



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102021019549-5 A2

(22) Data do Depósito: 29/09/2021

(43) Data da Publicação Nacional:
11/04/2023

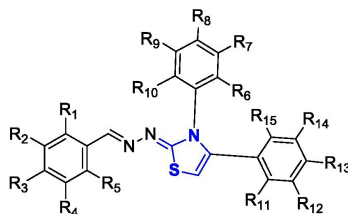
(54) Título: PLANEJAMENTO, SÍNTESE E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS 4-(3-(4-NITROFENIL)-4-FENILTIAZOL-2(3H)-ILIDENO)HIDRAZINA)METIL)FENOL E 4-(3-(4-CLOROFENIL))-4-FENILTIAZOL-2(3H)-ILIDENO)HIDRAZINA)METIL)FENOL

(51) Int. Cl.: A61K 31/427; A61P 31/04; A61P 31/10.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-BRASILEIRA - UNILAB.

(72) Inventor(es): MARIA DO CARMO ALVES DE LIMA; JAMERSON FERREIRA DE OLIVEIRA; GLÁUCIA MANOELLA DE SOUZA LIMA; IRANILDO JOSÉ DA CRUZ FILHO; RAFAEL MATOS XIMENES; REJANE PEREIRA NEVES; WILMA RAIANNY VIEIRA DA ROCHA; PEDRO HENRIQUE DO BOMFIM NASCIMENTO; MARIA JOSÉ CRISTIANE DA SILVA; MARIA FERNANDA DA SILVA; MARIA DANIELA SILVA BUONAFINA PAZ.

(57) Resumo: PLANEJAMENTO, SÍNTESE E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-(3-(4-clorofenil))-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol. A presente invenção se refere a duas séries de tiossemicarbazonas e tiazóis com atividade antimicrobiana. Mas especificamente, as moléculas da presente invenção referem-se aos derivados 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2-(3H)-ilideno)-hidrazina)-metil)-fenol e 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2-(3H)-ilideno)-hidrazina)-metil)-fenol úteis no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas aplicadas ao tratamento humano e animal. Os resultados obtidos sugerem uma resposta antimicrobiana promissora, CMI de 12,5, 50 e 12,5 µg/mL para as cepas de *C. albicans* UFPEDA-1007, *C. glabrata* UFPEDA-6393, *C. guilliermondii* UFPEDA-6390 respectivamente, obtendo um resultado superior ao Fluconazol de 16 µg/mL para a cepa *C. albicans* UFPEDA-1007. Os compostos tiazóis apresentaram resultados obtidos pelos compostos 4 e 12 com CMI de 75 µg/mL para *A. baumannii* UFPEDA-1024. E para a cepa *S. aureus* UFPEDA-709 destacando os compostos 11, 12 e 13 com CMI de 75 µg/mL, superiores a Oxacilina 512 µg/mL para esta cepa. Todos os compostos tiazóis foram capazes de inibir as de cepas de *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416, com CMI que variaram entre 75 a 37,5 µg/mL, destacando os compostos 4 e 11 com CMI de 37,5 µg/mL para *P. aeruginosa* (...).



Planejamento, Síntese e atividade antimicrobiana de derivados 4-(3-(4- nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-(3-(4-clorofenil))-4- feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol

Campo da invenção

[001] A presente invenção se refere a duas séries de tiossemicarbazonas e tiazóis com atividade antimicrobiana. Mas especificamente, as moléculas da presente invenção referem-se aos derivados 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol úteis no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas aplicadas ao tratamento humano e animal.

Fundamentos da invenção

[002] A resistência microbiana ameaça à saúde pública sendo impulsionada pelo uso inadequado de medicamentos antimicrobianos utilizados na saúde humana e animal, para evitar o risco, enormes esforços foram direcionados para restringir o consumo de antibióticos em todo o mundo, mas até o momento com sucesso limitado (WANG, Q. et al., 2020). A cada ano, milhões de pessoas em todo o mundo são internados em unidades de terapia intensiva (UTI), este ambiente hospitalar é frequentemente chamado de epicentro de infecções oportunistas e da propagação de microrganismos multirresistentes (JOHANI et al., 2018). *Pseudomonas aeruginosa* tem sido reconhecida como uma bactéria mais comum associada a infecções hospitalares, além disso, apresenta resistência a uma variedade de antibióticos, incluindo aminoglicosídeos, quinolonas e β -lactâmicos, sendo listada como prioridade crítica pela Organização Mundial da Saúde (OMS) no desenvolvimento de novos antibióticos (PANG et al., 2019).

[003] Da mesma forma, que cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* vêm causando muitos danos a pacientes hospitalizados, sendo a principal causa de doenças infecciosas disseminadas e potencialmente letais (TAFVIZI et al., 2019). Estas cepas resistentes vêm gerando problemas pelo uso prologando dos antibióticos no combate a infecção, segundo Kato et al. (2018) o tempo e por vezes a escolha de antimicrobiano pode gerar infecções secundárias de origem fúngica, sendo *Candida albicans* é o principal agente causador da candidemia (YING et al., 2019).

[004] Neste contexto, as tiossemicarbazidas que são utilizadas na química medicinal através do método FBDD (descoberta de fármacos baseada em fragmentos) conduzem às tiossemicarbazonas. As tiossemicarbazonas são um grupo de compostos considerados de grande destaque na química orgânica e medicinal, também são conhecidas como bases de schiff. Essas estruturas são consideradas privilegiadas devido as suas características químicas: como a presença de ligações duplas (C=N) e a presença de átomos reativos como o enxofre (S) e o nitrogênio (N) (TOAN, et al., 2020; SIBUH et al., 2021). Essas moléculas são sintetizadas por meio de reações de condensação entre aldeídos ou cetonas com tiossemicarbazidas, sendo consideradas de fácil obtenção (JAMAL, et al., 2019).

[005] Neste sentido, as tiossemicarbazonas vem sendo amplamente avaliadas, recebendo atenção significativa devido as suas características farmacológicas e diversas atividades biológicas já relatadas na literatura, como: anticâncer, antiparasitária, antiviral e antimicrobiana (KHAN et al., 2008; BLAU et al., 2013; KHAN & ASIRI, 2018; RODRIGUES et al., 2018). Por razão, alguns dos motivos relevantes para o interesse em se avaliar esses derivados, se devem as suas propriedades de interação com DNA, bem como, a sua diversidade estrutural, a disponibilidade de modos de ligação, a excelente complexação e a variedade de modos de coordenação (SIBUH et al., 2021; MATHEWS, et al., 2019).

[006] O tiazol é um promissor composto orgânico com diversas atividades biológicas descritas: antifúngica, antibacteriana, anti-inflamatória, anti-hipertensiva, anti-HIV, herbicida, inseticida (SENGEL & SAHINER, 2017; NALAWADE et al., 2019). Além de estar presente em muitas moléculas biologicamente ativas, que estão em uso terapêutico como: Sulfatiazol® (antimicrobiano), Ritonavir® (antirretroviral), Abafungina® (antifúngico) (ZABLOTSKAYA, et al., 2013).

[007] O núcleo tiazol é uma molécula não carcinogênica que pode ser facilmente metabolizada por reações bioquímicas de rotina e exibem uma variedade de atividades biológicas manifestadas por sua presença em muitos compostos biologicamente ativos (EL-ACHKAR, et al., 2015). Devido à sua versatilidade na síntese e amplo efeito farmacológico, o tiazol tem despertado atenção, atuando como *scaffold* de múltiplos alvos em diversos compostos sintéticos (SIQUEIRA, et al., 2019).

[008] A ideia de ciclização de tiosemicarbazonas conduzindo a tiazóis; apresenta potencial possibilidade de obtenção de compostos candidatos a fármacos. Esta ideia surgiu devido à potencialidade biológica documentada na literatura de tais derivados como: leishmanicida (SILVA et al., 2020) e antitripanossômica (HAROON et al., 2021, OLIVEIRA FILHO et al. 2021), anti-inflamatória (JACOB et al., 2021), antifúngica (DE ARAÚJO NETO et al., 2020), antitumoral (ROQUE MARQUES et al., 2019; ALVES et al., 2021), antibacteriana (PEREIRA et al. 2019) entre outras.

Breve descrição dos desenhos

[009] A vantagem da utilização de tiosemicarbazonas na química medicinal é a sua aplicação como intermediários versáteis para obtenção de derivados heterocíclicos, como as tiazolidinas, tiazolidinonas e os tiazóis (Figura 1) (MISHRA, KUMARI & TIWARI, 2015).

[010] Em seu primeiro aspecto, a presente patente de invenção se refere à descrição do processo de obtenção de novos derivados 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol através de tiosemicarbazonas não substituídas e/ou substituídas ou polissubstituídas por bromo, cloro, flúor, metil, propil, etil, terc-butil, metóxi, etóxi, fenilóxi, benzilóxi, dimetilamino, metilsulfunil, fenil, fenetil, piridil, nitro, hidróxido nas posições R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉ e/ou R₁₀ na presença de uma base e/ou ácido (hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, piperidina, trietilamina, dietilamina ou morfolina; ácido acético, ácido fosfórico ou ácido clorídrico) e solventes tais como metanol, etanol, tetrahydrofurano ou dimetilformamida, em uma temperatura superior ao ponto de fusão dos reagentes.

[011] Purificados através de cristalizações sucessivas em metanol, etanol, tolueno, dioxano, tetrahydrofurano, ou éter etílico. Por fim, as tiosemicarbazonas foram ciclizadas na presença de acetofenonas não substituídas e/ou substituídas ou polissubstituídos por bromo, cloro, flúor, metil, propil, etil, terc-butil, metóxi, etóxi, nitro nas posições R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄ e/ou R₁₅ na presença de uma base e/ou ácido (hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, piperidina, trietilamina, dietilamina ou morfolina; ácido acético, ácido fosfórico ou ácido clorídrico).

[012] Dissolvidos em solventes tais como metanol, etanol, tetrahidrofurano ou dimetilformamida, em uma temperatura superior ao ponto de fusão dos reagentes. Purificados através de cristalizações sucessivas em metanol, etanol, tolueno, dioxano, tetrahidrofurano, éter etílico, éter de petróleo e/ou água conduzindo a formação dos tiazóis (Figura 2). Podendo ser seus sais, complexos de inclusão e/ou formas farmacêuticas (sólidas, semi-sólidas, soluções, emulsões, suspensões e/ou injetáveis) administrados por qualquer via de administração, incluindo: via oral, intravenosa, intra-arterial, intracraniano, intratorácica, intraperitoneal, parenteral, ocular, retal, cutânea, sub-cutânea, intradérmica, dérmica, inalatória ou intramuscular de uso em humanos e animal.

[013] Na figura 1: Esquema demonstrativo da ciclização que conduz aos tiazóis.

[014] Na Figura 2: Estrutura Geral dos tiazóis.

Descrição da invenção

[015] Foram realizadas etapas de síntese, purificação, caracterização físico-química e elucidação estrutural, e descrevemos alguns novos derivados 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol acompanhados por ensaios *in vitro* visando avaliação de suas potenciais atividade antibacteriana e antifúngica para o tratamento em humanos e animais.

[016] No estudo *in silico* ADMET foram realizados com a finalidade de fortalecer os resultados obtidos nos estudos *in vitro*. Este descreve um perfil a absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade destes compostos. Os programas utilizados foram SwissADME (DIANA et al., 2017) e plataformas da web pkCSM (PIRES, BLUNDELL AND ASCHER, 2015). Vários parâmetros foram introduzidos para prever o comportamento das moléculas no meio biológico. Um conjunto de regras como as de Lipinski, regra dos 5, estabelece que uma molécula para ser um bom fármaco deve apresentar valores para 4 parâmetros múltiplos de 5: Massa molar ≤ 500 g/mol; LogP ≤ 5 ; aceptores de ligações de hidrogênios (LH) ≤ 10 ; doadores de LH ≤ 5 , ao atender essas regras, ou violar apenas um dos pontos, é possível traçar o perfil de biodisponibilidade oral (LIPINSKI et al., 2012; DAINA & ZOETE et al., 2016).

[017] Na tabela 1, temos os valores obtidos para os derivados tiossemicarbazônicos e tiazóis que obedeceram aos parâmetros correspondentes à regra de Lipinski com exceção dos compostos 6 e 9 que violam a regra por exceder o número ideal de ligações aceptadoras de hidrogênio. Outro parâmetro muito útil para prever a absorção é a área de superfície polar topológica (TPSA) definida como a soma das superfícies de átomos polares em uma molécula, onde o nº de ligações rotacionáveis deve ser ≤ 10 e a área de superfície polar topológica (TPSA) ≤ 140 (CLARCK et al., 2015). Esse parâmetro fornece a predição da absorção intestinal através da penetração de monocamadas da Caco-2, para prever a absorção na mucosa do intestino delgado humano, e passagem pela barreira hematoencefálica (ERTL et al., 2000). Observa-se que todos os derivados tiossemicarbazônicos e tiazólicos avaliados atenderam as necessidades de enquadramento desse parâmetro, indicando boa permeabilidade das moléculas pela mucosa entérica.

[018] Outro parâmetro importante é o volume de distribuição (VDss), que descreve a extensão da distribuição do fármaco e a fração não ligada do fármaco que está relacionado com a quantidade do fármaco livre que pode extravasar no plasma. Valores de VDss ($\log VDss$) $> 0,45$ indicam que o fármaco será distribuído no tecido. O $\log$ de valores VDss $< -0,15$ indica que o fármaco será distribuído no plasma (ZHIVKOVA E DOYTCHINOVA, 2012; AMO et al., 2013; LAMBERTUCCI et al., 2018). Os derivados apresentaram valores variados de VDss e devem ter um perfil de distribuição plasmático adequado, com uma fração do fármaco não ligado entre 0.022 e 0.247 para a maioria dos derivados. Esses valores indicam que o fármaco pode estar bem distribuído e apresentar uma fração não ligada significativa no plasma, ficando assim disponível para interagir com o alvo farmacológico. Enquanto que a maioria dos derivados apresentam valor de VDss $> 0,45$ indicando que sua distribuição tende a ser nos tecidos.

[019] Tabela 1: Farmacocinética *in silico* de novos derivados tiazólicos estimados por SwissADME e pkCSM webservices

	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
MW (g/mol) ^a	316.34	305.78	416.45	461.45	450.90	495.35	434.44	405.90	450.90	440.35	484.80	423.89
HBA ^b	4	2	5	7	5	5	6	3	5	3	3	4
HBD ^c	3	3	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1
LogP ^d	2.43	2.80	2.83	1.98	3.31	3.42	3.20	4.27	3.31	4.74	4.85	4.64

logS ^e	-5.11	-4.97	-7.36	-8.15	-8.02	-8.08	-7.47	-7.23	-8.02	-8.71	-7.95	-7.33
TPSA (Å) ^f	135.56	88.74	123.94	169.76	123.94	123.94	123.94	78.12	123.94	78.12	78.12	78.12
Rotatable bonds ^g	6	5	5	6	5	5	5	4	5	4	4	4
Caco-2 perm. ^h	0.914	1.367	0.569	0.431	0.486	0.488	0.558	0.967	0.503	0.958	0.956	1.005
Int. abs. (%) ⁱ	78.79	85.25	100	97.156	100	100	100	89.81	100	89.00	88.94	89.99
VDss (log L/kg) ^j	-0.159	-0.188	-0.3	-0.544	-0.234	-0.222	-0.405	0.027	-0.243	0.116	0.131	0.037
Fract. Unb. ^k	0.022	0.067	0.22	0.224	0.222	0.222	0.247	0.249	0.226	0.254	0.253	0.285
Total clearance (log mL/min/kg) ^l	-0.297	-0.447	0.037	-0.057	-0.093	-0.115	-0.223	-0.114	-0.209	-0.245	-0.266	-0.374

a SwissADME Molecular Weight

b SwissADME Number H-bonds acceptors

c SwissADME Number H-bonds donors

d SwissADME Moriguchi log of octanol–water partition coefficient

e SwissADME Ali log of aqueous solubility

f SwissADME calculation of Topological Polar Surface Area (TPSA)

g SwissADME Number rotatable bonds

h pkCSM prediction of Caco-2 cell permeability as an estimation of absorption at the human intestinal mucosa

i pkCSM prediction of the proportion of compound absorption through the human small intestine

j pkCSM prediction of the log of steady state volume of distribution (VDss)

k pkCSM prediction of compound fraction unbound in plasma (not bound to serum proteins)

l pkCSM prediction of the log of total drug clearance

[020] Já capacidade de sequestro de radicais livres pelos compostos foi medida usando o radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), como descrito por Zhong et al. (2010), com modificações. Ao adicionar à solução de DPPH 1 mM em metanol os

compostos foram incubados por 25 minutos à temperatura ambiente, protegido da luz, após as absorbâncias foram medidas a 517 nm em espectrofotômetro. Utilizou-se como controle a solução de DPPH adicionada ao metanol e metanol utilizado como branco. Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos em forma de média aritmética. O sequestro de radicais DPPH foi calculado utilizando a Equação 1. A tabela 2 apresenta os resultados encontrados para os novos derivados 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol.

$$\text{DPPH \%} = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c} \right) * 100\% \quad (1)$$

Ac = Absorbância do controle; As = Absorbância da Amostra.

[021] O teste de captura dos radicais ABTS+ também se baseia na diminuição da absorbância. Neste teste, a solução ABTS+ será diluída com álcool etílico até uma absorbância de 0,7 e lida em um espectrofotômetro (Hewlett-Packard, modelo 8453). A 734 nm. A atividade será avaliada utilizando 30 µL de amostra para 3 mL da solução ABTS+, a atividade será avaliada após 6 minutos de reação e o branco da reação será composto de etanol.

[022] Tabela 2. Valores de EC₅₀ da atividade antioxidantes dos derivados tiazóis sintetizados neste estudo.

EC ₅₀ (DPPH•)			EC ₅₀ (ABTS +)	
Compostos	µg/mL	µM	µg/mL	µM
3	139,0 ± 0,01	255,5 ± 2,2	12,4 ± 3,0	39,13 ± 9,6
4	211,5 ± 1,01	264,7 ± 2,3	15,3 ± 0,1	50 ± 0,24
5	85,5 ± 0,21	205,3 ± 0,5	25,0 ± 5,1	60 ± 12,34
6	271,5 ± 1,67	587 ± 2,5	28,5 ± 3,0	62 ± 6,6
7	321,5 ± 2,64	711,2 ± 0,8	193,5 ± 0,38	430 ± 0,84
8	194,1 ± 1,06	393 ± 2,0	61,81 ± 5,31	125 ± 10,7
9	252,8 ± 1,48	582,5 ± 3,4	156,4 ± 1,31	360,3 ± 3,0
10	82,6 ± 3,28	199,3 ± 1,7	67,4 ± 3,9	166,4 ± 9,7

11	176,3 ± 1,80	389,5 ± 1,2	52,5 ± 1,31	116,67 ± 2,0
12	97,0 ± 1,50	222,7 ± 2,5	53,4 ± 4,8	121,7 ± 11,14
13	125,9 ± 1,14	259,4 ± 1,0	82,2 ± 4,8	170,15 ± 3,2
14	51,8 ± 0,24	122,4 ± 0,6	65,5 ± 0,80	155 ± 2,0

[023] Na avaliação da atividade antimicrobiana foram testados os novos derivados 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol. Inicialmente foram preparadas soluções com os derivados numa concentração de 200 µg/mL utilizando como solvente o dimetilsulfóxido (DMSO) a 10% (v/v). As soluções foram diluídas em diferentes concentrações que variaram de 150 a 0,58 µg/mL para as cepas bacterianas e de 100 a 0,39 µg/mL para as leveduras. Os padrões experimentais utilizados (controle positivo) foram: os antibióticos Gentamicina, Oxacilina (diluídos em água esterilizada) e Ampicilina+Sulbactam (diluída em tampão fosfato 0,1M, pH, 7,4) definidos de acordo com a espécie. Para as leveduras foi utilizado o antifúngico fluconazol (diluído em água esterilizada) estes foram filtrados em filtros de 0,22 µm. Os resultados para estes antimicrobianos foram expressos em µg/mL e em µM. Os resultados obtidos foram comparados com os breakpoints definidos para resistência, resistência intermediária e sensibilidade definidos pelo *Clinical Laboratories Standard Institute* (CLSI), documento M100 para bactérias e M60 para leveduras.

[024] Os micro-organismos utilizados neste estudo foram obtidos da Coleção e Cultura de Micro-organismos, do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA). As cepas bacterianas utilizadas foram *Staphylococcus aureus* UFPEDA-02, *Enterococcus faecalis* UFPEDA-138, *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA-416 e a cepa de levedura *Candida albicans* UFPEDA-1007. Além destas cepas, foram incluídos isolados clínicos de bactérias identificadas como *Enterococcus faecalis* UFPEDA-69, *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA-261, *Staphylococcus aureus* UFPEDA-709, *Acinetobacter baumannii* UFPEDA-1024 e cepas de leveduras, também isoladas de amostras clínicas sendo elas: *Candida guilliermondii* UFPEDA-6390 e *Candida glabrata* UFPEDA-6393.

[025] A padronização do inóculo tanto para bactérias como para as leveduras foi realizado seguindo as recomendações do CLSI. Para as bactérias, colônias isoladas foram inoculadas em caldo Mueller Hinton para atingir turvação equivalente a escala 0,5 de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia/mL - UFC/mL). Em seguida, as suspensões bacterianas foram diluídas em solução fisiológica para obtenção do inóculo final ($1,5 \times 10^7$ UFC/mL). Já o inóculo para as leveduras, colônias isoladas foram inoculadas em solução salina estéril até turvação equivalente a 0,5 da escala de Mc Farland ($1,0 \times 10^6$ a $5,0 \times 10^6$ UFC/mL).

[026] A CIM dos compostos sintetizados, bem como de Gentamicina, Oxacilina e Ampicilina+Sulbactam, diante das bactérias, foi determinada através da técnica de microdiluição em caldo Mueller Hinton, utilizando placas de 96 poços, seguindo as recomendações do CLSI, de acordo com o documento M100 (CLSI, 2018). Após a microdiluição dos derivados em placa, foram adicionadas alíquotas de inóculos previamente preparados e padronizados das bactérias, a fim de obter uma concentração final de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL em cada poço. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 hs.

17.

[027] A CIM dos derivados sintetizados e do fluconazol, diante das cepas de leveduras, também foi determinada através da técnica de microdiluição em caldo RPMI 1640, em placa de 96 poços, seguindo as recomendações do documento M60 do CLSI (CLSI, 2017). Após a microdiluição dos derivados em placa foram adicionadas aos poços alíquotas do inóculo das leveduras previamente preparado, conforme recomendado, a fim de obter uma concentração $2,5 \times 10^3$ UFC/mL por poço. O antifúngico fluconazol foi incluído como controle positivo. As placas foram incubadas a 30 °C por 48 hs. Decorrido o tempo de incubação, procedeu-se a revelação das microplacas utilizando 20 µL de resazurina a 0,01% (corante indicador de cor azul) em cada poço. As microplacas foram incubadas por 4 horas a 37 °C (Tabela 3).

[028] Tabela 3 – Atividade antifúngica (Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima - expressos em µg/mL e µM, respectivamente) diante de espécies de *Candida* dos compostos 3 a 14

Compostos	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. guilliermondii</i>

		UFPEDA-1007		UFPEDA-6393		UFPEDA-6390	
		CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
3	µg/mL	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
	µM	> 316	> 316	> 316	> 316	> 316	> 316
4	µg/mL	12,5	100	50	50	12,5	> 100
	µM	41	330	165	165	41	> 330
5	µg/mL	50	> 100	> 100	> 100	50	100
	µM	120	> 240	> 240	> 240	120	240
6	µg/mL	> 100	> 100	> 100	> 100	25	50
	µM	> 217	> 217	> 217	> 217	54	108
7	µg/mL	> 100	> 100	> 100	> 100	100	> 100
	µM	> 222	> 222	> 222	> 222	222	> 222
8	µg/mL	25	> 100	> 100	> 100	50	> 100
	µM	51	> 202	> 202	> 202	101	> 202
9	µg/mL	25	> 100	> 100	> 100	12,5	50
	µM	58	> 230	> 230	> 230	29	115
10	µg/mL	> 100	> 100	> 100	> 100	100	> 100
	µM	> 247	> 247	> 247	> 247	247	> 247
11	µg/mL	> 100	> 100	> 100	> 100	25	> 100
	µM	> 222	> 222	> 222	> 222	56	> 222
12	µg/mL	50	> 100	> 100	> 100	25	50
	µM	114	> 228	> 228	> 228	57	114
13	µg/mL	50	> 100	> 100	> 100	50	100
	µM	104	> 207	> 207	> 207	104	207
14	µg/mL	50	> 100	> 100	> 100	25	> 100
	µM	118	> 236	> 236	> 236	59	> 236
Fluco nazol	µg/mL	16 (SSD)		8 (S)		4 (S)	
	µM	52		26		13	

Legenda: CIM – Concentração inibitória mínima; CFM – Concentração fungicida mínima;
S- Sensível; SSD- Sensibilidade dose-dependente

[029] A CIM dos derivados sintetizados e do fluconazol, diante das cepas de leveduras, também foi determinada através da técnica de microdiluição em caldo RPMI 1640, em placa de 96 poços, seguindo as recomendações do documento M60 do CLSI (CLSI, 2017). Após a microdiluição dos derivados em placa foram adicionadas aos poços alíquotas do inóculo das leveduras previamente preparado, conforme recomendado, a fim de obter uma concentração $2,5 \times 10^3$ UFC/mL por poço. O antifúngico fluconazol foi incluído como controle positivo. As placas foram incubadas a 30 °C por 48 hs. Decorrido o tempo de incubação, procedeu-se a revelação das microplacas utilizando 20 µL de resazurina a 0,01% (corante indicador de cor azul) em cada poço. As microplacas foram incubadas por 4 horas a 37 °C (Tabela 4).

[030] Os derivados tiossemicarbazonas e tiazóis apresentaram uma melhor resposta na atividade antibacteriana para as Gram negativas, *A. baumannii* UFPEDA-1024, *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416. Já para a atividade antifúngica destacamos *C. albicans* UFPEDA-1007 e em especial *C. guilliermondii* UFPEDA-6390.

[031] A CBM ou a CMF, após 24 hs (bactérias) ou 48 horas (leveduras) de incubação das placas foram recolhidos 10 µL de cada poço que apresentou inibição visível do crescimento microbiano, que foram inoculados em ágar Mueller-Hinton (para as bactérias) e em ágar Sabouraud (para as leveduras). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 ou 48 hs e se procedeu a contagem das colônias. A CBM ou CFM foi definida como a menor concentração de cada composto que resultou em redução de 99,9 % do crescimento microbiano, quando comparado com um controle de crescimento sem tratamento. Os compostos foram classificados como bacteriostáticos quando a razão CBM/CIM era ≥ 8 e bactericida quando a razão CBM/CIM foi ≤ 4 (JONES, 2006) (Tabela 3).

[032] Os derivados tiossemicarbazonas e tiazóis apresentaram uma melhor resposta na atividade antibacteriana para as Gram negativas, *A. baumannii* UFPEDA-1024, *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416. Já para a atividade antifúngica destacamos *C. albicans* UFPEDA-1007 e em especial *C. guilliermondii* UFPEDA-6390.

- 1 [033] Tabela 3 – Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima (expressos em µg/mL e µM) dos derivados
- 2 tiossemicarbazonas e tiazóis.

Compostos		Bactérias Gram positivas								Bactérias Gram negativas					
		<i>E. faecalis</i> UFPEDA-69		<i>E. faecalis</i> UFPEDA-138		<i>S. aureus</i> UFPEDA-02		<i>S. aureus</i> UFPEDA-709		<i>A. baumannii</i> UFPEDA-1024		<i>P. aeruginosa</i> UFPEDA-261		<i>P. aeruginosa</i> UFPEDA-416	
		CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
3	µg/mL	>150	>150	>150	>150	150	>150	>150	>150	75	> 150	75	75	150	150
	µM	> 475	> 475	> 475	> 475	475	> 475	> 475	> 475	237	> 475	237	237	475	475
4	µg/mL	150	150	37,5	150	37,5	150	37,5	75	37,5	37,5	37,5	75	37,5	75
	µM	495	495	124	495	124	495	124	247	124	124	124	247	124	247
5	µg/mL	>150	>150	>150	>150	> 150	>150	>150	>150	75	150	37,5	75	37,5	75
	µM	>360	>360	>360	>360	>360	>360	>360	>360	180	360	90	180	90	180
6	µg/mL	>150	>150	>150	>150	> 150	>150	>150	>150	150	> 150	75	75	75	75
	µM	> 325	> 325	> 325	> 325	> 325	> 325	> 325	> 325	360	> 325	163	163	163	163
7	µg/mL	>150	>150	>150	>150	> 150	>150	>150	>150	150	150	75	75	75	75
	µM	> 333	> 333	> 333	> 333	> 333	> 333	> 333	> 333	325	333	167	167	167	167
8	µg/mL	>150	>150	>150	>150	> 150	>150	>150	>150	150	150	75	75	75	75
	µM	> 303	> 303	> 303	> 303	> 303	> 303	> 303	> 303	333	303	152	152	152	152
9	µg/mL	>150	>150	150	150	> 150	>150	>150	>150	150	150	75	75	75	75
	µM	> 346	> 346	346	346	> 346	> 346	> 346	> 346	303	346	173	173	173	173
10	µg/mL	> 150	> 150	150	150	> 150	> 150	> 150	> 150	150	150	75	75	75	75
	µM	> 370	> 370	370	370	> 370	> 370	> 370	> 370	370	370	185	185	185	185
11	µg/mL	> 150	> 150	150	150	> 150	> 150	> 150	> 150	150	150	75	75	75	75
	µM	> 333	> 333	333	333	> 333	> 333	> 333	> 333	333	333	167	167	167	167
12	µg/mL	> 150	> 150	150	150	150	> 150	75	150	150	150	37,5	75	75	75
	µM	> 342	> 342	342	342	342	> 342	171	342	342	342	85	171	171	171
	µg/mL	> 150	> 150	> 150	> 150	150	150	75	150	75	> 150	75	75	37,5	75

13	µM	> 311	> 311	> 311	> 311	311	311	155	311	155	> 311	155	155	78	155
14	µg/mL	> 150	> 150	> 150	> 150	150	> 150	75	150	150	> 150	75	75	75	75
	µM	> 355	> 355	> 355	> 355	355	> 355	177	355	355	> 355	177	177	177	177
Amp+Sulbac	µg/mL	-		-		-		-		16 (I)		-		-	
	µM	-		-		-		-		26		-		-	
Gentamicina	µg/mL	8 (S)		8 (S)		0,25 (S)		-		-		0,5 (S)		0,5 (S)	
	µM	17		17		0,5		-				1,0		1,0	
Oxacilina	µg/mL	-		-		-		512 (R) - MRSA		-		-		-	
	µM	-		-		-		1275		-		-		-	

Exemplos de concretizações da invenção

[034] Nesta seção descrevemos os resultados da caracterização química dos compostos obtidos:

[035] 4-(3-(4-nitrophenyl)-4-phenylthiazol-2(3*H*)-ylidene)hydrazono)methyl)phenol - Fórmula Molecular: $C_{22}H_{16}N_4O_3S$; Massa Molecular: 416,45; Aspecto: sólido laranja; Rendimento: 90,13%; Rf: 0,54 (sistema 1/1: *n*-hexano/Acetado de Etila); Ponto de fusão: 232°-233° C; Infravermelho (IV): 3363 cm^{-1} (-OH), 3065 cm^{-1} (C=C-H), 1600 cm^{-1} (N=C), $1518\text{ a }1491\text{ cm}^{-1}$ (-NO₂), 1349 cm^{-1} (N-C); RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ : 6.80 (s, 1H, CH-S), 6.82 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Fenol), 7.17 a 7.29 (m, 5H, CH-Ar), 7.55 (d, 2H, J= 8,4Hz, CH-Fenol), 7.61 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Ar-Nitro), 8.12 (s, 1H, N=CH), 8.22 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Ar-Nitro); RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ : 103.704, 115.705, 124.211, 125.483, 128.365, 128.533, 128.855, 129.070, 129.974, 138.986, 142.680, 146.312, 152.949, 159.570, 167.785, 190.975.

[036] 4-(3,4-bis(4-nitrophenyl)thiazol-2(3*H*)-ylidene)hydrazono)methyl)phenol - Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}N_5O_5S$; Massa Molecular: 461,08; Aspecto: sólido laranja; Rendimento: 81,50%; Rf: 0,54 (sistema 6/4: *n*-hexano/Acetado de Etila); Ponto de fusão: 224°-225° C; Infravermelho (IV): 3623 cm^{-1} (OH), 3080 cm^{-1} (C=C-H), 1601 cm^{-1} (N=C), 1512 cm^{-1} (NO₂), 1342 cm^{-1} (C-N); RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ : 6.81 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Fenol), 7.05 (s, 1H, CH-S), 7.44 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Fenol), 7.55 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Ar-Nitro), 7.61 (d, 2H, J= 9,3Hz, CH-Ar-Nitro), 8.11 (d, 2H, J= 9,3Hz, CH-Ar-Nitro), 8.23 (d, 2H, J= 8,7 Hz, CH-Ar-Nitro); RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ : 107.183, 115.720, 115.889, 123.552, 123.751, 124.364, 125.606, 125.698, 129.131, 129.177, 129.698, 129.913, 142.726, 153.593, 159.570, 167.341.

[037] 4-(4-(4-chlorophenyl)-3-(4-nitrophenyl)thiazol-2(3*H*)-ylidene)hydrazono)methyl)phenol - Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}ClN_4O_3S$ Massa Molecular: 450,06; Aspecto: sólido amarelo; Rendimento: 68,90%; Rf: 0,52 (sistema 6/4: *n*-hexano/Acetado de Etila); Ponto de fusão: 246°-247° C; Infravermelho (IV): 3066 cm^{-1} (C=C-H), 1601 cm^{-1} (N=C), $1518\text{ a }1486\text{ cm}^{-1}$ (NO₂), 1354 cm^{-1} (N-C); RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ : 6.81 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Fenol), 6.86 (s, 1H, CH-S), 7.20 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Ar-Cl), 7.35 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Ar-Cl), 7.54 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Fenol), 7.62 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Ar-Nitro), 8.12 (s, 1H, N=CH), 8.24 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Ar-Nitro); RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ : 104.424, 115.689, 124.288, 125.437, 128.595, 128.840, 129.054, 129.913, 130.112, 133.484, 137.699, 142.465, 146.328, 153.072, 159.570, 167.601.

[038] 4-(4-(4-bromophenyl)-3-(4-nitrophenyl)thiazol-2(3*H*)-ylidene)hydrazono)methyl)phenol - Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}BrN_4O_3S$; Massa Molecular: 494,35; Aspecto: sólido amarelo; Rendimento: 51,37%; Rf: 0,40 (sistema 7/3: *n*-hexano/Acetado de Etila); Ponto de fusão: 275°-

276° C; Infravermelho (IV): 3068 cm⁻¹ (C=C-H), 1601 cm⁻¹ (N=C), 1515 a 1491 cm⁻¹ (-NO₂), 1351 cm⁻¹ (N-C); RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ: 6.81 (t, 3H, J= 8,7Hz, CH-Fenol, CH-S), 7.13 (d, 2H, J= 8,4Hz, CH-Ar-Br), 7.48 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Ar-Br), 7.54 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Fenol), 7.61 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Ar-Nitro), 8.12 (s, 1H, N=CH), 8.24 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Ar-Nitro); RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ: 104.363, 115.674, 122.157, 124.273, 125.483, 129.039, 129.238, 129.882, 130.281, 131.507, 137.714, 142.542, 146.297, 153.102, 159.539, 167.586.

[039] 4-(4-(4-fluorophenyl)-3-(4-nitrophenyl)thiazol-2(3*H*)-ylidene)hydrazono)methylphenol -
 Fórmula Molecular: C₂₂H₁₅FN₄O₃S; Massa Molecular: 434,08; Aspecto: sólido amarelo;
 Rendimento: 54,80%; Rf: 0,52 (sistema 6/4: *n*-hexano/Acetado de Etila); Ponto de fusão: 249°-
 250° C; Infravermelho (IV): 1594 cm⁻¹ (N=C), 1533 a 1505 cm⁻¹ (NO₂), 1344 cm⁻¹ (N-C), 1011
 cm⁻¹ (F); RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ: 6.69 (s, 1H, CH-S), 6,804 (d, 2H, J= 8,1Hz, CH-Fenol)
 7.09 a 7.26 (m, 5H, CH-Fenol, CH-Ar-F), 7.52 a 7.57 (m, 3H, CH-Fenol, CH-NO₂), 8.09 (s, 1H,
 N=CH) 8.22 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Ar-NO₂), 9.91 (s, 1H, OH); RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ:
 102.907, 115.383, 115.613, 115.674, 124.012, 128.917, 129.867, 130.465, 130.572, 137.469,
 143.109, 145.929, 152.995, 159.356, 167.448.

[040] 4-(3-(4-chlorophenyl)-4-phenylthiazol-2(3*H*)-ylidene)hydrazono)methylphenol -
 Fórmula Molecular: C₂₂H₁₆ClN₃OS; Massa Molecular: 405,07; Aspecto: sólido branco;
 Rendimento: 89,12%; Rf: 0,52 (sistema 7/3: *n*-hexano/Acetado de Etila); Ponto de fusão: 254°-
 255° C; Infravermelho (IV): 3063 cm⁻¹ (C=C-H), 2599 cm⁻¹ (C-S), 1600 a 1576 cm⁻¹ (N=C), 746
 cm⁻¹ (Cl); RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ: 6.85 (d, 2H, J= 8,1Hz, CH-Fenol), 6.98 (s, 1H, CH-S),
 7.18 a 7.30 (m, 5H, CH-Ar) 7.45 a 7,57 (m, 6H, CH-Fenol, CH-Ar-Cl), 8.20 (s, 1H, N=CH); RMN
¹³C (75 MHz, DMSO) δ: 104.501, 115.812, 124.717, 128.365, 128.871, 129.100, 129.192, 129.376,
 129.545, 130.602, 133.790, 134.603, 140.381, 152.290, 159.938, 168.460.

[041] 4-(3-(4-chlorophenyl)-4-(4-nitrophenyl)thiazol-2(3*H*)-ylidene)hydrazono)methylphenol -
 Fórmula Molecular: C₂₂H₁₅ClN₄O₃S; Massa Molecular: 450,06; Aspecto: sólido amarelo;
 Rendimento: 96,90%; Rf: 0,52 (sistema 6/4: *n*-hexano/Acetado de Etila); Ponto de fusão: 256°-
 257° C; Infravermelho (IV): 3630 cm⁻¹ (-OH), 3112 cm⁻¹ (C=C-H), 1600 cm⁻¹ (N=C), 1516 a 1494
 cm⁻¹ (-NO₂), 1346 cm⁻¹ (N-C); RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ: 6.83 (d, 2H, J= 8,4Hz, CH-Fenol),
 7.10 (s, 1H, CH-S), 7.42 a 7.56 (m, 8H, CH-Ar-Cl, CH-Ar-Cl, CH-Fenol, CH-Ar-Nitro), 8.12 (d,
 2H, J= 8,4Hz, CH-Ar-Nitro), 8,15 (s, 1H, N=CH); RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ: 106.693,
 115.735, 123.537, 125.223, 129.085, 129.468, 129.560, 130.434, 133.254, 135.231, 136.105,
 137.775, 147.063, 152.811, 159.677, 168.122.

[042] 4-(3,4-bis(4-chlorophenyl)thiazol-2(3*H*)-ylidene)hydrazono)methyl)phenol - Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}Cl_2N_3OS$; Massa Molecular: 439,03; Aspecto: sólido verde; Rendimento: 98,50%; Rf: 0,47 (sistema 6/4: *n*-hexano/Acetado de Etila); Ponto de fusão: 252°-253° C; Infravermelho (IV): 3651 cm^{-1} (-OH), 3051 cm^{-1} (C=C-H), 1598 cm^{-1} (N=C); RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 5.36 (s, 1H, -OH), 6.83 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Fenol), 6.96 (s, 1H, CH-S), 7.21 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Ar-Cl), 7.37 (d, 2H, J= 8,4Hz, CH-Ar-Cl), 7.45 a 7.56 (m, 6H, CH-Fenol, CH-Ar-Cl) 8,16 (s, 1H, N=CH); RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 104.624, 115.781, 124.962, 128.487, 129.146, 129.530, 130.541, 130.587, 133.591, 133.775, 134.817, 138.879, 152.428, 159.815, 168.337.

[043] 4-(4-(4-bromophenyl)-3-(4-chlorophenyl)thiazol-2(3*H*)-ylidene)hydrazono)methyl)phenol - Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}ClBrN_3OS$; Massa Molecular: 482,98; Aspecto: sólido verde; Rendimento: 69%; Rf: 0,52 (sistema 6/4: *n*-hexano/Acetado de Etila); Ponto de fusão: 267°-268° C; Infravermelho (IV): 3651 cm^{-1} (-OH), 3088 cm^{-1} (C=C-H), 1602 cm^{-1} (N=C); RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.23 (s, 1H, -OH), 6.83 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Fenol), 6.94 (s, 1H, CH-S), 7.14 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Ar-Cl), 7.41 a 7.56 (m, 8H, CH-Fenol, CH-Ar-Cl, CH-Ar-Br), 8,15 (s, 1H, N=CH). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 104.486, 115.751, 122.449, 125.039, 128.917, 129.116, 129.499, 130.572, 130.694, 131.399, 133.484, 134.925, 138.864, 152.428, 159.769, 168.322.

[044] 4-(3-(4-chlorophenyl)-4-(4-fluorophenyl)thiazol-2(3*H*)-ylidene)hydrazono)methyl)phenol - Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}ClFN_3OS$; Massa Molecular: 423,06; Aspecto: sólido verde; Rendimento: 84,05%; Rf: 0,48 (sistema 6/4: *n*-hexano/Acetado de Etila); Ponto de fusão: 245°-246° C; Infravermelho (IV): 3648 cm^{-1} (-OH), 3126 cm^{-1} (C=C-H), 1599 cm^{-1} (1599); RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.84 (d, 2H, J= 8,1Hz, CH-Fenol), 6.99 (s, 1H, CH-S), 7.12 a 7.28 (m, 4H, CH-r-F) 7.46 a 7.57 (m, 6H, CH-Ar-Cl, CH-Fenol), 8.19 (s, 1H, N=CH); RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 104.685, 115.337, 115.628, 115.827, 124.748, 129.238, 129.637, 130.664, 131.292, 131.415, 133.898, 134.495, 139.323, 152.351, 159.969, 168.383.

[045] Referências:

[046] Alves, J. E. F.; Oliveira, J. F.; Souza, T. R. C. L.; Moura, R. O.; Carvalho Junior, L. B.; Lima, M. C. A.; Almeida, S. M. V. Novel indole-thiazole and indole-thiazolidinone derivatives as DNA groove binders. International Journal Of Biological Macromolecules, v. 170, p. 622-635, 2021.

- [047] Amo, E. M.; Ghemtio, L.; Xhaard, H.; Ylipertula, M. Applying linear and non-linear methods for parallel prediction of volume of distribution and fraction of unbound drug. *PLoS One*, v. 8, p. 1-12, 2013.
- [048] Blau, L.; Menegon, R. F.; Trossini, G. H. G.; Molino, J. V. D.; Vital, D. G.; Cicarelli, R. M. B.; Passerini, G. D.; Bosquesi, P. L.; Chin, C. M. Design, synthesis and biological evaluation of new aryl-thiosemicarbazone as antichagasic candidates. *European Journal of Medicinal Chemistry*, n. 67, p. 142-151, 2013.
- [049] CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.
- [050] CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
- [051] CLARK, A.M.; DOLE, K.; COULON-SPEKTOR, A.; MCNUTT, A.; GRASS, G., FREUNDLICH, J.S. Open Source Bayesian Models. 1. Application to ADME/Tox and Drug Discovery Datasets. *Journal of Chemical Information and Modeling*, n. 55, p. 1231 – 1245, 2015.
- [052] DAINA, A. & ZOETE, V. A. BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem*, n. 11, p. 1117 – 1121, 2016.
- [053] Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V.; SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*. 2017.
- [054] De Araújo Neto, L. N.; De Lima, M. C. A.; De Oliveira, J. F.; De Souza, E. R.; Machado, S. E. F.; Lima, G. M. S.; Buonafina, M. D. S.; Brayner, F. A.; Alves, L. C.; Sandes, J. M.; Da Silva, M. V.; De Castro, M. C. A. B.; Neves, R. P.; Mendonça-Junior, F. J. B. Thiophene-thiosemicarbazone derivative (L10) exerts antifungal activity mediated by oxidative stress and apoptosis in *C. albicans*. *Chemico-Biological Interactions*, v. 320, p. 109028, 2020.
- [055] Ertl, P.; Rohde, B.; Selzer, P. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. *J. Med. Chem*, n. 43, p. 3714 – 3717, 2000.
- [056] El-Achkar, G. A.; Jouni, M.; Mrad, M. F.; Hirz, T.; Hachem, N. E.; Khalafe, A.; Hammoud, S.; Fayyad-Kazanf, H.; Eidg, A. A.; Badranh, B.; Merhi, R. A.; Hachem, A.; Hamade, E.; Habib, A. Thiazole derivatives as inhibitors of cyclooxygenases in vitro and in vivo. *European Journal of Pharmacology*, v. 750, n. 5, p. 66-73, 2015.
- [057] Haroon, M.; Dias, M. C. H. B.; Santos, A. C. S.; Pereira, V. R. A.; Barros, L. A.; Balbinot,

R. B.; Kaplum, V.; Nakamura, C. V.; Alves, L. C.; Brayner, F. A.; Leite, A. C. L.; Akhtar, T. The design, synthesis, and *in vitro* trypanocidal and leishmanicidal activities of 1,3-thiazole and 4-thiazolidinone ester derivatives. RSC Advances, v. 11, p. 2487-2500, 2021.

[058] Jacob, Í. T. T.; Gomes, F. O. S.; De Miranda, M. D. S.; De Almeida, S. M. V.; Da Cruz-Filho, I. J.; Peixoto, C. A.; Da Silva, T. G.; Moreira, D. R. M.; De Melo, C. M. L.; De Oliveira, J. F.; De Lima, M. C. A. Anti-inflammatory activity of novel thiosemicarbazone compounds indole-based as COX inhibitors. Pharmacological Reports, v. XX, p. 1-19, 2021.

[059] Jamal, M.; Ahmad, W.; Andleeb, S.; Jalil, F.; Imran, M.; Nawaz, M. A.; Hussain, T.; Ali, M.; Rafiq, M.; Kamil, M. A. Bacterial biofilm and associated infections. Journal of the Chinese Medical Association, n. 81, p. 7-11, 2019.

[060] Johani, k.; Abualsaud, D.; Costa, D. M.; Hu, H.; Whiteley, G.; Deva, A.; Vickery. K. Characterization of microbial community composition, antimicrobial resistance and biofilm on intensive care surfaces. Journal of Infection and Public Health, n. 11, p. 418–424, 2018.

[061] Jones, R.N. Microbiological features of vancomycin in the 21st century: Minimum inhibitory concentration creep, bactericidal/static activity, and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains. Clin. Infect. Dis. 2006.

[062] Kato, H.; Yoshimura, Y.; Suido, Y.; Ide, K.; Sugiyama, Y.; Matsuno, K.; Nakajima, H. Prevalence of, and risk factors for, hematogenous fungal endophthalmitis in patients with Candida bloodstream infection. Infection, n. 46, p. 635–640, 2018.

[063] Khan, S. A.; Kumar, P.; Joshi, R.; Iqbal, P. F.; Saleem, K. Synthesis and *in vitro* antibacterial activity of new steroidal thiosemicarbazone derivatives. European Journal of Medicinal Chemistry, n. 43, p. 2029-2034, 2008.

[064] Khan, S. A.; Asiri, A. M. Multi-step synthesis, spectroscopic studies of biological active steroidal thiosemicarbazones and their palladium (II) complex as macromolecules. International Journal of Biological Macromolecules, n. 107, p. 105–111, 2018.

[065] Lambertucci, C.; Marucci, G.; Ben, D.D.; Buccioni, M. New potent and selective A1 adenosine receptor antagonists as potential tools for the treatment of gastrointestinal diseases. European Journal of Medicinal Chemistry. 151 (2018) 199 – 213.

[066] Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Advanced Drug Delivery Reviews, n. 64, p. 4 – 17, 2012.

[067] Marques, K. M. R.; Do Desterro, M. R. ; De Arruda, S. M.; De-Araújo Neto, L. N. ; De

Lima, M. C. A.; De Almeida, S. M. V.; Silva, E. C. D.; Aquino, T. M.; Silva-Júnior, E. F. S.; Araújo-Júnior, J. X.; Silva, M. M.; Dantas, M. D. A.; Santos, J. C. C.; Figueiredo, I. M.; Bazin, M. A.; Marchand, P.; Da Silva, T. G.; Mendonça-Junior, F. J. B. 5-Nitro-Thiophene-Thiosemicarbazone Derivatives Present Antitumor Activity Mediated by Apoptosis and DNA Intercalation. *Current Topics In Medicinal Chemistry*, v. 19, p. 1-11, 2019.

[068] Moraes, A. D. T. O.; Miranda, M. D. S.; Jacob, I. T. T.; Amorim, C. A. C.; Moura, R. O.; Silva, S. A. S. S. Synthesis, in vitro and in vivo biological evaluation, COX-1/2 inhibition and molecular docking study of indole-N-acylhydrazone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, n. 26, p. 5388 – 5396, 2018.

[069] Mishra, C. B.; Kumari, S.; Tiwari, M. Thiazole: A promising heterocycle for the development of potent CNS active agentes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 92, 6 March 2015, p. 1-34, 2015.

[070] Nalawade, J.; Shinde, A.; Chavan, A.; Patil, S.; Suryavanshi, M.; Prafull, M. M.; Vivek, C.; Bobade, D.; Mhaske, P. C. Synthesis of new thiazolyl-pyrazolyl-1,2,3-triazole derivatives as potential antimicrobial agentes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 179, n. 1, p. 649-659, 2019.

[071] Newby, D.; Freitas, A.A.; Ghafourian, T. Decision trees to characterise the roles of permeability and solubility on the prediction of oral absorption. *European Journal of Medicinal Chemistry*, n. 90, p. 751 – 765, 2015.

[072] Oliveira-Filho, G. B.; Cardoso, M. V. O.; Santos, A. C. S.; Santos, T. A. R.; Gristovão-Silva, A. C.; Rubio, L. G.; Maia Neto, L. S.; Leite, P. G.; Machado, F. S.; Alves, L. C.; Brayner, F. A.; Pereira, V. R. A.; Leite, A. C. L. Structural Design, Synthesis and Anti-Trypanosoma cruzi profile of the second generation of 4-Thiazolidinones chlorine derivatives. *Chemico-Biological Interactions*, v. 01, p. 109514, 2021.

[073] Pang, Z.; Raudonis, R.; Glick, B. R.; Lina, T. J.; Cheng, Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternativen therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*, n. 37, p. 177–192, 2019.

[074] Pereira, P. S.; Lima, m. C. A.; Macelimo-Neto, P. P.; Oliveira-Tintino, C. D. M.; de ; Tintino, S. R.; Menezes, I. R. A.; De Oliveira, J. F.; Marchand, P.; Coutinho, H. D. M.; Rodrigues, M. D.; Da Silva, T. G. Thiazolidinedione and thiazole derivatives potentiate norfloxacin activity against NorA efflux pump over expression in *Staphylococcus aureus* 1199B strains. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 12, p. 1-29, 2019.

- [075] Pires, D. E. V.; Blundell, T.L.; Ascher, D. B. pkCSM: Predicting smallmolecule pharmacokinetic and toxicity properties using graphbased signatures. *J Med Chem*, 2015.
- [076] Rodrigues, B. S.; Ávila, R. I.; Benfica, P. L.; Bringel, L. P.; Oliveira, C. M. A.; Vandresen, F.; Silva, C. C.; Valadares, M. C. 4-Fluorobenzaldehyde limonene-based thiosemicarbazone induces apoptosis in PC-3 human prostate cancer cells. *Life Sciences*, n. 203, p. 141–149, 2018.
- [077] Santana, T. I.; Barbosa, M. O.; Gomes, P. A. T. M.; Cruz, A. C. N.; Silva, T. G.; Leite, A. C. L. Synthesis, anticancer activity and mechanism of action of new thiazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, n. 144, p. 874-886, 2018.
- [078] Sengel, S. B.; Sahiner, N. Poly((Thiazol-2-yl) acrylamide), p(ATA) microgel: Synthesis, characterization and versatile applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, n. 522, p. 272–278, 2017.
- [079] Siqueira, L. R. P.; Gomes, P. A. T. M.; Ferreira, L. P. L.; Rêgo, M. J. B. M.; Leite, A. C. L. Multi-target compounds acting in cancer progression: Focus on thiosemicarbazone, thiazole and thiazolidinone analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 170, n. 15, p. 237-260, 2019.
- [080] Silva, P. R., Oliveira, J. F., Silva, A. L., Queiroz, Camila Marques; Feitosa, A. P. S., Duarte, Denise Maria Figueiredo Araújo, Da Silva, Aline Caroline; De Castro, Maria Carolina Accioly Brelaz ; Pereira, V. R. A. ; Silva, R. M. F. ; Alves, L. C. ; Santos, F. A. B. ; Lima, M. C. A. . Novel indol-3-yl-thiosemicarbazone derivatives: obtaining, evaluation of in vivo leishmanicidal activity and ultrastructural studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 315, p. 108899, 2020.
- [081] Tafvizi, S.; Shariati, P.; Sharifirad, A.; Maleki, B.; Aliakbari, F.; Christiansen, G.; Morshedi, D. Antibiotic hypersensitivity in MRSA induced by special protein aggregates. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 137, n. 15, p. 528-536, 2019.
- [082] Wang, Q.; Hamilton, P. B.; Kang, F.; Zhu, X.; Zhang, Y.; Zhao, H. Regional-scale investigation for microbial competition-through-environment interactions modulating antibiotic resistance. *Science of The Total Environment*, V. 734, 2020.
- [083] Wildman, S. A.; Crippen, G. M. Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* n. 39, p. 868 – 873, 1999.
- [084] Ying, L.; Mingzhu, S.; Mingju, Y.; Ye, X.; Yuechen, W.; Ying, C.; Bing, G.; Hongchun, L.; Zuobin, Z. The inhibition of trans-cinnamaldehyde on the virulence of *Candida albicans* via enhancing farnesol secretion with low potential for the development of resistance. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, n. 515, p. 544-550, 2019.

- [085] Zablotskaya, A.; Segal, I.; Geronikaki, A.; Eremkina, T.; Belyakov, S.; Petrova, M.; Shestakova, I.; Zvejniece, L.; Nikolajeva, V. Synthesis, physicochemical characterization, cytotoxicity, antimicrobial, anti-inflammatory and psychotropic activity of new N-[1,3-(benzo)thiazol-2-yl]- ω -[3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl]alkanamides. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 70, p. 846-856, 2013.
- [086] Zhong, Z.; Zhong, Z.; Xing, R.; Li, P.; Mo, G. The preparation and antioxidant activity of 2-[phenylhydrazine(orhydrazine)-thiosemicarbazone]-chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 47, p. 93–97, 2010.
- [087] Zhikova, Z.; Doytchinova, I. Prediction of Steady-State Volume of Distribution of Acidic Drugs by Quantitative Structure–Pharmacokinetics Relationships. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, n. 101, p. 1253 – 1266, 2012.

REIVINDICAÇÕES

1. DERIVADOS TIAZÓIS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* E *IN VIVO* caracterizada pela obtenção dos derivados de duas séries de tiossemicarbazonas e tiazóis com atividade antimicrobiana, mas especificamente, as moléculas da presente invenção referem-se aos derivados 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol como uma alternativa para o tratamento de infecções bacterianas e fúngicas aplicadas ao tratamento humano e/ou animal com fins de tratamento, profilaxia, paliativa de processos infeccioso por bactérias e fungos

2. DERIVADOS TIAZÓIS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* E *IN VIVO* de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por uma resposta antimicrobiana dos derivados testados, onde os resultados obtidos sugerem uma resposta antibacteriana e antifúngica promissora, como CMI de 12,5, 50 e 12,5 µg/mL para as cepas de *C. albicans* UFPEDA-1007, *C. glabrata* UFPEDA-6393, *C. guilliermondii* UFPEDA-6390 respectivamente, obtendo um resultado superior ao Fluconazol de 16 µg/mL para a cepa *C. albicans* UFPEDA-1007, já os compostos 4 e 12 com CMI de 75 µg/mL para *A. baumannii* UFPEDA-1024, os compostos 11, 12 e 13 com CMI de 75 µg/mL para *S. aureus* UFPEDA-709, todos os compostos tiazóis foram capazes de inibir as de cepas de *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416, com CMI que variaram entre 75 a 37,5 µg/mL, destacando os compostos 4 e 11 com CMI de 37,5 µg/mL para *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e os novamente o 4 e 12 com CMI de 37,5 µg/mL para *P. aeruginosa* UFPEDA-416

3. DERIVADOS TIAZÓIS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* E *IN VIVO*, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizada por uma resposta antimicrobiana dos derivados testados, onde os derivados 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)hidrazina)metil)fenol serem utilizados individualmente ou em combinação com outros agentes antimicrobianos em profilaxia, paliativa, para produção de

preparações farmacêuticas e/ou veterinárias sob a forma de: pós, grânulos, comprimidos, comprimidos revestidos, cápsulas, soluções orais e/ou injetáveis, pomadas, cremes, elixires, xarope, emulsões, suspensões, loções, emplastos, géis, sistemas de liberação controlada como micro e nanocápsulas, micro e nanopartículas, complexos de inclusão, micro e nanoemulsões, lipossomas e hidrogéis, juntamente com um ou mais adjuvantes e/ou veículos

DESENHOS

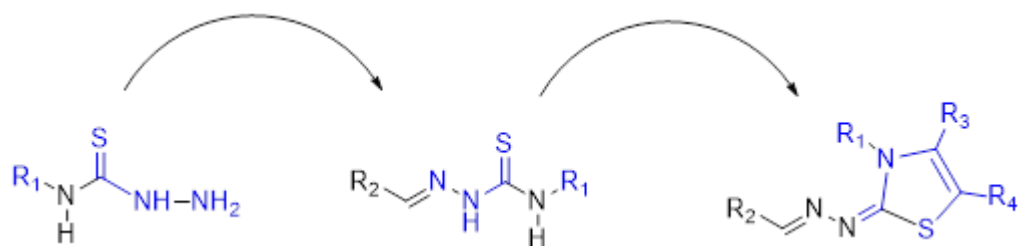


Figura 1

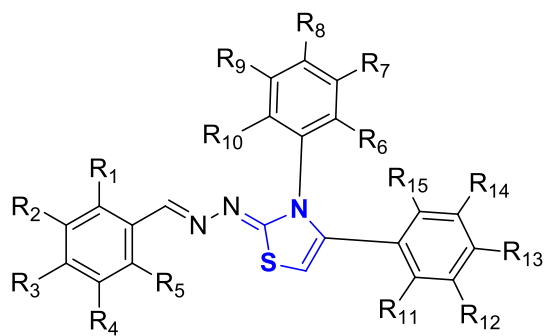


Figura 2

RESUMO**Planejamento, síntese e atividade antimicrobiana de derivados 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol**

A presente invenção se refere a duas séries de tiossemicarbazonas e tiazóis com atividade antimicrobiana. Mas especificamente, as moléculas da presente invenção referem-se aos derivados 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2-(3H)-ilideno)-hidrazina)-metil)-fenol e 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2-(3H)-ilideno)-hidrazina)-metil)-fenol úteis no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas aplicadas ao tratamento humano e animal. Os resultados obtidos sugerem uma resposta antimicrobiana promissora, CMI de 12,5, 50 e 12,5 µg/mL para as cepas de *C. albicans* UFPEDA-1007, *C. glabrata* UFPEDA-6393, *C. guilliermondii* UFPEDA-6390 respectivamente, obtendo um resultado superior ao Fluconazol de 16 µg/mL para a cepa *C. albicans* UFPEDA-1007. Os compostos tiazóis apresentaram resultados obtidos pelos compostos 4 e 12 com CMI de 75 µg/mL para *A. baumannii* UFPEDA-1024. E para a cepa *S. aureus* UFPEDA-709 destacando os compostos 11, 12 e 13 com CMI de 75 µg/mL, superiores a Oxacilina 512 µg/mL para esta cepa. Todos os compostos tiazóis foram capazes de inibir as de cepas de *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416, com CMI que variaram entre 75 a 37,5 µg/mL, destacando os compostos 4 e 11 com CMI de 37,5 µg/mL para *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e os novamente o 4 e 12 com CMI de 37,5 µg/mL para *P. aeruginosa* UFPEDA-416.