



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

JANINE SIQUEIRA NUNES

**PLANEJAMENTO ESTRUTURAL, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE TIAZÓIS DERIVADOS DA ISATINA**

Recife
2023

JANINE SIQUEIRA NUNES

**PLANEJAMENTO ESTRUTURAL, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE TIAZÓIS DERIVADOS DA ISATINA**

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: Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Prof^ª Dra. Ana Cristina Lima Leite

Recife
2023

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Rodrigo Leopoldino Cavalcanti I, CRB4-1855

N972p Nunes, Janine Siqueira.
Planejamento estrutural, síntese e avaliação da atividade biológica de tiazóis derivados da isatina / Janine Siqueira Nunes. – 2023.
59 f. : il. ; tab. ; 30 cm.

Orientadora : Ana Cristina Lima Leite.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2023.

Inclui referências.

1. Doenças Negligenciadas. 2. Tripanocida. 3. Leishmanicida. 4. Isatina. 5. Tiazóis. I. Leite, Ana Cristina Lima (Orientadora). II. Título.

615

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2023-093)

JANINE SIQUEIRA NUNES

**PLANEJAMENTO ESTRUTURAL, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE TIAZÓIS DERIVADOS DA ISATINA**

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

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Aprovada em: 09/02/2023

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dr^a. Ana Cristina Lima Leite (Orientadora)
Departamento de Ciências Farmacêuticas -UFPE

Dr.^a Maria Carolina Accioly Brelaz de Castro (Examinadora Externa)
Núcleo de Enfermagem, CAV-UFPE

Dr. Luiz Alberto Barros Freitas (Examinador Externo)
Secretaria do Estado de Pernambuco -SEE-PE

Recife
2023

Dedico esse trabalho a minha mãe, por ser meu exemplo de força e perseverança, amo você.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, que está comigo a todo instante.

Aos meus amados pais, Adriana e Noberto, por todo amor, dedicação e por aguentarem sem reclamar a saudade que sentem. A vocês todo meu amor e gratidão.

Aos meus irmãos por todo apoio em minha vida acadêmica e pessoal, Amo vocês.

Ao meu querido Marcos André, por toda paciência e amor, mesmo nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos do LPQM (Vanessa, Elineide, Daniel, Daiane, Anderson, Juliana, Lucas e Expedito) por todos os momentos felizes e ajudas no laboratório.

A minha orientadora, Dr^a. Ana Cristina, por ter me aceitado como orientanda e por todos os ensinamentos, dedicação e compreensão.

A professora Valeria Hernandes e Policarpo Ademar da Fiocruz – CpqAM, pela realização da atividade biológica.

Aos membros da banca, Dr^a. Maria Carolina e Dr. Alberto Freitas, meus sinceros agradecimentos.

A todos que não foram citados aqui, mas que me ajudaram e torceram por mim, meus agradecimentos.

RESUMO

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) têm maior prevalência nas regiões tropicais e subtropicais e afetam mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo. Uma lista de 20 DTNs inclui as doenças transmitidas por insetos vetores como leishmaniose e doença de Chagas. Ambas as doenças são endêmicas em países em desenvolvimento e embora existam medicamentos disponíveis para o seu tratamento, os fármacos presente exibem limitações por um ou mais fatores como: desenvolvimento de resistência a medicamentos, toxicidade e efeitos colaterais, falta de seletividade, índices terapêuticos estreitos, rota de administração e biodisponibilidade. Como tal, há uma necessidade urgente de desenvolver alternativas viáveis para superar essas limitações. A Isatina e o Tiazol são estruturas privilegiadas que a literatura demonstra ser eficaz em diversas atividades biológicas, destacando a atividade antiparasitária. Nesse sentido, a proposta do presente trabalho consistiu em planejar, sintetizar e avaliar uma série de 11 compostos derivados da isatina-tiazol. Os compostos foram avaliados frente formas amastigota e tripomastigota de *T. cruzi* e frente a formas amastigotas e promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum*. Para a avaliação da atividade anti-*T. cruzi*, foi utilizada a cepa Tulahuen, e a toxicidade avaliada em fibroblastos L929. A série testada não apresentou efeitos significativos quando comparados ao fármaco de referência. No entanto, os testes realizados para analisar o efeito leishmanicida e toxicidade em macrófagos RAW 264.7 se destacaram. Para a forma promastigota os compostos SN-1A (IC₅₀ 3,62µM), SN-1F (IC₅₀ 3,05µM) e SN-1G (IC₅₀ 3,57µM) para espécies de *L. infantum* se destacaram. Para a espécie *L. amazonensis* o composto SN-1F (IC₅₀ 17,63µM) se destaca mais uma vez apresentando valores superiores ao do fármaco de referência (Miltefosina – IC₅₀ 26,74µM). Diante do exposto, muitos dos compostos se mostraram promissores para estudos mais aprofundados frente à atividade leishmanicida.

Palavras-chave: doenças negligenciadas; tripanocida; leishmanicida; isatina; tiazol.

ABSTRACT

Neglected Tropical Diseases (NTDs) are most prevalent in tropical and subtropical regions and affect more than one billion people worldwide. A list of 20 NTDs includes diseases transmitted by insect vectors such as leishmaniasis and Chagas disease. Both diseases are endemic in developing countries and although there are drugs available for their treatment, the present drugs exhibit limitations by one or more factors such as: development of drug resistance, toxicity and side effects, lack of selectivity, narrow therapeutic indexes, route of administration and bioavailability. As such, there is an urgent need to develop viable alternatives to overcome these limitations. Isatin and Thiazol are privileged structures that the literature demonstrates to be effective in various biological activities, highlighting the antiparasitic activity. In this sense, the proposal of the present work consisted of planning, synthesizing and evaluating a series of 11 compounds derived from isatin-thiazole. The compounds were evaluated against forms amastigotes and trypomastigotes of *T. cruzi* and against forms amastigotes and promastigotes of *L. amazonensis* and *L. infantum*. For the evaluation of the anti-*T. cruzi* activity, the Tulahuen strain was used, and the toxicity evaluated in L929 fibroblasts. Unfortunately, the compounds in the series did not show significant effects when compared to the reference drug. However, the tests carried out to analyze the leishmanicidal effect and toxicity in RAW 264.7 macrophages stood out. For the promastigote form, the compounds SN-1A (IC₅₀ 3.62 μ M), SN 1F (IC₅₀ 3.05 μ M) and SN-1G (IC₅₀ 3.57 μ M) for *L. infantum* species stood out. For the species *L. amazonensis*, the compound SN-1F (IC₅₀ 17.63 μ M) stands out once again, showing values higher than the reference drug (Miltefosine - IC₅₀ 26.74 μ M). In view of the above, many of the compounds showed promise for further studies regarding their leishmanicidal activity.

Keywords: neglected diseases; trypanocide; leishmanicidal; isatin; thiazole.

LISTAS DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Espécies com maior prevalência na América..... | 17 |
| Figura 2 – Ciclo de vida do T.cruzi..... | 18 |
| Figura 3 – Estrutura do Benznidazol..... | 20 |
| Figura 4 – Mosquito-palha..... | 22 |
| Figura 5 – Ciclo biológico das leishmanioses..... | 23 |
| Figura 6 – Estrutura dos principais fármacos usados no tratamento da leishmaniose..... | 25 |
| Figura 7 – Estrutura da Isatina..... | 26 |
| Figura 8 – Derivados da Isatina com atividade anti-T. cruzi..... | 27 |
| Figura 9 – Estrutura do Tiazol..... | 27 |
| Figura 10 – Drogas 5-nitroheterocíclicas com atividade antiparasitárias..... | 28 |
| Figura 11 – Derivados da tiazol com atividade anti-T. cruzi..... | 28 |
| Figura 12 – Emprego da hibridação molecular para o planejamento estrutural das tiazolil- isatinas..... | 30 |
| Figura 13 – Regra dos 5 proposta por Lipinski e parâmetros propostos por Veber..... | 31 |
| Figura 14 – Síntese dos compostos..... | 34 |
| Figura 15 – Esquema de síntese do intermediário da série SN..... | 39 |
| Figura 16 – Esquema de síntese da série SN..... | 40 |
| Figura 17 – Espectro de RMN 1H para a molécula SN-1O..... | 42 |
| Figura 18 – Espectro de RMN 13C para a molécula SN-1O..... | 43 |

LISTAS DE TABELA

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Dados dos compostos planejados aplicados à regra de Lipinsk e Veber..... | 31 |
| Tabela 2 – Propriedades gerais dos compostos finais..... | 41 |
| Tabela 3 – Determinação da atividade tripanocida in vitro dos derivados SN-1A-SN-1O em comparação com a droga padrão Benzonidazol..... | 48 |
| Tabela 4 – Determinação da atividade leishmanicida in vitro dos derivados SN-1A-SN-1O em comparação com a droga padrão Miltefosina..... | 49 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------------------------|--|
| BDZ | Benznidazol |
| CC₅₀ | Concentração citotóxica para 50% das células |
| CCD | Cromatografia em camada delgada |
| d | Dupleto |
| DC | Doença de Chagas |
| DMSO | Dimetilsulfoxido |
| DTNs | Doenças tropicais negligenciadas |
| IC₅₀ | Concentração inibitória para 50% da população |
| IS | Índice de seletividade |
| LC | Leishmaniose Cutânea |
| LMC | Leishmaniose Muco-cutânea |
| LpQM | Laboratório de Planejamento em Química Medicinal |
| LV | Leishmaniose Visceral |
| m | Multiplete |
| ND | Não determinado |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PF | Ponto de fusão |
| RF | Fator de Retenção |
| RMN ¹³C | Ressonância Magnética Nuclear de Carbono -13 |
| RMN ¹H | Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio -1 |
| s | Singleto |
| t | Triplete |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 13 |
| 2 | OBJETIVO..... | 15 |
| 2.1 | Objetivo geral..... | 15 |
| 2.2 | Objetivos específicos..... | 15 |
| 3 | REVISÃO DA LITERATURA..... | 16 |
| 3.1 | Doenças Negligenciadas..... | 16 |
| 3.1.1 | <i>Doença de Chagas.....</i> | 16 |
| 3.1.1.1 | <i>Manifestações clinica e diagnostico.....</i> | 19 |
| 3.1.1.2 | <i>Tratamento.....</i> | 20 |
| 3.1.2 | <i>Leishmsaniose.....</i> | 21 |
| 3.1.2.1 | <i>Manifestações clínicas e diagnostico.....</i> | 23 |
| 3.1.2.2 | <i>Tratamento.....</i> | 24 |
| 3.2 | Estruturas Privilegiadas..... | 25 |
| 3.2.1 | <i>Isatina.....</i> | 26 |
| 3.2.2 | <i>Isatina nas doenças negligenciadas.....</i> | 26 |
| 3.2.3 | <i>Tiazol.....</i> | 27 |
| 3.2.4 | <i>Tiazol nas doenças negligenciadas.....</i> | 27 |
| 4 | PLANEJAMENTO ESTRUTURAL..... | 29 |
| 5 | METODOLOGIA..... | 33 |
| 5.1 | Local da pesquisa..... | 33 |
| 5.2 | Materiais..... | 33 |
| 5.3 | Planejamento estrutural..... | 34 |
| 5.3.1 | <i>Swiss ADME.....</i> | 34 |
| 5.4 | Rota Sintética..... | 34 |
| 5.4.1 | <i>Síntese do intermediário (INT-SN).....</i> | 34 |
| 5.4.2 | <i>Síntese da série isatina-hidrazona-tiazóis SN-1A à SN-1O.....</i> | 35 |
| 5.4.3 | <i>Caracterização Estrutural.....</i> | 35 |
| 5.5 | Atividade biológica..... | 35 |
| 5.5.1 | <i>Ensaio tripanocida.....</i> | 35 |
| 5.5.2 | <i>Ensaio de citotoxicidade em fibroblastos L929.....</i> | 36 |
| 5.5.3 | <i>Índice de seletividade.....</i> | 36 |
| 5.5.4 | <i>Ensaio com promastigotas de L. amazonensis e L.infantum.....</i> | 36 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 5.5.5 | <i>Ensaio com amastigotas de L. amazonensis e L.infantum.....</i> | 37 |
| 5.5.6 | <i>Ensaio de citotoxicidade em macrófagos RAW 264.7.....</i> | 37 |
| 6 | RESULTADOS..... | 39 |
| 6.1 | Parte Química..... | 39 |
| 6.1.1 | <i>Dados físico-químicos e elucidação estrutural.....</i> | 43 |
| 6.2 | Parte Biológica..... | 47 |
| 6.2.1 | <i>Avaliação da atividade tripanocida da série SN.....</i> | 47 |
| 6.2.2 | <i>Avaliação da atividade leishmanicida da série SN.....</i> | 48 |
| 7 | CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS..... | 52 |
| 7.1 | Conclusões..... | 52 |
| 7.2 | Perspectivas..... | 52 |
| | REFERÊNCIAS..... | 53 |

1 INTRODUÇÃO

A química medicinal compreende a integração de diversas áreas da ciência e tecnologia, sua principal função é a descoberta de fármacos com potencial ativo que possam se tornar um medicamento. Esse processo também é conhecido como planejamento racional de medicamentos, atuando como chave na descoberta de inovações terapêuticas para uma ampla variedade de doenças (SOUSA *et al.*, 2021).

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) referem-se a uma variedade de doenças infecciosas que são mais comuns em regiões tropicais e subtropicais do mundo (CHANDA, 2021). A doença de Chagas e a leishmaniose são doenças tropicais negligenciadas que afetam mais de 15 milhões de pessoas em todo o mundo, representando um importante problema de saúde pública, especialmente nos países da América Latina (ROSA *et al.*, 2017).

A doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, é categorizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma doença negligenciada e que apresenta poucas opções de tratamento disponíveis até o momento. O *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas, infecta cerca de 6 a 8 milhões de pessoas em todo o mundo (OPAS-OMS, 2021). No Brasil, apenas o Benzonidazol encontra-se disponível para o tratamento da doença de Chagas. Esse medicamento é eficaz contra a forma ativa do parasita (tripomastigotas) nas fases iniciais da doença, mas não na fase crônica (NHAVENE *et al.*, 2018).

A leishmaniose é uma doença causada por parasitas pertencentes a mais de 20 espécies de *Leishmania*, que são transmitidas aos mamíferos através da picada de fêmeas de flebotomíneos durante sua alimentação. O tratamento utilizado é através de medicamentos antimoniais pentavalente, anfotericina B, miltefosina e pentamidina (ROSA *et al.*, 2017). No entanto, as opções terapêuticas disponíveis enfrentam restrições causadas por um ou mais dos seguintes fatores: desenvolvimento de resistência a medicamentos, efeitos tóxicos e colaterais, falta de seletividade, índices terapêuticos estreitos, limitações na rota de administração e biodisponibilidade. Conseqüentemente, há uma necessidade premente de se desenvolver alternativas viáveis para superar essas limitações (ONG *et al.*, 2018).

A atividade biológica dos compostos depende de suas estruturas moleculares. Devido às suas amplas aplicações no desenvolvimento e descoberta de fármacos, os compostos heterocíclicos têm sido amplamente utilizados na química medicinal. Além disso, o desenvolvimento de novos fármacos baseados em "estrutura privilegiada" é uma estratégia

promissora para a descoberta de novas moléculas como principais candidatos a fármacos (WANG *et al.*, 2021).

A Isatina é identificada como um núcleo privilegiado. Amplamente distribuída em plantas e produtos naturais de origem marinha, incluindo metabólitos fúngicos (SINGH *et al.*, 2022). Possui uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo anticancerígena (ELDEEB *et al.*, 2022; TENG *et al.*, 2016), antibacteriana, antifúngica (SALEEM *et al.*, 2022; TANGADANCHU, SUI, ZHOU, 2021), anti-inflamatório, antinociceptivo (DANTAS, 2020), anticonvulsivante (EMAMI *et al.*, 2021), anti-tuberculose (YAN *et al.*, 2018) entre outras.

Outro importante núcleo é o tiazol, heterociclo derivado da tiossemicarbazona. Apresenta amplo espectro de atividades farmacológicas, inclusive em medicamentos disponíveis no mercado como Sulfatiazol (antimicrobiano), Tiazfurina (antineoplásica), Ritonavir (antirretroviral) e Abafungina (antifúngico). Compostos biologicamente ativos contendo núcleo tiazol foram amplamente estudados e incluídos na síntese de muitos medicamentos (SANTANA *et al.*, 2018; ABU-MELHA *et al.*, 2022).

Uma estratégia bastante utilizada para o planejamento de fármacos é a hibridização molecular, onde duas frações bioativas são combinadas para obter uma única molécula híbrida com propriedades de ambas as frações, com maior potência, toxicidade reduzida e resistência minimizada (SINGH *et al.*, 2022).

Visando um possível sinergismo do tiazol com a isatina em uma molécula híbrida e a necessidade de identificar novos candidatos a fármacos úteis no tratamento de DTNs, e por outro lado, em virtude das propriedades multi alvo atribuídas aos tiazóis e as isatinas, este trabalho descreve o planejamento estrutural, a síntese e a avaliação farmacológica das propriedades anti-*Leishmania* e anti-*Trypanosoma cruzi* de derivados híbridos isatina-tiazol.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Desenvolvimento de novos candidatos a fármacos para o tratamento da leishmaniose e da doença de Chagas, através do planejamento estrutural e da síntese de inéditas isatina-tiazol.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar uma série de compostos isatina-tiazol;
- Caracterizar todos os compostos por técnicas espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (^1H -RMN), Carbono (^{13}C -RMN);
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos compostos em macrófagos RAW 264.7 e fibroblastos L929;
- Avaliar a atividade anti-*T.cruzi* dos tiazóis frente às formas amastigota e tripomastigota do parasita;
- Avaliar a atividade anti-*Leishmania* dos tiazóis frente às formas amastigota e promastigota das espécies *L. amazonensis* e *L. infantum*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Doenças Negligenciadas

As doenças tropicais negligenciadas são temas importantes de interesse mundial. Consistem em uma série de doenças infecciosas e parasitárias que são prevalentes em regiões tropicais ou subtropicais, geralmente encontradas em populações com condições de vida precárias. São chamados de negligenciadas devido à menor atenção que recebem das indústrias de medicamentos e formuladores de políticas públicas, apesar das altas taxas de mortalidade (CORDEIRO *et al.*, 2021).

Apesar de contribuírem com cerca de 11% da carga global de doenças, as doenças negligenciadas ainda carecem de desenvolvimento terapêutico adequado, o que se deve, em grande parte, à falta de interesse das empresas farmacêuticas em investir na pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos para tratar essas doenças, devido à baixa rentabilidade financeira. Embora algumas empresas estejam trabalhando em parceria com organizações globais, como a iniciativa Drugs for Neglected Diseases (DNDi), para desenvolver hits, leads e candidatos a fármacos, ainda há muito a ser feito para enfrentar esse desafio adequadamente (SANTOS *et al.*, 2020; FERREIRA, ANDRICOPULO, 2019).

3.1.1 Doença de Chagas

A doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana como também é conhecida, é uma das 20 doenças tropicais negligenciadas listadas pela OMS. A doença foi descoberta há 109 anos por Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, médico e cientista brasileiro que na época trabalhava como pesquisador no Instituto Oswaldo Cruz. Carlos Chagas mudou-se para a cidade de Lassance-MG com o intuito de combater a malária que acometia os trabalhadores envolvidos na construção dos ramais da estrada de ferro central do Brasil. Durante este período, ele utilizou um vagão de trem como moradia, laboratório e consultório, onde examinava animais e pessoas, ficando em contato direto com as doenças e a fauna daquela região. Sua dedicação o levou a descobrir um flagelado de mico, que ele denominou *Trypanosoma minasense*, exclusivo de micos. Após mais estudos, ele identificou outro tripanossoma, presente no tubo digestivo de barbeiros, insetos muito frequentes em casas da região e causadores de várias enfermidades (WHO, [S.D]; FITARELLI, HORN, 2008).

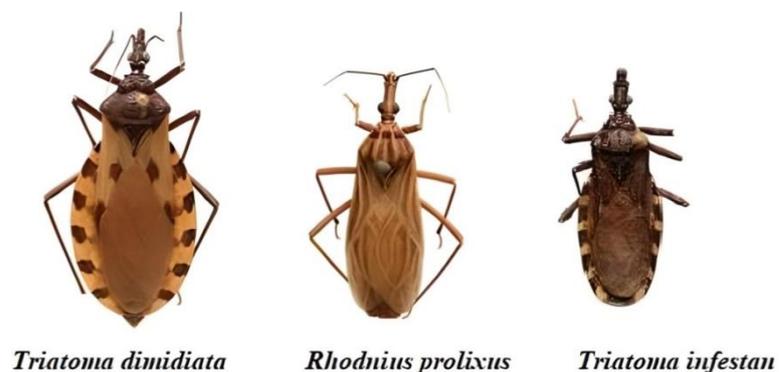
Em 1909, diante da descoberta, Carlos Chagas remeteu amostras de barbeiros infectados ao laboratório de Oswaldo Cruz, localizado no Rio de Janeiro. Por meio da infecção de micos, comprovou-se a hipótese de Chagas de que este tripanossoma representava

uma nova espécie que circulava entre barbeiros, mamíferos e, possivelmente, seres humanos. A partir deste momento, Carlos Chagas dedicou-se incansavelmente à busca deste protozoário no sangue de pessoas residentes em casas infestadas por barbeiros e denominou a nova espécie como *Trypanosoma cruzi*, em homenagem a Oswaldo Cruz. Carlos Chagas foi um dos poucos cientistas a descobrir uma patologia, descrever o agente causador da doença, identificar o vetor, dissertar sobre os dados epidemiológicos, clínicos e sociais de sua nova descoberta (KROPF, AZEVEDO, FERREIRA, 2000; MALAFAIA, RODRIGUES, 2010).

A DC é uma zoonose endêmica em 21 países americanos, e se dissemina em países europeus, Austrália e Japão. Acomete aproximadamente 6 a 8 milhões de pessoas, com incidência anual de 30 mil casos novos na região, ocasionando, em média, 14.000 mortes/ano e 8.600 recém-nascidos infectados durante a gravidez. Estima-se que cerca de 75 milhões de pessoas vivem em áreas de risco, aumentando assim as chances de contrair a doença. Como decorrência das elevadas incidências ao longo do século XX, estima-se que existam atualmente pelo menos um milhão de pessoas infectadas no Brasil (OPAS-OMS, 2021; SVS-MS, 2022 BRINDHA, BALAMURALI, CHANDA, 2021; SCARIM *et al.*, 2019).

O parasita responsável pela doença é o *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), um protozoário hemoflagelado da ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae. O *T. cruzi* é transmitido por insetos vetores chamados triatomíneos. Os principais hospedeiros do parasita são as espécies *Triatoma dimidiata*, *Rhodnius prolixus* e *Triatoma infestans* como demonstrado na figura 1. Esses invertebrados defecam após a alimentação, liberando tripomastigotas infecciosos em suas fezes que penetram no hospedeiro. A infecção pelo *T. cruzi* também pode ocorrer por transmissão vertical, ingestão oral de alimentos ou bebidas contaminados, bem como por transfusão de sangue ou transplante de órgãos (SCARIM *et al.*, 2018; BRINDHA, BALAMURALI, CHANDA, 2021; LA HOZ, MORRIS, 2019).

Figura 1 - Espécies com maior prevalência na América.



Fonte: OLIVEIRA *et al.*, 2020 (Adaptado).

Seu ciclo reprodutivo (figura 2) permite que ele exista em três formas distintas (epimastigota, amastigota e tripomastigota). Os tripomastigotas metacíclicos (forma infecciosa) são transmitidos aos humanos por meio de fezes de triatomíneos; enquanto os triatomíneos se alimentam de sangue, eles defecam na pele do hospedeiro, e o *T. cruzi* penetra no hospedeiro. Já dentro do corpo as tripomastigotas são fagocitadas por macrófagos no tecido celular subcutâneo no local da infecção. No citosol desse tecido eles se diferenciam em amastigotas. As amastigotas se multiplicam por fissão binária e se transformam em tripomastigotas novamente, provocando a lise celular, possibilitando assim que percorram a circulação sanguínea e linfática para penetrar em qualquer célula do corpo. Nesse estágio, podem ser ingeridos por outro vetor. Dentro dos triatomíneos, os tripomastigotas avançam em direção ao segmento medial do trato gastrointestinal. Eles se diferenciam ali tornando-se epimastigotas, que são mais bem adaptados para sobreviver no ambiente e se reproduzir por fissão binária. As epimastigotas migram para o segmento distal do trato gastrointestinal, onde se fixam no epitélio do cólon por meio de seus flagelos, transformam-se em tripomastigotas metacíclicos novamente para serem então expelidos nas fezes durante a posterior ingestão de sangue e infectam outro ser humano, completando o ciclo de transmissão (ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ, 2018).

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



Fonte: KOSMINSKY, 2021.

3.1.1.1 Manifestações clínica e diagnóstico

O curso clínico da DC normalmente envolve uma fase aguda e uma fase crônica. A fase aguda da doença inicia após o período de incubação de 1 a 2 semanas após a inoculação. Os sintomas incluem febre, inflamação no local da inoculação e linfadenopatia na fase aguda, por esse motivo, muitos indivíduos infectados não são diagnosticados, pois muitas vezes não buscam atendimento médico. Ainda na fase aguda, o infectado pode apresentar edema palpebral unilateral (sinal de Romaña; quando a conjuntiva é a porta de entrada) e hepatoesplenomegalia ou ausência de sintomas (assintomático). Após a fase aguda, cerca de 30% dos pacientes entram no estágio determinado (estágio final), porém a maioria (70%) prossegue para a fase indeterminada (MALIK, 2015).

A chamada forma indeterminada (fase crônica) da DC é assintomática, porém, cerca de 30-40% dos pacientes cronicamente infectados podem desenvolver envolvimento de órgãos 10-30 anos após a infecção aguda. O envolvimento cardíaco é o tipo mais frequente e grave de envolvimento de órgãos, ocorre em 14-45% dos pacientes cronicamente infectados, enquanto que o envolvimento gastrointestinal ocorre 10-21% dos infectados (PÉREZ-MOLINA, MOLINA, 2018).

Na fase aguda, tripomastigotas móveis podem ser identificadas por meio de exame microscópico de sangue anticoagulado ou outros fluidos corporais, como o líquido cefalorraquidiano, utilizando métodos como esfregaços de sangue fino e espesso, ou métodos de concentração, como o microhematócrito e o método de Strout. Métodos parasitológicos indiretos, que é mais sensível que hemocultura, xenodiagnóstico e as técnicas de concentração ou métodos moleculares como PCR, que tem se mostrado muito útil no diagnóstico da transmissão vertical (ECHEVERRIA, MORILLO, 2019; PÉREZ-MOLINA, MOLINA, 2018).

Como a carga parasitária na fase crônica da DC é geralmente baixa, a menos que a reativação seja demonstrada, o diagnóstico recomendado são os testes sorológicos, como ensaio imunoenzimático (ELISA), ensaio de anticorpos imunofluorescentes (IFA) e hemaglutinação indireta (HAI), no entanto, nenhum teste realizado para infecção crônica por *T. cruzi* tem sensibilidade e especificidade suficientemente altas para ser usado isoladamente; resultados positivos de dois testes, preferencialmente baseados em antígenos diferentes (por exemplo, lisado de parasita total e antígenos recombinantes), são necessários para confirmação (GUARNER, 2019; BERN, 2015).

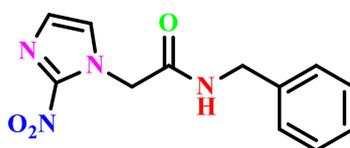
3.1.1.2 Tratamento

A quimioterapia atual para a DC é restrita a dois fármacos nitroheterocíclicos, o nifurtimox (NFX) e benznidazol (BZN), descobertos nas décadas de 1960 e 1970, respectivamente. Ambos têm atividade tripanocida alta durante a fase aguda da doença: até 100% em recém-nascidos e até 80-90% em crianças e adultos diagnosticados e tratados em tempo hábil variando de acordo com as cepas do *T. cruzi*. No entanto, na fase crônica da doença, o efeito tripanocida é reduzido. Além disso, podem resultar em uma série de efeitos colaterais, como anorexia, alterações psíquicas, manifestações digestivas, depressão da medula óssea, polineuropatia periférica, hipersensibilidade, linfadenopatia, púrpura trombocitopênica e agranulocitose (SCARIM *et al.*, 2018; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ, 2018).

No Brasil, o único fármaco disponível para o combate da DC é o BZN, o que contribui para que a doença seja considerada negligenciada no país. Além disso, a dificuldade em diagnosticar indivíduos na fase inicial da infecção, impacta negativamente na eficácia da terapia, o que representa um grande desafio.

Benznidazol ou N-Benzyl-2-nitro-1H-imidazole-1-acetamide (figura 3), é um derivado de 2-nitroimidazol usado no tratamento da DC. De acordo com a sua baixa solubilidade em água, o BZN é classificado como pertencente à classe quatro no sistema biofarmacêutico. Com base na posologia, o tratamento com BZN é realizado por via oral durante 60 dias diariamente com uma dose de 5–7mg/kg para adultos e 10mg/kg para crianças. A baixa solubilidade do BZN associado a um tratamento com doses elevadas por um longo período de tempo desencadeiam reações adversas. Além de influenciar na biodisponibilidade, reduzindo sua eficácia durante a fase crônica da infecção, quando os parasitas estão localizados principalmente nas células esqueléticas e do músculo cardíaco (BERMUDEZ *et al.*, 2016).

Figura 3 - Estrutura do Benznidazol.



Fonte: Própria autora, 2023.

Dado o desempenho farmacêutico insatisfatório das drogas atualmente disponíveis, benznidazol e nifurtimox, embora úteis quando administradas na fase aguda da doença, são ineficazes na fase crônica e exibem efeitos adversos devido à sua toxicidade. Portanto, são

necessárias mais pesquisas para descobrir e desenvolver novos medicamentos para curar o estágio crônico da infecção.

3.1.2 *Leishmaniose*

O patologista William Boog Leishman (1865-1926) em 1900 estava servindo o exército britânico na Índia. Leishman observou no baço de um soldado morto, pequenos corpos com cromatina destacada entre as manchas. Discernível das células sanguíneas, elas possuíam duas massas de cromatina regularmente padronizadas. Atualmente, essas duas estruturas da cromatina têm nomes rotulados: um núcleo maior e um cinetoplasto. Mas Leishman não conseguiu rotulá-los na época e guardou as anotações para referência futura. Em maio de 1903, ele observou os mesmos corpos no sangue de um rato morto com tripanossomíase. Relembrando as anotações de 1900, Leishman sugeriu que a infame “febre Dum-Dum” (Dum Dum era uma estação militar britânica perto de Calcutá, Índia) era causada por uma espécie distinta. Dois meses depois, Charles Donovan (1863-1951), um médico irlandês na Índia, também relatou os mesmos corpos descritos por Leishman. Em novembro de 1903, Ronald Ross (1857-1932), um oficial médico britânico autorizado a investigar calazar na Índia, publicou um artigo confirmando a natureza idêntica de ambas as descobertas e propôs o nome científico *Leishmania donovani*. Desde então, várias outras espécies de *Leishmania* foram relatadas por médicos (SASIDHARAN, SAUDAGAR, 2021).

As leishmanioses representam um grupo de doenças infecciosas, causadas por diferentes espécies de protozoários incluídos na família Trypanosomatidae, ordem Kinetoplastidae, gênero *Leishmania* e subgênero *Leishmania* e *Viannia*. Atualmente, mais de 20 espécies patogênicas ao homem foram descritas, atingindo principalmente a pele e órgãos como fígado, baço, medula óssea e gânglios linfáticos (WHO, 2022; NORCLIFFE *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Existem três formas principais de leishmanioses: visceral (forma mais grave da doença), cutânea (a mais comum) e mucocutânea. Os países com mais casos de leishmaniose visceral são Índia, Sudão do Sul, Sudão, Brasil, Etiópia e Somália. A leishmaniose está entre as dez principais doenças tropicais negligenciadas, com mais de 12 milhões de pessoas infectadas, 0,9-1,6 milhão de novos casos a cada ano, entre 20.000-30.000 mortes e 350 milhões de pessoas em risco de infecção. (WHO, 2022; PAHO, [S.D]).

Os flebotomíneos (também conhecidos como mosquito-palha, tatuquira, cangalhinha e birigui) são os hospedeiros invertebrados responsáveis pela leishmaniose. Pertencentes à

ordem Diptera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae, esses insetos apresentam coloração amarelada, corpo pequeno e piloso, asas que se mantêm eretas sobre o corpo em formato de “V” (figura 4). Os insetos adultos de ambos os sexos se alimentam dos açúcares de plantas, entretanto as fêmeas apresentam hábitos hematofágicos, necessários para a maturação dos ovos. Em geral, os flebotomíneos são altamente suscetíveis à desidratação, portanto, costumam se alimentar durante o crepúsculo e à noite, abrigando-se durante o dia (FIOCRUZ, 2019; ALEMAYEHU; ALEMAYEHU, 2017; VILELA *et al.*, 2014).

Figura 4 - Mosquito-palha.



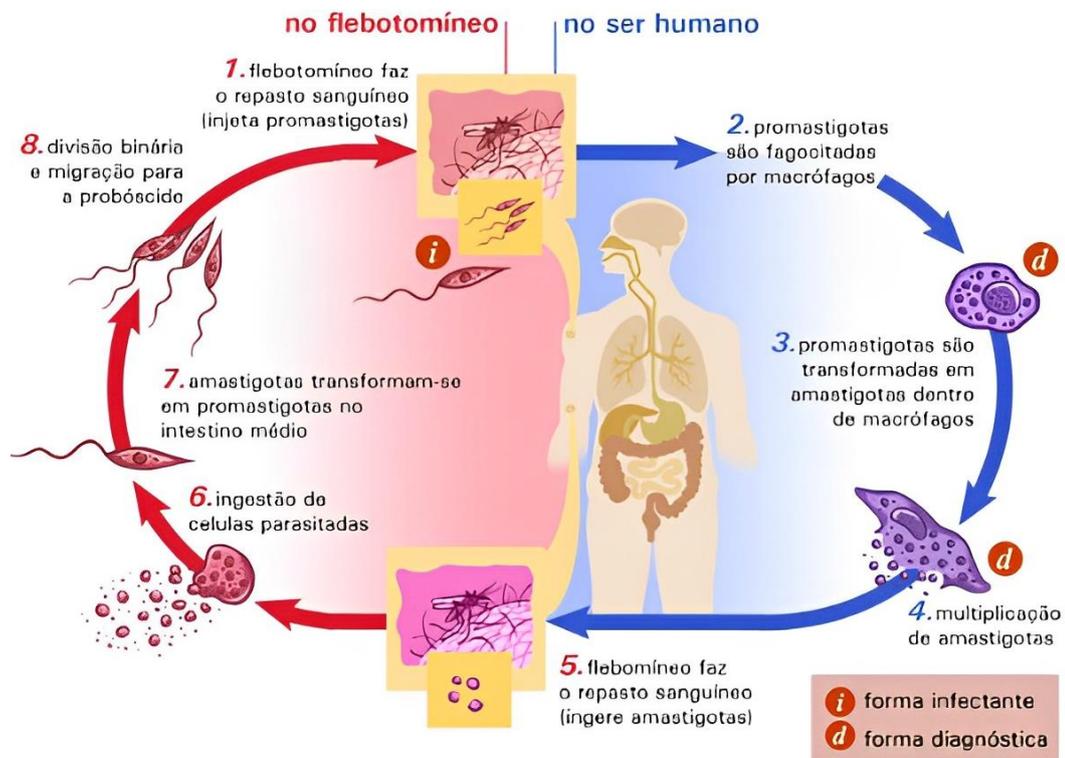
Fonte: IG SÃO PAULO, 2018.

Os parasitas *Leishmania* são transmitidos aos vertebrados pela picada de fêmeas de flebotomíneos infectados. Alguns flebotomíneos têm uma ampla variedade de hospedeiros, incluindo canídeos, roedores, marsupiais, mangustos, morcegos e hiraxes, enquanto outros se alimentam principalmente de humanos. Assim, a doença pode ser zoonótica, antroponótica ou antropozoonótica, embora poucas espécies sejam estritamente antroponóticas (STEVERDING, 2017; AKHOUNDI *et al.*, 2017).

Leishmania sp. apresenta duas fases distintas em seu ciclo de vida: promastigota e amastigota. O ciclo biológico das leishmanioses se inicia a partir do momento em que as fêmeas do inseto vetor ingerem macrófagos parasitados na forma amastigota de *Leishmania* presentes no sangue de animais infectados. Após isso, ocorre o rompimento dos macrófagos para liberar o parasita ainda na forma amastigota, o qual se reproduz e se desenvolve no trato digestivo do inseto, transformando-se em promastigota, a qual é flagelada e extracelular. Esta forma se reproduz no esôfago e faringe do vetor, até se diferenciarem em promastigotas metacíclicas (forma infectante). Com isso, ao picar novamente um hospedeiro vertebrado, estas formas são liberadas. Na epiderme do hospedeiro, são fagocitadas por macrófagos e se diferenciam na forma amastigota novamente. Estas se multiplicam até romper os macrófagos para serem fagocitadas por outros macrófagos e repetirem o processo (figura 5). Desta forma

ocorre a infecção do patógeno pelo sangue para outros tecidos, como os do fígado, baço e medula óssea (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019; MANN, 2021).

Figura 5 - Ciclo biológico das leishmanioses.



Fonte: IFOPE, 2020.

3.1.2.1 Manifestações clínicas e diagnóstico

A leishmaniose apresenta um espectro completo de manifestações clínicas, variando de assintomática a letal. Isso depende da espécie infectante, vetor, estado imunológico do hospedeiro, idade, estado nutricional, local e dose de inoculação e antecedentes genéticos do hospedeiro (KEVRIC, CAPPEL, KEELING, 2015). Como supracitado, as leishmanioses podem se manifestar no hospedeiro vertebrado de três formas clínicas: Leishmaniose Visceral (LV), Leishmaniose Cutânea (LC) e Leishmaniose Mucocutânea (LMC) (PODINOVSKAIA, DESCOTEAUX, 2015).

A leishmaniose visceral, também conhecida como calazar, é fatal se não tratada em mais de 95% dos casos. Caracterizada por episódios febris irregulares, perda de peso, esplenomegalia, hepatomegalia e anemia. A maioria dos casos ocorre no Brasil, na África Oriental e na Índia. Estima-se que 50.000 a 90.000 novos casos de LV ocorram anualmente em todo o mundo, com apenas 25 a 45% notificadas à OMS. Continua sendo uma das principais doenças parasitárias com potencial de surto e mortalidade. Mais de 90% dos novos

casos notificados à OMS em 2020 ocorreram em 10 países: Brasil, China, Etiópia, Eritreia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul, Sudão e Iêmen (WHO, 2022).

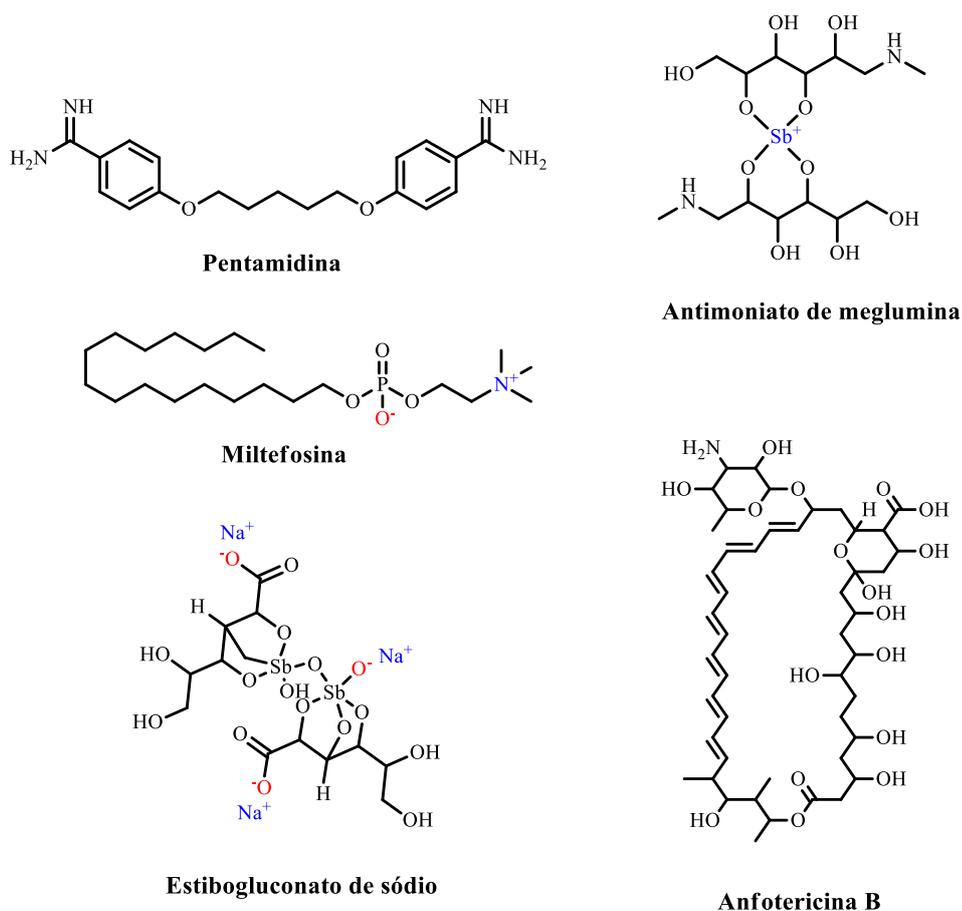
A leishmaniose cutânea é a forma mais comum de leishmaniose e causa lesões cutâneas, provocando úlceras, em partes expostas do corpo e cicatrizes para toda a vida. Cerca de 95% dos casos de LC ocorrem nas Américas, na bacia do Mediterrâneo, no Oriente Médio e na Ásia Central. Mais de 85% dos novos casos de LC em 2020 ocorreram em 10 países: Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Iraque, Líbia, Paquistão, Peru, República Árabe da Síria e Tunísia. Estima-se que entre 600 000 a 1 milhão de novos casos ocorram anualmente em todo o mundo (WHO, 2022).

A leishmaniose mucocutânea provoca destruição parcial ou total das membranas mucosas do nariz, boca e garganta. Mais de 90% dos casos de leishmaniose mucocutânea ocorrem na Bolívia, Brasil, Etiópia e Peru (WHO, 2022).

Na leishmaniose visceral, o diagnóstico é feito combinando sinais clínicos com testes parasitológicos ou sorológicos (como testes rápidos). Na leishmaniose cutânea e mucocutânea os testes sorológicos têm valor limitado, necessitando da combinação de informações sobre as manifestações clínicas com testes parasitológicos para confirmar o diagnóstico (WHO, 2022).

3.1.2.2 Tratamento

O tratamento da leishmaniose baseia-se exclusivamente no uso de medicamentos, Esses fármacos apresentam algumas limitações, como toxicidade, alto custo de produção e, conseqüentemente, comercialização, eficácia reduzida, dificuldade de administração e, mais importante, o surgimento de cepas resistentes. Houve várias tentativas de desenvolver uma vacina contra o parasita, mas não houve avanços nessa área. Portanto, o método de tratamento atual é a terapia convencional, ou seja, antimoniais pentavalentes (estibogluconato de sódio e antimoniato de meglumina), miltefosina, anfotericina B e pentamidina (SASIDHARAN, SAUDAGAR, 2021; TORRES-GUERRERO, 2017).

Figura 6 - Estrutura dos principais fármacos usados no tratamento da leishmaniose.

Fonte: Própria autora, 2023.

3.2 Estruturas Privilegiadas

As estruturas privilegiadas são estruturas ou fragmentos moleculares que possuem a capacidade de interagir com uma variedade de receptores biológicos e exibindo inúmeras propriedades farmacológicas, atuando como ligantes ativos e seletivos para uma variedade de alvos biológicos. Além disso, estruturas privilegiadas constantemente apresentam boas propriedades biológicas, tornando-as adequadas para criação de novos compostos ativos. Conseqüentemente, as estruturas privilegiadas permitem que químicos medicinais busquem compostos com potencial medicamentoso para inúmeras doenças, a fim de acelerar a pesquisa e o desenvolvimento de novos medicamentos (ZHANG, 2021).

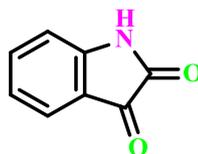
O termo “estruturas privilegiadas” foi publicado pela primeira vez por Evans (1988), descrevendo-as como subunidades estruturais frequentemente encontradas nas moléculas de diversos fármacos, aplicados no tratamento de muitas doenças e com afinidade para vários receptores. Desde então, um dos métodos mais utilizados na química medicinal para descobrir novos fármacos é o uso das estruturas privilegiadas (EVANS *et al.*, 1988; ZONOUZ, GHAFARI, POURREZA, 2022).

3.2.1 Isatina

A isatina, quimicamente conhecida como indolina-2,3-diona ou indole-1H-2,3-diona é considerada um bloco de construção privilegiado, foi obtido pela primeira vez por Erdmann e Laurent em 1840 como um produto da oxidação do corante índigo por ácido e ácido crômico (ERDMANN, 1840; LAURENT, 1840), além disso, é onipresente na natureza, e seus derivados possuem diversas propriedades farmacológicas (GUO 2019).

Derivada do indol, a isatina apresenta em sua estrutura um átomo de nitrogênio na posição 1 e dois grupos carbonila nas posições 2 e 3. O conjunto de anéis da isatina consiste em dois anéis cíclicos, um dos quais é de seis membros e o outro é de cinco membros como mostrado na Figura 7 (CHAHAL, NIRWAN, KAKKAR, 2019).

Figura 7 - Estrutura da Isatina.

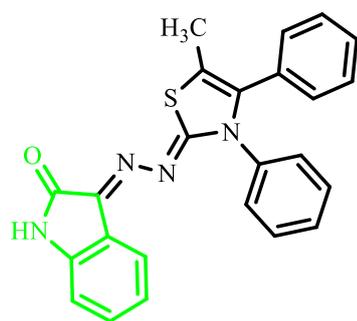


Fonte: Própria autora, 2023.

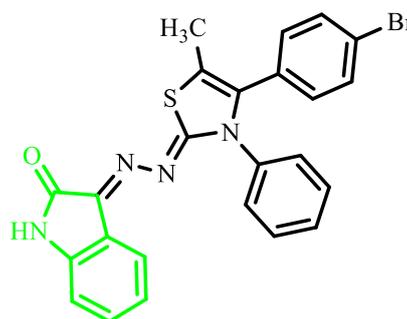
Dentre os registros de bioatividade das isatinas encontrados na literatura, destacam-se as anticancerígena (ELDEEB *et al.*, 2022; TENG *et al.*, 2016), antibacterianas e antifúngicas (SALEEM *et al.*, 2022; TANGADANCHU, SUI, ZHOU, 2021), anti-inflamatório e antinociceptivo (DANTAS, 2020), anticonvulsivante (EMAMI *et al.*, 2021), anti-tuberculose (YAN *et al.*, 2018) entre outras. Esse amplo espectro de atividades farmacológicas é possível graças a versatilidade sintética da isatina causando um ressurgimento do interesse na química, levando a aperfeiçoamento em procedimentos de várias já conhecidas reações e desenvolvimento de metodologias estereosseletivas (DANTAS, 2020).

3.2.2 Isatina nas doenças negligenciadas

Estudos publicados recentemente têm demonstrado aplicação da isatina na síntese para novas moléculas com potenciais efeitos antiparasitárias (LEITE *et al.*, 2019; BRANDÃO *et al.*, 2021). Dentre os compostos contendo isatina produzidos pelo Laboratório de planejamento em Química Medicinal (LpQM) com atividade antiparasitária identificada é possível citar a série de FREITAS *et al.* (2021), onde os resultados presentes no trabalho indicam uma importante atividade tripanocida e leishmanicida especialmente para os compostos 2l e 2m (figura 8).

Figura 8 - Derivados da Isatina com atividade anti-*T. cruzi*.**21**

T. cruzi: IC₅₀ 4,12 μM
L. amazonensis: IC₅₀ 7,36 μM
L. Infantum: IC₅₀ 7,97 μM

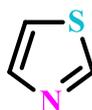
**2m**

T. cruzi: IC₅₀ 1,72 μM
L. amazonensis: IC₅₀ 6,17 μM
L. Infantum: IC₅₀ 6,04 μM

Fonte: Própria autora, 2023.

3.2.3 Tiazol

Tiazol é um composto orgânico heterocíclico, apresenta uma estrutura de anel molecular de cinco membros com fórmula molecular C₃H₃NS (figura 9). possui um grupo doador de elétrons (-S-) e um grupo receptor de elétrons (C=N). Denominado como 1,3-tiazol, foi descoberto pela primeira vez por Hantzsch e Waber em 1887, enquanto Popp confirmou sua estrutura em 1889. O anel tiazol está presente em muitos produtos naturais e sintéticos com um amplo espectro de atividades farmacológicas (CHHABRIA, 2016; MISHRA *et al.*, 2015) como anticancerígena (SAYED *et al.*, 2020; SANTANA *et al.*, 2018), antimalárico (BUENO *et al.*, 2016; KUMAWAT, 2018), antifúngica (GUO *et al.*, 2019), antibacteriano (TROTSKO *et al.*, 2018), antiviral (KE *et al.*, 2018), anticonvulsivante (MISHCHENKO *et al.*, 2020), anti-inflamatória (MAGHRABY *et al.*, 2020), antidiabética (ABDELLATIF *et al.*, 2019), antitubercular (MORASKI *et al.*, 2020) entre outras.

Figura 9 - Estrutura do Tiazol.**Tiazol**

Fonte: Própria autora, 2023.

3.2.4 Tiazol nas doenças negligenciadas

Compostos contendo o anel tiazol vem sendo bastante relatado na literatura para doenças negligenciadas como, a doença de Chagas, leishmaniose, tricomoniase e giardíase

(AYATI *et al.*, 2015). O tratamento para algumas doenças parasitaria como giardiase e tricomoníase compreende o uso de drogas 5-nitroheterocíclicas, como metronidazol, secnidazol e, recentemente, nitazoxanida como representadas na figura 10 (NAVARRETE-VÁZQUEZ *et al.*, 2015).

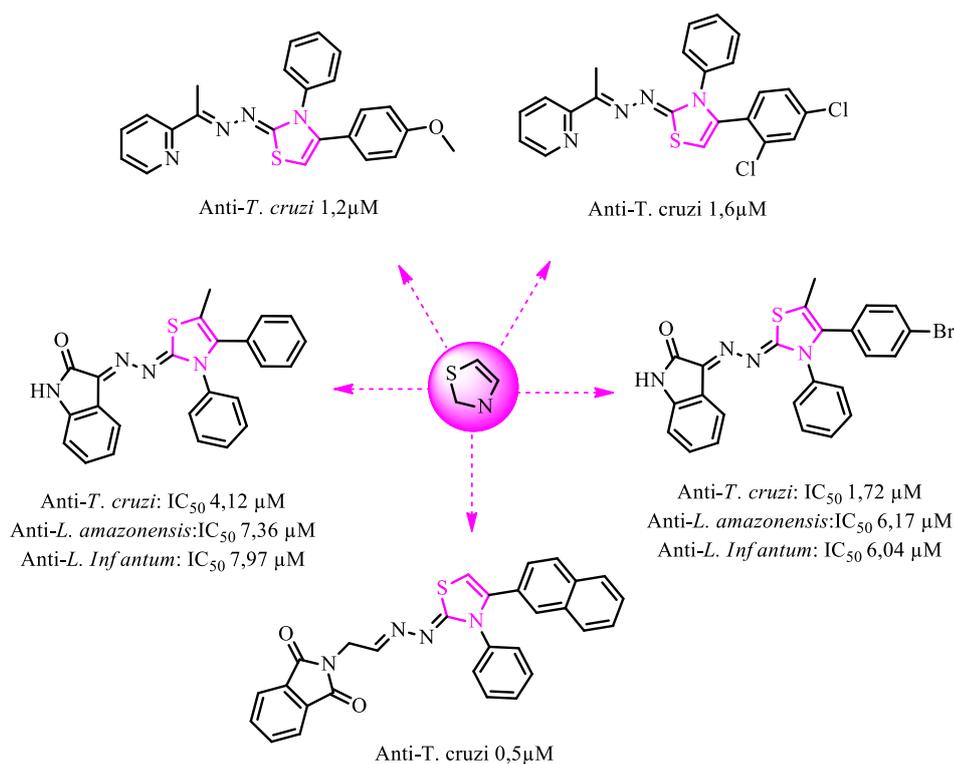
Figura 10 - Drogas 5-nitroheterocíclicas com atividade antiparasitárias.



Fonte: Própria autora, 2023.

O LpQM vem demonstrando atividade antiparasitárias de derivados do tiazol. Dentre os compostos contendo o anel tiazol produzidos pelo grupo LpQM é possível citar as séries de GOMES *et al.* (2016) em que relata o efeito de ftalimidas-tiazóis potenciais contra o *T. cruzi*, SILVA *et al.* (2017) onde expõem os resultados tripanocida de piridinas-tiazóis e, por fim, FREITAS *et al.* (2021) os resultados presentes no trabalho indicam uma importante atividade tripanocida e leishmanicida em diferentes isatinas-tiazóis (figura 11).

Figura 11 - Derivados da tiazol com atividade anti-*T. cruzi*.



Fonte: Própria autora, 2023.

4 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

O desenvolvimento de fármacos é desafiador devido a uma variedade de fatores, incluindo longos ciclos de desenvolvimento e altas taxas de rejeição de candidatos em todos os estágios. O controle das propriedades físico-químicas durante a formulação do composto é fundamental para melhorar a qualidade dos candidatos. Sendo assim, mais atenção da pesquisa está sendo empregada no estágio do planejamento de medicamentos e modificação de compostos para se assemelhar mais a drogas existentes, proporcionando uma maior “semelhança às drogas” (WEI *et al.*, 2020).

A busca por moléculas bioativas é à base da Química Medicinal. Seja por meio de reaproveitamento de drogas, design baseado em estrutura, modificações e aplicação de estruturas privilegiadas, são inúmeras as opções empregadas por químicos medicinais para atingir seus objetivos (BRANDAO *et al.*, 2021).

Uma abordagem frequentemente aplicada por químicos sintéticos na descoberta de drogas é investigar a reatividade de estruturas privilegiadas, incorporando-as em estruturas mais complexas proporcionando um possível aumento a respeito do seu potencial bioativo. No entanto, devido a problemas com ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) muitas moléculas promissoras falham em estágios posteriores da descoberta e desenvolvimento. Desta forma, a detecção precoce desses fenômenos é vital para os químicos sintéticos tanto em laboratórios acadêmicos quanto na indústria farmacêutica (BRANDAO *et al.*, 2021).

Muitos modelos computacionais predizem as propriedades físico-químicas, farmacocinética e medicinais de moléculas (BAKCHI *et al.*, 2022). Um dos sites mais abrangentes é o SwissADME, administrado pelo Instituto Suíço de Bioinformática (SIB), que oferta serviços e recursos de bioinformática para cientistas em todo o mundo. Permitindo a avaliação dos parâmetros ADME de candidatos a fármacos e fornece informações necessárias para processo de descoberta de drogas (RANJITH, RAVIKUMAR, 2019) A ferramenta é simples de usar e interpretar, sua disponibilidade gratuita oferece aos pesquisadores a oportunidade de realizar de forma rápida e eficaz uma variedade de estudos *in silico* (BAKCHI *et al.*, 2022). Como resultado de muitos anos de estudos sobre drogas, regras de similaridade de drogas, como Lipinski e Veber para possível capacidade de se tornar novos medicamentos são aplicados no planejamento de moléculas.

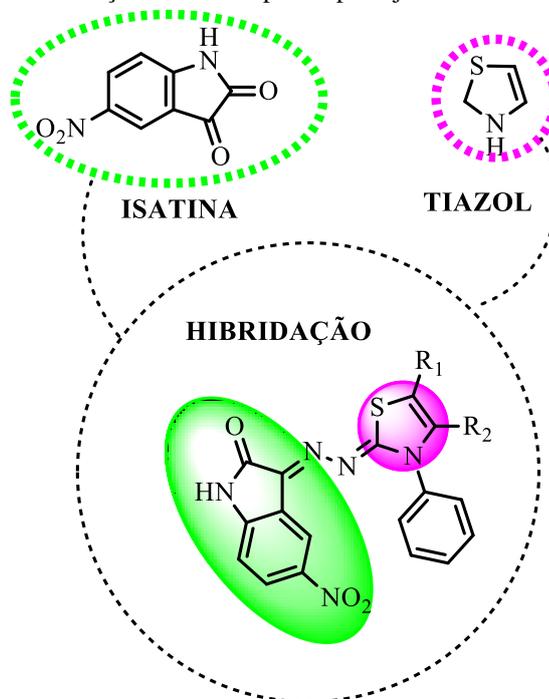
Neste trabalho, o planejamento das moléculas foi realizado partindo de moléculas anteriormente desenvolvidas pelo grupo LpQM. Os resultados obtidos dos derivados isatina

sintetizados por Gomes (2016) e Freitas (2021) foram norteadores, as isatin-tiossemicarbazonas presentes apresentaram uma promissora atividade antitumoral e antiparasitária. O grupamento farmacofórico tiazol também foi escolhido, considerando a conhecida atividade antiparasitária de derivados que contém o núcleo.

Justim e colaboradores (2021) relatam as moléculas que contêm o grupo nitro são conhecidas por apresentar uma expressiva versatilidade. Essas moléculas têm sido utilizadas com sucesso como agentes antineoplásicos, antibióticos, antiparasitários, bem como inseticidas e herbicidas. É notável que este substituinte pode interagir com espécies biológicas presentes em sistemas vivos por transferência de elétrons envolvendo transformações. Desta forma, foi escolhida a 5-nitroisatina como composto de partida para obtenção da série.

Com os grupos farmacofóricos escolhidos, foi utilizada a estratégia química de hibridização molecular (Figura 12), onde duas estruturas bioativas distintas foram unidas em uma nova estrutura. Esta junção permite potencializar a atividade biológica. Foram utilizados vários grupos químicos na posição C4 do anel tiazol, como, por exemplo, grupo metil, metóxi, nitro e halogênios (F, Cl, Br), mantendo o grupo fenil em N4, como sugerido no trabalho de Gomes (2016) e Freitas (2021).

Figura 12 - Emprego da hibridação molecular para o planejamento estrutural das tiazolil-isatinas.

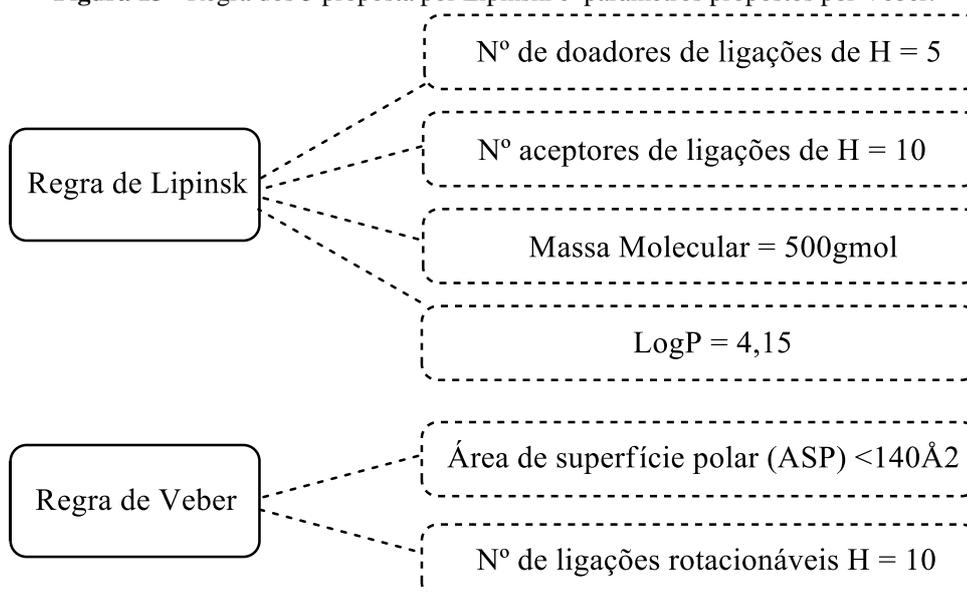


Fonte: Própria autora, 2023.

De acordo com a "Regra dos 5" de Lipinsk *et al.* (2012), que discute abordagens experimentais e computacionais para estimar a solubilidade e permeabilidade em configurações de fármacos em processo de desenvolvimento, as características dos 11

compostos planejados foram previamente avaliados. A "Regra dos 5" prediz que candidatos bioativos devem apresentar quatro características físico-químicas que são tipicamente observadas em medicamentos orais já existentes. Outros parâmetros observados nos compostos foram propostos por Veber *et al.* (2002), utilizando como referência complementar a área de superfície polar (ASP) e o número de ligações rotáveis para estudar a absorção oral dos mesmos compostos. A Figura 13 e a Tabela 1 mostram os parâmetros propostos por Lipinsk e Veber para os fármacos.

Figura 13 - Regra dos 5 proposta por Lipinski e parâmetros propostos por Veber.



Fonte: Própria autora, 2023.

Tabela 1 - Dados dos compostos planejados aplicados à regra de Lipinsk e Veber.

| Estrutura geral da molécula | Código | R ₁ | R ₂ | TPSA <140Å ² | nLR ≤10 | nDLH ≤5 | nALH ≤10 | MM ≤500 g/mol | MLogP ≤4,15 |
|-----------------------------|--------|----------------|-----------------------|-------------------------|---------|---------|----------|---------------|-------------|
| | SN-1A | H | Ph | 132.81 | 4 | 1 | 5 | 441,46 | 2.97 |
| | SN-1B | H | 4-MeO-Ph | 142.04 | 5 | 1 | 6 | 471.49 | 2.97 |
| | SN-1C | H | 4-Me-Ph | 132.81 | 4 | 1 | 5 | 455.49 | 2.97 |
| | SN-1D | H | 3-NO ₂ -Ph | 178.63 | 5 | 1 | 7 | 486.46 | -0,35 |
| | SN-1E | H | 4-NO ₂ -Ph | 178.63 | 5 | 1 | 7 | 486.46 | -0,35 |
| | SN-1F | H | 4-F-Ph | 132.81 | 4 | 1 | 6 | 459.45 | 3.13 |
| | SN-1G | H | 4-Cl-Ph | 132.81 | 5 | 1 | 5 | 517.56 | 3.13 |
| | SN-1H | H | 4-Ph-Ph | 132.81 | 4 | 1 | 5 | 491.52 | 3.13 |
| | SN-1J | H | 4-Br-Ph | 132,81 | 4 | 1 | 5 | 520,36 | 3.13 |
| | SN-1L | Me | Ph | 132,81 | 4 | 1 | 5 | 455,49 | 3.13 |
| | SN-1O | H | 3,4-diCl-Ph | 132,81 | 4 | 1 | 5 | 510,35 | 3.13 |

Fonte: Própria autora, 2023.

De acordo com os dados dispostos na Tabela 1, observou-se que as moléculas SN-1B, SN-1D e SN-1E apresentaram área de superfície polar acima dos limites esperados e os compostos SN-1G SN-1J e SN-1O apresentam massa molecular maior que o permitido. Apesar disso, todas as estruturas foram satisfeitas quanto às regras de Lipinsk e Veber, já que um único parâmetro fora dos limites não desqualifica a molécula.

5 METODOLOGIA

5.1 Local da pesquisa

O projeto foi desenvolvido no Laboratório de planejamento em Química Medicinal (LPQM) - Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Campus de Recife-PE. As análises espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental e a parte biológica no Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz Pernambuco).

5.2 Materiais

As reações foram realizadas utilizando os solventes: hexano, acetato de etila, etanol, isopropanol, Dimetilformamida (DMF) e tolueno, provenientes das marcas Dinâmica, Química moderna e F.Maia indústria e Comércio Ltda. Já os reagentes: 5-nitroisatina, 4-feniltiossemicarbazida, 2-bromo-acetofenona, 2-bromo-4'-metil-acetofenona, 2-bromo-4'-metoxi-acetofenona, 2-bromo-3'-nitro-acetofenona, 2-bromo-4'-nitro-acetofenona, 2-bromo-4'-fluoracetofenona, 2-bromo-4'-cloro-acetofenona, 2-bromo-4'-fenilacetofenona, 2-bromo-2-acetonaftona, 2,4'-dibromoacetofenona, 2,2',4'-tricloroacetofenona, 2-bromo-propilfenona, 1,3-dicloroacetona, 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona e 2-bromo-3'4'-cloro-acetofenona das marcas Sigma Aldrich e Alfa Aesar. O DMSO deuterado (DMSO-d6) das marcas Sigma-Aldrich foram utilizados 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 duplo comprimento de onda 365nm ou 254nm) da marca Vilber Lourmat. Para auxiliar nos processos reacionais foi utilizado agitador magnético com aquecimento da marca Ion, modelo HJ-3. A determinação do ponto de fusão dos produtos sintetizados, foi realizada através do equipamento fusiômetro da marca Fisatom, modelo 430D.

As análises espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear (^{13}C e ^1H e DEPT) realizada na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, utilizou instrumentos da Varian, modelo Unit Plus (400MHz para ^1H e ^{13}C) Como padrão foi utilizado o tetrametilsilano e o dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d6) como solvente.

5.3 Planejamento estrutural

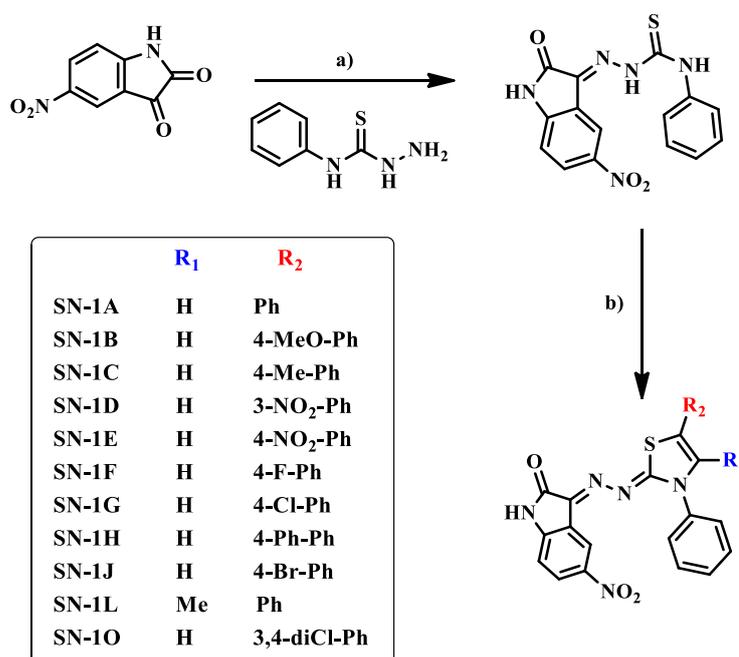
5.3.1 Swiss ADME

Os valores de Log Po/w consensual (cLogP), massa molecular (MM), N° de doadores de ligação de hidrogênio (nDLH), N° de aceptores de ligação de hidrogênio (nALH) da regra de Lipinski e Área da Superfície Polar Topológica (TPSA), número de ligações rotáveis e N° de violações da regra de Veber, foram obtidos através da plataforma digital de bioinformática SwissADME, a qual compila a contribuição de diferentes autores na área de química medicinal e quimioinformática para processar diferentes análises in silico (DAINA;MICHIELIN; ZOETE, 2017).

5.4 Rota Sintética

O processo de síntese foi desenvolvido em duas etapas, conforme descrito na figura 14. Depois de sintetizados, a estrutura dos compostos foi elucidada por RMN H^1 e C^{13} .

Figura 14 - Síntese dos compostos.



Reagentes e condições: a) Etanol, HCl, refluxo, 20h. b) respectivas α -halocetonas, isopropanol, refluxo, 24h.

Fonte: Própria autora, 2023.

5.4.1 Síntese do intermediário (INT-SN)

Em balão de fundo redondo, adicionou-se a respectiva 5-nitroisatina (5-nitroindolina-2,3-diona), a 4-feniltiossemicarbazida (na proporção 1:1), etanol (20ml) e HCl (7 gotas, cat.). A mistura reacional foi mantida em agitação magnética e refluxo por 24 horas. As reações

foram acompanhadas por CCD. Ao fim da reação, o precipitado formado foi filtrado em funil sinterizado e utilizando etanol e ciclo-hexano para lavagem em sistema a vácuo. O funil sinterizado contendo o produto foi acondicionado em dessecador por 24h e então pesado para obtenção dos dados de rendimento reacional.

5.4.2 Síntese da série isatina-hidrazona-tiazóis SN-1A à SN-1O

Em balão de fundo redondo, adicionou-se o intermediário (INT-SN), uma das α -halo-cetonas (2-bromo-acetofenona, 2-bromo-4'-metil-acetofenona, 2-bromo-4'-metoxi-acetofenona, 2-bromo-3'-nitro-acetofenona, 2-bromo-4'-nitro-acetofenona, 2-bromo-4'-fluoracetofenona, 2-bromo-4'-cloro-acetofenona, 2-bromo-4'-fenilacetofenona, 2-bromo-2-acetonaftona, 2,4'-dibromoacetofenona, 2,2',4'-triclouroacetofenona, 2-bromo-propilfenona, 1,3-dicloroacetona, 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona e 2-bromo-3'4'-cloro-acetofenona) (na proporção 1:1) e isopropanol (20ml). A mistura reacional foi mantida sob refluxo por 24h horas. As reações foram acompanhadas por CCD. O precipitado formado foi filtrado em funil sinterizado e submetido a lavagem com isopropanol e ciclo-hexano em sistema a vácuo. O funil sinterizado contendo o produto foi acondicionado em dessecador por 24h e então pesado para obtenção dos dados de rendimento reacional.

5.4.3 Caracterização Estrutural

A verificação da estrutura química das moléculas foi realizada através de análises espectroscópicas dos compostos finais (RMN ^{13}C e ^1H). Além disso, também foi observado o ponto de fusão (PF) e o fator de retenção (RF) em CCD destas moléculas (tabela 2).

5.5 Atividade biológica

5.5.1 Ensaio tripanocida

Foi utilizado o ensaio da beta-galactosidase desenvolvido por Buckner e colaboradores (1996), com modificações (Romanha *et al.*, 2010). Este ensaio utiliza a cepa Tulahuen de *T. cruzi* que expressa o gene da beta-galactosidase de *Escherichia coli*. Esta cepa foi construída e gentilmente cedida pelo Prof. Frederick Buckner, da Universidade de Washington.

Para a realização dos ensaios, fibroblastos de camundongos da linhagem L929 foram semeados em placas de 96 poços e incubados por 24 horas a 37° C para a adesão e, infecção com 10 parasitas/célula. Após 2 h, o meio contendo os parasitas extracelulares foi substituído por meio novo e a placa novamente incubada a 37° C por 48 horas. Após esse período, o meio de cultura foi substituído por meio novo, além de compostos em concentrações decrescentes,

a partir de 100 µg/mL, até se chegar ao concentração inibitória para 50% da população (IC₅₀). Após 96 horas de incubação, foi adicionado o substrato CPRG, a placa incubada a 37°C, e a leitura realizada após 16-20 h em espectrofotômetro utilizando um filtro de 570 nm. O benzonidazol no seu IC₅₀ (1 µg/mL = 3,81 µM) foi utilizado como controle positivo. Os resultados foram expressos como a porcentagem de inibição do crescimento parasitário.

5.5.2 Ensaio de citotoxicidade em fibroblastos L929

Os compostos com atividade tripanocida foram testados contra as células L929 para determinação da citotoxicidade (Romanha *et al.*, 2010). A viabilidade das células submetidas aos tratamentos foi determinada utilizando-se o indicador de viabilidade celular alamarBlue™. As amostras foram testadas em concentrações crescentes a partir da IC₅₀ encontrada sobre o parasita, utilizando o mesmo número de células, tempo de desenvolvimento celular e tempo de exposição aos compostos usados no ensaio da betagalactosidase. Após a adição do alamarBlue™, a placa foi incubada por 6 h e a leitura realizada a 570 e 600nm. Os resultados foram expressos como a diferença na porcentagem de redução entre células tratadas (CT) e células não tratadas (CNT), através da seguinte equação:

$$\frac{(117,216) (\text{Abs}570 \text{ CT}) - (80,586) (\text{Abs}600 \text{ CT})}{(117,216) (\text{Abs}570 \text{ CNT}) - (80,586) (\text{Abs}600 \text{ CNT})} \times 100$$

5.5.3 Índice de seletividade

O Índice de Seletividade (IS) foi calculado dividindo-se a CC₅₀ dos compostos sobre as células L929 pela IC₅₀ encontrado sobre o *T. cruzi*. Somente compostos que apresentam IS ≥ 50 são recomendados a ensaios *in vivo*.

5.5.4 Ensaio com promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum*

Formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa WHOM/00 LTB 0016) e *Leishmania infantum* (cepa MHOM/MA/67/ITMAP-263) foram mantidas a 26° C em meio Schneider's (Sigma) suplementado com 10% de soro fetal bovino (meio completo). Parasitas na fase exponencial de crescimento foram utilizados em todos os experimentos. Para o ensaio de atividade leishmanicida, os parasitas foram contados e diluídas em meio Schneider's (Sigma) completo a 1 x 10⁶ células/mL. Os parasitas foram incubados a 26°C na presença de diferentes concentrações dos compostos (1,5 a 200µg/mL) por 72h. Parasitas incubados apenas com meio de cultura e com o veículo foram utilizados como controle negativo. Após a incubação, os poços foram lavados e foi adicionada solução de CPRG (500µM, 0,5% de Nonidet P-40, em PBS), seguida de nova incubação por 10 minutos, a 22°C. Foi realizada a

leitura da absorbância a 570 nm no espectrofotômetro THERMO SCIENTIFIC Multiskan FC. A atividade leishmanicida dos compostos foi verificada pela diminuição no número de promastigotas nas culturas tratadas em comparação com a cultura controle sem tratamento. A Miltefosina foi utilizada como controle positivo. Os valores de IC₅₀ foram calculados por análise de regressão utilizando o software GraphPad Prism. Cada ensaio foi realizado em duplicata

5.5.5 Ensaio com amastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum*

Para esta avaliação, macrófagos RAW 264.7 (3×10^5 células/mL) foram incubados para aderência por 1h, a 37°C e atmosfera com 5% de CO₂. Após essa incubação inicial foram acrescentadas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum* na proporção de 15 parasitas/macrófago, por um período de 6h, a 37°C e 5% de CO₂. Os parasitas não internalizados foram removidos por lavagem e a cultura foi incubada novamente na presença de diferentes concentrações dos compostos (3,125 a 100 µg/mL) por 24h, a 37°C e 5% de CO₂. Amastigotas incubadas apenas com meio de cultura e com Miltefosina foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. Após a incubação, os poços foram lavados e foi adicionada solução de CPRG (500µM, 0,5% de Nonidet P-40, em PBS), seguida de nova incubação por 18h, a 22°C. Foi realizada a leitura da absorbância a 570 nm no espectrofotômetro THERMO SCIENTIFIC Multiskan FC. A atividade leishmanicida dos compostos foi verificada pela diminuição no número de amastigotas intracelulares nas culturas tratadas em comparação com a cultura controle sem tratamento. Os valores de IC 50 foram calculados por análise de regressão utilizando o software GraphPad Prism. Cada ensaio foi realizado em duplicata.

5.5.6 Ensaio de citotoxicidade em macrófagos RAW 264.7

A citotoxicidade em células de mamíferos foi avaliada através de ensaios com MTT. Esse ensaio baseia-se na redução dos sais amarelos de tetrazólio por redutases mitocondriais de células metabolicamente ativas. Cristais de formazan são formados no interior dessas células, que deve ser lisadas para a solubilização e posterior análise por espectrofotometria. Uma vez que a quantidade de formazan produzida é diretamente proporcional ao número de células viáveis, quanto maior for a viabilidade celular, maior será a proporção de redução do MTT e maior será a absorbância. Os macrófagos da linhagem RAW 264.7 foram soltos das garrafas de cultura e foram plaqueados em placas de 96 poços, fundo reto e incubadas por 24h, a 37°C e atmosfera com 5% de CO₂, para aderência. Após esse tempo, os compostos foram adicionados nas concentrações de 6,25 a 200 µg/mL e incubados novamente por um

período de 48h. Foram utilizados poços apenas com meio de cultura como controle negativo. Após a incubação foi acrescentado 25 μ L de MTT (3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo difenil tetrazólio) a 5mg/mL em PBS, seguida de uma nova incubação por 2h, a 37°C e ao abrigo da luz. Parte do meio de cultura juntamente com o restante de MTT foi aspirado e 100 μ L de DMSO foi adicionado por poço para solubilização dos cristais de formazan resultantes da redução do MTT. Foi realizada a leitura da absorbância a 570nm no espectrofotômetro THERMO SCIENTIFIC Multiskan FC. A concentração citotóxica para 50% da cultura (CC₅₀) foi determinada por análise de regressão pelo software GraphPad Prism. Cada ensaio foi realizado em duplicata.

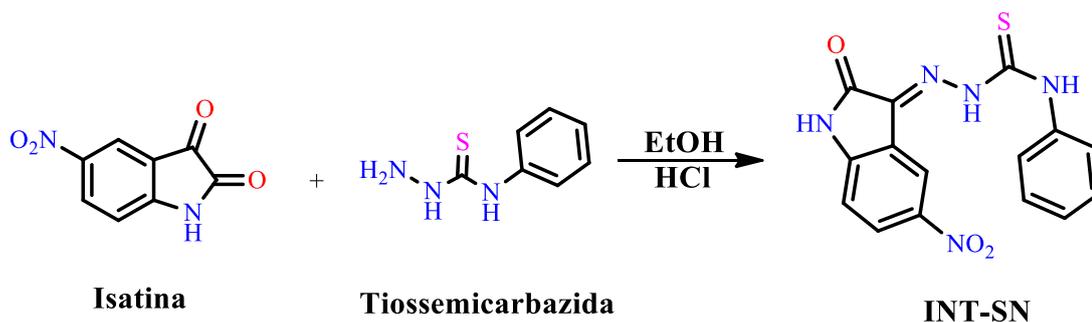
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Parte Química

Todos os compostos da série (SN-1A/SN-1O) foram obtidos por meio de uma metodologia simples, em duas etapas. Primeiramente foi obtido o intermediário isatina-tiossemicarbazida (INT-SN), partindo da condensação entre a isatina com a tiossemicarbazida.

O intermediário (INT-SN) foi obtido utilizando uma metodologia semelhante à de Karah, que trabalhou com derivados de isatina em 2002. Neste trabalho, Karah reagiu derivados de isatina com tiossemicarbazida para produzir tiossemicarbazonas de alto rendimento. A síntese é realizada sob refluxo utilizando como solvente o etanol na presença de um catalisador ácido (KARAH, 2002). O composto foi obtido após vinte horas com um rendimento de 79% na forma de um pó com coloração amarelada.

Figura 15 - Esquema de síntese do intermediário da série SN



*Reagentes e condições: Etanol, HCl, refluxo, 20h.

Fonte: Própria autora, 2023.

Uma vez sintetizado o (E)-2-(5-nitro-2-oxoindolin-3-ilideno)-N-fenilhidrazinacarbotoioamida (INT-SN) foi realizada a Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 (RMN ¹³C), confirmando sua estrutura através dos dados demonstrados abaixo.

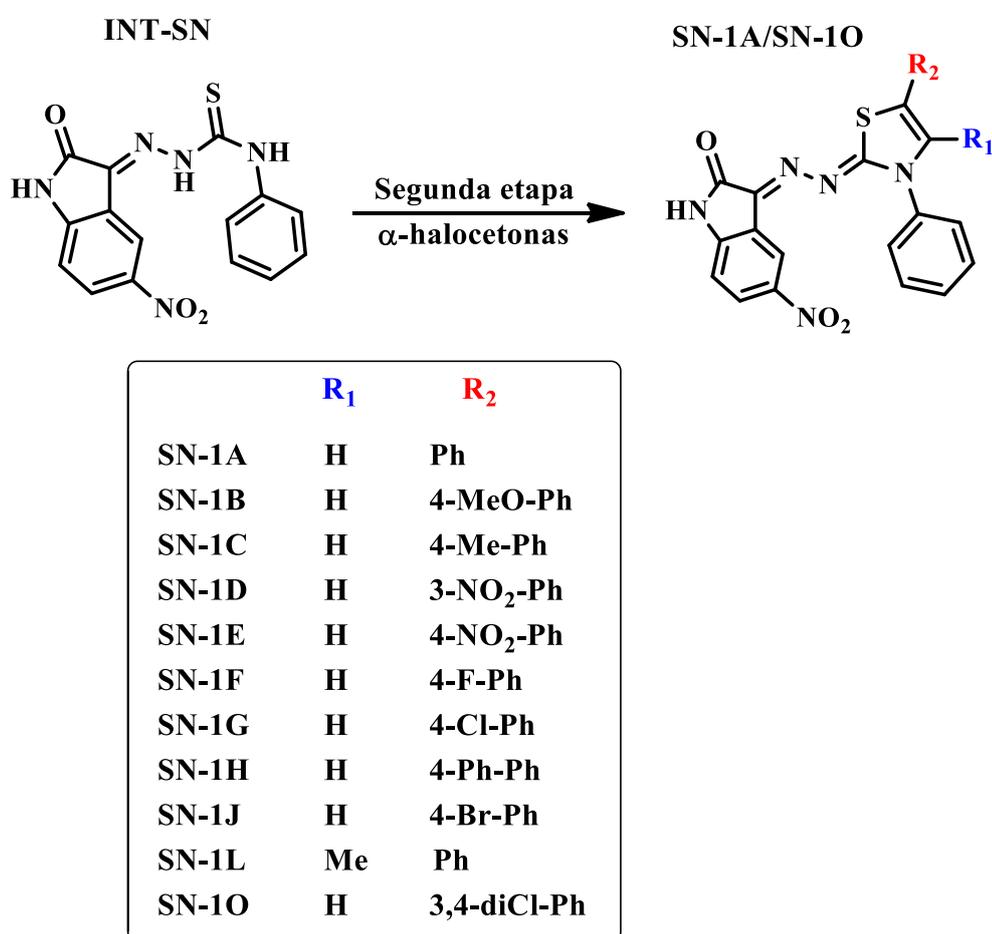
RMN ¹H (DMSO-d₆, 300MHz), δ ppm: 7.1 (d, 1H, ArH), 7.3 (t, 1H, ArH), 7.45 (t, 2H, ArH), 7.6 (d, 2H, ArH), 8.25 (d, 1H, ArH), 8.66 (s, 1H, ArH), 11.06 (s, 1H, NH), 11.83 (s, 1H, NH), 12.53 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75MHz) δ ppm: 111.2 (CH, Ar), 116.7 (CH, Ar), 120.9 (C-Ar), 126.0 (CH, Ar), 126.4 (CH, Ar), 127.0 (2CH, Ar), 128.5 (2CH, Ar), 130.2 (Ph-C-NH), 138.3 (C=N), 142.7 (C-NO₂, Ar), 147.4 (C-NH, Ar), 162.9 (C=O), 176.4 (C=S).

Sintetizado e caracterizado o INT-SN, procedeu-se para a segunda etapa. A etapa dois consistiu na obtenção dos tiazóis que compõem a série SN 1-11 (Figura 16). O intermediário foi condensado com 11 diferentes α -halocetonas, seguindo o procedimento desenvolvido por Hantzsch em 1887 (SOUZA *et al.*, 2005). Nesta metodologia as reações são realizadas em agitação magnética sob refluxo.

As tiossemicarbazonas, na presença de α -halo-cetonas, funcionam como agentes nucleófilos na síntese de tiazóis. Isto acontece porque as α -halocetonas são muito reativas frente ao grupo tioamida nucleofílico presente nas tiossemicarbazonas e, conseqüentemente, levam à ciclocondensação para formar o heterociclo (TENÓRIO; GÓES, 2005).

Figura 16 - Esquema de síntese da série SN

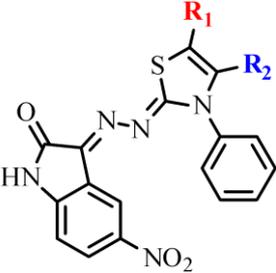


*Reagentes e condições: Diferentes α -halocetonas, Isopropanol, refluxo, 24h.

Fonte: Própria autora, 2023.

Os derivados isatina-tiazol (SN.1A – 1O) foram obtidos em forma de pó amarelo ou laranja. Ao final do processo, os compostos apresentaram um rendimento na faixa de 53% a 93%. Na Tabela 2 estão relacionadas as principais propriedades desses derivados, como estrutura molecular, PF, RF, e rendimento.

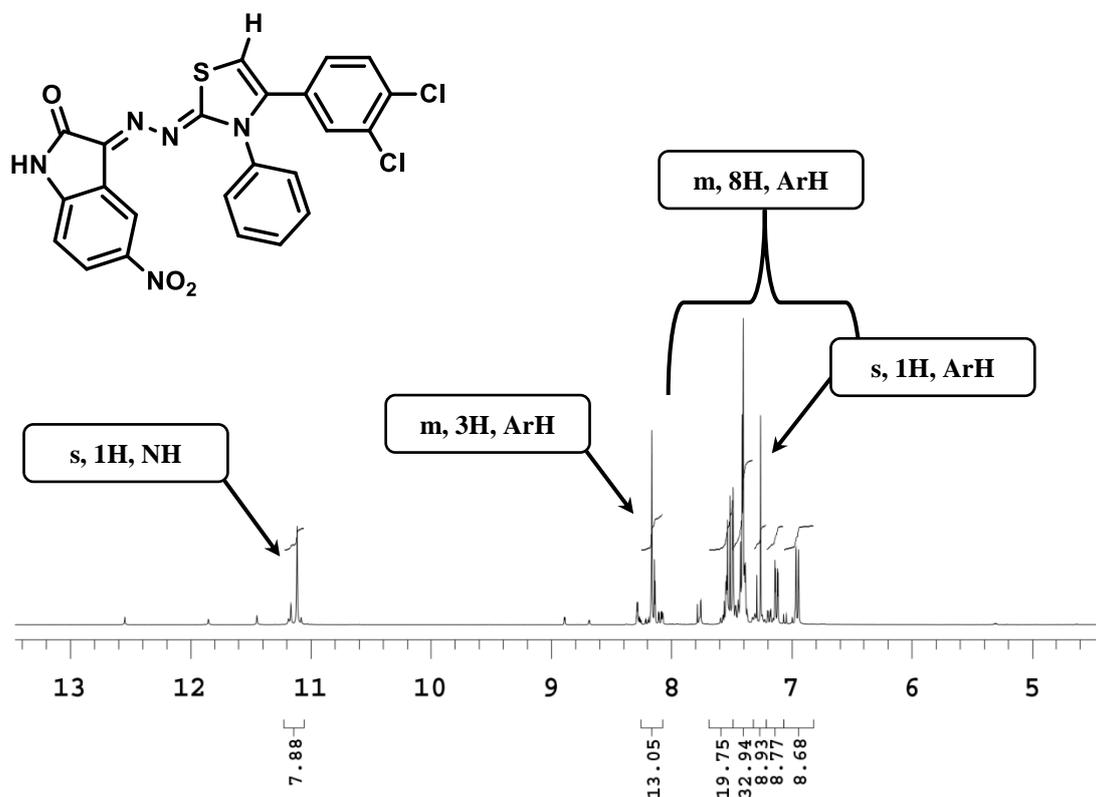
Tabela 2 - Propriedades gerais dos compostos finais.

| Código | R ₁ | R ₂ | RF | PF (°C) | Rendimento (%) |
|---|----------------|-----------------------|------|---------|----------------|
|  | | | | | |
| SN-1 ^a | H | Ph | 0,51 | >300 | 82% |
| SN-1B | H | 4-MeO-Ph | 0,51 | 298 | 84% |
| SN-1C | H | 4-Me-Ph | 0,46 | 284 | 77% |
| SN-1D | H | 3-NO ₂ -Ph | 0,31 | 275-277 | 89% |
| SN-1E | H | 4-NO ₂ -Ph | 0,31 | 269-271 | 83% |
| SN-1F | H | 4-F-Ph | 0,4 | >300 | 88% |
| SN-1G | H | 4-Cl-Ph | 0,51 | >300 | 81% |
| SN-1H | H | 4-Ph-Ph | 0,46 | >300 | 93% |
| SN-1J | H | 4-Br-Ph | 0,51 | 274-276 | 89% |
| SN-1L | Me | Ph | 0,56 | 271-272 | 56% |
| SN-1 ^o | H | 3,4-diCl-Ph | 0,41 | 278-280 | 82% |

Fonte: Própria autora, 2023.

Todos os compostos obtidos foram estruturalmente caracterizados utilizando a técnica de espectroscopia de RMN ¹H e RMN ¹³C para confirmação da formação dos produtos planejados. Para representar a caracterização dos compostos finais, foi escolhido o composto SN-1O. A Figura 17 apresenta os valores do espectro de RMN ¹H do composto SN-1O, onde foi constatada a presença de um multiplete na região de 6.95 a 7.56 ppm corresponde aos hidrogênios aromáticos ligado ao anel tiazol. Destacando na região de 7.26 ppm encontra-se um singlete integrando para um hidrogênio, sinal característico para indicar a formação do anel tiazol. Em 8.13 a 8.29 ppm observa-se um multiplete referente aos três hidrogênios aromáticos próximos ao grupo nitro. Em 11.14 ppm aparece o singlete referente ao hidrogênio da amina secundária (NH).

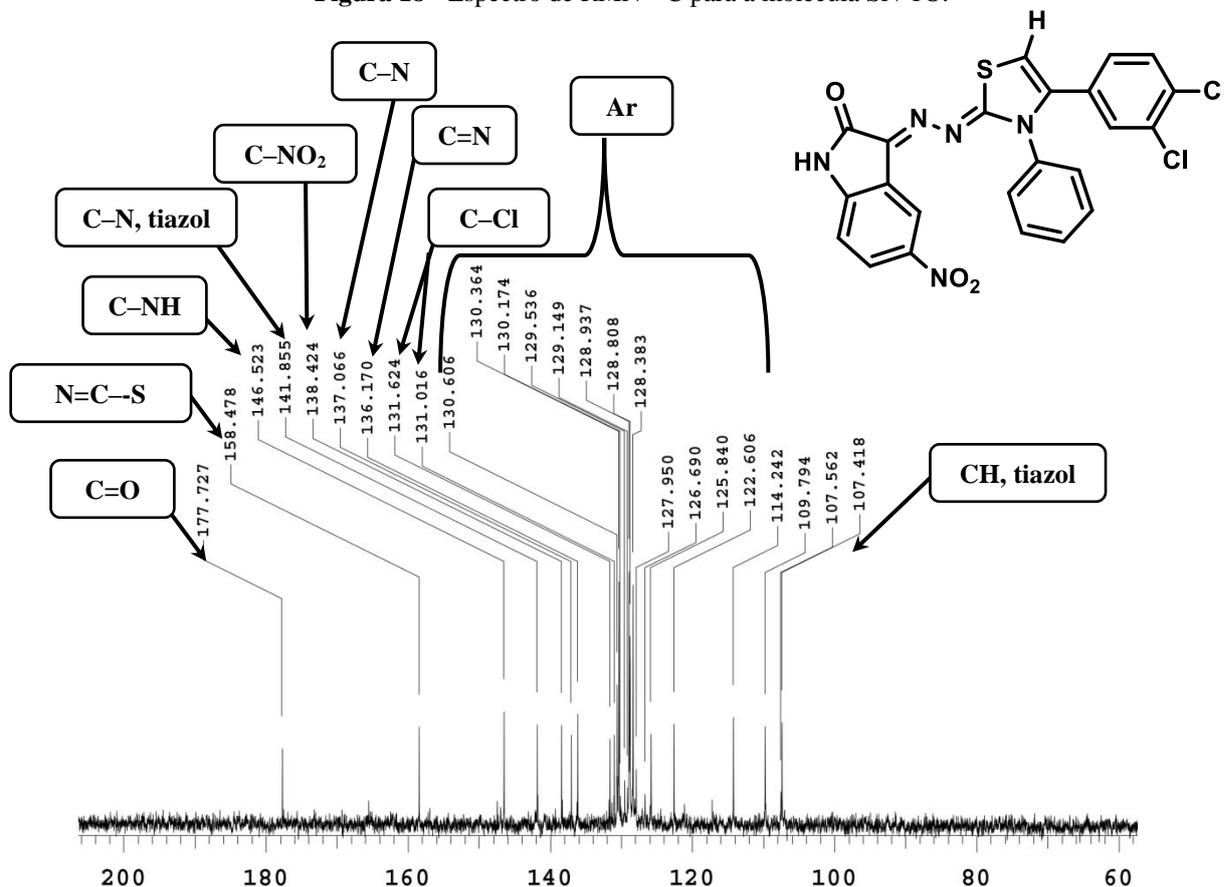
Figura 17 - Espectro de RMN ^1H para a molécula SN-10.



Fonte: Própria autora, 2023.

Para confirmação dos carbonos presentes na molécula SN-10, foi utilizada a Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 (Figura 18). O pico em 107.48 ppm é o sinal característico para indicar a formação do anel tiazol. Os picos entre 109.80 e 130.60 ppm correspondem a carbonos aromáticos. O pico em 131.02 e 131.62 ppm corresponde aos 2C-Cl. Em 136.17 ppm está o pico do C=N, o C-N do fenil aparece na região 137.07 ppm, logo em seguida com o comprimento de onda de 138.42 ppm aparece o carbono ligado ao grupo nitro, e em 141.85 e 146.52 ppm estão os carbonos referentes aos grupos C-N do tiazol e C-NH respectivamente. Em 158.48 ppm está o carbono ligado ao nitrogênio e ao enxofre (N=C-S). Por fim, o pico em 177.72 ppm corresponde ao carbono da carbonila (C=O).

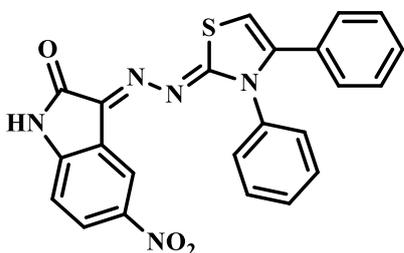
Figura 18 - Espectro de RMN ^{13}C para a molécula SN-10.



Fonte: Própria autora, 2023.

6.1.1 Dados físico-químicos e elucidação estrutural

SN-1A: (E)-3-((Z)-(3,4-difeniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazona)-5-nitroindolin-2-ona



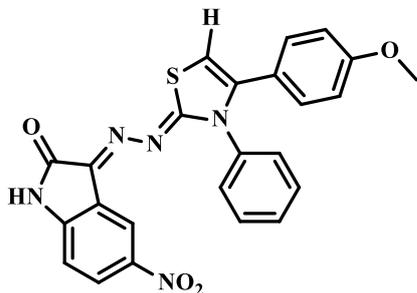
Fórmula Molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$

Massa Molecular: 441,46

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ ppm: : 6.95 (t, 1H, ArH), 7.11 (s, 1H, ArH), 7.13-7.38 (m, 7H, ArH), 7.41-7.49 (m, 2H, ArH), 8.07-8.28 (m, 2H, ArH) 11,13 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 400MHz) δ ppm: 105.84 (CH, tiazol), 109.69 (C, Ar), 114.16-122.65 (5C, Ar), 125.71-129.86 (6C, Ar), 136.43-138.87 (3C, Ar), 141.03 (C=N), 141.80 (C-N), 146.43 (C-NO₂), 147.35 (C-NH), 158.53 (C-N, tiazol), 165.60 (S-C=N), 177.79 (C=O).

SN-1B: (E)-3-((Z)-(4-(4-metoxifenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazona)-5-nitroindolin-2-ona



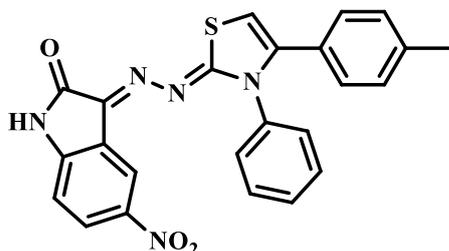
Fórmula Molecular: C₂₄H₁₇N₅O₄S

Massa Molecular: 471,49

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ ppm: 3.70 (s, 3H, ArH), 6.81 (t, 1H, ArH), 6.94-7,02 (m, 3H, ArH), 7,09-7,17 (m, 2H, ArH), 7.32-7,51 (m, 4H, ArH), 8,07-8,16 (m, 2H, ArH), 8.27 (m, 1H, ArH), 11.11 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400MHz) δ ppm: 55.17 (CH₃), 104.65 (CH, tiazol), 109.65 (C, Ar), 113.71- 130.23 (9C, Ar), 136.40-138.66 (4C, Ar), 140.97(C=N), 141.80 (C-N), 146.31 (C-NO₂), 147.30 (C-NH), 158.53 (C-N, tiazol), 158.53 (C-O, Ar), 165.68 (S-C=N), 177.99 (C=O).

SN-1C: (E)-5-nitro-3-((Z)-(3-fenil-4-(p-tolil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazona)indolin-2-ona



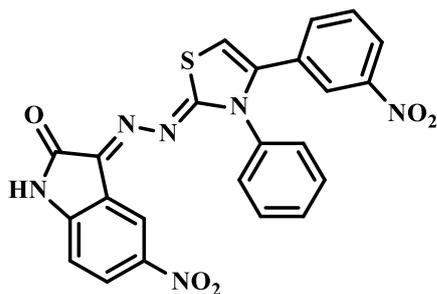
Fórmula Molecular: C₂₄H₁₇N₅O₃S

Massa Molecular: 455,49

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ ppm: 2.24 (s, 3H, ArH), 6.96 (t, 1H, ArH), 7.05-7.15 (m, 4H, ArH), 7.34-7.50 (m, 5H, ArH), 8.08-8,28 (m, 3H, ArH), 11.13 (s, 1H, NH)

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400MHz) δ ppm: 20.71 (CH₃), 105.26 (C, tiazol), 114.13 (C, Ar), 118.41-122.71 (6C, Ar), 125.68-129.38 (8C, Ar), 136.57(C=N), 138.49 (C-N), 141.21 (C-NO₂), 141.86 (C-NH), 146.39 (C-N, tiazol), 158.92 (S-C=N), 165.64 (C=O).

SN-1D:(E)-5-nitro-3-((Z)-(4-(3-nitrofenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazona)indolina-2-ona



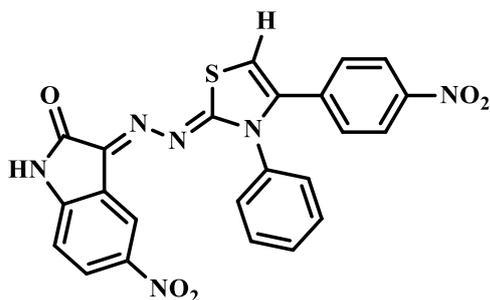
Fórmula Molecular: C₂₃H₁₄N₆O₅S

Massa Molecular: 486,46u.

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ ppm: 6.94 (t, 1H, ArH), 7.20-7.43 (m, 4H, ArH), 7.48-7.63 (m, 3H, ArH), 7.94-8.29 (m, 5H, ArH), 10.49 (s, 1H, NH)

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400MHz) δ ppm: 107.90 (CH, tiazol), 109.81 (C, Ar), 114.27 (C, Ar), 121.35-128.96 (6C, Ar), 129.56-136.10 (6C, Ar), 137.13(C=N), 138.65 (C-N), 141.86 (C-NO₂), 146.56 (C- NO₂), 147.35 (C-N, tiazol), 147.49 (C-NH), 158.49 (S-C=N), 177.72 (C=O)

SN-1E: (E)-5-nitro-3-((Z)-(4-(4-nitrofenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazona)indolin-2-ona



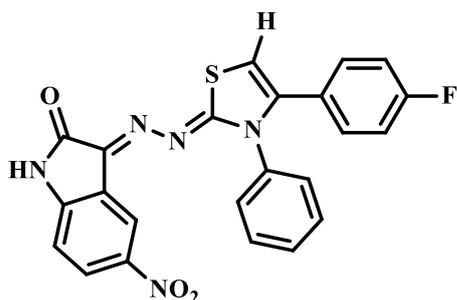
Fórmula Molecular: C₂₃H₁₄N₆O₅S

Massa Molecular: 486,46

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz), δ ppm: 6.95 (t, 1H, ArH), 7.35-7.53 (m, 6H, ArH), 7.95-8.17 (m, 4H, ArH), 8.31-8.34 (m, 2H, ArH), 11.18 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400MHz) δ ppm: 106.50 (CH, tiazol), 109.36 (C, Ar), 117.22- 127.87 (7C, Ar), 128.28-136.30 (5C, Ar), 138.84 (C, Ar), 139.54(C=N), 141.81 (C-N), 146.60 (C-NO₂), 147.21 (C- NO₂), 147.56 (C-N, tiazol), 149.52 (C-NH), 165.55 (S-C=N), 177.64 (C=O).

SN-1F: (E)-3-((Z)-(4-(4-fluorofenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazono)-5-nitroindolin-2-ona



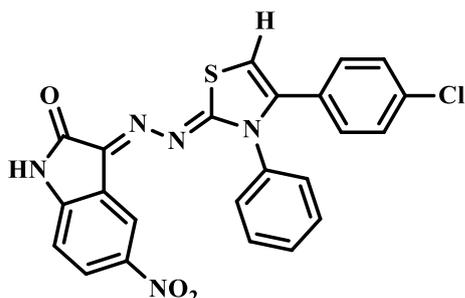
Fórmula Molecular: C₂₃H₁₄FN₅O₃S

Massa Molecular: 459,45

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz), δ ppm: 6.95 (t, 1H, ArH), 7.09-7.16 (m, 3H, ArH), 7.23-7.51 (m, 6H, ArH), 8.06-8.27 (m, 3H, ArH), 11.12 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400MHz) δ ppm: 105.96 (CH, tiazol), 109.69 (C, Ar), 114.16-117.29 (5C, Ar), 121.03-138.93 (8C, Ar), 139.90(C=N), 140.03 (C-N), 141.79 (C-NO₂), 146.43 (C-N, tiazol), 147.37 (C-NH), 160.88 (C- F), 165.61 (S-C=N), 177.72 (C=O).

SN-1G: (E)-3-((Z)-(4-(4-clorofenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazono)-5-nitroindolin-2-ona



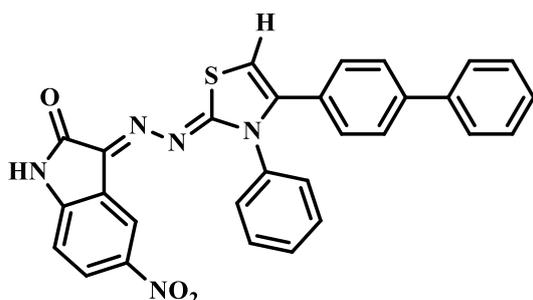
Fórmula Molecular: C₂₃H₁₄ClN₅O₃S

Massa Molecular: 475,91

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz), δ ppm: 6.95 (t, 1H, ArH), 7.14-7.52 (m, 9H, ArH), 8.08-8.29 (m, 3H, ArH), 11.13 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400MHz) δ ppm: 107.02 (CH, tiazol), 110.16 (C, Ar), 114.63-121.53 (3C, Ar), 127.09-131.03 (10C, Ar), 134.26 (C-Cl), 136.89(C=N), 139.53 (C-N), 140.20 (C-NO₂), 142.26 (C-N, tiazol), 147.88 (C-NH), 166.08 (S-C=N), 178.16 (C=O).

SN-1H: (E)-3-((Z)-(4-([1,1'-bifenil]-4-il)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazona)-5-nitroindolin-2-ona



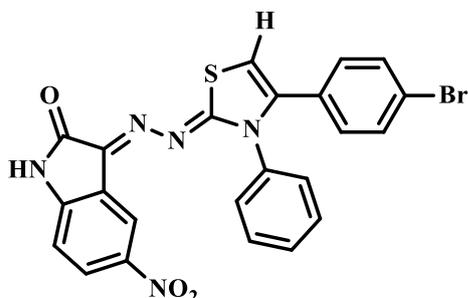
Fórmula Molecular: C₂₉H₁₉N₅O₃S

Massa Molecular: 517,56

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz), δ ppm: 6.96 (t, 1H, ArH), 7.16 (s, 1H, ArH), 7.26-7.52 (m, 9H, ArH), 7.56-8.63 (m, 4H, ArH), 8.09-8.30 (m, 3H, ArH), 11.15 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400MHz) δ ppm: 106.12 (CH, tiazol), 109.84 (C, Ar), 114.27-122.74 (6C, Ar), 125.86-136.83 (14C, Ar), 138.84(C=N), 140.33 (C-N), 141.84 (C-NO₂), 141.95 (C-N, tiazol), 146.51 (C-NH), 163.39 (S-C=N), 177.97 (C=O).

SN-1J: (E)-3-((Z)-(4-(4-bromofenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazona)-5-nitroindolin-2-ona



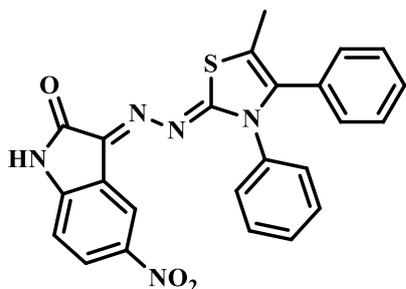
Fórmula Molecular: C₂₃H₁₄BrN₅O₃S

Massa Molecular: 520,36

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz), δ ppm: 6.95 (t, 1H, ArH), 7.14-7.21 (m, 3H, ArH), 7.36-7.53 (m, 7H, ArH), 8.09-8.29 (m, 2H, ArH), 11.13 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400MHz) δ ppm: 106.53 (CH, tiazol), 109.69 (C, Ar), 117.28-122.50 (4C, Ar), 126.62-131.34 (10C, Ar), 136.41(C=N), 139.07 (C-N), 139.79 (C-NO₂), 141.78 (C-N, tiazol), 147.41 (C-NH), 165.60 (S-C=N), 177.70 (C=O).

SN-1L: (E)-3-((Z)-(5-metil-3,4-difeniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazono)-5-nitroindolin-2-ona



Fórmula Molecular: C₂₄H₁₇N₅O₃S

Massa Molecular: 455,49

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz), δ ppm: 2.21 (s, 3H), 6.92 (t, 1H, ArH), 7.12 (d, 1H, ArH), 7.27-7.47 (m, 6H, ArH), 7.57-7.59 (m, 2H, ArH), 8.05-8.29 (m, 3H, ArH), 11.09 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 400MHz) δ ppm: 15.03 (CH₃), 109.48 (CH, tiazol), 114.69 (C, Ar), 118.57-120.89 (4C, Ar), 122.64-130.25 (10C, Ar), 137.49(C=N), 138.25 (C-N), 139.43 (C-NO₂), 141.78 (C-N, tiazol), 142.76 (C-NH), 162.99 (S-C=N), 176.44 (C=O).

6.2 Parte Biológica

6.2.1 Avaliação da atividade tripanocida da série SN

Os compostos sintetizados (SN-1A-SN-1O) foram avaliados quanto à atividade anti-*T. cruzi* contra as formas amastigotas e tripomastigotas do parasita. O método empregado é recomendado pelas diretrizes da Drugs for Neglected Diseases Initiative (DNDi) (Romanha *et al.*, 2010) que compreende o uso simultâneo de formas amastigotas e tripomastigotas intracelulares que estão presentes tanto na fase aguda quanto na crônica da doença (ANDRADE *et al.*, 2022). Como controle foi utilizado o fármaco de referência, o benzonidazol. Paralelamente, foi determinada a viabilidade de células não infectadas, expressa como valor CC₅₀, e o índice de seletividade foi calculado quando disponível (tabela 3).

Tabela 3 - Determinação da atividade tripanocida *in vitro* dos derivados SN-1A-SN-1O em comparação com a droga padrão Benzonidazol.

| Código | IC₅₀ (µM) | CC₅₀ (µM) (Fibroblastos L929) | IS |
|---------------|-----------------------------|---|-----------|
| SN-1A | 7,02 | 10,42 | 1,48 |
| SN-1B | 5,51 | < 1,65 | < 0,30 |
| SN-1C | 9,66 | 4,17 | 0,43 |
| SN-1D | 7,81 | 3,29 | 0,42 |
| SN-1E | 23,23 | > 102,78 | > 4,42 |
| SN-1F | 7,40 | 6,09 | 0,82 |
| SN-1G | 5,46 | 5,04 | 0,92 |
| SN-1H | 40,19 | > 96,61 | > 2,40 |
| SN-1J | 7,11 | 4,61 | 0,65 |
| SN-1L | 4,83 | 6,81 | 1,41 |
| SN-1O | 6,66 | 9,99 | 1,50 |
| Benzonidazol | 3,80 | 2381,00 | 626,58 |

Fonte: Própria autora, 2023.

No ensaio os compostos foram avaliados quanto à citotoxicidade frente a fibroblastos L929. A partir dos resultados, observou-se que os novos isatina-tiazóis apresentaram alta atividade citotóxica em células fibroblastos.

Quanto à atividade tripanocida, os derivados isatina-tiazol apresentaram uma IC₅₀ sobre a forma amastigota e tripomastigota do *T.cruzi* maior que o fármaco de referência (Benznidazol). O derivado SN-1L (IC₅₀ 4,83µM) foi o composto que apresentou um valor IC₅₀ mais próximo do fármaco de referência (IC₅₀ 3,80µM), no entanto, sua citotoxicidade foi superior e índice de seletividade inferior ao do benzonidazol.

6.2.2 Avaliação da atividade leishmanicida da série SN

A capacidade dos novos derivados (SN-1A-SN-1O) de inibir o crescimento das formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania* foi investigada para determinar seu efeito sobre parasitas. Os valores da concentração citotóxica (CC₅₀), concentração inibitória (IC₅₀) e o índice de seletividade (IS) dos compostos foram determinados. A miltefosina,, foi usado como fármaco controle (DORLO, 2012).

No presente estudo, foi avaliada a atividade frente à espécie *L. infantum*, o agente etiológico da leishmaniose visceral. Observamos também esses compostos quanto à atividade contra *L. amazonensis*, que está relacionada com a forma cutânea da doença. Essas duas espécies levam a diferentes manifestações clínicas, sugerindo diferentes metabolismos e, conseqüentemente, diferentes sensibilidades às drogas. Essa observação destaca a importância

do uso de diferentes espécies de *Leishmania* na triagem de drogas (GUIMARÃES *et al.*, 2013).

Tabela 4 - Determinação da atividade leishmanicida *in vitro* dos derivados SN-1A-SN-1O em comparação com a droga padrão Miltefosina.

| Código | CC ₅₀ (µM) (macrófagos RAW) | Promastigotas (<i>L. infantum</i>) | | Amastigotas (<i>L. infantum</i>) | | Promastigotas (<i>L. amazonensis</i>) | | Amastigotas (<i>L. amazonensis</i>) | |
|-------------|---|---|-------|---------------------------------------|-------|--|------|--|-------|
| | | IC ₅₀ (µM) | IS | IC ₅₀ (µM) | IS | IC ₅₀ (µM) | IS | IC ₅₀ (µM) | IS |
| SN-1A | 28,8 ± 5,2 | 3,62 | 7,94 | 3,62 | 7,94 | 69,32 | 0,42 | 19,71 | 1,46 |
| SN-1B | 10,4 | 7,42 | 1,40 | 3,82 | 2,72 | Inativo | N/D | 14,21 | 0,73 |
| SN-1C | 7,20 | 13,83 | 0,52 | 9,66 | 0,75 | Inativo | N/D | 39,3 | 0,18 |
| SN-1D | 9,70 | 23,43 | 0,41 | 9,46 | 1,02 | Inativo | N/D | 23,85 | 0,41 |
| SN-1E | 7,20 | 32,89 | 0,22 | 4,73 | 1,52 | Inativo | N/D | 37,00 | 0,19 |
| SN-1F | 39,0 ± 6,5 | 3,05 | 12,79 | 3,48 | 11,19 | 17,63 | 2,21 | 11,97 | 3,25 |
| SN-1G | 29,0 ± 0,8 | 3,57 | 8,12 | 5,25 | 5,52 | 109,05 | 0,26 | 11,35 | 2,56 |
| SN-1H | 70,5 ± 42,1 | >193,21 | N/D | Inativo | N/D | Inativo | N/D | >193,21 | N/D |
| SN-1J | 54,4 | 8,07 | 6,74 | 6,15 | 8,84 | Inativo | N/D | 22,1 | 2,46 |
| SN-1L | 11,00 | 5,27 | 2,08 | 16,9 | 0,65 | 43,69 | 0,25 | 30,08 | 0,37 |
| SN-1O | 27,40 | Inativo | N/D | 6,07 | 4,52 | Inativo | N/D | 24,1 | 1,14 |
| Miltefosina | 28,2 ± 26,7 | 4,42 | 6,39 | 0,74 | 38,33 | 26,74 | 1,06 | 1,23 | 23,00 |

*N/D: Não determinado.

Fonte: Própria autora, 2023.

A atividade citotóxica dos compostos foi avaliada frente a macrófagos RAW 264.7. É possível notar que seis compostos (SN-1A, SN-1F, SN-1G, SN-1H, SN-1J e SN-1O) apresentaram valores de CC₅₀ maiores ou similares ao do composto de referência (Miltefosina), demonstrando uma menor citotoxicidade frente às células testadas.

No estudo conduzido por Freitas e colaboradores (2021), que descreve a atividade citotóxica de uma série de isatina-tiazol em macrófagos RAW 264.7, os compostos avaliados demonstraram baixa citotoxicidade em relação aos resultados apresentados no presente trabalho. É importante destacar que a série analisada pelos autores difere da utilizada na presente pesquisa devido à ausência do grupo nitro no anel isatina, o qual pode ter influenciado no efeito tóxico observado.

De acordo com Olender, Zwawiak e Zaprutko (2018) o grupo nitro em sistemas biológicos sofre redução enzimática, que envolve um mecanismo de um ou dois elétrons. A redução sequencial de dois elétrons do grupo NO₂ fornece aminas via intermediários nitroso e hidroxilamina. Os nitroaromáticos e aminas permanecem imutáveis, mas às vezes os intermediários nitroso e hidroxilamina podem reagir com biomoléculas para produzir compostos com efeitos indesejados. A redução de um elétron do grupo nitro produz um ânion radical nitro, que é instável. Em condições aeróbicas, é oxidado novamente para o grupo nitro pelo oxigênio molecular, que por sua vez é reduzido para formar um ânion superóxido reativo. Esse processo é chamado de “ciclo fútil”. Em muitos casos, esse ciclo está associado à toxicidade de compostos contendo o grupo NO₂.

Com relação aos resultados de concentração citotóxica, para a forma promastigota da *L. infantum*, pode-se observar que o composto SN-1A (IC₅₀ 3,62µM e IS 7,94), SN-1F (IC₅₀ 3,05µM e IS 12,79) e SN-1G (IC₅₀ 3,57µM e IS 8,12) se destacaram, com resultado superior ao da Miltefosina (IC₅₀ 4,42µM e IS 6,39). Observando os valores da forma promastigota da *L. amazonensis*, o composto SN-1F se destacou mais uma vez com IC₅₀ 17,63µM superiores ao da Miltefosina (IC₅₀ 26,74µM). A partir dos resultados obtidos, podemos inferir que o substituinte 4-F-Ph em C-4 do anel tiazol presente no composto SN-1F, podem ser responsáveis pelo incremento da atividade na forma promastigota da *Leishmania*.

Corroborando com a influencia do flúor obtido no presente trabalho, Khan *et al.* (2015) perceberam que a presença do átomo desempenha um papel significativo na atividade anti-*Leishmania*.

Na literatura, são relatados derivados da isatina com atividade anti-*Leishmania*, podendo-se citar como exemplo o trabalho desenvolvido por Freitas e colaboradores (2021), onde relatou a atividade de diferentes tiazóis derivados da isatina, o melhor resultado apresentado foi o composto 2m com IC₅₀ 6,17µM e IS 14,15 para espécie *L. amazonensis* e IC₅₀ 6,04 µM IS 14,44 para *L. infantum*. Valores com potencial semelhantes aos relatados no presente trabalho.

Como supracitado, os melhores resultados foram observados sobre a *L. infantum* (leishmaniose visceral), manifestação clínica que apresenta maior número de mortalidade caso não tratada. Nos últimos anos, muitos avanços no tratamento da LV foram realizados, embora as opções medicamentosas ainda sejam insatisfatórias. Antimoniato de meglumina e alopurinol, isoladamente ou em combinação, são fármacos para o tratamento da LV e são capazes de alcançar a cura clínica. Outras drogas leishmanicidas, como miltefosina em

combinação com alopurinol, também demonstraram eficácia leishmanicida. Infelizmente, o tratamento medicamentoso não pode impedir a transmissão da doença, uma vez que os animais tratados permanecem portadores do parasita. Além disso, outros fatores, como a toxicidade e o surgimento de cepas de *Leishmania* resistentes aos medicamentos usados atualmente, destacam a importância do desenvolvimento de novos compostos seguros e eficazes, capazes de tratar a LV e de fato eliminar a infecção (SOUZA *et al.*, 2020).

7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

7.1 Conclusões

Foi obtido uma série de 11 inéditos derivados da isatina-tiazol utilizando uma metodologia simples com obtenção de rendimentos entre 56 a 93%. Os compostos foram devidamente elucidados utilizando a técnica de espectroscopia de RMN ^1H e RMN ^{13}C . Todos os compostos foram testados para a atividade anti-*T. cruzi* (forma intracelular) e anti-*Leishmania* (formas amastigota e promastigota), assim como a citotoxicidade em fibroblastos L929 e macrófagos RAW.

Considerando os testes de atividade anti-*T. cruzi*, os compostos demonstraram citotoxicidade frente aos fibroblastos L929 e apresentaram valores de IC_{50} maiores que o fármaco de referência.

Para a atividade leishmanicida, no estudo *in vitro* realizado frente a forma promastigota, foi observado que o composto SN-1F apresentou valores de IC_{50} de $17,63\mu\text{M}$ para *L. amazonensis* e IC_{50} $3,05\mu\text{M}$ para *L. infantum*, estes valores foram superiores ao apresentado pela Miltefosina frente a *L. amazonensis* (IC_{50} $26,74\mu\text{M}$) e a *L. infantum* (IC_{50} $4,42\mu\text{M}$). Os compostos SN-1A (IC_{50} $3,62\mu\text{M}$) e SN-1G (IC_{50} $3,57\mu\text{M}$) também apresentaram resultados frente a *L. infantum* equiparáveis ao fármaco padrão. Dentre os compostos testados frente à forma amastigota da *Leishmania*, nenhum apresentou IC_{50} e índice de seletividade superior ao da Miltefosina.

7.2 Perspectivas

- Com base nos resultados anteriormente obtidos com derivados de isatina-tiazol, fornecidos pelo nosso grupo de pesquisa, os compostos foram submetidos a experimentos para avaliar seu potencial frente a células cancerígenas.
- Aprofundar o estudo da série SN buscando por novos ensaios a fim de analisar o possível mecanismo leishmanicida;
- Redigir artigos científicos com as séries SN-1A-SN-1O.

REFERÊNCIAS

- ABDELLATIF, K. R. A. *et al.* Design, synthesis, modeling studies and biological evaluation of thiazolidine derivatives containing pyrazole core as potential anti-diabetic PPAR- γ agonists and anti-inflammatory COX-2 selective inhibitors. **Bioorganic chemistry**, v. 82, p. 86-99, 2019.
- ABU-MELHA, S. *et al.* Potential COVID-19 Drug Candidates Based on Diazinyl-Thiazol-Imine Moieties: Synthesis and Greener Pastures Biological Study. **Molecules**, v. 27, n. 2, p. 488, 2022.
- AKHOUNDI, M. *et al.* *Leishmania* infections: Molecular targets and diagnosis. **Molecular aspects of medicine**, v. 57, p. 1-29, 2017.
- ALEMAYEHU, B.; ALEMAYEHU, M. Leishmaniasis: A Review on Parasite, Vector and Reservoir Host. **Health Science Journal**, v. 11, n. 4, 2017.
- ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ, D. A. *et al.* Chagas disease: current perspectives on a forgotten disease. **Revista Médica del Hospital General de México**, v. 81, n. 3, p. 154-164, 2018.
- ANDRADE, J. S. *et al.* Trypanocidal activity of chromenepyrazole derivatives. **Chemical Papers**, p. 1-11, 2022.
- AYATI, A. *et al.* Recent applications of 1, 3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery. **European journal of medicinal chemistry**, v. 97, p. 699-718, 2015.
- BAKCHI, B. *et al.* An Overview on Applications of SwissADME Web Tool in the Design and Development of Anticancer, Antitubercular and Antimicrobial agents: A Medicinal Chemist's Perspective. **Journal of Molecular Structure**, p. 132712, 2022.
- BERMUDEZ, J. *et al.* Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease. **Acta tropica**, v. 156, p. 1-16, 2016.
- BERN, C. Chagas' disease. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 5, p. 456-466, 2015.
- BRANDAO, P. *et al.* The application of isatin-based multicomponent-reactions in the quest for new bioactive and druglike molecules. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 211, p. 113102, 2021.
- BRINDHA, J.; BALAMURALI, M.M.; CHANDA, K. An overview on the therapeutics of neglected infectious diseases—Leishmaniasis and Chagas diseases. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 622286, 2021.
- BUCKNER, F. *et al.* Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 40: 2592-2597, 1996.
- BUENO, J. M. *et al.* Design, synthesis and antimalarial evaluation of novel thiazole derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 16, p. 3938-3944, 2016.

CHAHAL, V.; NIRWAN, S.; KAKKAR, R. Isatin and its derivatives: a survey of recent syntheses, reactions, and applications. **MedChemComm**, v. 10, n. 3, p. 351-368, 2019.

CHANDA, K. An overview on the therapeutics of neglected infectious diseases—Leishmaniasis and Chagas diseases. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 622286, 2021.

CHHABRIA, M. T. *et al.* Thiazole: A review on chemistry, synthesis and therapeutic importance of its derivatives. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 16, n. 26, p. 2841-2862, 2016.

CORDEIRO, T. A. R. *et al.* Electrochemical biosensors for neglected tropical diseases: A review. **Talanta**, v. 234, p. 122617, 2021.

DANTAS, L. L. S. F. R. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive effects of the isatin derivative (Z)-2-(5-chloro-2-oxoindolin-3-ylidene)-N-phenyl-hydrazinecarbothioamide in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 53, 2020.

DORLO, T. P. C. *et al.* Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 11, p. 2576-2597, 2012.

ECHEVERRIA, L. E.; MORILLO, Carlos A. American trypanosomiasis (Chagas disease). **Infectious Disease Clinics**, v. 33, n. 1, p. 119-134, 2019.

ELDEEB, M. *et al.* Anticancer effects with molecular docking confirmation of newly synthesized Isatin sulfonamide molecular hybrid derivatives against hepatic cancer cell lines. **Biomedicines**, v. 10, n. 3, p. 722, 2022

EMAMI, S. *et al.* Synthesis, *in silico*, *in vitro* and *in vivo* evaluations of isatin aroylhydrazones as highly potent anticonvulsant agents. **Bioorganic Chemistry**, v. 112, p. 104943, 2021.

ERDMANN, O. L. Untersuchungen über den Indigo. **J. Prakt. Chem**, v. 19, n. 1, p. 321-362, 1840.

EVANS, B. E. *et al.* Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecystokinin antagonists. **Journal of medicinal chemistry**, v. 31, n. 12, p. 2235-2246, 1988.

FERREIRA, L. L. G.; ANDRICOPULO, A. D. Drugs and vaccines in the 21st century for neglected diseases. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 19, n. 2, p. 125-127, 2019.

FIOCRUZ (Lucas Rocha). Leishmanioses: conheça os insetos transmissores e saiba como se prevenir. 23 ago. 2019. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/leishmanioses-conheca-os-insetos-transmissores-e-saiba-como-se-prevenir>. Acesso em: 4 jan. 2023.

FITARELLI, D. B.; HORN, J. F. Descarte de bolsas de sangue devido à reatividade para doença de Chagas em um laboratório de triagem sorológica de doadores em Porto Alegre-RS. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 5, p. 310-314, 2009.

FREITAS, L. A. B. *et al.* Structural improvement of new thiazolyl-isatin derivatives produces potent and selective trypanocidal and leishmanicidal compounds. **Chemico-Biological Interactions**, v. 345, p. 109561, 2021.

FREITAS, L. A. B. **Planejamento estrutural, síntese e avaliação farmacológica de inéditos Tiazóis para o tratamento do Câncer e das Doenças Negligenciadas**. 2021. 115 p. Tese — Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.

FREITAS, Luiz Alberto Barros *et al.* Structural improvement of new thiazolyl-isatin derivatives produces potent and selective trypanocidal and leishmanicidal compounds. **Chemico-Biological Interactions**, v. 345, p. 109561, 2021.

GOMES, P. A. T. 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.

GOMES, P. A. T. M. **Planejamento estrutural, síntese e avaliação das propriedades farmacológicas de inéditas tiazolil-hidrazonas derivadas da ftalimida e da isatina**. 2016.

GUARNER, J. Chagas disease as example of a reemerging parasite. In: **Seminars in diagnostic pathology**. WB Saunders, 2019. p. 164-169.

GUIMARÃES, T. T. *et al.* Potent naphthoquinones against antimony-sensitive and-resistant *Leishmania* parasites: Synthesis of novel α -and nor- α -lapachone-based 1, 2, 3-triazoles by copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 63, p. 523-530, 2013.

GUO, X. *et al.* Discovery of novel thiazole carboxamides as antifungal succinate dehydrogenase inhibitors. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 6, p. 1647-1655, 2019.

IFOPE. Concursos: **tudo que você precisa saber sobre Leishmaniose** - Ifope Blog. 8 jun. 2020. Disponível em: <https://blog.ifopecom.br/leishmaniose-tudo-para-concursos/>. Acesso em: 4 jan. 2023

IG SÃO PAULO. **Entenda o que é leishmaniose, doença que infectou Maurren Maggi**. 4 jan. 2018. Disponível em: <https://saude.ig.com.br/2018-01-04/leishmaniose-o-que-e.html>. Acesso em: 4 jan. 2023.

JUSTIM, J. R. *et al.* Electrochemical characterization of isatin-thiosemicarbazone derivatives. **Journal of Chemical Sciences**, v. 133, n. 4, p. 124, 2021.

KAKKAR, R. *et al.* Isatin and its derivatives: a survey of recent syntheses, reactions, and applications. **MedChemComm**, v. 10, n. 3, p. 351-368, 2019.

KARAH, N. Synthesis and primary cytotoxicity evaluation of new 5-nitroindole-2,3-dione derivatives. **Eur. J. Med. Chem.** v. 37, p. 909-918, 2002.

KE, S. *et al.* Synthesis and evaluation of steroidal thiazoline conjugates as potential antiviral agents. **Future medicinal chemistry**, v. 10, n. 22, p. 2589-2605, 2018.

KEVRIC, I.; CAPPEL, M. A.; KEELING, J. H. New world and old world *Leishmania* infections: a practical review. **Dermatologic clinics**, v. 33, n. 3, p. 579-593, 2015.

KOSMINSKY, E. **Doença de Chagas**: fases, diagnóstico e tratamento. 1 dez. 2021. Disponível em: <https://www.eumedicoresidente.com.br/post/manejo-paciente-doenca-de-chagas>. Acesso em: 10 dez. 2022.

KROPF, S. P.; AZEVEDO, N.; FERREIRA, L. O. Doença de Chagas: a construção de um fato científico e de um problema de saúde pública no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 5, n. 2, p. 347-365, 2000.

KUMAWAT, M. K. Thiazole containing heterocycles with antimalarial activity. **Current drug discovery technologies**, v. 15, n. 3, p. 196-200, 2018.

LA HOZ, R. M.; MORRIS, M. I.; INFECTIOUS DISEASES COMMUNITY OF PRACTICE OF THE AMERICAN SOCIETY OF TRANSPLANTATION. Tissue and blood protozoa including toxoplasmosis, Chagas disease, leishmaniasis, Babesia, Acanthamoeba, Balamuthia, and Naegleria in solid organ transplant recipients—Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. **Clinical transplantation**, v. 33, n. 9, p. e13546, 2019.

LAURENT, A. Recherches sur l'indigo. **Ann. Chim. Phys**, v. 3, n. 3, p. 393-434, 1840.

LEITE, A. C. L. *et al.* Privileged structures in the design of potential drug candidates for neglected diseases. **Current Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 23, p. 4323-4354, 2019.

MAGHRABY, M. T. E. *et al.* Novel class of benzimidazole-thiazole hybrids: The privileged scaffolds of potent anti-inflammatory activity with dual inhibition of cyclooxygenase and 15-lipoxygenase enzymes. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 28, n. 7, p. 115403, 2020.

MALAFAIA, G.; RODRIGUES, A. S. L. Centenário do descobrimento da doença de Chagas: desafios e perspectivas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 5, p. 483-485, out. 2010.

MALIK, L. H.; SINGH, G. D.; AMSTERDAM, E. A. Chagas heart disease: an update. **The American journal of medicine**, v. 128, n. 11, p. 1251. e7-1251. e9, 2015.

MANN, S. *et al.* A review of leishmaniasis: current knowledge and future directions. **Current tropical medicine reports**, v. 8, n. 2, p. 121-132, 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de controle e vigilância da Leishmaniose Visceral. 1 a edição, 5 a reimpressão. Brasília, DF. 2019. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf Acesso em: 4 jan. 2023.

MISHCHENKO, M. *et al.* Thiazole-bearing 4-thiazolidinones as new anticonvulsant agents. **Scientia Pharmaceutica**, v. 88, n. 1, p. 16, 2020.

MISHRA, C. B.; KUMARI, S.; TIWARI, M. Thiazole: A promising heterocycle for the development of potent CNS active agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 92, p. 1-34, 2015.

MORASKI, G. C. *et al.* Intracellular and *in vivo* evaluation of imidazo [2, 1-b] thiazole-5-carboxamide anti-tuberculosis compounds. **PLoS One**, v. 15, n. 1, p. e0227224, 2020.

NAVARRETE-VÁZQUEZ, G. *et al.* Synthesis of nitro (benzo) thiazole acetamides and *in vitro* antiprotozoal effect against amitochondriate parasites *Giardia intestinalis* and *Trichomonas vaginalis*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 9, p. 2204-2210, 2015.

NHAVENE, E. P. F. *et al.* Chitosan grafted into mesoporous silica nanoparticles as benzimidazol carrier for Chagas diseases treatment. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 272, p. 265-275, 2018.

NORCLIFFE, J. L. *et al.* Identifying inhibitors of the *Leishmania* inositol phosphorylceramide synthase with antiprotozoal activity using a yeast-based assay and ultra-high throughput screening platform. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 3938, 2 dez. 2018.

OLENDER, Dorota; ŻWAWIAK, Justyna; ZAPRUTKO, Lucjusz. Multidirectional efficacy of biologically active nitro compounds included in medicines. **Pharmaceuticals**, v. 11, n. 2, p. 54, 2018.

OLIVEIRA, J. *et al.* The importance of biological collections for public health: The case of the Triatominae collection of the Museum of the Institute of Agricultural Zoology “Francisco Fernández Yépez”, Venezuela. **Revista Chilena de Entomología**, v. 46, n. 2, 2020.

OLIVEIRA, L. F. G.; GILBERT, B.; BÔAS, G. K. V. Oportunidades para inovação no tratamento da leishmaniose usando o potencial das plantas e produtos naturais como fontes de novos fármacos. **Revista Fitos**, v. 8, n. 1, 24 set. 2014.

ONG, Yih Ching *et al.* Metal compounds against neglected tropical diseases. **Chemical reviews**, v. 119, n. 2, p. 730-796, 2018.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE – OMS. **OPAS: 70% das pessoas com Chagas não sabem que estão infectadas.** 13 abr. 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/13-4-2021-opas-70-das-pessoas-com-chagas-nao-sabem-que-estao-infectadas#:~:text=Aproximadamente%2075%20milhões%20de%20pessoas,das%20diversas%20formas%20de%20transmissão>. Acesso em: 28 out. 2022.

PAHO/WHO (Pan American Health Organization). Leishmaniasis. Disponível em: <https://www.paho.org/en/topics/leishmaniasis>. Acesso em: 4 jan. 2023.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The Lancet**, v. 391, n. 10115, p. 82-94, 2018.

PODINOVSKAIA, M.; DESCOTEAUX, A. *Leishmania* and the macrophage: a multifaceted interaction. **Future microbiology**, v. 10, n. 1, p. 111-129, 2015.

RANJITH, D.; RAVIKUMAR, C. SwissADME predictions of pharmacokinetics and drug-likeness properties of small molecules present in *Ipomoea mauritiana* Jacq. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 5, p. 2063-2073, 2019.

ROMANHA, Alvaro José et al. *In vitro* and *in vivo* experimental models for drug screening and development for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 233-238, 2010.

ROSA, R. *et al.* Design and synthesis of a new series of 3, 5-disubstituted isoxazoles active against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania amazonensis*. **European journal of medicinal chemistry**, v. 128, p. 25-35, 2017.

SALEEM, M. *et al.* Synthesis of isatin and its derivatives having antibacterial, antifungal and cytotoxic activities. **Current Organic Synthesis**, 2022.

SANTANA, T. I. *et al.* Synthesis, anticancer activity and mechanism of action of new thiazole derivatives. **European journal of medicinal chemistry**, v. 144, p. 874-886, 2018.

SANTOS, S. S. *et al.* Searching for drugs for Chagas disease, leishmaniasis and schistosomiasis: a review. **International journal of antimicrobial agents**, v. 55, n. 4, p. 105906, 2020.

SASIDHARAN, S. ; SAUDAGAR, P. Leishmaniasis: where are we and where are we heading?. *Parasitology Research*, v. 120, n. 5, p. 1541-1554, 2021.

SAYED, A. R. *et al.* One-pot synthesis of novel thiazoles as potential anti-cancer agents. **Drug design, development and therapy**, v. 14, p. 1363, 2020.

SCARIM, C. B. *et al.* Current advances in drug discovery for Chagas disease. **European journal of medicinal chemistry**, v. 155, p. 824-838, 2018.

SCARIM, C. B. *et al.* Thiazole, thio and semicarbazone derivatives against tropical infective diseases: Chagas disease, human African trypanosomiasis (HAT), leishmaniasis, and malaria. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 162, p. 378-395, 2019.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Territorialização e vulnerabilidade para doença de Chagas crônica**: Dia mundial de combate à doença de Chagas. Número especial: Ministério da Saúde, 2022.

SILVA, E. B. *et al.* Design and synthesis of potent anti-*Trypanosoma cruzi* agents new thiazoles derivatives which induce apoptotic parasite death. **European journal of medicinal chemistry**, v. 130, p. 39-50, 2017.

SINGH, A. *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of novel morpholinated isatin-quinoline hybrids as potent anti-breast cancer agents. **Archiv der Pharmazie**, v. 355, n. 2, p. 2100368, 2022.

SOUSA, N.F. *et al.* Recent Studies on Neglected Drug Design. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 21, n. 21, p. 1943-1974, 2021.

SOUZA, J. M. *et al.* Licochalcone a exhibits leishmanicidal activity *in vitro* and in experimental model of *Leishmania (Leishmania) infantum*. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 527, 2020.

SOUZA, M. V. N. *et al.* Métodos de obtenção e aplicação sintética de tiazóis, uma importante classe de compostos heterocíclicos. *Química Nova*, v. 28, n. 1, p. 77-84, 2005.

STEVERDING, D. The history of leishmaniasis. **Parasites & vectors**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2017.

TENG, Yu-Ou *et al.* Synthesis and anti-cancer activity evaluation of 5-(2-carboxyethenyl)-isatin derivatives. **European journal of medicinal chemistry**, v. 112, p. 145-156, 2016.

TENÓRIO R. P.; GÓES A. J. S. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1030-1037, 2005

TORRES-GUERRERO, E. *et al.* Leishmaniasis: a review. **F1000Research**, v. 6, p. 750 2017.

TROTSKO, N.*et al.* Synthesis and antibacterial activity of new thiazolidine-2, 4-dione-based chlorophenylthiosemicarbazone hybrids. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1023, 2018.

VILELA, M. L. *et al.* Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis: fatores associados ao processo de expansão e urbanização da leishmaniose visceral americana. In: Leishmanioses do continente americano. Rio de Janeiro: Editora Fio Cruz, 2014. p. 183.

WANG, S. *et al.* FDA-approved pyrimidine-fused bicyclic heterocycles for cancer therapy: Synthesis and clinical application. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 214, p. 113218, 2021.

WEI, W. *et al.* Fsp3: A new parameter for drug-likeness. **Drug Discovery Today**, v. 25, n. 10, p. 1839-1845, 2020.

WHO (World Health Organization). Leishmaniasis. 8 jan. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 3 jan. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Doenças tropicais negligenciadas**. [S.D] Disponível em: https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1. Acesso em: 3 nov. 2022.

YAN, Xinjia *et al.* Synthesis and *in vitro* evaluation of novel substituted isatin-propylene-1H-1, 2, 3-triazole-4-methylene-moxifloxacin hybrids for their anti-mycobacterial activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 899-904, 2018.

ZHANG, Li *et al.* Recent advances of quinones as a privileged structure in drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 223, p. 113632, 2021.

ZONOUZ, Adeleh M.; GHAFFARI, Parisa; POURREZA, Azita. Synthesis of Pyrimidine Hybrids Based on 4H-Pyran and 4H-Chromene Privileged Structures. **Letters in Organic Chemistry**, v. 19, n. 11, p. 993-998, 2022.