico identificado na série, apresentou um índice seletivo de 409, se mostrando 26 vezes mais seletivo que o padrão clínico (BZD, IC_{50} =6,3; IS=15).

Figura 8 - Compostos ftalimídicos com importante atividade tripanocida identificada, segundo GOMES et al. (2016).



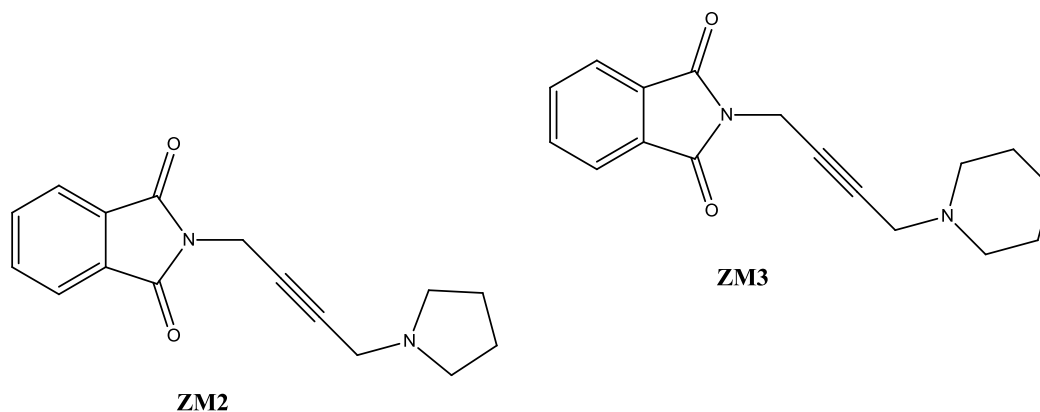
Fonte: GOMES et al. (2016) (Adaptado)

Estes resultados indicam que as ftalimidas, assim como os tiazóis, podem e devem ser utilizados como bloco de construção para melhorar ou projetar novas

moléculas à serem testadas como potencial fármaco para tratamento de doença de Chagas. (GOMES et al., 2016)

Al-Qaisi Jinan et al., (2014) em sua série de compostos ftalimídicos, destacam as moléculas ZM2 e ZM3 (**Figura 9**), que apresentaram atividade anti-inflamatória equipotente às dos fármacos Diclofenaco e Ibuprofeno. Os testes foram feitos através de inflamação induzida em patas de ratos. Os resultados obtidos foram relacionados com a atividade inibitória contra COX-1 e COX-2, para as moléculas da série e os padrões utilizados. O composto ZM3 destacou-se como o mais potente.

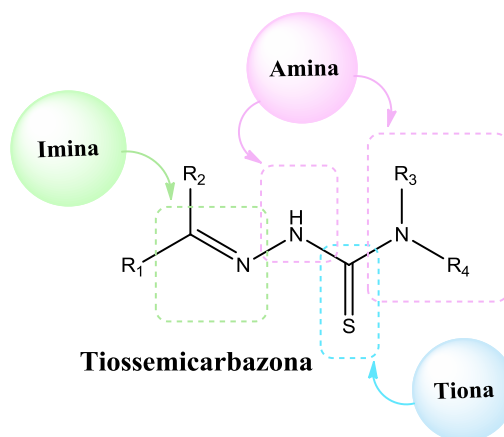
Figura 9 - Compostos ftalimídicos com importante atividade anti-inflamatória identificada, segundo Al-Qaisi Jinan et al., (2014).



Fonte: Al-Qaisi Jinan et al., (2014) (Adaptado)

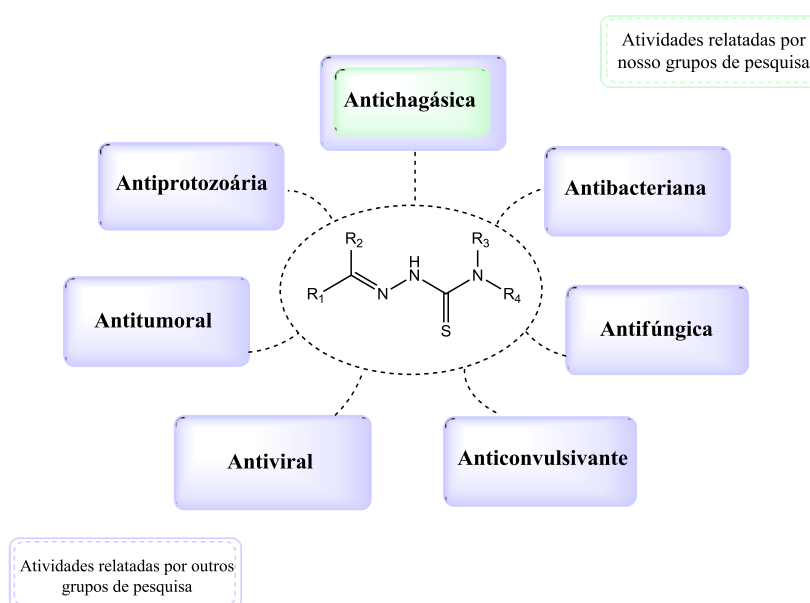
3.4 TIOSSEMICARBAZONAS

As tiossemicarbazonas apresentam em sua estrutura molecular os grupos amina (N(R)_3), imina ($\text{(R)}_2\text{C=N(R)}$) e tiona ($\text{(R)}_2\text{C=S}$), como mostra a **Figura 10**. Isso as torna potenciais ligantes polidentados, e possíveis de serem utilizados para formação de complexos metálicos. Esses compostos apresentam uma gama de aplicações em várias áreas da ciência, desde a Química Analítica, Farmacologia até a Medicina Nuclear. (ARORA et al., 2014).

Figura 10 - Composição estrutural das tiossemicarbazonas.

Fonte: Autor

Os compostos derivados de tiossemicarbazona, assim como os de ftalimida, apresentam amplos registros de bioatividade na literatura (**Figura 11**). Esta estrutura privilegiada vem sendo utilizada como bloco de construção para o desenvolvimento de moléculas com potenciais atividades biológicas Antifúngicas, Antibacterianas, Antivirais e Antitumorais (BELARDO; GRAMBINO, 2004). Além destas, também há registros na literatura de tiossemicarbazonas com atividade Anti-*T.cruzi* (AGUIRRE et al., 2004), Antiprotozoária (BHARTI et al., 2002), e Anticonvulsiva (YOGESHWARI et al., 2002).

Figura 11 - O núcleo tiossemicarbazona e suas principais atividades identificadas na literatura.

Fonte: Autor

Séries de tiossemicarbazonas anteriormente desenvolvidas por nosso grupo de pesquisa, apresentaram atividade Anti-*T.cruzi* interessante (MOREIRA et al., 2014) (ESPÍNDOLA et al., 2015).

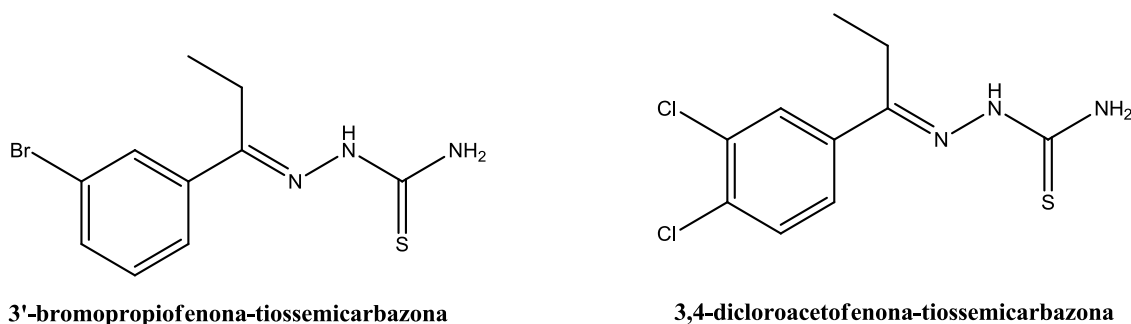
A síntese do grupo tiossemicarbazona partindo de tiossemicarbazida é relativamente simples. Geralmente se utiliza etanol como solvente na reação, e os ácidos clorídrico ou sulfúrico como catalizadores. As reações podem ser procedidas em sistema de refluxo ou banho ultrassônico (ESPÍNDOLA et al., 2015) (MOREIRA et al., 2014) (FILHO et al., 2015).

3.4.1 Atividade Anti-*T.cruzi* das Tiossemicarbazonas

Segundo Aguirre et al. (2004) o núcleo tiossemicarbazona é presente em estruturas que apresentam atividade considerável anti *T.cruzi* em diversos trabalhos, devido seu potencial farmacofórico como inibidor da cruzaina.

Du et al. (2002) em seu trabalho, desenvolveram em seu trabalho uma série de aril-tiossemicarbazonas apresentadas como potentes inibidores de cruzaina, identificando atividade tripanocida *in vitro*. O composto 3'-bromopropiofenona-tiossemicarbazona (**Figura 12**), mostrou inibição da cruzaina com IC₅₀ de 100 nM. Além de não ter sido identificada alta toxicidade para as células de mamíferos. Este foi um composto líder para a projeção de novas moléculas. Dentre os análogos sintetizados, se destacou o composto 3,4-dicloroacetofenona-tiossemicarbazona (**Figura 12**), inibidor duas vezes mais potente com valor de IC₅₀ de 50 nM frente a cruzaina.

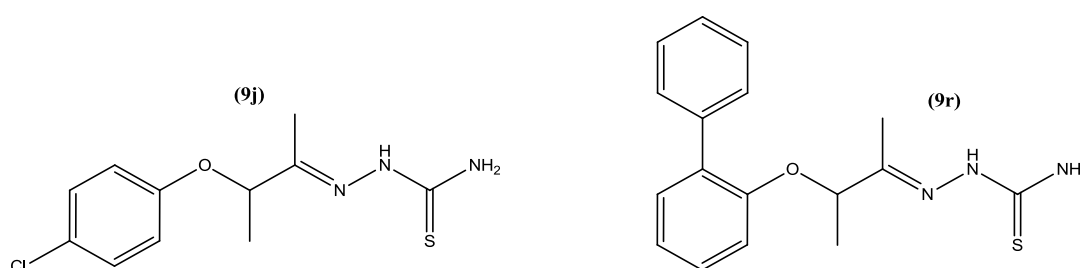
Figura 12 - Compostos aril-tiossemicarbazonas com importante atividade inibitória da cruzaina segundo Du et al. (2002).



Fonte: Du et al. (2002) (Adaptado)

Moreira et al. (2014) apresentaram como destaque em sua série de tiossemicarbazonas, os compostos **9h** e **9r** (**Figura 13**), promissores quanto a atividade biológica anti-*T.cruzi*. Sua avaliação obteve resultados semelhantes aos das células tratadas com o padrão Benznidazol (quimioterápico atualmente utilizado). Sendo observada morte do parasita através de um processo apoptótico.

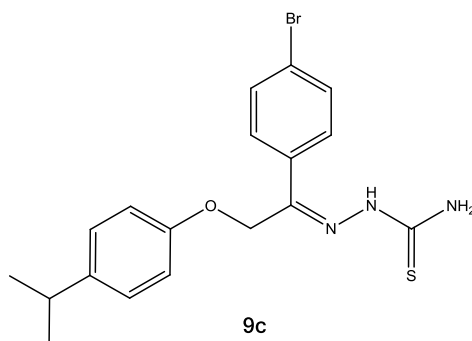
Figura 13 - Estruturas de tiossemicarbazonas com atividade anti-*T.cruzi*, segundo Moreira et al., (2014).



Fonte: Moreira et al., (2014) (Adaptado)

Espíndola et al. (2015) em seu trabalho, propôs uma série de tiossemicarbazonas testadas quanto a sua atividade anti-*T.cruzi*. Foi verificado que das 32 aril-tiossemicarbazonas sintetizadas, a maioria apresentou atividade tripanocida superior a do Benznidazol (quimioterápico atualmente utilizado), contra as formas Epimastigota e Tripomastigota do *T.cruzi*. O composto **9c** (**Figura 14**) foi o que se mostrou mais seletivo contra as formas extracelulares do parasita. Desta série, outros 13 compostos (variantes nos substituintes dos grupos aril), se mostraram ativos, inibindo a cruzaina em taxas superiores a 70%.

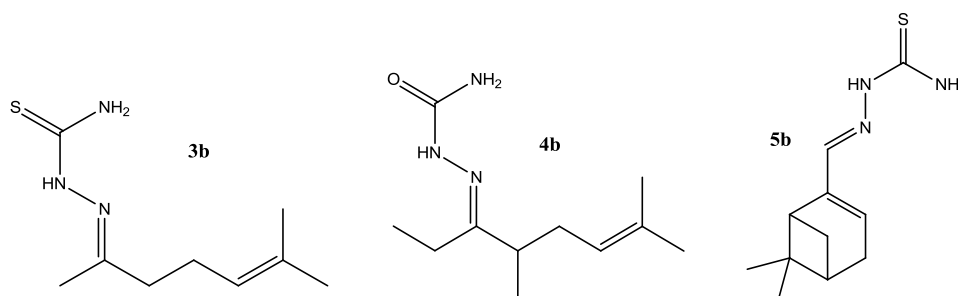
Figura 14 - Estrutura da tiossemicarbazona **9c**, com promissora atividade anti-*T.cruzi*, segundo Espíndola et al. (2015).



Fonte: Espíndola et al. (2015) (Adaptado)

Oliveira et al. (2008) desenvolveram uma série de tiossemicarbazonas com potencial atividade antimalárica, da qual se destacaram os compostos **3b**, **4b** e **5b** (**Figura 15**). Estes exibiram inibição significativa *in vitro* contra *P.falciparum*. Em testes *in vivo*, o composto **5b** mostrou atividade considerável em camundongos infectados com *P.berghei*, não causando efeitos tóxicos significativos. Se mostrando um líder interessante para o desenvolvimento de novas moléculas.

Figura 15 - Estrutura das tiossemicarbazonas **3b**, **4b** e **5b**, com promissora atividade antimalárica, segundo Oliveira et al. (2008).



Fonte: Oliveira et al. (2008) (Adaptado)

4 CAPÍTULO UM: PLANEJAMENTO, SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE INÉDITAS FTALIMIDO-TIOSSEMICARBAZONAS

4.1 PLANEJAMENTO DAS MOLÉCULAS

O planejamento da série de moléculas ftalimido-tiossemicarbazonas obtidas nesse trabalho, foi feito partindo de moléculas anteriormente desenvolvidas, e analisadas quanto a sua atividade biológica, pelo grupo LPqM (Laboratório de Planejamento e Síntese em Química Medicinal).

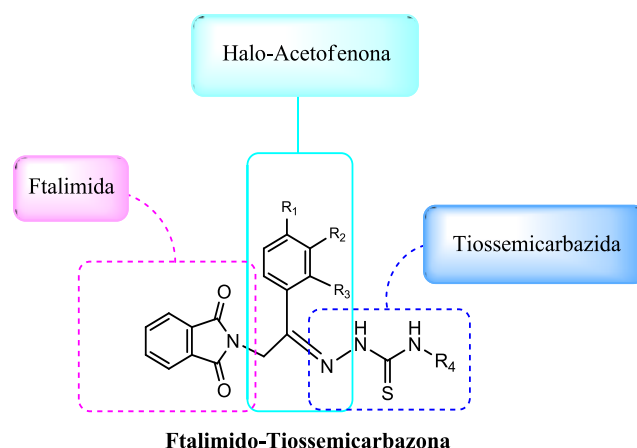
Foram norteadores os resultados obtidos das ftalimidas sintetizadas por Santiago et al. (2014) e Gomes et al. (2016), com atividade promissora comprovada enquanto antiparasitários para *S.mansoni* e *T.cruzi*, respectivamente. Assim como das tiossemicarbazonas de Moreira et al. (2014) e Espíndola et al. (2015), potencialmente anti-*T.cruzi*. Nesses trabalhos os núcleos Ftalimida e Tiossemicarbazona foram identificados como essenciais para a atividade biológica dessas moléculas. Além das moléculas citadas com atividade antiparasitária, também foram analisados os resultados obtidos para os compostos ftalimídicos com atividade Anti-inflamatória (LEITE et al., 2014), antiproliferativa (CARDOSO et al., 2015), imunomoduladora (COÊLHO et al., 2014) (LEITE et al., 2014) (PESSOA et al., 2014), antitumoral (CARDOSO et al., 2015), antiangiogênica (COSTA et al., 2015).

De forma geral, no planejamento fixou-se o grupo proveniente da ftalimida, e as estruturas gerais provenientes dos grupos tiossemicarbazona (variando em R₄), sendo estas separadas pela estrutura proveniente da halo-acetofenona (variando em R₁, R₂ e R₃), como mostra a **Figura 16**.

Em seu estudo, Gomes et al. (2016) afirma que a presença de um grupo que promova um espaçamento entre os grupos farmacofóricos ftalimida e tiazol de suas moléculas, promoveu a diminuição da citotoxicidade e melhorou a atividade tripanocida de suas moléculas. Partindo dos relatos analisados, o grupo proveniente das acetofenonas (**Figura 16**), também foi aqui escolhido para ser utilizado na molécula, promovendo uma distância de dois carbonos entre os grupos farmacofórico principais,

variando este também nas substituições do Ph. Este grupo é presente também nos compostos de Espíndola et al. (2015) e Du et al. (2002). A depender das substituições no anel, sua presença na constituição da molécula pode promover uma gradativa melhora na atividade tripanocida das tiossemicarbazonas. (EPÍNDOLA et al., 2015) (DU et al., 2002).

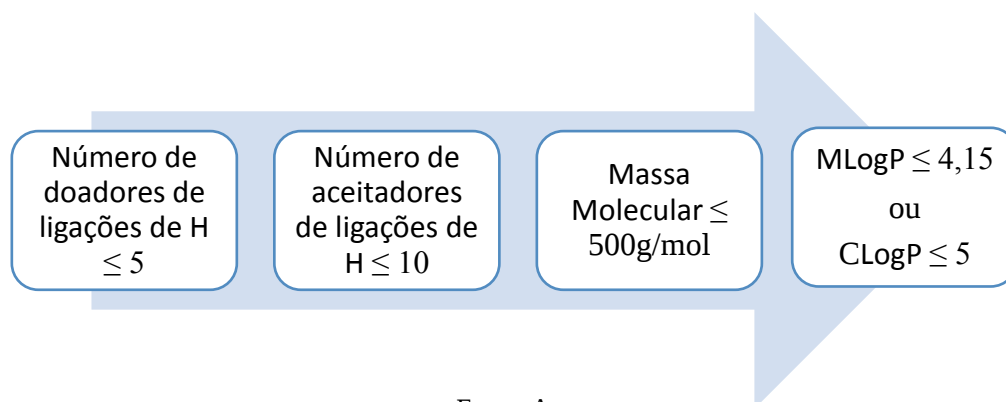
Figura 16 - Estrutura geral das Ftalimido-Tiossemicarbazonas sintetizadas neste trabalho.



Fonte: Autor

As estruturas dos 24 compostos planejados foram previamente analisadas segundo a “Regra dos 5” de Lipinsk, et al. (1997). Este descreve abordagens experimentais e computacionais para estimar a solubilidade e a permeabilidade nas configurações de fármacos em desenvolvimento. A “Regra dos 5” (Rule of 5) prevê que candidatos a bioativos devem apresentar quatro características físico-químicas que geralmente são comuns em fármacos já existentes (salvo exceções), apresentando resultados com valores múltiplos de cinco, como mostra a **Figura 17** e a **Tabela 1**.

Figura 17 - Regra dos 5, proposta por Lipinski, et al. (1997)



Fonte: Autor

Tabela 1 - Dados dos compostos planejados aplicados à “Regra dos 5”

Estrutura Geral da Molécula	Ref.	R ₄	Massa			
			Aceptores de H ≤10	Doadores de H ≤5	MLogP ≤4,15	≤500 g/mol
	IRS.02	H	3	2	1,66	338,38
	IRS.03	Ph	3	2	3,47	414,48
	IRS.04	CH ₃	3	2	1,89	353,41
	IRSA.02	H	3	2	2,28	417,28
	IRSA.03	Ph	3	2	3,65	493,38
	IRSA.04	CH ₃	3	2	2,51	431,31
	IRSB.02	H	4	2	2,04	356,37
	IRSB.03	Ph	4	2	3,44	432,47
	IRSB.04	CH ₃	4	2	2,28	370,40
	IRSC.02	H	4	2	1,36	368,41
	IRSC.03	Ph	4	2	2,74	444,51
	IRSC.04	CH ₃	4	2	1,59	382,44
	IRSD.02	H	5	2	0,77	383,38
	IRSD.03	Ph	5	2	3,00	459,48
	IRSD.04	CH ₃	5	2	1,01	397,41
	IRSE.02	H	3	2	2,66	407,27
	IRSE.03	Ph	3	2	4,02	483,37
	IRSE.04	CH ₃	3	2	2,89	421,30
	IRSF.02	H	3	2	2,66	407,27
	IRSF.03	Ph	3	2	4,02	483,37
	IRSF.04	CH ₃	3	2	2,89	421,30
	IRSG.02	H	3	2	2,80	414,48
	IRSG.03	Ph	3	2	4,48	490,58
	IRSG.04	CH ₃	3	2	3,01	428,51

Valores obtidos através do site SwissADME

Os resultados da análise para os 24 compostos planejados estão dispostos na **Tabela 1**. Foi observado que todas as estruturas se apresentam de acordo com a regra, apenas o composto IRSG.03 apresentou uma leve violação, quanto ao valor do MLogP igual a 4,48.

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 Materiais e Reagentes

Para as reações, foram utilizados os solventes: acetona, hexano, acetato, etanol, isopropanol, DMF, e metanol, provenientes das marcas Dinâmica, Cinética ou Química moderna. Já os reagentes: anidrido ftálico, ureia, carbonato de potássio, iodeto de potássio, ácido sulfúrico, tiossemicarbazida, 4-fenil-3-tiossemicarbazida, 4-metil-3-tiossemicarbazida, 2-bromoacetofenona, 2-bromo-4'-fluoracetofenona, 2-bromo-4'-fenilacetofenona, 2,4'-dibromoacetofenona, 2-bromo-4'-metoxiacetofenona, 2-bromo-3'-nitroacetofenona, 2-bromo-3',4'-dicloroacetofenona e 2,2',4'-tricloroacetofenona, foram adquiridos das marcas Sigma Aldrich, Pro Químicos, Química Moderna, Vetec ou Cinética Química Ltda. O DMSO deuterado (DMSO-d6) da marca Sigma-Aldrich foi utilizado para a realização de todos os RMNs.

O acompanhamento das reações foi realizado através de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando-se por fase sílica-gel 60 da marca Alugram® com indicador fluorescente F254. Para a leitura das placas cromatográficas foi utilizada uma câmara de radiação ultravioleta, com lâmpadas de 365nm e 254nm, da marca Vilber Lourmat.

Para auxiliar nos processos reacionais foi utilizado o banho ultrassônico da marca Unique EM-804, com frequência de 40 KHz (180W de potência). Chapas aquecedoras da marca Fisatom, modelo 752A. Destilador, marca Quimis®, para obtenção de água destilada. Além de vidrarias diversas, dessecador e freezer para armazenagem dos produtos.

A aferição do ponto de fusão dos produtos obtidos, foi feita através do equipamento fusiômetro da marca Fisatom, modelo 430D.

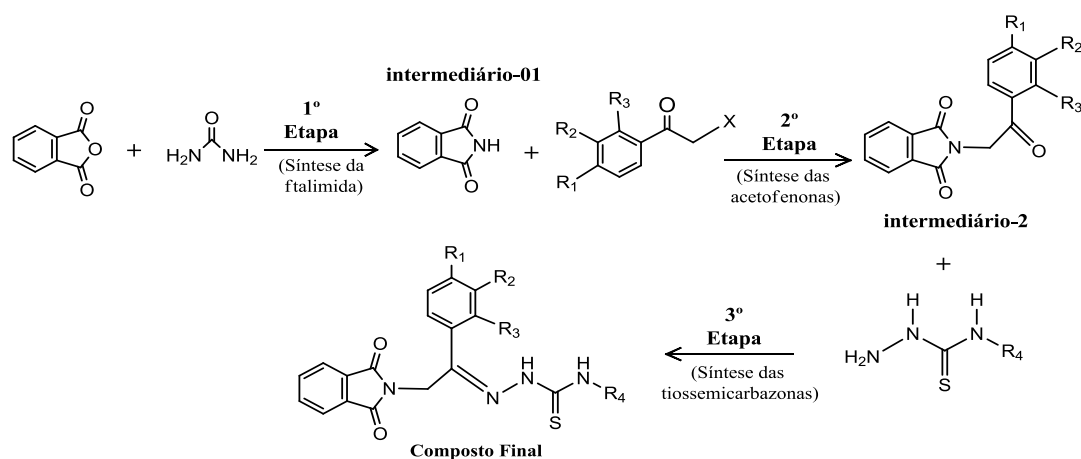
As análises espectroscópicas foram realizadas em laboratórios parceiros. Sendo a Ressonância Magnética Nuclear (^{13}C e ^1H e DEPT) realizada na central analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, utilizando os

instrumentos da Varian, modelo Unit Plus (400MHz para ^1H e 100MHz para ^{13}C) e o equipamento da Bruker AMX (300 MHz para ^1H ; 75,5 MHz para ^{13}C). Utilizou-se o tetrametilsilano como padrão e o dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) como solvente.

A análise de Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR) foi realizada no CETENE.

4.2.2 Rota Sintética

Esquema 1 - Processo de síntese das ftalimido-tiossemicarbazonas (**Composto 3a-x**). Reagentes e condições: (**1ª Etapa**) aquecimento 3h; (**2ª Etapa**) K_2CO_3 , KI, Acetona, T.A. 2-24h; (**3ª Etapa**) Etanol,



H_2SO_4 (12 gotas), ultrassom, 4-12h, ou refluxo, 24-48h;

Composto Final	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
IRS.02	H	H	H	H
IRS.03	H	H	H	Ph
IRS.04	H	H	H	CH ₃
IRSA.02	Br	H	H	H
IRSA.03	Br	H	H	Ph
IRSA.04	Br	H	H	CH ₃
IRSB.02	F	H	H	H
IRSB.03	F	H	H	Ph
IRSB.04	F	H	H	CH ₃
IRSC.02	OCH ₃	H	H	H
IRSC.03	OCH ₃	H	H	Ph
IRSC.04	OCH ₃	H	H	CH ₃

Composto Final	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
IRSD.02	NO ₂	H	H	H
IRSD.03	NO ₂	H	H	Ph
IRSD.04	NO ₂	H	H	CH ₃
IRSE.02	Cl	Cl	H	H
IRSE.03	Cl	Cl	H	Ph
IRSE.04	Cl	Cl	H	CH ₃
IRSF.02	Cl	H	Cl	H
IRSF.03	Cl	H	Cl	Ph
IRSF.04	Cl	H	Cl	CH ₃
IRSG.02	Ph	H	H	H
IRSG.03	Ph	H	H	Ph
IRSG.04	Ph	H	H	CH ₃

4.2.2.1 Síntese do Intermediário 1 (Ftalimida)

Macerou-se em um gral 3g de ureia, juntamente com 5g de anidrido ftálico (proporção molar 2:1). A mistura em forma de pó, foi transferida para um balão de fundo redondo, e deixada em banho de óleo com aquecimento até chegar a temperatura de cerca de 150°C, por aproximadamente 3h. O balão não foi vedado totalmente. Durante este tempo verificou-se a fusão dos compostos e formação do novo sólido, além do desprendimento de gases. Realizou-se uma CCD com o anidrido ftálico e o produto obtido, utilizando-se como sistema eluente a mistura de Acetato de Etila e Hexano em proporção de 3:7.

Para purificação, o sólido obtido foi lavado com água em sistema de filtração a vácuo. O funil sinterizado contendo o produto foi acondicionado em dessecador por 24h e então pesada a ftalimida para obtenção dos dados de rendimento reacional.

4.2.2.2 Síntese do Intermediário 2 (Acetofenona)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 15 ml de acetona P.A., 3,4 mmol de ftalimida (0,50g), 4,6 mmol de K_2CO_3 (0,47g), e uma ponta de espátula de KI sólido. Deixou-se a mistura sob agitação vigorosa, por 30 minutos à temperatura ambiente. Logo após, adicionou-se 3,4mmol da acetofenona (2-Bromoacetofenona, 2-Bromo-4'-Fluoracetofenona, 2-Bromo-4'-Fenilacetofenona, 2,4'-Dibromoacetofenona, 2-Bromo-4'-Metoxiacetofenona, 2-Bromo-3'-Nitroacetofenona, 2-Bromo-3',4'-Dicloroacetofenona e 2,2',4'-Tricloroacetofenona) e então o sistema permaneceu sob agitação constante por 2-24h. Em todos os casos foi necessário adicionar acetofenona em excesso para se conseguir chegar ao final da reação. Para verificação da formação dos produtos, foram realizadas CCDs com os reagentes e a mistura reacional, utilizando-se como solvente eluente a mistura de Acetato de Etila e Hexano na proporção de 2:8.

A mistura foi filtrada a vácuo, submetido a lavagem com acetona aquecida e o sobrenadante secado em evaporador rotatório.

O produto sólido seco, foi submetido lavagem com Álcool Isopropílico em sistema a vácuo. O funil sinterizado contendo o produto foi acondicionado em dessecador por 24h e então pesada a acetofenona para obtenção dos dados de rendimento reacional.

4.2.2.3 Síntese dos Compostos Finais (Ftalimido-Tiossemicarbazonas)

Em um balão de fundo redondo, contendo 15 ml de Álcool Etílico P.A., adicionou-se 300mg do intermediário 2, juntamente com 14 gotas de Ácido Sulfúrico P.A. A mistura foi mantida em ultrassom ou refluxo por cerca de 30min. Após esse tempo, foi adicionado ao sistema quantidade molar equivalente da respectiva tiossemicarbazida (tiossemicarbazida, 4-feniltiossemicarbazida, 4-metil-3-tiossemicarbazida). O sistema foi deixado em ultrassom (4-12h) ou refluxo (24-48h). Em todos os casos foi necessário adicionar tiossemicarbazida em excesso para se conseguir chegar ao final da reação. Para tal comprovação foram realizadas CCDs com os reagentes e a mistura reacional, utilizando-se como solvente eluente a mistura Acetato de Etila e Hexano na proporção de 3:7. O sólido obtido foi submetido à filtração à vácuo e lavado com Álcool Etílico. O funil sinterizado contendo o sólido filtrado foi acondicionado em dessecador por 24h e então pesado o produto final para obtenção dos dados de rendimento reacional.

4.2.3 Caracterização Estrutural

A verificação da estrutura química das moléculas foi realizada através de análises espectroscópicas dos compostos finais (EMAR e RMN ^{13}C e ^1H). Além disso, também foram vistos o ponto de fusão (PF), e o fator de retenção (RF) destas moléculas em CCD, utilizando como sistema eluente a mistura de Acetato de Etila (45%) e Hexano (55%).

4.3 RESULTADOS

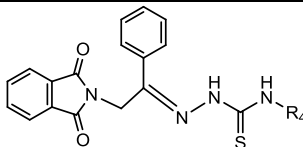
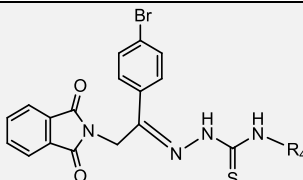
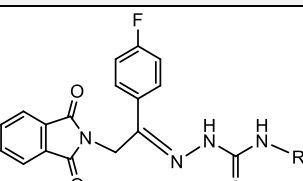
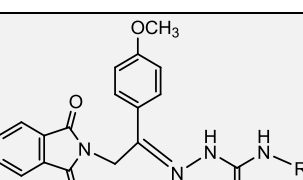
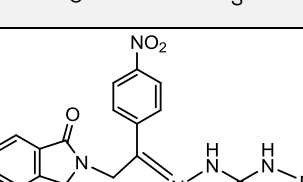
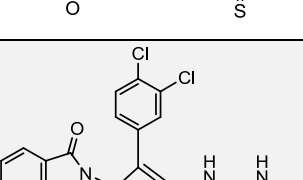
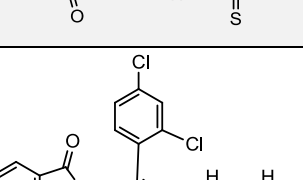
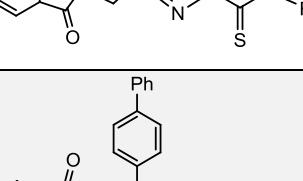
Em todas as etapas houve necessidade de purificação dos produtos, sendo estes processos simples de lavagem. Não houve necessidade de recristalização ou realização de coluna cromatográfica. Ao final do processo, todas as ftalimido-tiossemicarbazonas aqui obtidas se apresentaram em forma de pó amorfo, na cor branca (IRS.02, IRS.03, IRSA.02, IRSA.03, IRSA.04, IRSB.02, IRSB.03, IRSB.04, IRSC.02, IRSC.03, IRSD.02, IRSE.02, IRSE.03, IRSF.02, IRSF.03, IRSF.04, IRSG.04), bege (IRSC.04, IRSD.03, IRSG.03), e verde (IRS.04, IRSD.04, IRSE.04, IRSG.02).

A observação das placas de CCD realizadas até se chegar ao final das reações, mostrou que após certo tempo apresentava-se na mistura reacional um ponto a mais, que não correspondia aos reagentes. Ao final da reação, se mostrava aparente apenas um ponto (Intermediário 1), ou dois, nas etapas em que fora adicionado reagente em excesso (Intermediário 2; Compostos Finais). O que mostrou a necessidade de purificação dos produtos, logo resolvida com a etapa de lavagem, onde apenas o reagente em excesso era solubilizado e obtinha-se o produto sólido indicando apenas um ponto após filtração à vácuo.

O cálculo do rendimento reacional da etapa final, foi feito baseado na quantidade utilizada em mol do reagente limitante, que neste caso foi o Intermediário 2, desprezando-se as quantidades utilizadas de tiossemicarbazida (esteve em excesso em todos os casos). Sendo assim, para um rendimento de 100%, o composto final deveria apresentar quantidade equimolar (de 1:1) com relação a utilizada de Intermediário 2. Os rendimentos reais obtidos para cada produto na etapa final da síntese se apresentaram na faixa de 50,7%-99,4%. Em síntese, são considerados bons, rendimentos a partir de 50%.

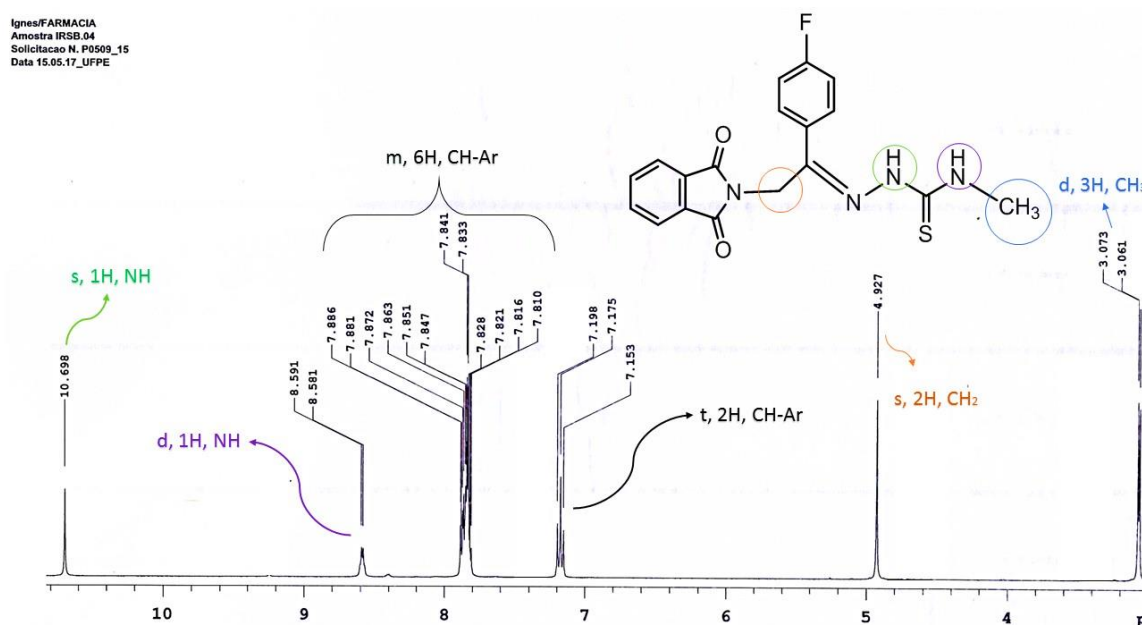
As características e propriedades dos compostos finais aqui obtidos estão dispostas a seguir (**Tabela 2**). Esta apresenta estrutura, ponto de fusão (PF), fator de retenção (RF), e rendimento de cada um dos 24 produtos.

Tabela 2 - Características gerais dos compostos finais e rendimento das reações.

Estrutura Geral da Molécula	Composto	R₄	PF (°C)	RF	Rendimento (%)
	IRS.02	H	178-180	0,48	87,99
	IRS.03	Ph	223-224	0,76	89,62
	IRS.04	CH₃	148-149	0,70	50,75
	IRSA.02	H	206-208	0,48	93,89
	IRSA.03	Ph	197-199	0,78	94,58
	IRSA.04	CH₃	191-193	0,70	75,96
	IRSB.02	H	198-200	0,28	63,33
	IRSB.03	Ph	205-207	0,88	67,62
	IRSB.04	CH₃	188-190	0,68	55,42
	IRSC.02	H	179-181	0,34	94,10
	IRSC.03	Ph	219-221	0,80	96,67
	IRSC.04	CH₃	189-191	0,76	77,77
	IRSD.02	H	217-218	0,38	91,29
	IRSD.03	Ph	211-213	0,44	94,81
	IRSD.04	CH₃	148-149	0,40	86,97
	IRSE.02	H	233-234	0,56	99,45
	IRSE.03	Ph	214-216	0,82	90,99
	IRSE.04	CH₃	209-210	0,78	59,52
	IRSF.02	H	194-195	0,52	64,10
	IRSF.03	Ph	177-179	0,88	81,47
	IRSF.04	CH₃	204-205	0,72	62,69
	IRSG.02	H	232-234	0,46	78,02
	IRSG.03	Ph	203-205	0,82	69,83
	IRSG.04	CH₃	241-243	0,72	85,37

A estrutura química dos compostos foi confirmada através dos dados espectroscópicos obtidos. Estes corroboram para a formação dos produtos planejados, de acordo com os espectros demonstrados abaixo, que mostra o processo de caracterização por RMN ^1H e RMN ^{13}C a partir da molécula IRSB.04.

Figura 18 - Espectro de RMN ^1H da molécula IRSB.04.



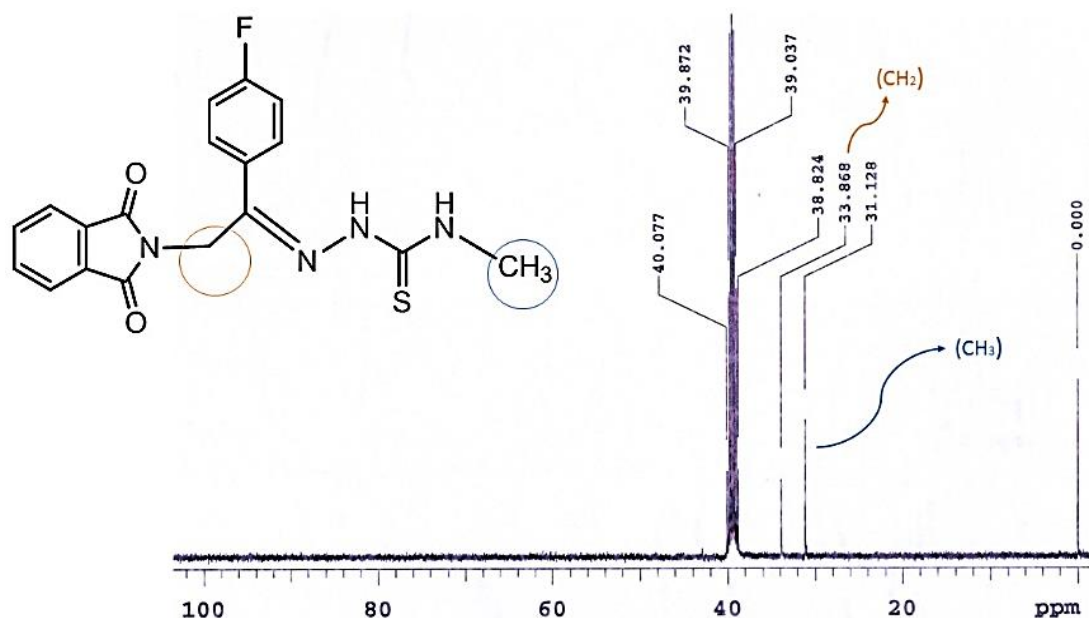
Fonte: Autor.

A **Figura 18** apresenta o espectro de RMN ^1H obtido para o composto IRSB.04, onde pode-se observar um duplete integrando para três hidrogênios em 3,06ppm, referente aos hidrogênios do CH₃. Em 4,92ppm há um singleto integrando para dois hidrogênios, referente ao CH₂. Nota-se um tripleto com picos em 7,153ppm, 7,179ppm e 7,198ppm, referentes a dois hidrogênios do CH aromático. É identificado um multiplete entre 7,810ppm e 7,886ppm, integrando para seis hidrogênios de CH aromático. Observa-se um dublete referente a um hidrogênio de NH, com picos em 8,581ppm e 8,591ppm. Em 10,698ppm, há um singleto referente a um hidrogênio do NH.

Já no espectro de RMN de ^{13}C (**Figuras 19 e 20**), observa-se nas regiões mais blindadas, os picos dos carbonos não ligados a heteroátomos. Por exemplo, em 31,128ppm o pico é referente ao CH₃, em 33,868ppm o pico referente ao CH₂. Entre os picos 114,864ppm e 134,51 ppm os picos dos C-Ar. Nas regiões mais desblindadas, se

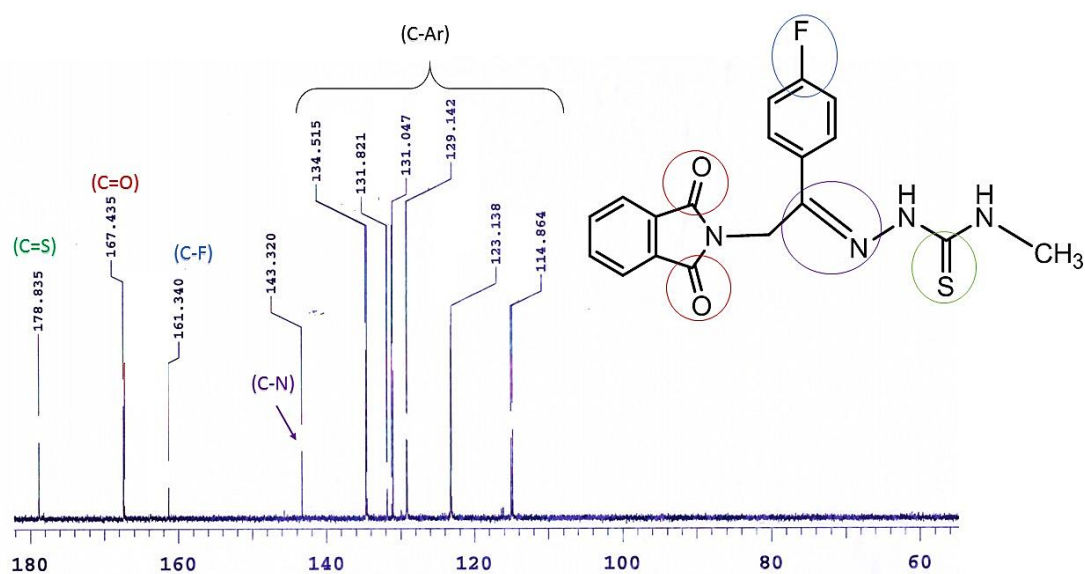
encontram os carbonos ligados a elementos mais eletronegativos, por exemplo as ligações C=N em 143,32ppm, o C-F em 167,43, o C=O em 167,435ppm e C=S em 178,835.

Figura 19 - Espectro de RMN ^{13}C da molécula IRSB.04. na região de 10ppm a 80ppm.



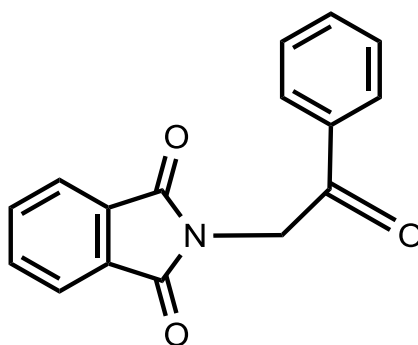
Fonte: Autor

Figura 20 - Espectro de RMN ^{13}C da molécula IRSB.04 na região de 90ppm a 180ppm.



Fonte: Autor

4.3.1 Composto Intermediário 2 (IRS.01):



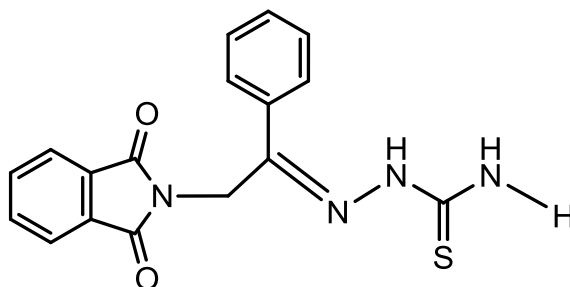
Fórmula Molecular: C₁₆H₁₁NO₃

Massa Molar: 265,263g/mol

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300MHz), δ_{ppm}: 5,24 (s, 2H, CH₂), 7,61 (d, J=7,9 Hz, 2H, CH-Ar), 7,72 (d, 1H, CH-Ar), 7,93 (d, J=7,5 Hz, 4H, CH-Ar), 8,1 (d, J=7,2 Hz, 2H, CH-Ar);

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75MHz) δ_{ppm}: 44,48 (CH₂), 123,37 (C-Ar), 128,23 (C-Ar), 128,99 (C-Ar), 131,52(C-Ar), 133,91 (C-Ar), 134,30 (C-Ar), 134,79 (C-Ar), 167,49 (C=O), 192,32 (C=O).

4.3.2 Composto IRS.02:



Fórmula Molecular: C₁₇H₁₄N₄O₂S

Massa Molar: 338,384g/mol

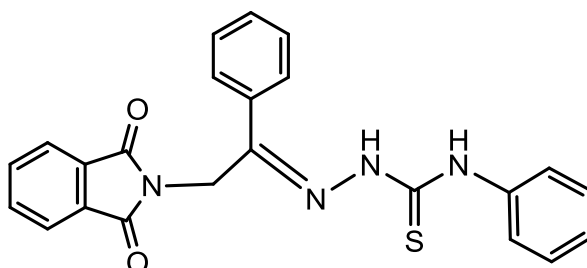
RMN ¹H (DMSO-d₆, 300MHz), δ_{ppm}: 4,9 (s, 2H, CH₂), 7,34 (m, 3H, CH-Ar), 7,79 (m, 6H, CH-Ar), 8,45 (s, 1H, NH₂), 10,67 (s, 1H, NH);

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75MHz) δ_{ppm}: 34,42 (CH₂), 123,76 (C-Ar), 127,39 (C-Ar), 128,57 (C-Ar), 129,87(C-Ar), 131,56 (C-Ar), 135,21 (C-Ar), 135,74 (C-Ar), 145,19 (C=N), 167,90 (C=O), 179,79 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado [M+H]⁺: 338,084 ; Valor encontrado: 339,079

4.3.3 Composto IRS.03:



Fórmula Molecular: C₂₃H₁₈N₄O₂S

Massa Molar: 414,480g/mol

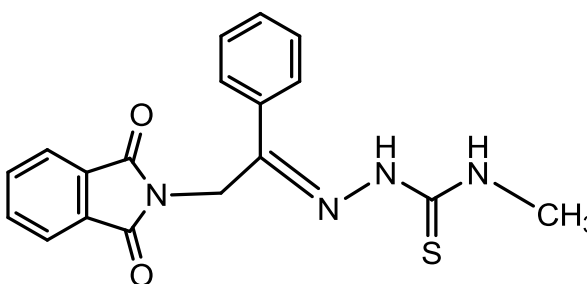
RMN ¹H (DMSO-d₆, 300MHz), δ_{ppm}: 4,81 (s, 1H, NH), 5,01 (s, 2H, CH₂), 7,26 (m, 1H, CH-Ar), 7,36 (m, 6H, CH-Ar), 7,58 (m, 1H, CH-Ar), 7,83 (m, 6H, CH-Ar), 10,14 (s, 1H, NH);

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75MHz) δ_{ppm}: 34,21 (CH₂), 123,30 (C-Ar), 123,87 (C-Ar), 125,85 (C-Ar), 127,32 (C-Ar), 128,09 (C-Ar), 129,30 (C-Ar), 131,10 (C-Ar), 134,75 (C-Ar), 135,12 (C-Ar), 139,00 (C-Ar), 145,57 (C=N), 147,50 (C-Ar), 167,48 (C=O), 177,42 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado [M+H]⁺: 414,115 ; Valor encontrado: 415,084

4.3.4 Composto IRS.04:



Fórmula Molecular: C₁₈H₁₆N₄O₂S

Massa Molar: 352,410g/mol

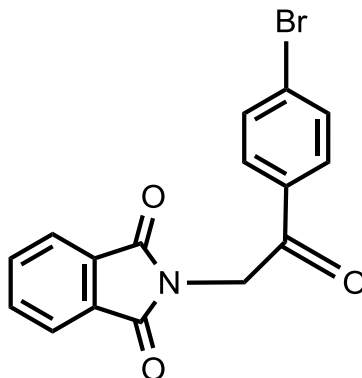
RMN ¹H (DMSO-d₆, 300MHz), δ_{ppm}: 3,06 (d, 3H, CH₃), 5,24 (s, 2H, CH₂), 7,31 (d, J=6 Hz, 2H, CH-Ar), 7,59 (t, J=6 Hz, 1H, CH-Ar), 7,76 (m, 4H, CH-Ar), 7,94 (m, 4H, CH-Ar), 8,1 (d, J=6 Hz, 2H, CH-Ar), 8,54 (d, J=3Hz, 1H, NH), 10,70 (s, 1H, NH);

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75MHz) δ_{ppm}: 31,17 (CH₃), 44,46 (CH₂), 123,25 (C-Ar), 126,90 (C-Ar), 128,20 (C-Ar), 129,34(C-Ar), 131,51 (C-Ar), 134,52 (C-Ar), 134,76 (C-Ar), 144,50 (C=N), 167,43 (C=O), 178,92 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[M+H]^+$: 352,099 ; Valor encontrado: 353,096

4.3.5 Composto Intermediário 2. (IRSA.01):



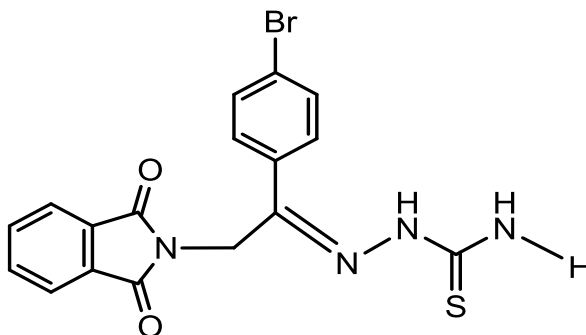
Fórmula Molecular: $C_{16}H_{10}BrNO_3$

Massa Molar: 344,160g/mol

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300MHz), δ ppm: 5,22 (s, 2H, CH_2), 7,80 (d, $J=6$ Hz, 2H, CH-Ar), 7,91 (d, 4H, CH-Ar), 8,01 (d, $J=6$ Hz, 2H, CH-Ar);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75MHz) δ ppm: 44,45 (CH_2), 123,40 (C-Ar), 130,25 (C-Ar), 131,51 (C-Ar), 132,09 (C-Ar), 134,82 (C-Ar), 167,45 (C=O), 191,80 (C=O).

4.3.6 Composto IRSA.02:



Fórmula Molecular: $C_{17}H_{13}BrN_4O_2S$

Massa Molar: 417,280g/mol

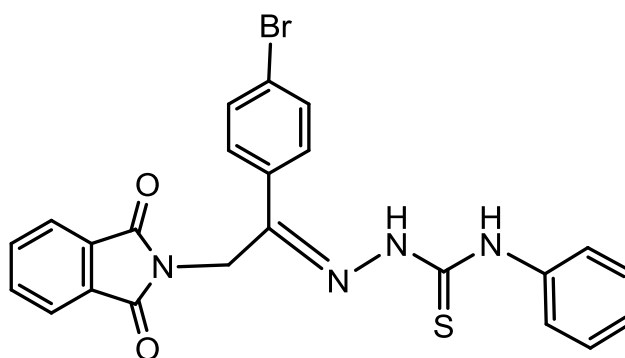
RMN 1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ ppm: 4,90 (s, 2H, CH_2), 7,49 (d, $J=8$ Hz, 2H, CH-Ar), 7,67 (m, 2H, CH-Ar), 7,77 (m, 4H, CH-Ar), 8,49 (s, 2H, NH_2), 10,69 (s, 1H, NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ_{ppm} : 33,65 (CH_2), 123,32 (C-Ar), 128,99 (C-Ar), 131,02 (C-Ar), 131,09(C-Ar), 134,62 (C-Ar), 134,76 (C-Ar), 143,21 (C=N), 167,45 (C=O), 179,33 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$:415,994; Valor encontrado: 416,979

4.3.7 Composto IRSA.03:



Fórmula Molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{BrN}_4\text{O}_2\text{S}$

Massa Molar: 493,376g/mol

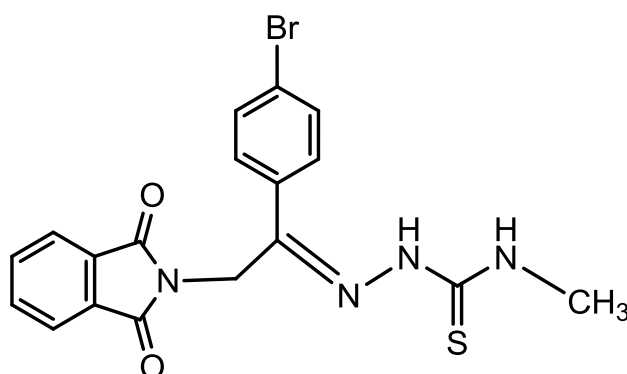
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ_{ppm} : 4,99 (s, 2H, CH_2), 7,23 (m, 1H, CH-Ar), 7,34 (m, 4H, CH-Ar), 7,38 (m, 2H, CH-Ar), 7,54 (m, 2H, CH-Ar), 7,84 (m, 4H, CH-Ar), 10,20 (s, 1H, NH), 11,05 (s, 1H, NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ_{ppm} : 33,97 (CH_2), 122,95 (C-Ar), 123,39 (C-Ar), 125,63 (C-Ar), 126,12(C-Ar), 128,14 (C-Ar), 129,27(C-Ar), 131,07 (C-Ar), 131,13 (C-Ar), 134,47 (C-Ar), 134,84 (C-Ar), 139, 02 (C-Ar), 144,13 (C=N), 167,55 (C=O), 177,47 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$:492,026; Valor encontrado: 493,003

4.3.8 Composto IRSA.04:



Fórmula Molecular: C₁₈H₁₅BrN₄O₂S

Massa Molar: 431,306g/mol

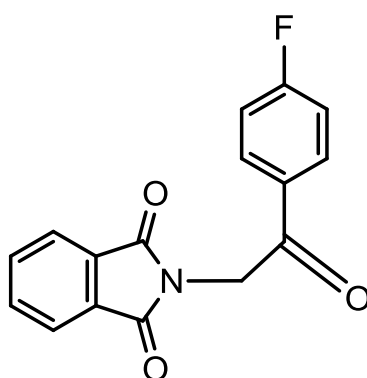
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz), δ_{ppm}: 3,05 (d, J=4,8 Hz 3H, CH₃), 4,91 (s, 2H, CH₂), 7,52 (d, J=8,8 Hz, 2H, CH-Ar), 7,76 (d, J=8,4 Hz, 2H, CH-Ar), 7,81 (m, 4H, CH-Ar), 8,60 (d, J=4,4 Hz, 1H, NH), 10,72 (s, 1H, NH);

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100MHz) δ_{ppm}: 31,18 (CH₃), 33,70 (CH₂), 122,65 (C-Ar), 123,30 (C-Br), 128,95 (C-Ar), 131,02(C-Ar), 131,09 (C-Ar), 134,69 (C-Ar), 134,74 (C-Ar), 143,00 (C=N), 167,47 (C=O), 178,86 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado [M+H]⁺:430,010; Valor encontrado: 430,962

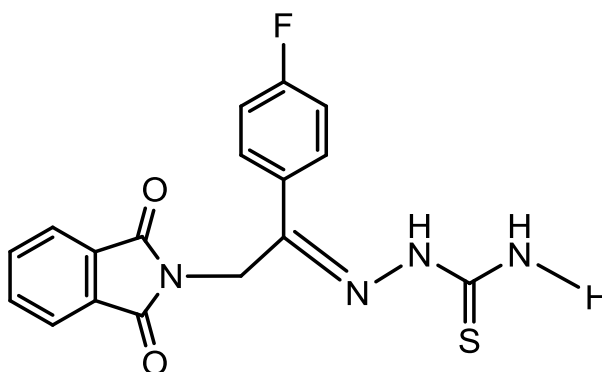
4.3.9 Composto Intermediário IRSB.01:



Fórmula Molecular: C₁₆H₁₀FNO₃

Massa Molar: 283,254g/mol

4.3.10 Composto IRSB.02:



Fórmula Molecular: C₁₇H₁₃FN₄O₂S

Massa Molar: 356,374g/mol

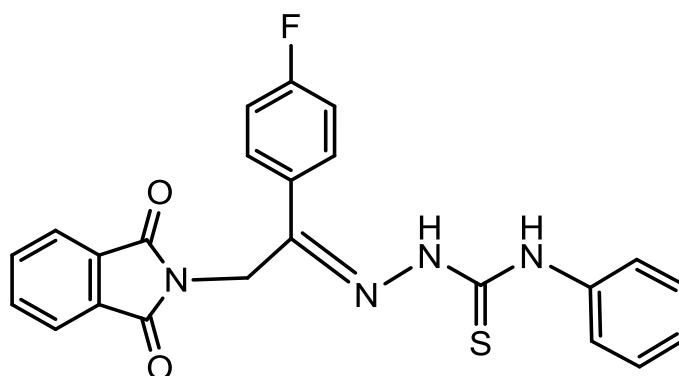
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz), δ_{ppm}: 4,92 (s, 2H, CH₂), 7,15 (t, J=8,8 Hz, 2H, CH-Ar), 7,83 (m, 6H, CH-Ar), 8,47 (s, 1H, NH), 10,67 (s, 2H, NH₂);

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100MHz) δ_{ppm}: 34,31 (CH₂), 115,34 (C-Ar), 123,61 (C-Ar), 129,66 (C-Ar), 132,27 (C-Ar), 134,98 (C-Ar), 143,97 (C=N), 146,58 (C-Ar), 161,85 (C-F), 167,90 (C=O), 179,74 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado [M+H]⁺: 356,074; Valor encontrado: 357,071

4.3.11 Composto IRSB.03:



Fórmula Molecular: C₂₃H₁₇FN₄O₂S

Massa Molar: 432,470g/mol

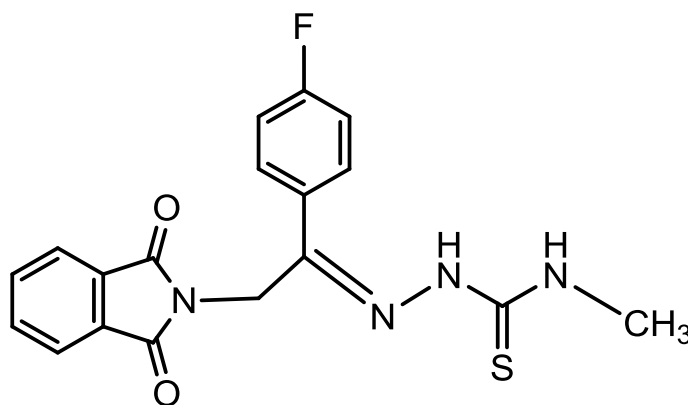
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz), δ_{ppm}: 5,00 (s, 2H, CH₂), 7,21 (m, 2H, CH-Ar), 7,39 (m, 2H, CH-Ar), 7,5 (m, 2H, CH-Ar), 7,58 (d, J=8 Hz, 2H, CH-Ar), 7,83 (m, 4H, CH-Ar), 7,90 (m, 2H, CH-Ar), 10,18 (s, 1H, NH), 11,01 (s, 1H, NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ ppm: 34,63 (CH_2), 115,39 (C-Ar), 123,80 (C-Ar), 125,99 (C-Ar), 126,45 (C-Ar), 128,55 (C-Ar), 129,96 (C-Ar), 132,10 (C-Ar), 132,12 (C-Ar), 135,24 (C-Ar), 139,48 (C-Ar), 144,82 ($\text{C}=\text{N}$), 164,45 (C-F), 167,98 ($\text{C}=\text{O}$), 178,88 ($\text{C}=\text{S}$).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 432,106; Valor encontrado: 433,112

4.3.12 Composto IRSB.04:



Fórmula Molecular: $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{FN}_4\text{O}_2\text{S}$

Massa Molar: 370,401g/mol

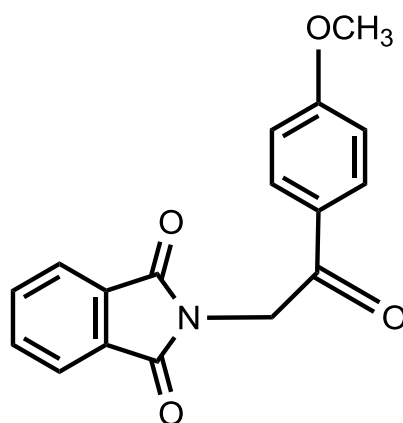
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ ppm: 3,06 (d, $J=4,8$ Hz, 3H, CH_3), 4,92 (s, 2H, CH_2), 7,17 (t, $J=9$ Hz, 2H, CH-Ar), 7,84 (m, 6H, CH-Ar), 8,58 (d, $J=4$ Hz, 1H, NH), 10,69 (s, 1H, NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ ppm: 31,12 (CH_3), 33,86 (CH_2), 114,86 (C-Ar), 123,13 (C-Ar), 129,14 (C-Ar), 131,04 (C-Ar), 131,82 (C-Ar), 134,51 (C-Ar), 143,32 ($\text{C}=\text{N}$), 161,34 (C-F), 167,43 ($\text{C}=\text{O}$), 178,83 ($\text{C}=\text{S}$).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 370,090; Valor encontrado: 371,100

4.3.13 Composto Intermediário IRSC.01:



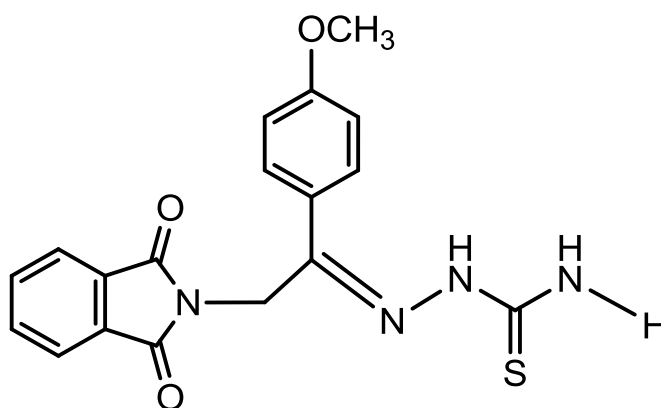
Fórmula Molecular: $C_{17}H_{13}NO_4$

Massa Molar: 295,289g/mol

RMN 1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ ppm: 3,88 (s, 3H, CH_3), 5,18 (s, 2H, CH_2), 7,21 (d, $J=2$ Hz, 2H, CH-Ar), 7,93 (m, 4H, CH-Ar), 8,08 (d, $J=2$ Hz, 2H, CH-Ar);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ ppm: 44,12 (CH_2), 55,63 (CH_3-O), 114,18 (C-Ar), 123,29 (C-Ar), 126,08 (C-Ar), 130,59 (C-Ar), 131,52 (C-Ar), 134,71 (C-Ar), 173,87, (C-O), 167,51 (C=O), 190,37 (C=O).

3.3.14 Composto IRSC.02:



Fórmula Molecular: $C_{18}H_{16}N_4O_3S$

Massa Molar: 368,410g/mol

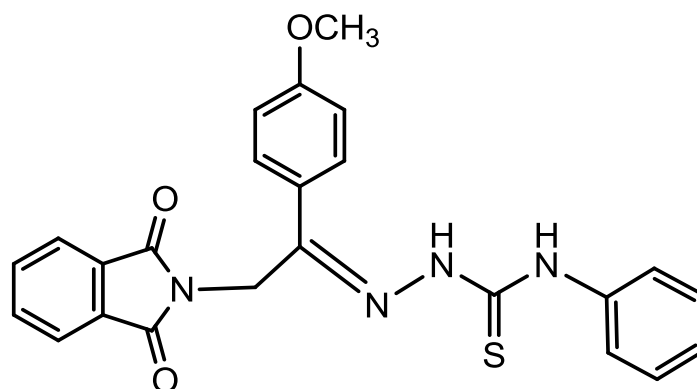
RMN 1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ ppm: 3,71 (s, 3H, CH_3), 4,88 (s, 2H, CH_2), 6,85 (d, $J=8,8$ Hz, 2H, CH-Ar), 7,80 (m, 6H, CH-Ar), 8,41 (s, 2H, NH_2), 10,60 (s, 1H, NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ ppm: 33,69 (CH_2), 55,13 ($\text{CH}_3\text{-O}$), 113,53 (C-Ar), 123,32 (C-Ar), 127,57 (C-Ar), 128,46(C-Ar), 131,11 (C-Ar), 134,76 (C-Ar), 144,48 (C=N), 160,14 (C-O), 167,48 (C=O), 179,05 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 368,094; Valor encontrado: 369,112

4.3.15 Composto IRSC.03:



Fórmula Molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$

Masa Molar: 444,506g/mol

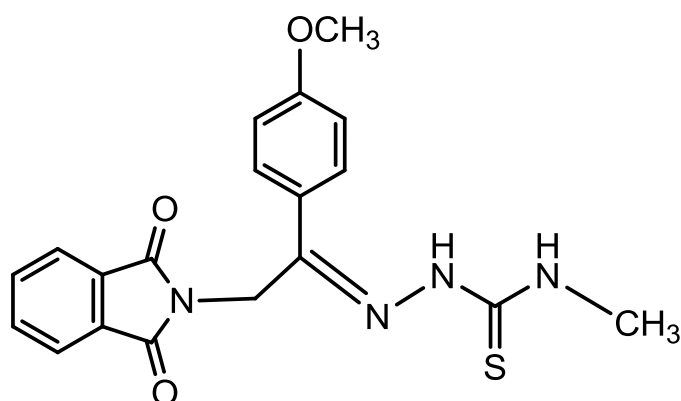
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ ppm: 3,73 (s, 3H, CH_3), 4,96 (s, 2H, CH_2), 6,88 (d, $J=8,8$ Hz, 2H, CH-Ar), 7,22 (m, 1H, CH-Ar), 7,39 (m, 2H, CH-Ar), 7,59 (d, $J=7,6$ Hz, 2H, CH-Ar), 7,85 (m, 6H, CH-Ar), 10,09 (s, 1H, NH), 10,92 (s, 1H, NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ ppm: 33,90 (CH_2), 55,24 ($\text{CH}_3\text{-O}$), 113,54 (C-Ar), 123,35 (C-Ar), 125,73 (C-Ar), 127,39 (C-Ar), 128,05 (C-Ar), 128,22 (C-Ar), 128, 71 (C-Ar), 129,04(C-Ar), 131,12(C-Ar), 134,78 (C-Ar), 139,03 (C-Ar), 147,38 (C=N), 160,31 (C-Ar), 167,51 (C=O), 177,12 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 444,126; Valor encontrado: 445,126

4.3.16 Composto IRSC.04:



Fórmula Molecular: $C_{19}H_{18}N_4O_3S$

Massa Molar: 382,436g/mol

∴

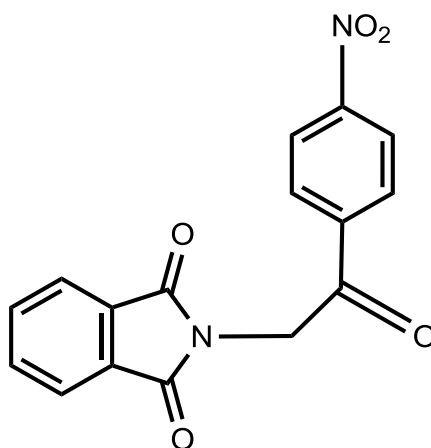
RMN 1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ ppm: 3,05 (d, $J=4,4$ Hz, 3H, CH_3), 3,31, (s, 3H, CH_3), 4,88 (s, 2H, CH_2), 6,87 (d, $J=9,2$ Hz, 1H, NH), 7,81 (m, 6H, CH-Ar), 8,4 (m, 2H, CH-Ar), 10,54 (s, 1H,NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ ppm: 31,13 (CH_3), 30,70 (CH_2), 55,11 (CH_3 -O) 113,51 (C-Ar), 123,16 (C-Ar), 127,64 (C-Ar), 128,42 (C-Ar), 131,10 (C-Ar), 138,30 (C-Ar), 144,28 (C=N), 160,11 (C-O), 167,32 (C=O), 178,78 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[M+H]^+$: 382,110; Valor encontrado: 383,117

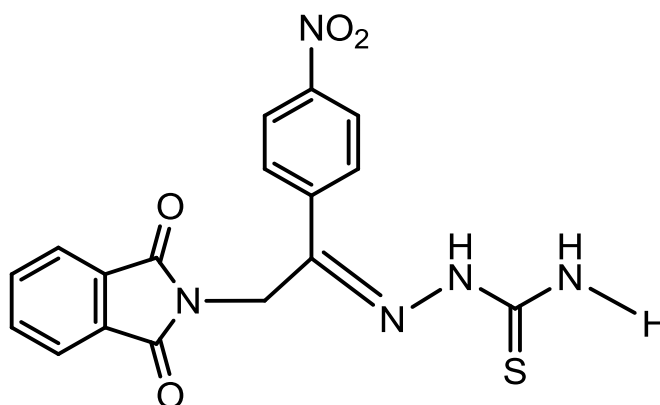
4.3.17 Composto Intermediário IRSD.01:



Fórmula Molecular: $C_{16}H_{10}N_2O_5$

Massa Molar: 310,261g/mol

4.3.18 Composto IRSD.02:



Fórmula Molecular: C₁₇H₁₃N₅O₄S

Massa Molar: 383,381g/mol

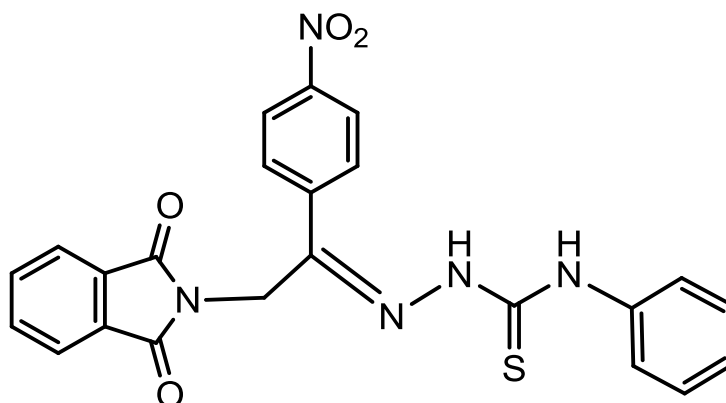
RMN ¹H (DMSO-d₆, 300MHz), δ ppm: 5,00 (s, 2H, CH₂), 7,61 (m, 2H, CH-Ar), 7,89 (m, 2H, CH-Ar), 8,26 (m, 2H, CH-Ar), 8,58 (m, 2H, CH-Ar), 8,76 (s, 2H, NH₂), 10,79 (s, 1H, NH);

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75MHz) δ ppm: 44,71 (CH₂), 123,31 (C-Ar), 128,32 (C-Ar), 130,76 (C-Ar), 131,44 (C-Ar), 134,47 (C-Ar), 137,18 (C-Ar), 141,87 (C=N), 147,88 (C-Ar), 167,53 (C=O), 179,45 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado [M+H]⁺: 383,069; Valor encontrado: 384,057

4.3.19 Composto IRSD.03:



Fórmula Molecular: C₂₃H₁₇N₅O₄S

Massa Molar: 459,477g/mol

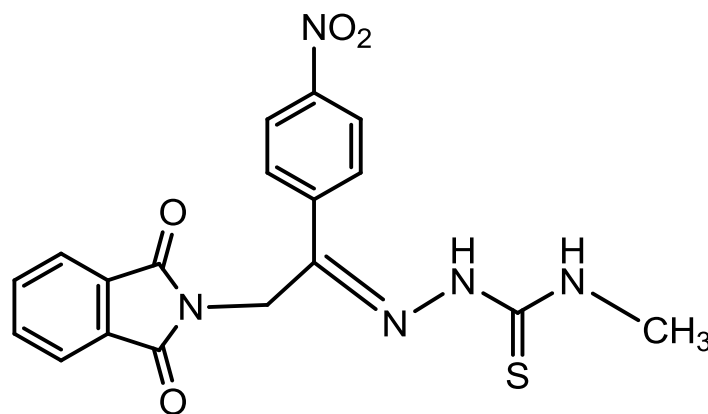
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ_{ppm} : 5,08 (s, 2H, CH_2), 7,24 (m, 1H, CH-Ar), 7,41 (m, 2H, CH-Ar), 7,54 (d, $J=7,2$ Hz, 2H, CH-Ar), 7,85 (m, 4H, CH-Ar), 8,17 (d, $J=8,4$ Hz, 2H, CH-Ar), 8,39 (d, $J=8$ Hz, 2H, CH-Ar), 10,33 (s, 1H, NH), 11,12 (s, 1H, NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ_{ppm} : 33,96 (CH_2), 121,95 (C-Ar), 123,38 (C-Ar), 125,74 (C-Ar), 126,21 (C-Ar), 128,17 (C-Ar), 129,61 (C-Ar), 131,16(C-Ar), 133,65 (C-Ar), 134,80 (C-Ar), 137,05 (C-Ar), 139,00(C-Ar), 142,78 (C=N), 147,87 (C-N), 167,63 (C=O), 177,65 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 459,100; Valor encontrado: 460,098

4.3.20 Composto IRSD.04:



Fórmula Molecular: $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$

Massa Molar: 397,408g/mol

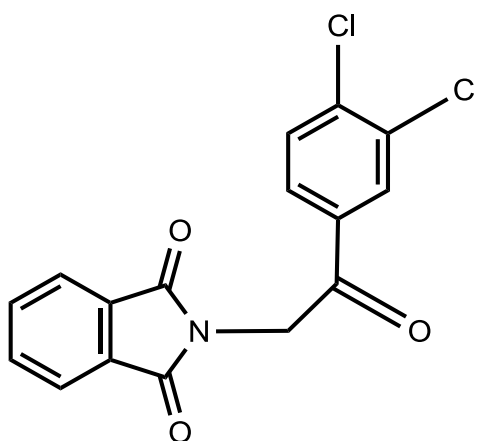
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ_{ppm} : 3,07 (d, $J=3,6$ Hz, 3H, CH_3), 5,00 (s, 2H, CH_2), 7,81 (m, 4H, CH-Ar), 8,16 (d, $J=8,4$ Hz, 2H, CH-Ar), 8,32 (d, $J=7,6$ Hz, 2H, CH-Ar), 8,74 (d, $J=3,6$ Hz, 1H, NH_2), 10,81 (s, 1H, NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ_{ppm} : 31, 26 (CH_3), 33,76 (CH_2), 123,34 (C-Ar), 129,58 (C-Ar), 131,45 (C-Ar), 133,35(C-Ar), 134,74 (C-Ar), 137,29 (C-Ar), 141,89 (C=N), 147,89 (C-Ar), 167,57 (C=O), 178,88 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 397,084; Valor encontrado: 398,078

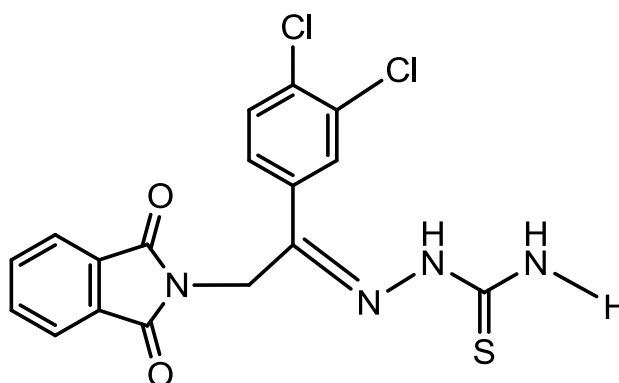
4.3.21 Composto Intermediário IRSE.01:



Fórmula Molecular: $C_{16}H_9Cl_2NO_3$

Massa Molar: 334,154g/mol

4.3.22 Composto IRSE.02:



Fórmula Molecular: $C_{17}H_{12}Cl_2N_4O_2S$

Massa Molar: 407,274g/mol

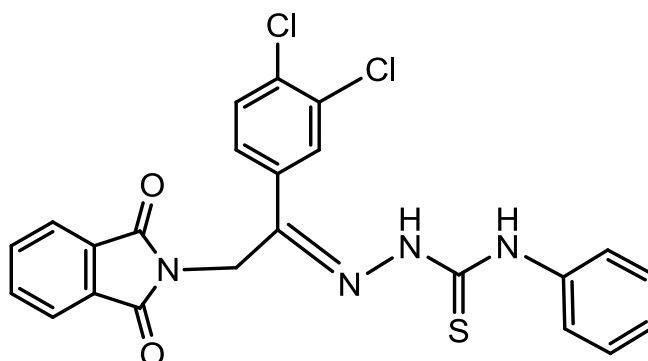
RMN 1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ ppm: 4,91 (s, 2H, CH_2), 7,57 (d, $J=8,4$ Hz, 1H, CH-Ar), 7,84 (m, 4H, CH-Ar), 8,18 (s, 1H, CH-Ar), 8,27 (s, 1H, CH-Ar), 8,54 (s, 2H, NH_2), 10,71 (s, 1H, NH)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ ppm: 33,44 (CH_2), 123,32 (C-Ar), 126,90 (C-Ar), 128,83 (C-Ar), 130,09 (C-Ar), 131,10 (C-Ar), 131,21 (C-Ar), 131,70 (C-Ar), 134,74 (C-Cl), 136,03 (C-Cl), 141,53 (C=N), 167,55 (C=O), 179,33 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[M+H]^+$: 406,006; Valor encontrado: 406,968

4.3.23 Composto IRSE.03.:



Fórmula Molecular: $C_{23}H_{16}Cl_2N_4O_2S$

Massa Molar: 483,370g/mol

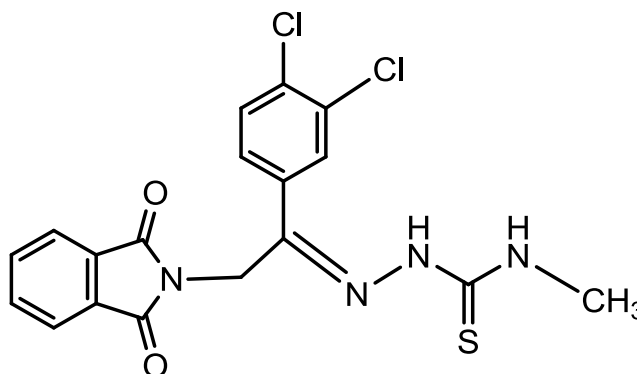
RMN 1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ ppm: 4,99 (s, 2H, CH_2), 7,30 (m, 1H, CH-Ar), 7,40 (m, 2H, CH-Ar), 7,56 (m, 3H, CH-Ar), 7,86 (m, 6H, CH-Ar); 10,29 (s, 1H, NH), 11,05 (s, 1H, NH)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ ppm: 33,76 (CH_2), 123,38 (C-Ar), 125,76 (C-Ar), 126,40 (C-Ar), 127,21 (C-Ar), 128,14 (C-Ar), 129,98 (C-Ar), 130,15 (C-Ar), 131,16 (C-Ar), 131,88 (C-Ar), 134,81 (C-Ar), 135,92 (C-Ar), 139,03 (C-Ar), 142,47 (C=N), 167,63 (C=O), 177,60 (C=S);

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[M+H]^+$: 482,021; Valor encontrado: 383,006

4.3.24 Composto IRSE.04:



Fórmula Molecular: $C_{18}H_{14}Cl_2N_4O_2S$

Massa Molar: 421,300g/mol

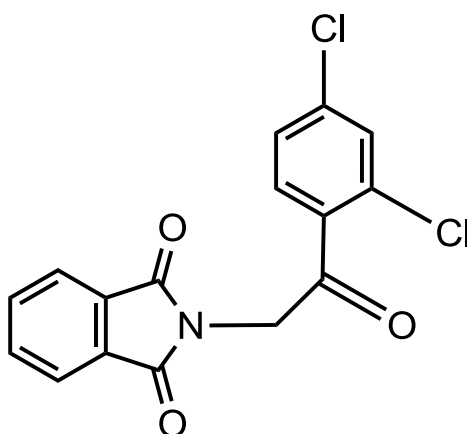
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ_{ppm} : 3,07 (d, $J=4,8\text{Hz}$, 3H, CH_3), 4,91 (s, 2H, CH_2), 7,59 (d, $J=8,4\text{ Hz}$, 1H, CH-Ar), 7,82 (m, 4H, CH-Ar), 8,15 (d, $J=2\text{ Hz}$, 2H, CH-Ar), 8,71 (d, $J=4,4\text{ Hz}$, 1H, NH), 10,74 (s, 1H, NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ_{ppm} : 31,27 (CH_3), 33,52 (CH_2), 123,35 (C-Ar), 126,96 (C-Ar), 128,78 (C-Ar), 130,18(C-Ar), 131,13 (C-Ar), 131,19 (C-Ar), 131,67 (C-Cl), 134,78 (C-Cl), 141,43 (C=N), 167,60 (C=O), 178,79 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 420,021; Valor encontrado: 421,026

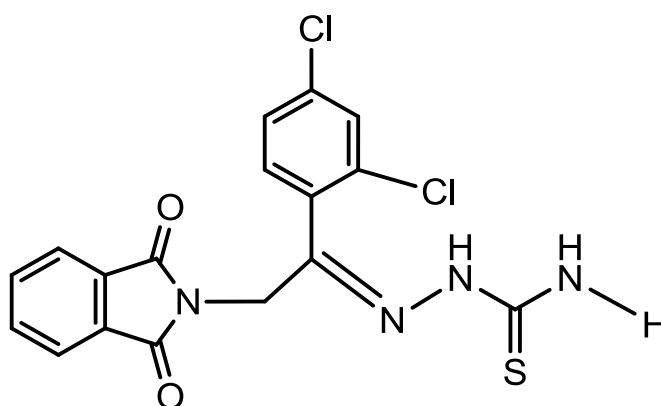
4.3.25 Composto Intermediário IRSF.01:



Fórmula Molecular: $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{NO}_3$

Massa Molar: 334,154g/mol

4.3.26 Composto IRSF.02:



Fórmula Molecular: $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$

Massa Molar: 407,274g/mol

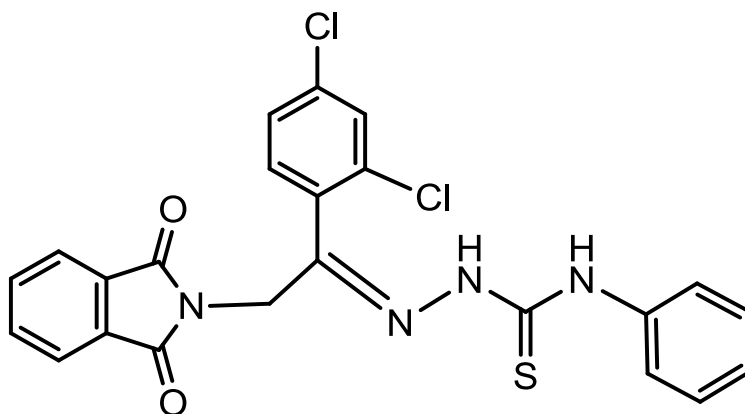
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ_{ppm} : 3,32 (s, 2H, CH_2), 7,30 (d, $J=8,4$ Hz, 1H, CH-Ar), 7,47 (d, $J=8$ Hz, 1H, CH-Ar), 7,69 (s, 1H, CH-Ar), 7,84 (m, 4H, CH-Ar), 8,32 (s, 1H, NH), 10,04 (s, 2H, NH_2);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ_{ppm} : 42,52 (CH_2), 123,21 (C-Ar), 128,02 (C-Ar), 129,42 (C-Ar), 129,84 (C-Ar), 131,35 (C-Ar), 132,70 (C-Ar), 134,58 (C-Ar), 135,23 (C-Ar), 142,00 (C=N), 167,19 (C=O), 179,10 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 406,006; Valor encontrado: 406,968

4.3.27 Composto IRSF.03:



Fórmula Molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$

Massa Molar: 483,370g/mol

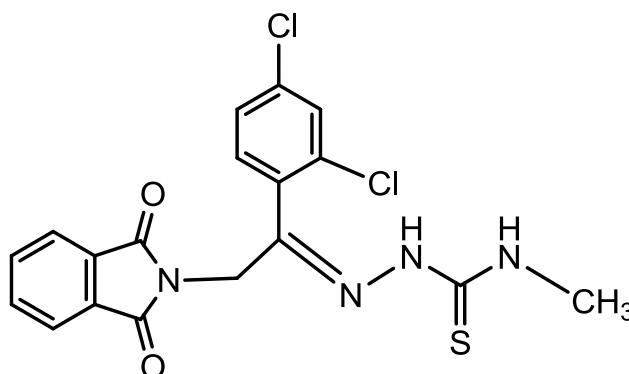
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ_{ppm} : 4,75 (s, 2H, CH_2), 7,16 (1H, CH-Ar), 7,32 (m, 2H, CH-Ar), 7,44 (m, 2H, CH-Ar), 7,56 (m, 2H, CH-Ar), 7,71 (s, 1H, C-Ar), 7,85(m, 4H, C-Ar);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ_{ppm} : 42,54 (CH_2), 123,31 (C-Ar), 125,35(C-Ar), 127,00 (C-Ar), 127,98 (C-Ar), 128,07 (C-Ar), 128,64 (C-Ar), 129,82 (C-Ar), 131,04 (C-Ar), 131,34(C-Ar), 132,81 (C-Ar), 133,90 (C-Ar), 134,70 (C-Ar), 135,31 (C-Ar), 138,71 (C-Ar), 142,25 (C=N), 167,26 (C=O), 177,61 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 482,037; Valor encontrado: 483,024

4.3.28 Composto IRSF.04:



Fórmula Molecular: C₁₈H₁₄Cl₂N₄O₂S

Massa Molar: 421,300g/mol

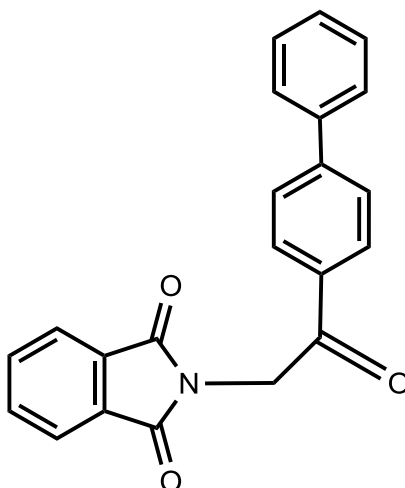
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz), δ_{ppm}: 2,95 (d, J=4,4Hz, 3H, CH₃), 4,89 (s, 2H, CH₂), 7,27 (s, 1H, CH-Ar), 7,43 (d, J= 2Hz, 1H, CH-Ar), 7,65 (d, J=2 Hz, 1H, CH-Ar), 7,83 (m, 4H, CH-Ar), 8,45 (d, J=4,8 Hz, 1H, NH), 9,95 (s, 1H, NH);

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100MHz) δ_{ppm}: 31,07 (CH₃), 42,79 (CH₂), 123,22 (C-Ar), 127,01 (C-Ar), 128,58 (C-Ar), 129,36 (C-Ar), 131,32 (C-Ar), 13,53 (C-Ar), 133,13 (C-Ar), 134, 06 (C-Ar), 134,59 (C-Ar), 141,37 (C=N), 167,19 (C=O), 179,15 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado [M+H]⁺: 420,021; Valor encontrado: 421,008

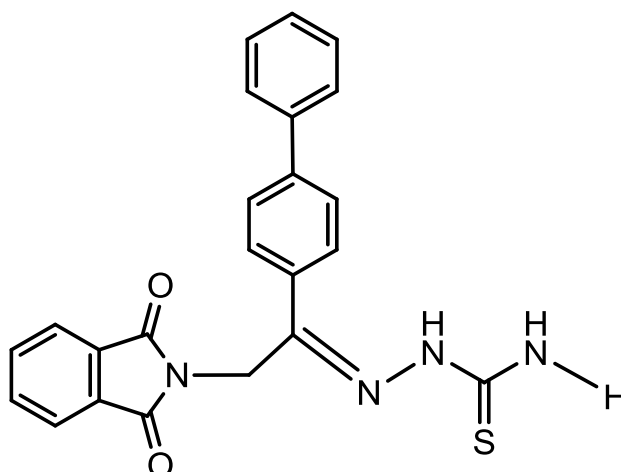
4.3.29 Composto Intermediário IRSG.01:



Fórmula Molecular: C₂₂H₁₅NO₃

Massa Molar: 341,359g/mol

4.3.30 Composto IRSG.02:



Fórmula Molecular: $C_{23}H_{18}N_4O_2S$

Massa Molar: 414,480g/mol

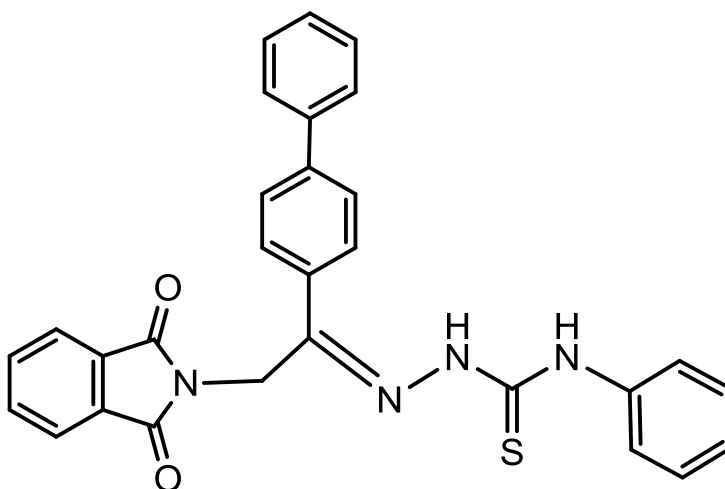
RMN 1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ ppm: 4,96 (s, 2H, CH_2), 7,45 (m, 1H, CH-Ar), 7,63 (m, 4H, CH-Ar), 7,70 (d, $J=7,6$ Hz, 4H, CH-Ar), 7,81 (m, 2H, CH-Ar) 7,92 (d, $J=78,4$ Hz, 2H, CH-Ar), 9,21 (s, 2H, NH_2), 10,69 (s, 1H, NH);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ ppm: 42,57 (CH_2), 123,35 (C-Ar), 126,28 (C-Ar), 127,52 (C-Ar), 128,92(C-Ar), 129,82 (C-Ar), 131,46 (C-Ar), 134,53 (C-Ar), 140,70 (C-Ar), 141,50 (C=N), 143,93 (C-Ar), 146,81 (C-Ar), 167,54 (C=O), 179,30 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[M+H]^+$: 414,115; Valor encontrado: 415,106

4.3.31 Composto IRSG.03:



Fórmula Molecular: $C_{29}H_{22}N_4O_2S$

Massa Molar: 490,576g/mol

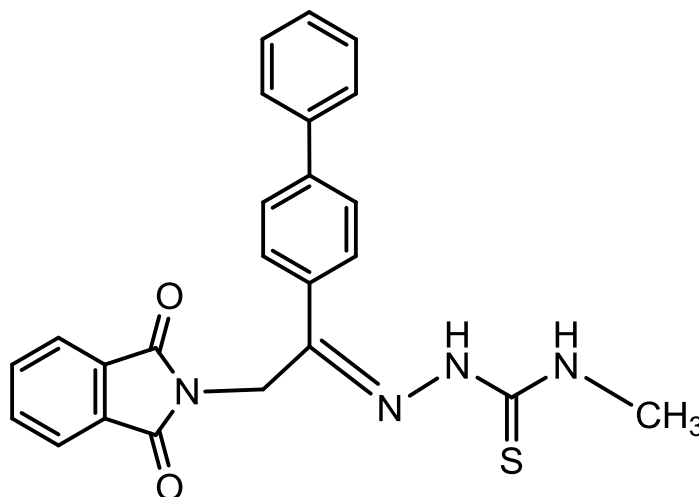
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz), δ_{ppm} : 5,04 (s, 2H, CH_2), 7,23 (m, 2H, CH-Ar), 7,41 (m, 4H, CH-Ar), 7,66 (m, 6 H, CH-Ar), 7,86 (m, 4H, CH-Ar), 8,00 (d, $J=8\text{Hz}$, 2H, CH-Ar), 10,20 (s, 1H, CH-Ar), 11.03 (s, 1H, CH-Ar);

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100MHz) δ_{ppm} : 33,96 (CH_2), 123,35 (C-Ar), 125, 50 (C-Ar), 125,87 (C-Ar), 126,28 (C-Ar), 126,71 (C-Ar), 127,76 (C-Ar), 128,10 (C-Ar), 128,25 (C-Ar), 128,92(C-Ar), 129,03(C-Ar), 131,51(C-Ar), 134,21 (C-Ar), 134,78 (C-Ar), 139,13 (C-Ar), 140,85 (C-Ar), 144,78 (C=N), 167,57 (C=O), 177,34 (C=S).

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 490,146; Valor encontrado: 491,131

4.3.32 Composto IRSG.04:



Fórmula Molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$

Massa Molar: 428,506g/mol

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300MHz), δ_{ppm} : 3,08 (d, $J=4,4\text{Hz}$, 3H, CH_3), 4,95 (s, 2H, CH_2), 7,36 (m, 1H, CH-Ar), 7,46 (m, 2H, CH-Ar), 7,53 (m, 2H, CH-Ar), 7,65 (m, 2H, CH-Ar), 7,82 (m, 2H, CH-Ar), 7,91 (m, 2H, CH-Ar), 7,97 (m, 2H, CH-Ar), 8,60 (d, $J=4,4\text{Hz}$, 1H, NH), 10,70 (s, 1H, NH);

Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):

Valor calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$: 428,131; Valor encontrado: 429,129

5 CAPÍTULO DOIS: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*T.cruzi* DAS FTALIMIDO-TIOSSEMICARBAZONAS

5.1 MATERIAL E MÉTODO

5.1.1 Ensaio de Citotoxicidade (CC₅₀ Frente a Células de Linhagem Macrofágica J774)

Macrófagos da linhagem J774A.1 foram semeados em placas de 96 poços contendo meio DMEM completo em atmosfera de 5% de CO₂ a 37°C por 24h. Posteriormente, foram adicionados os compostos em diferentes concentrações (0,19µg/ml; 1,56µg/ml; 6,25µg/ml; 25µg/ml; 100µg/ml), sendo novamente incubados durante 48 h. Cada composto foi testado em duplicata.

Após esse período, foi adicionado MTT (5mg/mL em PBS), seguido de nova incubação por 2h. Foi acrescentado DMSO para dissolução dos cristais de formazan e a absorbância foi lida a 570nm. O controle negativo da reação foi obtido em poços contendo apenas meio de cultura e células (sem tratamento). Também foi avaliada a atividade da droga de referência benzonidazol. A partir dos valores de inibição da cultura, foi obtida a CC₅₀ por meio de uma regressão linear simples utilizando o “software” Graphpad Prism 5.0.

5.1.2 Atividade Biológica Frente a Epimastigotas *T.cruzi*

Para determinar o efeito anti-proliferativo para formas epimastigota da cepa DM28c (10⁶ parasitas/ml), mantidas em meio LIT+1% de antibiótico+10% de SFB, foram semeadas em placas de 96 poços a 26°C, juntamente com diferentes concentrações dos compostos (0,19µg/ml; 1,56µg/ml; 6,25µg/ml; 25µg/ml; 100µg/ml) por 96 h. Cada composto foi testado em duplicata. O controle negativo da reação foi obtido em poços sem tratamento e a droga de referência utilizada como controle positivo foi o benzonidazol. A viabilidade parasitária foi determinada por contagem direta em câmara de Neubauer e, a partir desses valores, foi obtida a IC₅₀ (concentração que inibe o crescimento de 50% de parasitas) por meio de uma regressão linear simples utilizando o “software” Prisma 5.0 Graphpad.

5.1.3 Atividade Biológica Frente a *Tripomastigotas T.cruzi*

As formas tripomastigotas (cepa Y) foram obtidas a partir da infecção in vitro (10^7 parasitas) da linhagem de células Vero, após estas obterem confluência em cultura. Para determinar o efeito anti-proliferativo para formas tripomastigotas da cepa Y (4×10^6 parasitas/ml), mantidas em meio RPMI+1% de antibiótico+5% de SFB, foram semeadas em placas de 96 poços a 37°C, juntamente com diferentes concentrações dos compostos (0,19µg/ml; 1,56µg/ml; 6,25µg/ml; 25µg/ml; 100µg/ml) por 24 h a atmosfera de 5% de CO₂, 37°C. Cada composto foi testado em duplicata. O controle negativo da reação foi obtido em poços sem tratamento e a droga de referência utilizada como controle positivo foi o benzonidazol. A viabilidade parasitária foi determinada por contagem direta em câmara de Neubauer e, a partir desses valores, foi obtida a IC₅₀ por meio de uma regressão linear simples utilizando o “software” Prisma 5.0 Graphpad.

5.2 RESULTADOS

Os valores obtidos em teste de atividade biológica para citotoxicidade, IC₅₀ tripomastigota, IS tripomastigota, IC₅₀ epimastigota e IS epimastigota, dos 24 compostos sintetizados, estão dispostos na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Resultados obtidos para atividade antichagásica das ftalimido-tiossemicarbazonas.

Código	Citotoxicidade (CC ₅₀) μ M ^a	IC ₅₀ Tripomastigotas μ M (Cepa Y)	IS _(tripo)	IC ₅₀ Epimastigotas μ M (cepa DM28c)	IS _(epi)
IRS.02	338,97	42,88	7,90	74,3	4,6
IRS.03	42,03	7,55	5,57	ND	ND
IRS.04	331,72	91,80	3,61	ND	ND
IRSA.02	227,55	8,65	26,30	ND	ND
IRSA.03	50,69	4,90	10,33	42,7	1,2
IRSA.04	84,13	18,82	4,47	ND	ND
IRSB.02	296,04	73,66	4,02	73,1	4,1
IRSB.03	140,47	3,75	37,50	49,8	2,8
IRSB.04	246,84	94,41	2,61	ND	ND
IRSC.02	311,61	76,06	4,10	ND	ND
IRSC.03	48,80	64,52	0,76	ND	ND
IRSC.04	204,55	27,30	7,49	15,6	13,1
IRSD.02	213,13	52,74	4,04	ND	ND
IRSD.03	251,81	11,51	21,87	ND	ND
IRSD.04	112,08	17,19	6,52	ND	ND
IRSE.02	157,19	16,62	9,46	ND	ND
IRSE.03	92,87	14,23	6,52	ND	ND
IRSE.04	266,08	20,39	13,05	58,9	4,5
IRSF.02	243,82	22,44	10,86	62,5	3,9
IRSF.03	245,57	3,60	68,22	ND	ND
IRSF.04	73,75	54,40	1,36	ND	ND
IRSG.02	48,54	32,06	1,51	ND	ND
IRSG.03	49,19	ND	ND	ND	ND
IRSG.04	184,73	12,09	15,28	44,5	4,1
Benzonidazol	459,19	40,96	11,21	10,5	43,6

Legenda:

a = Ensaio de citotoxicidade pelo MTT em Macrófagos RAW 264.7

CC₅₀= Concentração citotóxica para 50% das células macrófagos J774A

IC₅₀= Concentração inibitória para 50% da população.

IS(epi)= Índice de seletividade frente a epimastigotas

IS(tripo)= Índice de seletividade frente a tripomastigotas

ND= Não definido

Benzonidazol= controle usado para *T. cruzi*

μ M= Micromol (10⁻⁶Mol)

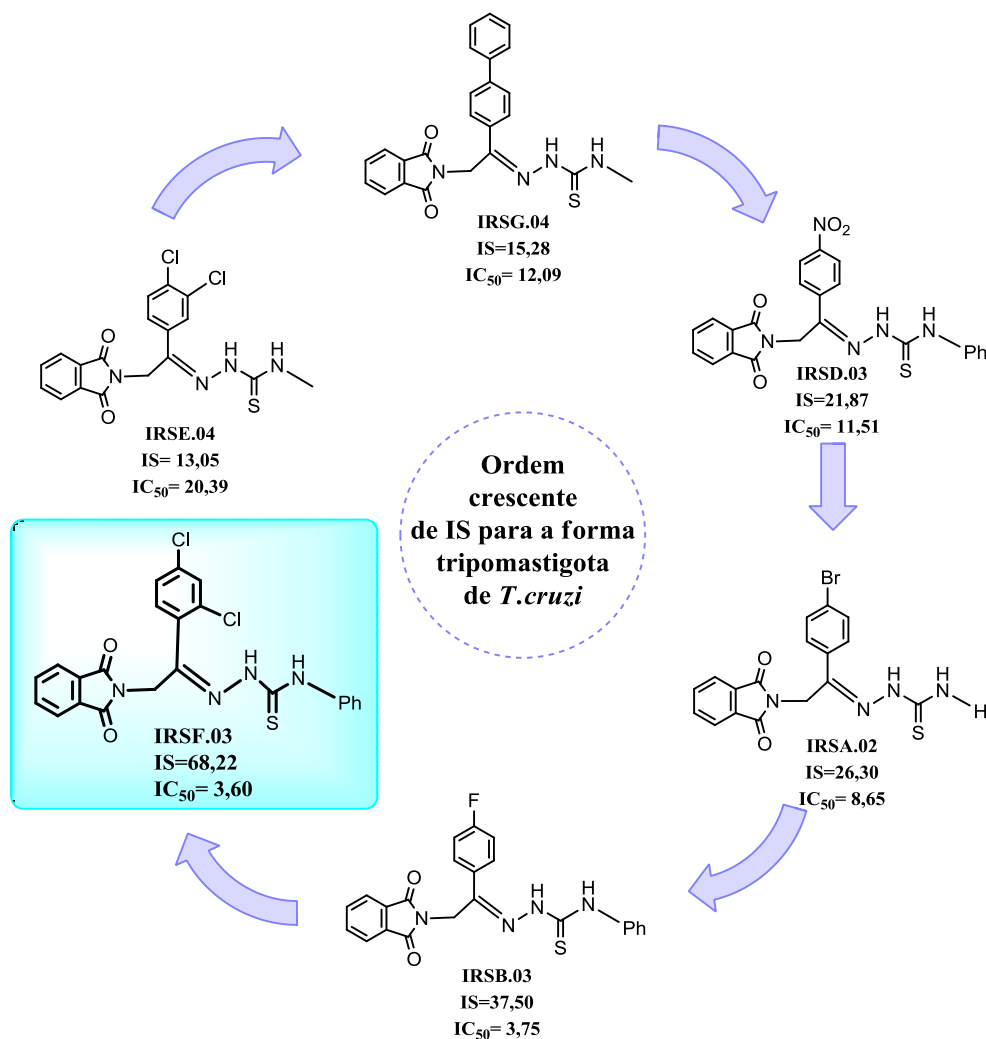
Frente a forma epimastigota do parasita, apenas oito compostos apresentaram atividade (IRS.02, IRSA.03, IRSB.02, IRSB.03, IRSC.04, IRSE.04, IRSF.02, IRSG.04). Todos os ativos contra epimastigotas apresentaram IC_{50} maior que o do benzonidazol, menor CC_{50} e consequentemente índices de seletividade muito mais baixos que os do padrão utilizado. Porém, por ser esta a forma em que o parasita se encontra no intestino do vetor (inseto barbeiro), seus resultados não são conclusivos para a avaliação da atividade anti-*T.cruzi* de um candidato fármaco.

Dentre todos os compostos analisados, seis se destacaram por sua atividade contra a forma tripomastigota do parasita (**Tabela 3**). A maioria dos compostos apresentou IC_{50} menor que o do controle. Essas moléculas apresentaram índices de seletividade maiores que o do benzonidazol (droga de referência; padrão químico utilizado como controle positivo).

De forma geral, todos os compostos apresentaram valor de CC_{50} para forma tripomastigota menos promissores que o fármaco de referência. No entanto, a pequena concentração necessária para inibição da forma tripomastigota dos seis compostos de destaque (IRSA.02, IRSB.03, IRSD.03, IRSE.04, IRSF.03 e IRSG.04), faz com que os índices de seletividade destes compostos sejam mais interessantes que o do benzonidazol (**Figura 21**). O composto IRSF.03, apresenta IS de 68,22, sessenta e oito vezes mais seletivo para a célula do parasito que para a célula de mamíferos, enquanto que o benzonidazol possui um índice de seletividade de 11,21. Assim, nós observamos que os substituintes halogenados e fortemente retiradores de elétrons promovem um acréscimo na atividade anti-*T.cruzi*.

Ainda para a forma tripomastigota, foi observado de no conjunto das oito tiossemicarbazonas substituídas no nitrogênio 3 com **H**, quatro apresentaram concentrações inibitórias entre 42,88 μ M e 76,06 μ M (IRS.02, IRSB.02, IRSC.02, IRSD.02) maiores que a do fármaco de referência que é de 40,96. Porém, os outros quatro compostos (IRSA.02, IRSE.02, IRSF.02, IRSG.02) apresentaram concentrações inibitórias (valores de IC_{50}) inferiores ao benzonidazol, e consequentemente são mais promissores como agentes anti-*T.cruzi*. Devido aos baixos valores de CC_{50} , desses quatro melhores compostos (IRS.02, IRSB.02, IRSC.02, IRSD.02), apenas um (IRSA.02) apresentou IS melhor que o do composto padrão, se mostrando duas vezes mais seletivo.

Figura 21 - Estruturas moleculares dos compostos finais ftalimido-tiossemicarbazonas que apresentaram IS para forma tripomastigota de *T.cruzi* acima do valor referente ao padrão utilizado.



Fonte: Imagem desenvolvida pelo autor.

O conjunto das oito tiossemicarbazonas substituídas no nitrogênio 3 com o grupo **Ph**, a maioria se mostrou eficaz em sua atividade apresentando concentrações inibitórias ente 3,60μM e 11,51μM, muito menores do que a apresentada pelo benzonidazol (40,96μM), com exceção do composto IRSC.03 (64,52 μM). Porém, devido os baixos valores de CC₅₀ apresentados, apenas três destas moléculas se tornam promissoras (IRSB.03, IRSD.03, IRSF.03), com valores de IS maiores que o do benzonidazol entre 21,87 e 68,22.

O conjunto das oito tiossemicarbazonas substituídas no nitrogênio 3 com o grupo **CH₃** (provenientes da metiltiossemicarbazida), cinco se mostraram eficazes em sua atividade (IRSA.04, IRSC.04, IRSD.04 e IRSG.04) apresentando concentrações inibitórias para a forma tripomastigota menores que a do benzonidazol, entre 12,09 μM

e 27, 30 μ M. Porém, devido aos baixos valores de citotoxicidade (CC_{50}) apresentados, apenas duas destas moléculas se destacaram (IRSE.04, IRSG.04), com valores de IS de 13,5 e 15,28 respectivamente, maiores que o do benzonidazol (11,21).

Com relação aos valores de CC_{50} , foi observado que em média, o conjunto das tiossemicarbazonas substituídas com o grupo **H** foi menos citotóxico para as células testadas do que as substituídas com o grupo **CH₃** que por sua vez foram menos tóxicos que conjunto das oito tiossemicarbazonas substituídas com **Ph**. Porém, o resultado da atividade inibitória contra a forma tripomastigota do parasita, levou este último conjunto à ter três de seus compostos presentes no grupo dos melhores compostos da série, inclusive o mais promissor identificado (IRSF.03). De acordo com os valores do índice de seletividade nossos compostos oferecem um direcionamento mais eficiente para as células do parasito que para as células de mamíferos o que os tornam bastante promissores tendo em vista sua propriedade tripanocida.

Dos três compostos substituídos no $-NHR_4$ com **Ph**, identificados como promissores, foi observado que o índice de seletividade aumenta de acordo com as substituições no grupo espaçador, na ordem $-NO_2 < -F < -2,4-Cl$. Dos dois compostos substituídos no $-NHR_4$ com **CH₃** identificados como promissores, foi observado que o índice de seletividade aumenta de acordo com as substituições no grupo espaçador, na ordem $-3,4-Cl < -Ph$. Por não ter sido este um padrão presente em todos os três grupos de tiossemicarbazonas testados (substituição em $-R_4$ com **H**, **Ph** e **CH₂**), não foi possível para o momento uma forma de explicação contundente para tal fenômeno observado.

6 CONCLUSÃO

As comprovações de dados estruturais através de análise de RMN ^1H , RMN ^{13}C , e Espectrometria de Massas de alta resolução, mostram que as 24 ftalimido-tiossemicarbazonas propostas em rota sintética, foram efetivamente formadas.

Todos os compostos sintetizados foram testados enquanto sua atividade anti-*T.cruzi* frente as formas epimastigota e tripomastigota, assim como a citotoxicidade para macrófagos.

Dentre os 24 ftalimido-tiossemicarbazonas aqui sintetizadas e testadas frente a forma epimastigota, todos os oito ativos apresentaram valores de índice de seletividade menores que o do benzonidazol (composto padrão), e outros dezesseis não tiveram sua atividade definida. Estes resultados não são conclusivos para avaliação de um candidato a fármaco, pois esta é a forma em que o parasita se encontra no intestino do vetor.

Dentre os 24 compostos finais testados frente a forma tripomastigota seis apresentaram índice de seletividade maior que o fármaco de referência atualmente utilizado (benzonidazol). O composto de destaque na série foi o IRSF.03 (IC_{50} = 3,60), que se mostrou seis vezes mais seletivo que o benzonidazol (IS =11,21), com IS de 68,22.

De forma geral, todos os compostos testados apresentaram valores de citotoxicidade menores que o do benzonidazol. Porém, baixo IC_{50} e o alto índice de seletividade encontrado nos seis compostos de destaque na série (IRSA.02, IRSB.03, IRSD.03, IRSE.04, IRSF.03 e IRSG.04) frente a forma tripomastigota, mostra que nossos compostos oferecem um direcionamento mais eficiente para as células do parasito que para as células de mamíferos, o que os tornam bastante promissores tendo em vista sua propriedade tripanocida.

REFERÊNCIAS

ABDEL-AZIZ, A. A. -M. et al.; **Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Cyclic-Imides as Hypoglycaemic, Anti-Hyperlipidemic Agents**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.46, p.4324-4329, 2011.

AGUIRRE, G. et al.; ***In vitro* Activity and Mechanism of Action Against the Protozoan Parasite *Trypanosoma cruzi* of 5-nitrofuryl Containing Thiosemicarbazones**; Bioorganic & Medicinal Chemistry; v.12, p. 4885–4893, 2004.

AKAGÜN, H.; KARAMELEKOGLU, I.; BERK, B.; KURNAZ, I.; SARIBIYIKA, G.; ÖKTEM, S.; KOCAGÖZ, T.; **Synthesis and Antimycobacterial Activity of Some Phthalimide Derivatives**; Bioorganic & Medicinal Chemistry; v.20, p. 4149-4154, 2012.

ALANAZI, A.; EL-AZAB, A. S.; AL-SUWAIDAN, I. A.; ELTHAIR, K. E. H.; ASIRI, Y. A.; ABDEL-AZIZ, N. I.; ABDEL-AZIZ, A. A.-M.; **Structure-Based Design of Phthalimide Derivatives as Potential Cyclooxygenase-2 (COX-2) Inhibitors: Anti-Inflammatory and Analgesic Activities**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.92, p.4634-4641, 2015.

ALIANÇA, A. S. S. et al.; ***In vitro* Evaluation of Cytotoxicity and Leishmanicidal Activity of Phthalimido-Thiazole Derivatives**; European Journal of Pharmaceutical Sciences; v.105, p.01-10, 2017.

Al-QAISI, J. A. et al.; **Synthesis and Pharmacological Evaluation of Aminoacetylenic Isoindoline-1,3-Dione Derivatives as Anti-Inflammatory Agents**; Arabian Journal of Chemistry; v.7, p.1024-1030, 2014.

AMARAL, A.T.; ANDRADEB, C.H.; KUMMERLEK, A.E.; GUIDOD, R.V.C.; **A evolução da Química Medicinal no Brasil: Avanços nos 40 Anos da Sociedade Brasileira de Química**; Química Nova, v.40, no. 6, p. 694-700, 2017.

ARORA, S. et al.; **Anticancer Activities of Thiosemicarbazides/Thiosemicarbazones: A Review**; International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v.6, no.9, p.34-41, 2014.

BELARDO, H.; GRAMBINO, D.; **The Wide Pharmacological Versatility of Semicarbazones, Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes**; Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, v.4, p.31-39, 2004.

BHARTI, N. et al.; **Synthesis and In Vitro Antiprotozoal Activity of 5-Nitrothiophene-2-Carboxaldehyde Thiosemicarbazone Derivatives**; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 12, n. 23, p. 3475–3478, 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância e Saúde. **Doença de Chagas aguda no Brasil: série histórica de 2000 a 2013**; Boletim Epidemiológico, vol 46, nº 21, 2015.

CARDOSO, M. V. O. et al.; **Design, Synthesis and Structure-activity Relationship of Phthalimides Endowed With Dual Antiproliferative and Immunomodulatory Activities**; European Journal of Medicinal Chemistry, v. 96, p. 491-503, 2015.

COELHO, L. C. D. et al.; **Novel Phthalimide Derivatives With TNF- α and IL-1 β Expression Inhibitory and Apoptotic Inducing Properties**; Med. Chem. Commun., v.5, p.758-765, 2014.

COSTA, P. M. et al.; **Improvement of *in vivo* Anticancer and Antiangiogenic Potential of Thalidomide Derivatives**; Chemico-Biological Interactions, v.239, p.174-183, 2015.

COURA, J. R.; DIAS, J. C. P.; **Epidemiology, Control and Surveillance of Chagas disease - 100 Years After its Discovery**; Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, p.31-40, Rio de Janeiro, 2009 .

DeSIMONE, R.W.; CURRIE, K.S.; MITCHELL, S.A.; DARROW, J.W.; PIPPIN, A.; **Privileged Structures: Applications in Drug Discovery**. Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening, v. 7, p.473-493, 2004.

DNDi - Drugs for Neglected Diseases initiative; Pacientes negligenciados; Disponível em: <https://www.dndial.org/> ; Acesso em fevereiro de 2018

ESPÍNDOLA, J. W. P. et al; **Synthesis and Structure-activity Relationship Study of a New Series of Antiparasitic Aryloxy Thiosemicarbazones Inhibiting *Trypanosoma cruzi* Cruzain**; ; European Journal of Medicinal Chemistry; v. 111, p. 818-835, 2015.

FILHO, G. B. O. et al.; **Structural Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of 4-Thiazolidinones Against *Trypanosoma cruzi***; Bioorganic & Medicinal Chemistry, v.23, p.7478–7486, 2015.

GOMES, P.A.T. de M. et al.; **Phthalimido-thiazoles as building blocks and their effects on the growth and morphology of *Trypanosoma cruzi***; European Journal of Medicinal Chemistry; v. 111, p. 46-57, 2016.

KAMINSKI, K.; OBNISKA, J.; WIKLIK, B.; ATAMANYUK, D.; **Synthesis and Anticonvulsant Properties of New Acetamide Derivatives of Phthalimide, and its Saturated Cyclohexane and Norbornene Analogs**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.46, p.4634-4641, 2011.

KUSHUAHA, N.; KAUSHIK, D.; **Recent Advances and Future Prospects of Phthalimide Derivatives**; Journal of Applied Pharmaceutical Science; v.6(03), p. 159-171, 2016.

LEITE, A. C. L.; et al.; **Phthaloyl Amino Acids as Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Prototypes**; Medicinal Chemistry Research, v.23, p.1701-1708, 2014.

LIPINSKI, C. A. et al.; **Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings**; Advanced Drug Delivery Reviews, v.23, p.3–25, 1997.

MOREIRA et al.; **Conformational Restriction of Aryl Thiosemicarbazones Produces Potent and Selective Anti-*Trypanosoma cruzi* Compounds Which Induce Apoptotic Parasite Death**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.75, p.467-478, 2014.

OLIVEIRA, R. B. et al.; **Synthesis and Antimalarial Activity of Semicarbazone and Thiosemicarbazone Derivatives**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.43, p.1983-1988, 2008.

OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde; **Relatório da OMS informa progressos sem precedentes contra doenças tropicais negligenciadas**; Disponível em:

http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5401:relatorio-da-oms-informa-progressos-sem-precedentes-contra-doencas-tropicais-negligenciadas&Itemid=812; Acesso em: 05/12/2017

PESSOA, C. et al.; **Discovery of Phthalimides as Immunomodulatory and Antitumor Drug Prototypes**; ChemMedChem, v.5, p. 523-528, 2010.

POLANSKY, J.; KUREZYK, A.; BAK, A.; MUSIOL, R.; **Privileged Structures – Dream or Reality: Preferential Organization of Azanaphthalene Scaffold**. Current Medicinal Chemistry, v. 19, no. 1, 2012.

RASSI, A. Jr. et al.; **Chagas Disease**; Seminar; v.375, p.1388-1402, 2010.

SCHNEIDER, P.; SCHNEIDER, G.; **Privileged Structures Revisited**; Angewandte Chemie International Edition; v. 56, p. 7971-7974, 2017.

SINGH G.; SAROA, A.; GIRDHAR, S.; RANI, S.; SAHOO, S.; CHOQUESILLO-LAZARTE, D.; **Synthesis, Characterization, Electronic Absorption and Antimicrobial Atudies of N-(Silatranylpropyl)Phthalimide Derived from Phthalic Anhydride**; Inorganica Chimica Acta, v. 427, p. 232-239, 2015.

SANTIAGO, E. F. et al.; **Evaluation of the Anti-Schistosoma mansoni Activity of Thiosemicarbazones and Thiazoles**; Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v.58, n.1, p.352-363, 2014.

TROUILLER, P. et al.; **Drug Development for Neglected Diseases: a Deficient Market and a Public-Health Policy Failure**; Public Health /TheLancet; v.359, p.2188-2194, 2002

VALVERDE, R.; Doenças Negligenciadas; **Agencia Fiocruz de Notícias**; Disponível Em: <https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas>; Acesso em 28/11/2017

WILLIAMS, R. et al.; **Synthesis and SAR of Centrally Active mGlu₅ Positive Allosteric Modulators Based on an Aryl Acetylenic Bicyclic Lactam Scaffold**; Bioorg Med Chem Lett, v.21(5), p.1350-1353, 2011.

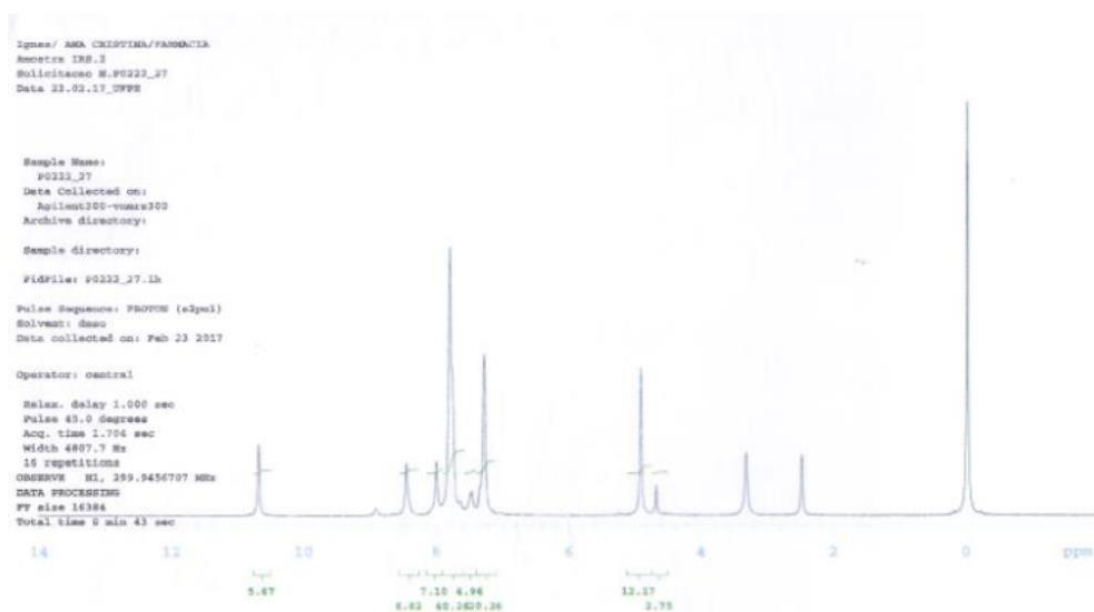
WHO - World Health Organization; **Chagas Disease (American trypanosomiasis)**; Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>.; Acesso em: 05.12.2017

YOGESWARI, P. et al.; **Anticonvulsant and Neurotoxicity Evaluation of Some 6-Chlorobenzothiazolyl-2-Thiosemicarbazones**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.37, p.231-236, 2002.

APÊNDICE A - Espectros de RMN de C^{13} e H^1 dos Compostos Finais

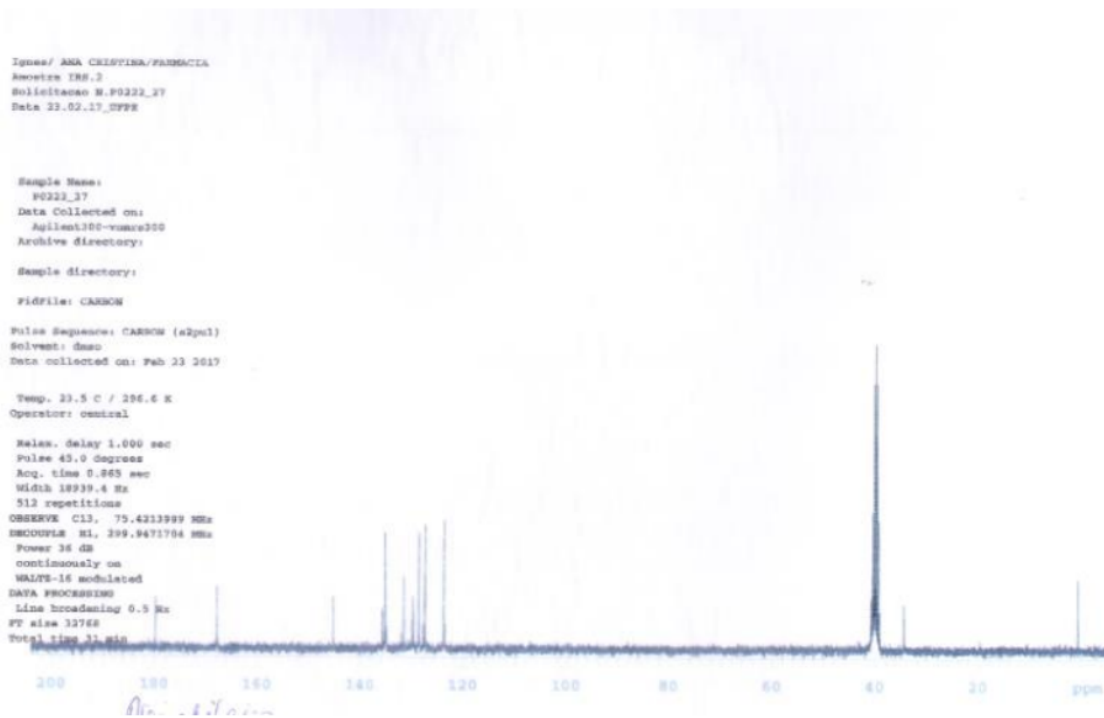
IRS.02

RMN 1H

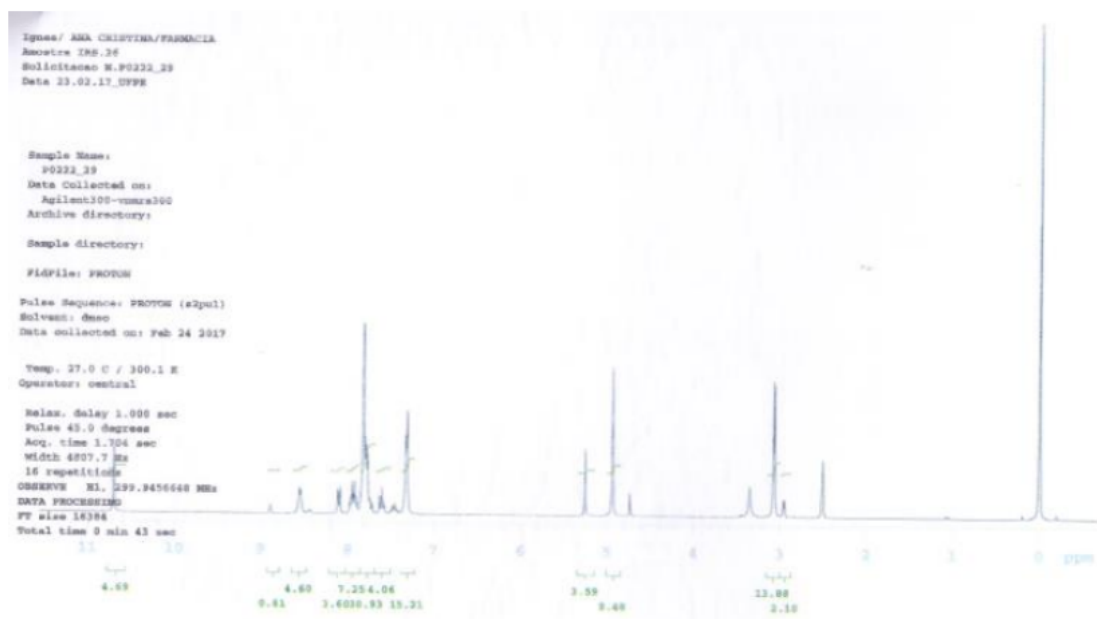


IRS.02

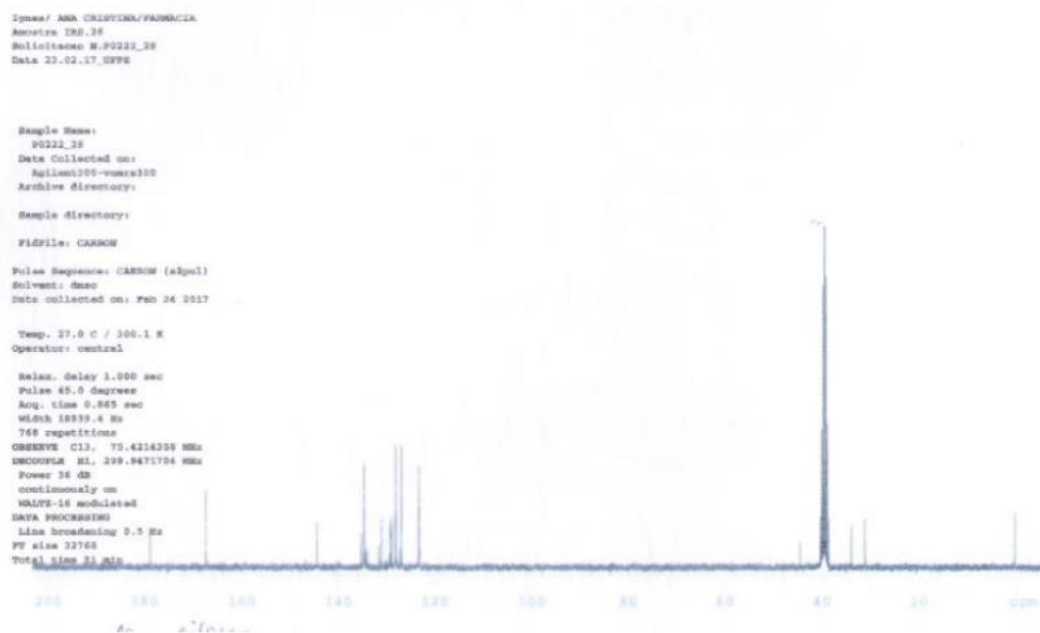
RMN ^{13}C



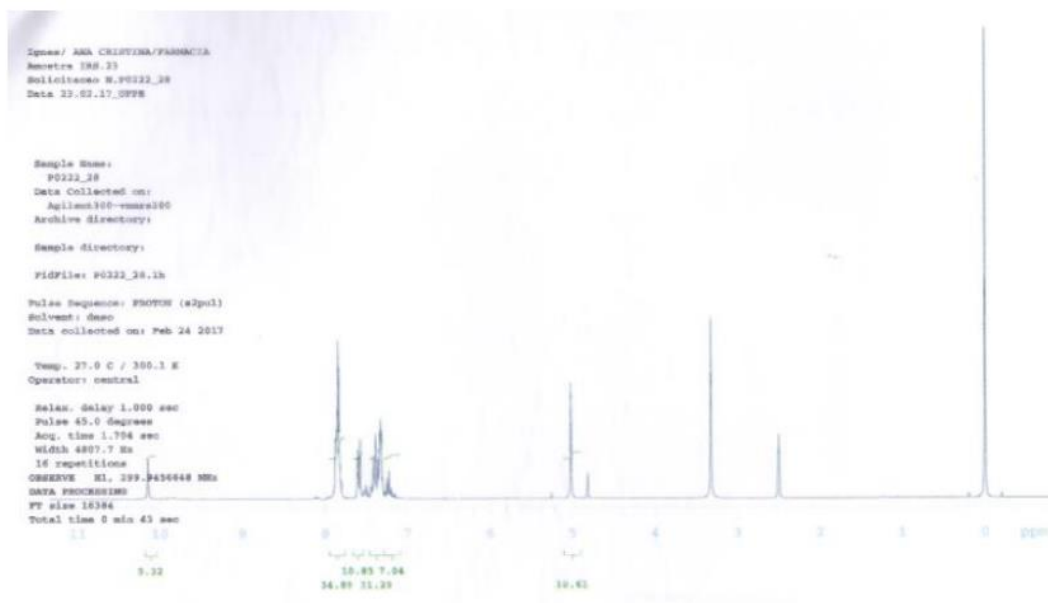
IRS.03

RMN ^1H 

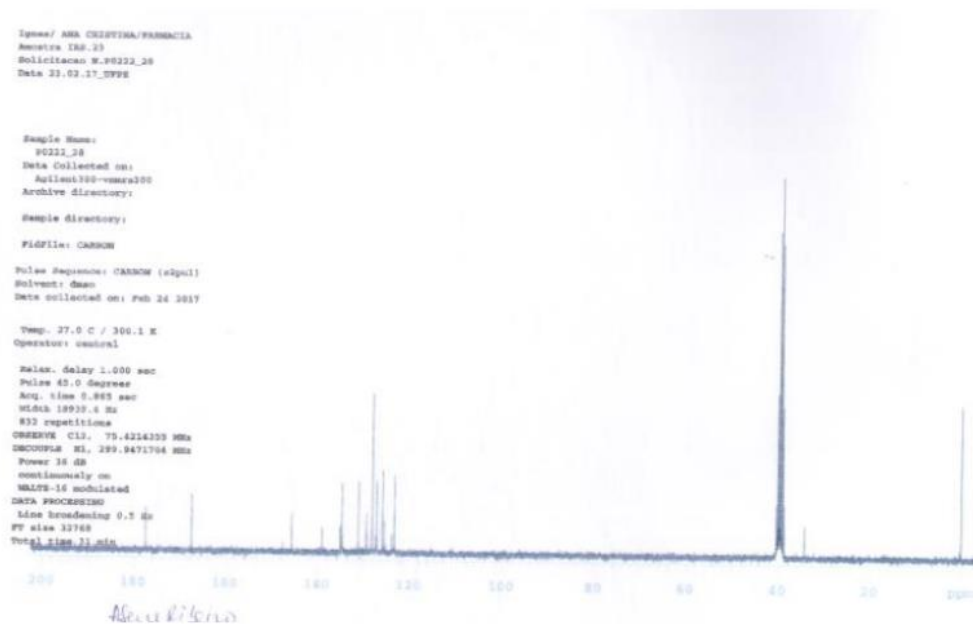
IRS.03

RMN ^{13}C 

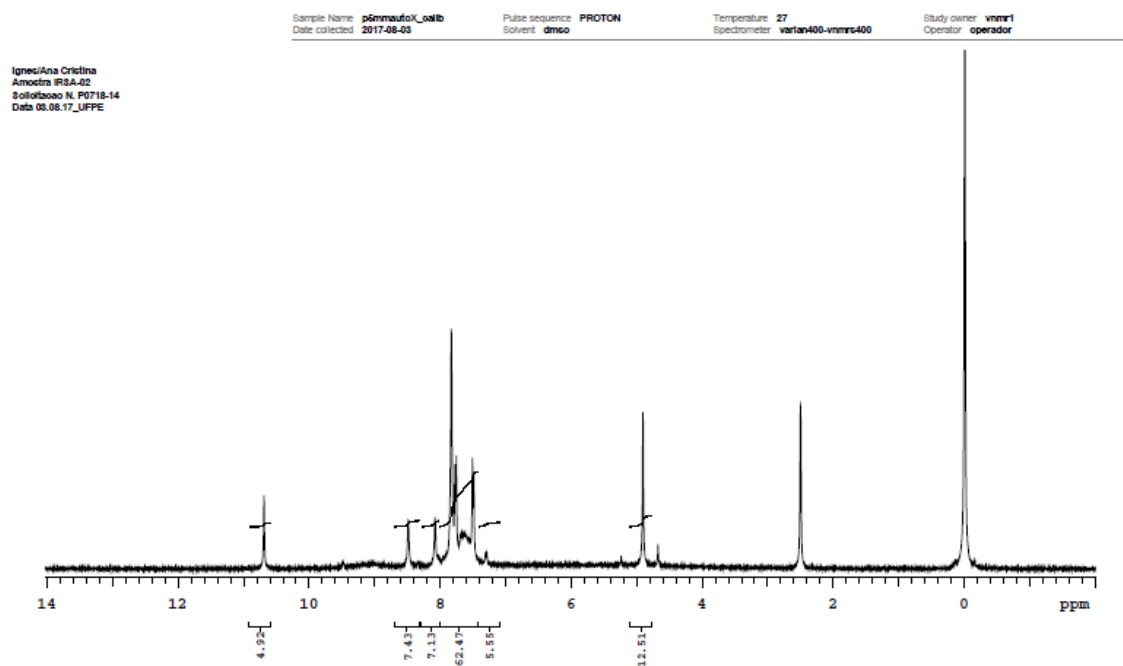
IRS.04

RMN ^1H 

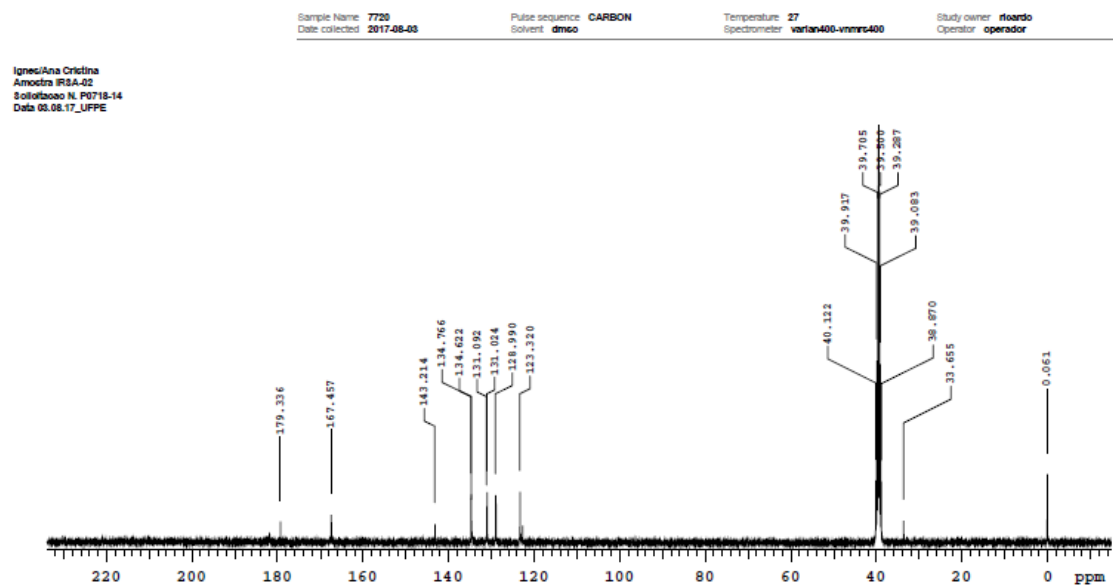
IRS.04

RMN ^{13}C 

IRSA.02

RMN ^1H 

IRSA.02

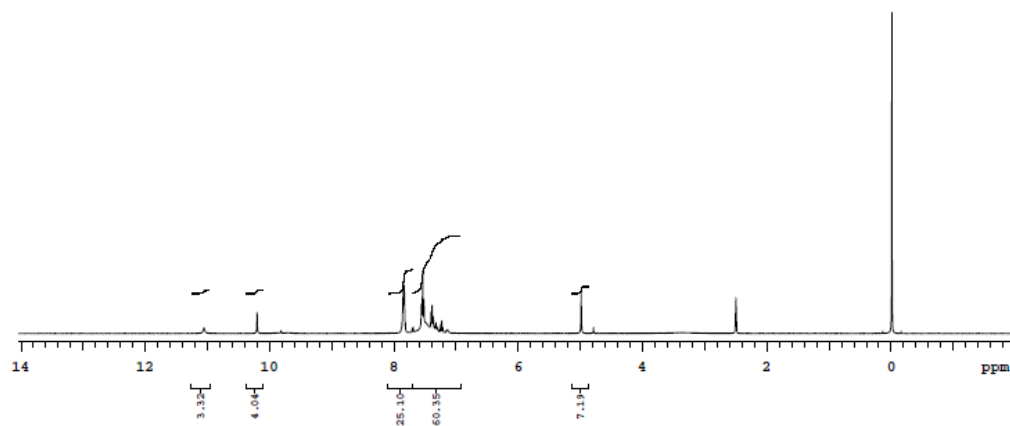
RMN ^{13}C 

IRSA.03

RMN ^1H

Sample Name: P0821_8 Pulse sequence: PROTON Temperature: 27
 Date collected: 2017-06-28 Solvent: dmsc Spectrometer: varian400-vnmr400
 Study owner: rtoardo Operator: operador

Ignes Regina/Ana Cristina
 Amostra IRSA.03
 Solucao N. P0628-02
 Data 26.06.17_UFPE

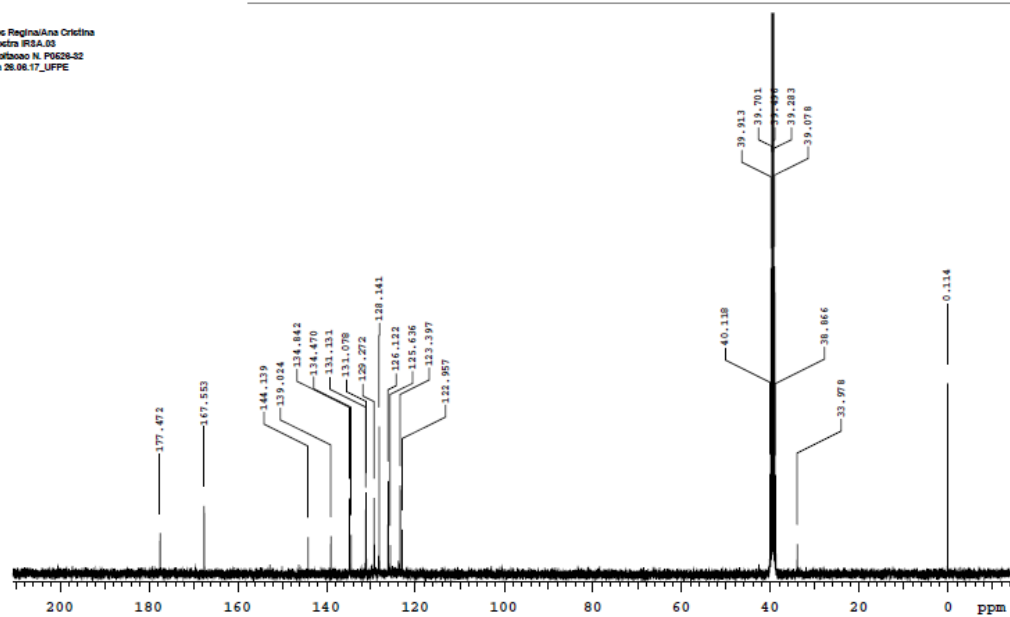


IRSA.03

RMN ^{13}C

Sample Name: P0821_8 Pulse sequence: CARBON Temperature: 27
 Date collected: 2017-06-28 Solvent: dmsc Spectrometer: varian400-vnmr400
 Study owner: operador Operator: operador

Ignes Regina/Ana Cristina
 Amostra IRSA.03
 Solucao N. P0628-02
 Data 26.06.17_UFPE

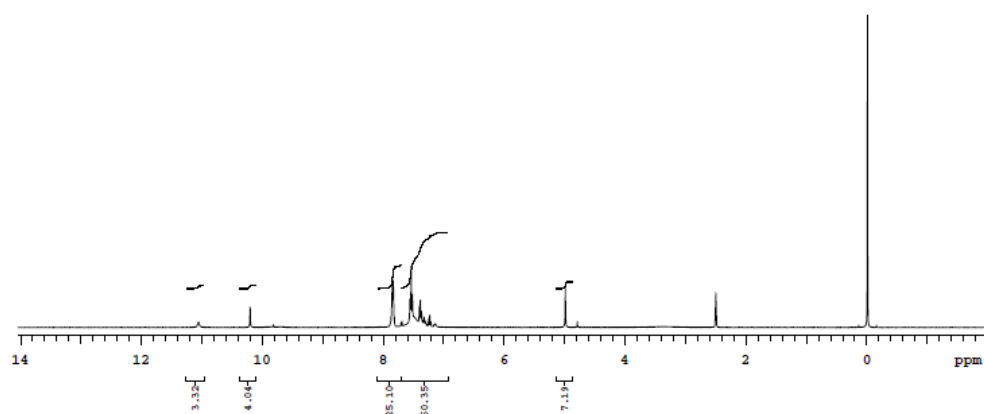


IRSA.04

RMN ^1H

Sample Name	P0821_8	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	riardo
Date collected	2017-08-28	Solvent	dmsc	Spectrometer	varian400-vnmr400	Operator	operator

Ignes Regina/Ana Cristina
 Amostra IRSA.04
 Solucao N. P0821-02
 Data 28.08.17_UFPE

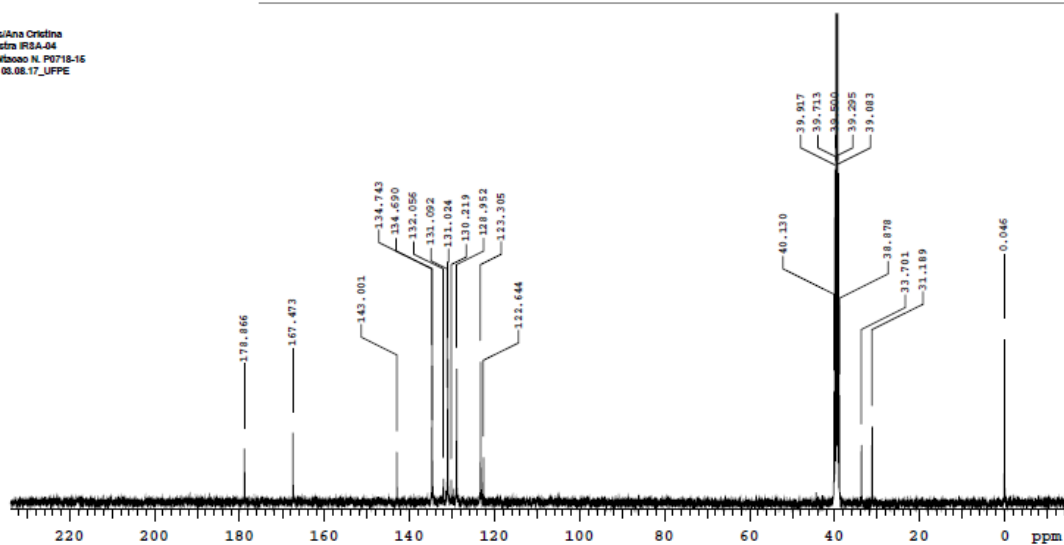


IRSA.04

RMN ^{13}C

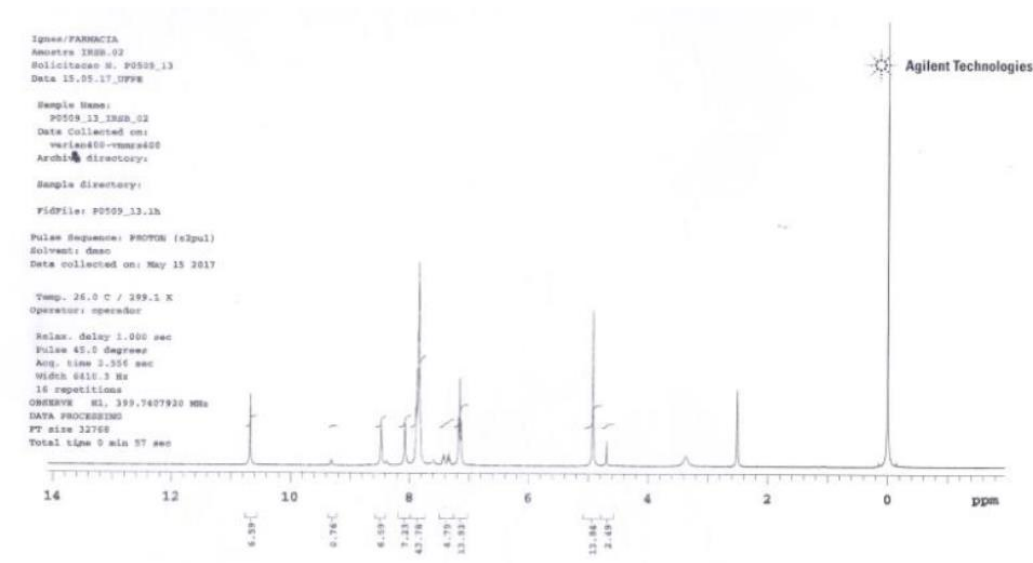
Sample Name	7720	Pulse sequence	CARBON	Temperature	27	Study owner	riardo
Date collected	2017-08-03	Solvent	dmsc	Spectrometer	varian400-vnmr400	Operator	operator

Ignes/Ana Cristina
 Amostra IRSA.04
 Solucao N. P0718-16
 Data 03.08.17_UFPE



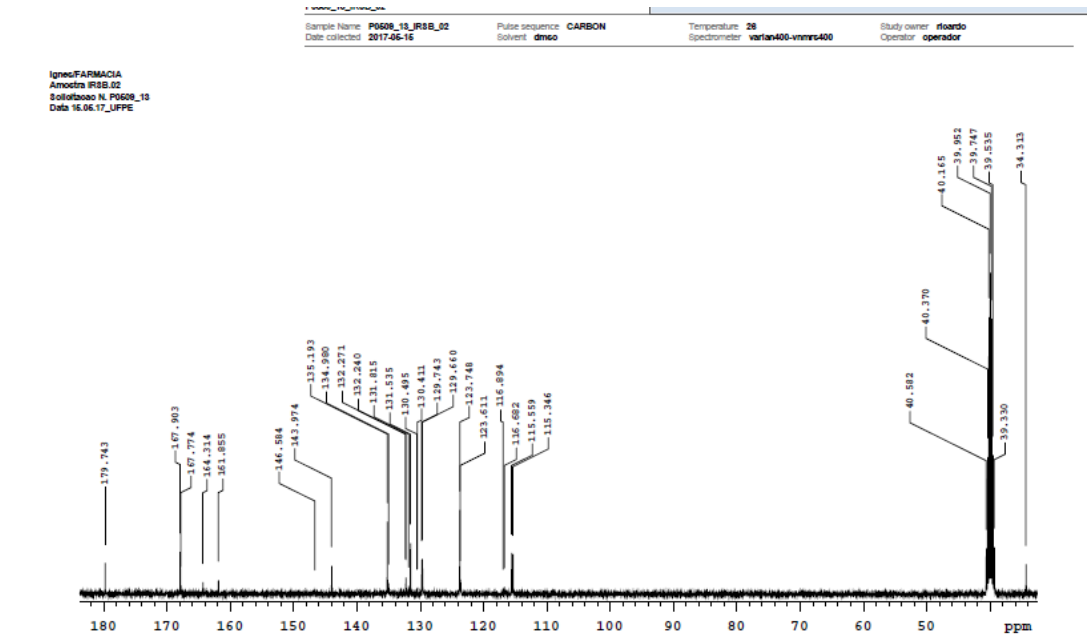
IRSB.02

RMN ¹H



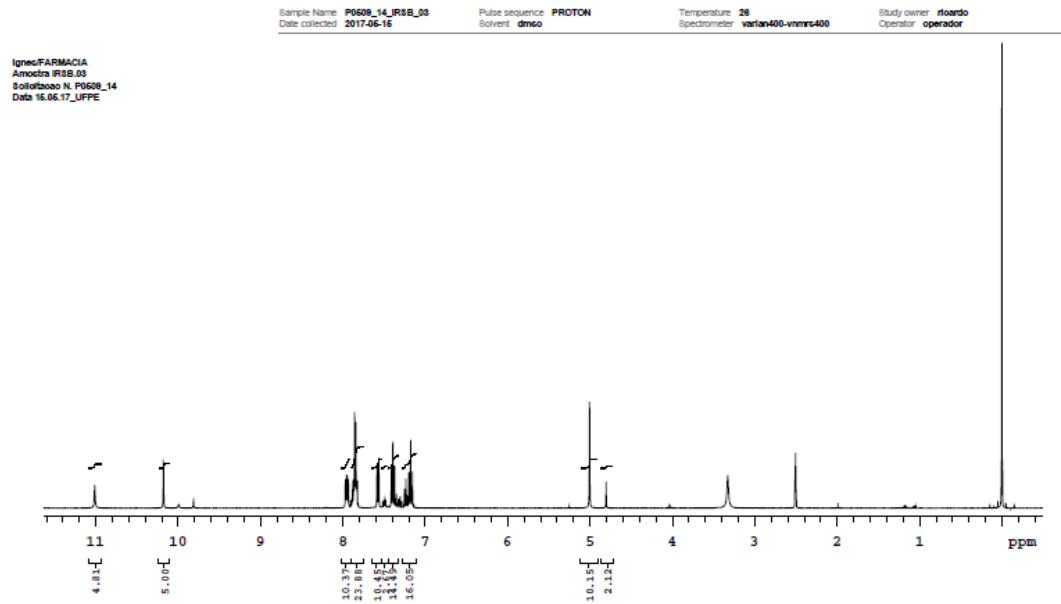
IRSB.02

RMN ¹³C



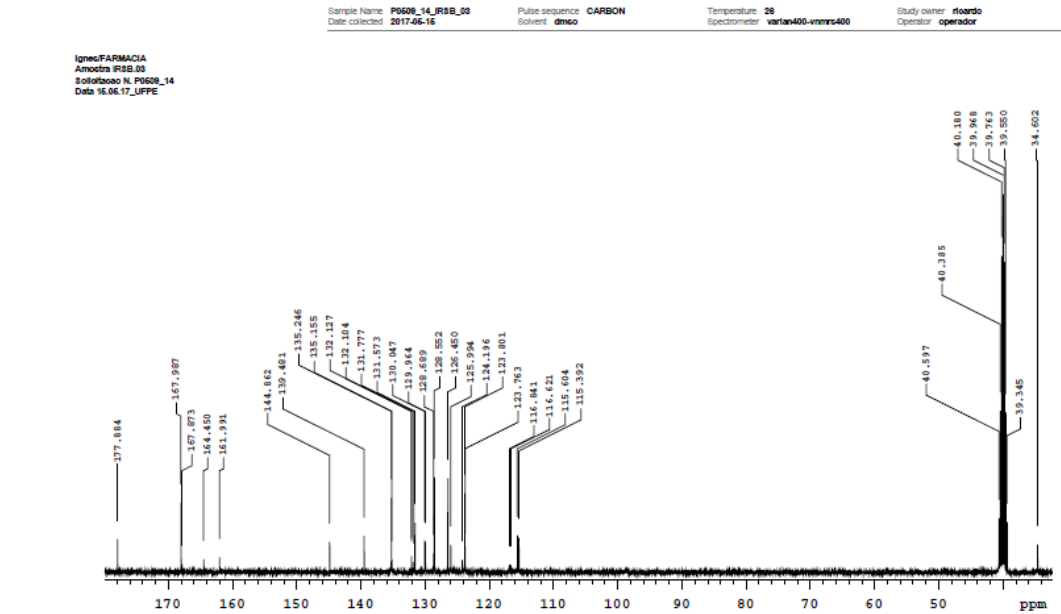
IRSB.03

RMN ¹H

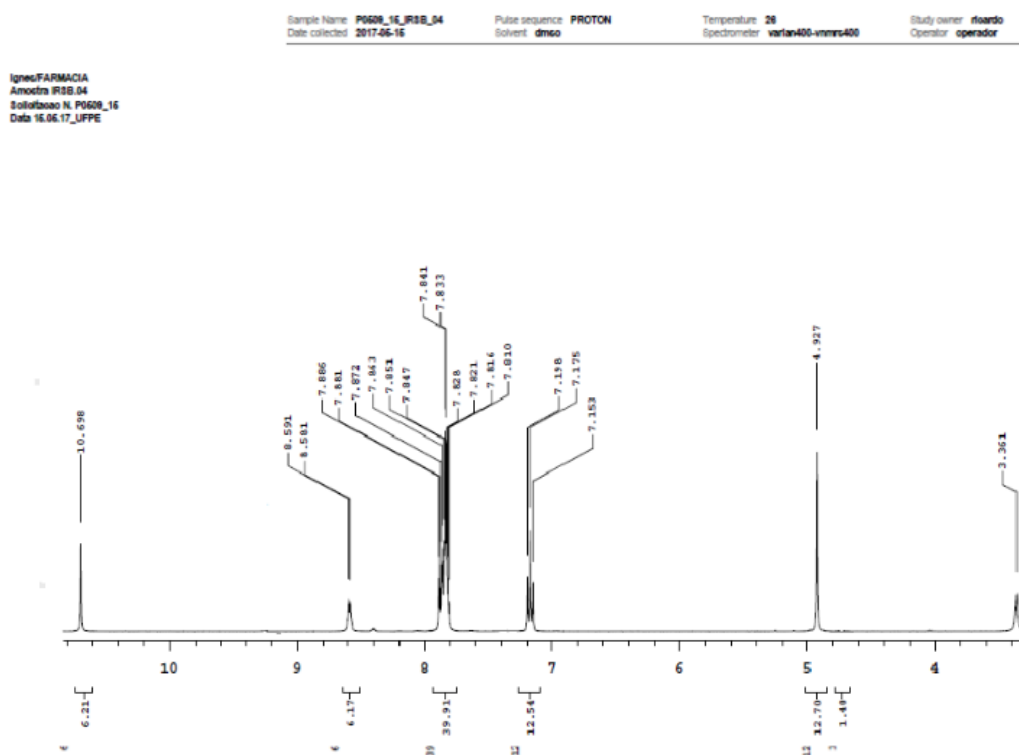


IRSB.03

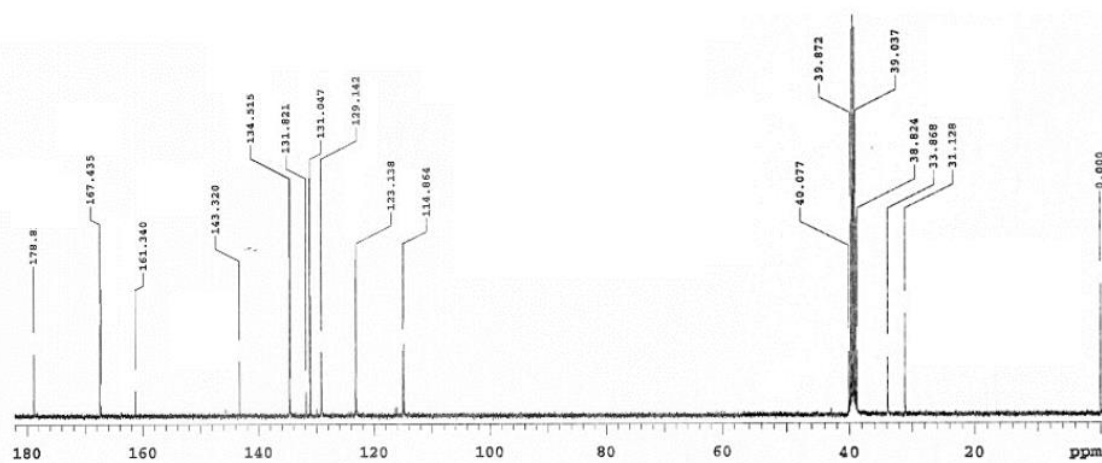
RMN ¹³C



IRSB.04

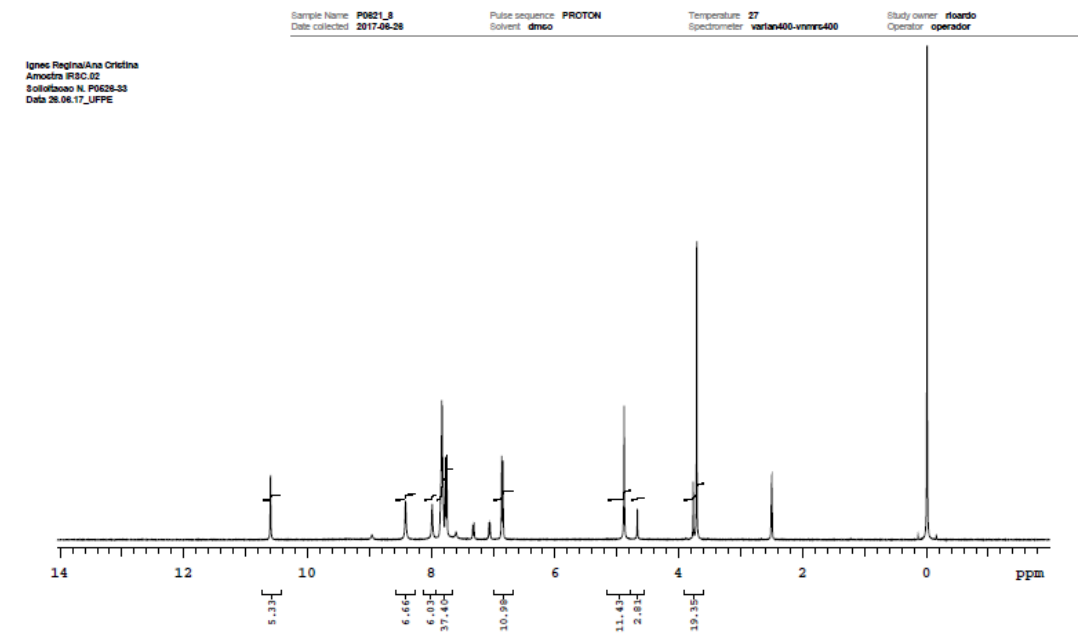
RMN ^1H 

IRSB.04

RMN ^{13}C 

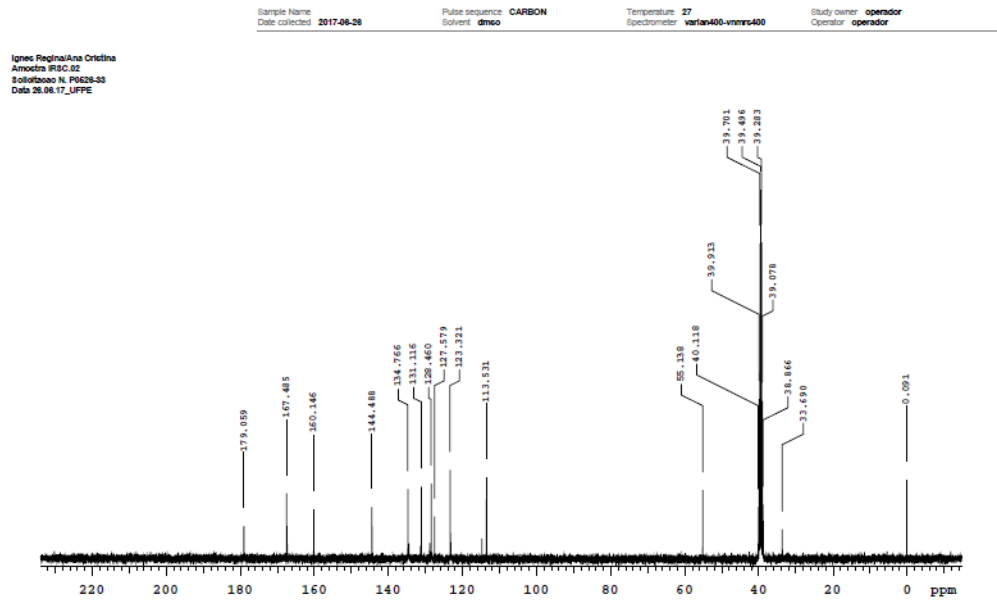
IRSC.02

RMN ¹H



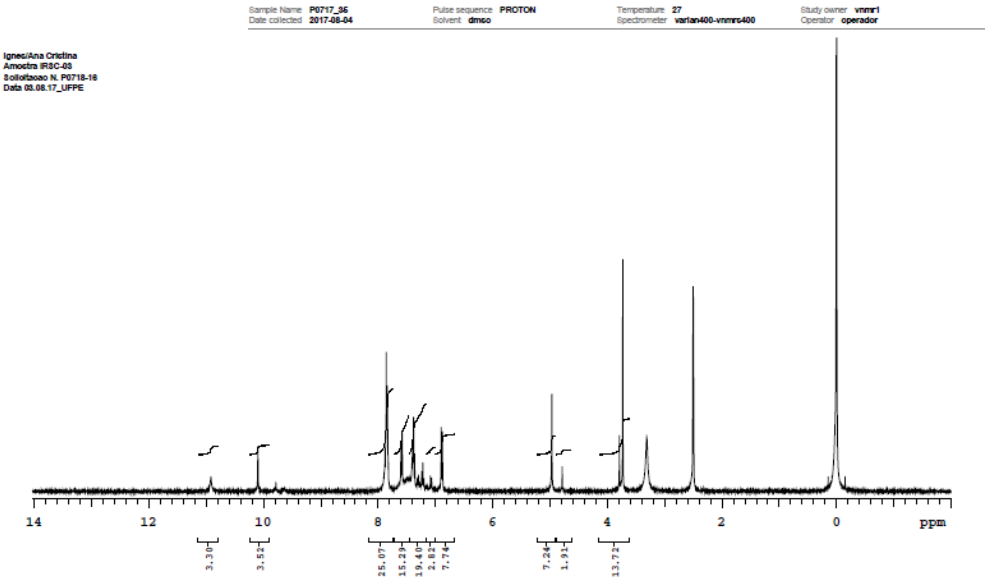
IRSC.02

RMN ¹³C



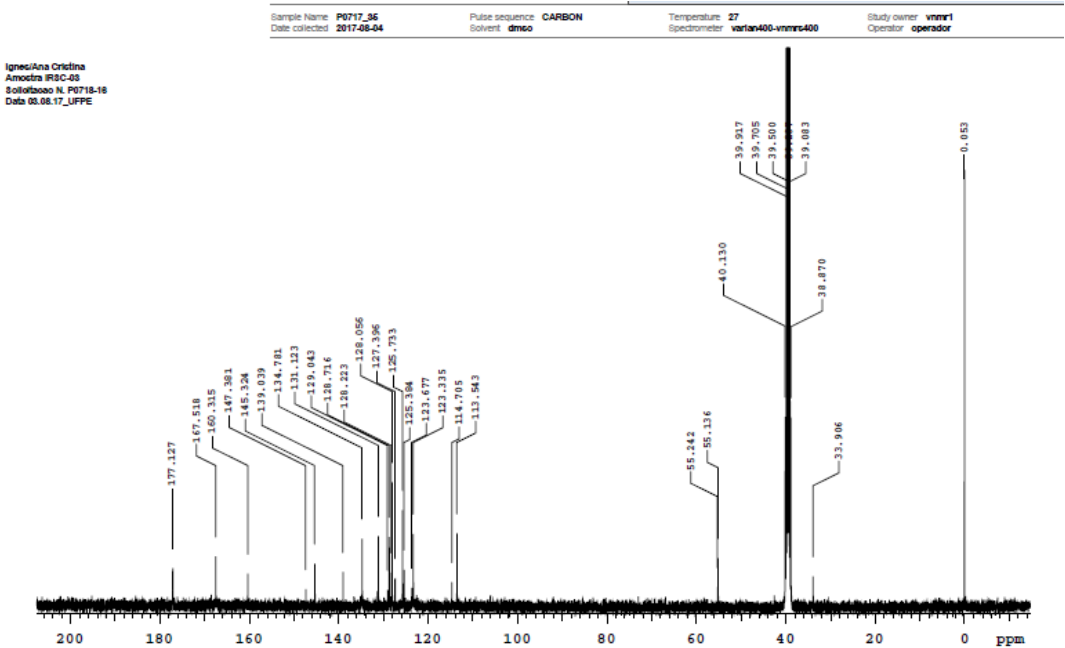
IRSC.03

RMN ¹H

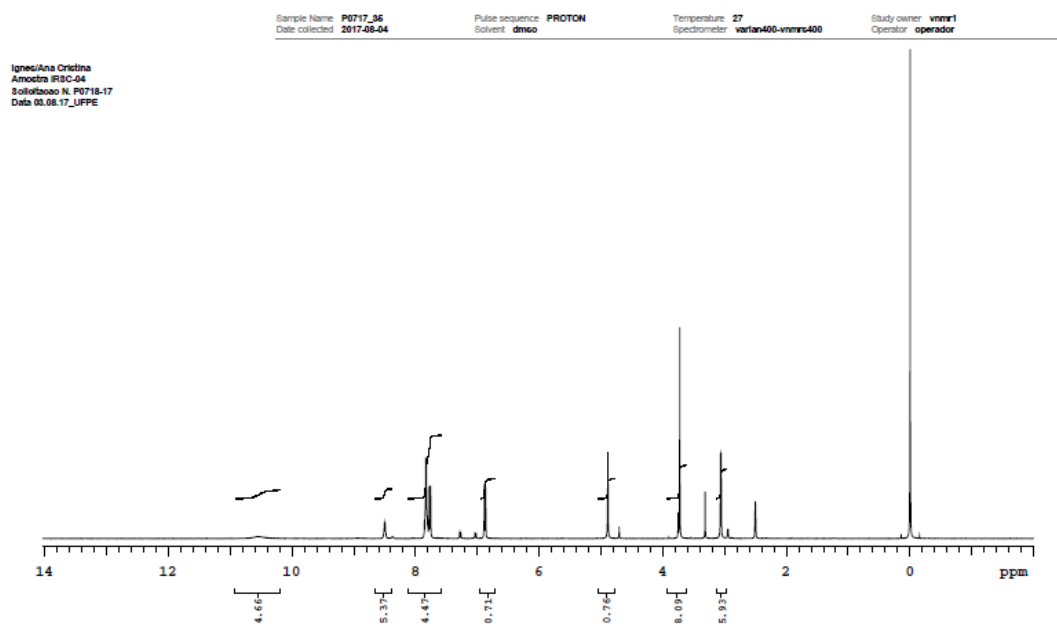


IRSC.03

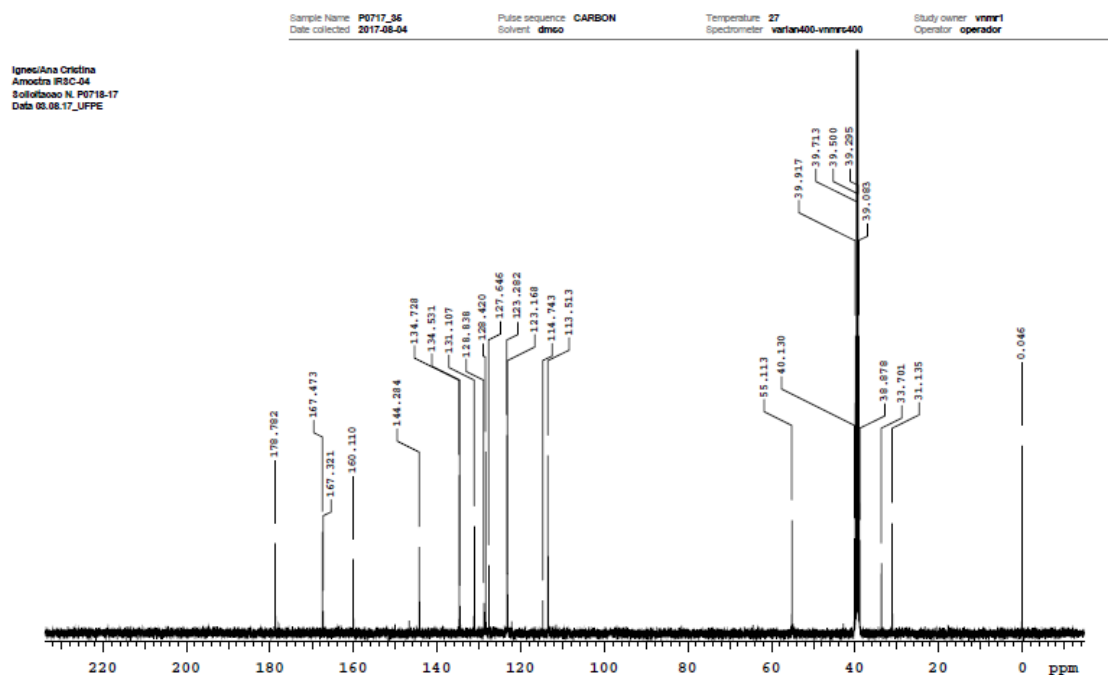
RMN ¹³C



IRSC.04

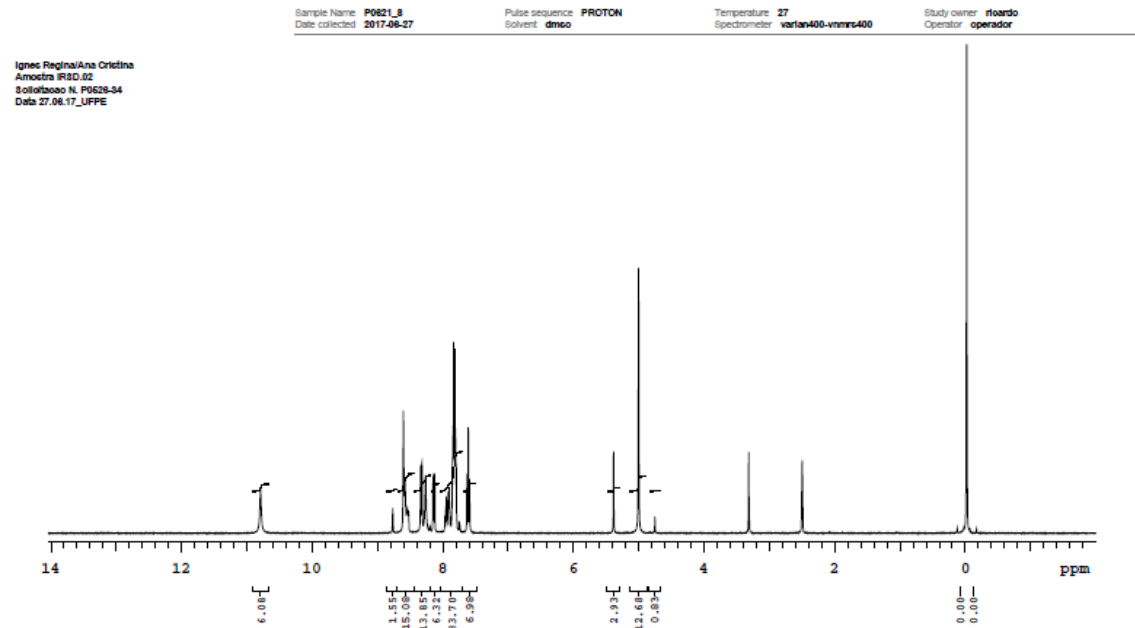
RMN ^1H 

IRSC.04

RMN ^{13}C 

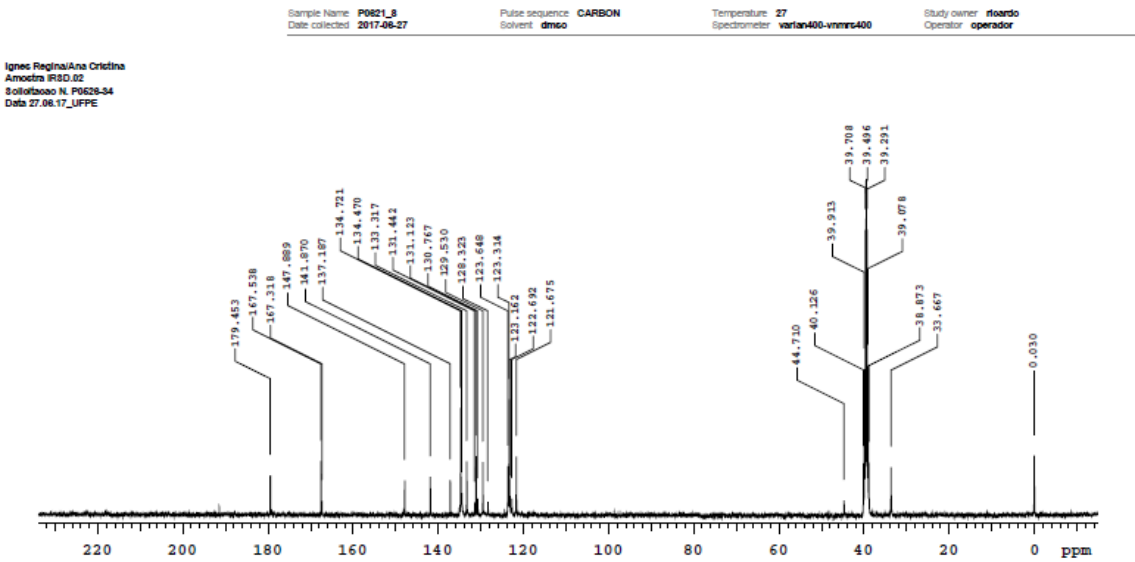
IRSD.02

RMN ¹H



IRSD.02

RMN ¹³C

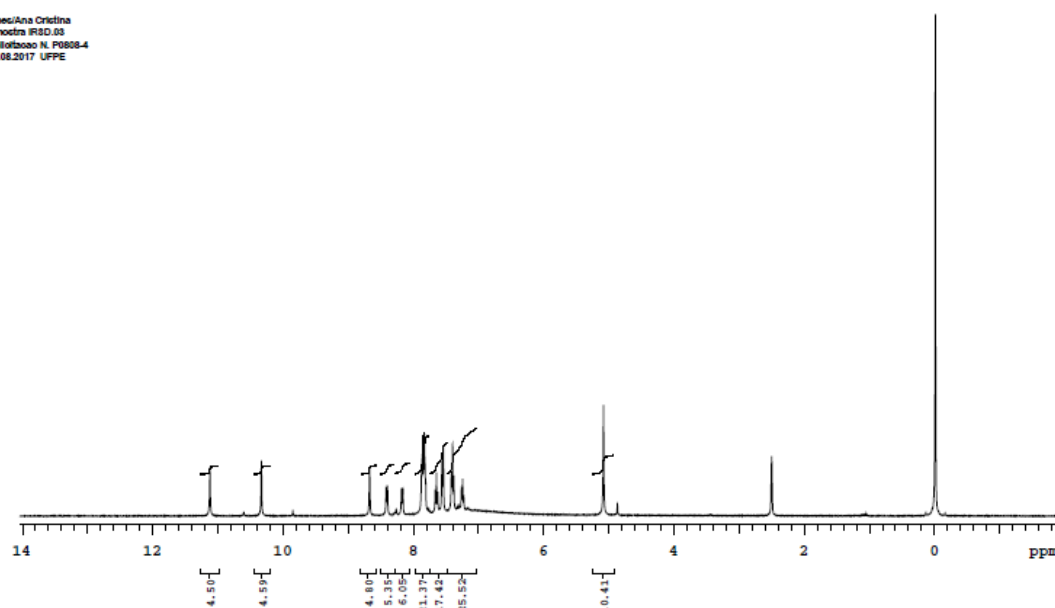


IRSD.03

RMN ^1H

Ignaci/Ana Cristina
Amostra IRSD.03
Solitofoao N. P0808-4
18.08.2017 UFPE

Sample Name: 2017-08-18 Pulse sequence: PROTON Temperature: 27
Date collected: 2017-08-18 Solvent: dmso Spectrometer: varian400-vnmr400 Study owner: operador
Operator: operador

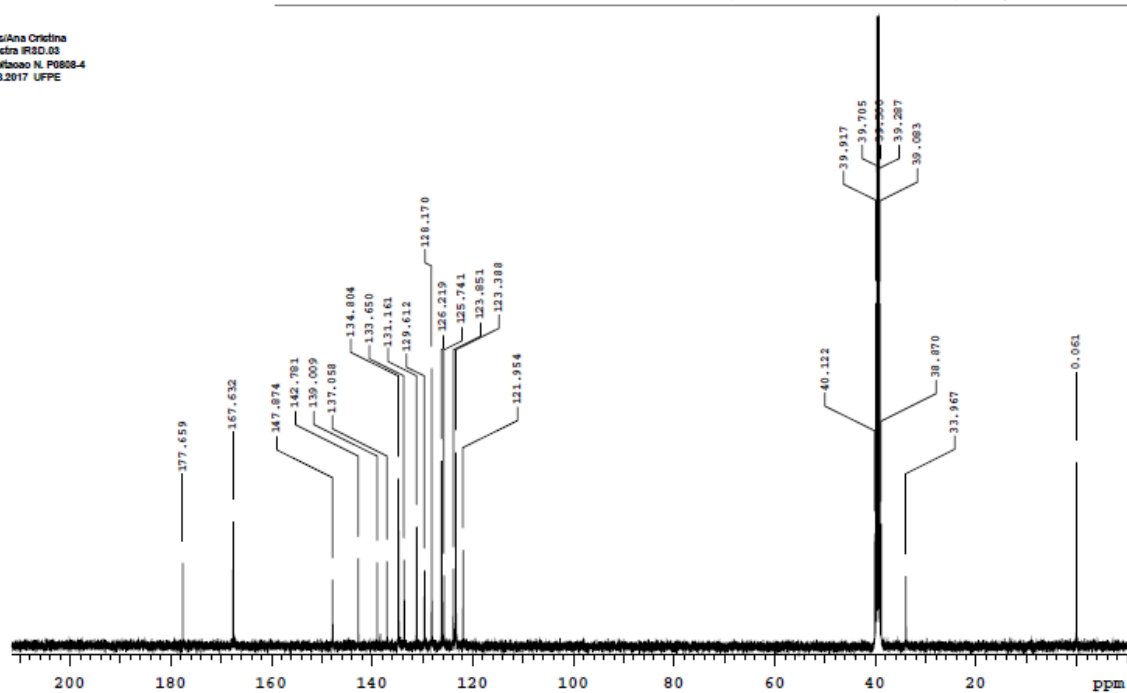


IRSD.03

RMN ^{13}C

Ignaci/Ana Cristina
Amostra IRSD.03
Solitofoao N. P0808-4
18.08.2017 UFPE

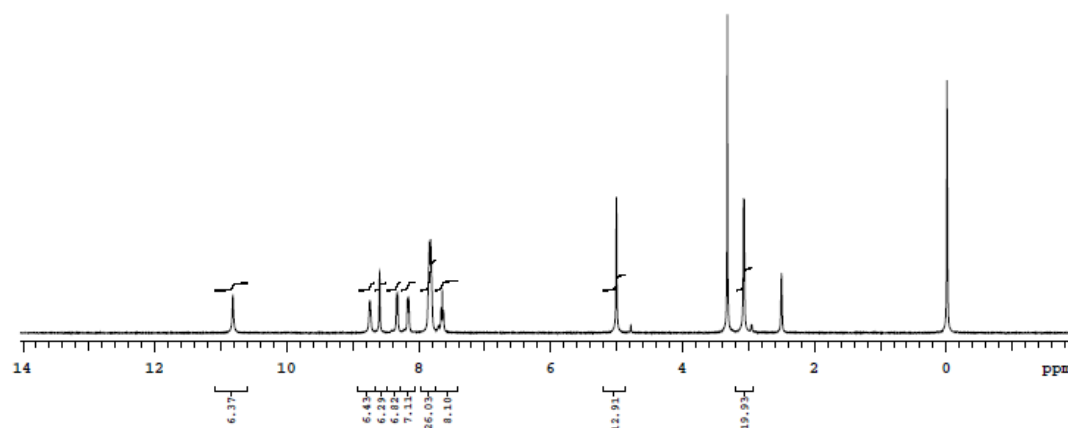
Sample Name: 2017-08-18 Pulse sequence: CARBON Temperature: 27
Date collected: 2017-08-18 Solvent: dmso Spectrometer: varian400-vnmr400 Study owner: operador
Operator: operador



IRSD.04RMN ^1H

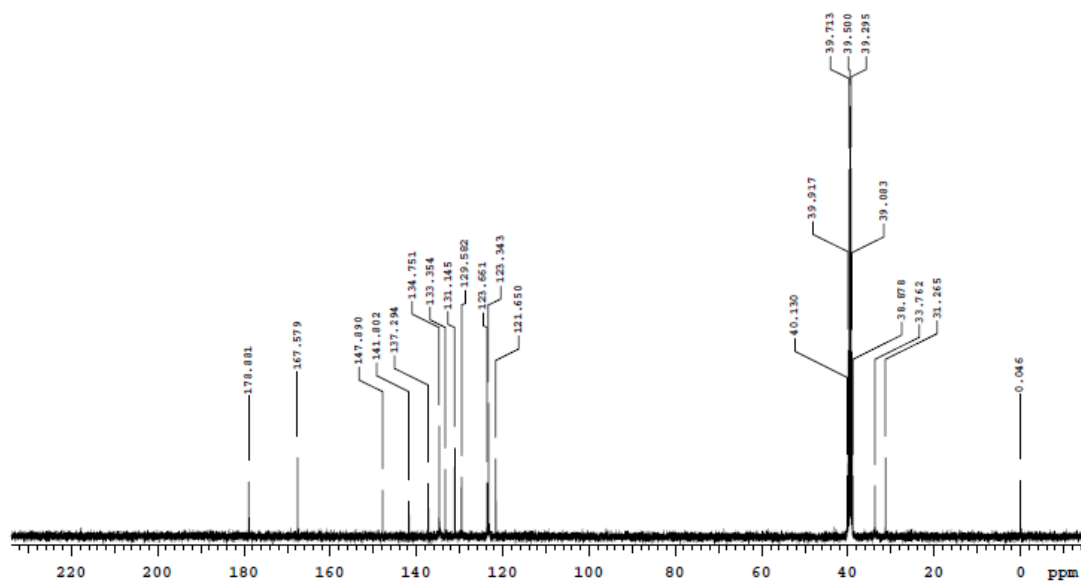
Collection Name	Phase Sequence	Protein	Concentration	Cell	Sample Volume	Operator
Date collected 2017-08-18	Solvent dmso		Spectrometer	varian400-nmr-400	Operator	operator

IgnaciAna Cristina
Amostra IRSD.04
Sollotacao N. P0808-5
18.08.2017 UFPE

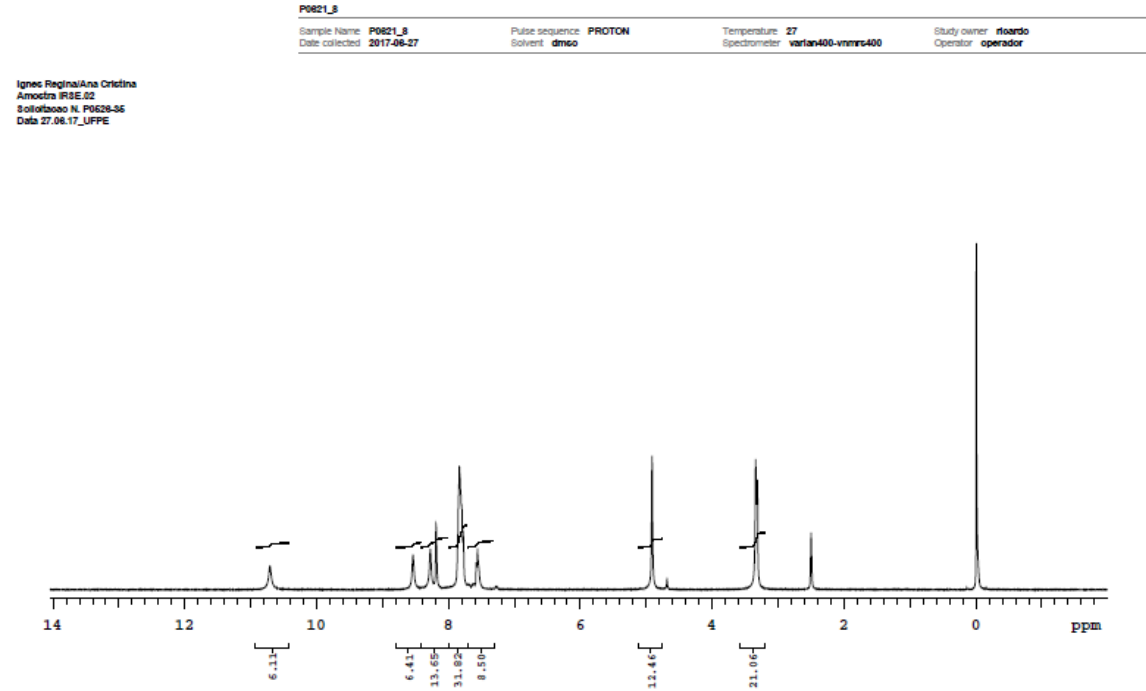
**IRSD.04**RMN ^{13}C

Sample Name	Pulse sequence	CARBON	Temperature	27	Study owner	operator	
Date collected	2017-06-18	Solvent	dmsc	Spectrometer	varian-400-vnmr400	Operator	operator

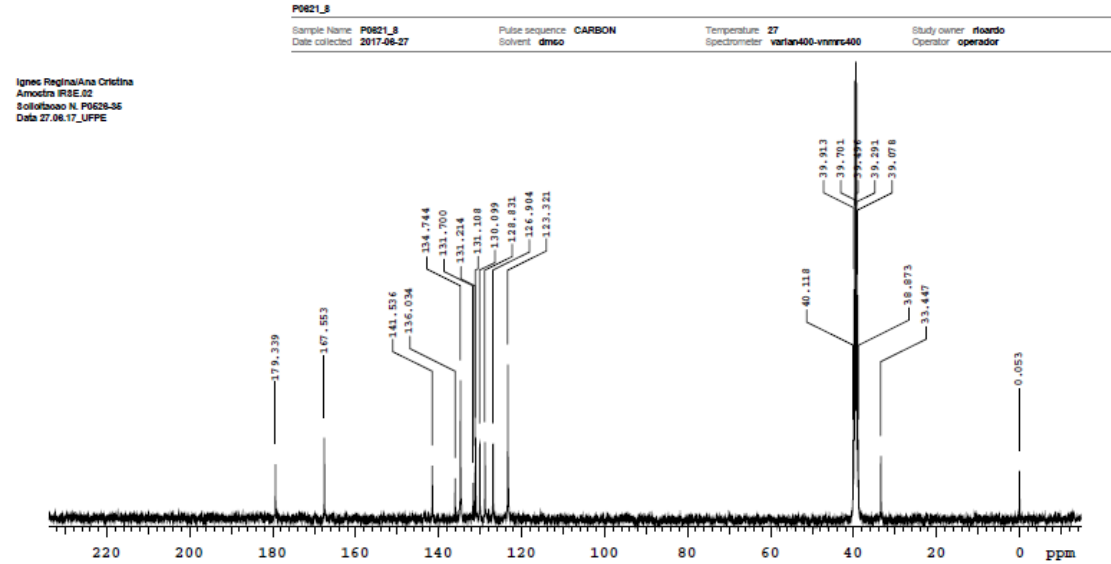
Ignes/Ana Cristina
Amostra IRSD.04
Solicitação N. P0808-5
18.08.2017 UFPE



IRSE.02
RMN ¹H

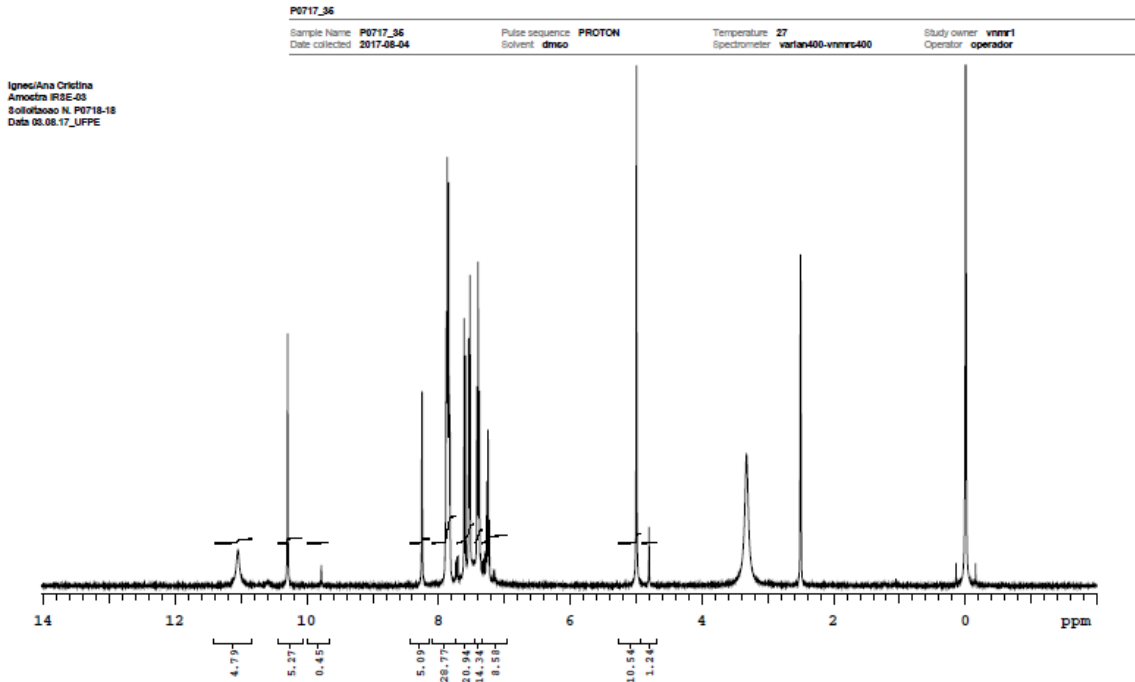


IRSE.02
RMN ¹³C



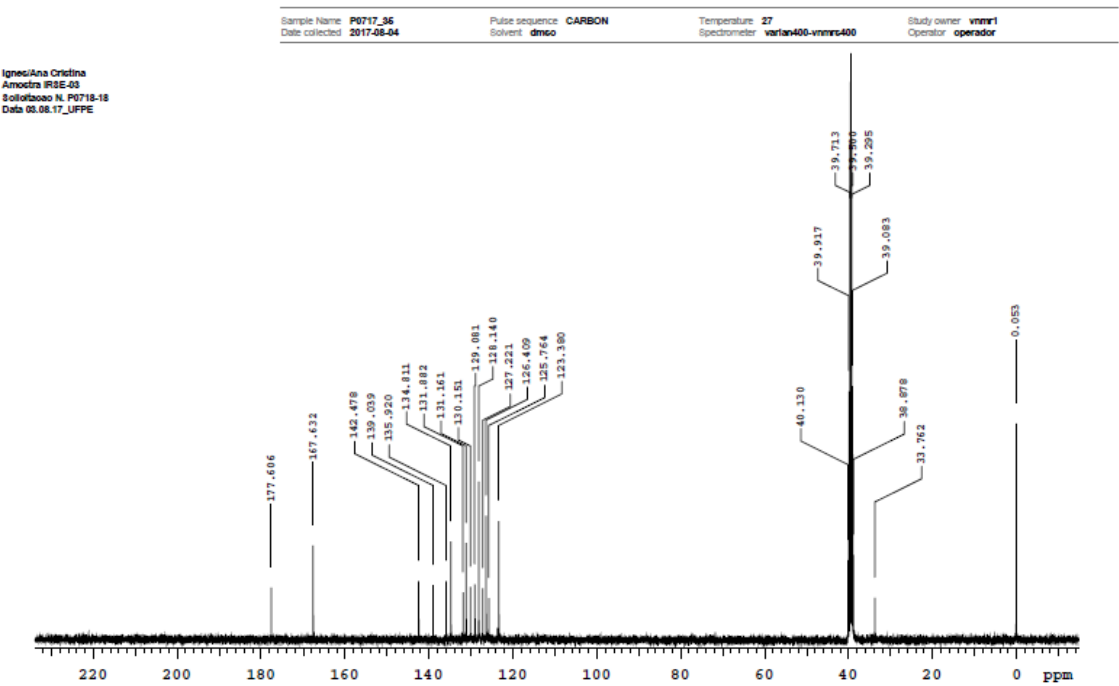
IRSE.03

RMN ¹H



IRSE.03

RMN ¹³C

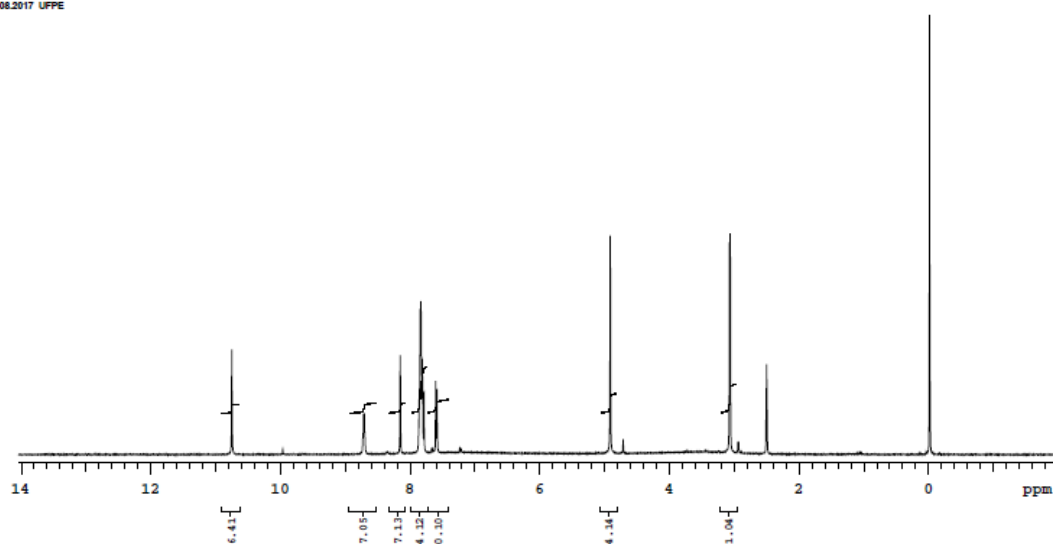


IRSE.04

RMN ^1H

Ignesi/Ana Cristina
Amostra IRSE.04
Soltolizao N. P0808-8
18.08.2017 UFPE

Sample Name	2017-08-18	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	operator
Date collected	2017-08-18	Solvent	dmsc	Spectrometer	varian400-nmrs400	Operator	operator

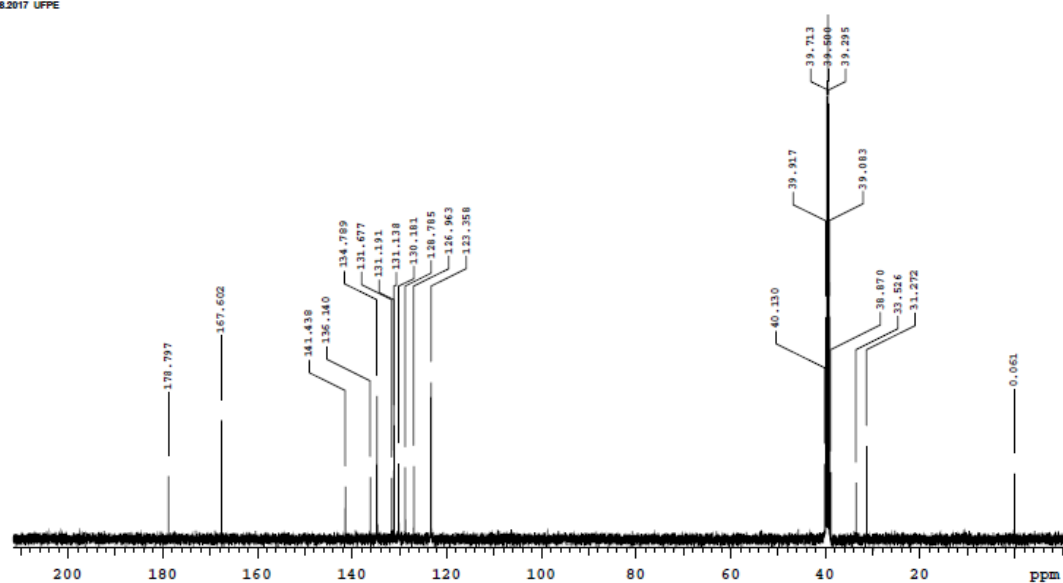


IRSE.04

RMN ^{13}C

Ignesi/Ana Cristina
Amostra IRSE.04
Soltolizao N. P0808-8
18.08.2017 UFPE

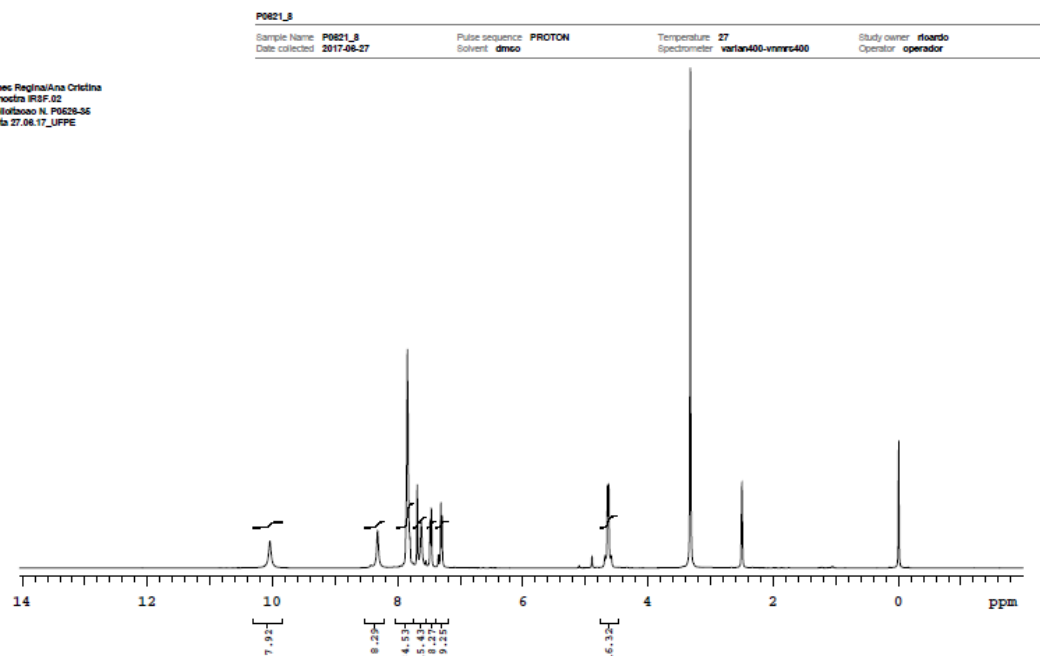
Sample Name	2017-08-18	Pulse sequence	CARBON	Temperature	27	Study owner	operator
Date collected	2017-08-18	Solvent	dmsc	Spectrometer	varian400-nmrs400	Operator	operator



IRSF.02

RMN ^1H

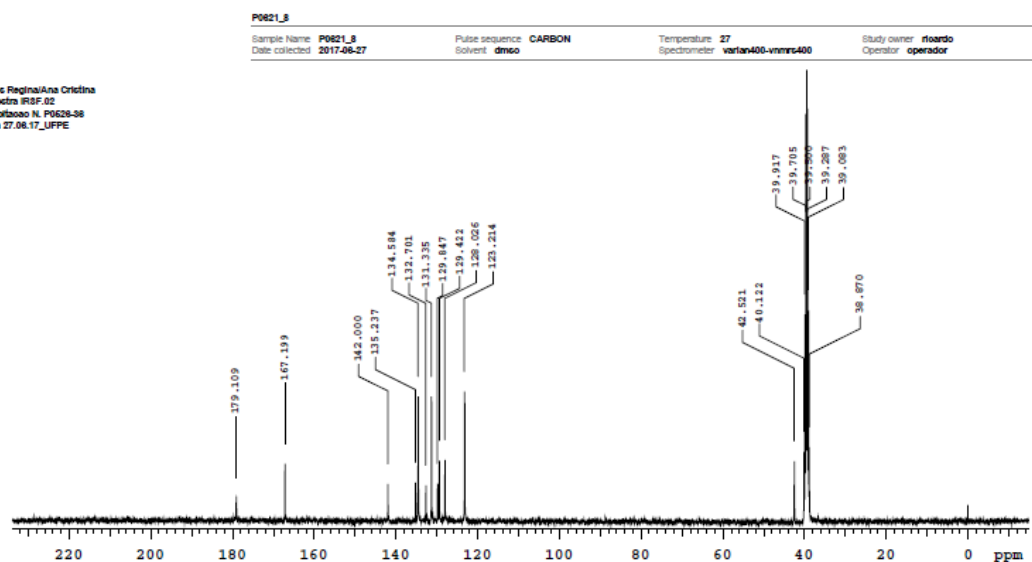
Ignes Regina/Ana Cristina
 Amostra IRSF.02
 Solitacao N. P0628-36
 Data 27.06.17_UFPE



IRSF.02

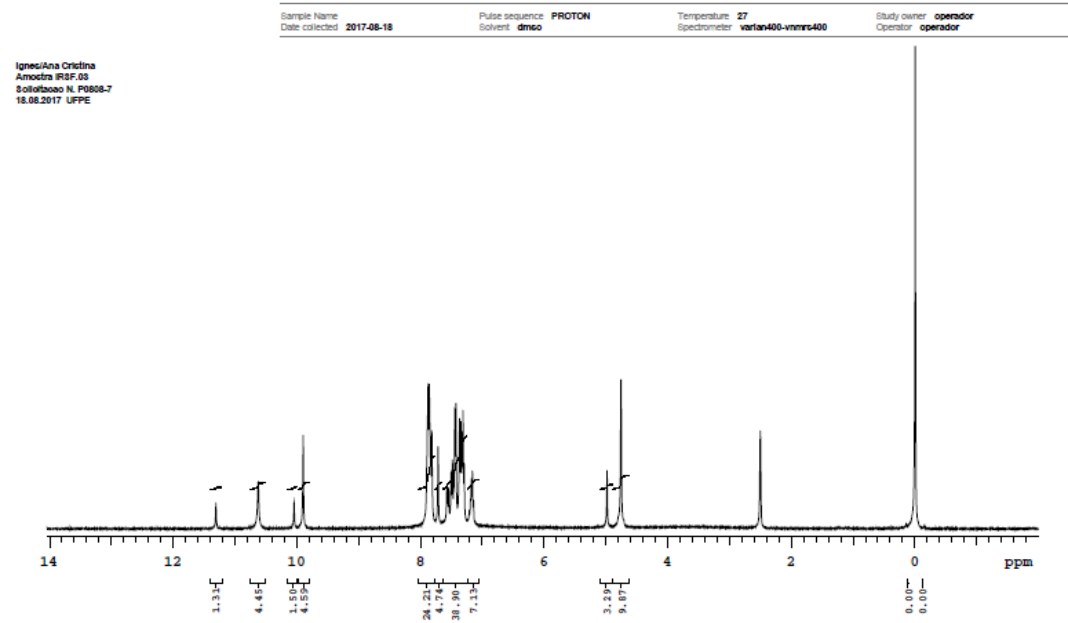
RMN ^{13}C

Ignes Regina/Ana Cristina
 Amostra IRSF.02
 Solitacao N. P0628-36
 Data 27.06.17_UFPE



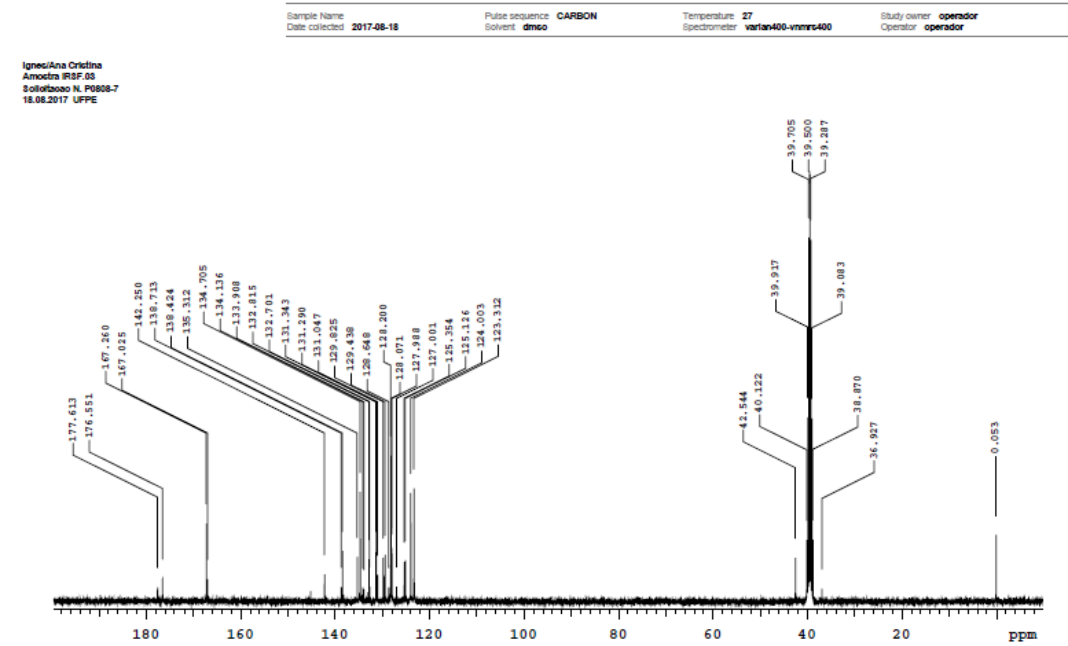
IRSF.03

RMN ¹H



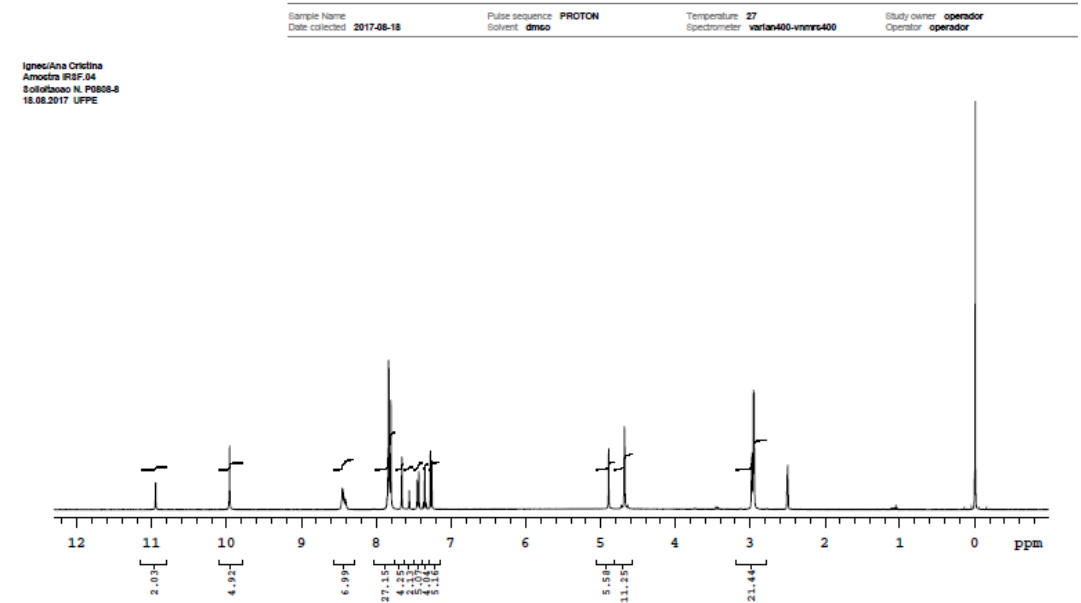
IRSF.03

RMN ¹³C



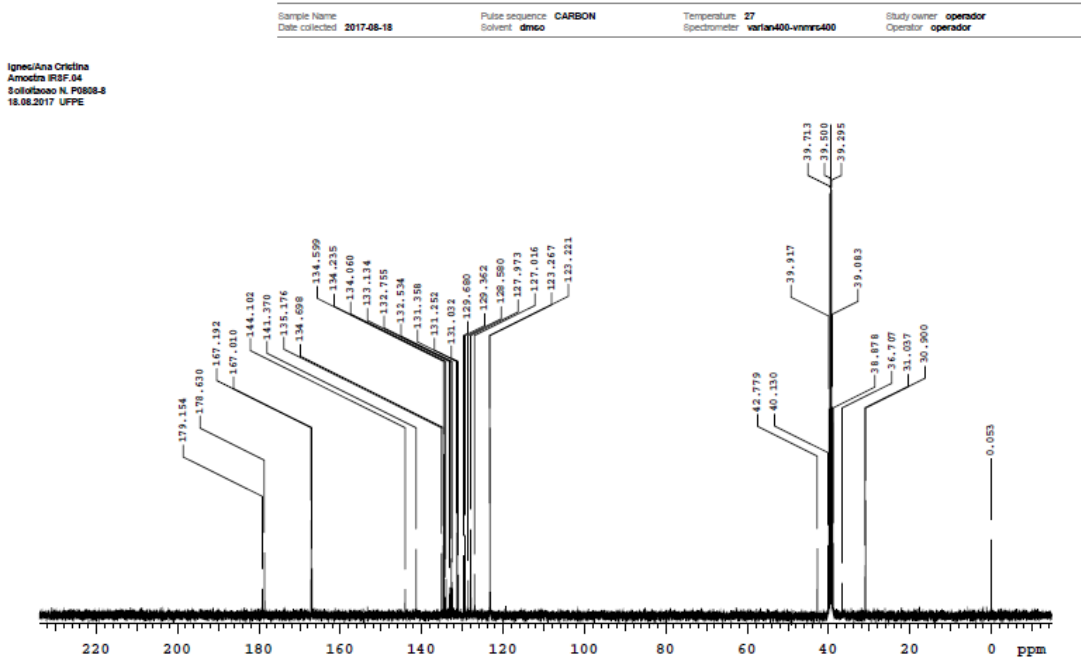
IRSF.04

RMN ¹H



IRSF.04

RMN ¹³C

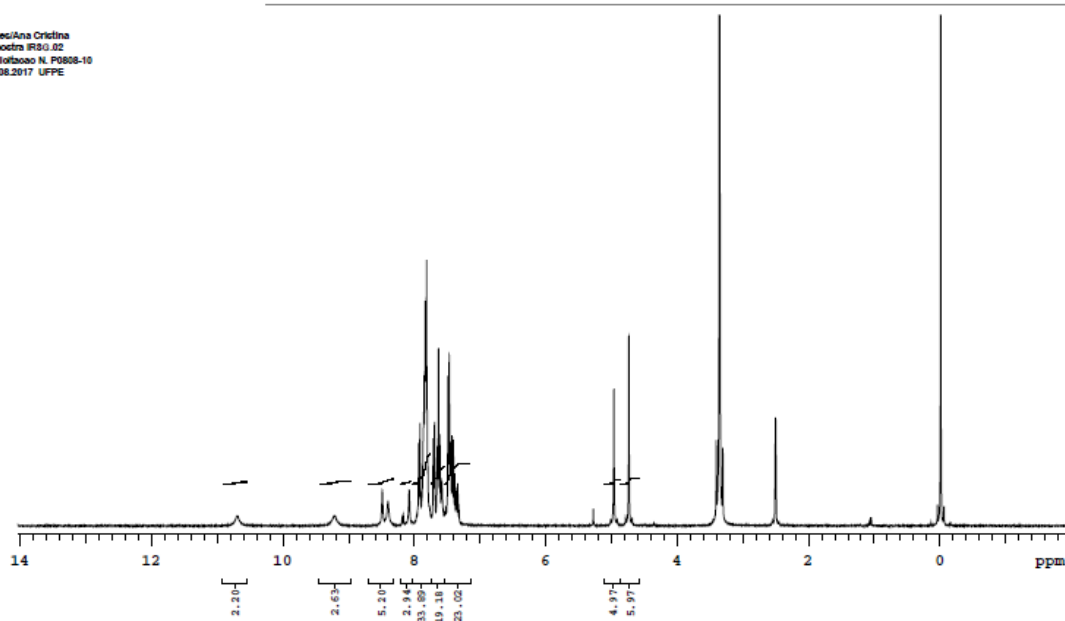


IRSG.02

RMN ^1H

Ignesi/Ana Cristina
Amoxtra IRSG.02
S01010300 N. P0808-10
21.08.2017 UFPE

Sample Name	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	operator
Date collected	2017-08-21	Solvent	dmsc	Spectrometer	varian400-vnmrs400	Operator



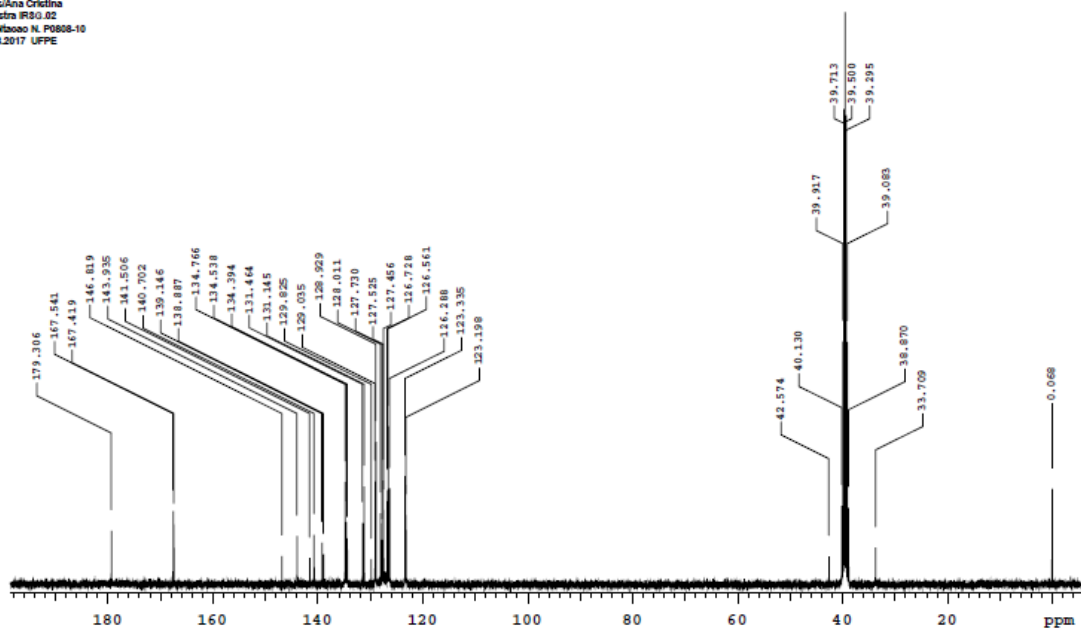
IRSG.02

RMN ^{13}C

Ignesi/Ana Cristina
Amoxtra IRSG.02
S01010300 N. P0808-10
21.08.2017 UFPE

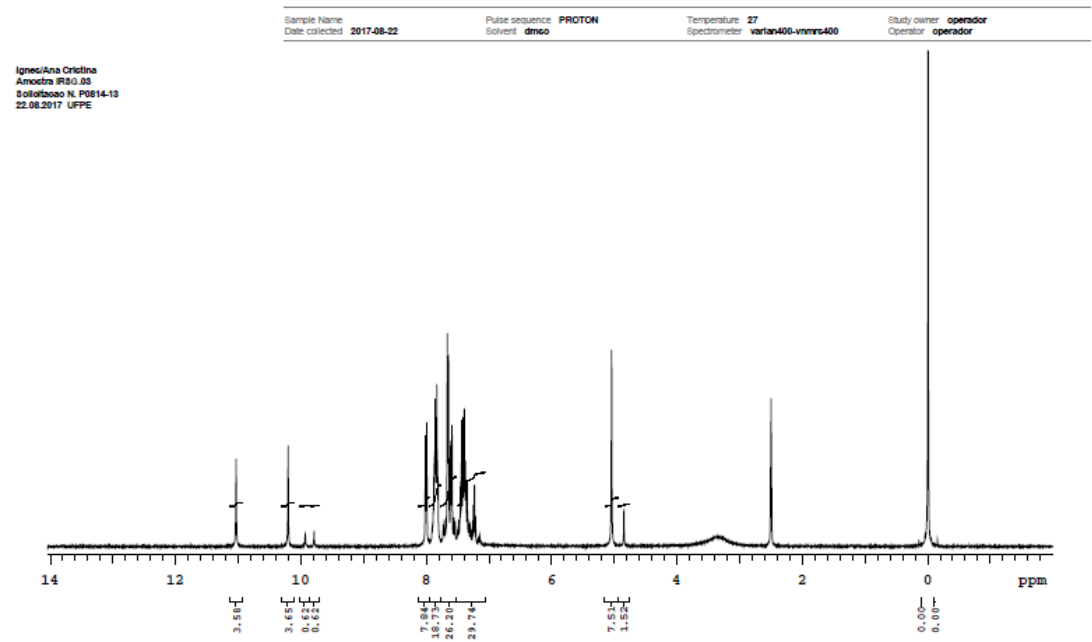
anv_ip_7720

Sample Name	Pulse sequence	CARBON	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-08-21	Solvent	dmsc	Spectrometer	varian400-vnmrs400	Operator



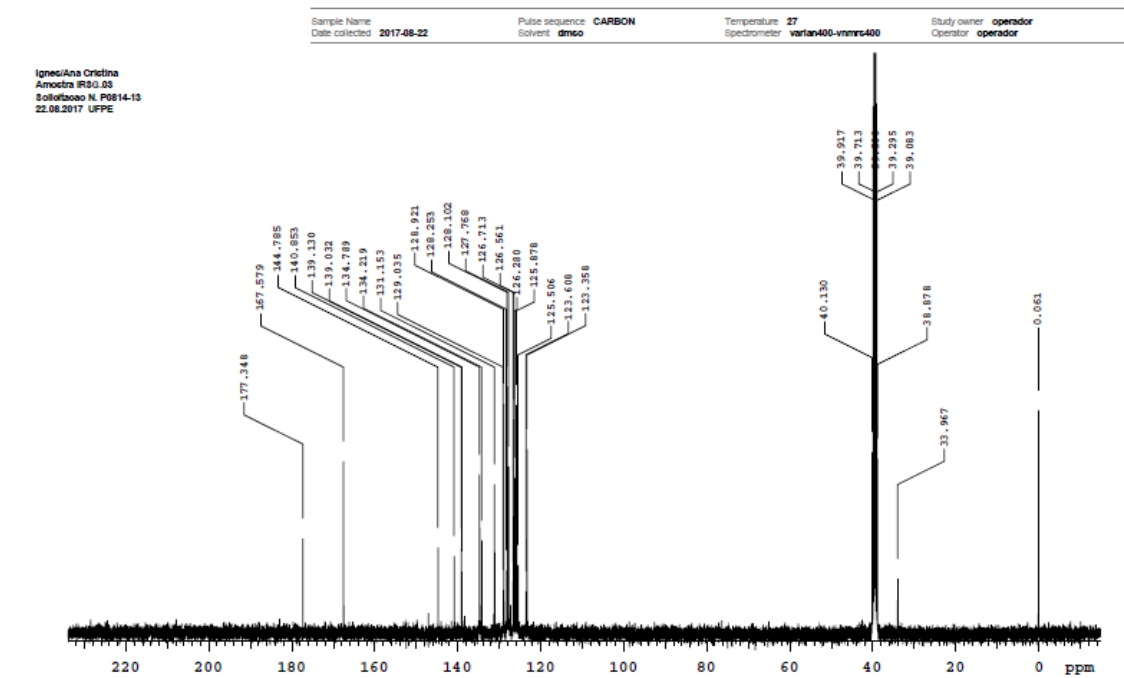
IRSG.03

RMN ¹H



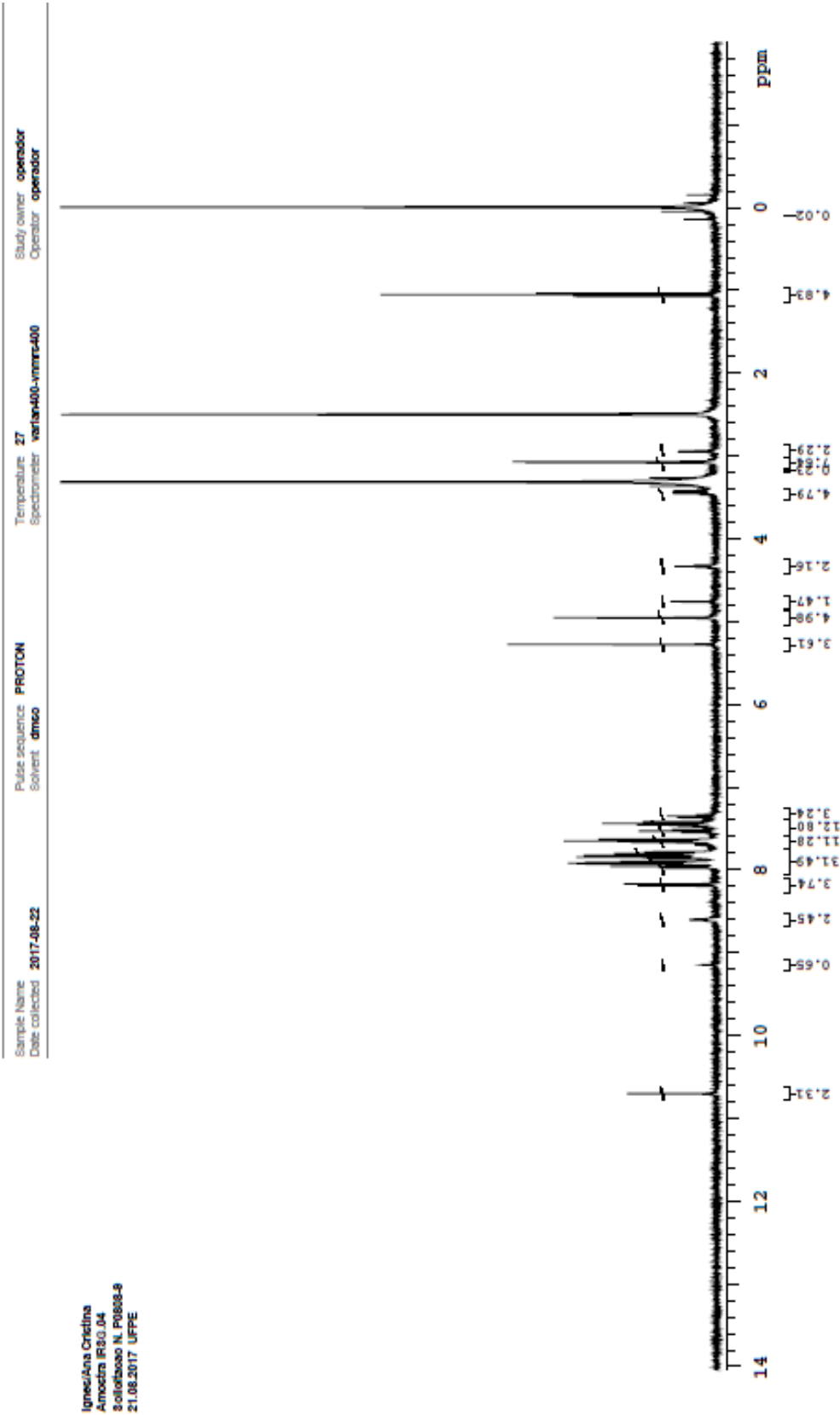
IRSG.03

RMN ¹³C



IRSG.04

RMN ¹H



Ignacio Ana Cristina
Amoia IRSG.04
Scribano N. P0808-8
21.08.2017 UFPE

IRSG.04RMN ^{13}C

Não foi possível a obtenção deste resultados pelo equipamento.