



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

PEDRO HENRIQUE DO BOMFIM NASCIMENTO

**NOVOS DERIVADOS DE TIOSSEMICARBAZONAS E TIAZÓIS:
SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE, INTERAÇÕES DNA/BSA E ADME**

RECIFE

2024

PEDRO HENRIQUE DO BOMFIM NASCIMENTO

**NOVOS DERIVADOS DE TIOSSEMICARBAZONAS E TIAZÓIS:
SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE, INTERAÇÕES DNA/BSA E ADME**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de doutor em Inovação Terapêutica. Área de concentração: Desenho, Modelagem Molecular e Preparação de Produtos Bioativos.

Orientador (a): Maria do Carmo Alves de Lima

Coorientador (a): Iranildo José da Cruz Filho

RECIFE

2024

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Nascimento, Pedro Henrique do Bomfim.

Novos derivados de tiossemicarbazonas e tiazóis: síntese, elucidação estrutural e avaliação da atividade antimicrobiana, antioxidante, interações DNA/BSA e ADME / Pedro Henrique do Bomfim Nascimento. - Recife, 2024.

103 f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, 2024.

Orientação: Maria do Carmo Alves de Lima.

Coorientação: Iranildo Jose da Cruz Filho.

Inclui referências e apêndices.

1. Novos fármacos; 2. Tiazóis; 3. Tiossemicarbazonas; 4. Antimicrobianos. I. Lima, Maria do Carmo Alves de. II. Cruz Filho, Iranildo Jose da. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

PEDRO HENRIQUE DO BOMFIM NASCIMENTO

**NOVOS DERIVADOS DE TIOSSEMICARBAZONAS E TIAZÓIS:
SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE, INTERAÇÕES DNA/BSA E ADME**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Inovação Terapêutica. Área de concentração: Desenho, Modelagem Molecular e Preparação de Produtos Bioativos.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Alves de Lima (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^a. Dr^a. Rosali Maria Ferreira da Silva (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Iranildo Jose da Cruz Filho (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^a. Dr^a. Amanda Rafaela Carneiro de Mesquita (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof^a. Dr^a. Anekecia Lauro da Silva (Examinador Externo)
Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF

A minha querida e amada vovó Rita Bomfim (*In memoriam*), por toda a sua dedicação e
oração a todos que amava, desejando sempre sabedoria, saúde e paz.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A minha querida orientadora e mãe científica, Prof^a Dr^a Maria do Carmo (Nena), por todos estes anos de empenho e dedicação, não apenas a mim, mas a todos seus alunos, trabalhando arduamente e com fervor. Seu comprometimento é uma inspiração.

A meu co-orientador Prof^o Dr^o Iranildo Cruz, por todo seu empenho e dedicação na construção deste trabalho.

Aos meus queridos e amados pais Gilson Antônio e Maria de Fátima, por todo amor, carinho, respeito, paciência e dedicação que têm para comigo e por nossa família.

Aos meus avós Gonçalo Bomfim (*In memoriam*) e Rita Bomfim (*In memoriam*), por todo o ensinamento, principalmente em seguir os caminhos de Deus.

A minha irmã Laís Bomfim, por todo seu apoio nos diversos momentos da minha vida e na construção deste trabalho.

A minha melhor amiga, companheira, namorada e esposa Beatriz Coelho por toda a sua paciência, zelo, amor e respeito ao longo destes anos.

Aos meus tios, tias, primos e primas por todo apoio ao longo dos anos, em especial as tias: Rosário Bomfim, Graça Bomfim e Cristiane Bomfim.

A minha querida amiga Keriolaine Lima, por todo companheirismo, conselhos e ensinamentos desde os tempos da graduação.

Aos meus queridos amigos do Misericredo: Paula Roberta, Iris Trindade, Cleberson Soares (Cletinho), Thammyres Pires, Amélia Ribeiro e Suellen Feitosa, por todo companheirismo e ensinamentos aos longos dos anos.

Aos meus queridos amigos de vida, que apesar da distância sempre se fizeram presentes: Itaymara Lima (Mara), Iasmyne Lima (Myne), Marcos Vasconcelos (Marquinhos), Hebert Costa, Isabela Lima, Sandrielle Medeiros (Dyelle), Mayda Isabel, Larissa Maria (Lau).

Aos meus queridos amigos do “Contra”: Vanessa Barbosa, Thalyta Gomes e Elber Belo por todo apoio e por compartilharem diversos momentos da vida.

Os queridos amigos do LQIT por todo apoio, companheirismo e comprometimento, em especial: Diego Marques, Denilson José, Maria Emanuela (Manu), Caroline Avila, Josué Felipe (Felipinho).

A todos os colaboradores deste trabalho, por cada empenho e ensinamento.

A CAPES e ao CNPq, por todo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), são estimadas 700.000 mortes anualmente, podendo chegar a um total de 10 milhões em 2050, devido a infecções por microrganismos multirresistentes. Esse cenário se agrava pela não descoberta de novos fármacos, que possam ser utilizados contra microrganismos. Portanto, o presente trabalho teve por objetivo a síntese de novos candidatos a fármacos, que desempenhem bons aspectos farmacocinéticos e atividades biológicas satisfatórias. Neste sentido foram sintetizadas novas moléculas tiossemicarbazonas e tiazóis, que apresentaram destaques nas atividades *in silico* e *in vitro*. Os compostos apresentaram propriedade moleculares que obedeceram às regras de Lipinski e Veber. Estas moléculas são conhecidas por sua versatilidade nas atividades biológicas, dentre as quais a antioxidante. Foram utilizados dois métodos o 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH) e 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), os tiazóis foram destaques no DPPH com EC_{50} que variaram entre 439,4 a 691,67. Já no ensaio de ABTS, as tiossemicarbazonas destacaram-se com EC_{50} de 39,19 a 50,03. Como citado anteriormente os compostos obedeceram às regras dos estudos de *in silico*. Também foi realizada a interação com a Albumina Humana (HSA), onde todos os derivados apresentaram 100% de hipocromismo no sítio de competição, e com Stern-Volmer (Ksv), que variaram de $3,63 \times 10^4$ a $11,6 \times 10^5$ mol/L, possuindo capacidade de ligação moderada a alta com a HSA. A citotoxicidade dos compostos foi determinada através da técnica do 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina) (MTT). Foram utilizadas as linhagens macrófagos J774, onde as tiossemicarbazonas obtiveram IC_{50} de 41,15 e 61,28 μ M, sendo os compostos menos tóxicos para a linhagem testada. A atividade antimicrobiana foi determinada através das técnicas de concentração mínima inibitória (CIM) e concentração mínima bactericida (CMB) e fungicida (CMF) dos compostos. Nesta atividade, as moléculas testadas foram capazes de inibir o crescimento de cepas como: *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Na atividade antibacteriana pode-se destacar os compostos LQIT/PB-02 que apresentou CIM que variaram de 37,5 a 150 μ g/mL para todas as cepas testadas. Já na atividade antifúngica o composto obteve CIM para *C. albicans* e *C. guilliermondii* de 12,5 μ g/mL. Os resultados obtidos pela novos derivados demonstrassem promissores, tornando-os candidatos a novos fármacos antimicrobianos.

Palavras-chaves: Novos Fármacos; Tiazóis; Tiossemicarbazonas; Antimicrobianos.

ABSTRACT

According to the World Health Organization (WHO), an estimated 700,000 deaths are caused annually, which could reach a total of 10 million by 2050, due to infections caused by multidrug-resistant microorganisms. This scenario is aggravated by the lack of discovery of new drugs that can be used against microorganisms. Therefore, the present study aimed to synthesize new drug candidates that have good pharmacokinetic aspects and satisfactory biological activities. In this sense, new thiosemicarbazone and thiazole molecules were synthesized, which showed outstanding *in silico* and *in vitro* activities. The compounds presented molecular properties that obeyed the Lipinski and Veber rules. These molecules are known for their versatility in biological activities, including antioxidant activity. Two methods were used: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine (DPPH) and 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS). Thiazoles stood out in DPPH with EC₅₀ ranging from 439.4 to 691.67. In the ABTS assay, thiosemicarbazones stood out with EC₅₀ ranging from 39.19 to 50.03. As previously mentioned, the compounds followed the rules of *in silico* studies. The interaction with Human Albumin (HSA) was also performed, where all derivatives showed 100% hypochromism at the competition site, and with Stern-Volmer (K_{sv}), which ranged from 3.63x10⁴ to 11.6x10⁵ mol/L, having moderate to high binding capacity with HSA. The cytotoxicity of the compounds was determined using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazoline bromide (MTT) technique. The J774 macrophage cell lines were used, where the thiosemicarbazones obtained IC₅₀ of 41.15 and 61.28 µM, being the least toxic compounds for the tested cell line. The antimicrobial activity was determined using the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) and fungicidal concentration (MFC) techniques of the compounds. In this activity, the tested molecules were able to inhibit the growth of strains such as: *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. In terms of antibacterial activity, the compounds LQIT/PB-02 stood out, presenting MICs ranging from 37.5 to 150 µg/mL for all strains tested. In terms of antifungal activity, the compound obtained MICs of 12.5 µg/mL for *C. albicans* and *C. guilliermondii*. The results obtained by the new derivatives were promising, making them candidates for new antimicrobial drugs.

Keywords: New Drugs; Thiazoles; Thiosemicarbazones; Antimicrobials.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1	Esquema Geral da obtenção indireta, utilizando aldeídos para formação da tiossemicarbazona.	23
Figura 2	Obtenção do núcleo tiazol.	31
Figura 3	Núcleo Tiazol presente nos fármacos.	32
Figura 4	Atividade antioxidante <i>in vitro</i> para os ensaios de DPPH (A e B) e ABTS (C e D) promovido pelos compostos sintetizados em diferentes concentrações.	58
Figura 5	Espectro de fluorescência da HSA (10 μ M) exposta a diferentes concentrações dos derivados PB-02 e PBT-08.	63
Figura 6	Espectro de fluorescência do controle DNA (30 μ M), DAPI (3 μ M), DAPI+DNA e espectro de fluorescência do derivado PBT-07 + DAPI (3 μ M) + DNA (30 μ M).	65
Figura 7	Espectro de fluorescência do controle DNA (30 μ M), DAPI (3 μ M), LA + DNA e espectro de fluorescência do derivado PBT-04 + LA (3 μ M) + DNA (30 μ M).	68
Figura 8	Curvas de citotoxicidade frente a células de macrófagos J774 promovida pelos compostos sintetizados.	69
Figura 9	Níveis de oxido nítrico produzido pelos macrófagos em contato com os compostos (tiossemicarbazonas e tiazol).	72

LISTAS DE ESQUEMAS

Esquema 1	1ª Etapa de síntese: síntese das tiossemicarbazidas.	35
Esquema 2	2ª etapa de síntese: síntese das tiossemicarbazonas.	36
Esquema 3	3ª Etapa de síntese: síntese dos Tiazóis.	36
Esquema 4	Compostos tiazóis derivados do LQIT/PB-01	37
Esquema 5	Compostos tiazóis derivados do LQIT/PB-02	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultados de Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB) promovida por diferentes compostos tiossemicarbazonas frente a diferentes bactérias.	25
Tabela 2	Resultados de Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Fungicida (CMF) promovida por diferentes compostos tiossemicarbazonas frente a diferentes fungos.	28
Tabela 3	Atividade antimicrobiana dos derivados de tiazol.	33
Tabela 4	Estimativa <i>in silico</i> dos parâmetros farmacocinéticos para as tiossemicarbazonas e tiazóis sintetizados neste estudo determinados pelas plataformas SwissADME e pkCSM.	54
Tabela 5	Resultados de atividade antioxidante <i>in vitro</i> promovidos pelos compostos sintetizados neste estudo para os ensaios de captura de radicais DPPH e ABTS.	59
Tabela 6	Resultados espectroscópicos de interação de albumina humana e os compostos sintetizados.	62
Tabela 7	Resultados de emissão fluorescente do complexo DAPI-ctDNA na presença de compostos.	64
Tabela 8	Resultados de emissão fluorescente do complexo laranja de acridina-ctDNA na presença de compostos.	66
Tabela 9	Resultados de citotoxicidade promovido pelos compostos sintetizados neste estudo frente a células de macrófagos J774.	70
Tabela 10	Concentração inibitória mínima (CMI) e concentração bactericida mínima (CBM) (expressos em $\mu\text{g/mL}$ e μM) para os compostos tiossemicarbazona PB-01 e seus tiazóis correspondentes PBT-01 a PBT-05.	75
Tabela 11	Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) (expressos em $\mu\text{g/mL}$ e μM respectivamente) do composto tiossemicarbazona PB-02 e seus tiazóis correspondentes PBT-06 ao PBT-10.	76
Tabela 12	Atividade antifúngica promovida pelos compostos sintetizados frente a diferentes espécies de leveduras. os resultados de concentração inibitória mínima e concentração fungicida mínima foram expressos em $\mu\text{g/mL}$ e μM , respectivamente.	78

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	FUNDAMENTAÇÃO TEORICA	18
3.1	RESISTENCIA MICROBIANA	18
3.2	MECANISMOS DE RESISTÊNCIA E VIRULÊNCIA MICROBIANA	20
3.3	TIOSSEMICARBAZONAS	23
3.3.1	Tiossemicarbazonas com atividade antimicrobiana	24
3.4	THIAZOL	30
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	ESTUDO QUÍMICO	35
4.1.1	Síntese dos compostos	35
4.1.2	Análises físico-químicas dos novos derivados	38
4.1.3	Caracterizações estruturais dos novos derivados	38
4.2	ESTUDO <i>IN SILICO</i>	38
4.2.1	Estudo de avaliação <i>in silico</i> dos parâmetros farmacocinéticos teóricos: absorção, distribuição, metabolização e excreção (ADME)	38
4.3	ESTUDO BIOLOGICO	39
4.3.1	Atividade Antioxidante	39
4.3.1.1	Método de captura dos radicais DPPH	39
4.3.1.2	Método de captura dos radicais ABTS	40
4.3.2	Interação dos novos derivados com a Albumina Humana (HSA)	40
4.3.3	Interação com o DNA	41
4.3.3.1	Solução do ssDNA	41
4.3.3.2	Espectroscopia de emissão fluorescente com sondas e DNA	42
4.3.4	Ensaio de citotoxicidade em células de macrófagos J774. e produção de óxido nítrico	43
4.3.5	Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> promovidos pelos compostos	44
4.3.5.1	Microrganismos	44
4.3.5.2	Compostos e antimicrobianos	44

4.3.5.3	Padronização do inóculo	45
4.3.5.4	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)	45
4.3.5.5	Concentração Bactericida e Fungicida Mínima (CBM/CFM)	46
4.3.6	Análise estatística	46
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1	COMPOSTOS QUÍMICOS	47
5.1.1	Resultados das características físico-químicas e caracterização estrutural	47
5.2	AVALIAÇÃO <i>IN SÍLICO</i> DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS TEÓRICOS: ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLIZAÇÃO E EXCREÇÃO (ADME)	53
5.3	ATIVIDADE BIOLÓGICA	57
5.3.1	Atividade Antioxidante	57
5.3.2	Estudos De Interação Com o DNA	61
5.3.2.1	Estudos de interação com a HSA	61
5.3.2.2	Estudos Fluorescentes com a sonda DAPI	63
5.3.2.3	Estudos fluorescentes com a sonda laranja de acridina (LA)	66
5.3.3	Avaliação da citotoxicidade promovida pelos compostos frente a células de macrófagos J774	68
5.3.4	Atividade Antimicrobiana	72
6	CONCLUSÃO	81
7	REFERÊNCIAS	82
8	APÊNDICES	100
	APÊNDICES A – INTERAÇÃO DOS COMPOSTOS COM A HSA	100
	APÊNDICES B – CURVAS DE INTERAÇÃO DOS COMPOSTOS COM AS SONDAS DAPI	101
	APÊNDICES C - - CURVAS DE INTERAÇÃO DOS COMPOSTOS COM AS SONDAS LA	102

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas é crescente a dificuldade no tratamento de infecções microbianas, devido ao aparecimento da resistência a diversas classes de compostos antimicrobianos. A resistência microbiana torna-se uma problemática, pois ameaça à saúde pública. Tal característica nos microrganismos vem sendo impulsionada pelo uso inadequado de medicamentos antimicrobianos ao longo dos anos, sendo estes utilizados na saúde humana e animal (Wang, Q. et al., 2020). Segundo Vila-Costa et al. (2017), a resistência microbiana pode estar atrelada a diversos mecanismos desenvolvidos por estes organismos como: Transferências de genes de célula para outra; Degradação da estrutura química auxiliada de enzimas específicas produzida pela célula; E ativação de bombas de efluxo de membrana.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) destaca a importância da vigilância e o desenvolvimento de alternativas que possam combater as cepas resistentes, uma vez que estes microrganismos são uma problemática sem igual, levando a milhares de mortes ao ano (Murray, et al., 2022). A OMS colocou algumas espécies de microrganismos patogênicos como prioridade crítica para a pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novas alternativas terapêuticas, dentre as quais estão *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*. Estas bactérias representam a alta incidência de resistência microbiana, o que vem preocupando diversos pesquisadores, onde poucas drogas são capazes de combatê-las e novas drogas eficazes não estão surgindo (Coates, et al., 2019).

A descoberta de novos fármacos passa por diversas etapas dentre as quais o planejamento e síntese encontram-se no início do processo e estudos pré-clínicos *in vitro* corroboram com sua eficácia. As tiossemicarbazonas são um grupo de moléculas que apresentam diversas atividades biológicas e que são utilizadas como protótipos a novos fármacos na química medicinal. Os grupos presentes nas estruturas das tiossemicarbazonas (OH, NH e CN) contribuem para a estabilização de interações polares entre os inibidores e resíduos de aminoácidos, no canal de acesso das enzimas biológicas (Leigh et al., 2011).

Sibuh et al. (2021) destacam que devido à sua estrutura privilegiada, as tiossemicarbazonas apresentam boa disponibilidade de modos de ligação, excelente complexação e variedade de modos de coordenação com o ácido desoxirribonucleico (DNA), demonstrando ser um alvo de interesse para novos protótipos de tiossemicarbazonas. Esta classe de moléculas vem sendo bastante relatadas, por desempenharem diversas atividades biológicas, tais como: Antimicrobiana (Ezzat, et al., 2022), antioxidante (Eğlence-Bakir, et al., 2021), antiparasitária (Silva, et al., 2021), anticancerígena (Sibuh, et al., 2021).

Apesar das tiossemicarbazonas apresentarem grande potencial de atividades biológicas, elas também são utilizadas como intermediários reativos para a formação de anéis heterocíclicos como as: tiazolidinas, tiazolidiononas e tiazol (Mishra, Kumari & Tiwari, 2015). Os compostos heterocíclicos desempenham um papel crucial nos sistemas biológico, além de estarem presentes em grande diversidade de candidatos a fármacos como características antimicrobianas, anti-tumoral, anti-inflamatório, antiviral, antimicrobiano, antifúngico e antidiabético (Manjal, et al., 2017).

Babu et al. (2019) compreendem que os compostos heterocíclicos azóis são importantes construções químicas para o desenvolvimento e melhoramento de compostos bioativos, destacando o núcleo tiazol, como componente importante de fármacos utilizados na clínica, desempenhando uma ampla versatilidade de atribuições biológicas. 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).

Este núcleo apresenta diversas atividades biológicas descritas na literatura tais como: antimicrobiana (Sengel & Sahiner, 2017), anti-inflamatória (Nalawade, et al., 2019), antioxidante (Pund, et al., 2022), anticâncer (Oliveira, et al., 2021). Compostos tiazóis derivados das tiossemicarbazonas possuem em sua estrutura as bases de Schiff ($-C=N-$), que são encontradas em muitos compostos ativos devido às suas atividades fisiológicas e farmacológicas. Nestes compostos, o grupo corrobora com desempenho em atividades biológicas como as antibacterianas e antifúngicas (Ayati, et al., 2015), demonstrando uma forte interação e inibição das proteínas citoplasmáticas (Alves, et al., 2021; Aggarwal, et al., 2022).

Com base nestas observações, o presente trabalho tem objetivo de demonstrar o potencial dos derivados novos de tiossemicarbazonas (4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol) e tiazóis (4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol) frente às atividades *in silico*: Absorção, Distribuição, Metabolização e Excreção (ADME) e *in vitro*: Intercalação com DNA e HSA; Antioxidante; Citotoxicidade frente a uma linhagem de macrófagos; e Atividade antimicrobiana.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar as atividades *in silico* e *in vitro* de novos derivados de tiossemicarbazonas e tiazóis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os compostos tiossemicarbazonas e novos derivados tiazóis;
- Avaliar os parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos (ADME) *in silico*;
- Avaliar as características citotóxicas e a produção de óxido nítrico (NO) *in vitro* frente a linhagem J774 de macrófagos;
- Determinar o perfil antioxidante *in vitro* dos novos derivados utilizando o método de capturas de radicais livres por DPPH e ABTS;
- Avaliar a interação *in vitro* dos derivados com a Albumina Humana (HSA) e DNA através da emissão de fluorescência;
- Determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos novos derivados frente a cepas fúngicas e cepas bacterianas.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

3.1 RESISTENCIA MICROBIANA

Por muitos anos, as infecções microbianas eram a maior e principal causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo, a população apresentava expectativa de vida entre 4 a 5 décadas, onde doenças infecciosas menores frequentemente progrediam para quadros de sepse e posteriormente morte (Dhingra et al., 2020). A descoberta da penicilina em 1928 por Alexander Fleming revolucionou o tratamento de diversas infecções, reduzindo as taxas de mortalidade ao longo dos anos em 25–30% para pneumonia adquirida na comunidade e associada aos cuidados de saúde, 75% para endocardite, 60% para infecções meníngeas ou cerebrais e 11% para celulite (Dhingra et al., 2020; Kamat & Kumari, 2023).

Apesar de sua eficácia, frente a diversas cepas bacterianas, os antimicrobianos veem apresentando falhas nos tratamentos, devido a crescente resistência microbiana, que foi impulsionada pelo uso inadequado e exacerbado dos antibióticos (Khoshgoftar et al., 2021). A resistência aos antibióticos é, portanto, uma ameaça mundial, especialmente em países em desenvolvimento com uma alta densidade populacional, onde o uso responsável e prudente dos antimicrobianos não apresentam controles (Puvača, et al., 2023).

Com o advento da pandemia da COVID-19 a resistência microbiana intensificou:

“A pandemia de COVID-19 exacerbou o problema e acelerou a transmissão e o surgimento de cepas multirresistentes como: Acinetobacter spp. e Enterobacterales resistentes a carbapenênicos em hospitais durante a pandemia. Embora as razões subjacentes a esses aumentos sejam mal compreendidas, a prescrição inadequada de antibióticos no início da pandemia e o fato de que o atendimento de pacientes muito doentes com COVID-19 em hospitais exigiu o uso prolongado de ventiladores e cateteres, frequentemente associado ao aumento do uso de antibióticos, podem ser fatores contribuintes.”
(Abbas et al., 2024).

O uso constante dos antimicrobianos tem levado ao surgimento de resistência por parte das bactérias, através do processo de seleção natural, ocasionado pela pressão exercida pelo uso exagerado de antibióticos (Hou et al., 2023). Tal uso é observado não apenas na clínica humana, mas na pecuária, que por vezes são aplicadas doses em excesso nos animais, sendo compostos de fácil eliminação (através das fezes e urina), acabam contaminando regiões

próximas da criação (Chiş et al., 2021), tornando-se contaminantes recorrentes do solo e ambientes aquáticos (Liu et al., 2024).

Segundo Hiller et al. (2019) a pressão seletiva é uma das características que podem levar a resistência microbiana, que dentre elas os microrganismos podem apresentar mecanismos intrínsecos e extrínsecos. Os fatores intrínsecos de resistência podem envolver mecanismos de degradação dos antimicrobianos, por enzimas existentes na célula (Vila-Costa et al., 2017), ou ainda remoção física intracelular das estruturas antibióticas pela ativação de bombas de efluxo de membrana (Kamat & Kumari, 2023), como ocorre em cepas de *A. baumannii*.

Liu et al. (2019) afirmam que a resistência microbiana pode surgir de forma natural, através de mutações espontâneas, modificando os genes que podem contribuir com processos de eliminação dos compostos nocivos ao corpo celular. Genes de resistência microbiana podem ser adquiridos através de mecanismos de transferências laterais de genes, que envolve a conjugação ou transformação (Ferraro et al., 2024). Em *P. aeruginosa*, a maior taxa de resistência as fluoroquinolonas ocorrem através de genes adquiridos, que levam a modificação das subunidades enzimáticas (Azam & Khan, 2019).

A literatura aponta para uma possível era pós-antibiótica, onde os antimicrobianos seriam inúteis para tratar infecções por patógenos multirresistentes (Sugden & Davies, 2016). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) são estimadas 700.000 mortes anualmente, podendo chegar a um total de 10 milhões em 2050, devido a infecções por microrganismos multirresistentes (Hou et al., 2023). Esse cenário se agrava pela não descoberta de novos fármacos, que possam ser utilizados contra estes microrganismos.

A OMS elencou um grupo de microrganismos de alta periculosidade e necessidade de monitoramento, dentre esse grupo encontram-se espécies de: *Acinetobacter Baumani*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), como bactérias que apresentam múltiplos mecanismos de resistência e alta virulência (Aurilio et al., 2022). Estas bactérias vêm causando muitos danos a pacientes hospitalizados, sendo as principais causas de doenças infecciosas nosocomiais duradouras e letais (Tafvizi et al., 2019).

A cada ano, milhões de pacientes, em todo o mundo, são internados em unidades de terapia intensiva (UTIs), este ambiente hospitalar é frequentemente chamado de epicentro de infecções oportunistas e da propagação de microrganismos (Johani et al., 2018). Segundo o Boletim Epidemiológico (2024) da Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente (Ministério

da Saúde, Brasil) devido ao impacto econômico e social do país existe um aumento do tempo de internação, pelo custo e complexidade dos tratamentos frente a microrganismos multirresistentes.

Ainda segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente (2024) as infecções bacterianas prolongadas veem gerando preocupação por surgimento de quadros de infecção simultâneas por fungos oportunistas. Segundo Kato et al. (2018) o uso prolongado dos antimicrobianos podem gerar a aberturas para a colonização por 20 espécies de leveduras, dentre elas: *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*. No Brasil a infecção por *Candida auris* vem sendo descrita como a coinfeção principal em pacientes críticos (adultos e crianças) internados nas UTIs, sendo em patógeno fungo emergente e resistente a diversos antifungos (Borges & Nascimento, 2021).

De acordo com a OMS a resistência é um problema que ameaça a saúde pública, devido ao surgimento de bactérias e fungos resistentes aos antimicrobianos convencionais, portanto, a pesquisa e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas tornam-se necessária. Com intuito de desenvolver novos antimicrobianos, várias abordagens de pesquisa têm buscado maneiras de resolver a crise de antibióticos. Produtos naturais extraídos de plantas e microrganismos (Da Silva et al., 2017), fototerapia (Dharmaratne et al., 2020), uso de probióticos (Nataraj et al., 2021) e moléculas orgânica sintéticas (Quin et al., 2020), estão entre as principais apostas.

3.2 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA E VIRULÊNCIA MICROBIANA

Os microrganismos apresentam diversos mecanismos que corroboram com a degradação, inativação e/ou expulsão das estruturas químicas dos antimicrobianos. De acordo com Kamat & Kumari (2023) existem fatores celulares intrínsecos e extrínsecos das espécies microbianas que estão relacionados com a resistência algumas classes de antimicrobianos. Wang et al. (2020) relatam que bactérias gram-negativas da família *Enterobacteriaceae* são naturalmente resistentes aos β -lactâmicos, e dependendo de sua localização no globo podem apresentar resistência a outras classes de antibióticos.

Em bactérias gram-positivas a resistência foi impulsionada por pressão seletiva, onde diversos genes de resistência foram criados e disseminados em *Staphylococcus spp.*, apresentando resistência a diversas classes de antibióticos como antibióticos tetraciclina, macrolídeos, lincosamidas, estreptograminas, fenicóis, aminoglicosídeos, pleuromutilinas, oxazolidinonas, diaminopirimidinas, sulfonamidas, entre outros (Feßler et al., 2018). Nas

leveduras mecanismos de virulência, como a superexpressão de bombas de efluxo em isolados clínicos de *Candida spp.*, contribuem diretamente para a resistência aos antifúngicos (Lo et al., 2015).

Candida glabrata é uma das espécies as quais apresentam resistência intrínseca aos azóis e as equinocandinas (Farmakiotis & Kontoyiannis, 2017). De acordo com Santos & Ishida (2023) a resistência intrínseca aos azóis também estão presentes em cepas de *Candida Krusei* e *Candida auris*, esta última cepa gera uma alerta por apresenta múltipla resistência a diversos antifúngicos e por ser resistente no ambiente hospitalar, levando a diversos casos de infecção.

Em *P. aeruginosa* existem diversos fatores que corroboram com a sua capacidade de driblar os antibióticos, Azam & Khan (2019) destacam a resistência intrínseca da cepa *aeruginosa* que envolve mecanismos de diminuição da permeabilidade de membrana externa, expressão de bombas de efluxo e produção de enzimas inativadoras de antibióticos. Segundo Pang et al. (2019) *P. aeruginosa* apresentam mecanismos adquiridos e adaptativos que podem incluir: mutações cromossômicas nos genes que codificam as subunidades das enzimas DNA girasse e topoisomerase IV; fatores ambientais (choque térmico, deficiências nutricionais, anaerobiose, níveis de cátions).

Em *S. aureus* diversos mecanismos podem auxiliar sua resistência, dentre eles mecanismos intrínsecos e adaptativos como: a limitação da absorção do fármaco, modificação do alvo do fármaco, inativação enzimática do fármaco e efluxo ativo do fármaco (Yilmaz & Aslanta, 2017). *Staphylococcus spp.* têm como principais mecanismos a hidrólise enzimática e bombas de efluxo de membrana (Pajares-Chamorro et al., 2019). Segundo Maleki et al. (2020) *Staphylococcus spp.* apresentam virulência acentuada, destacando sua alta capacidade de colonização de tecidos com auxílio de adesinas, liberação de toxinas, capacidade de hemólise e formação do biofilme.

Outro microrganismo que possuir alta capacidade de colonização de superfícies bióticas e abióticas é *A. baumannii*, conforme Rahbar et al. (2019) esta capacidade está relacionada a adesinas, proteínas que auxiliam na ligação bactéria-superfície, tal característica cooperam para a formação de biofilmes na superfície celular do hospedeiro infectado, bem como na sua permanência nas superfícies no ambiente hospitalar. Segundo Xu, et al. (2019) *A. baumannii* apresenta um ótimo sistema de bomba de efluxo, composto por 3 tipos de proteínas que apresentam um perfil de substrato amplo podendo diminuir a suscetibilidade aos aminoglicosídeos, tetraciclinas, eritromicina, cloranfenicol, trimetoprim, fluoroquinolonas e alguns β -lactâmicos.

O Ministério da Saúde (Brasil, 2024) demonstram que *P. aeruginosa* e *A. baumannii* são espécies que possuem altas capacidades infecciosas, apresentando diversos mecanismos de virulência e genes de resistência adquiridos, que levam a resistência a carbapenêmicos. Ainda de acordo com o Ministério da Saúde estas cepas precisam ser investigadas e combatidas nos próximos anos, ocorrendo assim sua diminuição nos ambientes hospitalares, e evitando a propagação de genes as diversas classes de antibióticos de uso comum do Brasil.

Outro microrganismo que vem causando alerta das autoridades sanitárias do Brasil é *C. auris*. *Candida spp.* apresentam diversos mecanismos de virulência tais como: capacidade de aderir a células epiteliais bucais humanas e células endoteliais, a transição levedura para pseudo-hifas, a produção de enzimas hidrolíticas extracelulares, formação de biofilme e a capacidade de evitar o ataque de células do sistema imunológico (Pinto et al., 2019). Dentre as espécies de *Candida*, *C. auris* apresenta o maior fator contribuinte para a virulência de que as aspartil proteinases secretadas (SAPS):

“Essas enzimas têm sido implicadas em muitas funções como adesão, formação de biofilme, formação de parede celular e degradação do tecido hospedeiro. Também foi demonstrado que as SAPS são proteínas resistentes a temperaturas de 42° C, regulam negativamente o sistema imune e evitam as respostas inflamatórias do hospedeiro.” (WATKINS, et al., 2022)

Segundo Łukowska-Chojnacka, et al. (2019) destacam que para evitar a resistência de cepas microbianas novos candidatos a fármacos devem ser introduzidos, contendo características químicas que diferem daquelas dos medicamentos atuais, principalmente apresentando biodisponibilidade acessível, baixas interações medicamentosas adversas e que consigam driblar os principais mecanismos de defesa das células microbianas.

3.3 TIOSSEMICARBAZONAS

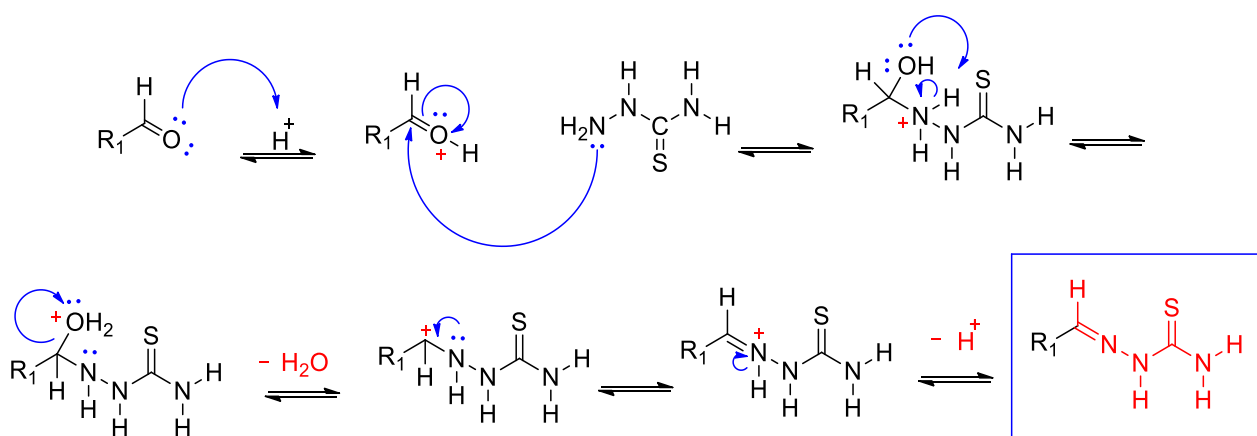
As Tiossemicarbazonas são uma classe de compostos orgânicos conhecidos por seus efeitos químicos e biológicos, amplamente estudados na farmacologia por suas capacidades antitumorais, antibacterianas e antivirais. Esta classe de moléculas é constituída pela presença de heteroátomos de nitrogênio e enxofre, das quais se destacam as porções hidrazônica (HC=N-NH-) e tioamida (S=C-N-) por suas interações com meios biológicos.

As tiossemicarbazonas podem ser obtidas de duas principais formas: Direta - pela reação quimiosseletiva de aldeídos e/ou cetonas com as tiossemicarbazidas, e obtenção

Indireta - através da preparação prévia das tiossemicarbazidas, utilizando hidrazina ($\text{NH}_2\text{-NH}_2$), seguida de condensação com os derivados carbonilados (Tenório, et al., 2005).

A reação necessita de um catalisador, podendo ser um ácido orgânico ou inorgânico. Posteriormente acontece um ataque nucleofílico dos pares de elétrons do nitrogênio da extremidade da tiossemicarbazida, ao carbono parcialmente positivo da carbonila formando um hemiaminal protonado e uma rápida transferência do próton do nitrogênio para o oxigênio, fenômeno denominado prototropismo (Pedrosa, 2017). Após a água é liberada ao meio reacional, formando um carbocátion que é estabilizado com a migração dos pares de elétrons do nitrogênio vizinho formando uma ligação pi, deixando o mesmo instável, ocorrendo assim a liberação do próton estabilizando a molécula e formando os intermediários tiossemicarbazonas (Figura 1).

Figura 1 – Esquema Geral da obtenção indireta, utilizando aldeídos para formação da tiossemicarbazona.



Fonte: Autor, 2024.

As tiossemicarbazonas são compostos de fácil obtenção e que apresentam perfil farmacológico amplo, devido as suas fortes interações moleculares com os meios biológicos. Segundo Leigh et al. (2011) os grupos -NH e -CN contribuem diretamente para estabilização de interações polares com os aminoácidos presentes nas enzimas biológicas, além de serem específicas para seus alvos. Estas moléculas são conhecidas por formar complexos metálicos, o que torna suas atividades mais promissoras, pois podem coordenar os metais das enzimas biológicas a formar complexos levando assim a sua falha (Beraldo, 2004).

As bases de Schiff (CH=N-) também estão presentes na estrutura das tiossemicarbazonas e são conhecidas na literatura por promover diversas atividades biológicas, tais como antifúngica e anticancerígenas, bem como promover uma ponte para a

transmissão de efeitos eletrônicos entre os grupos que estão próximos a sua região na molécula (Esteves-Souza et al., 2004). Segundo Ayati et al. (2015) moléculas que apresentam as bases de Schiff apresentam atividades biológica diversa, pois esta região contribui diretamente para a estabilização da porção da molécula no momento das interações com os meios biológicos.

Compostos de tiossemicarbazonas têm mostrado resultados promissores em testes contra microrganismos multirresistentes. Hassan et al (2020) demonstrou a atividade desses fragmentos bioativos contra cepas de MRSA. Liu et al (2022) estudou a eficiência de derivados tiossemicarbazonas em inibir cepas produtoras de metallo- β -lactamases, enzimas responsáveis por conferir múltiplas resistências a antibióticos, com destaque para o composto 2^a, que foi capaz de inibir *Klebsiella Penumoniae* resistente a Carbapenêmicos (KPC), uma das bactérias multirresistentes mais difíceis de se tratar.

Podemos observar que as tiossemicarbazonas possuem estruturas que acarretam em bons efeitos biológicos e na seletividade da atividade no meio biológico. Esta classe pode ser uma ótima alternativa para os combate das doenças negligenciadas, corroborando com a pesquisa e desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da: esquistossome, leishmaniose e tripanossomíase, doenças que segunda a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) necessitam esforços e atenção para evitar a sua propagação (OPAS, 2022).

3.3.1 Tiossemicarbazonas com atividade antimicrobiana

As tiossemicarbazonas são descritas como potenciais agentes antimicrobianos *in vitro* (GULEA et al. 2012; TROTSKO et al. 2020). Esta potencialidade está diretamente relacionada a estrutura química desses compostos (ABDOLHI et al. 2019; GRAUR et al. 2022). Sendo assim, a Tabela 1 apresenta os resultados de atividade antibacteriana promovida por diferentes compostos tiossemicarbazonas. Os valores foram expressos Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB).

Tabela 1 - Resultados de Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB) promovida por diferentes compostos tiossemicarbazonas frente a diferentes bactérias.

Compostos	Resultados	Referências
Tiossemicarbazonas	Os compostos apresentaram CMI variando de 0,1 a > 0,1 mg/mL frente aos microrganismos <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> , respectivamente.	SHEIKHY et al. (2012)
Compostos de coordenação de cobre com 2-formilpiridina 4-(dimetilfenil)tiossemicarbazonas	Os compostos apresentaram CMI e CMB variando de 0,009 a > 300 µg/mL para <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Shigela sonnei</i> . CMI de 0,009 a > 300 µg/mL e CMB de 0,018 a > 300 µg/mL para <i>Bacillus cereus</i> . CMI e CMB variando de 9,37 a > 300 µg/mL para <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella abony</i> .	GULEA et al. (2012)
Complexos metálicos com tiossemicarbazonas	Os resultados mostraram que os complexos apresentaram para <i>Escherichia coli</i> valores de CMI e CMB > 600 µg/mL. Para <i>Salmonella aboni</i> valores CMI variando de 1,5 a > 600 µg/mL e CMB variando de 6,0 a > 600 µg/mL. <i>Staphylococcus aureus</i> CMI variando de 3,0 a > 600 µg/mL e CMB variando de 1,5 a > 600 µg/mL. Por fim, <i>Bacillus cereus</i> onde os compostos apresentaram a mesma faixa de CMI e CMB 1,5 a > 600 µg/mL.	PAHONTU et al. (2015)
Compostos 1-(4-Metoxibenzaldeído)-4-Metiltiossemicarbazona	Os compostos apresentaram valores de CMI e CMB de 64 e 128 µg/mL para <i>Salmonella typhi</i> (ATCC 6539), <i>Salmonella paratyphi</i> e <i>Salmonella typhimurium</i> . Em relação as cepas <i>Salmonella typhi</i> e <i>Salmonella paratyphi</i> , apresentaram CMI de 128 µg/mL e não apresentaram CMB.	MBAH et al. (2017)

Complexos de Hg(II) e Zn(II) de bis(tiossemicarbazona) acenaftenequinona	O composto mais ativo apresentou os seguintes CMI/CMB para os microrganismos <i>Staphylococcus aureus</i> (20,8/83 µg/mL), <i>Staphylococcus epidermidis</i> (20,8 µg/mL), <i>Enterococcus faecalis</i> (166,5/ > 166,5 µg/mL), <i>E. coli</i> (166,5/166,5 µg/mL), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (166,5/166,5 µg/mL), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (41,6/83 µg/mL), <i>Enterobacter aerogenes</i> (166,5/>166,5 µg/mL), <i>Proteus mirabilis</i> (166,5/> 166,5 µg/mL), <i>Acinetobacter baumannii</i> (>166,5/> 166,5 µg/mL)	ABDOLHI et al. (2019)
Tiossemicarbazonas à base de isatina	Os resultados mostraram que todos os compostos apresentaram o mesmo valor de CMI (70 µg/mL) e CMB (80 µg/mL) para <i>Staphylococcus aureus</i> . Apresentaram CMI de 70 µg/mL para <i>Staphylococcus epidermidis</i> e não apresentaram valores de CMB. Para <i>Escherichia coli</i> os compostos apresentaram o mesmo valor de CMI (80 µg/mL) e CMB (80 µg/mL). Frente a espécies de <i>Salmonella</i> CMI variando de 50 a 70 µg/mL e CMB variando de 80 a > 100µg/mL. <i>Bacillus cereus</i> todos os compostos apresentaram o mesmo CMI (80µg/mL) e CMB (80µg/mL). <i>Enterobacter faecalis</i> todos apresentaram CMI de 70 µg/mL e não apresentaram CMB. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CMI variando de 70 a 80 µg/mL e CMB com valores de 80 a >100 µg/mL. <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA CMI de 70 µg/mL para todos os compostos e CMB valores variando de 80 a >100 µg/mL.	HASSAN et al. (2020)
Tiossemicarbazonas de 3-acetilcumarinas substituídas	Os compostos apresentaram valores de CMI que variaram de 12,5 a > 100 µM para	TOAN et al. (2020)

com fração d -glicose	<i>Bacillus subtilis</i> . 0,78 a > 100 µM para <i>Staphylococcus aureus</i> . 1,56 a >100 µM para <i>Staphylococcus epidermidis</i> . <i>Escherichia coli</i> CMI variando de 1,56 a 100 µM. <i>Klebsiella pneumoniae</i> CMI variando de 1,56 a 100 µM. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CMI variando de 1,56 a 50 µM. <i>Salmonella paratyphi</i> CMI variando de 3,15 a > 100 µM.	
Compostos de tiosemicarbazona à base de tiazolidina-2,4-diona	As Tiosemicarbazonas 4-aril substituídas apresentaram CMI variando de 2,0 a 64 µg/mL, não apresentaram CMB frente a espécie <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Já os compostos 4-Tiosemicarbazonas não substituídas apresentaram CMI variando de 0,031 a 4,0 µg/mL e CMB variando de 0,063 a 0,25 µg/mL frente ao mesmo microrganismo.	TROTSKO et al. (2020)
Complexos Cu(II) e Bi(III) baseados em íons aminopolicarboxilato e 2-formil e 2-acetilpiridina tiosemicarbazonas	Os resultados demonstraram que a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> foi a mais suscetível aos compostos considerados. Nesse caso, os valores de CMI e CMB variaram de 0,001 a 0,5 mg/mL, indicando alta a moderada atividade dos compostos.	NEGUTA et al. (2021)
Complexos metálicos tiosemicarbazonas	De acordo com os resultados, em muitos casos, o CMI dos compostos sintetizados coincide com o CMB (31,25 µg/mL), o que confirma a atividade antimicrobiana bactericida do ligante e seus compostos de coordenação relacionados.	KHEIRKHAHI, SHAABANI, SAMADI KAFIL (2021)
Complexo de bismuto de quinolina tiosemicarbazona	os compostos apresentaram CMI variando de 62,5 a > 250 µM frente a espécie <i>Klebsiella pneumoniae</i> NDM-1	SCACCAGLIA et al. (2022)
complexos de cobre, níquel, cobalto e zinco com 2-	Os compostos apresentaram CMI variando de 0,122 a 62,5 µg/mL e CMB de 0,244 a 125	GRAUR et al.

formilpiridina aliltiossemicarbazona	N4-	µg/mL para <i>Staphylococcus epidermidis</i> . Para <i>Escherichia coli</i> CMI de 1,95 a 1000 µg/mL e CMB de 3,91 a 500 µg/mL respectivamente.	(2022)
Tiossemicarbazona dihidroxifenil substituída		Os compostos apresentaram CMI variando de 8 a 128 µg/mL para cepas de <i>E.coli</i> e <i>K. Pneumoniae</i> sensíveis e multirresistentes	LIU et al (2022)

Fonte: autor, 2024.

Esses resultados mostram os quanto promissores são os compostos tiossemicarbazonas frente a diferentes espécies de bactérias. Além do estudo relacionado a atividade antibacteriana desses compostos, será também apresentado resultados relacionados a atividade antifúngica promovida por diferentes compostos tiossemicarbazonas.

A Tabela 2 apresenta os resultados de atividade antibacteriana promovida por diferentes compostos tiossemicarbazonas. Os valores foram expressos Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Fungicida (CMF).

Tabela 2 - Resultados de Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Fungicida (CMF) promovida por diferentes compostos tiossemicarbazonas frente a diferentes fungos.

Compostos	Resultados	Referências
Tiossemicarbazonas derivadas de piridina e seus complexos de estanho (IV)	Os compostos apresentaram CMI variando de 3,21 a >907,3 µg/mL frente a espécie <i>Candida glabrata</i> . Para os demais microrganismos <i>Candida albicans</i> , <i>Candida krusei</i> , e <i>Candida parapsilosis</i> apresentaram o mesmo CMI variando de 6,34 a >907,3 µg/mL.	PARRILHA et al. (2011)
Complexos metálicos com tiossemicarbazonas	Os compostos apresentaram CMI variando de 1,4 a > 600 µg/mL e CMF variando de 1,5 a > 600 µg/mL frente a espécie <i>Candida albicans</i> .	PAHONTU et al. (2015)
	Os compostos apresentaram CMI variando de 125 a 250 µg/mL frente a espécie	

Tiossemicarbazonas substituídos com naftaleno	<i>Candida glabrata</i> . Para os demais microrganismos <i>Candida albicans</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Candida zeylanoides</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> e <i>Fusarium solani</i> apresentaram CMI de 250 µg/mL para todos os compostos.	ALTINTOP et al. (2016)
Isatina N- (2,3,4,6-tetra- O - acetil-β- d- glucopiranosil) - tiossemicarbazonas substituídas	Os compostos apresentaram CMI variando de 3,12 a 200 µM para <i>Aspergillus niger</i> , 6,25 a 400 µM para <i>Candida albicans</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Por fim, CMI variando de 6,25 a 200 para a espécie <i>Fusarium oxysporum</i> .	THANH et al. (2016)
Tiossemicarbazonas	Os compostos apresentaram CMI de 400 µg/mL <i>Candida albicans</i> e <i>Candida glabrata</i> . E CMI de 200 µg/mL para <i>Candida krusei</i> , e <i>Candida parapsilosis</i> respectivamente.	KAPLANCIKLI et al. (2016)
Derivados de tiossemicarbazona híbridos de cumarina	Os compostos apresentaram CMI de 100 a >1000 µg/mL frente as cepas de <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i> e <i>Aspergillus clavatus</i> respectivamente.	VEKARIYA et al. (2017)
Tiossemicarbazonas à base de isatina	Os compostos apresentaram CMI variando de 30 a 60 µg/mL e CMF variando de 50 a 80 µg/mL frente a espécie <i>Candida albicans</i> . E CMI variando de 40 a 70 µg/mL, não apresentou CMF frente a espécie <i>Aspergillus niger</i> .	HASSAN et al. (2020)
Tiossemicarbazonas de 3- acetilcumarinas substituídas com fração d -glicose	Os compostos apresentaram valores de CMI que variaram de 1,56 a > 100 µM para <i>Aspergillus niger</i> . 1,56 a > 100 µM para <i>Aspergillus flavus</i> . 0,78 a >100 µM para <i>Candida albicans</i> .	TOAN et al. (2020)

	0,78 a >100 μ M para <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	
Complexos de cobre, níquel, cobalto e zinco com 2-formilpiridina N4-aliltiosemicarbazona	Os compostos apresentaram CMI variando de 15,6 a 500 μ g/mL e CMF também variando de 15,6 a 500 μ g/mL frente a espécie <i>Candida albicans</i> .	GRAUR et al. (2022)
Isatina (N-substituída 1, 2, 3, 4-tetra-O-acetil- β -glucopiranosil) tiossemicarbazonas substituídas	Os compostos apresentaram CMI variando de 0,78 a 400 μ g/mL para as espécies <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> respectivamente.	GIANG et al. (2022)

Fonte: autor, 2024.

Esses achados afirmam que os compostos tiossemicarbazonas podem apresentar um caráter dual, isto é, podem ser aplicados tanto para combate a infecções bacterianas quanto fúngicas.

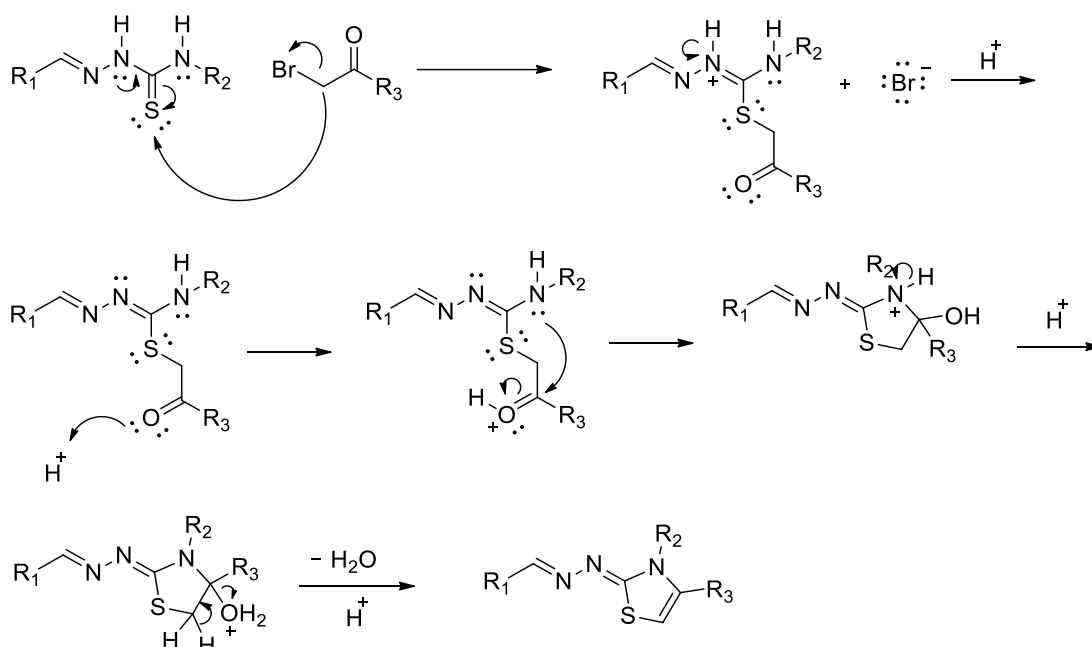
3.4 TIAZOL

O mecanismo reacional para obtenção dos derivados tiazóis foi descrita inicialmente por Hantzsch em 1887 (Souza et al., 2005). Síntese de Hantzsch é o método mais comum para a síntese de tiazóis que envolve ciclização e condensação de halocetonas com tioamida. A reação prossegue com o ataque nucleofílico do átomo de enxofre da tioamida no átomo de carbono α da α -halocetona com formação de intermediário α -tiocetona e após a desidratação gera os tiazóis correspondentes (Mishra, Kumari & Tiwari, 2015). A obtenção do núcleo tiazol também ocorre por meio de uma reação de ciclização intramolecular utilizando compostos α -halocarbonílicos com tiossemicarbazonas substituídas (Cardoso, et al., 2014).

A síntese inicialmente ocorreu um ataque nucleofílico do enxofre da tioamida ao carbono α -halogenado da acetofenona, levando a formação do intermediário e liberação do brometo. Em seguida um próton é liberado, promovendo a estabilização do nitrogênio. Após ocorre o ataque nucleofílico da carbonila aos prótons presentes no meio reacional, deixando oxigênio instável, onde posteriormente o par de elétrons do nitrogênio atacam o carbono

parcialmente positivo, levando a formação de um anel heterocíclico de cinco membros, estabilizando o oxigênio na forma de uma hidroxila.

Figura 2 – Obtenção do núcleo tiazol



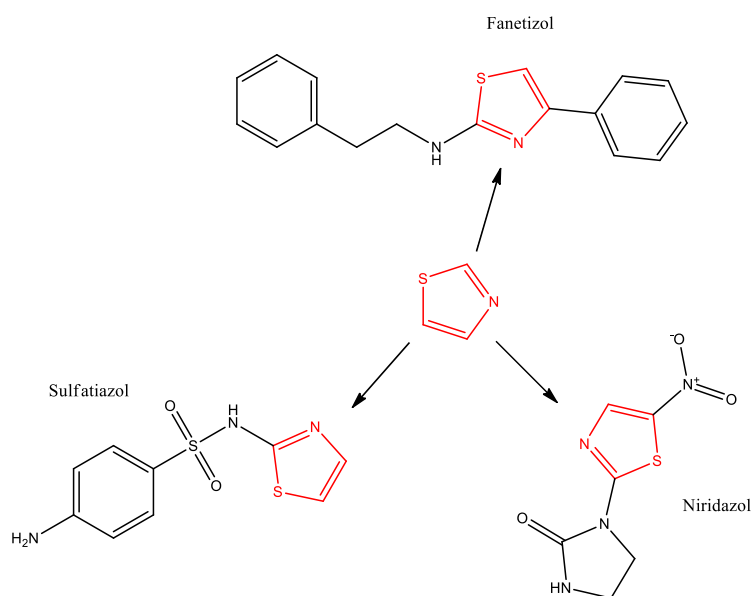
Fonte: Autor, 2024.

Para estabilização do nitrogênio heterocíclico, ocorre liberação de próton ao meio reacional, levando a quebra da ligação entre o nitrogênio e hidrogênio, consequentemente estabilização do anel de cinco membros. A hidroxila ligada ao anel heterocíclico promove um ataque nucleofílico aos prótons presentes no meio reacional, formando uma molécula de água intramolecular, que atua como um grupo de saída. Após a liberação da água, o carbono ao qual a mesma estava ligada apresenta-se deficiente de elétrons. Para que ocorra a estabilização, o carbono vicinal, libera seu hidrogênio, levando a um rearranjo dos elétrons e formação da ligação pi presente no anel tiazol.

O Tiazol é um composto orgânico heterocíclico que possui uma estrutura de anel molecular de cinco membros com fórmula molecular C_3H_3NS . Possui tanto um grupo doador de elétrons (-S-) quanto um grupo de aceitor de elétrons (CN) (Mishra, Kumari & Tiwari, 2015). Os compostos heterocíclicos nitrogenados como os tiazóis estão presentes em 59% dos fármacos aprovadas pela FDA (Food and Drug Administration) tornando-os as estruturas mais significativas e privilegiadas entre os produtos farmacêuticos, podendo apresentar anéis que variam de três a oito membros (Vitaku et al., 2014).

Este núcleo (Figura 3) é bastante presente nos fármacos, é um dos compostos heterocíclicos mais importantes utilizados na fabricação de produtos farmacêuticos como: Sulfatiazol (Antimicrobiano), Tiabenzadol (Antifúngico), Ritonavir (Antirretroviral), Cefdinir (Antibiótico bactericida da classe das cefalosporinas), Epotilonas A e B (Fármacos anticancerígenos), Simeprevir (Fármaco utilizado no tratamento e cura de Hepatite C), Niridazol (Anti-*Schistosoma*), Fanetizol (anti-inflamatório) (Zablotskaya et al., 2013; OUF, et al., 2018; Alharbi et al., 2024).

Figura 3 – Núcleo Tiazol presente nos fármacos.

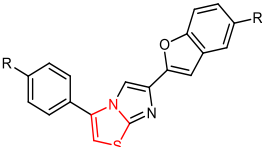
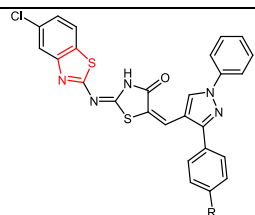
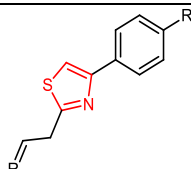
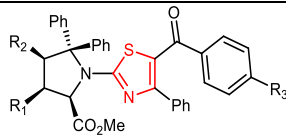
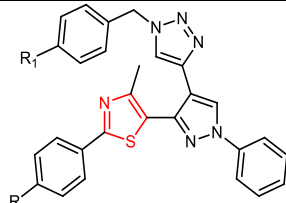
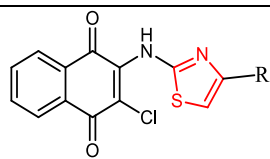
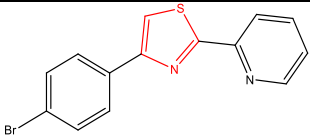
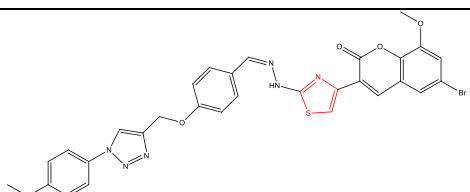


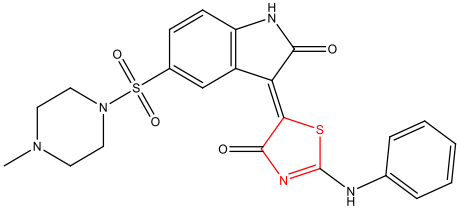
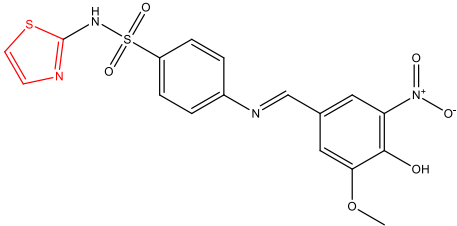
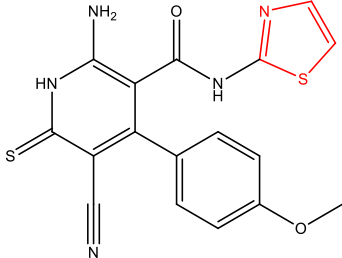
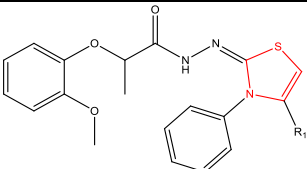
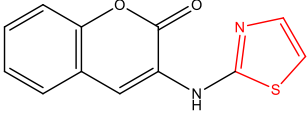
Adaptado de: Alharbi et al., 2024.

Para Babu et al. (2019) os heterocíclicos azóis são importantes construções químicas para o desenvolvimento e melhoramento de compostos bioativos, dentre eles se destacam o núcleo tiazol como importante componente de produtos naturais e fármacos utilizados na clínica que desempenhando uma ampla versatilidade de atribuições biológicas. Devido à sua versatilidade na síntese e amplo efeito farmacológico, o tiazol tem demonstrado atenção, atuando como um andaime de múltiplos alvos em diversos compostos naturais e sintéticos (Siqueira et al., 2019).

Os derivados tiazóis desempenham diversos efeitos biológicos: anti-inflamatória, anti-hipertensivo, anti-HIV (Nural, et al., 2018) e antibacteriano (Saffour et al., 2024) e antifúngico (Nalawade et al., 2019). A tabela 3 demonstrará os derivados as atividades antimicrobianas dos derivados tiazólicos nos últimos anos.

Tabela 3 – Atividade antimicrobiana dos derivados de tiazol.

Derivados tiazólicos	Atividade Antimicrobiana	Referência
	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Escherichia coli</i> .	SHANKERRA O, BODKE & SANTOSHKU MAR, 2017.
	<i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> e <i>M. tuberculosis</i> .	B'BHATT & SHARMA, 2017.
	<i>Candida albicans</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Cryptococcus gatti</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> e <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> .	LINO et al., 2018.
	<i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> e <i>M. tuberculosis</i> .	NURAL et al., 2018.
	<i>C. albicans</i> , <i>A. niger</i> , <i>Rhodotorula glutinis</i> .	NALAWADE et al., 2019.
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	OLAWODE et al., 2019.
	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Candida albicans</i> .	ERYILMAZ et al., 2020.
	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Candida</i>	GONDRU, et al., 2021.

	<i>albicans.</i>
	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Candida albicans</i> . ALZAHIRANI, et al., 2022.
	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Candida albicans</i> . JAYACHITRA, et al., 2023.
	<i>S. aureus</i> , <i>S. faecalis</i> , <i>E. coli</i> K. pneumonia, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>C. albicans</i> . ALAMSHANY & NOSSIER, 2024.
	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> . SAFFOUR, et al., 2024.
	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> . LATA, et al., 2024.

Fonte: autor, 2024.

4 MATERIAL E MÉTODOS

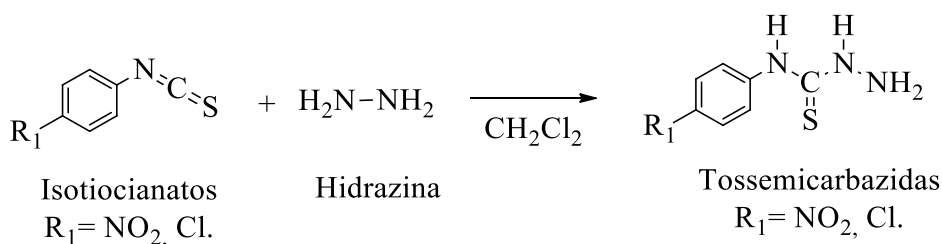
4.1 ESTUDO QUÍMICO

4.1.1 Síntese dos compostos

Os compostos foram sintetizados em 3 etapas de síntese:

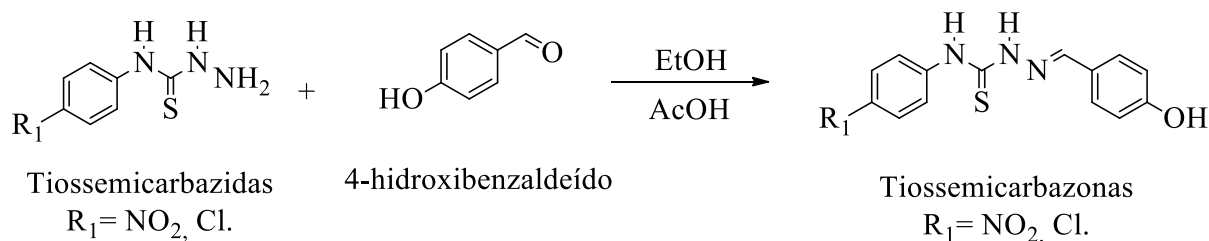
1ª Etapa (síntese das tiossemicarbazidas): Em balões de fundo redondo de 100 mL, foram adicionados o diclorometano e os isotiocianatos (4-Chlorofenil isotiocianato e 4-Nitrofenil isothiocianato). Cada um em seu respectivo balão. Após a dissolução dos isotiocianatos, a hidrazina foi adicionada na proporção equimolar 1:1 (mol/mol). A reação procedeu por 1 hora, em agitação magnética. Após este período, foi realizada a cromatografia de camada delgada (CCD), para acompanhar a formação dos compostos. Etapa de formação dos derivados 4-clorofenil)hidrazinacarbotoamida (LT-02) e 4-nitrofenil)hidrazinacarbotoamida (LT-Nitro).

Esquema 1 – 1ª Etapa de síntese: síntese das tiossemicarbazidas.



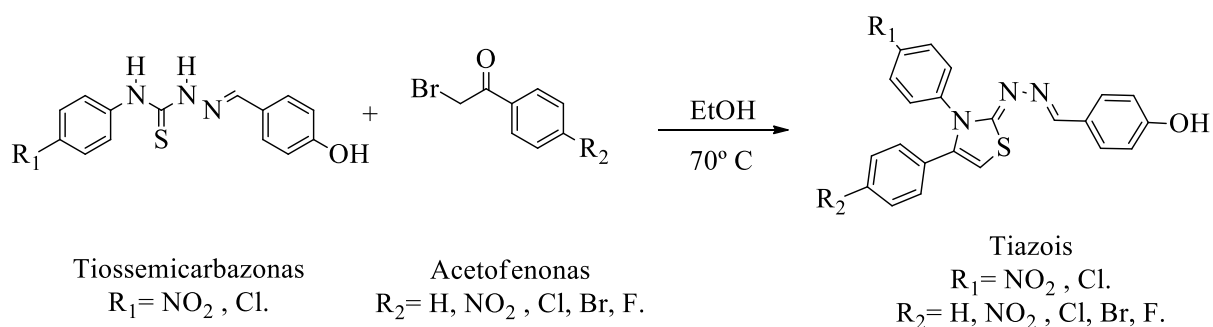
2ª Etapa (síntese das tiossemicarbazonas): em 2 balões de 100 mL de fundo redondo foram adicionados o etanol e o 4-hidroxibenzaldeído, sobre agitação magnética. Após a dissolução do 4-hidroxibenzaldeído foram adicionadas 15 gotas do ácido acético em cada balão, passados 5 minutos foram adicionados as tiossemicarbazidas formadas na etapa anterior nas proporções equimolares 1:1 (mol/mol), nos respectivos balões. As reações ocorreram por 1 hora em temperatura ambiente, sobre agitação magnética. As reações foram acompanhadas por CCD durante todo o período de formação dos compostos. Através da reação de condensação entre o 4-hidroxibenzaldeído e o LT-Nitro foi gerado o LQIT/PB-01 e entre o 4-hidroxibenzaldeído e o LT-02 foi gerado o LQIT/PB-02.

Esquema 2 – 2ª etapa de síntese: síntese das tiossemicarbazonas.

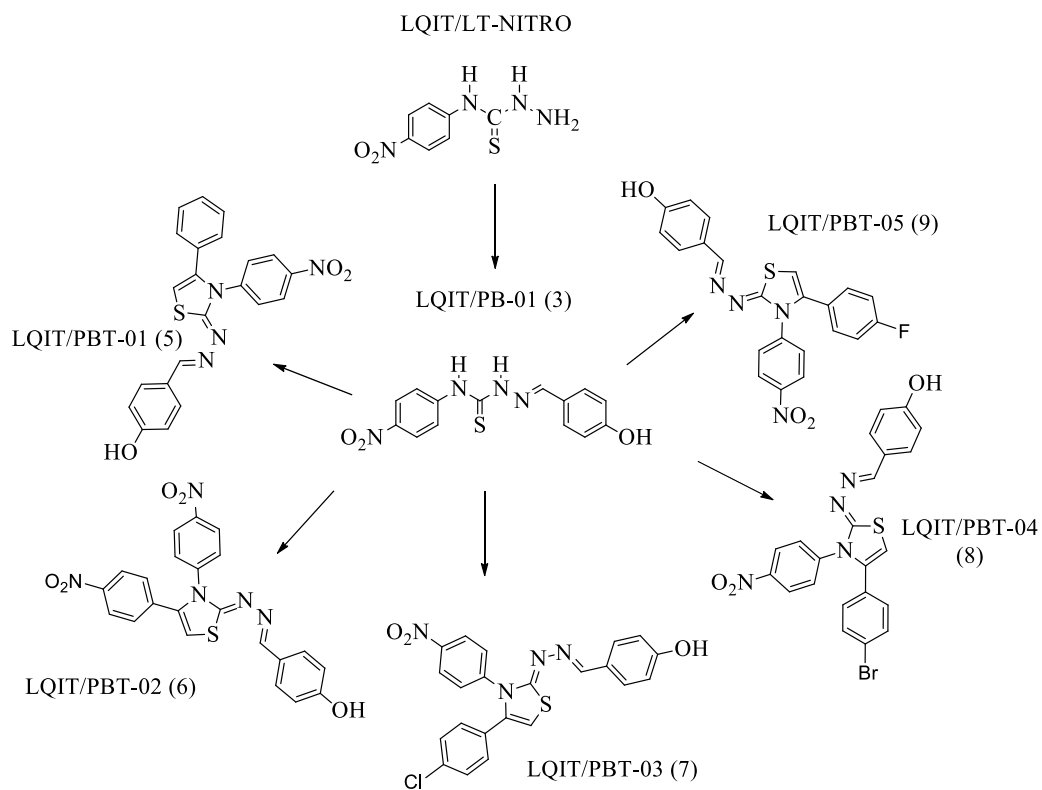


3ª Etapa (síntese dos tiazóis): em 10 balões de 100 ml de fundo redondo foram adicionado o etanol e em 5 foram adicionados LQIT/PB-01 e nos demais o LQIT/PB-02 (tiossemicarbazonas sintetizadas na etapa anterior). Após a sua dissolução as acetofenonas foram adicionadas (2-bromoacetophenone, 2-Bromo-4'-nitroacetophenone, 2-Bromo-4'-chloroacetophenone, 2,4'-Dibromoacetophenone, 2-Chloro-4'-fluoroacetophenone). A reação ocorreu sobre refluxo, em 70° C e sobre agitação magnética, durante 1 hora. Durante todo o período reacional as reações foram acompanhadas por CCD. Do composto LQIT/PB-01 (3) mais as diferentes acetofenonas foram gerados os compostos LQTI/PBT-01 (5), LQTI/PBT-02 (6), LQTI/PBT-03 (7), LQTI/PBT-04 (8), LQTI/PBT-05 (9), e com o composto LQIT/PB-02 (4) foram gerados os LQTI/PBT-06 (10), LQTI/PBT-07 (11), LQTI/PBT-08 (12), LQTI/PBT-09 (13), LQTI/PBT-10 (14).

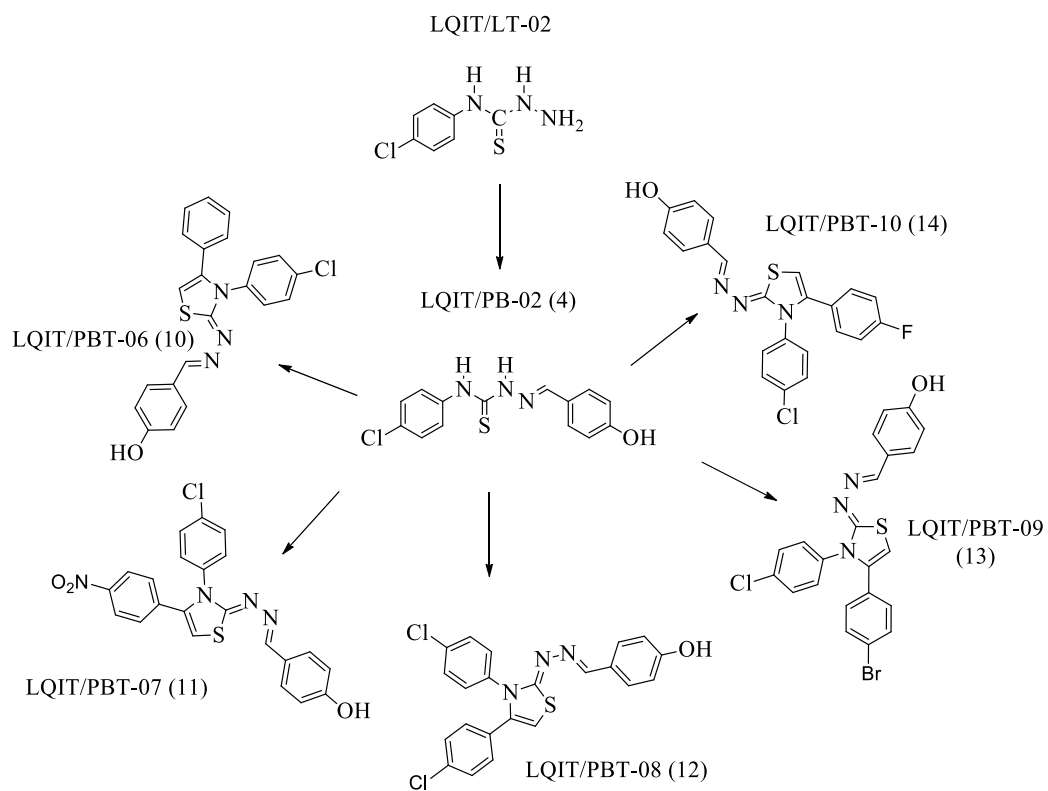
Esquema 3 – 3ª Etapa de síntese: síntese dos Tiazóis.



Esquema 4 – Compostos tiazóis derivados do LQIT/PB-01



Esquema 5 – Compostos tiazóis derivados do LQIT/PB-02



4.1.2 Análises físico-químicas dos novos derivados

As análises físico-química dos derivados foi realizada em estudos anteriores do grupo de pesquisa do Laboratório de Química e Inovação Terapêutica da UFPE.

Como características físico-químicas foram determinadas o ponto de fusão (PF) e os fatores de retenção (RF) de cada molécula sintetizada. Os pontos de fusão foram determinados com auxílio do aparelho fusiometro: Fisatom (Modelo 431D). Para realização da técnica foram pesados aproximadamente 0,5 mg de cada composto em duplicata, após foram adicionados a vidrinhos de capilares com um dos lados fechados e fundidos. Os capilares com os compostos foram adicionados no equipamento em duplicata, após foi observado e determinada a faixa de fusão.

O fator de retenção foi determinado através da técnica de cromatografia em camada delgada (CCD). Foram preparadas placas (Merck silicagel 60 F₂₅₄ de 0,25 mm de espessura) para a aplicação dos compostos e sistemas de diferentes proporções de polaridade, utilizando os solventes n-Hexano e Acetato de Etila. Aproximadamente 0,3 mg dos compostos em duplicata foram dissolvidos em acetato de etila e aplicados das placas de sílica com um auxílio de um vidro capilar, após a fase estacionária foi adicionada a fase móvel. Passados o período de corrida do sistema nas placas, foram retiradas e as placas após a secagem foram reveladas em câmeras ultravioleta nos comprimentos de 254 e 366 nm.

4.1.3 Caracterizações estruturais dos novos derivados

As caracterizações estruturais dos derivados foram realizadas em estudos anteriores do grupo de pesquisa do Laboratório de Química e Inovação Terapêutica da UFPE.

As caracterizações estruturais dos derivados sintetizados foram determinadas através da espectrofotometria de infravermelho (IV) e da ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio (¹H) e carbono (¹³C). Para a análise do espectro de IV foi utilizado o espectrofotômetro Modelo IFS 66, pastilhas de KBr, e os espectros de RMN ¹H e ¹³C foram obtidos em espectrofotômetros Varian Modelo Plus 300 e 400 MHz e utilizado como solvente DMSO. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e as constantes de acoplamento (J) indicadas em Hertz (Hz).

4.2 ESTUDO *IN SILICO*

4.2.1 Estudo de avaliação *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos teóricos: absorção, distribuição, metabolização e excreção (ADME)

Para a avaliação foram utilizadas as plataformas digitais gratuitas: softwares SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) e o pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) (Daina, et al., 2017; Pires, et al., 2015). Foram utilizados os seguintes parâmetros para avaliação: (1) Área de superfície polar total (TPSA); (2) LogP; (3) Peso molecular; (4) Número de aceptores de ligações de hidrogênio; (5) Número de doadores de ligações de hidrogênio; (6) permeabilidade em Caco2; (7) Ligações rotacionáveis; (8) Volume de distribuição (VDss); (9) Lipofilicidade expressa como log P calculado (C logP); (10) absorção intestinal; (11) Solubilidade em meio aquoso (LogS); (12) Total clearance ou depuração (medida da capacidade do organismo em eliminar um fármaco) e (13) fraction unbound.

4.3 ESTUDO BIOLOGICO

4.3.1 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada através de duas metodologias, a avaliação por radicais 1,1-difenil-2- picrilhidrazina (DPPH) e 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), metodologias adaptadas de Mic et al. (2021) e Marc et al. (2021).

4.3.1.1 Método de captura dos radicais DPPH

A primeira metodologia de avaliação da atividade antioxidante foi determinada através do método de DPPH, que consiste na reação do radical livre DPPH 0.03mM (3.0 mL/solução etanólica) com os compostos diluídos em DMSO em diferentes concentrações (7.9 - 1000µg/mL) com um volume de 0.5 mL a 25° C, na ausência de luz por 30 minutos em triplicata. As leituras das absorbâncias em 517 nm foram realizadas no espectrofotômetro Hewlett-Packard (modelo 8453), foram utilizadas soluções controle e padrões para a leitura do experimento. A solução do DPPH foi controle do experimento, o branco do equipamento foi o etanol e os padrões foram: ácido ascórbico e hidroxitolueno butilado (BHT). Os valores de atividade antioxidante foram obtidos pela Equação 1.

Equação 1

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

Onde Ac = Absorbância do controle;

As = Absorbância da amostra.

Com os resultados obtidos da Equação 1, foi possível obter uma curva da atividade antioxidante (em porcentagem) em função da concentração dos compostos. Em seguida foram calculados por regressão não linear a concentração necessária para a obtenção do IC₅₀, concentração que captura 50% dos radicais DPPH.

4.3.1.2 Método de captura dos radicais ABTS

A segunda metodologia utilizada para avaliação da atividade antioxidante foi o método da captura de radicais por ABTS, que também consiste na mistura da solução de ABTS com diferentes concentrações dos compostos dissolvidos em DMSO e diluídos em diferentes concentrações (7.9 – 1000 µg/mL). Foram retirados e adicionados volumes de 30 µL em 1.0 mL da solução do radical ABTS em triplicata, este sistema foi mantido no escuro a 30 °C por 10 minutos. Após este intervalo de tempo as absorbâncias dos ensaios foram determinadas em espectrofotômetro Hewlett-Packard (modelo 8453) no comprimento de onda de 734 nm. O controle utilizado neste experimento foi a solução de ABTS. Os padrões utilizados foram o ácido ascórbico e hidroxitolueno butilado (BHT). O branco do espectrofotômetro foi etanol.

Os valores de atividade antioxidante para este ensaio foram também obtidos pela Equação 2. Através dos resultados foi possível obter diferentes curvas de atividade antioxidante em função da concentração dos compostos. Por fim, o IC₅₀ concentração necessária de captura de 50% do radical foi calculado por regressão não linear.

Equação 2

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

Onde Ac = Absorbância do controle;

As = Absorbância da amostra.

4.3.2 Interação dos novos derivados com a Albumina Humana (HSA)

Os experimentos de interação com albumina foram realizados segundo metodologia adaptada de Alves et al. (2021). Os compostos foram dissolvidos em DMSO para obter uma

concentração de estoque de 1 mM. Foram preparadas soluções em tampão Tris-HCl (0.1 M, pH 7.6) para obter uma concentração final de 1% de DMSO, as concentrações foram: 5, 10, 15, 20, 25 e 30 μ M. Posteriormente, 10 μ L de cada solução foi adicionado a um 1 mL de HSA em uma concentração fixada em 10 μ M. O sistema foi homogeneizado e deixado à temperatura ambiente durante 10 minutos para estabilização do tampão Tris-HCl, posteriormente, submetido à análise da fluorescência.

Os espectros de emissão gerados foram registrados na região de 310 - 400 nm utilizando um comprimento de onda de excitação de 280 nm. As determinações das leituras foram realizadas a uma temperatura ambiente, em uma cubeta de quartzo retangular com um comprimento óptico de 1 cm. O comportamento de supressão de emissão fluorescente foi analisado através da Equação 3 proposta por Stern-Volmer (Ksv) (2006).

Equação 3

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q]$$

F_0 e F são as intensidades de fluorescência na ausência e na presença dos compostos;

K_{sv} é a constante de supressão linear;

$[Q]$ representa a concentração do composto.

O gráfico da intensidade emissão relativa (F_0/F) versus $[Q]$ foi utilizado para obtenção da constante com base na regressão linear do gráfico. Os dados de ligação foram obtidos a partir do software de SigmaPlot 10.0. As alterações no pico máximo emissivo ($\lambda_{m\acute{a}x}$) dos espectros gerados da HSA livre e ligada aos compostos foram também analisadas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

4.3.3 Interação com o DNA

4.3.3.1 Solução do ssDNA

O ssDNA foi dissolvido em tampão Tris-HCl (0.1 M, pH 7.6) por 24 horas, a 8 °C, para estabilização. Passado este período, a solução foi homogeneizada por 30 minutos e sua concentração determinada usando o coeficiente de extinção molar $6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 260 nm. A razão dos valores de absorbância em 260 e 280 nm foi utilizada para verificar o grau de pureza da solução de ssDNA. Esses parâmetros foram determinados pelas Equações 4 e 5 respectivamente. Após o preparo da solução, esta foi armazenada à -20 °C. Todas as

absorbâncias deste estudo foram determinadas em espectrofotômetro Hewlett-Packard (modelo 8453) utilizando uma cubeta de quartzo retangular com um comprimento óptico de 1 cm em uma temperatura de 25 °C.

Equação 4

$$ABS_{260} = \epsilon_{260} \cdot b \cdot c$$

Equação 5

$$\text{Degree of purity} = \frac{ABS_{260}}{ABS_{280}}$$

ABS: Absorbância em diferentes comprimentos de onda;

ϵ : coeficiente de extinção;

b: caminho óptico (1 cm);

c: concentração.

4.3.3.2 Espectroscopia de emissão fluorescente com sondas e DNA

Os ensaios de interação do DNA com os compostos sintetizados foram realizados segundo Alves et al. (2021) com modificações. Inicialmente, os compostos foram dissolvidos em DMSO para obter uma concentração de estoque de 1 mM. Em seguida, os derivados foram diluídos nas concentrações: 5, 10, 15, 20, 25 e 30 μ M, em tampão Tris-HCl (0.1 M, pH 7.6) para obter concentração final de 1% de DMSO. Para os ensaios de interação com o DNA foram utilizados os marcadores fluorescentes Dicloridrato 4',6-Diamidino-2-Fenilindol (DAPI) e laranja de acridina (AO).

Os espectros de fluorescência do complexo DAPI-ssDNA foram obtidos por excitação em 364 nm e varredura da emissão de 400 a 600 nm. Então, soluções contendo DAPI-ssDNA foram analisadas na presença de várias concentrações dos compostos. Os espectros de fluorescência do complexo laranja de acridina-ssDNA foram obtidos por excitação em 480 nm e varredura da emissão de 500 a 600 nm. O sistema constituiu: 1mL da solução de DNA com as respectivas sondas e 10 μ L de cada concentração dos compostos, após foram incubados a 25 °C por 10 minutos. Uma cubeta de quartzo retangular foi utilizada para as determinações do comprimento ótico de 1 cm e um espectrofluorômetro JASCO FP-6300 (Tóquio, Japão). Os ensaios foram realizados em triplicata. As soluções foram

homogeneizadas e estabilizadas por 10 minutos e, posteriormente, submetidas à análise de fluorescência. O comportamento de supressão de emissão foi analisado utilizando a Equação 6 proposta por Stern-Volmer (Ksv).

Equação 6:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q]$$

Onde:

F₀ e F representam as intensidades de fluorescência de estado estacionário de compostos na ausência e presença de ctDNA e compostos;

K_{sv} é a constante de Stern-Volmer;

[Q] é a concentração do inibidor.

Os dados de ligação foram obtidos usando o software SigmaPlot 10.0.

4.3.4 Ensaios de citotoxicidade em células de macrófagos J774 e produção de óxido nítrico

Os ensaios de citotoxicidade *in vitro* foram realizadas segundo metodologia proposta por Leite et al. (2019) com modificações. O ensaio foi realizado em células de mamíferos utilizando a técnica do MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina), que baseia-se na redução de sais amarelos de tetrazólio por redutases mitocondriais de células metabolicamente ativas.

Inicialmente, os compostos foram dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO) para obter uma concentração inicial de 1000 µg/mL. Em seguida, foram diluídos nas seguintes concentrações: 6.25, 12.5, 25, 50 e 100 µg/mL. As diluições foram realizadas no meio de cultura RPMI a fim de obter uma concentração de DMSO menor que 1%, após as soluções foram filtradas em membranas 0.22µm.

As células crescidas em meio de cultivo RPMI foram cultivadas em placa de 96 poços (1x10⁵ células/poço), após os compostos foram adicionados nas respectivas concentrações. As placas foram incubadas a 37 °C em 5% de CO₂ por 48 horas. Passado este período foi realizado a leitura das absorbâncias os cristais de formazan (formados durante os ensaios). Os cristais formados foram solubilizados em DMSO e em seguida as placas foram analisadas

leitor de placas, Benchmark Plus (Bio-Rad, Califórnia, EUA) em um comprimento de onda de 490 nm.

A concentração capaz de causar a perda de viabilidade das células em 50% (IC₅₀) foi determinada por análise de regressão não linear dos dados obtidos pelo software SPSS 8.0 para Windows e convertida à concentração micromolar (μM) de acordo com o peso molecular de cada composto. Cada experimento foi realizado em triplicata técnica e duplicata biológica.

Durante o cultivo foi avaliada a produção de óxido nítrico: onde o sobrenadante das culturas controles e tratadas com os compostos nas concentrações teste foram analisados através do método reagente de Griess. Foram retirados 100 μL do sobrenadante das culturas e incubados com 100 μL do reagente Griess à temperatura ambiente por 10 minutos. As leituras de absorbância foram determinadas no comprimento de 540 nm em leitor de Benchmark Plus (Bio-Rad, Califórnia, EUA).

4.3.5 Atividade antimicrobiana *in vitro* promovida pelos novos derivados

4.3.5.1 Microrganismos

Os microrganismos foram obtidos da Coleção e Cultura de Microrganismos, 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: *Candida guilliermondii* UFPEDA-6390 e *Candida glabrata* UFPEDA-6393.

4.3.5.2 Compostos e antimicrobianos

Para a avaliação da atividade antimicrobiana foram testados os 12 compostos sintetizados e estes foram divididos em duas series. A série I constituída pelo composto número LQIT/PB-01 (tiossemicarbazona) e seus derivados de LQIT/PBT-01 a LQIT/PBT-05 (tiazóis). A serie II foi formada pelo composto número LQIT/PB-01 (tiossemicarbazona) e seus derivados de LQIT/PBT-06 a LQIT/PBT-10 (tiazóis). Os ensaios foram realizados segundo metodologia adaptada de Althagafi et al. (2019) e Prajapati et al. (2019) com

modificações. Inicialmente, foram preparadas soluções com os compostos na concentração de 1000 µg/mL utilizando como solvente o dimetilsulfóxido (DMSO) a 5% (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 (2017) para bactérias e M60 (2018) para leveduras.

4.3.5.3 Padronização do inóculo

A padronização do inóculo para bactérias foram realizadas segundo as recomendações da CLSI (2017). As cepas foram semeadas em ágar Mueller Hinton, após as 24 horas, foram preparadas as suspensões com turvação equivalente a escala 0,5 de Mc Farland, equivalente a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia/mL - UFC/mL.

A padronização do inóculo para leveduras foram realizadas segundo as recomendações da CLSI (2018). As cepas foram semeadas em ágar Sabouraud, após 48 horas, foram preparadas as suspensões com turvação equivalente a escala 0,5 de Mc Farland, equivalente a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia/mL - UFC/mL.

4.3.5.4 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

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 (2017). Após a microdiluição dos compostos 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 horas.

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. A resazurina auxilia na interpretação da viabilidade

celular, pois ao entrar em contato com as células viáveis, em resposta a sua atividade metabólica, o corante é reduzido a resorufina, que tem uma cor rosa e é fluorescente (ROCA, et al., 2019).

A CIM dos compostos 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 CLSI (2018). Após a microdiluição dos compostos 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 horas. Após o período de incubação, foi determinada a inibição de crescimento das cepas através de leituras visuais, teste realizado em triplicata.

4.3.5.5 Concentração Bactericida e Fungicida Mínima (CBM/CFM)

A fim de determinar a CBM ou a CMF, após 24 horas (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 horas e se procedeu a contagem das colônias. A CBM e 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/fungistáticos quando a razão CBM/CIM era ≥ 8 e bactericida/fungicida quando a razão CBM/CIM foi ≤ 4 , de acordo com a metodologia de Jones, et al. (2006) com adaptações.

4.3.6 Análise estatística

Para análises de significância, foram considerados significativos valores $p < 0.05$ avaliados através do teste ANOVA e o pós-teste de Tukey pelo programa GraphPad Prism 5.0 (Graphpad, Califórnia, EUA) para Windows (versão teste).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

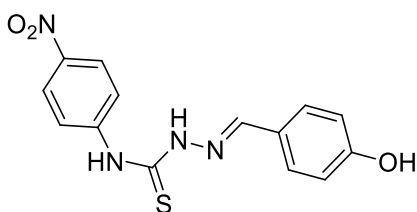
5.1 COMPOSTOS QUÍMICOS

Os derivados de Tiossemicarbazonas e tiazóis suas características físico-químicas e caracterização estrutural foram determinado por trabalhos anteriores do grupo de pesquisa do Laboratório de química e Inovação Terapêutica da UFPE.

5.1.1 Resultados das características físico-químicas e caracterização estrutural

- **LQIT/PB-01 (3):**

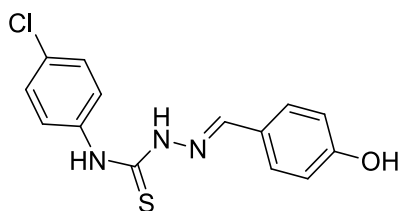
2-(4-hidroxibenzilideno)-N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotoamida



Fórmula Molecular: $C_{14}H_{12}N_4O_3S$ Massa Molecular: 316,06 Infravermelho (IV): 3558 cm^{-1} (OH), $3303\text{ a }3143\text{ cm}^{-1}$ (-NH), 1607 cm^{-1} (N=C), $1552\text{ a }1505\text{ cm}^{-1}$ (-NO₂). RMN ^1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.83 (d, 2H, J= 7,2Hz, CH-Fenol), 7.74 (d, 2H, J= 6,3Hz, CH-Fenol), 8.07 a 8.24 (m, 5H, N=CH, CH-Ar-Nitro), 10,00 (s, 1H, OH), 10,31 (s, 1H, N-NH), 11,99 (s, 1H, HN-C=S). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 115.628, 123.705, 124.104, 124.610, 129.744, 143.293, 144.626, 145.515, 159.800, 174.652. Aspecto: Sólido Laranja. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,54. Rendimento: 97%. Ponto de Fusão: 190° C.

- **LQIT/PB-02 (4):**

N-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotoamida

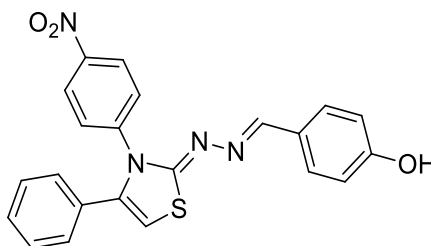


Fórmula Molecular: $C_{14}H_{12}ClN_3OS$, Massa Molecular: 305,04 Infravermelho (IV): 3568 cm^{-1} (-OH), $3310\text{ a }3167\text{ cm}^{-1}$ (-NH), 1604 cm^{-1} (N=C), 1544 cm^{-1} (C=S), 764 cm^{-1} (-Cl). RMN ^1H

(300 MHz, DMSO) δ : 6.80 (d, 2H, J = 8,7Hz, CH-Fenol), 7.40 (d, 2H, J = 9Hz, CH-Fenol), 7.63 (d, 2H, J = 9Hz, CH-Ar-Cl), 7.72 (d, 2H, J = 8,4Hz, CH-Ar-Cl), 8.07 (s, 1H, N=CH), 9.94 (s, 1H, OH), 10.00 (s, 1H, N-NH), 11.71 (s, 1H, HN-C=S). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 115.567, 124.870, 127,246, 127.890, 129.085, 129.514, 138.143, 143.692, 159.539, 175.387. Aspecto: Sólido Verde. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 1:1 - 0,58. Rendimento: 90,13%. Ponto de Fusão: 204° C.

• **LQIT/PBT-01 (5):**

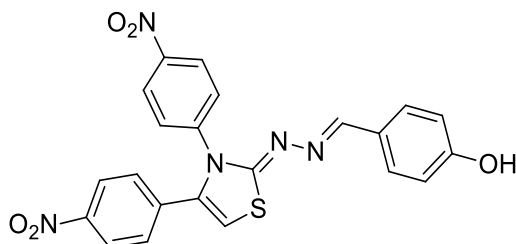
4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol



Fórmula Molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ Massa Molecular: 416,45 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 ^{13}C (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. Infravermelho (IV): 3363 cm^{-1} (-OH), 3065 cm^{-1} (C=C-H), 1600 cm^{-1} (N=C), 1518 a 1491 cm^{-1} (-NO₂), 1349 cm^{-1} (N-C). Aspecto: Sólido Laranja. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 1:1 - 0,54. Rendimento: 95,36%. Faixa de fusão: 232°-233° C.

• **LQIT/PBT-02 (6):**

4-(3,4-di(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol

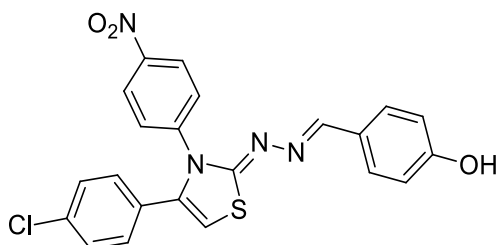


Fórmula Molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$ Massa Molecular: 461,08 RMN ^1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.81 (d, 2H, J = 8,7Hz, CH-Fenol), 7.05 (s, 1H, CH-S), 7.44 (d, 2H, J = 8,7Hz, CH-Fenol),

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 ^{13}C (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. 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). Aspecto: Sólido Laranja. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,54. Rendimento: 81,50%. Faixa de fusão: 224°-225° C.

• **LQIT/PBT-03 (7):**

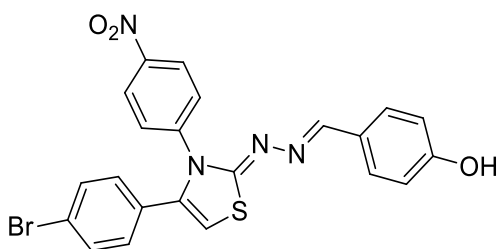
4-(4-(4-clorofenil)-3-(4-nitrofenil)tiazol2(3H)ilideno)hidrazina)metil)fenol



Fórmula Molecular: C₂₂H₁₅ClN₄O₃S Massa Molecular: 450,06 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 ^{13}C (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. Infravermelho (IV): 3066 cm^{-1} (C=C-H), 1601 cm^{-1} (N=C), 1518 a 1486 cm^{-1} (-NO₂), 1354 cm^{-1} (N-C). Aspecto: Sólido Amarelo. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,52. Rendimento: 68,90%. Faixa de fusão: 246°-247° C.

• **LQIT/PBT-04 (8):**

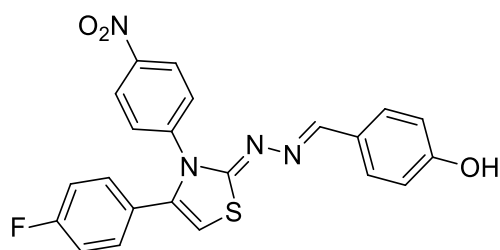
4-(4-(4-bromofenil)-3-(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol



Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}BrN_4O_3S$ Massa Molecular: 494,35 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.81 (t, 3H, $J = 8,7\text{Hz}$, CH-Fenol, CH-S), 7.13 (d, 2H, $J = 8,4\text{Hz}$, CH-Ar-Br), 7.48 (d, 2H, $J = 8,7\text{Hz}$, CH-Ar-Br), 7.54 (d, 2H, $J = 9\text{Hz}$, CH-Fenol), 7.61 (d, 2H, $J = 8,7\text{Hz}$, CH-Ar-Nitro), 8.12 (s, 1H, N=CH), 8.24 (d, 2H, $J = 8,7\text{Hz}$, CH-Ar-Nitro). RMN ^{13}C (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. Infravermelho (IV): 3068 cm^{-1} (C=C-H), 1601 cm^{-1} (N=C), 1515 a 1491 cm^{-1} ($-\text{NO}_2$), 1351 cm^{-1} (N-C). Aspecto: Sólido Amarelo. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 7:3 - 0,40. Rendimento: 51,37%. Faixa de fusão: 275° - 276° C .

• **LQIT/PBT – 05 (9):**

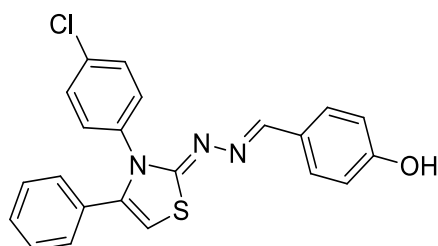
4-(4-(4-fluorofenil)-3-(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol



Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}FN_4O_3S$ Massa Molecular: 434,08 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.69 (s, 1H, CH-S), 6,804 (d, 2H, $J = 8,1\text{Hz}$, CH-Fenol) 7.09 a 7.26 (m, 5H, CH-Fenol, CH-Ar-F), 7.52 a 7.57 (m, 3H, CH-Fenol, CH- NO_2), 8.09 (s, 1H, N=CH) 8.22 (d, 2H, $J = 8,7\text{Hz}$, CH-Ar- NO_2), 9.91 (s, 1H, -OH). RMN ^{13}C (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. Infravermelho (IV): 1594 cm^{-1} (N=C), 1533 a 1505 cm^{-1} ($-\text{NO}_2$), 1344 cm^{-1} (N-C), 1011 cm^{-1} (-F). Aspecto: Sólido Amarelo. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,5. Rendimento: 54,80%. Faixa de fusão: 249° - 250° C .

• **LQIT/PBT – 06 (10):**

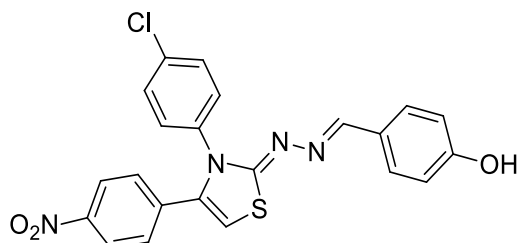
4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol



Fórmula Molecular: $C_{22}H_{16}ClN_3OS$ Massa Molecular: 405,07 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.85 (d, 2H, $J = 8,1\text{Hz}$, 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 ^{13}C (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. Infravermelho (IV): 3063 cm^{-1} (C=C-H), 2599 cm^{-1} (C-S), $1600\text{ a }1576\text{ cm}^{-1}$ (N=C), 746 cm^{-1} (-Cl). Aspecto: Sólido Branco. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 7:3 - 0,52. Rendimento: 89,12%. Faixa de fusão: $254^\circ\text{ a }255^\circ\text{ C}$.

- **LQIT/PBT-07 (11):**

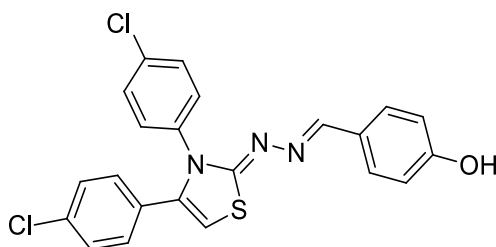
4-(3-(4-clorofenil)-4-(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol



Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}ClN_4O_3S$ Massa Molecular: 450,06 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.83 (d, 2H, $J = 8,4\text{Hz}$, 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, $J = 8,4\text{Hz}$, CH-Ar-Nitro), 8,15 (s, 1H, N=CH). RMN ^{13}C (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. Infravermelho (IV): 3630 cm^{-1} (-OH), 3112 cm^{-1} (C=C-H), 1600 cm^{-1} (N=C), $1516\text{ a }1494\text{ cm}^{-1}$ (-NO₂), 1346 cm^{-1} (N-C). Aspecto: Sólido Amarelo. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,52. Rendimento: 96,90%. Faixa de fusão: $256^\circ\text{ a }257^\circ\text{ C}$.

- **LQIT/PBT-08 (12):**

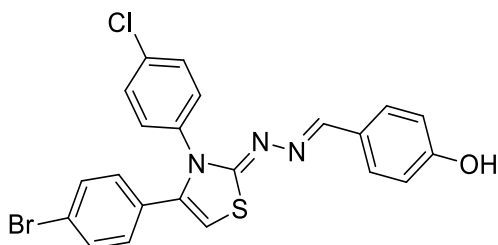
4-(3,4-di(4-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol



Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}Cl_2N_3OS$ Massa Molecular: 439,03 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 5.36 (s, 1H, -OH), 6.83 (d, 2H, $J = 8,7\text{Hz}$, CH-Fenol), 6.96 (s, 1H, CH-S), 7.21 (d, 2H, $J = 8,7\text{Hz}$, CH-Ar-Cl), 7.37 (d, 2H, $J = 8,4\text{Hz}$, 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. Infravermelho (IV): 3651 cm^{-1} (-OH), 3051 cm^{-1} (C=C-H), 1598 cm^{-1} (N=C). Aspecto: Sólido Verde. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,47. Rendimento: 98,50%. Faixa de fusão: $252^\circ\text{-}253^\circ\text{ C}$.

- **LQIT/PBT-09 (13):**

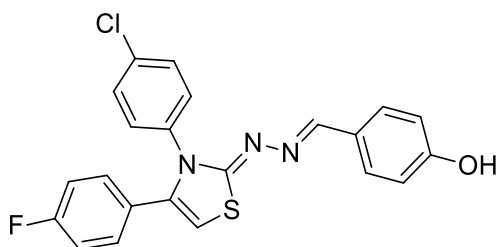
4-(4-(4-bromofenil)-3-(4-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol



Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}ClBrN_3OS$ Massa Molecular: 482,98 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.23 (s, 1H, -OH), 6.83 (d, 2H, $J = 9\text{Hz}$, CH-Fenol), 6.94 (s, 1H, CH-S), 7.14 (d, 2H, $J = 9\text{Hz}$, 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. Infravermelho (IV): 3651 cm^{-1} (-OH), 3088 cm^{-1} (C=C-H), 1602 cm^{-1} (N=C). Aspecto: Sólido Verde. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,52. Rendimento: 69%. Faixa de fusão: $267^\circ\text{-}268^\circ\text{ C}$.

- **LQIT/PBT-10 (14):**

4-(3-(4-clorofenil)-4-(4-fluorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol

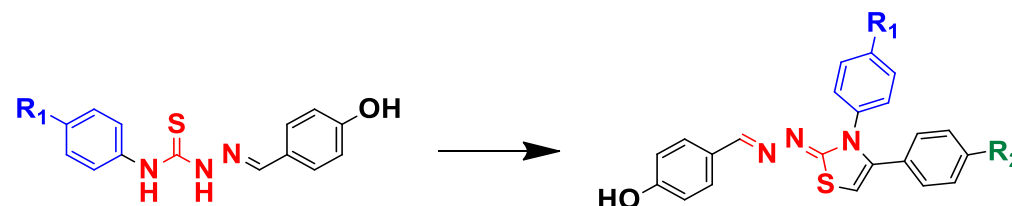


Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}ClFN_3OS$ Massa Molecular: 423,06 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.84 (d, 2H, $J=8,1\text{Hz}$, CH-Fenol), 6.99 (s, 1H, CH-S), 7.12 a 7.28 (m, 4H, CH-r-F) 7.46 a 7.57 (m, 6H, CH-Ar-Cl, CH-Fenol), 8.19 (s, 1H, $N=CH$). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 104.685, 115.337, 115.628, 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. Infravermelho (IV): 3648 cm^{-1} (-OH), 3126 cm^{-1} (C=C-H), 1599 cm^{-1} (1599). Aspecto: Sólido Verde. Rf: Sistema n-hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,48. Rendimento: 84,05%. Faixa de fusão: 245° - 246° C.

5.2 AVALIAÇÃO *IN SÍLICO* DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS TEÓRICOS: ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLIZAÇÃO E EXCREÇÃO (ADME)

Para a indústria farmacêutica, é de grande importância a avaliação e predição dos parâmetros farmacocinéticos relacionados a absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) *in silico* (KUMAR, KINI & RATHI, 2021). Esta metodologia acelera o processo de descoberta e desenvolvimento de novos candidatos a fármacos (KAR & CHATTERJEE, 2021). As duas metodologias comumente utilizadas para se avaliar o potencial de biodisponibilidade oral de um fármaco são baseadas nas regras de Lipinski (1997) e Veber (2002). Entretanto, outros estudos de predição dos parâmetros farmacocinéticos podem ser realizados, como é o caso dos parâmetros propostos por Pires, Blundell e Ascher (2015). Os resultados de ADME obtidos para cada um dos compostos de tiossemicarbazonas (LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02) e tiazóis (LQIT/PBT-01 ao LQIT/PBT-10) *in silico* foram apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Estimativa *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos para as tiossemicarbazonas e tiazóis sintetizados neste estudo determinados pelas plataformas SwissADME e pkCSM.



Compostos	Substituintes		M _w (g/mol) ^a	HBA ^b	HBD ^c	LogP ^d	TPSA (Å) ^f	Rotatable bonds ^g	LogS ^e	Caco-2 perm. ^h	Int. abs. (%) ⁱ	VDss (log L/kg) ^j	Fract. Unb. ^k	Total clearance (log mL/min/kg) ^l
	R1	R2												
PB-01	-NO ₂	-	316,34	4	3	2,43	135,56	6	-5,11	0,914	78,79	-0,159	0,022	-0,297
PB-02	-Cl	-	305,78	2	3	2,80	88,74	5	-4,97	1,367	85,25	-0,188	0,067	-0,447
PBT-01	-NO ₂	-H	416,45	5	5	2,83	123,94	5	-7,36	0,569	100	-0,3	0,22	0,037
PBT-02	-NO ₂	-NO ₂	461,45	7	1	1,98	169,76	6	-8,15	0,431	97,156	-0,544	0,224	-0,057
PBT-03	-NO ₂	-Cl	450,90	5	1	3,31	123,94	5	-8,02	0,486	100	-0,234	0,222	-0,093
PBT-04	-NO ₂	-Br	495,35	5	1	3,42	123,94	5	-8,08	0,488	100	-0,222	0,222	-0,115
PBT-05	-NO ₂	-F	434,44	6	1	3,20	123,94	5	-7,47	0,558	100	-0,405	0,247	-0,223
PBT-06	-Cl	-H	405,90	3	1	4,27	78,12	4	-7,23	0,967	89,81	0,027	0,249	-0,114
PBT-07	-Cl	-NO ₂	450,90	5	1	3,31	123,94	5	-8,02	0,503	100	-0,243	0,226	-0,209
PBT-08	-Cl	-Cl	440,35	3	1	4,74	78,12	4	-8,71	0,958	89,00	0,116	0,254	-0,245
PBT-09	-Cl	-Br	484,80	3	1	4,85	78,12	4	-7,95	0,956	88,94	0,131	0,253	-0,266
PBT-10	-Cl	-F	423,89	4	1	4,64	78,12	4	-7,33	1,005	89,99	0,037	0,285	-0,374

^a SwissADME Peso molecular; ^b SwissADME Número de aceptores de H; ^c SwissADME Número de doadores de H; ^d SwissADME log de Moriguchi coeficiente de partição octanol-água e SwissADME log de Ali log solubilidade aquosa; ^e SwissADME cálculo da área de superfície polar topológica (TPSA); ^f SwissADME Número de Ligações rotacionáveis; ^g pkCSM previsão da permeabilidade nas células Caco-2 como estimativa da absorção da mucosa intestinal humana (log Papp in 10⁻⁶ cm/s); ^h pkCSM previsão da proporção de absorção dos compostos através do intestino delgado humano; ⁱ pkCSM log da previsão do volume de distribuição em estado estacionário (VDss); ^j pkCSM previsão da fração composta não ligada ao plasma (não ligada às proteínas séricas); ^k pkCSM log da previsão da eliminação total do medicamento.

De acordo com os resultados obtidos a partir da abordagem *in silico* foi possível observar que todos os compostos avaliados apresentam propriedades moleculares desejáveis. Os compostos do presente trabalho obedeceram à regra dos 5 de Lipinski, ou seja, peso molecular ≤ 500 g/mol; número de aceptores de hidrogênio (ALH) ≤ 10 , número de doadores de hidrogênio (DLH) ≤ 5 e coeficiente de lipofilicidade (cLogP) ≤ 5 , além de terem obedecido a regra de Veber, ligações rotacionáveis ≤ 10 e área de superfície polar (TPSA) $\leq 140 \text{ \AA}^2$. O TPSA é um parâmetro relacionado com o transporte molecular passivo através das membranas e permite a predição da absorção intestinal humana e passagem na barreira hematoencefálica (PIRES, BLUNDELL & ASCHER, 2015). Sendo assim, valores de TPSA $\leq 140 \text{ \AA}^2$ são considerados desejáveis para indicar uma boa absorção gastrointestinal e passagem na barreira hematoencefálica (ERTL, ROHDE & SELZER, 2000; CLARK, et al., 2015).

Estes resultados sugerem que estes compostos, teoricamente, apresentam boa biodisponibilidade oral e diferenças em sua bioatividade não podem ser atribuídas a esta propriedade (PIRES, BLUNDELL & ASCHER, 2015). Outros trabalhos apresentaram perfil semelhante ao nosso, isto é, obedeceram às regras de Lipinski e Veber. Dentre estes trabalhos podemos citar os realizados por Temraz et al. (2018), Matsa et al. (2019), Alves et al. (2021), Lata, et al. (2024) avaliando diferentes derivados de tiossemicarbazonas e tiazóis.

A baixa solubilidade de diferentes fármacos em meio aquoso é um problema não apenas para o desenvolvimento de formulações, mas também para absorção (PIRES, BLUNDELL & ASCHER, 2015). Para que um medicamento seja absorvido é necessário que esse seja parte de uma solução aquosa (SHARMA, et al., 2009). Sendo assim, foi avaliado o perfil de solubilidade em meio aquoso (LogS). Os valores de LogS podem variar de acordo com a seguinte ordem: insolúvel < -10 < pouco solúvel < -6 < moderado < -4 < solúvel < -2 < muito solúvel < 0 < altamente solúvel. Os resultados *in silico* mostraram que os compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02 apresentam solubilidade moderada, já os demais compostos são classificados como pouco solúveis.

O processo de avaliação de absorção oral de compostos é bastante complexo e exige vários métodos *in vitro*, como por exemplo o sistema de monocamada de células Caco-2 derivadas de adenocarcinoma de cólon (PHAM-THE, et al., 2018). Por ser baseado em células humanas, é bastante utilizado em estudos de permeabilidade intestinal. De acordo com a literatura, os compostos podem ser classificados de acordo com a permeabilidade em Caco-2. Sendo assim, compostos que apresentam valores $< 1,10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ são pouco absorvidos, entre 1

e $10,10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ moderadamente absorvidos e $> 10,10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ bem absorvidos (PIRES, BLUNDELL & ASCHER, 2015). Com isto, os compostos LQIT/PB-02 e LQIT/PBT-10 são classificados como moderadamente absorvidos, já os demais compostos, são classificados como pouco absorvidos. Outro parâmetro avaliado foi a absorção gastrointestinal. Esse parâmetro pode ser classificado da seguinte maneira: fármacos pouco absorvidos (0-20%), moderadamente absorvidos (20-70%) e bem absorvidos (70-100%). Os compostos deste estudo apresentam valores de absorção maiores que 70% indicando que podem ser bem absorvidos (PIRES, BLUNDELL & ASCHER, 2015).

Foi avaliado também o volume de distribuição (VDss), este parâmetro descreve a extensão da distribuição do fármaco. Valores de VDss ($\log \text{VDss}$) $> 0,45$ indicam que o fármaco será distribuído no tecido. O $\log$ de valores VDss $< -0,15$ indica que o fármaco será distribuído no plasma (ZHIVKOVA, et al., 2012; DEL AMO, et al., 2013; LAMBERTUCCI, et al., 2018). Os compostos apresentaram valores variados de VDss os compostos LQIT/PB-01, LQIT/PB-02, LQIT/PBT-01, LQIT/PBT-02, LQIT/PBT-03, LQIT/PBT-04, LQIT/PBT-05 e LQIT/PBT-07 apresentam distribuição no plasma. Já os compostos LQIT/PBT-06, LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09 e LQIT/PBT-10 mesmo apresentando um baixo valor de VDss isto é, menor que 0,45 apresentam tendencia a serem distribuídos nos tecidos.

Além disso, foi observado que todos os compostos apresentados apresentaram baixa fração não ligada a proteínas (PIRES, BLUNDELL & ASCHER, 2015). A alta lipofilicidade destes compostos (como observado pelos valores de LogP) leva a um alto grau de ligação às proteínas plasmáticas e, assim, à presença de baixos níveis do fármaco não-ligado no sítio da infecção (PIRES, BLUNDELL & ASCHER, 2015).

Como ultimo padrão analisa temos a liberação total (Total clearance). Um medicamento com alto valor de liberação total apresentará um rápido processo de excreção e consequentemente menor tempo de ação (MORAES, et al., 2018). Este perfil não foi observado nos compostos em estudo, uma vez que os valores de liberação variaram de $-0,447 - 0,037 \log \text{ mL/min/kg}$. De uma forma geral os resultados *in silico* demonstraram que os derivados LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02 (tiossemicarbazonas), LQIT/PBT-01, LQIT/PBT-02, LQIT/PBT-03, LQIT/PBT-04, LQIT/PBT-05, LQIT/PBT-06, LQIT/PBT-07, LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09, LQIT/PBT-10 podem ser potenciais candidatos a novos fármacos.

5.3 ATIVIDADE BIOLÓGICA

5.3.1 Atividade Antioxidante

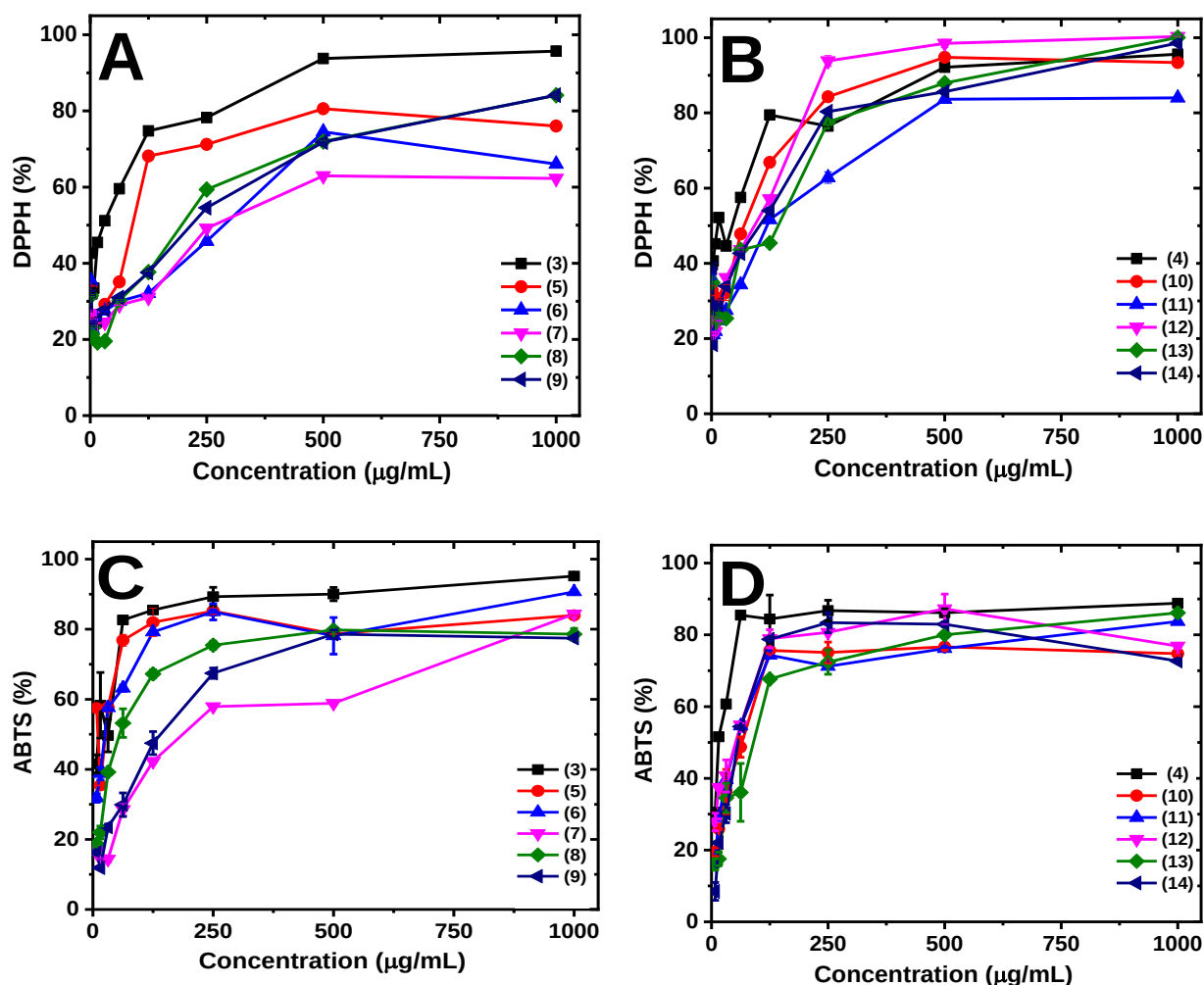
As tiossemicarbazonas e os tiazóis são capazes de promover atividades antioxidantes *in vitro* (GERONIKAKI, PITTA & LIARAS, 2013; YOUSEF & EL-REASH, 2020). Esta atividade está diretamente relacionada a sua estrutura química. As tiossemicarbazonas apresentam a capacidade de doar pares de elétrons (agente redutor) (GERONIKAKI, PITTA & LIARAS; BINGUL, et al., 2019). Esta característica é devida a presença de átomos de nitrogênio, principalmente na forma de base de Schiff, e do enxofre como tiocarbonila (SIDDIQUI, et al., 2019; YANG, et al., 2020). Já os compostos tiazólicos são descritos na literatura por serem capazes de eliminar radicais o que os torna potenciais agentes antioxidantes (GERONIKAKI, PITTA & LIARAS, 2013; PETROU, et al, 2021).

Neste contexto, diferentes métodos podem ser utilizados para avaliar a atividade antioxidante promovida pelas tiossemicarbazonas e tiazóis (YOUSEF, et al., 2020). Dentre os métodos os mais comumente utilizados para avaliar a atividade antioxidante são os de captura de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) e ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfônico). Ambos são caracterizados por sua excelente reprodutibilidade sob condições estabelecidas, porém podem mostrar diferenças significantes em suas respostas antioxidantes (BINGUL, et al., 2019; YOUSEF, et al., 2020).

O método de inibição de radicais DPPH baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante (BASCHIERI & AMORATI, 2021). Nesta reação corre a mudança de cor roxa para amarela, pois quando o radical DPPH reage com um composto antioxidante que pode doar hidrogênio, ele é reduzido ocorrendo a descoloração (GERONIKAKI, PITTA & LIARAS, 2013). Já o radical ABTS é gerado por meio de uma reação química, eletroquímica ou enzimática (MOHARRAM & YOUSSEF, 2014). Com esse método, pode-se determinar a atividade antioxidante de compostos tanto de natureza hidrofílica quanto lipofílica (GERONIKAKI, PITTA & LIARAS, 2013; MOHARRAM & YOUSSEF, 2014; YOUSEF, et al., 2020). A reação é acompanhada pela mudança de cor decaindo de verde para sem coloração.

A Figura 4 apresenta as curvas de atividade antioxidante promovida pelos compostos em diferentes concentrações para os ensaios de DPPH e ABTS respectivamente.

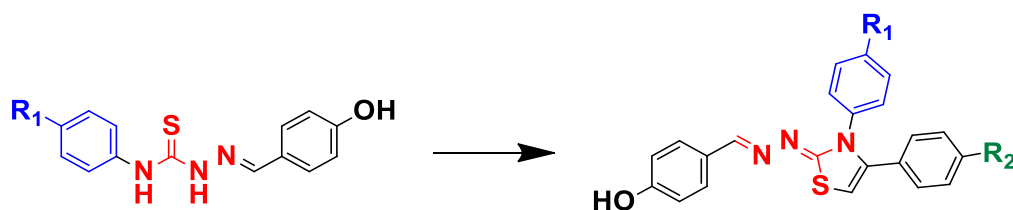
Figura 4 - Atividade antioxidante *in vitro* para os ensaios de DPPH (A e B) e ABTS (C e D) promovido pelos compostos sintetizados em diferentes concentrações.



Compostos: 3 (LQTI/PB-01), 4 (LQTI/PB-02), 5 (LQTI/PBT-01), 6 (LQTI/PBT-02), 7 (LQTI/PBT-03), 8 (LQTI/PBT-04), 9 (LQTI/PBT-05), 10 (LQTI/PBT-06), 11 (LQTI/PBT-07), 12 (LQTI/PBT-08), 13 (LQTI/PBT-09), 14 (LQTI/PBT-10).

Os resultados mostraram aumento da atividade antioxidante com o aumento da concentração. Perfis semelhantes foram obtidos por Bingul et al. (2019), Salar et al. (2019) e Yousef et al. (2020) avaliando diferentes tiossemicarbazonas e tiazóis para os ensaios DPPH e ABTS. A Tabela 2 apresenta os resultados de atividade antioxidante representados por IC₅₀ (concentração mínima capaz de reduzir os radicais livres em 50%).

Tabela 5 - Resultados de atividade antioxidante *in vitro* promovidos pelos compostos sintetizados neste estudo para os ensaios de captura de radicais DPPH e ABTS.



Compostos	Substituintes		IC ₅₀ (DPPH•)		IC ₅₀ (ABTS +)	
	R1	R2	µg/mL	µM	µg/mL	µM
PB-01	-NO ₂	-	139,0 ± 0,0	439,4	12,4 ± 3,0	39,19
PB-02	-Cl	-	211,5 ± 1,0	691,67	15,3 ± 0,1	50,03
PBT-01	-NO ₂	-H	85,5 ± 0,2	205,30	25,0 ± 0,1	60,03
PBT-02	-NO ₂	-NO ₂	51,8 ± 0,2	112,4	65,5 ± 0,8	141,94
PBT-03	-NO ₂	-Cl	271,5 ± 1,6	602,12	28,5 ± 3,0	63,20
PBT-04	-NO ₂	-Br	321,5 ± 2,6	649,0	193,5 ± 0,3	390,63
PBT-05	-NO ₂	-F	194,1 ± 1,0	446,78	61,81 ± 0,3	142,27
PBT-06	-Cl	-H	252,8 ± 1,4	622,8	156,4 ± 1,3	385,31
PBT-07	-Cl	-NO ₂	82,6 ± 3,2	183,1	67,4 ± 3,9	149,47
PBT-08	-Cl	-Cl	176,3 ± 1,8	400,36	52,5 ± 1,3	119,22
PBT-09	-Cl	-Br	97,0 ± 1,5	200,08	53,4 ± 4,8	110,14
PBT-10	-Cl	-F	125,9 ± 1,1	297,01	82,2 ± 4,8	193,91
Ácido ascórbico	-	-	7,78 ± 0,1	44,17	14,67 ± 0,8	83,29
BHT	-	-	18,85 ± 0,7	85,54	5,64 ± 0,2	25,29

Média ± Desvio padrão

Os resultados de IC₅₀ apresentados na Tabela 5 mostraram que os tiazóis apresentam melhores resultados quando comparados às tiossemicarbazonas para os ensaios de captura de radicais DPPH. Os tiazóis apresentaram IC₅₀ variando de 112,4 a 649,0 µM as tiossemicarbazonas apresentaram valores que variaram de 439,4 a 691,67 µM. De forma geral os compostos avaliados apresentaram menores resultados de atividade antioxidante quando comparados aos padrões utilizados (ácido ascórbico e BHT). Esses resultados mostram que

para o ensaio de DPPH os compostos sintetizados apresentam atividade antioxidante de moderada a baixa. Destacando o composto PBT-02 que obteve o valor de 112,4 μM , de acordo com literatura torna-se um composto antioxidante moderado.

O PBT-02 em sua estrutura apresenta dois grupamentos nitros ($-\text{NO}_2$) que contribuíram para a atividade antioxidante do composto, o grupamento na posição R_2 dos tiazóis corroborou para a atividade pelo método do DPPH. Os compostos PBT-03 (R_1 : NO_2 ; R_2 : Cl) e PBT-07 (R_1 : Cl; R_2 : NO_2) possuem os substituintes trocados, obtiveram valores de IC_{50} : 602,12 e 183,1 μM respectivamente, o que corrobora com a afirmação da boa disponibilidade no meio biológico da posição R_2 gerando o efeito proposto. De modo geral os substituintes na posição R_2 dos derivados tiazólicos contribuíram significativamente com a atividade no método. Os compostos que apresentam o Cl na posição R_1 em combinações com Br (PBT-09) e F (PBT-10) na posição R_2 , apresentaram melhora no efeito antioxidante, demonstrando a boa disponibilidade da região dessas moléculas.

Em relação ao ensaio de captura de radicais ABTS as tiossemicarbazonas apresentaram maiores resultados quando comparados aos tiazóis e ao padrão ácido ascórbico, entretanto, apresentaram menores resultados quando comparado ao padrão BHT. As tiossemicarbazonas apresentaram valores de IC_{50} que variaram de 39,19 a 50,03 μM (alta atividade). Já os tiazóis apresentaram valores entre 60,03 a 390,63 μM (atividade de moderada a baixa). Esses resultados quando comparado aos ensaios de captura de radicais DPPH estão associados além da estrutura química a versatilidade do ensaio de ABTS, isto é, apresenta bons resultados para compostos de natureza polar e apolar (GERONIKAKI, PITTA & LIARAS, 2013; MOHARRAM & YOUSSEF, 2014; YOUSEF, et al., 2020).

Para método de ABTS o composto PB-01 obteve o melhor IC_{50} de 39,19 μM , considerado um forte antioxidante. Neste método empregado os compostos com o grupamento nitro obtiveram bons resultados (forte e moderados antioxidantes), entretanto a posição R_1 que corroborou melhor com os resultados obtidos. Neste método empregado o NO_2 e Cl foram substituintes que contribuíram para a atividade, os tiazóis que mais se destacaram foram o PBT-01 e PBT-03 com IC_{50} de 60,03 e 63,20 μM respectivamente, ambos com os substituintes citados, mas com o NO_2 na posição R_1 .

Segundo Petrou, et al. (2021) compostos as regiões da tiossemicarbazona e do núcleo tiazol, são os responsáveis pelas atividades antioxidantes geradas, mas os substituintes ligados a estrutura principal ajudam a melhorar o efeito gerado por estas porções. A literatura

apresenta resultados promissores para atividade antioxidante de tiossemicarbazonas e tiazóis para os ensaios de DPPH e ABTS.

Dentre estudos com os métodos empregados podemos citar os realizados por Yildiz et al. (2022) que avaliaram uma gama de novos derivados de tiossemicarbazona baseados em indol monoméricos e diméricos que obtiveram resultados de IC_{50} que variaram de 26,88 a 99,50 μM para os ensaios de DPPH e 17,38 a 96,10 μM para o ensaio de ABTS. Salar et al. (2017) avaliando híbridos de hidrazinil/tiazol, onde obtiveram bons resultados para DPPH $IC_{50} = 0,09 - 2,233 \mu M$ e ABTS ($IC_{50} = 0,584 - 3,738 \mu M$). Esses resultados, demonstram que a atividade antioxidante promovida pelos compostos sintetizados neste estudo está diretamente relacionada a estrutura química, principalmente aos efeitos promovidos pelos diferentes substituintes (GERONIKAKI, PITTA, LIARAS, 2013; PETROU, FESATIDOU, GERONIKAKI, 2013).

5.3.2 Estudos De Interação Com o DNA

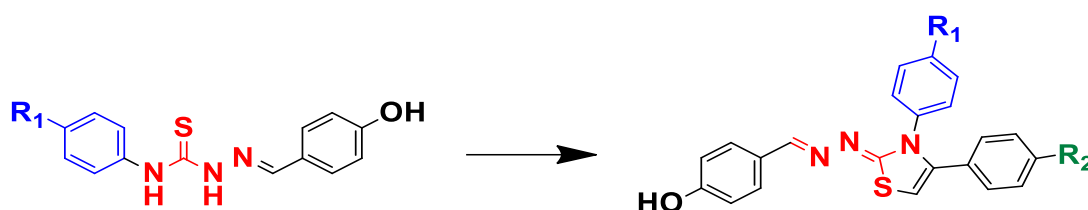
5.3.2.1 Estudos de interação com a HSA

A albumina sérica humana (HSA) é a proteína plasmática mais abundante no sangue humano, presente em uma concentração de 40 mg/mL. Por ser uma proteína de grande circulação, uma de suas principais funções é o transporte de ligantes endógenos e exógenos, inclusive, sendo responsável pela distribuição de medicamentos no organismo (HOOGENBOEZEM; DUVALL, 2018). Dessa forma, as propriedades farmacológicas de um fármaco podem ser altamente influenciadas pela sua capacidade de ligação a proteína albumina. Uma característica importante da interação droga-albumina, é que a ligação é de natureza reversível, conduzindo a um equilíbrio entre a molécula ligada e sua porção livre na circulação (RIBEIRO et al., 2021).

Por meio da utilização de técnicas espectroscópicas é possível prever se uma molécula é capaz de se ligar a albumina, e dessa forma, influenciar o efeito terapêutico pretendido. Com a afinidade de ligação comprovada, o resultado pode influenciar diretamente em padrões como solubilidade, absorção, distribuição, metabolismo e excreção da droga (ALVES et al., 2021).

Então, visando avaliar a capacidade de interação entre os derivados tiazóis aqui avaliados e a albumina sérica humana, foi realizado um ensaio de espectroscopia de fluorescência, cujo resultado pode ser consultado na tabela 6 abaixo.

Tabela 6 - Resultados espectroscópicos de interação de albumina humana e os compostos sintetizados.



Compostos	Substituintes		$\lambda_{\text{máx livre}}$ (nm)	$\lambda_{\text{máx}}$ ligado(nm)	Hipocromismo (%)	Ksv (L/mol)
	R1	R2				
PB-01	-NO ₂	-	335	329	100	5,85 x10 ⁴
PB-02	-Cl	-	335	358	100	11,6 x10 ⁵
PBT-01	-NO ₂	-H	335	331	100	3,63 x10 ⁴
PBT-02	-NO ₂	-NO ₂	335	359	100	1,03x10 ⁵
PBT-03	-NO ₂	-Cl	335	331	100	4,64 x10 ⁴
PBT-04	-NO ₂	-Br	335	330	100	7,42 x10 ⁴
PBT-05	-NO ₂	-F	335	330	100	5,09 x10 ⁴
PBT-06	-Cl	-H	335	330	100	3,09 x10 ⁴
PBT-07	-Cl	-NO ₂	335	329	100	6,60 x10 ⁴
PBT-08	-Cl	-Cl	335	329	100	10,6 x10 ⁵
PBT-09	-Cl	-Br	335	329	100	5,01x10 ⁴
PBT-10	-Cl	-F	335	330	100	7,63x10 ⁴

^aHipocromismo resultante da interação da albumina fixada em 10 μ M com concentrações variadas dos compostos-testes (5-30 μ M) em comparação com a albumina livre. ^bConstante de supressão de Stern-Volmer (Ksv) obtida com base nos dados de fluorescência com a HSA.

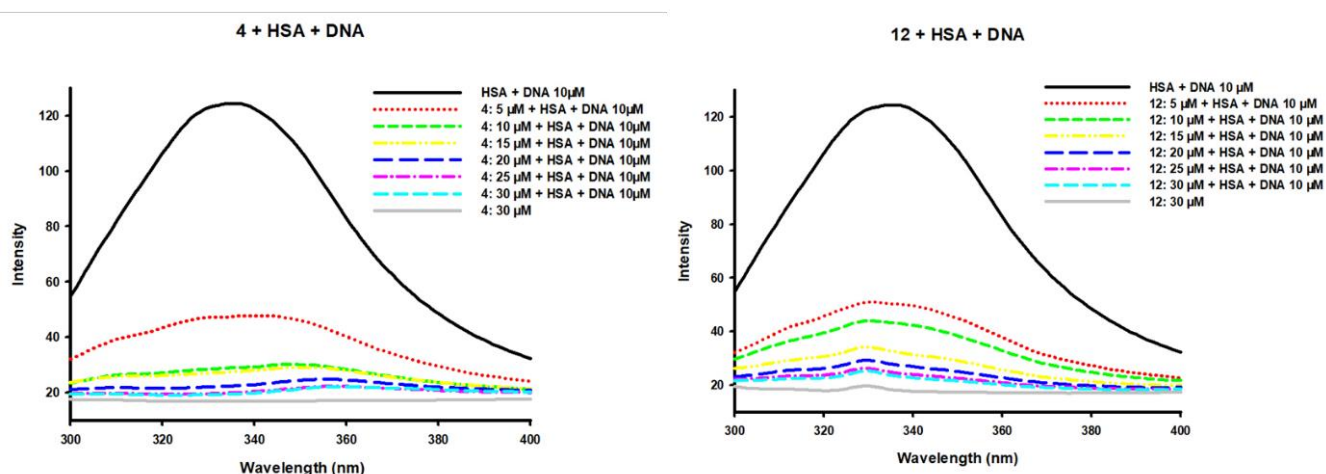
Como podemos observar na tabela, a HSA livre apresentou pico máximo de emissão em torno de 335 nm, mas esse pico sofreu mudanças após adição dos derivados tiazóis, ocasionando desvios para a região do azul (hipsocrômico), podendo ser observado para os derivados PB-02 e PBT-02 (batocrômico) e desvios para a região do azul (hipsocrômico), podendo ser observado para os demais derivados, e consequentemente sendo o efeito mais prevalente. Assim sendo, os comprimentos de onda encontrados nesta análise estão dentro da faixa já estabelecida (RIBEIRO et al., 2021).

Outra importante mudança após adição dos derivados tiazólicos foi a diminuição da intensidade de fluorescência da proteína, caracterizado como efeito hipocrômico. Esse efeito foi efetivo para todos os compostos testados, com porcentagem de inibição de fluorescência de 100%. Todavia, podemos analisar de maneira mais enfática os valores da constante de

supressão (K_{sv}), que ficaram na faixa de $3,09 \times 10^4$ e $11,6 \times 10^4$, o que indica uma boa afinidade de ligação a proteína de acordo com os estudos de Filho et al. (2019).

Dessa forma, os valores de K_{sv} sugerem que os compostos que se ligam de maneira mais forte a proteína seguem a seguinte ordem de força: PB-02 > PBT-08 > PBT-02 > PBT-10 > PBT-04 > PBT-07 > PB-02 > PBT-05 > PBT-09 > PBT-03 > PBT-01 > PBT-06. Como todos os compostos mostraram ser bons ligantes da albumina, o destaque fica para o PB-02 ($K_{sv} = 11,6 \times 10^4$) e o PBT-08 ($K_{sv} = 10,69 \times 10^4$). Ambos apresentando a presença do ligante cloro (–Cl), na posição R_1 , e somente para o PB-02 a presença de cloro em R_1 , mas ausência de substituição em R_2 (figura 5). Resultado semelhante ao encontrado por FILHO et al. (2019), que embora tenha usado a proteína BSA (albumina do soro bovino), também observou a importância da presença do cloro para ligação com a proteína.

Figura 5 - Espectro de fluorescência da HSA (10 μ M) exposta a diferentes concentrações dos derivados PB-02 e PBT-08.

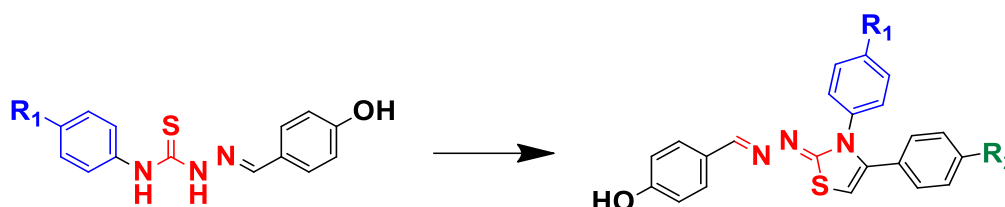


5.3.2.2 Estudos Fluorescentes com a sonda DAPI

As sondas fluorescentes estão em crescente utilização em investigações biológicas para interação com o DNA, podendo ser aplicadas em diversas áreas. Nos estudos envolvendo o DNA, as sondas podem auxiliar na identificação de compostos alvos, uma vez que conseguem interagir com o DNA por diferentes formas (ALVES et al., 2021). Uma dessas sondas que tem sido amplamente empregadas em estudos com o DNA é o 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI). Este composto apresenta diversas atividades biológicas como, antifúngica, antibacteriana e antiviral, podendo se ligar ao DNA por diferentes modos de ligação, sendo considerado uma importante ferramenta em biologia molecular (FARAHAT et al., 2017).

O DAPI apresenta alta afinidade e especificidade pelo sulco menor do DNA, que é uma região rica em sequências AT (adenina-timina). Sendo uma das características mais marcantes da formação desta ligação, o aumento da intensidade de fluorescência do complexo DNA-DAPI nos dados gerados e na constante do Ksv (PARAMESWARAN et al., 2021). Dessa forma, essa sonda foi utilizada em um experimento de competição, para investigação da capacidade de interação dos derivados tiazólicos com o sulco menor do DNA. Os dados dessa avaliação podem ser analisados na tabela 7.

Tabela 7 - Resultados de emissão fluorescente do complexo DAPI-ctDNA na presença de compostos.



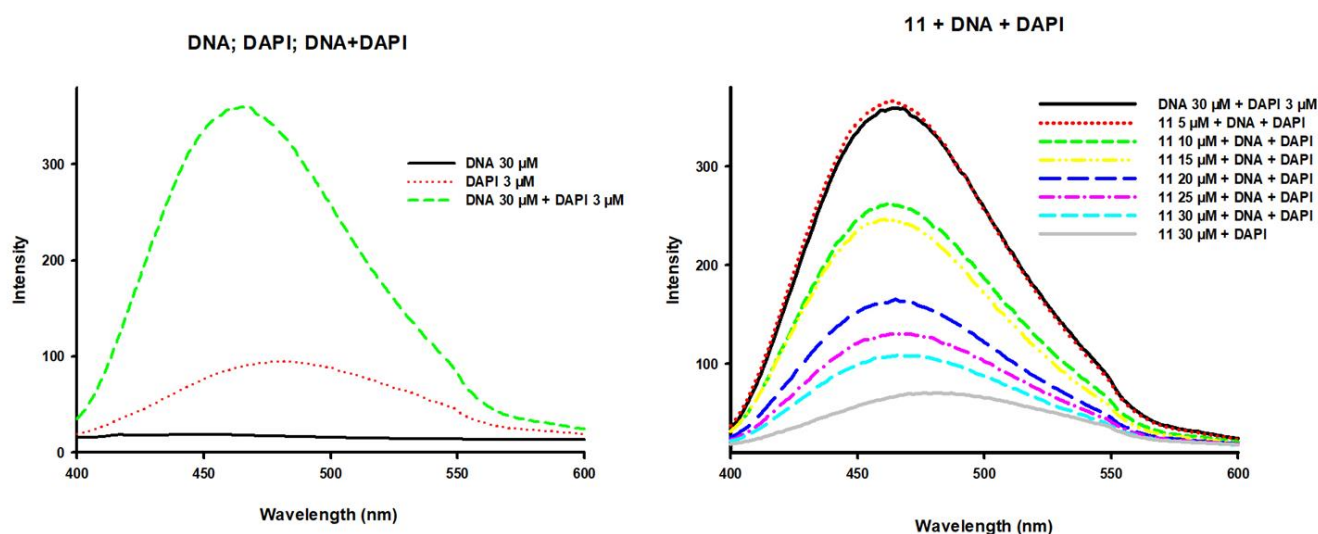
Compostos	Substituintes		$\lambda_{\text{máx livre}}$ (nm)	$\lambda_{\text{máx}}$ ligado(nm)	Hipocromismo (%)	Ksv (L/mol)
	R1	R2				
PB-01	-NO ₂	-	468	472	100	1,07 x10 ⁴
PB-02	-Cl	-	468	467	74,26	1,26 x10 ⁴
PBT-01	-NO ₂	-H	468	466	71,24	1,47x10 ⁴
PBT-02	-NO ₂	-NO ₂	468	473	100	5,25 x10 ⁴
PBT-03	-NO ₂	-Cl	468	465	49,77	1,19 x10 ⁴
PBT-04	-NO ₂	-Br	468	468	88,84	3,02 x10 ⁴
PBT-05	-NO ₂	-F	468	465	40,79	1,10 x10 ⁴
PBT-06	-Cl	-H	468	464	27,78	1,41 x10 ⁴
PBT-07	-Cl	-NO ₂	468	466	100	9,42 x10 ⁴
PBT-08	-Cl	-Cl	468	463	92,37	2,08 x10 ⁴
PBT-09	-Cl	-Br	468	464	52,99	1,16 x10 ⁴
PBT-10	-Cl	-F	468	458	35,38	1,65 x10 ⁴

Inicialmente deve-se levar em consideração que a emissão fluorescente do DAPI e do DNA em tampão, são baixas, quando realizada nas mesmas condições em que os complexos foram analisados. Após, formação do complexo DAPI-DNA, podemos observar a formação de pico significativamente maior (figura 8), na região de 468 nm, característico da ligação ao sulco (ALVES et al., 2021; ZAITSEV; KOWALCZYKOWSKI., 1998). Em seguida, podemos explorar o experimento de competição, após adição de concentrações crescentes dos derivados tiazólicos ao complexo DAPI-DNA.

Todos os compostos causaram mudanças nas características espectroscópicas do complexo. Como podemos observar, após adição dos compostos, houve desvio do pico máximo emissivo variando em média 1 a 10 nm. Esses desvios são denominados de efeito batocrômico (desvio para direita) e hipsocrômico (desvio para esquerda), que já sugerem a formação de complexo entre DNA-TIAZOL (ALVES et al., 2021). Da mesma forma, um outro efeito pode ser observado para todos os compostos testados, a diminuição da intensidade do pico emissivo, qualificado como efeito hipocrômico. Essa supressão de emissão fluorescente, pode ser observada na seguinte ordem de força: PBT-07 = PBT-02 = PB-01 > PBT-08 > PBT-04 > PB-02 > PBT-01 > PBT-09 > PBT-03 > PBT-05 > PBT-10 > PBT-06. O hipocromismo observado sugere que ambos os tiazóis, podem estar competindo com o sítio de ligação DAPI-DNA, ou supostamente, podem formar um complexo ternário no sulco menor do DNA (RAHMAN et al., 2017; ALVES et al., 2021).

Neste contexto, podemos destacar o derivado PBT-07, PBT-02 e PB-01, que além de causarem efeito hipocrômico de 100%, também apresentaram os maiores valores de constante de ligação (K_{sv}) de $9,42 \times 10^4$, $5,25 \times 10^4$, $1,07 \times 10^4$ respectivamente. Indicando a formação de complexos mais fortes com o DNA (figura 8).

Figura 6 - Espectro de fluorescência do controle DNA (30 μ M), DAPI (3 μ M), DAPI+DNA e espectro de fluorescência do derivado PBT-07 + DAPI (3 μ M) + DNA (30 μ M).

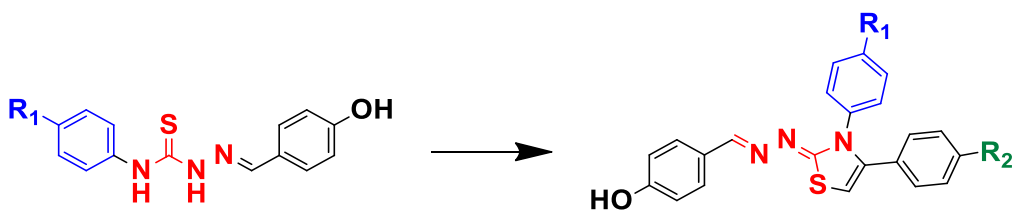


5.3.2.3 Estudos fluorescentes com a sonda laranja de acridina (LA)

O laranja de acridina (LA) é um corante fluorescente altamente utilizado em estudos com DNA. Esse corante, apresenta capacidade de interação com o ácido desoxirribonucleico por interação entre seus pares de bases, causando aumento de fluorescência, pela formação do complexo, característica que já é bem elucidada (SAYED; KRISHNAMURTHY; PAL., 2021; MENG et al., 2012). Além disso, ela consegue se ligar de forma eficiente tanto ao DNA de células vivas quanto ao DNA de células mortas, por isso é bastante utilizado em estudos de diversas áreas como biologia, medicina, engenharia (AMADO et al., 2017).

Desta forma, visando investigar o modo como os derivados tiossemicarbazonas e tiazolicos interagem com o DNA, um ensaio de competição por espectroscopia de fluorescência foi realizado, afim de determinar se os derivados aqui avaliados, apresentavam a capacidade de intercalação com o DNA, bem como o LA apresenta como um de seus mecanismos de ligação (AMADO et al., 2017). Os dados dessa avaliação podem ser analisados na tabela 8.

Tabela 8 - Resultados de emissão fluorescente do complexo laranja de acridina-ctDNA na presença de compostos.



Compostos	Substituintes		$\lambda_{\text{máx livre}}$ (nm)	$\lambda_{\text{máx ligado}}$ (nm)	Hipocromismo (%)	Ksv (L/mol)
	R1	R2				
PB-01	-NO ₂	-	526	526	3,9	5,9 x10 ³
PB-02	-Cl	-	526	526	12,96	3,8x10 ³
PBT-01	-NO ₂	-H	526	528	17,91	3,0 x10 ³
PBT-02	-NO ₂	-NO ₂	526	526	60,29	1,80 x10 ⁴
PBT-03	-NO ₂	-Cl	526	527	74,52	1,88x10 ⁴
PBT-04	-NO ₂	-Br	526	526	100	3,55x10 ⁴
PBT-05	-NO ₂	-F	526	527	16,81	2,0x10 ²
PBT-06	-Cl	-H	526	528	6,95	3,0 x10 ²
PBT-07	-Cl	-NO ₂	526	528	83,71	2,43x10 ⁴
PBT-08	-Cl	-Cl	526	528	84,52	2,8x10 ⁴
PBT-09	-Cl	-Br	526	528	3,5	3,0 x10 ²
PBT-10	-Cl	-F	526	528	31,59	5,0 x10 ³

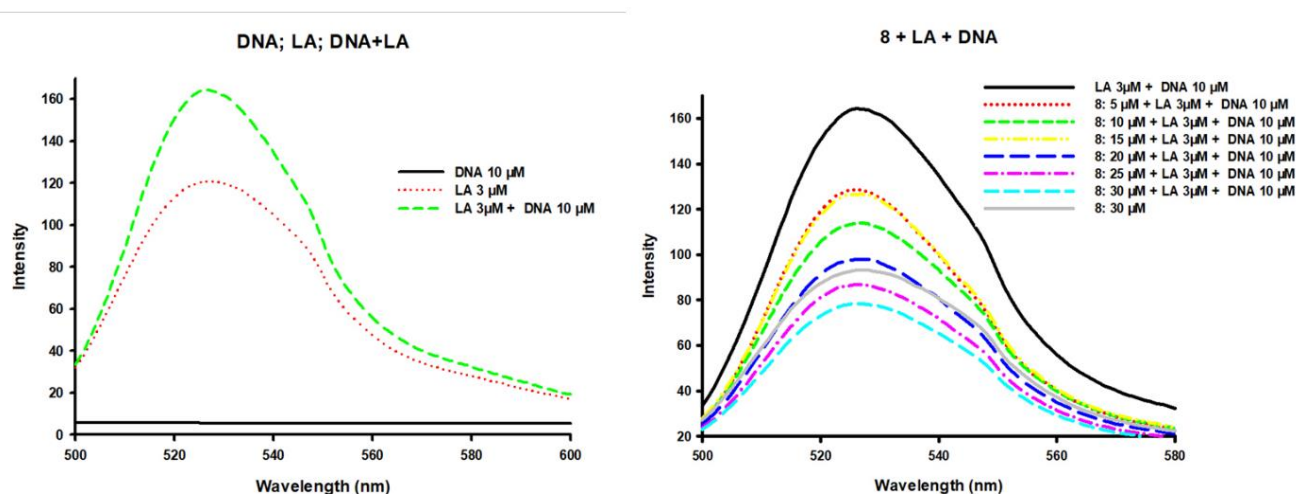
Como podemos observar os resultados foram semelhantes com a sonda anteriormente avaliada (DAPI), todos os compostos causaram mudanças no pico máximo emissivo do complexo LA+DNA. Isto pode ser confirmado ao observarmos, a fluorescência do DNA livre e do LA livre, que apresentam valores baixos, comparados a fluorescência após formação do complexo que aumentou acentuadamente (figura 9), confirmando que houve a intercalação com o DNA que já era esperada (BI et al., 2006).

Ao adicionar os derivados tiazólicos em concentrações crescentes no complexo LA-DNA, podemos verificar a supressão da fluorescência por todos os compostos, porém, identificamos poucas mudanças em relação ao pico máximo de emissão, que variou entre 1 e 2 nm. A presença do efeito hipocrômico, pode ser justificado por algumas hipóteses como, uma interação entre o LA intercalado e os tiazóis ou a exclusão do LA do complexo e a substituição pelos tiazóis, levando a uma diminuição da intensidade de fluorescência por competição dos sítios de interação, contudo, ambas hipóteses afirmam que as tiossemicarbazonas e os tiazóis podem interagir por intercalação com o DNA (BI et al., 2006; HUANG; WANG., 2012).

Em relação aos valores da constante de supressão fluorescente (K_{sv}), os resultados indicam que os compostos que causaram maior extinção da fluorescência seguiram a seguinte ordem: PBT-04 > PBT-08 > PBT-07 > PBT-03 > PBT-02 > PBT-10 > PBT-01 > PBT-06 = PBT-09 > PBT-05. Como podemos observar o PBT-04 apresentou a maior supressão fluorescente com K_{sv} de $3,55 \times 10^4$, sugerindo ser o composto que intercalou ao DNA de forma mais forte, além do mais, todos os compostos da série apresentaram constantes de ligação dentro da faixa de ligantes intercaladores. Segundo Plsikova, et al. (2012) derivados tiazólicos apresentam K_{sv} nas faixas de 10^4 a 10^6 M^{-1} demonstrando intercalação com o DNA.

Desta forma, os ensaios de competição com as sondas e o DNA, indicam que todos os derivados tiazólicos avaliados, podem competir pelos sítios de ligação do DNA. Entretanto a probabilidade de ligações no sulco é mais esperada, isto ocorre porque apesar da constante de ligação para ambas as sondas se apresentarem na mesma magnitude (10^4 a 10^6 M^{-1}), os valores referentes à competição pelo sítio do DAPI são maiores, em relação aos do sítio do LA. Essa comparação pode ser ainda mais enfatizada quando comparamos o melhor composto do ensaio com DAPI, o PBT-07 ($K_{sv} = 9,42 \times 10^4$), com o melhor composto do ensaio com o LA, o PBT-04 ($K_{sv} = 3,55 \times 10^4$), (ALVES et al., 2021).

Figura 7 - Espectro de fluorescência do controle DNA (30 μ M), DAPI (3 μ M), LA + DNA e espectro de fluorescência do derivado PBT-04 + LA (3 μ M) + DNA (30 μ M).



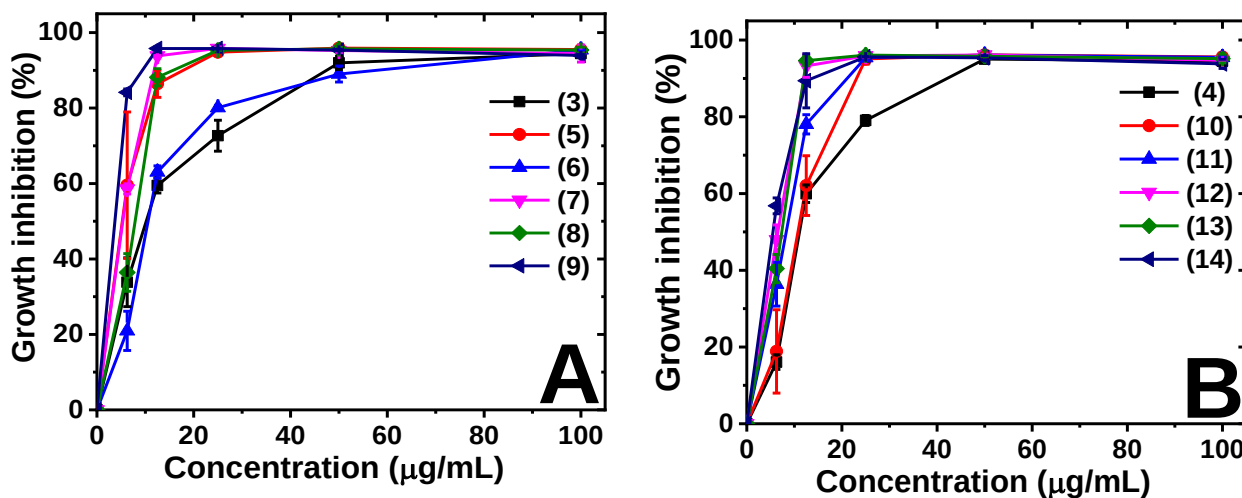
De acordo com Alamshany & Nossier (2024) compostos que interfiram na estrutura do DNA microbiano e de suas enzimas de replicação, corroboram para o combate a resistência microbiana, uma vez que os microrganismos não conseguirão entrar no ciclo celular. E com os dados e resultados apresentados nas atividades *in silico* e de interação com o DNA e proteínas, os compostos do presente trabalho possuem a capacidade ligação com as estruturas testadas, sendo este um caminho do seu mecanismo de ação frente as cepas microbianas.

5.3.3 Avaliação da citotoxicidade promovida pelos compostos frente a células de macrófagos J774

Os ensaios de citotoxicidade *in vitro* é uma etapa importante para o estudo de novos fármacos (GOMHA, et al., 2022), pois possibilita investigar características tóxicas e a afinidade com o alvo proposto. A toxicidade seletiva é uma propriedade importante que os antibióticos aprovados e os novos compostos antimicrobianos devem possuir, a capacidade de inibição do alvo sem causar danos aos tecidos do hospedeiro é importante para verificar no início do processo de descoberta de um antimicrobiano (MOHAMMAD et. al., 2015).

Os compostos tiossemicarbazonas na Figura 8 estão as curvas de inibição de crescimento e na figura 9 a produção de óxido nítrico (na metodologia empregada) em relação a concentração dos compostos.

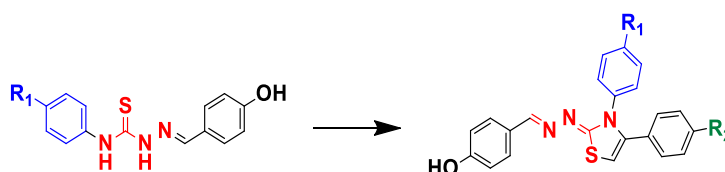
Figura 8 - Curvas de citotoxicidade frente a células de macrófagos J774 promovida pelos compostos sintetizados.



Curvas obtidas para os compostos (A) 3 (PB-01), 5 (PBT-01), 6 (PBT-02), 7 (PBT-03), 8 (PBT-04) e 9 (PBT-05) e curvas obtidas para os compostos (B) 4, 10 (PBT-06), 11 (PBT-07), 12 (PBT-08), 13 (PBT-09) e 14 (PBT-10) respectivamente.

Os resultados apresentados pelas Figura 10A e 10B mostram que os compostos avaliados promovem aumento da citotoxicidade com o aumento da concentração. Com estes resultados foi possível determinar o IC_{50} (concentração capaz de inibir o crescimento celular em 50%) como apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Resultados de citotoxicidade promovido pelos compostos sintetizados neste estudo frente a células de macrófagos J774.



Compostos	Substituintes		IC ₅₀	
	R1	R2	µg/mL	µM
PB-01	-NO ₂	-	17,76 ± 1,7	49,15
PB-02	-Cl	-	18,74 ± 0,1	61,28
PBT-01	-NO ₂	-H	7,57 ± 3,4	18,60
PBT-02	-NO ₂	-NO ₂	18,34 ± 1,0	39,76
PBT-03	-NO ₂	-Cl	5,80 ± 0,2	12,86
PBT-04	-NO ₂	-Br	10,79 ± 1,1	21,78
PBT-05	-NO ₂	-F	4,67 ± 0,3	10,75
PBT-06	-Cl	-H	16,36 ± 2,2	25,52
PBT-07	-Cl	-NO ₂	12,15 ± 1,2	26,95
PBT-08	-Cl	-Cl	8,00 ± 1,2	18,17
PBT-09	-Cl	-Br	9,12 ± 0,4	18,81
PBT-10	-Cl	-F	6,88 ± 1,6	16,23
Média ± Desvio padrão				

As tiossemicarbazonas apresentaram IC₅₀ variando de 49,15 a 61,28 µM com características menos tóxicas quando comparados aos compostos tiazólicos que apresentaram IC₅₀ variando de 10,75 a 39,76 µM. O composto PB-02 foi a tiossemicarbazona e o composto da série que apresentou característica menos tóxicas com IC₅₀ de 61,28 µM em relação aos demais. Dentre os tiazóis menos tóxico foi o PBT-02 apresentou IC₅₀ de 39,76 µM.

Apesar dos demais compostos apresentarem toxicidade moderada, em sua estrutura apresentam neutros, doadores de elétrons e receptores de elétrons que acarretam em um fraco desempenho na citotoxicidade (BAIG, et al., 2018) frente a algumas linhagens de células, o que não interfere na sua capacidade de seletividade com o alvo proposto.

A ciclização (metodologia empregada para formação dos tiazóis no presente estudo) contribuiu para o aumento da toxicidade de tiazóis, pois os pontos de interação da porção da

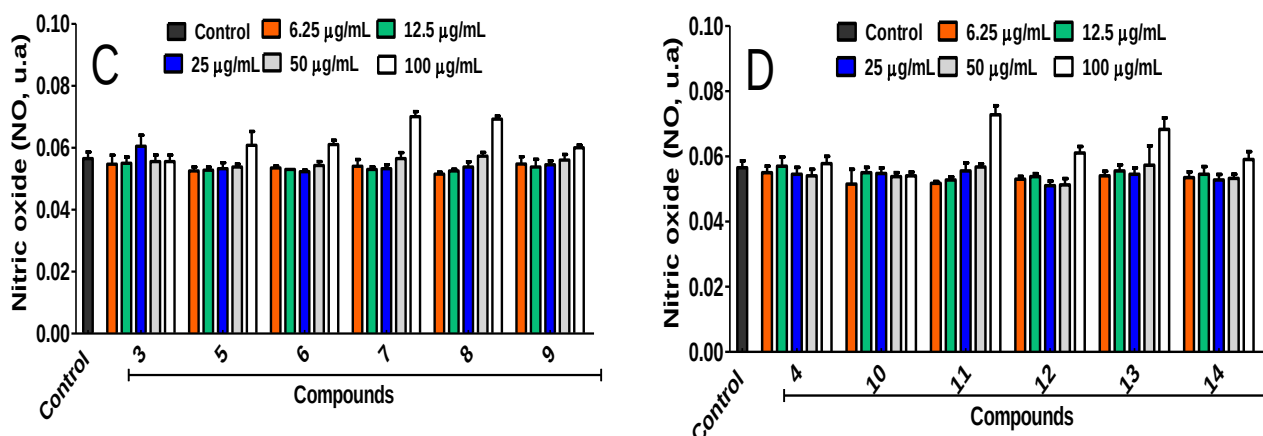
tiossemicarbazona com o meio biológico, foram perdidos. Apesar da interação perdida os tiazóis ciclizados apresentam as bases de Schiff com o grupo azometina ($-C=N-$), que corroboram para a atividade citotóxica frente a linhagens transformadas (SAFFOUR, et al., 2024). Mirza et. al. (2017) destacam que os substituintes influenciam diretamente nesta atividade, principalmente os halogênios na posição *para* de anéis aromáticos, apesar da toxicidade apresentada para células não transformadas, podem gerar boa atividade para células transformadas.

A literatura apresenta diferentes valores de citotoxicidade frente a células de macrófagos J774, as tiossemicarbazonas e tiazóis. Dentre os trabalhos podemos citar os realizados por: Aliança et al. (2021) avaliando a citotoxicidade de derivados ftalimido-tiazol obtiveram IC_{50} variando de 112,9 a 1582,9 μM : Almeida et al. (2019) avaliando indol-3-il-tiossemicarbazonas obtiveram IC_{50} variando de 6,2 a 16,57 μM e Jacob et al. (2021) avaliando compostos de tiossemicarbazona à base de indol obtiveram IC_{50} variando de 7,0 a valores maiores que 75 μM , os resultados apresentados mostram que os valores de IC_{50} variam de acordo com a estrutura química base propostas, mas seus substituintes corroboram diretamente com esta atividade.

A produção do óxido nítrico como atividade correlacionada a baixa toxicidade dos compostos, torna-se uma ferramenta no combate a cepas microbianas, sendo um componente que auxilia as células de mamíferos em reações imunológicas e nos mecanismos de defesa contra microrganismos exercidos pelos macrófagos (CERQUEIRA, et al., 2002). Derivados de tiossemicarbazonas e de tiazóis demonstram potencial no auxílio da liberação do óxido nítrico por macrófagos, entretanto esta característica está ligada aos substituintes da cadeia principal (SILVA, et al., 2020).

O óxido nítrico produzido por auxílio de tiossemicarbazonas e tiazóis ajudam no combate frente a microrganismos resistentes e protozoários como *Leishmania infantum* (QUEIROZ, et al., 2020). Entretanto os compostos do presente trabalho demonstram um aumento não significativo na linhagem de macrófago utilizada, acredita-se que por apresentarem perfis de toxicidade frente a linhagem não foi possível ajudar a mediar a produção do óxido nítrico (Resultados na figura 11 – C e D).

Figura 9 - Níveis de óxido nítrico produzido pelos macrófagos em contato com os compostos (tiossemicarbazonas e tiazol)



Compostos: 3 (PB-01), 5 (PBT-01), 6 (PBT-02), 7 (PBT-03), 8 (PBT-04) e 9 (PBT-05) em C e curvas obtidas para os compostos 4, 10 (PBT-06), 11 (PBT-07), 12 (PBT-08), 13 (PBT-09) e 14 (PBT-10) em D respectivamente.

5.3.4 Atividade Antimicrobiana

O composto tiossemicarbazona PB-01 (Tabela 10) apresentou atividade antibacteriana frente as cepas de *S. aureus* UFPEDA-02, *A. baumannii* UFPEDA-1024, *P. aeruginosa* UFPEDA-26 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416, com CIM variando de 75 a 150 µg/mL e CBM variando de 75 a > 150 µg/mL, porém não apresentou atividade diante das demais cepas bacterianas. Comportamento similar ao apresentado pelo composto PB-01, também foi observado em seus compostos derivados de PBT-01 a PBT-05, porém apenas o composto PBT-05 foi capaz de inibir o crescimento de *E. faecalis* UFPEDA-13802 com CIM de 150. Todos os compostos tiazóis derivados do composto PB-01 apresentaram atividade diante das cepas de *A. baumannii* UFPEDA-1024 (CMI's em µg/mL: PBT-01 75; PBT-02 150; PBT-03 150; PBT-04 150; PBT-05 150), *P. aeruginosa* UFPEDA-261 (CMI's em µg/mL: PBT-01 37,5; PBT-02 75; PBT-03 75; PBT-04 75; PBT-05 75), e *P. aeruginosa* UFPEDA-416 (CMI's em µg/mL: PBT-01 37,5; PBT-02 75; PBT-03 75; PBT-04 75; PBT-05 75), com destaque para o composto PBT-01 que demonstrou CIM de 37.5 µg/mL diante das duas cepas de *P. aeruginosa*. Estes compostos ainda apresentaram CMB's que variara, de 150 a 75 µg/mL frente as cepas de *A. baumannii* UFPEDA-1024, *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416. Destacando os compostos PBT-01 a PBT-05 que obtiveram 75 µg/mL para as cepas citadas.

O composto tiossemicarbazona PB-02 (Tabela 11) apresentou atividade diante de todas as cepas ensaiadas, tanto para as bactérias gram-positivas como para as gram-negativas, com CIM e CBM variando de 37.5 a 150 µg/mL, com destaque para a atividade diante da cepa *S. aureus* UFPEDA-709, uma vez que esta cepa foi caracterizada como *S. aureus* meticilina resistente (SARM) (CIM oxacilina - 512 µg/mL). Os compostos tiazóis derivados do composto PB-02 apresentaram atividade diante da maioria das cepas ensaiadas com CIM variando de 37.5 a 150 µg/mL e CMB 75 a 150 µg/mL, com destaque para o composto PBT-08, que apresentou atividade antibacteriana diante de todas as cepas, com exceção de *E. faecalis* UFPEDA-69, além disso este composto demonstrou CIM de 37.5 µg/mL e CMB de 75 µg/mL para a cepa *P. aeruginosa* UFPEDA-261. Podemos destacar ainda que os compostos PBT-06 ao PBT-10 apresentaram inibição para *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416 com CIM de 37,5 a 75 µg/mL e CMB de 75 µg/mL. Para cepa de *A. baumannii* UFPEDA-1024 os compostos PBT-06, PBT-07 e PBT-08 apresentam CIM de 150 µg/mL e CMB de 150 µg/mL.

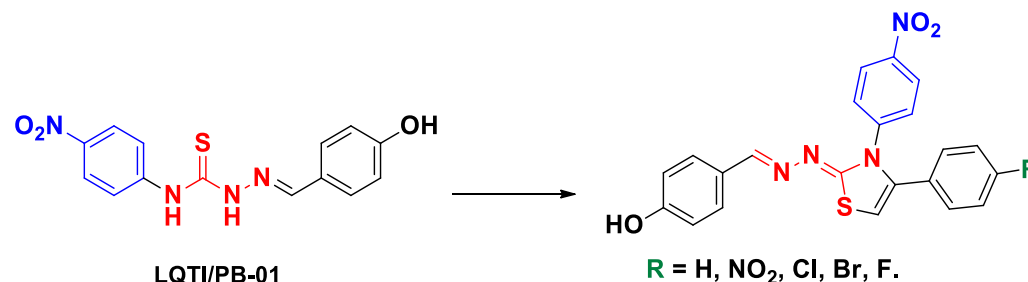
Estudo desenvolvido por Khan & Asiri (2018) relataram atividade antibacteriana de derivados esteroides/tiossemicarbazona, diante de bactérias Gram positivas e Gram negativas, apresentaram CIM de 32 a 128 µg/mL, corroborando com os dados encontrados neste estudo, já que os compostos testados apresentaram um espectro de ação semelhante. Trotsko, et al. (2018) demonstrou a atividade antibacteriana de 17 compostos derivados de clorofeniltiossemicarbazona diante de espécies de bactérias Gram positivas (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus* e *Micrococcus luteus*), com CIMs variando de 3,91 a 500 µg/mL, porém não foi identificada nesse estudo atividade diante de bactérias Gram negativas.

Os compostos tiazóis, derivados dos compostos PB-01 e PB-02, apresentaram resultados promissores, uma vez que todos foram capazes de inibir o crescimento *in vitro* das cepas de *P. aeruginosa* UFPEDA-261, *P. aeruginosa* UFPEDA-416 e *A. baumannii* UFPEDA-1024. Segundo lista da Organização mundial da saúde (OMS, 2017), as espécies *P. aeruginosa* e *A. baumannii* são consideradas prioridades para o desenvolvimento de novos antibióticos, uma vez que apresentam importantes perfis de resistência. O Boletim Epidemiológico da Secretária de Saúde (BRASIL, 2024) aponta que cepas de *P. aeruginosa* e *A. baumannii* precisam ser combatidas para que seus genes de resistência não sejam passados adiante.

Os compotos PBT-08, PBT-09 e PBT-10 apresentam inibição para cepa *S. aureus* UFPEDA-709, com CIM 75 µg/mL e CMB de 150 µg/mL, demonstrando uma importante atividade, uma vez que esta cepa apresenta resistência a meticilina (SARM), o que a torna resistente a múltiplas drogas, em especial todos os antibióticos β-lactâmicos tendo poucas opções terapêuticas disponíveis para seu tratamento (SADANI, et al., 2020), demonstrando potencial para novos fármacos frente a esse microrganismo.

A razão CMB/CIM apresenta o perfil das moléculas testados, que podem ser classificadas em bactericidas (razão CMB/CMI ≥ 8) e bacteriostáticas (razão CMB/CMI ≥ 4) (TROTSKO, et. al., 2018). A maioria dos compostos testados apresentaram atividade bactericida constatada pela razão CBM/CIM, com destaque para o composto PB-02 que apresentou característica bactericida para todas as cepas testadas (*E. faecalis* UFPEDA-69: 1; *E. faecalis* UFPEDA-138: 4; *S. aureus* UFPEDA-02: 4; *S. aureus* UFPEDA-709: 2; *A. baumannii* UFPEDA-1024: 1; *P. aeruginosa* UFPEDA-261: 1; *P. aeruginosa* UFPEDA-416: 1). Todos os compostos tiazóis da série proposta apresentaram atividade bactericida para *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416, apresentando razão de CBM/CIM que variaram de 1 a 2.

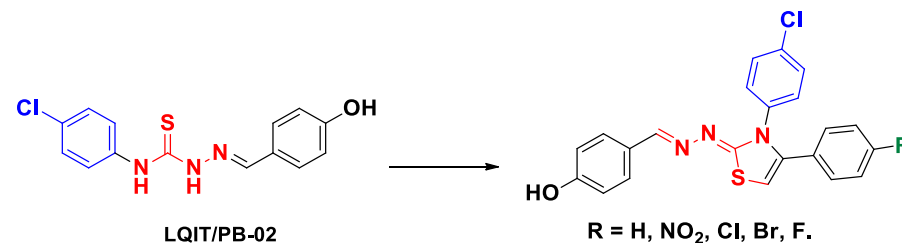
Tabela 10 - Concentração inibitória mínima (CMI) e concentração bactericida mínima (CBM) (expressos em µg/mL e µM) para os compostos tiossemicarbazona PB-01 e seus tiazóis correspondentes PBT-01 a PBT-05.



Compostos		Bactérias Gram positivas								Bactérias Gram negativas					
		<i>E. faecalis</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. aureus</i>		<i>A. baumannii</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		UFPEDA-69	UFPEDA-138	UFPEDA-138	UFPEDA-138	UFPEDA-02	UFPEDA-02	UFPEDA-709	UFPEDA-709	UFPEDA-1024	UFPEDA-1024	UFPEDA-261	UFPEDA-261	UFPEDA-416	UFPEDA-416
		CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
LQIT/PB-01	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
LQIT/PBT-01	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
LQIT/PBT-02	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
LQIT/PBT-03	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
LQIT/PBT-04	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
LQIT/PBT-05	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
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	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: Amp+Sulbac – Ampicilina combinada a Sulbactam; R – Resistente; S – Sensível; I – Resistência intermediária

Tabela 11 - Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) (expressos em µg/mL e µM respectivamente) do composto tiossemicarbazona PB-02 e seus tiazóis correspondentes PBT-06 ao PBT-10.



Compostos		Bactérias Gram positivas								Bactérias Gram negativas					
		<i>E. faecalis</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. aureus</i>		<i>A. baumannii</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		UFPEDA-69		UFPEDA-138		UFPEDA-02		UFPEDA-709		UFPEDA-1024		UFPEDA-261		UFPEDA-416	
		CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
LQIT/PB-02	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
LQIT/PBT-06	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
LQIT/PBT-07	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
LQIT/PBT-08	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
LQIT/PBT-09	µg/mL	> 150	> 150	> 150	> 150	150	150	75	150	75	> 150	75	75	37.5	75
	µM	> 311	> 311	> 311	> 311	311	311	155	311	155	> 311	155	155	78	155
LQIT/PBT-10	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	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: CIM – Concentração inibitória mínima; CBM – Concentração bactericida mínima; Amp+Sulbac – Ampicilina combinada a Sulbactam; R – Resistente; S – Sensível; I – Resistência intermediária

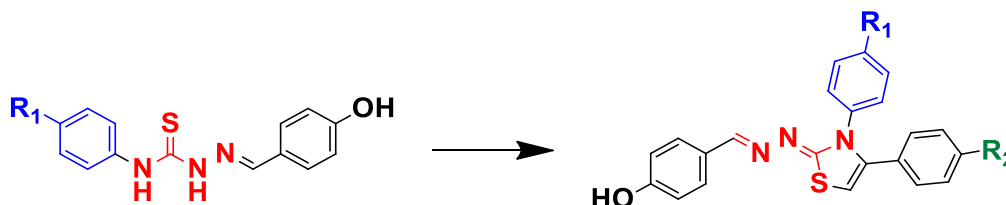
Os resultados apresentados na Tabela 11 mostram que a tiossemicarbazona (composto PB-02) apresentou atividade antifúngica, com CIM variando de 12.5 a 50 µg/mL e CMF de 50 a 100 µg/mL, com destaque para a atividade diante da cepa *C. albicans* UFPEDA-1007, onde o composto apresentou CIM de 12.5 µg/mL, este resultado quando comparado a CIM do fluconazol 16 µg/mL para esta cepa, mostra que a atividade do composto PB-02 é promissora, uma vez que esta cepa demonstrou ter sensibilidade reduzida ao fluconazol (Tabela 11). Destaca-se ainda que, o composto PB-02 foi o único que apresentou atividade diante da cepa *C. glabrata* UFPEDA-6393 com CIM de 50 µg/mL.

Resultados de atividade antifúngica de derivados semelhante estruturalmente com as tiossemicarbazonas e tiazóis em estudo também se destacaram diante de *C. albicans* (PHAM, et al., 2020; OPLETALOVA, et al., 2016). Onde demonstram atividade diante desta espécie apresentando CIMs dos compostos variando de 6,25 a 25 µg/mL. Neste estudo, obtivemos resultados próximos variando 12,5 a 50 µg/mL.

A atividade antifúngica dos tiazóis, foi bastante promissora na inibição do crescimento de *C. albicans* UFPEDA-1007 e *C. guilliermondii* UFPEDA-6390, com destaque para o composto PBT-05, que apresentou as menores CIMs (25 e 12,5 µg/mL respectivamente) diante destas duas cepas, quando comparada com as CIMs dos demais compostos tiazóis. Além disso, os compostos PBT-01 a PBT-10 apresentaram atividade antifúngica diante de *C. guilliermondii* UFPEDA-6390 com CIM que variaram de 12.5 a 100 µg/mL a CMF para esta cepa, podemos destacar os compostos: PBT-01 (100 µg/mL), PBT-02 (50 µg/mL), PBT-05 (50 µg/mL), PBT-08 (50 µg/mL) e PBT-09 (100 µg/mL).

Para a razão CMF/CIM o perfil das moléculas testados, que podem ser classificadas em fungicida (razão CMF/CMI ≥ 8) e fungistático (razão CMF/CMI ≥ 4) (ARAÚJO-NETO et al., 2017; TROTSKO, et. al., 2018). O composto PB-02 obteve para *C. albicans* UFPEDA-1007 CMF/CIM = 8 e *C. glabrata* UFPEDA-6393 CMF/CIM = 1, apresentando um perfil fungistático para *C. albicans* e fungicida para *C. glabrata*, resultados próximos que foi observado por ARAÚJO-NETO et al. (2017).

Tabela 12 - Atividade antifúngica promovida pelos compostos sintetizados frente a diferentes espécies de leveduras. os resultados de concentração inibitória mínima e concentração fungicida mínima foram expressos em µg/mL e µM, respectivamente.



Compostos			<i>C. albicans</i> UFPEDA-1007				<i>C. glabrata</i> UFPEDA-6393				<i>C. guilliermondii</i> UFPEDA-6390			
	R1	R2	CIM		CFM		CIM		CFM		CIM		CFM	
			µg/mL	µM	µg/mL	µM	µg/mL	µM	µg/mL	µM	µg/mL	µM	µg/mL	µM
PB-01	-NO ₂	-	> 100	> 316	> 100	> 316	> 100	> 316	> 100	> 316	>100	> 316	> 100	> 316
PB-02	-Cl	-	12.5	41	100	330	50	165	50	165	12.5	41	> 100	> 330
PBT-01	-NO ₂	-H	50	120	> 100	> 240	> 100	> 240	> 100	> 240	50	120	100	240
PBT-02	-NO ₂	-NO ₂	> 100	> 217	> 100	> 217	> 100	> 217	> 100	> 217	25	54	50	108
PBT-03	-NO ₂	-Cl	> 100	> 222	> 100	> 222	> 100	> 222	> 100	> 222	100	222	> 100	> 222
PBT-04	-NO ₂	-Br	25	51	> 100	> 202	> 100	> 202	> 100	> 202	50	101	> 100	> 202
PBT-05	-NO ₂	-F	25	58	> 100	> 230	> 100	> 230	> 100	> 230	12.5	29	50	115
PBT-06	-Cl	-H	> 100	> 247	> 100	> 247	> 100	> 247	> 100	> 247	100	247	> 100	> 247
PBT-07	-Cl	-NO ₂	> 100	> 222	> 100	> 222	> 100	> 222	> 100	> 222	25	56	> 100	> 222
PBT-08	-Cl	-Cl	50	114	> 100	> 228	> 100	> 228	> 100	> 228	25	57	50	114
PBT-09	-Cl	-Br	50	104	> 100	> 207	> 100	> 207	> 100	> 207	50	104	100	207
PBT-10	-Cl	-F	50	118	> 100	> 236	> 100	> 236	> 100	> 236	25	59	> 100	> 236
Fluc.	-	-	16 (SSD)	52			8 (S)	26			4 (S)	13		

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

Observamos que 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. Desta forma, a relação entre a estrutura química e a atividade biológica dos derivados revela

que os efeitos eletrônicos e de volume dos substituintes, contribuíram para perfil antimicrobiano e antifúngico promissor.

O grupo 4-NO₂-fenil do tiossemicarbazona PB-01, possui um efeito -I e -M sendo um grupo fortemente retirador de elétrons. Já o grupamento 4-Cl-fenil da tiossemicarbazona PB-02, apresenta os efeitos -I e +M, sendo considerado um fraco retirador de elétrons. Essas diferenças de efeitos não foram relevantes para o aumento da lipofilicidade dos compostos, tendo os valores de LogP 2,43 e 2,80, respectivamente. Contudo, conduziram a efeitos bactericidas distintos, enquanto que o composto PB-01 foi ativo apenas para cepas de *A. baumannii* UFPEDA-1024, *P. aeruginosa* UFPEDA-26 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416, com CIM variando de 75 µg/mL e CBM variando de 75 a > 150 µg/mL. O composto PB-02 apresentou atividade para *E. faecalis* UFPEDA-138, *S. aureus* UFPEDA-02, *S. aureus* UFPEDA-709, *A. baumannii* UFPEDA-1024, *P. aeruginosa* UFPEDA-261, *P. aeruginosa* UFPEDA-416 com CIM e CBM variando de 37.5 a 150 µg/mL.

Os derivados tiazóis PBT-01 a PBT-05, oriundos da tiossemicarbazona PB-01, além dos substituintes 4-NO₂ e 4-OH já existentes na molécula, ao serem ciclizados com acetofenonas substituídas, adicionam em sua estrutura no C4 do tiazol mais um anel fenil não substituído ou com diferentes substituintes na posição 4 (NO₂, Br, Cl e F). A ausência de substituinte no fenil do C4 - tiazol, o composto PBT-01, e a presença de um grupo fortemente retirador de elétrons o (-NO₂) no composto PBT-02, levou a alterações sutis na lipossolubilidade das moléculas. O composto PBT-01 se mostrou menos lipossolúvel que o PBT-02 tendo os compostos valores de LogP 2,83 e 1,98, respectivamente. Apesar dessa pequena variação no LogP, o composto PBT-01 se mostrou mais efetivo com CIM de 37.5 µg/mL diante das cepas *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416, enquanto que o PBT-02 para esses mesmos microrganismos demonstrou CIM variando de 75 a 150 µg/mL.

Em contrapartida, nos tiazóis de PBT-03 a PBT-05, e a inserção de halogênios em posição 4 do fenil C4 do tiazol. não afetou as propriedades farmacocinéticas dos compostos que foram preservadas dentro dos parâmetros de ADME desejados. Podendo observar apenas uma diminuição da lipossolubilidade em relação aos compostos PBT-01 e PBT-02. Os efeitos -I e +M dos halogênios nessa porção da molécula não contribuíram para uma melhora na atividade bactericida dessa série de compostos demonstrando CIM variando de 75 a 150 µg/mL.

Já os derivados tiazóis PBT-06 a PBT-10, oriundos da tiossemicarbazona (composto PB-02), apresentaram atividade diante da maioria das cepas ensaiadas com CIM variando de 37.5 a > 150 µg/mL. Sendo possível destacar o composto PBT-08 substituído com 4-Cl-fenil do C4-tiazol tendo CIM de 37.5 µg/mL para a cepa *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e para o composto PBT-09 substituído com 4-Br-fenil do C4-tiazol tendo CIM de 37.5 µg/mL para a cepa *P. aeruginosa* UFPEDA-416. A inserção desses halogênios nas moléculas descritas não determina efetivamente sua atividade farmacológica, uma vez que as características intrínsecas das moléculas poderão ser influenciadas e é resultante do meio em que a molécula se insere e interage (GUIDO, et al., 2008).

Segundo Mohammad et al. (2015) a substituição de cadeias laterais de derivados tiazol por substituintes polares hidrofóbicos, como um grupo acetila e ou um flúor resultam em compostos com promissores resultados antimicrobianos. ZHAO, et al. (2016) destacam que os halogênios presentes nas moléculas orgânicas contribuem para atividade antimicrobiana, principalmente quando associados a porções fenólicas. Os compostos da série apresentam as características estruturais mencionadas por Mohammad et al. (2015) e ZHAO, et al. (2016).

A resposta da atividade antifúngica para esses compostos reforça a potencialidade da tiossemicarbazona PB-02 como um promissor antimicrobiano. A presença de halogênios com efeitos -I e +M no fenil parece conduzir uma melhora da atividade antifúngica. O 4-Cl-fenil presente no PB-02 proporcionou uma CIM variando de 12.5 a 50 µg/mL diante de diferentes espécies de *Candida*. Tendo como destaque a inibição frente a *C. albicans* UFPEDA-1007, onde o composto apresentou CIM de 12.5 µg/mL, sendo melhor que o fluconazol, fármaco de referência, que teve CIM de 16 µg/mL.

A atividade antifúngica dos tiazóis derivados das tiossemicarbazonas, foram promissoras na inibição do crescimento de *C. albicans* UFPEDA-1007 e em especial *C. guilliermondii* UFPEDA-6390, onde tiveram CIM que variaram de 12.5 a 100 µg/mL. Com destaque para o composto PBT-05 que apresentou MIC de 25 µg/mL e 12.5 µg/mL diante destas duas cepas respectivamente. De acordo Łączkowski, et al. (2018) a atividade antifúngica está correlacionada ao anel tiazol com a presença das bases de Schiff e dos substituintes flúor, cloro e bromo empregados nas moléculas.

6 CONCLUSÃO

- Os compostos da série proposta foram sintetizados e caracterizados com metodologia de síntese eficiente (rápida obtenção dos intermediários e compostos finais), onde apresentaram características físico-químicas, grau de pureza e rendimentos satisfatórios;
- As tiossemicarbazonas e os tiózios apresentaram propriedades moleculares desejáveis respeitando as regras propostas por Lipinski e Veber;
- Os efeitos citotóxicos foram apresentados nos compostos na série, sendo o composto LQIT/PB-02 o menos citotóxico na série proposta;
- Para atividade antioxidante os compostos da série apresentaram efeitos fracos, moderados e fortes nas metodologias empregadas. Destacando o LQIT/PB-01 como forte candidato a fármaco antioxidante;
- Nos estudos de interação com a HSA, todos os compostos da série apresentaram boa interação com a proteína, corroborando com os dados *in silico*. As tiossemicarbazonas quanto os tiazóis são de boa absorção e dispersão no meio biológico;
- Na interação com DNA foi observado que todos os compostos da série formam interação nos sulcos do DNA, como observado na competição com a sonda DAPI, sendo este um bom indício de mecanismo de ação frente aos microrganismos;
- A atividade antimicrobiana podemos destacar o composto LQIT/PB-02 como o composto mais promissor, onde apresentou atividade para cepas *E. faecalis*, *S. aureus*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*; *C. glabrata*, *C. guilliermondii*. Outros compostos de destaque são LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09 e LQIT/PBT-10 com atividade promissoras para as cepas de *A. baumannii* e *P. aeruginosa*. O composto LQIT/PBT-05 se destacou na atividade antifúngica frente a *C. albicans* e *C. guilliermondii*.

Em vista de todos os resultados obtidos no presente trabalho, podemos afirmar que o derivado LQIT/PB-02 apresenta características de fármaco antimicrobiano de amplo espectro, com seletividade de alvo (sendo ainda um composto de rápida obtenção, alto rendimento, boas características de absorção, distribuição e excreção).

7 REFERÊNCIAS

- A. A. Pund, M. H. Shaikh, B. G. Chandak, V. N. Bhosale, B. K. Magare. Pyridine-1,3,4-Thiadiazole-Schiff Base Derivatives, as Antioxidant and Antimitotic Agent: Synthesis and in Silico ADME Studies. *Polycycl. Aromat. Compd.*, (2022) 1-16.
<https://doi.org/10.1080/10406638.2022.2026988>.
- A. Ayati, S. Emami, A. Asadipour, A. Shafiee, A. Foroumadi. Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery. *Eur. J. Med. Chem.*, 97 (2015) 699-718. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.015>.
- A. R. Oliveira, F. A. dos Santos, L. P. L. Ferreira, M. G. R. Pitta; M. V. O. Silva, M. V. O. Cardoso, A. F. Pinto, P. Marchand, M. J. B. M. Rêgo, A. C. L. Leite. Synthesis, anticancer activity and mechanism of action of new phthalimido-1,3-thiazole derivatives. *Chem.-Biol. Interact.*, 347 (2021) 109597. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109597>.
- A. A. da Silva, P. I. da S. Maia, C. D. Lopes, S. de Albuquerque, M. S. Valle. Synthesis, characterization and antichagasic evaluation of thiosemicarbazones prepared from chalcones and dibenzalacetones. *J. Mol. Struct.*, 1232 (2021) 130014.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130014>.
- A. Daina, O. Michielin, V. Zoete. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.*, 7(1) (2017) 1-13. DOI: 10.1038/srep42717.
- A. Kumar, S. G. Kini, E. Rathi. A recent appraisal of artificial intelligence and in silico ADMET prediction in the early stages of drug discovery. *Mini Rev. Med. Chem.*, 21(18) (2021) 2788-2800. <https://doi.org/10.2174/1389557521666210401091147>.
- A. M. Clark, K. Dole, A. Coulon-Spector, A. McNutt, G. Grass, J. S. Freundlich, R. C. Reynolds, S. Ekins. Development and sharing of ADME/Tox and drug discovery machine learning models. *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.*, 250 (2015) 1155 16TH ST, NW, WASHINGTON, DC 20036 USA: AMER CHEMICAL SOC.
- A. D. T. O. Moraes, M. D. S. Miranda, Í. T. T. Jacob, C. A. C. Amorim, R. O. Moura, S. Â. S. Silva, M. B. P. Soares, S. M. V. Almeida, T. R. C. L. Souza, J. F. Oliveira, T. G. Silva, C. M. L. Melo, D. R. M. Moreira, M. C. A. Lima. Synthesis, in vitro and in vivo biological evaluation, COX-1/2 inhibition and molecular docking study of indole-N-acylhydrazone

derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, 26(20) (2018), 5388-5396.

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.07.024>.

A. A. Geronikaki, E. P. Pitta, K. S. Liaras. Thiazoles and thiazolidinones as antioxidants. *Curr. Med. Chem.*, 20(36) (2013), 4460-4480. DOI: 10.2174/09298673113209990143.

A. Petrou, M. Fesatidou, A. Geronikaki. Thiazole ring—A biologically active scaffold. *Molecules*, 26(11) (2021), 3166. <https://doi.org/10.3390/molecules26113166>.

A. Baschieri, R. Amorati. Methods to determine chain-breaking antioxidant activity of nanomaterials beyond DPPH•. A review. *Antioxidants*, 10(10) (2021), 1551. <https://doi.org/10.3390/antiox10101551>.

A-I. Pricopie1, M. Focșan, I. Ionuț, G. Marc, L. Vlase, L-I. Găină, D. C. Vodnar, E. Simon, G. Barta, A. Pirnău, O. Oniga. Novel 2, 4-disubstituted-1, 3-thiazole derivatives: synthesis, anti-candida activity evaluation and interaction with bovine serum albumine. *Molecules*, 25(5) (2020), 1079. <https://doi.org/10.3390/molecules25051079>.

A. Kellett, Z. Molphy, C. Slator, V. McKee, N. P. Farrell. Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug–DNA interactions. *Chem. Soc. Rev.*, 48(4) (2019), 971-988. DOI <https://doi.org/10.1039/C8CS00157J>.

A. A. Phadte, S. Banerjee, N. A. Mate, A. Banerjee. Spectroscopic and viscometric determination of DNA-binding modes of some bioactive dibenzodioxins and phenazines. *Biochem. Biophys. Rep.*, 18 (2019), 100629. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2019.100629>.

A. M. Amado, W. M. Pazin, A. S. Ito, V. A. Kuzmin, I. I. Borissevitch. Acridine orange interaction with DNA: Effect of ionic strength. *Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj.*, 1861(4) (2017), 900-909. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2017.01.023>.

A. S. S. Aliança, A. R. Oliveira, A. P. S. Feitosa, K. R. C. Ribeiro, M. C. A. B. Castro, A. C. L. Leite; L. C. Alves, F. A. Brayner. In vitro evaluation of cytotoxicity and leishmanicidal activity of phthalimido-thiazole derivatives. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 105 (2017), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.05.005>.

A. S. A. Almeida Júnior, J. F. Oliveira, A. L. Silva, R. E. T. Rocha, N. C. Portela Junior, A. L. A. Gouveia, R. M. F. Silva, M. C. P. A. Albuquerque, F. A. Brayner, L. C. Alves, M. C. A. Lima. In vitro activity, ultrastructural studies and in silico pharmacokinetic properties of indol-3-yl-thiosemicarbazones derivatives and analogues against juvenile and adult worms of

S. masoni. Eur. J. Pharm. Sci., 138 (2019), 104985.

<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.104985>.

A. C. L. Leite, J. W. P. Espíndola, M. V. O. Cardoso, G. B. Oliveira Filho. Privileged structures in the design of potential drug candidates for neglected diseases. Curr. Med. Chem., 26(23) (2019) 4323-4354. <https://doi.org/10.2174/0929867324666171023163752>.

A. L. Niles, R. A. Moravec, T. L. Riss. Update on in vitro cytotoxicity assays for drug development. Expert. Opin. Drug. Discov., 3(6) (2008) 655-669.

<https://doi.org/10.1517/17460441.3.6.655>.

A. G. Ribeiro, J. E. F. Alves, J. C. S. Soares, K. L. Santos, I. T. T. Jacob, C. J. S. Ferreira, J. C. Santos, R. D. S. Azevedo, S. M. V. Almeida, M. C. A. Lima. Albumin roles in developing anticancer compounds. Med. Chem. Res., 30(8) (2021) 1469-1495.

<https://doi.org/10.1007/s00044-021-02748-z>.

A. Ezzat, M. B. I. Mohamed, A. M. Mahmoud, R. S. Farag, A. S. El-Tabl, A. Ragab. Synthesis, spectral characterization, antimicrobial evaluation and molecular docking studies of new Cu (II), Zn (II) thiosemicarbazone based on sulfonyl isatin. J. Mol. Struct., 1251 (2022) 132004. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132004>.

A. R. M. Coates, Y. Hu, J. Holt, P. Yey. Antibiotic combination therapy against resistant bacterial infections: synergy, rejuvenation and resistance reduction. Expert Rev. Anti. Infect. Ther., 18(1) (2019), 5-15. <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1705155>.

Ayati, A., Emami, S., Asadipour, A., Shafiee, A., Foroumadi, A. Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery.

European Journal of Medicinal Chemistry, n. 97, p. 699-718, 2015.

Antônio Sérgio Alves de Almeida Júnior, Jamerson Ferreira de Oliveira, Anekécia Lauro da Silva, Rubens Emanuel Tavares da Rocha, Nairomberg Cavalcanti Portela Junior, Allana Lemos Andrade Gouveia, Rosali Maria Ferreira da Silva, Monica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque, Fábio André Brayner, Luiz Carlos Alves, Maria do Carmo Alves de Lima, In vitro activity, ultrastructural studies and in silico pharmacokinetic properties of indol-3-yl-thiosemicarbazones derivatives and analogues against juvenile and adult worms of S. masoni, European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 138, 2019.

Aline Caroline da Silva, Thiago André Ramos dos Santos, Isis Viviane Bezerra da Silva, Marcos Victor Gregório de Oliveira, Diogo Rodrigo Magalhães Moreira, Ana Cristina Lima

Leite, Valéria Rêgo Alves Pereira. Aryl thiosemicarbazones: In vitro and immunomodulatory activities against *L. amazonensis*. *Experimental Parasitology*, v. 177, 2017.

A. C. L. Leite, R. S. de Lima, D. R. de M. Moreira, M. V. de O. Cardoso, A. C. G. de Brito, L. M. F. dos Santos, M. Z. Hernandez, A. C. Kiperstok, R. S. de Lima, M. B. P. Soares. Synthesis, docking, and in vitro activity of thiosemicarbazones, aminoacyl-thiosemicarbazides and acyl-thiazolidones against *Trypanosoma cruzi*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.14, 2006.

Abdullah Y. Alzahrani, Yousry A. Ammar, Mohammed Abu-Elghait, Mohamed A. Salem, Mohammed A. Assiri, Tarik E. Ali, Ahmed Ragab. Development of novel indolin-2-one derivative incorporating thiazole moiety as DHFR and quorum sensing inhibitors: Synthesis, antimicrobial, and antibiofilm activities with molecular modelling study. **Bioorganic Chemistry**, v. 119, 2022.

Arwa Alharbi, Mansoor Alsahag, Ali Alisaac, Nawaa Ali H. Alshammari, Shaker T. Alsharif, Adel I. Alalawy, Jihan Qurban, Nashwa M. El-Metwaly. Molecular modeling and antimicrobial activity of newly synthesized benzothiazole-thiazole conjugates. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2024.

B. Z. Sibuh, S. Khanna, P. Taneja, P. Sarkar, N. K. Taneja. Molecular docking, synthesis and anticancer activity of thiosemicarbazone derivatives against MCF-7 human breast cancer cell line. *Life Sci.*, 273 (2021) 119305. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119305>.

B. Z. Sibuh, P. K. Gupta, P. Taneja, S. Khanna, P. Sarka, S. Pachisia, A. A. Khan, N. K. Jha, K. Dua, S. K. Singh, S. Pandey, P. Slama; K. K. Kesari, S. Roychoudhury. Synthesis, In Silico Study, and Anti-Cancer Activity of Thiosemicarbazone Derivatives. *Biomedicines*, 9(10) (2021) 1375. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101375>.

Bing Shao, Xiang Gui, Zhenjie Lu, Rongxue Lv, Hao Li, Ke Lu, Yang Hong, Zhiqiang Fu, Yamei Jin, Jiaojiao Lin, Chenzhong Fei, Jinming Liu. Praziquantel promotes protection against *Schistosoma japonicum* infection in mice. *Acta Tropica*, Volume 241, 2023.

Beraldo, H. Semicarbazonas e tiossemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. *Química Nova*, 2004.

Bhabatosh Das, Jyoti Verma, Pawan Kumar, Amit Ghosh, Thandavarayan Ramamurthy. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae*: Understanding the ecology of resistance genes and mechanisms. Vaccine, v. 38, 2020.

Cerqueira, N. F., Yoshida, W. B. Óxido nítrico: revisão. Acta Cir Bras, 2002.

Chiş, Adriana Aurelia, Luca Liviu Rus, Claudiu Morgovan, Anca Maria Arseniu, Adina Frum, Andreea Loredana Vonica-Țincu, Felicia Gabriela Gligor, Maria Lucia Mureşan e Carmen Maximiliana Dobrea. 2022. "Resistência Microbiana a Antibióticos e Antibioterapia Eficaz" Biomedicines 10, no. 5: 1121. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051121>

C. J. Murray, K. S. Ikuta, F. Sharara, L. Swetschinski, G. R. Aguilar, A. Gray ... & M. Naghavi. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. The Lancet (2022). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0).

C. B. Mishra, S. Kumari, M. Tiwari. Thiazole: A promising heterocycle for the development of potent CNS active agentes. Eur. J. Med. Chem., 92 (2015) 1-34. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.12.031>.

C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv. Drug Deliv. Rev., 23.1-3 (1997) 3-25. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1).

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

C. S. Sharma, R. K. Nema, V. K. Sharma. Synthesis, anticonvulsant activity and in silico study of some novel amino acids incorporated bicyclo compounds. S. J. Pharm. Sci., 2(2) (2009) 42-47. <https://doi.org/10.3329/sjps.v2i2.2607>.

C. Lambertucci; G. Marucci, D. D. Ben, M. Buccioni, A. Spinaci, S. Kachler, K-N. Klotz, R. Volpini. New potent and selective A1 adenosine receptor antagonists as potential tools for the treatment of gastrointestinal diseases. Eur. J. Med. Chem., 151 (2018), 199-213. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.03.067>.

C. Nastasa, B. Tiperciuc, M. Duma, D. Benedec, O. Oniga. New hydrazones bearing thiazole scaffold: Synthesis, characterization, antimicrobial, and antioxidant investigation. *Molecules*, 20(9) (2015), 17325-17338. <https://doi.org/10.3390/molecules200917325>.

Daniela Maza Vega, Magalí Di Meglio, Silvia del Valle Alonso, Fernando Alvira, Jorge Montanari. Nanomaterials for diagnosis, treatment, and prevention of human cutaneous leishmaniasis: A review. *OpenNano*, v. 12, 2023.

Da Silva, Paula Roberta; De Oliveira, Jamerson Ferreira ; Da Silva, Anekécia Lauro ; Queiroz, Camila Marques ; Feitosa, Ana Paula Sampaio ; Duarte, Denise Maria Figueiredo Araújo ; Da Silva, Aline Caroline ; De Castro, Maria Carolina Accioly Brelaz ; Pereira, Valéria Rêgo Alves ; Da Silva, Rosali Maria Ferreira ; Alves, Luiz Carlos ; Dos Santos, Fábio André Brayner ; De Lima, Maria Do Carmo Alves . Novel indol-3-yl-thiosemicarbazone derivatives: Obtaining, evaluation of in vitro leishmanicidal activity and ultrastructural studies. **Chemico-Biological Interactions**, v. 315, p. 108899, 2020.

Dhingra S, Rahman NAA, Peile E, Rahman M, Sartelli M, Hassali MA, Islam T, Islam S and Haque M. Microbial Resistance Movements: An Overview of Global Public Health Threats Posed by Antimicrobial Resistance, and How Best to Counter, 2020.

D. F. Veber, S. R. Johnson, H. Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, K. D. Kopple. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12) (2002) 2615-2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>.

D. E. V. Pires, T. L. Blundell, D. B. Ascher. pkCSM: Predicting smallmolecule pharmacokinetic and toxicity properties using graphbased signatures. *J. Med. Chem.*, 58(9) (2015) 4066-4072. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.

Esteves-Souza, A., Echevarria, A., Sant'Anna, C. M. R., Nascimento, M. G. Experimental and theoretical study of the reduction of Schiff bases derivated from 3,3-diphenylpropilamine. *Química Nova*, 2004.

E. N. Hoogenboezem, C. L. Duvall. Harnessing albumin as a carrier for cancer therapies. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 130 (2018) 73-89. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.011>.

E. M. del Amo, L. Ghemtio, H. Xhaard, M. Yliperttula, A. Urtti, H. Kidron. Applying linear and non-linear methods for parallel prediction of volume of distribution and fraction of unbound drug. PloS one, 8(10) (2013) e74758. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074758>.

E. J. Siddiqui, I. Azad, A. R. Khan, T. Khan. Thiosemicarbazone complexes as versatile medicinal chemistry agents: a review. J. drug deliv. ther., 9(3) (2019), 689-703. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i3.2888>.

F. A. Silva Filho, T. F. Souza, A. G. Ribeiro, J. E. F. Alves, J. F. Oliveira, T. R. C. L. Souza, R. O. Moura, M. C. A. Lima, L. B. C. Junior, S. M. V. Almeida, Topoisomerase inhibition and albumin interaction studies of acridine thiosemicarbazone derivatives. Int. J. Biol. Macromol., 138 (2019), 582-589. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.097>.

Fernando Martínez-Hernández, Brizia Oria-Martínez, Emilio Rendón-Franco, Guiehdani Villalobos, Claudia Irais Muñoz-García. Trypanosoma cruzi, beyond the dogma of non-infection in Birds. Infection, Genetics and Evolution, v. 99, 2022.

Federico Salsi, Gisele Bulhões Portapilla, Konstantin Schutjajew, Zumira Aparecida Carneiro, Adelheid Hagenbach, Sérgio de Albuquerque, Pedro Ivo da Silva Maia, Ulrich Abram. Thiosemicarbazones and thiadiazines derived from fluorinated benzoylthioureas: Synthesis, crystal structure and anti-Trypanosoma cruzi activity. Journal of Fluorine Chemistry, v. 215, 2018.

Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, 2014. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/doenca/leishmaniose#:~:text=fontes%20de%20infec%C3%A7%C3%A3o,-,Tratamento,essas%20drogas%20t%C3%AAm%20toxicidade%20consider%C3%A1vel>. Acesso em: 02 de maio de 2023.

FIOCRUZ, 2013. Doenças Negligenciadas. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas>. Acesso em: 05/05/2023.

Francis Moreira Borges, Thiago César Nascimento. *Candida auris*: emerging fungal pathogen is detected in Brazil. HU Revista, 2021. DOI: DOI: 10.34019/1982-8047.2019.v45.16970.

G. A. El-Achkar, M. Jouni, M. F. Mrad, T. Hirz, N. E. Hachem, A. Khalafe, S. Hammoud, H. Fayyad-Kazanf, A. A. Eidg, B. Badranh, R. A. Merhi, A. Hachem, E. Hamade, A. Habib.

Thiazole derivatives as inhibitors of cyclooxygenases in vitro and in vivo. *Eur. J. Pharmacol.*, 750 (2015) 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.01.008>.

G. B. Oliveira Filho, M. V. O. Cardoso, J. W. P. Espíndola, D. A. O. Silva, R. S. Ferreira, P. L. Coelho, P. S. Anjos, E. S. Santos, C. S. Meira, D. R. M. Moreira, M. B. P. Soares, A. C. L. Leite. Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against *Trypanosoma cruzi*. *Eur. J. Med. Chem.*, 141 (2017), 346-361. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.09.047>.

Galvão, R. L. F., Meneses, G. C., Pinheiro, M. C. C., Martins, A. M. C., Daher, E. D. F., & Bezerra, F. S. M. Kidney injury biomarkers and parasitic loads of *Schistosoma mansoni* in a highly endemic area in northeastern Brazil. *Acta Tropica*, 228, 106311, 2022.

G. Marc, A. Stana, A. H. Franchini, D. C. Vodnar, G. Barta, M. Tertiş, I. Şanta, C. Cristea, A. Pîrnău, A. Ciorîţă, B. Dume, Vlad-Alexandru Toma, L. Vlase, I. Oniga, O. Oniga. Phenolic Thiazoles with Antioxidant and Antiradical Activity. Synthesis, In Vitro Evaluation, Toxicity, Electrochemical Behavior, Quantum Studies and Antimicrobial Screening. *Antioxidants*, 10(11) (2021) 1707. <https://doi.org/10.3390/antiox10111707>.

Giusy Bonanno Ferraro, Carmelo Bonomo, David Brandtner, Pamela Mancini, Carolina Veneri, Rossella Briancesco, Anna Maria Coccia, Luca Lucentini, Elisabetta Suffredini, Dafne Bongiorno, Nicolò Musso, Stefania Stefani, Giuseppina La Rosa. Characterisation of microbial communities and quantification of antibiotic resistance genes in Italian wastewater treatment plants using 16S rRNA sequencing and digital PCR. *Science of The Total Environment*, v. 933, 2024.

H. A. Moharram, M. M. Youssef. Methods for determining the antioxidant activity: a review. *Alex. J. Fd. Sci. & Technol.*, 11(1) (2014), 31-42. DOI

H. Pham-The, M. Á. Cabrera-Pérez, N.-H. Nam, J. A. Castillo-Garit, B. Rasulev, H. Le-Thi-Thu, G. M. Casañola-Martin. In silico assessment of ADME properties: advances in Caco-2 cell monolayer permeability modeling. *Curr. Top. Med. Chem.*, 18(26) (2018), 2209-2229. <https://doi.org/10.2174/1568026619666181130140350>.

Hong-Mei Li, Men-Bao Qian, Duo-Quan Wang, Shan Lv, Ning Xiao, Xiao-Nong Zhou. Potential Capacity of China's development assistance for health on neglected tropical diseases. *Acta Tropica*, v. 226, 2022.

Í. T. T. Jacob, F. O. S. Gomes, M. D. S. Miranda, S. M. V. Almeida, I. J. Cruz-Filho, C. A. Peixoto, T. G. Silva, D. R. M. Moreira, C. M. L. Melo, J. F. Oliveira, M. C. A. Lima. Anti-inflammatory activity of novel thiosemicarbazone compounds indole-based as COX inhibitors. *Pharmacol. Rep.*, 73(3) (2021), 907-925. <https://doi.org/10.1007/s43440-021-00221-7>.

I. Althagafi, N. El-Metwaly, T. A. Farghaly. New series of thiazole derivatives: synthesis, structural elucidation, antimicrobial activity, molecular modeling and MOE docking. *Molecules*, 24(9) (2019) 1741. <https://doi.org/10.3390/molecules24091741>.

J. E. F. Alves, J. F. Oliveira, T. R. C. L. Souza, R. O. Moura, L. B. C. Junior, M. C. A. Lima, S. M. V. Almeida. Novel indole-thiazole and indole-thiazolidinone derivatives as DNA groove binders. *Int. J. Biol. Macromol.*, 170 (2021) 622-635. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.153>.

J. F. Oliveira, A. L. Silva, D. B. Vendramini-Costa, C. A. C. Amorim, J. F. Campos, A. G. Ribeiro, R. O. Moura, J. L. Neves, A. L. T. G. Ruiz, J. E. Carvalho, M. C. A. Lima. Synthesis of thiophene-thiosemicarbazone derivatives and evaluation of their in vitro and in vivo antitumor activities. *Eur. J. Med. Chem.*, 104 (2015), 148-156. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.09.036>.

J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, third ed., Springer, 2006. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4_2.

J. F. Xu, Y-S. Yang, A. Q. Jiang, H. L. Zhu. Detection methods and research Progress of human serum albumin. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 52(1) (2022), 72-92. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1789835>.

J. Nalawade, A. Shinde, A. Chavan, S. Patil, M. Suryavanshi, M. M. Prafull, C. Vivek, D. Bobade, P. C. Mhaske. Synthesis of new thiazolyl-pyrazolyl-1,2,3-triazole derivatives as potential antimicrobial agentes. *Eur. J. Med. Chem.*, 179 (2019) 649-659. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.074>.

Jorge Luiz R. de Melos, Eduardo Caio Torres-Santos, Viviane dos S. Faiões, Catarina de Nigris Del Cistia, Carlos Maurício R. Sant'Anna, Cláudio Eduardo Rodrigues-Santos, Aurea Echevarria. Novel 3,4-methylenedioxyde-6-X-benzaldehyde-thiosemicarbazones: Synthesis and antileishmanial effects against *Leishmania amazonensis*, *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 103, 2015.

Jonas da Silva Santos, Jorge Luiz R. de Melos, Gerson S. Lima, Jade Crespo Lyra, Guilherme Pereira Guedes, Cláudio Eduardo Rodrigues-Santos, Aurea Echevarria. Synthesis, anti-Trypanosoma cruzi activity and quantitative structure relationships of some fluorinated thiosemicarbazones. *Journal of Fluorine Chemistry*, v. 195, 2017.

Juliana Rodrigues da Conceição, Cecília Petrilli Gatti Lopes, Elizabeth Igne Ferreira, Sabrina Epiphany, Jeanine Giarolla. Neglected tropical diseases and systemic racism especially in Brazil: from socio-economic aspects to the development of new drugs. *Acta Tropica*, v. 235, 2022.

K. N. Babu, U. Nagarjuna, G. D. Reddy, A. Padmaja, V. Padmavathi. Synthesis and antimicrobial activity of benzazolyl azolyl urea derivatives. *J. Mol. Struct.*, 1198 (2019) 126871. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.126871>.

Kamat S e Kumari M. Emergência de resistência microbiana contra nanopartículas: mecanismos e estratégias. **Frente. Microbiol**, 2023.

Kesavan Krishnan, Kumari Prathiba, Venkatesan Jayaprakash, Arijit Basu, Nibha Mishra, Bingsen Zhou, Shuya Hub, Yun Yen. Synthesis and Ribonucleotide reductase inhibitory activity of thiosemicarbazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 18, p. 6248–6250, 2008.

L. C. Almeida, F. A. Calil, J. A. Machado-Neto, L. V. Costa-Lotufo. DNA damaging agents and DNA repair: From carcinogenesis to cancer therapy. *Cancer Genet.*, 252 (2021), 6-24. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2020.12.002>.

L. Ceze, J. Nivala, K. Strauss. Molecular digital data storage using DNA. *Nat. Rev. Genet.*, 20(8) (2019), 456-466. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0125-3>.

L. Yang, H. Liu, D. Xia, S. Wang. Antioxidant properties of camphene-based thiosemicarbazones: Experimental and theoretical evaluation. *Molecules*, 25(5) (2020), 1192. <https://doi.org/10.3390/molecules25051192>.

L. M. M. G. da Silva, J. F. de Oliveira, W. L. Silva, A. L. da Silva, A. S. A. de Almeida Junior, V. H. B. dos Santos, L. C. Alves, F. A. B. dos Santos, V. M. A. Costa, A. de L. Aires, M. do C. A. de Lima, M. C. P. de A. Albuquerque. New 1,3-benzodioxole derivatives: Synthesis, evaluation of in vitro schistosomicidal activity and ultrastructural analysis, *Chemico-Biological Interactions*, v. 283, 2018.

M. Bingul, E. Şenkuytu, M. F. Saglam, M. Boga, H. Kandemir, I. F. Sengul. Synthesis, photophysical and antioxidant properties of carbazole-based bis-thiosemicarbazones. *Res. Chem. Intermed.*, 45(9) (2019), 4487-4499. <https://doi.org/10.1007/s11164-019-03844-x>.

M. G. Temraz, P. A. Elzahhar, A. E.-D. A. Bekhit, A. A. Bekhit, H. F. Labib, A. S. F. Belal. Anti-leishmanial click modifiable thiosemicarbazones: design, synthesis, biological evaluation and in silico studies. *Eur. J. Med. Chem.*, 151 (2018), 585-600. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.04.003>.

M. Guzaev, X. Li, C. Park, Wai-Y. Leung, L. Roberts. Comparison of nucleic acid gel stains cell permeability, safety, and sensitivity of ethidium bromide alternatives. Online at <https://biotium.com/wp-content/uploads/2017/02/Gel-Stains-Comparison.pdf>, 2017.

M. Sayed, B. Krishnamurthy, H. Pal. Unraveling the salt induced modulation in the photophysical behavior of acridine orange dye on its interaction with natural DNA. *J. Mol. Liq.*, 336 (2021), 116146. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116146>.

M. Madsen, K. V. Gothelf. Chemistries for DNA nanotechnology. *Chem. Rev.*, 119(10) (2019), 6384-6458. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00570>.

M. Yıldız, M. Bingul, Y. Zorlu, M. F. Saglam, M. Boga, M. Temel, M. S. Koca, H. Kandemir, I. F. Sengul. Dimethoxyindoles based thiosemicarbazones as multi-target agents; synthesis, crystal interactions, biological activity and molecular modeling. *Bioorg. Chem.*, 120 (2022), 105647. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105647>.

M. Mic, A. Pîrnău, C. G. Floare, G. Marc, A. H. Franchini, O. Oniga, L. Vlase, M. Bogdan. Synthesis and molecular interaction study of a diphenolic hidrazinyl-thiazole compound with strong antioxidant and antiradical activity with HSA. *J. Mol. Struct.*, 1244 (2021) 131278. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131278>.

M. Vila-Costa, R. Gioia, J. Acena, S. S Perez, E. O. Casamayor, J. Dachs. Degradation Of Sulfonamides as a Microbial Resistance Mechanism. *Water Res.* 115 (2017) 309-317. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.007>.

M. Leigh, D. J. Raines, C. E. Castillo, A. K. Duhme-Klair. Inhibition of Xanthine Oxidase by Thiosemicarbazones, Hydrazones and Dithiocarbazates Derived from Hydroxy-Substituted Benzaldehydes. *Chem. Med. Chem.*, 6(6) (2011) 1107-1118. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201100054>.

Maria Leigh, Daniel J. Raines, Carmen E. Castillo, Anne K. Duhme-Klair. Inhibition of Xanthine Oxidase by Thiosemicarbazones, Hydrazones and Dithiocarbazates Derived from Hydroxy-Substituted Benzaldehydes. *Chem Med Chem*, v. 6, p. 1107 – 1118, 2011.

Manal A. Elzoheiry, Manar S. Elmehankar, Wafaa A. Aboukamar, Randa El-Gamal, Heba Sheta, Dina Zenezan, Nairmen Nabih, Abeer A. Elhenawy. Fluconazole as *Schistosoma mansoni* cytochrome P450 inhibitor: In vivo murine experimental study. *Experimental Parasitology*, Volume 239, 2022.

Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO RDC Nº 28, DE 4 DE ABRIL DE 2007. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2007/rdc0028_04_04_2007.html. Acesso em: 04/05/2023.

Murilo Moreira dos Santos, Kelly Ishida. We need to talk about *Candida tropicalis*: Virulence factors and survival mechanisms. *Medical Mycology*, v. 61, 2023.

Mohadeseh Khoshgoftar, Fereshteh Zamani-Alavijeh, Nazila Kasaian, Kiana Shahzamani, Soodabeh Rostami, Zari Nakhodian, and Asiyeh Pirzadeh. The effect of public health educational campaign regarding antibiotic use and microbial resistance on knowledge, attitude, and practice in the Iran. *J Educ Health Promot*, 2021. doi: 10.4103/jehp.jehp_629_20

N. P. Prajapati, K. D. Patel, R. H. Vekariya, H. D. Patel, D. P. Rajani. Thiazole fused thiosemicarbazones: Microwave-assisted synthesis, biological evaluation and molecular docking study. *J. Mol. Struct.*, 1179 (2019) 401-410.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.11.025>.

N. Trotsko, U. Kosikowska, A. Paneth, T. Plech, A. Malm, M. Wujec. Synthesis and antibacterial activity of new thiazolidine-2, 4-dione-based chlorophenylthiosemicarbazone hybrids. *Molecules*, 23(5) (2018), 1023. <https://doi.org/10.3390/molecules23051023>.

OPAS, 2021. Doenças tropicais negligenciadas: OPAS pede fim dos atrasos no tratamento nas Américas. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/28-1-2022-doencas-tropicais-negligenciadas-opas-pede-fim-dos-atrasos-no-tratamento-nas#:~:text=Hansen%C3%ADase%2C%20dengue%2C%20leishmaniose%2C%20esquistossomose,em%20risco%20mais%20de%20200>. Acesso em: 05/05/2023.

Organização Pan-Americana da Saúde. Manual de procedimentos para vigilância e controle das leishmanioses nas Américas, 2022.

Organización Panamericana de la Salud. Manual de procedimientos para la vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas, 2019.

P. Ertl, B. Rohde, P. Selzer. 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.*, 43(20) (2000) 3714-3717. <https://doi.org/10.1021/jm000942e>.

P. Parameswaran, Y. Arora, R. Patidar, N. Ranjan. Bacterial rRNA A-site recognition by DAPI: Signatures of intercalative binding. *Biophys. Chem.*, 274 (2021), 106589. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2021.106589>.

P. Nag, K. Sadani, S. Mukherji, S. Mukherji. Beta-lactam antibiotics induced bacteriolysis on LSPR sensors for assessment of antimicrobial resistance and quantification of antibiotics. *Sens. Actuators B Chem.*, 311 (2020), 127945. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127945>.

P. Szymaszek, P. Fiedor, A. Chachaj-Brekiesz, M. Tyszka-Czochara, T. Świergosz, J. Ortyl. Molecular interactions of bovine serum albumin (BSA) with pyridine derivatives as candidates for non-covalent protein probes: a spectroscopic investigation. *J. Mol. Liq.*, 347 (2022), 118262. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.118262>.

P. R. da Silva, J. F. de Oliveira, A. L. da Silva, C. M. Queiroz, A. P. S. Feitosa, D. M. F. A. Duarte, A. C. da Silva, M. C. A. B. de Castro, V. R. A. Pereira, R. M. F. da Silva, L. C. Alves, F. A. B. dos Santos, M. do C. A. de Lima. Novel indol-3-yl-thiosemicarbazone derivatives: Obtaining, evaluation of in vitro leishmanicidal activity and ultrastructural studies. *Chemico-Biological Interactions*, v. 315, 2020.

Pedrosa, Sybelle Christianne Batista De Lacerda. Síntese, Caracterização Estrutural E Estudos Do Mecanismo De Ação Antitumoral De Derivados Indólicos. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

Puvača, N.; Ljubojević Pelić, D.; Pelić, M.; Bursić, V.; Tufarelli, V.; Piemontese, L.; Vuković, G. Microbial Resistance to Antibiotics and Biofilm Formation of Bacterial Isolates from Different Carp Species and Risk Assessment for Public Health. *Antibiotics*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010143>

Q. Wang, P. B. Hamilton, F. Kang, X. Zhu, Y. Zhang, H. Zhao. Regional-scale investigation for microbial competition-through-environment interactions modulating antibiotic resistance. *Sci. Total Environ.* 734 (2020) 139341. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139341>.

Queiroz, Camila Marques ; De Oliveira Filho, Gevanio Bezerra ; Espíndola, José Wanderlan Pontes ; Do Nascimento, Amanda Vasconcelos ; Aliança, Amanda Silva Dos Santos; De Lorena, Virginia Maria Barros ; Feitosa, Ana Paula Sampaio ; Da Silva, Paula Roberta;Alves, Luiz Carlos ; Leite, Ana Cristina Lima ; Brayner, Fábio André. Thiosemicarbazone and thiazole: in vitro evaluation of leishmanicidal and ultrastructural activity on *Leishmania infantum*. **Medicinal Chemistry Research**, v. 29, p. 2050-2065, 2020.

R. Aggarwal, M. Hooda, P. Kumar, N. Jain, G. P. Dubey, H. Chugh, R. Chandra. Visible-Light-Prompted Synthesis and Binding Studies of 5,6-Dihydroimidazo[2,1-b]thiazoles with BSA and DNA Using Biophysical and Computational Methods. *J. Org. Chem.* 87(6) (2022) 3952-3966. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.joc.1c02471>.

R. Jayachitra, M. Padmavathy, A. Kanagavalli, G. Thilagavathi, N. Elangovan, S.Sowrirajan, Renjith Thomas. Synthesis, computational, experimental antimicrobial activities and theoretical molecular docking studies of (E)-4-((4-hydroxy-3-methoxy-5-nitrobenzylidene) amino)-N-(thiazole-2-yl) benzenesulfonamide. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 100, 2023.

R. V. C. Guido, A. D. Andricopulo. Modelagem molecular de fármacos. *Rev. Proc. Qui.*, 2(4) (2008), 24-36. <https://doi.org/10.19142/rpq.v2i4.66>.

R. Matsa, P. Makam, M. Kaushik, S. L. Hoti, T. Kannan. Thiosemicarbazone derivatives: Design, synthesis and in vitro antimalarial activity studies. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 137 (2019) 104986. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.104986>.

R. N. Jones. 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. *Clinical Infectious Diseases*, 42.Supplement_1 (2006) S13-S24. <https://doi.org/10.1086/491710>.

Ramesh Gondru, Sirisha Kanugala, Sneha Raj, C Ganesh Kumar, Mukesh Pasupuleti, Janardhan Banothu, Rajitha Bavantula. 1,2,3-triazole-thiazole hybrids: Synthesis, in vitro antimicrobial activity and antibiofilm studies. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 33, 2021.

R. E. T. da Rocha, A. S. A. de Almeida Júnior, N. C. Portela Júnior, A. V. do Nascimento, N. M. S. Leite, J. F. de Oliveira, M. do C. A. de Lima, A. P. S. Feitosa, M. E. B. de Mélo, F. A. Brayner, L. C. Alves. Synthesis, in vitro schistosomicidal activity and ultrastructural alterations caused by thiosemicarbazones and thiazolidinones against juvenile and adult *Schistosoma mansoni* worms (Sambon, 1907). *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 252, 2022.

S. A. Khan, A. M. Asiri. Multi-step synthesis, spectroscopic studies of biological activesteroidal thiosemicarbazones and their palladium (II) complex asmacromolecules. *Int. J. Biol. Macromol.*, 107 (2018), 105-111. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.141>.

S. Eğlence-Bakır, M. Şahin, M. Özyürek, B. Ülküseven. Dioxomolybdenum(VI) complexes with 4-benzyloxysalicylidene-N/S-alkyl thiosemicarbazones: Synthesis, structural analysis, antioxidant activity and xanthine oxidase inhibition. *Polyhedron*, 209 (2021) 115467. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2021.115467>.

S. B. Sengel, N. Sahiner. Poly((Thiazol-2-yl) acrylamide), p(ATA) microgel: Synthesis, characterization and versatile applications. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng.*, 522 (2017) 272-278. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.03.005>.

S. K. Manjal, R. Kaur, R. Bhatia, K. Kumara, V. Singh, R. Shankar, R. Kaur, R. K. Rawal. Synthetic and medicinal perspective of thiazolidinones: A review. *Bioorg. Chem.*, 75 (2017) 406-423. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.10.014>.

S. M. Gomha, H. A. Abdelhady, D. Z. H. Hassain, A. H. Abdelmonsef, M. El-Naggar, M. M. Elaasser, H. K. Mahmoud. Thiazole-Based Thiosemicarbazones: Synthesis, cytotoxicity evaluation and molecular docking study. *Drug Des. Devel. Ther.*, 15 (2021), 659. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S291579>.

S. Kar, S. Chatterjee. In Silico Meets In Vitro Techniques in ADMET Profiling of Drug Discovery (Part II). *Curr. Drug Metab.*, 22(7) (2021) 502-502. <https://doi.org/10.2174/138920022207210812124757>.

S. Saffour, A. A. AL-Sharabi, A. E. Evren, M. Y. Cankiliç, L. Yurttaş. Antimicrobial activity of novel substituted 1,2,4-triazole and 1,3-thiazole derivatives,

Journal of Molecular Structure, 2024.

S. Lata, R. Kaur, G. Singh, D. D. Bhandari, V. Abbot, Exploring the antimicrobial potential of novel 2-oxo-2-H-chromene conjugates with guanine, thiazole, and imidazole: Synthesis, characterization, and biological evaluation, **European Journal of Medicinal Chemistry Reports**, 2024.

Serpil Eryılmaz, Emine Türk Çelikoğlu, Önder İdil, Ersin İnkaya, Zehra Kozak, Ender Mısır, Melek Gül. Derivatives of pyridine and thiazole hybrid: Synthesis, DFT, biological evaluation via antimicrobial and DNA cleavage activity. **Bioorganic Chemistry**, v. 95, 2020.

Schröder, J. Identification of semicarbazones, thiosemicarbazones and triazine nitriles as inhibitors of *Leishmania mexicana* cysteine protease CPB. *PloS one*, v. 8, n. 10, 2013.

Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Microrganismos resistentes aos carbapenêmicos e sua distribuição no Brasil, 2015 a 2022. *Boletim Epidemiológico*, Ministério da Saúde, v.55, n. 2, 2024.

S. González-Guzmán, P. González-Cano, E. T. Bagu, S. Vázquez-Vega, M. Martínez-Salazar, M. Juárez-Montiel, A. Gutiérrez-Hoya, J. A. Crescencio-Trujillo, S. Sánchez-Montes, E. Fernández-Figueroa, E. A. Contreras-López, Á. Guerra-Márquez, C. I. Arroyo-Anduiza, L. E. Ángeles-Márquez, E. Rodríguez-Trejo, C. Bekker-Méndez, F. X. Guerra-Castillo, C. Regalado-Santiago, E. Tesoro-Cruz, N. Oviedo, A. M. Victoria-Jardón, J. Bautista-Olvera, P. García-Ramírez, J. E. Vázquez-Meraz, M. C. Contreras-Lozano, V. S. Castillo-Flores, R. Guevara-Reyes, A. R. Girón-Sánchez, H. D. Arenas-Luis, M. J. Pecero-Hidalgo, E. Ríos-Antonio, N. Ramírez-Pereda, A. Martínez-Mora, V. Paredes-Cervantes. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* in Eight Blood Banks in Mexico. *Archives of Medical Research*, v. 53, 2022.

T. A. Yousef, G. M. A. El-Reash. Synthesis, and biological evaluation of complexes based on thiosemicarbazone ligand. *J. Mol. Struct.*, 1201 (2020), 127180.

<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127180>.

Tenório, R. P.; Góes, A. J. S.; Lima, J. G.; Faria, A. R.; Alves, A. J.; Aquino, T. M. Tiossemicarbazonas: Métodos de Obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. *Química Nova*, v. 28, n. 6, p. 1030-1037, 2005.

U. Salar, K. M. Khan, S. Chigurupati, S. Syed, S. Vijayabalan, A. Wadood, M. Riaz, M. Ghufra, S. Perveen. New hybrid scaffolds based on hydrazinyl thiazole substituted coumarin; As novel leads of dual potential; in vitro α -amylase inhibitory and antioxidant (DPPH and ABTS radical scavenging) activities. *Med. Chem.*, 15(1) (2019), 87-101.
<https://doi.org/10.2174/1573406414666180903162243>.

U. Salar, K. M. Khan, S. Chigurupati, M. Taha, A. Wadood, S. Vijayabalan, M. Ghufra, S. Perveen. New hybrid hydrazinyl thiazole substituted chromones: As potential α -amylase inhibitors and radical (DPPH & ABTS) scavengers. *Sci. Rep.*, 7(1) (2017), 1-17.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-17261-w>.

V. H. Pham, T. P. D. Phan, D. C. Phan, B. D. Vu. Synthesis and bioactivity of thiosemicarbazones containing adamantane skeletons. *Molecules*, 25(2) (2020): 324.
<https://doi.org/10.3390/molecules25020324>.

V. Opletalova, J. Dolezel, J. Kunes, V. Buchta, M. Vejsova, M. Kucerova-Chlupacova. Synthesis and Antifungal Screening of 2-{{1-(5-Alkyl/arylalkylpyrazin-2-yl) ethylidene} hydrazono}-1, 3-thiazolidin-4-ones. *Molecules*, 21(11) (2016), 1592.
<https://doi.org/10.3390/molecules21111592>.

V. Sharma, M. Gupta, P. Kumar, A. Sharma. A Comprehensive Review on Fused Heterocyclic as DNA intercalators: Promising Anticancer Agents. *Curr. Pharm. Des.*, 27(1) (2021), 15-42. <https://doi.org/10.2174/1381612826666201118113311>.

W. Wang, D. Gao, Q. Zheng, X. Zhao, R. Na, X. Wan, Q. X. Li. Interactions of isoorientin and its Semi-synthetic analogs with human serum albumin. *Bioorg. Chem.*, 116 (2021), 105319. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105319>.

World Health Organization (WHO). Kokaliaris C, Garba A, Matuska M, Bronzan RN, Colley DG, et al. Effect of preventive chemotherapy with praziquantel on schistosomiasis among school-aged children in sub-Saharan Africa: a spatiotemporal modelling study. *Lancet Infect Dis*. 2022.

WHO, 2016. Leishmaniasis. Disponível em: <http://www.who.int/topics/leishmaniasis/en/>. Acesso em: 01 de maio de 2023.

WHO. Chagas disease (also known as American trypanosomiasis), 2023. Disponível: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)). Acesso em: 09/05/2023.

World Health Organization (Who). Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria To Guide Research, Discovery, And Development of New Antibiotics. 2017. Disponível em: https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf

Y. Meng, F. Liu, J. Han, S. Sun, J. Fan, F. Song, X. Peng. Interaction study on DNA, single-wall carbon nanotubes and acridine Orange. *Mater. Sci. Eng. B*, 177(11) (2012), 887-891. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2012.03.055>.

Y. Rahman, S. Afrin, M. A. Husain, T.; Sarwar, A.; A. Ali, Shamsuzzaman, M. Tabish. Unravelling the interaction of pirenzepine, a gastrointestinal disorder drug, with calf thymus DNA: An in vitro and molecular modelling study. *Arch. Biochem. Biophys.*, 625 (2017): 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.05.014>.

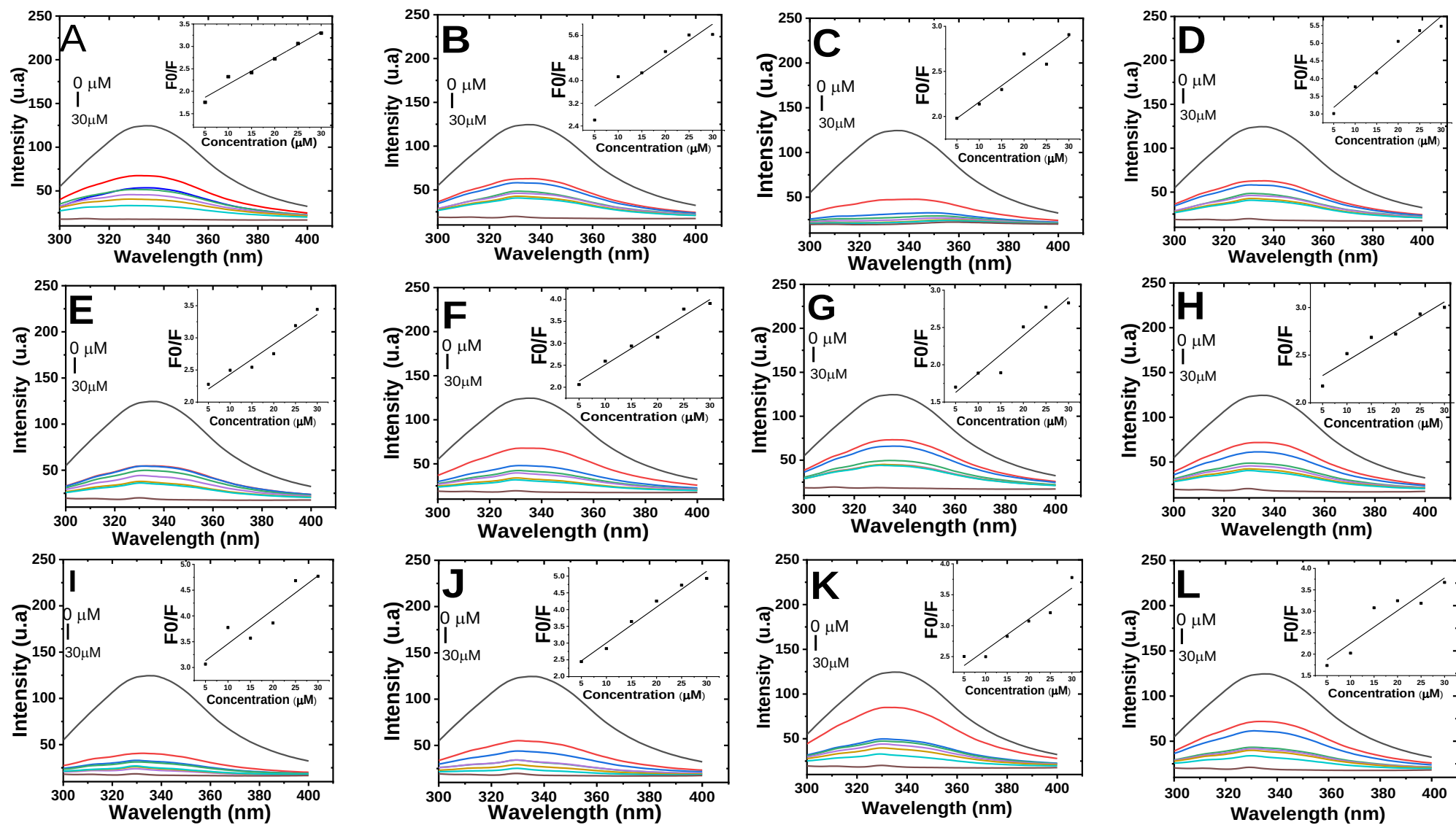
Yufei Liu, Jian Zhang, Dongle Cheng, Wenshan Guo, Xiaoqing Liu, Zhijie Chen, Zehao Zhang, Huu Hao Ngo. Fate and mitigation of antibiotics and antibiotic resistance genes in microbial fuel cell and coupled systems. *Science of The Total Environment*, v. 938, 2024.

Zahra M. Alamshany, Eman S. Nossier. New thiazole derivatives linked to pyridine, fused pyridine, pyrimidine and thiazolopyrimidine scaffolds with potential dual anticancer and antimicrobial activities: Design, synthesis and docking simulation. *Journal of Molecular Structure*, v. 1316, 2024.

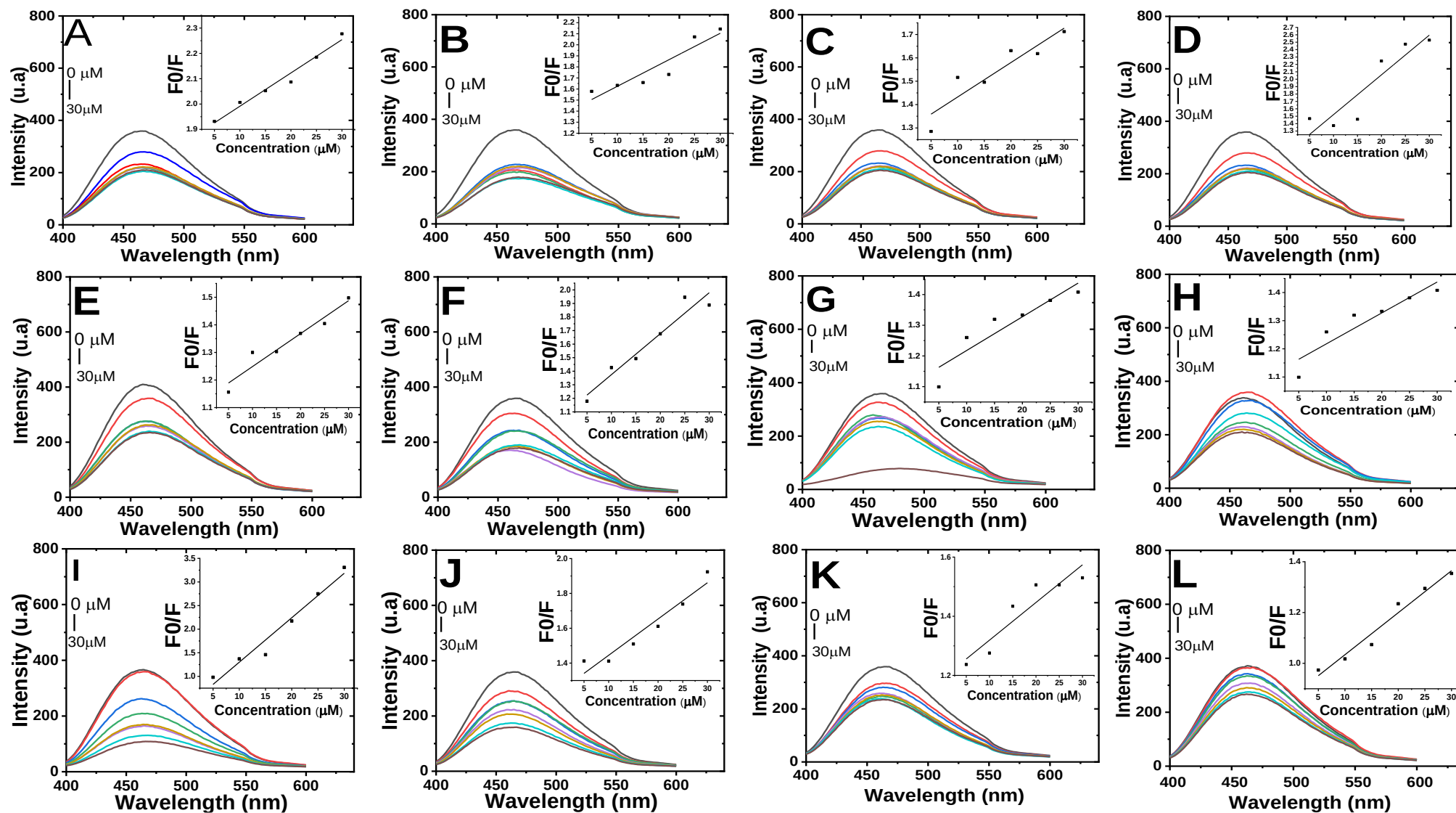
Ziyi Zhou, Wencheng Ma, Dan Zhong. The stress response mechanisms and resistance change of chlorine-resistant microbial community at multi-phase interface under residual antibiotics in drinking water distribution system. *Journal of Cleaner Production*, v. 438, 2024. DOI: 10.1016/j.jclepro.2024.140673

Z. Zhivkova, I. Doytchinova. Prediction of steady-state volume of distribution of acidic drugs by quantitative structure–pharmacokinetics relationships. *J. Pharm. Sci.*, 101(3) (2012), 1253-1266. <https://doi.org/10.1002/jps.22819>.

ANEXO A – INTERAÇÃO DOS COMPOSTOS COM A HSA



ANEXO B – CURVAS DE INTERAÇÃO DOS COMPOSTOS COM AS SONDAS DAPI



ANEXO C - CURVAS DE INTERAÇÃO DOS COMPOSTOS COM AS SONDAS LA

