

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**TESE**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE TIOSSEMICARBAZONAS,  
CARBIMIDOTIOATOS E DERIVADOS  
BENZOTRIAZOCÍNICOS. AVALIAÇÃO ANTIPARASITÁRIA  
DE TIOSSEMICARBAZONAS DERIVADAS DO NÚCLEO 3,4-  
METILENODIOXILA**

**Jorge Luiz Ribeiro de Melos**

**2012**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE TIOSSEMICARBAZONAS,  
CARBIMIDOTIOATOS E DERIVADOS  
BENZOTRIAZOCÍNICOS. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTIPARASITÁRIA DE TIOSSEMICARBAZONAS  
DERIVADAS DO NÚCLEO 3,4-METILENIDIOXILA**

**JORGE LUIZ RIBEIRO DE MELOS**

*Sob a Orientação da Professora Doutora  
Aurea Echevarria Aznar Neves Lima*

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Química**, no curso de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração Química Orgânica.

Seropédica, RJ, 24 de setembro de 2012

547  
M528s  
T

Melos, Jorge Luiz Ribeiro de, 1961-  
Síntese e caracterização de  
tiossemicarbazonas, carbimidotioatos  
e derivados benzotriazocínicos.  
Avaliação da atividade  
antiparasitária de  
tiossemicarbazonas derivadas do  
núcleo 3,4- metilenidioxila / Jorge  
Luiz Ribeiro de Melos. - 2012.  
268 f.: il.

Orientador: Áurea Echevarria  
Aznar Neves Lima.

Tese (Doutorado) - Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro,  
Curso de Pós-Graduação em Química.  
Bibliografia: f. 200-234?.

1. Química orgânica - Teses. 2.  
Leishmaniose - Teses. 3. Chagas,  
Doença - Teses. 4. Tratamento por  
quelação - Teses. I. Lima, Áurea  
Echevarria Aznar Neves, 1950-. II.  
Universidade Federal Rural do Rio  
de Janeiro. Curso de Pós-Graduação  
em Química. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**JORGE LUÍS RIBEIRO DE MELOS**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no curso de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração Síntese Orgânica.

TESE APROVADA EM 24 / 09 / 2012



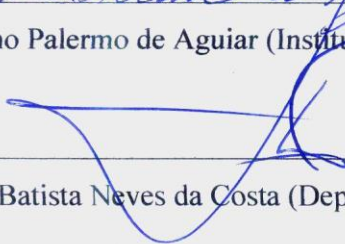
Dr<sup>a</sup> Aurea Echevarria Aznar Neves Lima (Departamento de Química – UFRRJ) – Orientadora



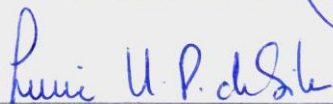
Dr<sup>a</sup> Maria da Graça Nascimento (Instituto de Química – UFSC)



Dr. Alcino Palermo de Aguiar (Instituto Militar de Engenharia – IME)



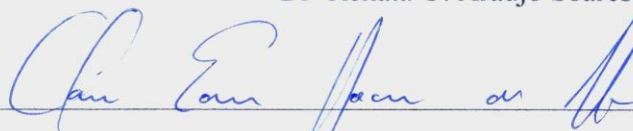
Dr. João Batista Neves da Costa (Departamento de Química – UFRRJ)



Dr<sup>a</sup> Lucia Helena Pinto da Silva (Departamento de Microbiologia e Imunologia – UFRRJ)



Dr<sup>a</sup> Renata O. Araújo Soares (EIOCRUZ)



Dr. Cláudio Eduardo Rodrigues Santos (Departamento de Química – UFRRJ)

*Dedico este trabalho.....*

*À minha família, em especial a minha esposa Márcia Rejane Riccioni de Melos, companheira dedicada que sempre se fez presente com seu amor incondicional e amizade. Aos meus filhos Aline Riccioni de Melos e Marcos Paulo Riccioni de Melos, razão do meu esforço. Aos meus pais Antônio Sebastião de Melos Filho e Marília Ribeiro de Melos, que sempre me apoiaram e incetivaram. À minha avó materna Rosa da Costa Ribeiro (in memoriam) pelo exemplo de vida digna, e finalmente, aos meus alunos.*

## *Agradecimentos*

*À minha amiga e orientadora Professora Doutora **Aurea Echevarria**, pela confiança, generosidade e pela infinita paciência. Sempre esteve ao meu lado, orientando e contribuindo com suas críticas construtivas e oportunas;*

*Ao Professor PhD **José Daniel Figueroa Villar**, amigo do Instituto Militar de Engenharia – IME, pelo apoio e incentivo;*

*À Professora PhD **Whei Oh Lin**, que disponibilizou seu laboratório no IME, seus reagentes, seus equipamentos e sobre tudo sua enorme paciência oriental. Amiga das horas difíceis contribuiu através de sua grande capacidade intelectual, com sugestões ponderadas;*

*À Professora Doutora **Débora Decote Ricardo de Lima**, do Laboratório de imunologia do Instituto de Veterinária da UFRRJ, e às alunas **Julliane** e **Aline**, pelo apoio nos experimentos com *T. cruzi*.*

*À minha esposa **Márcia** e aos meus filhos **Aline** e **Marcos Paulo** pela infinita ajuda e enorme paciência, dedicaram horas para colaborar com esse trabalho muitas vezes fazendo e outras tantas refazendo, para atender as minhas solicitações.*

*Aos Amigos do Instituto Militar de Engenharia, em especial ao Coronel **Alaelson**; aos Majores **Seabra** e **Leila Gouvêa**; aos Capitães **Álvaro**, **Cunha** e **Maranhão**; ao Sargento **Barreto**, aos Cabos **Júlio Cesar** e **Luar** e aos alunos da Pós-Graduação **Luciano**, **Elaine**, **Luana** e **Sirlene**;*

*Aos Amigos da UFRRJ- DEQUIM, em especial aos Professores **Claúdio**, **Andressa**, **Dari** e **João Batista**, e aos alunos **Camila**, **Carla**, **Vanessa**, **Roberta** e **André**, pela amizade e incentivo;*

*Aos amigos da FIOCRUZ do Laboratório de Bioquímica de Tripanossomatídeos Professores **Eduardo Caio**, **Marilene Mancuzzo** e **Leonor Leon** e a Aluna **Viviane Santos** pelos ensaios biológicos com *L. amazonensis*;*

*À pesquisadora e amiga da FIOCRUZ, Professora Dr<sup>a</sup> **Renata Soares** pelos experimentos com *T. cruzi*.*

*À aluna Mariana Albuquerque pela imensa colaboração na realização dos experimentos de complexação dos compostos sintetizados com  $Fe^{+2}$  e  $Zn^{+2}$*

*Aos técnicos da Central analítica da UFRRJ, Maurício, Vitor, Eli, João Carlos e Francis pela amizade e sobretudo pela enorme contribuição na realização dos experimentos, de Ressonância Magnética Nuclear uni e bidimensionais.*

*Aos verdadeiros amigos que foram caridosos em suas colaborações, muitas vezes anônimas, o meu muito obrigado.*

*À banca examinadora, por aceitar o convite.*

*À todos que contribuíram para a realização deste trabalho.*

*À coordenação do curso de Pós-Graduação e a todos os funcionários pelas inúmeras colaborações.*

*Ao Exército Brasileiro, escola de vida e instituição impar;*

*À UFRRJ, pela oportunidade e qualidade de ensino.*

## *A Biografia,*

*Jorge Luiz Ribeiro de Melos, brasileiro, casado, 51 anos, Oficial superior (Major) do Exército Brasileiro, professor permanente do magistério militar, engenheiro químico, licenciado em química, mestre em química e doutorando em química.*

*Em 1994, formei em Engenharia Química pela UFRRJ, e quase ao mesmo tempo comecei a lecionar, inicialmente em caráter voluntário, para alunos da 3ª série do ensino médio do Colégio estadual Murilo Braga em São João de Meriti. Nos anos seguintes, fui convidado para participar da equipe de professores do Colégio Técnico Mercúrio e um ano após já integrava a equipe técnica do Colégio Itu. Esses acontecimentos me estimularam a fazer o curso de licenciatura em química; comecei cursando disciplinas do núcleo de educação da UFRRJ. No ano de 1990 realizei o concurso vestibular para o curso de licenciatura em química na UFRRJ, ao mesmo tempo trabalhava como engenheiro e lecionava às noites no Colégio Mercúrio e no Colégio Itu.*

*No ano 1993, conclui a licenciatura em química apresentando como trabalho de fim de curso uma monografia que tinha como tema “Uma nova metodologia para o ensino de química”. Neste mesmo ano a Escola de Administração de Exército abriu para concurso público nacional cinco vagas para licenciados em química, que viriam a ocupar vagas de professores, prioritariamente nos Colégios Militares criados naquele ano. Passei no concurso e me mudei para Salvador onde foi realizado o Curso de Formação de Oficiais, em 1994. Naquela turma formaram cinquenta e dois oficiais professores das diversas especialidades do magistério. O curso foi realizado em dois semestres; no primeiro fizemos disciplinas relacionadas com a vida castrense enquanto no segundo semestre cursamos as disciplinas específicas do magistério militar, tais como: Metodologia de elaboração e revisão de currículos, Estrutura e funcionamento do Ensino no Exército, Supervisão escolar, Orientação educacional e Medidas de avaliação em educação, Informática, História Militar, perfazendo um total de 471 horas de curso, como trabalho de conclusão apresentei a monografia com tema “Um estudo do ensino da Química no ensino médio e a abordagem de uma “nova” metodologia no processo ensino-aprendizagem”*



*Naquele mesmo ano de 1994, fui classificado como professor no recém criado Colégio Militar de Campo Grande, no Mato Grosso do Sul, oportunidade que tive de participar das bancas dos primeiros concursos públicos, tanto para alunos quanto para professores.*

*Inicialmente, no CMCG, ocupei a função de professor de química e chefe da cadeira de química. Em 1998, passei a chefe da Seção de Ensino “C” (Química, Física e Biologia), função que mantive até 2003. Quando fui designado para realizar o curso de mestrado em Química na UFMS, fui dispensado integralmente das atribuições no CMCG e fiquei de março de 2003 a fevereiro de 2005 à disposição daquela UFMS. Defendi a dissertação com o Título “Estudo químico de *Adiantum tetraphyllum* Homb. & Bonpl. Ex Willd (Pteridaceae), orientado pela Professora Dr<sup>a</sup> Sônia Corina Hess, onde relatei a obtenção de ácidos graxos, terpenóides, das classes: diterpenóides e triterpenóides, flavonóides e esteróides; todos inéditos para o gênero de vegetal trabalhado e ainda pude estabelecer uma importante relação entre esses constituintes e a propriedade alelopática do vegetal estudado. Paralelamente às atividades acadêmicas consegui montar e aperfeiçoar uma equipe de professores de Química que era composta por mais uma capitã, duas tenentes e dois professores civis concursados, ambos foram dispensados para cursar o mestrado e depois o doutorado, Em 2004 a equipe foi incrementada com mais dois militares um com mestrado pela USP e uma tenente com doutorado pela UFSCar*

*A partir do ano de 1999, envolvi minha equipe em um projeto nacional coordenado pelo Professor Dr<sup>o</sup> Sérgio Maia Melo, da UFC, na coordenação regional Mato Grosso do Sul da Olimpíada Brasileira de Química, evento que destacou o CMCG no seio da comunidade escolar da Capital e do Estado do Mato Grosso do Sul, interiorizai o evento. No primeiro ano de realização do certame contamos com a participação de quase quinhentos alunos da capital e interior de Estado de Mato Grosso do Sul, de escolas particulares e, principalmente, públicas. Neste evento os professores de química eram estimulados a participar preparando seus alunos e no dia das avaliações era realizada uma reunião de coordenação onde procurávamos nos colocar à disposição em parceria no oferecimento de equipamentos laboratórios, visitas, cursos, etc.*

*Ao mesmo tempo, como chefe da Seção de ensino de ciências, institucionalizei o projeto “Iniciação Científica Júnior”, já que contava com uma equipe de mestres e doutores, e*

*assim, pude participar de reuniões da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, onde os alunos e seus orientadores podiam apresentar seus trabalhos científicos e interagir com jovens de outras partes do País.*

*Nesta modalidade orientei a Aluna Pauline Souza Castro no trabalho “Reações de transesterificação de ésteres de ácidos graxos” que foi apresentado no 1º Encontro de Iniciação Científica dos Colégios Militares no IME, Rio de Janeiro, em 1999.*

*Em 2005 quando do meu regresso da UFMS ao CMCG, retornei as atividades de professor e chefe da Seção de Ensino “C”, Logo fui convidado para ocupar a função de Chefe da Subseção de Estatística e Medidas da Aprendizagem da Seção Técnica de Ensino. Seção que tem por finalidade estudar as variantes estatísticas das pesquisas pedagógicas e oferecer subsídios para decisões do Diretor de Ensino do CMCG. Ainda em 2005 fui convidado para assumir a cadeira de Química da Academia Militar das Agulhas Negras (AMAN) e fui também convidado para assumir as cadeiras de Química I e II, do Instituto Militar de Engenharia (IME), no Rio de Janeiro. Esse convite, ao mesmo tempo que representava o reconhecimento da Instituição “Exército Brasileiro” pelos bons serviços que havia prestado em Mato Grosso do Sul me fez reacender a luz da investigação científica o que se tornou realidade ante a possibilidade de cursar o doutorado e dispor de bons laboratórios onde pudesse exercitar meus experimentos. Isso se tornou realidade e em 2005 fui transferido para o IME e iniciei as atividades de regente das disciplinas Química I e Química II em 2006; Ainda em 2005, fui agraciado com a medalha Militar de Bronze, por ter completado em 18 de abril de 2004, dez anos de bons serviços prestados ao Exército Brasileiro.*

*No ano de 2007 realizei a avaliação para o doutorado em Síntese Orgânica na UFRRJ, e obtive aprovação com a proposta de Síntese de “Tiossemicarbazonas e seus derivados sais Isotiurônicos como agentes anti leishmânicos” nesse projeto sou orientado pela Profesora Dr<sup>a</sup> Aurea Echevarria (UFRRJ)*

*No ano de 2008 fui agraciado com a Medalha Marechal Trompowsky, a mais alta condecoração do professor militar, por ter prestado relevantes serviços ao Magistério do Exército*

*Atualmente, desenvolvo pesquisas educacionais na Seção Técnica de Ensino do Instituto Militar de Engenharia (IME), que visam orientar decisões do Diretor de Ensino do*

*IME e em parceria com o IME trabalho no laboratório de síntese orgânica da Professora PhD Whei Oh Lin e utilizo os equipamentos do laboratório de RMN do Professor PhD ° Figueroa, meu co orientador.*

*No dia 31 de outubro de 2010 após ter completado o tempo de contribuição, isto é, trinta anos de serviços entre Previdência privada e Exército, passei para a reserva remunerada da força terrestre, no posto de Major.*

É isso aí  
Como a gente achou que ia ser  
A vida tão simples é boa  
Quase sempre

É isso aí  
Os passos vão pelas ruas  
Ninguém reparou na lua  
A vida sempre continua

Eu não sei parar de te olhar  
Eu não sei parar de te olhar  
Não vou parar de te olhar  
Eu não me canso de olhar  
Não sei parar  
De te olhar

É isso aí  
Há quem acredite em milagres  
Há quem cometa maldades  
Há quem não saiba dizer a verdade

É isso aí  
Um vendedor de flores  
Ensinar seus filhos  
A escolher seus amores

Eu não sei parar de te olhar  
Não sei parar de te olhar  
Não vou parar de te olhar  
Eu não me canso de olhar  
Não vou parar  
De olhar.....

*Damien Rice & Ana Carolina*

## RESUMO

Patologias causadas por parasitas de espécies dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* afetam centenas de milhares de pessoas em mais de noventa países dos cinco continentes. No Brasil milhares de pessoas sofrem da doença de Chagas e de Leishmanioses. As pessoas infectadas por esses parasitas, geralmente, são pobres. Os tratamentos disponíveis são antigos, agressivos, caros e ineficazes; e isto se explica, em parte, pela falta de sensibilidade da indústria farmacêutica, que não se dispõem a investir em medicamentos para populações de baixa renda. O que levou estas parasitoses, dentre outras doenças, a compor o rol das doenças ditas “negligenciadas”. Assim, este trabalho apresenta a síntese de vinte e duas tiossemicarbazonas sendo doze derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila e dez benzofluoradas que objetivaram a ação tripanocida sobre *Typanosoma cruzi* e *Leishmania amazonensis*. Dentre estas tios-semicarbazonas quatorze são inéditas. Ainda foram sintetizados seis compostos da classe dos carbimidotioatos e dois da classe dos benzotriazocínicos, não relatados na literatura. Os compostos foram caracterizados estruturalmente, através de experimentos de IV e RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT Q e DEPT 135°. Diferentes metodologias sintéticas foram empregadas como formas alternativas para as reações de Sandmeyer, objetivando bons resultados, para o núcleo 3,4-metilenodioxila.. A reação de cloração do piperonal com ácido tricloroisocianúrico é relatada neste trabalho originalmente. As reações de síntese das tiossemicarbazonas apresentaram rendimentos entre 91,0% e 98,5%. Foi realizada uma revisão da literatura sobre as enzimas, rotas metabólicas e biossintéticas de tripanossomatídeos que pudessem ser alvos quimioterápicos dos compostos sintetizados. Experimentos da avaliação antiparasitária, *in vitro*, com as formas epimastigotas de *T. cruzi* e promastigotas de *L. amazonensis* foram conduzidos com dez das tiossemicarbazonas sintetizadas, cinco mostraram atividade tripanocida abaixo de 100  $\mu\text{M}$ , sendo que três delas com valores de  $\text{IC}_{50}$  muito promissores, ou seja, a iodo-substituída  $\text{IC}_{50}=7,00 \mu\text{M}$ , a amino-substituída com  $\text{IC}_{50} = 7,62 \mu\text{M}$  e a dicloroacetilamino-substituída com  $\text{IC}_{50} = 9,00 \mu\text{M}$ . Foram realizados ensaios frente a macrófagos da linhagem celular J774-A1 para avaliação da citotoxicidade e cálculo do índice de seletividade em relação aos valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos na avaliação da atividade tripanocida. Os resultados indicaram a tiossemicarbazona iodo-substituída com melhor índice de seletividade, isto é, uma baixa citotoxicidade (279  $\text{IC}_{50} \mu\text{M}$ ) e elevada ação tripanocida (7,0  $\mu\text{M}$ ), revelando-se como bastante promissora para ensaios *in vivo*. Ensaios realizados frente à macrófagos murinos infectados com a forma amastigota de *L. amazonensis* revelaram resultados muito promissores com valores de  $\text{IC}_{50} = 10,37 \mu\text{M}$  para a tiossemicarbazona ciano-substituída e  $\text{IC}_{50} = 9,45 \mu\text{M}$  para a tiossemicarbazona iodo-substituída. Neste contexto, aparece como uma via muito importante o seqüestro de íons de  $\text{Fe}^{+2}$ , já que a enzima superóxido dismutase dos tripanossomatídeos são dependentes destes íons, enquanto no hospedeiro humano a enzima homóloga superóxido dismutase tem como metal central átomos de zinco ou manganês. Assim, a avaliação da atividade quelante frente aos íons  $\text{Fe}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$  foi realizada, Os resultados obtidos foram muito interessantes indicando o maior efeito quelante das substâncias ensaiadas para o  $\text{Fe}^{+2}$  quando comparado ao  $\text{Zn}^{+2}$  e, com maior intensidade para a tiossemicarbazona iodo-substituída que foi a que apresentou melhor atividade leishmanicida e tripanocida. A alta seletividade apresentada pela 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carbaldeídotiossemicarbazona sobre o íon  $\text{Fe}^{+2}$ , comparado a mesma capacidade sobre o íon  $\text{Zn}^{+2}$ , sugere a inviabilidade da metaloenzima superóxido dismutase dos parasitas através da privação de um elemento vital para essa enzima.

**Palavras-chave:** Tiossemicarbazonas. Quelação. Tripanossomatídeos.

## ABSTRACT

Diseases caused by parasites of the species of *Trypanosoma* and *Leishmania* affect hundreds of thousands of people in more than ninety countries on five continents. Thousands of people suffer from Chagas and Leishmaniasis disease in Brazil. People infected by these parasites are generally poor. The treatments available are old, aggressive, expensive and ineffective, and this is explained in part by the lack of sensitivity of the pharmaceutical industry, who are unwilling to invest in drugs for low-income populations. What led these parasites, among other diseases, to compose the list of diseases called "neglected". This work presents the synthesis of twenty-two thiosemicarbazones, including twelve 3,4-metilenodioxil derived and ten benzo-fluorinated derived. Fourteen of these are new thiosemicarbazones. Although six compounds were synthesized from the class of hydrazine-carbimidothioates and two were synthesized from the class of benzotriazocin-6(5*H*)-2-one, all never reported. The compounds were structurally characterized by IV and RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT Q e DEPT 135°. Different synthetic methodologies were employed as alternative means for the reactions of Sandmeyer, aiming good results for the core 3,4-metilenodioxil. The chlorination reaction of piperonal with trichloroisocyanuric acid is reported in this study originally. The synthesis reactions of thiosemicarbazones showed yields between 91.0% and 98.5%. Was made a review about enzymes, biosynthetic and metabolic pathways of trypanosomatids, that could be chemotherapeutic targets of these synthesized compounds. Antitripanosomic assessing experiments, *in vitro*, with epimastigogas *T. cruzi* and promastigotes of *L. amazonensis*, was performed with ten synthesized thiosemicarbazones. Five substances have shown trypanomicidal activity below 100  $\mu\text{M}$ , three of which with very promising  $\text{IC}_{50}$  values ie, the iodine-substituted  $\text{IC}_{50} = 7,00 \mu\text{M}$ , the amino-substituted with  $\text{IC}_{50} = 7,62 \mu\text{M}$  and the dicloroaceetilamino-substituted with  $\text{IC}_{50} = 9,00 \mu\text{M}$ . Assays were performed against the macrophage cell line J774-A1 to evaluate the cytotoxicity and selectivity index was calculated from the values obtained in the  $\text{IC}_{50}$  trypanomicidal activity. The results indicated the iodine-substituted thiosemicarbazone with the best selectivity index, ie, a low cytotoxicity (279  $\text{IC}_{50} \mu\text{M}$ ) and high trypanocidal action (7,0  $\mu\text{M}$ ), revealed itself as very promising for *in vivo* testing. Tests carried forward to murine macrophages infected with amastigote *L. amazonensis* showed very promising results with  $\text{IC}_{50} = 10.37 \mu\text{M}$  to the cyano-substituted thiosemicarbazone and  $\text{IC}_{50} = 9.45 \mu\text{M}$  for iodine-substituted thiosemicarbazone. In this context, appears as a very important way of iron ions sequestration, since the superoxide dismutase enzyme of trypanosomes are dependent on these ions, while in the human host the homologous superoxide dismutase enzyme has atoms of zinc or manganese like central metal. Thus, evaluation of chelating activity against the  $\text{Fe}^{+2}$  and  $\text{Zn}^{+2}$  ions was performed. The results were very interesting showing the greatest effect of chelating substances tested for  $\text{Fe}^{+2}$  when compared to  $\text{Zn}^{+2}$ , and greater intensity for the iodine-substituted thiosemicarbazone that showed the best leishmanicidal and trypanomicidal activity. The high selectivity shown by the 6-iodo-1,3-benzodioxole-5-carbaldehyde-thiosemicarbazone on the ion  $\text{Fe}^{+2}$ , compared with the same capacity on the ion  $\text{Zn}^{+2}$ , suggests the impossibility of metalloenzyme superoxide dismutase of parasites through the hardship of a vital element for this enzyme.

**Key words:** Thiosemicarbazones. Chelation. Tiypanosomatids.

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b>	Principais bandas de absorção dos espectros de IV dos aldeídos e alcoóis sintetizados	100
<b>Tabela 2:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , ppm) dos aldeídos e alcoóis sintetizados.	102
<b>Tabela 3:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , ppm) dos aldeídos e alcoóis sintetizados	103
<b>Tabela 4:</b>	Pontos de fusão e rendimentos obtidos para as tiossemicarbazonas derivadas do sistema 6-X-metilenodioxila e flúor-substituídas.	105
<b>Tabela 5:</b>	Principais bandas de absorção do espectro de IV de tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila e dos fluorbenzaldeídos	107
<b>Tabela 6:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , ppm) das tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila e benzo-fluoradas	108
<b>Tabela 7:</b>	Deslocamentos químicos de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , ppm) das tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila.	111
<b>Tabela 8:</b>	Deslocamentos químicos de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , ppm) das tiossemicarbazonas benzofluoradas.	112
<b>Tabela 9:</b>	Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os carbimidotioatos	113
<b>Tabela 10:</b>	Principais bandas de absorção do espectro de IV dos carbimidotioatos derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila	114
<b>Tabela 11:</b>	Principais deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , ppm) dos carbimidotioatos derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila.	116
<b>Tabela 12:</b>	Deslocamentos químicos de RMN de $^{13}\text{C}$ ou DEPT Q (DMSO- $d_6$ , ppm) das tiossemicarbazonas derivadas do núcleo metilenodioxila	117
<b>Tabela 13:</b>	Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os benzotriazocínicos	118
<b>Tabela 14:</b>	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , ppm) dos benzotriazocínicos derivados do núcleo metilenodioxila	119
<b>Tabela 15:</b>	Deslocamentos químicos de RMN de $^{13}\text{C}$ ou DEPT Q (DMSO- $d_6$ , ppm) dos benzotriazocínicos derivados do núcleo metilenodioxila	120
<b>Tabela 16:</b>	Comparação entre as Energias mínimas, Entalpias de formação e Energias de HOMO dos estereoisômeros <i>E</i> e <i>Z</i> das tiossemicarbazonas ensaiadas.	122
<b>Tabela 17:</b>	Energias mínimas e entalpia de formação, energias de HOMO, cargas de potencial eletrostático e densidade eletrônicas de HOMO dos estereoisômeros <i>E</i> das tiossemicarbazonas ensaiadas, respectivamente, substituídas na posição seis do anel derivado do 3,4-metilenodioxibenzaldeído pelos grupos nitro, amino, hidroxí, bromo e ciano.	124
<b>Tabela 18:</b>	Energias mínimas e entalpia de formação, energias de HOMO e ângulos diedros entre $\text{N}_1$ $\text{N}_2$ $\text{C}_2$ $\text{S}$ dos estereoisômeros <i>E</i> ( <i>anti</i> ) e ( <i>sin</i> ) e ainda Energias mínimas e entalpia de formação dos estereoisômeros <i>Z</i> das tiossemicarbazonas ensaiadas, respectivamente, substituídas na posição seis do anel derivado do 3,4-metilenodioxibenzaldeído pelos grupos nitro, amino, hidroxí, bromo e ciano.	125
<b>Tabela 19:</b>	Energias mínimas, distâncias internucleares entre átomos e ângulos diedros dos estereoisômeros <i>E</i> das tiossemicarbazonas ensaiadas na conformação mais estável ( <i>anti</i> ) entre os átomos de $\text{N}_1$ e $\text{S}$ .	127
<b>Tabela 20:</b>	Resultados da avaliação tripanomicida frente à epimatigotas de <i>T. cruzi</i> e citotoxicidade frente a linhagem celular J774-A1.	130
<b>Tabela 21:</b>	Resultados da avaliação tripanomicida frente à promastigotas de <i>L. amazonensis</i>	130

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Formas do <i>Tripamosoma. Cruzi</i>	2
<b>Figura 2</b>	Triatomíneos	3
<b>Figura 3</b>	Estruturas do nifrutimox e benzonidazol	4
<b>Figura 4</b>	Formas de <i>Leishmania sp.</i>	5
<b>Figura 5</b>	<i>Lutzomya longipalpi</i>	5
<b>Figura 6</b>	Leishmaniose tegumentar americana em caboclo da Amazônia	6
<b>Figura 7</b>	Estruturas do Pentostan® e Glutantime®	7
<b>Figura 8</b>	Enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase de <i>L. mexicana</i> .	10
<b>Figura 9</b>	Estruturas das poliaminas espermidina e espermina.	11
<b>Figura 10</b>	Transporte, biossíntese, interconversão e utilização de poliaminas em células de parasitos e hospedeiro humano.	12
<b>Figura 11</b>	Via da síntese de esteróis de acetato até ergosterol	14
<b>Figura 12</b>	Estrutura das estatinas, cetoconazol e terbinafina	15
<b>Figura 13</b>	Estruturas do albaconazol, ravuconazol e posaconazol	16
<b>Figura 14</b>	Estrutura do 22,26-azasterol	16
<b>Figura 15</b>	Estrutura cristalográfica da enzima diidrofolato redutase-timidilato sintase de <i>Trypanosoma cruzi</i>	17
<b>Figura 16</b>	Fármacos antitripanossomatídeos inibidores da DHFR: pirimetamina e sulfadiazina	17
<b>Figura 17</b>	$\alpha$ -Tubulina humana e estrutura da trifluralina.	18
<b>Figura 18</b>	Tripanotiona redutase não-ligada de <i>Crithidia fasciculata</i> , e estrutura de seu substrato a tripanotiona.	19
<b>Figura 19</b>	Esquema da via de recuperação de purinas por protozoários do gênero <i>Trypanosoma</i>	20
<b>Figura 20</b>	Óxido nítrico sintase (NOS) e conversão da arginina citrulina	21
<b>Figura 21</b>	O complexo cruzaína com ligante não-covalente	22
<b>Figura 22</b>	Estrutura da arginase de <i>T. cruzi</i>	22
<b>Figura 23</b>	Esquema de competição pela L-arginina entre as enzimas NOS e arginase	23
<b>Figura 24</b>	Estrutura do cloreto de 4-fenil-5-[3'ou 4'-metoxicinamoil]-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina	23
<b>Figura 25</b>	Estrutura cristalográfica do heterodímero topoisomerase I-vanadato de <i>L. donovani</i> em complexo com DNA	25
<b>Figura 26</b>	Estrutura cristalina da enzima Fe-superóxido dismutase	26
<b>Figura 27</b>	Reações antioxidantes em células de mamíferos e em tripanossomatídeos	27
<b>Figura 28</b>	Ciclo celular	28
<b>Figura 29</b>	Reações catalisadas pela enzima ferro superóxido dismutase	30
<b>Figura 30</b>	Reação de condensação – eliminação entre aldeídos e tiossemicarbazida	32
<b>Figura 31</b>	Estrutura da Paroxetina	36
<b>Figura 32</b>	Estrutura das tiossemicarbazonas	38
<b>Figura 33</b>	Reação da confirmação da iodação	55
<b>Figura 34</b>	Obtenção do piperonal a partir do safrol	81
<b>Figura 35</b>	Protonação do piperonal para obtenção do 6-nitropiperonal pela metodologia 1	83
<b>Figura 36</b>	Proposta mecanística para a reação de nitração do piperonal	83
<b>Figura 37</b>	Obtenção do 6-amino-piperonal	84



<b>Figura 38</b>	Estruturas de ressonância do sal de diazônio no núcleo 3,4-metilenodioxila	86
<b>Figura 39</b>	Mecanismo proposto para a geração do carbocátion arílico	86
<b>Figura 40</b>	Proposta mecanística para a substituição nucleofílica da reação de hidroxilação	88
<b>Figura 41</b>	Proposta mecanística para a substituição nucleofílica da reação de fluoretação.	88
<b>Figura 42</b>	Proposta mecanística para a redução do piperonal com boridreto de sódio	89
<b>Figura 43</b>	Proposta mecanística para a síntese do 6-iodo-piperonal	90
<b>Figura 44</b>	Equação da reação de redução do iodo	91
<b>Figura 45</b>	Proposta genérica para a oxidação de um álcool com PCC	91
<b>Figura 46</b>	Proposta mecanística para a síntese do 6-iodopiperonal empregando PCC	91
<b>Figura 47</b>	Proposta mecanística para a reação do piperonal com TCCA	93
<b>Figura 48</b>	Proposta mecanística para a bromação do piperonal	94
<b>Figura 49</b>	Proposta mecanística para a formação do acetal.	95
<b>Figura 50</b>	Representação dos orbitais do grupo de saída	95
<b>Figura 51</b>	Proposta mecanística para a reação de adição-eliminação.	96
<b>Figura 52</b>	Proposta mecanística para a hidrólise do acetal.	96
<b>Figura 53</b>	Proposta mecanística para a reação de metoxilação do 6-hidroxipiperonal	97
<b>Figura 54</b>	Proposta mecanística para a reação de acilação do 6-amino piperonal..	98
<b>Figura 55:</b>	Mecanismo proposto para síntese das tiossemicarbazonas	105
<b>Figura 56:</b>	Estruturas de ressonância para a tiossemicarbazonas.	109
<b>Figura 57:</b>	Ligação hidrogênio amínico (diastereoisomerismo).	110
<b>Figura 58:</b>	Ligação hidrogênio em TSC fluoradas na posição 6	110
<b>Figura 59:</b>	Estruturas de ressonância de TSC desblindagem do hidrogênio imínico	111
<b>Figura 60:</b>	Proposta mecanística para a reação entre a tiossemicarbazona e iodeto de metila	113
<b>Figura 61:</b>	Proposta mecanística para a síntese dos derivados benzotriazocínicos	118
<b>Figura 62:</b>	Estrutura da tiossemicarbazona com a ligação hidrogênio entre H4 e N1	121
<b>Figura 63</b>	Representação do potencial eletrostático (esq) e do HOMO (dir) do estereoisômero <i>E</i> (anti) em relação a N-S da tiossemicarbazona não substituída na posição seis do sistema 3,4-metilenodioxibenzaldeído.	122
<b>Figura 64:</b>	Representação do potencial eletrostático (esq) e do HOMO (dir) do estereoisômero <i>E</i> (anti) em relação a N-S da 6-nitrotiossemicarbazona derivada.	123
<b>Figura 65:</b>	Representação do potencial eletrostático (esq) e do HOMO (dir) do estereoisômero <i>E</i> (anti) em relação a N-S da 6-amino-tiossemicarbazona derivada	123
<b>Figura 66:</b>	Representação do potencial eletrostático (esq) e do HOMO (dir) do estereoisômero <i>E</i> (anti) em relação a N-S da 6-hidroxitiossemicarbazona derivada.	123
<b>Figura 67:</b>	Representação do potencial eletrostático (esq) e do HOMO (dir) do	123

	estereoisômero <i>E</i> (anti) em relação a N-S da 6-bromo-tiossemicarbazona derivada	
<b>Figura 68:</b>	Representação do potencial eletrostático (esq) e de HOMO (dir) estereoisômero <i>E</i> (anti) em relação a N-S da 6-ciano-tiossemicarbazida derivada.	124
<b>Figura 69:</b>	Gráfico do número de epimastigotas de <i>T. cruzi</i> x concentração da <b>M16</b> após 24h de incubação	129
<b>Figura 70:</b>	Gráfico de viabilidade celular de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> x concentração da tios-semicarbazona iodo-substituída em $\mu\text{M}$	130
<b>Figura 71</b>	Gráficos de índice de infecção x concentração em $\mu\text{M}$ para TSC CN e TSC I, frente a macrófagos infectados com amastigotas de <i>L. amazonensis</i> em ensaios de 72 h.	131
<b>Figura 72:</b>	Fotomicrografia de macrófagos infectados e tratados com TSC I	132
<b>Figura 73:</b>	Fotomicrografia de macrófagos infectados e tratados com TSC CN	132
<b>Figura 74:</b>	Estudo do efeito quelante da tiossemicarbazona iodo-substituída.	134
<b>Figura 75:</b>	Estudo do efeito quelante da tiossemicarbazona aminocloroacetil-substituída	134
<b>Figura 76:</b>	Estudo do efeito quelante da tiossemicarbazona não-substituída.	135
<b>Figura 77:</b>	Estudo do efeito quelante da tiossemicarbazona amino-substituída.	135

## ÍNDICE DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1:</b>	Análise retrossintética da tiossemicarbazona	33
<b>Esquema 2:</b>	Síntese de aldeídos e álcoois derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila	82
<b>Esquema 3:</b>	Representação das reações propostas para a síntese do 6-cianopiperonal	94

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs	Absorbância
AM1	Austin Model 1
BOD	Biochemical Oxygen Demand – Estufa com Controle da Demanda Bioquímica de Oxigênio
d	duplete
dd	duplo duplete
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Desoxiribonucleic acid – ácido Desoxiribonucléico
DNDi	Drugs for Neglected Diseases initiative – Drogas para Doenças Negligenciadas - iniciativa
Hz	Hertz
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital - Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia
IC <sub>50</sub>	Maximal Inhibitory Concentration – Concentração máxima inibitória
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento (em Hz)
LIT	Liver Infusion Tryptose
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital - Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia
m	multiplete
M	Molaridade (concentração em moles/L)
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Phosphate Buffer Saline – Tampão de Fosfato Salino
PCC	Cloreto de crômio piridina
PF	Ponto de fusão (°C)
q	quarteto
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono

RPMI	Roswell Park Memorial Institut - Meio de cultura desenvolvido pelo Instituto Memorial Park Roswell composto de aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais, próprios para o crescimento celular.
s	simpleto
sbl	simpleto de base larga
SBF	Soro Bovino Fetal
SN <sub>1</sub>	Substituição nucleofílica monomolecular
SN <sub>2</sub>	Substituição nucleofílica bimolecular
t	tripleto
TAU-P	Triatomine Artificial Urine
TCCA	Trichoroisonianuric Acid – Ácido tricloroisocianúrico
TMS	Tetrametilsilano
TSC	Tiossemicarbazona
UV	Ultravioleta
WHO	World Health Organization – Organização Mundial da Saúde
v/v	porcentagem volume por volume (concentração)
XTT	2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino) carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide
μM	micromolar (concentração)
δ	deslocamento químico (em parte por milhão - ppm)
v	estiramento (em cm <sup>-1</sup> )

## SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
Índice de Tabelas	iii
Índice de Figuras	iv
Índice de Esquemas	vii
Lista de abreviaturas e siglas	viii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 – Doenças tropicais causadas por parasitas da família Trypanosomatidae	1
1.1.1 – Doença de Chagas <i>Trypanosoma</i> (D. de Chagas)	1
1.1.1.1 – Agente etiológico: <i>T. cruzi</i>	2
1.1.1.2 – Transmissor: <i>Triatoma sp</i>	2
1.1.1.3 – Formas de transmissão e fases da doença	3
1.1.1.4 – Tratamento	3
1.1.2 – Leishmanioses <i>Leishmania</i> (L. cutânea e L. visceral)	5
1.1.2.1 – Agente etiológico: <i>Leishmania</i>	5
1.1.2.2 – Transmissor: <i>Lutzomyia</i>	5
1.1.2.3 – Transmissão e manifestações clínicas da doença	6
1.1.2.4 – Tratamento	7
1.2 – Enzimas de tripanossomatídeos: Alvos quimioterápicos	8
1.2.1 – Enzimas da via glicolítica	9
1.2.2 – Enzimas da biossíntese de poliaminas	10
1.2.3 – Enzimas da biossíntese de esteróis	13
1.2.4 – Enzimas do metabolismo de folato	16
1.2.5 – Enzimas da biossíntese de microtúbulos	17
1.2.6 – Enzimas mantenedoras do equilíbrio redox - Tripanotiona redutase	18
1.2.7 - Hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase	19
1.2.8 - Óxido nítrico sintase	20
1.2.9 - Cisteína proteinases	21
1.2.10 – Arginase	22
1.2.11 – As enzimas DNA-topoisomerasas	23
1.3 – Superóxido dismutase – Uma metaloenzima de ferro em tripanossomatídeos	25

1.4 – Íons de ferro – importantes alvos quimioterápicos em tripanossomatídeos	27
1.5 – Agentes quelantes de íons ferro em tripanossomatídeos	30
1.6 – Metodologia sintética – Hibridação molecular	31
1.6.1 – A síntese de tiossemicarbazonas e carbimidatoatos derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila	32
2. JUSTIFICATIVAS	35
2.1 - O núcleo 3,4-metilenodioxila – atividades sobre sistemas biológicos e ação antitripanossomatídeos	35
2.2 - As tiossemicarbazonas - potentes quelantes de íons de ferro e atividade antitripanossomatídeos	37
3. OBJETIVOS	40
4. MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1 – Equipamentos , Vidrarias e outros Materiais	41
4.2 – Reagentes e Solventes	42
4.3 – Síntese das Tiossemicarbazonas	43
4.3.1 – Purificação do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M01</b>	43
4.3.2 - Síntese do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M02</b>	44
4.3.3 - Síntese do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carbaldeído <b>M03</b>	45
4.3.4 - Síntese do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol -5- (Sandmayer) <b>M04</b>	46
4.3.5 – Síntese do Piperonol - Redução da Carbonila <b>M05</b>	47
4.3.6 – Síntese do 6-aminopiperonol <b>M06</b>	48
4.3.7 - Síntese do (6-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol <b>M07</b>	49
4.3.8 - Síntese do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M08</b>	50
4.3.9 - Síntese do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído, através do ácido tricloro isocianúrico – TCCA <b>M09</b>	50
4.3.10 - Síntese do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M10</b>	52
4.3.11 - Síntese do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M11</b>	53
4.3.12 – Síntese do 6-fluorpiperal <b>M12</b>	55
4.3.13 – Síntese do 6-metoxipiperonal <b>M13</b>	56
4.3.14 - Síntese do 2-cloro- <i>N</i> -(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida <b>M14</b>	56
4.3.15– Síntese 2,2,2-trifluór- <i>N</i> -(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida <b>M15</b>	57

4.4-Síntese das tiossemicarbazonas derivadas do sistema 3,4-metilenodioxibenzoxila e de benzofluorados <b>M16 a M37</b>	59
4.4.1 - Síntese do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazonas e benzofluoradas	59
4.4.2 Caracterização estrutural das tiossemicarbazonas do sistema 3,4-metilenodioxila	59
4.4.3 Caracterização estrutural das benzofluortiossemicarbazonas	66
4.5 – Síntese de carbimidotioatos <b>M38 a M43</b>	71
4.5.1 - Caracterização estrutural dos carbimidotioatos	71
4.6 - Síntese dos derivados benzotriazocínicos <b>M44 e M45</b>	74
4.6.1 - Caracterização estrutural dos derivados benzotriazocínicos	75
4.7 - Modelagem Molecular	76
4.8 - Ensaio Biológico	76
4.8.1 - Avaliação da citotoxicidade das tiossemicarbazonas sintetizadas frente a células J774	76
4.8.2 – Avaliação in vitro da atividade tripanocida das tiossemicarbazonas contra formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i>	77
4.8.3 – Avaliação in vitro das Tiossemicarbazonas frente a <i>L. amazonensis</i>	78
4.8.3.1 - Cultivo de parasitos	78
4.8.3.2 - Atividade Antipromastigota	79
4.9 - Determinação da atividade quelante	80
<b>5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>81</b>
5.1 Síntese dos aldeídos e alcoóis derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila	81
5.1.1 Síntese do 6-nitropiperonal	82
5.1.2 Síntese do 6-aminopiperonal	84
5.1.3 A reação de Sandmayer	84
5.1.3.1 A reação de Sandmayer empregada para a obtenção dos derivados 6-fluor e 6-hidroxipiperonal	87
5.1.4 Obtenção do 6-iodopiperonal via redução prévia da carbonila	88
5.1.4.1 Redução do piperonal – Síntese do piperonol	88
5.1.4.2 Síntese do 6-iodopiperonol	90
5.1.4.3 Síntese do 6-iodo piperonal	91
5.1.5 Reações diretas do piperonal para obtenção dos 6-cloro e 6-bromopiperonal	92



5.1.5.1 Cloração do piperonal via substituição eletrofílica aromática	92
5.1.5.2 Bromação do piperonal via substituição nucleofílica aromática	93
5.1.6 Nitrilação do piperonal	94
5.1.7 Metoxilação do hidroxipiperonal	96
5.1.8 Síntese do 2-cloro- <i>N</i> -(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida	97
5.1.9 Síntese do 2,2,2-trifluór- <i>N</i> -(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida	98
5.2 Análise Espectroscópica de aldeídos e alcoóis sintetizados	98
5.2.1 Infravermelho	98
5.2.2 RMN de $^1\text{H}$	100
5.2.3 RMN de $^{13}\text{C}$	102
5.3 - Síntese da tiossemicarbazonas	104
5.4 - Análise Espectroscópica	106
5.4.1 Infravermelho	106
5.4.2 RMN de $^1\text{H}$	108
5.4.3 RMN de $^{13}\text{C}$	111
5.5 - Síntese dos carbimidotioatos	113
5.6 - Análise Espectroscópica	114
5.6.1 Infravermelho	114
5.6.2 RMN $^1\text{H}$	114
5.6.3 RMN $^{13}\text{C}$ e ou DEPT Q	116
5.7 - Síntese de benzotriazocínicos	117
5.8 - Análise espectroscópica dos benzotriazocínicos sintetizados	118
5.8.1 RMN $^1\text{H}$	118
5.8.2 RMN DEPT Q	119
5.9 - Modelagem Molecular	120
5.10 - Avaliações Biológicas	128
5.10.1 - Avaliação das tiossemicarbazonas frente a <i>T. cruzi</i>	128
5.10.2 - Avaliação das tiossemicarbazonas frente a <i>L. amazonensis</i>	130
5.11 - Avaliação da Atividade Quelante das tiossemicarbazonas frente a $\text{Fe}^{+2}$ e $\text{Zn}^{+2}$	133
6 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	136

7 - REFERÊNCIAS	139
8 – ANEXOS	164
8.1 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M01</b>	164
8.2 Espectro de RMN de DEPT Q do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M01</b>	164
8.3 Espectro de IV do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M01</b>	165
8.4 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M02</b>	165
8.5 Espectro de DEPTQ do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M02</b>	166
8.6 Espectro de IV do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M02</b>	166
8.7 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M03</b>	167
8.8 Espectro de DEPTQ do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M03</b>	167
8.9 Espectro de IV do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M03</b>	168
8.10 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M04</b>	168
8.11 Espectro de DEPTQ do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M04</b>	169
8.12 Espectro de IV do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M04</b>	169
8.13 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ <b>M05</b>	170
8.14 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ <b>M05</b>	170
8.15 Espectro de RMN de DEPT135 <b>M05</b>	171
8.16 Espectro de IV <b>M05</b>	171
8.17 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-aminopiperonol <b>M06</b>	172
8.18 Espectro de de RMN de $^{13}\text{C}$ <b>M06</b>	172
8.19 Espectro de RMN de DEPT135 do 6-aminopiperonol <b>M06</b>	173
8.20 Espectro de IV do 6-amino-piperonol <b>M06</b>	173
8.21 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do (6-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol <b>M07</b>	174
8.22 Espectro de de RMN de $^{13}\text{C}$ <b>M07</b>	174
8.23 Espectro de RMN de DEPT135 do (6-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol <b>M07</b>	175
8.24 Espectro de IV do (6-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol <b>M07</b>	175
8.25 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carbaldeído <b>M08</b>	176
8.26 Espectro de DEPTQ do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M08</b>	176
8.27 Espectro de IV do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M08</b>	177
8.28 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carbaoxldeído – TCCA <b>M09</b>	177

8.29 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído – TCCA <b>M09</b>	178
8.30 Espectro de RMN de DEPT 135 do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído – TCCA <b>M09</b>	178
8.31 Espectro de IV do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M09</b>	179
8.32 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M10</b>	179
8.33 Espectro de DEPTQ do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M10</b>	180
8.34 Espectro de IV do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M10</b>	180
8.35 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M11</b>	181
8.36 Espectro de DEPTQ do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M11</b>	181
8.37 Espectro de IV do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído <b>M11</b>	182
8.38 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-flúorpiperalona <b>M12</b>	182
8.39 Espectro de RMN de DEPT Q do 6-flúorpiperalona <b>M12</b>	183
8.40 Espectro de IV do 6-flúorpiperalona <b>M12</b>	183
8.41 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6 metoxipiperalona <b>M13</b>	184
8.42 Espectro de DEPTQ do 6 metoxipiperalona <b>M13</b>	184
8.43 Espectro de IV do 6 metoxipiperalona <b>M13</b>	185
8.44 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 2-cloro- <i>N</i> -(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida <b>M14</b>	185
8.45 Espectro de DEPTQ do 2-cloro- <i>N</i> -(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida <b>M14</b>	186
8.46 Espectro de IV do 2-cloro- <i>N</i> -(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida <b>M14</b>	186
8.47 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 2,2,2-triflúor- <i>N</i> -(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida <b>M15</b>	187
8.48 Espectro de DEPTQ do 2,2,2-triflúor- <i>N</i> -(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida <b>M15</b>	187
8.49 Espectro de IV do 2,2,2-triflúor- <i>N</i> -(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida <b>M15</b>	188
8.50 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	188
8.51 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	189
8.52 Espectro de RMN de DEPT135 do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	189
8.53 Espectro de IV do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	190
8.54 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	190
8.55 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	191
8.56 Espectro de RMN de DEPT 135 do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	191

8.57 Espectro de IV do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	192
8.58 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carbaldeídotiossemicarbazona	192
8.59 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carbaldeídotiossemicarbazona	193
8.60 Espectro de RMN de DEPT135 do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carbaldeídotiossemicarbazona	193
8.61 Espectro de IV do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	194
8.62 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	194
8.63 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	195
8.64 Espectro de IV do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	195
8.65 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	196
8.66 Espectro de DEPTQ do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	196
8.67 Espectro de IV do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	197
8.68 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	197
8.69 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	198
8.70 Espectro de RMN de DEPT135 do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	198
8.71 Espectro de IV do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	199
8.72 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	199
8.73 Espectro de DEPTQ do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	200
8.74 Espectro de IV do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	200
8.75 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	201
8.76 Espectro de DEPTQ do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	201
8.77 Espectro de IV do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	202
8.78 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona,	202
8.79 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	203
8.80 Espectro de RMN de DEPT135 do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	203
8.81 Espectro de IV do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona	204

8.82 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído-tiossemicarbazona	204
8.83 Espectro de DEPT Q do 6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído-tiossemi-carbazona	205
8.84 Espectro de IV do 6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído-tiossemicarbazona	205
8.85 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-cloroaminoacetilpiperonaltiossemicarbazona	206
8.86 Espectro de DEPTQ do 6-cloroaminoacetilpiperonaltiossemicarbazona	206
8.87 Espectro de IV do 6-cloroaminoacetilpiperonaltiossemicarbazona	207
8.88 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-trifluoraminocetilpiperonaltiossemicarbazona	207
8.89 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 6-trifluoraminocetilpiperonaltiossemicarbazona	208
8.90 Espectro de RMN de DEPT 135 do 6-trifluoraminocetilpiperonaltiossemicarbazona	208
8.91 Espectro de IV do 6-trifluoraminocetilpiperonaltiossemicarbazona	209
8.92 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 2'-fluorbenzaldeídotossemicarbazona	209
8.93 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 2'-fluorbenzaldeídotossemicarbazona	210
8.94 Espectro de RMN de DEPT135 do 2'-fluorbenzaldeídotossemicarbazona	210
8.95 Espectro de IV do 2'-fluorbenzaldeídotossemicarbazona	211
8.96 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 2',3'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	211
8.97 Espectro de DEPT Q do 2',3'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	212
8.98 Espectro de IV do 2',3'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	212
8.99 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 2,5'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	213
8.100 Espectro de DEPTQ do 2,5'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	213
8.101 Espectro de IV do 2,5'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	214
8.102 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 2,6'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	214
8.103 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 2,6'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	215
8.104 Espectro de RMN de DEPT135 do 2,6'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	215
8.105 Espectro de IV do 2,6'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	216
8.106 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 3,4'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	216
8.107 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 3,4'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	217
8.108 Espectro de RMN de DEPT135 do 3,4'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	217
8.109 Espectro de IV do do 3,4'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	218
8.110 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 3,5'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	218

8.111 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 3,5'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	219
8.112 Espectro de RMN de DEPT135 do 3,5'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	219
8.113 Espectro de IV do 3,5'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona	220
8.114 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 2',3',4'-trifluorbenzaldeídotossemicarbazona	220
8.115 Espectro de DEPT Q do 2',3',4'-trifluorbenzaldeídotossemicarbazona	221
8.116 Espectro de IV do 2',3',4'-trifluorbenzaldeídotossemicarbazona	221
8.117 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 2', 3', 5', 6'-tetrafluorbenzaldeídotossemicarbazona	222
8.118 Espectro de DEPTQ do 2', 3', 5', 6'-tetrafluorbenzaldeídotossemicarbazona	222
8.119 Espectro de IV do 2', 3', 5', 6'-tetrafluorbenzaldeídotossemicarbazona	223
8.120 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 2', 3', 4', 5', 6'-pentafluorbenzaldeídotossemicarbazona	223
8.121 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do 2', 3', 4', 5', 6'-pentafluorbenzaldeídotossemicarbazona	224
8.122 Espectro de IV do 2', 3', 4', 5', 6'-pentafluorbenzaldeídotossemicarbazona	224
8.123 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 4-(trifluorometil)-benzaldeídotossemicarbazona	225
8.124 Espectro de DEPT Q do 4-(trifluorometil)-benzaldeídotossemicarbazona	225
8.125 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do metil-(2 <i>E</i> )-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidotioato	226
8.126 Espectro de DEPT Q do metil-(2 <i>E</i> )-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidotioato	226
8.127 Espectro de IV do metil-(2 <i>E</i> )-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidotioato	227
8.128 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do metil-(2 <i>E</i> )-2-[(6'-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno]- <i>N</i> -metilhidrazinacarbimidotioato	227
8.129 Espectro de DEPT Q do metil-(2 <i>E</i> )-2-[(6'-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno]- <i>N</i> -metilhidrazinacarbimidotioato	228
8.130 Espectro de IV do metil-(2 <i>E</i> )-2-[(6'-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno]- <i>N</i> -metilhidrazinacarbimidotioato	228
8.131 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do alil-(2 <i>E</i> )-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacar-bimidotioato	229
8.132 Espectro de DEPTQ do alil-(2 <i>E</i> )-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacar-bimidotioato	229
8.133 Espectro de IV do alil-(2 <i>E</i> )-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidotioato	230

8.134 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do alil-(2E)-2-(6'-bromo-1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidotioato	230
8.135 Espectro de DEPTQ do alil-(2E)-2-(6'-bromo-1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidotioato	231
8.136 Espectro de IV do alil-(2E)-2-(6'-bromo-1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidotioato	231
8.137 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do metil-(2E)-2[(6-cloro-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazinacarbimidotioato	232
8.138 Espectro de DEPTQ do metil-(2E)-2[(6-cloro-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazinacarbimidotioato	232
8.139 Espectro de IV do metil-(2E)-2[(6-cloro-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazinacarbimidotioato	233
8.140 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do metil(2E)-2[(6-bromo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazinacarbimidotioato	233
8.141 Espectro de DEPT Q do metil(2E)-2[(6-bromo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazinacarbimidotioato	234
8.142 Espectro de IV do metil(2E)-2[(6-bromo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazinacarbimidotioato	234
8.143 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ 8-(4-metoxifenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5- <i>i</i> ]benzotriazocin-6-(5H)ona	235
8.144 Espectro de DEPTQ do 8-(4-metoxifenil)-7,8-dihidro[1,3]di-oxo[4,5- <i>i</i> ]benzotriazocin-6-(5H)ona	235
8.145 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 8-(2-nitrofenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5- <i>i</i> ]-benzo-triazocin-6-(5H)ona	236
8.146 Espectro de DEPTQ do 8-(2-nitrofenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5- <i>i</i> ]benzotria-zocin-6-(5H)ona	236
8.147 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de troca com $\text{D}_2\text{O}$ do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO	237
8.148 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de troca com $\text{D}_2\text{O}$ do 2',6'-difluorbenzaldeídotiossemicarbazona 400 MHz em DMSO	237
8.149 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de troca com $\text{D}_2\text{O}$ do 2',3',5',6'-tetrafluorbenzaldeídotiossemicarbazona 400 MHz em DMSO	238
8.150 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de troca com $\text{D}_2\text{O}$ do 2',3',4',5',6'-pentafluorbenzaldeídotiossemi carbazona 400 MHz em DMSO	238

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 - Doenças Causadas por Parasitas da Família Trypanosomatidae

Entre as doenças parasitárias não intestinais mais importantes destacam-se as causadas por parasitas da família Trypanosomatidae pertencentes aos gêneros *Leishmania* (leishmaniose cutânea e leishmaniose visceral) e *Trypanosoma* (doença de Chagas e doença do sono) (GONTIJO *et al.*, 2003). A leishmaniose humana é a mais importante e quando não tratada, a mais fatal doença parasitária tropical; relata-se ainda a pequena eficácia nos tratamentos conhecidos (DODD *et al.*, 1989). Estima-se que trezentos e cinquenta milhões de habitantes estejam em risco de infecção no mundo. A leishmaniose é uma doença endêmica na América do Sul e afeta aproximadamente doze milhões de pessoas, em 88 países. Estima-se que dois milhões de novos casos da doença ocorram anualmente, sendo um milhão e meio de casos de leishmaniose cutânea e quinhentos mil casos de leishmaniose visceral. Destes totais apenas seiscentos mil casos são oficialmente declarados, já que a declaração é obrigatória somente em trinta e dois dos oitenta e oito países afetados pela doença (WHO, 2012).

As leishmanioses são importantes em termos de morbidade que é o número de portadores de determinada doença em relação aos habitantes de uma população específica por período de tempo; enquanto outras leishmanioses são importantes em termos de mortalidade, que é um dado demográfico representativo do número de óbitos de uma determinada região por período de tempo (MAYRINK & MAGALHÃES, 1999).

Já a doença de Chagas é a doença parasitária mais importante das Américas, estima-se que entre oito a quinze milhões de pessoas estão infectadas e trinta milhões de pessoas correm o risco de serem infectadas por residirem em áreas endêmicas (LANNES-VIEIRA, *et al.*, 2010); o que constitui um sério problema de saúde pública. A doença também ocorre em regiões metropolitanas dos Estados Unidos da América, devido ao fluxo de imigrantes da América Central (WHO, 2007).

### 1.1.1 - Doença de Chagas - causada por espécie do gênero *Trypanosoma*

A doença de Chagas é uma infecção de natureza endêmica, causada por um protozoário, o *Trypanosoma cruzi*, e transmitida originalmente ao homem através de triatomíneos (VERONESI, 1991).



### 1.1.1.1 - Agente etiológico: *T. cruzi*

O parasita *T. cruzi* (Figura 1) é um protozoário da classe Mastigophora, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. Durante seu ciclo de vida, apresenta-se sob as formas flageladas (epimastigota e tripomastigota) e aflagelada (amastigota). No homem e nos animais vertebrados (tatus, macacos, gambás, etc.), o tripomastigota tem por *habitat* o meio circulante, e o amastigoto, os tecidos. No triatomíneo, além dos tripomastigotas, observa-se a forma de transição epimastigota (VERONESI, 1991). Considera-se que os epimastigotas sejam formas que se dividem nos invertebrados enquanto os amastigotos se dividem nos vertebrados, enquanto que, os tripomastigotas são as formas infectantes, que não se multiplicam.

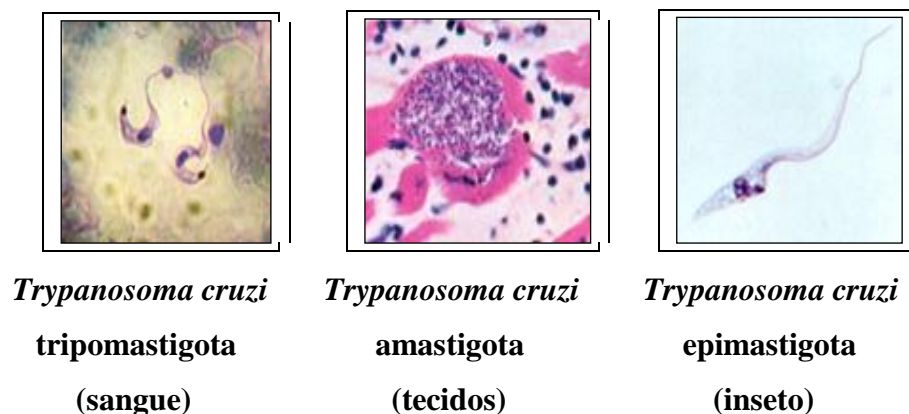


Figura 1 – Formas do *T. cruzi* ([http://www.ib.unicamp.br/dep\\_parasitologia](http://www.ib.unicamp.br/dep_parasitologia), 2007).

### 1.1.1.2 - Transmissor: *Triatoma sp*

Os triatomíneos são insetos da ordem Hemiptera, família Reduviidae, subfamília Triatominae, vulgarmente conhecidos como “barbeiros” ou “chupanças”. Já foram descritas cerca de cento e quarenta espécies de triatomíneos, porém apenas algumas espécies são consideradas vetores, e dependendo de cada região prevalece uma espécie. Na América do Sul, atualmente, apresentam importância epidemiológica os *Triatomas brasiliensis*, *dimidiata* e *infestans*; *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus* (Figura 2) (RASSI Jr, A. et al. 2012).

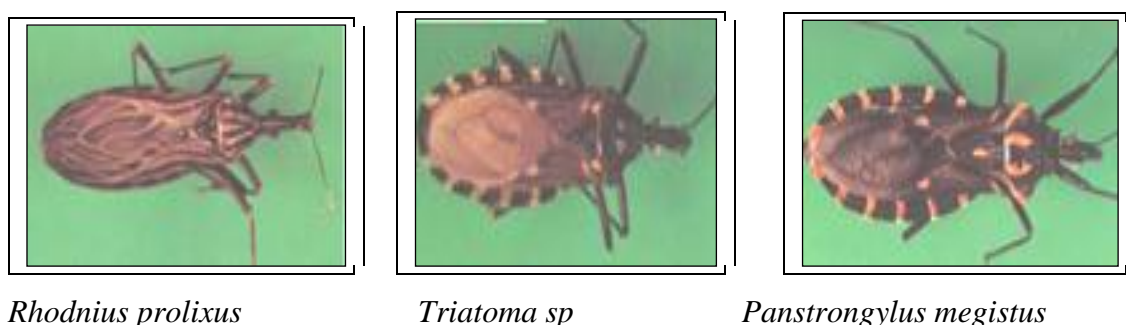


Figura 2 – Triatomíneos ([http://www.ib.unicamp.br/dep\\_parasitologia](http://www.ib.unicamp.br/dep_parasitologia), 2007)

### 1.1.1.3 - Formas de transmissão e fases da doença

Até a metade da década de 90, a principal forma de transmissão da doença de Chagas era através da picada do triatomíneo. Entretanto, através de várias medidas profiláticas de combate ao inseto, as transfusões de sangue passaram a ser as principais causas do surgimento de novos casos dessa enfermidade (DIAS & SCHOFIELD, 1998). Segundo Veronesi, outras formas menos comuns são: a transmissão congênita, pelo leite materno, por acidentes em laboratórios, por transplantes de órgãos e por via digestiva através da contaminação de alimentos ou de utensílios domésticos com fezes de triatomíneos infectados.

Uma vez infectado, o indivíduo pode passar por duas fases da doença: aguda e crônica. A fase aguda é definida como o estágio da doença no qual o parasita, *T. cruzi*, é facilmente detectado pelo exame direto do sangue periférico (LUQUETTI, 1997). Inicialmente, ela caracteriza-se pelo aparecimento de inflamação local com inchaço “geralmente em um dos olhos – mal de Romaña”, febre baixa e permanente e ínguas. Após alguns dias de incubação, 4 a 10, podem ocorrer cefaléia, mal estar geral com perda de apetite e aumento da frequência cardíaca. Alguns órgãos como coração, fígado e baço, apresentam aumento de volume. Com a regressão das manifestações da fase aguda (geralmente 2 meses), o paciente entra em um estado de cura aparente, podendo permanecer assintomático durante longo período. Após 10 ou 20 anos, podem aparecer os sintomas característicos da fase crônica, principalmente de problemas relacionados ao coração e ao sistema digestório (VERONESI, 1991).

### 1.1.1.4 - Tratamento

O tratamento da doença de Chagas é feito de forma sintomática (para atenuação dos sintomas) e através de terapêutica específica (contra o parasita).

Desde o final de década de 60 e início dos anos 70, dois fármacos têm sido usados para o tratamento específico dessa doença: o nifurtimox e o benzonidazol (Figura 3).

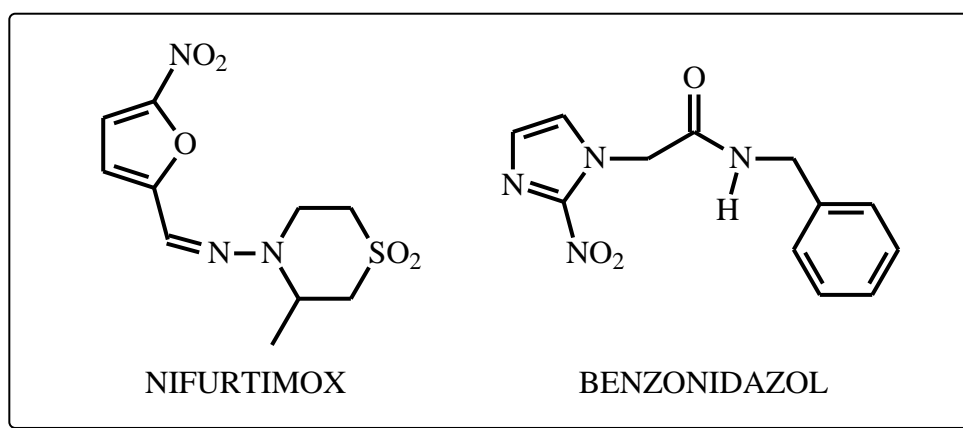


Figura 3 – Estruturas do nifurtimox e do benzonidazol.

O nifurtimox (Lampit ®) é um derivado do 5-nitrofurfurilideno, que desde os anos 80 não é mais comercializado no Brasil. O modo de ação desse fármaco envolve a formação do radical nitroânion por enzimas nitroredutases, que, na presença de oxigênio, leva a intermediários reativos. Como o *T. cruzi* é deficiente em mecanismos de desintoxicação de radicais livres, ele fica suscetível a tais intermediários, (Do CAMPO, 1986).

O benzonidazol (Rochagan ®) é um derivado 2-nitroimidazólico, cujo modo de ação pode envolver a ligação covalente (ou outras interações) dos intermediários nitroreduzidos com os componentes dos parasitas (POLAK & RICHELE, 1978) ou do DNA, lipídeos e proteínas (TORANZO *et al.*, 1988).

A eficiência desses fármacos depende do estágio da doença, do período de tratamento, da dosagem, da idade e da região geográfica em que residem os pacientes (COURA & De CASTRO, 2002). Em geral, o período de tratamento é de 30 a 60 dias, com doses diárias do medicamento, e requer internação do paciente.

Esses medicamentos parecem ser eficientes apenas nas fases aguda ou crônica recente da doença (menos que 10 anos), com taxa de cura sorológica e parasitária de até 60%, sendo contraindicados na fase crônica (LUQUETTI, 1997). Quando utilizados na fase crônica, a definição de cura é bastante difícil, pois se observa geralmente parasitemia negativa e a persistência de resultados positivos de sorologia.

Além disso, possuem graves efeitos colaterais. O nifurtimox afeta, principalmente, o sistema digestório, podendo causar náuseas, vômito, cólicas intestinais e diarreia, e o benzonidazol causa manifestações cutâneas, segundo Luquetti.

Os fatos anteriores evidenciam a necessidade do desenvolvimento de novos agentes específicos para a doença de Chagas. A Organização Mundial da Saúde (OMS) postula que o fármaco ideal para o tratamento dessa doença deva preencher os seguintes requisitos: cura parasitológica dos casos agudos e crônicos; baixo custo; não apresentar efeitos colaterais ou teratogênicos, não deve haver necessidade de hospitalização para o tratamento; não induzir resistência no protozoário (COURA & De CASTRO, 2002).

### **1.1.2 - Leishmaniose causada por espécies do gênero *Leishmania***

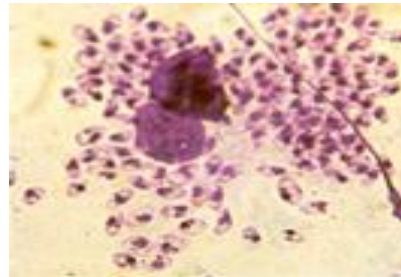
A leishmaniose é uma enfermidade infecciosa generalizada, crônica, causada por protozoários do gênero *Leishmania* e transmitida ao homem por insetos flebótomos (NEVES, 1991).

### 1.1.2.1 – Agente etiológico: *Leishmania*

Os membros do gênero *Leishmania* pertencem à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e são classificados em diferentes “complexos”. Durante seu ciclo biológico, os parasitas do gênero *Leishmania* existem em duas formas: promastigota e amastigota (Figura 4). A forma promastigota é flagelada e extracelular e infecta seres humanos e outros vertebrados, vivendo também no trato digestivo do inseto vetor. A forma amastigota é desprovida de movimento e localiza-se nos macrófagos dos hospedeiros. Ambas as formas possuem a propriedade de se dividir (CHAN-BACAB & PENA RODRIGUES, 2001 e VERONESI, 1991).



promastigota



amastigota

**Figura 4** – Formas de *Leishmania* sp. ([http://www.ib.unicamp.br/dep\\_parasitologia](http://www.ib.unicamp.br/dep_parasitologia), 2007)

### 1.1.2.2 - Transmissor: *Lutzomyia*

A leishmaniose é adquirida devido à ação de fêmeas de insetos hematófagos pertencentes à família Psychodidae, conhecidos pelo nome genérico de flebótomos. No “Novo Mundo”, eles estão representados pelo gênero *Lutzomyia*, (Figura 5) e são vulgarmente conhecidos por “birigui” ou “mosquito-palha”; e no “Velho Mundo” por insetos do gênero *Phlebotomus* (CHAN-BACAB & PENA RODRIGUES, 2002 e NEVES, 1991).



**Figura 5** – *Lutzomyia longipalpis* (fêmea do mosquito-palha)

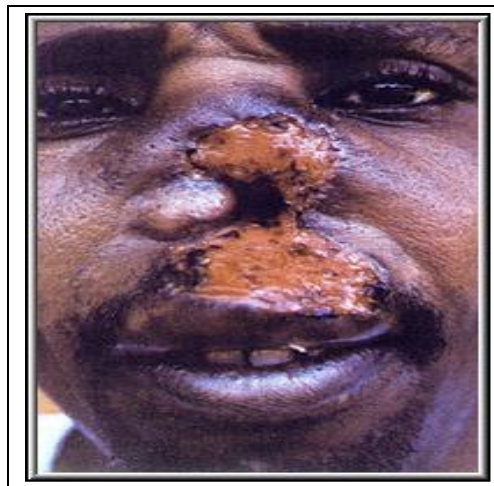
### 1.1.2.3 - Transmissão e manifestações clínicas da doença

A principal forma de transmissão da leishmaniose é através da picada do inseto flebótomo, mas existem outros meios que, apesar de serem raros e sem importância epidemiológica, podem ocorrer, dentre eles: transmissão congênita, transfusão de sangue e acidentes em laboratório (NEVES, 2001).

Uma vez infectado com o parasita *Leishmania spp* o indivíduo pode apresentar uma das manifestações clínicas da doença. Essas manifestações são usadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para classificar as leishmanioses em quatro formas distintas; visceral, mucocutânea, cutânea difusa ou disseminada e cutânea.

A leishmaniose visceral é a forma mais grave da doença, sendo fatal na maioria dos casos. As demais leishmanioses, geralmente, não são fatais, mas causam a desfiguração dos indivíduos, além de, se não tratadas, poderem evoluir para a forma mais grave da doença (GARNIER & CROFT, 2002).

A cada forma clínica da doença está associada uma espécie do parasita: *Leishmanias* do complexo *donovani* causam a leishmaniose visceral; do complexo *tropica* induzem a lesão cutânea no “Velho Mundo”; e do complexo *mexicana* ocasionam as leishmanioses cutânea e cutânea difusa em países da América Latina (CHAN-BACAB & PENA RODRIGUES, 2001). No Brasil, de maneira geral, a leishmaniose cutânea é causada por *L. amazonensis* (Figura 6); a forma mucocutânea por *L. brasiliensis*, e a visceral por *L. infantum*.



**Figura 6** - Leishmaniose tegumentar americana em caboclo da Amazônia ([www.exercito.gov.br/03ativid/Amazonia/doetropi/0021806.htm](http://www.exercito.gov.br/03ativid/Amazonia/doetropi/0021806.htm) - 2008)

#### 1.1.2.4 – Tratamento

Há cinquenta anos a quimioterapia das leishmanioses baseia-se na utilização de antimoniais, principalmente do estibogluconato de sódio (Pentostan ®) e do antimoniato de meglumina (Glucantime ®) (Figura 7).

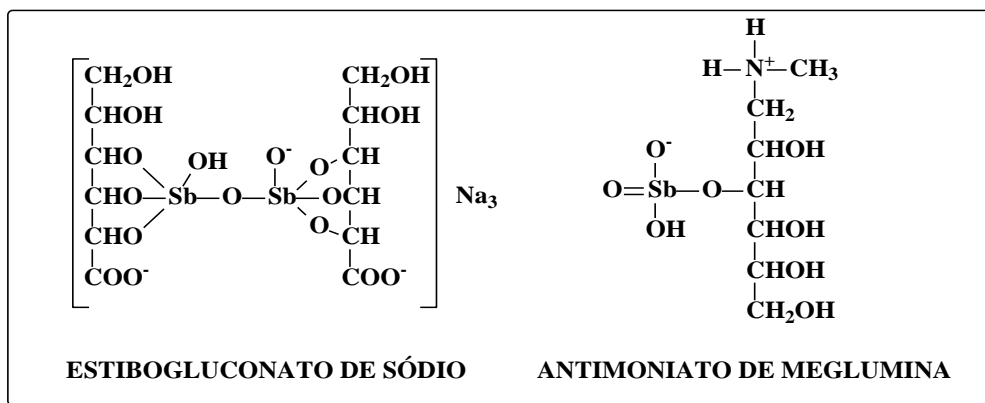


Figura 7 – Estrutura do Pentostan ® e estruturas propostas para o Glucantime ® (WILLIAN *et al.*, 1998).

Esses antimoniais agem através da interferência nos processos bioenergéticos das formas amastigotas. Segundo Berman, (1998) eles ligam-se e inibem diferentes proteínas do parasita, particularmente enzimas envolvidas na glicólise e na oxidação de ácidos graxos, resultando na redução da geração de ATP e GTP.

Segundo Chan-Bacab e Pena-Rodrigues, as formulações destes fármacos contêm várias estruturas moleculares “não caracterizadas”. O Pentostam® contém muitos complexos de antimônio com derivados de carboidratos, formados a partir do ácido glucônico. Já o Glucantime® é constituído por derivados da *N*-metilglucamina.

Segundo Chan-Bacab e Pena-Rodrigues (2001) diversos problemas estão associados à utilização destes medicamentos na quimioterapia antileishmaniose. Eles causam efeitos colaterais graves, que incluem alterações gastrointestinais, cardiotoxicidade e insuficiência renal e hepática, além de serem caros e requererem administração parenteral em tratamentos prolongados e ainda elevarem a resistência do parasito. Entretanto, pelo menos um dos inconvenientes associado ao uso dos antimoniais poderá ser solucionado por pesquisadores brasileiros: a administração por formulação parenteral poderá em curto período de tempo ser substituída por formulações orais contendo os antimoniais associados com ciclodextrina (DEMICHELI, *et al.*, 2004).

Ainda segundo Chan-Bacab e Pena-Rodrigues uma das alternativas na quimioterapia da leishmaniose é a utilização do antibiótico antifúngico anfotericina B, que age ligando-se ao ergosterol na membrana do parasita, aumentando a permeabilidade de pequenas moléculas.

Existem várias formulações desta substância, que foram desenvolvidas com o objetivo de aumentar a sua biodisponibilidade e reduzir a sua toxicidade (Ambisome®, Ambicel®, Anfocil®). Entretanto, alterações das funções renais ainda são observadas em 80% dos pacientes tratados.

Outro antibiótico utilizado é a aminosidina, também conhecido como paromomicina ou monomicina, mas que, também, requer administração parenteral, tem alto custo e origina vários efeitos colaterais.

Mais recentemente, o alquilfosfolípídeo miltefosina, que foi originalmente desenvolvido como um agente anticâncer (UNGER *et al.*, 1989), passou pela fase III dos testes clínicos e foi registrado em março de 2002 para o tratamento de leishmanioses visceral na Índia (GELB & HOL, 2002). O modo de ação desse fármaco ainda é desconhecido, mas sugere-se que ele interfira na remodelagem éter-lipídeo do parasita (KAMINSKY, 2002). Já segundo Murray, H. W. & Delph-Etienne, S., 2000, a miltefosina estimula as células T para a produção de espécies microbicidas, reativas de oxigênio e nitrogênio, nos macrófagos.

A possibilidade de administração oral é a grande vantagem da utilização desse medicamento na terapêutica das leishmanioses, além de ter sido 95% eficaz no tratamento de pacientes com leishmaniose visceral na Índia e cutânea na Colômbia. Entretanto, este fármaco, quando utilizado na dose recomendada, ocasiona alguns efeitos colaterais graves (incluindo alguns distúrbios gastrointestinais e teratogenicidade) em 60% dos pacientes (KAMINSKY, 2002).

Apesar de ter havido nos últimos anos um grande avanço no controle das leishmanioses, ainda é necessária a pesquisa de novos compostos que apresentem efeitos colaterais menos graves e sejam mais específicos e eficientes.

## **1.2 - Enzimas de tripanossomatídeos: Alvos quimioterápicos**

O desenvolvimento de novos agentes antiparasitários, de maneira geral, tem sido realizado considerando-se os seguintes itens: a) o conhecimento de princípios ativos de plantas utilizadas na medicina popular para o tratamento de doenças parasitárias; b) a investigação de fármacos já utilizados para o tratamento de outras doenças, uma vez que já foram submetidos a ensaios clínicos muito dispendiosos e c) a identificação de alvo específico em via metabólica-chave para o parasita. Estudos recentes têm permitido a identificação de alvos potenciais em tripanossomatídeos e que incluem enzimas importantes em várias vias metabólicas, como por

exemplo, a via glicolítica, o metabolismo de esteróis, a síntese do DNA, entre outras (GENESTRA *et al.*, 2006).

A morte do parasita por inibição de uma enzima ou via metabólica que é essencial para sua sobrevivência e não-essencial ou não exista no hospedeiro requer a exploração de dessas vias ou enzimas. Alternativamente, a exploração quantitativa de diferenças no metabolismo e na seleção de vias ou enzimas que exercem um alto nível de controle metabólico no parasita e um baixo nível de controle metabólico no hospedeiro, são fatores que determinam a especificidade e, conseqüentemente, a eficácia do fármaco a ser projetado (URBINA, 2010).

### 1.2.1 - As enzimas da via glicolítica

Tripanossomatídeos são altamente dependentes da glicólise para a produção de ATP, e como muitas enzimas glicolíticas apresentam características próprias, têm sido consideradas como potenciais alvos para novas formulações na quimioterapia. Desta forma, a maioria dos estudos realizados e relatados na literatura envolve as enzimas de tripanossomatídeos: frutose-1,6-difosfato aldolase, triosefosfato isomerase, gliceraldeido-3-fosfato desidrogenase, fosfoglicerato quinase, piruvato quinase e glicerol-3-fosfato desidrogenase (VERLINDE *et al.*, 2001).

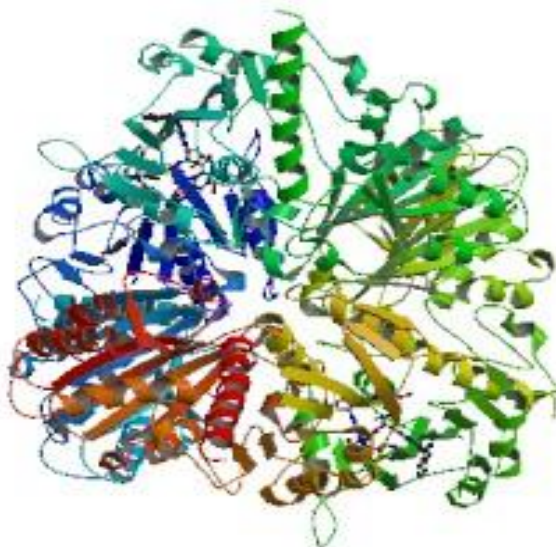
Dentre as enzimas da via glicolítica de tripanossomatídeos, a que vem despertando maior interesse é a gliceraldeido-3-fosfato desidrogenase (GADPH, Figura 8). Esta enzima catalisa a fosforilação oxidativa de D-gliceraldeido-3-fosfato em 1,3-bisfosfoglicerato na presença de  $\text{NAD}^+$  e fosfato inorgânico. As formas tripomastigotas de *T. cruzi*, por exemplo, são altamente dependentes da glicólise para a produção de ATP, e como muitas enzimas glicolíticas apresentam características próprias, revelam-se como importantes alvos de novos agentes antiparasitários (OPPERDOES, 1985).

Estudos do metabolismo de *T. brucei* mostraram que a forma tripomastigota utiliza a glicólise como sua única fonte de obtenção de energia (OPPERDOES, 1985, OPFERDOES, 1987). Posteriormente, Engel e colaboradores mostraram que a forma amastigota de *T. cruzi*, *in vitro*, possui metabolismo essencialmente glicolítico, e que adquire a habilidade de oxidar substratos, tais como aminoácidos, somente após a diferenciação para a forma epimastigota.

Nos tripanossomatídeos, o metabolismo parcial de carboidratos, incluindo a glicólise, é compartimentalizado em organelas específicas denominadas glicossomas. A biogênese destas organelas e a correta compartimentalização de enzimas glicolíticas é assim essencial para esses parasitas. A biogênese ocorre via processos que envolvem proteínas chamadas peroximas que



apresentam, por sua vez, baixo nível de identidade com a correspondente humana (BARRET, *et al.*, 1999, MOYERSON *et al.*, 2004). Desta forma, as peroximas constituem-se, também, em um alvo potencial.



**Figura 8** - Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GADPH) de *L. mexicana* em complexo com inibidor (SURESH *et al.*, 2001) (<http://www.pdb.org/pdb/home/home>)

A enzima GADPH extraída dos parasitas *T. brucei*, *T. cruzi* e *L. mexicana* teve sua estrutura elucidada sendo que apresentou 45-48% de homologia em relação à enzima humana. A GADPH extraída dos três parasitas diferentes mostrou 80-90% de semelhança entre si (VERLINDE *et al.*, 2001).

A alta dependência da via glicolítica para a obtenção de energia pelos tripansomatídeos, a organização particular das enzimas dessa via no glicossomo e a ocorrência de características únicas tanto estruturais quanto no mecanismo de muitas enzimas envolvidas na glicólise oferece uma série de oportunidades para o desenvolvimento de novos agentes tripanocidas. Esse conjunto de características explica o motivo pelo qual as enzimas da via glicolítica se tornam alvos promissores na busca por novos fármacos para o tratamento de doenças causadas por tripanossomatídeos (NYASSE *et al.*, 2004; CORDEIRO *et al.*, 2006; DAX *et al.*, 2006; ILLANA, *et al.*, 2006).

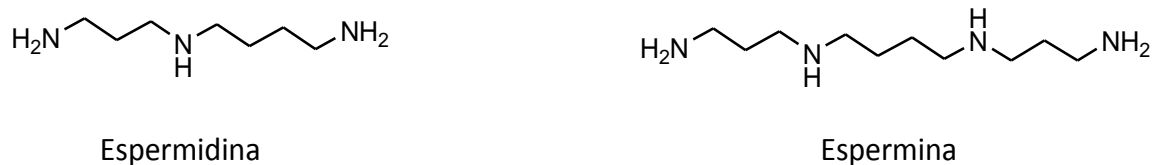
Entretanto, estudos recentes indicam que a maioria dos tripanossomatídeos desenvolve um estilo de sobrevivência digenética, com mudanças morfológicas complexas na sua passagem por um ou mais hospedeiros vertebrados e um hospedeiro hematófago, de maneira que esses parasitas respondem a essas alterações morfológicas com alterações metabólicas, incluindo a

adaptação do seu metabolismo de lipídeos e, principalmente, de obtenção de energia (SMITH & BÜTIKOFER, 2010).

### 1.2.2 - Enzimas da biossíntese de poliaminas

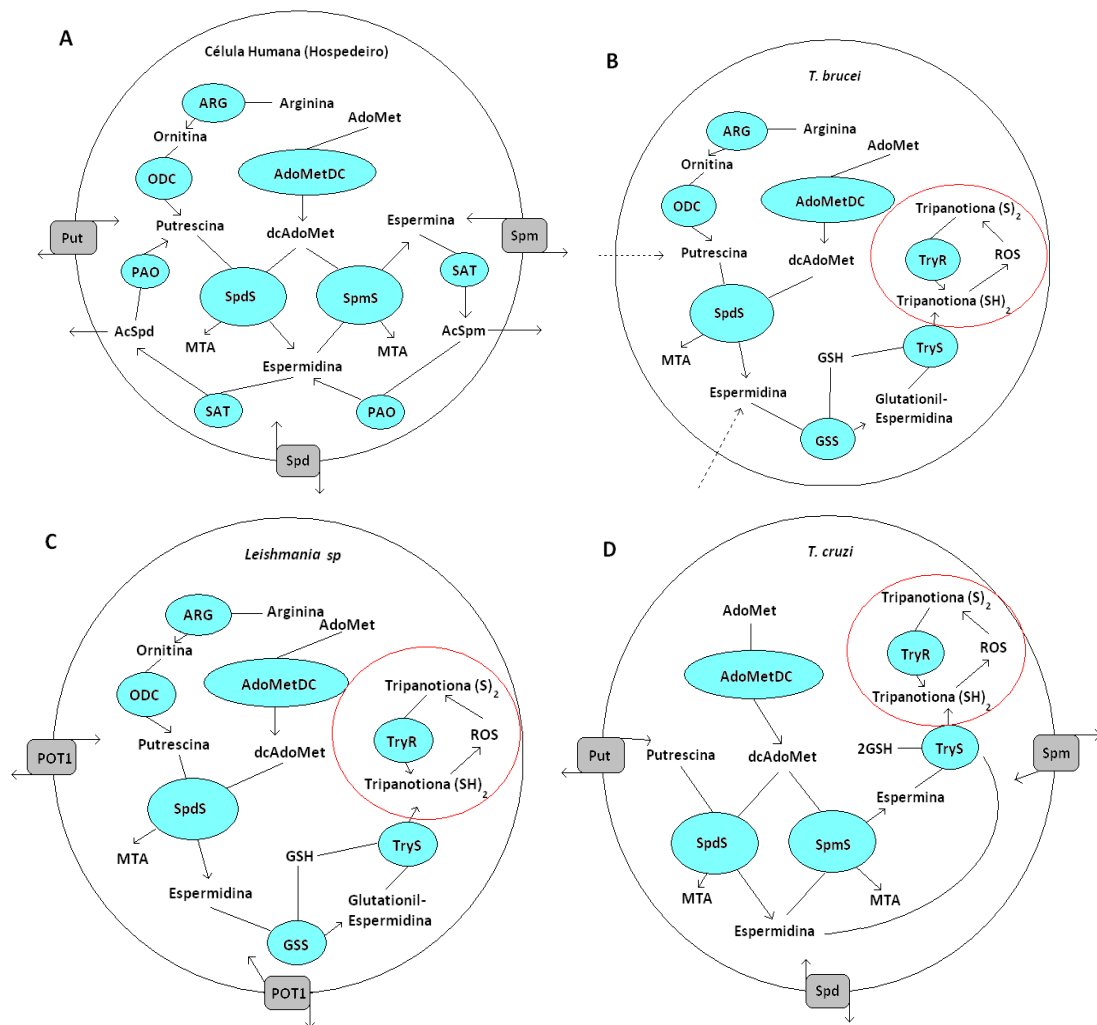
As poliaminas atuam regulando o crescimento e diferenciação celular. Na síntese destas moléculas, encontra-se a ação de duas enzimas de fundamental importância: a ornitina descarboxilase e a S-adenosil-L-metionina descarboxilase (BRUN *et al.*, 1996). As poliaminas funcionam como substrato para a tripanotiona redutase na síntese da tripanotiona. Os tripanossomatídeos utilizam a via tripanotiona/tripanotiona redutase para realizar o balanço redox de fundamental importância para esses parasitas. Nos mamíferos este balanço redox é realizado via glutatona/glutationa redutase, sendo equivalente ao sistema tripanotiona/tripanotiona redutase dos tripanossomatídeos (FAIRMAMB & CERAMI, 1985).

Tripanossomatídeos dependem, ainda, da espermidina para crescimento e sobrevivência. As poliaminas espermidina e espermina (Figura 9) atuam, também, no empacotamento do DNA e são necessárias em grandes quantidades nas células em processo de multiplicação (LEHNINGER, *et al.*, 2005).



**Figura 9** - Estruturas das poliaminas espermidina e espermina.

As enzimas envolvidas na biossíntese da espermidina são as seguintes: arginase, integrante do ciclo da uréia (Krebs-Henseleit); ornitina descarboxilase (ODC); S-adenosil-L-metionina sintase (AMDC); espermidina sintase; tripanotiona sintase e tripanotiona redutase (Figura 10). Assim, essas enzimas são alvos em potencial para o desenvolvimento de fármacos com atividade antiparasitária (HEBY *et al.*, 2007).



**Figura 10** - Transporte, biossíntese, interconversão e utilização de poliaminas em células de parasitas e do hospedeiro humano, adaptado de Heby e colaboradores, 2007. As abreviaturas correspondem a:

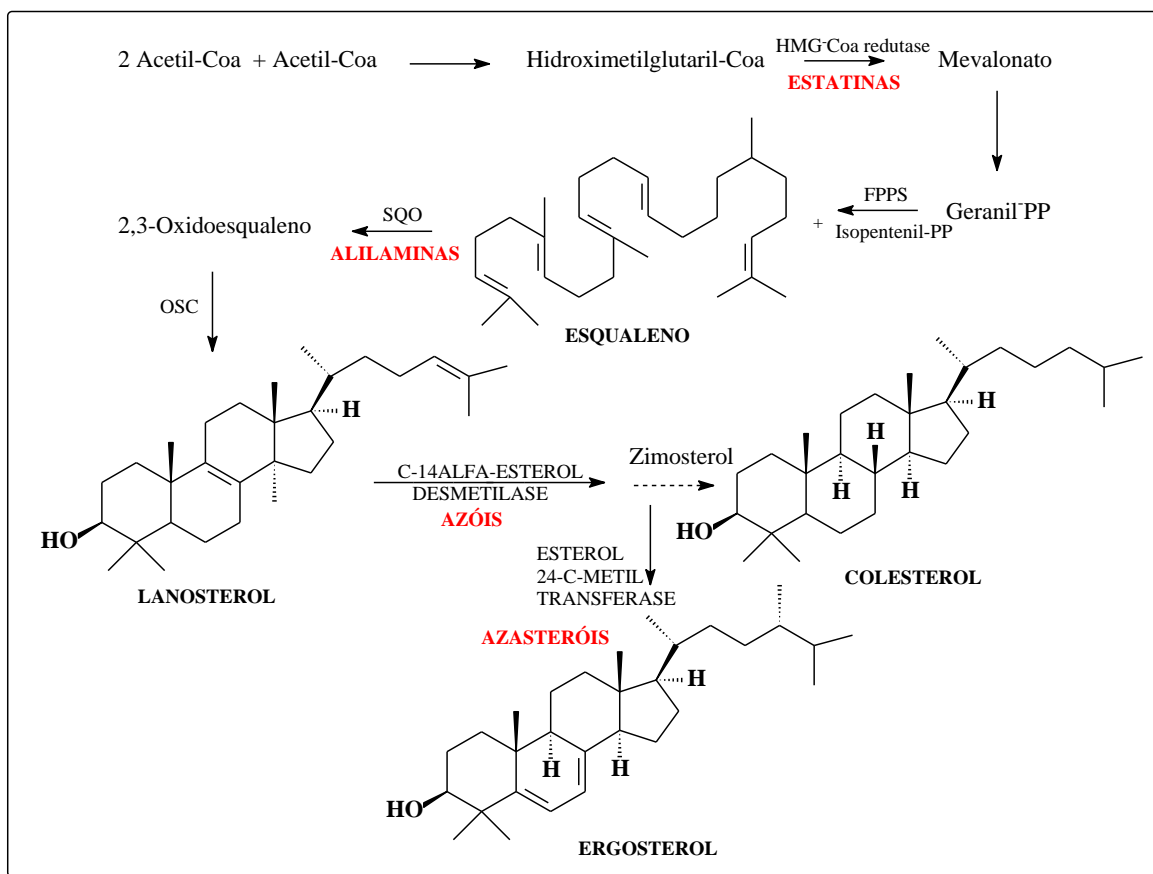
AcSpd: espermidina acetilada; AcSpm: espermina acetilada; AdoMet: S-adenosilmetionina; AdoMetDC: adenosilmetionina descarboxilase, ARG: arginase; dcAdoMet: S-adenosilmetionina descarboxilada; GSH: glutatona; GSS: glutationilespermidina sintase; MTA: 5'-deoxi-5'-metiltioadenosina; ODC: ornitina descarboxilase; PAO: poliamina oxidase; Put: putrecina; ROS: espécies reativa de oxigênio; SAT: espermidina/espermina N-acetiltransferase, Spd: espermidina; Spm: espermina; TryR: tripanotione redutase e TryS: tripanotione sintase.

A enzima arginase é essencial para a produção da poliamina precursora da ornitina em muitos tipos de células, mas não em *T. cruzi*. A Figura 10-A mostra que em células humanas, as descarboxilases (ODC e AdoMetDC) são altamente reguladas e possuem meia-vida curta, entretanto, as sintases (SpdS e SpmS) são expressas constitutivamente. As enzimas SAT e PAO provêm de uma via para retro conversão da espermidina para putrecina via seus intermediários acetilados (AcSpm e AcSpd). O transporte de poliamina pode regular seu nível intracelular. Na Figura 10-B observa-se que em *T. brucei*, as enzimas ODC e AdoMetDC possuem meia vida

longa e, SpdS é perene. Esses organismos conjugam espermidina e glutationa (GSH), usando duas enzimas (GSS e TryS) para formar tripanotiona, quando envolve a defesa química e o estresse oxidativo (destaque em vermelho). Na Figura 10-C observa-se em *L. donovani* que as enzimas que catalisam a síntese de poliaminas e tripanotiona são similares ao *T. brucei*, mas os parasitas do gênero *Leishmania* possuem um sistema de transporte de poliaminas (POT1). Finalmente, na Figura 10-D os parasitas *T. cruzi* não possuem a enzima ODC, mas AdoMetDC e suas aminopropiltransferases estão presentes (HEBY *et al.*, 2007).

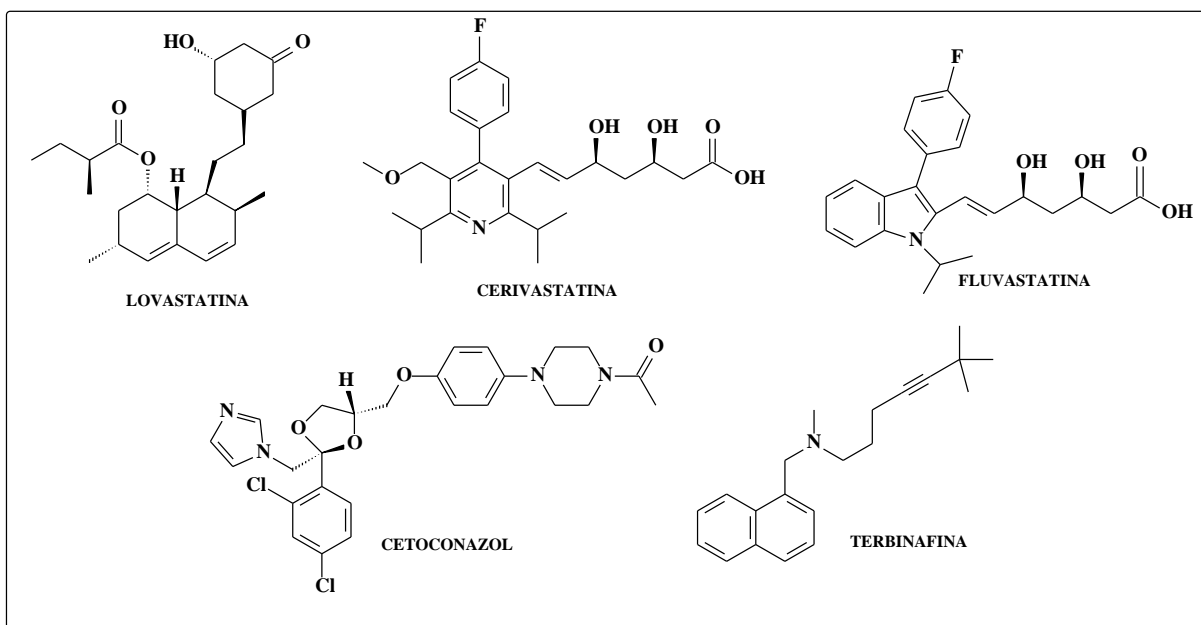
### 1.2.3 - Enzimas da biossíntese de esteróis

O conhecimento sobre a síntese de esteróis em fungos levou à possibilidade de interferência nesta via em tripanossomatídeos (LEPESHEVA *et al.*, 2007). Os tripanossomatídeos, como por exemplo, o *T. cruzi*, de forma similar aos fungos, sintetizam ergosterol, mas não colesterol. Assim, neste parasita, etapas da biossíntese de esteróis que são divergentes em relação à síntese realizada por células de mamíferos (Figura 11), têm sido intensamente estudadas como alvo quimioterápico pelo grupo de Urbina. Em especial, devem-se observar os recentes estudos realizados com as enzimas hidroximetilglutaril-coenzima A redutase, esqualeno epoxidase, C14 $\alpha$ -esterol desmetilase e esterol 24-C-metiltransferase (URBINA, 2009).



**Figura 11** - Via da síntese de esteróis de acetato até ergosterol, adaptado de Zacchino, 2001.

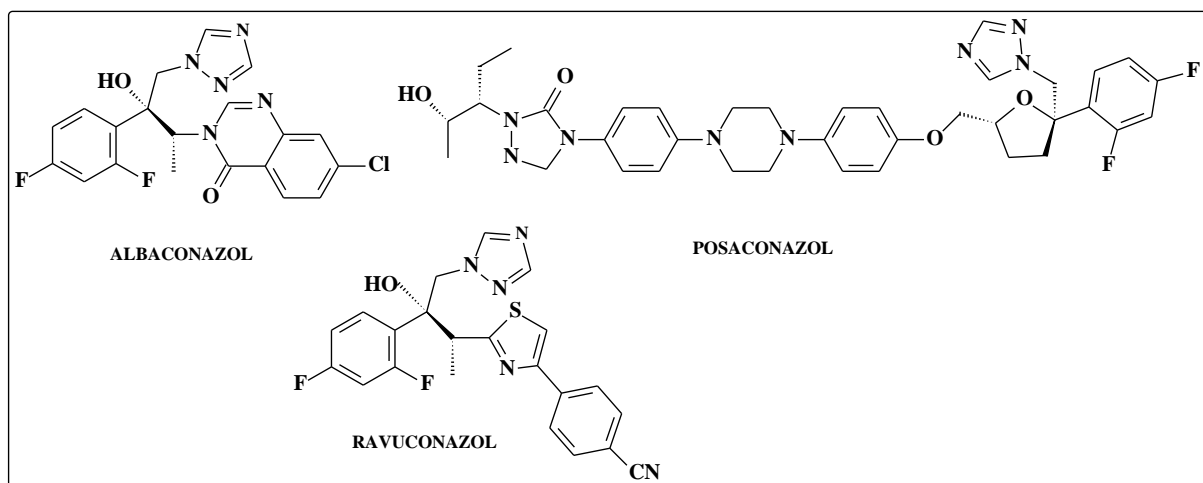
A enzima HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A) redutase catalisa a redução do NADPH dependente de HMG-CoA para mevalonato. Ensaios com a estatina lovastatina evidenciaram que essa molécula atua como um inibidor competitivo desta enzima em formas epimastigotas de *T. cruzi*, que é primariamente localizada em sua mitocôndria (PENA-DIAZ *et al.*, 2004). A mesma lovastatina em combinação com cetoconazol, umazol que é utilizado como agente antifúngico, ou a terbinafina uma alilamina, se mostrou ativa tanto *in vitro* quanto *in vivo* sobre o parasita, sendo observado na forma epimastigota a inibição da incorporação de acetato marcado com C<sup>14</sup> em esteróis, e a reversão do efeito anti-proliferativo pelo esqualeno (BEACH *et al.*, 1986). A estatina fluvastatina, é um importante inibidor competitivo da HMG-CoA, enquanto que a cerivastatina atua por um processo bimodal, característico de um inibidor do tipo lento e com ligação forte ((HURTADO-GUERRERO *et al.*, 2002). A Figura 12 mostra as estruturas das estatinas, do cetoconazol e terbinafina.



**Figura 12** - Estruturas das estatinas, cetoconazol e terbinafina.

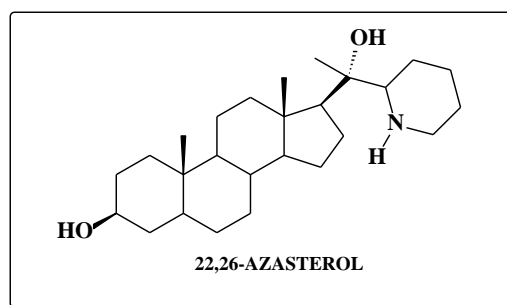
A enzima esqualeno epoxidase catalisa a conversão de esqualeno a 2,3-oxidoesqualeno, e a terbinafina se mostrou um potente e importante inibidor desta enzima em fungos (BRAGA *et al.*, 2004). Em *T. cruzi*, a terbinafina mostrou atividade significativa, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (LAZARDI *et al.*, 1990).

A C14 $\alpha$ -esterol desmetilase catalisa a desmetilação do carbono 14 do anel D da molécula do lanosterol levando a zimosterol, conforme a Figura 11. O cetoconazol, um imidazol, foi capaz de induzir um acúmulo de C14 $\alpha$ -esteróis em *T. cruzi* na forma epimastigota, todavia não foi capaz de eliminar o parasita *in vivo* durante a infecção aguda ou crônica ou ainda de interromper o progresso da doença. Segundo Magaraci e colaboradores outros compostos contendo o anel triazol ao invés do anel imidazol, inibidores da C14 $\alpha$ -esterol desmetilase, além do cetoconazol, vêm sendo ensaiados com relativo sucesso; dentre os quais se destacam: albaconazol, ravuconazol e posaconazol (Figura 13).



**Figura 13** - Estruturas do albaconazol, ravuconazol e posaconazol.

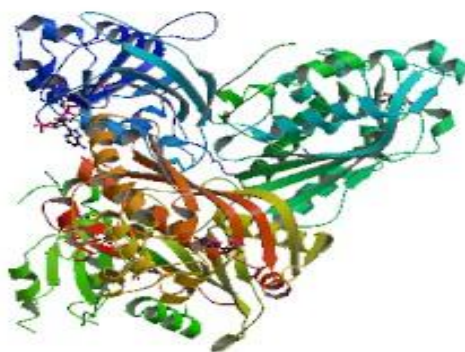
A enzima esterol 24-C-metiltransferase catalisa a transferência de um grupo metila de S-adenosil-metionina para o carbono 24 de esteróis  $\Delta^{24}$ , tais como zimosterol com dupla ligação na cadeia lateral, levando à formação de esteróis  $\Delta^{24(28)}$ . Uma série de azasteróis foi ensaiada frente à *Leishmania sp* e *T. cruzi* apresentando atividade significativa indicando sua ação sobre a inibição da enzima esterol 24-C-metiltransferase, (RODRIGUES *et al.*, 2002) destacando-se o 22,26-azasterol como potente inibidor, *in vitro*, do crescimento de *L. amazonensis* (Figura 14) (SOARES-BEZERRA *et al.*, 2004).



**Figura 14** - Estrutura do 22,26-azasterol.

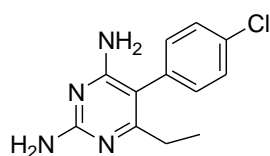
#### 1.2.4 - Enzimas do metabolismo dos folatos

A enzima diidrofolato redutase (DHFR), da via dos folatos (Figura 15) faz a redução do ácido diidrofólico a ácido tetraidrofólico, usando NADPH com cofator. Esta via ainda não é bem definida em tripanossomatídeos, e é uma das mais estudadas na atualidade, pois muitos pesquisadores investigam compostos que atuem inibindo a enzima diidrofolato redutase com eficácia prejudicando, assim, este metabolismo (SOARES-BEZERRA *et al.*, 2004).

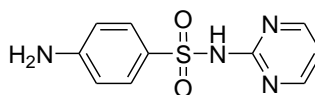


**Figura 15** - Estrutura cristalográfica da enzima diidrofolato redutase-timidilato sintase de *Trypanosoma cruzi* (SENKOVICH *et al.*, 2011). (<http://www.pdb.org/pdb/home/home>).

A inibição da via dos folatos impede a formação do tetraidrofolato, que é essencial para a síntese das bases nitrogenadas, sendo que a deficiência desses compostos purínicos e pirimidínicos pode levar a inibição da síntese de DNA, RNA e proteínas (LAMBRE, D. G. & JOHNSON R. H., 1985). O tetrafolato também está envolvido na síntese dos aminoácidos: serina e metionina. Assim, muitos fármacos que inibem a DHFR (Figura 16) são utilizados na terapia anticâncer e outros como antibióticos ou agentes antitripanossomatídeos (GANGJEE *et al.*, 2007).



Pirimetamina



Sulfadiazina

**Figura 16** - Fármacos antitripanossomatídeos inibidores da DHFR: pirimetamina e sulfadiazina.

Zucotto e colaboradores, 1999, descreveram a modelação da enzima DHFR de *T. cruzi* com base na estrutura cristalográfica da enzima DHFR de *L. major*. Vários derivados do metotrexato, um inibidor da correspondente enzima humana, foram sintetizados e ensaiados, alguns desses novos derivados mostraram uma maior seletividade pela enzima DHFR do parasita do que pela enzima homóloga dos humanos.

### 1.2.5 - Enzimas da biossíntese de microtúbulos

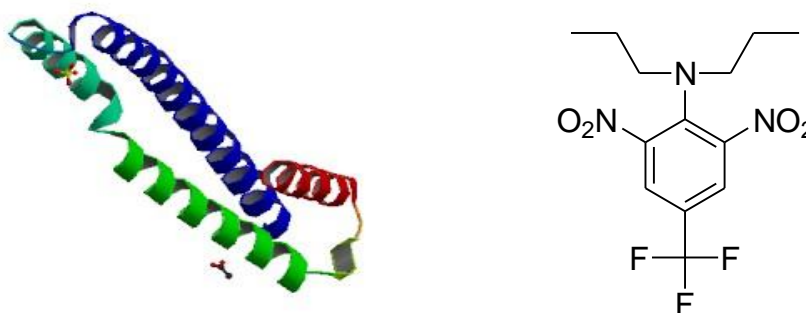
Os tripanossomatídeos dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* exibem uma forma celular particular que é definida por seus citoesqueletos internos. O citoesqueleto é caracterizado



por um sub-peculiar colete de microtúbulos que são ligados em cruz reciprocamente, e na membrana plasmática, conferindo uma organização precisa de suas organelas (GULL, 1999). A tubulina é um dos vários membros de uma pequena família de proteínas globulares. Os membros mais usuais da família da tubulina são a  $\alpha$ -tubulina e a  $\beta$ -tubulina, que são as proteínas que compõem os microtúbulos. Cada uma delas tem um peso molecular de aproximadamente 55 kDa. Os microtúbulos são formados por dímeros de  $\alpha$ - e  $\beta$ -tubulina (DOWNING & NOGALES, 1998).

A diferença estrutural entre as tubulinas de parasitas e mamíferos é de aproximadamente 18%, destacando que estas enzimas são bastante abundantes em tripanossomatídeos. Já a  $\gamma$ -tubulina apresenta um importante papel na regulação da nucleação de microtúbulos e funcionamento dos flagelos, indicando-a como possível alvo molecular (ARMSON *et al.*, 1999; LIBUSOVÁ *et al.*, 2004).

Inibidores de microtúbulos são comercializados desde 1960, sendo a trifluralina e seus análogos, exemplos que têm apresentado resultados satisfatórios na inibição da síntese de tubulinas em tripanossomatídeos (Figura 17) (LIBUSOVÁ *et al.*, 2004; CALLAHAN *et al.*, 1996). No entanto, a trifluralina apresenta atividade carcinogênica o que tem limitado avanços e desenvolvimento de análogos (WERBOVETZ *et al.*, 1999).

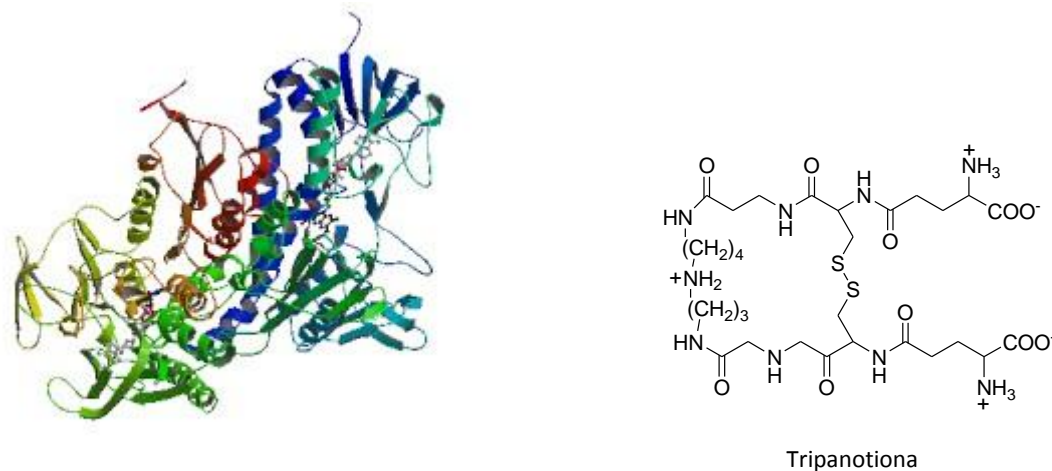


**Figura 17** -  $\alpha$ -Tubulina humana (GUASCH, J. C.,2002) (<http://www.pdb.org/pdb/home/home>) e estrutura da trifluralina.

### 1.2.6 - Enzimas mantenedoras do equilíbrio redox-Tripanotiona redutase

A tripanotiona redutase (Figura 18) pertence à família das FAD dissulfeto oxireduases, que compreende (em mamíferos), além da glutathiona redutase, a lipoamida desidrogenase e a tioredoxina redutase (URBINA, 2010). Esta enzima mantém a tripanotiona em sua forma reduzida e assim capaz de ser oxidada para tripanotiona oxidase, levando a redução dos níveis de

radicais livres e contribuindo para a manutenção de um ambiente intracelular redutor (HEBY *et al.*, 2007).



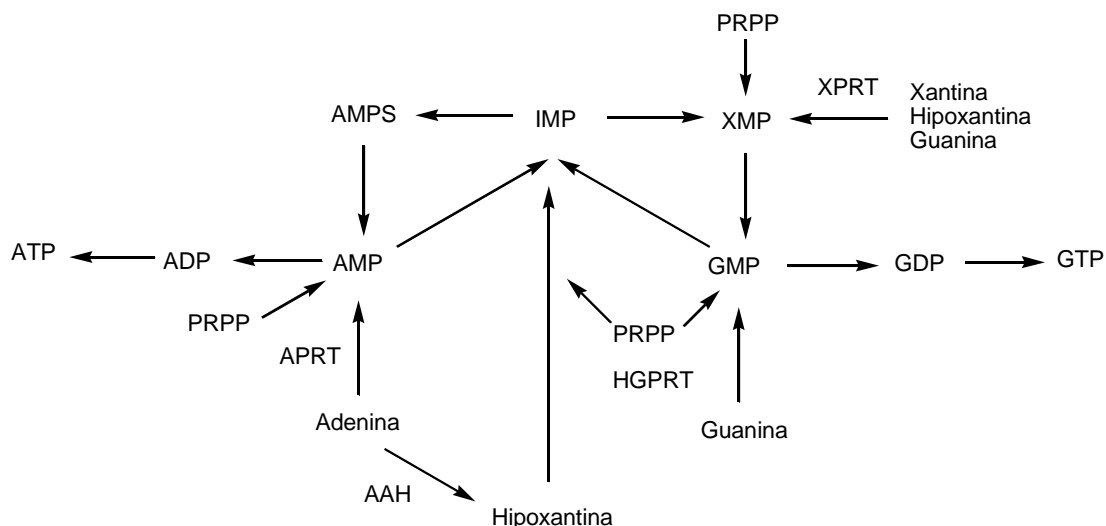
**Figura 18** - Tripanotiona redutase não-ligada de *Crithidia fasciculata*, (BAILEY *et al.*, 1994) e estrutura de seu substrato a tripanotiona.

Em tripanossomatídeos, a tripanotiona redutase representa o principal mecanismo de defesa contra o estresse oxidativo. No hospedeiro humano, o mecanismo enzimático defensivo contra o estresse oxidativo é realizado pela glutathione, catalase e superóxido desmutase (BONNEFOY *et al.*, 2002). Em humanos ainda existe um mecanismo não-enzimático de defesa envolvendo moléculas anti-oxidantes tais como o  $\beta$ -caroteno e o  $\alpha$ -tocoferol, o que é inexistente nos tripanossomatídeos (GUTTERIDGE & HALLIWELL, 2000).

Assim, Macarri e colaboradores, 2011, consideram a tripanotiona redutase como uma das principais enzimas-alvo, para o desenho de fármacos cujo objetivo é o tratamento da doença de Chagas.

### 1.2.7 - Hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase

As purinas são essenciais para a síntese de nucleotídeos, porém, os tripanossomatídeos, diferentemente, dos hospedeiros vertebrados, são auxotróficos para purino-nucleotídeos, isto é, não apresentam a via de síntese “do novo” desta base, convertendo bases de purina a ribonucleotídeos através de uma única enzima a hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase (HGPRT) (Figura 19) Sendo assim, os tripanossomatídeos são totalmente dependentes desta enzima para recuperação das purinas, durante seu ciclo de vida (FREYMANN *et al.*, 2000).



AMP, GMP, IMP: nucleotídeos monofosfatados; XPRPT: xantina-fosforibosiltransferase; APRT: adenina-fosforibosiltransferase; ADP e GDP: nucleotídeos difosfatados; PRPP: 5-fosforibosil-1-pirofosfato; AAH: adenina aminoidrolase; HGPRT: hipoxantina-guanina-fosforibosiltransferase.

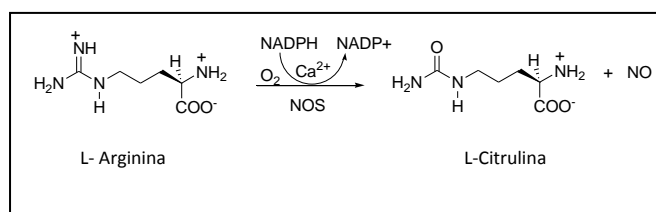
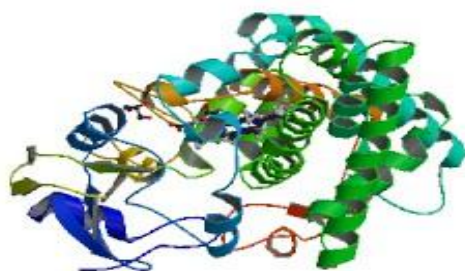
**Figura 19** – Esquema da via de recuperação de purinas por protozoários do gênero *Trypanosoma* (adaptado de SILVA, M. *et al.* 2004)

Estudos de modelagem molecular conduzidos por Freymann e colaboradores' 2000, identificaram vinte e duas estruturas como potenciais inibidores para a enzima hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase. Ensaio revelaram que três desses compostos, 2,4,7-trinitro-3-(2-fluorofenil)-5-fe- e o 3,5-difenil- foram eficazes contra a forma amastigota intracelular de *T. cruzi*, enquanto o [6-(2,2-dicloro)-acetamido]-criseno apresentou-se como um potente inibidor da HGPRT.

### 1.2.8 - Óxido nítrico sintase

A óxido nítrico sintase NOS, (Figura 20), assim como a arginase, utiliza a L-arginina como substrato, produzindo citrulina e óxido nítrico. A NOS é expressa em macrófagos e essa produção é uma importante resposta microbicida dessas células (MORY & GOTOH, 2000). A NOS é dependente de L-arginina, possibilitando a atuação negativa da arginase na regulação do nível de NO produzido, consumindo o substrato na NOS (BOUCHER *et al.*, 1999).

Foi demonstrado que a presença de um inibidor de arginase, a *N*-hidroxi-L-arginina, diminui a capacidade de *L. major* em estabelecer a infecção em macrófagos (INIESTA *et al.*, 2001).



**Figura 20** - Óxido nítrico sintase (NOS) (SHIMIZU *et al.*, 2002) e conversão da arginina a citrulina (LEHNINGER, *et al.*, 2005).

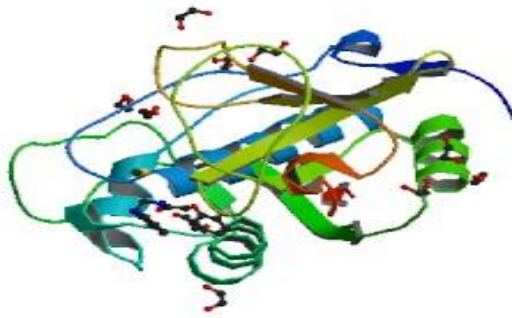
### 1.2.9 - Cisteína proteinase

Nos protozoários da família Trypanosomatidae as enzimas cisteína-proteases são muito distribuídas, já tendo sido detectadas em vários gêneros como *Crithidia*, *Phytomonas*, *Herpetomonas*, *Trypanosoma*, *Leishmania* e *Endotrypanum*. Neste grupo de microrganismos, estas enzimas estão envolvidas na nutrição, ciclo de vida e na diferenciação morfológica destes parasitas (BOCEDI *et al.*, 2004).

Testes preliminares demonstraram que a utilização de inibidores destas proteases são capazes de bloquear a transmissão do parasita. Relato recente na literatura indica que a inibição de cisteína-proteases se apresenta como uma importante estratégia para o tratamento de doenças parasitárias como a doença do sono, doença de Chagas e leishmanioses (CHAI *et al.*, 2005).

No *T. cruzi* a cisteína-protease, chamada especificamente de cruzaina, (Figura 21) apresenta importante papel no ciclo de desenvolvimento do parasita e está envolvida na penetração do parasita dentro das células hospedeiras, participa da nutrição do parasita à custa do hospedeiro e dos mecanismos de escape do parasita contra o sistema imune do hospedeiro (STEERT *et al.*, 2010).

Em parasitas do gênero *Leishmania*, inibidores de cisteína-proteases impedem em grande parte a transformação de promastigotas para amastigotas, e diminuem dramaticamente a infecção de macrófagos (SILVA-JARDIN *et al.*, 2004).

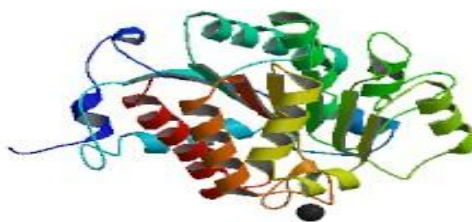


**Figura 21** - O complexo cruzaina com ligante não covalente (FERREIRA *et al.*, 2010)  
(<http://www.pdb.org/pdb/home/home>).

### 1.2.10 - Arginase

A arginase (Figura 22) é uma metaloenzima com um centro binuclear de magnésio, que catalisa a hidrólise de L-arginina para L-ornitina e uréia, na etapa final do ciclo da uréia, tal ciclo representa uma série de reações bioquímicas que permite aos mamíferos eliminar uréia que é prejudicial ao organismo (Da SILVA *et al.*, 2008).

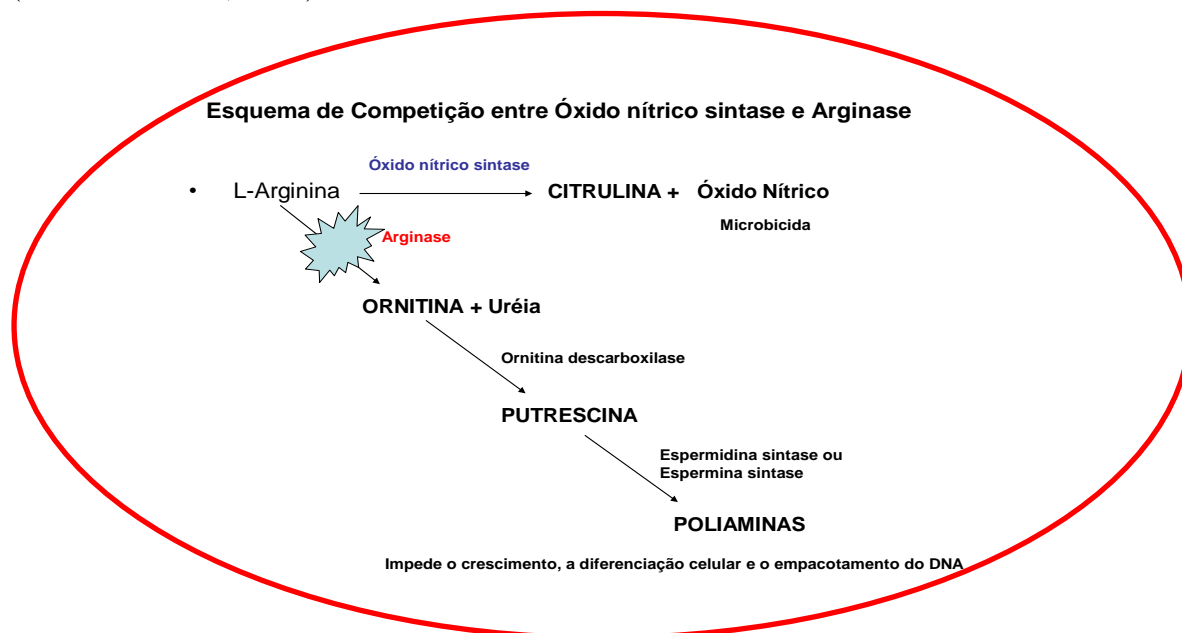
Existem duas isoenzimas da arginase. A arginase I é encontrada principalmente no citoplasma e participa do ciclo da uréia. Já a arginase II está envolvida na regulação dos níveis de concentração de arginina/ornitina em todas as células (ciclo da ureia), e está localizada nas mitocôndrias de todos os tecidos do corpo com maior abundância nos rins e próstata e pode ser encontrada em baixos níveis no cérebro, nas glândulas mamárias e nos macrófagos (Di CONSTANZO *et al.*, 2007; MORRIS, 2002).



**Figura 22** - Estrutura da arginase de *Trypanosoma cruzi* (ARAKAKI & MERRIT, 2011)  
(<http://www.pdb.org/pdb/home/home>).

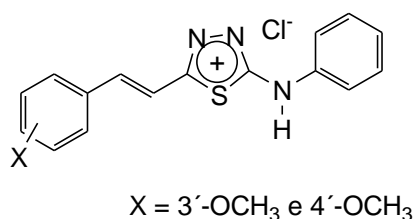
A arginase conforme citado anteriormente, pode atuar negativamente na regulação dos níveis de NO produzidos pela NOS consumindo o substrato arginina, logo diminuindo e eficiência da produção de óxido nítrico pelo macrófago e desta forma, impedindo uma melhor resposta microbicida natural. Indiretamente, a inibição da arginase acarreta no impedimento da

produção de ornitina e, conseqüentemente, afeta a biossíntese de poliaminas (Figura 23) (SHIMIZU *et al.*, 2002).



**Figura 23** - Esquema de competição pela L-arginina entre as enzimas NOS e arginase.

Ensaios realizados em culturas de *L. amazonensis* com as formas promastigotas e amastigotas axênicas, reportados por Soares-Bezerra e colaboradores, 2008, frente a compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas, revelaram uma significativa diminuição na produção de óxido nítrico para os derivados metoxilados nas posições 3' ou 4' (cloreto de 4-fenil-5-[4' ou 3'-metoxicinamoil]-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina, Figura 24), indicando o efeito de inibição da atividade da arginase.



**Figura 24** - Estrutura do cloreto de 4-fenil-5-[3' ou 4'-metoxicinamoil]-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.

### 1.2.11 - As enzimas DNA-topoisomerases

As DNA topoisomerases são enzimas que catalisam mudanças na topologia da molécula de DNA, alterando o número de vezes que as fitas do DNA se entrelaçam entre si e no espaço. A isomerização topológica do DNA ocorre através da quebra transitória de uma ou ambas as fitas da molécula. Assim, a partir desta diferença, surgem respectivamente duas categorias de topoisomerases as do tipo I e as do tipo II (WANG, 1996).

As topoisomerases do tipo I (topo I), no curso da reação clivam apenas uma das fitas do DNA, enquanto as topoisomerases do tipo II (topo II) clivam ambas as fitas de DNA (WANG, 1996; CHAMPOUX, 2001).

Os tripanossomatídeos dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* apresentam um único flagelo com uma complexa estrutura paraxial, microtúbulos subpeliculares associados à membrana plasmática e uma única mitocôndria contendo uma região alargada com acúmulo de DNA denominada cinetoplasto (De SOUZA & MOTTA, 1999).

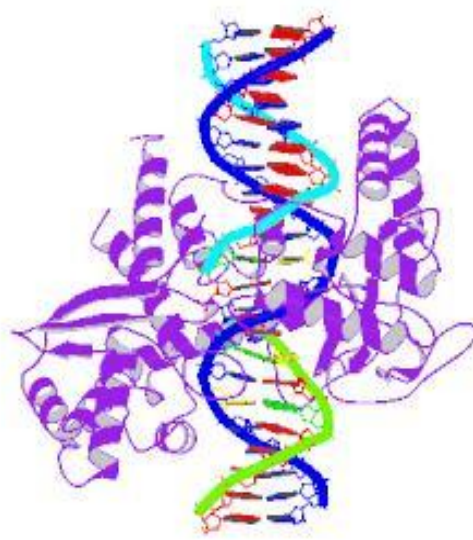
O cinetoplasto concentra, aproximadamente, 30% do DNA dos tripanossomatídeos, sendo formado por dois tipos de moléculas: os minicírculos (com tamanho variando entre 0,5 e 2,5 Kb) e os maxicírculos (com tamanhos variando entre 20 e 38 Kb). Aproximadamente, dez mil minicírculos e cinquenta maxicírculos se encontram formando uma extensa rede de kDNA, como é chamado o DNA do cinetoplasto (SIMPSON *et al.*, 2000). Os minicírculos de uma determinada espécie são altamente heterogêneos quanto à sequência de nucleotídeos, embora o tamanho destes círculos dentro da rede de kDNA seja idêntico (De SOUZA & NOTTA, 1999). Ainda segundo Shapiro, apesar da grande heterogeneidade, os minicírculos dos tripanossomatídeos apresentam pelo menos uma região conservada, que corresponde à origem de replicação (SHAPIRO & ENGLAUND, 1994).

A replicação do kDNA é um processo complexo e restrito à fase S do ciclo celular (HINES & RAY, 1997). Neste processo os minicírculos covalentemente ligados são decatenados e liberados da região central da rede de kDNA. Uma vez livres, os minicírculos migram para um dos dois complexos protéicos situados em pólos opostos da periferia do cinetoplasto onde há as enzimas necessárias para a replicação do kDNA (SHAPIRO & ENGLAUND, 1995).

Nos tripanossomatídeos as topoisomerases, apresentam uma importante função na replicação do DNA do cinetoplasto, já que atuam na liberação dos minicírculos da rede de kDNA para que estes se repliquem como moléculas livres, catalisam a segregação de novos minicírculos sintetizados e religam os mesmos à rede de DNA. Além da atividade catalítica, a topo II desempenha um papel estrutural de ancoragem dos maxicírculos à membrana mitocondrial e na mediação da movimentação dos maxicírculos durante a replicação (SHAPIRO & SHOWALTER, 1994).

Assim, o DNA do cinetoplasto dos tripanossomatídeos tem gerado grande interesse no meio científico como um alvo quimioterápico. A DNA topoisomerase I (Figura 25), recentemente isolada de *L. donovani*, está envolvida no relaxamento de rede do DNA do cinetoplasto e, possivelmente, em sua replicação. Já os inibidores das DNA topoisomerases II

demonstraram atividade contra parasitas (amastigotas e promastigotas) de *L. aethiopica*, *L. mexicana* e *L. major* (SLUNT *et al.*, 2004; MAUEL *et al.*, 1993).

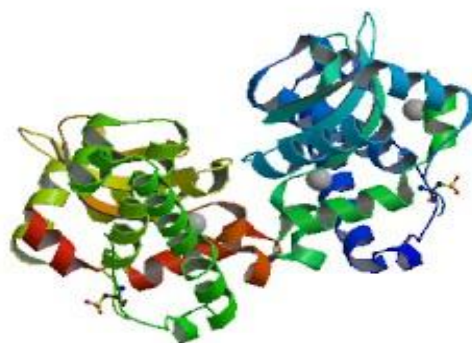


**Figura 25** - Estrutura cristalográfica do heterodímero topoisomerase I-vanadato de *L. donovani* em complexo com DNA (DAVIES *et al.*, 2006) (<http://www.pdb.org/pdb/home/home>)

### 1.3 - Superóxido dismutase – Uma metaloenzima de ferro em tripanossomatídeos

A enzima superóxido dismutase (Figura 26) catalisa a transformação do radical superóxido em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio, através de reações alternadas de redução e de oxidação do metal do sítio ativo na metaloenzima (LUDWIG *et al.*, 1991). Assim, a inibição desta enzima provoca um estresse oxidativo no parasita pelo acúmulo do íon superóxido. Segundo Turrens e colaboradores (2004) parasitas do gênero *Trypanosoma* apresentam sistemas antioxidantes deficientes em comparação com mamíferos o que representa um importante diferencial para o desenvolvimento de novos fármacos específicos na inibição dessa enzima.



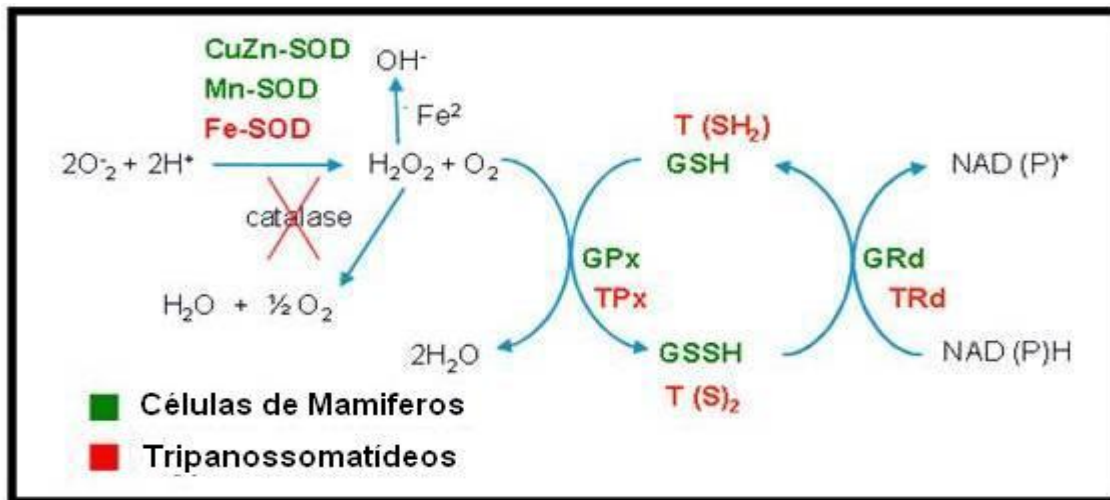


**Figura 26** - Estrutura cristalina da enzima Fe-superóxido dismutase de *Trypanosoma cruzi* (BACHEGA *et al.*, 2009) (<http://www.pdb.org/pdb/home/home>)

As enzimas superóxido dismutase são classificadas de acordo com o metal presente em seu sítio ativo. Nos tripanossomatídeos a enzima superóxido dismutase contém um átomo de ferro (FeSOD) em seu sítio ativo, enquanto o hospedeiro humano apresenta a enzima contendo em seu sítio ativo um átomo de zinco (ZnSOD) ou manganês (MnSOD) (Le TRANT *et al.*, 1983) (Figura 27) sendo o átomo de ferro ausente em células de eucariotos, o que explica o interesse sobre fármacos que atuam sobre esta enzima no parasita.

O mecanismo de ação dos compostos metálicos de ferro sobre a inibição da enzima superóxido dismutase, cuja atividade e importância aumentam em parasitas infectantes, levaria a um aumento do nível de radicais superóxido e a consequente morte do parasita (RAYCHAUDRURY *et al.*, 2005).

Além disso, sabe-se que peróxido de hidrogênio formado intracelularmente, é removido, em células de mamíferos por ação da catalase e de outras peroxidases. No entanto, em tripanossomatídeos que não dispõem ou dispõem de baixas concentrações de catalase e glutatona peroxidase, isto não ocorre provocando um acúmulo de peróxido de hidrogênio que provoca o colapso oxidativo nesses tripanossomatídeos levando-os à morte (Figura 27), (LEID *et al.*, 1989; Do CAMPO & MORENO, 1986; FLOHE *et al.*, 2003).



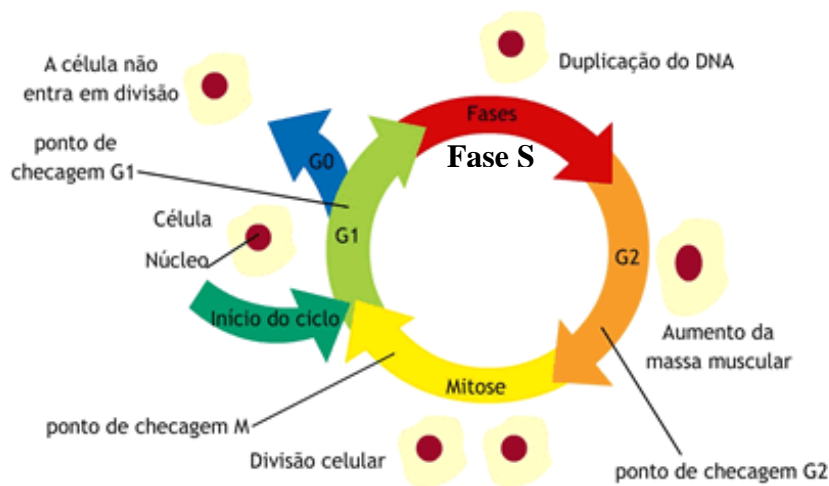
**Figura 27.** Reações antioxidantes em células de mamíferos e em tripanossomatídeos. Enzima Cu, Zn-superóxido dismutase (CuZn-SOD); Enzima Mn-superóxido dismutase (Mn-SOD); Enzima Fe-superóxido dismutase (Fe-SOD); radical superóxido ( $O_2^-$ ) peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ); enzima glutatona peroxidase (GPx); enzima tripanotona peroxidase (TPx) glutatona oxidada (GSSH); tripanotona oxidada ( $T(S)_2$ ); glutatona redutase (GRd); tripanotona redutase (TRd); glutatona reduzida (GSH); tripanotona ( $T(SH)_2$ ), adaptado de SARAIVA, 2007.

#### 1.4 - Íons de Ferro - Importantes alvos quimioterápicos em tripanossomatídeos

Segundo Breidbach *et al.*, (2002), a vida sem ferro é impossível para todas as plantas e animais e praticamente todos os micróbios, com exceção de alguns lactobacilos e a espécie *B. burgdorferi*. Inúmeras enzimas essenciais apresentam ferro ligado em seus centros de ativos. Portanto, até cento e cinco íons de ferro são normalmente exigidos nos principais processos metabólicos de uma única célula bacteriana. Por isso, o ferro ganhou um papel tão eminente da evolução biológica e continua como foco de pesquisas. O ferro é o quarto elemento mais abundante na crosta terrestre, está presente em condições aeróbias em pH quase neutro, sob a forma de minerais extremamente insolúveis como: hematita, goetita e pirita ou como polímeros oxiidratados, carbonatos e silicatos que restringem severamente a biodisponibilidade deste metal. Microorganismos secretam ligantes de ferro chamados de siderófilos como forma de se contrapor a essa não-disponibilidade de ferro na natureza.

A partir do momento que pesquisadores começaram a se interessar pela importância que o elemento ferro apresenta para organismos vivos, diversos estudos foram e continuam sendo desenvolvidos com o objetivo de compreender as funções orgânicas e a sua importância na sobrevivência de diversos microorganismos patogênicos no organismo do hospedeiro (ANTHOLINE *et al.* 1977). Segundo Cook *et al.*, (1992), o ferro, é um dos micronutrientes mais estudados e com melhor descrição na literatura, o qual desempenha funções importantes no metabolismo tais como: armazenamento de oxigênio, reações de liberação de energia na cadeia respiratória, conversão de ribose a desoxirribose, sendo co-fator de algumas reações enzimáticas e de

inúmeras outras reações metabólicas essenciais (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1998; ANKEL & PETERING, 1980; BEARD *et al.*, 1996; MALAFAIA, 2008; MALAFAIA *et al.*, 2010). Já Lovejoy & Richardson (2002), descrevem que o ferro desempenha um papel crítico em uma variedade de processos metabólicos, devido às proteínas-enzimas que contêm ferro e que catalisam reações-chaves envolvidas na produção de energia e síntese de DNA, como por exemplo, na ribonucleotídeo redutase. Relatam, ainda, que na ausência de ferro as células não progridem, no ciclo celular, da fase G para a fase S (Figura 28) e que, além disso, a ribonucleotídeo redutase é a essencial e sem a qual o processo de síntese de DNA fica limitado.



**Figura 28** – Ciclo celular

Sabe-se que nos hospedeiros vertebrados, além dos mecanismos de defesa observados nos macrófagos, por exemplo: pH, acidificado no interior dos fagolisossomos, proteínas microbidas, enzimas hidrofílicas, as concentrações de nutrientes, incluindo a do elemento ferro, não estão disponíveis livremente para os parasitas (WILSON & BRITIGAN, 1998). Segundo Wessfing-Resnick (2000), o ferro encontra-se em associação com proteínas ligantes de alta afinidade, como a lactoferrina que está localizada nas superfícies das mucosas e secreções exócrinas de muco e lágrimas, o que, desta forma, pode dificultar o crescimento desses microorganismos nessas vias de entrada. Já a transferrina, uma glicoproteína encontrada no plasma sanguíneo que possui alta afinidade por ferro limita a disponibilidade do ferro aos microorganismos. Além disso, em muitas doenças infecciosas ocorre um ajuste no metabolismo de ferro caracterizado pela hipoferrimia, em que há uma redução dos níveis de saturação da transferrina (GERMANO, 2002). Como os microorganismos patogênicos requerem comumente

o ferro para o crescimento, proliferação e virulência a resposta hipoférrica acaba reduzindo a disponibilidade do elemento aos patógenos invasores. (MALAFAIA, 2008).

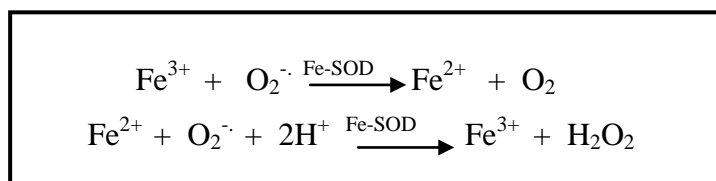
O interesse em pesquisar a importância de íons de ferro para os tripanossomatídeos se deu em virtude do relato que esses parasitas apresentam grande necessidade desses íons para o seu metabolismo. Tanto isso é fato que as anemias encontram-se associadas ao aparecimento de doenças causadas por tripanossomas. “O *Trypanosoma evansi* é um protozoário hemoflagelado que causa, em várias espécies, uma doença caracterizada por altos níveis de parasitemia, com rápido desenvolvimento de anemia” (WOLKMER *et al.*, 2007); “A anemia é uma característica, bem estabelecida, da infecção associada à tripanossomíase, sendo a anemia um indicador confiável da gravidade da infecção.”, “esse tipo de anemia denominada anemia da doença crônica é caracterizada por um ciclo entre eritrofagocitose e eritropoiese que está ligada a uma perturbada homeostase do ferro, incluindo a reciclagem de ferro que é alterada por macrófagos e pelo seqüestro de ferro.” (STIJLEMANS *et al.*, 2008).

Assim, diante da constatação de que o ferro é co-fator essencial de diversas enzimas agindo como mediador de suas trajetórias bioquímicas, incluindo aquelas requeridas para a replicação dos parasitas, assumi relevância o entendimento de como esses parasitas conseguem importar e consumir o ferro do organismo hospedeiro, o que permite a sua sobrevivência dentro dos fagolisossomos. Segundo Taylor & Kelly (2010) os tripanossomatídeos requerem e necessitam de ferro para processos metabólicos essenciais incluindo a replicação do DNA, de defesa antioxidante e respiração mitocondrial. Os pesquisadores afirmam, ainda, que a fonte de ferro varia entre as espécies, e exemplificam que enquanto tripanossomas africanos seqüestram o ferro da transferrina do hospedeiro, a *L. amazonensis* seqüestra o ferro de transportadores da membrana plasmática. Assim, concluem os cientistas que o seqüestro de ferro citosólico confere resistência ante as leishmanioses enquanto o seqüestro de ferro citoplasmático é favorável para *T. cruzi*.

No caso específico dos parasitas do gênero *Leishmania*, as formas intracelulares possuem grandes concentrações de enzimas dependentes de ferro que as protegem dos mecanismos microbicidas dos macrófagos como, por exemplo, as metaloenzimas, superóxido dismutase (PARAMCHUK *et al.*, 1997; FANG, 2004).

Essas enzimas, de acordo com estudos de Fridovick (1978); Plewes *et al.*; (2003) e Getachew & Genadu (2007), apresentam um importante papel na desintoxicação de intermediários reativos de oxigênio, incluindo os ânions superóxidos, produzidos pelos macrófagos (Figura 29) em resposta à infecção por microorganismos invasores. Segundo Bricks (1994), quando há suprimento adequado de ferro, os macrófagos, por meio do mecanismo oxidativo, produzem enzimas que contêm ferro.

O oxigênio molecular produzido é, então, transformado em peróxido de hidrogênio que, ao ligar-se à enzima mieloperoxidase, passa a ter uma ação citolítica sobre esses patógenos.



**Figura 29** - Reações catalisadas pela enzima ferro superóxido dismutase.

Em contraste, quando há deficiência de ferro, os macrófagos não produzem oxigênio molecular e, conseqüentemente, peróxido de hidrogênio e assim promovem a lise celular dos parasitas invasores (BRICKS, 1994).

Em células de mamíferos o peróxido de hidrogênio formado é removido por ação da catalase e de várias peroxidases. Já em tripanossomatídeos, que não apresentam ou apresentam em baixas concentrações a catalase ou glutathione redutase, o papel de remoção se torna pouco eficiente já que envolve um sistema antioxidante análogo ao da glutathione, glutathione redutase e glutathione peroxidase, que é realizado pela enzima específica tripanotona redutase (LEID *et al.*, 1989, Do CAMPO & MORENO, 1990, FLOHE, *et al.*, 2003).

### 1.5 - Agentes quelantes de íons de ferro em tripanossomatídeos

Já em 1996, Jones *et al.* publicam uma pesquisa em que avaliam a eficácia relativa de vinte agentes quelantes de ferro sobre o crescimento e na multiplicação de formas epimastigotas de *T. cruzi*. Neste trabalho os autores concluem que determinados agentes quelantes testados foram tão ou mais eficazes contra a forma epimastigota que a droga de referência o benzonidazol, 82% de inibição contra 81% de inibição do benzonidazol.

Pesquisas utilizando o quelante de ferro, desferrioxamina sobre *T. cruzi* foram conduzidas *in vivo* por Arantes *et al.*, 2011; e relatam a redução da parasitemia e da mortalidade em ratos. Já Merschjohann & Steverding, em 2006, relatam a avaliação de treze agentes complexantes de ferro partindo da premissa que a forma sanguínea de tripanossomatídeos são sensíveis à desferrioxamina, um conhecido agente quelante de ferro. Neste trabalho os autores concluem que onze dos quelantes testados exibiram atividade sobre *T. brucei* e *T. congolense* com inibição de 50% para concentrações entre 2 e 200  $\mu\text{M}$ . O trabalho intitulado “QSAR de compostos quelantes inibidores de epimastigotas de *T. cruzi in vitro*” de Silva e colaboradores, (1999) relata que alguns compostos quelantes e derivados, são tão ou mais efetivos que a droga de primeira

escolha utilizada para o combate à doença – o benzonidazol. Relata, ainda, que os quelantes atuam no sequestro de íons de ferro, e que ficam então, impedidos de ligar-se ao sítio ativo da enzima superóxido dismutase, metaloenzima que age como um dos sistemas de defesa oxidativa dos parasitas, contra a resposta imune do hospedeiro.

Seguindo esse raciocínio, Francisco e colaboradores, realizam um experimento, em 2008, no qual associam a droga mais utilizada no tratamento da doença de Chagas, o benzonidazol, a um quelante de ferro potente e já bem conhecido a desferrioxamina, foram obtidos significativos resultados, por exemplo: a mortalidade em ratos infectados em tratamento por 35 dias foi de 0% quando o quelante foi associado ao benzonidazol, o percentual de cura para ratos em 60 dias de tratamento foi de 18% quando só tratados por benzonidazol, 42% quando tratados com desferrioxamina e benzonidazol e de 67% quando tratados apenas com desferrioxamina.

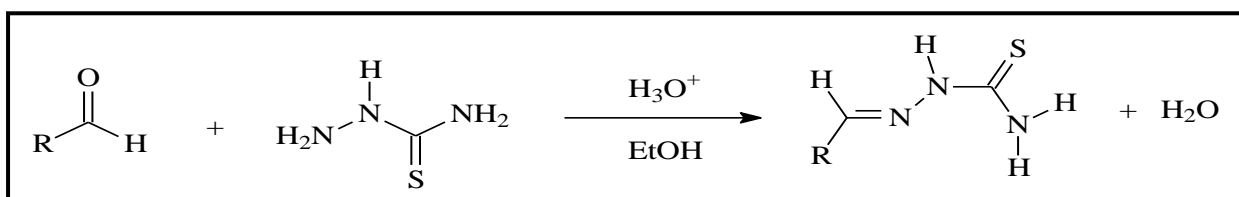
Recentemente, Bocedi e colaboradores (2010), demonstraram que embora a presença da tripanotona redutase em parasitas ainda represente um enigma, essa enzima é capaz de interagir com óxido nítrico e ferro lábil para formar um complexo de ferro-dinitrosil com afinidade, de pelo menos, seiscentas vezes maior de que a glutatona redutase. Assim, a capacidade peculiar da tripanotona reduzida em sequestrar ferro e óxido nítrico, na forma de um complexo estável e inofensivo ao parasita, o que pode explicar a predominância desse tiol, nesses parasitas, que são regularmente expostos ao óxido nítrico proveniente do sistema de defesa do hospedeiro.

## **1.6. Metodologia Sintética – A Hibridação molecular**

A hidridação molecular é um recente método em desenho e desenvolvimento de fármacos, que leva em conta a união de partes farmacofóricas bioativas de compostos com reconhecida ação sobre sistemas biológicos para produzir um novo composto híbrido com propriedades diferenciadas e melhoradas (FRAGA & BARREIRO, 2008). Assim, no processo de planejamento e criação de um novo fármaco, por esta técnica, busca-se unir em numa única molécula propriedades presentes isoladamente em moléculas distintas. Segundo Viegas Júnior *et al.*, 2007, esta estratégia pode resultar em compostos que apresentam perfil de seletividade modificado e com modo de ação duplo além da redução de efeitos colaterais indesejáveis.

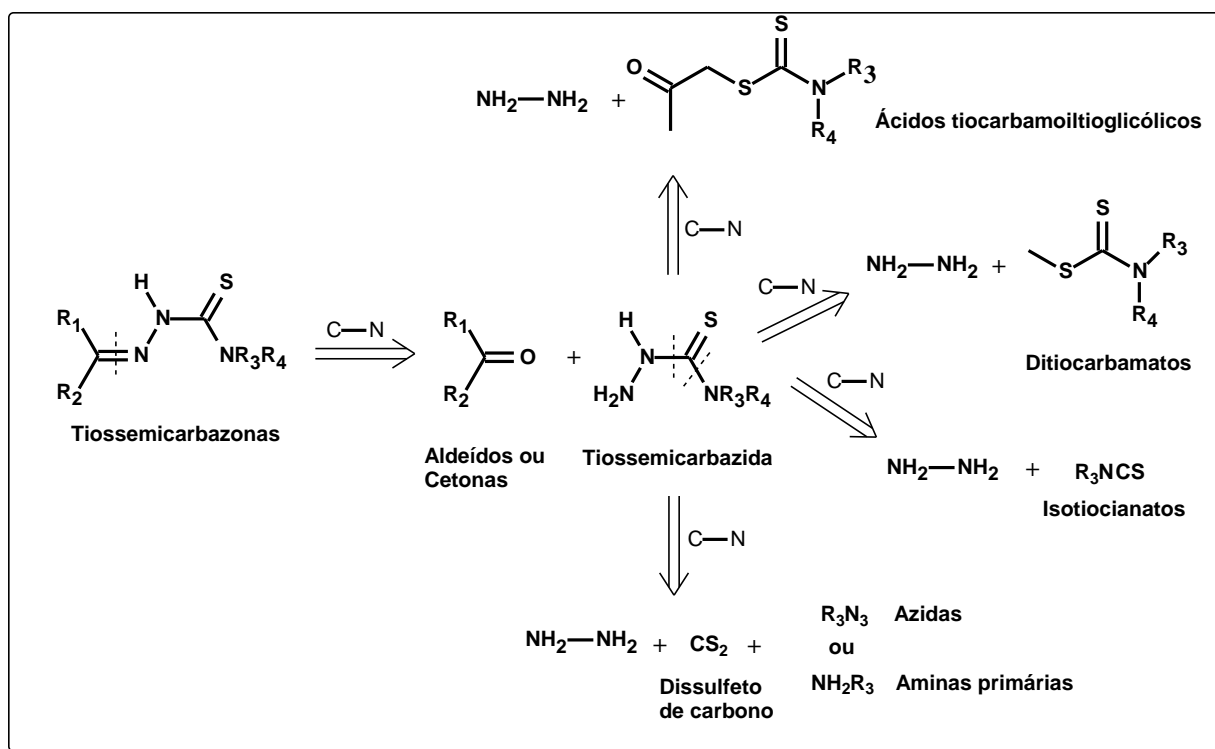
### 1.6.1 – A síntese de tiossemicarbazonas e carbimidotioatos derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila

Segundo Tenório e Góes (2005) “As tiossemicarbazonas podem ser obtidas das tiossemicarbazidas através de uma rápida reação de condensação. As tiossemicarbazidas podem ser adquiridas comercialmente. A síntese é descrita pela condensação equimolecular de um derivado carbonilado do tipo aldeído ou cetona, com a tiossemicarbazida em meio alcoólico sob refluxo e quantidades catalíticas de ácido. Esta reação é bastante conhecida por sua alta quimiosseletividade, versatilidade e rapidez, apresentando altos rendimentos” (Figura 30).



**Figura 30** – Reação de condensação-eliminação entre aldeídos e tiossemicarbazida.

A obtenção sintética de tiossemicarbazonas é amplamente relatada na literatura (LI *et al.*, 1998; TARASCONI *et al.*, 2000; SHAIENDRA *et al.*, 2004). Na análise retróssintética, em geral, duas estratégias podem ser empregadas: obtenção direta, pela reação quimiosseletiva (Esquema 1) de aldeídos e/ou cetonas com as tiossemicarbazidas, e obtenção indireta, através de preparação prévia das tiossemicarbazidas, utilizando hidrazina e diferentes reagentes, seguida de condensação com o derivado carbonilado específico.



**Esquema 1** – Análise retrossintética da tiossemicarbazona (TENÓRIO *et al.*, 2005)

A reação apresenta-se favorável à formação das tiossemicarbazonas, entretanto é fácil notar o caráter reversível de todas as etapas de sua síntese, daí a importância da utilização da catálise ácida em pH controlado. Em geral, a formação de tiossemicarbazona é mais rápida em pH entre 4 e 5. Em valores de pH menores que 4, há possibilidade de ocorrer protonação do nitrogênio N-1 da tiossemicarbazida e, conseqüentemente, a velocidade da reação de condensação será diminuída. Por outro lado, em pH maior que 5, a velocidade de reação também diminui, visto que a carbonila se encontrará progressivamente menos protonada.

Vários derivados de tiossemicarbazonas foram obtidos utilizando-se as condições reacionais descritas acima. Karah (2002) reagiu derivados de isatina com a tiossemicarbazida e obteve tiossemicarbazonas com rendimentos altos, alguns variando entre 97 a 99%. Neste trabalho de tese a síntese foi realizada em solução etanólica, sob refluxo, contendo quantidades catalíticas de ácido sulfúrico concentrado.

Em outro estudo, Benbrook e colaboradores em 1997, sintetizaram tiossemicarbazonas derivadas de heteroarotínóides, um conhecido sistema molecular derivado de rotinóides, utilizando ácido acético como catalisador. Aqui, a condensação da tiossemicarbazida com aldeído correspondente também forneceu facilmente a molécula alvo em rendimentos satisfatórios de 83%.



Alguns autores efetuaram uma pequena modificação neste método e observaram que as tiossemicarbazonas também poderiam ser sintetizadas em solução neutra indicando que, possivelmente, o emprego do ácido não seria uma condição indispensável para a formação dessas moléculas (CHIYANZU *et al.*, 2003; AFRASIABI *et al.*, 2003). Neste sentido, Chiyanzu e colaboradores em 2003, demonstraram que as tiossemicarbazonas derivadas da isatina, que tinham sido anteriormente obtidas por Karah, utilizando método convencional, também eram facilmente sintetizadas sem auxílio de catalisadores.

As tiossemicarbazonas são geralmente obtidas como misturas de isômeros *E* e *Z* no estado sólido (AFRASIABI, *et al.*, 2003). Em solução, há sempre isomerização da configuração *Z* para *E*, devido a sua maior estabilidade termodinâmica. Como regra geral, as tiossemicarbazonas derivadas de aldeídos tendem a formar o isômero *E*, enquanto que nas derivadas de cetonas assimétricas a proporção entre *Z* e *E* depende da estrutura dos substituintes ligados à carbonila (LEMKE *et al.*, 1997).

## 2. JUSTIFICATIVAS

As doenças negligenciadas afetam milhares de pessoas em todo o mundo, mas não dispõem de tratamentos eficazes ou adequados. Em geral, são doenças tropicais infecciosas, que afetam principalmente pessoas pobres, como: leishmaniose, tripanossomíase humana africana (doença do sono) e tripanossomíase sul-americana (doença de Chagas). Em todo o mundo há um grande volume de projetos de P&D em biologia, imunologia e genética dos parasitas causadores dessas doenças, no entanto, muitos desses projetos são interrompidos por falta de interesse da indústria farmacêutica ou falta de fontes públicas de financiamento. Assim, essas doenças têm sido progressivamente marginalizadas dos programas de pesquisa, tanto do setor público - por falta de políticas públicas de P&D adequadas - quanto do setor privado - basicamente porque as pessoas que sofrem dessas doenças negligenciadas são pobres e não oferecem perspectiva de retorno lucrativo (DNDi, 2008).

Nos últimos vinte e cinco anos, apenas 1% de todos os medicamentos desenvolvidos no mundo foram para tratar as chamadas doenças tropicais. Na ausência de novas terapias, os médicos ainda empregam tratamentos antigos e cada vez mais ineficazes, dado o surgimento de resistência aos medicamentos (DIAS *et al.* 2009).

Assim, este trabalho de tese apresenta uma proposta para a síntese de novas substâncias com potencial atividade biológica visando contribuir com a descoberta de novos fármacos para o tratamento das doenças mencionadas.

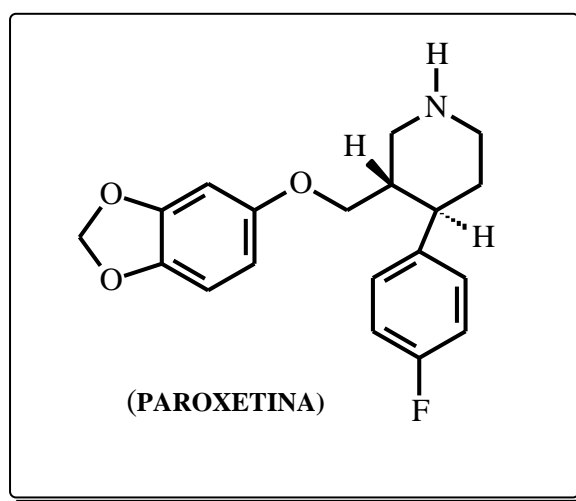
### **2.1 - O núcleo 3,4-metilenodioxila – atividades sobre sistemas biológicos e ação antitripanossomatídeos**

Segundo Barreiro & Fraga, 1999 “Dentre os principais componentes de óleos essenciais brasileiros, o safrol pode ser considerado como um dos de maior abundância, ocorrendo no óleo de sassafrás” e mais recentemente, Cremasco & Braga, 2010, relatam que *Piper hispidinervum*, cultivada no Acre, representa uma importante fonte natural para a obtenção do óleo de sassafrás.

A química do safrol – alquil benzeno é intensamente estudada por diferentes grupos de pesquisa em diversos programas de Pós-graduação do País, com destaque para o Instituto Militar de Engenharia - IME, (AGUIAR & FRANÇA, 2010) e para UFRJ, através dos grupos de pesquisa dos professores Paulo Costa e Eliezer Barreiro (COSTA, 2000). Na década de 90, o safrol foi empregado como matéria-prima para a síntese do alucinógeno 3,4-metilenodioximetanfetamina – ecstasy (FRENCH, 1995). Em 1999, Barreiro & Fraga afirmam que a presença da unidade metilenodioxila introduz nos derivados deste núcleo, uma atividade

química particular e comparam a atividade dos derivados do piperonal a existente em outros aldeídos relacionados, que possuem ao invés da função metilenodioxila, outras funções, e desta forma pode-se observar um comportamento químico diferenciado traduzido por diferentes propriedades físicas, que contribuem para a atividade biológica diversificada.

Na química medicinal o núcleo metilenodioxila está presente em fármacos, como por exemplo, na paroxetina (DECHANT & CLISSOLD, 1991), (Figura 31) e em substâncias de interesse terapêutico como a podofilotoxina (SACKETT, 1993) e no etoposido (KELLER-JUSLÉN *et al.*, 1971).



**Figura 31** – Estrutura da Paroxetina

Ainda segundo Barreiro e Fraga, 1999, a presença do núcleo metilenodioxila assegura as moléculas bioativas adequado caráter lipofílico facilitando assim, o trânsito na biofase e ao mesmo tempo o caráter acceptor de ligações de hidrogênio, o que pode ser interessante na interação com eventuais bioreceptores.

O núcleo metilenodioxila foi empregado como matéria-prima para a síntese de prostaglandinas (FARIAS, 1984) explorando a unidade metilenodioxila do produto natural como sub-estrutura análoga ao anel ciclopentânico das prostaglandinas. Ainda existe o relato da preparação de diversos derivados análogos contendo esse grupo com atividade anti-inflamatória e analgésica (LAGES, *et al.* 1988; CABRAL & BARREIRO, 1995).

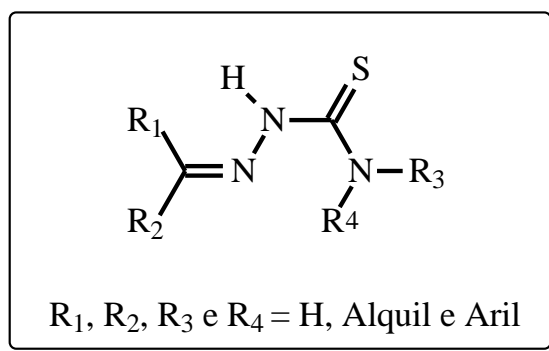
Recentes estudos demonstraram que a piperina (Figura 33-A), uma amida, que apresenta o núcleo metiledioxila, possui efeito antitripanossoma *in vitro*. O artigo “Leishmanicidal effects of piperine, its derivatives, and analogues on *Leishmania amazonensis*” de Ferreira *et al.* (2011) descreve o estudo da atividade leishmanicida da piperina, de três derivados: a tetrahidropiperina, a morfolinil amida e o ácido piperínico e de um análogo com o núcleo metiledioxila, a cinamoil amida sobre a *L. amazonensis*, uma espécie que causa leishmaniose cutânea no novo mundo. O

estudo demonstra que a piperina altera a fase G do ciclo celular em promastigotas, o que afeta a mitocôndria do parasita e assim diminui a modulação da produção do óxido nítrico em macrófagos.

Finalmente, em entrevista publicada no site da Academia Brasileira de Ciências ([www.abc.org.br/article.php3?id\\_article=351](http://www.abc.org.br/article.php3?id_article=351)) o professor Eliezer Barreiro (UFRJ), refere-se ao potencial do safrol como principal componente químico do óleo de sassafrás. Argumenta que o óleo foi extraído, continuamente, da canela branca de forma predatória até quase o esgotamento da fonte, e que com a descoberta que tal óleo poderia ser obtido de plantas da família Piperaceae, que são muito mais fáceis de manejar, por serem plantas arbustivas. É importante destacar que uma das variedades dela é a amazônica, conhecida como pimenta longa, cujo óleo essencial encontra-se nas folhas da copa da planta, que rebrota com facilidade após o corte. Afirma, ainda, o Professor, que a Embrapa Norte dispõe de uma plantação que produz, sustentavelmente, o óleo.

## **2.2 - As tiossemicarbazonas - potentes quelantes de íons de ferro e atividade antitripanossomatídeos.**

As tiossemicarbazonas são obtidas de reações de condensação-eliminação de aldeídos e cetonas e ocupam lugar especial entre os ligantes orgânicos, uma vez que apresentam vários átomos doadores de elétrons e diferentes modos de coordenação (KONSTANTINOVIC *et al.*, 2007), sendo, desta forma, excelentes ligantes frente a metais de transição sobretudo devido ao comportamento ácido do grupo NH imínico, que uma vez desprotonado provoca a deslocização da carga ao longo da cadeia originando um ligante aniônico (DU & LIU, 2008). Genericamente, as tiossemicarbazonas (Figura 32) apresentam um amplo perfil farmacológico (BERALDO, 2004) e, por isso, despertam considerável interesse científico, devido as suas importantes propriedades químicas e biológicas; tais como: antitumoral (FEUN *et al.*, 2002), antibacteriana (KASUGA *et al.*, 2003), antiviral (TEITZ *et al.*, 1994), antiprotozoária (BHARTI *et al.*, 2002), antoamébia (BHARTI *et al.*, 2003), citotóxica contra células tumorais (KARAH, 2002), dentre outras. Assim, constituem uma importante classe de compostos cujas propriedades têm sido extensivamente estudadas na química medicinal em razão, fundamentalmente, de sua capacidade quelante no seu mecanismo bioquímico de ação. Apesar da ampla versatilidade farmacológica desses compostos como uma classe, especificidades estruturais podem levar à manifestação de atividades específicas. Para os complexos metálicos, em alguns casos é possível modular a atividade através do desenho do ligante ou através da escolha do metal.



**Figura 32** – Estrutura das tiossemicarbazonas

De um modo geral, pode-se dizer que as tiossemicarbazonas agem como inibidores de enzimas, como por exemplo, da enzima ribonucleotídeo difosfato redutase (RDR) que, vem sendo relacionada como alvo promissor na terapia de doenças protozoárias (BASOLO, 1993). Esta enzima existe em todas as células vivas e apresenta a função de catalisar o passo limitante na síntese dos deoxirribonucleotídeos necessários para a síntese do DNA (BASOLO, 1993). Estudos indicam que a ação inibitória destas substâncias sobre RDR é devida a complexação de metais endógenos, no caso específico o átomo de ferro presente no sítio catalítico das RDR ou através de reações redox, seja através das interações com o DNA e da inibição da síntese do DNA (GONTIJO & CARVALHO, 2003). Além disso, alguns complexos metálicos desses ligantes apresentam a habilidade de mimetizar a ação de certas enzimas.

Trabalhos publicados relatam a suscetibilidade de protozoários frente à tiossemicarbazonas (BHARTI *et al.*, 2002; WALCOURT *et al.*, 2003). Particularmente, a atividade antitripanossoma foi estudada por Du e colaboradores (2002) e Casero e colaboradores (1980), enquanto a atividade leishmanicida foi relatada por Dodd e colaboradores em 1989. Pesquisas mostram que as propriedades das tiossemicarbazonas de formar quelatos com cátions metálicos são responsáveis pelas atividades antiprotozoárias (WALCOURT, *et al.*, 2003; BHARTI *et al.*, 2003). Já em 2011, Soares e colaboradores avaliaram tiossemicarbazonas e semicarbazonas frente às formas promastigotas e amastigotas intracelulares de *T. cruzi*, isolado de peritônio de camundongos e sobre macrófagos humanos. “Um potencial alvo desses compostos é a óxido nítrico sintetase, já que um decréscimo na atividade dessa enzima foi observado. Ao contrário do benzonidazol que apresenta uma alta citotoxicidade essas tiossemicarbazonas apresentaram baixa toxicidade sobre os macrófagos indicando que sua atividade foi específica sobre as forms investigadas do parasita”.

A atividade tripanocida frente a *T. brucei in vitro* de tiossemicarbazonas foi comparada com derivados de tiadiazolinas e todas as tiossemicarbazonas testadas foram mais ativas que suas correspondentes tiadiazolinas (HOUSSOU *et al*, 2011).

### 3. OBJETIVOS

1. Sintetizar e caracterizar a estrutura química de um conjunto de tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila e de fluorobenzotiossemicarbazonas;
2. Sintetizar e caracterizar a estrutura química de uma série de carbimidotioatos derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila e derivados benzotriazocínicos relacionados;
3. Avaliar, inicialmente, a atividade contra tripanossomatídeos, das tiossemicarbazonas derivadas no núcleo 3,4-metilenodioxila, *in vitro*, frente a formas epimastigotas de cepas de *T. cruzi* e promastigotas de *L. amazonensis*;
4. Avaliar a atividade contra tripanossomatídeos das tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila que apresentarem significativos resultados ante as formas epimastigotas de *T. cruzi* e promastigotas de *L. amazonensis*, contra a forma amastigota, e
5. Avaliar a capacidade quelante frente a  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  das tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila que apresentarem atividade antitripanossômica.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 – Equipamentos , Vidrarias e outros Materiais

- Espectrômetro de RMN Brucker, modelo NMR ULTRASHIELD de 400 MHz;
- Espectrômetro de RMN Brucker, modelo NMR ULTRASHIELD de 500 MHz
- Espectrofotômetro de IV Brucker, modelo Vertex 70;
- Espectrofotômetro UV/VIS da Shimadzu, modelo UV mini 1240.
- Câmara reveladora de UV da marca Spectronic model ENF 240C
- Evaporador rotatório Fisatom;
- Bomba de vácuo;
- Capela de exaustão;
- Geladeira Consul 320 L;
- Banho de Ultrassom UNIQUE Ultra Cleaner model USC-800A de 40 KHz;
- Balões de boca esmerilhada de 25, 50 e 100 mL;
- Garras, mufas e suportes universais;
- Beckers de 25, 50 e 100 mL;
- Condensadores de refluxo e termômetros;
- Balanças analíticas das marcas OHAUS model TS2K e MARTE model AS 5500;
- Pipetas graduadas e volumétricas e Pasteur variadas;
- Aparelho de deteminação de ponto de fusão;
- Funis de Buckner,
- Kitasatos 100, 250 e 500 mL;
- Provetas, 10, 25, 50, 100 e 500 mL;
- Colunas cromatográficas;
- Placas para cromatografia em camada delgada (CCD);
- Tubos de ressonância;
- Colunas de Vigreux;
- Mantas de aquecimento;
- Placas de aquecimento e agitadoras eletromagnéticas e
- Equipamentos de segurança: óculos e máscaras



#### 4.2 – Reagentes e Solventes (Reagentes: Sigma-Aldrich e Merck; Solventes: Vetec)

- Piperonal;
- Hidróxido de sódio;
- Ácido nítrico, concentrado;
- Ácido sulfúrico, concentrado;
- Hidróxido de amônio;
- Ácido acético glacial;
- Nitrito de sódio;
- Sulfato ferroso;
- Ácido clorídrico, concentrado;
- Álcool etílico;
- Álcool metílico;
- Hexano;
- Acetato de etila;
- Clorofórmio;
- Diclorometano,
- Ácido cloroacético;
- Piperidina;
- Piridina;
- Brometos de alila, n-propila;
- Iodetos de etila e metila;
- Cloreto de cloroacetila;
- Cloreto, cianeto e brometo cuproso;
- Sulfato cúprico;
- Ácido fluorobórico;
- Nitrato de prata;
- $\text{NaBH}_4$ ;
- Iodo;
- 2-nitrofenilhidrazina;
- 4-metoxifenilhidrazina;
- Tiosemicabazida,
- Ácido trifluoroacético;

- Ácido tricloroisocianúrico;
- Sílica gel Merck-60 (70-230 Mesh);
- Zinco, em pó;
- Aldeídos benzofluorados (2; 2,3; 2, 5; 3, 4; 2, 6; 3, 5; 2, 3, 4; 2, 3, 5, 6; 2, 3, 4, 5, 6; e 4-trifluorometil)
- Cloreto de crômio piridina (PCC)

### 4.3 – Síntese - preparação dos intermediários (aldeídos e alcoóis)

#### 4.3.1 – Purificação do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M01

As características físicas descritas na literatura para o 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído (COUTINHO, 1981), ponto de fusão, aspecto físico dos cristais e principalmente, a cor revelaram a necessidade de ser realizado um processo para purificar o material de partida. Desta forma, realizou-se a recristalização, em frações. Vários solventes e misturas de solvente foram ensaiadas. A melhor composição foi á mistura água/etanol (4:1, v/v). Assim, 332 g do material foram recristalizados, com o emprego de carvão ativo e houve a obtenção de 280 g de cristais de piperonal, na forma de agulhas finas com rendimento de 84,3%, e Ponto de fusão de 37 °C, o que confere com a literatura (LIN, W. O. & COUTINHO, E. S. 1983)

#### Caracterização estrutural: Experimentos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ e IV (Anexos 8.1, 8.2 e 8.3)

##### Infravermelho (KBr; $\nu \text{ cm}^{-1}$ )

2920 ( $\nu \text{ C-H}_{\text{metilenodioxílico}}$ ), 1683 ( $\nu \text{ C=O}$ ), 1600 e 1419 ( $\nu \text{ C=C}$ ), 1261 ( $\nu \text{ C-O-C}_{\text{metilenodioxila}}$ ) e 1037 ( $\nu \text{ C-O}$ ).

##### RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ )

9,80 (s, 1H, H<sub>7</sub>); 7,53 (dd, 1H,  $J^3_{\text{H}_6\text{-H}_5} = 7,9 \text{ Hz}$ ,  $J^4_{\text{H}_6\text{-H}_2} = 1,5 \text{ Hz}$ , H<sub>6</sub>); 7,33 (d, 1H,  $J^4_{\text{H}_2\text{-H}_6} = 1,5 \text{ Hz}$ , H<sub>2</sub>); 7,11 (d, 1H,  $J^3_{\text{H}_5\text{-H}_6} = 7,9 \text{ Hz}$ , H<sub>5</sub>); 6,17 (s, 2H, H<sub>8</sub>).

##### RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ )

191,37 (C<sub>7</sub>); 153,22 (C<sub>4</sub>); 148,80 (C<sub>3</sub>); 131,95 (C<sub>1</sub>); 129,03 (C<sub>5</sub>); 108,96 (C<sub>2</sub>); 106,68 (C<sub>6</sub>); 102,81 (C<sub>8</sub>).

#### 4.3.2 - Síntese do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M02

A reação de nitração do piperonal foi tentada por cinco vezes de acordo com o método descrito por Coutinho, 1981. Assim, em um balão de três bocas, equipado com termômetro, colocou-se 2,0 g de piperonal (0,0133 mol), finamente pulverizado e 8,0 mL de ácido acético glacial. A seguir a mistura foi agitada até a total solubilização do sólido e ainda sob agitação a mistura foi resfriada até 5 °C a qual foi adicionado lentamente, 0,63 mL de ácido nítrico concentrado (8 equivalentes). A temperatura foi mantida entre 0-5 °C durante toda a adição do ácido nítrico concentrado. Após a completa adição do ácido nítrico a mistura, foi deixada reagir por duas horas sendo a temperatura elevada até a temperatura ambiente. Ao final deste tempo a mistura reacional foi vertida em Becker contendo gelo picado e água. O precipitado formado foi filtrado e lavado várias vezes, revelando por CCD e por PF que o filtrado era piperonal, isto é, o produto de partida, não ocorrendo à reação como esperado. Desta forma, o método foi descartado e optou-se pelo método descrito por Duarte e colaboradores, 2007, onde inicialmente, (0,1123 mol) ou 16,85 g de piperonal foram reagidos com ácido nítrico concentrado à 65%, com a temperatura mantida entre 20-25 °C. Assim, após 30 minutos de reação obteve-se um sólido amorfo, amarelo claro, que foi deixado, ainda em funil de Bucher, sobre a bancada, para secar. No dia seguinte foi colocado em dessecador e posteriormente pesado encontrando-se 20,13 g. Sabendo-se que compostos orgânicos sólidos quando isolados em reações raramente são puros, optou-se pela recristalização como forma de purificar o composto resultante da síntese. Vários testes de solubilidade foram feitos e encontrou-se como solução ideal para a recristalização do 6-nitropiperonal, a mistura 1:1 de etanol e água. Assim, 400 mL da mistura, foi aquecida, em banho-maria até 75 °C onde 20,13 g do produto obtido na reação de nitração foi solubilizado e a seguir foi adicionado, ao sistema aquecido, carvão ativado. A mistura foi então filtrada a quente e a vácuo sendo a solução filtrada resfriada e os cristais separados do solvente por em nova filtração, agora a frio. A seguir, os cristais de 6-nitropiperonal foram deixados no próprio funil de Buchner sobre a bancada para secagem e posterior pesagem. O sólido posteriormente foi acondicionado em dessecador para ser então pesado, obtendo-se 17,9 g de um sólido amarelo claro.

A reação de nitração foi realizada em capela com exaustão ligada; a reação se desenvolve rapidamente depois de iniciada e se torna necessário o controle cinético; o que foi feito em um banho de água com gelo, após o início da reação; observando-se a completa dissolução do material de partida com a liberação contínua de NO<sub>2</sub>. Após cerca de 30 minutos observa-se uma

acentuada diminuição da liberação de anidrido nitroso-nítrico; a seguir a adição de água destilada provocou a cristalização de um sólido amarelo.

Desta forma, com confiança no método e domínio do processo, foi realizada a nitração de 0,666 mol (10 g) de piperonal, anteriormente recristalizado, que produziu após purificação por recristalização em etanol, 9,6 g de 6-nitropiperonal, com rendimento de 75,8% e Ponto de Fusão de 91-92 °C o que coincide com o descrito por Duarte, C. D. *et al.*, 2007. Desta forma, somando-se a massa de 6-nitropiperonal obtida anteriormente, integralizamos 27,5 g de material sólido, amarelo claro, em cristais, que foram guardados em dessecador.

### **Caracterização estrutural: Experimentos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ e IV (Anexos 8.4, 8.5 e 8.6)**

#### **Infravermelho (KBr; $\nu\text{ cm}^{-1}$ )**

2927 ( $\nu\text{ C-H}_{\text{metilenodioxílico}}$ ), 1683 ( $\nu\text{ C=O}$ ), 1597 e 1419 ( $\nu\text{ C=C}$ ), 1521 [ $\nu\text{ (N=O)}_2\text{ assimétrica}$ ], 1338 [ $\nu\text{ (N=O)}_2\text{ simétrica}$ ], 1278 ( $\nu\text{ C-O-C}_{\text{metilenodioxila}}$ ), 1031 ( $\nu\text{ C-O}$ ) e 879 ( $\nu\text{ C-N}$ ).

#### **RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ )**

10,07 (s, 1H, H7); 7,75 (s, 1H, H5); 7,32 (s, 1H, H2); 6,36 (s, 2H, H8).

#### **RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ )**

188,60 (C7); 152,38 (C3); 151,77 (C4); 127,95 (C1); 105,43 (C5); 107,42 (C2); 146,14 (C6); 104,49(C8).

### **4.3.3 - Síntese do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M03**

Em um Becker, (0,005 mol) ou 1,0 g de 6-nitropiperonal foi dissolvido em uma mistura de 25 mL de água e 25 mL de álcool etílico, a quente. Em seguida, foi adicionado a essa primeira solução, uma solução de 10 g de sulfato ferroso (0,035 mol) em 50 mL de água à quente.

A mistura foi fervida durante 1 minuto, para em seguida 13,0 mL de hidróxido de amônio concentrado ser adicionado em frações de 1,0 mL e agitação constante. Concluída a adição do hidróxido de amônio a mistura foi deixada em fervura por 10 minutos. Após a solução ser filtrada a quente o foi resíduo lavado com 5,0 mL de água a quente. O filtrado foi resfriado em banho de gelo, sendo os cristais filtrados e deixados sobre a bancada para secar. Depois de secos

em dessecador, foi determinado o PF que revelou ser em torno de 70 °C o que não corresponde ao descrito pela literatura, isto é, 103-104 °C (Coutinho, 1981).

A redução tradicional empregando-se zinco metálico e estanho metálico em ácido clorídrico também foi tentada, mas os resultados não se mostraram animadores, sendo o método descartado.

O método utilizando sulfato ferroso foi mais uma vez testado o procedimento relatado acima foi repetido com apenas uma alteração na adição da solução de hidróxido de amônio concentrada, que foi realizada em frações de 0,5 mL em intervalos de 40 segundos. Após todo o processamento foram obtidos cristais verdes claros que secaram em dessecador á vácuo na presença de cloreto de cálcio. Após três repetições do experimento o rendimento obtido foi de 65,4% e o Ponto de Fusão medido confere com o descrito na literatura 103-104 °C (Lin, W. O. & Coutinho, E. S., 1983)

#### **Caracterização estrutural: Experimentos de RMN $H^1$ e $C^{13}$ e IV (Anexos 8.7, 8.8 e 8.9)**

##### **Infravermelho (KBr; $\nu\text{ cm}^{-1}$ )**

3419 e 3315 ( $\nu$  N-H assimétrica e simétrica), 2910 ( $\nu$  C-H metilenodioxílico), 1652 ( $\nu$  C=O), 1616 e 1419 ( $\nu$  C=C), 1261 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila) e 1035 ( $\nu$  C-O).

##### **RMN $H^1$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ )**

9,57 (s, 1H, H7); 6,34 (s, 1H, H2); 7,02 (s, 1H, H5); 6,34 (s, 2H, H8); 7,29 (sbl, 2H amínicos, H9).

##### **RMN $C^{13}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ )**

190,97 (C7); 150,61 (C3); 154,03 (C4); 138,57 (C1); 111,40 (C2); 111,11 (C6); 101,75 (C8); 95,63 (C5).

#### **4.3.4 - Síntese do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído (Sandmayer) M04**

A reação de hidroxilação do 6-aminopiperonal foi realizada pelo método de Sandmayer (Campbell *et al.*, 1951). Uma suspensão de 0,016 mol ou (2,65 g) de 6-aminopiperonal foi resfriada a 5 °C em 75,0 mL de água e acidificada por uma solução de ácido sulfúrico concentrado em 15,0 mL de água. A mistura resfriada foi diazotada pela adição de 1,125 g de

nitrito de sódio em 12,5 mL de água. A temperatura da solução foi gradativamente, levada até a temperatura ambiente, diluída com igual volume de água e adicionado, gota a gota uma solução de 31 g de sulfato de cúprico em 31 g de água. A solução foi então destilada por oito horas e o produto, em forma de agulhas de cor verde claro, foi recolhido na entrada do condensador. A massa obtida foi de 1,68 g, com rendimento de 57,7 %, com ponto de fusão: 125-126 °C.

A purificação dos cristais foi realizada por arraste a vapor com ponto de fusão 125-126 °C, conforme o descrito na literatura (Campbell, K. N. *et al.*, 1951) o que corrobora a obtenção do 6-hidroxi-piperonal, o que é confirmado pelos dados obtidos de IV e RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C.

### **Caracterização estrutural: Experimentos RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e IV (Anexos 8.10, 8.11 e 8.12)**

#### **Infravermelho (KBr; $\nu$ cm<sup>-1</sup>)**

3437 ( $\nu$  O-H), 2923 ( $\nu$  C-H metilenodioxílico), 1674 ( $\nu$  C=O), 1618 e 1417 ( $\nu$  C=C), 1265 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila) e 1029 ( $\nu$  C-O).

#### **RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )**

11,03 (sbl, 1H hidroxila, H9); 10,19 (s, H, H7); 7,30 (s, 1H, H2); 7,29 (s, 1H, H5); 6,23 (s, 2H, H8).

#### **RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )**

190,45 (C7); 160,27 (C6); 154,83 (C4); 141,72 (C3); 115,75 (C1); 106,60 (C2); 102,67 (C8); 98,44 (C5).

### **4.3.5 – Síntese do Piperonal - Redução da Carbonila M05**

Dissolveu-se 1,5 g (0,01 mol) de piperonal em 15 mL de metanol. A seguir calculou-se a quantidade de boridreto de sódio necessária para preparar a solução de 10% de boridreto de sódio em solução de hidróxido de sódio 0,05 M. Assim 1,0 g de boridreto de sódio foi diluído em 10 mL de água destilada e adicionado a 1,0 mL de solução de hidróxido de sódio 0,05 M. A redução foi acompanhada por CCD eluída em uma mistura de 4:1 acetato de etila em hexano. Após o término da reação foi adicionado ácido clorídrico 6,0 M até pH levemente ácido. A

seguir o material foi secado e cristalizado. O ponto de fusão obtido foi de 42 °C enquanto a literatura relata 45 - 47 °C (Shazia, N. A. *et al.*, 2006) com rendimento de 97,3%.

### **Caracterização estrutural: Experimentos de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e IV (Anexos 8.13, 8.14, 8.15 e 8.16)**

#### **Infravermelho (KBr; $\nu$ cm<sup>-1</sup>)**

3278 ( $\nu$  O-H), 2906 ( $\nu$  C-H metilenodioxílico), 1602 e 1448 ( $\nu$  C=C), 1251 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila) e 1037 ( $\nu$  C-O).

#### **RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )**

6,93 (d, 1H,  $J_{H_2-H_6}^4 = 1,5$  Hz, H2); 6,88 (dd, 1H,  $J_{H_6-H_5}^3 = 8,5$  Hz,  $J_{H_6-H_2}^4 = 1,5$  Hz, H6); 6,79 (d, 1H,  $J_{H_5-H_6}^3 = 8,5$  Hz, H5); 5,98 (s, 2H, H8); 5,16 (s, 2H, H7); 4,42 (s, 1H hidroxílico, H9).

#### **RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )**

147,86 (C3); 146,43 (C4); 136,95 (C1); 120,20 (C6); 108,65 (C5); 107,74 (C2); 101,12 (C8); 63,35 (C7).

### **4.3.6 – Síntese do (6-amino-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol M06**

O procedimento sintético utilizado foi similar ao anterior obtendo-se cristais esverdeados na forma de agulhas com Ponto de Fusão de 107-109 °C conforme relato na literatura (Mahindroo, N. 2006). O rendimento da reação foi de 87,1%.

### **Caracterização estrutural: Experimentos de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e IV (Anexos 8.17, 8.18, 8.17 e 8.19)**

#### **Infravermelho (KBr; $\nu$ cm<sup>-1</sup>)**

3384 e 3296 ( $\nu$  N-H assimétrica e simétrica), 3134 ( $\nu$  O-H), 2904 ( $\nu$  C-H metilenodioxílico), 1635 e 1419 ( $\nu$  C=C), 1269 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila) e 1043 ( $\nu$  C-O).

#### **RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )**

6,65 (s, 1H, H2); 6,29 (s, 1H, H5); 5,80 (s, 2H, H8); 4,93 (s, 1H, H9); 4,61 (sbl, 2H, H10); 4,29 (s, 2H, H7).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)**

146,92 (C3); 141,72 (C4); 138,75 (C6); 118,47 (C1); 108,58 (C2); 100,24 (C8); 97,20 (C5); 61,34 (C7).

**4.3.7 - Síntese do (6-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol M07**

4,40 g de piperonol, 0,0289 mol foram colocados em balão de 500 mL, a seguir adicionou-se 100 mL de metanol. Em um Becker solubilizou-se 0,0293 mol (7,44 g) de iodo em 200 mL de metanol. Em outro Becker de 50 mL preparou-se a solução de trifluoroacetato de prata pela adição de 2,5 mL de ácido trifluoroacético a 5,0 g de nitrato de prata e adição de pouca água destilada. Inicialmente, ao balão que continha 4,40 g de piperonol, em metanol, sob intensa agitação, foram adicionados á uma solução de trifluoroacetato de prata e depois uma solução metanólica de iodo. O término da reação foi acompanhado por CCD. Após duas horas de reação, à temperatura ambiente, o conteúdo do balão foi filtrado a vácuo para separar o sólido “AgI” branco, da solução resultante que foi lavada com uma solução aquosa de tiosulfato de sódio para remover o iodo residual na forma de iodeto. O solvente foi evaporado resultando um sólido branco amorfo que foi deixado sobre a bancada para secar. No dia seguinte o material foi lavado com água destilada a frio e filtrado a vácuo, resultando um sólido branco e numa solução que deixada evaporar, revelou como um sólido branco que foi recristalizado em clorofórmio. O ponto de fusão foi determinado em 109-110 °C, o que corresponde ao ponto de fusão do produto desejado, já que a literatura revela um PF entre 110-111 °C (Crich, D. & Krishnamurthy, V., 2006) O rendimento obtido foi de 97,4%.

**Caracterização estrutural: Experimentos de RMN <sup>1</sup>H , <sup>13</sup>C e IV (Anexos 8.21, 8.22, 8.23 e 8.24)****Infravermelho (KBr; ν cm<sup>-1</sup>)**

3273 (ν O-H), 2908 (ν C-H<sub>metilenodioxílico</sub>), 1616 e 1419 (ν C=C), 1240 (ν C-O-C<sub>metilenodioxila</sub>), 1037 (ν C-O) e 543 (ν C-I).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)**

7,34 (s,1H, H2); 7,03 (s, 1H, H5); 6,04 (s, 2H, H8); 5,40 (s, 1H, H9); 4,33 (s, 2H, H7).



**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)**

148,54 (C3); 147,82 (C4); 137,97 (C1); 118,16 (C5); 108,76 (C2); 101,95 (C8); 84,90 (C6); 67,84 (C7).

**4.3.8 - Síntese do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M08**

Partiu-se de 0,005 mol (1,39 g) de 6-iodopiperonol e 0,0065 mol (1,4 g) de PCC, em balão de 100 mL com 30 mL de diclorometano, na presença de pedras de porcelana porosa, sob intensa agitação e mantida a temperatura em 50 °C, o término da reação foi acompanhado por CCD. O solvente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> foi evaporado, as pedras de porcelana impregnadas com o material pegajoso foram separadas e o material sólido que ficou foi extraído três vezes com 100 mL de uma solução de hidróxido de sódio 1,0 M em diclorometano. A fase aquosa foi desprezada e a fase orgânica de diclorometano foi deixada na capela para evaporar. O produto foi recristalizado em metanol e os cristais apresentaram forma de pequenas agulhas brancas.

O ponto de fusão obtido na faixa de 110-112 °C, corresponde ao relatado na literatura (Crich, D. & Krishnamurthy, V., 2006) e o rendimento de 69,8%.

**Caracterização estrutural: Experimentos de RMN <sup>1</sup>H , DEPT Q e IV (Anexos 8.25, 8.26 e 8.27)****Infravermelho (KBr; ν cm<sup>-1</sup>)**

2902 (ν C-H metilenodioxílico), 1662 (ν C=O), 1608 e 1406 (ν C=C), 1261 (ν C-O-C metilenodioxila), 1037 (ν C-O) e 605 (ν C-I).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)**

9,92 (s, 1H, H7); 7,32 (s, 1H, H2); 7,31 (s, 1H, H5); 6,14 (s, 2H, H8).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)**

194,51 (C7); 153,54 (C4); 149,17 (C3); 129,62 (C1); 119,98 (C5); 109,62 (C2); 102,31 (C8); 93,36 (C6).

#### **4.3.9 - Síntese do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído, através do ácido tricloro isocianúrico – TCCA M09**

##### *1ª Metodologia*

Em um balão de 250 mL adicionou-se 10 g de piperonal finamente dividido, ao qual se adicionou 100 mL de diclorometano que, solubilizou todo o piperonal. Ao balão foi colocado, sob intensa agitação, e com auxílio de um funil de transferência de sólidos, 7,75 g de TCCA pulverizado e após, 20 gotas de piridina. Deixou-se sob agitação por 28 horas. O término da reação foi determinado por desaparecimento da mancha azul em papel amidotado. A seguir, o sólido formado de cor castanho clara foi filtrado a vácuo e o resíduo sólido foi solubilizado; parte em água e novamente filtrado. O sólido castanho claro foi deixado sobre a bancada e a solução aquosa foi testada quanto a seu pH que foi determinado como ácido com auxílio de papel indicador embebido em fenolftaleína e que corresponde ao TCCA. O produto obtido é insolúvel em água mesmo a quente, inicialmente apresentou ponto de fusão de 98 °C contra 115 °C descritos na literatura para o 6-cloropiperonal (Alexander, B. H. *et al.*, 1960). O produto foi recristalizado em água/etanol, mas os experimentos de RMN de <sup>13</sup>C indicaram que o produto ainda estava impuro.

##### *2ª Metodologia*

Após diversas tentativas empregando-se a presente metodologia, onde variou-se a estequiometria e o tempo de reação, obteve-se o melhor rendimento quando 0,02 mol (3,0 g) de piperonal finamente particulado, foi colocado em balão de 100 mL e sob intensa agitação magnética foi solubilizado em 60 mL de etanol, a seguir, foi adicionado ao meio, 0,0098 mol ou (2,3 g) de TCCA, considerando um excesso, a temperatura foi fixada em 50 °C e a reação processada por três horas. Notou-se o aparecimento de um precipitado branco e de um sobrenadante esverdeado. O precipitado foi filtrado a vácuo e o sobrenadante foi lançado em água gelada. Observou-se a formação de um precipitado branco que foi filtrado a vácuo e deixado secar sobre a bancada. O material foi recristalizado em etanol. A reação forneceu 1,20 g de cristais brancos, em formas de agulhas, com rendimento de 96,3%, e ponto de fusão 115 °C, tal qual descrito na literatura (Alexander, B. H. *et al.*, 1960)

**Caracterização estrutural: Experimentos de RMN <sup>1</sup>H , DEPT Q e IV (Anexos 8.28, 8.29, 8.30 e 8.31)**

**Infravermelho (KBr;  $\nu$  cm<sup>-1</sup>)**

2922 ( $\nu$  C-H metilenodioxílico), 1676 ( $\nu$  C=O), 1618 e 1417 ( $\nu$  C=C), 1265 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila), 1031 ( $\nu$  C-O) e 786 ( $\nu$  C-Cl).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)**

10,16 (s, 1H, H7); 7,28 (s, 1H, H2); 7,26 (s, 1H, H5); 6,21 (s, 2H, H8).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)**

188,42 (C7); 153,72 (C3); 148,02 (C4); 132,66 (C1); 126,88 (C6); 110,83 (C2); 107,17 (C5); 103,81 (C8).

**4.3.10 - Síntese do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M10**

Em um balão de 100 mL, contendo 0,0133 mol ou 2,0 g de piperonal previamente triturados, foram dissolvidos em 14,0 mL de metanol e duas gotas de ácido acético glacial, sendo adicionados 5,75 g de solução de bromo 0,0359 mol ou 1,84 mL. O sistema montado em capela foi deixado reagir até observar-se o consumo total do piperonal por CCD. Depois a mistura foi adicionada à água gelada para fornecer um precipitado de cor laranja ao qual se adicionou 9,60 mL de uma solução 1,0 M de bissulfito de sódio para remover o bromo remanescente. O precipitado foi filtrado a vácuo e observou-se o aparecimento de um sólido branco, que foi recristalizado em metanol, fornecendo assim, 2,57 g de 6-bromo piperonal. O ponto de fusão foi de 129-131 °C Em quanto á literatura revela 129-130 °C (Luo, M. *et al.*, 2002) o rendimento de 70,2%.

**Caracterização estrutural: Experimentos de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e IV (Anexos 8.32, 8.33 e 8.34)****Infravermelho (KBr;  $\nu$  cm<sup>-1</sup>)**

2922 ( $\nu$  C-H metilenodioxílico), 1674 ( $\nu$  C=O), 1616 e 1413 ( $\nu$  C=C), 1259 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila), 1031 ( $\nu$  C-O) e 669 ( $\nu$  C-Br).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)**

10,06 (s, 1H, H7); 7,43 (s, 1H, H2); 7,29 (s, 1H, H5); 6,23 (s, 2H, H8).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)**

190,49 (C7); 153,95 (C4); 148,60 (C3); 127,84 (C1); 121,22 (C6); 113,76 (C5); 107,87 (C2); 103,81 (C8).

#### 4.3.11 - Síntese do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M11

A síntese do 6-cianopiperonal foi realizada em três etapas e iniciou-se pela proteção à carbonila aldeídica (Wu *et al.*, 2007 e Le *et al.*, 2004).

##### 1ª etapa – proteção da carbonila

Partiu-se do 6-bromopiperonal, inicialmente, procedeu-se a proteção da carbonila. Em um Becker de 100 mL adicionou-se 1,0 g (0,0057 mol) do 6-bromopiperonal, juntamente com 100 mL de tolueno. A seguir transferiu-se o conteúdo do Becker para um balão de três bocas de 250 mL. Foi adicionada quantidade catalítica de ácido *p*-toluenossulfônico e 0,5 mL de etilenoglicol. A relação estequiométrica levada em consideração foi de 2:1, entre o etilenoglicol e o 6-bromopiperonal. Os cálculos estequiométricos realizados levaram a um volume de etilenoglicol de 0,48 mL (0,0114 mol), A mistura foi aquecida em banho de óleo sob agitação contínua e refluxo por 20 horas, onde a água, subproduto da reação, foi separada e recolhida. Após o término da reação que foi monitorada por CCD, evaporou-se o solvente sob pressão reduzida. O resíduo sólido foi solubilizado em etanol, aqueceu-se o material e lançou-se em água gelada para precipitar. O material filtrado a vácuo foi deixado sobre a bancada para secagem. A massa verificada após secagem foi de 380 mg, o que indica um rendimento de 34%. A análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  revelou um sinal de deslocamento em 190,4 ppm, característico de carbonila aldeídica e um sinal intenso em 65,3 ppm característico de carbono carbinólico, isto nos levou a conclusão que a reação ainda não havia chegado ao fim, e o processo deve ser repetido agora com uma massa maior dos reagentes. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  apresentou um sinal de deslocamento em 10,0 ppm, característico de hidrogênio aldeídico o que corrobora com os dados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ .

O experimento foi repetido com 0,0219 mol (5,0 g) de 6-bromopiperonal. O novo procedimento foi executado, sendo a reação acompanhada por CCD, o tempo reacional foi de 48 horas, com o sistema em capela com exaustão ligada. Ao final da reação foram obtidas 6,4 g de produto, com um rendimento calculado de 92,2 %.

## 2ª etapa – reação de substituição

Na segunda etapa da síntese do 6-cianopiperonal, 0,0055 mol de 6-bromopiperonal etileno acetal (1,50 g), foram colocados em um balão de 100 mL ao qual foi adicionado 0,0066 mol de cianeto de cuproso (5,91 g) que foram previamente, solubilizados em 20 mL de dimetilformamida. O sistema foi montado encapsulado em papel alumínio, em capela, ao qual foi acoplada uma coluna, o sistema foi mantido sob refluxo que por 3 horas. A reação aquecida e no escuro foi transferida para outro balão de 250 mL ao qual foi adicionada a quente, uma solução aquosa de cianeto de sódio na qual se havia solubilizado 10 g do sal. O sistema foi adaptado sobre uma chapa aquecedora e agitadora onde a mistura foi agitada intensamente, por mais 2 horas. Ao término da reação o produto foi extraído com 60 mL de benzeno. O extrato foi concentrado e purificado por cromatografia em coluna para obter-se 0,8 g de cristais do 6-ciano acetal correspondente, na forma de agulhas brancas em rendimento de 66,6%.

## 3ª etapa - abertura do anel (restituição da carbonila)

Colocou-se 0,00365 mol (0,80 g) do ciano acetal em um balão de 100 mL ao qual foi adicionado ácido clorídrico a 5% (25 mL), acoplada numa coluna de resfriamento e o sistema mantido sobre sob aquecimento por 15 minutos a 50-60 °C. O sólido obtido foi coletado, lavado com água e seco para fornecer 0,63 g do 6-cianopiperonal, com coloração amarelo pálido, em 67,3% de rendimento. O ponto de fusão obtido foi de 160-162 °C, conforme relatado na literatura (Le, T. N. *et al.*, 2006).

## Caracterização estrutural: Experimentos de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e IV (Anexos 8.35, 8.36 e 8.37)

### Infravermelho (KBr; $\nu$ cm<sup>-1</sup>)

2923 ( $\nu$  C-H metilenodioxílico), 2230 ( $\nu$  C $\equiv$ N), 1674 ( $\nu$  C=O), 1558 e 1417 ( $\nu$  C=C) e 1265 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila) e 1029 ( $\nu$  C-O).

### RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )

10,06 (s, 1H, H7); 7,43 (s, 1H, H2); 7,29 (s, 1H, H5); 6,23 (s, 2H, H8).

### RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )

190,93 (C7); 154,03 (C4); 150,61 (C3); 135,56 (C1); 114,16 (C9); 111,40 (C5); 111,11 (C6); 107,50 (C2); 101,17 (C8).

#### 4.3.12 – Síntese do 6-fluoro-1,3-benzodioxol-5-carboxialdeído M12

O 6-fluoropiperonal foi obtido via reação de Sandmeyer, partindo-se de 0,0060 mol de 6-aminopiperonal (1,00 g) que foram solubilizados em 48,5 mL de ácido clorídrico 1,0 M sob intensa agitação, em balão de fundo redondo de 250 mL, adaptado a chapa de aquecimento e agitação magnética, sustentado por garras, a relação molar utilizada sugerida por Biasotto (1987). Ao contato do ácido clorídrico, e pela adição de 7,90 mL de uma solução de nitrito de sódio 1,0 M, em ambiente a 5 °C, imediatamente, a solução do balão, tornou-se avermelhada, revelando a diazotação, o que foi confirmado pelo teste de papel amido iodetado, a agitação foi mantida ainda por 5 minutos, conforme reação mostrada a seguir (figura 33).



**Figura 33** – Reação de confirmação da iodação

Depois a solução foi mantida, sob a bancada, em repouso por trinta minutos. A seguir, 2,5 mL de uma solução a 48% de ácido fluorobórico (HBF<sub>4</sub>) foi adicionada, ao meio reacional, sob intensa agitação, sendo a temperatura elevada e mantida na faixa de 60-70 °C, por oito horas. Foi observada a liberação de gás, durante o processo, o que indicou a eliminação de N<sub>2</sub> e o aparecimento de um precipitado que foi neutralizado e seco com CaCO<sub>3</sub> anidro e a seguir extraído com éter dimetílico. O Ponto de Fusão foi de 72-73 °C, tal qual o descrito na literatura (Moreau, A. *et al.*, 2004). O produto foi obtido em 62,3% de rendimento.

#### Caracterização estrutural: Experimentos de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e IV (Anexos 8.38, 8.39 e 8.40)

##### Infravermelho (KBr; $\nu \text{ cm}^{-1}$ )

2922 ( $\nu \text{ C-H}_{\text{metilenodioxílico}}$ ), 1676 ( $\nu \text{ C=O}$ ), 1558 e 1417 ( $\nu \text{ C=C}$ ), 1265 ( $\nu \text{ C-O-C}_{\text{metilenodioxila}}$ ), 1396 ( $\nu \text{ C-F}$ ) e 1031 ( $\nu \text{ C-O}$ ).

##### RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )

9,54 (s, 1H, H7); 7,51; 7,49 e 7,43 (t, 1H, H6); 7,00; 6,83 e 6,81 (t, 1H, H2); 6,00 (s, 2H, metilênicos, H8).

##### RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )

191,07 (C7); 154,03 (C6); 150,55 (C4); 138,56 (C3); 111,42 (C2); 111,10 (C1); 101,72 (C8); 95,65 (C5).

#### 4.3.13 – Síntese do 6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxialdeído M13

Em um balão de 250 mL foi colocado 0,0055 mol (1 g) de 6-hidroxipiperonal, 3,5 g de carbonato de potássio anidro e 50 mL de benzeno seco ao qual foi adicionado 2,25 g de sulfato de metila, lentamente, com agitação contínua. A reação foi refluxada por 48 horas, sendo sua evolução acompanhada por CCD, ao término foi filtrada ainda a quente. O solvente foi removido por evaporação à pressão reduzida, e o produto recristalizado em água para obter-se, depois de seco, 1,00 g do 6-metoxipiperonal com ponto de fusão 110-112 °C, enquanto a literatura revela um Ponto de Fusão na faixa de 108-110 °C (Shazia, N. A. *et al.*, 2006). O rendimento obtido na reação foi de 92,6%.

#### Caracterização estrutural: Experimentos de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e IV (Anexos 8.41, 8.42 e 8.43)

##### Infravermelho (KBr; $\nu$ cm<sup>-1</sup>)

2922 ( $\nu$  C-H metilenodioxílico), 1676 ( $\nu$  C=O), 1558 e 1417 ( $\nu$  C=C), 1265 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila), 1031 ( $\nu$  C-O).

##### RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )

10,21 (s, 1H, H7); 7,26 (s, 1H, H2); 6,52 (s, 1H, H5); 6,25 (s, 2H, H8); 4,05 (s, 3H, H9)

##### RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, $\delta$ )

190,06 (C7); 156,03 (C6); 150,06 (C4); 144,46 (C3); 117,55 (C2); 111,11 (C6); 106,19 (C2); 101,21 (C8); 93,39 (C5) e 32,56 (C9)

#### 4.3.14 - Síntese do 2-cloro-N-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida M14

##### 1ª Metodologia

A preparação do 6-cloroacetilpiperonal deu-se inicialmente pela adição de 0,64 g (0,0039 mol) de 6-aminopiperonal em 10 mL de éter dietílico, em balão de 100 mL, a seguir foi adicionado 0,309 g de piridina anidra e lentamente e sob intensa agitação 0,66 g (0,0039 mol) de anidrido cloroacético. A reação foi acompanhada por CCD, que indicou seu término, após três horas. Ao final procedeu-se a extração do produto com uma solução de bicarbonato de sódio 5%. O rendimento foi de 40%. Desta forma, outro método foi empregado com o objetivo de melhorar o rendimento.

## 2ª Metodologia

Em um balão de fundo redondo de 100 mL, sob agitação adicionou 0,0027 mol de 6-aminopiperonal (0,44 g) em 10 mL de benzeno seco e 0,0027 mol (0,27 g) de trietilamina. A mistura foi resfriada, em banho de gelo, para em seguida ser adicionados ao meio reacional 0,0027 mol (0,31 g) de cloreto de cloroacetila em benzeno. O sistema foi mantido por 1 hora, sob intensa agitação. Um precipitado vermelho foi formado, o material a seguir foi evaporado sob pressão reduzida. Ao resíduo vermelho que ficou no balão foi adicionado 10 mL de etanol e submeteu-se a mistura a refluxo com agitação durante trinta minutos. A mistura foi deixada em repouso para que o produto precipitasse. Após ser filtrado a vácuo o produto foi lavado três vezes com água gelada para eliminar qualquer resíduo de ácido clorídrico. Obteve-se 0,54 g de um sólido amarelado, O rendimento calculado foi de 84,3% e o ponto de fusão medido de 144-145 °C, enquanto a literatura relata 145-146 °C (Lin, W. O. & Coutinho, E. S., 1983).

### Caracterização estrutural: Experimentos de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e IV (Anexos 8.44, 8.45 e 8.46)

#### Infravermelho (KBr; $\nu \text{ cm}^{-1}$ )

3464 e 3246 ( $\nu \text{ NH}_2$  assimétrica e simétrica), 2920 ( $\nu \text{ C-H}$  metilenodioxílico), 1683 ( $\nu \text{ C=O}$  carbonila amídica), 1652  $\nu \text{ C=O}$  carbonila aldeídica conjugada), 1598 e 1436 ( $\nu \text{ C=C}$ ), 1263 ( $\nu \text{ C-O-C}$  metilenodioxila), 1035 ( $\nu \text{ C-O}$ ) e 667 ( $\nu \text{ C-Cl}$ ).

#### RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ )

9,74 (s, 1H, H7); 8,38 (s, 1H, H5); 7,09 (s, 1H, H2); 6,11 (s, 2H, H8); 4,21 (s, 2H, H10)

#### RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ )

192,9 (C7); 166,4 (C9); 153,4 (C4); 144,5 (C3); 137,1 (C1); 118,7 (C6); 111,8 (C2); 103,2 (C8); 101,9 (C5); 43,7 (C10).

### 4.3.15– Síntese 2,2,2-trifluór-N-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida M15

Em balão de fundo redondo de 100 mL, foi colocado 1 g (0,006 mol) de 6-aminopiperonal e 0,55g (0,0070 mol) de piridina seca em 10 mL de éter etílico, o sistema reacional foi resfriado em banho de gelo, e a seguir foi adicionado ao meio reacional, sob intensa agitação, 1,47 g (0,0070 mol) de anidrido trifluoroacético. A reação se desenvolveu por duas horas, sendo monitorada por CCD. Ao término da reação procedeu-se a extração com água e



posteriormente com uma solução de bicarbonato de sódio 5%. A fase etérea foi evaporada a vácuo, a seguir o material sólido, amarelo palha foi retirado do balão com álcool etílico a quente. O material foi a seguir vertido em Becker com água gelada onde o produto formou flocos característicos. Os flocos foram filtrados e o material deixado sobre a bancada para secagem e posterior pesagem. A pesagem revelou 0,66 g o que corresponde a um rendimento de 41,7%. Os experimentos de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , em DMSO- $d_6$ , revelaram sinais compatíveis com a estrutura proposta, porém com sinais em 72,6; 69,2 e 63,3 ppm, que não permitiram uma atribuição compatível com a estrutura desejada. Nova tentativa sintética, seguindo os mesmos padrões foi realizada. A mistura reacional foi deixada reagir por quatro horas, sendo o anidrido trifluoroacético adicionado lentamente. A reação foi acompanhada por CCD. Ao final o material foi recristalizado em uma mistura de água-etanol. O Ponto de Fusão medido foi de 127-128 °C, conforme o descrito na literatura (Zhao, Y. *et al.*, 2011). O rendimento da reação foi de 68%.

#### **Caracterização estrutural: Experimentos de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e IV (Anexos 8.47, 8.48 e 8.49)**

##### **Infravermelho (KBr; $\nu\text{ cm}^{-1}$ )**

3446 e 3325 ( $\nu\text{ NH}$  assimétrica e simétrica), 2900 ( $\nu\text{ C-H}_2$  metilenodioxílico), 1683 ( $\nu\text{ C=O}$  carbonila amídica), 1652 ( $\nu\text{ C=O}$  carbonila aldeídica conjugada), 1600 e 1436 ( $\nu\text{ C=C}$ ), 1363 ( $\nu\text{ C-F}$ ), 1224 ( $\nu\text{ C-O-C}$  metilenodioxila) e 1035 ( $\nu\text{ C-O}$ ).

##### **RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ )**

11,47 e 11,17 (d, 1H, H9); 9,80 (s, 1H, H7); 8,08 e 7,43 (d, 1H, H5) e 6,19 (s, 2H, H8).

##### **RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , $\delta$ )**

191,06 (C7); 156,84 (C9); 153,77 (q, C4); 143,89 (C3); 137,76 (C6); 127,03 (C1); 119,88 (C10); 111,89 (C2); 102,50 (C8); 89,03 (C5).

#### **4.4-Síntese das tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxibenzoxila e de benzofluorados**

##### **4.4.1 - Síntese das 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeidotiossemicarbazonas e benzofluoradas**

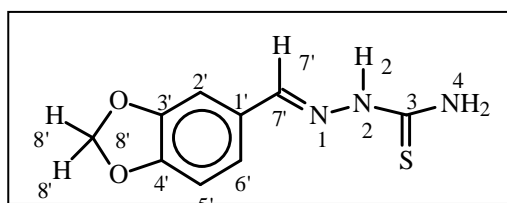
O procedimento sintético das tiossemicarbazonas foi repetido, para todas as tiossemicarbazonas produzidas, foi mantida as mesmas relações molares. Assim, genericamente, em balão de fundo redondo de 500 mL foi colocado 0,01 mol de 6-X-piperonal previamente triturado, ao qual se adicionou 30 mL de etanol absoluto 99% como solvente. O balão foi colocado em banho de óleo sobre uma chapa de aquecimento e agitação. Ao balão foi acoplada uma coluna de Vigreux para facilitar a condensação dos vapores do solvente, sendo a temperatura mantida a 40°C sob agitação. Quando todo o piperonal solubilizou foi acrescentado ao sistema, duas gotas de ácido sulfúrico concentrado, e a seguir, 0,01 mol (0,91 g) de tiossemicarbazida. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, e após 4 horas, a agitação e o aquecimento foram desligados e o sistema e deixado sobre a bancada para esfriar naturalmente. A seguir, o conteúdo do balão foi colocado em Becker com água gelada e imediatamente ocorrendo a formação de flocos que foram filtrados a vácuo, e deixados secar sobre a bancada, no próprio funil de Büchner. No dia seguinte, o material foi raspado do papel de filtro e colocado em Becker com etanol absoluto e carvão ativo, para a operação de recristalização. A solução alcoólica resultante foi transferida para uma placa de Petri e deixada sobre a bancada para evaporar o solvente e formar os cristais, naturalmente.

#### 4.4.2 Caracterização estrutural das tiossemicarbazonas do núcleo 3,4-metilenodioxila

##### 1,3-benzo-dioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona M16 (Anexos 8.50, 8.51, 8.52 e 8.53)

**Rendimento:** 97,9%

**Ponto de fusão:** 189°C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3464 e 3323 ( $\nu$  NH assimétrica e simétrica); 3134 ( $\nu$  NH<sub>hidrazínico</sub>); 2966 ( $\nu$  C-H<sub>2</sub> metilenodioxílico), 1541 ( $\nu$  C=N); 1253 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila), 1082 ( $\nu$  C=S) e 1035 ( $\nu$  C-O).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ )

11,34 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 8,13 e 8,05 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 7,97 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 7,64 (dd, 1H  $J^3_{\text{H}_6'-\text{H}_5'} = 8,5$  Hz e  $J^4_{\text{H}_6'-\text{H}_2'} = 1,8$  Hz, H<sub>6'</sub>); 7,05 (d, 1H  $J^4_{\text{H}_2'-\text{H}_6'} = 1,8$  Hz, H<sub>2'</sub>); 6,90 (d, 1H  $J^3_{\text{H}_5'-\text{H}_6'} = 8,5$  Hz, H<sub>5'</sub>) e 6,05 (s, 2H, H<sub>8'</sub>)

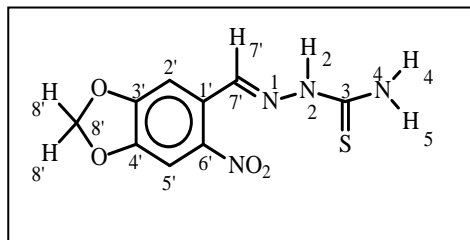
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

178,33 (C3); 149,64 (C3'); 148,40 (C4'); 142,76 (C7'); 129,35 (C1'); 124,46 (C6'); 108,83 (C2'); 105,86 (C5'); 101,90 (C8').

**6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona M17 (Anexos 8.54, 8.55, 8.56 e 8.57)**

**Rendimento:** 95,7%

**Ponto de fusão:** 255 °C



**Infravermelho** (KBr; ν cm<sup>-1</sup>)

3417 e 3234 (ν NH<sub>2</sub>); 3155 (ν NH<sub>hidrazínico</sub>); 2952(ν C-H<sub>2</sub> metilenodioxílico),1541 (ν C=N); 1519 (ν assimétrico N=O), 1325 (ν simétrico N=O); 1267 (ν C-O-C metilenodioxila); 1099 (ν C-O), 1033 (ν C=S) e 885 (ν ArC-N).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,65 (s, 1H, H2); 8,46 (s, 1H, H7'); 8,32 e 8,24 (sbl, 2H, H4 e H5); 7,99 (s, 1H, H5'); 7,54 (s, 1H, H2') e 6,25 (s, 2H, H8')

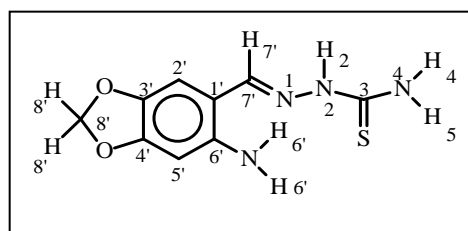
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

178,77 (C3); 152,22 (C3'); 148,99 (C6'); 143,57 (C4') 137,87 (C7'); 126,14 (C1'); 106,31 (C2'); 105,14 (C5'); 104,09 (C8').

**6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído-tiossemicarbazona M18 (Anexos 8.58, 8.59, 8.60 e 8.61)**

**Rendimento:** 92,8%

**Ponto de fusão:** 251 °C



**Infravermelho** (KBr; ν cm<sup>-1</sup>)

3402 e 3275 (ν NH<sub>2</sub>); 3167 (ν NH<sub>hidrazínico</sub>); 2966 (ν C-H<sub>2</sub> metilenodioxílico); 1541 (ν C=N); 1259 (ν C-O-C metilenodioxila);1076 (ν C=S), 1037(ν C-O) e 935 (ν ArC-N).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

10,94 (s, 1H, H2); 8,06 (s, 1H, H7'); 7,96 e 7,72 (sbl, 2H, H4 e H5); 6,68 (s, 1H, H2'); 6,38 (s, 1H, H5'); 6,25 (sbl, 2H amínicos, H6') 5,89 (s, 2H, H8')

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

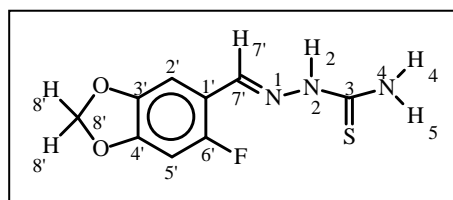
176,70 (C3); 150,17 (C3'); 147,53 (C7'); 145,39 (C4') 138,54 (C6'); 109,96 (C2'); 107,02 (C1'); 101,11 (C8') e 96,45 (C5').

### 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona M19 (Anexos 8.62, 8.63 e 8.64)

- Inédita

**Rendimento:** 95,2%

**Ponto de fusão:** 245°C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$  cm<sup>-1</sup>)

3417 e 3228 ( $\nu$  NH<sub>2</sub>); 3145 ( $\nu$  NH<sub>hidrazínico</sub>); 2977 ( $\nu$  C-H<sub>2</sub> metilenodioxílico); 1535 ( $\nu$  C=N); 1325 ( $\nu$  C-F), 1240 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila); 1097 ( $\nu$  C=S) e 1037 ( $\nu$  C-O).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,50 (s, 1H, H2); 8,09 (sbl, 1H, H4); 8,02 (s, 1H, H7'); 7,77 (d, 1H  $J^{H5'-H2'} = 1,5$  Hz, H5'); 7,59 (d, 1H  $J^{H2'-H5'} = 1,5$  Hz, H2'); 7,36 (sbl, 1H, H5); 6,12 (s, 2H, H8').

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

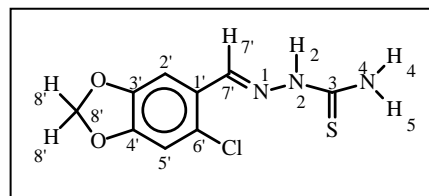
177,71 (C3); 160,05-156,53 (C6'); 150,17 (C4'); 147,78 (C3'); 142,29 (C7'); 122,21 (C1'); 116,33 (C2'); 102,10 (C8') e 97,10 (C5').

### 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona M20 (Anexos 8.65, 8.66 e 8.67) -

Inédita

**Rendimento:** 98,2%

**Ponto de fusão:** 248 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$  cm<sup>-1</sup>)

3477 e 3332 ( $\nu$  NH<sub>2</sub>); 3143 ( $\nu$  NH<sub>hidrazínico</sub>); 2970 ( $\nu$  C-H<sub>2</sub> metilenodioxílico); 1539 ( $\nu$  C=N); 1245 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila); 1089 ( $\nu$  C=S), 1033 ( $\nu$  C-O) e 667 ( $\nu$  ArC-Cl)

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,51 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 8,37 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 8,23 e 8,19 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 7,92 (s, 1H, H<sub>5'</sub>); 7,10 (s, 1H, H<sub>2'</sub>); 6,12 (s, 2H, H<sub>8'</sub>).

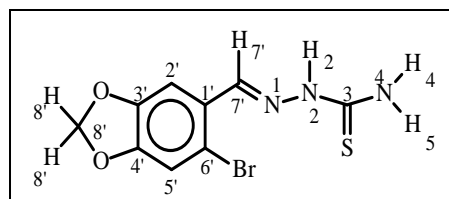
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

178,38 (C<sub>3</sub>); 149,96 (C<sub>4'</sub>); 147,75 (C<sub>3'</sub>); 138,72 (C<sub>7'</sub>); 126,90 (C<sub>1'</sub>); 125,73 (C<sub>6'</sub>); 109,92 (C<sub>2'</sub>); 106,28 (C<sub>5'</sub>) e 102,88 (C<sub>8'</sub>).

### 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona M21 (Anexos 8.68, 8.69, 8.70 e 8.71)

**Rendimento:** 96,5%

**Ponto de fusão:** 252 °C



**Infravermelho** (KBr; v cm<sup>-1</sup>)

3477 e 3323 (v NH assimétrica e simétrica); 3151 (v NH<sub>hidrazínico</sub>); 2972 (v C-H<sub>2</sub> metilenodioxílico); 1535 (v C=N); 1245 (v C-O-C metilenodioxila); 1093 (v C=S); 1038 (v C-O) e 568 (v Ar-C-Br).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,53 (s, 1H, H<sub>2'</sub>); 8,34 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 8,21 e 8,18 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 7,91 (s, 1H, H<sub>5'</sub>); 7,22 (s, 1H, H<sub>2'</sub>); 6,12 (s, 2H, H<sub>8'</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

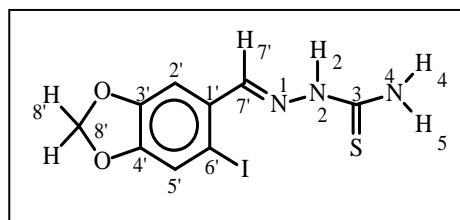
178,47 (C<sub>3</sub>); 150,15 (C<sub>4'</sub>); 148,26 (C<sub>3'</sub>); 141,20 (C<sub>7'</sub>); 127,22 (C<sub>1'</sub>); 116,11 (C<sub>6'</sub>); 112,75 (C<sub>2'</sub>); 106,92 (C<sub>5'</sub>) e 102,85 (C<sub>8'</sub>).

### 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona M22 (Anexos 8.72, 8.73 e 8.74) -

**Inédita**

**Rendimento:** 98,5 %

**Ponto de fusão:** 253 °C



**Infravermelho** (KBr; v cm<sup>-1</sup>)

3417 e 3228 (v NH<sub>2</sub>); 3145 (v NH<sub>hidrazínico</sub>); 2977 (v C-H<sub>2</sub> metilenodioxílico); 1535 (v C=N); 1240 (v C-O-C metilenodioxila); 1097 (v C=S); 1037 (v C-O) e 561 (v Ar-C-I).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,56 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 8,25 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 8,19 e 8,15 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 7,87 (s, 1H, H<sub>5'</sub>); 7,39 (s, 1H, H<sub>2'</sub>); 6,10 (s, 2H, H<sub>8'</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

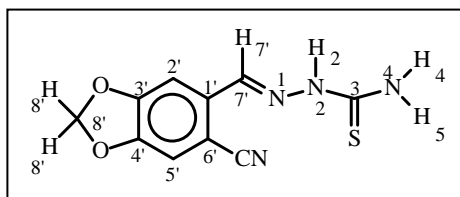
178,31 (C<sub>3</sub>); 150,24 (C<sub>4'</sub>); 148,97 (C<sub>3'</sub>); 145,76 (C<sub>7'</sub>); 130,10 (C<sub>1'</sub>); 118,56 (C<sub>6'</sub>); 107,18 (C<sub>2'</sub>); 102,62 (C<sub>8'</sub>); 90,70 (C<sub>5'</sub>)

### 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído-tiossemicarbazona M23 (Anexos 8.75, 8.76 e 8.77)

- Inédita

**Rendimento:** 93,4%

**Ponto de fusão:** 250 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$  cm<sup>-1</sup>)

3477 e 3332 (NH<sub>assimétrica e simétrica</sub>); 3143 ( $\nu$  NH<sub>hidrazínico</sub>); 2976 ( $\nu$  C-H<sub>2</sub> metilenodioxílico); 2230 ( $\nu$  ArC≡N); 1539 ( $\nu$  C=N); 1240 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila), 1089 ( $\nu$  C=S) e 1033 ( $\nu$  C-O).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,45 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 8,35 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 8,21 e 8,17 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 7,52 (s, 1H, H<sub>5'</sub>); 7,19 (s, 1H, H<sub>2'</sub>); 6,12 (s, 2H, H<sub>8'</sub>).

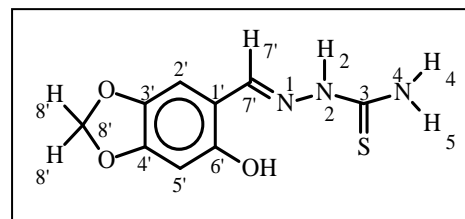
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

178,89 (C<sub>3</sub>); 154,64 (C<sub>3'</sub>); 151,68 (C<sub>4'</sub>); 144,54 (C<sub>7'</sub>); 131,85 (C<sub>1'</sub>); 116,12 (C<sub>9'</sub>); 114,55 (C<sub>5'</sub>); 111,45 (C<sub>2'</sub>); 108,54 (C<sub>6'</sub>) e 101,62 (C<sub>8'</sub>)

### 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído-tiossemicarbazona M24 (Anexos 8.78, 8.79, 8.80 e 8.81) - Inédita

**Rendimento:** 93%

**Ponto de fusão:** 242 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$  cm<sup>-1</sup>)

3446 e 3330 ( $\nu$  NH<sub>2</sub>); 3134 ( $\nu$  NH<sub>hidrazínico</sub>); 2947 ( $\nu$  C-H<sub>2</sub> metilenodioxílico); 2966 ( $\nu$  O-H); 1541 ( $\nu$  C=N); 1269 ( $\nu$  C-O-C); 1064 ( $\nu$  C=S) e 1043 ( $\nu$  C-O).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,25 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 9,84 (sbl, 1H<sub>hidroxílico</sub>, H<sub>6'</sub>); 8,27 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 7,98 e 7,95 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 7,55 (s, 1H, H<sub>2'</sub>); 6,45 (s, 1H, H<sub>5'</sub>); 5,96 (s, 2H, H<sub>8'</sub>).

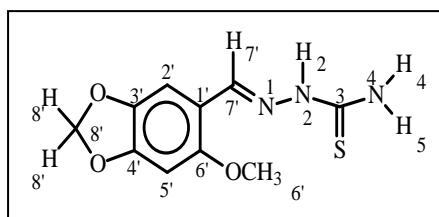
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

177,73 (C<sub>3</sub>); 153,22 (C<sub>6'</sub>); 150,08 (C<sub>4'</sub>); 141,30 (C<sub>3'</sub>); 139,91 (C<sub>7'</sub>); 113,28 (C<sub>1'</sub>); 104,95 (C<sub>2'</sub>); 101,65 (C<sub>8'</sub>) e 98,04 (C<sub>5'</sub>).

### 6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído-tiossemicarbazona M25 (Anexos 8.82, 8.83 e 8.84)

**Rendimento:** 91,0%

**Ponto de fusão:** 261 °C



**Infravermelho** (KBr; v cm<sup>-1</sup>)

3446 e 3359 (v NH<sub>2</sub>); 3174 (v NH<sub>hidrazínico</sub>); 2976 (v C-H<sub>2 metilenodioxílico</sub>); 2929 (v C-H alifático); 1539 (v C=N); 1244 (v ArC-O); 1082 (v C=S) e 1031 (v C-O).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,45 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 8,22 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 8,05 e 7,98 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 7,65 (s, 1H, H<sub>5'</sub>); 6,45 (s, 1H, H<sub>2'</sub>); 5,99 (s, 2H, H<sub>8'</sub>); 3,86 (s, 3H metílicos, H<sub>9'</sub>).

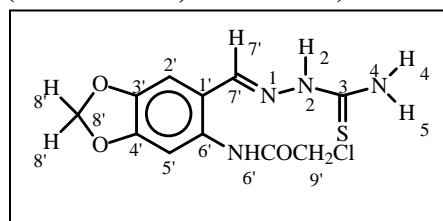
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

177,51 (C<sub>3</sub>); 151,78 (C<sub>6'</sub>); 149,07 (C<sub>4'</sub>); 144,79 (C<sub>3'</sub>); 141,20 (C<sub>7'</sub>); 119,09 (C<sub>1'</sub>); 110,21 (C<sub>2'</sub>); 102,85 (C<sub>8'</sub>); 92,87 (C<sub>5'</sub>); 55,89 (C<sub>9'</sub>).

### 6-cloroaminoacetilpiperonaltiossemicarbazona M26 (Anexos 8.85, 8.86 e 8.87) - Inédita

**Rendimento:** 95,3%

**Ponto de fusão:** 287 °C



**Infravermelho** (KBr; v cm<sup>-1</sup>)

3473 e 3352 (v NH<sub>2</sub>); 3168 (v NH<sub>hidrazínico</sub>); 2974 (v C-H<sub>2 metilenodioxílico</sub>); 1652 (v C=O); 1506 (v C=N); 1238 (v C-O-C); 1099 (v C=S); 1035 (v C-O) e 667 (v C-Cl).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,60 (sbl, 1H, H6'); 10,66 (s, 1H, H2); 8,38 (s, 1H, H5'); 8,12 (s, 1H, H7'); 7,99 e 7,72 (sbl, 2H, H4 e H5); 6,60 (s, 1H, H2'); 5,92 (s, 2H, H8') e 4,21 (s, 2H, H9').

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

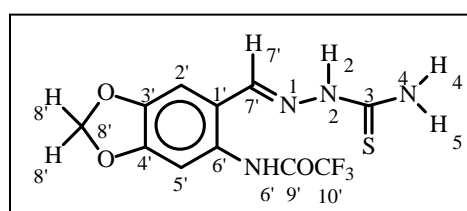
178,06 (C3); 165,89 (C9'); 151,87 (C4'); 148,89 (C7') 145,81 (C3'); 132,76 (C6'); 125,77 (C1'); 113,06 (C2'); 102,54 (C8'); 91,60 (C5') e 43,10 (C10')

#### **6-trifluoraminocetilpiperonaltiossemicarbazona M27 (Anexos 8.8, 8.89, 8.90 e 8.91) –**

**Inédita**

**Rendimento:** 94,0%

**Ponto de fusão:** 267 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$  cm<sup>-1</sup>)

3408 e 3321 ( $\nu$  NH<sub>2</sub>); 3165 ( $\nu$  NH<sub>hidrazínico</sub>); 2995 ( $\nu$  C-H<sub>2</sub> metilenodioxiflico); 1635 ( $\nu$  C=O); 1541 ( $\nu$  C=N); 1224 ( $\nu$  ArC-O); 1284 ( $\nu$  C-F), 1078 ( $\nu$  C=S) e 1033 ( $\nu$  C-O).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,47 e 11,17 (d,1H, H6'), 10,95 (s,1H, H2); 8,06 (s, 1H, H7'); 7,84 e 6,93 (sbl, 2H, H4 e H5); 7,96 e 7,72 (d, 1H, H5'); 6,68 e 6,38 (d, 1H, H2') e 5,89 (s, 2H, H8');.

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

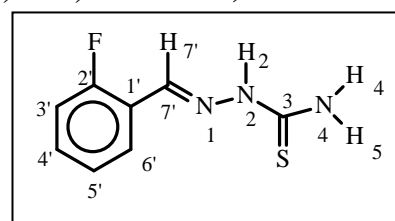
178,29 (C3); 156,94 (m, C9'); 150,15 (C4'); 147,53 (C7'); 145,39 (C3'); 138,52 (C6'); 128,90 (C1'); 109,96 (C2'); 107,90; 107,01; 105,35 e 102,64 (q, C10'); 101,11 (C8') e 96,43 (C5').

#### **4.4.3 Caracterização estrutural das Benzofluortiossemicarbazonas**

##### **2'-fluorbenzaldeídotiossemicarbazona M28 (Anexos 8.92, 8.93, 8.94 e 8.95)**

**Rendimento:** 96,0%

**Ponto de fusão:** 193 °C





**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3433 e 3253 ( $\nu$   $\text{NH}_2$ ); 3151 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 1521 ( $\nu$   $\text{C}=\text{N}$ ); 1286 ( $\nu$   $\text{ArC-F}$ ) e 1085 ( $\nu$   $\text{C}=\text{S}$ ).

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

11,58 (t, 1H, H<sub>2</sub>); 8,31 e 8,10 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 8,29 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 8,27; 8,26 e 8,23; 8,22 (dd, 1H, H<sub>6'</sub>) 8,25-8,24 (d, 1H, H<sub>4'</sub>); 7,44 (m, 1H, H<sub>3'</sub>) e 7,25 (m, 1H, H<sub>5'</sub>).

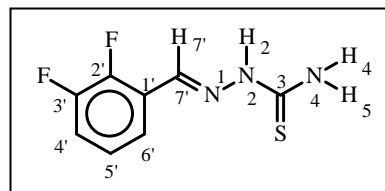
**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

178,71 (C<sub>3</sub>); 162,53 e 160,05 (d, C<sub>2'</sub>); 135,24 e 135,18 (d, C<sub>7'</sub>); 132,17 e 132,08 (d, C<sub>6'</sub>); 127,32 e 127,29 (d, C<sub>5'</sub>); 125,14 e 125,10 (d, C<sub>4'</sub>); 122,30 e 122,21 (d, C<sub>1'</sub>) e 116,33 e 116,11 (d, C<sub>3'</sub>).

**2',3'-difluorbenzaldeídotiossemicarbazona M29 (Anexos 8.96, 8.97 e 8.98) - Inédita**

**Rendimento:** 94,0 %

**Ponto de fusão:** 210 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3433 e 3253 ( $\nu$   $\text{NH}_2$ ); 3151 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 1519 ( $\nu$   $\text{C}=\text{N}$ ); 1288 ( $\nu$   $\text{ArC-F}$ ) e 1053 ( $\nu$   $\text{C}=\text{S}$ ).

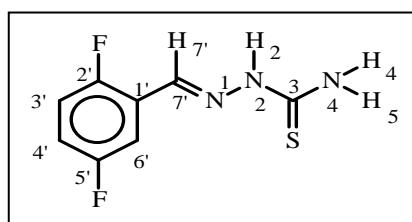
**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

11,66 (t, 1H, H<sub>2</sub>); 8,38 e 8,15 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 8,26 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 8,05 (t, 1H, H<sub>6'</sub>); 7,46 e 7,40 (q, 1H, H<sub>5'</sub>) e 7,24-7,19 (q, 1H, H<sub>4'</sub>).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

178,78 (C<sub>3</sub>); 151,54 e 151,42; 149,10 e 148,98 (dd, C<sub>2'</sub>); 150,36 e 150,23; 147,86 e 147,73 (dd, C<sub>3'</sub>); 133,98 (C<sub>7'</sub>); 125,31 e 125,20 (q, C<sub>6'</sub>); 124,68-124,62 (d, C<sub>1'</sub>); 122,42 (C<sub>5'</sub>) e 118,64 e 118,47 (d, C<sub>4'</sub>)

**2',5'-difluorbenzaldeídotiossemicarbazona M30 (8.99, 8.100 e 8.101) - Inédita**



**Rendimento:** 92%

**Ponto de fusão:** 222 °C

**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3427 e 3255 ( $\nu$   $\text{NH}_2$ ); 3155 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 1521 ( $\nu$   $\text{C}=\text{N}$ ); 1272 ( $\nu$   $\text{ArC-F}$ ) e 1082 ( $\nu$   $\text{C}=\text{S}$ ).

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

11,64 (s, 1H, H2); 8,36 e 8,31 (sbl, H4 e H5); 8,21 (s, 1H, H7'); 8,17 (m, 1H, H6'); 7,30 (m, 1H, H3'); 7,28 (m, 1H, H4').

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

178,85 (C3); 160,20 e 157,84 (d, C2'); 158,67 e 156,21 (d, C5'); 133,88 (C7'); 118,68 e 118,59 (d, C4'); 118,43 e 118-34 (d, C1'); 118,12 e 117,79 (d, C6') e 113,03 e 112,78 (d, C6')

**2',6'-difluorbenzaldeídotiossemicarbazona M31 (Anexos 8.102, 8.103, 8.104 e 8.105) –**

**Inédita**

**Rendimento:** 92,7%

**Ponto de fusão:** 209 °C

**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3422 e 3244 ( $\nu$   $\text{NH}_2$ ); 3145 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 1541 ( $\nu$   $\text{C}=\text{N}$ ); 1290 ( $\nu$   $\text{ArC-F}$ ) e 1072 ( $\nu$   $\text{C}=\text{S}$ ).

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

11,69 (s, 1H, H2); 8,43 e 7,36 (sbl, 2H, H4 e H5); 8,21 (t, 1H, H7'); 7,44 (m, 1H, H4'); 7,16 (m, 2H, H3' e H5').

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

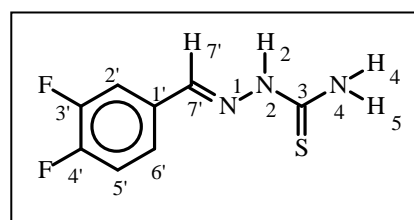
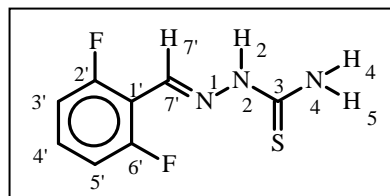
178,76 (C3); 162,07 e 159,54 (d, C2' e C6'); 133,18 (C7'); 132,06 (t, C4'); 112,85 e 112,61 (d, C3' e C5'); e 111,77 (t, C1').

**3',4'-difluorbenzaldeídotiossemicarbazona M32 (Anexos 8.106, 8.107, 8.108 e 8.109) -**

**Inédita**

**Rendimento:** 95,1%

**Ponto de fusão:** 198 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3421 e 3390 ( $\nu$   $\text{NH}_2$ ); 3159 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 1508 ( $\nu$   $\text{C}=\text{N}$ ); 1280 ( $\nu$   $\text{ArC-F}$ ) e 1093 ( $\nu$   $\text{C}=\text{S}$ ).

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

11,53 (s, 1H, H2); 8,27 e 8,21 (sbl, 2H, H4 e H5); 8,12 (m, 1H, H6'); 7,99 (s, 1H, H7'); 7,55 (m, 1H, H2'); 7,47 (m, 1H, H5')

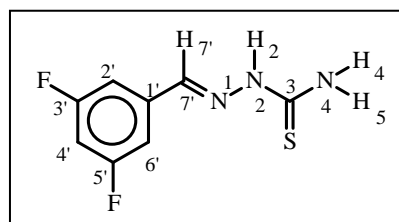
**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

178,71 (C3); 151,88 e 151,68; 149,54 e 149,41 (dd, C4'); 151,55 e 149,53; 149,23 e 149,11 (dd, C3'); 140,21 (C7'); 132,73 e 132,67 (d, C1'); 125,63 (C6'); 118,20 e 118,02 (d, C2') e 115,57 e 115,39 (d, C5').

### **3',5'-difluorbenzaldeídotiossemicarbazona M33 (8.110, 8.111, 8.112 e 8.113) - Inédita**

**Rendimento:** 91,6%

**Ponto de fusão:** 205 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3446 e 3394 ( $\nu$   $\text{NH}_2$ ); 3159 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 1508 ( $\nu$   $\text{C}=\text{N}$ ); 1315 ( $\nu$   $\text{ArC-F}$ ) e 1097 ( $\nu$   $\text{C}=\text{S}$ ).

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

11,63 (s, 1H, H2); 8,33 e 8,28 (sbl, 2H, H4 e H5); 7,99 (s, 1H, H7') 7,62 (m, 2H, H6' e H2'); 7,22 (m, 1H, H4').

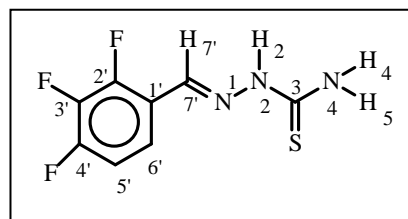
**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

178,89 (C3); 164,37 e 161,93; 164,23 e 161,80 (dd, C3' e C5'); 139,85 (C7'); 138,67 (t, C1'); 110,72 e 110,52; 110,65 e 110,46 (dd, C2' e C6') e 105,15 (t, C4').

### **2',3',4'-trifluorbenzaldeídotiossemicarbazona M34 (8.114, 8.115 e 8.116) - Inédita**

**Rendimento:** 96,2%

**Ponto de fusão:** 216 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3408 e 3255 ( $\nu$   $\text{NH}_2$ ); 3163 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 1506 ( $\nu$   $\text{C}=\text{N}$ ); 1311 ( $\nu$   $\text{ArC-F}$ ) e 1070 ( $\nu$   $\text{C}=\text{S}$ ).

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

11,64 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 8,36 e 8,10 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 8,18 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 8,12 (m, 1H, H<sub>6'</sub>); 7,36 (m, 1H, H<sub>5'</sub>).

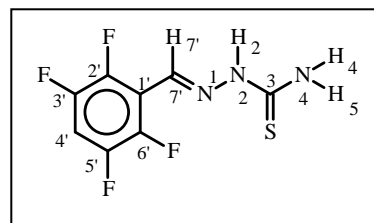
**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

178,76 (C<sub>3</sub>); 152,61 e 151,17 (d, C<sub>4'</sub>); 150,02 e 148,51 (d, C<sub>2'</sub>); 140,66 e 138,20 (d, C<sub>3'</sub>); 133,19 (C<sub>7'</sub>); 121,80 (C<sub>6'</sub>); 120,62 e 120,59 (d, C<sub>1'</sub>) e 113,70 e 113,52 (d, C<sub>5'</sub>).

**2', 3', 5', 6'-tetrafluorbenzaldeídotiossemicarbazona M35 (8.117, 8.118 e 8.119) - Inédita**

**Rendimento:** 93,2 %

**Ponto de fusão:** 227 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3410 e 3238 ( $\nu$   $\text{NH}_2$ ); 3140 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 1523 ( $\nu$   $\text{C}=\text{N}$ ); 1296 ( $\nu$   $\text{ArC-F}$ ) e 1076 ( $\nu$   $\text{C}=\text{S}$ ).

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

11,83 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 8,54 e 7,42 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 8,16 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 7,89 (m, 1H, H<sub>4'</sub>).

**RMN DEPT Q** (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

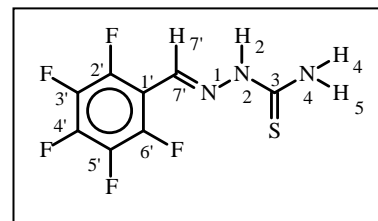
178,94 (C<sub>3</sub>); 147,34 e 147,10; 144,91 e 144,62 (dd, C<sub>2'</sub> e C<sub>6'</sub>); 145,76 e 145,62; 143,25 e 143,10 (dd, C<sub>3'</sub> e C<sub>5'</sub>); 131,52 (C<sub>7'</sub>); 114,70 (t, C<sub>1'</sub>); 107,56 (t, C<sub>4'</sub>).

**2', 3', 4', 5', 6'-pentafluorbenzaldeídotiossemicarbazona M36 (8.120, 8.121 e 8.122) -**

**Inédita**

**Rendimento:** 94,6 %

**Ponto de fusão:** 245 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3417 e 3244 ( $\nu$   $\text{NH}_2$ ); 3143 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 1517 ( $\nu$   $\text{C}=\text{N}$ ); 1292 ( $\nu$   $\text{ArC-F}$ ) e 1072 ( $\nu$   $\text{C}=\text{S}$ ).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,79 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 8,52 e 7,43 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 8,12 (s, 1H, H<sub>7</sub>').

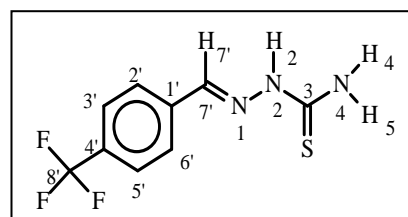
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

178,98 (C<sub>3</sub>); 146,31 e 142,33 (d, C<sub>2</sub>' e C<sub>6</sub>'); 139,81 e 136,55 (d, C<sub>3</sub>' e C<sub>5</sub>'); 143,79 e 138,85 (d, C<sub>4</sub>'); 130,80 (C<sub>7</sub>'); 110,15 e 109,99 (d, C<sub>1</sub>' )

#### **4-(trifluorometil)-benzaldeidotiossemicarbazona M37 (8.123 e 8.124)**

**Rendimento:** 95,3 %

**Ponto de fusão:** 170 °C



**Infravermelho** (KBr; v cm<sup>-1</sup>)

3417 e 3244 (v NH<sub>2</sub>); 3143 (v NH<sub>hidrazínico</sub>); 1517 (v C=N); 1 (v ArC-F) e 1089 (v C=S).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

11,67 (s, 1H, H<sub>2</sub>); 8,44 e 8,36 (sbl, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub>); 8,18 (s, 1H, H<sub>7</sub>'); 8,08 e 7,95 (d, C<sub>2</sub>' e C<sub>6</sub>') e 7,86 e 7,79 (C<sub>3</sub>' e C<sub>5</sub>')

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

178,80 (C<sub>3</sub>); 140,78 (C<sub>7</sub>'); 138,74 (C<sub>1</sub>'); 129,98 e 128,66 (d, C<sub>8</sub>'); 129,66 (C<sub>4</sub>'); 128,30 (d, C<sub>2</sub>' e C<sub>6</sub>'); 125,91 e 125,88 (d, C<sub>3</sub>' e C<sub>5</sub>').

#### **4.5 – Síntese de Carbimidotioatos**

Em balão de fundo redondo de 100 mL, foram colocados 20 mL de acetona seca, aos quais foram adicionados, genericamente, 0,002 mol de 6-X-piperonal tiossemicarbazona. O sistema foi colocado em banho de óleo sobre uma chapa de aquecimento e agitação, sendo acoplada uma coluna de resfriamento em água de 50 cm, sustentada por garras e haste de ferro. Mantido o equilíbrio na temperatura a 60 °C adicionou-se ao balão 0,002 mol do haleto correspondente (iodeto de metila ou brometo de alila). As reações foram acompanhadas por CCD

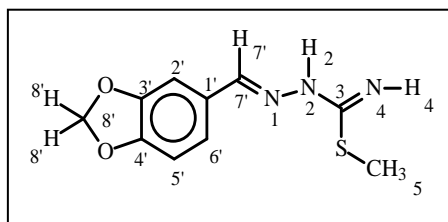
e após duas horas foi encerrada. O material particulado, produto da reação, foi filtrado e lavado com acetona a frio, foi deixado sobre a bancada para secar. Os carbimidotoatos **M-42** e **M-43**, foram sintetizados a partir da reação descrita acima na qual a relação molar foi de 1:2 entre 6-X-piperona tiossemicarbazona e iodeto de metila.

#### 4.5.1 - Caracterização estrutural dos carbimidotoatos

##### metil-(2E)-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinocarbimidotoato **M38** (8.125, 8.126 e 8.127) - Inédito

**Rendimento:** 84,0 %

**Ponto de fusão:** 193°C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3494 ( $\nu$  NH); 3116 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 2983 ( $\nu$   $\text{C-H}_2$  metilenodioxílico); 2908 ( $\nu$   $\text{CH}_3$  def axial); 1500 ( $\nu$   $\text{C=N}$ ); 1454 ( $\nu$   $\text{CH}_3$  def ang simétrica); 1265 ( $\nu$   $\text{C-O-C}$  metilenodioxila) e 665 ( $\nu$   $\text{C-S}$ ).

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

9,57 (sbl, 1H, H2); 8,26 (s, 1H, H7''); 7,78 (s, 1H, H2''); 7,34 (d, 1H,  $J_{\text{H6}^{\prime}-\text{H5}^{\prime}}=7,5$  Hz, H6''); 7,06 (d, 1H,  $J_{\text{H5}^{\prime}-\text{H6}^{\prime}} = 7,5$  Hz, H5''); 6,15 (s, 2H metilênicos, H8''); 3,48 (sbl, 1H, H4); 2,76 (s, 3H, H5).

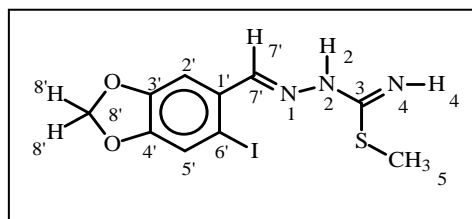
**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

166,11 (C3); 151,77 (C7''); 150,90 (C3''); 148,66 (C4''); 127,49 (C1''); 126,54 (C6''); 108,87 (C2''); 106,37 (C5''); 102,39 (C8'') e 14,04 (C5).

##### metil-(2E)-2-[(6'-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno]-N-metilhidrazinacarbimidotoato **M39** (8.128, 8.129 e 8.130) - Inédito

**Rendimento:** 89,0%

**Ponto de fusão:** 259 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3419 ( $\nu$  NH); 3145 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 3022 ( $\nu$   $\text{CH}_3$  def axial); 2976 ( $\nu$   $\text{C-H}_2$  metilenodioxílico); 1506 ( $\nu$   $\text{C=N}$ ); 1471 ( $\nu$   $\text{CH}_3$  def ang simétrica); 1244 ( $\nu$   $\text{C-O-C}$  metilenodioxila); 667 ( $\nu$   $\text{C-S}$ ) e 590 ( $\nu$   $\text{C-I}$ ).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

9,60 (sbl, 1H, H<sub>2</sub>); 8,54 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 7,98 (s, 1H, H<sub>5'</sub>); 7,53 (s, 1H, H<sub>2'</sub>); 6,18 (s, 2H, H<sub>8'</sub>); 3,39 (sbl, 1H, H<sub>4</sub>); 2,76 (s, 3H, H<sub>5</sub>).

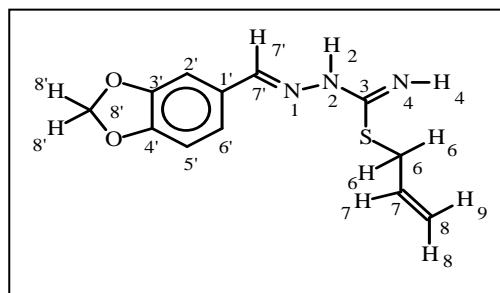
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

166,41 (C<sub>3</sub>); 155,07 (C<sub>7'</sub>); 151,76 (C<sub>4'</sub>); 149,14 (C<sub>3'</sub>); 128,39 (C<sub>1'</sub>); 118,97 (C<sub>5'</sub>); 107,57 (C<sub>2'</sub>); 103,13 (C<sub>8'</sub>); 93,52 (C<sub>6'</sub>) e 13,89 (C<sub>5</sub>).

**alil-(2E)-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidotioato M40 (8.131, 8.132 e 8.133) - Inédito**

**Rendimento:** 82,2 %

**Ponto de fusão:** 186 °C



**Infravermelho** (KBr; v cm<sup>-1</sup>)

3271 (v NH); 3084 (v NH<sub>hidrazínico</sub>); 2970 (v C-H<sub>2 metilenodioxílico</sub>); 1500 (v C=N); 1456 (v CH<sub>2 alílico</sub>); 1263 (v C-O-C<sub>metilenodioxila</sub>) e 676 (v C-S).

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

9,74 (sbl, 1H, H<sub>2</sub>); 8,36 (s, 1H, H<sub>7'</sub>); 7,76 (s, 1H, H<sub>2'</sub>); 7,33 (d, 1H, d, 1H,  $J^3_{H6'-H5'}=7,5$  Hz, H<sub>6'</sub>); 7,04 (d, 1H, d, 1H,  $J^3_{H5'-H6'}=7,5$  Hz, H<sub>5'</sub>); 6,14 (s, 2H, H<sub>8'</sub>); 5,91 (m, 1H, H<sub>7</sub>); 5,42 (d, 1H,  $J^3_{H9-H7} = 17$  Hz, H<sub>9</sub>); 5,26 (d, 1H,  $J^3_{H8-H7} = 10$  Hz, H<sub>8</sub>); 4,10 (d, 2H,  $J^3_{H6-H7} = 7$  Hz, H<sub>6</sub>) e 3,42 (sbl, 1H, H<sub>4</sub>).

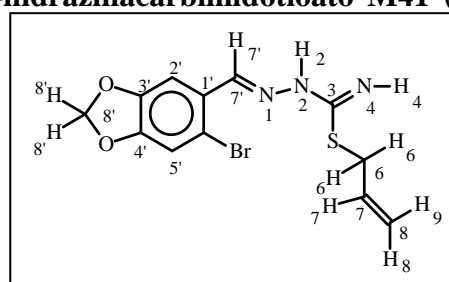
**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ)

163,23 (C<sub>3</sub>); 152,44 (C<sub>7'</sub>); 150,99 (C<sub>3'</sub>); 148,67 (C<sub>4'</sub>); 132,18 (C<sub>7</sub>); 127,45 (C<sub>1'</sub>); 126,64 (C<sub>5'</sub>); 120,44 (C<sub>8</sub>); 108,86 (C<sub>2'</sub>); 106,43 (C<sub>5'</sub>); 102,38 (C<sub>8'</sub>); 34,17 (C<sub>6</sub>).

**alil-(2E)-2-(6'-bromo-1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidotioato M41 (8.134, 8.135 e 8.136) - Inédito**

**Rendimento:** 84,1 %

**Ponto de fusão:** 258 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3145 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 3022 ( $\nu$   $\text{CH}_3$  def axial); 2966 ( $\nu$   $\text{C-H}_2$  metilenodioxílico); 1506 ( $\nu$   $\text{C=N}$ ) e 1475 ( $\nu$   $\text{CH}_2$  alílico); 1251 ( $\nu$   $\text{C-O-C}$  metilenodioxila); 669 ( $\nu$   $\text{C-S}$ ) e 582 ( $\nu$   $\text{C-Br}$ ).

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

9,78 (sbl, 1H, H2); 8,66 (s, 1H, H7'); 7,99 (s, 1H, H2'); 7,38 (d, 1H, d, 1H,  $J^3_{\text{H6'-H5'}} = 7,5$  Hz, H6'); 6,20 (s, 2H, H8'); 5,92 (m, 1H, H7); 5,42 (d, 1H  $J^3_{\text{H9-H7}} = 17$  Hz, H9); 5,27 (d, 1H  $J^3_{\text{H8-H7}} = 10$  Hz, H8).

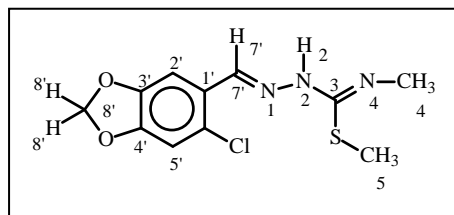
**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

163,73 (C3); 151,83 (C4'); 151,09 (C7'); 148,46 (C3'); 132,13 (C7); 125,45 (C1'); 120,49 (C8); 118,32 (C6'); 113,20 (C5'); 107,28 (C2'); 103,40 (C8'); 34,04 (C6).

**metil-(2E)-2[(6-cloro-1,3-benzodioxol-5-il)metileno]-N-metilhidrazinacarbimidotoato M42 (8.137, 8.138 e 8.139) - Inédito**

**Rendimento:** 90,3%

**Ponto de fusão:** 261 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3483 ( $\nu$   $\text{NH}$ ); 3143 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 3016 ( $\nu$   $\text{CH}_3$  def axial); 2973 ( $\nu$   $\text{C-H}_2$  metilenodioxílico); 1506 ( $\nu$   $\text{C=N}$ ) e 1475 ( $\nu$   $\text{CH}_3$  def ang simétrica); 1251 ( $\nu$   $\text{C-O-C}$  metilenodioxila); 796 ( $\nu$   $\text{C-Cl}$ ) e 669 ( $\nu$   $\text{C-S}$ ).

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

9,63 (sbl, 1H, H2); 8,65 (s, 1H, H7'); 7,98 (s, 1H, H2'); 7,25 (s, 1H, H6'); 6,20 (s, 2H, H8); 2,76 (s, 3H, H5) e 2,10 (s, 3H, H4).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

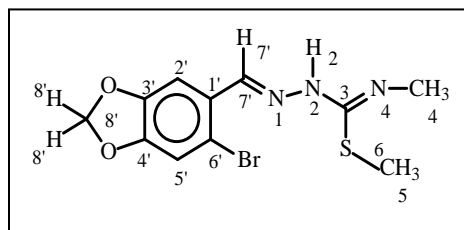
166,52 (C3); 151,60 (C4'); 148,07 (C7'); 147,97 (C3'); 128,84 (C1'); 124,04 (C6'); 110,33 (C2'); 106,62 (C5'); 103,44 (C8'); 31,21 (C4); 13,88 (C5).



**metil-(2E)-2[(6-bromo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazinacarbimidotoato M43 (8.140, 8.141 e 8.142) - Inédito**

**Rendimento:** 87,3 %

**Ponto de fusão:** 259 °C



**Infravermelho** (KBr;  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ )

3477 ( $\nu$  NH); 3153 ( $\nu$   $\text{NH}_{\text{hidrazínico}}$ ); 3016 ( $\nu$   $\text{CH}_3$  def axial); 2974 ( $\nu$  C-H<sub>2</sub> metilenodioxílico); 1506 ( $\nu$  C=N) e 1473 ( $\nu$   $\text{CH}_3$  def ang simétrica), 1245 ( $\nu$  C-O-C metilenodioxila); 699 ( $\nu$  C-S) e 592 ( $\nu$  C-Br)

**RMN  $^1\text{H}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

9,48 (sbl, 1H, H2); 8,61 (s, 1H, H7'); 8,00 (s, 1H, H2); 7,36 (s, 1H, H5); 6,20 (s, 2H, H8); 2,74 (s, 3H, H5) e 2,10 (s, 3H, H4).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ )

166,34 (C3); 151,63 (C4'); 150,43 (C7'); 148,44 (C3'); 125,67 (C1'); 118,04 (C6'); 113,16 (C5'); 107,27 (C2'); 103,35 (C8'); 31,21 (C4); 13,81 (C5).

#### 4.6 - Síntese dos derivados benzotriazocínicos

Em balão de fundo redondo de 100 mL, foram colocados 200 mg (0,00082 mol) de 6-cloroacetilaminopiperonal (**M14**) em 20 mL de álcool etílico, ao qual foi acrescentado uma gota de ácido clorídrico 1,0 M e a seguir (0,00082 mol) de fenil hidrazina correspondente (4-metoxi e 2-nitro), com controle do pH inicial que não deve ser inferior a 6,0. Assim, sob intensa agitação magnética, foi acoplado ao balão uma coluna de refrigeração e o sistema foi mantido sob refluxo por quatro horas. O término da reação foi monitorado por CCD. Após filtração a vácuo o material foi recristalizado em benzeno fornecendo o produto desejado. Outra metodologia foi empregada, na qual não havia a adição de ácido, os rendimentos foram menores e a metodologia foi descartada.

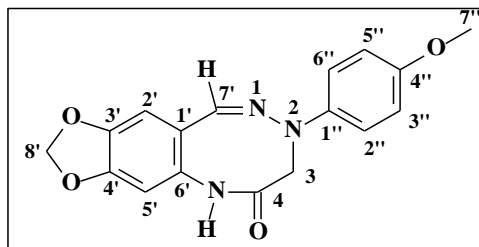
##### 4.6.1 - Caracterização estrutural dos derivados benzotriazocínicos

**8-(4-metoxifenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]benzotriazocin-6-(5*H*)ona M44 (8.143 e 8.144)**

**- Inédito**

**Rendimento:** 81,4 %

**Ponto de fusão:** 286°C



**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ)

10,23 (s, 1H, H1); 7,85 (s, 1H, H7'); 7,32 (s, 1H, H5'); 7,32 (s, 2H, H2'' e H6''); 7,10 (2H, H3'' e H5''); 7,10 (s, 1H, H2''); 6,19 (s, 2H, H8'); 3,82 (s, 3H, H7'') e 3,90 (s, 2H, H3)

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ)

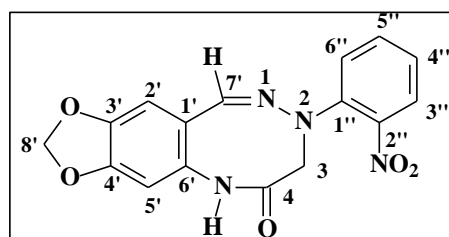
165,15 (C9<sub>amídico</sub>); 154,64 (C4''); 148,06 (C4'); 143,93 (C3'); 139,97 (C7'); 137,72 (C6'); 131,56 (C1''); 115,65 (C1'); 115,42 (2C, C3'' e C5''); 114,71 (2C, C2'' e C6''); 109,10 (C2'); 102,64 (C5'); 101,72 (C8'); 55,69 (C3) e 52,15 (C7'').

**8-(2-nitrofenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]benzotriazocin-6-(5*H*)ona M45 (8.145 e 8.146) -**

**Inédito**

**Rendimento:** 66,0 %

**Ponto de fusão:** 298 °C



**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ)

10,88 (s, 1H, H1); 7,94 (s, 1H, H7'); 7,81 (m, 1H, H3''); 7,57 (m, 1H, H5''); 7,49 (m, 1H, H6''); 7,47 (m, 1H, H4''); 7,34 (s, 1H, H2''); 7,23 (s, 1H, 5'); 6,10 (s, 2H, H8') e 3,71 (s, 2H, H3).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ)

165,91 (C9<sub>amídico</sub>); 149,27 (C4'); 148,27 (C3'); 146,65 (C2''); 145,63 (C1''), 138,13 (C7'); 130,88 (C5''); 130,41 (C6'); 121,92 (C1'); 118,75 (C4''); 113,35 (C3''); 106,14 (C2'); 105,93 (C6''); 105,88 (C5'); 102,29 (C8') e 53,53 (C3).

#### **4.7 - Modelagem Molecular**

Os cálculos teóricos foram realizados através do método semi-empírico, utilizando o hamiltoniano AM1 do programa SPARTAN-PRO (ASHASSI-SORKHABI *et al.*, 2005). Foram calculadas as energias do orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO) e de orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO), além das verificações das concentrações eletrônicas e dos potenciais eletrostáticos nos átomos de HOMO.

#### **4.8 - Ensaios Biológicos**

##### **4.8.1 - Avaliação da citotoxicidade das tiossemicarbazonas sintetizadas frente a células J774**

Para a avaliação da citotoxicidade frente a linhagens celular J774-A1, as células foram cultivadas em garrafas de cultura de 25 cm<sup>2</sup> contendo 5 mL de meio RPMI, suplementado com 5% de SBF, mantidas em estufa umidificada a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub> e repicadas semanalmente. Após a remoção do meio de cultura, as monocamadas celulares foram removidas da garrafa com o auxílio de *scraper*, e transferidas para tubo Falcon de 15 mL. A seguir, as células foram suspensas em 1 mL de meio RPMI e a concentração ajustada para 4x10<sup>6</sup> células/mL e aplicadas (100 µL/poço) a placa de 96 orifícios, contendo compostos nas concentrações em ordem decrescente: 100, 50, 25 e 12,5 mM, diluídas em 100 µL. Como controle, as monocamadas foram incubadas com na presença de 1% de DMSO e 10µg/mL de Benzonidazol. Após a incubação, o meio de cultura foi retirado e adicionado 20 µL de uma solução de MTT a 5 mg/ml e a placa novamente incubada a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub> por 4 horas. A seguir, o sobrenadante foi retirado, sendo adicionados 100 µL de DMSO e, os cristais de formazan foram solubilizados. A absorbância foi determinada em espectrofotômetro a 540 nm. Os resultados foram expressos em IC<sub>50</sub>. Os ensaios foram realizados em triplicata e repetidos 2 vezes com o objetivo de avaliar a manutenção da atividade dos produtos naturais e a reprodutibilidade dos resultados.

##### **4.8.2 – Avaliação *in vitro* da atividade tripanocida das tiossemicarbazonas contra formas epimastigotas de *T. cruzi***

Os ensaios de avaliação tripanocida sobre *T. cruzi* foram realizados no Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária do Instituto de Veterinária da UFRRJ, em colaboração com a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Débora Decotte e ensaios de citotoxicidade e tripanocidas, no Laboratório de Bioquímica de tripanossomatídeos da FIOCRUZ em colaboração com a Dr<sup>a</sup> Renata Soares.

No laboratório de Imunologia do Departamento Veterinária da UFRRJ as formas epimastigotas da cepa Dm28c do *Trypanosoma cruzi* foram cultivadas, através de passagens sucessivas, em meio BHI suplementado com SBF a (10%), hemina, ácido fólico e, mantidas em estufa BOD a 27 °C. Já no Laboratório de Bioquímica de tripanossomatídeos da FIOCRUZ, o presente estudo utilizou formas epimastigotas de cultura da cepa Y de *Trypanosoma cruzi* (SILVA & NUSSENZWEIG, 1953). Em ambos os laboratórios as formas epimastigotas foram obtidos na fase exponencial de crescimento em meio LIT foram lavados 2 vezes em PBS estéril pH 7,2 a 1500 g por 10 minutos a 4 °C, e o número de parasitos foi determinado em câmara de Neubauer. A seguir, os parasitos foram suspensos em meio LIT (infusão de fígado e triptose) suplementado com 10% de soro fetal bovino, 100 U de penicilina e 100 mg/mL estreptomicina, e a concentração ajustada para  $4 \times 10^6$  epimastigotas/mL, sendo mantidos a 4°C até o uso. Já as formas tripomastigotas metacíclicas do clone Dm28c do *T. cruzi*, e quando diferenciados o serão, *in vitro* em meio TAU-P, segundo o protocolo descrito por Contreras *et al.*, 1985.

Os compostos foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 100 µM, e mantidos a 4 °C até o uso. O Benzonidazol (Rochagan) foi utilizado como controle positivo dos ensaios de atividade tripanocida.

Para a avaliação da atividade tripanocida contra formas epimastigotas dos compostos, os ensaios foram realizados em triplicatas em placas de culturas de 96 poços Nunc<sup>®</sup>, contendo compostos nas concentrações em ordem decrescente: 100, 50, 25 e 12,5µM, diluídas em 100 µL de meio LIT com 10% SBF, acrescido de 100 µL da suspensão de epimastigotas ( $4 \times 10^5$ ). Como controle, os parasitos foram incubados na ausência de compostos, na presença de 1% de DMSO e na presença de 182 µM de Benzonidazol (referente ao IC<sub>50</sub>/24h). As amostras foram homogeneizadas e incubadas à 26 °C em estufa BOD por 24 horas. Em seguida, as placas foram avaliadas visualmente em microscópio invertido para verificação da motilidade dos parasitos e, a atividade determinada por contagem em câmara de Neubauer e posterior avaliação estatística. Os resultados foram expressos em IC<sub>50</sub>. Os ensaios foram repetidos 2 vezes com o objetivo de avaliar a manutenção da atividade dos produtos naturais e a reprodutibilidade dos resultados.

Os valores de CI<sub>50</sub>/24h (concentrações inibitória de 50%) foram estimados a partir das médias de 3 experimentos por interpolação gráfica utilizando o programa Graph-Prism. Os

resultados foram expressos como média das  $CI_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) de pelo menos 2 experimentos independentes, acompanhada de seus respectivos limites de confiança em nível de 95%.

#### 4.8.3 – Avaliação *in vitro* das tiossemicarbazonas frente à *L. amazonensis*

##### 4.8.3.1 - Cultivo de parasitos

Promastigotas de *Leishmania amazonensis* da cepa MHOM/BR/77/LTB0016 foram cultivadas em estufa BOD a 27°C e em meio Schneider, aditivado com 10% de soro, 100  $\mu\text{g/mL}$  de estreptomicina e 100 U/mL de penicilina. Os parasitos foram mantidos assim até a décima passagem, subseqüentemente, novas culturas foram obtidas desses parasitos infectados (CUNHA-JÚNIOR, *et al.*, 2011).

Os ensaios de avaliação sobre *L. amazonensis*, foram realizados no Laboratório de Bioquímica de Tripanossomatídeos, da FIOCRUZ, em colaboração com a Dra. Leonor Laura Pinto Leon, Dr. Eduardo Caio Torres dos Santos e Dra. Marilene Marcuzzo do Canto Cavalheiro. Os ensaios de avaliação sobre macrófagos foram feitos em colaboração com o Dra. Renata Soares, também da FIOCRUZ, de acordo com os procedimentos relatados a seguir:

À fase estacionária de formas promastigotas de *L. amazonensis* foram adicionados aos macrófagos, para infectá-los, por 3 horas numa proporção entre parasito/macrófago de 3:1. Após três lavagens sucessivas os macrófagos serão tratados com compostos nas concentrações (0,1; 1,0; 10; e 100  $\mu\text{g/mL}$ ), por 72 horas. Em seguida, as lâminas serão coradas e o número de amastigotas será determinado. Os resultados serão expressos através de um índice de infecção que será igual ao percentual de células, infectadas, vezes o número de amastigotas dividido pelo número total de macrófagos.

Parasitos nas formas promastigotas de *L. amazonensis*, obtidas durante a fase logarítmica de crescimento, foram utilizadas para a determinação da atividade antitripanossômica, que foi realizada por medidas espectrométricas.

Já a avaliação da toxicidade dos compostos sintetizados sobre promastigotas de *L. amazonensis* empregou o princípio que é fundamentado na habilidade dos parasitos em reduzir o sal de tetrazólio, em cristais os quais podem ser solubilizados em DMSO, gerando uma coloração que pode ser mensurada por espectrofotometria. Como controle negativo do método foram utilizados parasitos na ausência dos compostos. Para a avaliação da toxicidade por XTT os compostos e as drogas de referência foram diluídos em  $\alpha$ -MEM completo, nas concentrações de (0,1; 1,0; 10; e 100  $\mu\text{g/mL}$ ). As diluições das drogas foram então adicionadas em placas de 96 poços em um volume final de 50  $\mu\text{L}$  por poço.

A cultura de promastigotas foi centrifugada, ressuspensa em  $\alpha$ -MEM completo, quantificada em câmara de Neubauer, sendo o volume de células ajustado para  $5 \times 10^5$  promastigotas por poço, também em volume final de 50  $\mu$ L. Esta concentração de promastigotas foi posteriormente adicionada aos poços contendo os compostos diluídos, totalizando um volume final de 100  $\mu$ L por poço. As placas foram então incubadas, em estufa a 26 °C, durante 48 e 72 horas, na presença dos compostos, das drogas de referência e na ausência de qualquer composto. Como controle.

Assim, após o período de incubação de promastigotas, com as drogas, foi adicionado o reagente XTT em cada poço. A seguir, as placas foram reincubadas por 4 horas, em estufa a 37 °C, para que o XTT atue e, como os parasitos não são células aderentes, após a incubação com XTT, as placas foram centrifugadas para que os parasitos formem um “pallet” no fundo dos poços e assim o sobrenadante possa ser completamente, removido, sem que ocorra a remoção dos parasitos em suspensão. Após o sobrenadante ser desprezado, foram adicionados 100  $\mu$ L de DMSO, para solubilizar os cristais formados e as placas foram submetidas à leitura em espectrofotômetro.

#### **4.8.3.2 – Avaliação *in vitro* da atividade tripanocida das tiossemicarbazonas frente a formas promastigotas de *L. amazonensis*.**

Promastigotas de *L. amazonensis* ( $1 \times 10^6$ /ml), foram incubados com 10 novos compostos de Tiossemicarbazonas (0; 25; 50; 100 e 200  $\mu$ M) por 72 horas a 26 °C, em meio Schneider (Sigma, Sant Louis, USA) suplementado com 10% de soro fetal bovino. Estes ensaios foram realizados em triplicata em placas de 96 poços, fundo chato (Falcon Co, Franklin Lakes, EUA). A atividade leishmanicida foi avaliada, adicionando a cada poço 22  $\mu$ l de MTT 5mg/ml (Brometo de tiazolil azul tetrazólio, Sigma, Sant Louis, USA). Após 2h da adição do MTT, foram adicionados 80  $\mu$ l de DMSO por poço e realizada a leitura da densidade óptica no comprimento de onda de 570 nm em leitor de micro placa ( $\mu$ Quant Bio-Tek Instruments, Winooski). O cálculo do IC<sub>50</sub> (concentração que inibe 50% do crescimento) foi determinado em relação ao controle por regressão linear.

#### **4.9 - Determinação da atividade quelante**

Para obtenção dos espectros de Ultravioleta foram utilizadas soluções estoque de tiossemicarbazonas em DMSO (10 mM), de sulfato ferroso e cloreto de zinco, ambos em água (1,6 mM).

As melhores curvas foram obtidas na concentração de 30  $\mu\text{M}$  para as tiossemicarbazonas. Para analisar a interação das tiossemicarbazonas com o metal, utilizou-se solução de íons  $\text{Fe}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$  na concentração de 3,75  $\mu\text{M}$ .

Para avaliar o efeito quelante frente ao  $\text{Fe}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$  foram utilizadas soluções em água destilada (5,0 mL) contendo alíquotas das soluções-estoque de tiossemicarbazonas ( $10 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  em DMSO) necessárias para obter a concentração  $30 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ . A cada solução foi adicionada solução de  $\text{FeSO}_4$  ou  $\text{ZnCl}_2$  ( $16 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ) em água destilada tendo uma concentração final de  $3,75 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ . As determinações espectrofotométricas foram obtidas em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu Mini UV-Vis 1240) com as soluções contidas em cubeta de quartzo (1,7 mL).

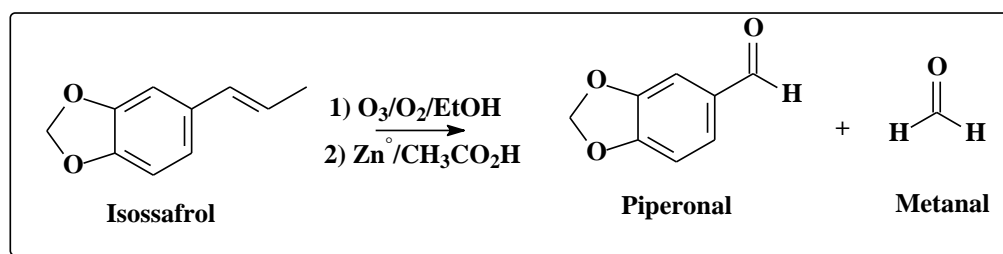
Os espectros obtidos foram submetidos ao programa Origin 8.0, que foi utilizado para gerar os espectros e sobrepor as curvas dos experimentos.

## **5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Neste trabalho foram sintetizados 45 compostos, sendo quatorze aldeídos e três alcoóis derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila, vinte e dois compostos pertencentes à classe das tiossemicarbazonas sendo quinze inéditas **M19, M20, M22, M23, M24, M26, M27, M29, M30, M31, M32, M33, M34, M35 e M3**; seis pertencentes à classe dos carbimidotioatos, cinco inéditos **M39, M40, M41, M42, M43** e dois pertencentes à classe dos benzotriazocínicos, também inéditos na literatura **M44 e M45**. As tiossemicarbazonas derivadas do núcleo metilenodioxila visaram à avaliação da atividade antitripanossômica. Todos os compostos obtidos foram caracterizados por ponto de fusão, análise dos espectros na região do Infravermelho, e também, através da análise de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ . Dez tiossemicarbazonas foram avaliadas em ensaios antitripanossômicos *in vitro* com *T. cruzi* e *L. amazonensis*. As mesmas tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila foram avaliadas para determinar o potencial quelante frente a  $\text{Fe}^{++}$  e  $\text{Zn}^{++}$ . Além disso, seis das doze tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila tiveram suas moléculas modeladas para observação das características eletrônicas sobre os átomos de nitrogênio e enxofre, conforme a variação de substituintes na posição seis do anel 3,4-metilenodioxila.

### 5.1 Síntese dos aldeídos e alcoóis derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila

A síntese das tiossemicarbazonas foi realizada em seis etapas, tendo como produto de partida o piperonal (3,4-metilenodioxibenzaldeído) obtido facilmente do safrol, principal componente químico do óleo de sassafrás (*Ocotea pretiosa*), matéria prima nacional, de fácil obtenção (BARREIRO & FRAGA, 1999). A obtenção do 3,4-metilenodioxibenzaldeído é realizada através da reação de ozonólise do isosafrol, descrita por Duarte *et al.*, 2007, em duas etapas com rendimento de 70%, conforme Figura 34.

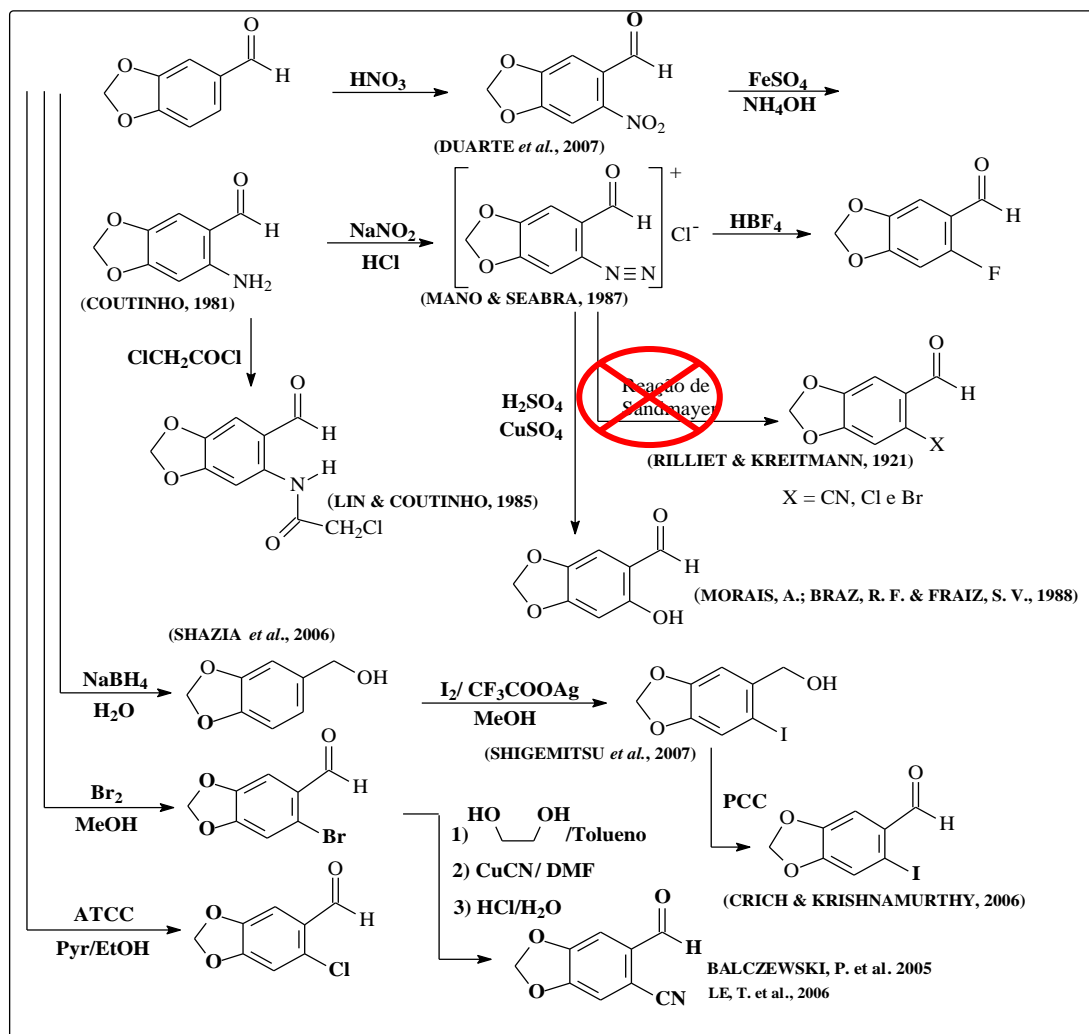


**Figura 34.** Obtenção do piperonal a partir do safrol (Duarte *et al.*, 2007).

A pesquisa bibliográfica revelou, para a tiossemicarbazona derivada do piperonal a ocorrência de trinta e sete referências. O derivado nitrado na posição seis apresenta registro, o derivado bromado apresenta registro e uma referência, enquanto o derivado clorado apresenta



apenas o registro. O Esquema 2 apresenta as reações envolvidas na síntese dos aldeídos e alcoóis preparados neste trabalho e utilizados como intermediários na preparação das tiossemicarbazonas.

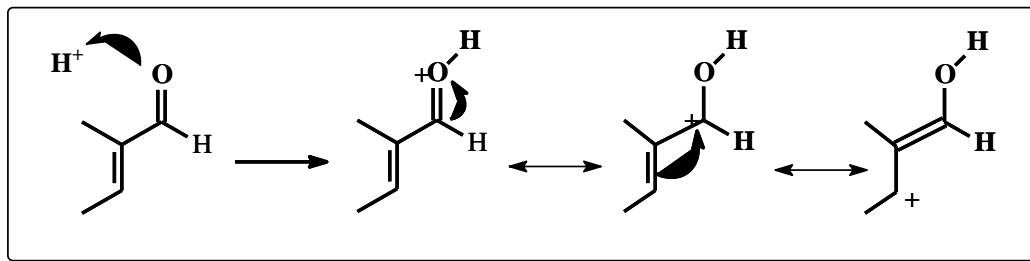


**Esquema 2** – Síntese de aldeídos e álcoois derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila

### 5.1.1 Síntese do 6-nitropiperonal (M02)

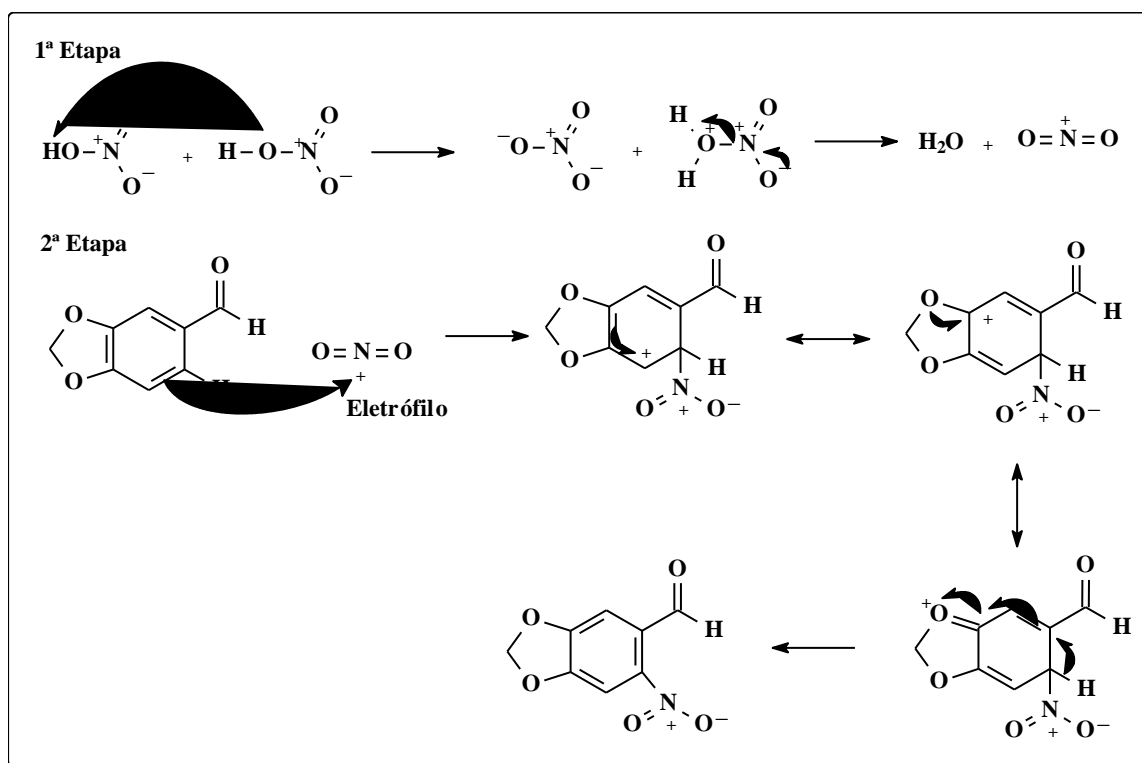
A primeira etapa do esquema sintético envolveu a nitração do piperonal na posição 6 fazendo-se reagir o 3,4-metilenodioxibenzaldeído com ácido nítrico concentrado em presença do ácido acético glacial, conforme descrito por Coutinho, 1981 (Materiais e Métodos, *Metodologia* 1). O método inicialmente foi descrito por Dallacher e Barnabel em 1967; a tentativa de obtenção do 6-nitropiperonal através desse método revelou-se ineficaz. Após várias tentativas o rendimento foi muito pequeno o que obrigou a mudança de rotina. O baixo rendimento para a obtenção do 6-nitropiperonal, por essa metodologia, pode ser explicado pela presença do ácido acético concentrado que concorre para a formação do íon nitrônio. Como a carbonila aldeídica

desativa o anel gerando uma carga parcial positiva sobre o carbono seis que não é suficientemente neutralizada pelo efeito indutivo do grupo metilendioxílico e, desta forma minimiza a ocorrência da reação de nitração (Figura 35).



**Figura 35.** Protonação do piperonal para obtenção do 6-nitropiperonal pela metodologia 1.

Uma nova metodologia foi utilizada, descrita por Duarte e colaboradores (2007), na qual não se utiliza ácido acético concentrado como catalisador, e apenas o ácido nítrico é empregado. O método foi alterado após a observação que o rendimento poderia ser maior se o controle cinético se fizesse depois do início da reação. Assim, neste trabalho o 6-nitropiperonal foi obtido com 75,84% de rendimento, Figura 36.



**Figura 36** – Proposta mecanística para a reação de nitração do piperonal (Duarte *et al*, 2007).

A segunda etapa consistiu na obtenção do 6-aminopiperonal partindo-se do 6-nitropiperonal. A literatura registra vários métodos para obter-se o 6-aminopiperonal, por exemplo, a redução catalítica do 6-nitropiperonal, utilizando-se hidrogênio com Pd/C como

catalisador, que não apresenta um bom rendimento quer seja pela mistura de produtos obtidos quer seja pela dificuldade em separar esses produtos.

### 5.1.2 Síntese do 6-aminopiperonal M03

A redução do 6-nitropiperonal foi conduzida por três metodologias. Inicialmente tentou-se o método clássico de redução do grupo nitro, empregando-se ácido clorídrico e zinco metálico em pequenos grânulos, o rendimento foi de 12%. O método foi descartado. Nova tentativa foi realizada com ácido clorídrico e estanho metálico em pó como agente redutor, neste caso o rendimento foi um pouco melhor, porém considerado ainda muito baixo, 15%.

Desta forma, foi empregado um terceiro método para realizar a redução do 6-nitropiperonal e obter-se o 6-aminopiperonal. Descrito, inicialmente por Bogert e Elder em 1929 este mesmo método foi empregado com sucesso por Lin & Coutinho em 1983. A reação de redução foi realizada utilizando-se de uma solução de sulfato ferroso amoniacal em meio de água-etanol. Segundo Allinger e colaboradores (1978), quando um nitro-composto é reduzido na ausência de ácido forte, podem-se isolar algumas vezes produtos intermediários, mas com frequência, estes produtos intermediários condensam-se para dar produtos de reações bimoleculares. Esta metodologia foi utilizada neste trabalho para a obtenção do 6-aminopiperonal com 65,40 % de rendimento, conforme Figura 37.

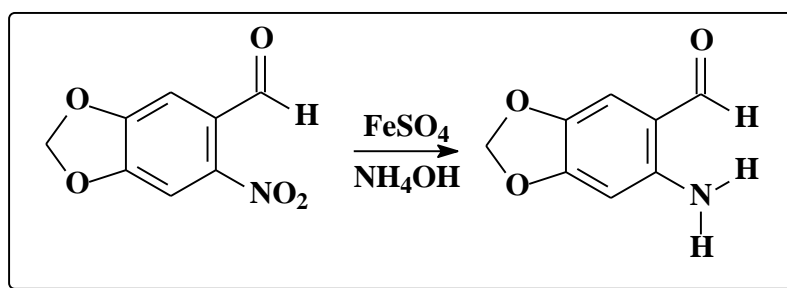


Figura 37. Obtenção do 6-amino piperonal (BOGERT & ELDER, 1929).

### 5.1.3 A reação de Sandmayer

Inicialmente, a rota proposta para obtenção dos aldeídos derivados do piperonal substituídos na posição-6 envolvia a metodologia clássica utilizando a reação de Sandmayer, especialmente para os substituintes Cl, Br, I, F, CN e OH. Nesta metodologia a obtenção do sal de diazônio na posição-6 é realizada a partir da reação de nitrosação do anel metilenodioxila com a amina aromática primária.

Segundo Solomons e Fryhle (2002), “A reação mais importante das aminas com ácido nitroso, até agora, é a reação de arilamina primária”. As aminas aromáticas primárias ao

reagirem com ácido nitroso produzem sais de diazônio, diferentemente das aminas alifáticas primárias que produzem álcoois e produtos intermediários. Os compostos de diazônio são muito solúveis em água e completamente insolúveis em éter e outros solventes orgânicos. Embora sais de arenodiazônio sejam instáveis, eles são muito mais estáveis do que sais de diazônio alifáticos, eles não se decompõem rapidamente em soluções quando a temperatura da mistura reacional é mantida abaixo de 5 °C.

Em relação à substituição do sal de diazônio, Solomons e Fryhle (2002), relatam que sais de arenodiazônio reagem com cloreto cuproso, brometo cuproso, e cianeto cuproso para fornecer produtos onde o grupo diazônio foi substituído por  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  e  $\text{CN}^-$ , respectivamente, que são as reações conhecidas, geralmente, como reações de Sandmeyer.

Sais de diazônio são intermediários altamente úteis na síntese de compostos aromáticos, pois o grupo diazônio pode ser substituído por quaisquer dos outros átomos ou grupos, incluindo F, Cl, Br, I, CN, OH e H. Sais de diazônio são quase sempre preparados por diazotação. A maioria desses sais é instável em temperaturas acima de 5 °C, e podem explodir quando secos. Felizmente, a maioria das reações de substituição de sais de diazônio não necessita de isolamento. Os mecanismos dessas reações de substituição não são ainda, completamente entendidos, as reações parecem ter natureza radical não iônica.

Assim, procedeu-se a obtenção do sal de diazônio, partindo do 6-aminopiperonal, onde se fez reagir o derivado aminado com nitrito de sódio e ácido clorídrico a baixa temperatura, segundo o método descrito por Mano & Seabra (1987), as estruturas de ressonância encontram-se na Figura 38.

As etapas posteriores envolveram reações a partir do sal de diazônio e objetivaram a obtenção dos derivados substituídos na posição-6 com cloro, bromo e cianeto, onde se empregou os respectivos sais de  $\text{Cu}^{+1}$  em reações de Sandmeyer, através do método descrito, inicialmente, por Rilliet & Kreitmann, 1921. No entanto, observou-se que as reações de Sandmeyer não apresentavam bons rendimentos. Tal fato pode ser justificado pela presença da carbonila aldeídica em *orto*, que desativa, fortemente, o anel aromático dificultando a reação, já que o par de elétrons, não ligantes, do nitrogênio assiste o carbocátion gerado Figura 38.

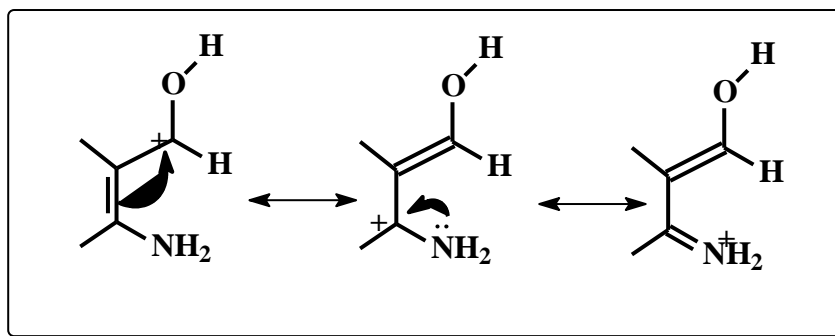


Figura 38 – Estruturas de ressonância do sal de diazônio no núcleo 3,4-metilenodioxila.

Os elétrons desemparelhados do nitrogênio não ficam suficientemente, disponibilizados para o ataque nucleofílico ao dioxodiazoxano formado inicialmente (Figura 39), o que não ocorre em sistemas aromáticos desativados para os quais melhor se aplica a reação de Sandmeyer (CAREY & SUNDEBERG, 2001) (Figura 40).

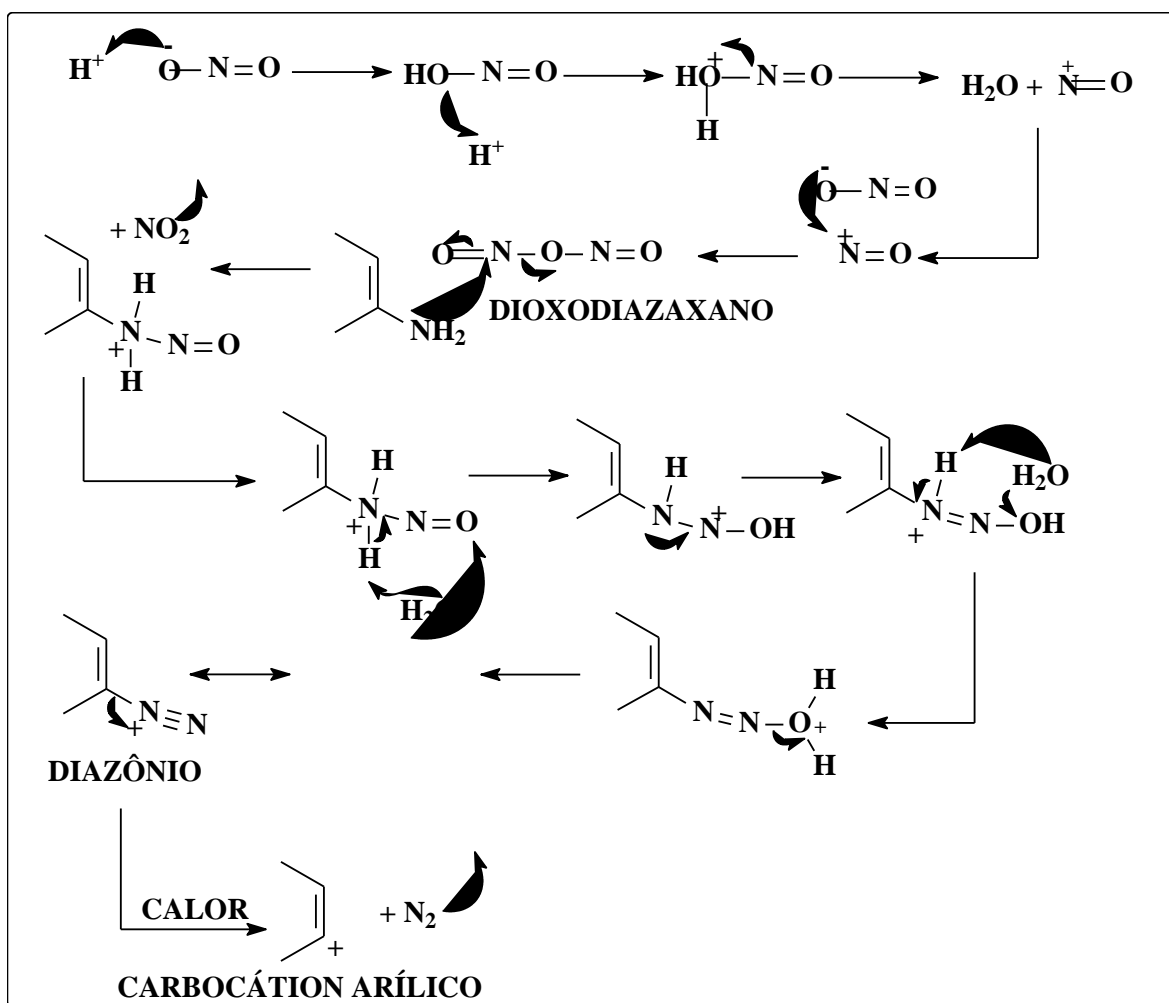


Figura 39 – Mecanismo proposto para a geração do carbocátion arílico.

Desta forma, após vários insucessos relativos às diversas tentativas de realizar a reação de Sandmeyer com  $I^-$ ,  $Cl^-$ ,  $CN^-$ , etc., que ora apresentavam com rendimentos inexpressivos ou a obtenção de misturas de compostos de difícil separação por cromatografia de coluna, resolveu-se alterar a rota sintética inicialmente proposta. Outras observações a serem destacadas incluem o fato do piperonal apresentar baixo ponto de fusão (37 °C) e, quando era realizado o aquecimento da solução de diazônio para liberação do nitrogênio gasoso, isto poderia levar a decomposição do piperonal ou a sua decomposição inviabilizando o método.

Apesar das dificuldades encontradas para a realização das reações de Sandmeyer, os derivados flúor e hidróxi-substituídos foram obtidos utilizando-se essa metodologia com as devidas adaptações.

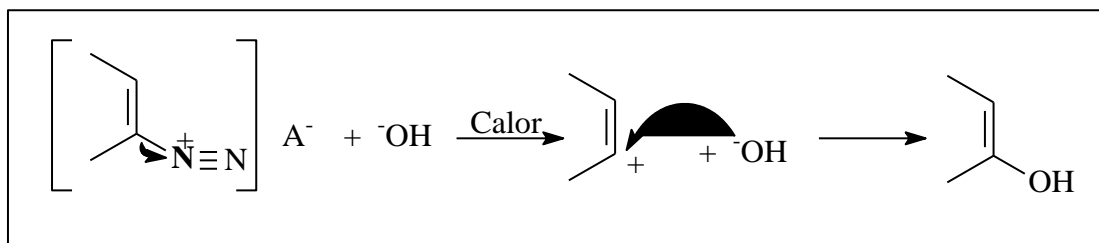
### **5.1.3.1 A reação de Sandmeyer empregada para a obtenção dos derivados 6-fluor e 6-hidroxi-piperonal**

Apesar dos insucessos iniciais no emprego da reação de Sandmeyer para a obtenção dos derivados substituídos na posição seis, pelos motivos já relatados, a literatura não forneceu outra metodologia para a obtenção dos compostos 6-fluor-substituído **M12** e 6-hidroxi-substituído **M04**. Assim, foram realizadas adaptações para aperfeiçoamento do método visando alcançar melhores rendimentos. Como já foi dito anteriormente, a literatura consagra a reação de Sandmeyer como um procedimento eficaz para a substituição do grupo diazônio, no anel aromático, por átomos ou outros grupos incluindo neste rol o flúor e a hidroxila. No entanto, no caso específico da reação com o núcleo 3,4-metilenodioxila, a desativação proporcionada pela carbonila aldeídica dificulta o processo.

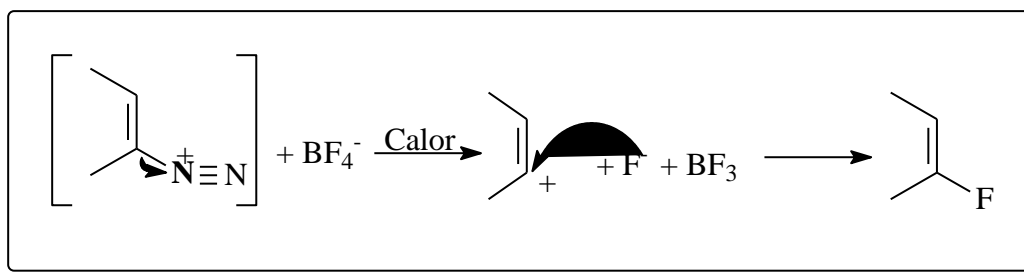
As adaptações realizadas envolveram a substituição do ácido clorídrico pelo ácido sulfúrico concentrado, conforme relatado na literatura para a reação de hidroxilação do piperonal (MORAES *et al.*, 1988; CAMPBELL K., HOPPER, P. & CAMPBELL B., 1951). O rendimento relatado foi de 60%. O procedimento foi repetido duas vezes, porém o rendimento não foi satisfatório ficando em 40%. Na terceira vez a adição da solução de nitrito de sódio foi realizada lentamente com severa observação da temperatura, que foi mantida abaixo de 5 °C por um banho de gelo, álcool etílico e cloreto de sódio, ao término da adição da solução o sistema sob agitação foi levado até a temperatura ambiente. A seguir a solução foi evaporada por oito horas. Obtendo-se o 6-hidroxi-piperonal com rendimento de 57,7%.

Já o 6-fluor-piperonal **M12**, foi obtido com o emprego de uma solução a 48% do ácido fluorobórico, usualmente, utilizado para as reações de fluoretação via Sandmeyer. Neste caso os mesmos cuidados tomados quando da reação de síntese do 6-hidroxi-piperonal **M04**, foram

repetidos e obteve-se o produto com um rendimento de 62,3%. O mecanismo ora proposto para essas reações envolve a formação de um carbocátion arílico (Figura 39), que é gerado pela saída do nitrogênio gasoso, quando do aquecimento do meio reacional contendo o sal de diazônio. O carbocátion, é então atacado, respectivamente, pelos ânions hidroxilíco e fluoreto, Figuras 40 e 41.



**Figura 40** – Proposta mecanística para a substituição nucleofílica da reação de hidroxilação.



**Figura 41** - Proposta mecanística para a substituição nucleofílica da reação de fluoretação.

### 5.1.4 Obtenção do 6-iodopiperonal via redução prévia da carbonila

O derivado 6-iodado foi sintetizado através do método descrito por Shigemitsu e colaboradores (2007) que apresenta uma etapa prévia da redução do grupo carbonila e, a partir do piperonal a reação com trifluoroacetato de prata e iodo, em metanol a temperatura ambiente. Posteriormente, o 6-iodopiperonal foi submetido à reação de oxidação segundo relato na literatura utilizando cloreto de cromo piridina (PCC) (CRICH & KRISHNAMURTHY, 2006).

#### 5.1.4.1 Redução do piperonal – Síntese do piperonal M05

O boridreto de sódio é amplamente utilizado para reações de redução de carbonilas de aldeídos e cetonas, no entanto ainda não há um mecanismo definido que seja amplamente aceito. Enquanto alguns autores levam em consideração a contribuição do cátion  $\text{Na}^+$  no mecanismo outros apenas relatam a participação do ânion boridreto  $\text{BH}_4^-$ . No entanto há evidências experimentais relatadas por Yadav e colaboradores em 2000, que demonstram a importância da participação do cátion de sódio. Suzuki e colaboradores, em 2009, demonstram através de

cálculos teóricos a participação do cátion sódio na coordenação dos estados de transição do complexo intermediário formado. Assim, entende-se que o mais recente conceito aceito envolve o  $\text{Na}^+$  que atua como um ácido de Lewis na complexação do oxigênio carbonílico, que faz o carbono carbonílico mais eletrofílico, de maneira que a transferência do hidreto seja facilitada. O alcóxido formado pela adição do hidreto transforma-se no mono-alcoxiboroidreto que pode ainda reduzir outras moléculas carboniladas. A seguir o tetra-alcoxiboroidreto é hidrolisado pela água, gerando o piperonal **M05**, Figura 42. Ao final da reação o meio é neutralizado com ácido clorídrico. Já a estereoquímica da reação de redução com boridreto de sódio é estudada por em 2010 por Alves e Victor, que utilizam a cânfora como substrato. Neste mesmo contexto a estereoquímica da reação foi estudada em 1979 e 1980, respectivamente, por Wigfield & Gowland e Glass, Deardoff & Hebegar.

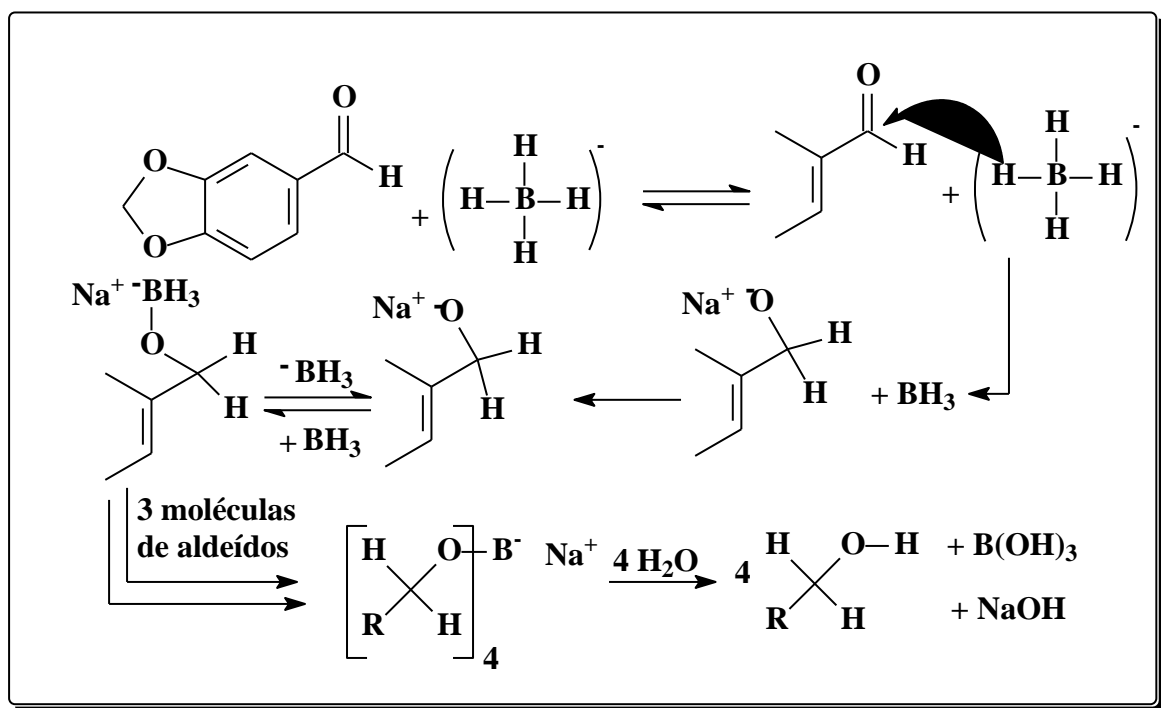


Figura 42 – Proposta mecanística para a redução do piperonal com boridreto de sódio.



### 5.1.4.2 Síntese do 6-iodopiperonol M07

A iodação do piperonol é relatada por Shigemitsu e colaboradores em 2006. No processo referenciado ocorre a reação com iodo molecular e trifluoroacetato de prata em uma solução de clorofórmio com um rendimento de 83%. Assim, partindo-se do piperonol decidiu-se pela reação que executada não se revelou eficaz. Nas duas tentativas o rendimento não passou de 55%, o que recomendou alterações na metodologia. Desta forma, a reação foi realizada pela seguinte metodologia adaptada. Inicialmente, o piperonol foi solubilizado em metanol e colocado em balão de reação com intensa agitação. Em um becker foi colocado uma solução ácido trifluoroacético e nitrato de prata e em um terceiro becker iodo foi solubilizado em metanol. O 6-iodopiperonol foi obtido depois de duas horas de reação e foi caracterizado estruturalmente, revelando alto grau de pureza e um rendimento de 97,4%. A proposta mecanística para a reação passa, de início, pela protonação do trifluoroacetato de prata formado na reação entre o ácido trifluoroacético e o nitrato de prata. Quando da mistura das soluções, sugere-se, que ocorra a reação para a formação do iodeto de prata, que é muito estável com  $K_{ps} = 8,3 \times 10^{-17}$ , e simultaneamente, o ataque dos elétrons  $\pi$  do anel metiledodioxílico do piperonol ao eletrofilo ( $I-\sigma^+$ ) com a formação do cátio arênio, numa reação de substituição eletrofílica clássica, com a formação do 6-iodopiperonol e a liberação de um próton, que é o catalisador da reação (Figura 43). O excesso de iodo, que não reagiu, é reduzido com o emprego de uma solução de tiosulfato de sódio, Figura 44.

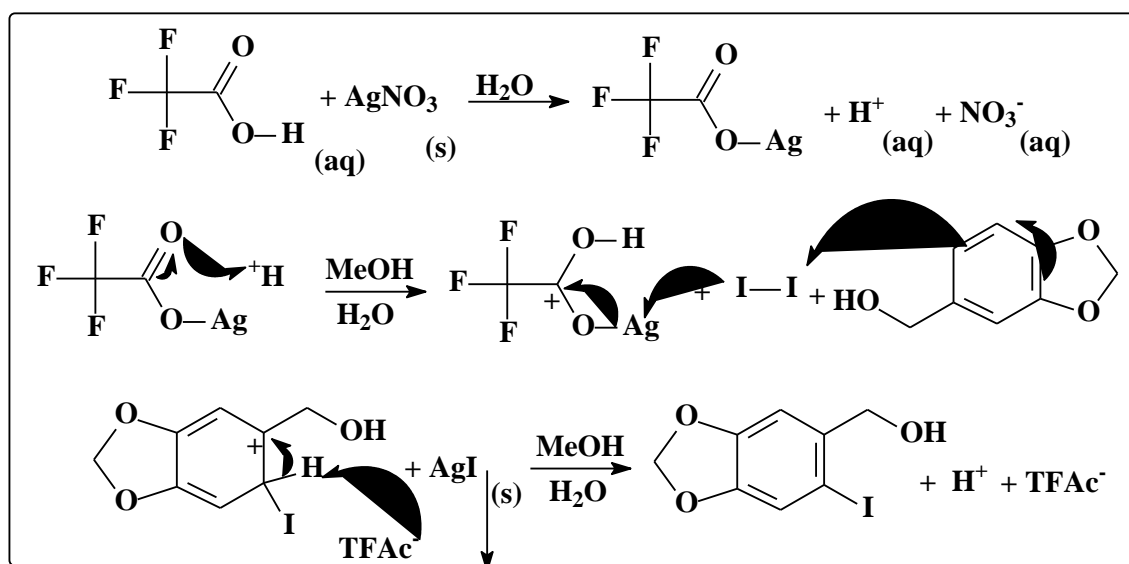


Figura 43 – Proposta mecanística para a síntese do 6-iodo piperonol M07.

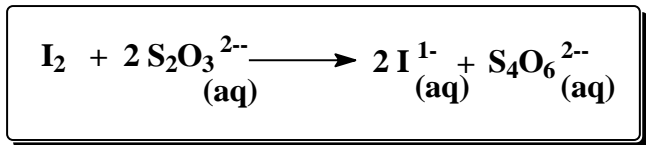


Figura 44 – Equação da reação de redução do iodo.

### 5.1.4.3 Síntese do 6-iodo piperonal M08

A oxidação do 6-iodopiperonal foi realizada conforme o método descrito na literatura que utiliza o cromato de cromo piridina (PCC) em meio de diclorometano como solvente (Figura 45) (CRICH & KRISHNAMURTHY, 2006). O PCC foi desenvolvido por James Corey e William Suggs em 1975. A preparação original de Corey envolve a adição de um equivalente de piridina a uma solução de um equivalente de trióxido de  $\text{Cr}^{+6}$  e ácido clorídrico concentrado.

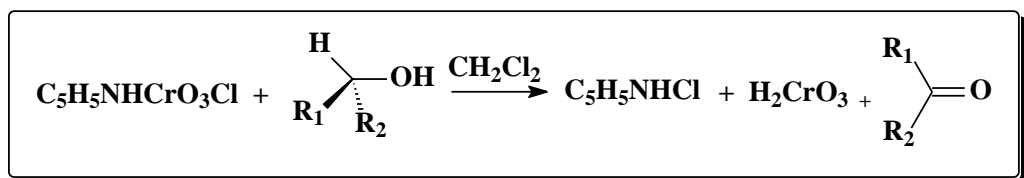


Figura 45 – Proposta genérica para a oxidação de um álcool com PCC.

Assim, a síntese do 6-iodopiperonal **M08** com PCC, representa um processo em duas etapas, onde na primeira ocorre a formação do éster do cromato quando da reação do álcool com cromo cloreto de piridina. Uma vez formado o éster, este sofre uma reação de eliminação para gerar a carbonila, no caso, do aldeído (Figura 46), enquanto o  $\text{Cr}^{+6}$  é reduzido para  $\text{Cr}^{+4}$  conforme exposto na Figura 45.

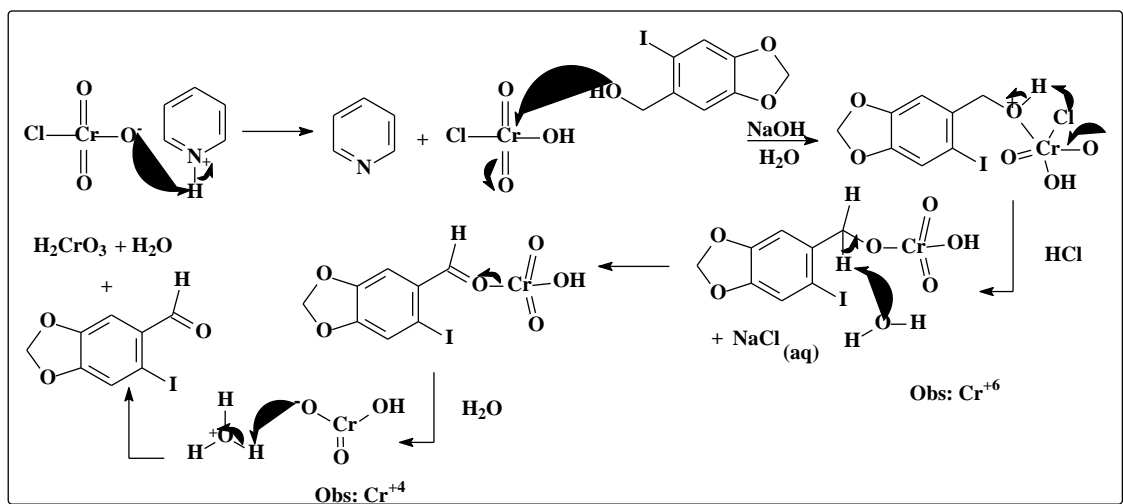


Figura 46 – Proposta mecanística para a síntese do 6-iodopiperonal **M08** empregando PCC.

### 5.1.5 Reações diretas do piperonal para obtenção dos 6-cloro M09 e 6-bromopiperonal M10

Os derivados, 6-cloro e 6-bromopiperonal foram obtidos através de reações diretas do piperonal com bromo e ácido tricloroisocianúrico.

#### 5.1.5.1 Cloração do piperonal via substituição eletrofílica aromática

O uso de ácido tricloroisocianúrico (TCCA) em reações de substituição eletrofílica aromática pode ser realizado em solventes orgânicos polares. Essas reações podem ser realizadas ainda em solução aquosa de ácido sulfúrico 50% v/v ou na presença de um ácido de Lewis, como cloreto férrico ou cloreto de alumínio. Sabe-se ainda, que grupos ativantes no anel aromático tornam as reações de substituição eletrofílica aromática mais rápidas.

Inicialmente, a reação de cloração foi realizada como descrito por Mendonça e Mattos (2008). Obteve-se, após 24 horas de reação de piperonal com ácido tricloroisocianúrico em meio de acetonitrila, 7,6 g de um sólido castanho claro amorfo cujo ponto de fusão não pode ser determinado, visto que depois de três dias de secagem o produto mantinha-se úmido.

Diante do insucesso inicial e considerando a afirmação contida no artigo de referência (CUNHA *et al.*, 2006) de que a reação não funciona quando o anel é substituído por grupo desativante resolveu-se alterar a metodologia. A cloração do piperonal foi realizada com TCCA empregando-se piridina como catalisador, base de Lewis, para abstrair o hidrogênio na posição 6 do piperonal, e como solvente etanol, Figura 47 (MENDONÇA & MATTOS, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2001). O produto foi obtido em 96,3% de rendimento.

O alto rendimento da cloração de piperonal com TCCA se por um lado chega a ser surpreendente levando-se em consideração a presença da carbonila aldeídica desativante do anel por efeito de ressonância, pode ser compreendido e a proposta mecanística leva em consideração a presença do grupo metileno oxilado que ativa fortemente o anel por efeito indutivo. Além do fato da presença da carbonila em *orto* tornar o H-6 um hidrogênio ácido e, assim, poder ser facilmente abstraído pela piridina gerando o carbânion aromático. O que difere do mecanismo clássico de substituição eletrofílica em aromáticos, que passa pelo ataque de um eletrófilo ao sistema  $\pi$  do anel, o que conduz a geração de um carbocátion não aromático ou como é conhecido um “íon arênio”.

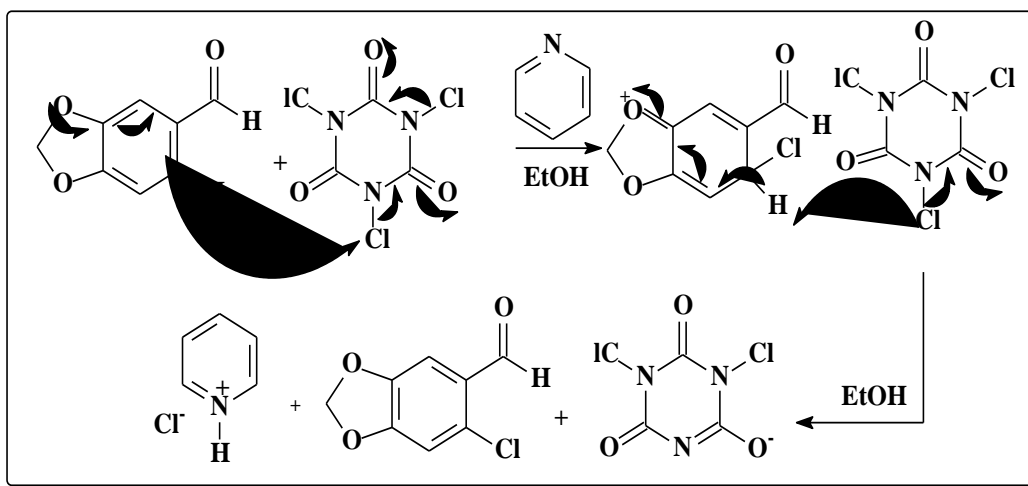


Figura 47 – Proposta mecanística para a reação do piperonal com TCCA para obtenção do 6-cloropiperonal M09

### 5.1.5.2 Bromação do piperonal via substituição eletrofílica aromática

A bromação de um anel aromático, classicamente, consiste em uma reação de substituição eletrofílica aromática. Neste caso específico, o par de elétrons do anel, ataca o átomo de bromo parcialmente positivado, pela ação do ácido acético, que atua como catalisador. A estabilização da carga positiva sobre o oxigênio do grupo metilenodioxila é em seguida efetivada por ressonância e ocorre a liberação de uma molécula de ácido bromídrico, conforme pode ser visualizado na proposta mecanística apresentada a seguir (LUO *et. al.*, 2002) Figura 48. A adição de uma solução de bissulfito de sódio objetiva remover o bromo residual, fazendo-o reduzir a brometo que é removido pela lavagem do precipitado alaranjado inicialmente formado.

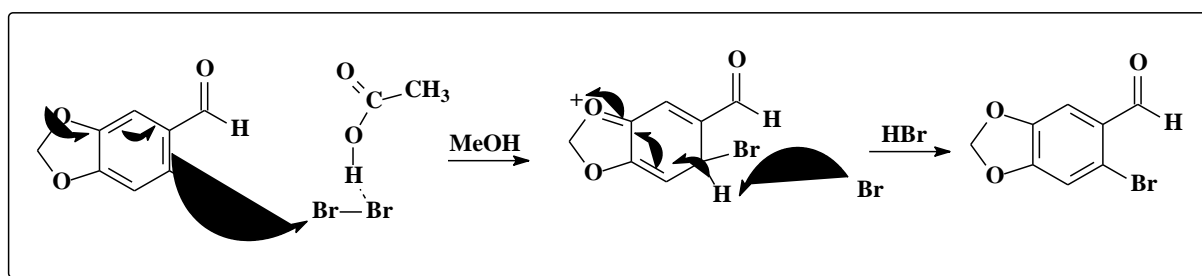
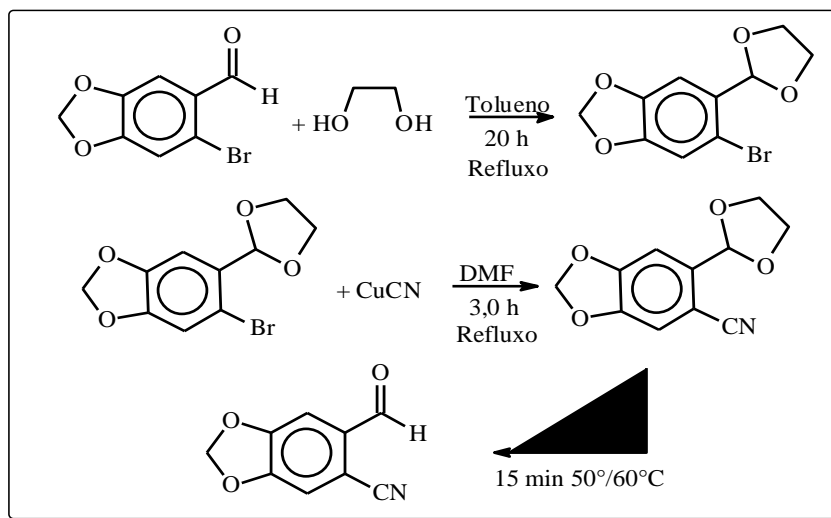


Figura 48 – Proposta mecanística para a bromação do piperonal e obtenção do 6-bromopiperonal M10

### 5.1.6 Nitrilação do piperonal M11

A nitrilação do piperonal através do método de Sandmeyer mostrou-se ineficaz pelos motivos já expostos anteriormente. Desta forma, a nitrilação do piperonal foi realizada em três etapas, como mostrado no Esquema 3.



**Esquema 3** – Representação das reações propostas para a síntese do 6-cianopiperonal **M11**

O artigo “*Unusual transformation of the Diarylmethanol derivative into an unknown 1,2,3,6,7,10-hexahydroxylated anthracene system*” (BALCZEWSKI, *et al.* 2005) descreve a proteção da carbonila aldeídica partindo-se do bromopiperonal reagindo com etilenoglicol em tolueno, e tendo o ácido *para*-toluenosulfônico como catalisador. O mesmo método também foi empregado por Yingming *et al.* em 2008. Nesta etapa, inicialmente, ocorre a protonação do oxigênio da carbonila, pelo próton que é transferido pelo catalisador, a seguir ocorre a adição nucleofílica ao carbono da carbonila pelo oxigênio da molécula de etileno glicol, em continuidade um segundo hidrogênio da molécula de etileno glicol é atacado pelos elétrons da hidroxila formada no início, com a eliminação de uma molécula de água o carbocátion gerado é atacado pelo elétrons do oxigênio da hidroxila ainda não adicionada formando o acetal (Figura 49).

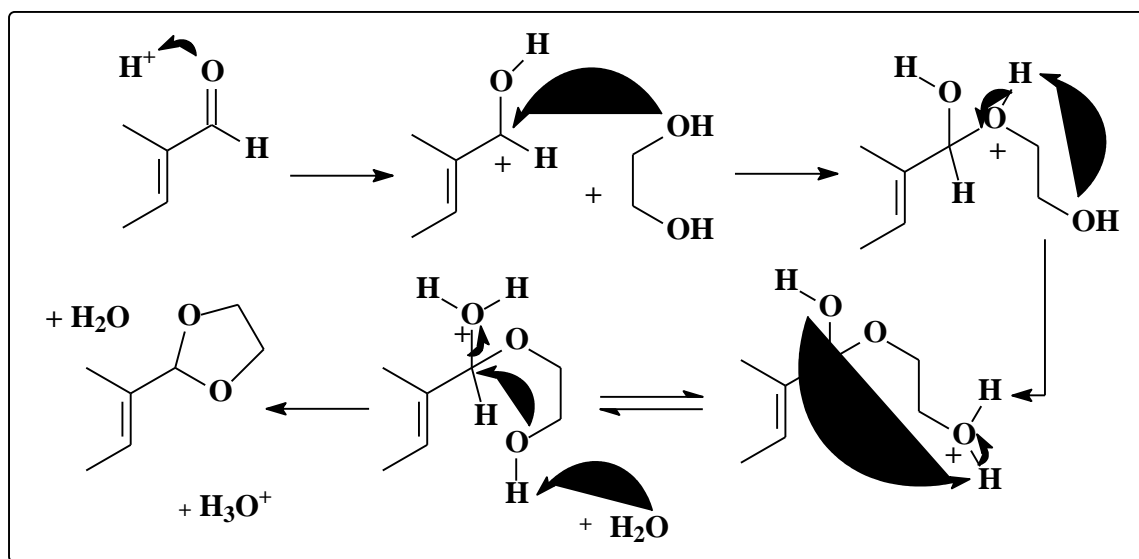


Figura 49 – Proposta mecanística para a formação do acetal.

A segunda etapa é relatada no artigo “*A facile synthesis of benzo[c]phenanthridine alkaloids: oxynitidine and oxysanguinarine using lithiated toluamide-benzonitrile cycloaddition*” (LE, *et al.*, 2006), e compreende a substituição nucleofílica aromática do bom grupo de saída brometo pelo bom nucleofilo cianeto, o método utiliza o reagente de Sandmeyer, cianeto cuproso no solvente aprótico polar, dimetilformamida, seca.

Embora se tenha um excelente grupo de saída e um ótimo nucleofilo devem-se destacar os seguintes fatos: a) não é possível um ataque por trás do grupo de saída, já que o orbital C-S  $\sigma^*$  fica impedido estericamente, pois está interiorizado e no mesmo plano do anel, tornando impossível o estado de transição geométrico (Figura 50); b) de outro modo o LUMO é o orbital  $\pi^*$  e não o orbital  $\sigma^*$ ; c) o agente nucleofílico é rico em elétrons assim como o anel, o que provoca uma intensa repulsão.

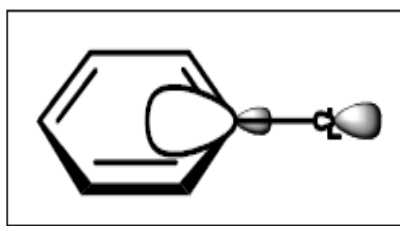


Figura 50 – Representação dos orbitais do grupo de saída.

Por esses motivos o mecanismo, provavelmente não seguirá a via  $S_N2$ . A via mecanística  $S_N1$  implicaria na formação de um carbocátion estável pela saída do grupo retirante, tal fato acontece com os compostos diazônicos, mas este não é o caso. Desta forma, o mecanismo proposto é o de adição-eliminação (Figura 51), onde o nucleofilo ataca o LUMO e o elétron

retirante, de baixa energia de LUMO, estará estabilizado nas possíveis estruturas de ressonância dos intermediários.

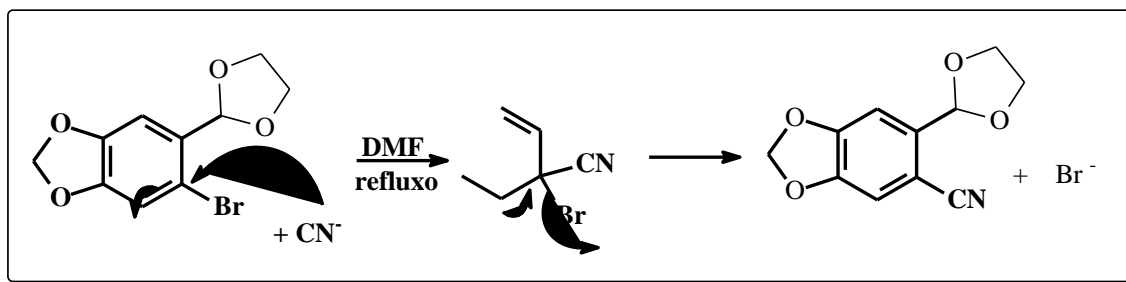


Figura 51 – Proposta mecanística para a reação de adição-eliminação.

A terceira etapa é representada pela restituição da carbonila aldeídica, onde o acetal inicialmente formado é hidrolisado (Figura 52) com o emprego de uma solução de ácido clorídrico á 5%. O 6-cianopiperonal **M11** foi então obtido com 67,3 % de rendimento.

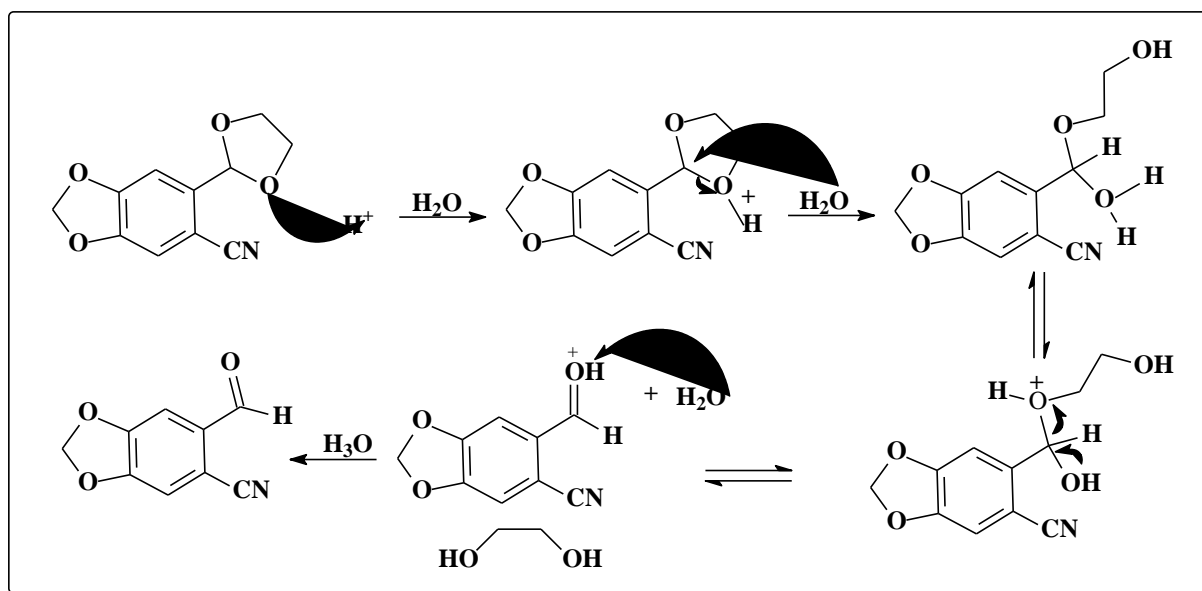
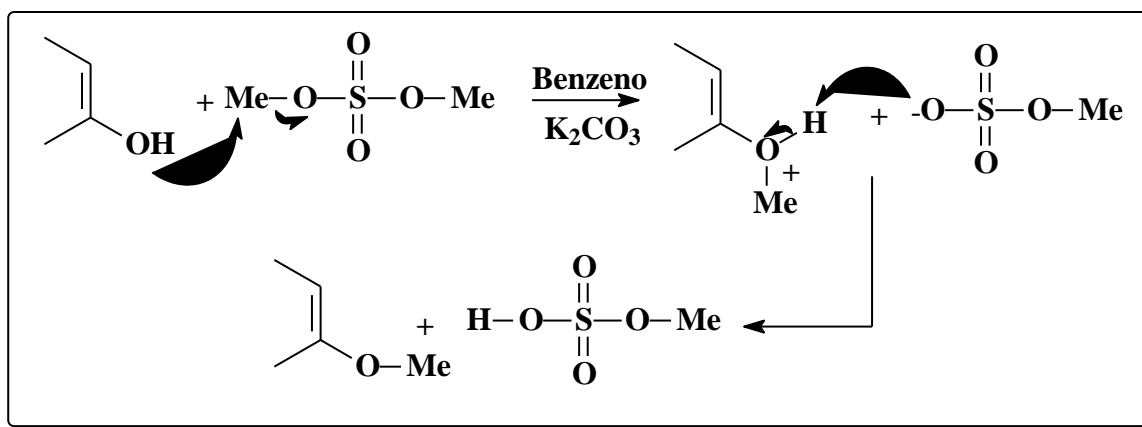


Figura 52 - Proposta mecanística para a hidrólise do acetal.

### 5.1.7 Metoxilação do hidroxipiperonal **M13**

Ainda considerando o artigo dos professores Campbell e Hopper, sintetizou-se o 6-metoxipiperonal, empregou-se o sulfato de metila em benzeno seco. O mecanismo proposto (Figura 53) inicia-se pelo ataque do par de elétrons do oxigênio da hidroxila à metila e em seguida o próton do ânion metoxílico é abstraído pelo ânion sulfometoxílico, estabilizando a metoxila e levando a obtenção do derivado 6-metoxilado **M13**, com um rendimento de 92,6%.



**Figura 53** – Proposta mecanística para a reação de metoxilação do 6-hidroxipiperonal.

### 5.1.8 Síntese do 2-cloro-*N*-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida **M14**

A preparação do 2-cloro-*N*-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida **M14**, inicialmente foi conduzida através da reação entre o 6-aminopiperonal e anidrido cloroacético, o rendimento foi considerado insatisfatório na faixa de 40%. Assim, outro método para a síntese de **M14** foi conduzido, desta vez utilizou-se cloreto de cloroacetila em benzeno seco tendo a trietilamina como base para assegurar a não protonação do nitrogênio amínico e desta forma permitir que os seus elétrons não ligantes fiquem livres para o ataque nucleofílico ao carbono carbonílico do cloreto de cloro acetila. É de suma importância que o ambiente reacional fique isento de água uma vez que a sua presença causaria a hidrólise do ácido clorídrico formado e tal evento provocaria a protonação no nitrogênio amínico o que dificultaria o processo. O mecanismo proposto, como já foi mencionado é de uma reação acilação de por adição nucleofílica do par de elétrons não ligantes do nitrogênio, que atacam o carbono carbonílico do cloreto de cloroacetila, com a conseguinte eliminação de uma molécula de ácido clorídrico, (Figura 54). Na última fase o produto foi lavado três vezes com água para assegurar a eliminação de ácido clorídrico, por ventura existente. O rendimento foi de 84,3%.



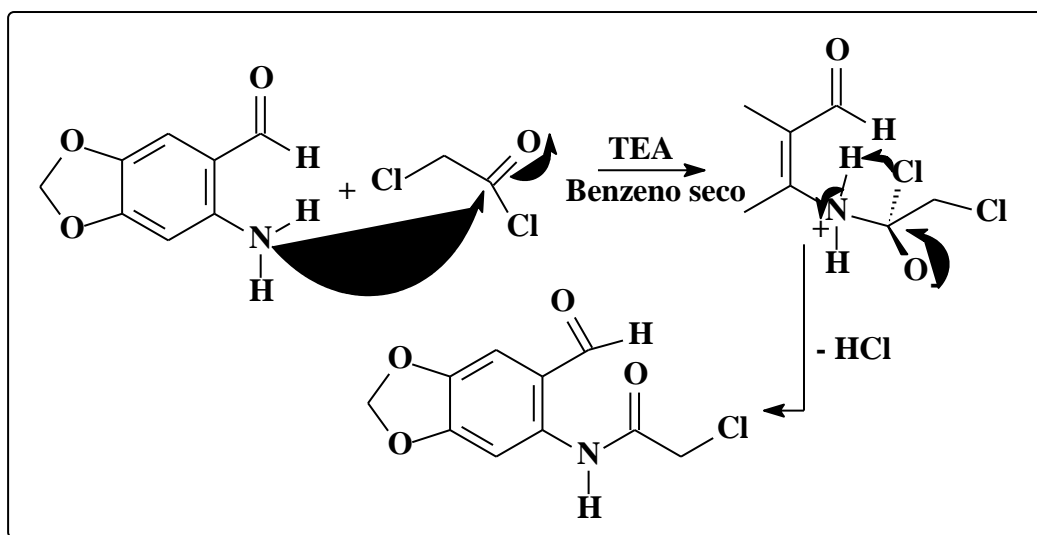


Figura 54 – Proposta mecanística para a reação de acilação do 6-amino piperonal.

### 5.1.9 Síntese do 2,2,2-trifluór-*N*-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida M15

O 2,2,2-trifluór-*N*-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida **M15**, foi sintetizado tendo como referência o artigo de Lutz e colaboradores de 1984. Assim, a reação de acilação foi conduzida entre o 6-aminopiperonal e o anidrido trifluoroacético, em piridina anidra e como solvente éter etílico. Assim como no caso anterior da síntese de **M14**, todos os cuidados foram tomados no sentido de isentar o meio reacional de ácidos e assim evitar a protonação do nitrogênio amínico. Além disso, o mecanismo é similar. O produto, ao final da reação foi tratado com uma solução de bicarbonato de sódio à 5% e seguidamente, lavado para eliminar qualquer resíduo de ácido, o material foi recristalizado em um mistura de água-etanol e o rendimento foi de 68%.

## 5.2 Análise Espectroscópica de aldeídos e alcoóis sintetizados

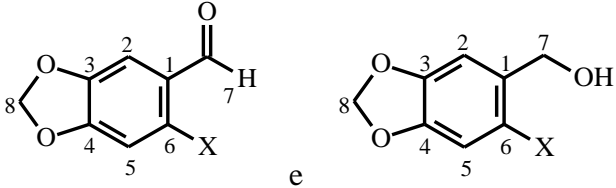
### 5.2.1 Infravermelho

Os principais sinais nos espectros de infravermelho dos aldeídos e álcoois sintetizados mostraram-se muito similares, dentro da mesma classe. Nos espectros de IV de todos os derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila obtidos, os sinais na região de 2902 - 2920 cm<sup>-1</sup> e 1251-1278 cm<sup>-1</sup> foram atribuídos às frequências de deformação axial do grupo metileno e axial assimétrica do sistema C-O-C e, torna-se desta forma, uma característica para os compostos derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila. Já as bandas de absorção na região de 1662-1683 cm<sup>-1</sup> foram atribuídas à vibração de deformação axial de ligação C=O do grupo carbonílico de aldeído. As bandas observadas na região de 3278 - 3134 cm<sup>-1</sup> larga dos alcoóis foram atribuídas

a frequência de deformação axial de O-H. Outras bandas aparecem de acordo com o aldeído ou álcool sintetizado e têm suas atribuições relatadas na coluna “outros” da tabela 1. Por exemplo, o composto **M02**, um nitro derivado, apresenta as bandas em 1521 e 1338  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas às deformações axiais assimétrica e simétrica, respectivamente. Já o composto **M03**, apresenta duas bandas características em 3419 e 3315  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídas, respectivamente, as deformações axiais assimétrica e simétrica do grupo N-H ligado a anel aromático. A banda larga em 3437  $\text{cm}^{-1}$  do composto **M04** é característica da deformação axial de O-H, larga, em ligação hidrogênio intermolecular. Outra banda característica em 2230  $\text{cm}^{-1}$  do aldeído **M11**, foi atribuída a deformação axial de  $\text{C}\equiv\text{N}$  que foi intensificada pela conjugação com o anel aromático.

Os aldeídos e alcoóis halogenados apresentaram as bandas características das deformações axiais C-X com absorções em 1215  $\text{cm}^{-1}$ , 640  $\text{cm}^{-1}$ , 605  $\text{cm}^{-1}$  e 605  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas, respectivamente, aos derivados contendo as ligações C-F, C-Cl, C-Br e C-I. Já os aldeídos **M14** e **M15**, apresentaram uma banda em 1683  $\text{cm}^{-1}$  característica da deformação axial de C=O de amidas. Enquanto os alcoóis **M05**, **M06** e **M07** apresentam uma banda forte em 1037  $\text{cm}^{-1}$  própria da deformação axial da ligação C-O. O composto **M13** apresenta uma banda em 786  $\text{cm}^{-1}$  que foi atribuída a deformação angular fora do plano da ligação C-H do grupo metoxila.

A Tabela 1 mostra as principais bandas de absorção e suas atribuições para os aldeídos e alcoóis derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila.

**Tabela 1:** Principais bandas de absorção dos espectros de IV dos aldeídos e álcoois sintetizados ( $\nu \text{ cm}^{-1}$ ).


	$\nu \text{ C-H}_{\text{metilênodioxo}}$	$\nu \text{ C=O}$	$\nu \text{ C-O-C}$	$\nu \text{ C-O}$	$\nu \text{ Outros (X)}$		
<b>Aldeídos</b>	<b>M01</b>	2920	1683	1261	1037	-	
	<b>M02</b>	2927	1683	1278	1031	1521 e 1338 <sup>d</sup>	
	<b>M03</b>	2910	1652	1261	1035	3419 e 3315 <sup>a</sup>	
	<b>M04</b>	2923	1674	1265	1029	3437 <sup>l</sup>	
	<b>M08</b>	2902	1662	1261	1037	605 <sup>j</sup>	
	<b>M09</b>	2922	1676	1265	1043	786 <sup>h</sup>	
	<b>M10</b>	2922	1674	1259	1037	669 <sup>i</sup>	
	<b>M11</b>	2923	1674	1265	1037	2230 <sup>b</sup>	
	<b>M12</b>	2922	1676	1265	1031	1396 <sup>c</sup>	
	<b>M13</b>	2922	1676	1265	1031	-	
	<b>M14</b>	2920	1652	1263	1029	3464, 3246 <sup>a</sup> e 1683 <sup>c</sup>	
	<b>M15</b>	2900	1652	1224	1035	3446, 3325 <sup>a</sup> , 1683 <sup>c</sup> e 1363 <sup>e</sup>	
	<b>Álcoois</b>	<b>M05</b>	2906	-	1251	1037	3278 <sup>g</sup> , 1037 <sup>f</sup>
		<b>M06</b>	2904	-	1269	1043	3134 <sup>g</sup> , 3384, 3296 <sup>a</sup> e 1037 <sup>f</sup>
		<b>M07</b>	2908	-	1240	1037	3273 <sup>g</sup> , 1037 <sup>f</sup> e 543 <sup>j</sup>

<sup>a</sup>N-H, <sup>b</sup>Ar-C≡N, <sup>c</sup>C=O<sub>amídico</sub>, <sup>d</sup>N=O, <sup>e</sup>Ar-C-F, <sup>f</sup>Ar-C-O, <sup>g</sup>H-O, <sup>h</sup>Ar-C-Cl, <sup>i</sup>Ar-C-Br, <sup>j</sup>Ar-C-I

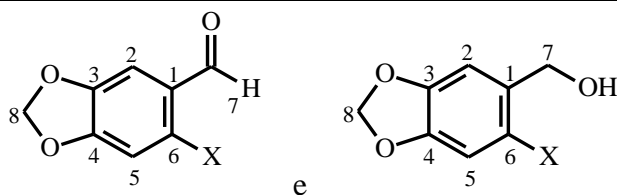
### 5.2.2 RMN de <sup>1</sup>H

Os aldeídos e álcoois sintetizados foram, também, caracterizados por RMN de <sup>1</sup>H. Os principais deslocamentos químicos são mostrados na Tabela 2.

Destacam-se os simpletos entre 6,36 e 5,80 ppm, com integração de dois hidrogênios, atribuídos aos hidrogênios metilênicos do grupo 3,4-metilenodioxila, que aparecem como característica de todos os compostos derivados de tal núcleo. Para os aldeídos o hidrogênio ligado a carbonila foi atribuído na faixa entre 9,57 e 10,20 ppm, já os álcoois apresentaram um hidrogênio hidroxílico entre 4,29 e 4,33 ppm e um simpleto com sinal de integração de dois hidrogênios atribuídos aos hidrogênios metilênicos hidroxílicos 7. No aldeído **M01** e no álcool **M05** foi possível observar a existência dos acoplamentos de hidrogênios *orto*  $J^3$ .

respectivamente, com constantes de acoplamento de 7,9 Hz e 8,5 Hz entre os hidrogênios aromáticos H<sub>5</sub> e H<sub>6</sub>. E também, em acoplamentos *meta* de  $J^4$  entre os hidrogênios aromáticos H<sub>2</sub> e H<sub>6</sub> com constantes de acoplamento de 1,5 Hz. Observa-se ainda a ocorrência de outros sinais que são destacados na tabela 2 tais como: o simpleto de base larga de integração de dois hidrogênios do aldeído **M03** em 7,30 ppm atribuído aos hidrogênios amínicos H<sub>9</sub>; o simpleto agudo característico de uma troca rápida sem acoplamento em 10,19 ppm atribuído ao hidrogênio hidroxílico de **M04** já que a presença da carbonila em posição orto permite a ocorrência de uma ligação hidrogênio intramolecular deslocando o sinal para o campo mais baixo onde o hidrogênio se encontrará em um ambiente de menor densidade eletrônica. O simpleto em 3,96 ppm, com integração de três hidrogênios do aldeído **M13** foi atribuído aos hidrogênios metoxílicos; enquanto o simpleto de base larga em 8,36 ppm do aldeído **M14** foi atribuído ao hidrogênio amídico H<sub>9</sub> e o singleto em 4,21 ppm com sinal de integração de dois hidrogênios foi atribuído aos hidrogênios metilênicos H<sub>10</sub>. O álcool **M05** apresenta um multipeto em 5,17 ppm que foi atribuído aos hidrogênios metilênicos H<sub>7</sub>, que acoplam com os hidrogênios aromáticos H<sub>2</sub> e H<sub>6</sub> e com o hidrogênio hidroxílico. Já sbl em 4,66 ppm do álcool **M06** com integração de dois hidrogênios foi atribuído aos hidrogênios amínicos, enquanto os simpletos em 4,29 e 4,32 ppm respectivamente, dos alcoóis **M06** e **M07**, com sinal de integração de dois hidrogênios foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos H<sub>7</sub> dos alcoóis.

**Tabela 2** – Principais deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , ppm) dos aldeídos e alcoóis sintetizados.



Compostos	CHO (aldeídico)	COH (hidroxílico)	CH <sub>2</sub> (metilenodioxila)	Outros
<b>M01</b>	9,80 (1H, s)	-	6,17 (2H, s)	-
<b>M02</b>	10,07 (1H, s)	-	6,36 (2H, s)	-
<b>M03</b>	9,57 (1H, s)	-	6,34 (2H, s)	7,30 <sup>a</sup>
<b>M04</b>	10,19 (1H, s)	-	6,23 (2H, s)	11,03 <sup>b</sup>
<b>M08</b>	9,92 (1H, s)	-	6,14 (2H, s)	-
<b>M09</b>	10,16 (1H, s)	-	6,21 (2H, s)	-
<b>M10</b>	10,07 (1H, s)	-	6,23 (2H, s)	-
<b>M11</b>	10,03 (1H, s)	-	6,20 (2H, s)	-
<b>M12</b>	9,20 (1H, s)	-	5,99 (2H, s)	-
<b>M13</b>	10,21 (1H, s)	-	6,25 (2H, s)	4,05 <sup>f</sup>
<b>M14</b>	9,74 (1H, s)	-	6,11 (2H, s)	8,36 <sup>g</sup> e 4,21 <sup>h</sup>
<b>M15</b>	9,80 (1H, s)	-	6,19 (2H, s)	11,47 e 11,17 <sup>i</sup>
<b>M05</b>	-	4,42 (1H,s)	5,98 (2H, s)	5,17 <sup>c</sup>
<b>M06</b>	-	4,93 (1H,s)	5,80 (2H, s)	4,66 <sup>d</sup> e 4,29 <sup>e</sup>
<b>M07</b>	-	5,35 (1H,sbl)	6,03 (2H, s)	4,33 <sup>e</sup>

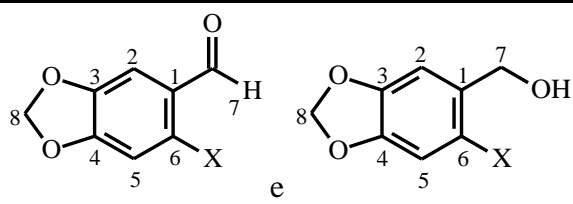
<sup>a</sup> sbl, 2H, H9; <sup>b</sup> sbl, 1H, H9; <sup>c</sup> m, 2H, H7; <sup>d</sup> sbl, 2H, H10; <sup>e</sup> s, 2H, H7; <sup>f</sup> OCH<sub>3</sub>, s, 3H, H9; <sup>g</sup> NH, sbl, 1H, H9;

<sup>h</sup> CH<sub>2</sub>, s, 2H, H10; <sup>i</sup> d, 1H, H9

### 5.2.3 RMN de $^{13}\text{C}$

Os álcoois e aldeídos obtidos foram caracterizados por RMN de  $^{13}\text{C}$ , com DEPT 135° ou DEPT Q. O efeito dos substituintes no anel aromático pode ser observado analisando-se a Tabela 3, que mostra os principais deslocamentos químicos de carbono.

**Tabela 3:** Principais deslocamentos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , ppm) dos aldeídos e alcoóis sintetizados.



Compostos	C5	C6	C7	C8	Outros
<b>M01</b>	129,03	106,68	191,37	102,81	
<b>M02</b>	105,43	146,14	188,60	104,49	
<b>M03</b>	95,63	111,11	190,97	101,75	
<b>M04</b>	98,44	160,27	190,45	102,67	
<b>M08</b>	119,98	93,36	194,51	102,31	
<b>M09</b>	107,17	126,88	188,42	103,81	
<b>M10</b>	113,76	121,22	190,49	103,81	
<b>M11</b>	111,45	110,75	190,98	101,62	
<b>M12</b>	95,05	154,03	191,06	101,17	
<b>M13</b>	93,39	156,03	190,06	101,21	32,56 <sup>a</sup>
<b>M14</b>	101,39	118,70	192,70	101,39	165,89 <sup>b</sup> e 43,10 <sup>c</sup>
<b>M15</b>	89,03	137,76	191,06	102,50	156,84 <sup>b</sup> e 119,88 <sup>d</sup>
<b>M05</b>	108,65	120,20	63,35	101,12	
<b>M06</b>	97,20	138,75	61,18	102,26	
<b>M07</b>	118,08	84,90	67,63	102,00	

<sup>a</sup> OCH<sub>3</sub>, <sup>b</sup> C=O amídico, <sup>c</sup> Cl-CH<sub>2</sub> e <sup>d</sup> CF<sub>3</sub>

Os deslocamentos químicos dos carbonos aromáticos variaram de acordo com a natureza do grupo substituinte no anel, onde as maiores diferenças foram observadas para os carbonos C5 e C6. Assim, partindo-se dos derivados não substituídos no C6, o aldeído **M01** e álcool **M05** apresentaram deslocamentos químicos de 106,68 e 120,20 ppm, respectivamente, observou-se carbonos com alta densidade eletrônica, como por exemplo, os C6 dos aldeídos **M02**, **M04**, **M12** e **M14** e outros carbonos com baixa densidade eletrônica como é o caso do C6 do álcool e do aldeído **M07** e **M08**. Neste sentido os carbonos C5 foram também assinalados considerando os mesmos efeitos, pois apresentam em seus deslocamentos químicos importantes variações dependendo do grupo ligado ao C6. Observa-se carbonos com maior densidade eletrônica, como

nos aldeídos **M03**, **M04**, **M12** e **M13**, além do álcool **M06**, que apresentam grupos ativos ligados ao C6.

Observando a Tabela 3 é possível perceber que houve pouca diferença no deslocamento químico dos C7 e C8 com a mudança do substituinte em C6. Os deslocamentos químicos destes carbonos variaram na faixa entre 194,51 e 188,42 ppm para o C7 aldeídico e entre 104,49 e 101,17 ppm para o C8 metilenodioxílico. O composto **M13** apresenta um carbono metílico metoxílico com deslocamento compatível em 32,56 ppm, enquanto os compostos **M14** e **M15** apresentam um carbono com deslocamento 165,89 e 156,94 ppm compatíveis com um carbono carbonílico amídico. O aldeído **M14** apresenta ainda um carbono metilênico em 43,10 ppm que foi atribuído ao carbono C10 ligado a cloro. Através dos espectros de DEPT 135° e DEPT Q foi possível identificar os carbonos metínicos, metilênicos e quaternários. Por exemplo, o caso de **M04** onde a análise do espectro de DEPT 135° corrobora as atribuições consignadas aos carbonos metínicos e metilênico, enquanto os sinais de deslocamentos 160,27; 154,83; 141,72 e de 115,75 ppm desaparecem, evidenciando carbonos quaternários, e o sinal em 102,64 ppm aparece para cima, carbono metilênico, ao contrário dos demais sinais em 190,45; 106,35 e 98,19 ppm; atribuídos aos carbonos metínicos. O que confirma a obtenção do 6-hidroxi piperonal já que os dados dos deslocamentos são compatíveis com os dados encontrados na literatura citada.

Assim, todos os sinais foram atribuídos e comprovam a obtenção das estruturas de aldeídos e alcoóis propostas.

### 5.3 Síntese da tiossemicarbazonas

A síntese das tiossemicarbazonas foi realizada a partir da condensação entre quantidades equimolares do aldeído previamente sintetizado e a tiossemicarbazida, utilizando como solvente etanol e quantidades catalíticas de ácido sulfúrico, a temperatura de 60 °C. Todos os compostos foram analisados por cromatografia em camada fina para verificar a pureza dos mesmos, e caracterizados através de ponto de fusão, análise dos espectros de Infravermelho e também através da análise dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C DEPTQ ou DEPT 135°. Todas as tiossemicarbazonas foram obtidas em rendimentos satisfatórios, na faixa de 85-98%, após purificação por recristalização em metanol, Tabela 4.

O mecanismo de reação para a obtenção das tiossemicarbazonas é semelhante ao de formação de iminas. Inicia-se com a protonação do oxigênio da carbonila do aldeído para formar o intermediário íon oxônio, seguida de ataque nucleofílico do nitrogênio N-1 da tiossemicarbazida para formar o intermediário hemiaminal protonado. Este perde uma molécula

de água, dando origem a tiossemicarbazona (TENÓRIO *et al.*, 2005) . A Figura 55 mostra o mecanismo sugerido em detalhes.

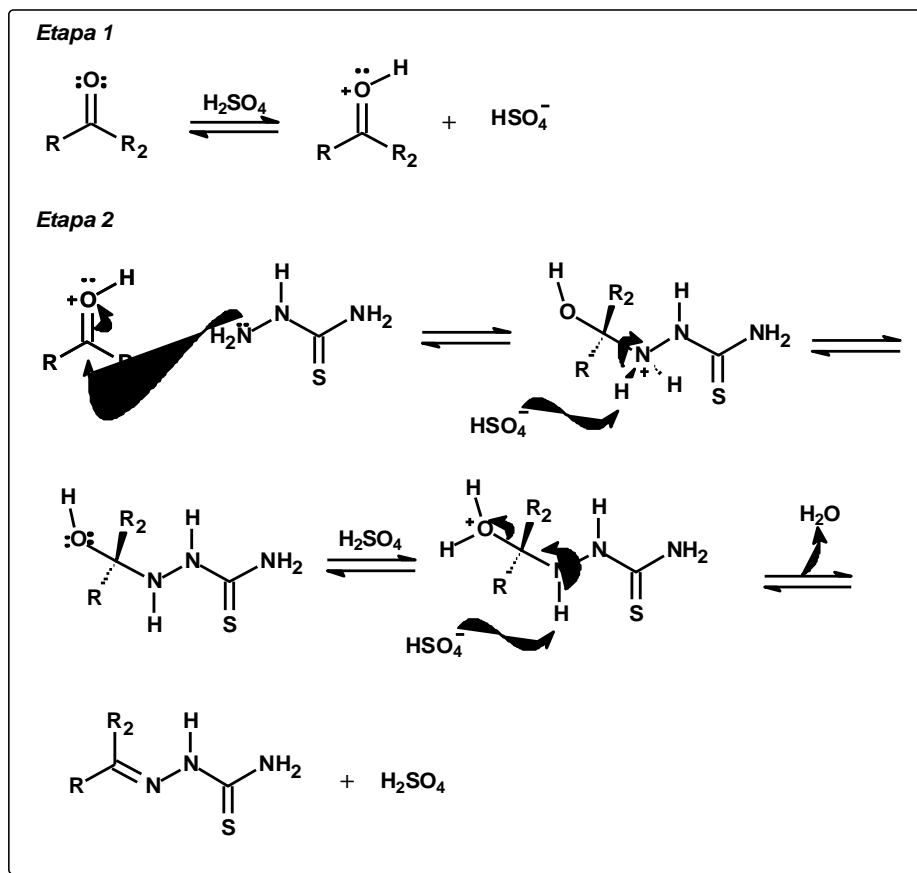


Figura 55: Mecanismo proposto para a síntese das tiossemicarbazonas.

**Tabela 4:** Pontos de fusão e rendimentos obtidos para as tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 6-X-metilenodioxila e flúor-substituídas.

Composto	6-X	Rendimento %	PF (°C)
M16	H	97,9	189
M17	NO <sub>2</sub>	95,7	255
M18	NH <sub>2</sub>	92,8	251
M19	F	95,2	245
M20	Cl	98,2	248
M21	Br	96,5	252
M22	I	98,5	253
M23	CN	93,4	250
M24	OH	93,0	242
M25	OCH <sub>3</sub>	91,0	261
M26	NHCOCH <sub>2</sub> Cl	95,3	287
M27	NHCOCF <sub>3</sub>	94,0	267



<b>M28</b>	2'-fluorbenzaldeidotiossemicarbazona	96,0	193
<b>M29</b>	2',3'-difluorbenzaldeidotiossemicarbazona	94,0	210
<b>M30</b>	2',5'-difluorbenzaldeidotiossemicrbazona	92,0	222
<b>M31</b>	2',6'-difluorbenzaldeidotiossemicarbazona	92,7	209
<b>M32</b>	3',4'-difluorbenzaldeidotiossemicarbazona	95,1	198
<b>M33</b>	3',5'-difluorbenzaldeidotiossemicarbazona	91,6	205
<b>M34</b>	2',3',4'-trifluorbenzaldeidotiossemicarbazona	96,2	216
<b>M35</b>	2',3',5',6'-tetrafluorbenzaldeidotiossemicarbazona	93,2	227
<b>M36</b>	2',3',4',5',6'-pentafluorbenzaldeidotiossemicarbazona	94,6	245

A síntese das tiossemicarbazonas, teoricamente, poderia levar aos estereoisômeros *Z* e *E*. Tal assunto vem sendo, exaustivamente, estudado. (ANTONINI *et al.*, 1977; TEMPERINI *et al.*, 1995 e HARAGUCHI, 2008). Entende-se que a reação de obtenção de tiossemicarbazonas partindo se de aldeídos volumosos, conduz de forma estereoespecífica ao isômero *E*. Haraguchi, 2008, Observa no mapa de contorno oriundo do experimento de NOESY, a interação do hidrogênio imínico com os hidrogênios aromáticos vizinhos a cadeia tiocarbazônica, o que assim define a estereoquímica *E* sobre a ligação imínica das benzotiossemicarbazonas derivadas do ácido caurênico ora estudadas.

## 5.4 Análise Espectroscópica

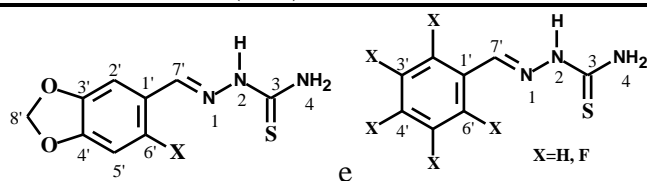
### 5.4.1 Infravermelho

Os principais sinais nos espectros de infravermelho das tiossemicarbazonas sintetizadas mostraram-se muito similares, dentro da mesma classe. Nos espectros de IV de todos os compostos obtidos, os sinais na região de 3477-3221  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídos às frequências de deformação axial simétrica e assimétrica de N-H referente ao grupo  $\text{NH}_2$ . Já as bandas de absorção na região de 3190-3116  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas à vibração de estiramento de ligação N-H do grupo NH hidrazínico. Os sinais observados para todos os compostos na região de 1541 a 1500  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídos a frequência de deformação axial de C=N, também característicos para as tiossemicarbazonas.

No caso das tiossemicarbazonas, a ausência do sinal de S-H na região de 2500-2600  $\text{cm}^{-1}$ , e a presença do sinal da tiocarbonila (C=S), observado na faixa entre 1043 e 1103  $\text{cm}^{-1}$ , indicaram a predominância da forma tiona nestes compostos (TENÓRIO *et al.*, 2005).

As tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila e benzofluoradas apresentaram sinais característicos de grupos substituintes, como mostra a Tabela 5.

**Tabela 5:** Principais bandas de absorção do espectro de IV de tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila e dos fluorbenzaldeídos (cm<sup>-1</sup>).



Tiossemicarbazonas		N-H (amínicos e hidrazínico)	C=N	C=S	C-O-C	Outros
3,4-metilenodioxiladas	M16	3473, 3323 e 3134	1541	1082	1253	
	M17	3417, 3234 e 3155	1541	1099	1267	1519 e 1325 <sup>h</sup>
	M18	3402, 3275 e 3167	1541	1076	1259	935 <sup>i</sup>
	M19	3417, 3228 e 3145	1535	1097	1240	1325 <sup>a</sup>
	M20	3473, 3361 e 3190	1512	1089	1245	1089 <sup>b</sup>
	M21	3415, 3249 e 3151	1535	1093	1245	568 <sup>c</sup>
	M22	3420, 3250 e 3150	1537	1097	1240	561 <sup>d</sup>
	M23	3477, 3332 e 3143	1539	1089	1240	2230 <sup>e</sup>
	M24	3446, 3330 e 3134	1541	1064	1269	2947 <sup>f</sup>
	M25	3446, 3359 e 3174	1506	1082	1238	2929 <sup>g</sup>
	M26	3408, 3321 e 3165	1541	1099	1238	667 <sup>c</sup>
	M27	3435, 3288 e 3165	1521	1078	1244	1284 <sup>a</sup>
Benzofluoradas	M28	3433, 3253 e 3151	1521	1085	-	1286 <sup>a</sup>
	M29	3433, 3253 e 3151	1519	1053	-	1288 <sup>a</sup>
	M30	3427, 3255 e 3155	1521	1082	-	1272 <sup>a</sup>
	M31	3422, 3244 e 3145	1541	1072	-	1290 <sup>a</sup>
	M32	3421, 3390 e 3159	1508	1093	-	1280 <sup>a</sup>
	M33	3446, 3238 e 3159	1508	1097	-	1315 <sup>a</sup>
	M34	3408, 3255 e 3163	1506	1070	-	1311 <sup>a</sup>
	M35	3410, 3238 e 3140	1523	1076	-	1296 <sup>a</sup>
	M36	3417, 3244 e 3140	1517	1072	-	1292 <sup>a</sup>
	M37	3417, 3244 e 3116	1500	1039	-	1116 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Ar-C-F, <sup>b</sup>Ar-C-Br, <sup>c</sup>Ar-C-Cl, <sup>d</sup>Ar-C-I, <sup>e</sup>Ar-C≡N, <sup>f</sup>O-H, <sup>g</sup>C-H alifático, <sup>h</sup>NO<sub>2</sub> assi e sim, <sup>i</sup>Ar-C-N.

Observando a Tabela 5 é possível notar que, em todos os casos, o sinal respectivo ao grupo substituinte da tiossemicarbazona apareceu em região bem próxima ao sinal do grupo

substituinte da semicarbazona de estrutura análoga. Por exemplo, os sinais referentes ao grupo nitro. Tais sinais na tiossemicarbazona **34** apareceram em  $1340\text{ cm}^{-1}$  (deformação axial de N=O) e  $877\text{ cm}^{-1}$  (deformação axial de Ar-C-N), e na semicarbazona análoga, **42**, apareceram  $1348$  e  $869\text{ cm}^{-1}$ . Os sinais respectivos aos demais grupos substituintes mostrados na Tabela 4 são referentes a vibrações de deformação axial simétrica e/ou assimétrica.

#### 5.4.2 RMN de $^1\text{H}$

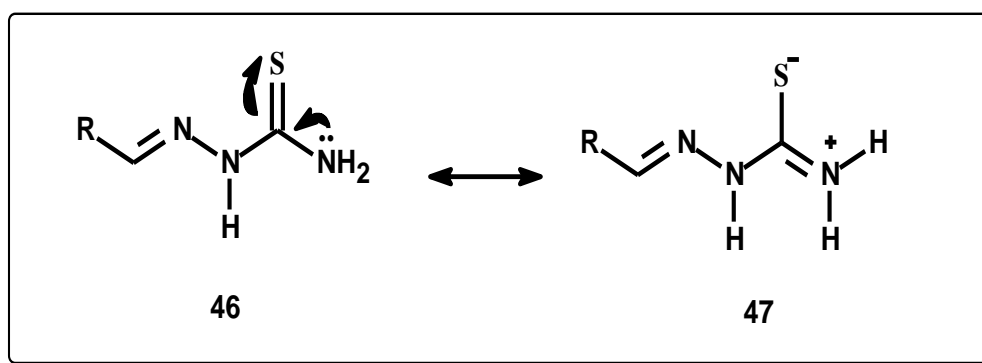
As tiossemicarbazonas obtidas foram caracterizadas por RMN de  $^1\text{H}$ . As substâncias da classe das tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila apresentaram alguns deslocamentos químicos bem comuns aos das tiossemicarbazonas benzofluoradas. Os principais deslocamentos químicos são mostrados na Tabela 6.

**Tabela 6:** Principais deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , ppm) das tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila e benzofluoradas.

Tiossemicarbazonas		CH=N (H <sub>7</sub> )	NH (H <sub>2</sub> )	NH <sub>2</sub> (diastereoisoméricos) H <sub>4</sub> e H <sub>5</sub>
3,4-metilenodioxiladas	<b>M16</b>	7,97 (1H, s)	11,34 (1H, s)	8,13 e 8,05 (1H cada, s)
	<b>M17</b>	8,46 (1H, s)	11,65 (1H, s)	8,24 e 8,22 (1H cada, s)
	<b>M18</b>	8,06 (1H, s)	10,94 (1H, s)	7,96 e 7,72 (1H cada, s)
	<b>M19</b>	8,02 (1H, s)	11,50 (1H, s)	8,09 e 7,36 (1H cada, s)
	<b>M20</b>	8,37 (1H, s)	11,51 (1H, s)	8,23 e 8,19 (1H cada, s)
	<b>M21</b>	8,34 (1H, s)	11,53 (1H, s)	8,21 e 8,18 (1H cada, s)
	<b>M22</b>	8,25 (1H, s)	11,56 (1H, s)	8,19 e 8,15 (1H cada, s)
	<b>M23</b>	8,35 (1H, s)	11,45 (1H, s)	8,21 e 8,17 (1H cada, s)
	<b>M24</b>	9,84 (1H, s)	11,25 (1H, s)	7,98 e 7,95 (1H cada, s)
	<b>M25</b>	8,22 (1H, s)	11,45 (1H, s)	8,05 e 7,98 (1H cada, s)
	<b>M26</b>	8,12 (1H, s)	10,60 (1H, s)	7,99 e 7,72 (1H cada, s)
<b>M27</b>	8,06 (1H, s)	10,95 (1H, s)	7,84 e 6,93 (1H cada, s)	
Benzofluoradas	<b>M28</b>	8,29 (1H, s)	11,58 (1H, s)	8,31 e 8,10 (1H cada, s)
	<b>M29</b>	8,26 (1H, s)	11,66 (1H, s)	8,38 e 8,15 (1H cada, s)

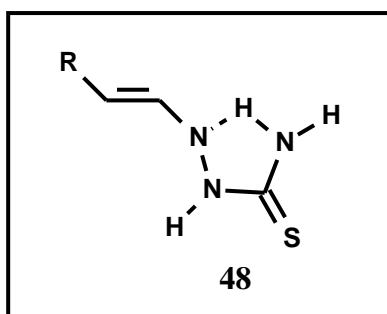
<b>M30</b>	8,21 (1H, s)	11,64 (1H, s)	8,36 e 8,31 (1H cada, s)
<b>M31</b>	8,21 (1H, t)	11,69 (1H, s)	8,43 e 7,36 (1H cada, s)
<b>M32</b>	7,99 (1H, s)	11,53 (1H, s)	8,27 e 8,21 (1H cada, s)
<b>M33</b>	7,99 (1H, s)	11,63 (1H, s)	8,33 e 8,28 (1H cada, s)
<b>M34</b>	8,18 (1H, s)	11,64 (1H, s)	8,36 e 8,10 (1H cada, s)
<b>M35</b>	8,16 (1H, s)	11,83 (1H, s)	8,54 e 7,42 (1H cada, s)
<b>M36</b>	8,12 (1H, s)	11,79 (1H, s)	8,52 e 7,43 (1H cada, s)
<b>M37</b>	8,16 (1H, s)	11,67 (1H, s)	8,34 e 8,36 (1H cada, s)

Observando a Tabela 6 é possível perceber uma pequena diferença entre tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila e benzofluoradas no que diz respeito aos deslocamentos químicos de hidrogênios ligados aos nitrogênios. Em ambos os casos são observados dois simpletos indicando a diferença de natureza desses hidrogênios para o grupo NH<sub>2</sub>. Tais diferenças podem ser explicadas em termos das estruturas de ressonância destas classes, mostradas na Figura 56.



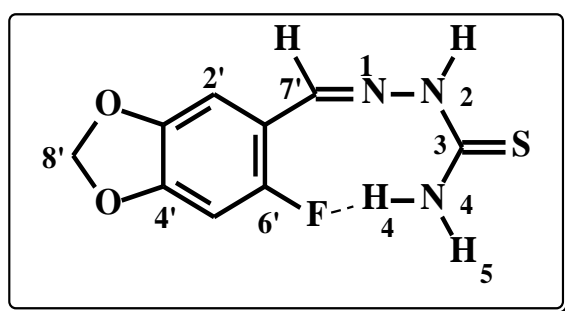
**Figura 56** – Estruturas de ressonância para a tiossemicarbazonas.

As tiossemicarbazonas apresentam caráter parcial de ligação dupla no grupo C-NH<sub>2</sub> com a consequente restrição na rotação, tornando os hidrogênios diastereotópicos. A estrutura **46** é favorecida (Figura 57). Entretanto, a estrutura **47** das tiossemicarbazonas é mais estável visto a polarizabilidade do enxofre, o que permite uma melhor estabilização da carga negativa. O efeito retirador de elétrons do nitrogênio é acentuado pelo surgimento da carga positiva, fazendo com que os hidrogênios fiquem mais desblindados. Além disso, um hidrogênio ficará mais desblindado devido à formação de ligação de hidrogênio intramolecular com o nitrogênio do grupo azometino, como mostra a estrutura **48**, tornando-o diastereoisomérico em relação ao outro hidrogênio amínico, Figura 57.



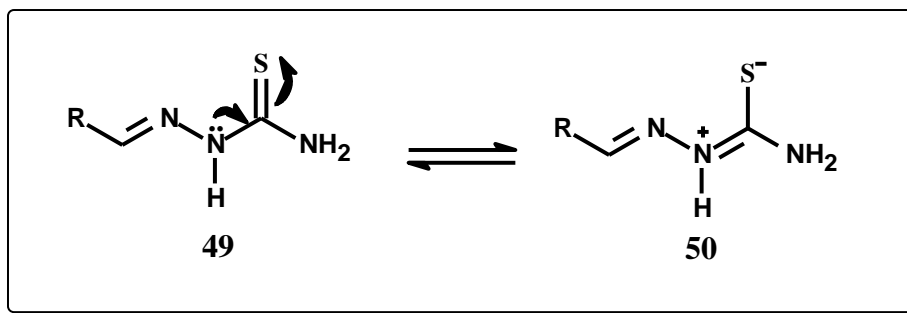
**Figura 57** – Ligação hidrogênio amínico (diastereoisomerismo).

Nas tiossemicarbazonas com flúor substituinte na posição seis observa-se uma intensa diferença entre os sinais relativos aos hidrogênios diastereotópicos H4 e H5, enquanto nas tiossemicarbazonas não substituídas, **M16** ou naquelas substituídas por grupos que não possuem a capacidade de formar ligações hidrogênio, por exemplo: **M17**, **M20** e **M21** a diferença se encontra na casa dos 0,04 ppm; naquelas onde encontramos o flúor na posição seis observa-se a diferença de 0,73 ppm para **M19**, 1,07 ppm para **M31**, 1,12 ppm para **M35** e 1,09 para **M36**; isto pode ser explicado pela intensa ligação hidrogênio formada com o átomo de flúor, o que propicia a formação de um pseudo-anel de nove membros e torna os hidrogênios diastereotópicos amínicos de N4 muito diferentes em seu ambiente químico, Figura 58. As atribuições dos hidrogênios diastereotópicos H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub> foram conformadas através de experimentos de RMN <sup>1</sup>H de troca com D<sub>2</sub>O, nos quais, observou-se o desaparecimento dos sinais atribuídos aos hidrogênios amínicos H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub> e também do hidrogênio imínico H<sub>2</sub> conforme pode ser visualizado nos espectros 8.147, 8.148, 8.149 e 8.150.



**Figura 58** – Ligação hidrogênio em TSC fluoradas na posição 6.

O aparecimento do simpleto referente ao hidrogênio hidrazínico das tiossemicarbazonas em campo baixo, foi observado na região entre 11,79 e 10,60 ppm. Na estrutura de ressonância **50**, mostrada na Figura 59, o surgimento da carga positiva no nitrogênio aumenta o seu efeito retirador por efeito indutivo, tornando o hidrogênio mais desblindado. A estrutura **50**, assim como a **47**, é mais estável nas tiossemicarbazonas.



**Figura 59** – Estruturas de ressonância de TSC desblindagem do hidrogênio imínico.

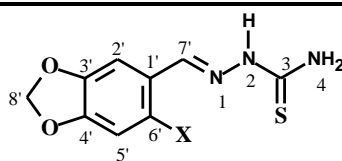
Assim, o deslocamento químico do hidrogênio do grupo azometino (CH=N), foi observado na região entre 6,95 e 8,30 ppm nas tiossemicarbazonas.

Os hidrogênios aromáticos dos compostos derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila e dos compostos benzofluorados foram atribuídos na região entre 6,75 e 8,23 ppm, sendo afetados pelo efeito do(s) substituinte(s) no anel, conforme o esperado.

#### 5.4.3 RMN de $^{13}\text{C}$

As tiossemicarbazonas sintetizadas foram caracterizadas, também, por RMN de  $^{13}\text{C}$  utilizando experimentos de DEPT 135° ou DEPT Q. O efeito dos substituintes no anel aromático pode ser observado analisando-se as Tabelas 7 e 8, que mostram todos os deslocamentos químicos dos carbonos obtidos para as tiossemicarbazonas.

**Tabela 7:** Deslocamentos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , ppm) das tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila.

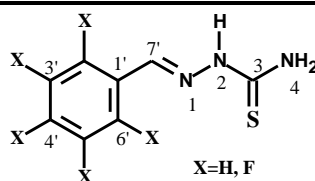


	TSC	C7'	C-3	C-1'	C-2'	C5'	C6'	C8'	Outros
<b>3,4-metilenodioxiladas</b>	<b>M16</b>	142,76	178,33	129,35	108,83	105,86	124,46	101,90	
	<b>M17</b>	143,37	178,77	137,87	106,31	105,14	126,14	104,09	
	<b>M18</b>	147,70	176,70	107,02	109,96	96,45	138,54	101,11	
	<b>M19</b>	142,29	177,71	122,21	116,33	97,10	160,05*	102,10	
	<b>M20</b>	138,72	178,38	126,90	109,92	106,28	125,73	102,88	
	<b>M21</b>	141,20	178,47	127,22	112,75	106,92	116,11	102,85	
	<b>M22</b>	145,76	178,31	130,10	107,18	90,70	118,56	102,62	

<b>M23</b>	144,54	178,89	131,85	111,45	114,55	108,54	101,62	116,12 C9' <sup>a</sup>
<b>M24</b>	139,91	177,73	113,28	104,95	98,04	153,22	101,65	
<b>M25</b>	141,20	177,51	119,09	110,21	92,87	151,78	102,85	55,89 C9'
<b>M26</b>	148,89	178,06	125,77	113,06	91,60	132,76	102,54	165,89 C9' e 43,10 C10
<b>M27</b>	147,53	178,29	128,90	109,96	96,43	138,52	101,11	156,94 m e 107,90 **

<sup>a</sup>CN; <sup>b</sup>OCH<sub>3</sub>; <sup>c</sup>CH<sub>3</sub>; <sup>d</sup>OCH<sub>2</sub>; \* d 160,05, 156,53; \*\* q 107,90-107,01-105,35 e 102,64.

**Tabela 8:** Deslocamentos químicos de RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) das tiossemicarbazonas benzofluoradas.



	TSC	C3	C7'	C6'	Outros
<b>benzofluoradas</b>	<b>M28</b>	178,71	135,24 e 160,05	132,17 e 132,08 d	162,53 e 160,05 d C2'
	<b>M29</b>	178,78	133,98	125,31 e 125,20	151,54 e 151,42 ; 149,10 e 148,98 dd C2'
	<b>M30</b>	178,85	133,88	118,12 e 117,79 d	160,20 e 157,84 d C2'
	<b>M31</b>	178,76	133,18	162,07 e 159,54 d*	132,06 t C4'
	<b>M32</b>	178,71	140,21	125,63	151,55 e 149,53; 149,23 e 149,11 dd C3'
	<b>M33</b>	178,89	139,85	110,72 e 110,52; **	164,37 e 161,93; 164,23 e 161,80 dd ***
	<b>M34</b>	178,76	133,19	121,80	152,61 e 151,17 d C4'
	<b>M35</b>	178,94	131,52	147,34 e 147,10 <sup>4*</sup>	107,56 t C4'
	<b>M36</b>	178,98	130,80	146,31 e 142,33 d*	146,31 e 142,33 d* e 139,81 e 136,55 ***
	<b>M37</b>	178,80	140,78	128,31 e 128,30d**	129,66 C4'

\* C2' e C6'; \*\* e110,65 e 110,46 dd C2' e C6'; \*\*\* C3' e C5'; <sup>4\*</sup> e 144,91 e 144,62 dd C2' e C4'.

Os deslocamentos químicos dos carbonos aromáticos variaram de acordo com a natureza do grupo substituinte no anel. O C1' foi assinalado entre 125,6 e 141,8 ppm, sendo os valores mais baixos para as moléculas com grupos doadores de elétrons e, os mais altos para as moléculas com grupos retiradores de elétrons. Os maiores deslocamentos químicos do C1' foram observados para os compostos contendo os grupos NO<sub>2</sub> e CN, visto que o forte efeito retirador destes grupos promove a deslocalização dos elétrons π por ressonância, fazendo com que o C1' (que está em posição *para* a estes grupos) ficasse deficiente em elétrons.

## 5.5 Síntese dos Carbimidotioatos

Os carbimidotioatos foram sintetizados a partir das tiossemicarbazonas previamente obtidas. Desta forma, através de uma reação entre algumas das tiossemicarbazonas e iodeto de metila e brometo de alila, seis carbimidotioatos foram sintetizados. A proposta mecanística envolveu a reação de substituição nucleofílica entre um nucleofilo, neste caso o enxofre tionílico ou o nitrogênio amínico e o grupo alquila ou alila. O enxofre tionílico é um melhor nucleofilo e de acordo com as condições a reação ocorre via substituição nucleofílica bimolecular (S<sub>N</sub>2). Neste caso, foi estudado o melhor solvente aprótico que conseguisse solubilizar os reagentes, sendo a acetona e o tolueno foram os escolhidos. Assim, as reações foram realizadas conforme o mecanismo proposto, apresentado na Figura 60. A Tabela 9 mostra os pontos de fusão e rendimentos obtidos.

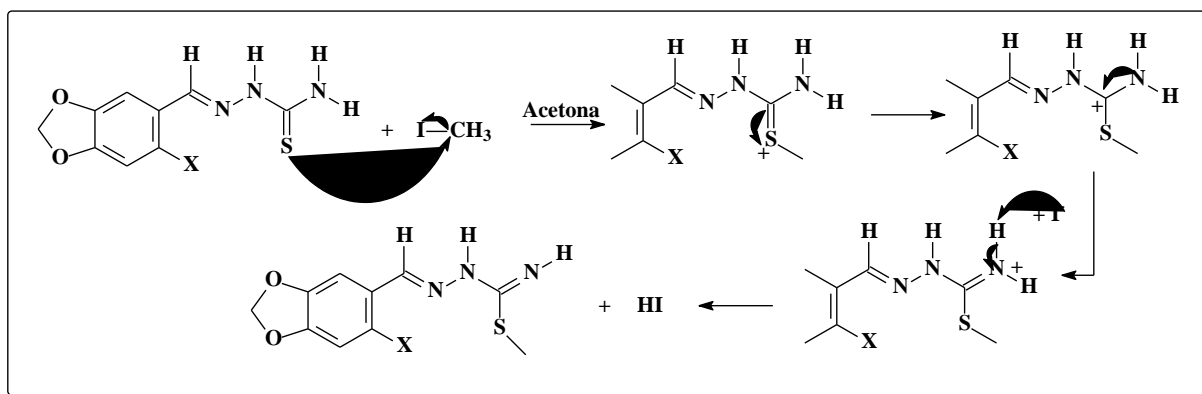


Figura 60 – Proposta mecanística para a reação entre a tiossemicarbazona e iodeto de metila.

Tabela 9: Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os carbimidotioatos derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila M38 - M43

Composto	6X	S	N4	Rendimento (%)	PF (°C)
M38	H	Metil	H e H	84,0	193
M39	I	Metil	H e H	89,0	259
M40	H	Alil	H e H	82,2	186
M41	Br	Alil	H e H	84,1	258
M42	Cl	Metil	Metil e H	90,3	261
M43	Br	Metil	Metil e H	87,3	259

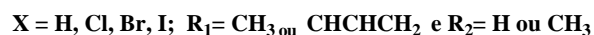
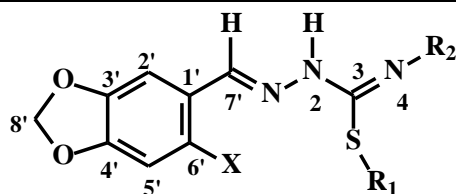


## 5.6 - Análise Espectroscópica

### 5.6.1 Infravermelho

A análise espectroscópica de infravermelho dos compostos carbimidotioatos revela as bandas atribuídas ao hidrogênio amínico N4 entre 3494 e 3250  $\text{cm}^{-1}$  enquanto a ligação do hidrogênio hidrazínico N2 a banda aparece na faixa entre 3145 a 3084  $\text{cm}^{-1}$ . Ainda como características as bandas entre 1500 a 1506  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas a frequência de deformação axial da ligação C=N. Já as bandas entre 1265 e 1244  $\text{cm}^{-1}$  correspondem a característica do núcleo 3,4-metilenodioxílico sendo atribuída a deformação axial assimétrica do sistema C-O-C. Enquanto o aparecimento de uma banda média entre 665 e 669  $\text{cm}^{-1}$  foi atribuída a deformação axial da ligação C-S.

**Tabela 10** - Principais bandas de absorção do espectro de IV dos carbimidotioatos derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila ( $\text{cm}^{-1}$ ) (Inéditos).



Compos	N-H	C=N	C-O-C	S-C	Outros
<b>M38</b>	3494 e 3116	1500	1265	665	2908 e 1454 <sup>a</sup>
<b>M39</b>	3419 e 3145	1506	1244	667	3022 e 1471 <sup>a</sup> ; 570 <sup>b</sup>
<b>M40</b>	3271 e 3084	1500	1263	676	1456
<b>M41</b>	3250 e 3145	1506	1251	669	3022 e 1475 <sup>a</sup> , 592 <sup>c</sup>
<b>M42</b>	3143	1506	1251	669	3016 e 1475 <sup>a</sup> , 796 <sup>d</sup>
<b>M43</b>	3153	1506	1245	668	3016 e 1473 <sup>a</sup> , 592 <sup>c</sup>

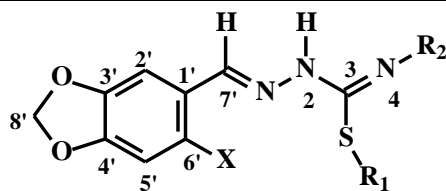
<sup>a</sup>v deformações axial e angular CH<sub>3</sub>, <sup>b</sup>v Ar-I, <sup>c</sup>v Ar-Br, <sup>d</sup>v Ar-Cl.

### 5.6.2 RMN <sup>1</sup>H

A Tabela 10 apresenta os principais deslocamentos químicos e constantes de acoplamento dos hidrogênios dos carbimidotioatos sintetizados. A característica dos compostos derivados do núcleo 3,4-metilenodioxílico foi revelada através dos sinais na faixa entre 6,20 e 6,15 ppm, atribuídos aos hidrogênios metilênicos H8, do grupo metilenodioxila. Os simpletos de base alargada, que apareceram entre 9,78 e 9,48 ppm, foram atribuídos ao hidrogênio hidrazínico de H2. Já o hidrogênio amínico H4 apareceu no espectro como um simpleto de base alargada entre 3,39 e 3,48 ppm. O deslocamento químico do hidrogênio do grupo azometino (CH=N), foi

observado na região entre 8,66 e 8,26 ppm, enquanto os hidrogênios aromáticos apresentaram deslocamentos químicos entre 8,00 e 7,04 ppm. Pode-se observar as constantes de acoplamento entre os hidrogênios aromáticos dos carbimidotioatos **M38** e **M40** com  $J^3$  correspondente ao acoplamento *orto*, entre H6' e H5', calculado em 7,5 Hz. Já os carbimidotioatos **M38**, **M39**, **M42** e **M43**, apresentaram um simpleto entre 2,76 e 2,74 ppm, equivalente a três hidrogênios que foi atribuído aos hidrogênios metílicos H5. Os compostos **M42** e **M43** apresentaram, ainda, um simpleto em 2,10 ppm, com integração de três hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios metílicos H4. Os hidrogênios alílicos dos carbimidotioatos **M40** e **M41** foram caracterizados através de seus deslocamentos químicos e de suas constantes de acoplamento. Assim, **M40** apresentou um multiplete em 5,91 ppm que foi atribuído ao hidrogênio H7 que acoplou com os hidrogênios alílicos H8 e com os hidrogênios metilênicos H6. O mesmo foi observado com **M41**, que apresentou o multiplete em 5,92 ppm, enquanto o duplete em 5,42 ppm atribuído ao H9 que acoplou com o hidrogênio H7 em *trans* com  $J^3 = 17$  Hz. O mesmo ocorreu com o hidrogênio H9 do composto **M41**, que também acoplou em *trans* com H7 com  $J^3 = 17$  Hz. Já o duplete em 5,26 ppm foi atribuído ao H8 que apresentou um  $J^3 = 10$  Hz, compatível com um acoplamento em *cis* com H7. O mesmo valor de  $J^3 = 10$  Hz apareceu no duplete em 5,27 ppm do carbimidotioato **M41**, que também corresponde a um acoplamento *cis*, que foi atribuído ao hidrogênio H8 que acopla desta forma com o hidrogênio H7. Os dupletos em 4,10 e 4,07 com integral equivalente a dois hidrogênios foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos de **M40** e **M41**, respectivamente. A constante de acoplamento  $J^3 = 7$  Hz foi compatível com o acoplamento entre os hidrogênios H6 e H7.

**Tabela 11** - Principais deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , ppm) dos carbimidotioatos derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila (Inéditos).



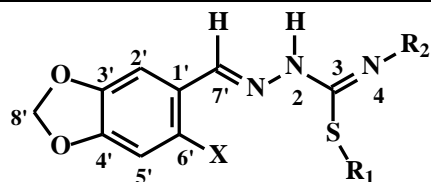
Comp	N-H (H2)	N-H (H7')	CH <sub>2</sub> (metilênod)	Outros
<b>M38</b>	9,57 (1H, sbl)	8,26 (1H, s)	6,15 (2H, s)	3,48 (sbl, 1H, H4); 2,76 (s, 3H, H5)
<b>M39</b>	9,60 (1H, sbl)	8,54 (1H, s)	6,18 (2H, s)	3,39 (sbl, 1H, H4); 2,76 (s, 3H, H5)
<b>M40</b>	9,74 (1H, sbl)	8,36 (1H, s)	6,14 (2H, s)	5,91 (m, 1H, H7); 5,42 (d, $J^3_{\text{H9-H7}} = 17$ Hz, H9); 5,26 (d, $J^3_{\text{H8-H7}} = 10$ Hz, H8); 4,10 (d, $J^3_{\text{H6-H7}} = 7$ Hz, H6) e 3,42 (sbl, 1H, H4).
				5,92 (m, 1H, H7); 5,42 (d, $J^3_{\text{H8-H7}} = 17$ Hz, H8); 5,27 (d, 1H $J^3_{\text{H8-H7}} = 10$ Hz, H8); 4,07 (d, 2H $J^3_{\text{H6-H7}} = 7$ Hz, H6) 3,43 (sbl, 1H, H4).
<b>M41</b>	9,78 (1H, sbl)	8,66 (1H, s)	6,20 (2H, s)	5,92 (m, 1H, H7); 5,42 (d, $J^3_{\text{H8-H7}} = 17$ Hz, H8); 5,27 (d, 1H $J^3_{\text{H8-H7}} = 10$ Hz, H8); 4,07 (d, 2H $J^3_{\text{H6-H7}} = 7$ Hz, H6) 3,43 (sbl, 1H, H4).
<b>M42</b>	9,63 (1H, sbl)	8,65 (1H, s)	6,20 (2H, s)	2,76 (s, 3H, H5); 2,10 (s, 3H, H4)
<b>M43</b>	9,48 (1H, sbl)	8,61 (1H, s)	6,20 (2H, s)	2,74 (s, 3H, H5); 2,10 (s, 3H, H4)

### 5.6.3 RMN $^{13}\text{C}$ e ou DEPT Q

Os principais deslocamentos químicos dos carbonos dos carbimidotioatos sintetizados são apresentados na Tabela 11. Destaca-se os deslocamentos químicos do carbono C3 que foram assinalados na faixa entre 166,73 e 166,11 ppm, e confirmaram a ocorrência da reação com a formação da dupla ligação entre o carbono C3 e o nitrogênio N4. Já nas tiossemicarbazonas o sinal atribuído aos carbonos tionílicos foram encontrados entre 178,98 e 177,51 ppm. O sinal característico do núcleo 3,4-metilenodioxila C8' foi observado entre 103,44 e 102,37 ppm. Nos carbimidotioatos **M38** e **M39**, os sinais em 14,04 e 13,89 ppm, respectivamente, foram atribuídos aos carbonos metílicos C5 que são mais blindados que os hidrogênios metílicos ligados ao nitrogênio N4 que apresentaram absorções em 31,21 ppm nos carbimidotioatos **M42** e **M43**. Os carbonos metilênicos, C6, dos carbimidotioatos **M40** e **M41** apresentaram

deslocamentos químicos de 34,17 e 34,04 ppm, respectivamente, enquanto os carbonos alílicos C7 e C8 foram atribuídos, respectivamente, em 132,18; 120,44 ppm e 132,13; 120,49 ppm.

**Tabela 12-** Deslocamentos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  ou DEPT Q (DMSO- $d_6$ , ppm) das tiossemicarbazonas derivadas do núcleo metilenodioxila (Inéditos).



X = H, Cl, Br, I;  $R_1 = \text{CH}_3$  ou  $\text{CHCHCH}_2$  e  $R_2 = \text{H}$  ou  $\text{CH}_3$

Comp.	$\delta$ (ppm)								
	C3	C5'	C6'	C7'	C8'	C6	C7	C8	C5
<b>M38</b>	166,11	106,37	126,54	151,77	102,37	-	-	-	14,04
<b>M39</b>	166,41	118,97	93,52	155,07	103,13	-	-	-	13,89
<b>M40</b>	163,23	107,26	120,49	151,09	102,38	34,17	132,18	120,44	-
<b>M41</b>	163,73	113,20	118,32	151,09	103,40	34,04	132,13	120,49	
<b>M42</b>	166,52	106,62	124,04	148,07	103,44				13,88 *
<b>M43</b>	166,34	113,16	118,04	150,43	103,35				13,81 *

\* **M42** e **M43** C4 31,21

## 5.7 Síntese de Benzotriazocínicos

A síntese dos derivados benzotriazocínicos foi realizada a partir da reação do 6-cloroacetilaminopiperonal com as respectivas fenil-hidrazinas, 4-metóxi **M44** e 2-nitro **M45** substituídas. A proposta mecanística sugere, inicialmente, a protonação do oxigênio aldeídico do 6-cloroacetilaminopiperonal que é realizada com ácido clorídrico adicionado ao meio reacional em quantidade suficiente apenas para a protonação desejada e insuficiente para protonar o oxigênio ou o nitrogênio amídico, isto é, o pH do meio reacional não deve ser inferior a 6,0. O carbocátion aldeídico então formado é atacado pelo nitrogênio N1 da fenilhidrazina aconsequente liberação de uma molécula de água leva a formação da fenilhidrazona correspondente. Numa segunda etapa o nitrogênio N2 da fenilhidrazona efetuará um ataque intramolecular ao carbono metilênico ciclizando a estrutura formando um anel de oito membros. Simultaneamente, o cloreto atacará o hidrogênio amínico formando uma molécula de ácido clorídrico que é liberada no meio

reacinal. O derivado benzotriazocínico é formado. O mecanismo proposto é apresentado na Figura 61.

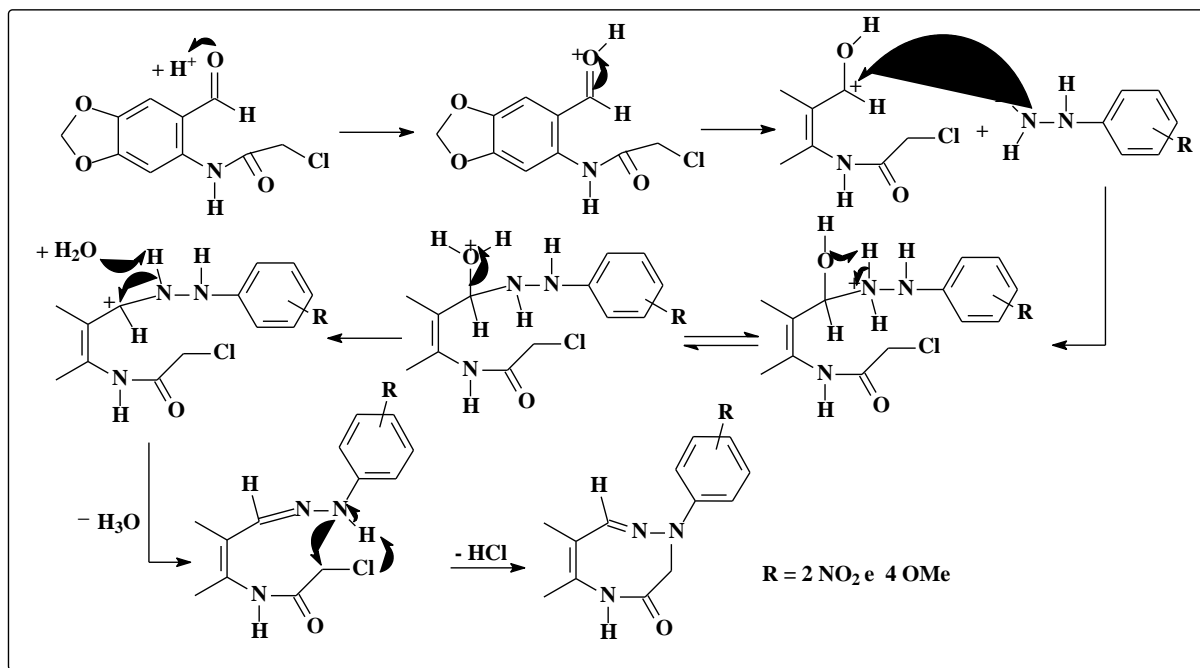


Figura 61 – Proposta mecanística para a síntese dos derivados benzotriazocínicos.

A Tabela 13 mostra os rendimentos e pontos de fusão obtidos para os derivados benzotriazocínicos M44 e M45.

Tabela 13: Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os benzotriazocínicos M44 e M45

Composto	Rend (%)	PF (°C)
8-(4-metoxifenil)-7,8-diidro[1,3]dioxo[4,5- <i>i</i> ]benzotriazocin-6-(5H)ona M44	81,4	286
8-(2-nitrofenil)-7,8-diidro[1,3]dioxo[4,5- <i>i</i> ]benzotriazocin-6-(5H)ona M45	66,0	298

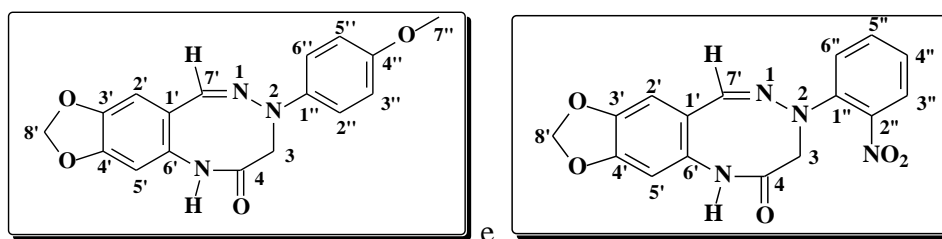
## 5.8 Análise espectroscópica dos benzotriazocínicos sintetizados

### 5.8.1 RMN $^1H$

A análise dos espectros de RMN  $^1H$  dos derivados benzotriazocínicos possibilitou a caracterização dos derivados benzotriazocínicos obtidos. A Tabela 11 mostra os deslocamentos químicos. Os espectros de RMN de  $^1H$  revelam um simpleto de base alargada em 10,88 e 10,23 ppm, respectivamente, para os compostos M45 e M44, que foram atribuídos aos hidrogênios amídicos. Os hidrogênios do grupo azometino apareceram como simpletos em 7,94 e 7,85 ppm; também respectivamente, para os compostos M45 e M44. O sinal de maior importância pode ser considerado o simpleto com integração equivalente a dois hidrogênios em 3,90 ppm para o

benzotriazocínico **M44** e de deslocamento químico 3,71 ppm para o composto 8-(2-nitrofenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]benzotriazocin-6-(5H)ona (**M45**), que foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos H3 que por seus deslocamentos revelam a ciclização, em comparação com o composto **M14**, pois os mesmos hidrogênios ciclizados foram atribuídos em 4,47 ppm, o que condiz com a desblindagem desses hidrogênios provocada pela ligação com o átomo de cloro, o que não ocorre nos benzotriazocínicos. A identidade do núcleo 3,4-metilenodioxila foi confirmada pelos simpletos com integração equivalente a dois hidrogênios em deslocamentos químicos de 6,19 e 6,10 ppm, respectivamente, para os compostos **M44** e **M45**, que foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos H8. O benzotriazocínico derivado da 4-metoxi-fenil-hidrazina apresentou um simpleto com integração de três hidrogênios em 3,82 ppm, que foram atribuídos aos hidrogênios metílicos H7'' do grupo metoxila.

**Tabela 14** - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , ppm) dos benzotriazocínicos derivados do núcleo metilenodioxila (Inéditos)



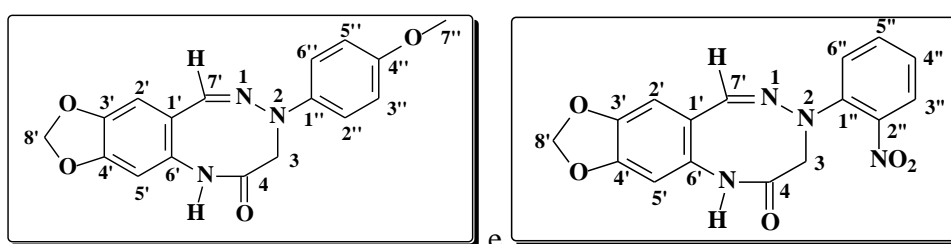
Composto	N-H (H1)	N-H (H7')	CH <sub>2</sub> (metilênod)	Outros
<b>M44</b>	10,23 (1H,sbl)	7,85 (1H, s)	6,19 (2H, s)	3,41 (s, 2H, H3); 3,82 (s, 3H, H7'')
<b>M45</b>	10,88 (1H,sbl)	7,94 (1H, s)	6,10 (2H, s)	3,71 (s, 2H, H3)

### 5.8.2 RMN DEPT Q

Os derivados benzotriazocínicos, tanto o 8-(4-metoxifenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]benzotriazocin-6-(5H)ona **M44** quanto o 8-(2-nitrofenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]benzotriazocin-6-(5H)ona **M45**, apresentaram sinais do espectro de DEPT Q compatíveis com as estruturas propostas. Os carbonos carbonílicos amídicos foram atribuídos em 165,15 e 165,91 ppm, respectivamente, para **M44** e **M45**. O carbono do grupo azometino foi assinalado em 139,97 e 138,13 ppm, respectivamente. O carbono metilênico C3 apresentou absorção em 52,15 e 53,53 ppm, respectivamente, para **M44** e **M45**, o que também mostra-se como característica da ciclização já que o carbono metilênico equivalente do composto **M14** foi atribuído em 43,70 ppm. A característica do núcleo 3,4-metilenodioxila foi observada em C8' com deslocamento químico de 101,72 e 102,29 ppm, respectivamente para os compostos **M44** e **M45**. O 8-(4-

metoxifenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]benzotriazocin-6-(5H)ona (**M44**), apresentou sinais duplicados em 115,42 ppm atribuídos aos carbonos aromáticos C3'' e C5'' e em 114,71 ppm, que foram atribuídos aos carbonos aromáticos C2'' e C6'', e, ainda, apresentou um sinal em 52,17 ppm, atribuído ao carbono metoxílico C7''. Os principais deslocamentos químicos dos carbonos podem ser visualizados na Tabela 12. Ressalta-se que as atribuições foram realizadas com espectros de experimentos de DEPT Q que permitiu a diferenciação entre carbonos quaternários e metilênicos de carbonos metílicos e metínicos.

**Tabela 15** - Deslocamentos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  ou DEPT Q (DMSO- $d_6$ , ppm) dos benzotriazocínicos derivados do núcleo metilenodioxila.



Composto	C9 <sub>amí</sub>	C7'	C8'	Outros
<b>M44</b>	165,15	139,97	101,72	55,69 C3; 52,15 C7''; 114,71 *, 115,42 ** e 148,06 ***
<b>bztzc</b>				53,52 C3; 149,27 C4'; 148,27 C3'; 146,65 C2''; 145,63
	<b>M45</b>	165,91	138,13	102,29

\* (2C, C2'' e C6''); \*\* (2C, C3'' e C5''); \*\*\* (1C, C4'')

## 5.9 Modelagem Molecular

A Modelagem Molecular é uma importante ferramenta para a pré-seleção de compostos para um determinado objetivo. Neste trabalho, o uso desta ferramenta serviu, inicialmente, para a pré-determinação de capacidades de densidade eletrônica sobre os átomos passíveis de atuarem como doadores de elétrons em uma complexação (X, S e N), assim, como revelar algumas características químicas das tiossemicarbazonas a serem sintetizadas.

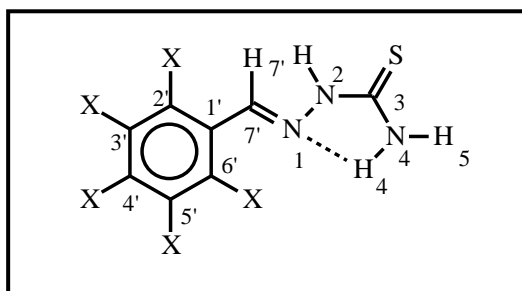


Figura 62 – Estrutura da tiossemicarbazona com a ligação hidrogênio entre H4 e N1.

Observa-se que as ligações N-C-N apresentam um comprimento de ligação muito próximo ao observado para as duplas ligações (C=C, 1,201-1,246 Å) enquanto na ligação C-S (1,685 Å) ocorre o inverso, indicando que o átomo de enxofre apresenta característica de ligação simples (Tabela 19). O caráter parcialmente, duplo da ligação C-N pode ser claramente observado através dos espectros de RMN  $^1\text{H}$ , uma vez que os hidrogênios amínicos de N4 aparecem como sinais distintos, de base larga, geralmente entre 8,00-8,30 ppm, porém dependendo dos ligantes podem absorver entre 7,30-8,50 ppm. Isto ocorre devido ao estabelecimento de uma ligação hidrogênio entre o nitrogênio imínico N1 e um dos hidrogênios amínicos de N4. Tal fato também é corroborado pela restrição de rotação da ligação C-N devido ao caráter de dupla ligação envolvido na ligação mencionada. No caso em tela observamos dois singletos de base larga entre 7,50 e 8,50 ppm sendo que para a hidrogênio H4 temos um deslocamento maior, isto se explica devido a formação da ligação hidrogênio que diminui a densidade eletrônica ao redor do hidrogênio H4 levando-o a absorver em frequências mais altas (Figura 62).

Os experimentos de modelagem foram realizados com um conjunto de seis tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila substituídas na posição seis. Utilizou-se um computador Pentium IV 2.4 Gb 333 MHz e 40 Gb/RAM, enquanto o programa escolhido foi o SPARTAN PRO e o método semi-empírico.

As tiossemicarbazonas são produtos de reações conjugadas de adição e eliminação de compostos carbonilados com a tiossemicarbazida correspondente. A reação leva a formação de uma dupla ligação entre o carbono originalmente carbonílico e o nitrogênio 1 da tiossemicarbazida; desta forma pode-se ter a produção de estereoisômeros *E* e *Z*. A maior estabilidade termodinâmica das tiossemicarbazonas *E* pode ser comprovada através dos dados de  $\Delta H_f$ , dispostos na tabela 1, esse fato corrobora dados experimentais obtidos por Temperine e colaboradores (1995), que mostraram a predominância da forma *E* da 2-formil-piridina tiossemicarbazona em DMSO e em meio aquoso. Assim, como regra geral, segundo Costa e



colaboradores, 2003, tem-se que tiossemicarbazonas derivadas de aldeídos tendem a formar preferencialmente, o estereoisômero *E*, termodinamicamente mais estável, já tiossemicarbazonas derivadas de cetonas assimétricas a proporção entre os isômeros *E* e *Z* dependerá dos substituintes ligados à carbonila. A Tabela 16 mostra os resultados dos cálculos semi-empíricos realizados com as tiossemicarbazonas.

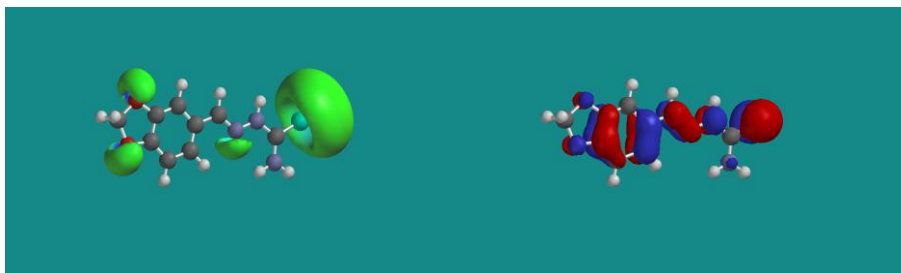
**Tabela 16:** Comparação entre as Energias mínimas, Entalpias de formação e Energias de HOMO dos estereoisômeros *E* e *Z* das tiossemicarbazonas ensaiadas (Semi-empírico AM-1).

Isômeros <i>E</i>	E Mín (Kcal/mol)	$\Delta H_f$ (Kcal/mo)	E HOMO (ev)	Isômeros <i>Z</i>	E Mín (Kcal/mol)	$\Delta H_f$ (Kcal/mol)	E HOMO (ev)
H	-3.6989	22.067	- 8.7499	H	18.2334	28.361	-8.4630
<b>NO<sub>2</sub></b> *	1.1319	30.266	- 8.9341	<b>NO<sub>2</sub></b> *	9.5467	27.577	-8.9707
<b>NH<sub>2</sub></b>	6.7029	21.648	- 8.4272	<b>NH<sub>2</sub></b>	25.8399	25.591	-8.3803
OH	-8.6840	-20.253	- 8.7965	OH	3.0550	-23.943	-8.6655
<b>Br</b> *	-6.7983	29.556	- 8.8862	Br	10.2333	29.515	-8.7682
CN	-6.7777	55.475	- 8.8924	CN	14.8129	62.775	-8.5736

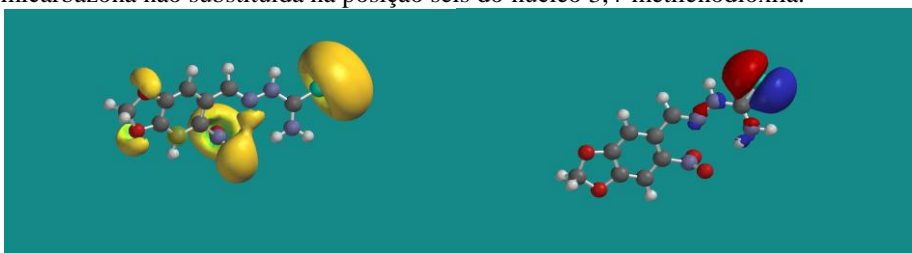
Observação: Nos cálculos dos estereoisômeros *E* os derivados nitro e bromo e do estereoisômero *Z* do derivado nitro os ângulos da ligação entre C<sub>3</sub> do anel benzênico e C<sub>1</sub> foram modificados, automaticamente, pelo programa objetivando um mínimo de energia conformacional dentro da configuração requerida.

Considerando o exposto acima, as tiossemicarbazonas avaliadas neste trabalho tiveram suas energias mínimas calculadas a partir de configurações iniciais dos estereoisômeros *E*. A análise das propriedades eletrônicas pode ser realizada tanto pela observação visual dos orbitais moleculares de fronteira, quanto, pelos valores de densidade eletrônica de HOMO e carga de potencial eletrostático de átomos escolhidos.

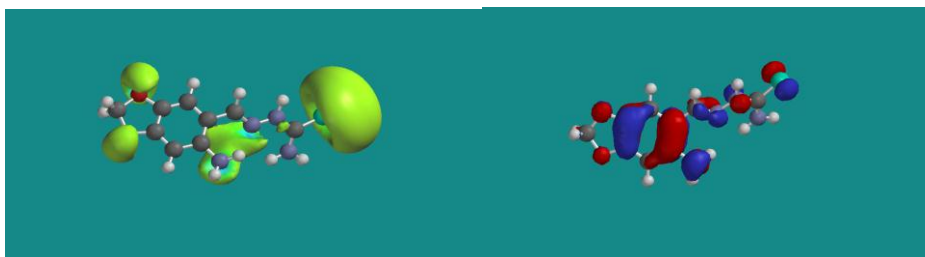
A teoria dos orbitais moleculares de fronteira um bom nucleófilo tem alta energia HOMO, enquanto um nucleófilo ruim apresenta baixa energia HOMO, já um bom eletrófilo tem baixa energia LUMO enquanto um eletrófilo ruim de alta energia LUMO, (VASCONCELLOS & LIMA JUNIOR, 2009). Logo, uma análise sobre a reatividade e a regioselectividade pode também ser feita observando as maiores ou menores concentrações de elétrons nos átomos de HOMO. Figuras de 63 a 68.



**Figura 63** – Representação do potencial eletrostático (esq) e do HOMO (dir) do estereoisômero *E* (*anti*) em relação a N-S da tiossemicarbazona não substituída na posição seis do núcleo 3,4-metilenodioxila.



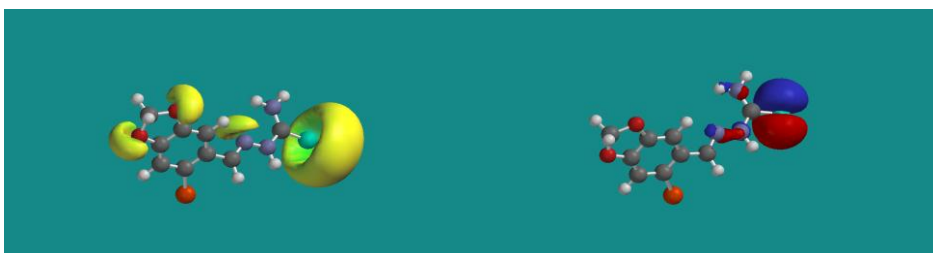
**Figura 64** – Representação do potencial eletrostático (esq) e do HOMO (dir) do estereoisômero *E* (*anti*) em relação a N-S da 6-nitro-tiossemicarbazona derivada.



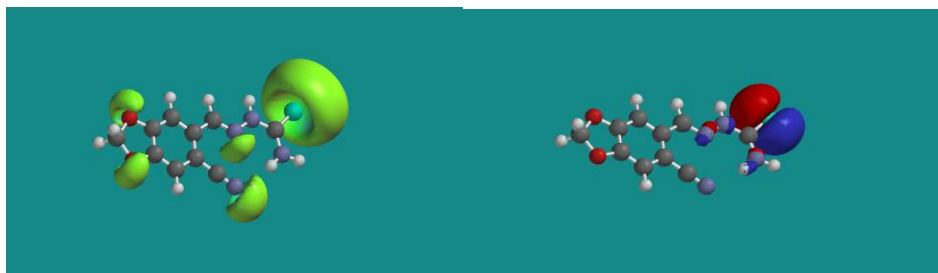
**Figura 65** – Representação do potencial eletrostático (esq) e do HOMO (dir) do estereoisômero *E* (*anti*) em relação a N-S da 6-amino-tiossemicarbazona derivada.



**Figura 66** – Representação do potencial eletrostático (esq) e do HOMO (dir) do estereoisômero *E* (*anti*) em relação a N-S da 6-hidroxi-tiossemicarbazona derivada.



**Figura 67** – Representação do potencial eletrostático (esq) e do HOMO (dir) do estereoisômero *E* (*anti*) em relação a N-S da 6-bromo-tiossemicarbazona derivada.



**Figura 68** – Representação do potencial eletrostático (esq) e de HOMO (dir) estereoisômero *E* (*anti*) em relação a N-S da 6-ciano-tiossemicarbazida derivada.

De outra forma, procurou-se avaliar a disponibilidade eletrônica dos orbitais ligantes, nos átomos de uma mesma molécula. Assim, as maiores densidades de carga representarão as melhores regioseletividades obtidas para as tiossemicarbazonas ensaiadas. Logo, procurou-se avaliar as propriedades eletrônicas dessas tiossemicarbazonas através na análise dos seguintes parâmetros: cargas atômicas derivadas do potencial eletrostático e densidade eletrônica do HOMO dos átomos reconhecidamente envolvidos nos processos de interações (Tabela 17). De forma geral, as densidades de HOMO de N<sub>2</sub> são maiores de que as densidades de HOMO de N<sub>1</sub>, isto reflete a possibilidade de ressonância do sistema N<sub>2</sub> – S com a deslocalização dos elétrons enquanto o átomo N<sub>1</sub> não participa deste sistema ressonante, logo possuindo um maior potencial eletrostático (Tabela 17).

**Tabela 17.** Energias mínimas e entalpia de formação (Kcal/mol), energias de HOMO (ev), cargas de potencial eletrostático e densidade eletrônicas de HOMO dos estereoisômeros *E* das tiossemicarbazonas ensaiadas, respectivamente, substituídas na posição seis do anel derivado do 3,4-metilenodioxibenzaldeído pelos grupos nitro, amino, hidróxi, bromo e ciano. (Semi-empírico AM-1).

Com posto	E Mín (Kcal/mol)	$\Delta H_f$ (Kcal/mol)	E HOMO (ev)	Cargas			Densidade Eletrônica		
				Potencial Eletrostático			HOMO		
				N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	S	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	S
H	-3.6989	22.067	- 8.7499	- 0.3752	- 0.0017	- 0,5037	0.100	0.328	0.549
NO <sub>2</sub>	1.1319	30.266	- 8.9341	- 0.2767	- 0.0593	- 0.4912	0.025	0.056	1.830
NH <sub>2</sub>	6.7029	21.648	- 8.4272	- 0.3120	- 0.2491	- 0.5396	0.076	0.108	0.114
OH	-8.6840	-20.253	- 8.7965	- 0.3001	- 0.2523	- 0.5193	0.093	0.217	0.406
Br	-6.7983	29.556	- 8.8862	- 0.3411	- 0.0674	- 0.5031	0.026	0.060	1.831
CN	-6.7777	55.475	- 8.8924	- 0.2759	- 0.0143	- 0.4917	0.026	0.052	1.850

Observação: Os dados relacionados acima referem-se aos estereoisômeros *E* das tiossemicarbazonas ensaiadas na conformação mais estável, *anti* em relação aos átomos de N<sub>1</sub> e S; Os derivados nitro e bromo tiveram os ângulos da ligação entre C<sub>3</sub> do anel benzênico e C<sub>1</sub>, modificados automaticamente pelo programa.

A análise dos efeitos eletrônicos descrita acima levou em consideração uma inicial análise estereoquímica que se concentrou sobre dois aspectos; a) a maior estabilidade entre os

estereoisômeros *E* e *Z* embora já seja de conhecimento que genericamente, os estereoisômeros *E* são mais estáveis, isto foi determinado observando-se as energias mínimas e as entalpias de formação (Tabela 18) e desta forma, concluiu-se que os estereoisômeros *E*, para os compostos ensaiados são mais estáveis. b) a uma análise de confôrmeros, que se restringiu a observação de estados limites entre os confôrmeros *sin* e *anti* em relação às posições de N<sub>1</sub> e S com giro de aproximadamente 180,00° na ligação N<sub>2</sub> – C<sub>2</sub> (Tabela 18) e observou-se então que os confôrmeros *anti* apresentam os menores valores tanto do mínimo de energia quanto de entalpia de formação.

**Tabela 18.** Energias mínimas e entalpia de formação (Kcal/mol), energias de HOMO (ev) e ângulos diedros entre N<sub>1</sub> N<sub>2</sub> C<sub>2</sub> S dos esterioisômeros *E* (*anti*) e (*sin*) e ainda Energias mínimas e entalpia de formação (Kcal/mol) dos estereoisômeros *Z* das tiossemicarbazonas ensaiadas, respectivamente, substituídas na posição seis do anel derivado do 3,4-metilenodioxibenzaldeído pelos grupos nitro, amino, hidroxí, bromo e ciano. (Semi-empírico AM-1).

6-X	Estereoisômeros <i>E</i> ( <i>anti</i> )				Estereoisômeros <i>E</i> ( <i>sin</i> )				Estereoisômeros <i>Z</i>	
	E Mín (Kcal/mol)	ΔH <sub>f</sub> (Kcal/mol)	E HOMO (ev)	Ângulo (°) N <sub>1</sub> -N <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> -S	E Mín (Kcal/mol)	ΔH <sub>f</sub> (Kcal/mol)	E HOMO (ev)	Ângulo (°) N <sub>1</sub> -N <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> -S	E Mín (Kcal/mol)	ΔH <sub>f</sub> (Kcal)
H	-3.6989	22.067	- 8.7499	-179,41	8.2106	31.647	-8.5082	1.21	18.2334	28.361
NO <sub>2</sub>	1.1319	30.266	- 8.9341	-179,93	11.2209	39131	-8.6340	-0.21	9.5467	27.577
NH <sub>2</sub>	6.7029	21.648	- 8.4272	-173,38	16.9658	29.509	-8.0562	-2.48	25.8399	25.591
OH	-8.6840	-20.253	- 8.7965	172,42	1.3350	-11.793	-8.5522	1.10	3.0550	23.943
Br	-6.7983	29.556	- 8.8862	176,68	11.0527	39.369	-8.5450	-2.49	10.2333	29.515
CN	-6.7777	55.475	- 8.8924	179,99	9.1094	67.320	-8.5704	-10.13	14.8129	62.775

A partir dos resultados para os diversos derivados pode-se observar quando se compara as cargas de potencial eletrostático dos átomos N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub> e S entre grupos substituintes reconhecidamente ativantes “NH<sub>2</sub> e OH” com grupos desativantes “NO<sub>2</sub>, CN e Br”, que o N<sub>1</sub> é o átomo que apresenta maior potencial eletrostático quando comparado a N<sub>2</sub> com grandes diferenças quando o grupo ligado na posição seis é desativante; enquanto essa diferença diminui quando o grupo ligado é ativante; independente da situação, embora também apresente influência, o átomo de enxofre apresentará as maiores densidades eletrônicas de HOMO e de potencial eletrostático, sendo o sítio reacional preferencial.

Quanto à análise estrutural, observa-se que as tiossemicarbazonas não substituídas apresentam estrutura aproximadamente planar com o átomo de enxofre em posição *anti* em relação ao átomo de nitrogênio N<sub>1</sub> da função imina. Fatores eletrônicos e estéricos contribuem

para esse arranjo estrutural, porém, possivelmente o fator mais importante é que o átomo de enxofre em posição *anti* possibilita a ocorrência de ligação hidrogênio intra-molecular entre o N<sub>1</sub> e um dos hidrogênios terminais do grupamento amino (CASAS *et al*, 2000). No caso específico das tiossemicarbazonas ensaiadas observa-se uma estrutura, praticamente planar para a tiossemicarbazona não substituída derivada do núcleo 3,4-metilenodioxila, enquanto as demais tiossemicarbazonas substituídas apresentam um ângulo diedro entre os anéis derivados do núcleo metilenodioxila e o restante da estrutura com maior ou menor torção dependendo do substituinte (Tabela 19).

Os hidrogênios amínicos terminais são diastereoisoméricos quando ocorre à possibilidade de formação de ligação hidrogênio e neste caso, tal evento pode ser facilmente comprovado através de dados de RMN de H<sup>1</sup> (JOUAD *et al*, 2001). Dentre as tiossemicarbazonas estudadas o evento mais significativo ocorre com a hidroxí-tiossemicarbazona onde diferentemente de outras tiossemicarbazonas, observa-se uma ligação hidrogênio entre o hidrogênio da hidroxila e o nitrogênio N<sub>1</sub> com distância de 1,807 Å (Tabela 19).

Outra importante análise está relacionada à possibilidade de deslocalização eletrônica, e neste caso a coplanaridade do núcleo é de fundamental importância. Assim, no caso, da tiossemicarbazida como no caso da 3,4-metilenodioxítiossemicarbazona onde existe essa coplanaridade pode-se observar que as ligações do sistema C-N-N-C-S apresentam um valor intermediário entre os valores observados de simples ligações e duplas ligações, o que juntamente com a favorável localização dos orbitais justifica a deslocalização eletrônica. Pode-se observar também que, à medida que aumenta o ângulo de torção do anel derivado do aldeído em relação à tiossemicarbazida a possibilidade da ligação hidrogênio entre o hidrogênio amínico terminal e o nitrogênio imínico diminui. No caso do substituinte hidroxí e do amino a proximidade maior acontece entre o hidrogênio da hidroxila e o átomo de nitrogênio, e na outra molécula entre o átomo de hidrogênio amínico ligado ao anel benzênico e o nitrogênio imínico do que entre o hidrogênio amínico terminal, diferentemente do que acontece quando existe uma planaridade molecular. Dados de distâncias internucleares estão relacionados na Tabela 19.

A distorção do derivado bromado, possivelmente devido às repulsões eletrônicas, leva a um aumento da distância na ligação N<sub>1</sub> – H<sub>5</sub>. A diminuição da ligação C<sub>2</sub> – S<sub>1</sub> expressa um caráter mais próximo de uma dupla ligação do que os demais derivados e isto pode ser explicado como consequência da distorção do ângulo diedro entre C<sub>5</sub> – C<sub>3</sub> – C<sub>1</sub> – N<sub>1</sub> o que provoca o desalinhamento dos orbitais impedindo a ressonância.

**Tabela 19** – Energias mínimas (Kcal/mol), distâncias internucleares entre átomos (Å) e ângulos diedros (graus) dos estereoisômeros *E* das tiossemicarbazonas ensaiadas na conformação mais estável (*anti*) entre os átomos de N<sub>1</sub> e S.

<b>6-X</b>	E mínima (Kcal/mol)	Distância C <sub>1</sub> -N <sub>1</sub> Å	Distância N <sub>1</sub> -N <sub>2</sub> Å	Distância N <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> Å	Distância C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub> Å	Distância C <sub>2</sub> -S <sub>1</sub> Å	Distância N <sub>1</sub> -H <sub>5</sub> Å	Ângulo D C <sub>5</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>1</sub> -N <sub>1</sub>
H	-3.6989	1.296	1.368	1.367	1.353	1.658	2.222	179,95°
NO <sub>2</sub>	1.1319	1.292	1.364	1.369	1.353	1.659	2.238	-179,39°
NH <sub>2</sub>	6.7029	1.298	1.366	1.367	1.355	1.658	2.261	178,25°
OH*	-8.6840	1.298	1.366	1.366	1.354	1.659	2.303	-178,76°
Br	-6.7983	1.307	1.330	1.415	1.395	1.623	2.607	132,03°
CN	-6.7777	1.291	1.362	1.368	1.353	1.659	2.236	180,00°

(\*) A distância entre o hidrogênio da hidroxila e N<sub>1</sub> foi de 1.807 Å;

(\*\*) As distâncias padrão, para a tiossemicarbazida, entre C sp<sup>2</sup>-N imínico, N- C sp<sup>2</sup>, C sp<sup>2</sup>- S e C sp<sup>2</sup>-N são respectivamente de: 1,280 Å; 1,449 Å; 1,471 Å; 1,583 Å e 1,471 Å

A análise dos dados relacionados nas Tabelas 16, 17, 18 e 19, além das observações visuais das maiores ou menores “concentrações eletrônicas” nos átomos de HOMO e dos potenciais eletrostáticos apresentados nas Figuras de 63 a 68, de algumas das tiossemicarbazonas tratadas no presente trabalho, permite concluir que:

- Os grupos ligados na posição seis derivado do núcleo 3,4-metilenodioxila influenciam as propriedades das tiossemicarbazonas, particularmente, sobre a densidade de HOMO e sobre o potencial eletrostático dos átomos reconhecidamente envolvidos em interações com outras estruturas;
- As propriedades eletrônicas são influenciadas pela estereoquímica dos derivados e que a estereoquímica conformacional é influenciada pelos substituintes;
- Grupos ativantes NH<sub>2</sub> e OH aumentam a densidade eletrônica de HOMO sobre o sobre o anel benzênico e diminuem sobre o enxofre; enquanto grupos desativantes NO<sub>2</sub>, CN e Br aumentam consideravelmente sobre o enxofre;
- As substituições mantêm a menor intensidade de carga do potencial eletrostático do nitrogênio imínico sobre o N<sub>2</sub>, porém a relação da carga de potencial eletrostático de N<sub>1</sub>/ N<sub>2</sub> aumenta drasticamente de grupos desativantes para grupos ativantes;
- Os grupos substituintes, ativantes ou desativantes, diminuem as cargas potenciais e as densidades eletrônicas de HOMO sobre o átomo de nitrogênio imínico em relação à tiossemicarbazona não substituída, sendo a contribuição dos desativantes maior que a dos ativantes.
- As substituições, por grupos ativantes, priorizam a ligação através do átomo de enxofre diminuindo a contribuição do átomo de nitrogênio imínico em um possível sistema bidentado.

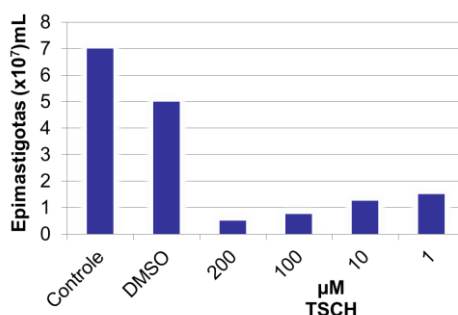
Assim, por todo o exposto conclui-se que os grupos substituintes alteram o perfil eletrônico das tiossemicarbazonas mudando os potenciais eletrostáticos e as densidades de HOMO dos átomos envolvidos. Conclui-se também que a estereoquímica das substâncias é de fundamental importância para a análise das propriedades eletrônicas dos compostos estudados.

## 5.10 - Avaliações Biológicas

### 5.10.1 - Avaliação das tiossemicarbazonas frente a *T. cruzi*

Inicialmente, três tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila, **M16** (não-substituída), **M17** (nitro-substituída) e **M25** (metoxi-substituída), foram submetidas a ensaios *in vitro* para avaliação da atividade tripanomicida frente a *T. cruzi* na forma de epimastigotas. A seleção das tiossemicarbazonas ocorreu em função da natureza dos substituintes, ou seja, considerando os efeitos eletrônicos dos substituintes de retirador e doador de elétrons além do derivado não-substituído. Os ensaios foram conduzidos, em triplicata, na presença das tiossemicarbazonas na faixa de concentração de 100, 50, 25 e 12,5  $\mu\text{M}$  por 24 h e, o controle positivo utilizado foi o benzonidazol. Dentre as tiossemicarbazonas ensaiadas apenas a não-substituída apresentou atividade significativa com  $\text{IC}_{50} = 25 \mu\text{M}$ . A Figura 69 mostra o gráfico obtido para o percentual de inibição *versus* concentração bem como os controles, para a tiossemicarbazona não-substituída **M16** frente a *T. cruzi* na forma evolutiva de epimastigota. Aqui vale ressaltar o resultado desanimador referente à tiossemicarbazona nitro-substituída, já que o grupo nitro é reconhecido como grupo farmacofórico de presença importante nos fármacos antitripanossômicos (CARVALHO *et al.*, 2007). Assim, de forma surpreendente o composto M17 não apresentou atividade tripanocida. A propalada ação oxidante do grupo não se fez manifestar e ainda sugere que a sua posição na molécula além de dificultar a ação quelante das tiossemicarbazonas impedindo especialmente os átomos ligantes (nitrogênio e enxofre) ainda contribui por ressonância para diminuir a intensidade eletrônica sobre os átomos desses ligantes. A Figura 69 mostra os resultados para a tiossemicarbazona não-substituída.

O gráfico mostra os resultados para a tiossemicarbazona não-substituída derivada do piperonal.



**Figura 69.** Gráfico do número de epimastigotas de *T. cruzi* x concentração da **M16** após 24h de incubação.

Após o resultado promissor para **M16**, 10 tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila foram ensaiadas frente a *T. cruzi* na forma de epimastigotas. As concentrações utilizadas foram de 100, 50, 25 e 12,5 µM em ensaios de 24 h. Dentre as 10 tiossemicarbazonas ensaiadas 5 mostraram atividade tripanomicida abaixo de 100 µM, sendo que 3 delas com valores de IC<sub>50</sub> muito promissores, ou seja, a iodo-substituída (**M22**) IC<sub>50</sub> = 7,00 µM, a amino-substituída **M18** com IC<sub>50</sub> = 7,62 µM e a dicloroacetilamino-substituída **M26** com IC<sub>50</sub> = 9,00 µM. A Tabela 20 mostra os resultados obtidos.

Foram realizados, também, ensaios frente a macrófagos da linhagem celular J774-A1 para avaliação da citotoxicidade e cálculo do índice de seletividade em relação aos valores de IC<sub>50</sub> obtidos na avaliação da atividade tripanomicida. Os resultados indicaram a tiossemicarbazona iodo-substituída com melhor índice de seletividade e, portanto menor citotoxicidade. A Tabela 20 mostra os resultados obtidos.



**Tabela 20.** Resultados da avaliação tripanomicida frente à epimatigotas de *T. cruzi* e citotoxicidade frente a linhagem celular J774-A1.

<b>6-X</b>	<b>Citotoxicidade</b>	<b>Atividade tripanomicida</b>		<b>Índice de Seletividade</b>
	<b>IC<sub>50</sub> (μM)</b>	<b>% Inibição</b>	<b>Concentração (μM)</b>	
Br	ND	42,6	100	ND
Cl	12,8	34,9	100	0,34
OH	17	50,0	67	0,25
CN	2,3	50,0	84,5	0,027
H	17,3	0	100	0
F	10	0	100	0
NH <sub>2</sub>	12	50	7,62	1,57
I	279	50	7	39,85
NO <sub>2</sub>	ND	ND	ND	ND
NHCOCH <sub>2</sub> Cl	57	50	9	6,33

ND: Não determinada

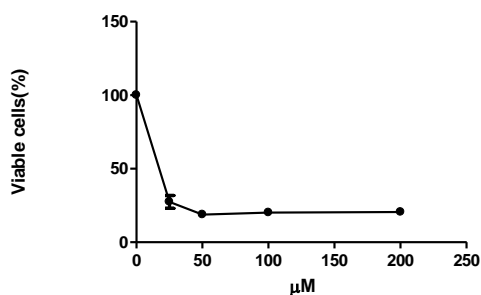
### 5.10.2 - Avaliação das tiossemicarbazonas frente a *L. amazonensis*

A atividade anti-leishmania, inicialmente, frente à promastigotas de *L. amazonensis* foi avaliada para as 10 tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila em ensaios de 72 h na faixa de concentração de 25 a 200 μM.

**Tabela 21 -** Resultados da avaliação tripanomicida frente à promastigotas de *L. amazonensis*

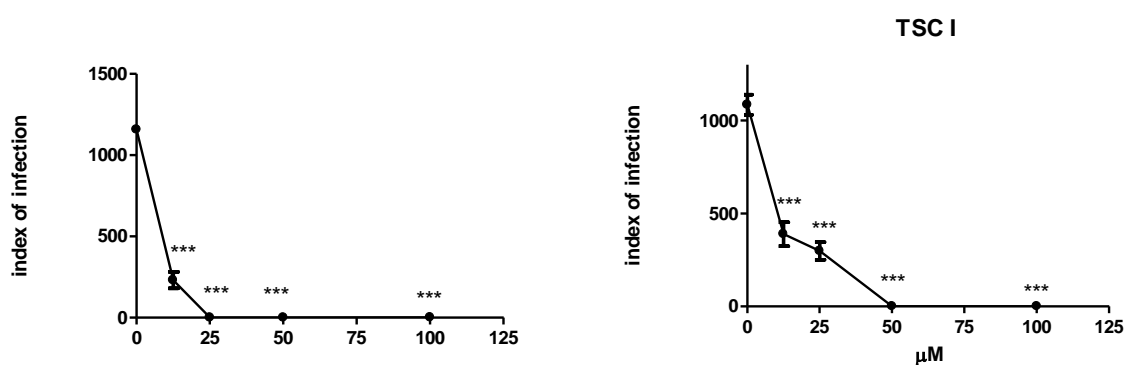
<b>TIOSEMICARBAZONAS (6-X)</b>	<b>IC<sub>50</sub> (μM)</b>
NHCONH <sub>2</sub> Cl	256,3
H	79,7
F	197,3
NH <sub>2</sub>	118,8
NO <sub>2</sub>	270,8
Br	202,3
Cl	243,9
<b>OH</b>	<b>53,03</b>
<b>CN</b>	<b>16,37</b>
<b>I</b>	<b>20,74</b>

Os resultados obtidos mostraram atividade anti-leishmania com valores de 50% de inibição do crescimento dos parasitas para as tiossemicarbazonas iodo e ciano-substituídas em concentrações abaixo de 50  $\mu\text{M}$ , destacando-se a tiossemicarbazona iodo-substituída que apresentou  $\text{IC}_{50}$  na ordem de 20,74  $\mu\text{M}$ , conforme Figura 70.



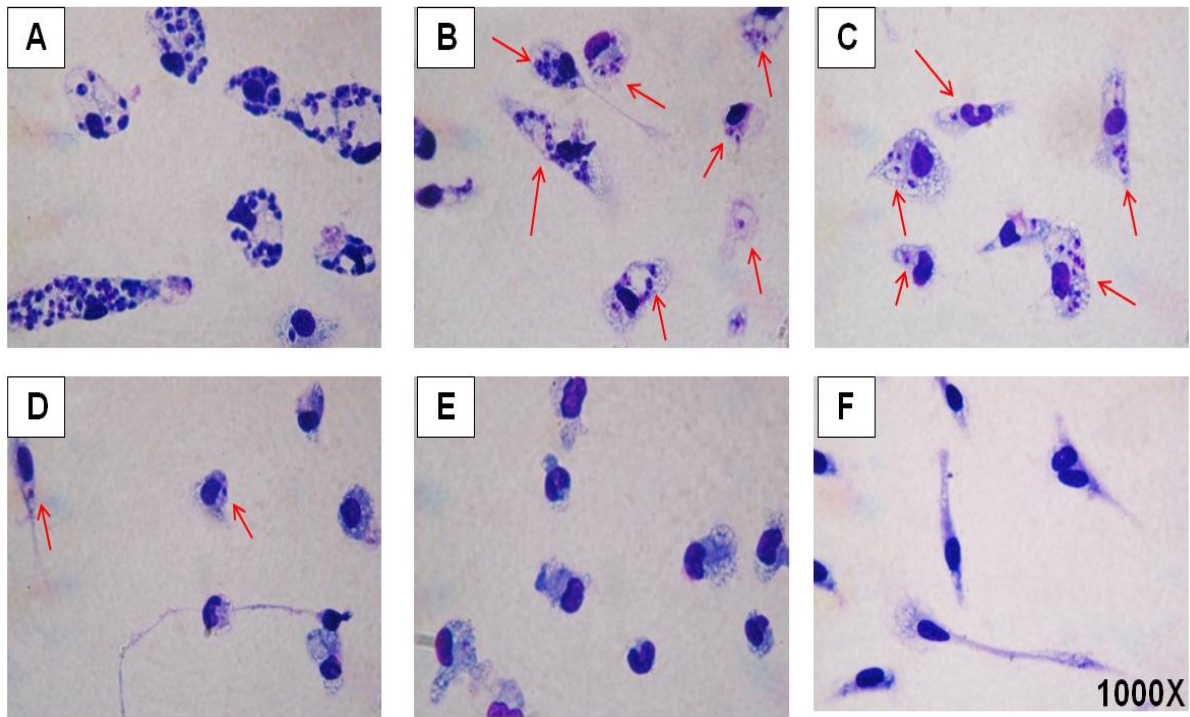
**Figura 70.** Gráfico de viabilidade celular de promastigotas de *L. amazonensis* x concentração da tiossemicarbazona iodo-substituída em  $\mu\text{M}$ .

Posteriormente, foram realizados ensaios com as tiossemicarbazonas que apresentaram atividade leishmanicida significativa com 50% de inibição do crescimento parasitário abaixo de 50  $\mu\text{M}$ , frente a macrófagos murinos infectados com amastigotas de *L. amazonensis*. Os resultados obtidos se apresentaram muito promissores com valores de  $\text{IC}_{50} = 10,37 \mu\text{M}$  para a tiossemicarbazona ciano-substituída e  $\text{IC}_{50} = 9,45 \mu\text{M}$  para a iodo-substituída (Figura 71).

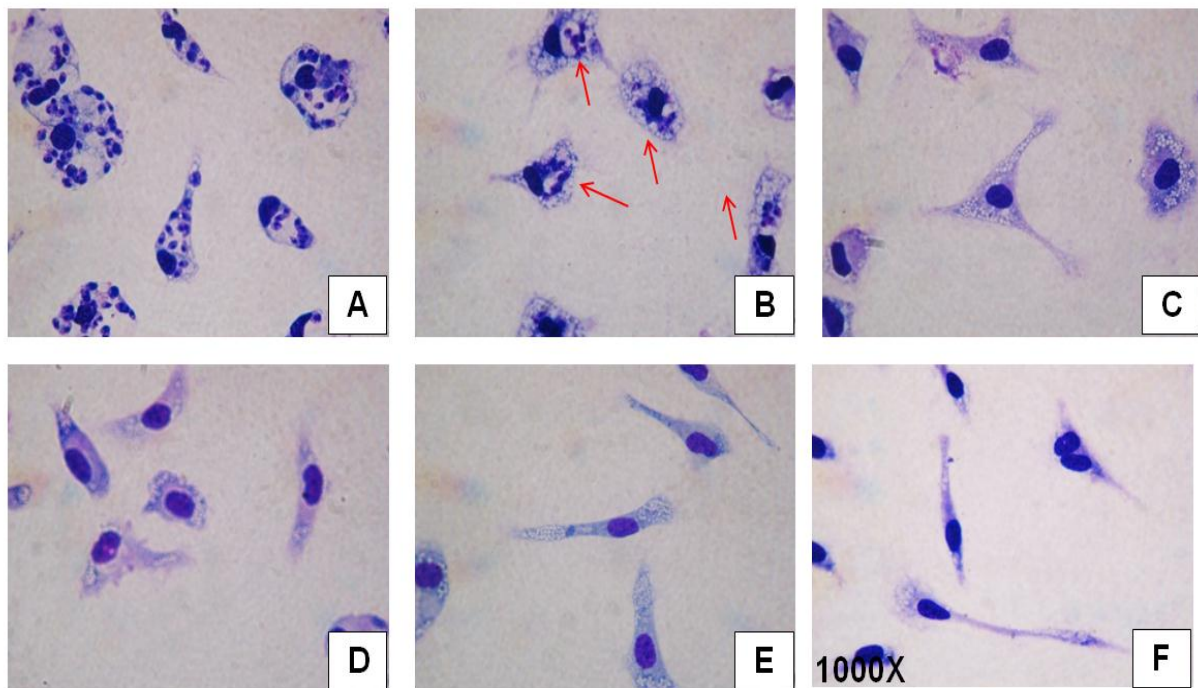


**Figura 71.** Gráficos de índice de infecção x concentração em  $\mu\text{M}$  para **M23** (tiossemicarbazona ciano substituída) à esquerda e **M22** (tiossemicarbazona iodo substituída) à direita, frente a macrófagos infectados com amastigotas de *L. amazonensis* em ensaios de 72 h.

Os ensaios contendo macrófagos murinos infectados tratados com as tiossemicarbazonas **M22** e **M23**, bem como o controle negativo, após 72 h de incubação foram microfotografados indicando, conforme pode ser observado nas Figuras 72 e 73, que houve morte dos parasitas e, que os macrófagos ficaram viáveis.



**Figura 72:** Fotomicrografia de macrófagos infectados e tratados com TSC iodo. Macrófagos peritoneais murinos infectados com *L. amazonensis* e incubados com TSC iodo. Após 72 horas, as lâminas foram coradas e os parasitos quantificados por microscopia óptica. (A) Controle; (B) TSC iodo (12,5  $\mu\text{M}$ ); (C) TSC iodo (25  $\mu\text{M}$ ); (D) TSC iodo (50  $\mu\text{M}$ ); (E) TSC iodo (100  $\mu\text{M}$ ); (F) Macrófagos não infectados.



**Figura 73:** Fotomicrografia de macrófagos infectados e tratados com TSC ciano. Macrófagos peritoneais murinos infectados com *L. amazonensis* e incubados com TSC ciano. Após 72 horas, as lâminas foram coradas e os parasitos quantificados por microscopia óptica. (A) Controle; (B) TSC ciano (12,5  $\mu\text{M}$ ); (C) TSC ciano (25  $\mu\text{M}$ ); (D) TSC ciano (50  $\mu\text{M}$ ); (E) TSC ciano (100  $\mu\text{M}$ ); (F) Macrófagos não infectados.

## 5.11 - Avaliação da Atividade Quelante das tiossemicarbazonas frente a $\text{Fe}^{+2}$ e $\text{Zn}^{+2}$

O interesse em avaliar a atividade quelante frente ao  $\text{Fe}^{+2}$  para as tiossemicarbazonas que apresentaram atividade tripanomicida e leishmanicida, conforme relatado na Introdução deste trabalho, envolve a importância de íons de ferro para os tripanossomatídeos, pois os tripanossomatídeos apresentam grande necessidade desses íons para o seu metabolismo (MALAFAIA, 2008). E, quanto à avaliação da atividade quelante frente ao  $\text{Zn}^{+2}$ , de acordo, também como descrito na Introdução, nos tripanossomatídeos a enzima superóxido dismutase contém um átomo de ferro em seu sítio ativo, enquanto que no hospedeiro humano a enzima contém em seu sítio ativo um átomo de zinco ou manganês sendo o átomo de ferro ausente em células de eucariotos (Le TRANT *et al.*, 1983).

Assim, a avaliação da atividade quelante frente ao ferro e ao zinco foi realizada utilizando-se método espectrofotométrico na região do UV-visível, sendo calculado o percentual do efeito quelante, bem como o número de coordenação para as tiossemicarbazonas que apresentaram ação leishmanicida e tripanomicida relevante.

A habilidade das amostras formarem quelantes com os íons de  $\text{Fe}^{+2}$  foi calculada usando a equação 1 e expressa em porcentagem. (LIM *et al.*, 2009)

$$\text{Efeito quelante (\%)} = -[1 - (A_{\text{amostra}}/A_{\text{controle}})] \times 100\% \quad (1)$$

A estequiometria dos complexos das tiossemicarbazonas com íons de  $\text{Fe}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$  foi investigada através de uma metodologia simples visando confirmar o efeito quelante desses ligantes orgânicos. Assim, utilizou-se o método de Mollard, onde se aplica a equação 2 que é experimental (JUNIOR & CROUCH, 1998).

$$l/m = C_l \times A_m / C_m \times A_l \quad (2)$$

onde,  $l/m$  = razão entre ligante e metal

$C_l$  = concentração do ligante

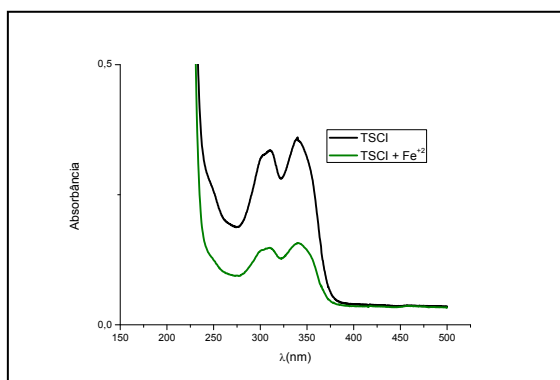
$C_m$  = concentração do metal

$A_l$  = absorvância do ligante

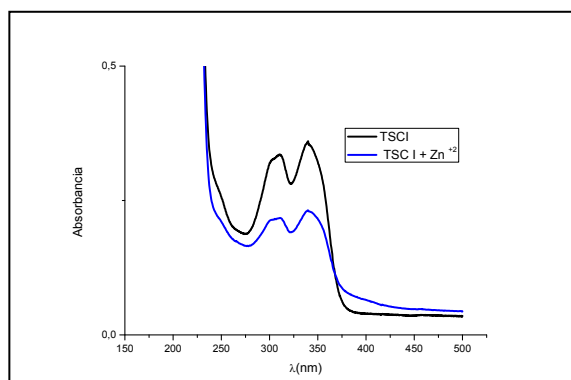
$A_m$  = absorvância do metal

As absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu Mini UV-Vis 1240) com as soluções contidas em cubeta de quartzo (1,7 mL).

Os resultados obtidos foram muito interessantes indicando o maior efeito quelante das substâncias ensaiadas para o  $\text{Fe}^{+2}$  quando comparado ao  $\text{Zn}^{+2}$  e, com maior intensidade para a tiossemicarbazona iodo-substituída que foi a que apresentou melhor atividade leishmanicida e tripanomicida. As Figuras 74-77 mostram os espectros para as tiossemicarbazonas na presença e ausência do  $\text{Fe}^{+2}$  e na presença e ausência de  $\text{Zn}^{+2}$  indicando, através da diminuição da intensidade das absorções, o efeito quelante.

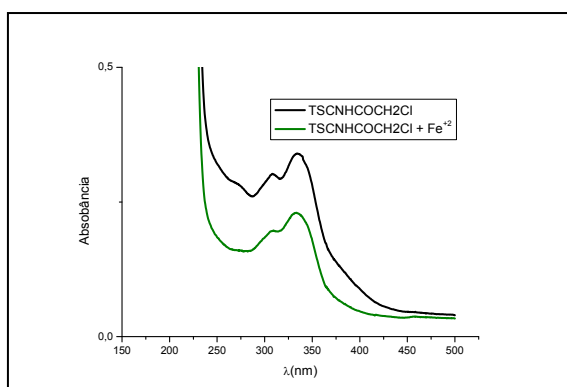


Número de coordenação com Fe = 4  
Efeito quelante com o Fe = 56%

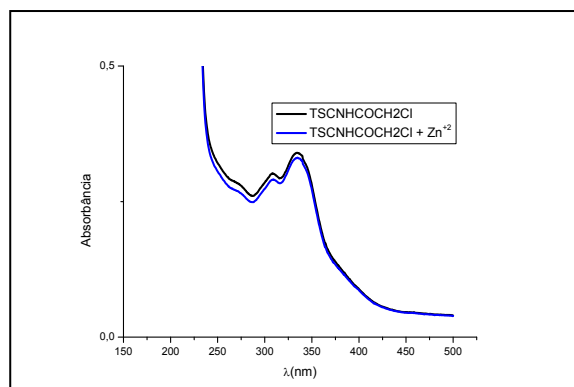


Número de coordenação com Zn = 8  
Efeito quelante com o Zn = 36%

**Figura 74.** Estudo do efeito quelante da tiossemicarbazona iodo-substituída.

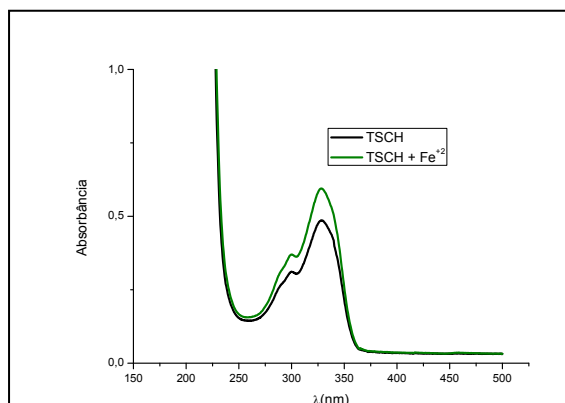


Número de coordenação com Fe = 6  
Efeito quelante com o Fe = 34%

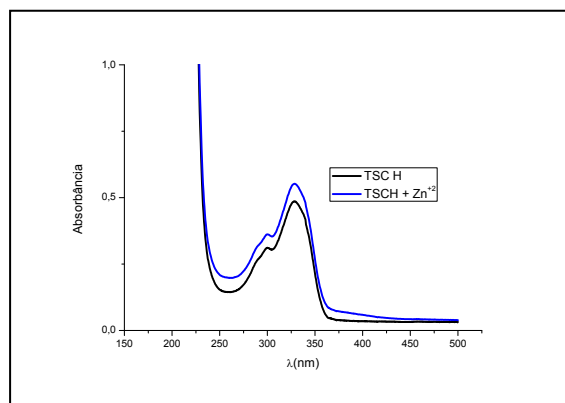


Número de coordenação com Zn = 6  
feito quelante com o Zn = 2,6%

**Figura 75.** Estudo do efeito quelante da tiossemicarbazona aminocloroacetil-substituída.

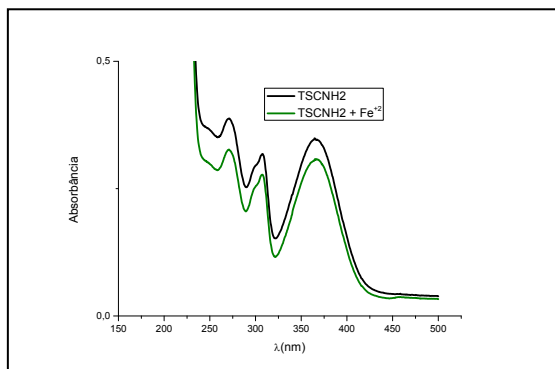


Efeito quelante com o Fe = 22,7%  
Número de coordenação com Fe = 6

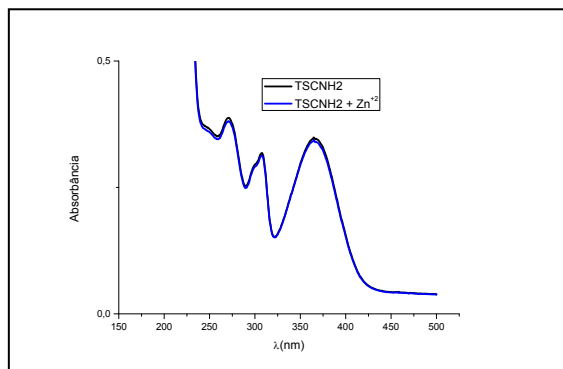


Efeito quelante com o Zn = 13,5%  
Número de coordenação com Zn = 6

**Figura 76.** Estudo do efeito quelante da tiossemicarbazona não-substituída.



Efeito quelante com o Fe = 22,7%  
Número de coordenação com Fe = 6



Efeito quelante com o Zn = 13,5%  
Número de coordenação com Zn = 6

**Figura 77.** Estudo do efeito quelante da tiossemicarbazona amino-substituída.

## 6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Foram sintetizadas vinte e duas tiossemicarbazonas, sendo doze derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila e dez benzofluoradas, destas, quinze são inéditas: **M19, M20, M22, M23, M24, M26, M27, M29, M30, M31, M32, M33, M34, M35 e M36**. Foram sintetizados também, seis carbimidotioatos, sendo que, para cinco não há relatos na literatura, que são: **M39, M40, M41, M42, M43** e ainda foram sintetizados dois compostos benzotriazocínicos, também inéditos, o 8-(4-metoxifenil)-7,8-dihidro-[1,3]dioxo-[4,5-*i*]benzotriazocin-6-(5*H*)ona (**M44**) e o 8-(2-nitrofenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]-benzotriazocin-6-(5*H*)ona (**M45**). Os compostos sintetizados foram caracterizados por técnicas espectroscópicas e tiveram confirmadas as estruturas propostas.

As propostas sintéticas foram planejadas objetivando alcançar altos rendimentos com baixos custos. Desta forma, quando uma metodologia não se mostrava eficaz outras eram colocadas em prática. Assim, pode-se observar que as reações de Sandmeyer, inicialmente propostas, não apresentavam bons resultados para os derivados do núcleo 3,4-metilenodioxila, fato este que conduziu a busca por métodos mais eficazes e desta maneira, pode-se atingir maiores rendimentos com melhores graus de pureza para os compostos sintetizados. A reação de cloração do piperonal com ácido tricloroisocianúrico é relatada neste trabalho, de tese pela primeira vez, pois não foi encontrado relato na literatura para esta reação. As reações de síntese das tiossemicarbazonas apresentaram rendimentos entre 91,0% e 98,5%.

Assim, dez das tiossemicarbazonas foram ensaiadas e 5 mostraram atividade tripanomicida abaixo de 100  $\mu\text{M}$ , sendo que 3 delas com valores de  $\text{IC}_{50}$  muito promissores, ou seja, a iodo-substituída (**M22**)  $\text{IC}_{50} = 7,00 \mu\text{M}$ , a amino-susbtituída **M18** com  $\text{IC}_{50} = 7,62 \mu\text{M}$  e a dicloroacetilamino-substituída **M26** com  $\text{IC}_{50} = 9,00 \mu\text{M}$ . Foram realizados ensaios frente a macrófagos da linhagem celular J774-A1 para avaliação da citotoxicidade e cálculo do índice de seletividade em relação aos valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos na avaliação da atividade tripanomicida. Os resultados indicaram a tiossemicarbazona iodo-substituída com melhor índice de seletividade, isto é, uma baixa citotoxicidade (279  $\text{IC}_{50} \mu\text{M}$ ) e elevada ação tripanocida (7,0  $\mu\text{M}$ ), revelando-se como bastante promissora para futuros ensaios *in vivo*.

A atividade antileishmania, inicialmente, frente à promastigotas de *L. amazonensis* foi avaliada para as 10 tiossemicarbazonas derivadas do núcleo 3,4-metilenodioxila em ensaios de 72 h na faixa de concentração de 25 a 200  $\mu\text{M}$ . Os resultados obtidos mostraram atividade antileishmania com valores de 50% de inibição do crescimento dos parasitas para as

tiossemicarbazonas iodo, ciano e hidróxi-substituídas em concentrações abaixo de 50  $\mu\text{M}$ , destacando-se a tiossemicarbazona iodo-substituída que apresentou  $\text{IC}_{50}$  na ordem de 25  $\mu\text{M}$ .

Já os ensaios com as tiossemicarbazonas que apresentaram atividade leishmanicida significativa com 50% de inibição do crescimento parasitário abaixo de 50  $\mu\text{M}$ , frente a macrófagos murinos infectados com amastigotas de *L. amazonensis*. Os resultados obtidos se apresentaram muito promissores com valores de  $\text{IC}_{50} = 10,37 \mu\text{M}$  para a tiossemicarbazona ciano-substituída e  $\text{IC}_{50} = 9,45 \mu\text{M}$  para a tiossemicarbazona iodo-substituída.

A tiossemicarbazona nitro-substituída, quando ensaiada frente à epimastigotas de *T. cruzi* não apresentou um bom resultado, o que sugere que o substituinte nitro na posição seis destes compostos além de não dotar tais tiossemicarbazonas de propriedade tripanocida ainda dificulta uma possível ação complexante, quer seja pelo impedimento estérico sobre os átomos de enxofre e nitrogênio, quer seja pela diminuição do potencial eletrostático sobre tais átomos.

Adicionalmente, foram modeladas algumas das tiossemicarbazonas sintetizadas com o objetivo de fornecer elementos que pudessem subsidiar propostas sobre a capacidade desses compostos de formar complexos com íons metálicos. Neste contexto ficou evidenciado que, os grupos ligados na posição seis derivado do núcleo 3,4-metilenodioxila influenciam as propriedades das tiossemicarbazonas, particularmente, sobre a densidade de **HOMO** e sobre o potencial eletrostático dos átomos reconhecidamente envolvidos em interações com outras estruturas; as propriedades eletrônicas são influenciadas pela estereoquímica dos derivados e que a estereoquímica conformacional é influenciada pelos substituintes; substituintes ativantes  $\text{NH}_2$  e  $\text{OH}$  aumentam a densidade eletrônica de **HOMO** sobre o sobre o anel benzênico e diminuem sobre o enxofre; enquanto grupos desativantes  $\text{NO}_2$  e  $\text{CN}$  aumentam consideravelmente, a mesma propriedade sobre o átomo de enxofre. As substituições, por grupos ativantes, priorizam a ligação através do átomo de enxofre diminuindo a contribuição do átomo de nitrogênio imínico em um possível sistema bidentado.

A avaliação da atividade quelante frente aos íons  $\text{Fe}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$  e os resultados obtidos foram muito interessantes indicando o maior efeito quelante das substâncias ensaiadas para o  $\text{Fe}^{+2}$  quando comparado ao  $\text{Zn}^{+2}$  e, com maior intensidade para a tiossemicarbazona iodo-substituída que foi a que apresentou melhor atividade leishmanicida e tripanomicida.

A alta seletividade apresentada pela 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona sobre o íon  $\text{Fe}^{+2}$ , comparado a mesma capacidade sobre o íon  $\text{Zn}^{+2}$ , sugere a inviabilidade da metaloenzima superóxido dismutase dos parasitas através da privação de um elemento vital para essa enzima.



Tal fato reveste-se de importância, pois não especifica uma espécie ou mesmo um gênero de parasitas, mas sim uma família, a Trypanosomatidae. Já que a necessidade pelos íons ferrosos é comum a família, este enfoque, diferentemente do que vem sendo estudado até o presente momento, apresenta-se como uma outra abordagem. Desta maneira, a quelatação de íons  $\text{Fe}^{+2}$  é entendida como um alvo genérico e indeterminado.

Estudos complementares devem ser realizados. Há a necessidade da avaliação da 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona sobre as formas amastigotas de *T. cruzi*, além das avaliações *in vivo*.

A modelagem molecular da enzima superóxido dismutase frente a 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona é interessante e pode revelar mais detalhes sobre a forma de agir desse composto; possivelmente, esperasse que não ocorra a interação com a enzima, já que a proposta sugerida é a da privação de íons ferroso para os parasitas. Isto poderá ser determinado através do cálculo da constante de estabilidade dos complexos formados. Onde esperasse que o  $K_{\text{est}}$  do complexo TSCI- $\text{Fe}^{+2}$  seja maior que a mesma constante encontrada para o complexo Enzima- $\text{Fe}^{+2}$ .

Se a sugestão do mecanismo de ação for confirmada, acredita-se que o efeito sinérgico entre vários fármacos com alvos diferentes que vão desde a privação de um elemento vital, até a inibição de um sistema ou rota metabólica, possa ser uma saída para esse enigma que se coloca.

## 7. REFERÊNCIAS

AFRASIABI, Z.; SINN, E.; PADHYE, S.; DUTTA, S.; PADHYE, S.; NEWTON, C.; ANSON, C. E.; POWELL, Transition metal complexes of phenanthrenequinone thiosemicarbazone as potential anticancer agents: synthesis, structure, spectroscopy, electrochemistry and in vitro anticancer activity against human breast cancer cell-line, T47D. A. K. *J. Inorg. Biochem.*, **2003**, 95: 306.

AGUIAR, A. P. & FRANÇA, T. C. C.; Evolução do programa de pós-graduação em química do Instituto Militar de Engenharia: 40 anos; *Rev. Mil. Ciên. Tecnol.*, **2010**, 27: 50.

ALEXANDER, B. H.; GERTLER, S. I.; ODA, T. A.; BOWN, R. T.; IHNDRIIS, R. W.; BEROZA, M. New organic compounds for use in insect control. *J. Org. Chem.* **1960**, 25: 626.

ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; JONGH, D. C.; JOHNSON C. R.; LEBEL, N. A.; STEVENS, C. L. *Química orgânica*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, **1978**, 1087 p.

ALVES, P. B. & VICTOR, M. M. Reação da cânfora com boridreto de sódio: uma estratégia para o estudo da estereoquímica da reação de redução. *Quím. Nova*, **2010**, 33: 103.

ANKEL, E. & PETERING, D. H.; Iron-chelating agents and the reductive removal of iron from transferrin. *Biochem. Pharmacol.* **1980**, 29: 1833.

ANTHOLINE, W.; KNIGHT, J.; WHELAN, H.; PETERING, D. H.; Studies of the reaction of 2-formylpyridine thiosemicarbazone and its iron and copper complexes with biological systems; *Mol. Pharmacol.* **1977**, 13: 89.

ANTONINI, I.; CLAUDI, F.; FRANCHETTI, P.; GRIFANTINI, M.; MARTELLI, S. Elucidation of the structure of the antineoplastic agents, 2-formylpyridine and 1-formylisoquinoline thiosemicarbazones. *J. Med. Chem.* **1977**, 20: 447.

ARAKAKI, T. L. & MERRIT, E. A. Disponível em: <<http://www.pdb.org/pdb/home/home>>. Acesso em: 20 de agosto 2011.

ARMSON, A.; KAMAU, S. W.; GRIMM, F.; REYNOLIDON, J. A.; BEST, W. N.; MACDONALD, L. M.; THOMPSON, R. C. A. A comparison of the effects of a benzimidazole and the dinitroanilines against *Leishmania infantum*. *Acta Trop.* **1999**, 73, 303.

ARANTES, J. M. Efeitos da desferrioxamina sobre aspectos parasitológicos, bioquímicos e imunológicos durante o curso da infecção aguda pelo *Trypanosoma cruzi* em camundongos. Tese de Doutorado. UFMG. **2011**.

ASHASSI-SORKHABI, H.; SHAABANI, B. Corrosion inhibition of mild steel by some schiff base compounds in hydrochloric acid. *Appl Surf Sci*, **2005**, 239:154.

ASLAM, N. S.; STEVENSON, P. C.; PHYTHIAN, S. J.; VEITCH, N. C.; HALL, D. R.; Synthesis of cicerfuran, an antifungal benzofuran, and some related analogues; *Tetrahedron*, **2006**, 62: 4214.

BACHEGA, J. F.; NAVARRO, M. V.; BLEICHER, L.; BORTOLETO-BUGS, R. K.; DIVE, D.; HOFFMANN, P.; VISCOGLIOSI, E.; GARRATT, R. C. Systematic structural studies of iron superoxide dismutases from human parasites and a statistical coupling analysis of metal binding specificity; *Proteins*, **2009**, 77: 26.

BACZEWSKI, P.; KOPROWSKI, M.; BODZIOCH, A.; MARCINIAK, B.; RYCKA-SOKOOWSKA, E. Unusual transformation of the diarylmethanol derivative into an unknown 1,2,3,6,7,10-hexahydroxylated anthracene system. *J. Org. Chem.* **2009**, 71: 2899.

BAILEY, S.; FAIRLAMB, A. H.; HUNTER, W. N. Structure of trypanothione reductase from crithidia-fasciculata at 2.6 angstrom resolution - enzyme-nadp interactions at 2.8 angstrom resolution. *Acta Crystallogr. Sect. D.* **1994**, 50: 139.

BARREIRO, E. J. & FRAGA, C. A. M. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos *Quim. Nova*, **1999**, 22: 744.

BARRET, M. P.; COOMBS, G. H.; MOTTRAM, J.C. Recent advances in identifying and validating drug targets in trypanosomes and leishmanias. *Trends Microbiol.* **1999**, 7: 82.

BASOLO, F.; Frontiers of inorganic chemistry. *Coord. Chem. Rev.* **1993**, 125: 13.

BEARD, J. L.; DAWSON, H.; PEÑERO, D. J. Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutrit. Rev.*, **1996**, 54: 295.

BENBROOK, D. M.; MADLER, M. M.; SPRUCE, L. W.; BIRCKBICHLER, P. J.; NELSON, WANG, B.; WANG, W.; LU, S.; ROWLAND, T. C.; DISEVESTRO, P.; LINDAMOOD, C.; HILL, D. L.; BERLIN, D.; Biologically active heteroarotinoids exhibiting anticancer activity and decreased toxicity. *J. Med. Chem.* **1997**, 40: 3567.

BEACH, D. H. GOAD, L. J.; HOLZ, G. G. Effects of ketoconazole on sterol biosynthesis by *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Biochem. Bioph. Res. Co.* **1986**, 136: 851.

BERALDO, H. Semicarbazonas e tiossemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos; *Quím. Nova.* **2004**, 27: 461.

BERMAN, J. D. Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy, and future strategies. *Rev. Infect. Dis.* **1998**, 10: 560.

BHARTI, N.; HUSAIN, K.; GARZA, M. T. G.; VEGA, D. E. C.; GARZA, J. C.; CARDENAS, B. D. M.; NAQVI, F.; Synthesis and *in vitro* antiprotozoal activity of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone derivatives; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12: 3475.

BHARTI, N.; SHAIENDRA; SHARMA, S.; NAQVI, F.; AZAM, A.; New Palladium (II) complexes of 5-Nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones: Synthesis, spectral studies and *In vitro* antiamoebic activity; *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11: 2923.

BOCEDI, A.; GRADONI, L.; MENEGATTI, E.; ASCENZI, P. Kinetics of parasite cysteine proteinase inactivation by NO-donors. *Biochem. Bioph. Res. Co.* **2004**, 315: 710.

BOGERT, R. & ELDER, T. Synthesis of 6-hydroxypiperonylic acid and incident compounds; *Jour. Am. Chem.* **1929**, 51: 532.

BONNEFOY, M.; DRAI, J.; KOSTKA, T. Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. *Presse Med.* **2002**, 31: 1174.

BOUCHER, J. L.; MOALI, C.; TENU, J. P. Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. *Cell Mol Life Sci.* **1999**, 55: 1015.

BRAGA, M. V.; URBINA, J. A.; DE SOUZA, W. Effects of squalene synthase inhibitors on the growth and ultrastructure of *Trypanosoma cruzi*. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2004**, 24: 72.

BREIDBACH, t.; SCORY, S.; KRAUTH-SIEGEL, R. L.; STEVERDING, D. Growth inhibition of bloodstream forms of *Trypanosoma brucei* by the iron chelator deferoxamine. *Int. J. Parasitol.* **2002**, 32: 473.

BRICKS, L. L. Ferro e infecções: atualização. *Pediat.* **1994**, 16: 34.

BRUN, R.; BUHLER, Y.; SANMAIER, U.; KAMINSKY, R.; BACHI, C. J.; RATTENDI, D.; LANE, S.; CROFT, S.; SNOWDON, D.; YARDLEY, V.; CARAVATTI, G.; FREI, J.; STANEK, J.; METT, H. In vitro trypanocidal activities of new S-adenosylmethionine decarboxylase inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, 40: 1442.

CABRAL, L M. & BARREIRO, E. J. The synthesis and analgesic properties of new spiroisochromanil acid derivatives synthesized from natural safrole. *J. Heterocycl. Chem.* **1995**, 32: 959.

CAMPBELL, K. N.; HOPPER, P. F. & CAMPBELL, B. K. *University of Notre Dame*. The Preparation of Methyleneedioxy-Methoxybenzaldehydes. **1951**.

CALLAHAN, H. L.; KELLEY, C.; PERREIRA, T.; GROGL, M. Microtubule inhibitors: structure-activity analysis suggest rational models to identify potentially active compounds. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, 40: 947.

CAREY, F. A.; SUNDEBERG, R. J. *Advanced Organic Chemistry, Partes A e B*, 5<sup>th</sup> ed. New York: Plenum Publishers, **2007**. 2521 p.

CARVALHO, A. S.; MENNA-BARRETO, R. F.; ROMEIRO, N. C.; DE CASTRO, S. L.; BOECHAT, N. Design, synthesis and activity against *Trypanosoma cruzi* of azaheterocyclic analogs of megazol. *Med. Chem.*, **2007**, 3: 460.

CASAS, J. S.; ARGÜELLES-RODRIGUEZ, M. C.; RUSSO, U.; SÁNCHEZ, A.; SORDO, J.; LÓPEZ-VÁZQUEZ, A.; PINELLI, S.; LUNGI, P.; BONATI, A.; ALBERTINI, R.; Diorganotin(IV) complexes of pyridoxal thiosemicarbazone: Synthesis, spectroscopic properties and biological activity; *J. Inorg. Biochem.* **1998**, 69: 283.

CASERO, R. A.; KLAYMAN, D. L.; CHILDS, G. E.; SCOVILL, J. P.; DESJARDINS, R. E.; Activity of 2-acetylpyridine thiosemicarbazones against *Trypanosoma rhodesiense* *in vitro*; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1980**, 18: 317.

CHAI, Y.; YAN, S.; WONG, I. L. K.; CHOW, L. M. C.; SUN, H. Complexation of antimony Sb (V) with guanosine 5'-monophosphate and guanosine 5'-diphospho-D-mannose: formation of both mono- and bis-adducts. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, 99: 2257.

CHAMPOUX, J. J. DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism. *Annu. Rev. Biochem.* **2001**, 70: 369.

CHAN-BACAB, M. J. & PENA-RODRIGUES, L. M. Plant natural products with leishmanicidal activity. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, 18: 674.

CHIYANZU, I.; HANSELL, E.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J.; MCKERROW, J. H.; CHIBALE, K.; Synthesis and evaluation of isatins and thiosemicarbazone derivatives against cruzain, falcipain-2 and rhodesain. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13: 3527.

CONTRERAS, V. T.; ARAÚJO-JORGE, T. C.; BONALDO, M. C.; BARBOSA, T. H. S.; MEIRELLES, M. N. S. L.; GOLDENBERG, S. Biological aspects of the DM28c clone of *Trypanosoma cruzi* after metacyclogenesis in chemically defined media. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **1988**, 83: 123.

COOK, J. D.; BAYNES, R. D.; SKIKNE, U. S. Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutr. Res.* **1992**, 5: 189.

CORDEIRO, A. T.; FELICIANO, P. R.; NONATO, M. C. Crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of *Leishmania major* dihydroorotate dehydrogenase. *Acta Crystallogr. Structural Biology Crystallization Communica.* **2006**, 62: 1049.

COREY, E. J. & SUGGS, W. Pyridinium chlorochromate, an efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds; *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 31: 2647.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, M. *Substâncias carboniladas e seus derivados*, 1º ed. Porto Alegre: Bookman, **2003**. 412 p.

COSTA, P. R. R. Safrol e eugenol: estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. *Quim. Nova*, **2000**, 2: 3.

COURA, J. R. & De CASTRO, S. L.; A critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **2002**, 9: 3.

COUTINHO, E. S. Síntese de 1,4,5-benzotriazocina e 4,1,5-benzoxadiazocina e seus derivados a partir do piperonal. Dissertação de mestrado. IME, **1981**.

CREMASCO, M. A. & BRAGA, N. P.; Isomerização do óleo essencial de pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC) para a obtenção de isosafrol. *Acta Amazônica*, **2010**, 40: 737.

CRICH, D. & KRISHNAMURTHY, V. Radical dearomatization of benzene leading to phenanthridine and phenanthridinone derivatives related to (+<sub>−</sub>)-pancrastistatin; *Tetrahedron*, **2006**, 62: 6830.

CUNHA, A. C.; PAIXÃO, F. M.; SOUZA, M. C. B. V.; FERREIRA, V. F. Cloreto isocianúrico e cloreto cianúrico: aspectos gerais e aplicações em síntese orgânica; *Quim. Nova*, **2006**, 29: 520.

CUNHA-JÚNIOR, E. F.; PACINZA-LIMA, W.; RIBEIRO, G. A.; NETO, C. D.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; SILVA, A. J. M.; COSTA, P. R. R.; ROSSI-BERGMENN, B.; TORRES-SANTOS, E. C. Effectiveness of the local or oral delivery of the novel naphthoptero-carpanquinone LQB-118 against cutaneous leishmaniasis. *J. Antimicrob. Chemother.* **2011**, 66: 1555.

Da SILVA, E. R.; Da SILVA, M. F. L.; FISCHER, H.; MORTARA, R. A.; MAYER, M. G.; FRAMESQUI, K.; SILBER, A. M.; FLOETER-WINTER, L. M. Biochemical and biophysical properties of a highly active recombinant arginase from *Leishmania (Leishmania) amazonensis* and subcellular localization of native enzyme. *Mol. Biochem. Parasit.* **2008**, 159: 104.

DAVIES, D. R.; MUSHTAQ, A.; INTERTHAL, H.; CHAMPOUX, J. J.; HOL, W.G. The structure of the transition state of the heterodimeric topoisomerase I of *Leishmania donovani* as a vanadate complex with nicked DNA. *J. Mol. Biol.* **2006**, 357: 1202.

DAX, C.; DUFFIEUX, F.; CHABOT, N.; COINCON, M.; SYGUSCH, J.; MICHELS, P. A. M.; BLONSKI, P. A. M. Selective irreversible Inhibition of fructose 1,6-bisphosphate aldolase from *Trypanosoma brucei*. *J. Med. Chem.* **2006**, 49: 14499.

DECHANT, K. L. & CLISSOLD, S. P. Paroxetine: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in depressive illness. *Drugs*, **1991**, 41: 225.

De SOUZA, W. & MOTTA, M. C. Endosymbiosis in protozoa of the Trypanosomatidae family. *FEMS Microbiol. Lett.* **1999**, 173: 1.

DELLACHER, F. & BERNABEI, D. Derivate des methylenedioxybenzols, 22. mitt.<sup>1</sup>: Über die Synthese von Indolderivaten der Methylenedioxybenzolreihe. *Monatsh Chem.* **1967**, 98: 785.



DEMICHELI, C.; OCHOA, R.; DA SILVA, J. B. B.; FALCÃO, C. A. B.; ROSSI-BERGMANN, B.; DE MELO, A.; SINISTERRA, R. D.; FRÉZARD, F. Oral delivery of meglumine antimoniate-beta-cyclodextrin complex for treatment of leishmaniasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, 48: 100.

Di COSTANZO, L.; MOULIN, M.; HAERTLEIN, M.; MEILLEUR, F.; CHRISTIANSON, D. W. Expression, purification, assay, and crystal structure of perdeuterated human arginase I. *Arch. Biochem. Biophys.* **2007**, 465: 82.

DIAS, L. C.; DESSOY, M. A.; SILVA, J. J. N.; THIEMANN, O. H.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos; *Quím. Nova*, **2009**, 32: 9.

DIAS, J. P. C. & SCHOFIELD, C. J. The southern cone initiative against Chagas disease. *Adv. Parasitol.* **1998**, 42: 1.

DNDi – DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES initiative - DNDi (2008) Drugs for Neglected Diseases Initiative. [http://www.dndi.org/cms/public\\_html/insidecategory-Listing.asp?CategoryId=89](http://www.dndi.org/cms/public_html/insidecategory-Listing.asp?CategoryId=89). Acesso: 23 abril 2012.

Do CAMPO, R.; Recent developments in the chemotherapy of Chagas disease. *Faseb J.* **1986**, 45: 2471.

Do CAMPO, R. & MORENO, S. N. Free radical metabolism of antiparasitic agents. *Fed. Proc.* **1986**, 45: 2471.

DODD, R. H.; OUANNÉS, C.; GÉRO, M. R.; POTIER, P. Hybrid molecules: growth inhibition of *L. donovani* promastigotes by thiosemicarbazones of 3-carboxy- $\beta$ -carboline. *J. Med. Chem.* **1989**, 32: 1272.

DOWNING, K. H. & NOGALES, E. Tubulin structure: insights into microtubule properties and functions. *Curr. Opin. Struc. Biol.* **1998**, 8: 785.

DU, X.; GOU, C.; HANSELL, E.; DOYLE, P. S.; CAFFREY, C. R.; HOLLER, T. P.; MCKERROW, J. H.; COHEN, F. E.; Synthesis and structure-activity relationship study of potent trypanocidal thiosemicarbazone inhibitors of the trypanosomal cysteine protease cruzain. *J. Med. Chem.* **2002**, 45: 2695.

DU, K. K. & LIU, S. X. Influence of pH values on the self-assembly in three trinuclear nickel complexes with bridging ligand *N*-salicylyl-4-phenyl-thiosemicarbazide. *J. Mol. Struct.* **2008**, 874: 138.

DUARTE, C. D.; TRIBUTINO, J. L. M.; LACERDA, D. I.; MARTINS, M. V.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; DUTRA, F.; BECHARA, E. J. H.; De PAULA, F. S.; GOULART, M. O. F.; FERREIRA, J.; CALIXTO, J. B.; NUNES, M. P.; BERTHO, A. L.; MIRANDA, A. L. P.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Synthesis, pharmacological evaluation and electrochemical studies of novel 6-nitro-3,4-methylenedioxyphenyl-*N*-acylhydrazone derivatives: Discovery of LASSBio-881, a new ligand of cannabinoid receptors. *Bioorgan. Med. Chem.* **2007**, 15: 2421.

ENGEL, J. C.; CAZZULO, B. M. F.; STOPPANI, A. O. M.; CANNATA, J. J. B.; CAZZULO, J. J. Aerobic glucose fermentation by *Trypanosoma cruzi* axenic culture amastigote-like forms during growth and differentiation to epimastigotes. *Mol. Biochem. Parasit.* **1987**, 26: 1.

FARIAS, F. M. C.; BARREIRO, E. J.; COELHO, F. A. S.; COSTA, P. R. R. Análogos das prostaglandinas. A síntese de novos Prostanoides aromáticos de Natural Safrol. *Quím. Nova*, **1984**, 7: 111.

FANG, F. C. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. *Nat. Rev Microbiol.* **2004**, 2: 820.

FAIRMAMB, A. H. & CERAMI, A. Identification of a novel, thiol-containing co-factor essential for glutathione reductase enzyme activity in trypanosomatids. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1985**, 2: 187.

FERREIRA, C.; SOARES, D. C.; BARRETO-JÚNIOR, C. B.; NASCIMENTO, M. T.; LIMA, L. F.; DELORENZI, J. C.; LIMA, M. E. F.; ATELLA, G. C.; FOLLY, E.; CARVALHO, T. M.

U.; SARAIVA, E. M.; SILVA, L. H. P. Leishmanicidal effects of piperine, its derivatives, and analogues on *Leishmania amazonensis*. *Phytochem.* **2011**, 72: 2155.

FERREIRA, R. S.; SIMEONOV, A.; JADHAV, A.; EIDAM, O.; MOTT, B. T.; KEISER, M. J.; McKERROW, J. H.; MALONEY, D. J.; IRWIN, J. J.; SHOICHET, B. K. Complementarity between a docking and a high-throughput screen in discovering new cruzain inhibitors. *J. Med. Chem.* **2010**, 53: 4891.

FEUN, L.; MODIANO, M.; LEE, K.; MAO, J.; MARINI, A.; SAVARAJ, N.; PLEZIA, P.; ALMASSIAN, B.; COLACINO, E.; FISCHER, J.; MACDONALD, S.; Phase I and pharmacokinetic study of 3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (3-AP) using a single intravenous dose schedule. *Cancer Chemoth. Pharm.* **2002**, 50: 223.

FLOHE, L.; JAEGER, T.; PILAWA, S.; SZTAJER, H. Thiol-dependent peroxidases care little about homology-based assignments of function. *Redox Rep.* **2003**, 8: 256.

FRANCISCO, A. F.; VIEIRA, P. M. A.; ARANTES, J. M.; PEDROSA, M. L.; MARTINS, H. R.; SILVA, M.; VELOSO, V. M.; LANA, M.; BAHIA, M. T.; TAFURI, W. L.; CARNEIRO, C. M. *Trypanosoma cruzi*: effect of benznidazole therapy combined with the iron chelator desferroxamine in infected mice. *Exp. Parasitol.* **2008**, 120: 314.

FRAGA, C. A. M. & BARREIRO, E. J. New insights for multifactorial disease therapy: The challenger of the symbiotic drugs. *Quimioter.* **2008**, 3: 1.

FRENCH, L. G. The sassafras tree and designer drugs: from herbal tea to ecstasy. *J. Chem. Ed.* **1995**, 72: 484.

FREYMAN, D. M.; WENCK, M. A.; ENGEL, J. C.; FENG, J.; FOCIA, P. J.; EAKIN, A. E.; CRAIG, S. P. Efficient identification of inhibitors targeting the closed active site conformation of the HPRT from *Trypanosoma cruzi*. *Chem. Biol.* **2000**, 7: 957.

FRIDOVICH, I. The biology of oxygen radicals. *Science.* **1978**, 201: 875.

GANGJEE, A.; JAIN, H. D.; KURUP, S. Recent advances in classical and non-classical antifolates as antitumor and antiopportunistic infection agents: part I. *Anticancer Agents Med. Chem.*, **2007**, 7: 524.

GARNIER, T. & CROFT, S. L. Topical treatment for cutaneous leishmaniasis. *Curr. Opin. Invest. Drugs.* **2002**, 3: 538.

GELB, A. I. & HOL, W. G. J. Parasitology: drugs to combat tropical protozoan parasites. *Science*, **2002**, 297: 343.

GENESTRA, M.; GUEDES-SILVA, D.; SOUZA, W. J. S.; CYSNE-FINKESLSTEIN, L.; SOARES-BEZERRA, R. J.; MONTEIRO, F. P.; LEON, L. L. Nitric oxide synthase (NOS) characterization in *Leishmania amazonensis* axenic amastigotes. *Arch. Med. Res.* **2006**, 37: 238.

GERMANO, R. M. Disponibilidade de ferro na presença do  $\beta$ -caroteno e o efeito dos interferentes em combinações de alimentos. USP. **2002**.

GETACHEW, F. & GENADU, I. *Leishmania donovani* from superoxide dismutase a is targeted to the mitochondria by its N-terminal positively charged amino acids. *Mol. Biochem. Parasitol.*, **2007**, 154: 62.

GLASS, R. S.; DEARDOFF, D. R.; HEBEGAR, K. Highly stereoselective reductions of  $\alpha$ -alkoxy- $\beta$ -keto esters. Aspects of the mechanism of sodium borohydride reduction of ketones in 2-propanol. *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21: 2467.

GONTIJO, B & CARVALHO, M. L. R. Leishmaniose tegumentar americana. *Rev Soc. Bra. Med. Trop.* **2003**, 36: 71

GUASCH, A.; ALORIA, K.; PEREZ, R.; AVILA, J.; ZABALA, J. C.; COLL, M. Three-dimensional structure of human tubulin chaperone cofactor A. *J. Mol. Biol.* **2002**, 318: 1139.

GULL, K. The cytoskeleton of trypanosomatid parasites. *Annu. Rev. Microbiol.* **1999**, 53: 629.

GUTTERIDGE, J. M. & HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000: A historical look to the future. *Annu. New York Acad. Sci.* **2000**, 899: 136.

HARAGUCHI, S. K. Síntese e avaliação anti-tripanassômica e citotóxica de benzaldeído tiosemicarbazonas derivadas do ácido caurênico. Dissertação de mestrado, UEM, **2008**.

HEBY, O.; PERSSON, L. & RENTALA, M. Targeting the polyamine biosynthetic enzymes: a promising approach to therapy of African sleeping sickness, Chagas' disease, and leishmaniasis. *Amino Acids*, **2007**, 33: 359.

HINES, J. C. & RAY, D. S. Periodic synthesis of kinetoplast DNA topoisomerase II during the cell cycle. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1997**, 88: 249.

HOUSSOU, R. F.; FERNAND G.; KPOVIESSI S.; BERO B.; HANNAERT. V.;QUETIN-LECLERCQ. J.; POUPAERT. J.; MOUDACHIROU M.; ACCROMBESSI, G. C. Synthesis, characterization and trypanocidal activity of some aromatic thiosemicarbazones and their 1,3,4-thiadiazolines derivatives. *Afr. J. Pure Appl. Chem.* **2011**, 5: 59.

HURTADO-GUERRERO R.; PENA-DIAZ, J; MONTALVETTI, A.; RUIZ-PEREZ, L.M.; GONZÁLEZ-PACANOWSKA, D. Kinetic properties and inhibition of *Trypanosoma cruzi* 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase. *FEBS Lett.* **2002**, 510: 141.

INIESTA V.; GOMEZ-NIETO, L. C. & CORRALIZA, I. The inhibition of arginase by N<sup>ω</sup>-hydroxy-l-arginine controls the growth of **Leishmania** inside macrophages. *J. Exp. Med.* **2001**, 193: 777.

ILLANA, V. O.; MONTFORT, R. P.; CALAHORRA, F. L. COSTAS, M.; ROMERO, A. R.; PUYOU, M. T. G. Structural differences in triosephosphate isomerase from different species and discovery of a multitypanosomatid inhibitor. *Biochemistry-US.* **2006**, 45: 2556.

JONES, M. M.; SINGH, P. K.; PISTA, J. E.; RODRIGUES, R. R.; NESSET, A.; SUAREZ, C. C.; BOGITSH, B. J.; CARTER, C. E. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes *in vitro* by iron chelating agents. *Arzneimittelforschung*, **1996**, 46: 1158.

JOUAD, E. M. ; RIOU, A.; ALLAIN, M.; KHAN, M A.; BOUET, G. M.; Synthesis, structural, and spectral studies of 5-methyl 2-furaldehyde thiosemicarbazone, and its Co, Ni, Cu, and Cd complexes. *Polyhedron*, **2001**, 20: 67.

JUNIOR, J. D. I.; CROUCH, S. R.; *Spectrochemical Analysis*. New Jersey: Prentice-Hall, Inc., **1988**, cap. 13.

KAMINSKY, R. Miltefosine zentaris, *Curr. Opin Invest. Drugs*, **2002**, 3: 550.

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

KASUGA, N. C.; SEKINO, K.; ISHIKAWA, M.; HONDA, A.; YOKOYAMA, M.; NAKANO, S.; SHIMADA, N.; KOUMO, C.; NOMIYA, K. Synthesis, structural characterization and antimicrobial activities of 12 zinc (II) complexes with four thiosemicarbazone and two semicarbazone ligands. *J. Inorg. Biochem*, **2003**, 96: 298.

KELLER-JÚSLEN, C.; KUHN, M.; Von WARTBURG, A.; STAHELIN, H. Synthesis and antimicotic activity of glycoside ligand derivatives related to posophyllotoxin. *J. Med. Chem.* **1971**, 14: 936.

KONSTANTINOVIC, S. S.; RADOVANOVIĆ, B. C.; TODOROVIĆ Z. B.; ILIĆ, S. B.; KONSTANTINOVIC´C. B. C. Spectroscopic and thermodynamic studies of complexation of some divalent metal ions with isatin- $\beta$ -thiosemicarbazone. *Chem. Papers*, **2007**, 61: 485.

LAGES, A. S.; SILVA, K. C. M.; MIRANDA, A. L. P.; BARREIRO, E. J. Synthesis and pharmacological evaluation of new flosulide analogues, synthesized from natural safrole. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8: 183.

LAMBIE, D. G. & JOHNSON, R. H. Drugs and folate metabolism. *Drugs*. **1985**, 30: 145.

LANNES-VIEIRA, J., ARAÚJO-JORGE, TÂNIA C. DE, SOEIRO, MARIA N. C.; GADELHA, PAULO; CORRÊA-OLIVEIRA, RODRIGO. The centennial of the discovery of Chagas disease: Facing the current challenges. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2010**, 4: e645.

LAZARDI, K.; URBINA, J. A.; DE SOUZA, W. Ultrastructural alterations induced by two ergosterol biosynthesis inhibitors, ketoconazole and terbinafine, on epimastogotes and amastigotes of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. *Antimicrob. Agents Chem.* **1990**, 34: 2097.

LE T. N., SEONG G. G. & CHO WON-JEA. A facile synthesis of benzo[c]phenanthridine alkaloids: oxynitine and axysanguinarine using lithiated toluamide-benzonitrile cycloaddition; *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45: 2763.

LE, T. N. & CHO WON-JEA. Total synthesis of oxyfagaronine, phenolic benzo[c]phenanthridine and general synthetic way of 2,3,7,8-and 2,3,8,9-tetrasubstituted benzo[c]phenanthridine alkaloids; *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, 54: 476.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L. & COX, M. M.; *Principles of biochemistry*: 4<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **2005**, 456 p.

LEID, R. W.; SUQUET, C. M.; TANIGOSHI, L. Oxygen detoxifying enzymes in parasites: a review. *Act. Leidens.* **1989**, 57: 107.

LEMKE, T. L.; SHEK, T. W.; CATES, L. A.; SMITH, L. K.; Synthesis of 5,6-dihydro-8(7H)-quinolinone thiosemicarbazones as potential antitumor agents. *J. Med. Chem.* **1977**, 20: 1351.

LEPESHEVA, G. I.; HARGROVE, T. Y.; ANDERSON, S.; KLESHCHENKO, Y.; FURTAK, V.; WAWRZAK, Z.; VILLALTA, F.; WATERMAN, M. Sterol 14 $\alpha$ -demethylase as a potential target for antitrypanosomal therapy: enzyme inhibition and parasite cell growth. *Chem. Biol.* **2007**, 14: 1283.

Le TRANT, N.; MESHNICK, D. R.; KITCHENER, K.; EATON, J. W.; CERAMI, A. Iron-containing superoxide dismutase from *Crithidia fasciculata*. Purification, characterization, and similarity to leishmanial and trypanosomal enzymes. *J. Biol. Chem.* **1983**, 258: 125.

LI, J.; CHEN, S.; LI, X.; NIU, C.; DOYLE, T. W. Synthesis of 3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (3-AP). *Tetrahedron.* **1998**, 54: 393.

LIBUSOVÁ, L.; SULIMENKO, T.; SULIMENKO, V.; HOZÁK, O.; DRABER, P. gamma-Tubulin in Leishmania: cell cycle-dependent changes in subcellular localization and heterogeneity of its isoforms. *Exp. Cell. Res.* **2004**, 295: 375.

LIM, T. Y.; LIM, Y. Y.; YULE, C. M. Evaluation of antioxidant, antibacterial and anti-tyrosinase activities of four Macaranga species. *Food Chem.* **2009**, 114: 594.

LIN, W. O. & COUTINHO, E. S. 8,9-Methylenedioxy-3,4-dihydro-1,4,5-benzotriazocin-2(1H)-ones *Monatsh. Chem.*, **1983**, 11: 1231.

LOVEJOY, D. B. & RICHARDSON, D. R. Novel “hybrid” iron chelators derived from aroylhydrazones and thiosemicarbazones demonstrate selective antiproliferative activity against tumor cells. *Blood*, **2002**, 100: 666.

LUDWIG, M. L. METZGER, A. L.; PATTRIDGE, K. A.; STALLINGS, W. C. Manganese superoxide dismutase from *Thermus thremophilus*. A structural model refined at 1.8 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **1991**, 219: 335.

LUO, M.; MA, H. Z.; SU, Q. D. & LI, Q. R. Synthesis and crystal structure of 6-bromo-piperonal-dimethyl-acetal. *Chin. J. Struct. Chem.* **2002**, 21: 538.

LUQUETTI, A. O. Etiological treatment for Chagas disease. *Parasitol. Today.* **1997**, 13: 127

LUTZ, W. B.; McNAMARA, C. R.; OLINGER, M. R.; SCHMIDT, D. E.; FIEDLER, M. D. Synthesis of 5,6-carbonyldioxyindole; *J. Heterocycl. Chem.* **1984**, 21: 1182.



MACCARI, G.; JAEGER, T.; MORACA, F.; BIAVA, M.; FLOHÉ, L.; BOTTA, M. A fast virtual screening approach to identify structurally diverse inhibitors of trypanothione reductase. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21: 5255.

MAGARACI, F.; JIMENEZ, C. J.; RODRIGUES, J. C.; BRAGA, M. V.; YARDLEY, V.; de LUCA-FRADLEY, K.; CROFT, S. L.; de SOUZA, W.; RUIZ-PEREZ, L. M.; URBINA, J.; GONZALEZ, P. D.; GILBERT, I. H. Azasterol as inhibitors of 24-methyltransferase in *Leishmania sp.* and *Trypanosoma cruzi*. *J. Med. Chem.* **2003**, 46: 4714.

MAHAN, L. K. & ESCORT-STUMP, S. Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia. Roca: São Paulo. **1998**. p 1178-1180.

MAHINDROO, N.; AHMED, Z.; BHAGAT, A.; BEDI, K. L.; KHAJURIA, R. K.; KAPOOR, V. K.; DHAR, K. L. Synthesis and structure-activity relationships of vasicine analogues as bronchodilatory agents. *Med. Chem. Res.* **2006**, 14: 347.

MALAFAIA, G. Captação de ferro pelos parasitos do gênero *Leishmania*. *Rev. Bioc. UNITAU*, **2008**, 14: 41.

MALAFAIA, G.; MARCON, L. D.; PEREIRA, L. D.; PEDROSA, M. L.; REZENDE, S. A. *Leishmania chagasi*: effect of the iron deficiency on the infection in BALB/c mice. *Exp Parasitol.*, **2010**, 127: 719.

MANO, E. B. & SEABRA, A. P. *Práticas de Química Orgânica*. Editora Edgard Blücher Ltda: 3ª ed. São Paulo, **1987**. p 38.

MAUEL, J.; DENNY, W.; GAMAGE, S.; RANSIJN, A.; WOJCIK, S.; FIGGITT, D.; RALPH, R. 9-Anilinoacridines as potential antileishmanial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, 37: 991.

MAYRINK, K & MAGALHÃES, P. A. Leishmaniose: Uma experiência de trinta e quatro anos com uma vacina anti-leishmaniose tegumentar americana. Minas Gerais. p. 3-6. **1999**.

MENDONÇA, G. F. & MATTOS, M. C. S. Uma metodologia simples e eficiente para a cloração de compostos aromáticos ativados utilizando o ácido tricloro-isocianúrico. *Quím. Nova.* **2008**, 31: 798.

MERSCHJOHANN, K. & STEVERDING D. *In vitro* growth inhibition of bloodstream forms of *Trypanosoma brucei* and *Trypanosoma congolense* by iron chelators. *Kinetopl. Biol Dis.* **2006**, 5: 3.

MORAIS, A. A.; BRAZ-FILHO, R.; FRAIZ, S. V. Synthesis of three natural 1,3-diarylpropanes: Two revised structures. *Phytochem.* **1988**, 28: 239.

MOREAU, A. A new approach to isoindoloisoquinolinones. A simple synthesis of nuevamime. *Tetrahedron.* 2004, 60: 6169.

MORI, M. & T. GOTOH, Regulation of nitric oxide production by arginine metabolic enzymes. *Biochem. Bioph. Res. Co.* **2000**, 275: 715.

MORRIS, S. M. Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* **2002**, 22: 87.

MOYERSON, J.; CHOE, J.; FAN, E.; HOL, W. J. M. G. J; MICHELS, P. A. M. FEMS Biogenesis of peroxisomes and glycosomes: trypanosomatid glycosome assembly is a promising new drug target. *Microbiol. Rev.* **2004**, 28: 603.

NEVES, D. P. *Parasitologia Humana*. 8ª Ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu Editora, **1991**, p. 28-72.

MURRAY, H. W. & DELPH-ETIENNE, S. Visceral leishmanicidal activity of hexadecylphosphocholine (Miltefosine) in mice deficient in T cells and activated macrophage microbicidal mechanism. **2000**. Disponível em: <http://oxfordjournals.org>. Acesso em 20 julho de **2012**.

NYASSE, B.; NONO, J.; SONKE, B.; DENIER, C.; FONTAINE, C. Trypanocidal activity of bergenin, the major constituent of *Flueggea virosa*, on *Trypanosoma brucei*. *Pharmazie*, **2004**, 59: 492.

OPPERDOES, F. R. Biochemical peculiarities of trypanosomes, African and South American. *Brit. Med. Bull.* **1985**, 41: 130.

OPPERDOES, F. R. Compartmentation of Carbohydrate Metabolism in Trypanosomes *Annu. Rev. Microbiol.* **1987**, 41: 127.

PARAMCHUK, W. J. Cloning, characterization and over-expression of two iron superoxide dismutase cDNAs from *Leishmania chagasi* role in pathogenesis. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1997**, 90: 202.

PENA-DIAZ, J.; MONTALVETTI, A.; FLORES, C. L.; CONSTAN, A.; HURTADO-GUERRERO, R.; DE S. W.; GANCEDO, C.; RUIZ-PEREZ, L. M.; GONZÁLEZ-PACANOWSKA, D. Mitochondrial localization of the mevalonate pathway enzyme 3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase in the Trypanosomatidae. *Mol. Biol. Cell.* **2004**, 15: 1356

PLEWES, K. A.; BARR, S. D.; GENADU, I. Iron superoxide dismutase targeted to the glycosomes of *Leishmania chagasi* sre important for survival. *Infect. Immun.*, **2003**, 71: 5910.

POLAK, A. & RICHELE, R. Mode of action of 2-nitroimidazole derivative benzonidazole. *Annu. Trop. Med. Parasit.* **1978**, 72: 45.

RASSI, A. J.; RASSI, A.; REZENDE, J. M. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). *Infect. Dis. Clin. N. Am.* **2012**, 26: 275.

RAYCHAUDRURY, B.; BANERJEE, S.; GUPTA, S.; SINGH, R.V.; DATTA, S. C. Antiparasitic activity of a triphenyl tin complex against *Leishmania donovani*. *Acta Trop.* **2005**, 95: 1.

RILLIET, A. & KREITMANN, L. Sur le 6-aminopipéronal et ses dérivés. *Helv. Chim. Acta*, **1921**, 4: 588.

RODRIGUES, J. C. F.; ATTIAS, M.; RODRIGUES, C.; URBINA, J.; DE SOUZA, W. Ultrastructural and biochemical alterations induced by 22,26-azasterol, a delta (24(25)-sterol methyltransferase inhibitor, on promastigote and amastigote forms of *Leishmania amazonensis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, 46: 487.

SACKETT, D. L. Podophyllotoxin, steganacin and combretastatin: Natural products that bind at the colchicine site of tubulin. *Pharmacol. Therapeut.* **1993**, 59: 163.

SARAIVA, J. Avaliação de rotas metabólicas como mecanismo de ação da atividade tripanocida de lignano-lactonas. Tese de Doutorado, USP. **2007**.

SENKOVICH, O., SCHOMANN, N., CHATTOPADHYAY, D. Structures of dihydrofolate reductase-thymidylate synthase of *Trypanosoma cruzi* in the folate-free state and in complex with two antifolate drugs, trimetrexate and methotrexate. *Acta Crystallogr. Sect. D.*, **2009**, 65: 704.

SHAILENDRA, BHARTI, N.; NAQVI, F.; AZAM, A.; Synthesis, characterization and in vitro antiamoebic activity of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones and their palladium (II) and ruthenium (II) complexes. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39: 459.

SHAPIRO, T. A.; SHOWALTER, A. F. *In vivo* inhibition of trypanosome mitochondrial topoisomerase II: effects on kinetoplast DNA maxicircles. *Mol. Cell. Biol.* **1994**, 14: 5891

SHAPIRO, T. A.; ENGLUND, P. T. The structure and replication of kinetoplast DNA. *Annu. Rev. Microbiol.* **1995**, 49: 117.

SHAZIA N. A. STEVENSON, P. C. PHYTHIAN S. VEITCH, N. C. & HALL, D. R. Synthesis of cicerfuran (Ia), an antifungal benzofuran, and some related analogues. *Tetrahedron*, **2006**, 62: 4214.

SHIGEMITSU T., ABE H., TAKEUCHI Y. , HARAYAMA T. Intramolecular biaryl coupling reaction of benzyl benzoate and phenyl benzoate derivatives, and its application to the formal synthesis of (-)-steganone. *Tetrahedron*, **2007**, 63: 396.

SHIMIZU, H.; PARK, S. Y.; SHIRO, Y.; ADACHI, S. X-ray structure of nitric oxide reductase (cytochrome P450nor) at atomic resolution. *Acta Crystallogr. Sect. D. Biol Crystallogr.* **2002**, 58: 81.

SILVA-JARDIN, I.; HORTA, M. F.; RAMALHO-PINTO, F. J. The *Leishmania chagasi* proteasome: role in promastigotes growth and amastigotes survival within murine macrophages. *Acta Trop.* **2004**, 91: 121.

SILVA, M.; SILVA, C. H. T. P.; IULEK, J.; OLIVA, G.; THIEMANN, O. H. Crystal structure of adenine phosphoribosyltransferase from *Leishmania tarentolae*: potential implications for APRT catalytic mechanism. *Biochim. Biophys. Acta*, **2004**, 1696: 31.

SILVA, C. H. T. P., FERREIRA, M. M. C., GARRATT, R. C. A molecular modeling and QSAR study of suppressors of live growth of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *J. Graph. Model.* **2004**, 23: 89.

SIMPSON, L.; THIEMANN, O. H.; SAVILL, N. J.; ALFONZO, J. D.; MASLOV, D. A. Evolution of RNA editing in Trypanosome mitochondria. *Proc. Nati. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**, 13: 6986.

SLUNT, K. M.; GRACE, J. M.; MACDONALD, T. L. & PEARSON, R. D. Effect of mitonafide analogs. *Braz. J. Pharm. Sci.* **2004**, 40:140.

SMITH, T. K. & BÜTIKOFER, P. Lipid metabolism in *Trypanosome brucei*. *Mol Biochem. Parasitol.* **2010**, 172: 66.

SOARES-BEZERRA, R. J.; LEON L.; GENESTRA M. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvos de fármacos. *Bras. J. Pharm. Sci.*, **2004**, 40:140.

SOARES-BEZERRA, R. J.; DA SILVA, E. F.; ECHEVARRIA, A.; DA SILVA, L. G.; CYSNE-FINKELSTEIN, L.; MONTEIRO, F. P.; LEON, L. L. GENESTRA, M. Effect of mesoionic 4-phenyl-5-(cinnamoyl)-1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine chloride derivative salts on the activities of the nitric oxide synthase and arginase of *Leishmania amazonensis*. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* **2008**, 23: 328.

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C.; *Química orgânica: 7ª Ed.* Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos Científicos Ed. S.A., **2002**, vol 2. p 548.

STEERT, K.; BERG, M.; MOTTRAM, J. C.; WESTROP, G. D.; COOMBS, G. H.; COS, P.; MAES, L.; JOOSSENS, J.; VAN DER VEKEN, P.; HAEMERS, A.; AUGUSTYNS, K. Alfa-ketoheterocycles as inhibitors of *Leishmania mexicana* cysteine protease CPB. *Chem. Med. Chem.* **2010**, 53: 1734.

STIJLEMANS, B.; VANKRUNKELSVEN, A.; BRYNS, L.; MAGEZ, S.; De BAETSELIER, P. Role of iron homeostasis in trypanosomiasis-associated anemia. *Immunobiology.* **2008**, 213: 823.

SURESH, S.; BRESSI, J. C.; KENNEDY, K. J.; VERLINDE, C. L.; GELB, M. H.; HOL, W. G. Conformational changes in *Leishmania mexicana* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase induced by designed inhibitors. *J. Mol. Biol.* **2001**, 309: 423.

SUZUKI, Y.; KAMENO, D.; TOMODA, S. Theoretical Study on the Mechanism and Diastereoselectivity of NaBH<sub>4</sub> Reduction. *J. Phys. Chem.* **2009**, 113: 2578.

TARASCONI, P.; CAPACHI, S.; PELOSI, G.; CORNIA, M.; ALBERTINI, R.; BONATI, A.; DALL'AGLIO, P. P.; LUNGHI, P.; PINELLI, S.; Synthesis, spectroscopic characterization and Biological properties of new natural aldehydes thiosemicarbazones. *Bioorg. Med. Chem.*, **2000**, 8: 157.

TAYLOR, M. C & KELLY, J. M. Iron metabolism in trypanosomatids, and its crucial role in infection. *Parasitol.* **2010**, 137: 899.

TEITZ, Y.; RONEN, D.; VANSOVER, A.; STEMATSKY, T.; RIGGS, J. L.; Inhibition of human immunodeficiency virus by N-methylisatin-beta 4':4'-diethylthiosemicarbazone and N-allylisatin-beta-4':4'-diallythiosemicarbazone. *Antiviral Res.* **1994**, 24: 305.

TENÓRIO, P. R.; 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. *Quím. Nova.* **2005**, 28: 1030.

TEMPERINI, M. L. A.; SANTOS, M. R.; MONTEIRO, V. R. P. Spectroscopic study of the isomerization of Z to E pyridine-2-formyl thiosemicarbazone. *Spectrochim Acta A-M.* **1995**, 51: 1517.

TORANZO, E. G. D.; CASTRO, J. A.; De CAZZULO, B. M. F. & CAZZULO, J. J. Interaction of benzimidazole reactive metabolites with nuclear and kinetoplastic DNA, proteins and lipids from *Trypanosoma cruzi*. *Experientia*, **1988**, 44: 880.

TURRENS, J. F. Oxidative stress and antioxidant defenses: a target for the treatment of diseases caused by parasitic protozoa. *Mol. Aspects Med.* **2004**, 25: 211.

UNGER, C.; DAMENZ, W.; FLEER, E. A.; KIM, D. J.; BREISER, A.; HILGARD, P.; ENGEL, J.; NAGEL, G. & EIBL, H. Hexadecylphosphocholine, a new ether lipid analogue. Studies on the antineoplastic activity *in vitro* and *in vivo*. *Acta Oncol.* **1989**, 28: 213.

URBINA, J. A. Ergosterol biosynthesis and drug development for Chagas disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **2009**, 104: 311.

URBINA, J. A. Specific chemotherapy of Chagas disease: relevance, current limitations and new approaches; *Acta Trop.* **2010**, 115: 55.

VASCONCELLOS, M. L. A. A. & LIMA JUNIOR, C. G. Cloração do anisol, tolueno e nitrobenzeno com ácido tricloroisocianúrico (ATCI): aspectos computacionais sobre a reatividade e regioseletividade. *Quím. Nova.* **2009**, 32: 244.

VERLINDE, C. L. M. J.; HANNAERT, V.; BLONSKI, C.; WILLSON, M.; PÉRIÉ, J. J.; FOTHERGILL-GILMORE, L. A.; OPPERDOES, F. R.; GELB, M. H.; HOL, W. G. J.; MICCHELS, P. A. Glycolysis as a target for the design of new anti-trypanosome drugs. *Drugs Resist. Up.* **2001**, 4: 50.

VERONESI, R. *Doenças Infeciosas e Parasitárias*: 8<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **1991**, p. 674-705 e 706-717.

VIEGAS JÚNIOR, C.; DANUELO, A.; VANDERLAN, S. B.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, D. A. M. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. *Curr. Med. Chem.* **2007**, 14: 1829

VOGEL, A. I. *Química Orgânica – Análise Orgânica Qualitativa*: 2<sup>a</sup>ed. Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico S.A., **1971**. 387 p.

ZACCHINO, A. S. Estratégias para a descoberta de novos agentes antifúngicos. Em: Yunes, R. A.; Calixto, J. B.; *Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal*. Chapecó: Argos. **2001**. p. 436-473.

ZUCOTTO, F.; BRUN, R.; PACANOWSKA, G. D.; PEREZ, R. L. M.; GILBERT, I. H. The structure-based design and synthesis of selective inhibitors of *Trypanosoma cruzi* dihydrofolate reductase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9: 1463.

WANG, J. C. DNA topoisomerases. *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, 65: 523.

WALCOURT, A.; LOYEVSKY, M.; LOVEJOY, D. B.; GORDEUK, V. R.; RICHARDSON, D. R.; *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* **2003**, 36: 401.

WERBOVETZ, K. A.; BRENDLE, J. J.; SACKETT, D. L. Purification, characterization, and drug susceptibility of tubulin from *Leishmania*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1999**, 98: 53.

WESSFING-RESNICK, M. Iron Transport. *Annu. Rev. Nutrit.* **2000**, 20: 129.



WIGFIELD, D. C. & GOWLAMD, F. W. Stereochemistry and mechanism of ketone reduction by hydride reagents, *Tetrahedron*. **1979**, 35: 449.

WILLIAN, L. R.; WALTER, J. M.; PETRIE, M. R. Characterization of the antimonial antileishmanial agent meglumine antimonate (Glucantime). *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, 42: 1076.

WILSON, M. E. & BRITIGAN, B. E. Iron acquisition by parasitic protozoa. *Parasitol. Today*. **1998**, 14: 348.

WOLKMER, P.; Da SILVA, A. S.; CARGNELUTTI, J. F.; COSTA, M. M.; TRAESEL, C. K.; LOPES, S. T. A.; MONTEIRO, S. C. Resposta eritropoética de ratos em diferentes graus de parasitemia por *Trypanosoma evansi*. *Cienc. Rural*. **2007**, 37: 1682.

WHO **2007**, Report on chagas' disease, TDR special programme for research and training in tropical diseases, world health organization. Disponível em: <http://apps.who.int/tdr/svc/publications/tdr-research-publications/reporte-enfermedad-chagas>. Acesso em: 20 janeiro **2011**.

WHO/Leishmaniasis: epidemiology and access to medicines. Disponível no site [http://who.int/leishmaniasis/resources/leishmaniasis\\_epidemiology\\_access\\_to\\_medicine/en/index.html](http://who.int/leishmaniasis/resources/leishmaniasis_epidemiology_access_to_medicine/en/index.html). Acesso em: 30 junho **2012**.

WU Y., ZHANG H., ZHAO Y., ZHAO J. CHEN J. & LI L. A new and efficient strategy for the synthesis of podophyllotoxin and its analogues; *Org. Lett.* **2007**, 7: 1199.

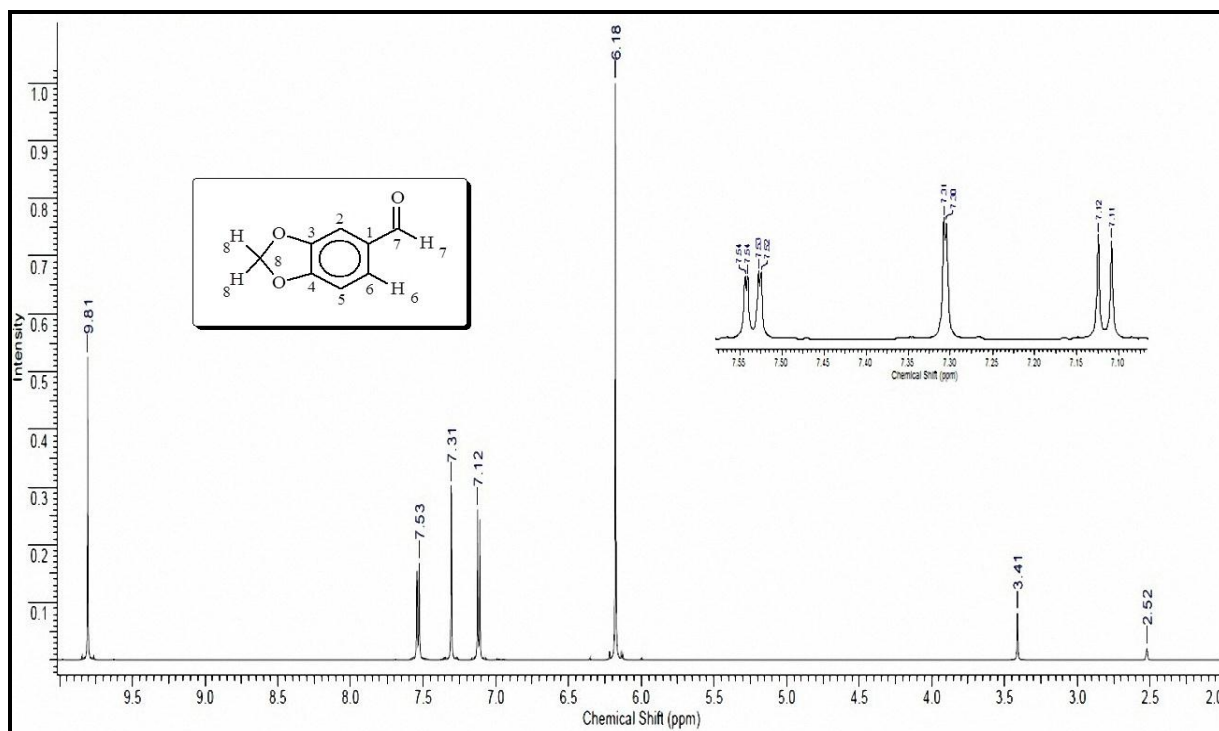
YADAV, G. D. & GOEL, P. K. Selective synthesis of perfumery grade cyclohexyl esters from cyclohexene and carboxylic acids over ion exchange resins: an example of 100% atom economy. *Green Chem.* **2000**, 2: 71.

YINGMING, W.; HONGBIN, Z.; YUANHONG, Z.; JINGFENG, Z.; JINGBO, C. & LIANG, L.; Enantioselective sequential conjugate addition–allylation reactions: A concise total synthesis of (+)-podophyllotoxin. *Org. Lett.* **2008**, 11: 597.

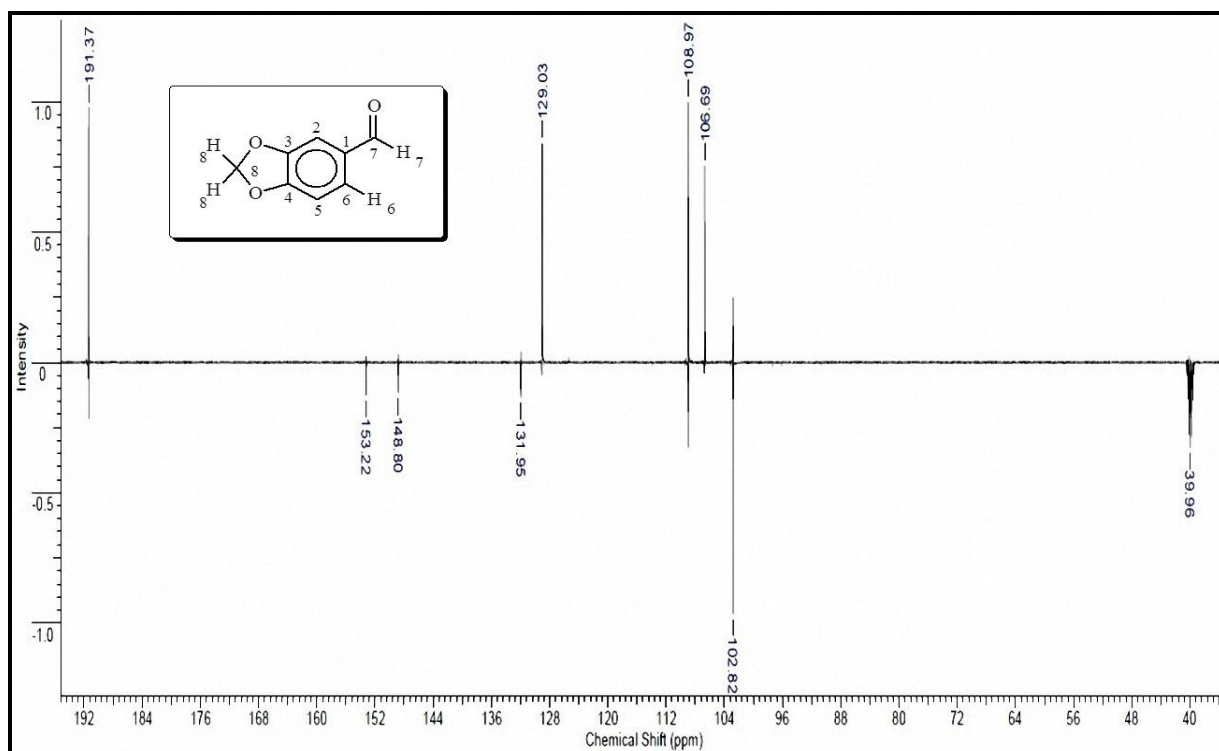
ZHAO, Y.; LI, D.; ZHAO, L.; ZHANG, J. A practical synthesis of 2-aryloindoles from *N*-(2-formylphenyl)trifluoroacetamides in PEG-400. *Synthesis*. **2011**, 6: 873.

## 8. ANEXOS

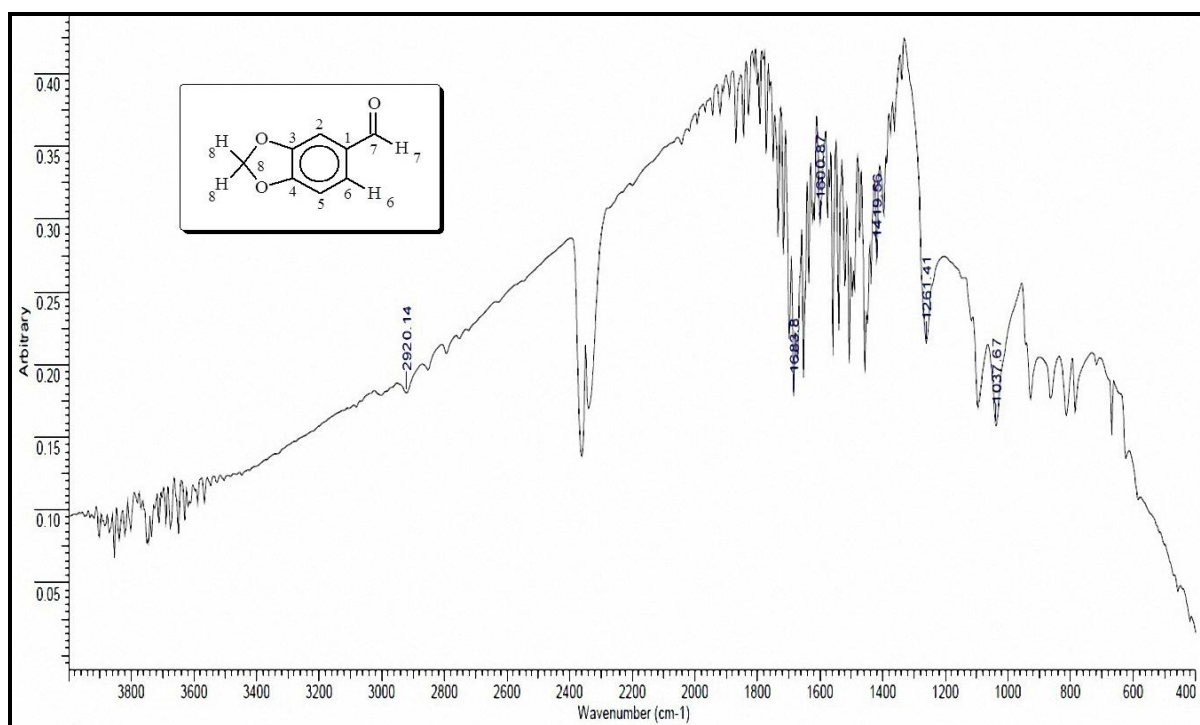
### 8.1 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 1,3-benzodioxol-5-carbaldeído M01, 500 MHz em DMSO



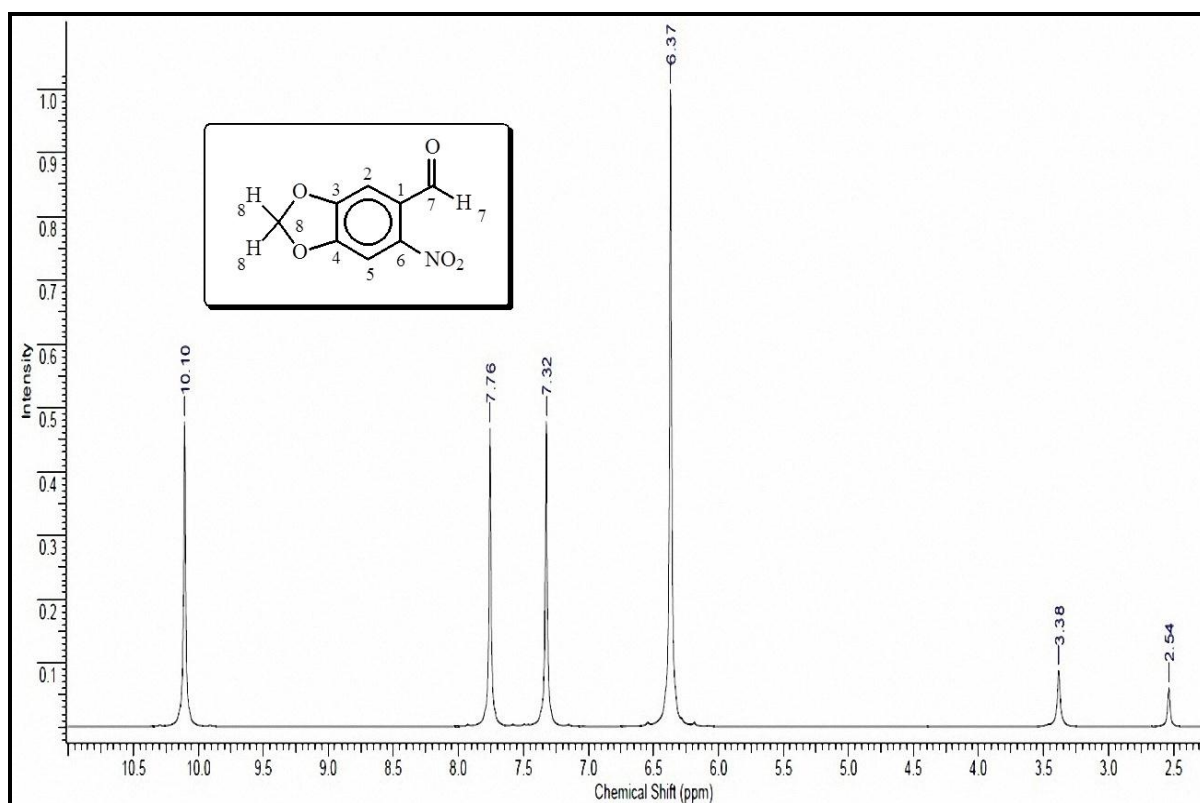
### 8.2 Espectro de RMN de DEPT Q do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M01, 125 MHz em DMSO



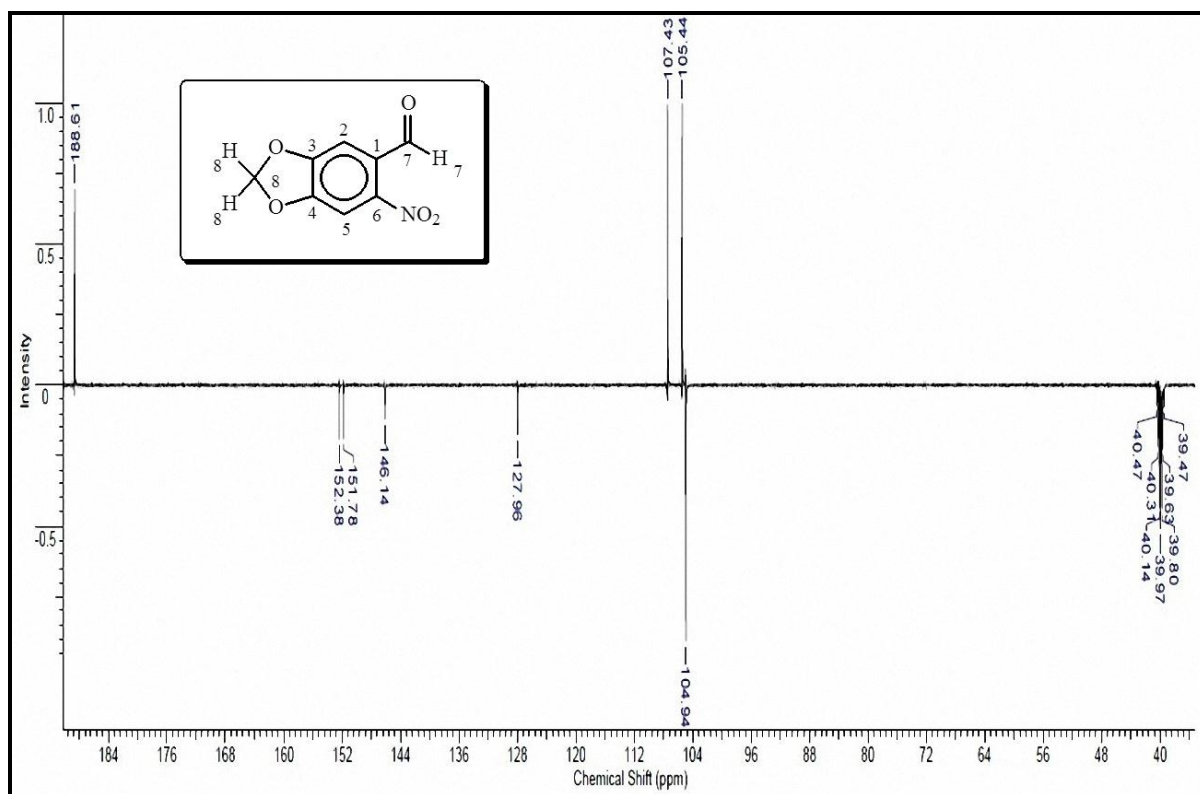
### 8.3 Espectro de IV do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M01



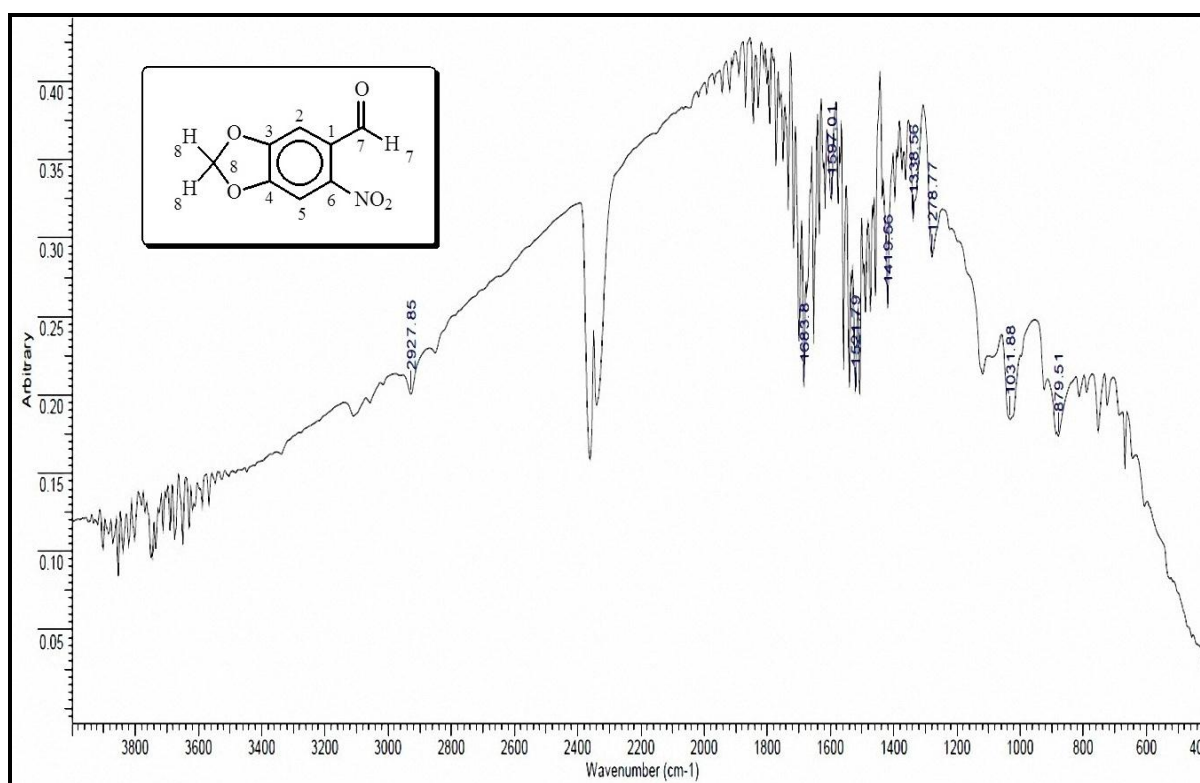
### 8.4 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M02, 500 MHz em DMSO



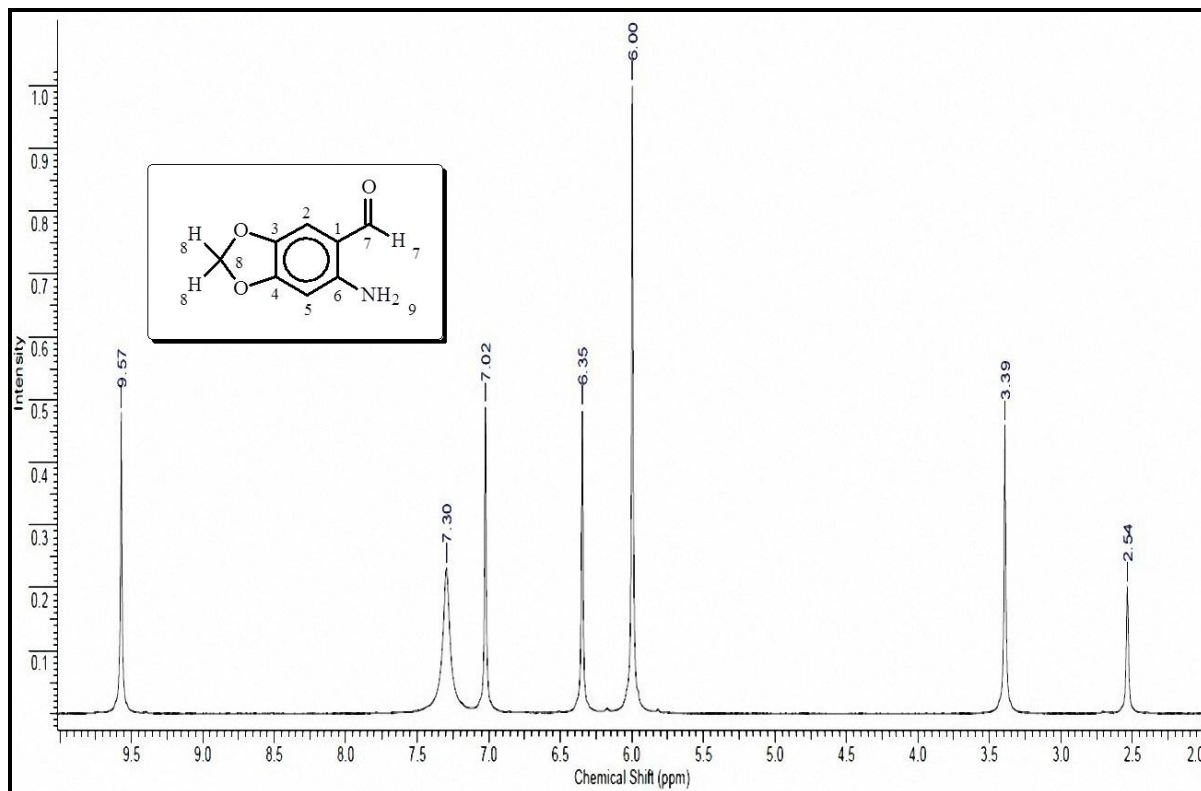
### 8.5 Espectro de DEPT Q do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M02, 125 MHz em DMSO



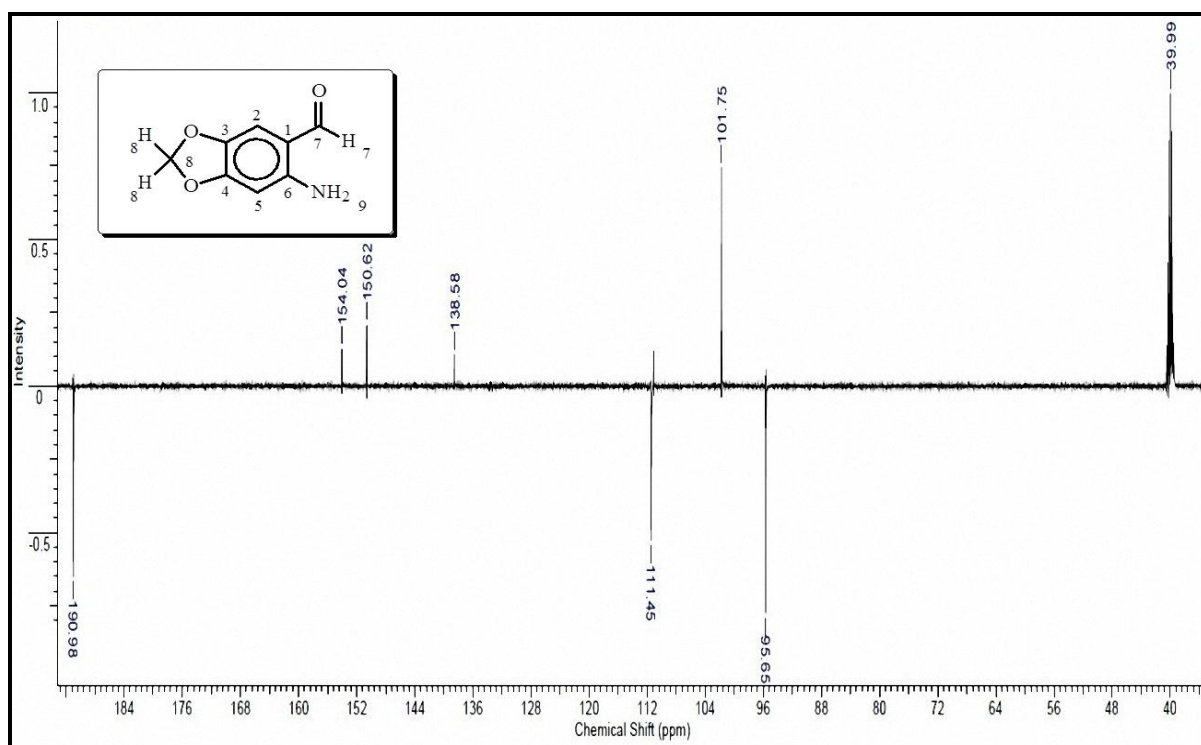
### 8.6 Espectro de IV do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M02



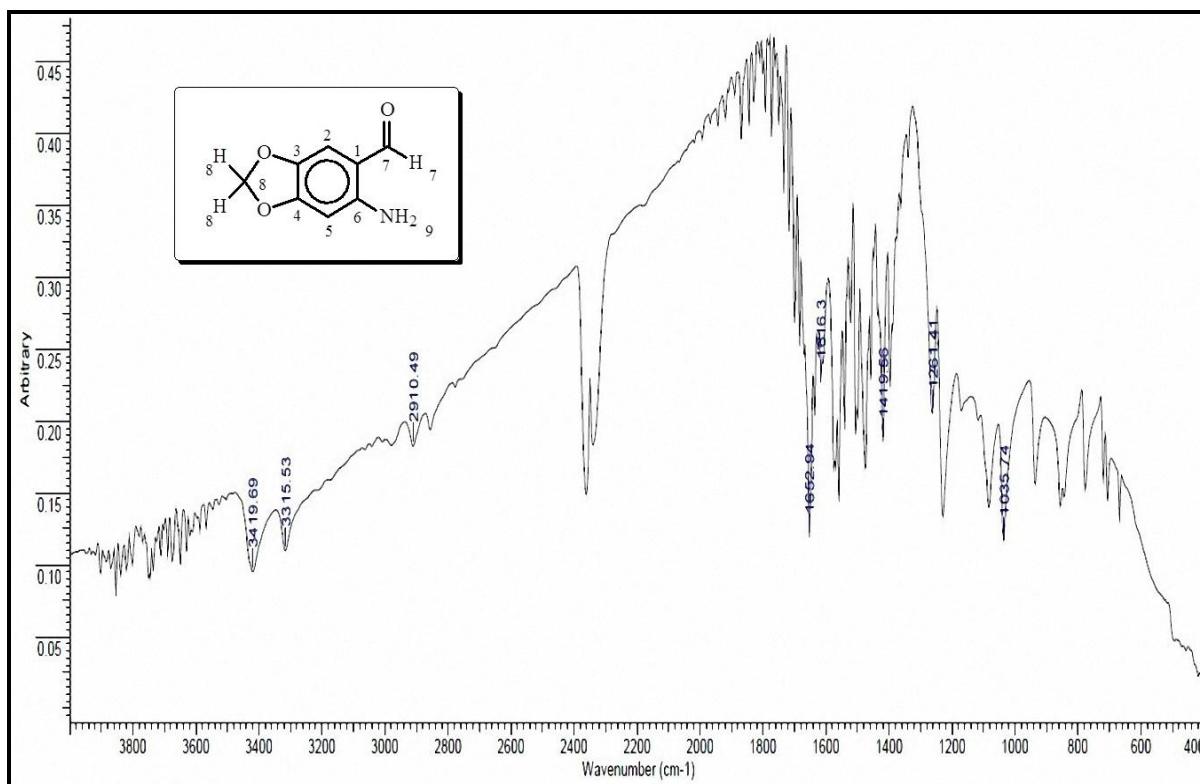
**8.7 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M03, 500 MHz em DMSO**



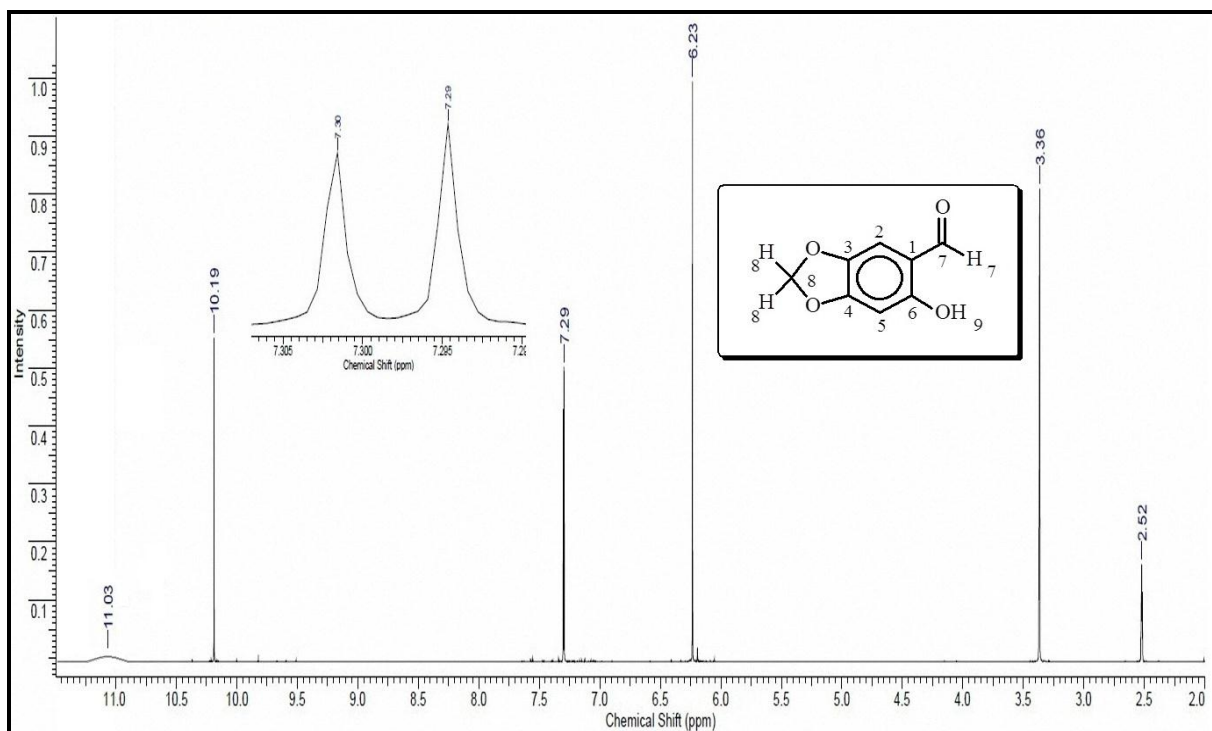
**8.8 Espectro de DEPT Q do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M03, 125 MHz em DMSO**



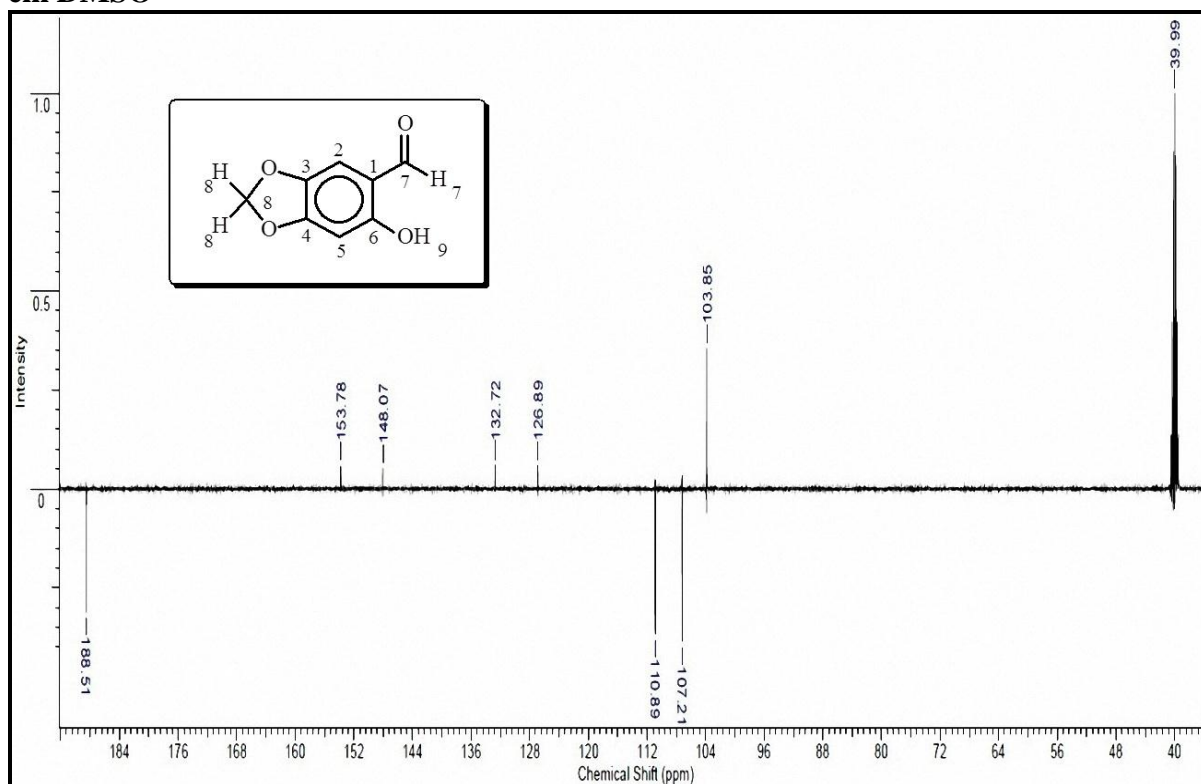
### 8.9 Espectro de IV do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M03



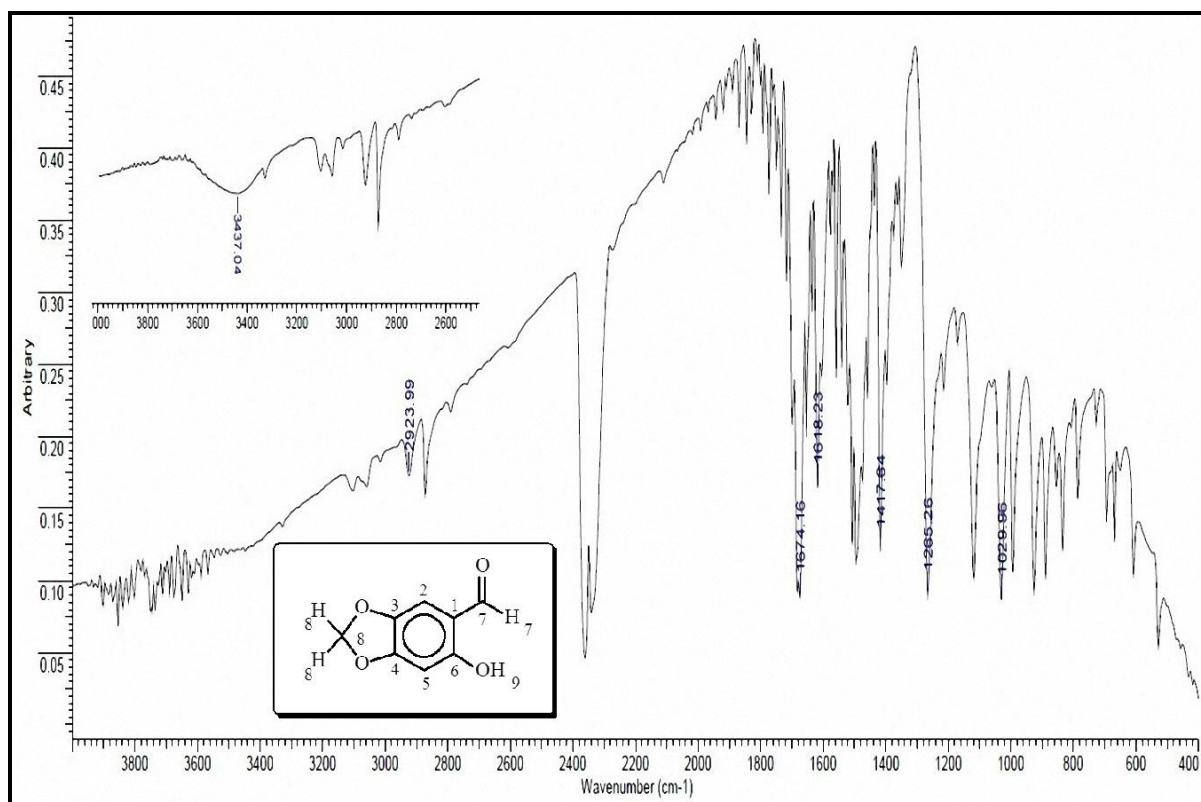
### 8.10 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M04, 500 MHz em DMSO



### 8.11 Espectro de DEPT Q do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M04, 125 MHz em DMSO

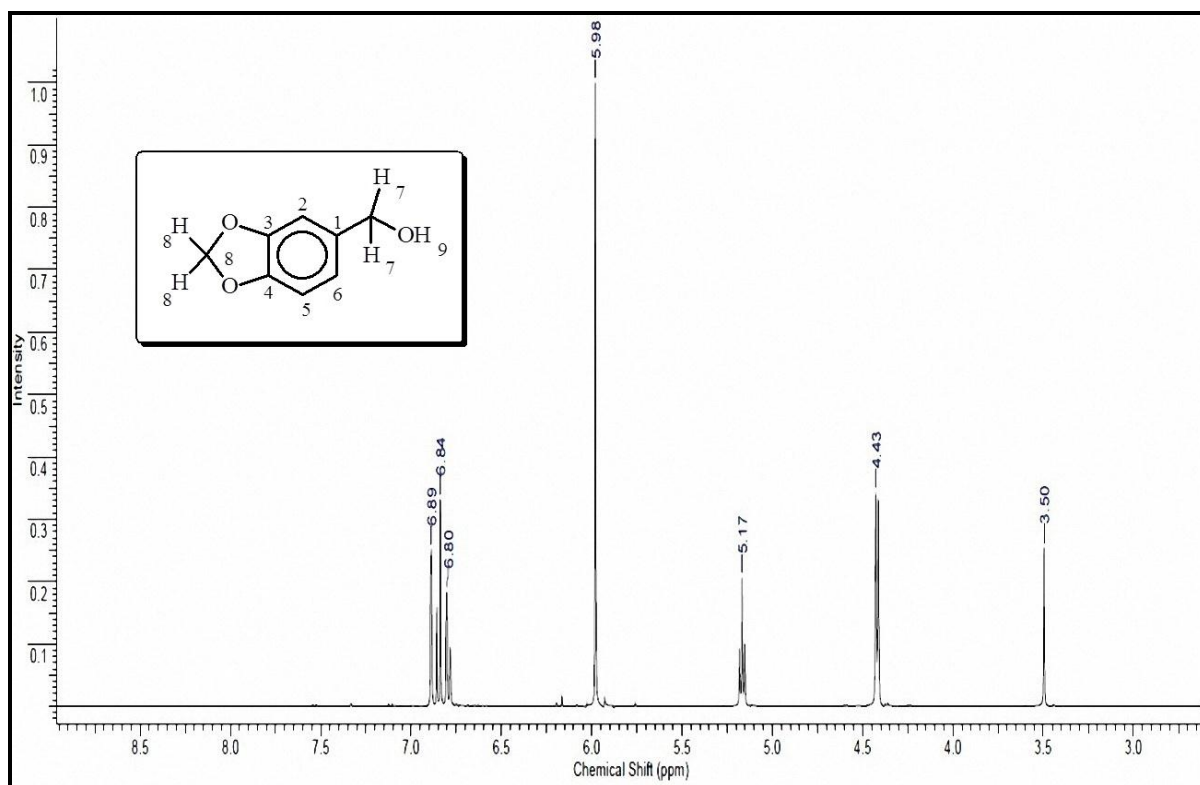


### 8.12 Espectro de IV do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M04

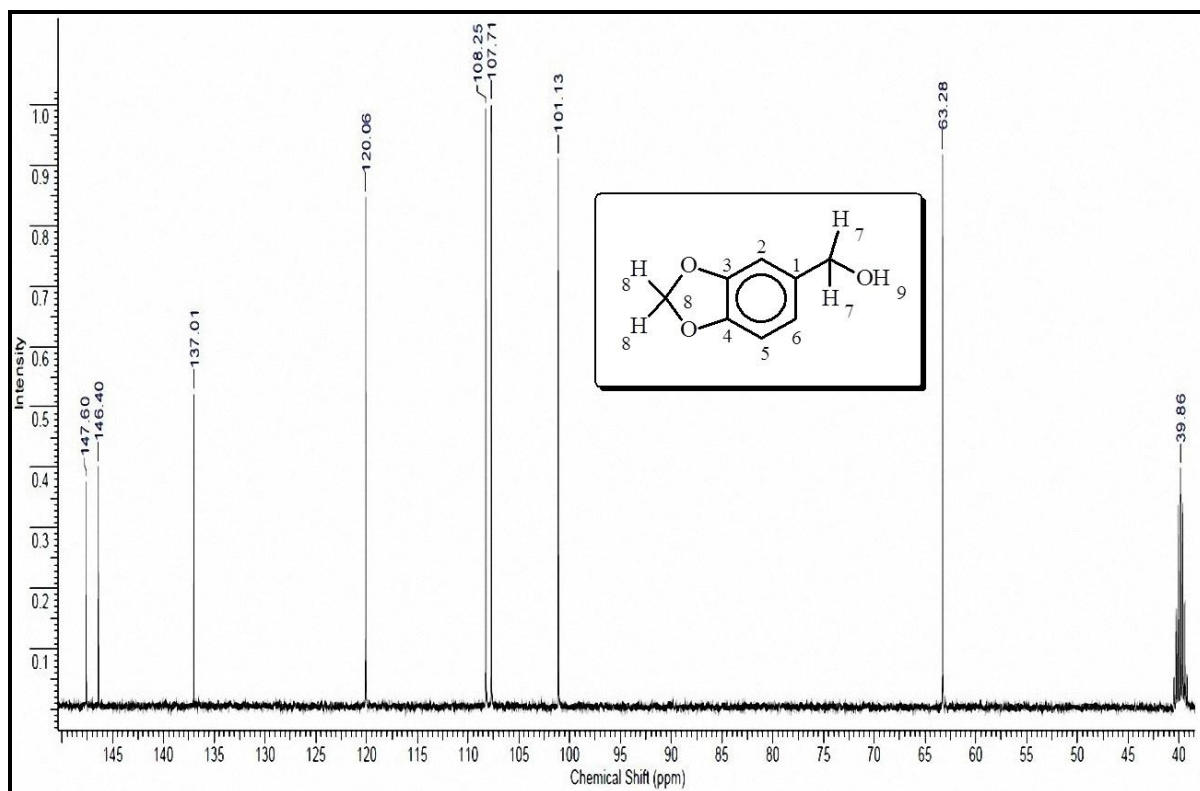




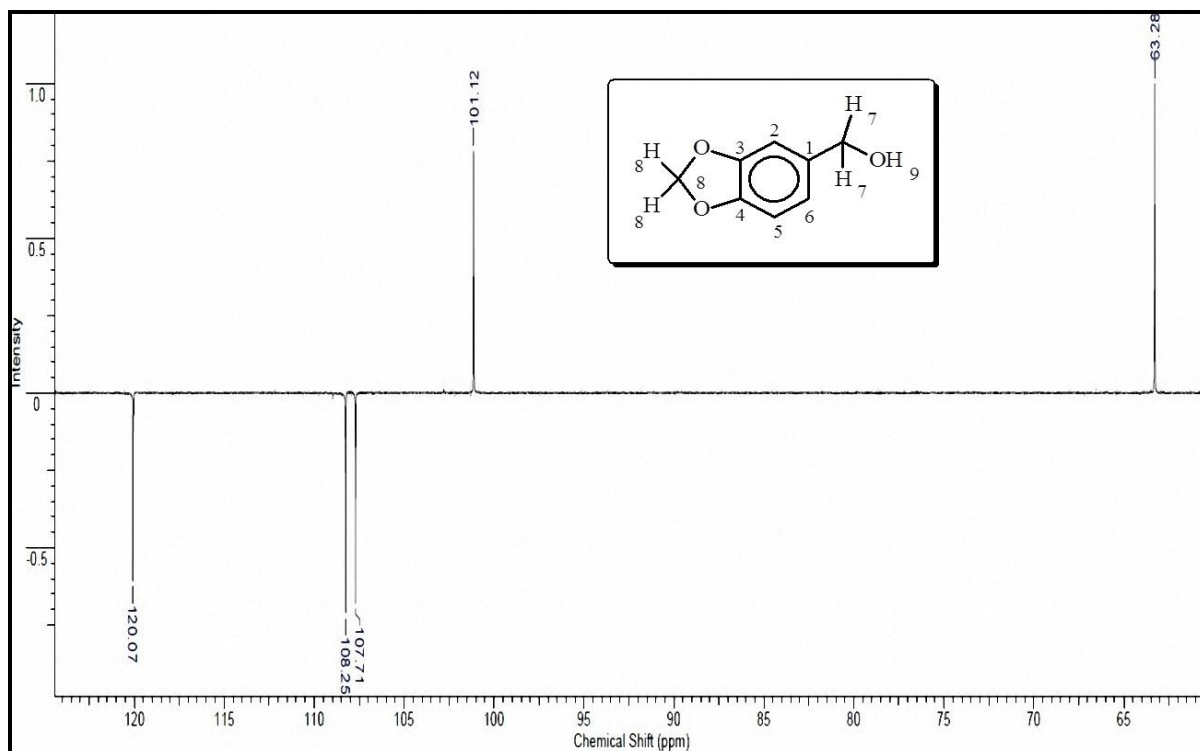
### 8.13 Espectro de RMN de H do piperonol M05, 400 MHz em DMSO



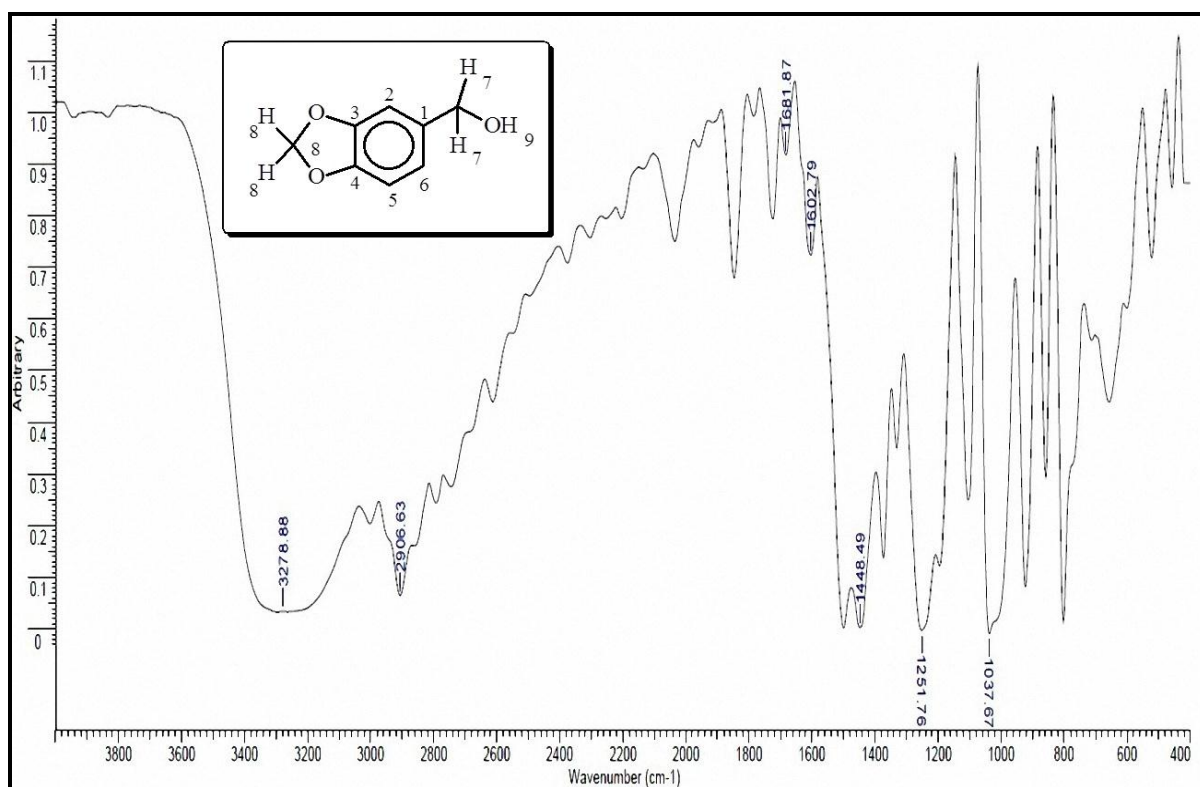
### 8.14 Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do piperonol M05, 100 MHz em DMSO



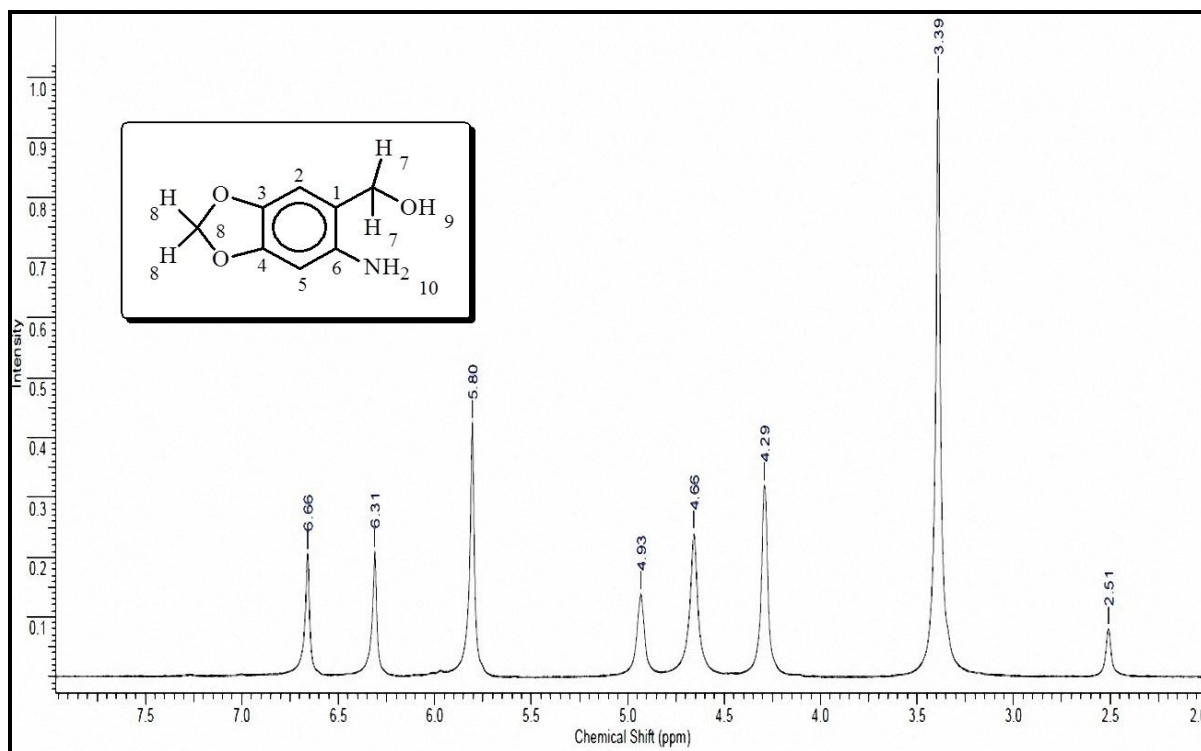
### 8.15 Espectro de RMN de DEPT 135° do piperonol M05, 100 MHz em DMSO



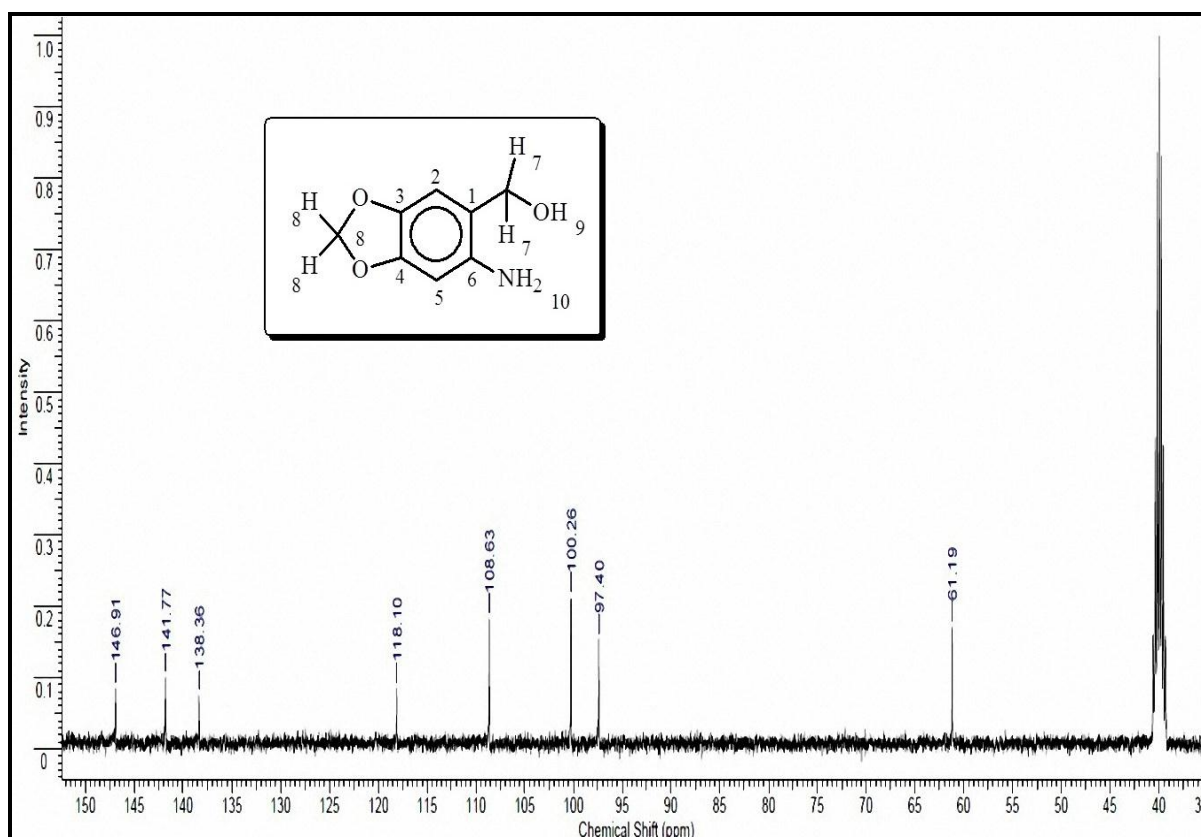
### 8.16 Espectro de IV do piperonol M05



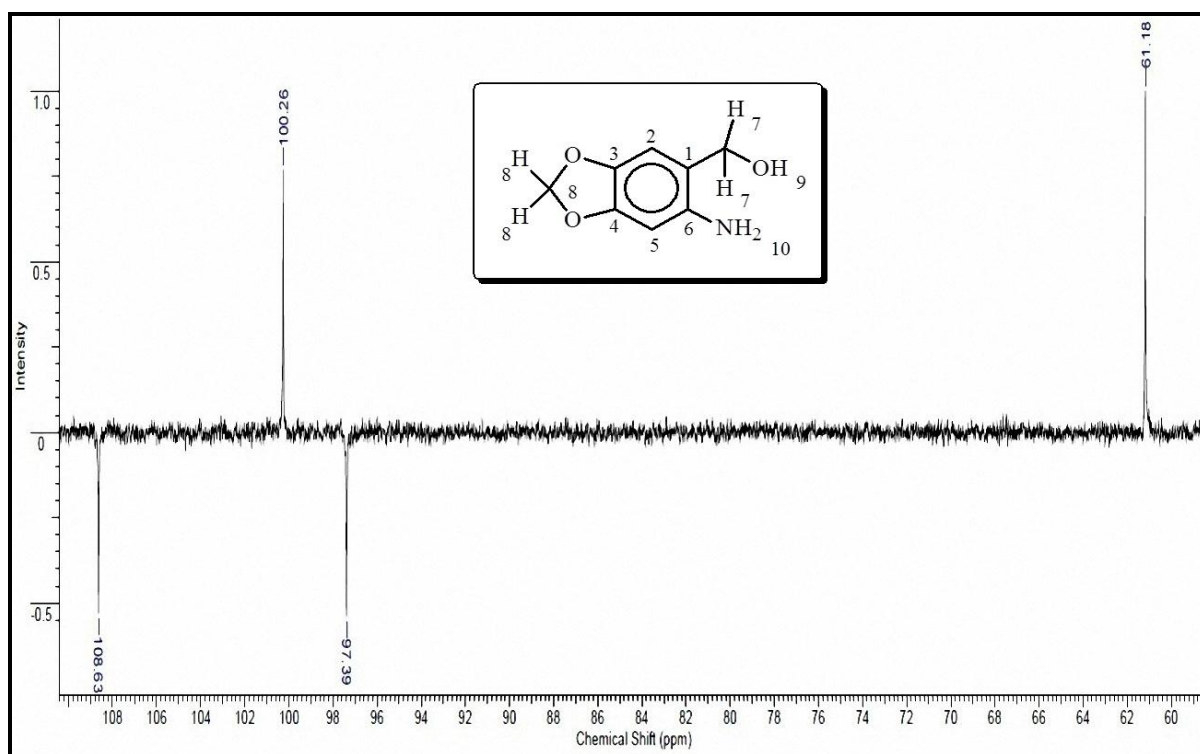
### 8.17 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-aminopiperonol M06, 400 MHz em DMSO



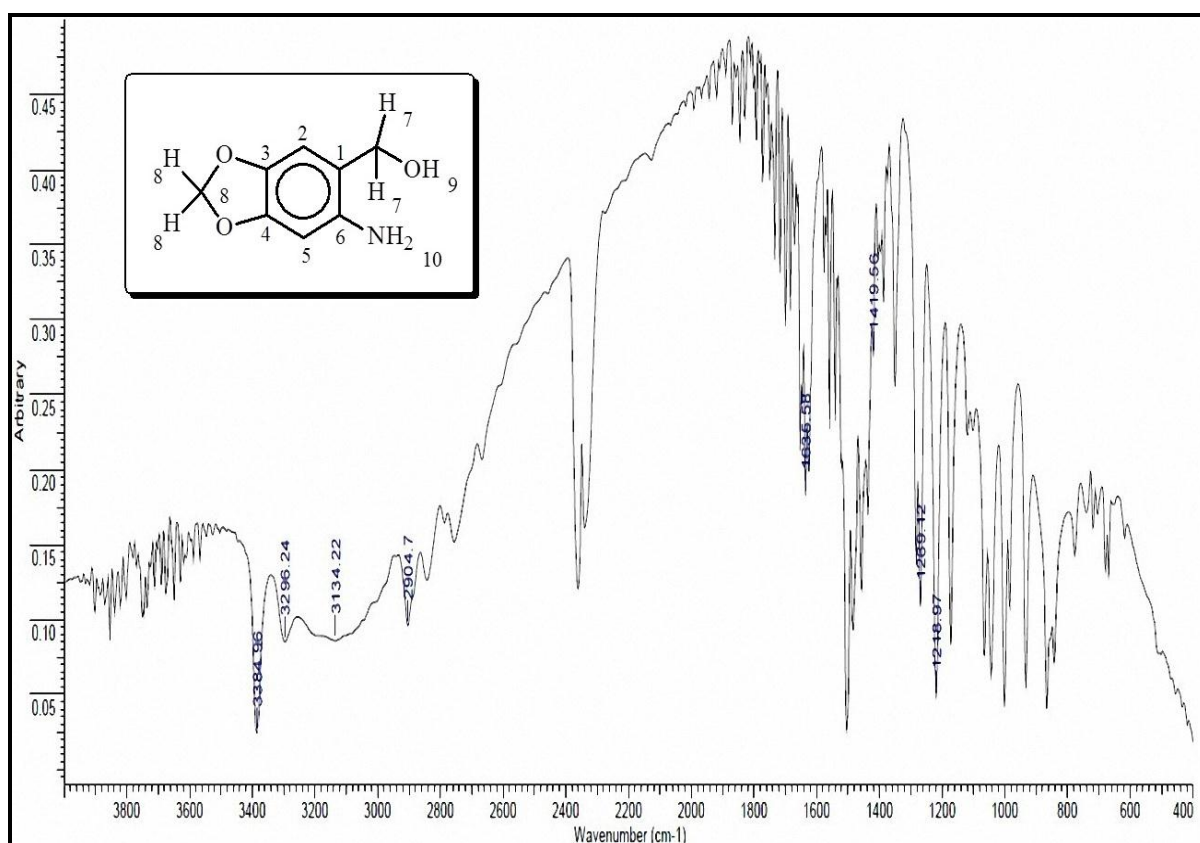
### 8.18 Espectro de de RMN de $^{13}\text{C}$ do 6-aminopiperonol , 100 MHz em DMSO



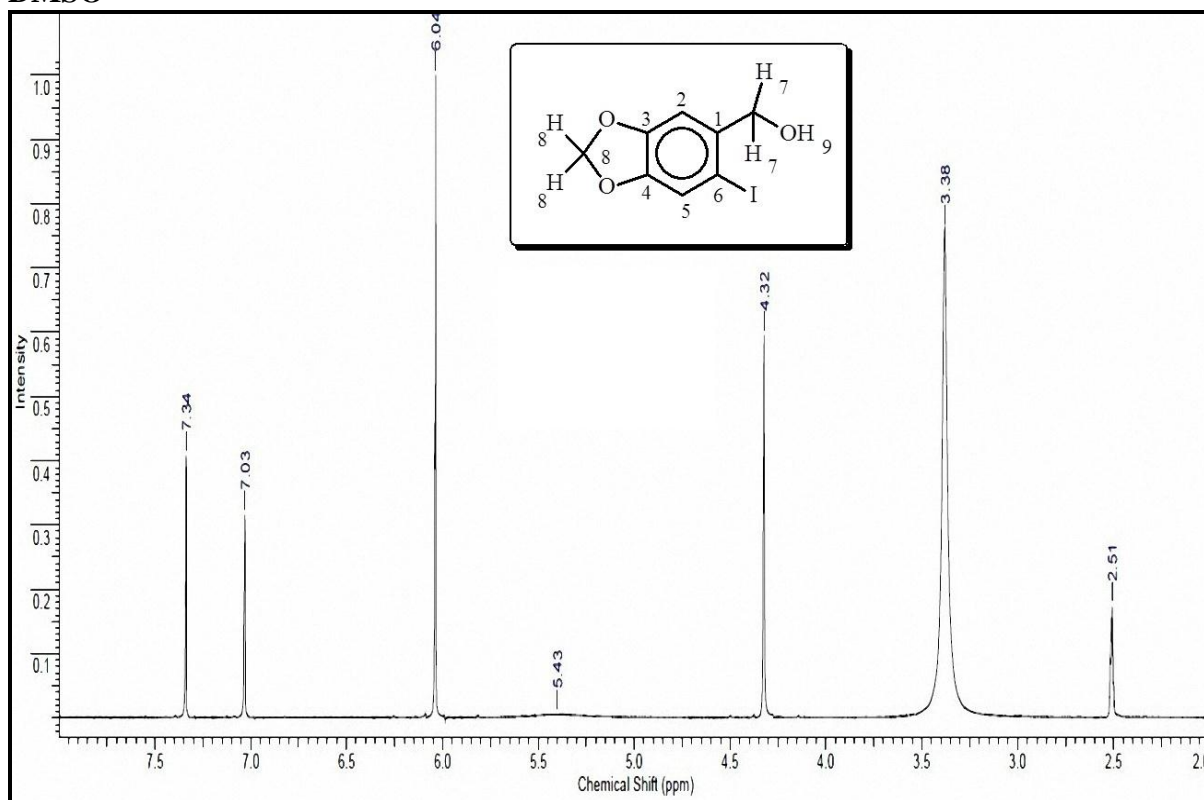
### 8.19 Espectro de RMN de DEPT 135° do 6-aminopiperonol M06, 100 MHz em DMSO



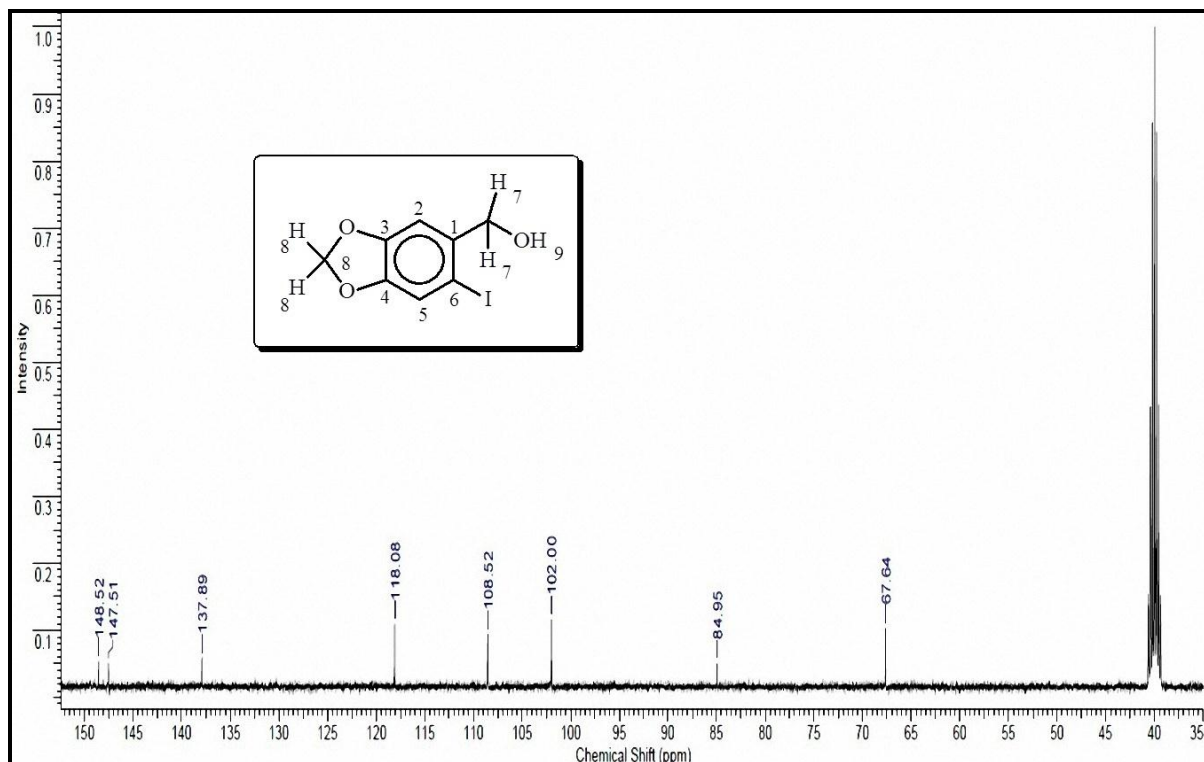
### 8.20 Espectro de IV do 6-aminopiperonol M06



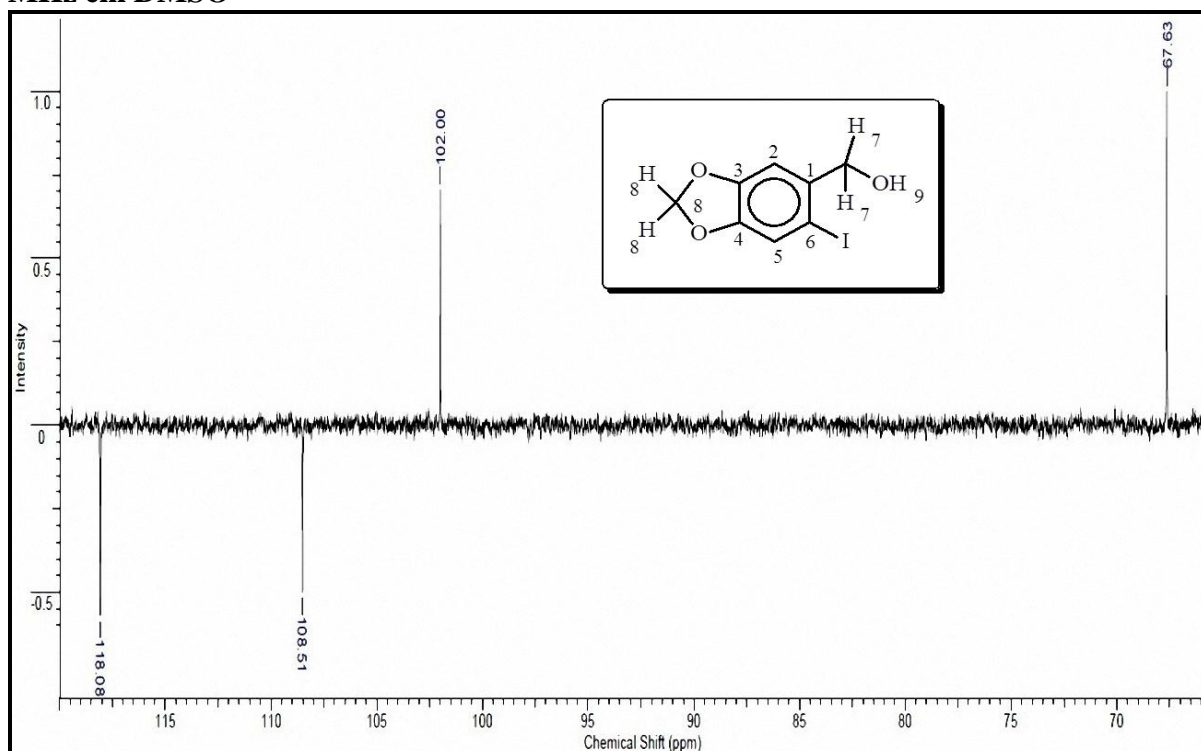
**8.21 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do (6-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol M07, 400 MHz em DMSO**



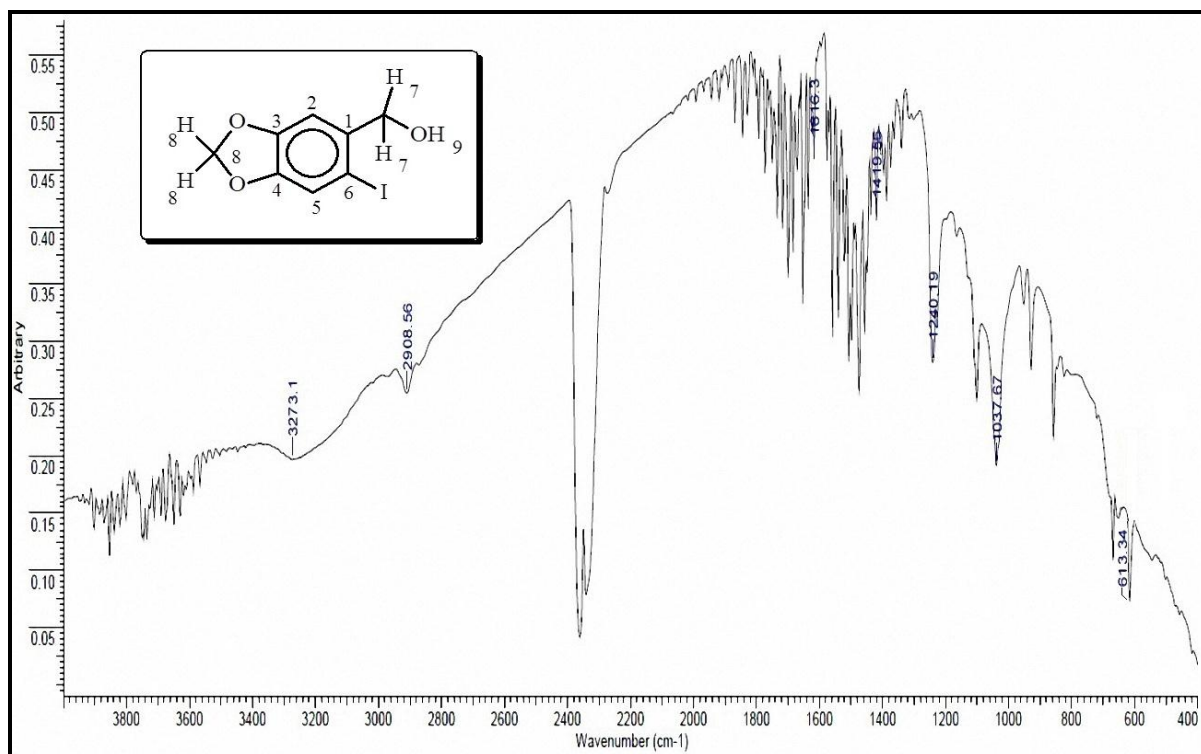
**8.22 Espectro de de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 6-iodopiperonol M07, 100 MHz em DMSO**



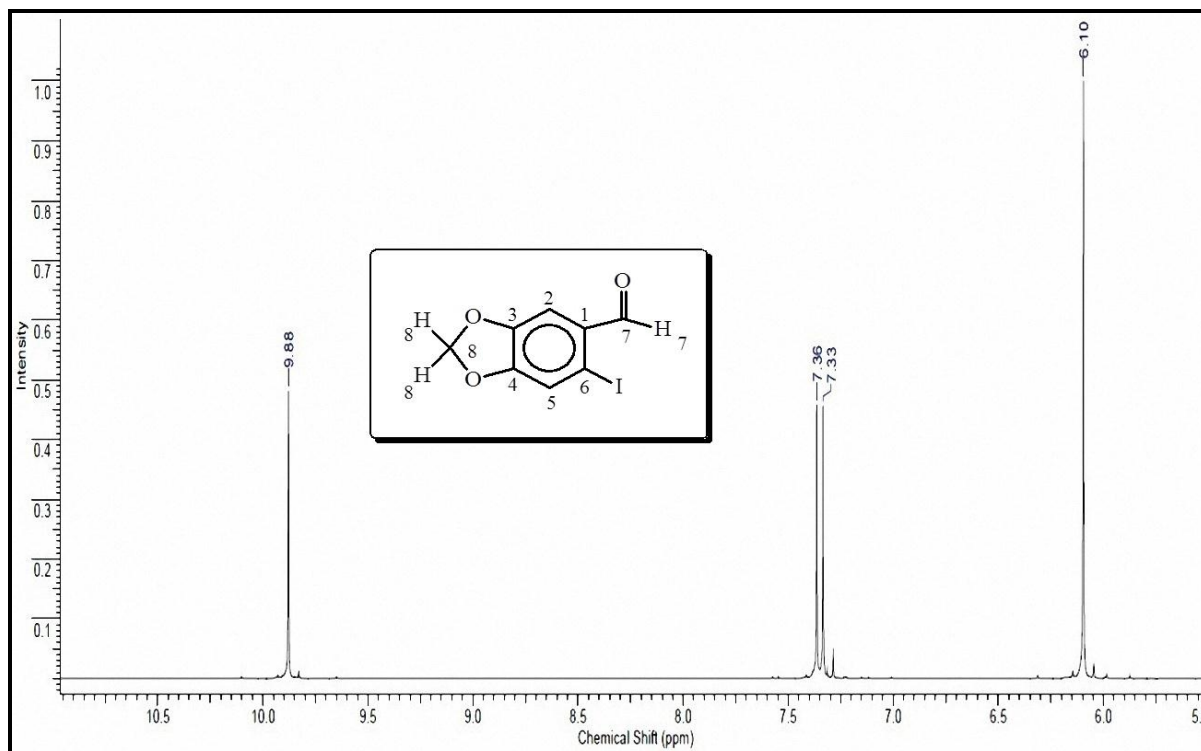
**8.23 Espectro de RMN de DEPT 135° do (6-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol M07, 100 MHz em DMSO**



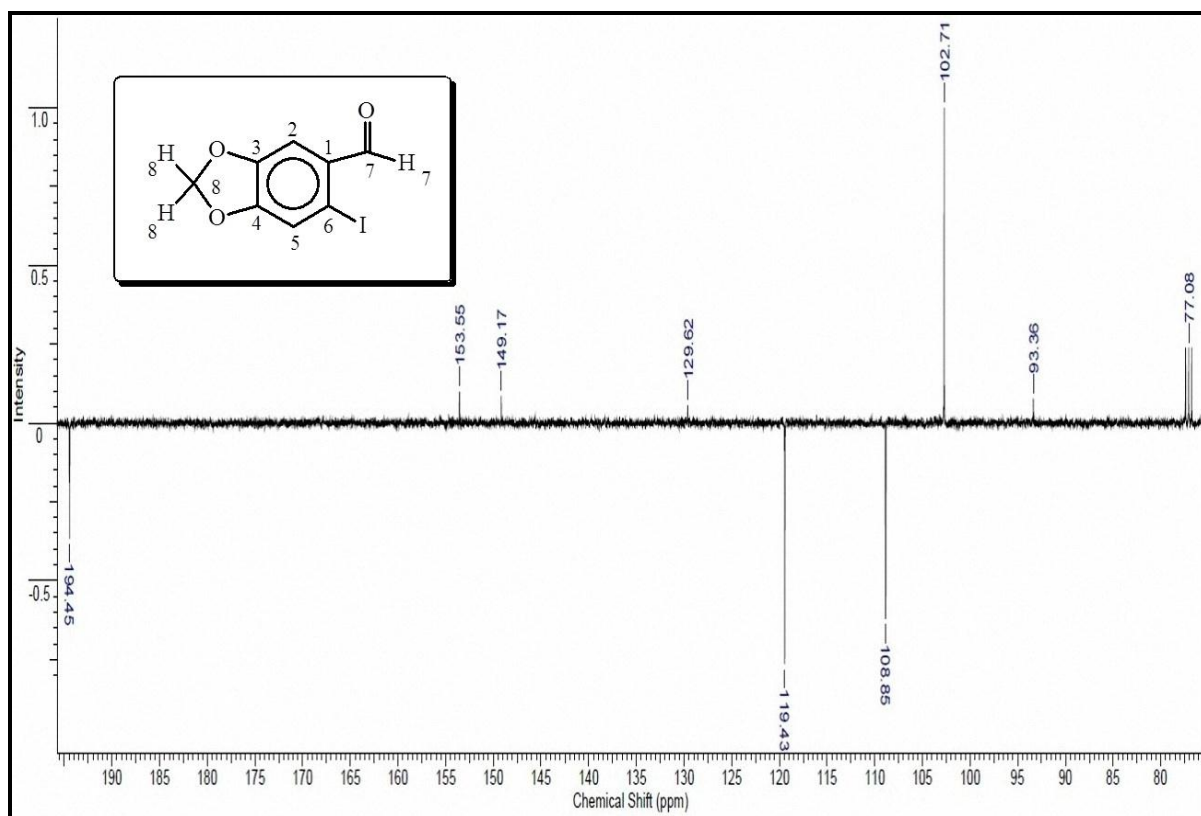
**8.24 Espectro de IV do (6-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol M07**



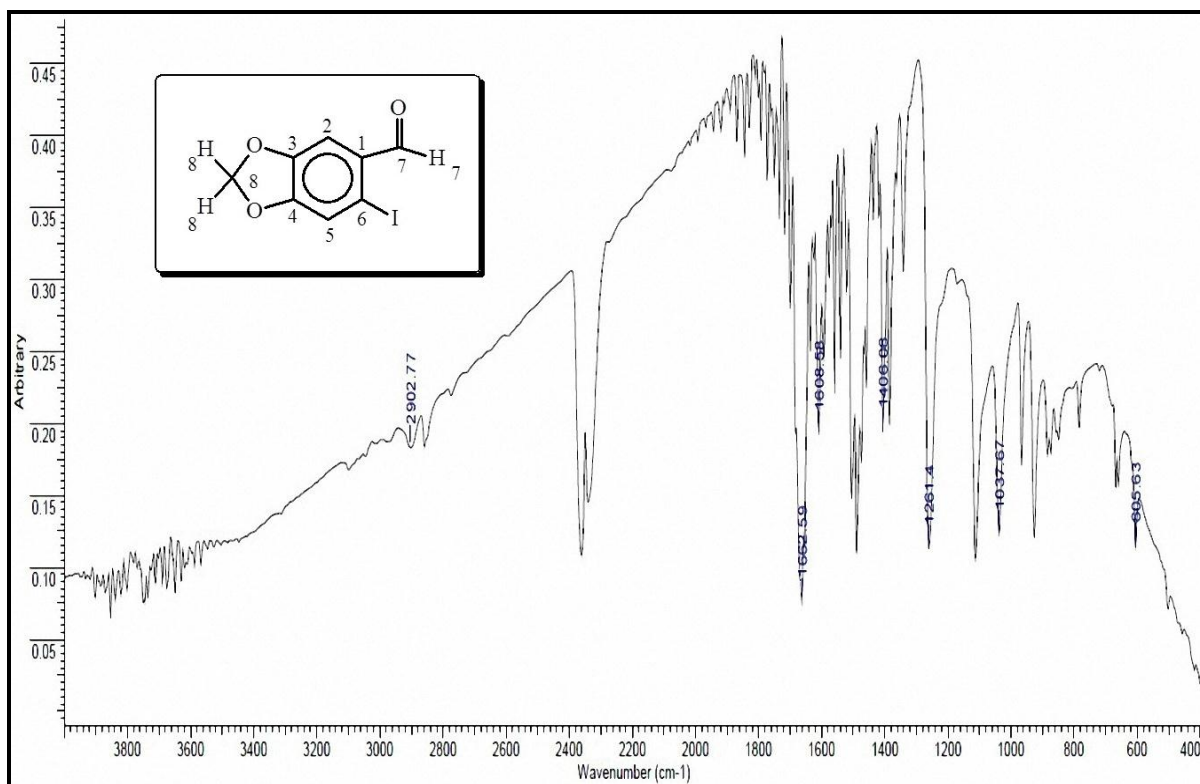
**8.25 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M08, 400 MHz em DMSO**



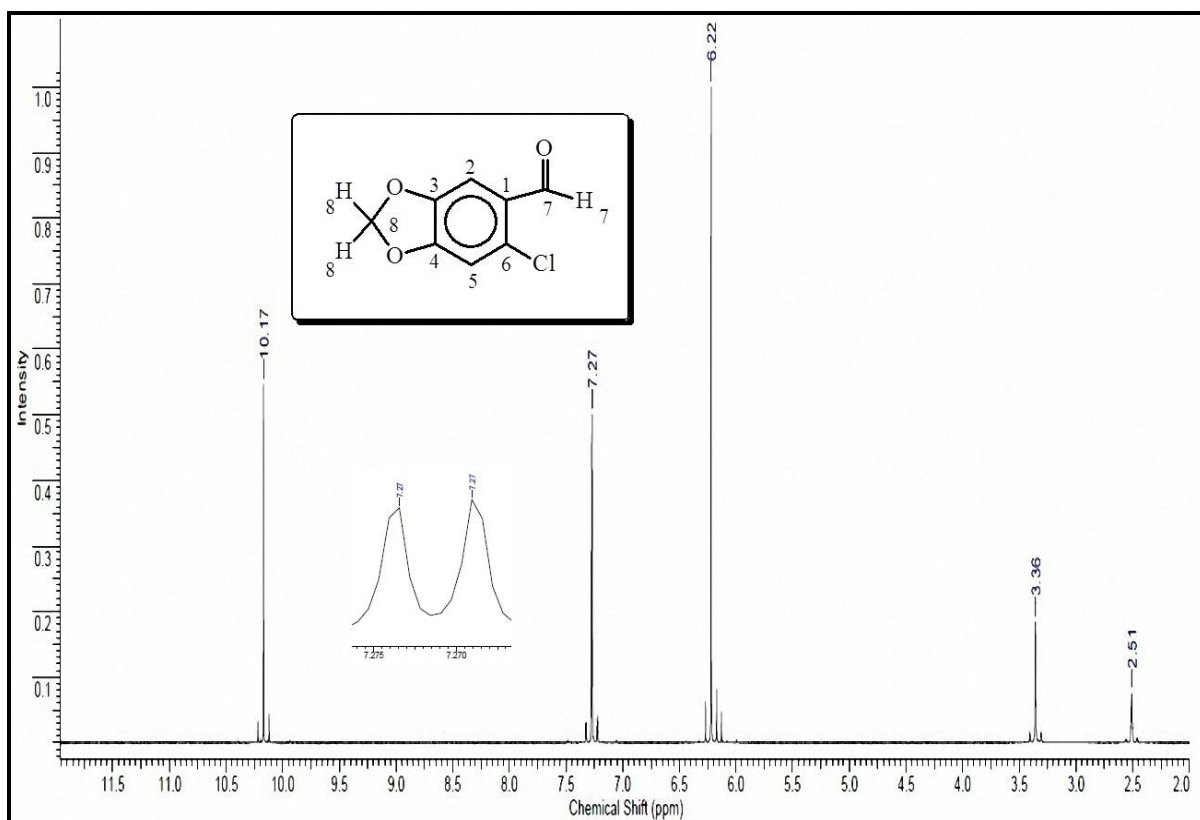
**8.26 Espectro de DEPT Q do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M08, 100 MHz em DMSO**



### 8.27 Espectro de IV do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M08

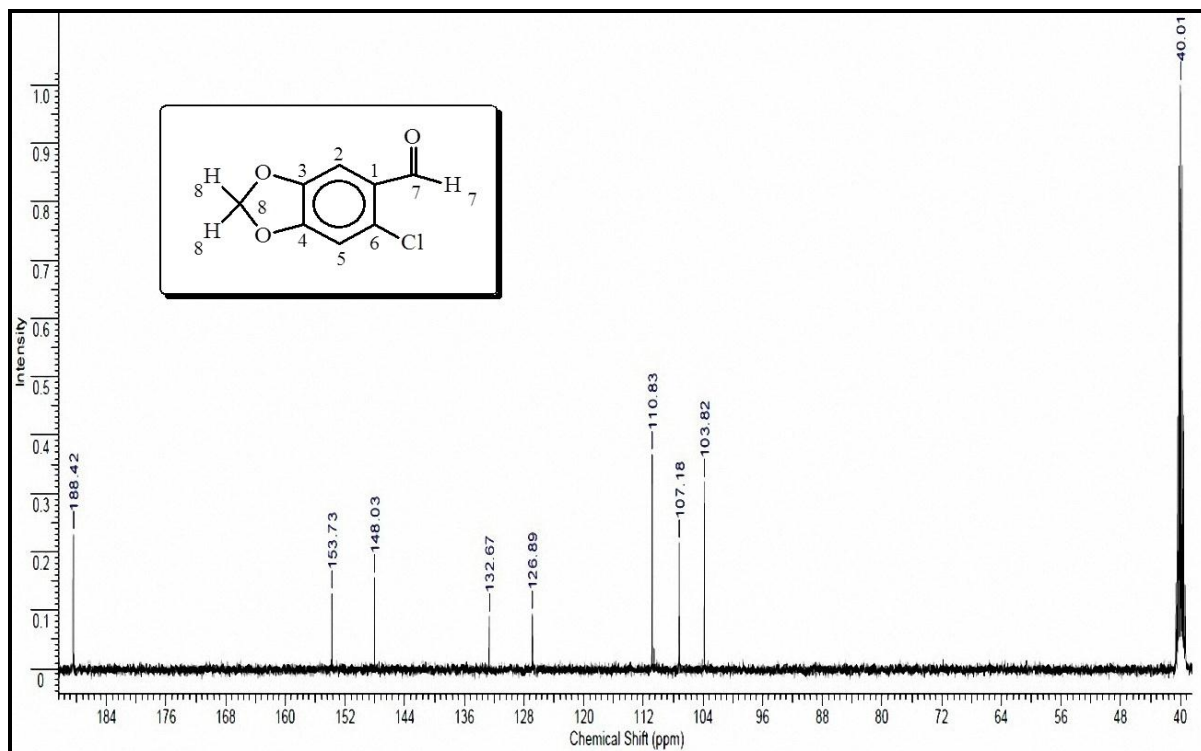


### 8.28 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M09, 400 MHz em DMSO

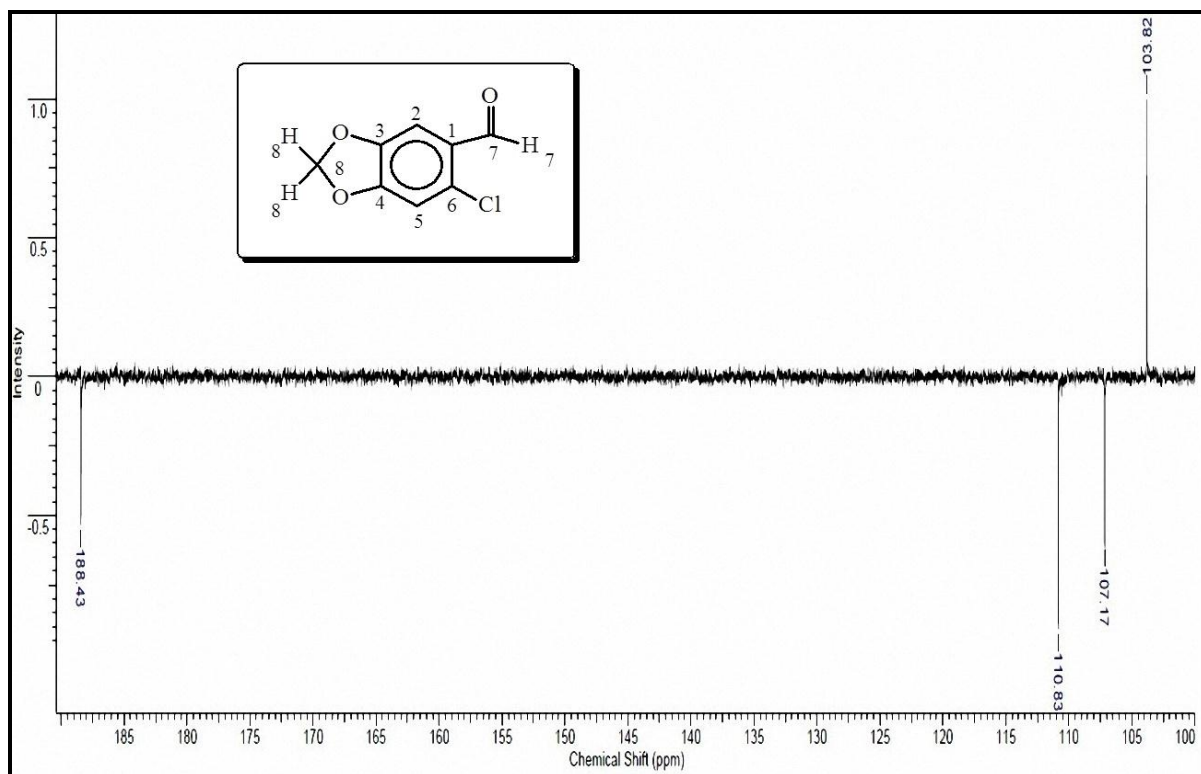




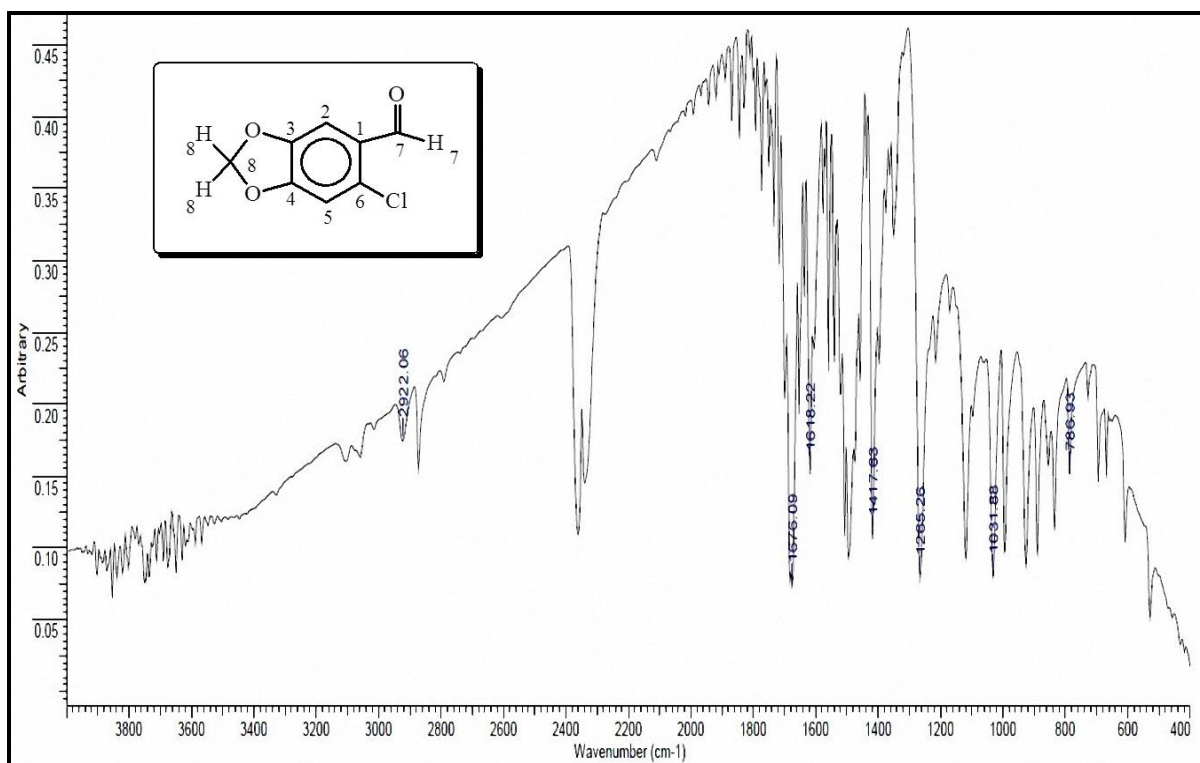
**8.29 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M09, 100 MHz em DMSO**



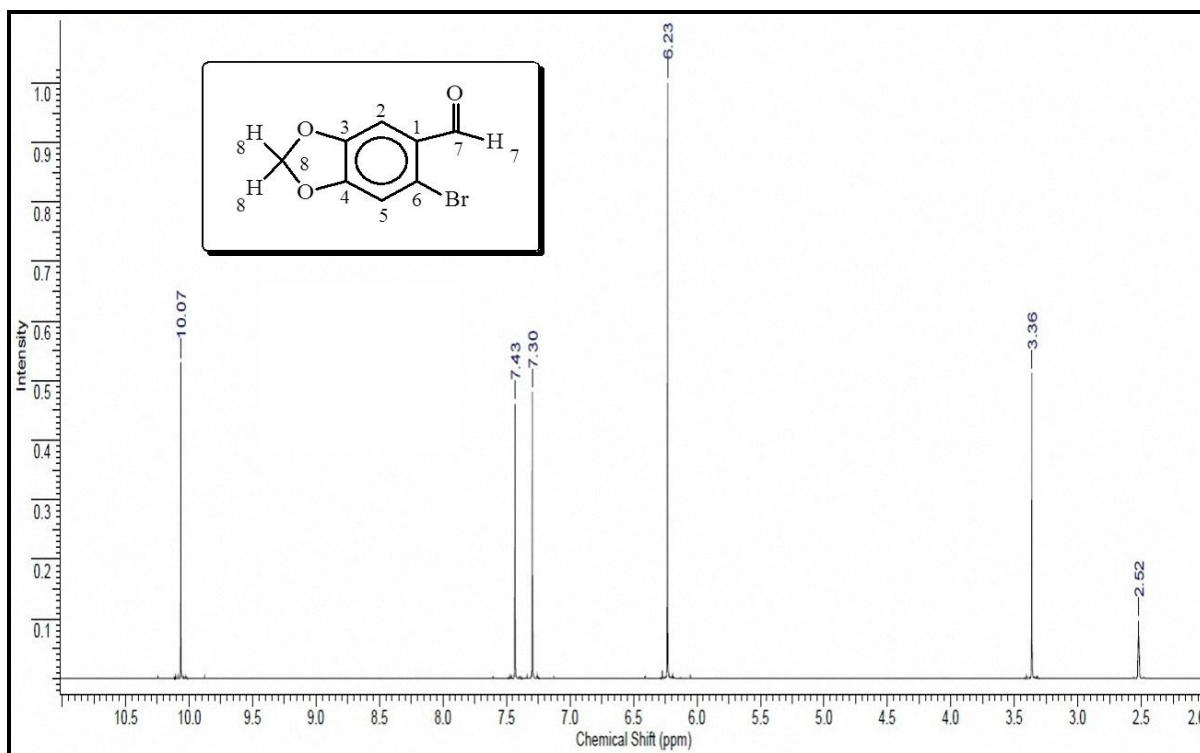
**8.30 Espectro de RMN de DEPT 135 do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carbaldeído M09, 100 MHz em DMSO**



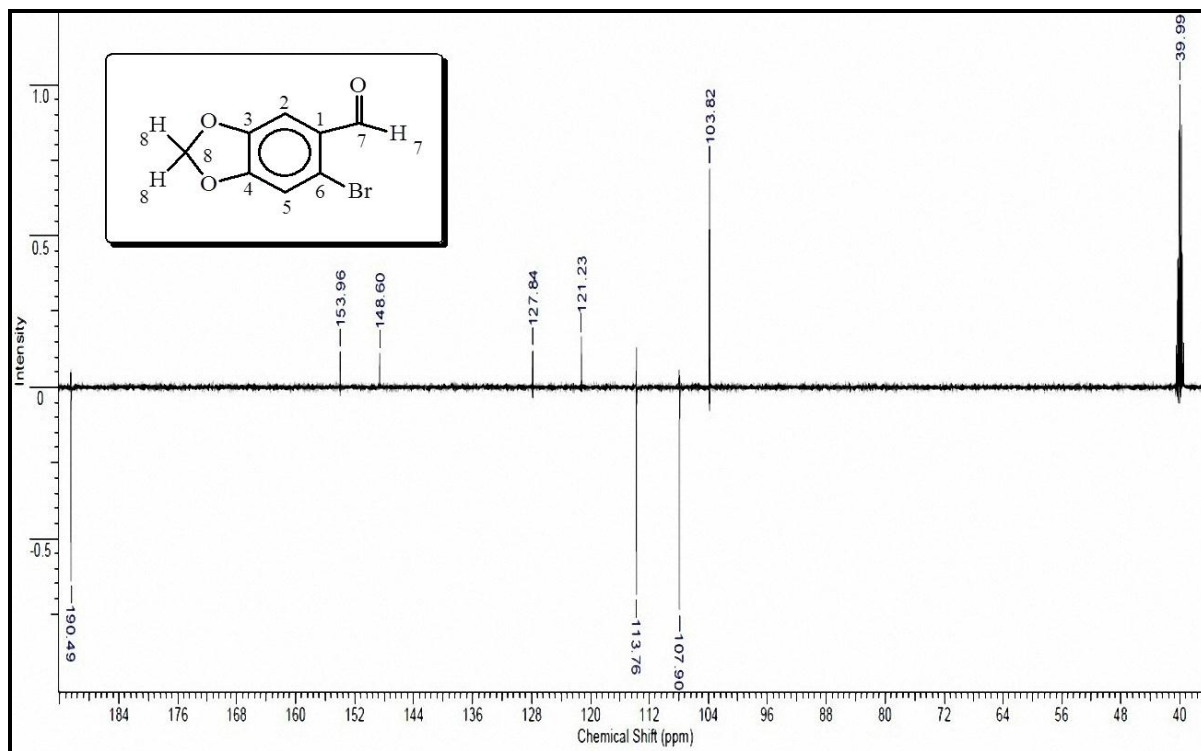
### 8.31 Espectro de IV do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M09



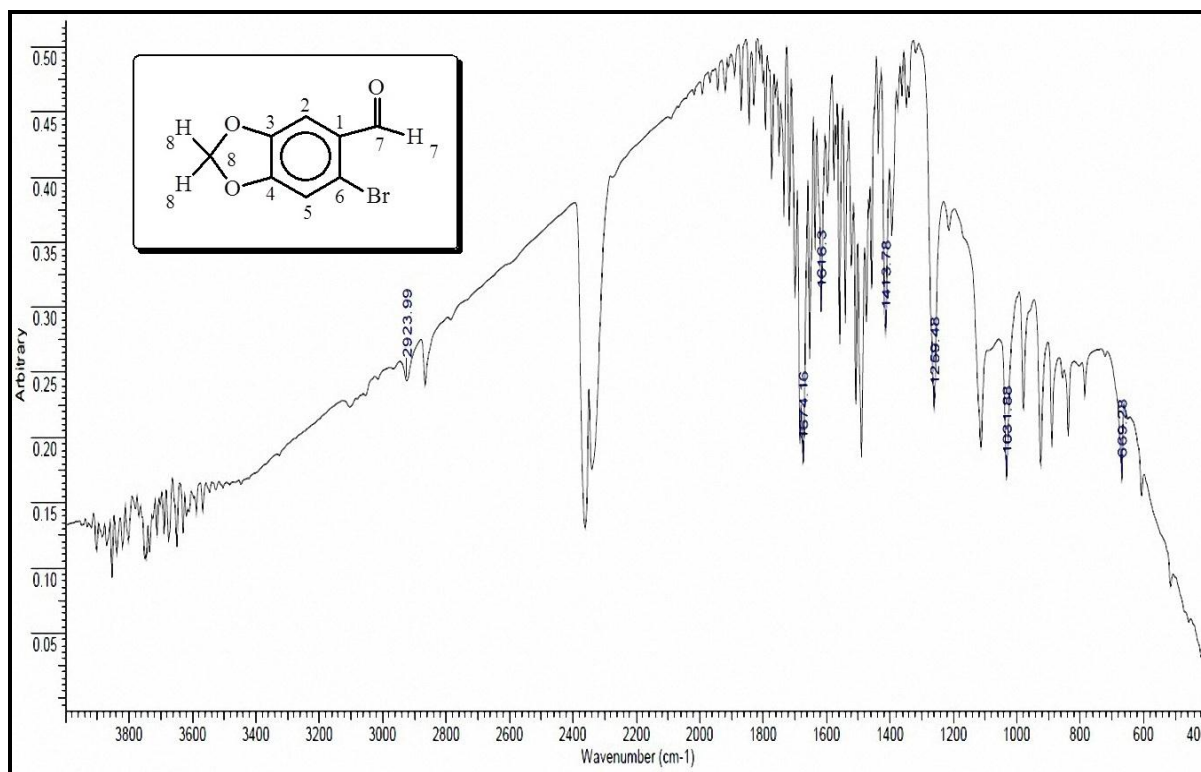
### 8.32 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M10, 500 MHz em DMSO



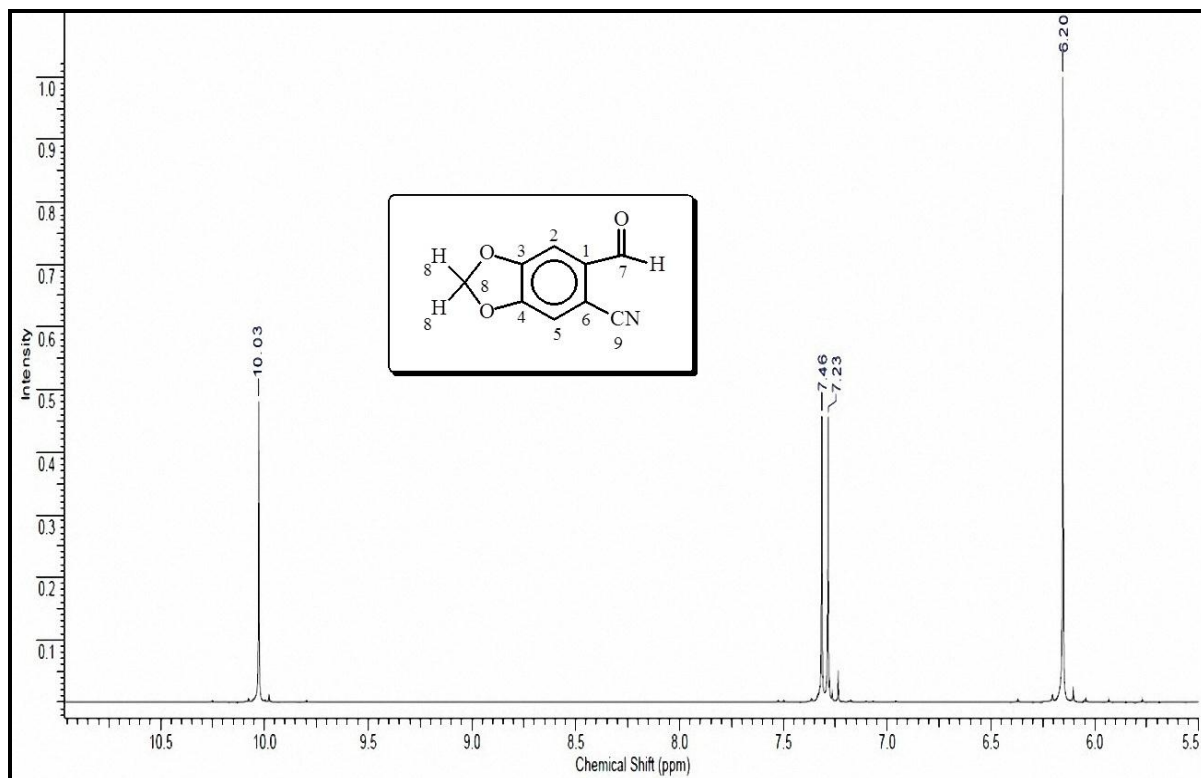
### 8.33 Espectro de DEPT Q do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M10, 125 MHz em DMSO



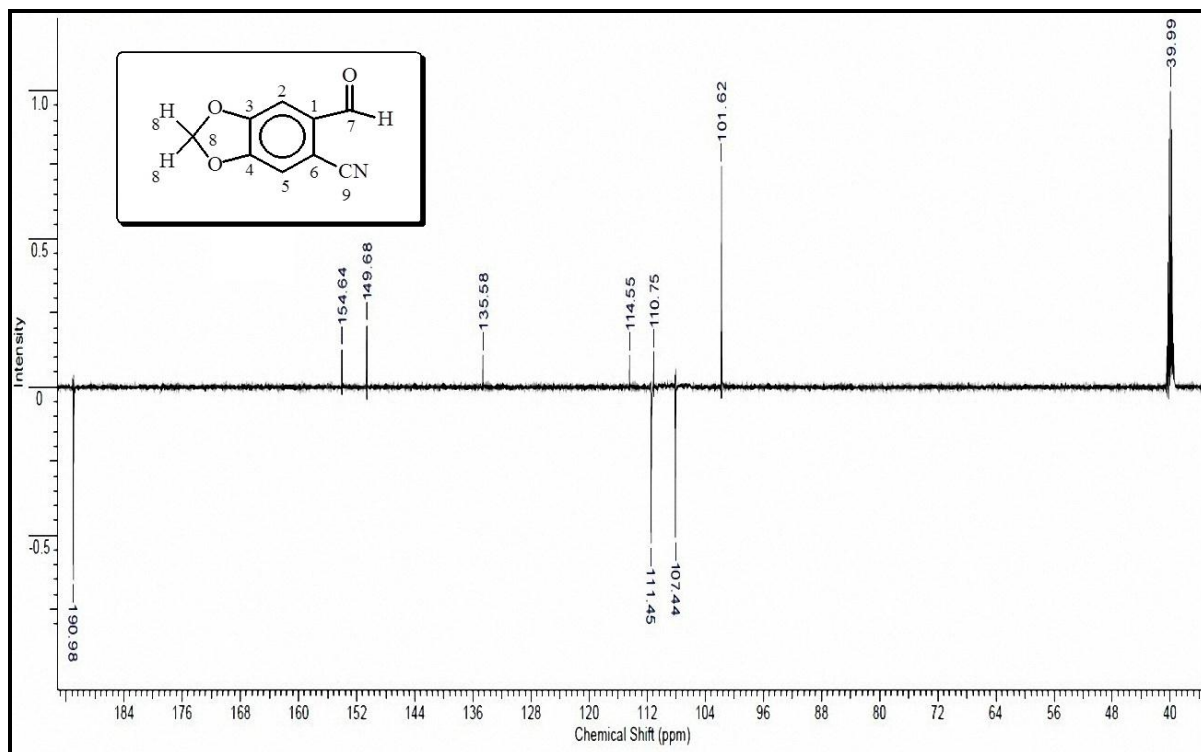
### 8.34 Espectro de IV do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M10



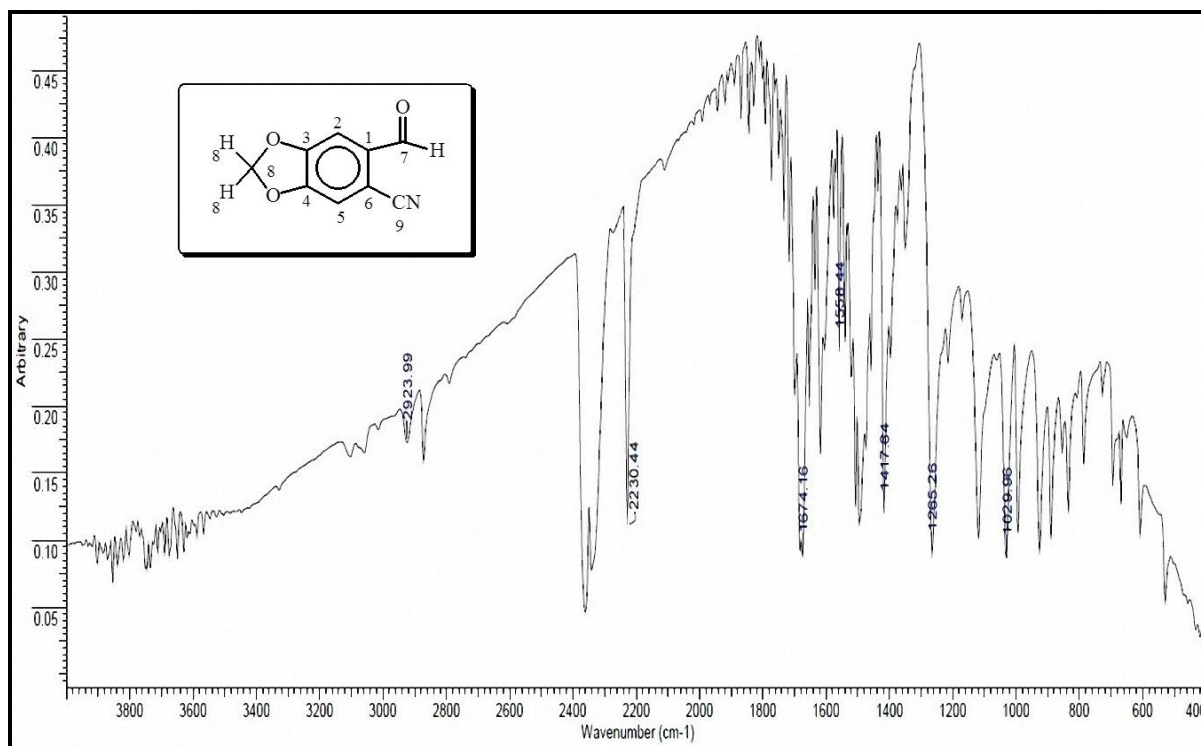
**8.35 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carbaldeído M11, 400MHz em  $\text{CDCl}_3$**



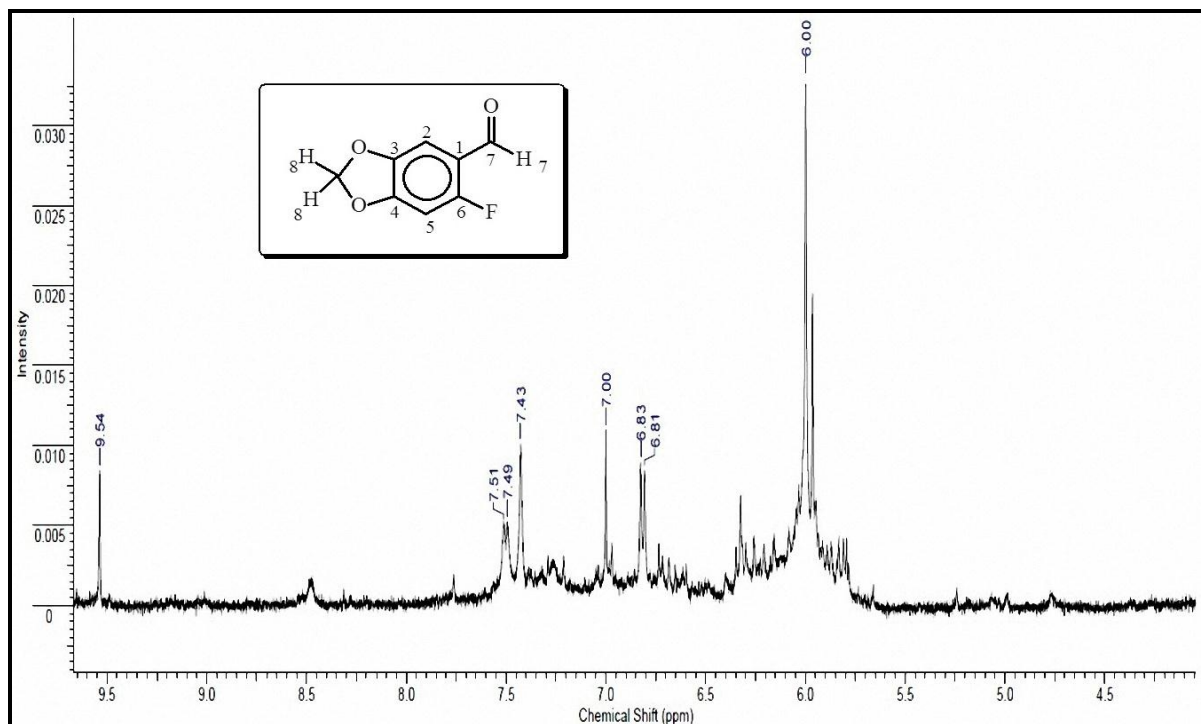
**8.36 Espectro de DEPT Q do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído M11, 100 MHz em  $\text{CDCl}_3$**



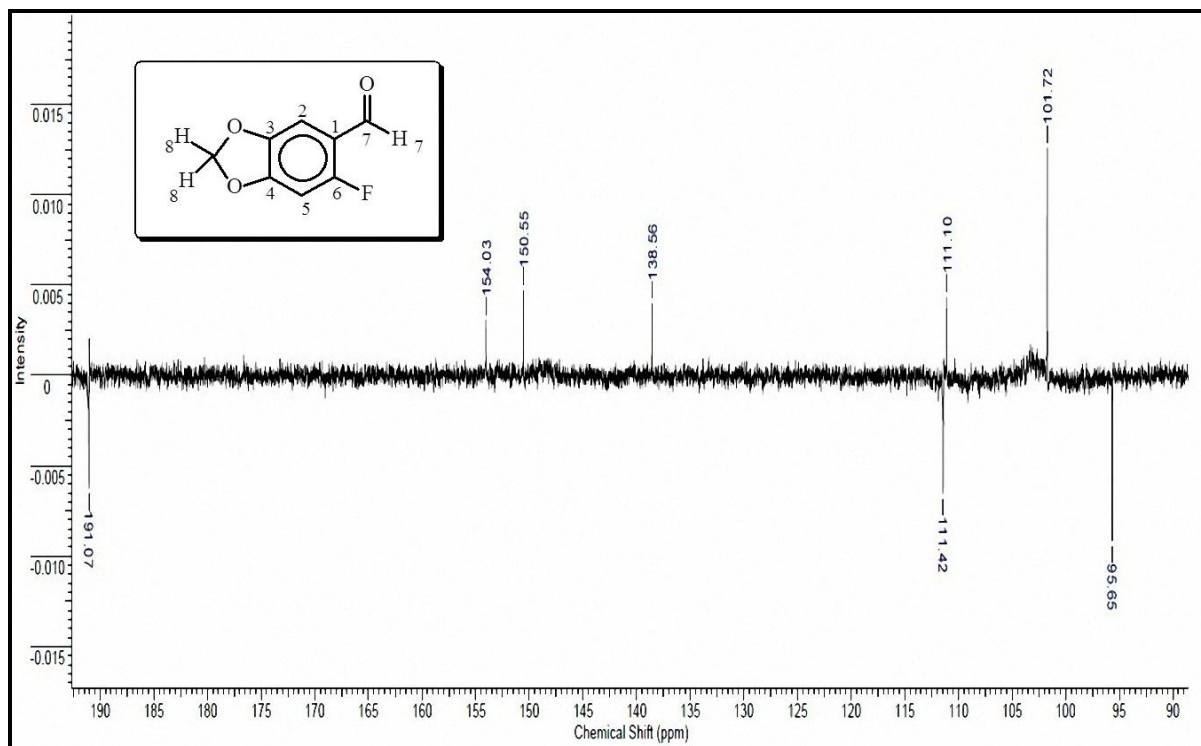
### 8.37 Espectro de IV do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído, M11



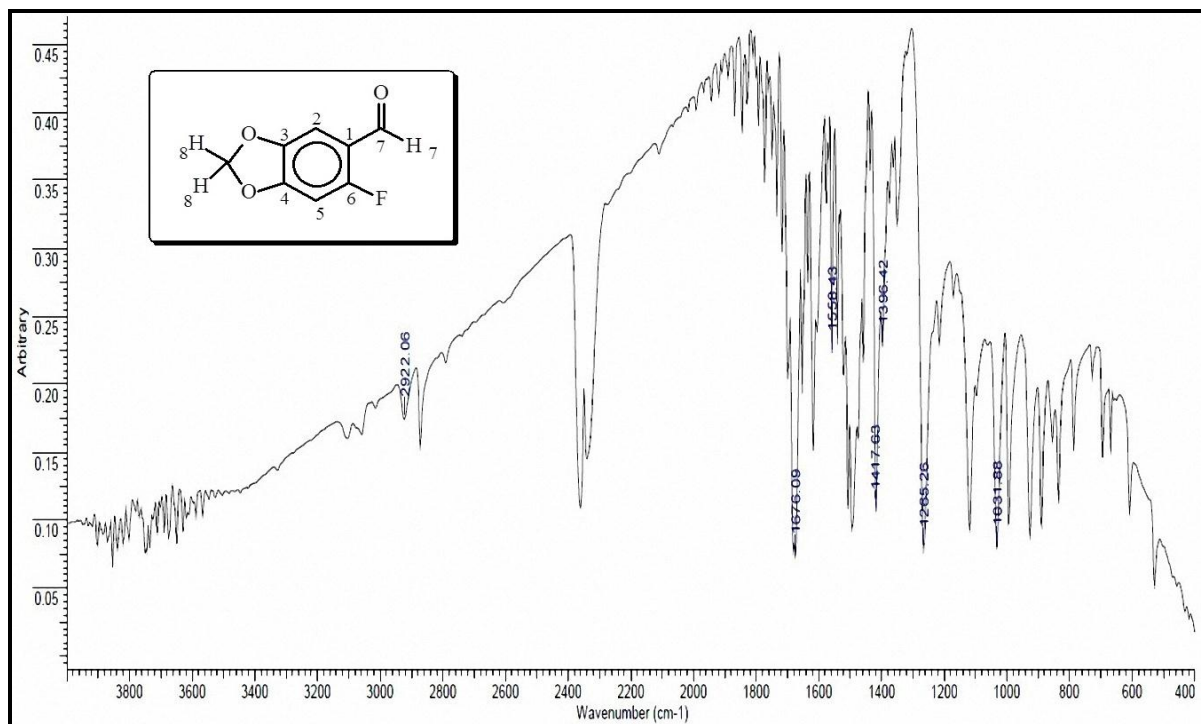
### 8.38 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxialdeído, M12, 400 MHz em DMSO



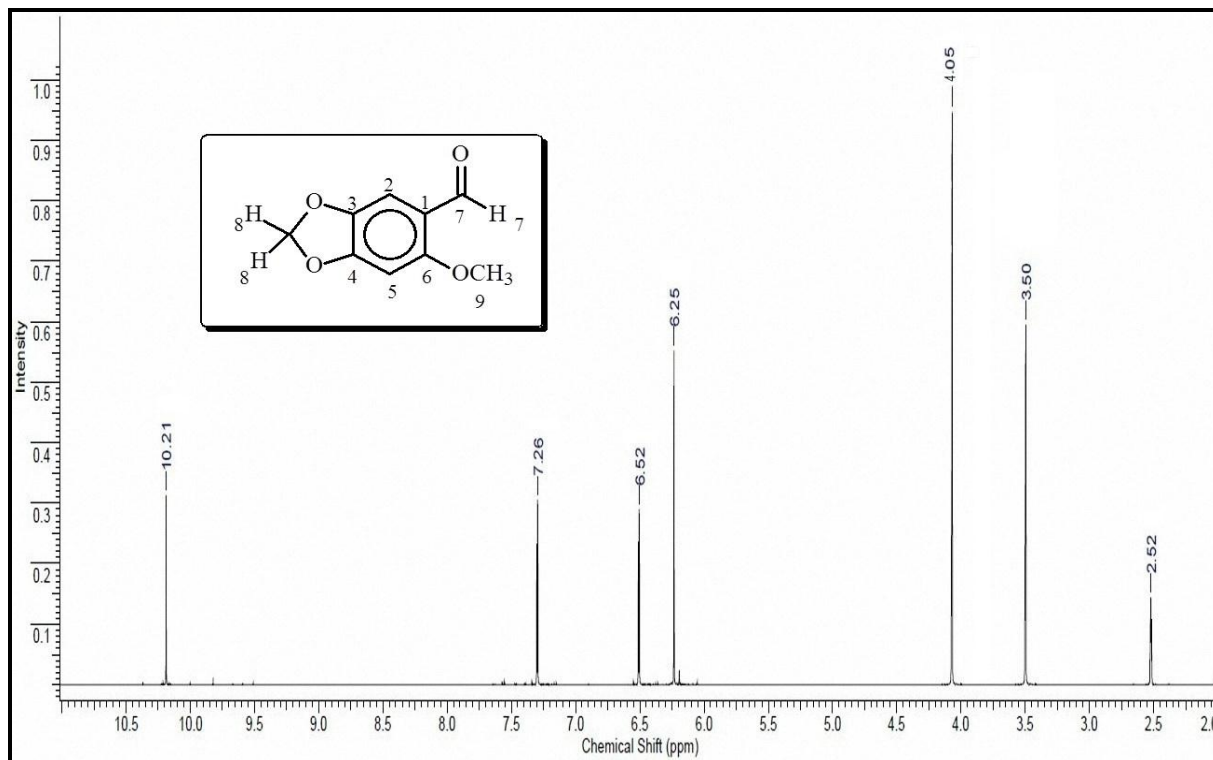
### 8.39 Espectro de RMN de DEPT Q do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxialdeído, M12, 400 MHz em DMSO



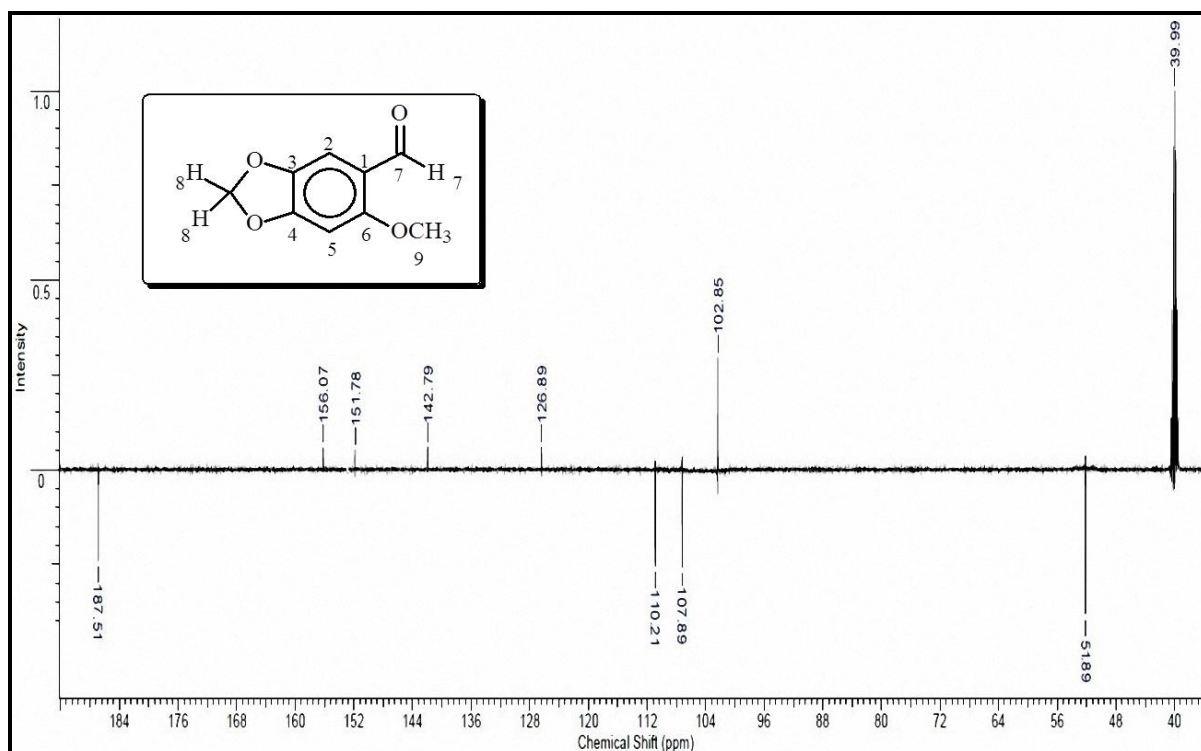
### 8.40 Espectro de IV do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxialdeído, M12



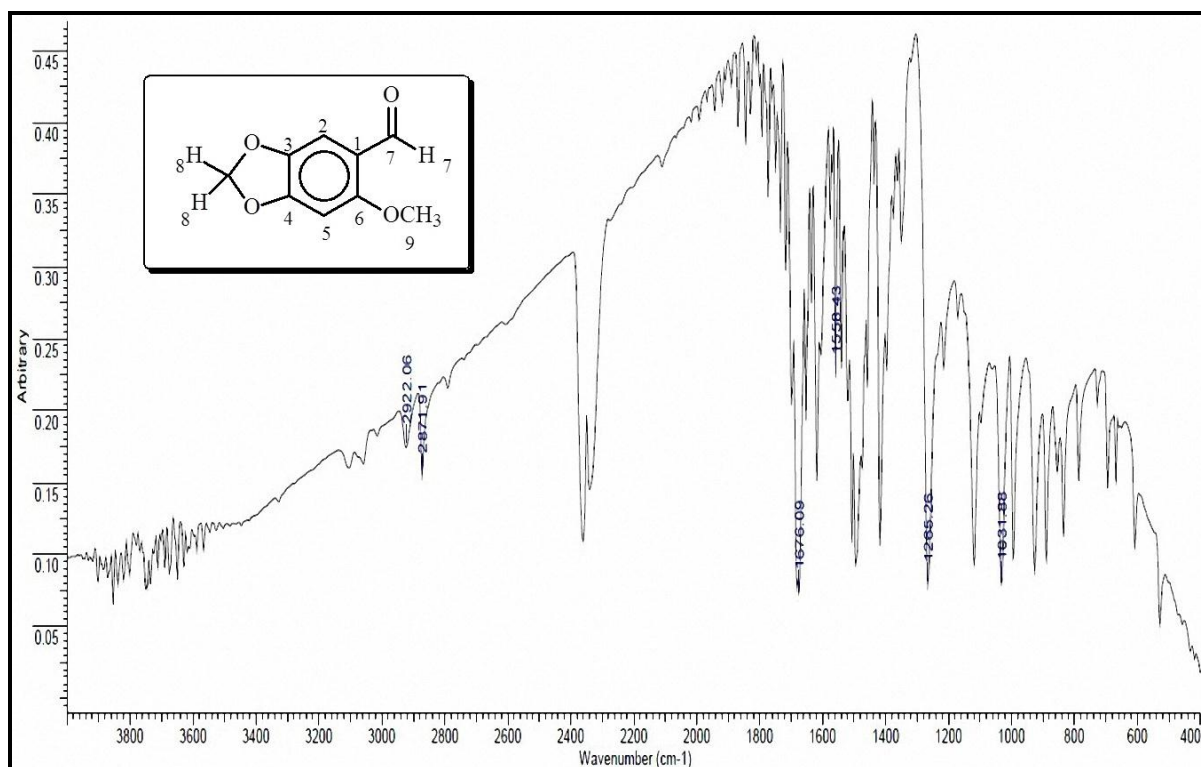
**8.41 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 6 metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxialdeido, M13, 500 MHz em DMSO**



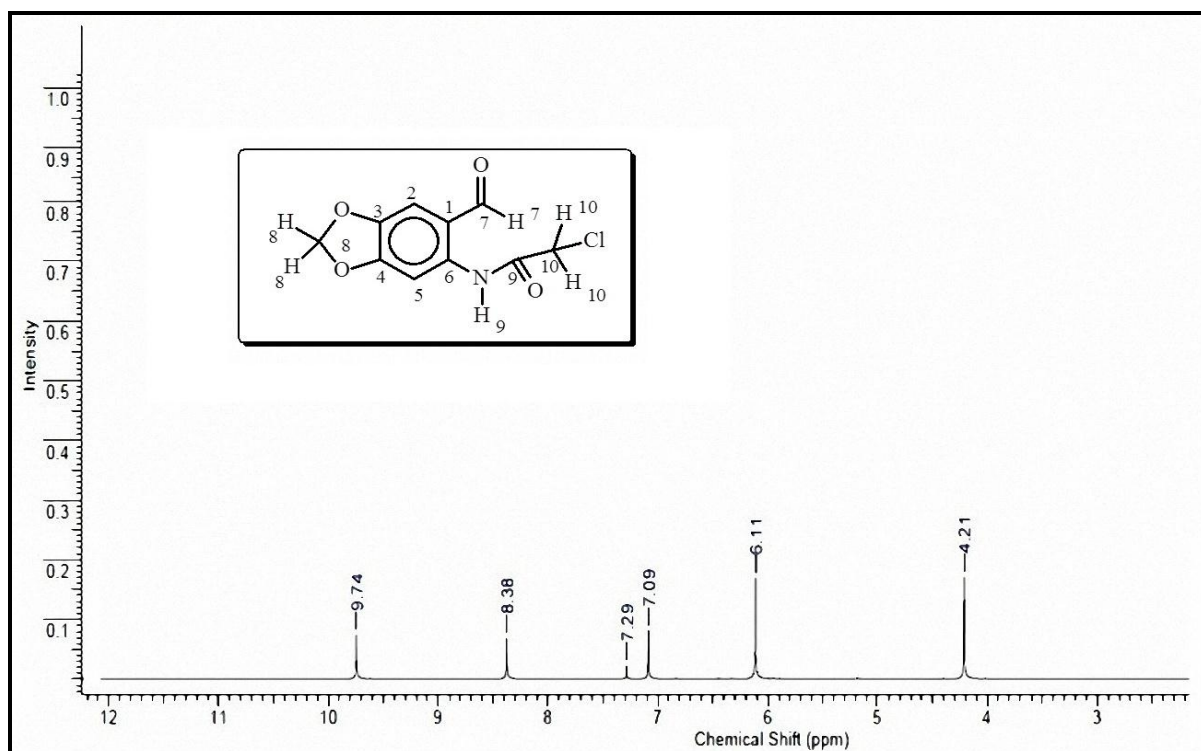
**8.42 Espectro de DEPTQ do 6 metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxialdeido, M13, 125 MHz em DMSO**



### 8.43 Espectro de IV do 6 metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxialdeido, M13

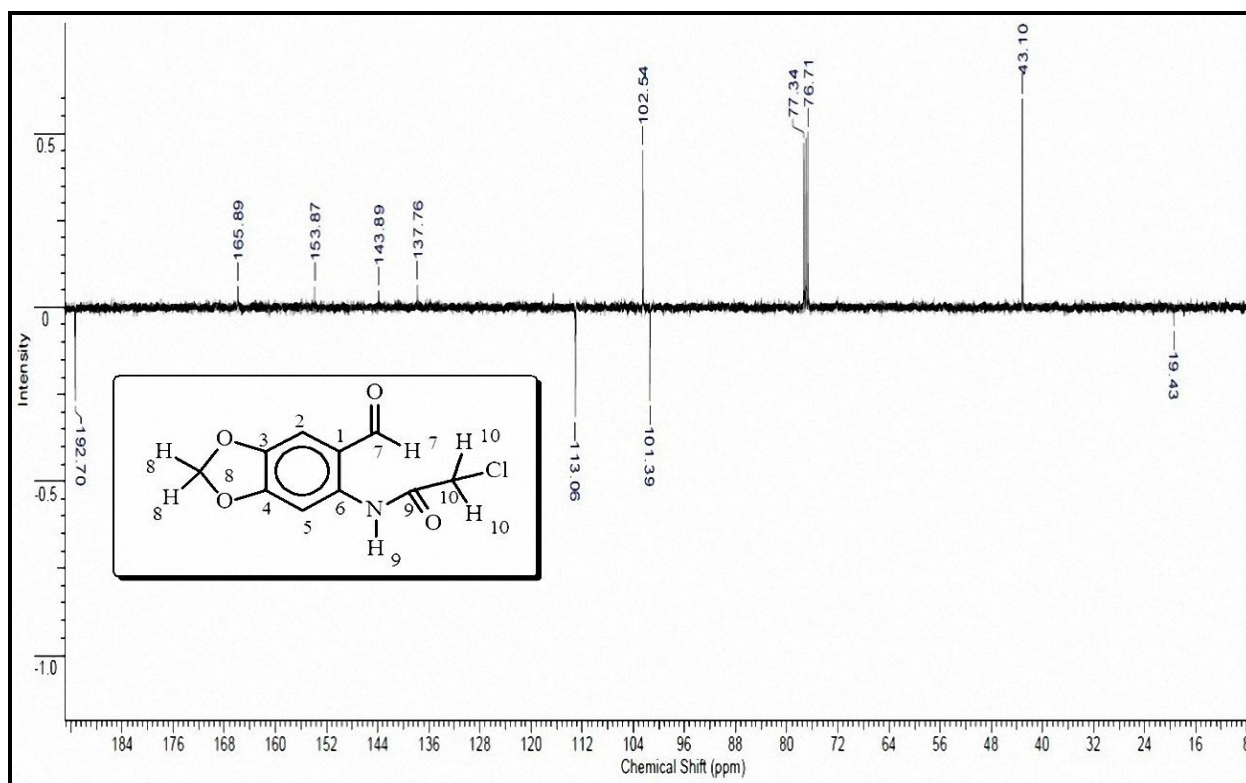


### 8.44 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 2-cloro-N-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida (PAL NHC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>Cl – M14), 400 MHz em CDCl<sub>3</sub>

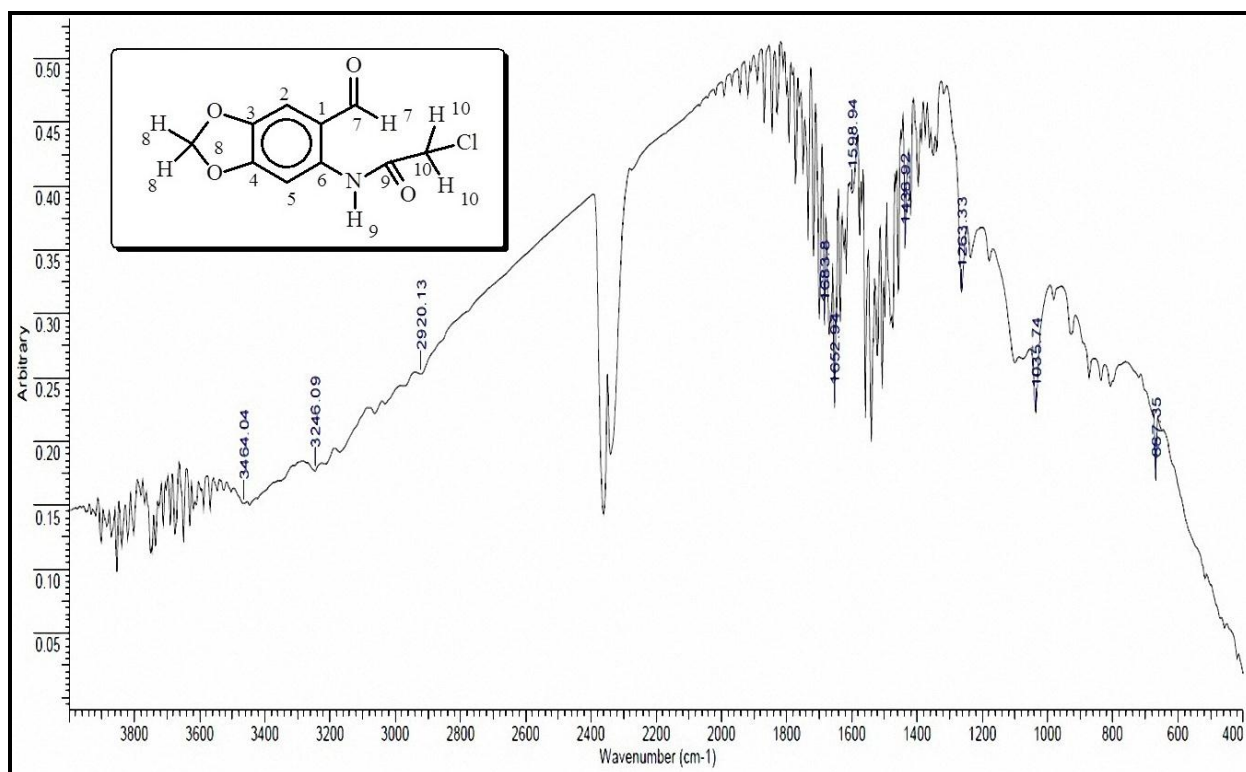




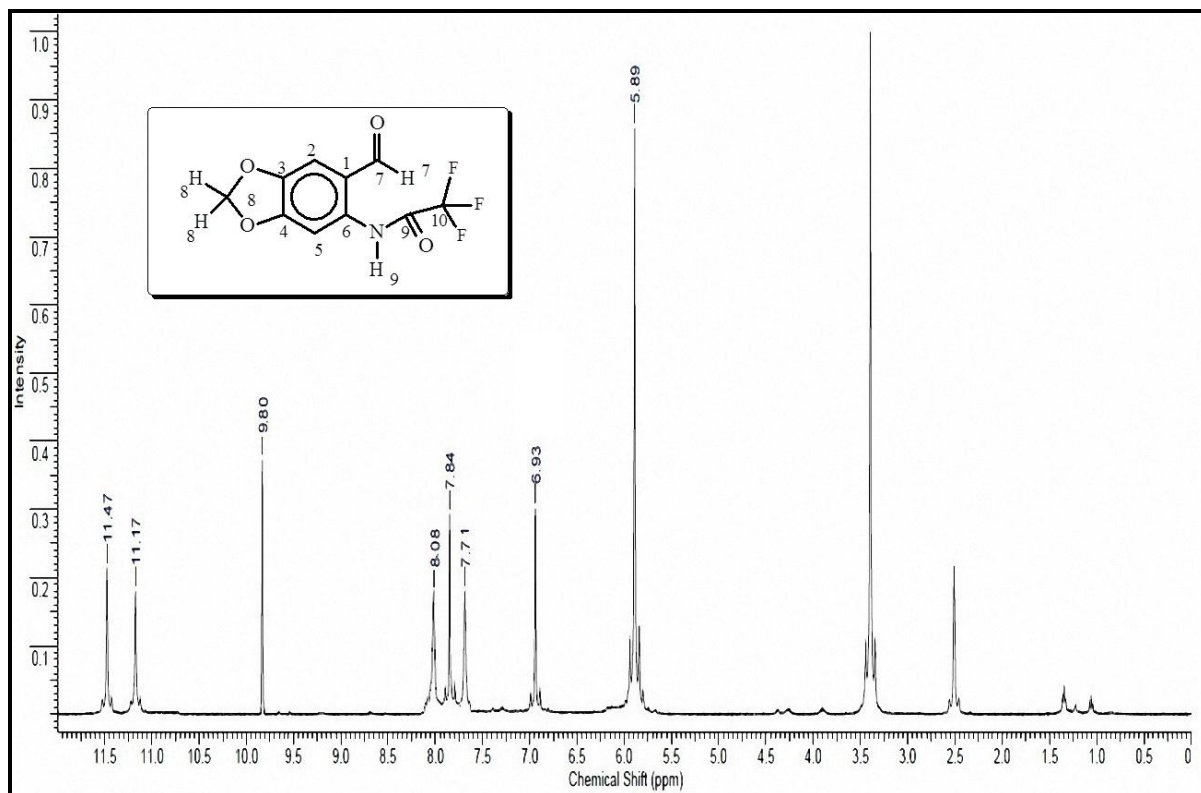
**8.45 Espectro de DEPT Q do 2-cloro-N-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida, M14, 100 MHz em CDCl<sub>3</sub>**



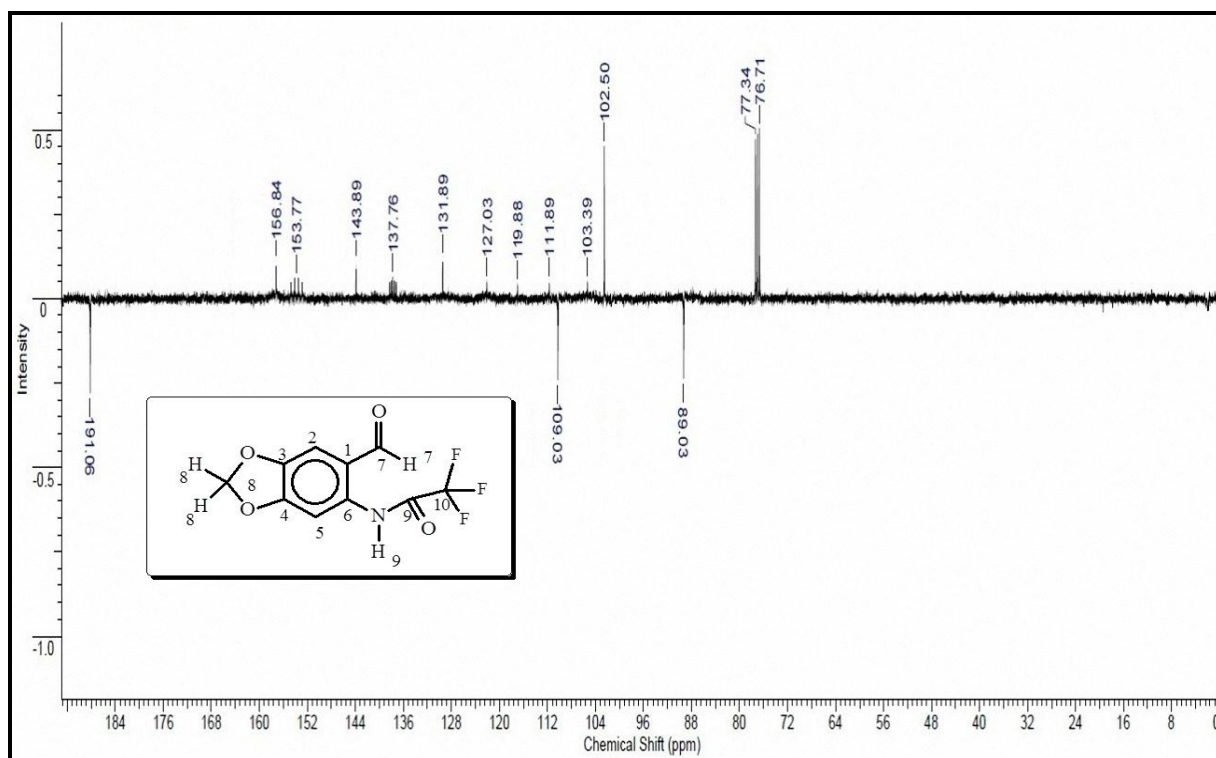
**8.46 Espectro de IV do 2-cloro-N-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida, M14**



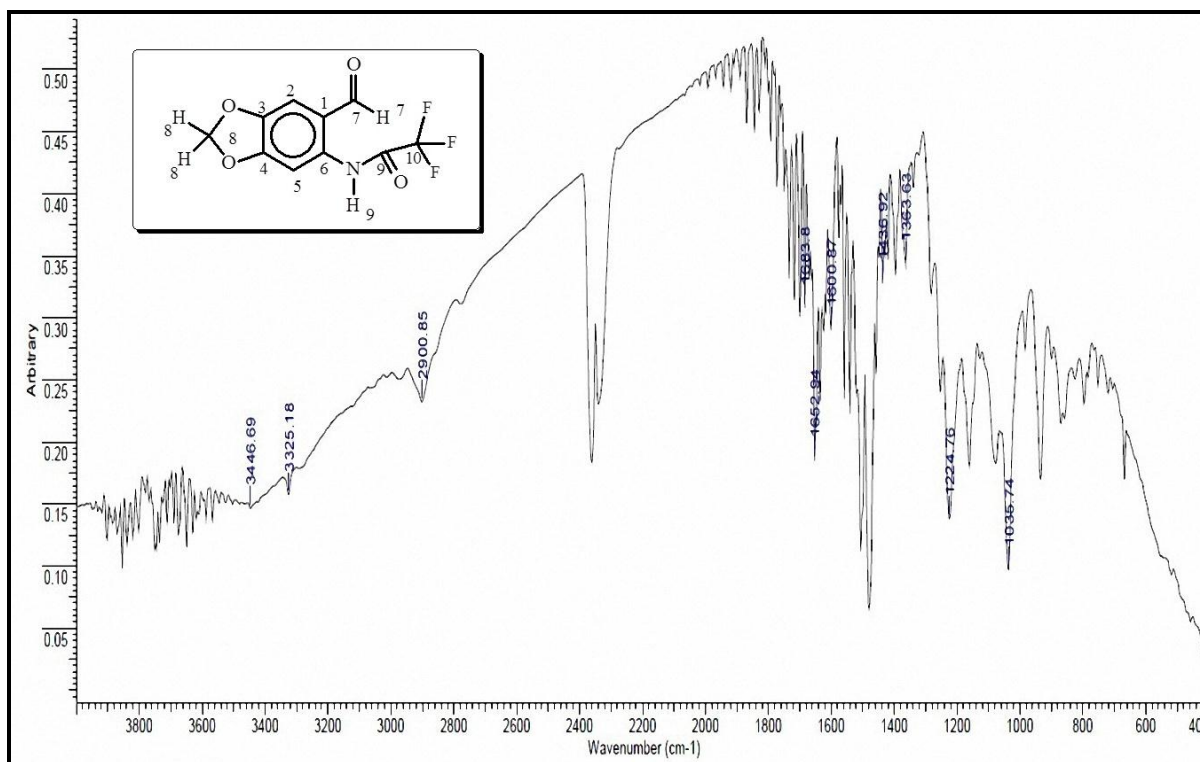
**8.47 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 2,2,2-trifluór-*N*-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida, M15, 400 MHz em  $\text{CDCl}_3$**



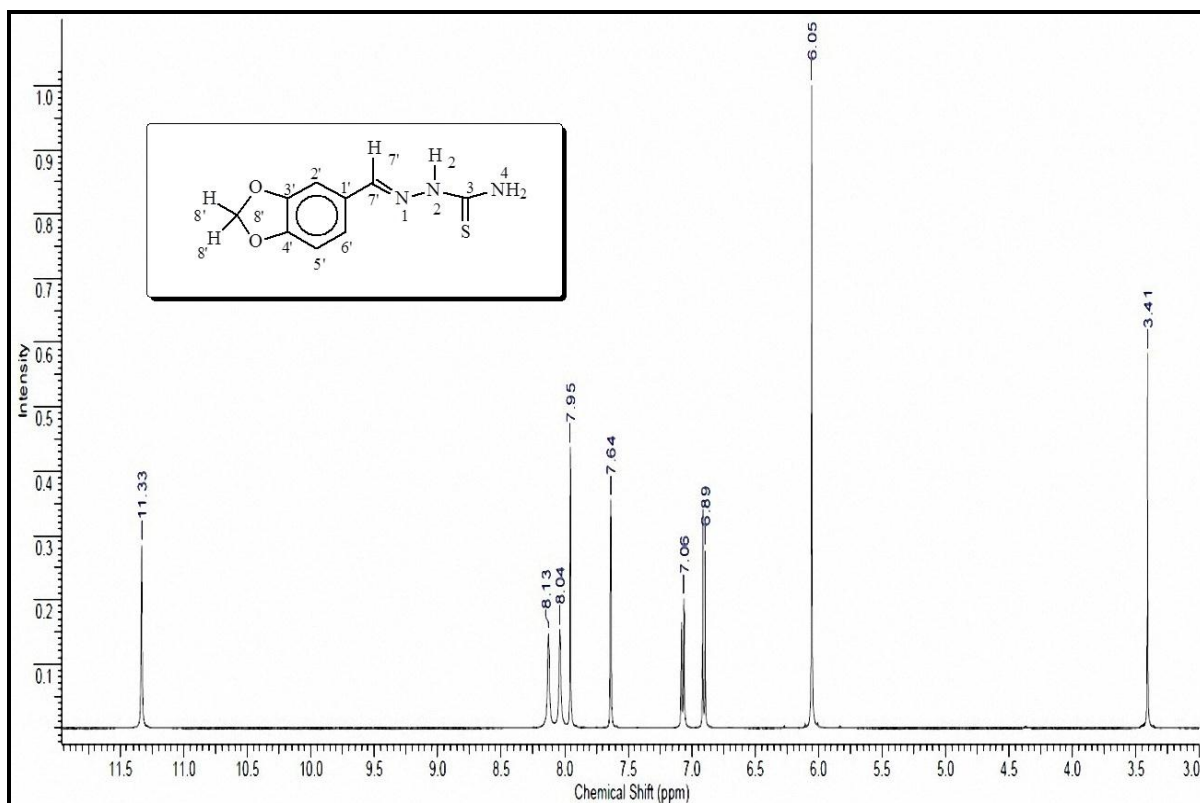
**8.48 Espectro de DEPT Q do 2,2,2-trifluór-*N*-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida, M15, 100 MHz, em  $\text{CDCl}_3$**



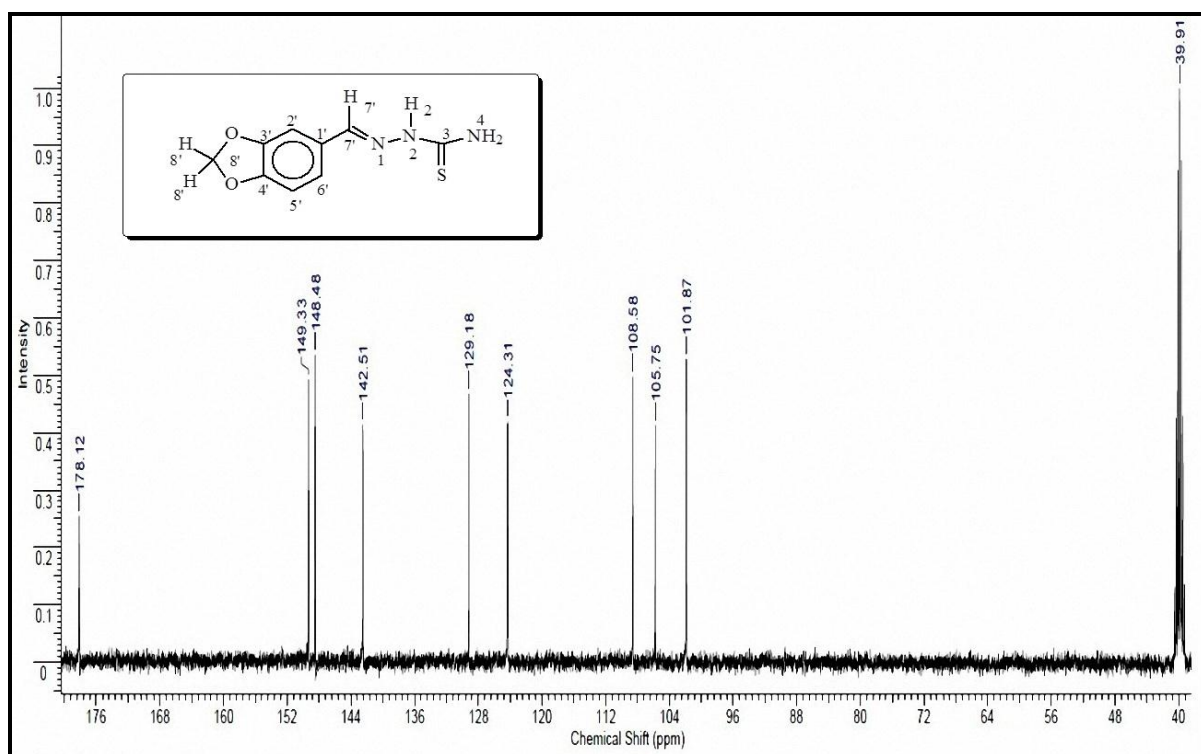
8.49 Espectro de IV do 2,2,2-trifluór-*N*-(6-formil-1,3-benzodioxol-5-il)-acetamida, M15



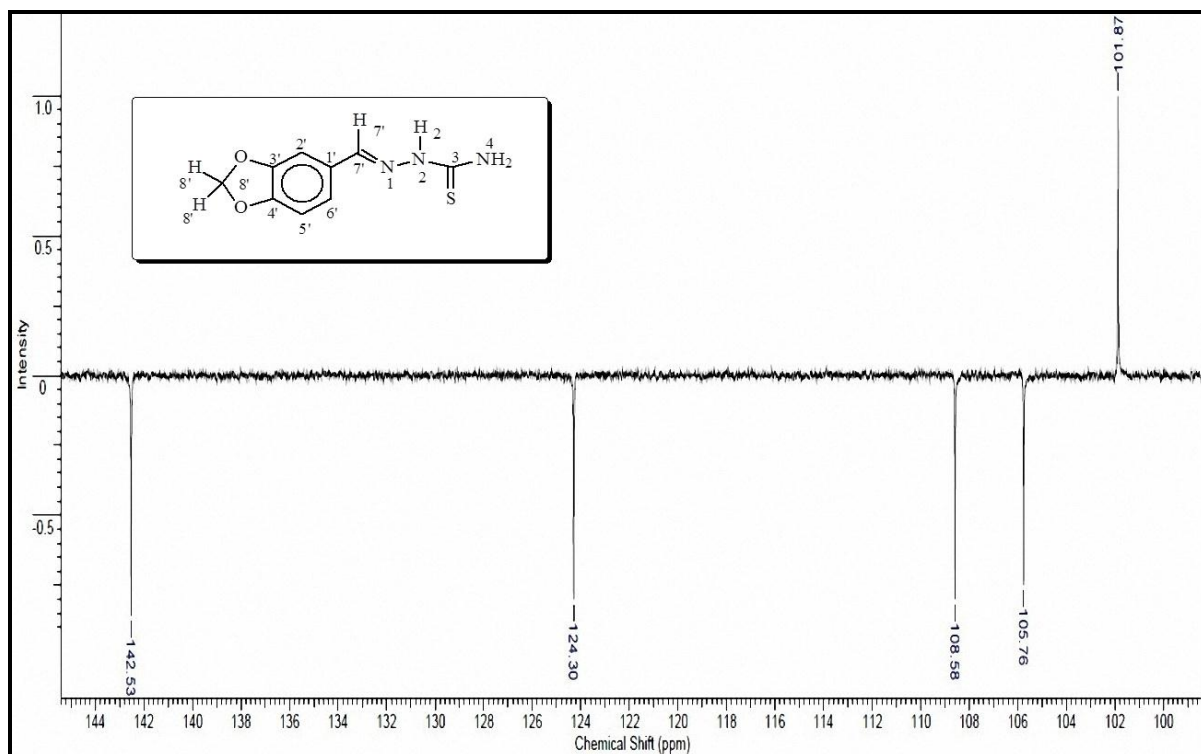
8.50 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



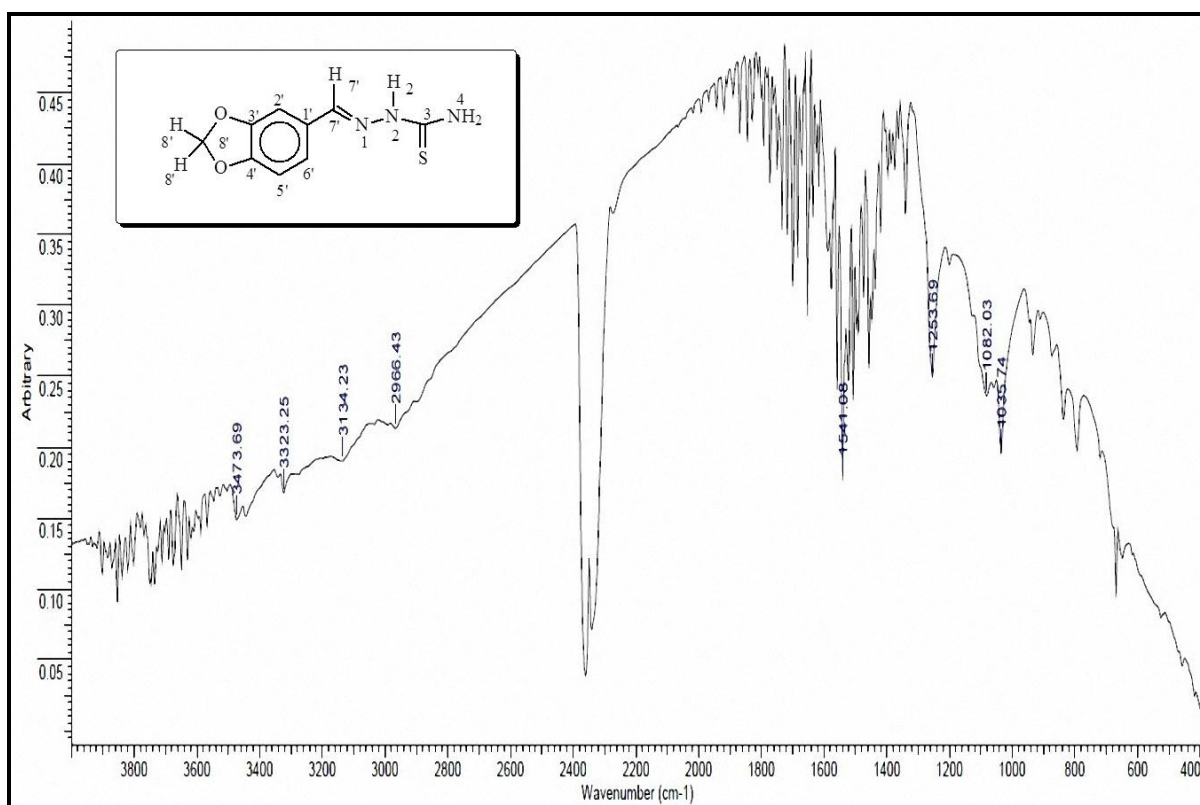
**8.51 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



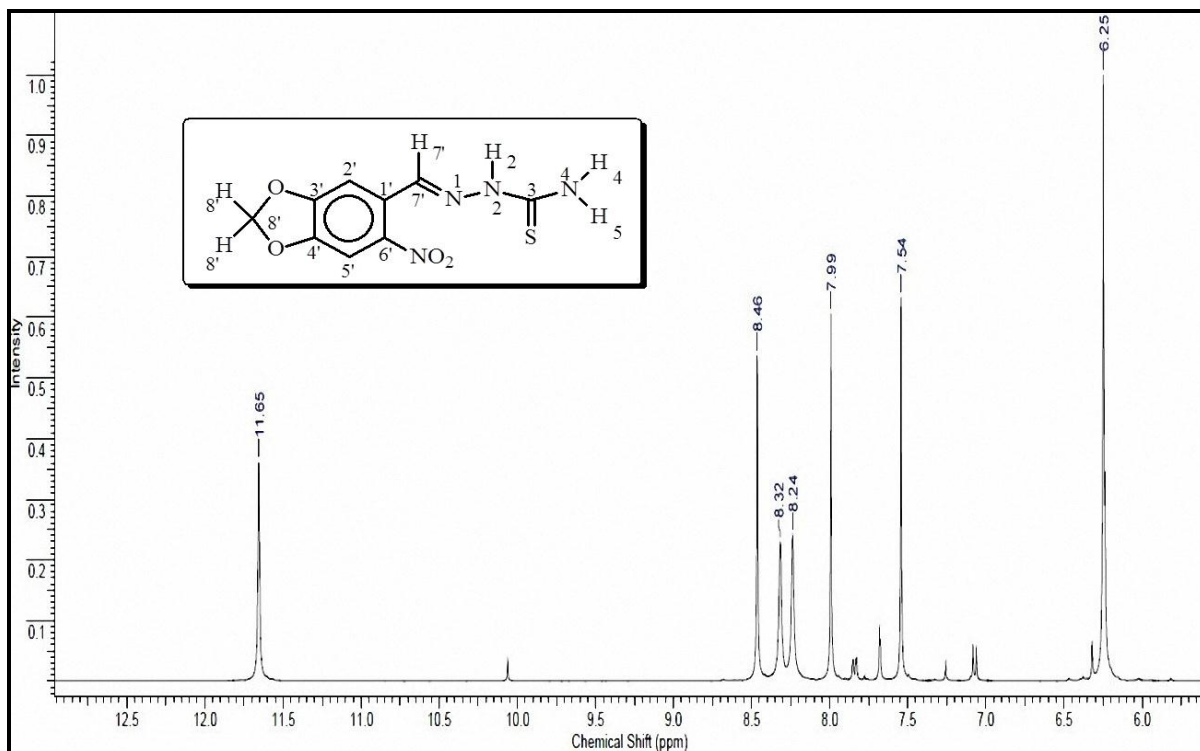
**8.52 Espectro de RMN de DEPT 135° do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



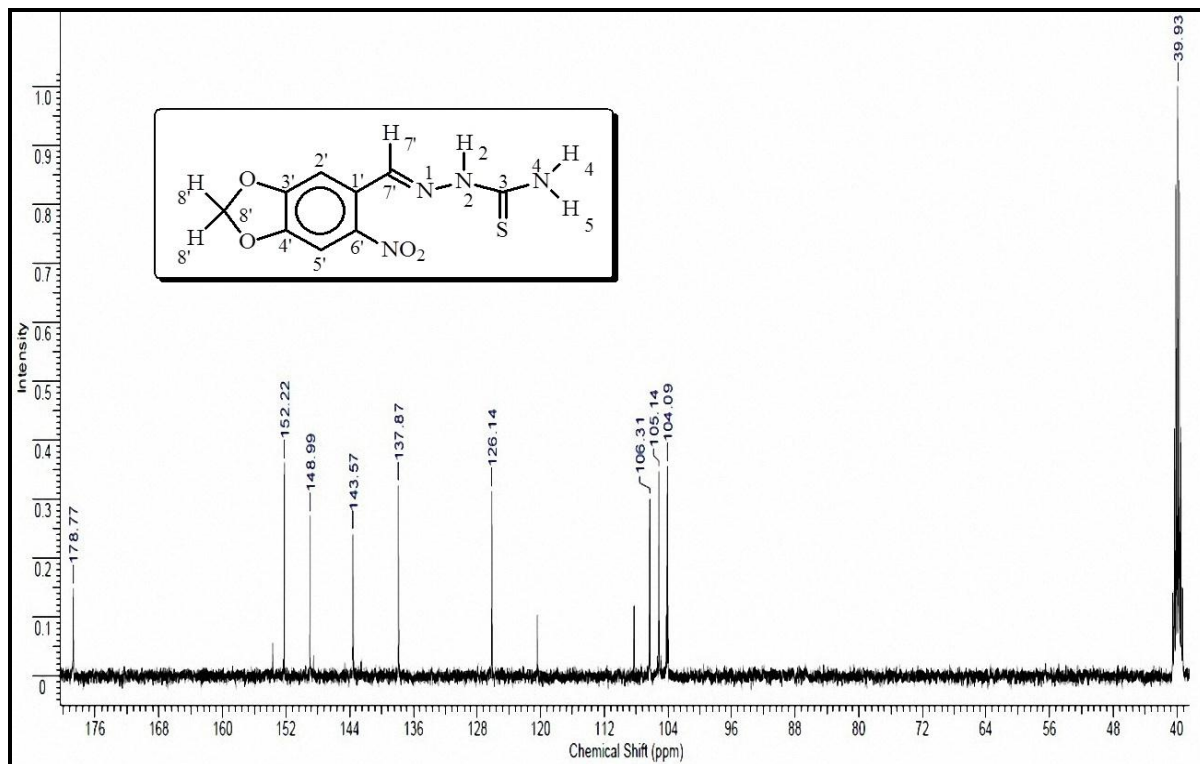
### 8.53 Espectro de IV do 1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona



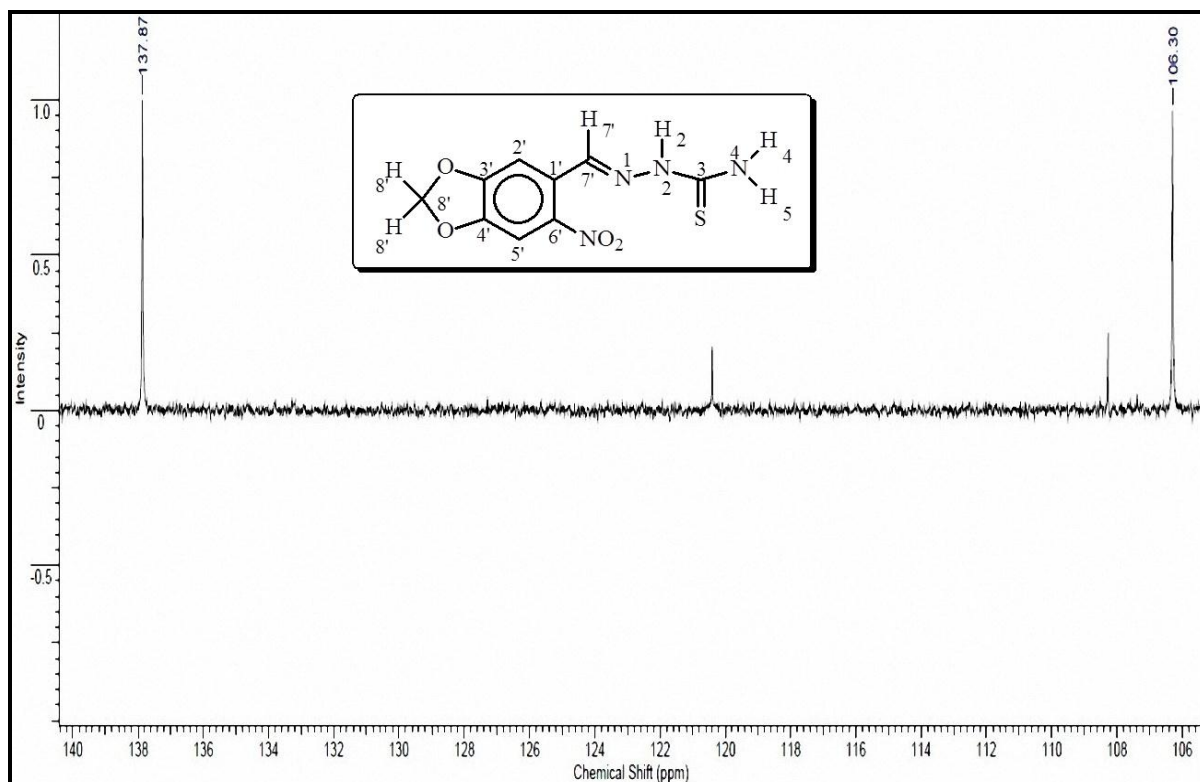
### 8.54 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



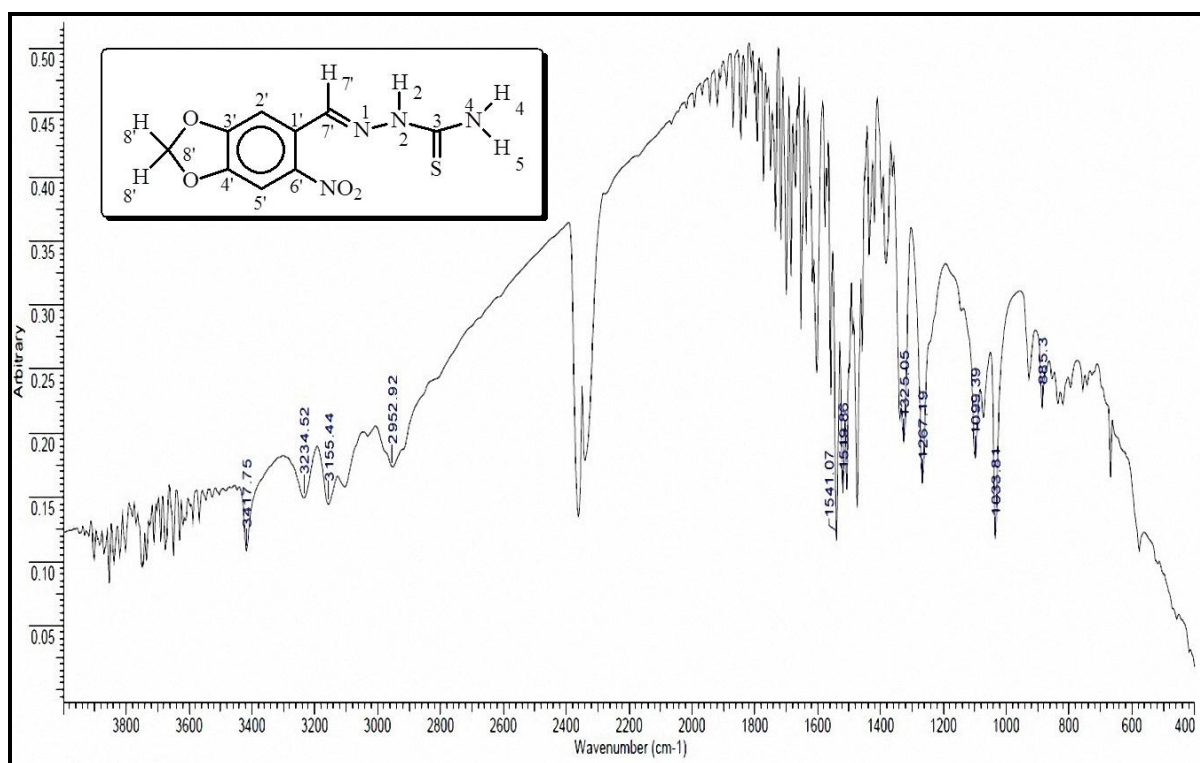
**8.55 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



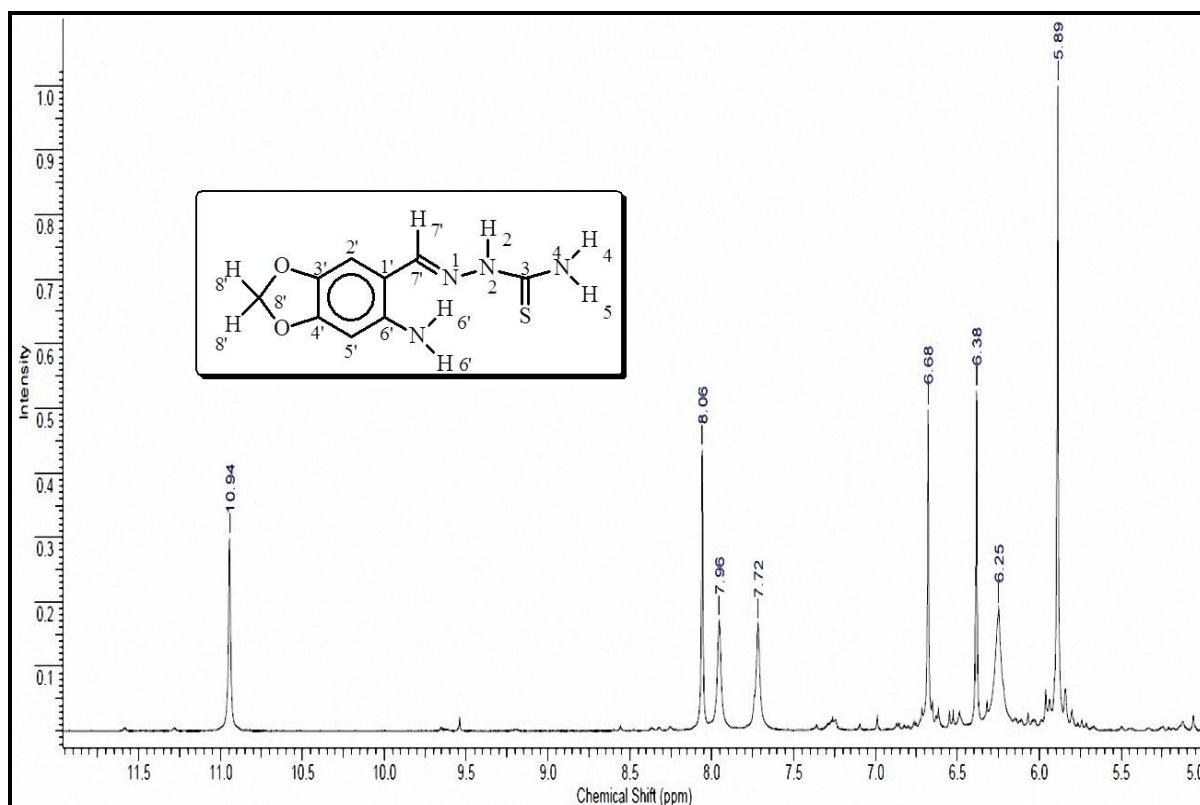
**8.56 Espectro de RMN de DEPT 135° do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



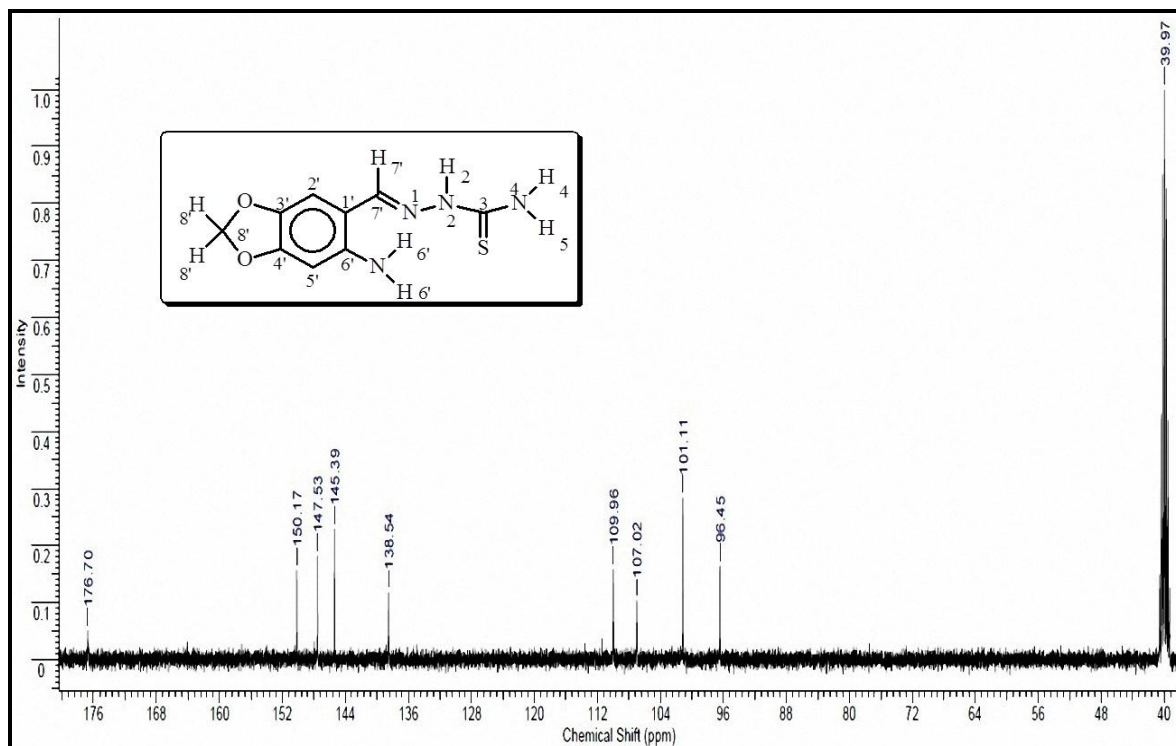
### 8.57 Espectro de IV do 6-nitro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona



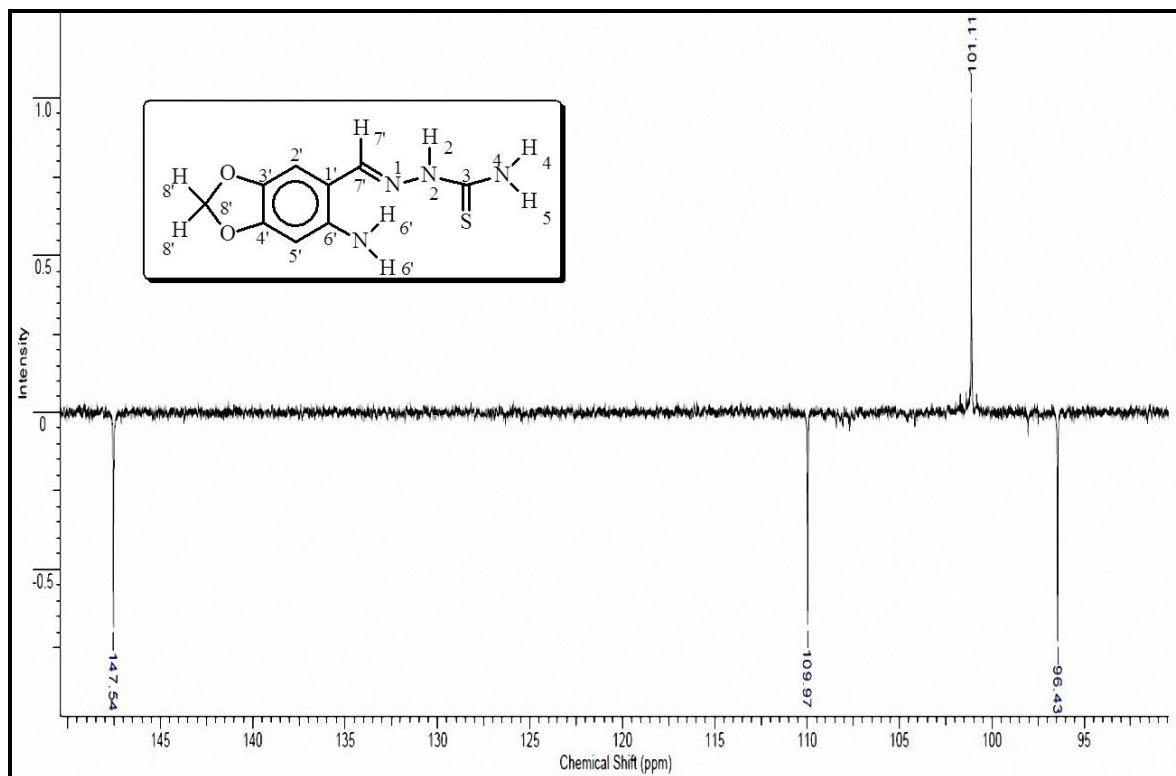
### 8.58 Espectro de RMN de H do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



**8.59 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítossemi-carbazona, 100MHz em DMSO**

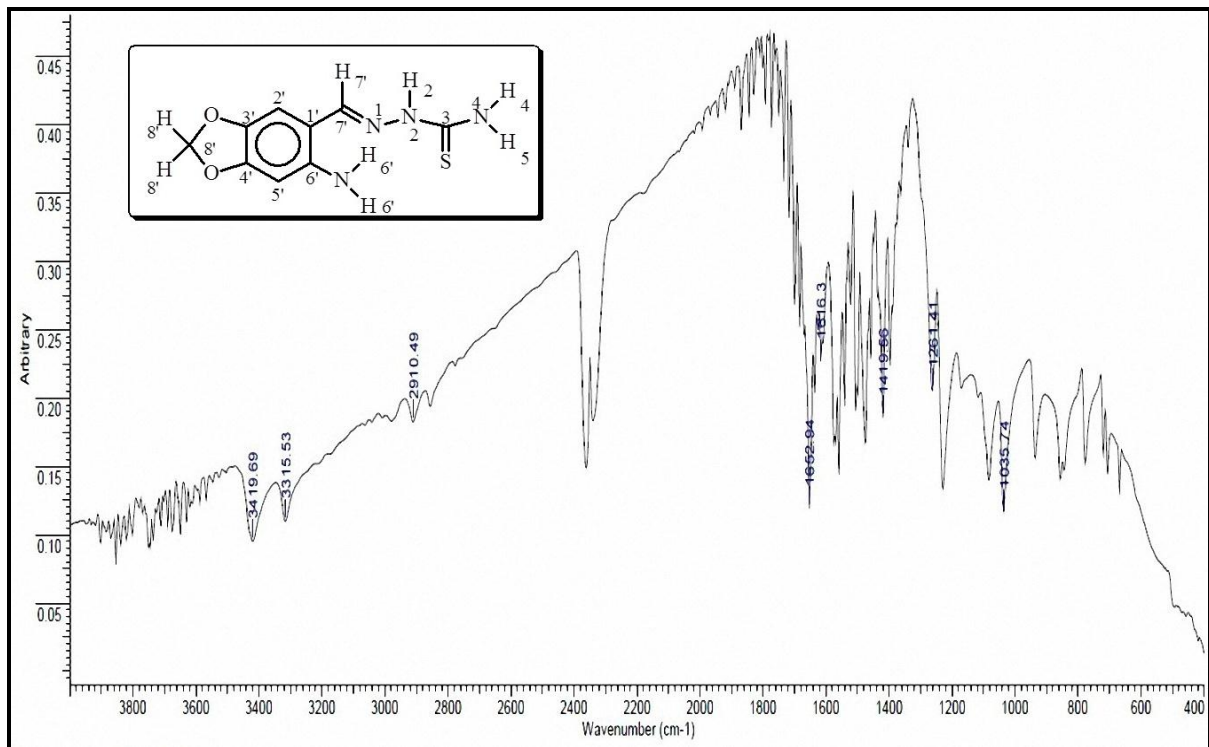


**8.60 Espectro de RMN de DEPT  $135^\circ$  do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**

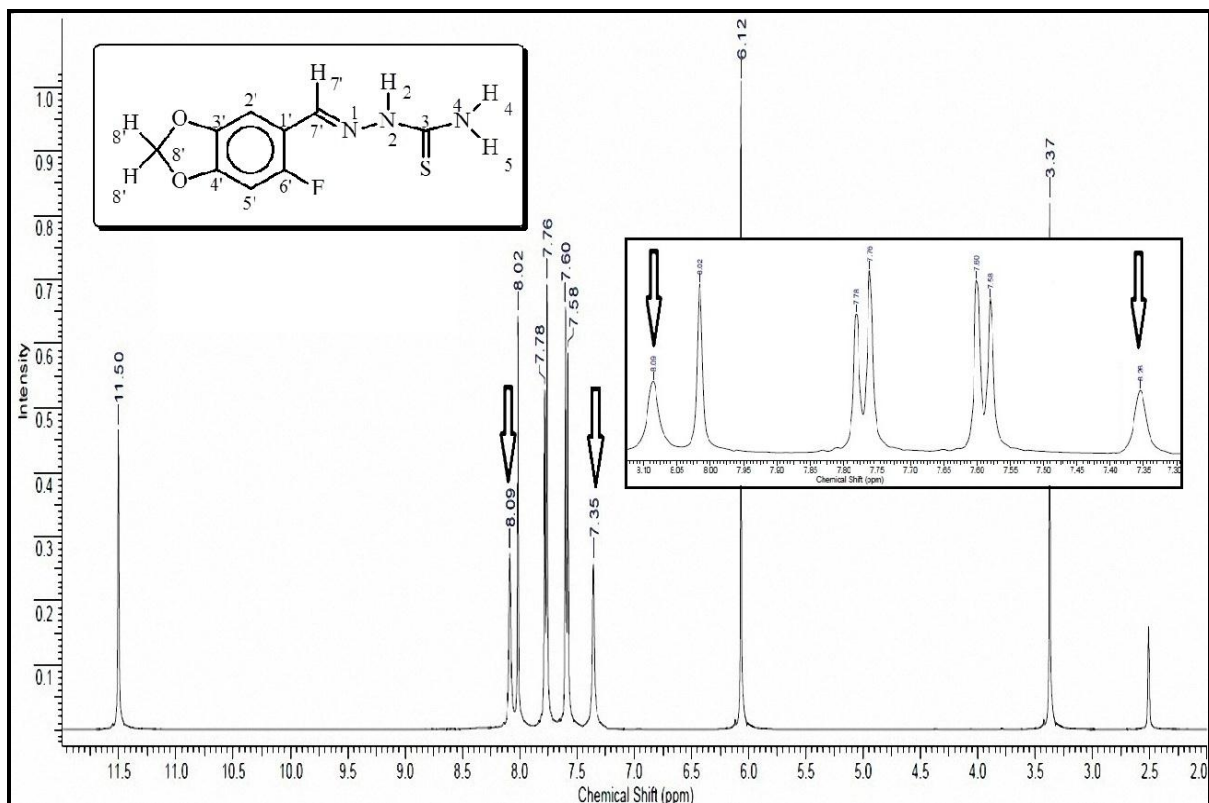




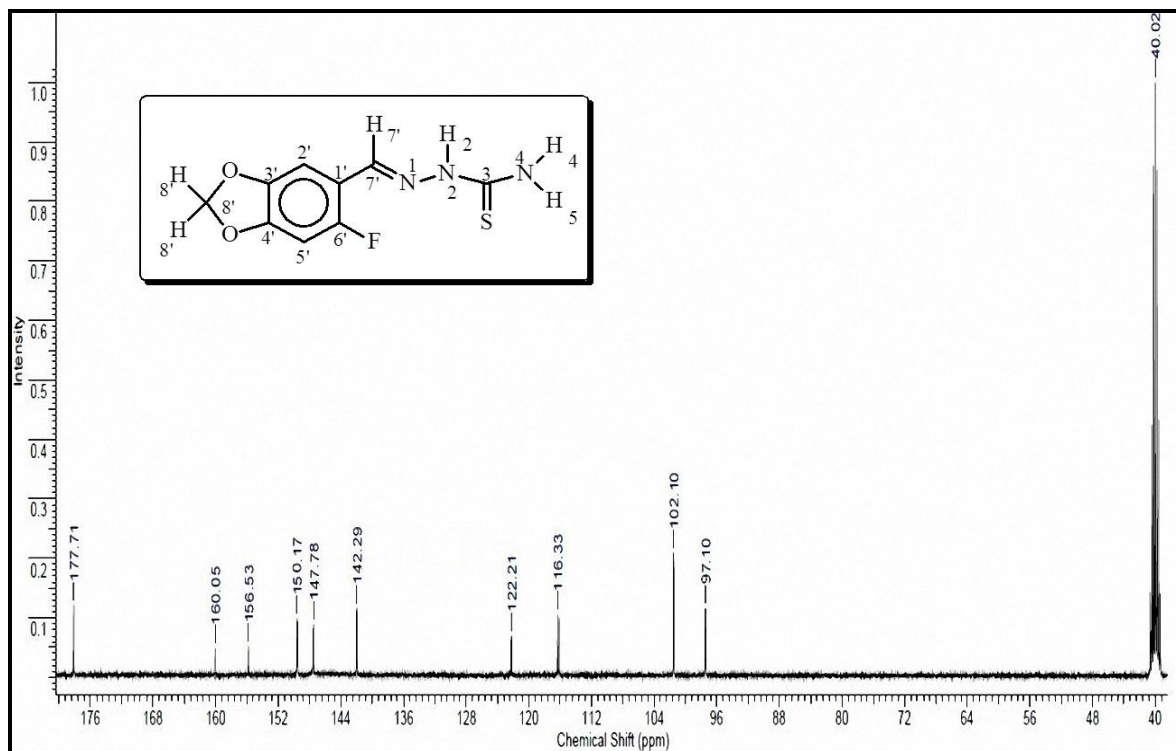
### 8.61 Espectro de IV do 6-amino-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona



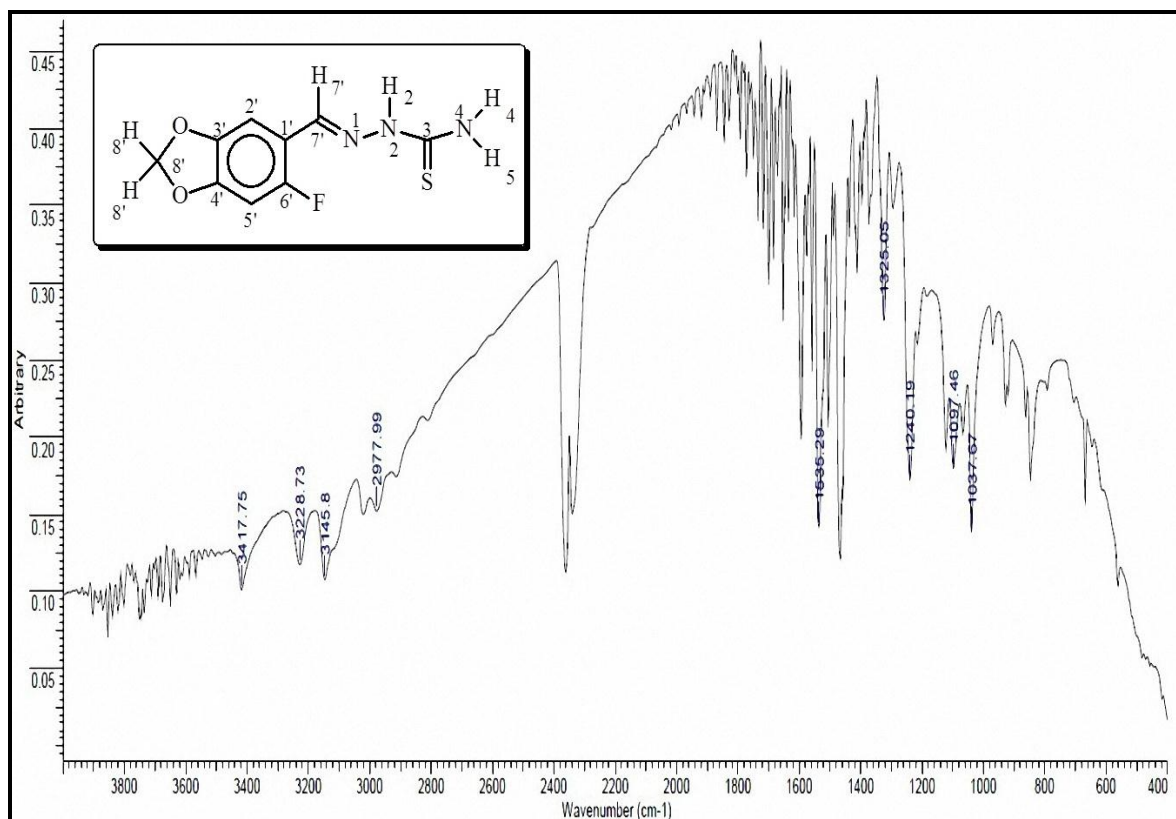
### 8.62 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



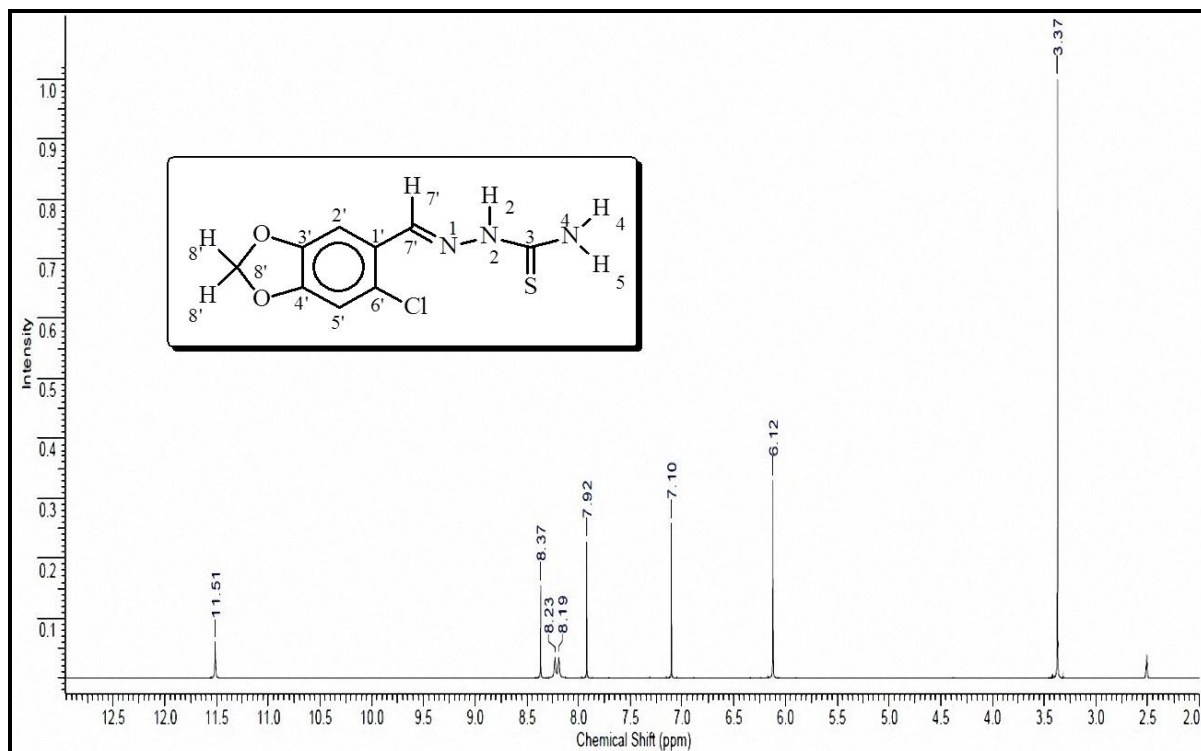
**8.63 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carbaldeídotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



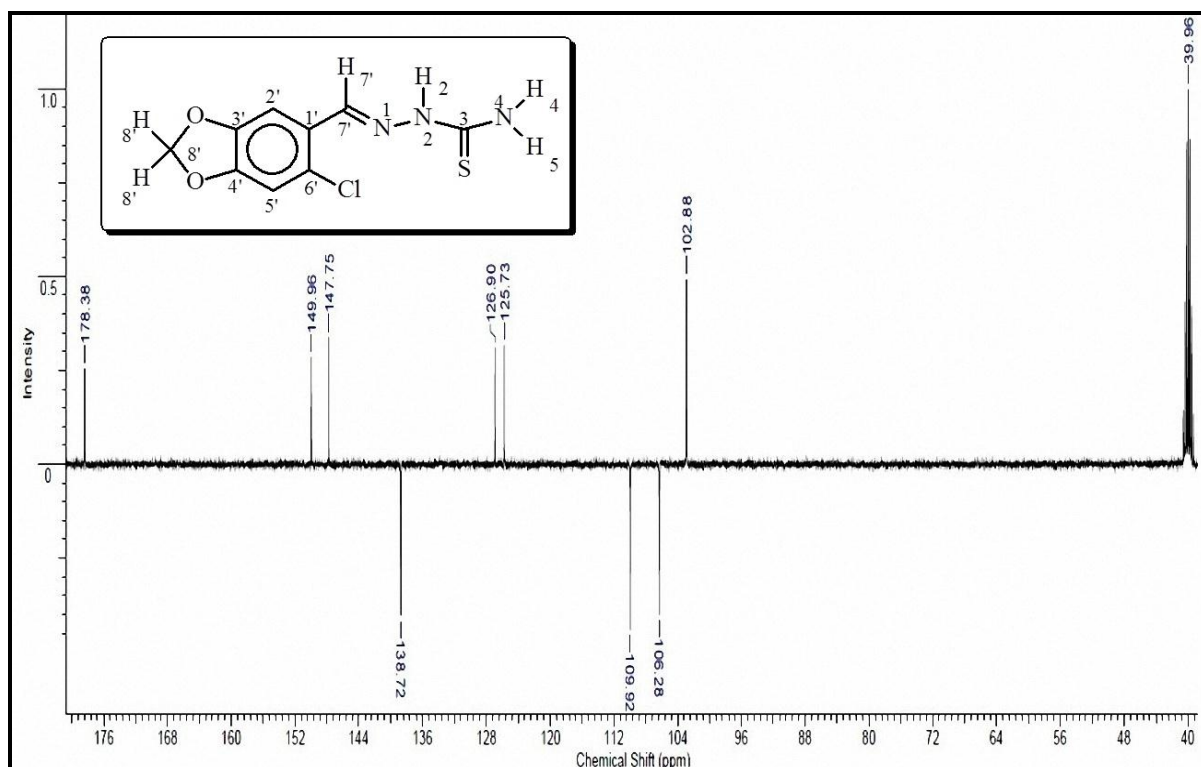
**8.64 Espectro de IV do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona**



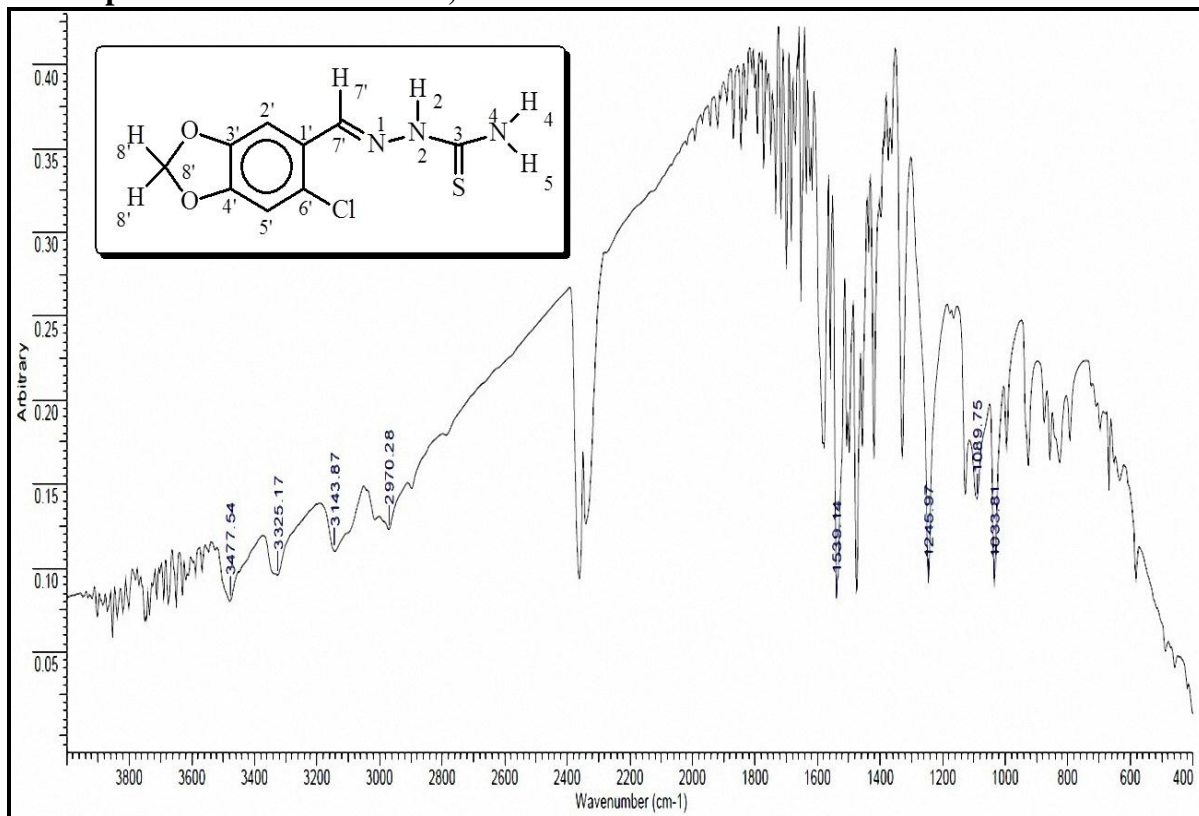
**8.65 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO**



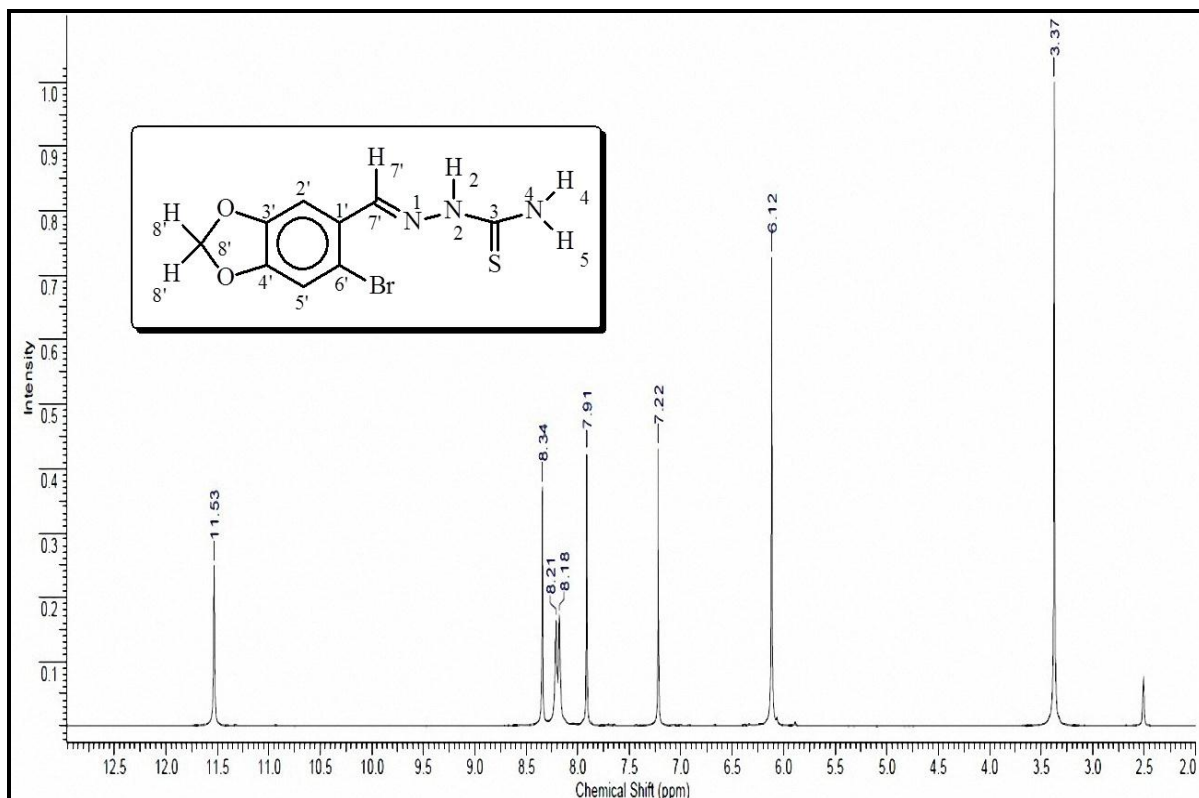
**8.66 Espectro de DEPT Q do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



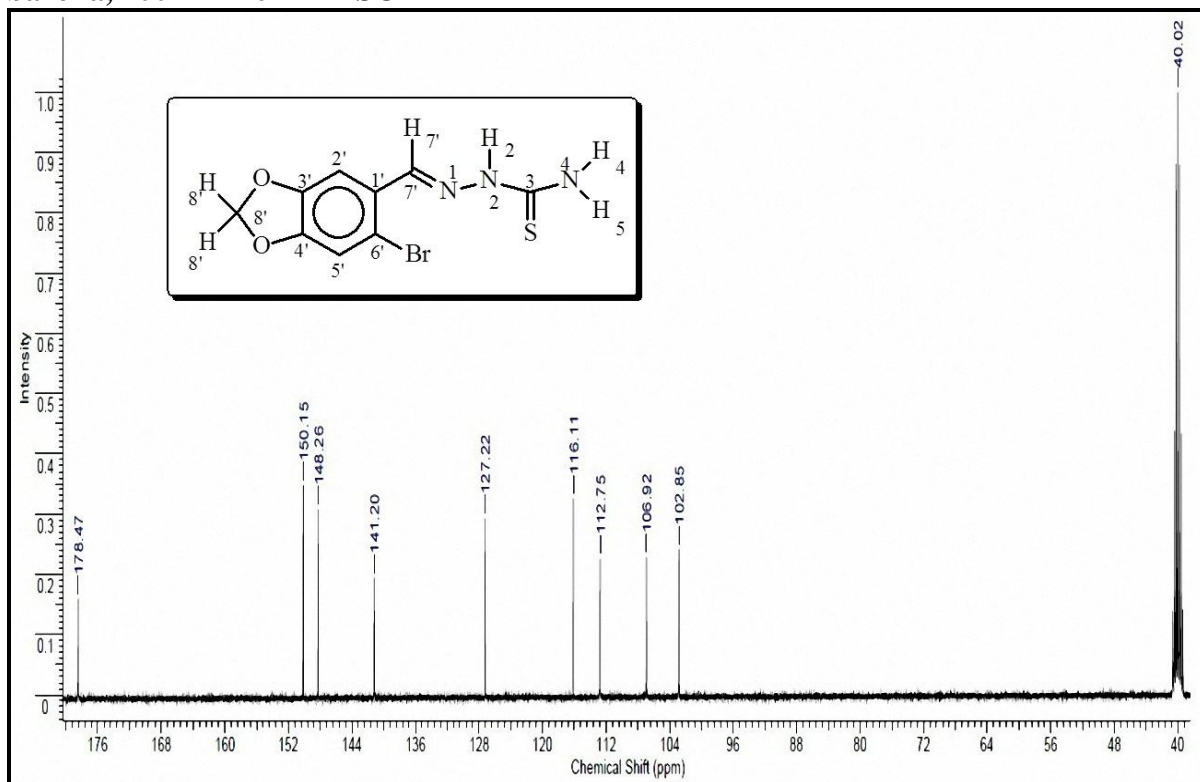
**8.67 Espectro de IV do 6-cloro-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona**



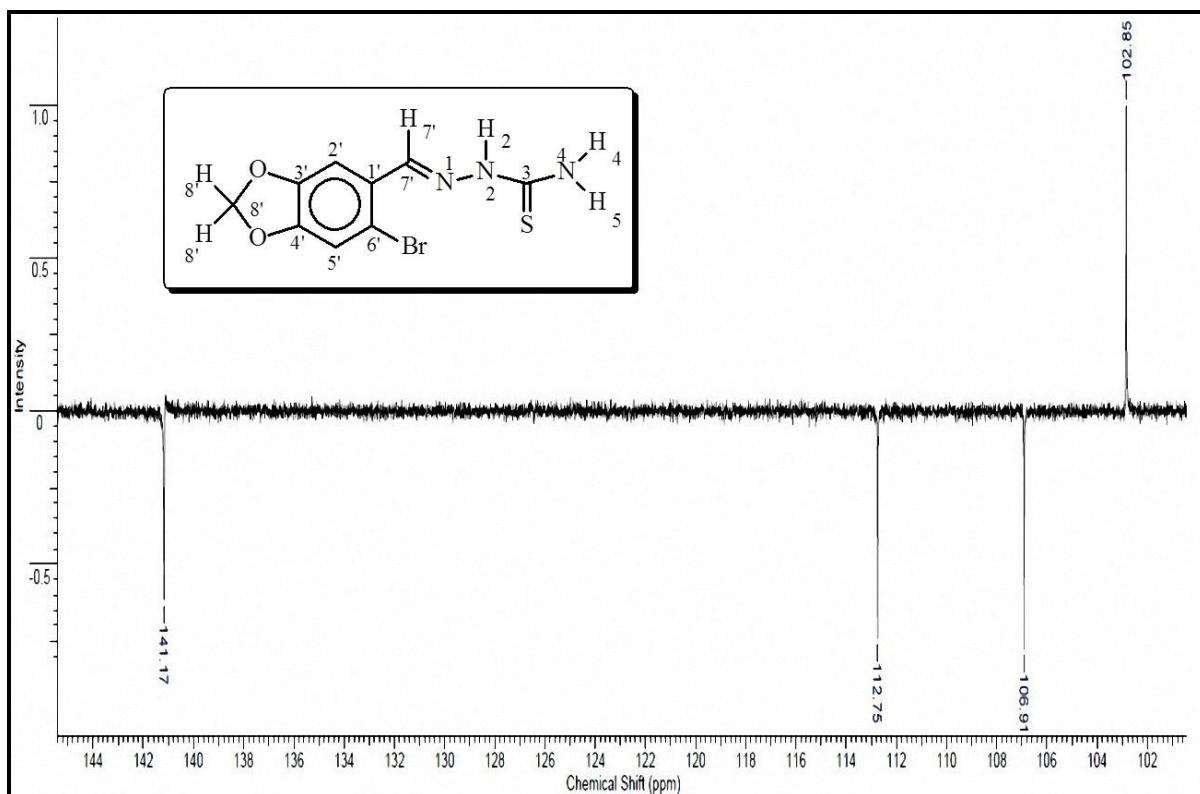
**8.68 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO**



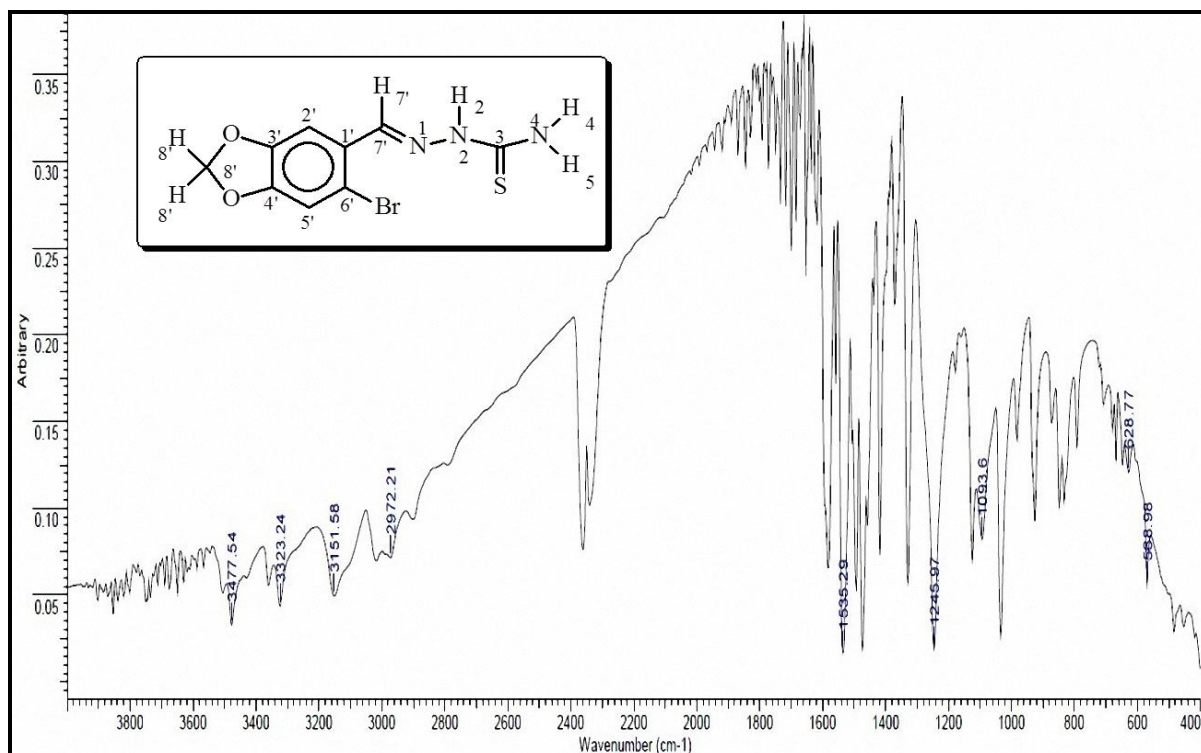
**8.69 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



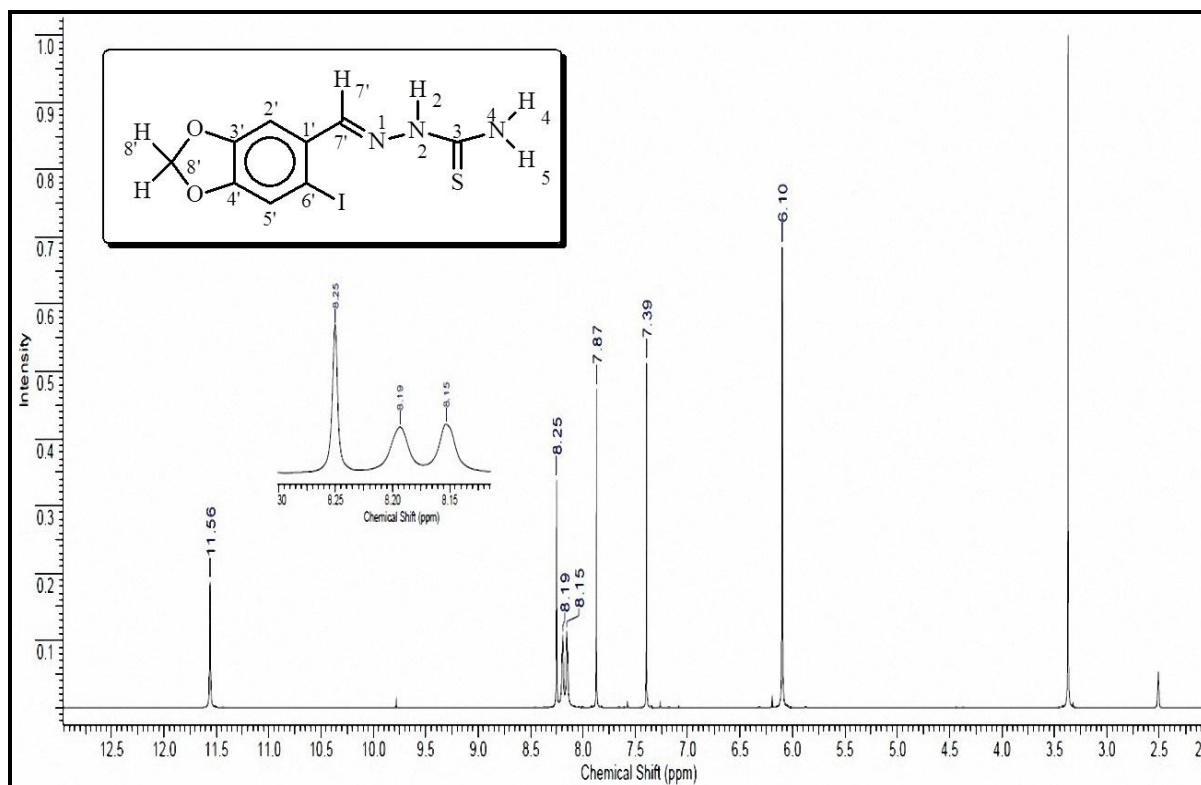
**8.70 Espectro de RMN de DEPT135 do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



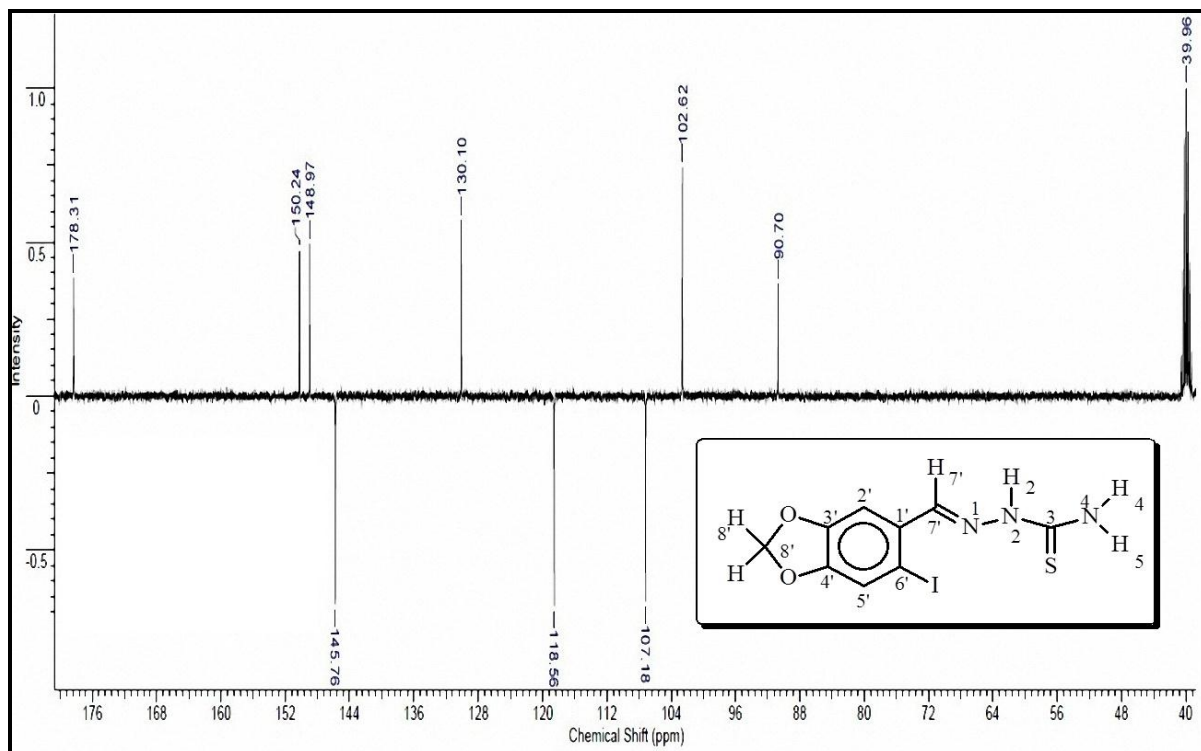
### 8.71 Espectro de IV do 6-bromo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotossemicarbazona



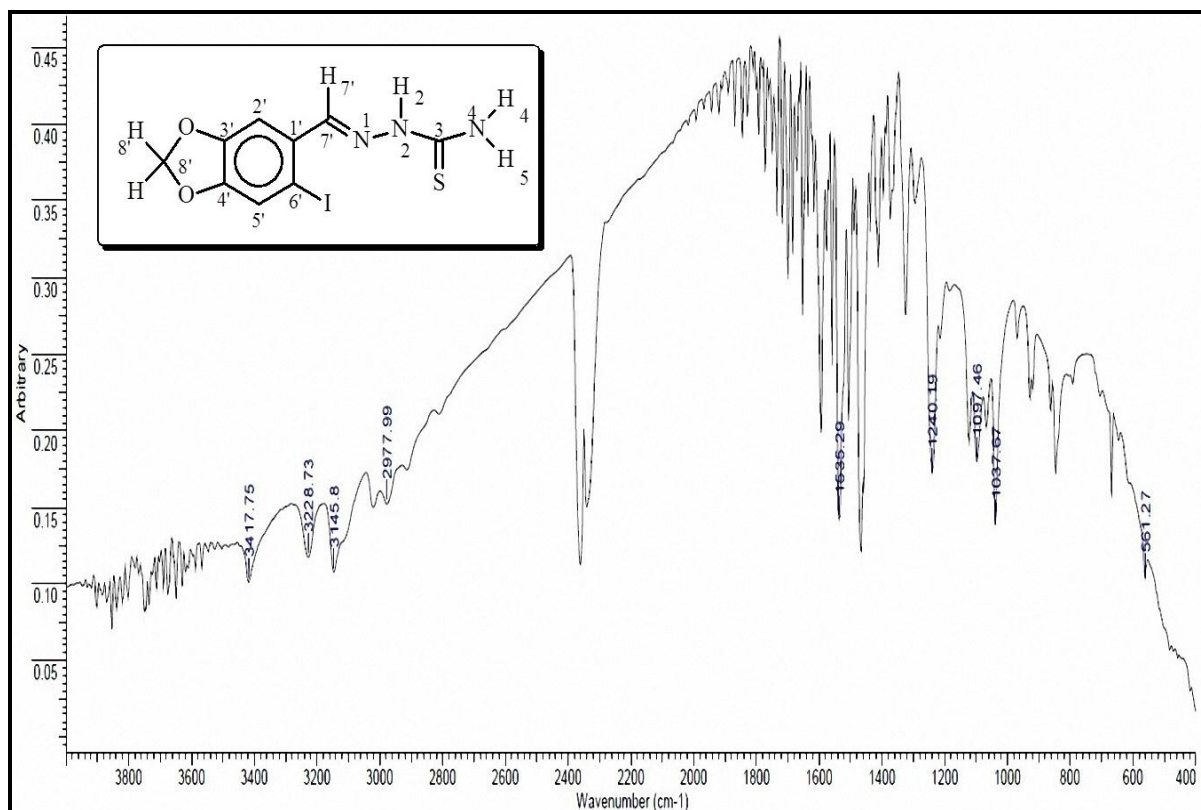
### 8.72 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



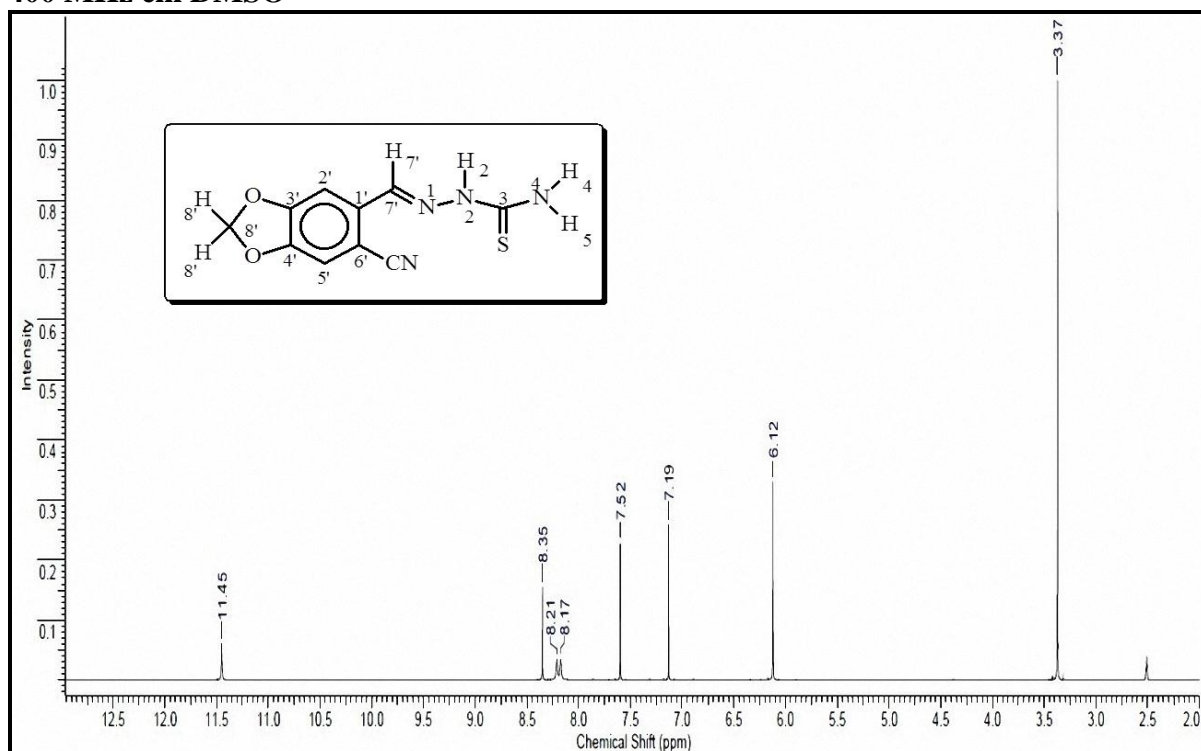
**8.73 Espectro de DEPT Q do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



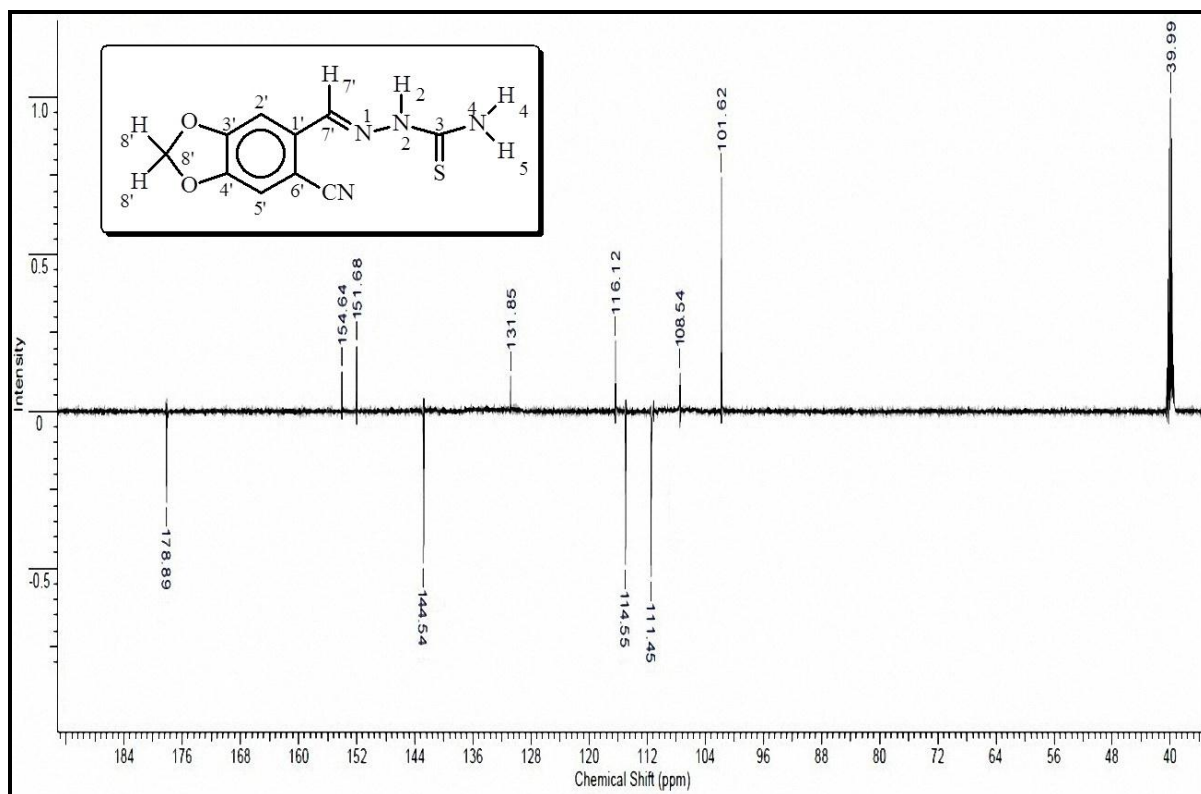
**8.74 Espectro de IV do 6-iodo-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotossemicarbazona**



**8.75 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carbaldeídotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO**

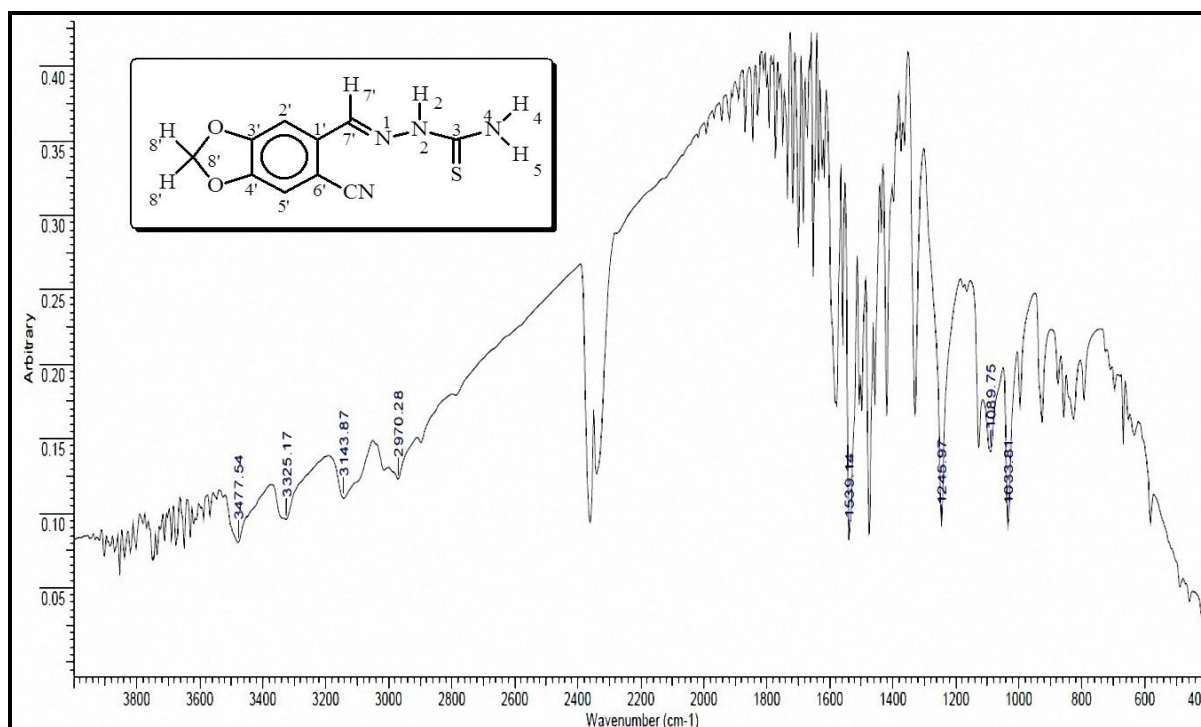


**8.76 Espectro de DEPT Q do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**

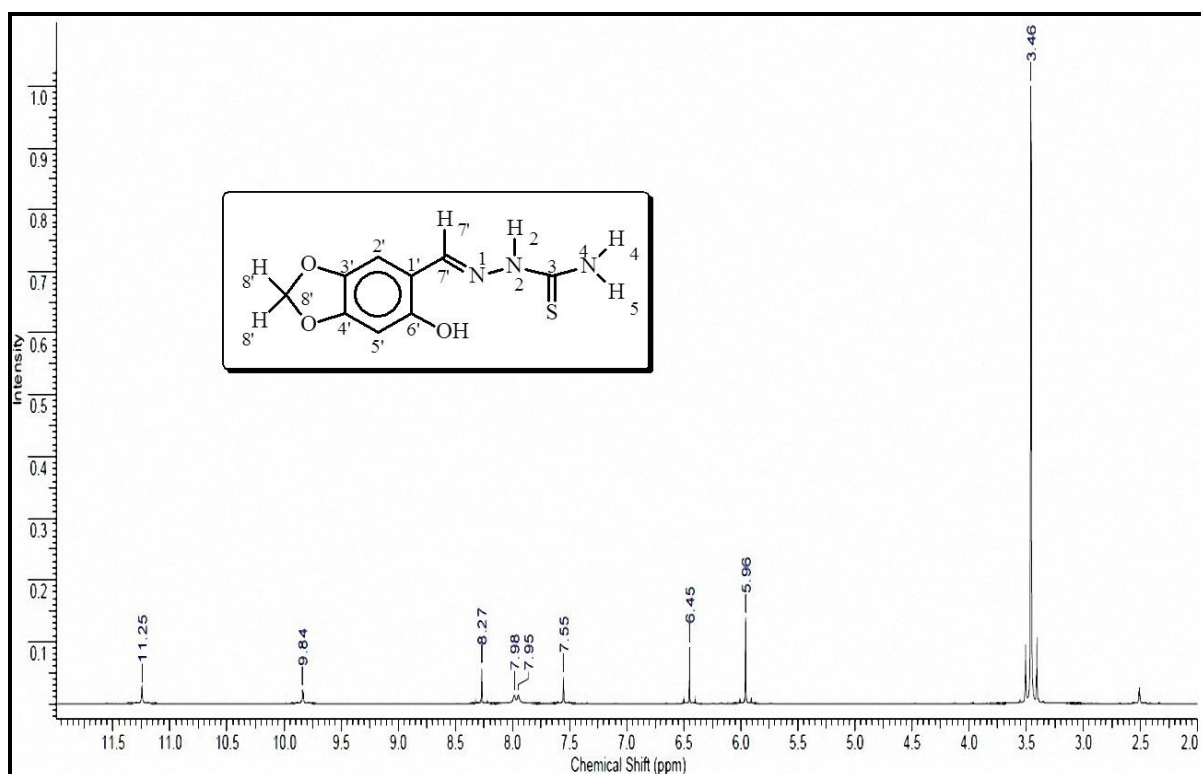




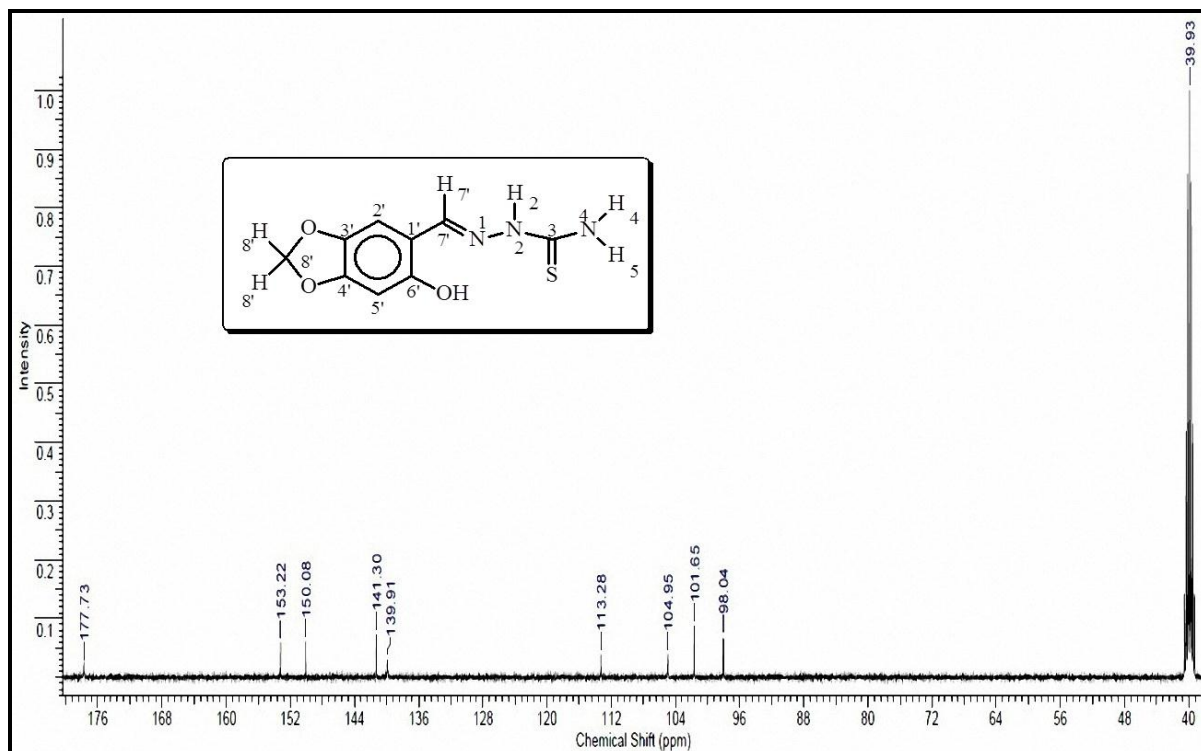
### 8.77 Espectro de IV do 6-ciano-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeído-tiossemicarbazona



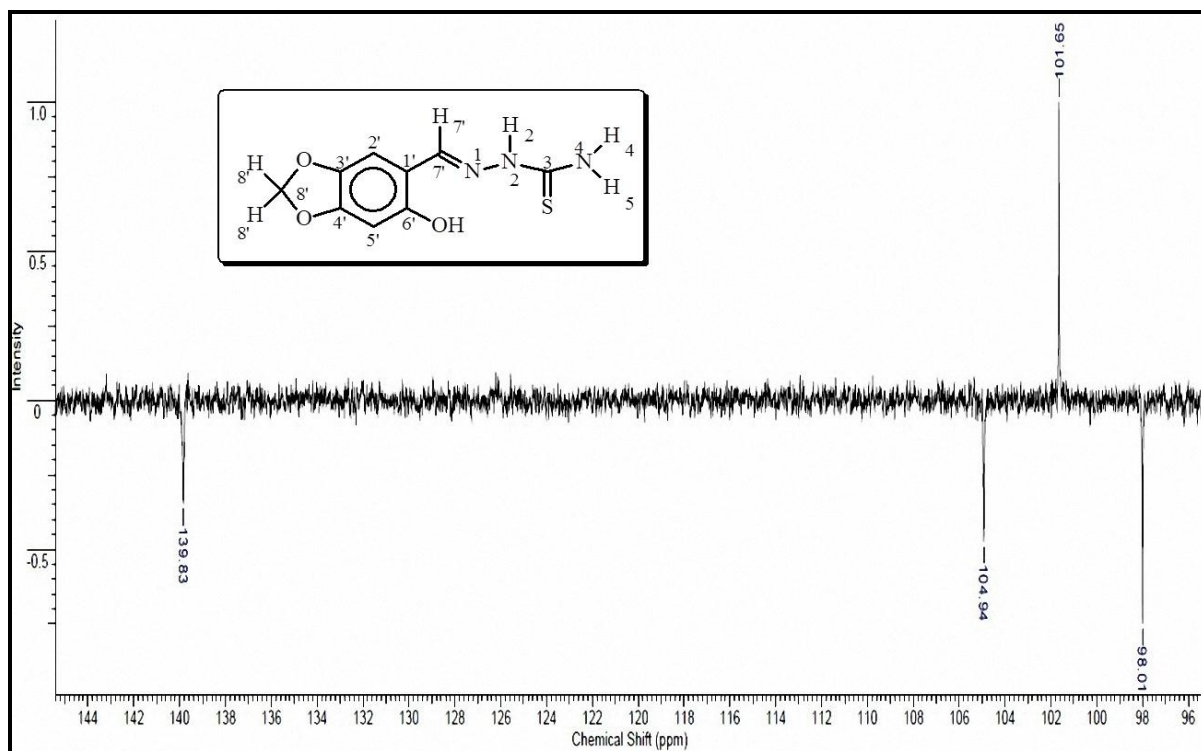
### 8.78 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



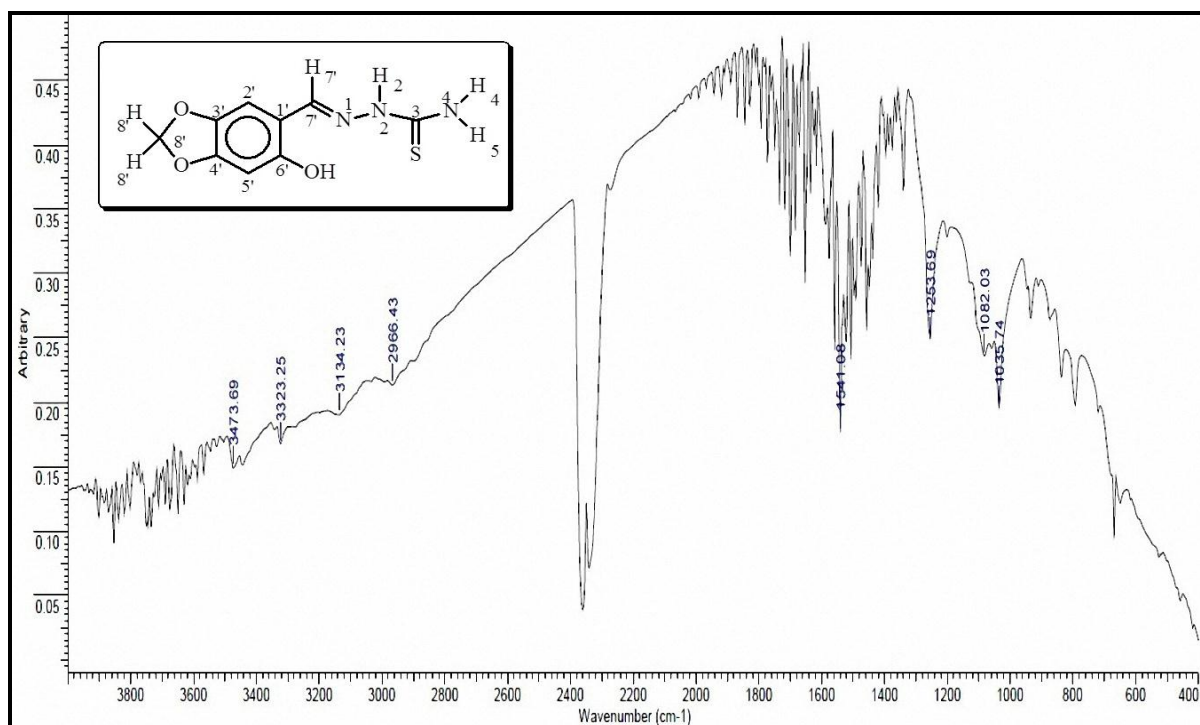
**8.79 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemi-carbazona, 100 MHz em DMSO**



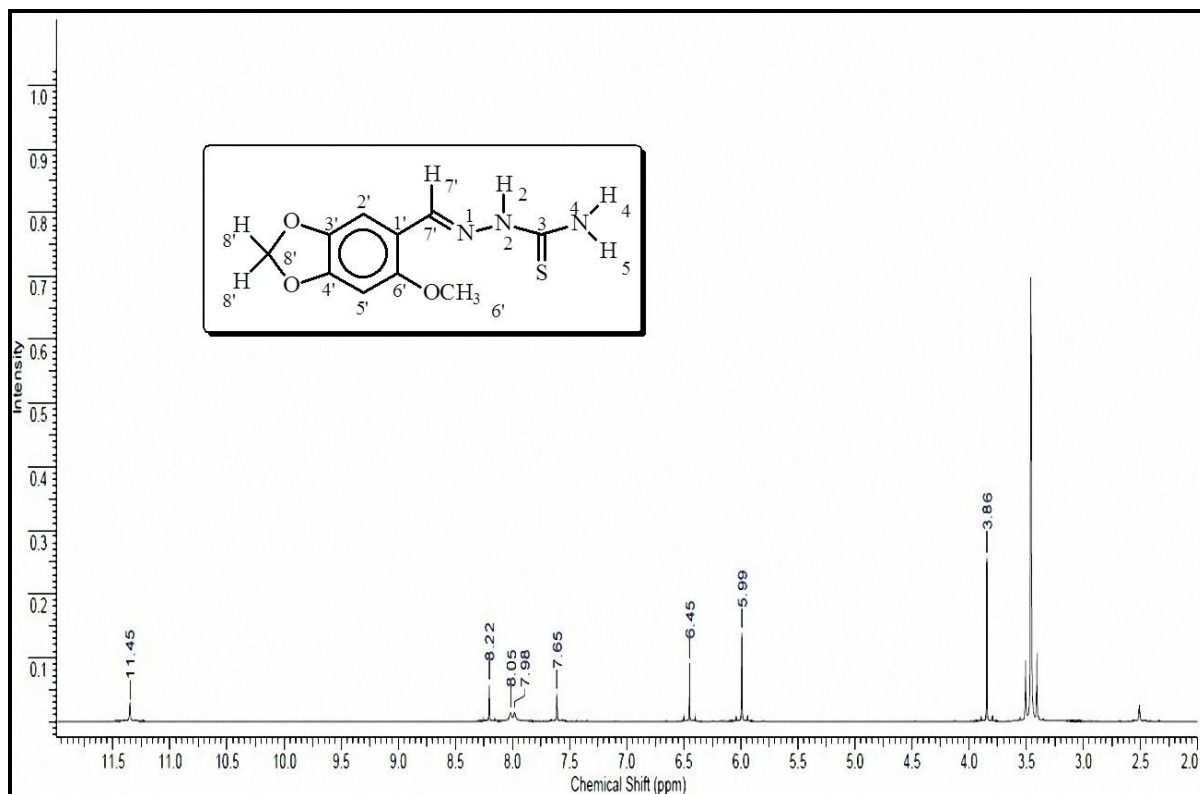
**8.80 Espectro de RMN de DEPT 135° do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeídotiossemicar-bazona, 100 MHz em DMSO**



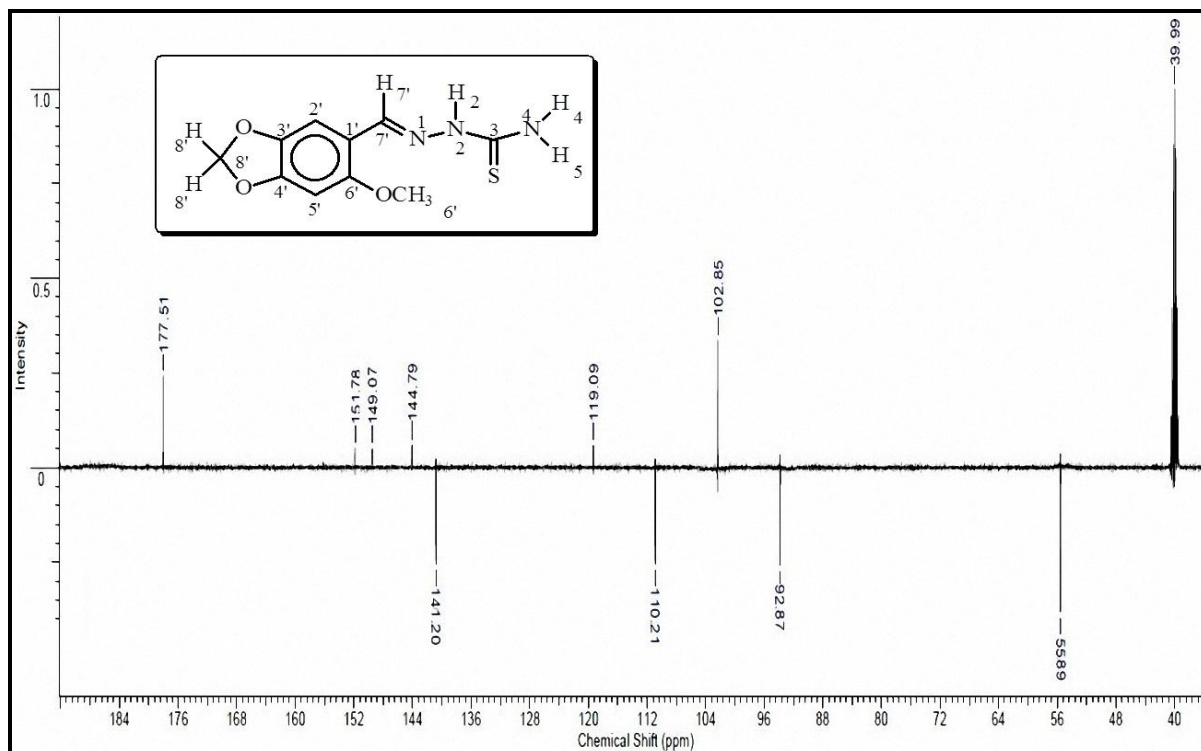
### 8.81 Espectro de IV do 6-hidroxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona



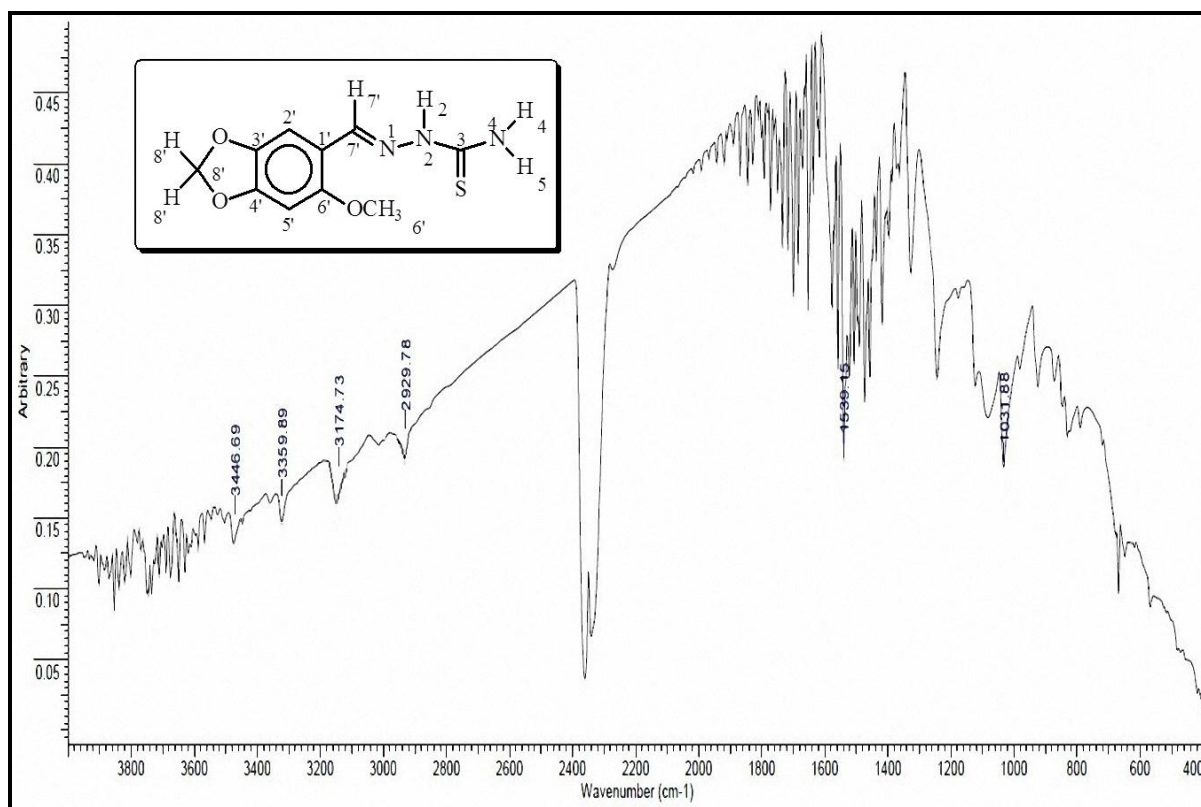
### 8.82 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



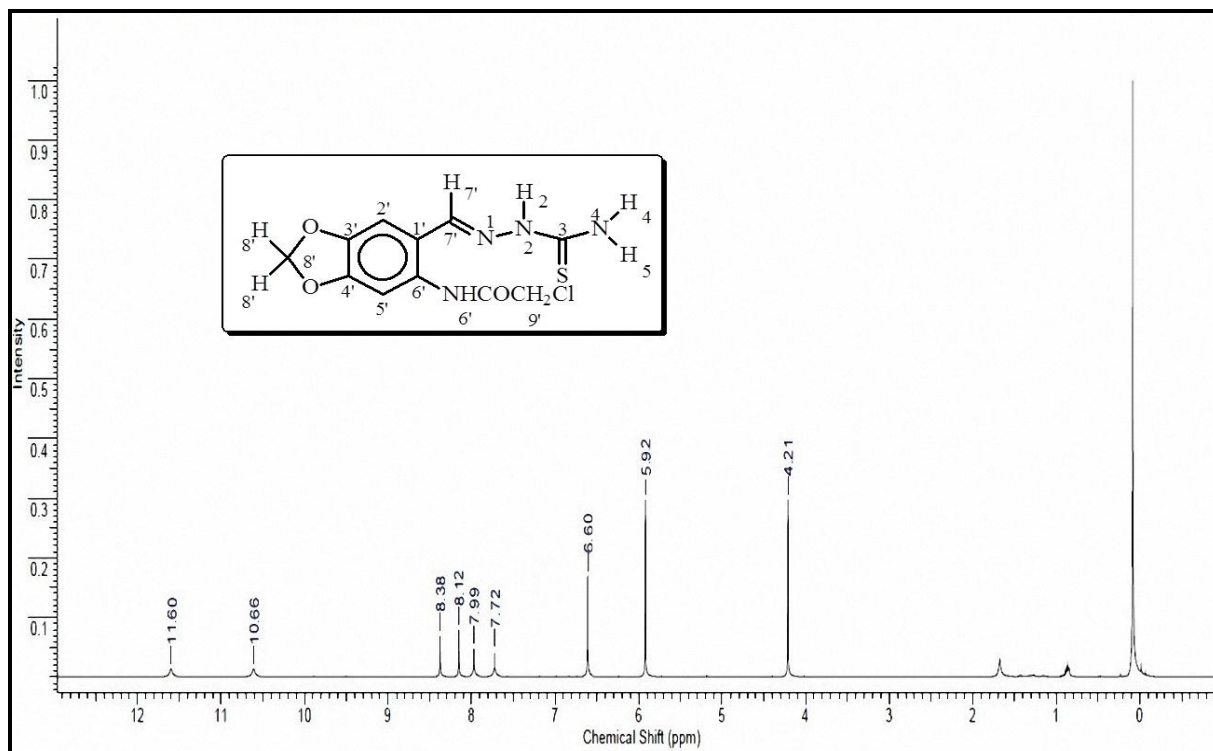
**8.83 Espectro de DEPT Q do 6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



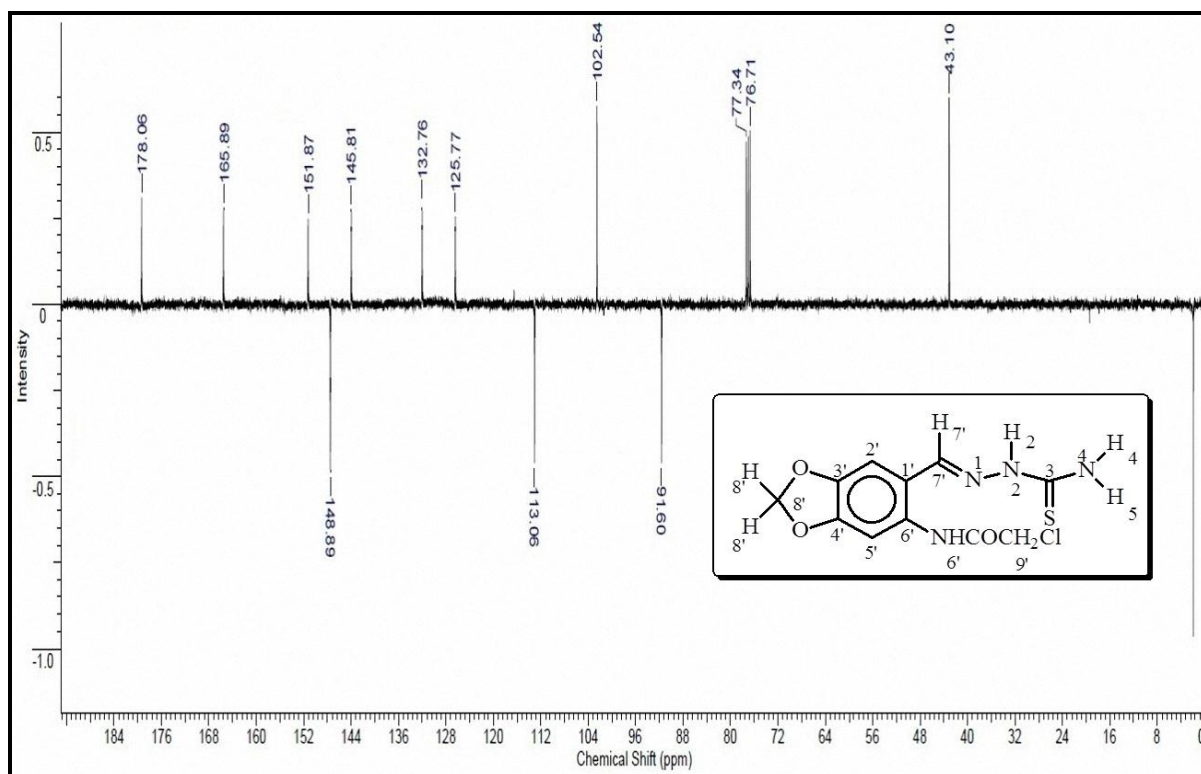
**8.84 Espectro de IV do 6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítiossemicarbazona**



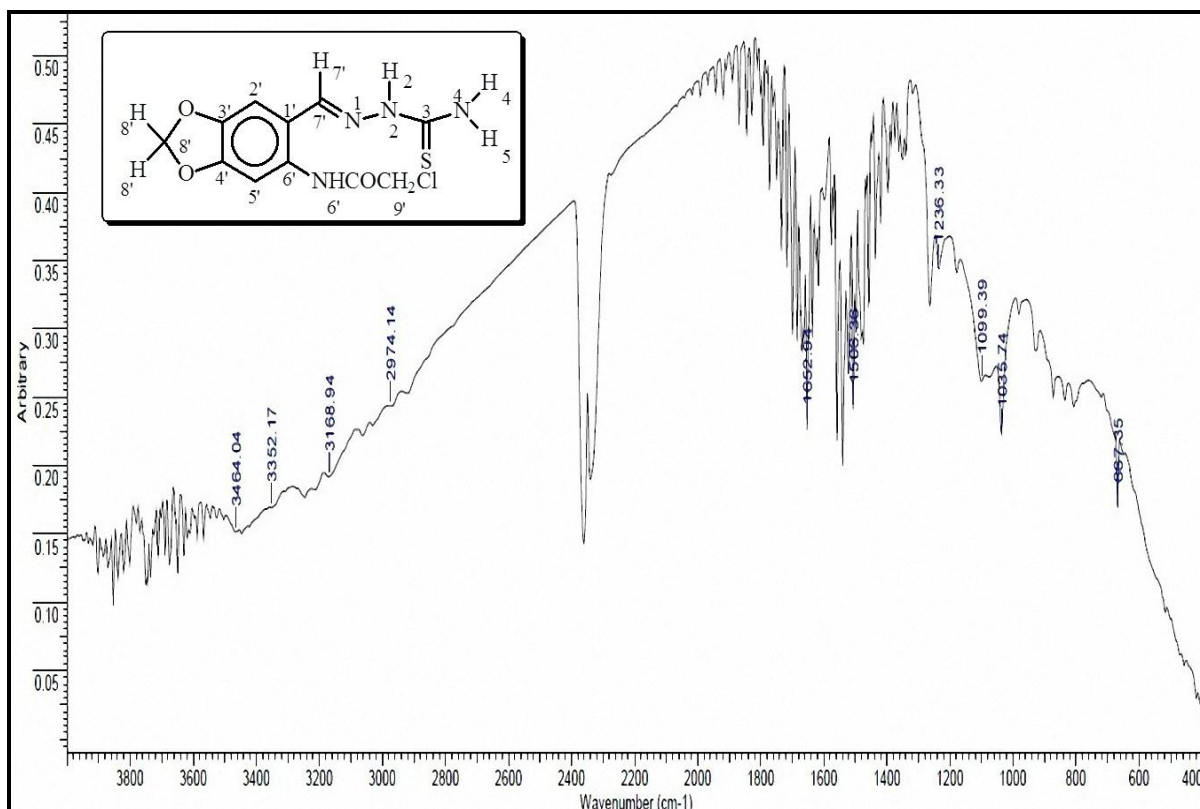
**8.85 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 6-cloroaminoacetilpiperonaltiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO**



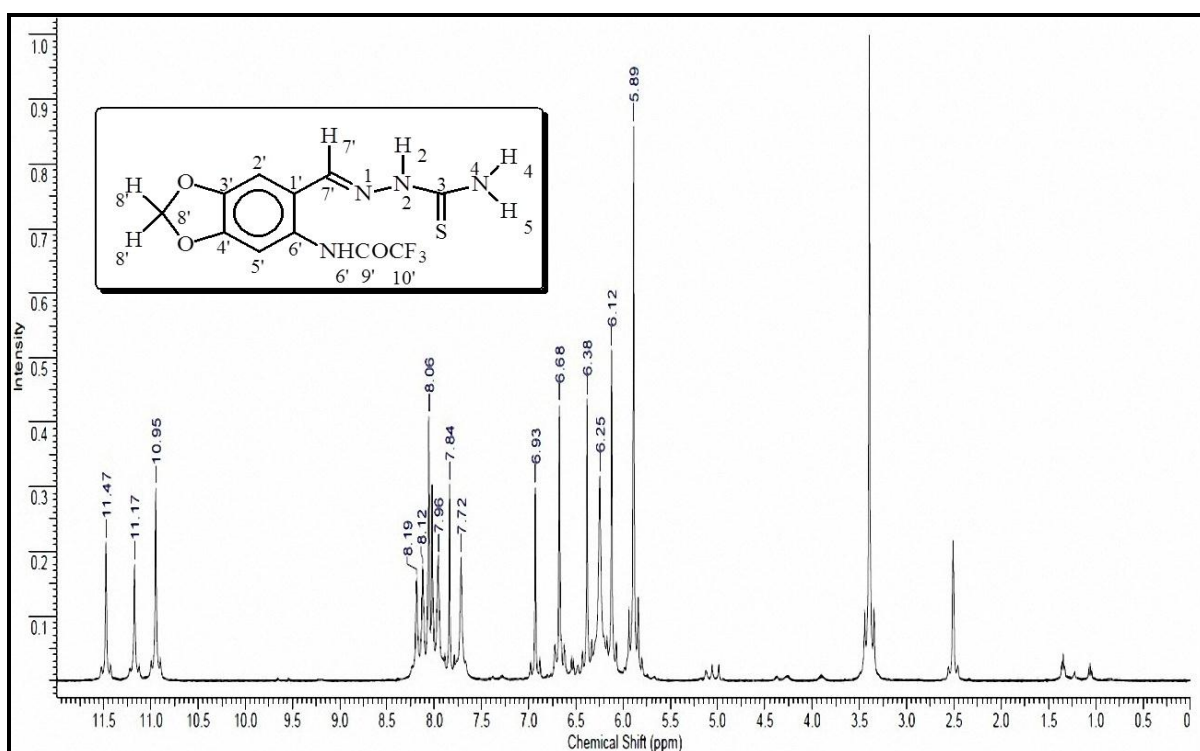
**8.86 Espectro de DEPT Q do 6-cloroaminoacetilpiperonaltiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



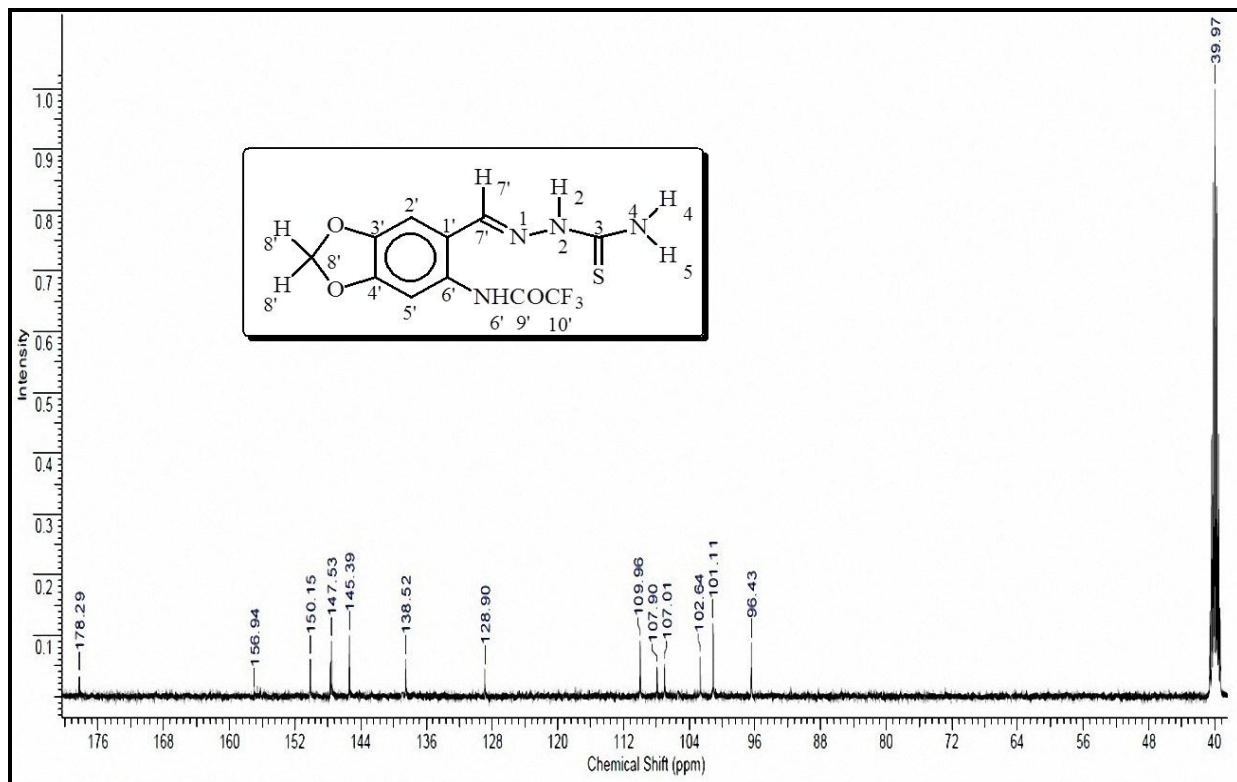
### 8.87 Espectro de IV do 6-cloroacetilpiperonaltiossemicarbazona



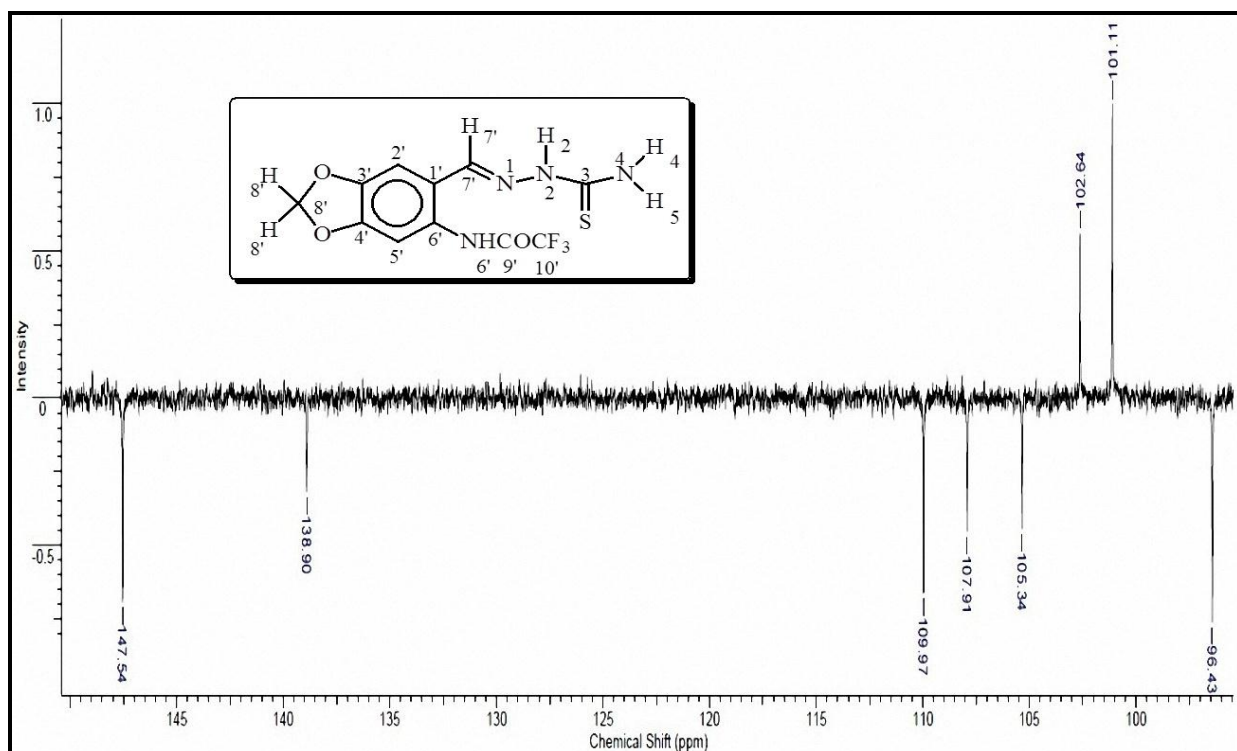
### 8.88 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 6-trifluoroacetilpiperonaltiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



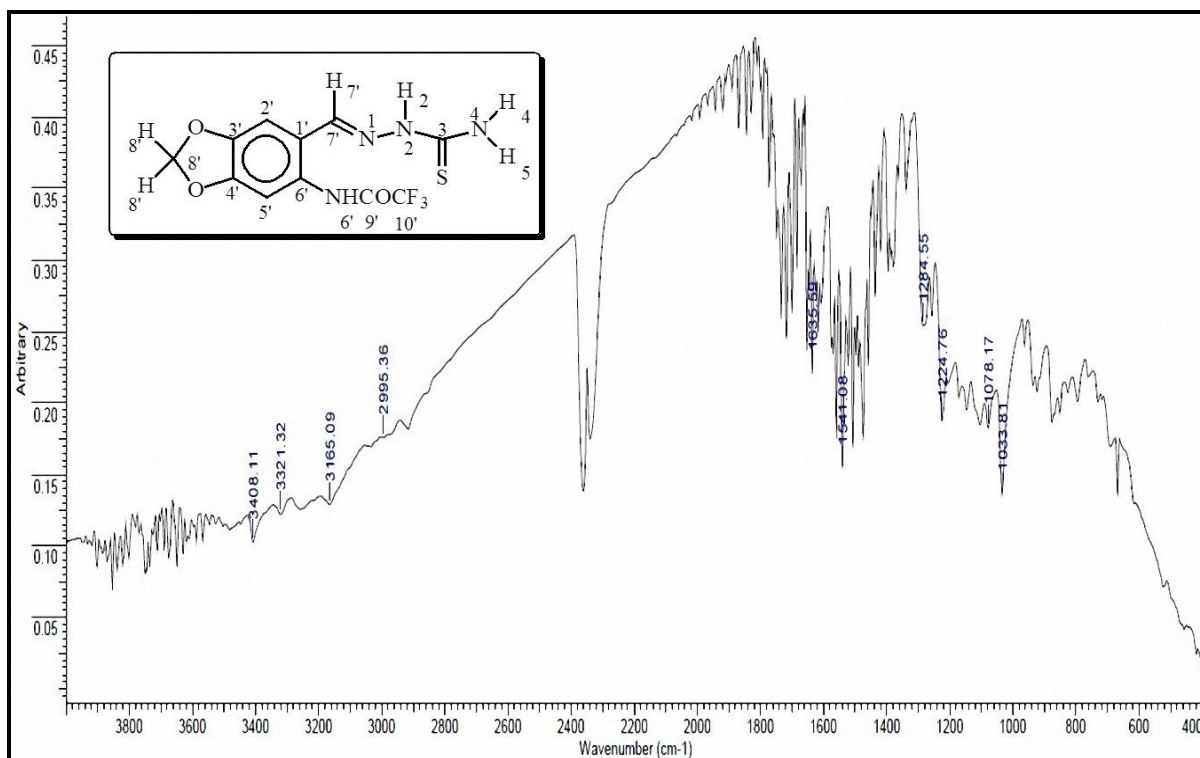
**8.89 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 6-trifluoraminocetilpiperonaltiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



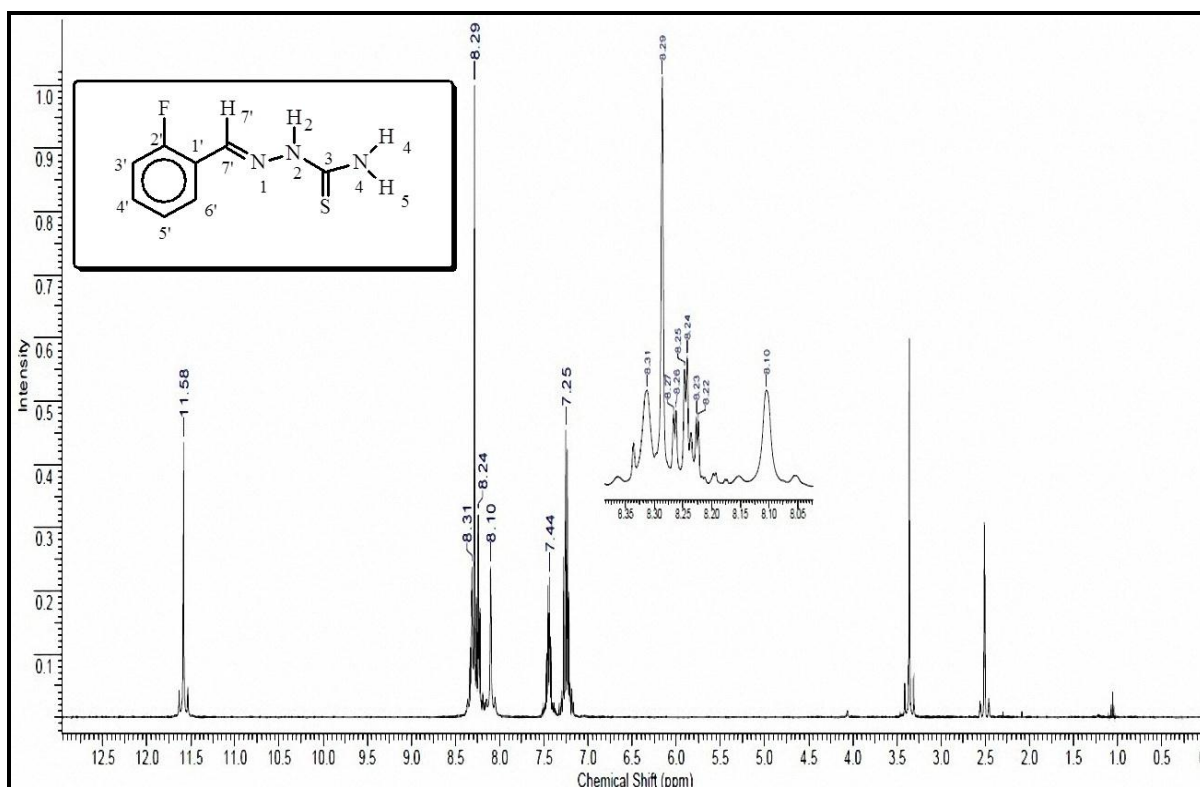
**8.90 Espectro de RMN de DEPT 135° do 6-trifluoraminocetilpiperonaltiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



### 8.91 Espectro de IV do 6-trifluoraminocetilpiperonaltiossemicarbazona

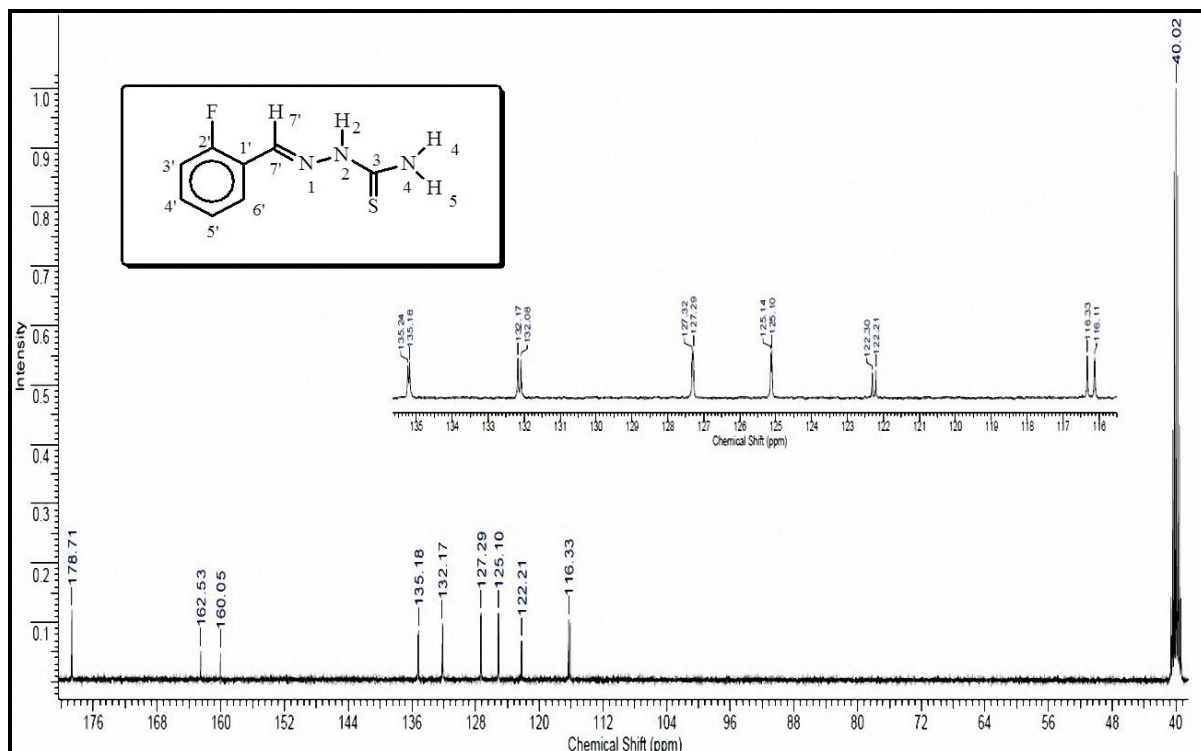


### 8.92 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 2'-fluorbenzaldeídotossemicarbazona, 400 MHz em DMSO

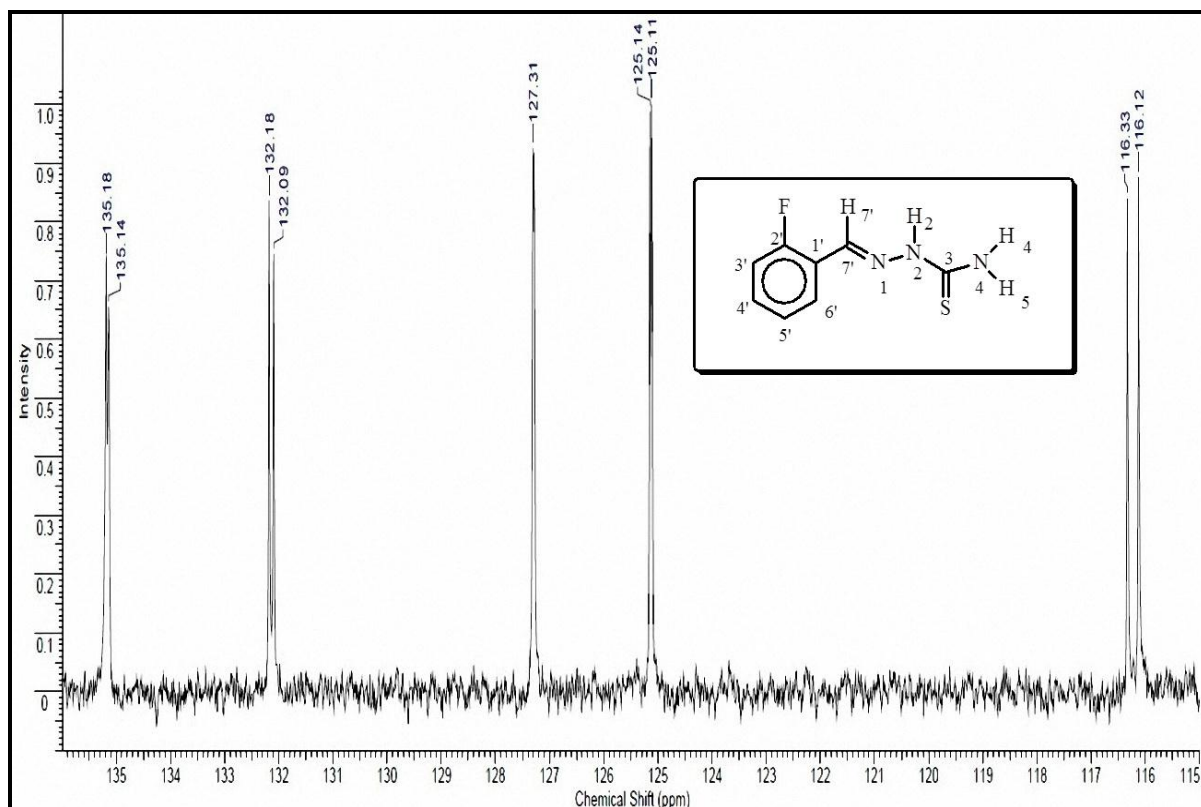




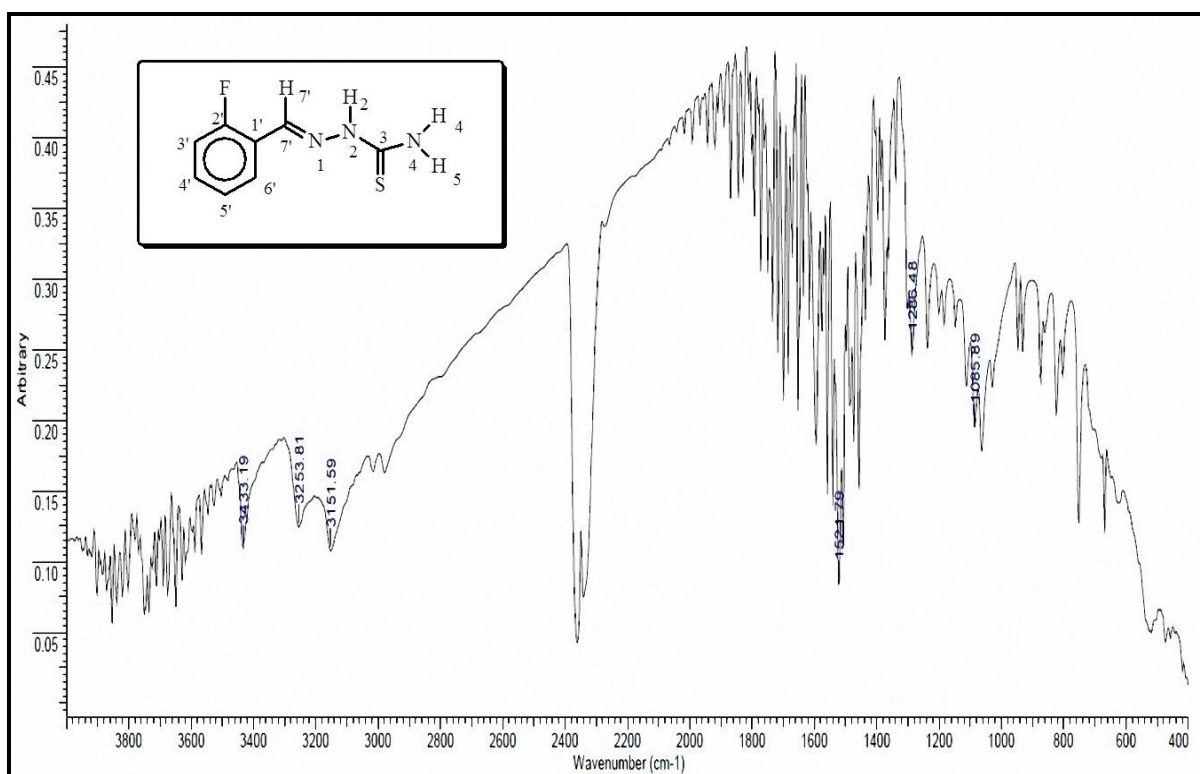
**8.93 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 2'-fluorbenzaléidotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



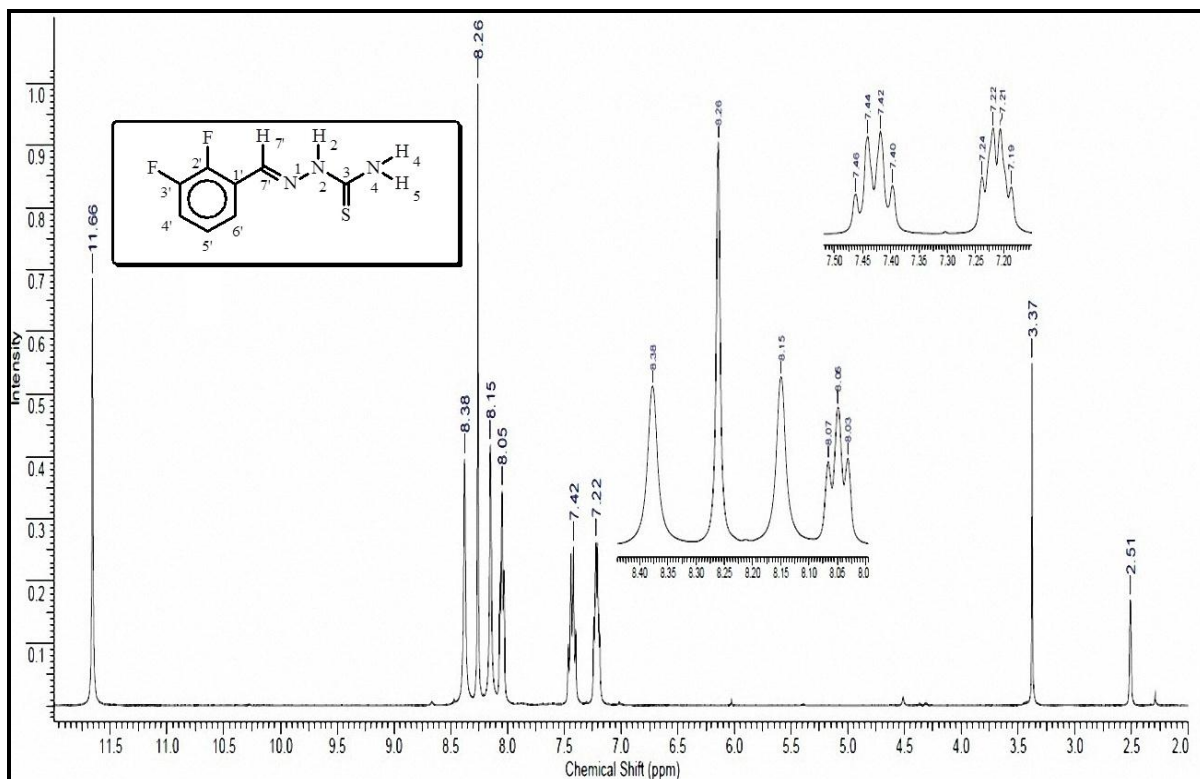
**8.94 Espectro de RMN de DEPT 135° do 2'-fluorbenzaléidotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



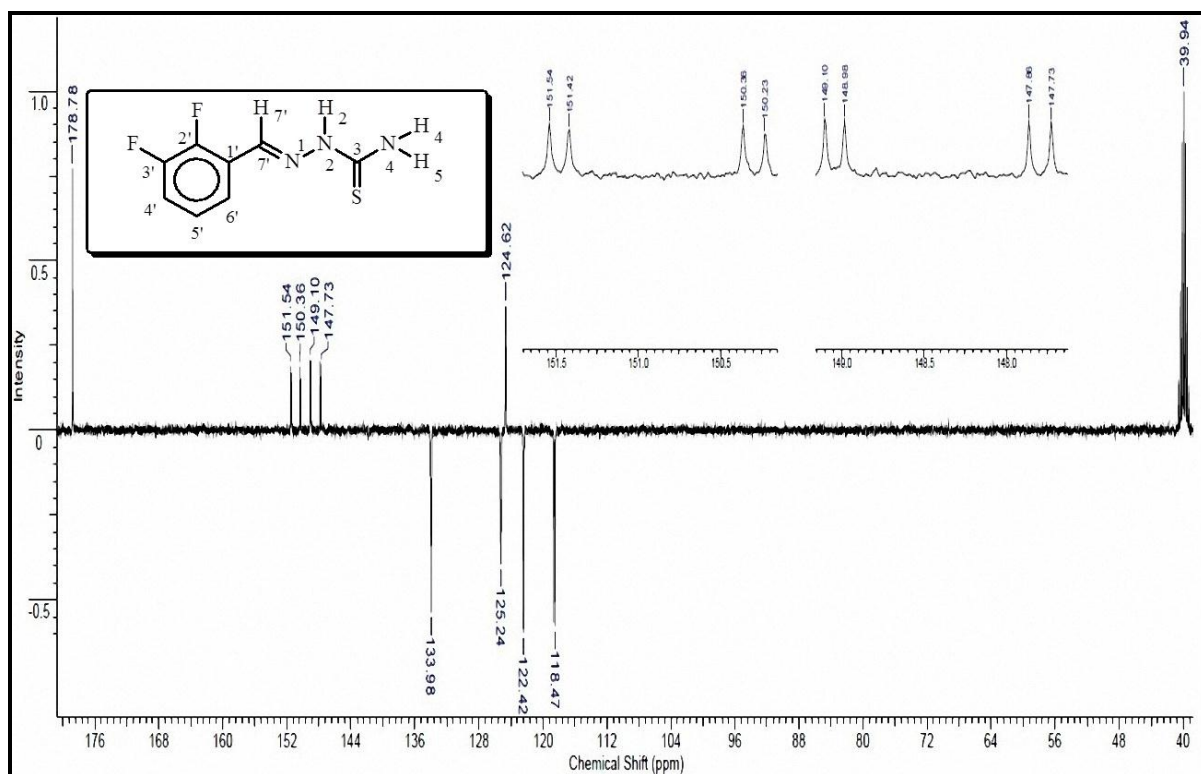
### 8.95 Espectro de IV do 2'-fluorbenzaldeídotossemicarbazona



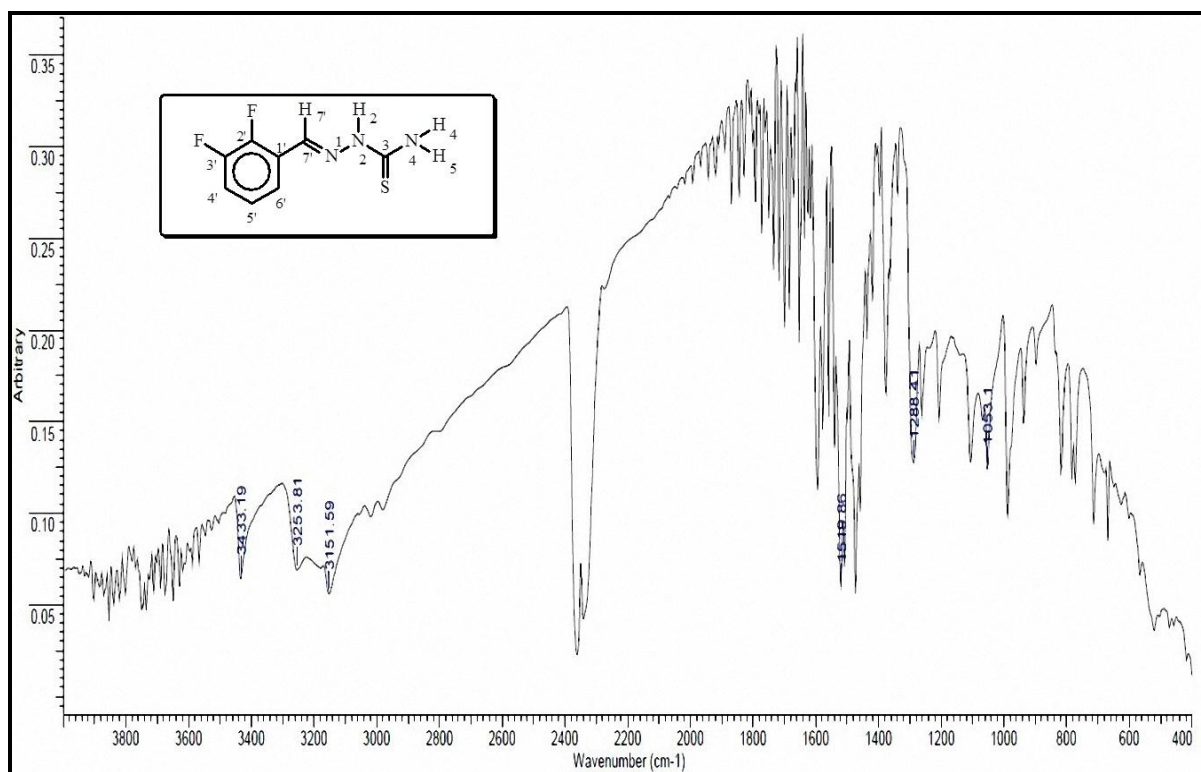
### 8.96 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 2',3'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



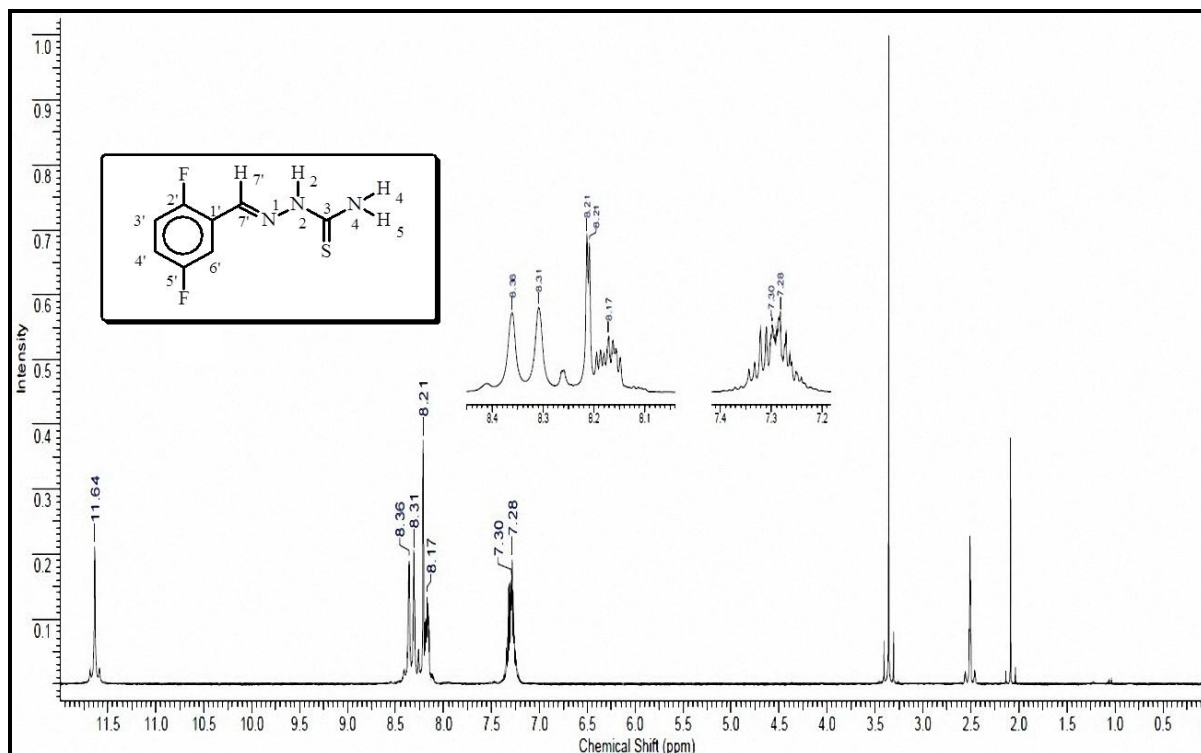
**8.97 Espectro de DEPT Q do 2',3'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



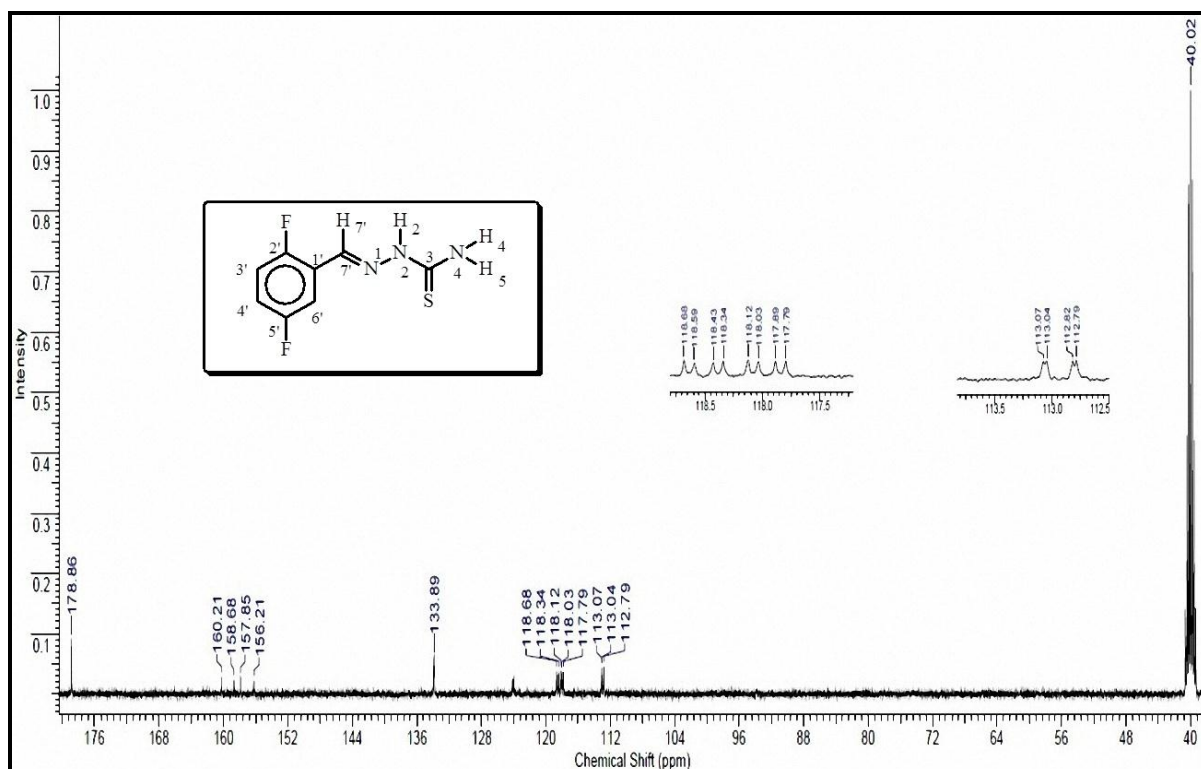
**8.98 Espectro de IV do 2',3'-difluorbenzaldeídotossemicarbazona**



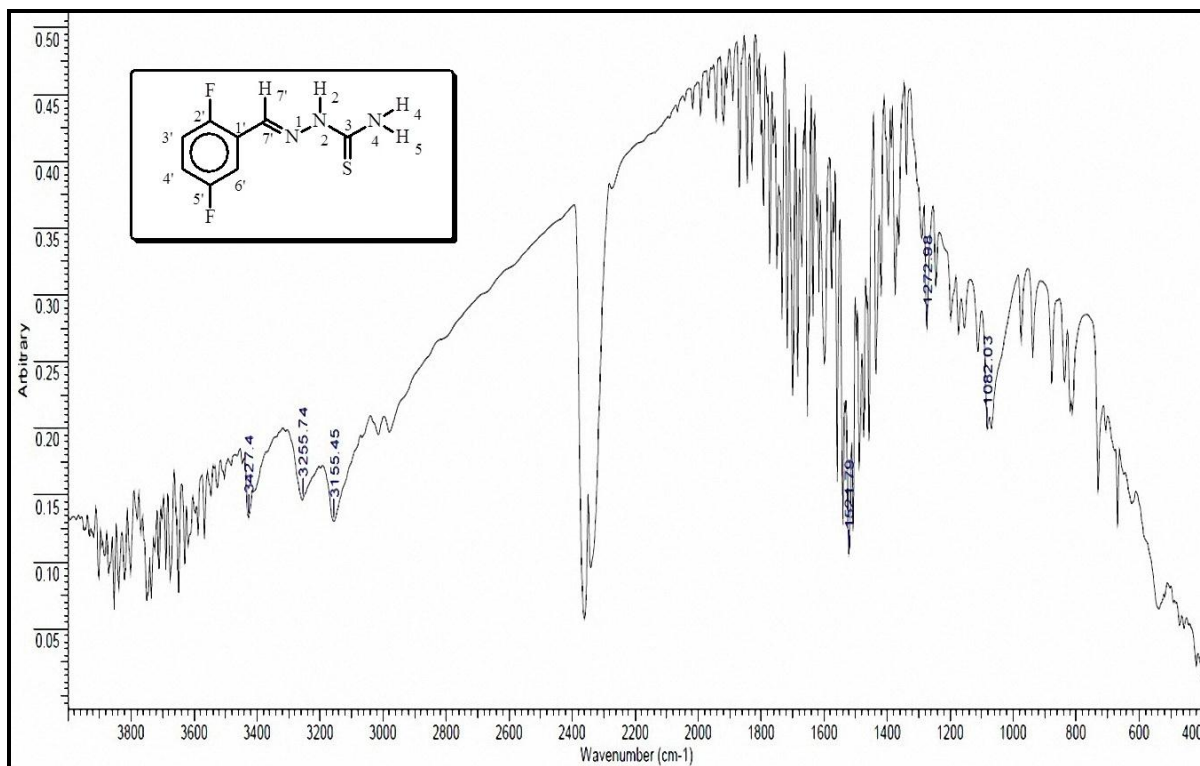
**8.99 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 2,5'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO**



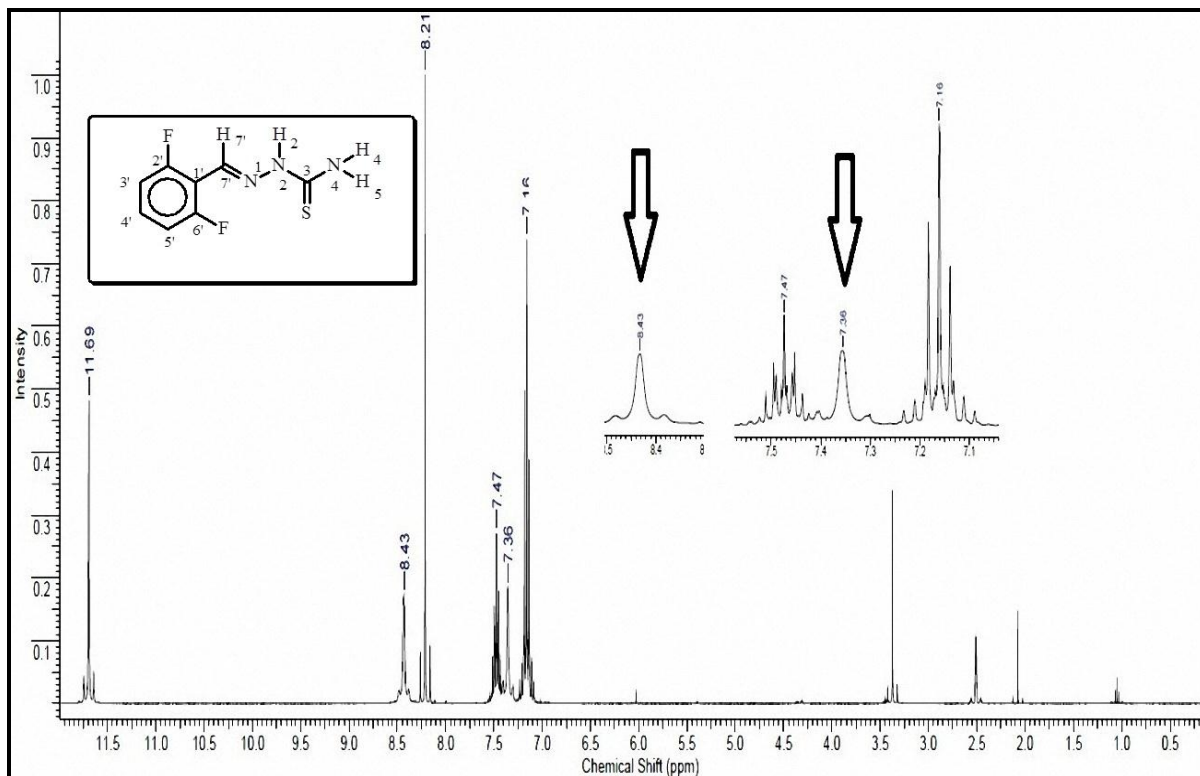
**8.100 Espectro de DEPT Q do 2,5'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



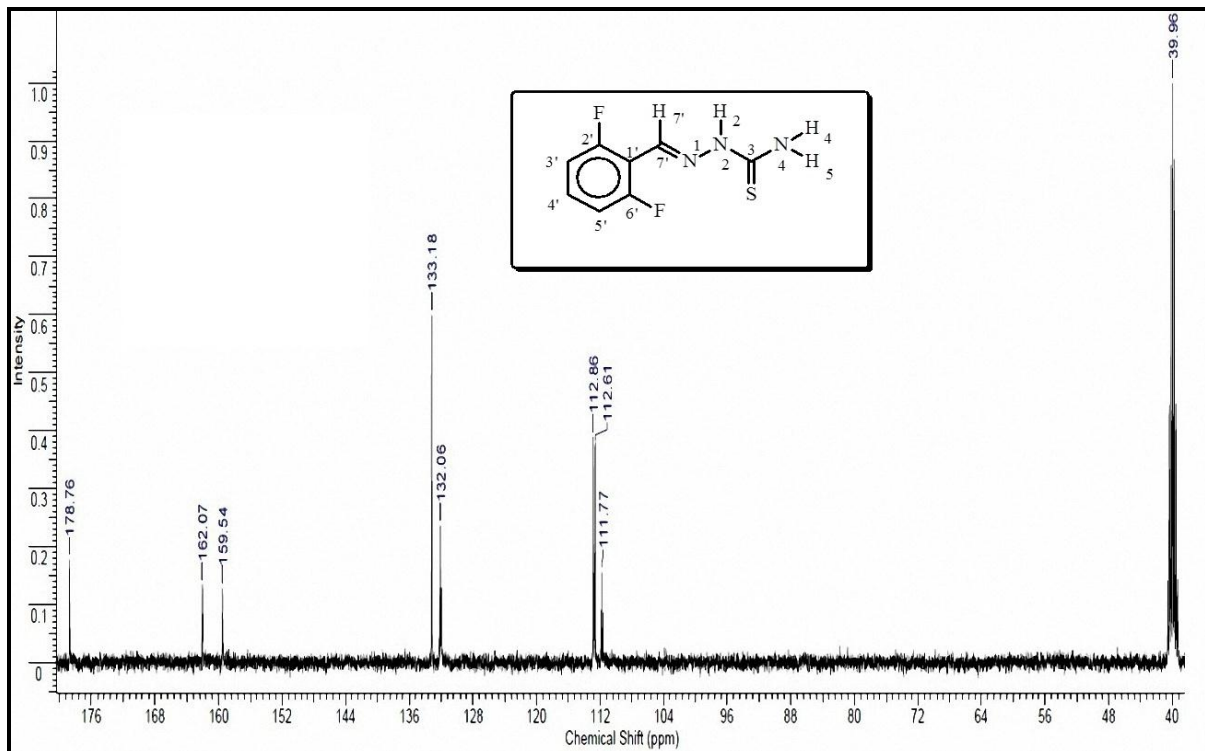
### 8.101 Espectro de IV do 2,5'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona



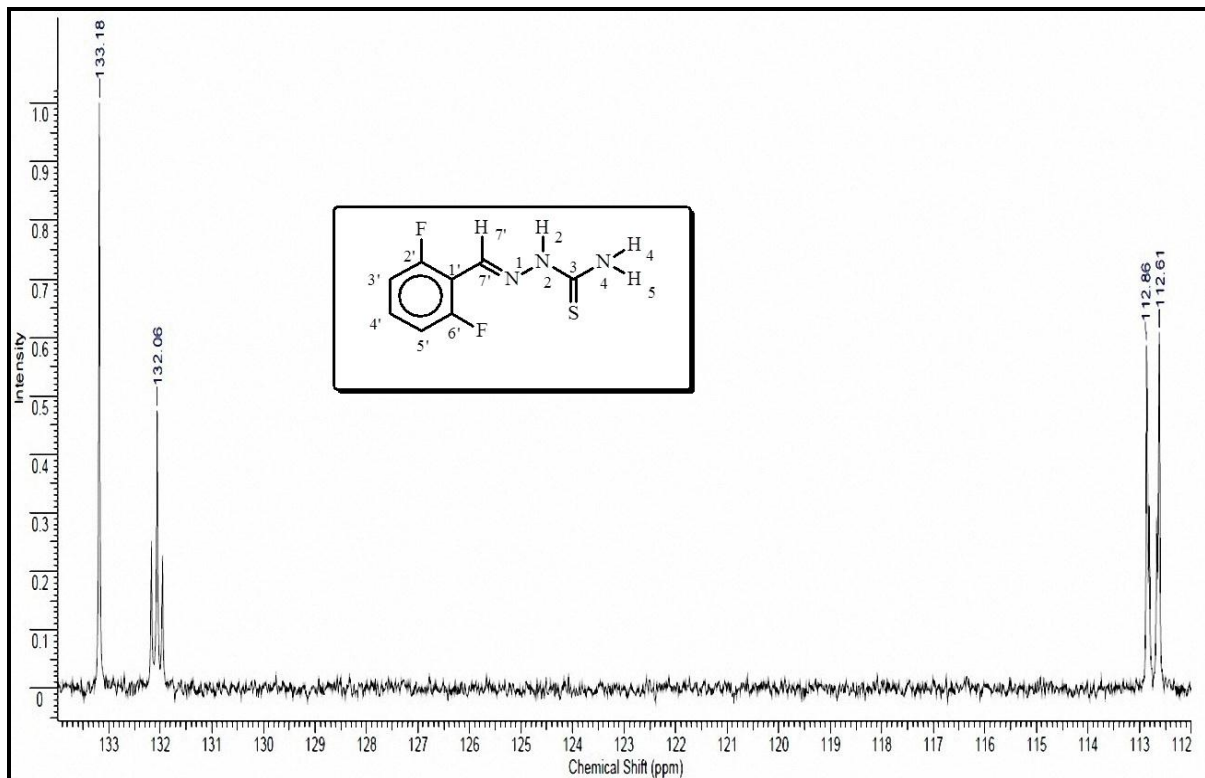
### 8.102 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 2,6'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



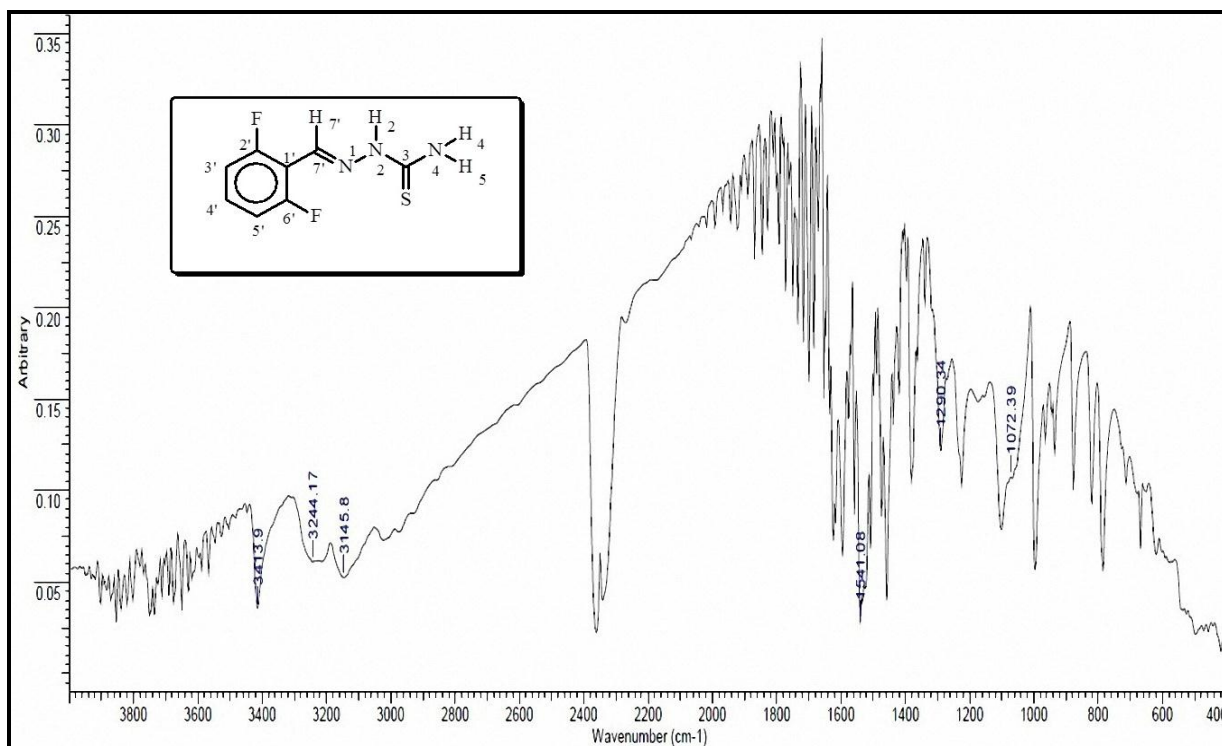
**8.103 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 2,6'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



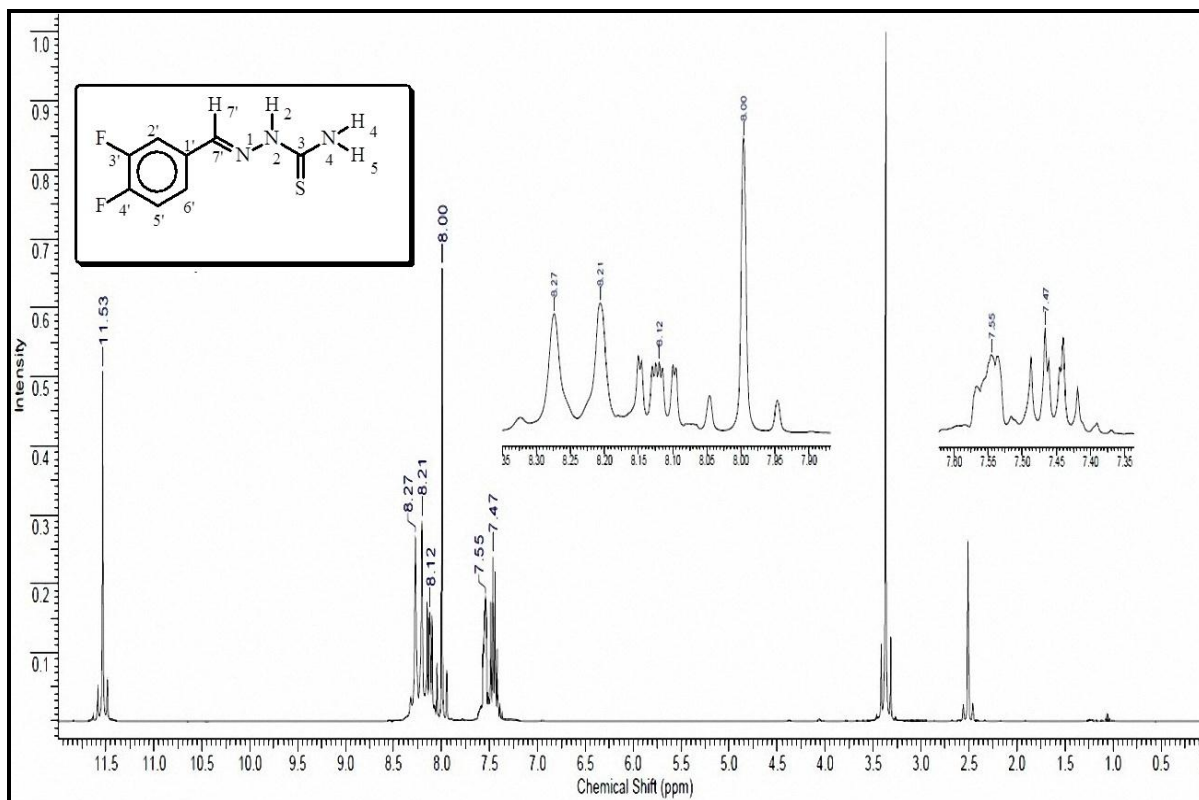
**8.104 Espectro de RMN de DEPT 135° do 2,6'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



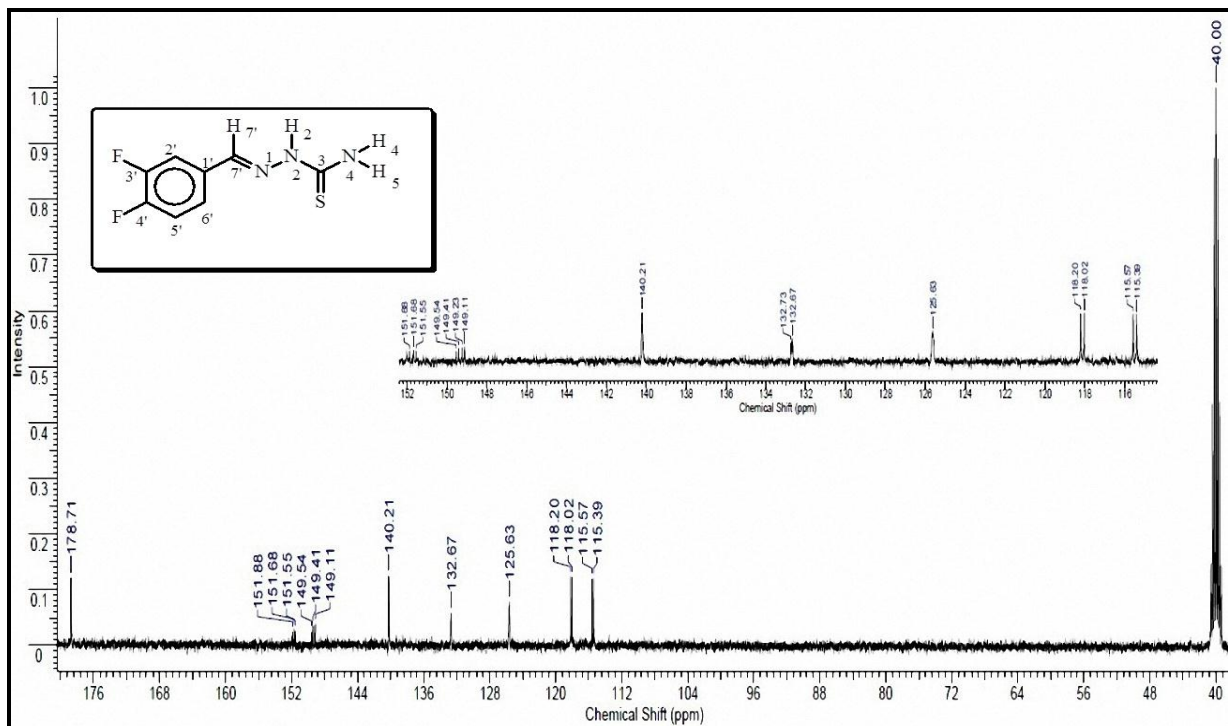
### 8.105 Espectro de IV do 2,6'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona



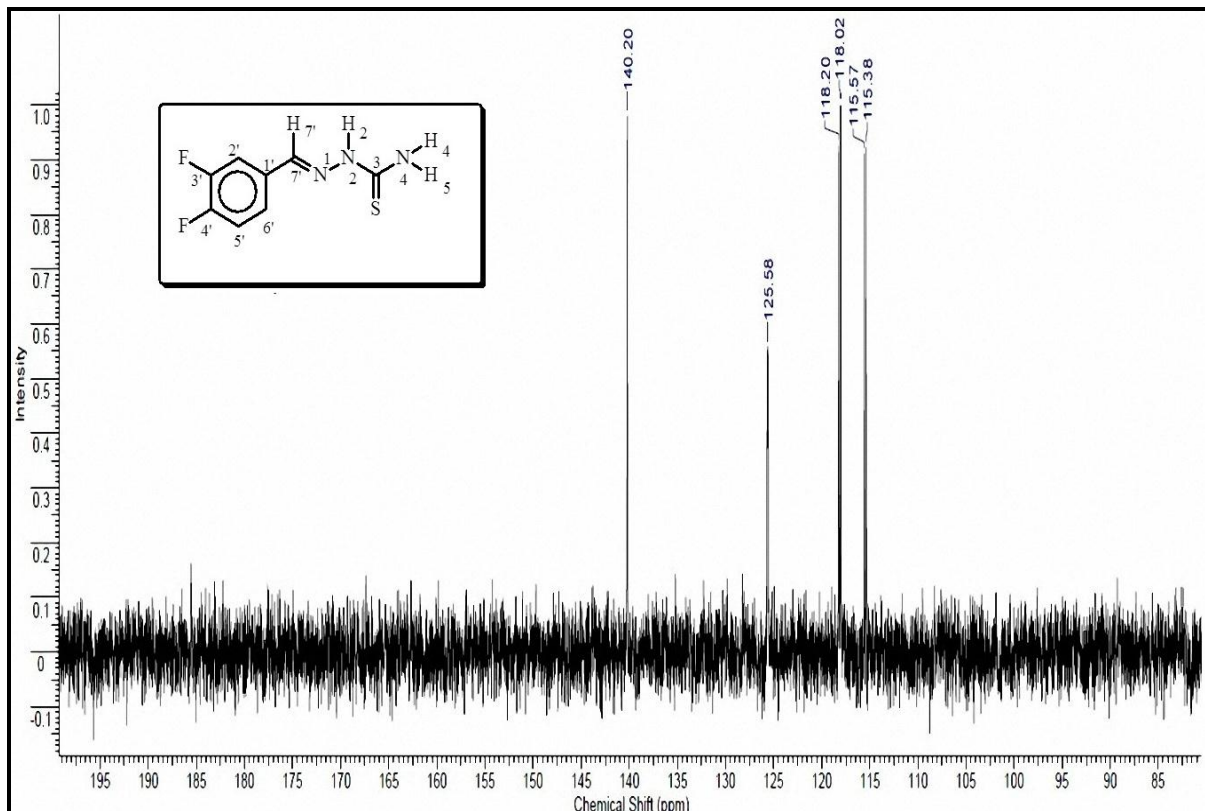
### 8.106 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 3,4'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



**8.107 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 3,4'-difluorbenzaldeídotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**

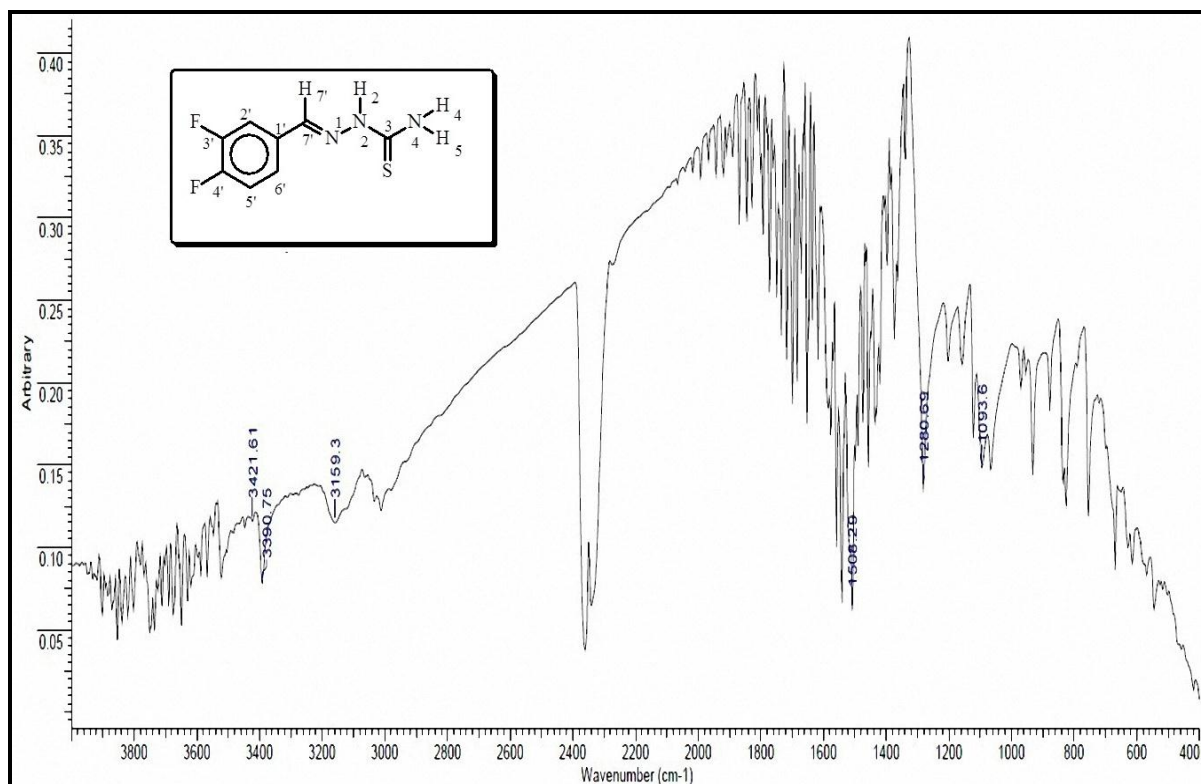


**8.108 Espectro de RMN de DEPT 135° do 3,4'-difluorbenzaldeídotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**

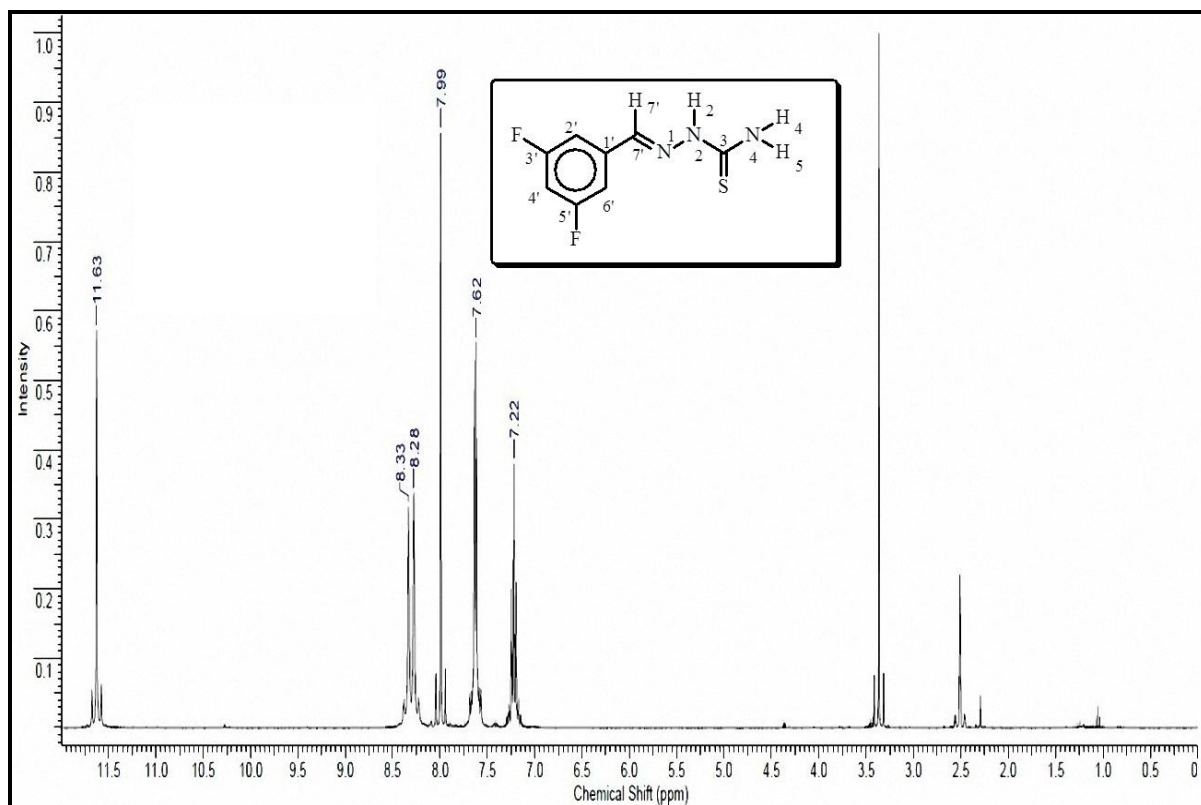




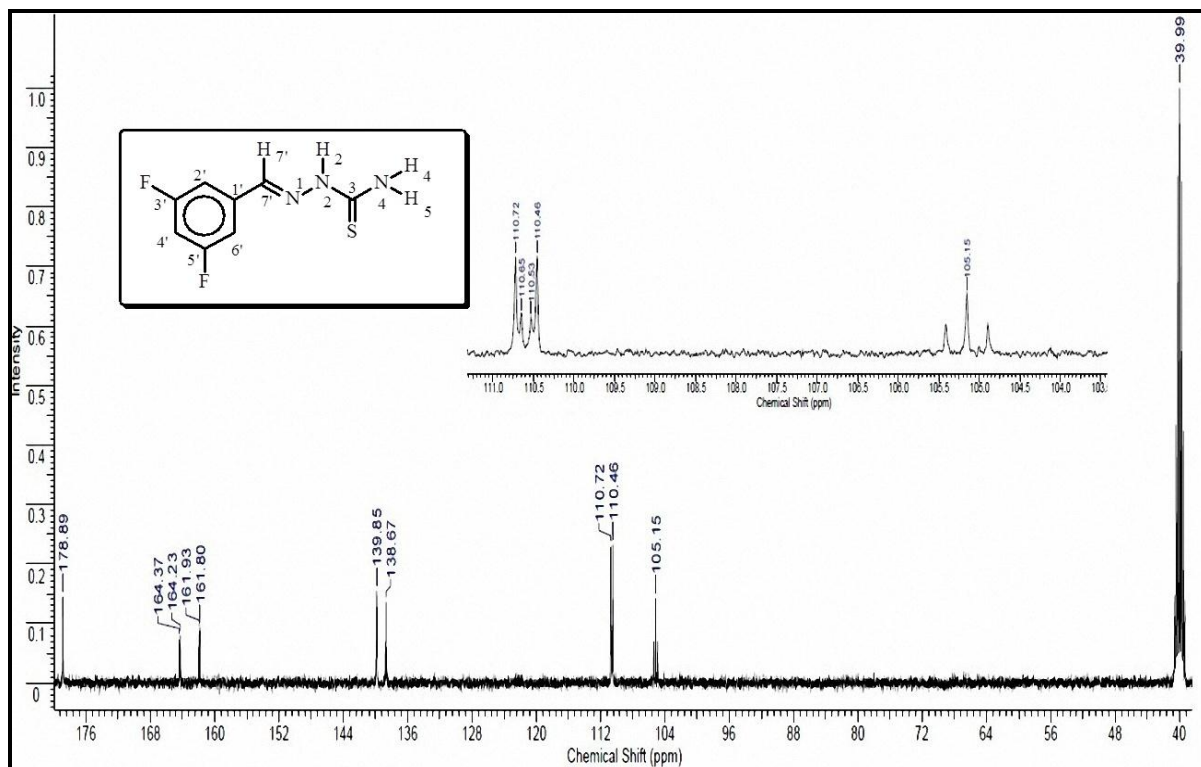
### 8.109 Espectro de IV do do 3,4'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona



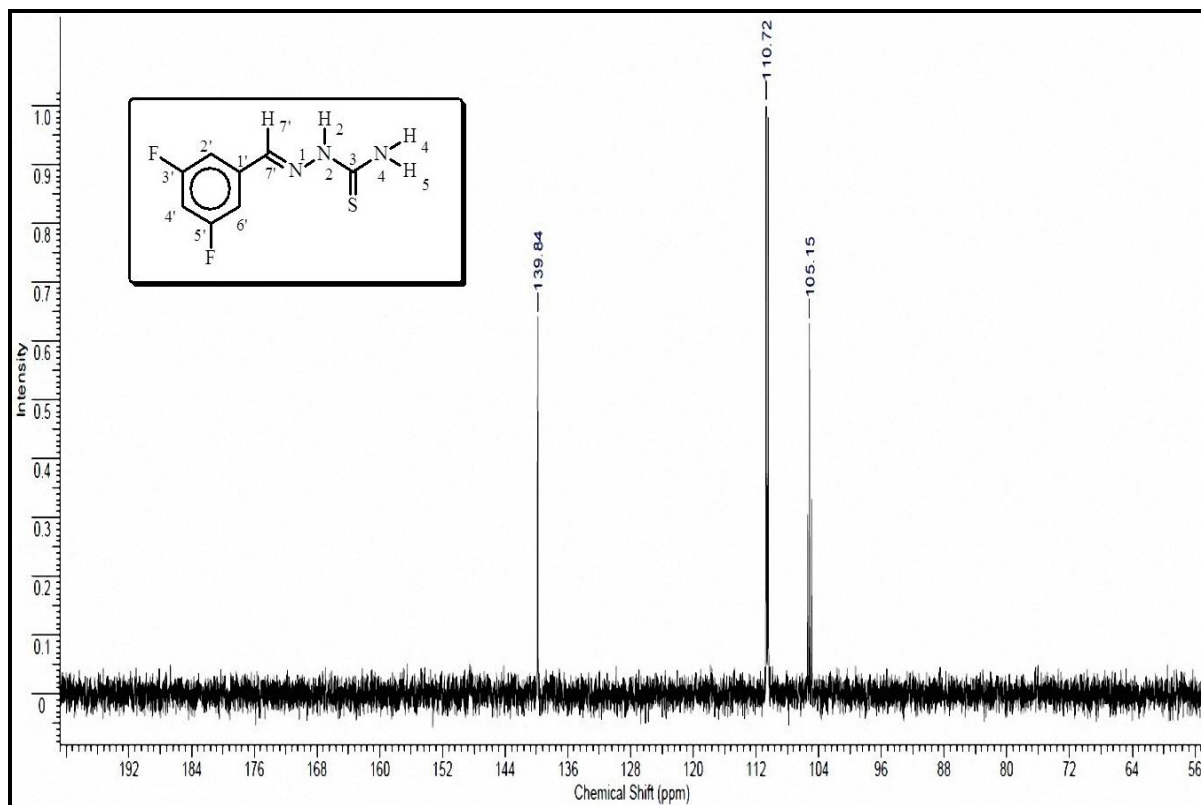
### 8.110 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 3,5'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



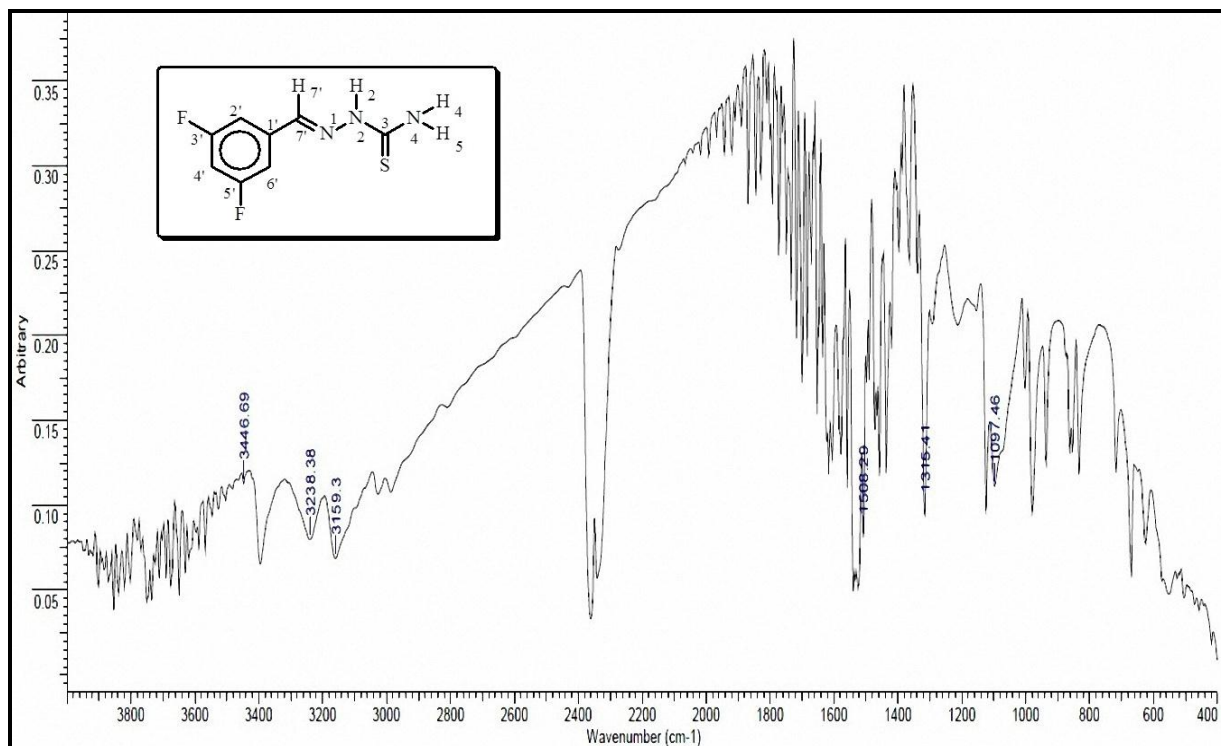
**8.111 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 3,5'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



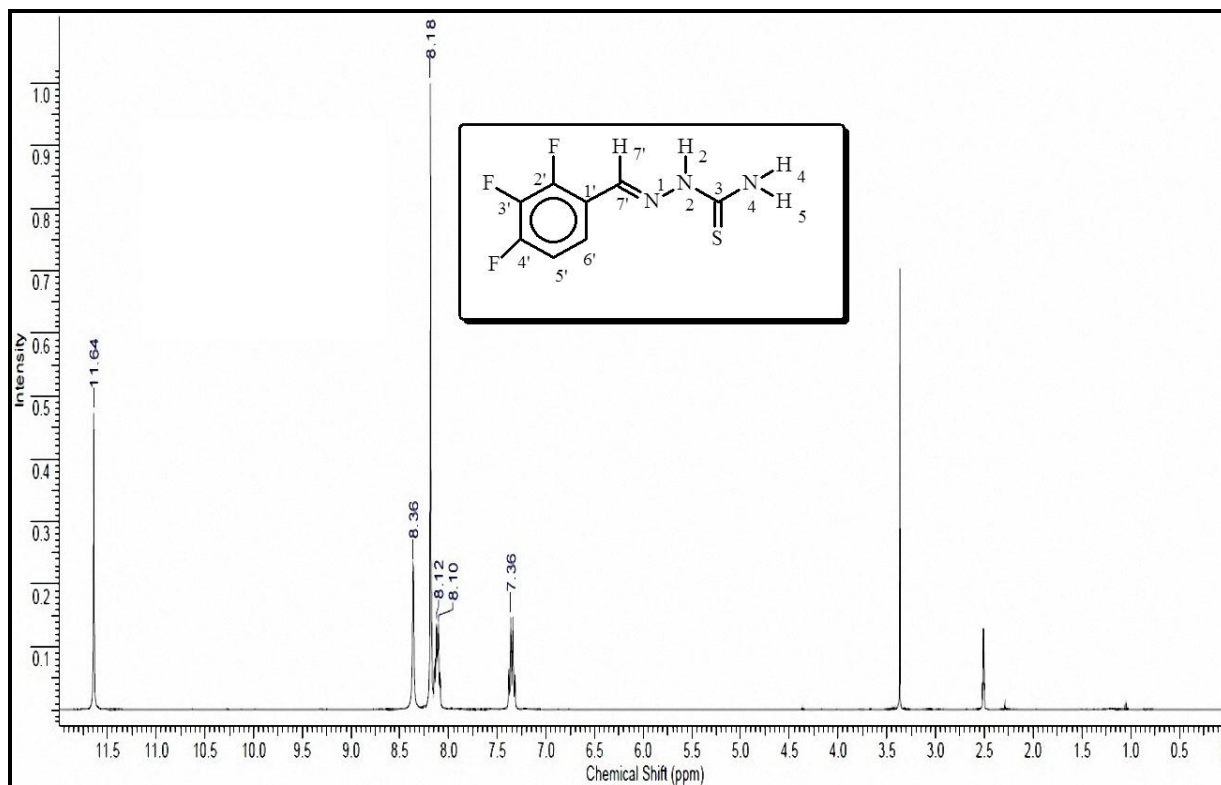
**8.112 Espectro de RMN de DEPT 135° do 3,5'-difluorbenzaléidotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



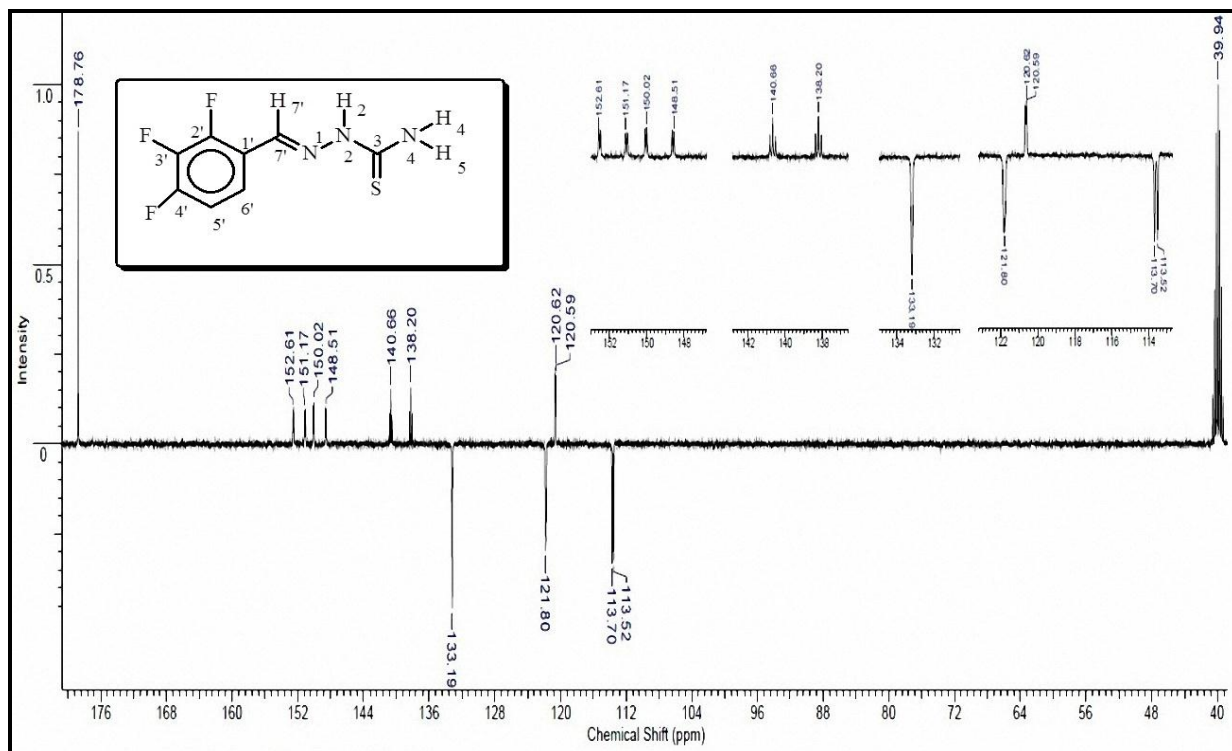
### 8.113 Espectro de IV do 3,5'-difluorbenaldeídotiossemicarbazona



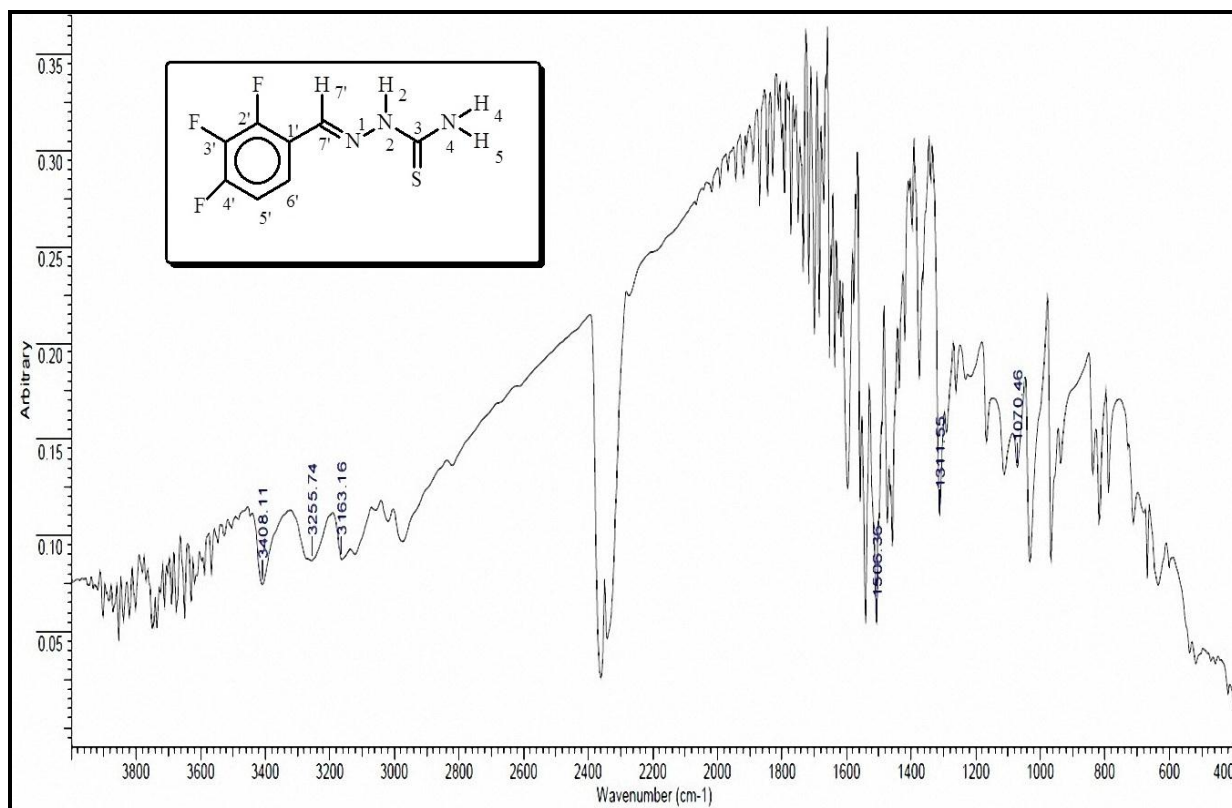
### 8.114 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do 2',3',4'-trifluorbenaldeídotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



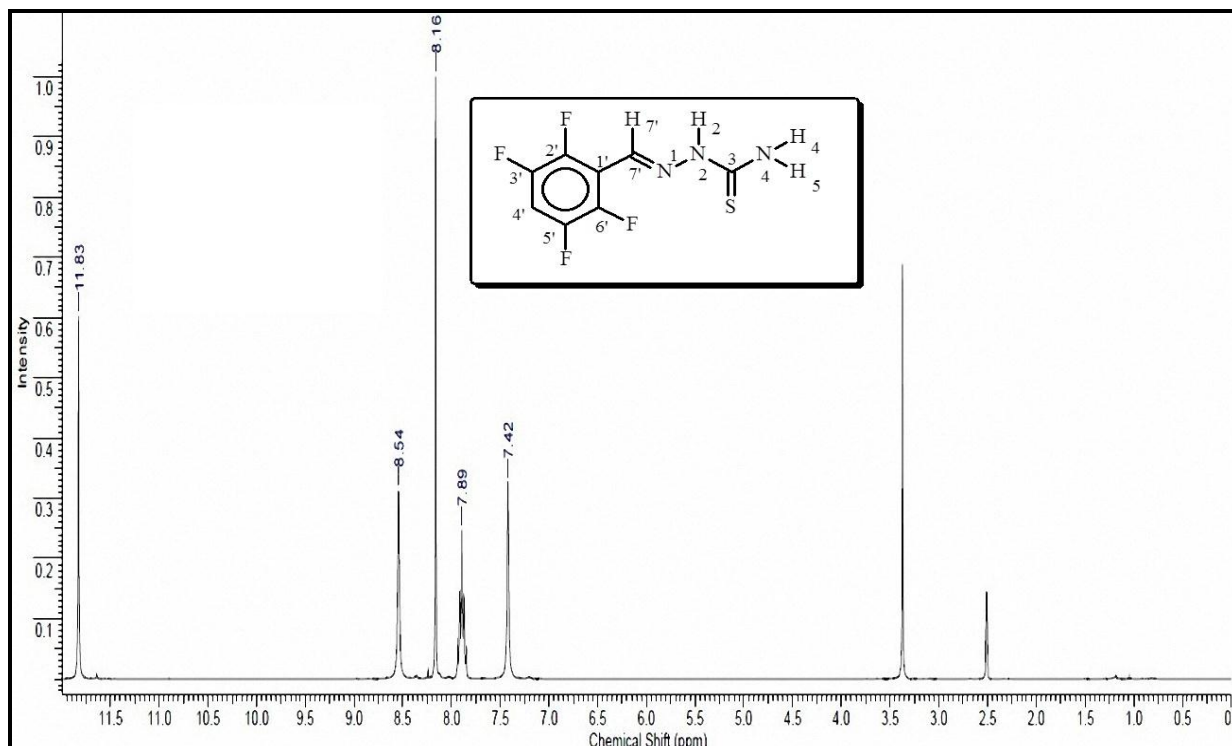
**8.115 Espectro de DEPT Q do 2',3',4'-trifluorbenzaldeídotossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



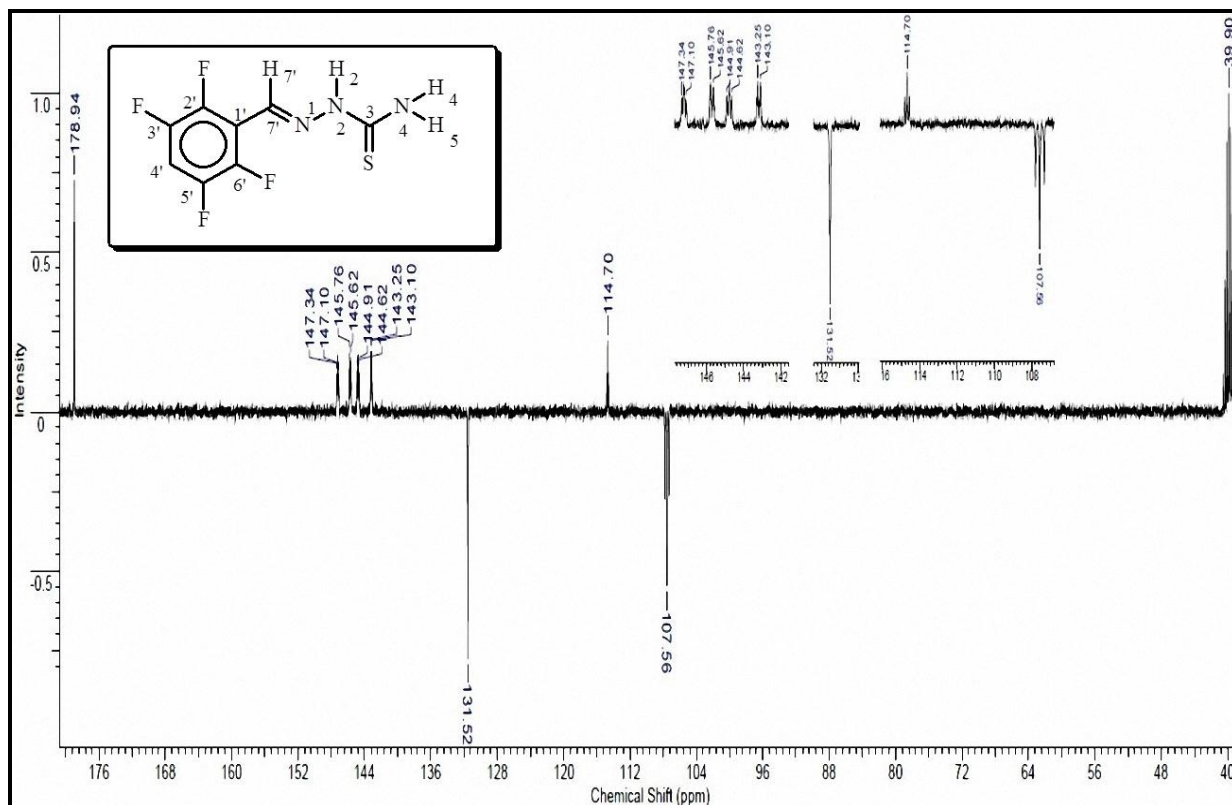
**8.116 Espectro de IV do 2',3',4'-trifluorbenzaldeídotossemicarbazona**



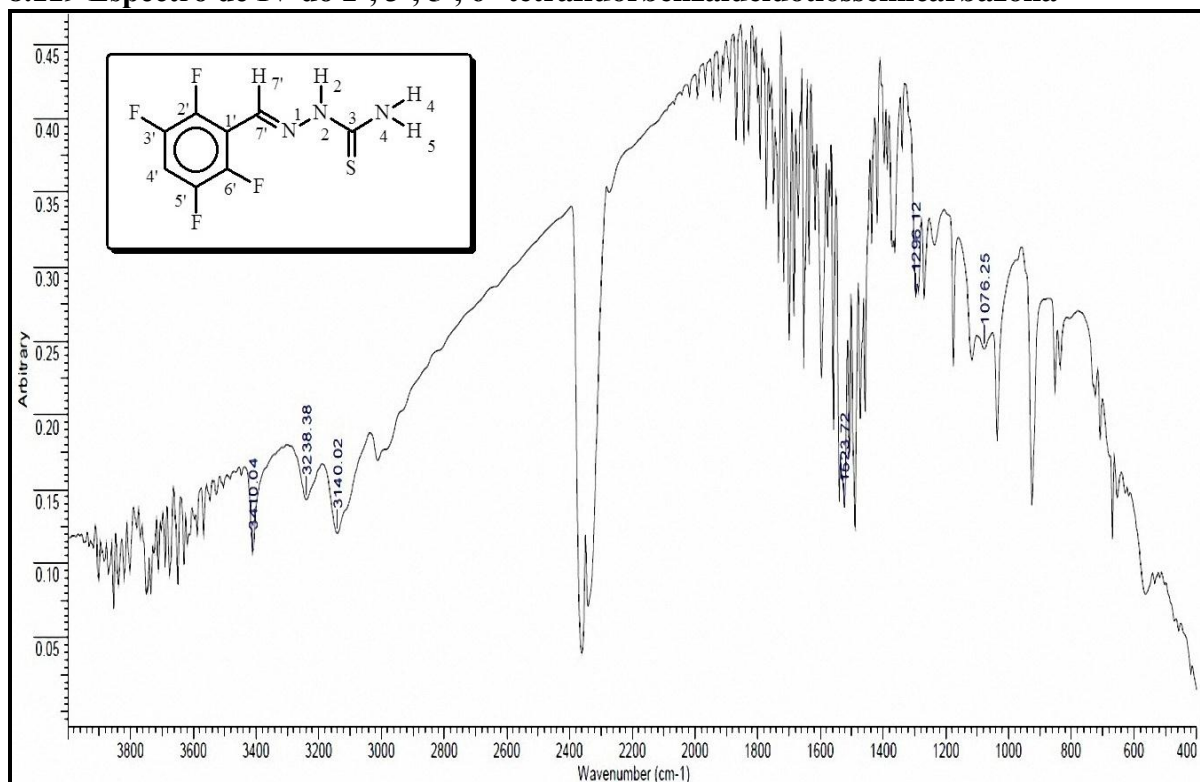
**8.117 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 2', 3', 5', 6'-tetrafluorbenzaldeídotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO**



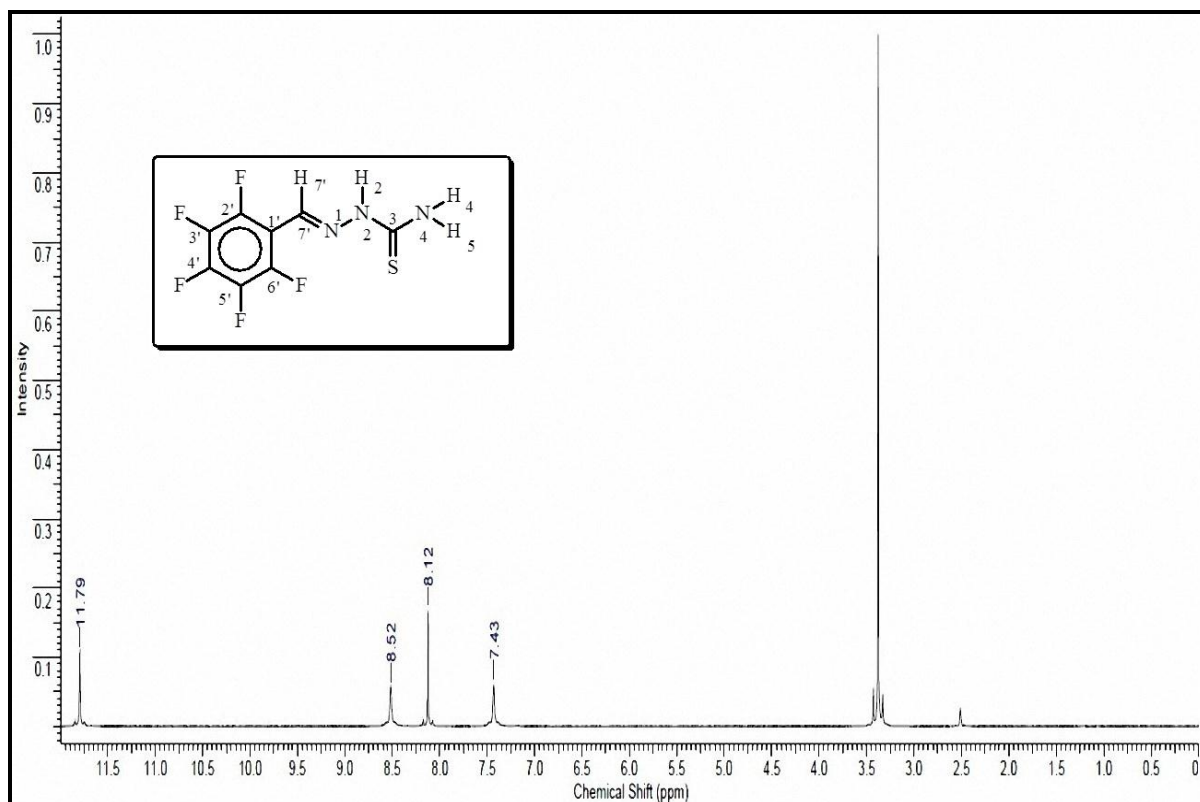
**8.118 Espectro de DEPT Q do 2', 3', 5', 6'-tetrafluorbenzaldeídotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



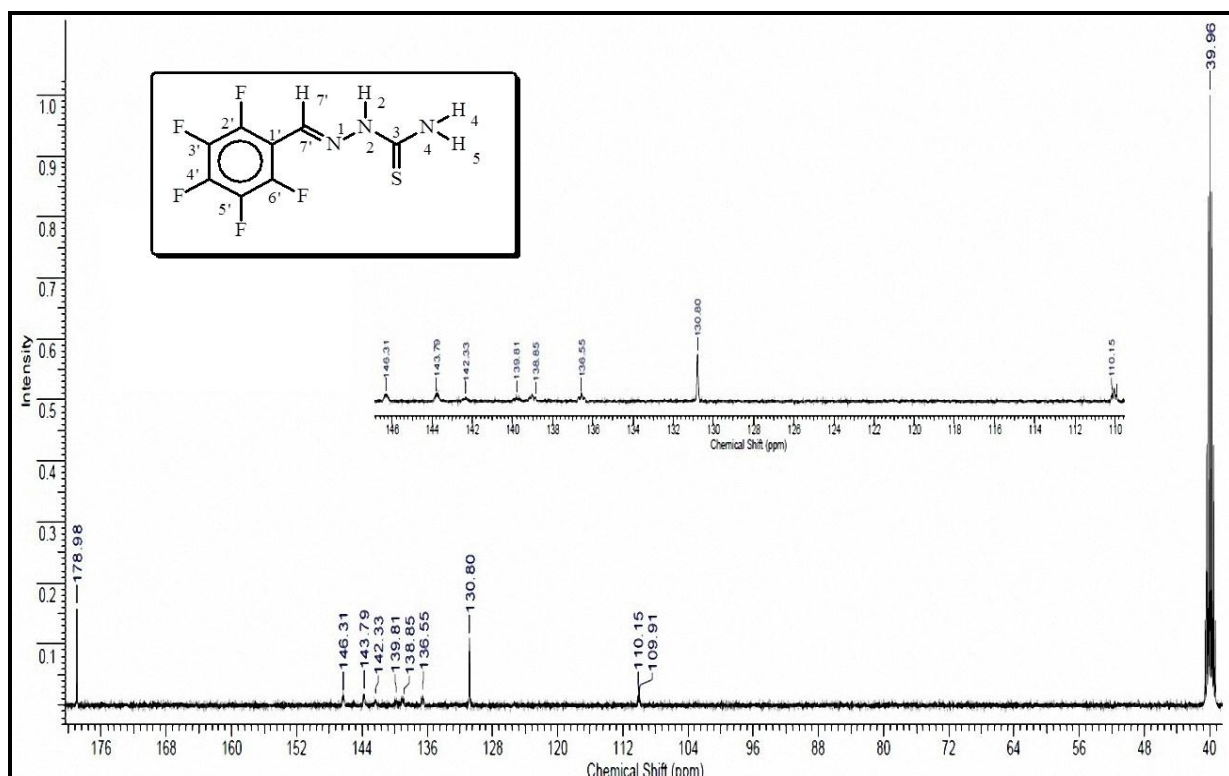
### 8.119 Espectro de IV do 2', 3', 5', 6'-tetrafluorbenzaldeídotossemicarbazona



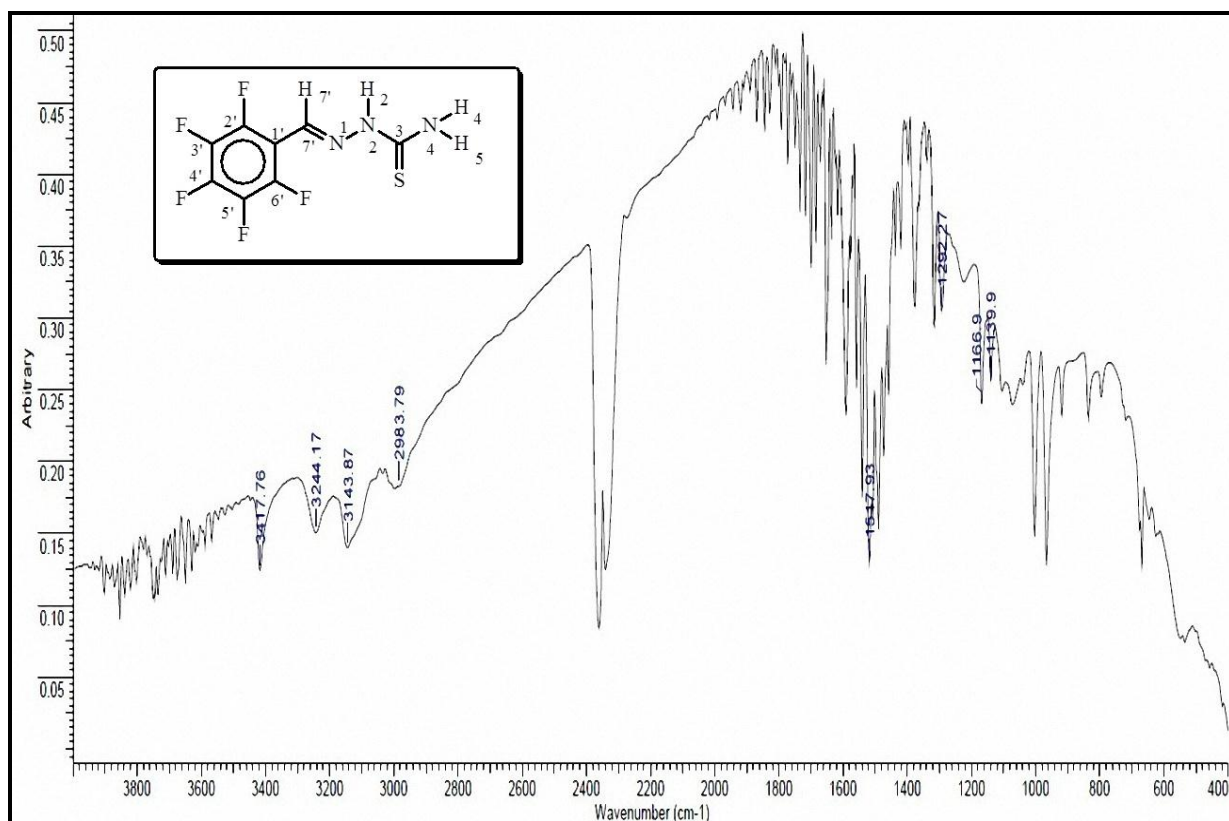
### 8.120 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do 2', 3', 4', 5', 6'-pentafluorbenzaldeídotossemicarbazona, 400 MHz em DMSO



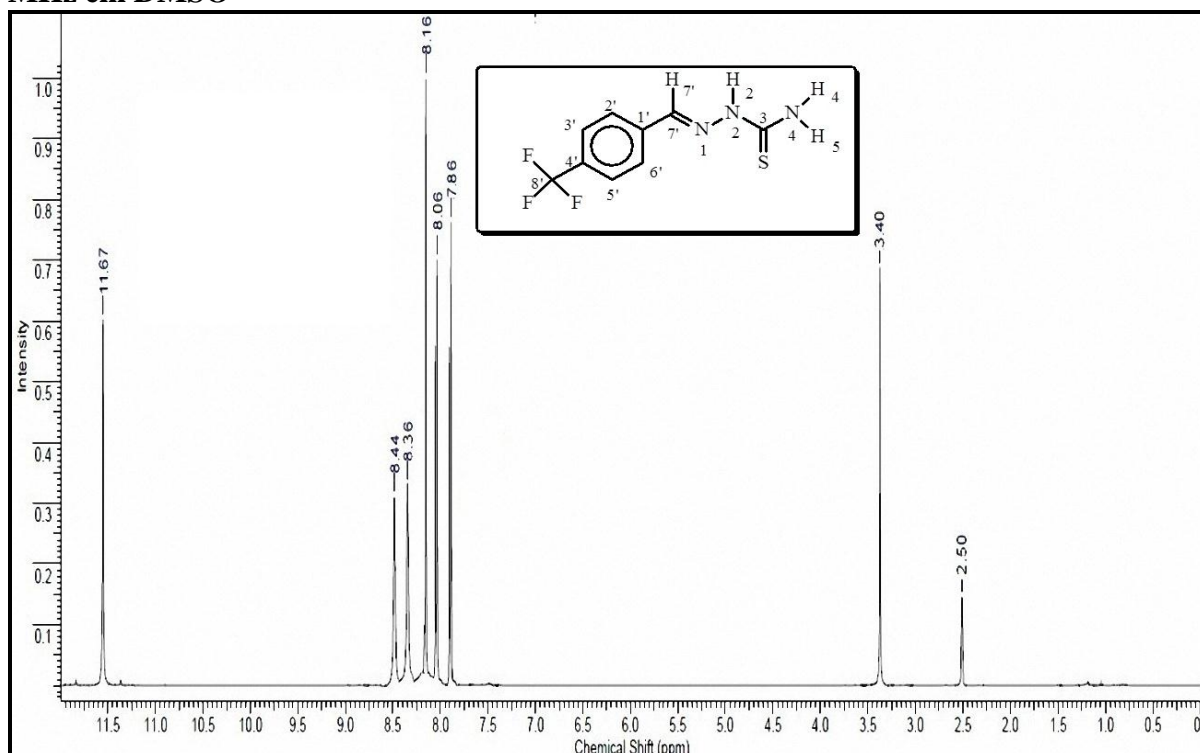
**8.121 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 2', 3', 4', 5', 6'-pentafluorbenzaldeídotossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**



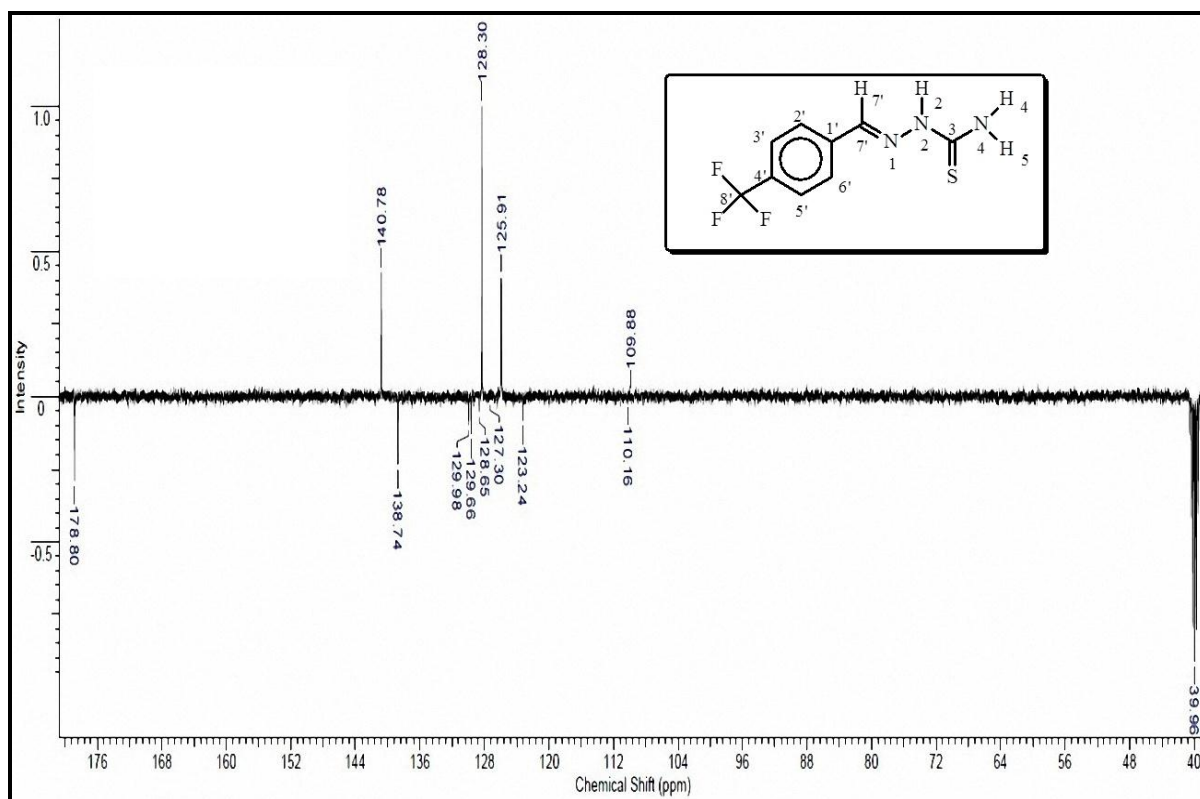
**8.122 Espectro de IV do 2', 3', 4', 5', 6'-pentafluorbenzaldeídotossemicarbazona**



**8.123 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 4-(trifluorometil)-benzaldeidotiossemicarbazona, 400 MHz em DMSO**

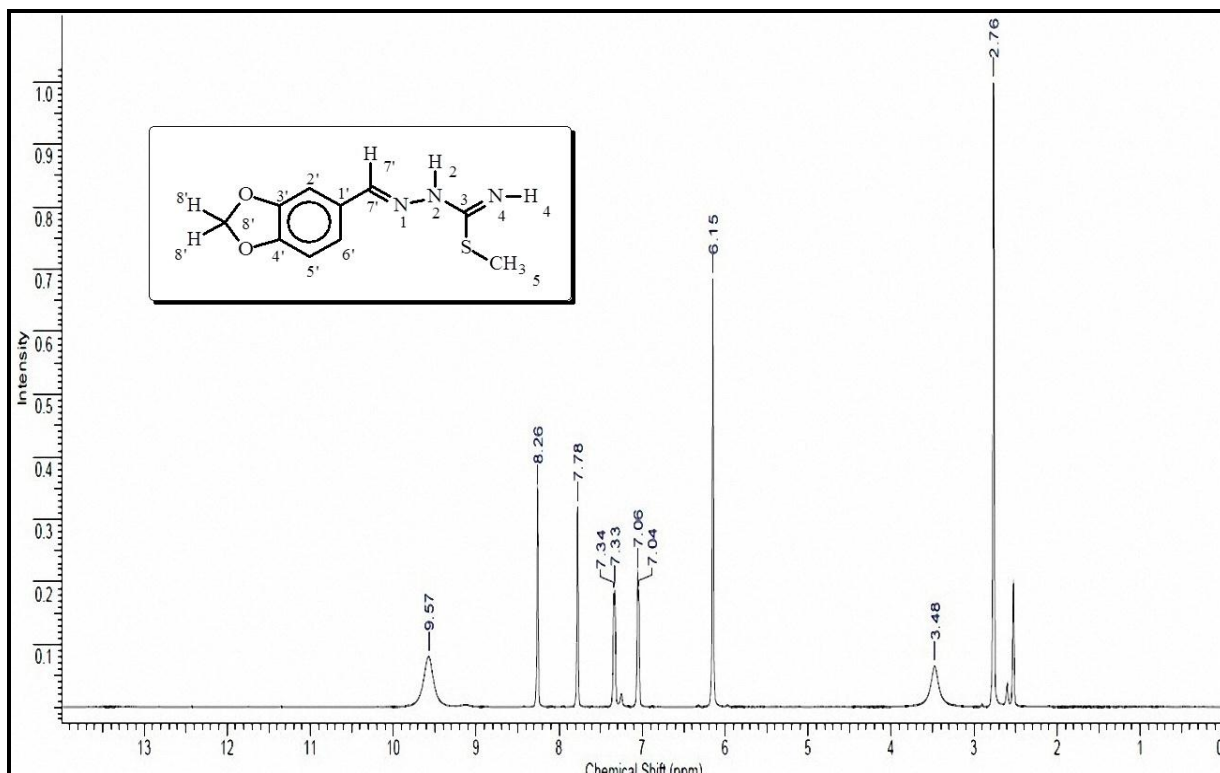


**8.124 Espectro de DEPT Q do 4-(trifluorometil)-benzaldeidotiossemicarbazona, 100 MHz em DMSO**

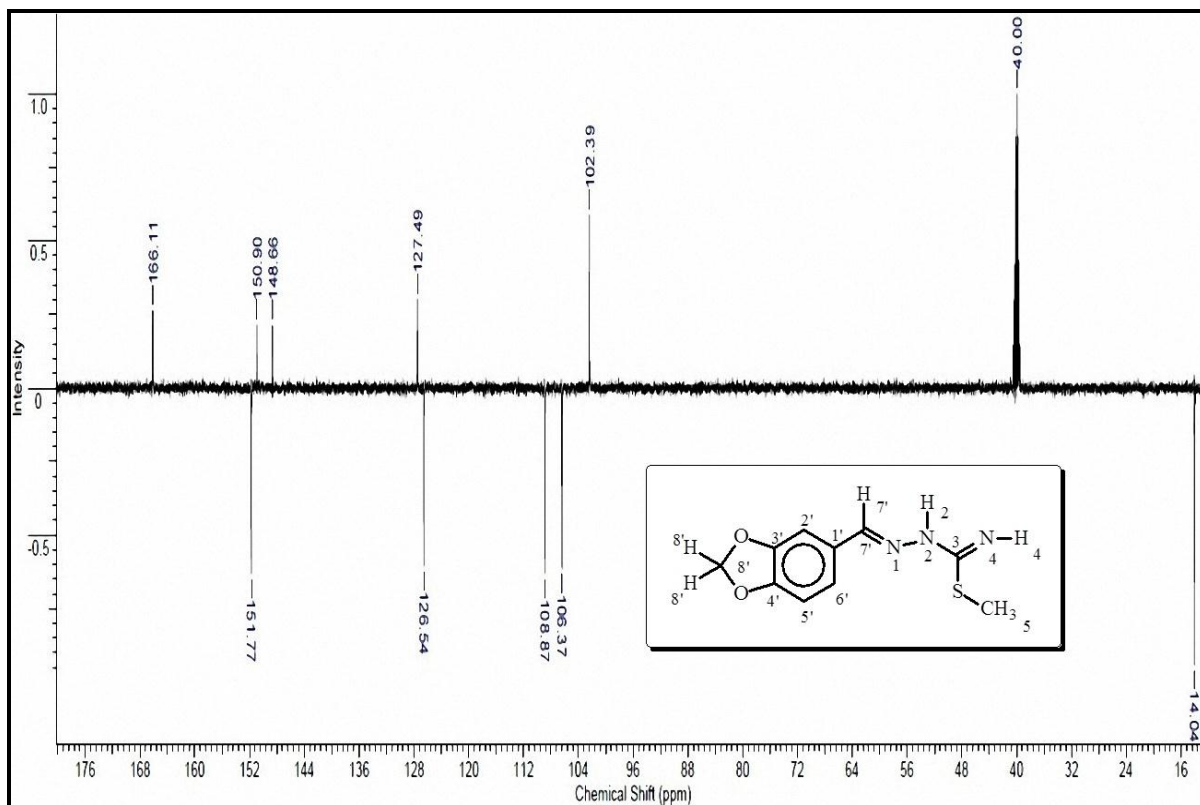




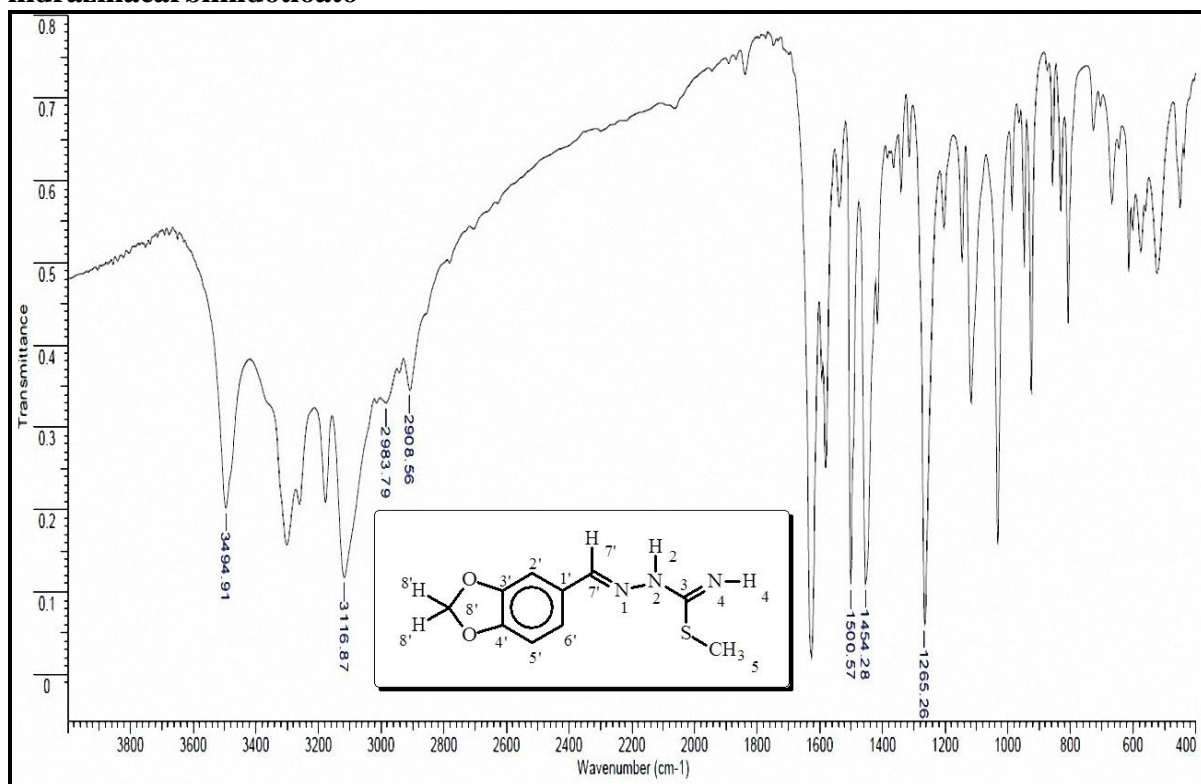
**8.125** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do metil-(2*E*)-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazina-carbimi-dotioato, 500 MHz em DMSO



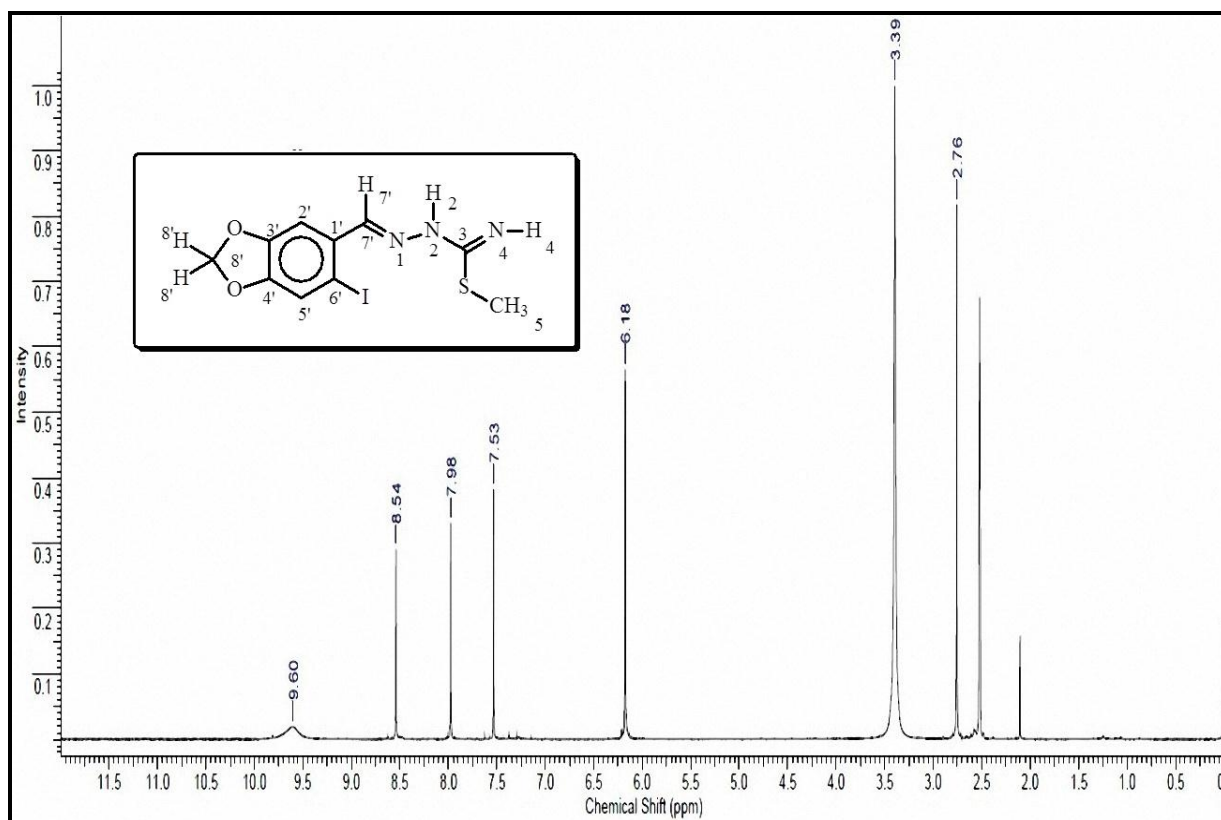
**8.126** Espectro de DEPT Q do metil-(2*E*)-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidothioato, 125 MHz em DMSO



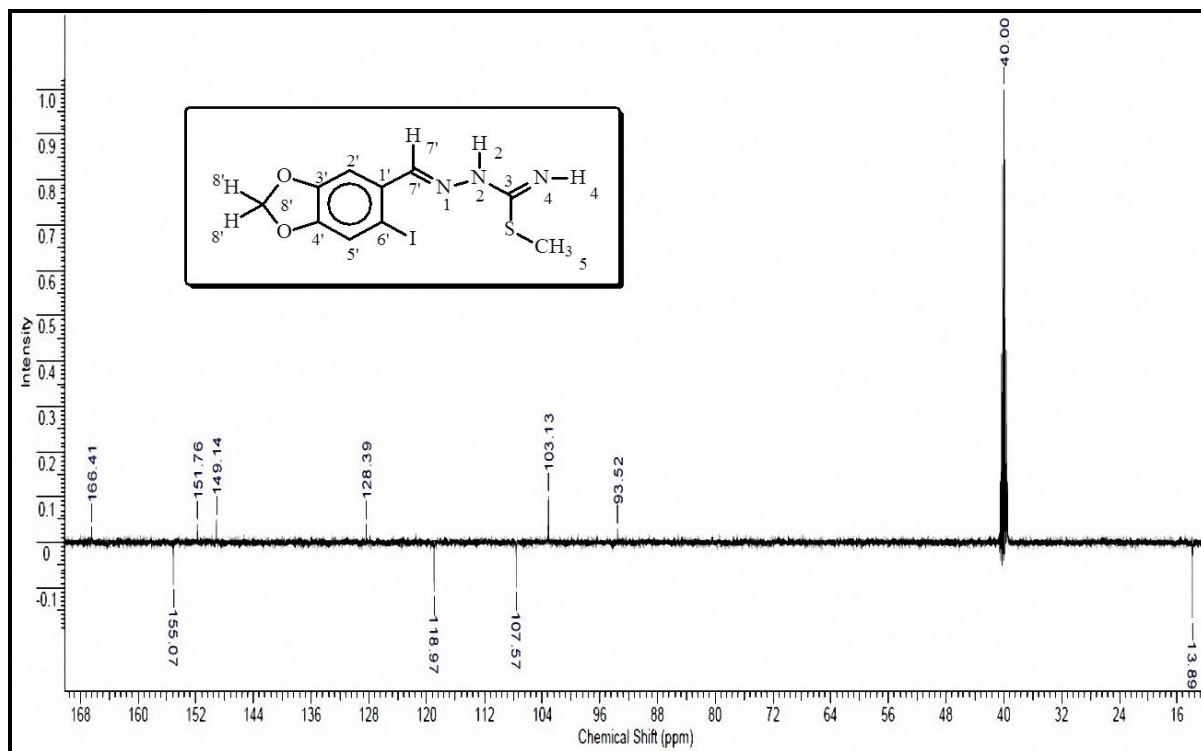
**8.127 Espectro de IV do metil-(2E)-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimidoato**



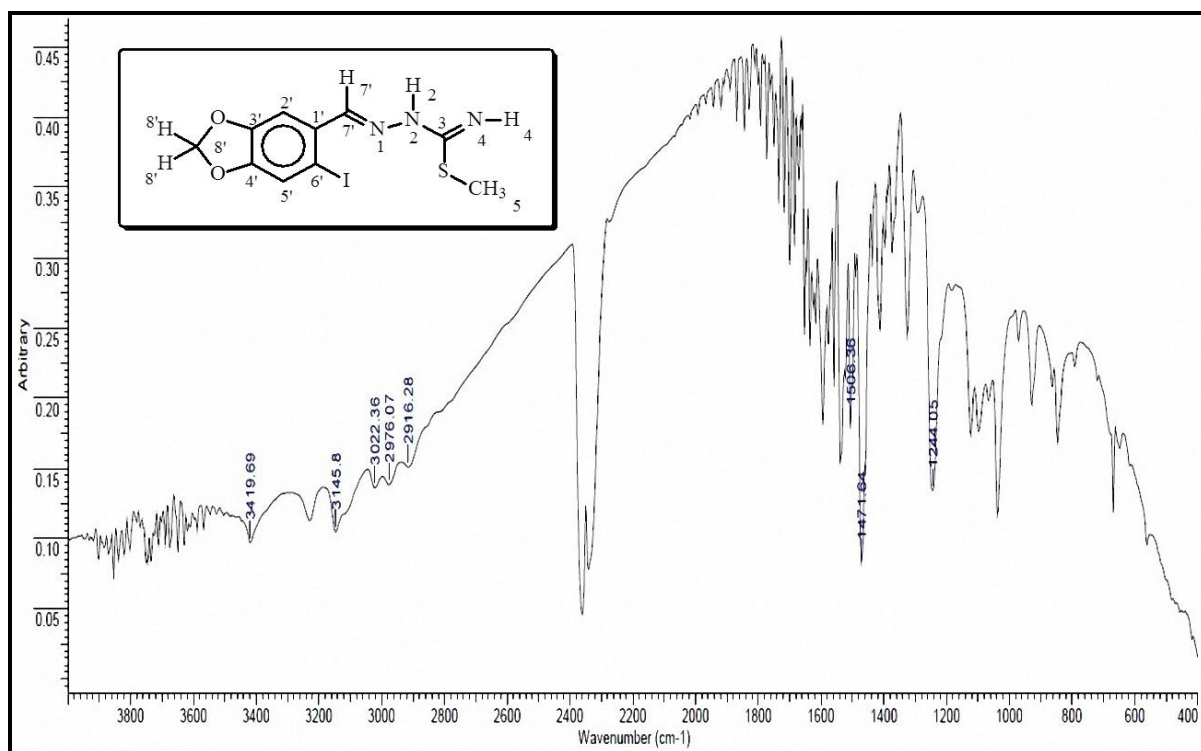
**8.128 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do metil-(2E)-2-[(6'-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno]-N-metil-hidrazinacarbimidoato, 500 MHz em DMSO**



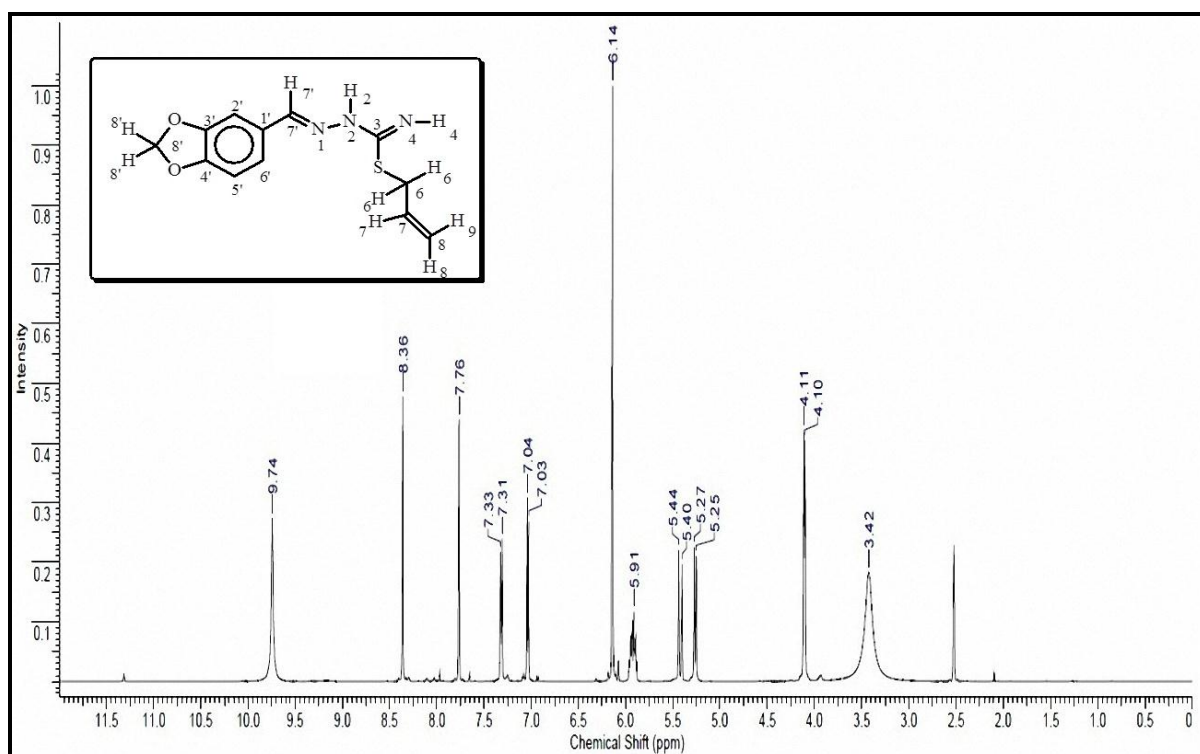
**8.129** Espectro de DEPT Q do metil-(*2E*)-2-[(6'-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno]-*N*-metilhi-drazinacarbimidotoato, 125MHz em DMSO



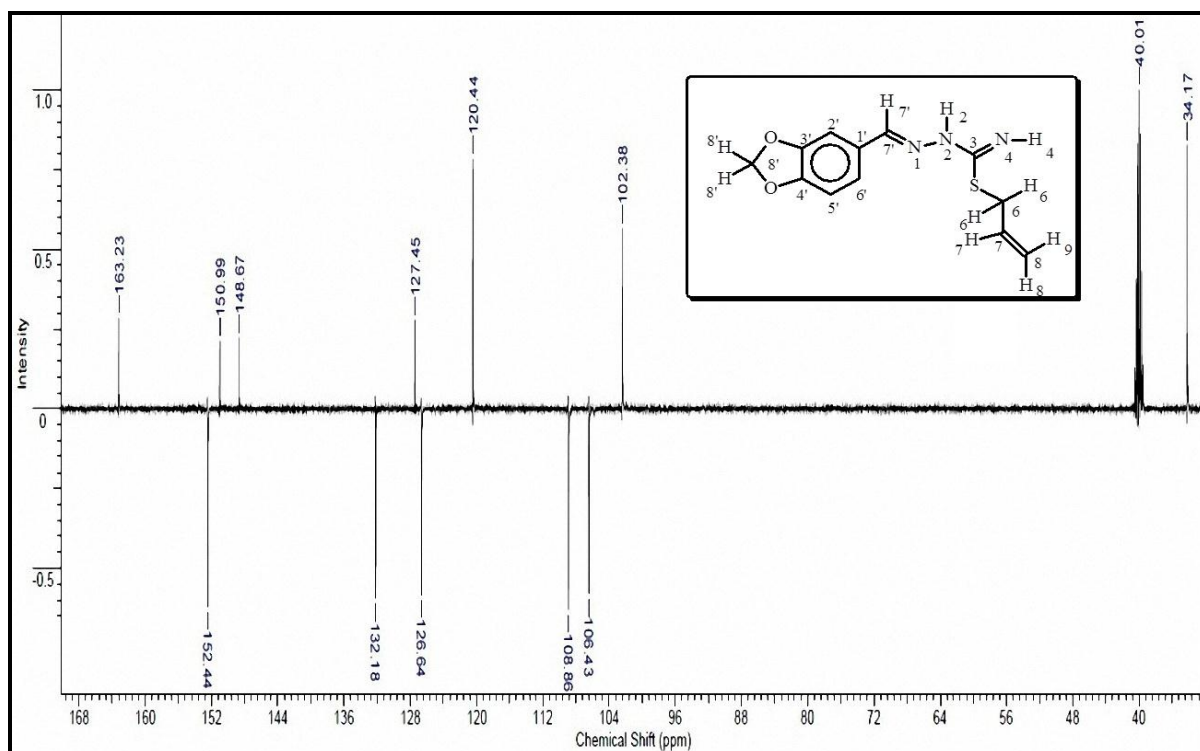
**8.130** Espectro de IV do metil-(*2E*)-2-[(6'-iodo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno]-*N*-metilhidrazinacarbimidotoato



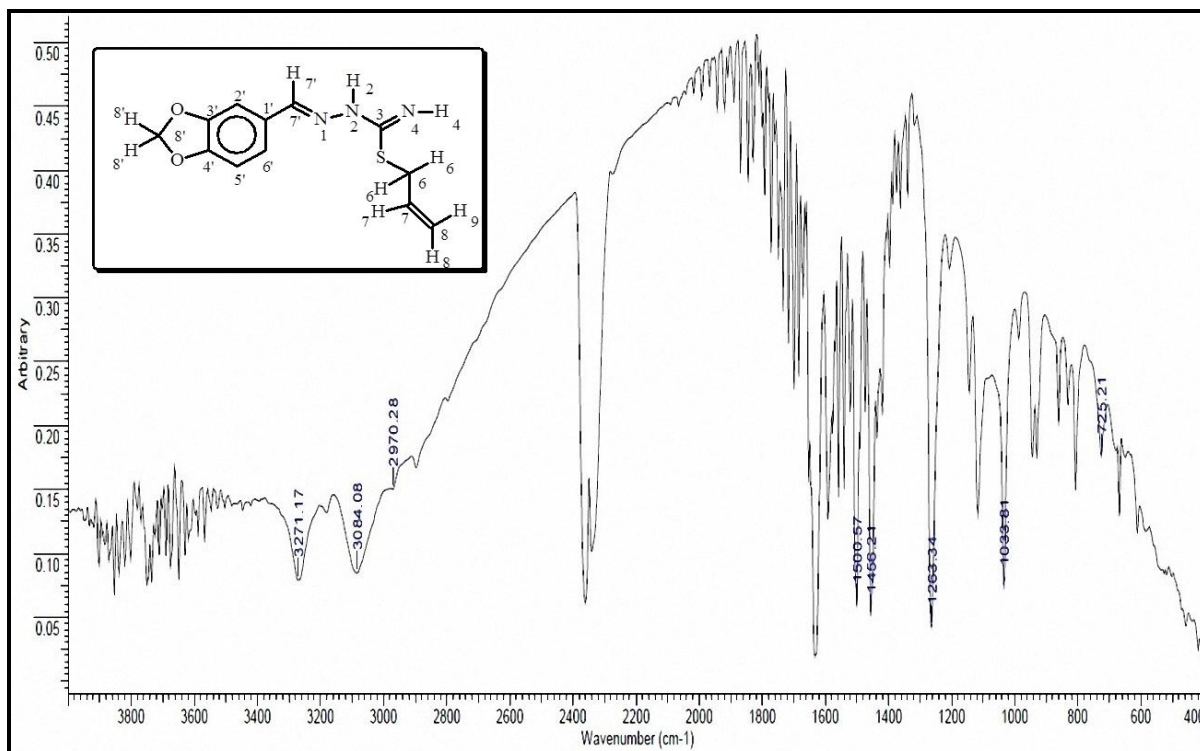
**8.131 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do alil-(2*E*)-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazina-carbimidoato, 500 MHz em DMSO**



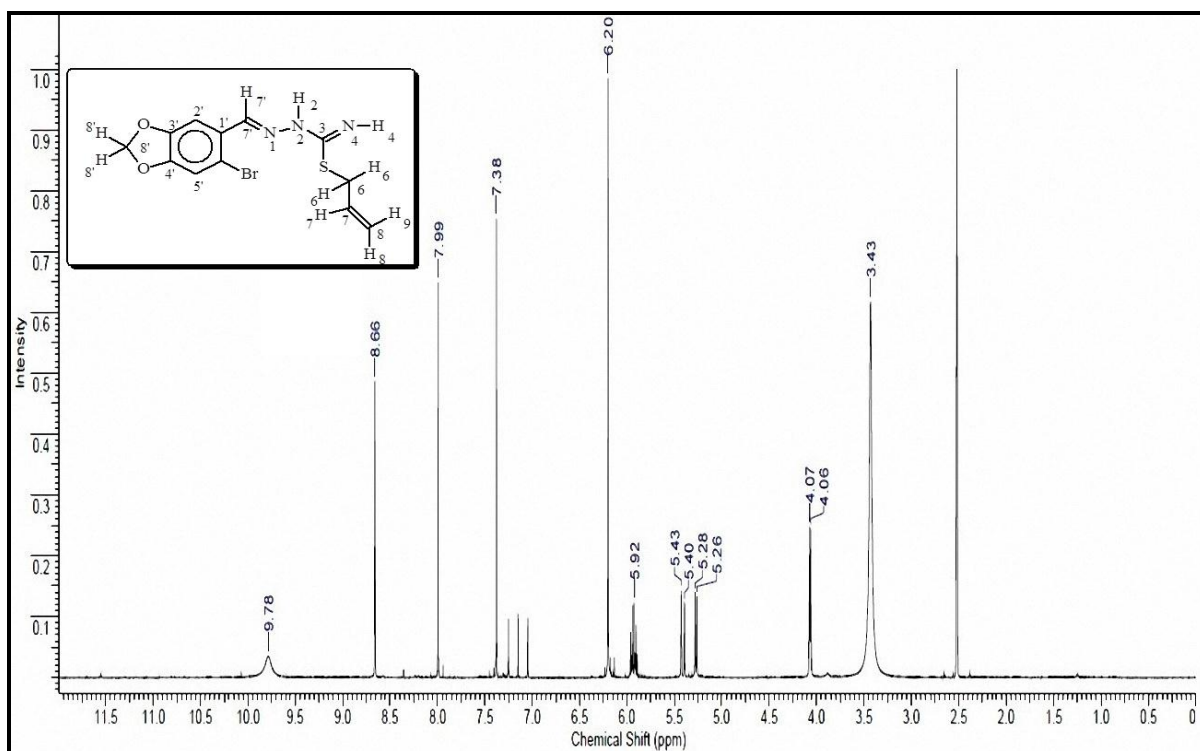
**8.132 Espectro de DEPTQ do alil-(2*E*)-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacar-bimido-tioato, 125 MHz em DMSO**



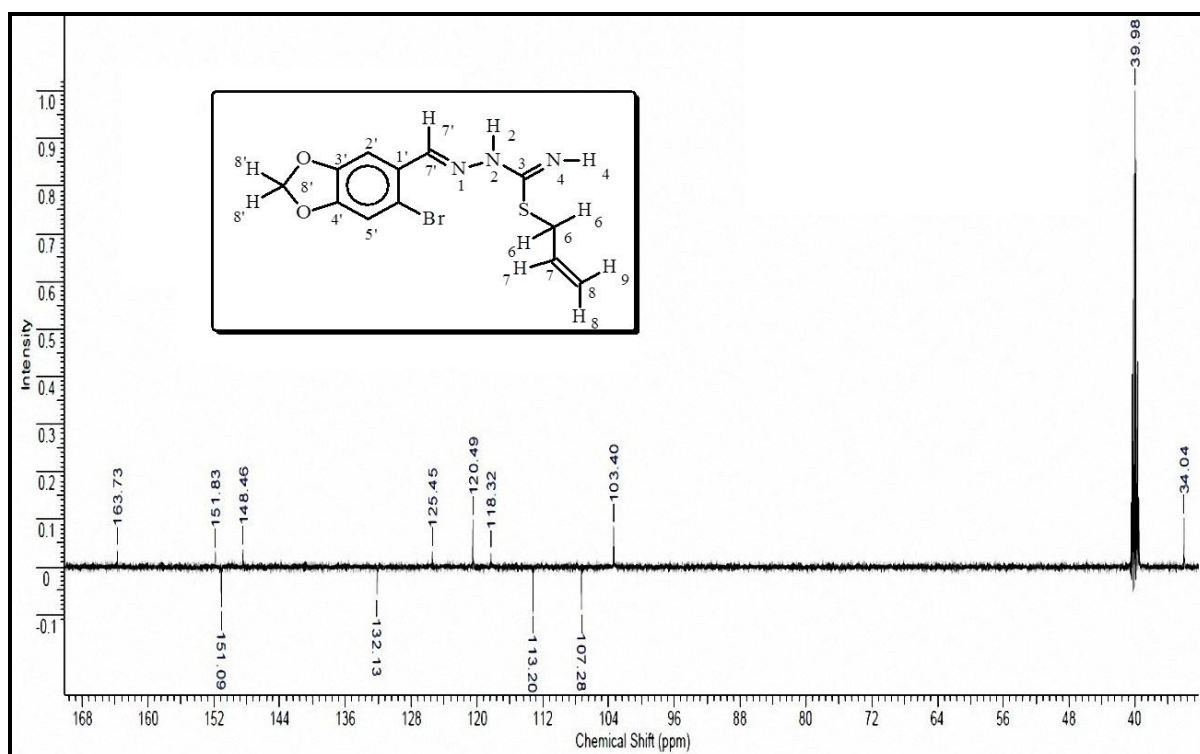
**8.133 Espectro de IV do alil-(2*E*)-2-(1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazinacarbimido-  
toato**



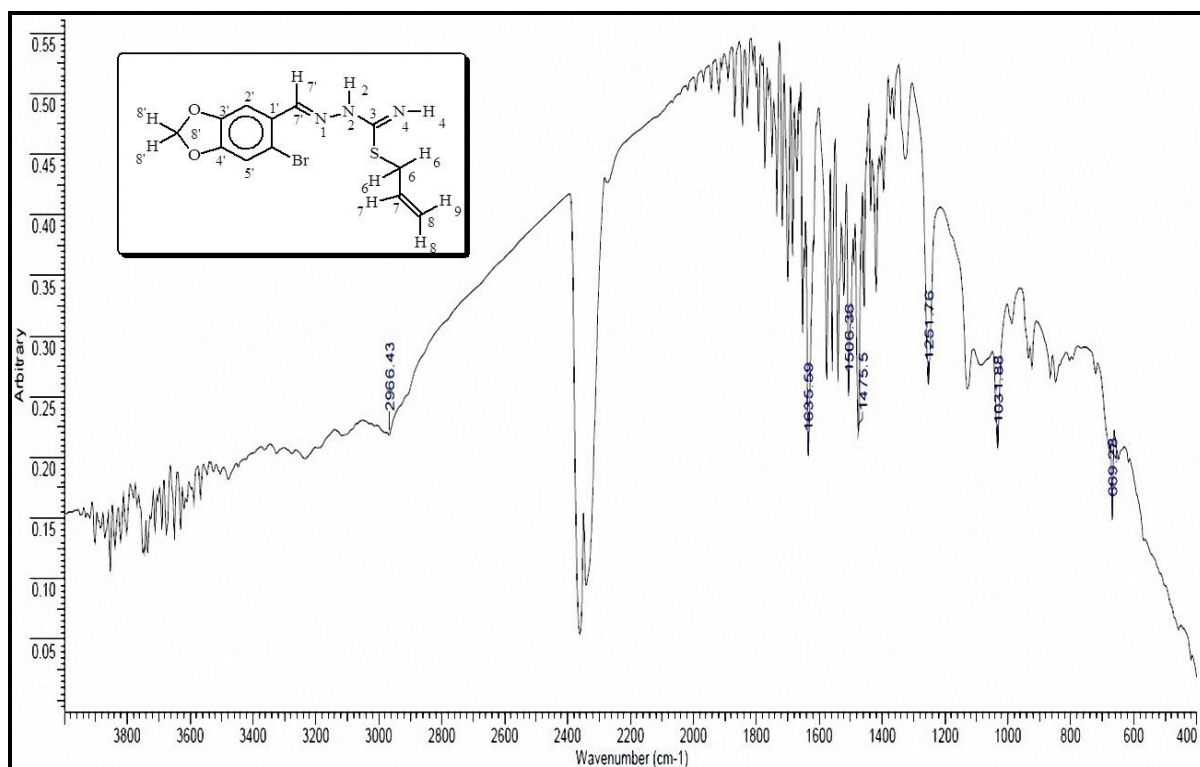
**8.134 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do alil-(2*E*)-2-(6'-bromo-1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-  
hidrazina-carbimidoato, 500 MHz em DMSO**



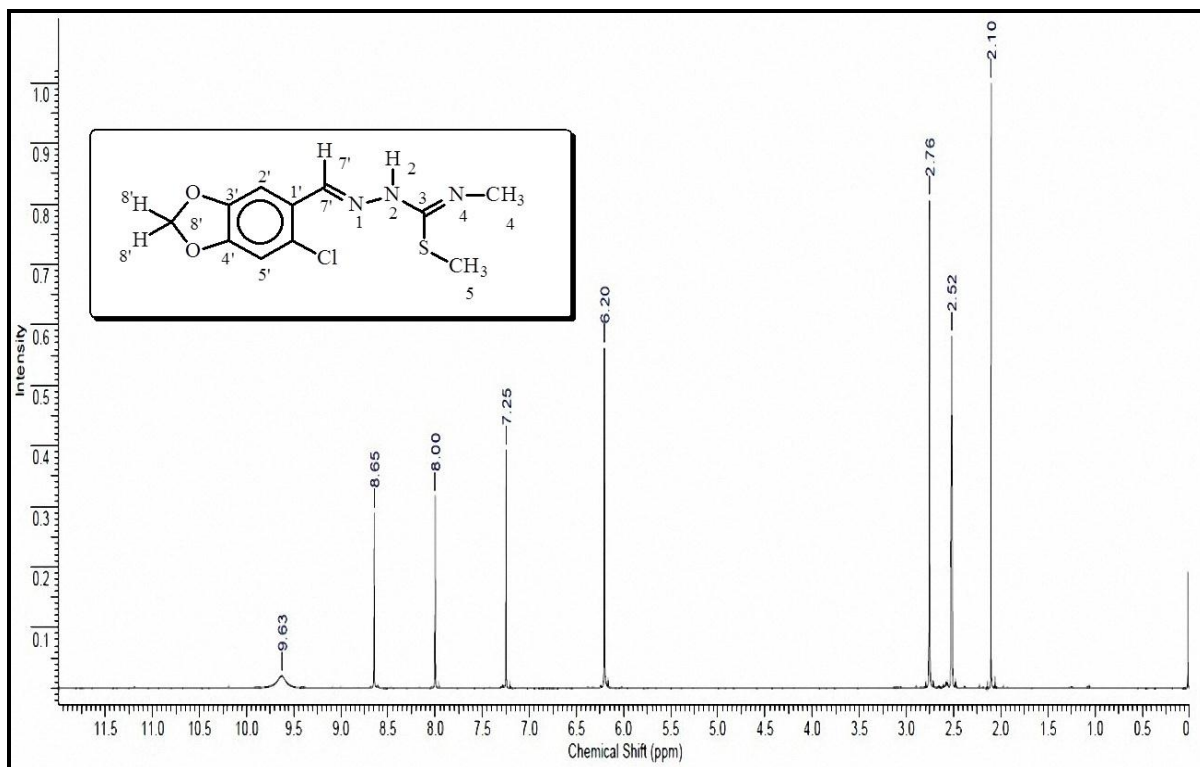
**8.135 Espectro de DEPT Q do alil-(2E)-2-(6'-bromo-1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazina-carbimidotoiato, 125 MHz em DMSO**



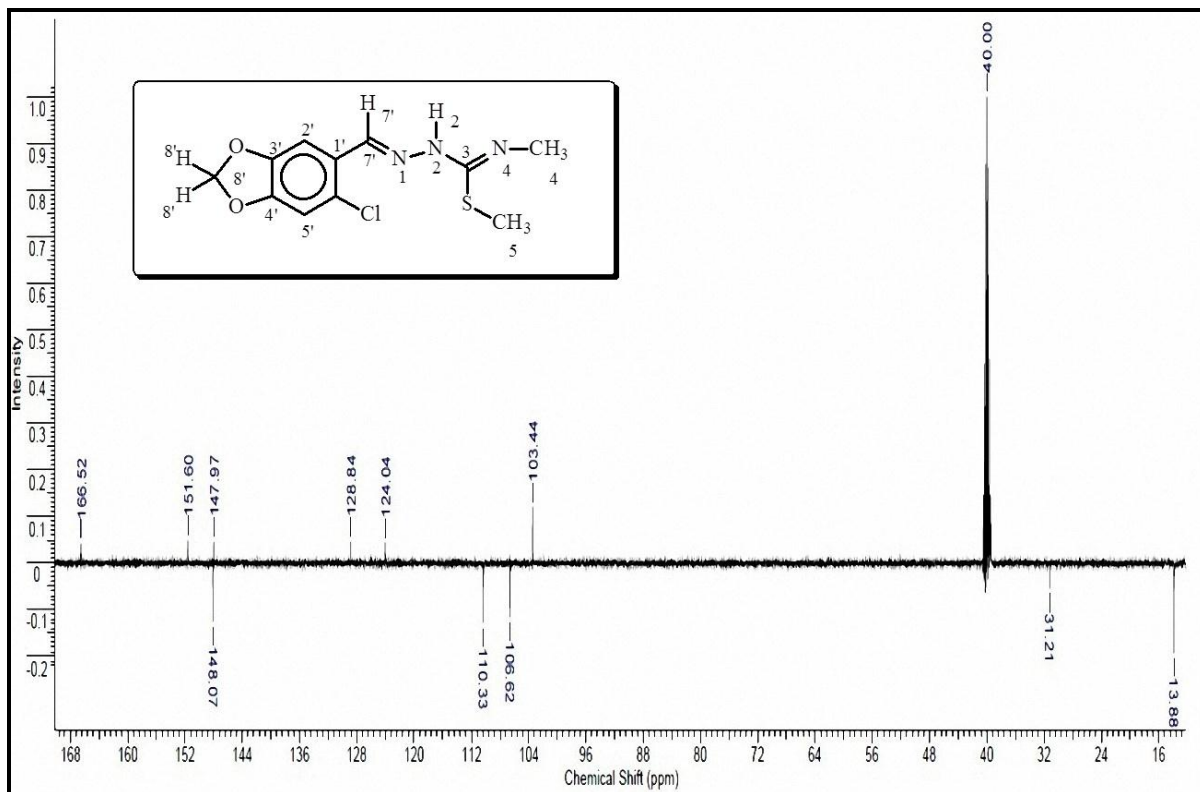
**8.136 Espectro de IV do alil-(2E)-2-(6'-bromo-1,3-benzodioxol-5-il-metileno)-hidrazina-carbimi-dotioato**



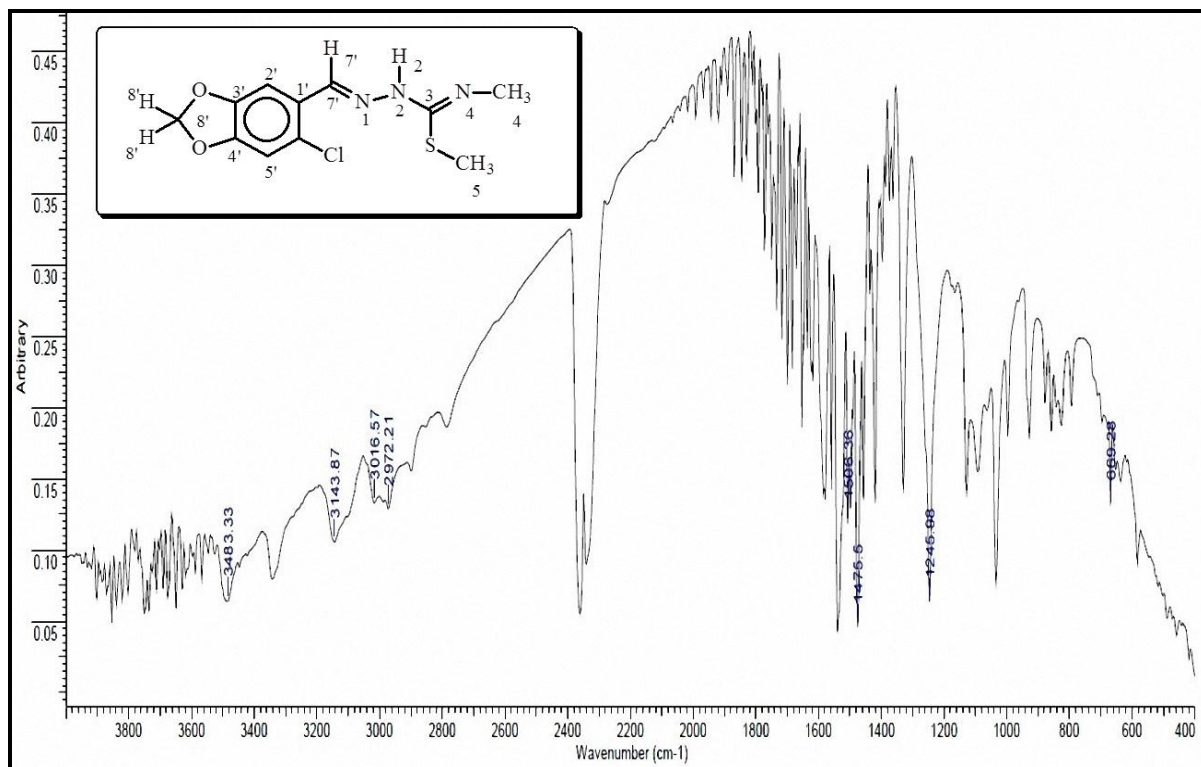
**8.137 Espectro de RMN de H do metil(2E)-2[(6-cloro-1,3-benzodioxol-5-il) metileno-N-metil-hidrazinacarbimidotioato, 500 MHz em DMSO**



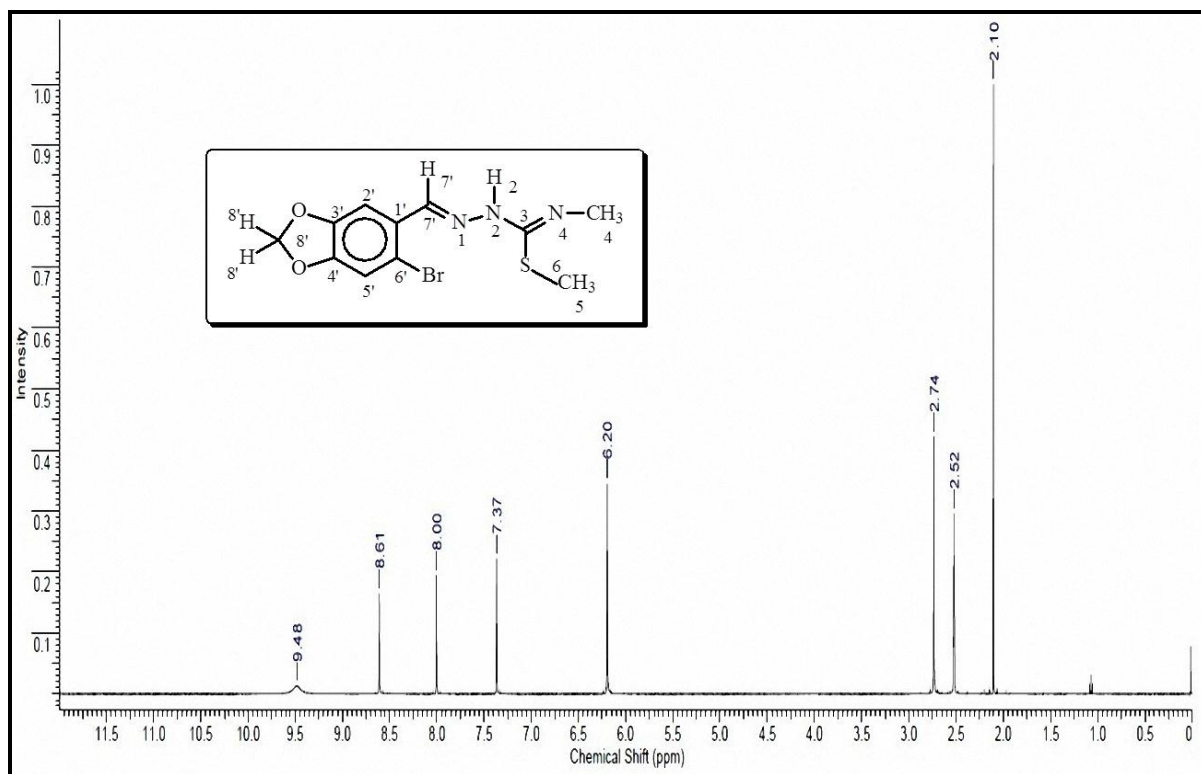
**8.138 Espectro de DEPT Q do metil(2E)-2[(6-cloro-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidra-zinacarbimidotioato, 125 MHz em DMSO**



**8.139 Espectro de IV do metil(2E)-2[(6-cloro-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazi-nacarbimidoato**

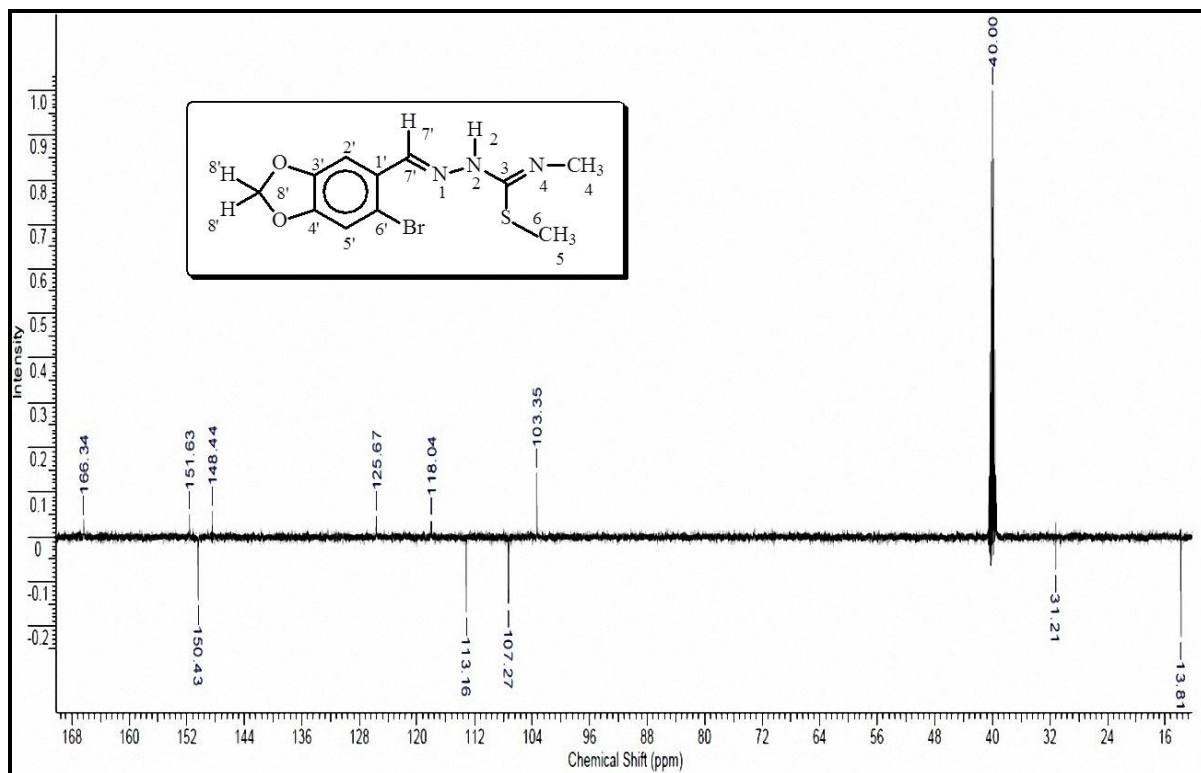


**8.140 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do metil(2E)-2[(6-bromo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazinacarbimidoato, 500 MHz em DMSO**

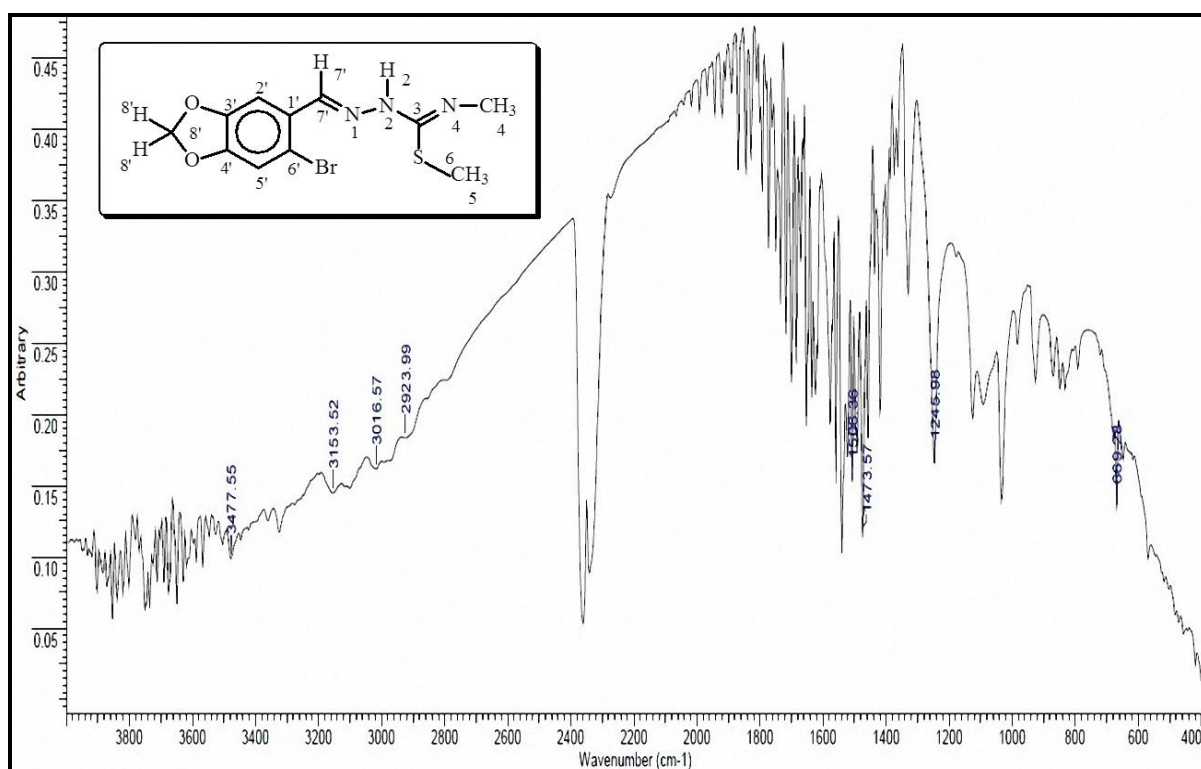




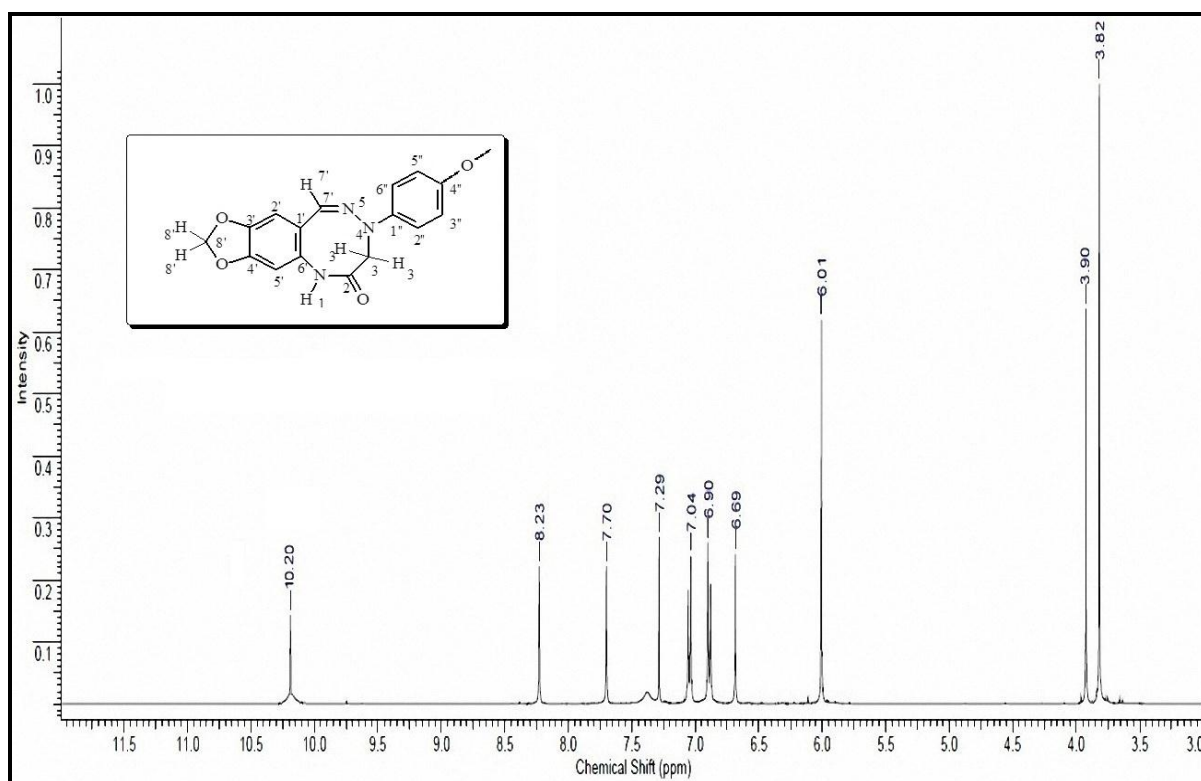
**8.141 Espectro de DEPT Q do metil(2E)-2[(6-bromo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazinacarbimidoato, 125 MHz em DMSO**



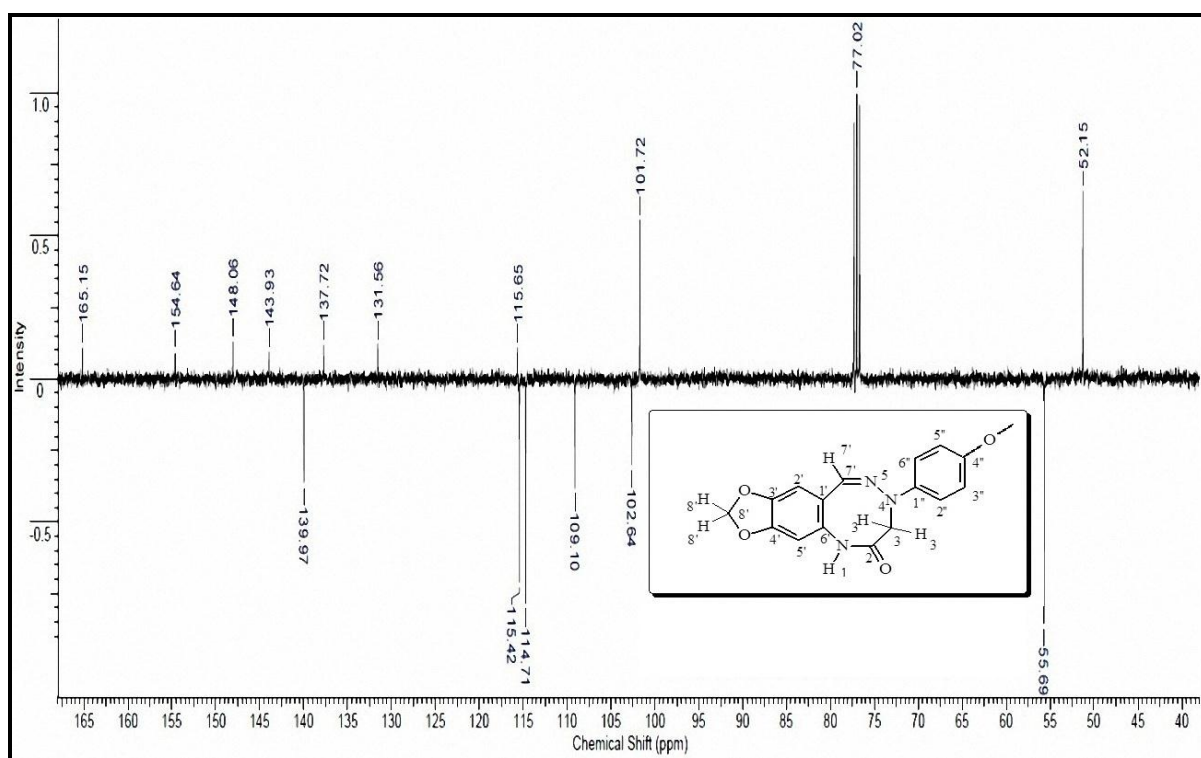
**8.142 Espectro de IV do metil(2E)-2[(6-bromo-1,3-benzodioxol-5-il)metileno-N-metilhidrazinacarbimidoato**



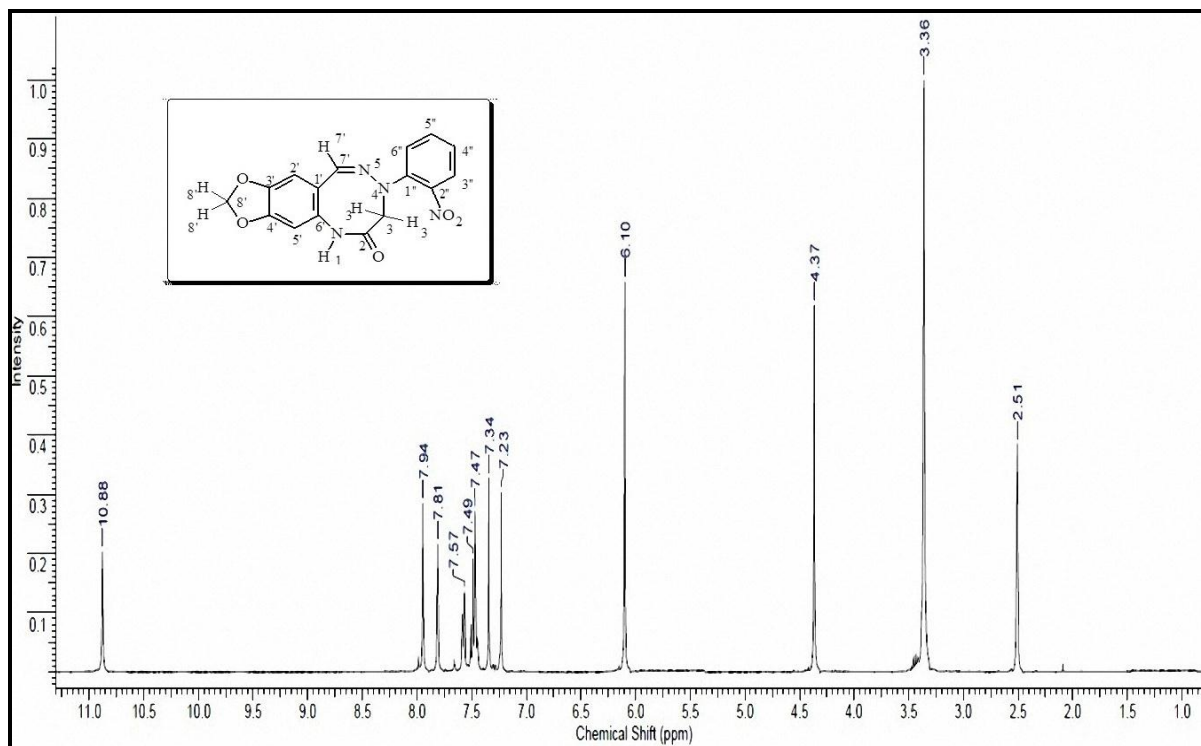
**8.143 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  8-(4-metoxifenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]benzotriazocin-6-(5H)ona, 400 MHz em  $\text{CDCl}_3$**



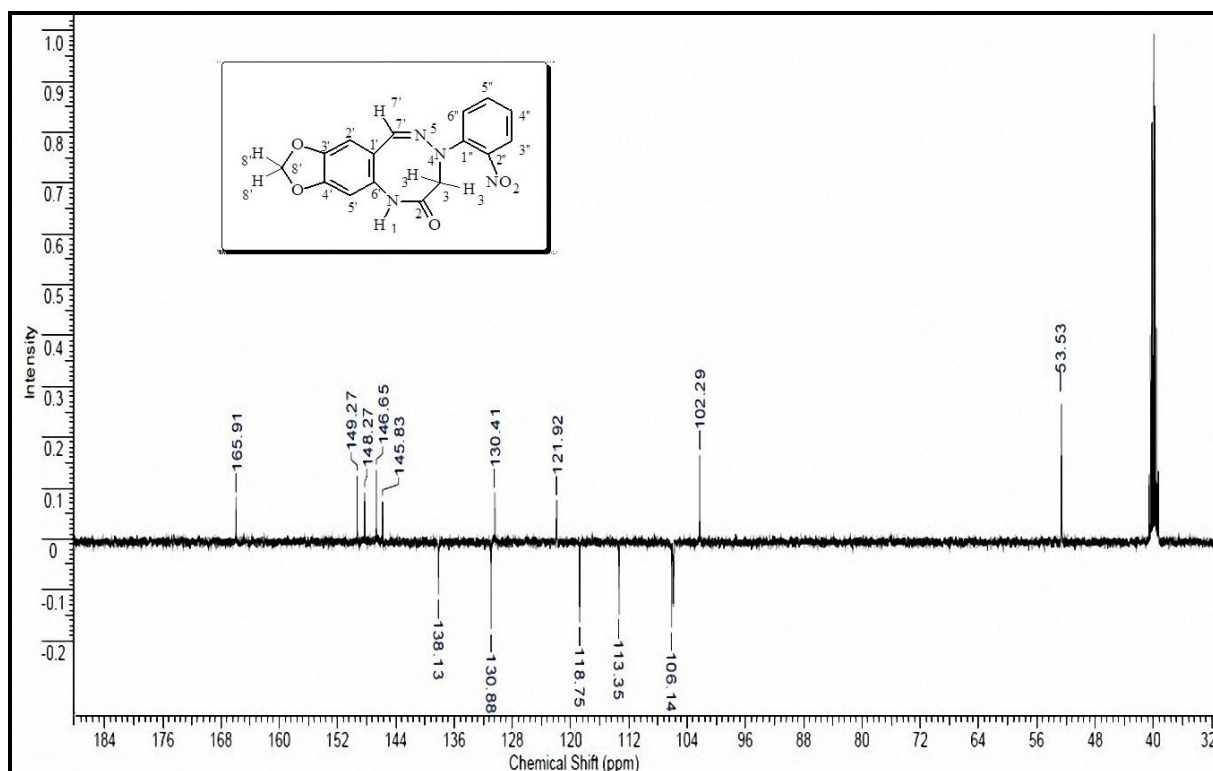
**8.144 Espectro de DEPT Q do 8-(4-metoxifenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]benzotriazocin-6-(5H)ona, 100 MHz em  $\text{CDCl}_3$**



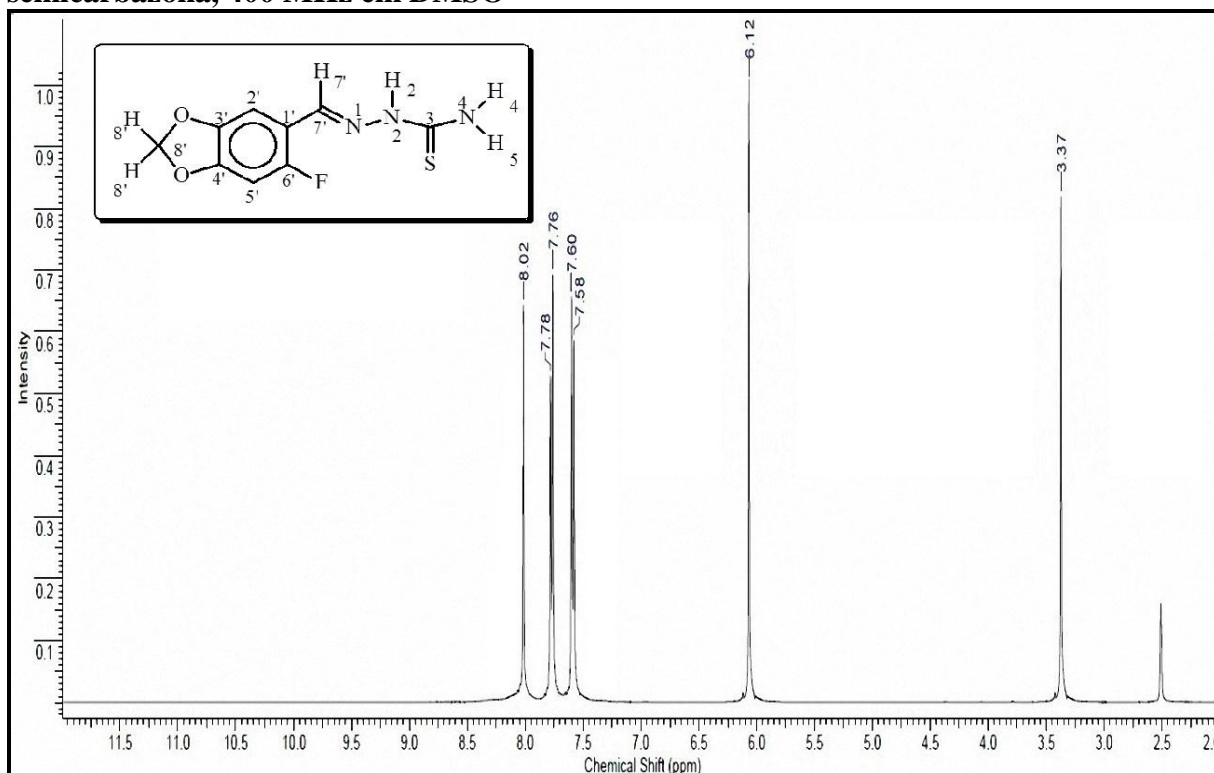
**8.145 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do 8-(2-nitrofenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]-benzotriazocin-6-(5H)ona, 400 MHz em DMSO**



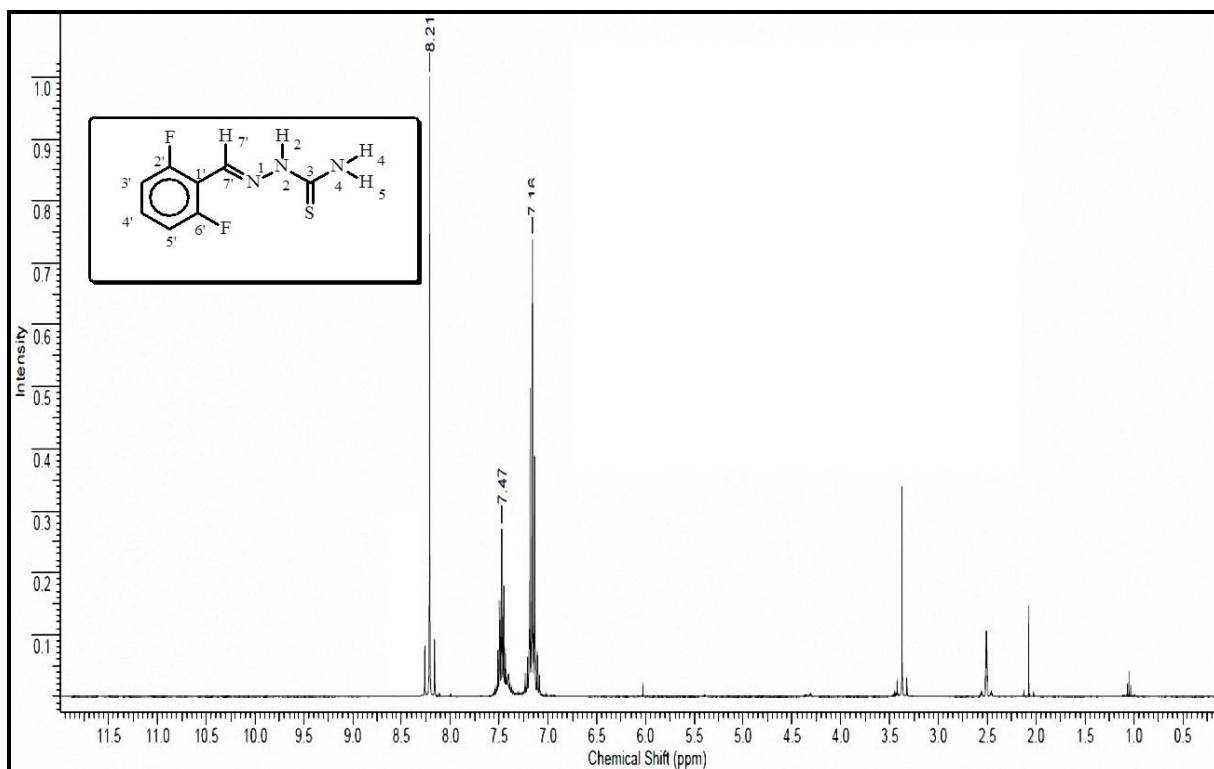
**8.146 Espectro de DEPT Q do 8-(2-nitrofenil)-7,8-dihidro[1,3]dioxo[4,5-*i*]benzotriazocin-6-(5H)ona, 100 MHz em DMSO**



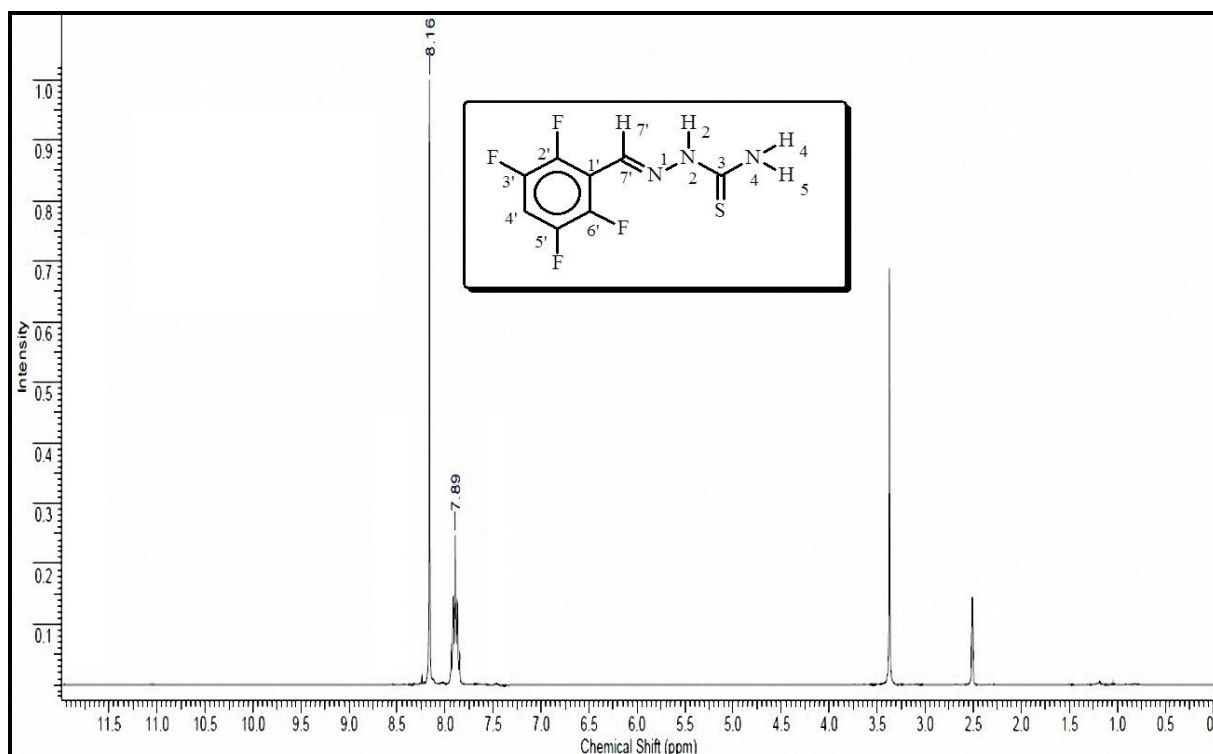
**8.147** Espectro de  $^1\text{H}$  de troca com  $\text{D}_2\text{O}$  do 6-flúor-1,3-benzodioxol-5-carboxaldeítios-semicarbazona, 400 MHz em DMSO



**8.148** Espectro de  $^1\text{H}$  de troca com  $\text{D}_2\text{O}$  do 2',6'-difluorbenzaldeítiossemicarbazona 400 MHz em DMSO



**8.149** Espectro de  $^1\text{H}$  de troca com  $\text{D}_2\text{O}$  do 2',3',5',6'-tetrafluorbenzaldeídotossemicarbazona 400 MHz em DMSO



**8.150** Espectro de  $^1\text{H}$  de troca com  $\text{D}_2\text{O}$  do 2',3',4',5',6'-pentafluorbenzaldeídotossemicarbazona 400 MHz em DMSO

