



Kelly Lopes Figueira

Síntese de derivados arilados de tiazol e avaliação preliminar da toxicidade e atividade anti *T. cruzi*.

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Jones Limberger

Rio de Janeiro
Dezembro 2020



Kelly Lopes Figueira

Síntese de derivados arilados de tiazol e avaliação preliminar da toxicidade e atividade anti *T. cruzi*.

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro Técnico Científico da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. Jones Limberger

Orientador

Departamento de Química – PUC- Rio

Profa. Camila Dienne Buarque Müller

Departamento de Química – PUC- Rio

Prof. Cedric Stephan Graebin

Departamento de Química – UFRRJ

Profa. Fernanda Gadini Finelli

Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais – UFRJ

Rio de Janeiro, 11 de Dezembro de 2020

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, da autora e do orientador.

Kelly Lopes Figueira

Graduou-se Licenciatura em Química pelo IFRJ em 2018. Possui experiência em Química Orgânica com ênfase em reações de acoplamento catalisadas por paládio.

Ficha Catalográfica

Figueira, Kelly Lopes

Síntese de derivados arilados de tiazol e avaliação preliminar da toxicidade e atividade anti *T. cruzi*. / Kelly L. Figueira; orientador: Jones Limberger. – 2021.

116f.: il. color.; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2020.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Reação de Suzuki. 3. Tiazol. 4. Doença de Chagas. 5. Moléculas Bioativas. 6. Modelo *in vitro*. I. Limberger, Jones. II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. III. Título.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao meu orientador, professor Doutor Jones Limberger, pelo aceite, planejamento, dedicação incessante e acompanhamento integral ao longo de todo o projeto do mestrado.

À professora doutora Maria de Nazaré Correia Soeiro e sua equipe do Laboratório de Biologia Celular do Instituto Oswaldo Cruz da Fiocruz Rio, pela solicitude nas análises dos compostos frente a *T.cruzi*, bem como os diversos convites para prestigiar os resultados dos estudos os sobre as doenças negligenciadas realizadas por seu grupo.

Ao CNPq pelo fomento e compreensão dos impactos da pandemia na área da pesquisa concedendo prorrogação da bolsa.

À PUC-Rio pela bolsa de isenção ao longo de todo o curso e disponibilização de uma infraestrutura de apoio de extrema qualidade.

À Raquel Fiuza pelo incentivo, partilha e aprendizado compartilhados, essenciais dentro e fora do laboratório.

À Ana Carolina Rocha, aluna de IC, por toda sua generosidade, ânimo e parceria na reta final deste projeto.

Às minhas colegas de pós graduação do LaSOQF Rafaela Gomes, Ana Caroline Alves e aluna de IC Isabela Chiara pelo auxílio no planejamento, pelas trocas e discussões dos procedimentos, bem como do andamento das reações.

Aos meus pais, José Max Dias Figueira e Maria de Jesus Lopes Figueira, e aos meus irmãos, Keylla e Max Jr pelos conselhos, suporte, amor, incentivo e apoio ao longo de toda minha jornada acadêmica.

Ao meu querido Adeoti Abina pelo cuidado, gentileza, compreensão, incentivo e amor transbordados ao longo desse ciclo.

À minha amiga Steffany Gomes pelo exemplo, amor, solicitude e dedicação constantes. Além de todas as contribuições na revisão da escrita deste trabalho S2. O amor por você transborda e não cabe dentro do meu peito.

À minha psicóloga Raquel Rodrigues por todo o suporte e amparo principalmente na reta final desta jornada acadêmica.

Às minhas amigas Carol e Júlia, por toda luz, colaboração e apoio emocional neste período.

Às minhas amigas Silvana, Luiza, Luzia, Paula e Karla pelo carinho e estímulo em todos os momentos desse processo de pós graduação.

Resumo

Figueira, Kelly Lopes; Limberger, Jones. **Síntese de derivados arilados de tiazol e avaliação preliminar da toxicidade e atividade anti *T. cruzi***. Rio de Janeiro, 2020. 116p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

As doenças negligenciadas são causadas por agentes infecciosos ou parasitas, gerando altas taxas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Os investimentos dos países desenvolvidos em pesquisa, produção de medicamentos e controle dessas enfermidades são muito reduzidos, pois elas afetam, majoritariamente, as populações com baixo Índice de Desenvolvimento Humano. Uma dessas enfermidades é a Doença de Chagas, causada pelo *Trypanosoma cruzi*. Apresenta-se na forma de uma infecção parasitária crônica e altamente debilitante, acometendo mais de 6 milhões de pessoas na América Latina e este número pode ter um incremento, de aproximadamente 25% nos próximos anos. O fármaco referência para o tratamento da Doença de Chagas disponível no Brasil é o benznidazol, extremamente eficaz na fase aguda da doença, mas sua eficácia na fase crônica é limitada, o que torna essencial a busca por novos compostos que atuem também nesta fase. No presente trabalho, foram descritas rotas sintéticas para uma série de 12 derivados de tiazol, destes 8 são inéditos. Posteriormente, 10 deles foram avaliados quanto a sua atividade tripanocida e toxicidade em modelos *in vitro*. Os compostos possuindo o anel tiazólico foram estruturalmente planejados, a partir do levantamento bibliográfico, onde verificou-se que certos compostos com um centro tiazólico apresentam propriedade tripanocida. Nas sínteses, a 4-bromoacetofenona (**55**) foi utilizada como material de partida para a obtenção dos intermediários tiazólicos 4-(4-bromofenil)-2-metiltiazol (**56**) e 4-(4-bromofenil)-2-aminotiazol (**57**). A partir desses, diversas modificações foram feitas para se chegar às moléculas alvo. A elucidação estrutural dos compostos foi realizada por RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . A avaliação preliminar da atividade tripanocida foi realizada na forma amastigota intracelular da Cepa Tulahuen e a toxicidade aguda (LC_{50}) foi feita *in vitro* em células hospedeiras de mamíferos (linhagem celular L929). Dentre os compostos sintetizados, a maioria apresentou baixa toxicidade, com valores de LC_{50} maiores que $400 \mu\text{mol.L}^{-1}$. O composto tiazólico piridil-substituído **59c** apresentou os melhores resultados em termos de atividade tripanocida, tendo reduzido 76% da infecção

em células hospedeiras em concentração de 20 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. Esse composto servirá como base para otimizações estruturais visando a melhoria da atividade tripanocida.

Palavras chave

Doença de Chagas; tiazol; reação de Suzuki; moléculas bioativas; modelo *in vitro*.

Abstract

Figueira, Kelly Lopes; Limberger, Jones (Advisor). **Synthesis of arylated thiazole derivatives and preliminary evaluation of their toxicity and anti *T. cruzi* activity.** Rio de Janeiro, 2020. 116p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Neglected diseases are mainly caused by infectious agents or parasites, generating high morbidity and mortality rates worldwide. The investments from developed countries in research, production of drugs/medicines and control of these diseases are small, since they mainly affect populations with low Human Development Index. One of these illnesses is Chagas disease, caused by *Trypanosoma cruzi*. It presents as a chronic and highly debilitating parasitic infection, affecting more than 6 million people only in Latin America with a perspective of increasing approximately 25% in few years. The reference drug for the treatment of Chagas disease in Brazil is benznidazole, which is extremely effective in the acute phase of the disease, but its efficacy in the chronic phase is limited, which makes essential the search for new compounds that also act in this phase. In the present work, synthetic routes were developed for a series of 12 thiazole derivatives, from which eight have been described for the first time. These molecules had their preliminary trypanocidal activity and toxicity evaluated in *in vitro* models. The compounds with the thiazole ring were structurally planned, based on the bibliographic review, where it was found that certain compounds with this heterocycle display trypanocidal properties. In the synthesis, 1-(4-bromophenyl)ethenone (**54**) was used as a starting material to obtain the thiazole intermediates 4-(4-bromophenyl)-2-methylthiazole (**56**) and 4-(4-bromophenyl)thiazol-2-amine (**57**). Several modifications were performed on these intermediates to produce the target molecules. The structural elucidation of the compounds was performed by ^1H NMR and ^{13}C NMR. Preliminary evaluation of trypanocidal activity was performed in the amastigotes intracellular form of the Tulahuen strain and the acute toxicity (LC_{50}) was tested *in vitro* in mammalian host cells (cell line L929). Among the synthesized compounds, most of them presented low toxicity, with LC_{50} values greater than $400 \mu\text{mol.L}^{-1}$. The thiazole compound pyridil-substituted **59c** showed the best results in terms of trypanocidal activity, reducing 76% of the infection in host cells in a concentration of $20 \mu\text{mol.L}^{-1}$. This thiazole derivative will be used as a lead compound for structural optimizations aiming at improving trypanocidal activity.

Keywords

Chagas disease; thiazol; Suzuki's reaction; bioactive molecules; *in vitro* model.

Sumário

| | |
|--|----|
| 1. Introdução | 18 |
| 2. Revisão bibliográfica | 21 |
| 2.1. Doenças Negligenciadas | 21 |
| 2.2. Doença de Chagas | 23 |
| 2.2.1. O <i>Trypanosoma cruzi</i> e seu ciclo evolutivo | 25 |
| 2.2.2. Tratamento atual e perspectivas | 27 |
| 2.3. Tiazóis | 31 |
| 2.3.1. Derivados de tiazol com atividade anti <i>T. cruzi</i> | 37 |
| 2.4 Reações de acoplamento e a síntese de fármacos | 48 |
| 2.4.1. Reação de Acoplamento de Suzuki | 50 |
| 3. Objetivos | 55 |
| 4. Resultados e discussão | 56 |
| 4.1 Planejamento dos derivados de tiazol | 56 |
| 4.2. Síntese de tiazóis | 58 |
| 4.2.1 síntese dos intermediários tiazólicos | 58 |
| 4.2.2 Síntese de iminas | 59 |
| 4.2.3 Síntese de biaril e heteroaril tiazóis via acoplamento de Suzuki | 64 |
| 4.2.4 Síntese do composto 60 via aminação de Buchwald-Hartwig | 69 |
| 4.2.5 Síntese do composto 65 via condensação [3+1+1] catalisada por cobre com intermediário oxima | 72 |
| 4.3 Avaliação preliminar da atividade anti <i>T. cruzi</i> dos derivados de tiazol <i>in vitro</i> | 74 |
| 5. Conclusão | 79 |
| 6. Perspectivas | 80 |
| 7. Procedimentos experimentais | 82 |
| 7.1. Materiais e Métodos | 82 |
| 7.2 Síntese dos intermediários e novo derivados de tiazol | 82 |
| 7.2.1 Bromação da 4-bromoacetofenona (54) | 82 |
| 7.3 Síntese dos 4-bromotiazóis (56 e 57) via reação de ciclocondensação | 83 |

| | |
|---|-----|
| 7.3.1. Procedimento usando tioacetamida | 83 |
| 7.3.2. Procedimento utilizando tiourea | 83 |
| 7.4 Síntese de iminas | 84 |
| 7.5 Procedimento das reações de Suzuki | 84 |
| 7.6.1 Síntese do derivado de tiazol 60 via acoplamento de Buchwald-Hartwig | 86 |
| 7.5.2 Síntese do derivado de tiazol 60 via condensação [3+1+1] catalisada por cobre com intermediário oxima | 87 |
| 7.5.2.1 Síntese da Fluoracetofenona bromada | 87 |
| 7.6. Metodologia de avaliação da atividade tripanocida e da toxicidade | 88 |
| 7.6.1. Preparação das soluções estoque | 88 |
| 7.6.2. Parasitos | 88 |
| 7.6.3. Análise da Toxicidade dos Compostos Sobre Células de Mamíferos <i>in vitro</i> | 89 |
| 8. Referências bibliográficas | 90 |
| 9. Anexos | 103 |
| 9.1. Espectros de RMN ¹ H e ¹³ C | 103 |

Lista de abreviaturas

ADMET: Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade

BZ: Benznidazol

CDC: Centro de controle e prevenção de doenças

DMEM: Meio Eagle Modificado por Dulbecco

DNDI: Iniciativa Medicamentos para Doenças Negligenciadas

DNs: Doenças Negligenciadas

EC₅₀: Concentração em que o fármaco produz 50% de sua resposta máxima

ET: Estado de transição

IC₅₀: Dose capaz de matar 50% dos parasitos

IDH: Índice de Desenvolvimento Humano

INCT: Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia

LaSOQF: Laboratório de Síntese Orgânica e Química Fina

LC₅₀: Dose necessária para reduzir em 50% a viabilidade das células

NF: Nifurtimox

OMS: Organização Mundial da Saúde

PAMPA: Ensaio de Permeabilidade Aparente em Membrana Paralela Artificial.

PNS Plano Nacional de Saúde do Brasil

PPGs Programas de Pós-Graduação

SE: esqualeno epoxidase

SINAN: Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SUS: Sistema Único de Saúde

T. cruzi: Trypanosoma cruzi

THF: Tetrahidrofurano

TPP: tiamina pirofosfato

VP: vacúolo parasitóforo

WHO World Health Organization

Lista de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Estruturas com anel tiazólico ativas anti <i>T. cruzi</i> em testes preliminares encontradas na literatura..... | 19 |
| Figura 2 - Estrutura geral dos compostos sintetizados. | 20 |
| Figura 3 - Distribuição global das DNs. Adaptado de Molyneux ³¹ | 21 |
| Figura 4 - "barbeiro", vetor da <i>T. cruzi</i> . Adaptado de ⁴² | 23 |
| Figura 5 - Distribuição da Doença de Chagas no planeta. Adaptado de < https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/ > ³⁴ | 24 |
| Figura 6 - Formas celulares do parasito <i>T. cruzi</i> : a) amastigota; b) epimastigota; e c) tripomastigotas no barbeiro. Adaptado da referência 30 ⁵⁴ | 26 |
| Figura 7 - Ciclo de Vida do <i>T. cruzi</i> . Adaptado de de CDC (Centers for Disease Control and Prevention) ⁶¹ | 27 |
| Figura 8: Estrutura dos fármacos disponíveis para o tratamento da doença de chagas. ... | 28 |
| Figura 9 - Estrutura do fluconazol | 29 |
| Figura 10 - Localização da Cruzaína durante o ciclo evolutivo do <i>T. cruzi</i> . Retirado de ⁶⁶ .30 | 30 |
| Figura 11 - Fórmula estrutural do candidato a fármaco | 30 |
| Figura 12 - A estrutura numerada do núcleo tiazólico (5). | 32 |
| Figura 13 - Estrutura dos fármacos contendo anel tiazólico | 33 |
| Figura 14 - Semelhança nas estruturas do imidazol do BZ e um tiazol genérico | 37 |
| Figura 15 – Citotoxicidade de alguns derivados arilados de tiazol..... | 39 |
| Figura 16 - Derivados com a estrutura hidrazinil-1,3-tiazóis com substituições em C5 e no N do anel tiazólico..... | 40 |
| Figura 17 - Análise da atividade tripanocida de tiazóis e seletividade frente a <i>T. cruzi</i> | 40 |
| Figura 18 – Nova série de ftalimido-tiazol com adição de grupo espaçador (-CH ₂ -CH=N). | 41 |
| Figura 19 - Estrutura do composto mais efetivo frente a forma tripomastigota da Cepa Y do estudo realizado com a inserção do espaçador (-CH ₂ -CH=N) | 42 |
| Figura 20 - Estrutura base de 4-ariltiazolil-hidrazonas..... | 42 |
| Figura 21 - Derivado de tiazol (30) que levou a maior acúmulo de esqualeno, através da inibição da esqualeno oxidase..... | 43 |
| Figura 22 - Estrutura dos tiazóis mais potentes que o Benznidazol nos testes <i>in vitro</i> | 44 |
| Figura 23 – Estrutura dos compostos mais relevantes do estudo..... | 46 |
| Figura 24 - Análise do efeito dos grupos ligados ao tiazol na atividade tripanocida. Retirado de ¹³ | 46 |

| | |
|--|----|
| Figura 25 – Algumas substituições nos tiazóis que os levam a aumento na atividade contra <i>T.cruzi</i> | 48 |
| Figura 26 - Estrutura do fármaco valsartana (48)..... | 53 |
| Figura 27 - Planejamento das moléculas alvo a partir do levantamento bibliográfico..... | 57 |
| Figura 28 - Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 400 MHz) do intermediário tiazólico 57 | 59 |
| Figura 29 – Estruturas de ressonância de benzaldeídos <i>para</i> substituídos. | 60 |
| Figura 30 – Grupos de entrada (benzaldeídos) utilizados na otimização da síntese de iminas. | 62 |
| Figura 31 - Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do composto 58a | 63 |
| Figura 32 – par tautômero imino e amino do 1,3 tiazol genérico..... | 64 |
| Figura 33 – Ácidos borônicos empregados nas reações de Suzuki..... | 66 |
| Figura 34 - Espectro de ¹ H RMN (CDCl ₃ , 400 MHz) do composto 59a | 68 |
| Figura 35 - Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do composto 59c..... | 69 |
| Figura 36 - Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do composto 60..... | 72 |
| Figura 37 - Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do composto 65 | 73 |
| Figura 38 – comparação das estruturas das iminas sintetizadas com as dos compostos similares disponíveis na literatura com atividade contra <i>T.cruzi</i> | 76 |
| Figura 39 – comparação das estruturas dos biariltiazóis sintetizados aos compostos da literatura..... | 77 |
| Figura 40 – comparação entre moléculas com porção piridínica | 77 |

Lista de Esquemas

| | |
|---|----|
| Esquema 1 – Reações de substituição nucleofílica e eletrofílica em um anel tiazólico genérico | 32 |
| Esquema 2 - Preparação de tiazóis, a partir de α -bromocetonas e tioamidas (ou tioureias) via metodologia de Hantzsch..... | 33 |
| Esquema 3 – Proposta de mecanismo para a formação de um tiazol pelo método de Hantzsch..... | 34 |
| Esquema 4 – Método reacional com formação de tioamidas <i>in situ</i> | 34 |
| Esquema 5 -Síntese de derivados de tiazol na presença de hexafluorofosfato de tetrabutilamônio..... | 35 |
| Esquema 6 – Síntese de tiazóis via reação de condensação do tipo [3+1+1] catalisada por cobre..... | 35 |
| Esquema 7 – Etapas da reação de formação do tiazol via oxima pelo método [3+1+1].... | 36 |
| Esquema 8 – Síntese de tiazóis por protocolo verde..... | 36 |
| Esquema 9 – Síntese de tiazóis a partir de alcenos. | 37 |
| Esquema 10 – Síntese dos compostos empregados nesse estudo das tiossemicarbazonas (23a-23c); e dos tiazóis (24a-24e ; 25a ; 26a-26b); | 38 |
| Esquema 11 – Síntese dos ftalimido-tiazol..... | 41 |
| Esquema 12 – Síntese de tiossemicarbazonas com anel piridino e da série 2- (piridin-2-il)-imino-tiazol (34a-d ; 36a-d) | 44 |
| Esquema 13 – Síntese da série de ariltiazóis com substituição em C5 | 47 |
| Esquema 14 - Ciclo catalítico das principais reações de acoplamento cruzado catalisadas por paládio. Adaptado de ¹²³ | 49 |
| Esquema 15 - Sistema catalítico desenvolvido por Suzuki..... | 50 |
| Esquema 16 – Esquema geral de uma reação de acoplamento de Suzuki e seu ciclo catalítico..... | 51 |
| Esquema 17 - Síntese clássica do D159687 com rendimento global de 8,2%. Adaptado de Burgin e cols (2010) ¹²⁵ | 52 |
| Esquema 18 – Reações de Suzuki consecutivas empregadas na síntese do D159687 com rendimento global de 46,1%..... | 53 |
| Esquema 19 – Síntese do fungicida Boscalid (49) utilizando acoplamento de Suzuki | 54 |
| Esquema 20 – Etapas que levam a formação dos intermediários tiazólicos 56 e 57 | 58 |
| Esquema 21 – Mecanismo de formação de iminas em catálise ácida | 60 |
| Esquema 22 - Síntese de iminas 58a e 58b | 61 |
| Esquema 23 - Formação quimiosseletiva de diversos arilbis(2-imino-tiazóis)..... | 63 |

| | |
|---|----|
| Esquema 24 – Mecanismo geral da síntese dos diversos arilbis(2-imino-tiazóis)..... | 64 |
| Esquema 25 - Estrutura e rendimento das reações de acoplamento de Suzuki. *produtos inéditos na literatura..... | 67 |
| Esquema 26 – Esquema geral e ciclo catalítico acoplamento Buchwald-Hartwig. Em I ocorre a adição oxidativa; em II a coordenação da amina; em III a desprotonação e em IV a eliminação reductiva | 70 |
| Esquema 27 - Reação de aminação de Buchwald-Hartwig | 71 |
| Esquema 28 - rota sintética para a obtenção do tiazol 65 via condensação [3+1+1] catalisada por cobre..... | 73 |
| Esquema 29: Planejamento da síntese de novos análogos ao composto 59c contendo heterociclos nitrogenados..... | 81 |

Lista de tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Comparação da atividade tripanocida dos principais 2-(piridin2-il)-1,3-tiazóis com e sem substituição no carbono c6 da hidrazona | 45 |
| Tabela 2 - Otimização das condições para formação de imina..... | 61 |
| Tabela 3 - Otimização das condições do acoplamento de Suzuki entre 56 e ácidos arilborônicos..... | 65 |
| Tabela 4 - Toxicidade <i>in vitro</i> (LC ₅₀) dos compostos estudados contra células hospedeiras de mamíferos (linhagens celulares L929) após incubação por 96 horas a 37°C | 74 |
| Tabela 5 - Efeito <i>In vitro</i> dos compostos estudados contra formas intracelulares de T. cruzi (Cepa Tulahuen transfectada com β-galactosidase) após tratamento por 96 horas à 37°C..... | 75 |

Lista de quadros

| | |
|---|----|
| Quadro 1 - Doenças Negligenciadas segundo a OMS | 22 |
| Quadro 2 – Estatísticas de Notificações de casos confirmados de DN no Brasil..... | 22 |

“Somos assim: sonhamos o voo, mas tememos a altura. Para voar é preciso ter coragem para enfrentar o terror do vazio. Porque é só no vazio que o voo acontece. O vazio é o espaço da liberdade, a ausência de certezas. Mas é isso o que tememos: o não ter certezas. Por isso trocamos o voo por gaiolas. As gaiolas são o lugar onde as certezas moram”.

Rubem Alves

1. Introdução

As doenças negligenciadas são endêmicas nas regiões mais pobres do mundo, em consequência disso elas não atraem um grande investimento da indústria farmacêutica, mesmo estando presentes em mais de 70% dos países e afetando aproximadamente 6 milhões de pessoas na América Latina^{1,2}. Uma dessas enfermidades é a Doença de Chagas (DC), também conhecida como tripanossomíase americana, caracteriza-se por uma infecção parasitária causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e sua principal via de transmissão aos seres humanos ocorre pelo depósito das fezes de insetos triatomíneos³⁻⁸ sobre a pele lesionada.

O benznidazol e o nifurtimox são os únicos medicamentos até então disponíveis para tratar a DC, quando utilizados na fase aguda chegam a alcançar uma taxa de 70% de cura, porém apresentam baixa eficácia na fase crônica da doença (menos de 20%), além de causarem diversos efeitos colaterais que levam grande parte dos pacientes a abandonar o tratamento⁹⁻¹². Por isso, é urgente a busca por novos fármacos que apresentem efeitos colaterais reduzidos e levem ao aumento na taxa de cura, principalmente dos pacientes crônicos.

Mais recentemente, o anel tiazólico associado a grupamentos arila ou biarila vem sendo amplamente citado, em modelos *in vitro* e *in vivo*, como importante porção na estrutura de compostos com altas atividades tripanocidas e baixa toxicidade¹³⁻¹⁸ (Figura 1), tal fato pode alavancar o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos aumentando assim o arsenal terapêutico de combate a essa enfermidade negligenciada.

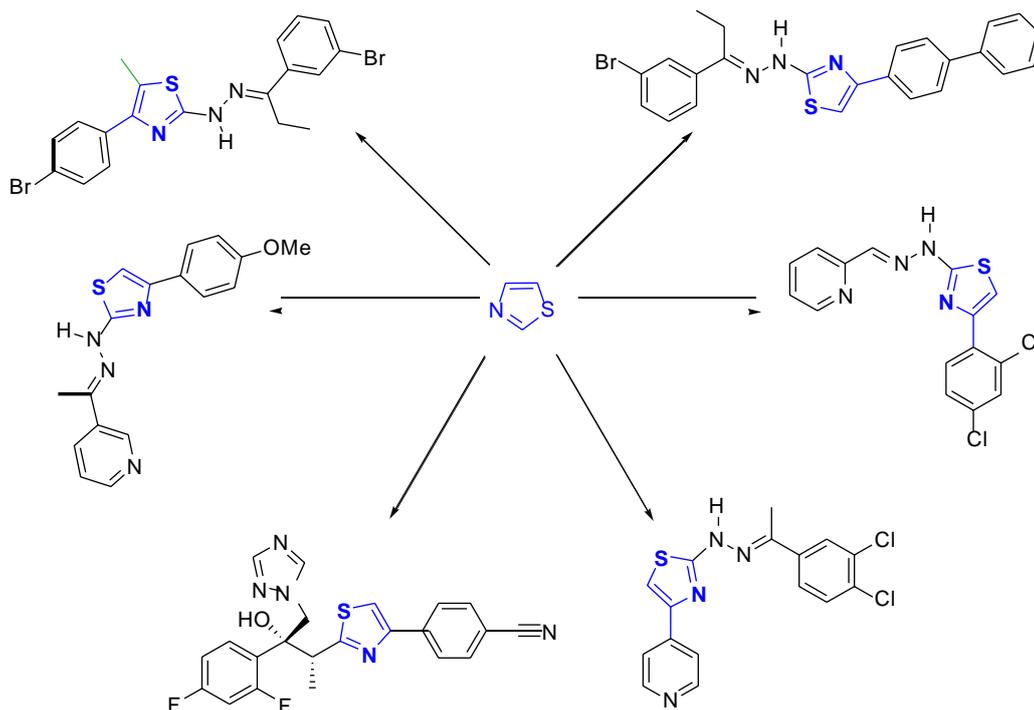


Figura 1 – Estruturas com anel tiazólico ativas anti *T. cruzi* em testes preliminares encontradas na literatura.

Num desses estudos¹⁶ foi apresentado um composto biarilado não substituído contendo o anel tiazólico que apresentou elevada atividade tripanocida, baixa citotoxicidade, além de alto índice de seletividade frente a forma infectiva (tripomastigota) do *T. cruzi*. Nesse sentido, as reações de acoplamento carbono-carbono catalisadas por paládio, em especial a reação de Suzuki, se mostram alternativas simples e efetivas de obter diversos compostos biarilados de acordo com o ácido arilborônico empregado¹⁹⁻²¹.

Uma substituição amplamente utilizada nos compostos disponíveis na literatura é hidrazona devido a sua reconhecida atividade biológica^{22,23}, o que tem levado a compostos com alta atividade anti *T. cruzi* em ensaios preliminares, principalmente quando associada ao anel tiazólico¹³⁻¹⁸ (Figura 1). As iminas – estruturalmente similares às hidrazonas - também costumam apresentar simultaneamente atividade biológica notável e baixa toxicidade²⁴⁻²⁷, por isso elas se apresentam como potenciais substituintes a porção hidrazona na síntese de tiazóis ativos anti *T. cruzi*.

Nesse sentido, o foco desta dissertação foi o emprego de intermediários tiazólicos na síntese de compostos com substituições diversificadas nas posições C2 do anel tiazólico, bem como na posição C4 da arila ligada ao tiazol (Figura 2) levando assim a estruturas similares àquelas ativas anti *T. cruzi*, em modelos *in vitro* e *in vivo*, disponíveis na literatura.

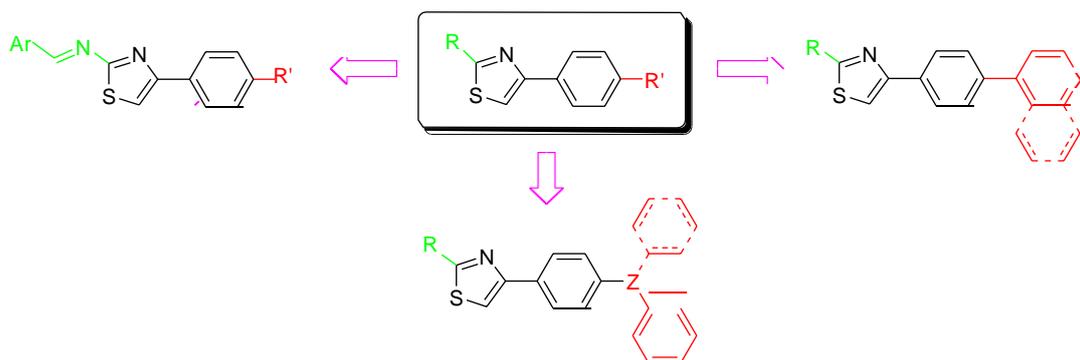


Figura 2 - Estrutura geral dos compostos sintetizados.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Doenças Negligenciadas

As Doenças Negligenciadas (DNs) são condições infecciosas agudas ou crônicas cuja contaminação pode se dar por transmissão direta ou através um vetor²⁹. Estima-se que 1 bilhão de pessoas no mundo inteiro apresentem alguma dessas enfermidades, sendo as áreas mais afetadas aquelas onde Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) é baixo. Destacam-se assim as regiões tropicais e subtropicais dos continentes da África, Ásia e América Latina³⁰. A Figura 3 exibe um mapa para incidência dessas doenças no globo, em uma escala que vai do cinza nos países que apresentam apenas 1 dessas doenças até o vermelho onde 6 ou mais doenças são identificadas³¹.

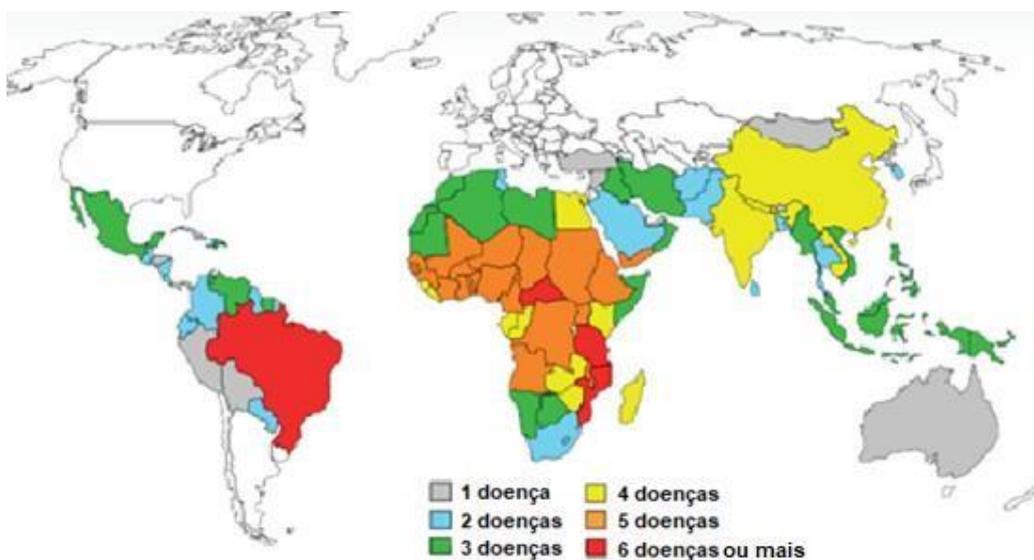


Figura 3 - Distribuição global das DNs. Adaptado de Molyneux³¹.

Nestas localidades o saneamento básico e a infraestrutura geral são precários ou ausentes, o que acarreta grande necessidade de medidas de vigilância epidemiológica, políticas de controle e profilaxia, além de ações educativas e acesso facilitado a diagnóstico e tratamento³². No ano de 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reformulou a lista dessas doenças, assim o envenenamento por picada de cobra e outras dezenove

enfermidades foram classificadas como negligenciadas, para uma melhor visualização elas são apresentadas no quadro a seguir (quadro 1)³⁴.

Quadro 1 - Doenças Negligenciadas segundo a OMS

| Doenças Negligenciadas segundo a OMS (2017) | | | |
|---|-----------------------------------|--|---|
| Úlcera de Buruli | Doença de Chagas | Leishmaniose | Hanseníase |
| Dracunculíase | Equinococose | Filariose linfática | Oncocercose |
| Dengue e Chikungunha | Trematodiasas de origem alimentar | Tripanossomíase humana africana (doença do sono) | Micetoma, cromoblastomicose e micoses profundas |
| Treponematoses endêmicas | Sarna e outros ectoparasitas | Esquistossomose | Envenenamento por picada de cobra |
| Raiva | Tracoma | Teníase | Helmintíases |

Adaptado de: <https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/>²

No Brasil, as populações mais propensas à contaminação vivem nas áreas mais pobres do Nordeste e da região Amazônica. Nesse contexto, a população indígena por sua vulnerabilidade abarca risco acentuado de infecção¹. Voltando a observar a Figura 3 e tendo como base as informações do Ministério da Saúde, constata-se que o território brasileiro reúne mais de 6 doenças negligenciadas, dentre elas, o governo prioriza erradicação da doença de Chagas, esquistossomose, hanseníase, filariose linfática, leishmaniose tegumentar, leishmaniose visceral, raiva humana e tracoma^{35,36}, o Quadro 2 dispõe o número de casos confirmados de algumas das DNs que têm seu combate como prioritário.

Quadro 2 – Estatísticas de Notificações de casos confirmados de DN no Brasil.

| Doenças Negligenciadas | Ano de notificação | Centro-oeste | Nordeste | Norte | Sudeste | Sul |
|-------------------------|--------------------|--------------|----------|-------|---------|-----|
| Doença de Chagas Aguda | 2018 | 1 | 29 | 350 | 0 | 0 |
| Esquistossomose | 2017 | 66 | 1.220 | 100 | 2.911 | 62 |
| Leishmaniose Visceral | 2017 | 283 | 2.199 | 854 | 1.096 | 17 |
| Leishmaniose Tegumentar | 2017 | 2.795 | 4.926 | 8.835 | 2.114 | 293 |
| Raiva | 2017 | 0 | 2 | 4 | 0 | 0 |

Fonte: SINAN, 2019. Adaptado de ³⁷

Segundo Valverde (2013), apesar dessas enfermidades estarem presentes no planeta há milhares de anos, ainda assim, elas seguem sem ser erradicadas²⁹. De acordo

com a Iniciativa Medicamentos para Doenças Negligenciadas (DNDi), o Brasil, no ano de 2017, foi líder de mortes no mundo por doença de Chagas, além de ser o recordista em números de novos casos de hanseníase e leishmaniose visceral do continente latino americano³⁹.

Pode-se afirmar que as doenças negligenciadas são problemas críticos na saúde pública. Porém, a indústria farmacêutica, que poderia auxiliar nesse combate, não o faz, pois tem como princípio o incremento de sua receita, o que ocorre com a produção e comercialização de medicamentos para as doenças globais (câncer, doenças cardiovasculares, estresse, entre outras)⁴⁰.

Nesse contexto, os pacientes com baixo poder aquisitivo e sem influência política não conseguem gerar o retorno financeiro buscado pela maior parte das empresas. Um estudo feito pelo Instituto de Pesquisa G-finder constatou que menos de 5% do investimento mundial da indústria farmacêutica é direcionado ao tratamento de doenças extremamente negligenciadas, doença do sono, leishmaniose visceral e doença de Chagas, mesmo que estas atinjam mais de 500 milhões de pessoas no planeta⁴¹.

2.2. Doença de Chagas

Uma das enfermidades negligenciadas que frequentemente acomete as populações mais desfavorecidas é a Doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana. Foi descoberta pelo médico brasileiro Carlos Justiniano Ribeiro Chagas ao observar a presença de numerosos protozoários no conteúdo intestinal de um inseto hematófago, o “barbeiro” (Figura 4), chamado assim pois seu foco de hematofagia costuma ser a face⁶.



Figura 4 - "barbeiro", vetor da *T. cruzi*. Adaptado de⁴².

É considerada endêmica na América Latina (América Central e do Sul e México), sendo responsável por mais mortes do que qualquer outra doença parasitária, com o agravante de poder acometer qualquer indivíduo independentemente da idade e do sexo²⁹. Na Figura 5 pode ser observado o mapa que mostra a distribuição da doença de Chagas no planeta, mostrando em quais países ela é endêmica e os países em que não é

endêmica, mas está presente⁴³.



Figura 5 - Distribuição da Doença de Chagas no planeta. Adaptado de <https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/>³⁴

Existem aproximadamente um milhão de portadores da doença de Chagas no Brasil, predominando os casos crônicos. Entretanto, recentemente a ocorrência da fase aguda, por transmissão oral e vetorial, vem sendo observada nos estados que compõem a Amazônia. Os surtos da doença são relacionados à ingestão de alimentos populares contaminados, dos mais de mil e duzentos casos registrados nessa região 70% ocorreram por transmissão oral no período de 2000 a 2011⁴⁴.

A tripanosomíase também tem sido crescentemente relatada em regiões não endêmicas, como na América do Norte, mais especificamente no sul dos Estados Unidos e no Canadá, assim como em vários países da Europa e Ásia. É possível que essa contaminação se dê pelo aumento da migração entre a América Latina e os continentes citados. Estima-se que atualmente aproximadamente 6 milhões de pessoas estejam infectadas pelo *T. cruzi*, só na América latina, estando outros 70 milhões sob elevado risco de infecção^{45,46}.

Seu agente etiológico é o *Trypanosoma cruzi* e sua transmissão acontece majoritariamente via vetor. Nela, o inseto (“barbeiro” ou “bicudo”), ao picar o hospedeiro vertebrado defeca ao lado da picada, deste modo, conforme o indivíduo coça essa região arrasta os parasitas presentes nas fezes para o local da lesão na pele e/ou para as mucosas infectando as células presentes no sítio de ingresso⁴⁷.

Outros tipos de contaminação são menos comuns, mas podem acontecer, como a transmissão de mãe para filho, que se destaca como rota de infecção mais significativa em países não endêmicos e naqueles que já conseguiram controlar o vetor. Em países

como Argentina e Bolívia a taxa de infecção congênita em recém-nascidos de mães chagásicas oscila entre 1,6% e 10,5%. A formulação pediátrica de benznidazol mostra alta eficácia no tratamento de bebês recém-nascidos contaminados⁴⁸.

Uma das formas de contágio que teve maior queda na transmissão nos últimos anos foi a via transfusão de sangue e transplantes de órgãos, isso se deve ao melhor controle nos bancos de sangue. Por outro lado, com a popularização de algumas bebidas oriundas da bacia amazônica como açaí, caldo de cana e suco taperebá, a contaminação via transmissão oral está aumentando em diversas regiões do Brasil. Este um fator importante epidemiologicamente, pois essa forma de contágio pode ser particularmente grave, uma vez que através da ingestão de bebidas contaminadas um alto número de triatomíneos podem entrar no organismo^{3,49}. Em menor proporção, acidentes de laboratório também podem resultar em transmissão da DC.

O *T. cruzi* tem duas fases de infecção bem distintas a) aguda: onde na maioria dos casos, permanece assintomática, não havendo sinais clinicamente identificáveis, por isso conforme observa-se no quadro 2, o número de registros oficiais de pacientes na fase aguda são reduzidos quando comparado ao das outras DNs. E, em casos raros, quando paciente manifesta sintomas, eles incluem febre, cefaléia, edema subcutâneo, aumento de volume dos gânglios linfáticos, cardiomegalia, alterações do sistema nervoso central, e inflamação no tecido muscular; b) crônica: a infecção pode ser descoberta por sorologia e/ou métodos parasitológicos e exames clínicos, como eletrocardiogramas e raios-x^{12,50}.

2.2.1. O *Trypanosoma cruzi* e seu ciclo evolutivo

O *Trypanosoma cruzi* é um protozoário flagelado com estrutura celular eucariótica: membrana plasmática, citoplasma e núcleo. Apresenta um único flagelo e uma mitocôndria, onde se localiza o cinetoplasto (kDNA) que contém seu DNA mitocondrial⁵¹.

Há uma gama de cepas que apresentam grande diversidade genética. As suas formas parasitárias evolutivas (Figura 6) são: (i) amastigota, encontrada no citoplasma de células do hospedeiro vertebrado; (ii) epimastigota que é forma evolutiva, presente no tubo digestivo do inseto hospedeiro, onde ocorre a sua multiplicação por divisão binária levando a forma (iii) tripomastigota, presente no sangue periférico, bem como no intestino posterior do inseto vetor, não se replica, porém leva a infecção ao ser humano^{52,53}.

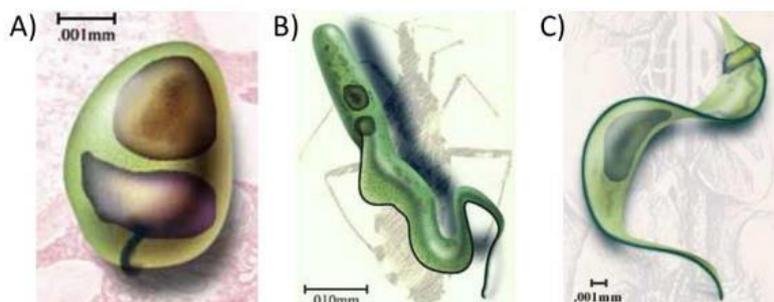


Figura 6 - Formas celulares do parasito *T. cruzi*: a) amastigota; b) epimastigota; e c) tripomastigotas no barbeiro. Adaptado da referência 30⁵⁴.

O ciclo de vida deste organismo pode ser classificado em silvestre, peridomiciliar e domiciliar, conforme os hábitos de seus hospedeiro⁵⁵.

Através do vetor (barbeiro) o ciclo biológico do *T. cruzi* começa pela ingestão de sangue do mamífero que está infectado com as formas tripomastigotas (Figura 7). Ao longo dos dias, as formas tripomastigotas se transformam em epimastigotas no estômago do triatomíneo, então elas migram para o intestino médio, onde se replicam intensamente por fissão binária, culminando no aumento da população de parasitas. Dessa forma, os nutrientes ficam escassos causando estresse no parasita, fazendo-os aderir ao epitélio do intestino posterior do triatomíneo se diferenciando em formas tripomastigotas metacíclicas, por um processo de metaciclogênese^{56,57}.

Durante o novo repasto sanguíneo, o barbeiro elimina em suas fezes e urina as formas epimastigotas que não se transformaram, bem como as formas tripomastigotas metacíclicas, que são causadoras da infecção no vertebrado através de lesões na pele causadas pela picada^{47,58,59}. Ao penetrar na célula hospedeira, as formas tripomastigotas metacíclicas, através de mudanças morfológicas e bioquímicas se diferenciam em amastigotas, estas por sua vez se multiplicam por divisão binária⁵⁵. Ao final de 2 a 9 ciclos de divisão, os parasitos passam por diferenciação evoluindo para forma tripomastigotas, essas por sua vez são liberadas na corrente sanguínea, linfática, órgãos e tecidos disseminando a infecção, quando a célula parasitada se rompe, e/ou serem ingeridas pelo barbeiro ao se alimentar do sangue contaminado⁶⁰.

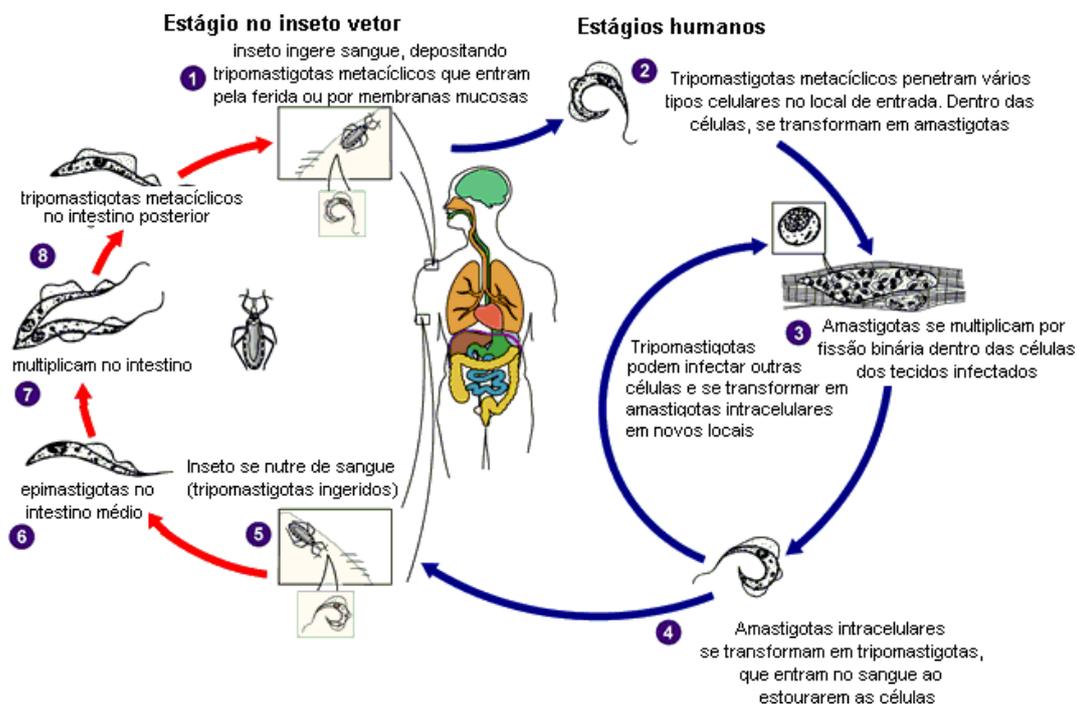


Figura 7 - Ciclo de Vida do *T. cruzi*. Adaptado de de CDC (Centers for Disease Control and Prevention)⁶¹.

2.2.2. Tratamento atual e perspectivas

O tratamento disponível atualmente para esta tripanossomíase, mesmo após mais de 100 anos de sua descoberta, é a quimioterapia com os fármacos benznidazol (BZ) e o Nifurtimox (NF), cujas estruturas são mostradas na Figura 8. Lançados nas décadas de 1960/70, tais medicamentos são mais efetivos na fase aguda da infecção por *T. cruzi*, principalmente, no tratamento de crianças onde o índice de cura é de cerca de 70%⁶². Já para os adultos, principalmente na fase crônica, a eficácia desses fármacos é reduzida a menos de 20%, além de se mostrarem mais tóxicos causando vários efeitos colaterais, que vão de perturbações no trato digestório até a severa perda de peso⁸. Além disso, a medicação falha na eliminação dos parasitas, por isso muitos pacientes abandonam o tratamento^{8,63}.

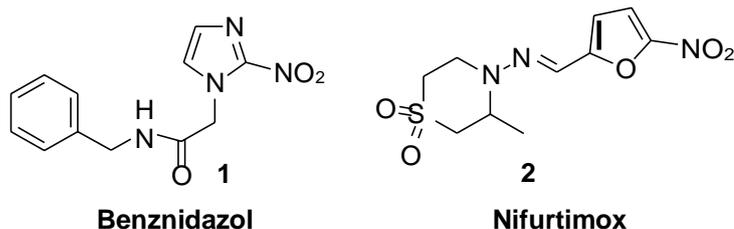


Figura 8: Estrutura dos fármacos disponíveis para o tratamento da doença de chagas.

A comercialização do NF chegou a ser suspensa em alguns países da América do Sul na década 1980, inclusive no Brasil. A Bayer interrompeu a fabricação do fármaco no ano de 1997, entretanto, ele voltou a ser produzido a partir de 2000, em El Salvador, para dar suporte ao tratamento da tripanossomíase africana (doença do sono). Atualmente, o nifurtimox pode ser adquirido por iniciativas da Organização Mundial da Saúde^{64,10}. Ademais, o Nifurtimox pode ser uma alternativa ao BZ, quando este causa graves efeitos colaterais nos pacientes em tratamento⁶⁴.

Os laboratórios privados têm demonstrado pouco interesse na pesquisa da doença de Chagas, principalmente, pelo baixo retorno financeiro, uma vez que essa é uma enfermidade que afeta majoritariamente pessoas com baixo poder aquisitivo. No que tange as pesquisas em centros universitários, ainda são impostas muitas restrições de financiamento, tal fato retarda o desenvolvimento de novos medicamentos e estratégias de tratamento. Esse cenário gera a situação atual, em que os medicamentos disponíveis são os mesmos desde 1970, apresentam efeitos adversos e são praticamente ineficazes na fase crônica da doença^{4,65}.

As ações terapêuticas clássicas, usadas para tratar a tripanossomíase, a grosso modo, atuam com três mecanismos: via estresse oxidativo, interação parasita-hospedeiro e no metabolismo⁶⁶. O mecanismo de ação do Benznidazol não está totalmente elucidado, porém acredita-se que este se baseia na produção radicais nitrorreduzidos, principalmente pelas enzimas citocromo P450 redutase, xantina oxidoreductase e aldeído-oxidase, que são capazes de se ligar a lipídios e proteínas do parasito causando ainda danos aos seus ácidos nucleicos⁷⁰⁻⁷².

Nas últimas décadas, os avanços no conhecimento da química medicinal e da bioquímica do *T. cruzi* permitiram a identificação de novos alvos terapêuticos possibilitando o planejamento de novos inibidores potencialmente mais eficientes e menos tóxicos, além disso, tem-se considerado o reposicionamento de fármacos usados no tratamento de outras doenças⁷³.

Nesse sentido, fármacos antifúngicos, como o posaconazol, VNI e fluconazol (Figura 9) têm sido testados, principalmente, para verificar sua interferência na biossíntese do ergosterol, esterol vital ao crescimento do parasita. Este medicamento tem levado ratos infectados à cura parasitológica nas fases aguda e crônica^{74,75}.

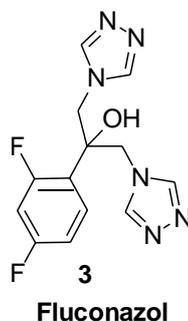


Figura 9 - Estrutura do fluconazol.

Outras classes de alvos são: (i) a via glicolítica das formas tripomastigotas, que vem sendo muito estudada, pois as formas infectivas do parasita a usam “como fonte de energia através de produção de ATP”^{76,8}, e (ii) a via das proteases - enzimas com a função de catalisar a hidrólise de ligações peptídicas de outras proteínas, levando a fragmentos de aminoácidos menores - vitais à sobrevivência e à replicação dos parasitos^{77,78}.

A cruzaina é a cisteína protease mais abundante e essencial para o desenvolvimento e sobrevivência do *Trypanosoma cruzi*, é expressa em todas as suas formas, ainda que em diferentes compartimentos (Figura 10). Esse fato a torna um bom alvo para o desenvolvimento de fármacos que possam ser usados no tratamento da doença de Chagas^{79,80}.

localização da cruzaina (•) no *T. cruzi*

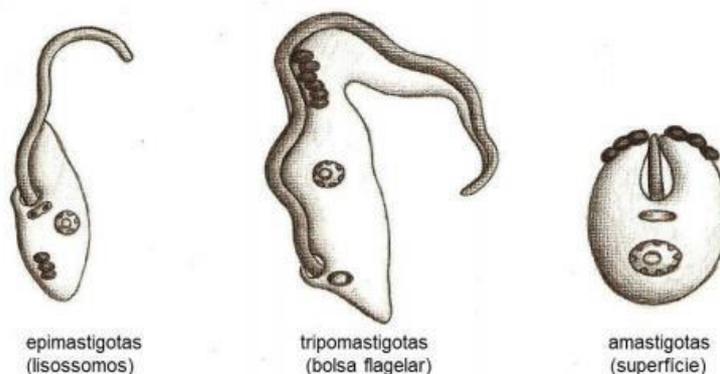


Figura 10 - Localização da Cruzaina durante o ciclo evolutivo do *T. cruzi*. Retirado de⁶⁶.

O desenvolvimento de candidatos a fármacos também pode partir da similaridade estrutural com os compostos já disponíveis para o tratamento dessa enfermidade. Nesse contexto, diferentes classes de possíveis inibidores vêm sendo estudadas, dentre elas destacam-se os derivados não peptídicos como os tiazóis, pirimidinas, tiossemicarbazonas e chalconas^{8,73}.

Uma das moléculas teste que mais se destacou nos últimos anos foi o tiazol ravuconazol (Figura 11), que apresentou boa atividade nos modelos *in vitro* e *in vivo*, principalmente frente a forma amastigota, sendo até então um candidato promissor para o tratamento da Doença de Chagas. No entanto, infelizmente a molécula não foi eficaz no tratamento de pacientes crônicos^{4,63,65,81}.

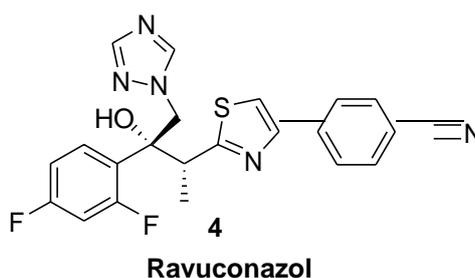


Figura 11 - Fórmula estrutural do candidato a fármaco.

Apesar das restrições, a Academia vem concentrando esforços e conseguindo avanços na identificação de alvos e na produção de possíveis novos medicamentos que sejam aprovados nos testes terapêuticos e possam ser utilizados no tratamento da DC tanto na sua fase crônica quanto na sua fase aguda.

A química medicinal com sua multidisciplinaridade é essencial no processo de planejamento e desenvolvimento de novos fármacos, indo desde a identificação de alvos até as relações entre estrutura e atividade biológica envolvidas no mecanismo de ação de uma molécula^{82,83}.

O pontapé inicial das pesquisas é a identificação e otimização de moléculas protótipos de baixa massa molecular que apresentam potencial aplicação clínica para um determinado alvo. Nesse momento, é importante investigar as propriedades físico-químicas relacionadas aos processos farmacocinéticos ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) destas moléculas e suas interações com o ligante alvo, em especial a solubilidade e a permeabilidade, pois quando estas são baixas normalmente há falha no desenvolvimento do medicamento^{84,85}. Atrelado a isso, o coeficiente de partição, log P, uma medida quantitativa relacionada a lipofilicidade de compostos bioativos, é essencial para prever como será o transporte e a atividade do candidato a fármaco, mostrando seu perfil de afinidade no óleo ou a água⁸⁶. De posse dessas informações, as novas moléculas podem passar por testes biológicos adequados (*in vitro* e *in vivo*)⁸⁴. E posteriormente, passa por testes clínicos até ser aprovado pelas reguladoras farmacêuticas e ser disponibilizado no mercado⁸⁷.

A química de heterocíclicos, atualmente, se destaca na concepção e no desenvolvimento de novos compostos farmacologicamente ativos que ocorre no mundo inteiro⁸⁸, uma vez que é tão fundamentada quanto a química de compostos aromáticos e/ou alifáticos, engloba amplo espectro de diversidade estrutural e tem propriedades físico-químicas que podem viabilizar os mais diversos processos de interações intermoleculares com alvos biológicos^{89,90}. Nesse sentido, a aplicação de porções heterocíclicas na síntese de compostos com atividade tripanocida é de grande importância tanto do ponto de vista teórico como do prático.

2.3. Tiazóis

O tiazol (Figura 12) é um heterociclo aromático de cinco membros contendo um átomo de enxofre na posição 1 e um átomo de nitrogênio na posição 3⁹¹⁻²¹. Apresenta maior aromaticidade que seu isómero oxazol, uma vez que seus elétrons π estão mais deslocalizados. O átomo de N do tiazol atrai elétrons para si o que leva a diminuição da densidade de elétrons em C-2, assim o ataque nucleofílico deve ocorrer na posição 2, favorecido por reagentes de Grignard ou organolíticos, quanto a substituição eletrofílica ocorre preferencialmente na posição C-5, caso isso não seja possível a substituição ocorrerá na posição C-4²¹, essas duas reações estão representadas no esquema 1.

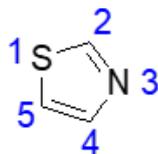
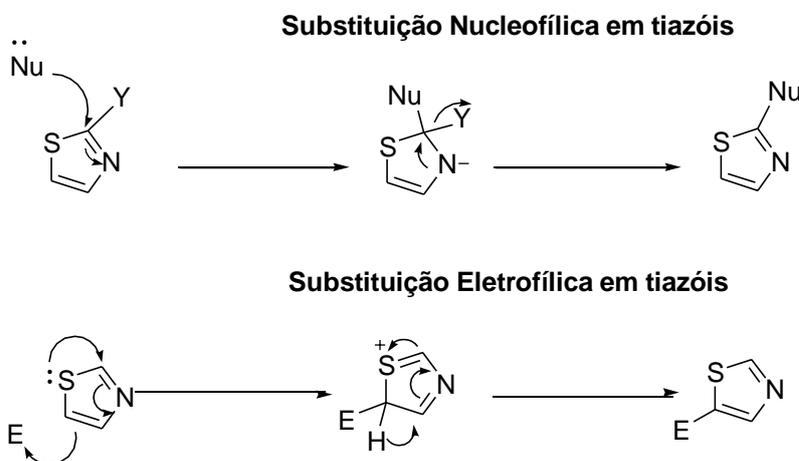


Figura 12 - A estrutura numerada do núcleo tiazólico (5).

Em termos de planejamento de fármacos, os tiazóis, assim como os demais azóis do grupo de heterociclos de cinco membros, mostram-se excelentes blocos de construção, pois modificações nas suas estruturas podem dar origem a diferentes propriedades químicas que podem levar a baixos ou nenhum efeito colateral quando usados área terapêutica^{92,88}.



Esquema 1 – Reações de substituição nucleofílica e eletrofílica em um anel tiazólico genérico.

De acordo com Mcinnes e colaboradores (2004), a presença de azóis, como oxazóis e tiazóis na estrutura de um composto podem levar a inibição das proteínas quinases, que são essenciais no controle intracelular, regulação e transdução de sinais em células eucariotas^{93,94}.

Pelas razões anteriormente citadas, o núcleo tiazol é frequentemente encontrado como uma subunidade em fármacos⁹⁵⁻⁹⁸, como por exemplo, no sulfatiazol um antimicrobiano, do ritonavir que combate o vírus HIV e Desatinibe utilizado no tratamento de leucemia mieloide crônica⁹⁹, estes são mostrados na Figura 13.

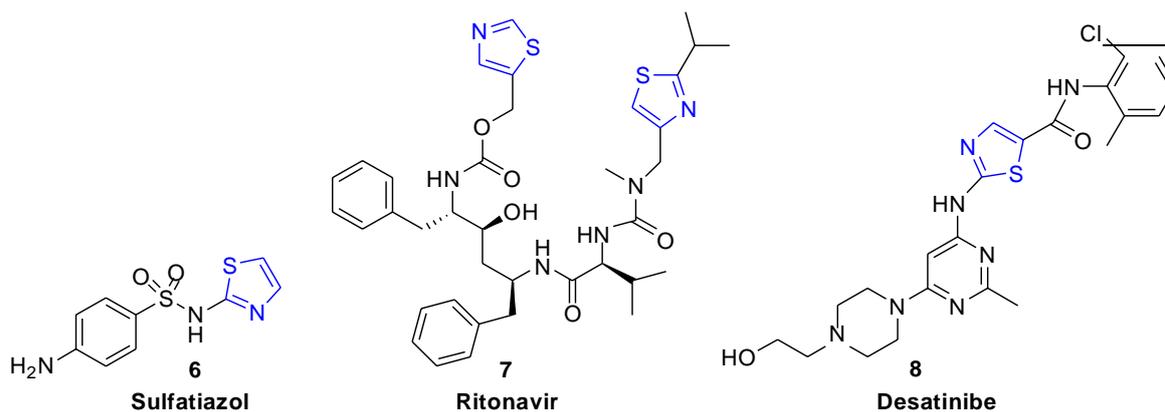
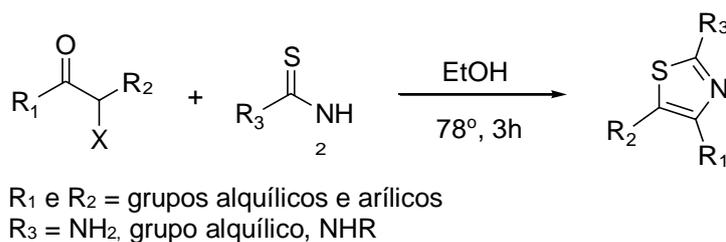


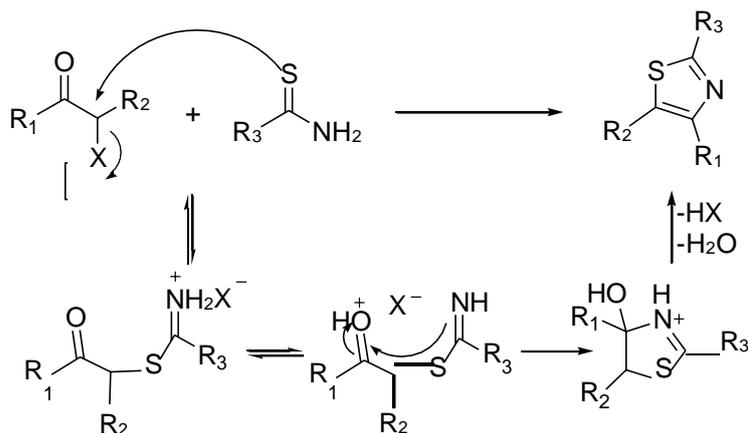
Figura 13 - Estrutura dos fármacos contendo anel tiazólico.

O método clássico para a produção deste heterociclo com diferentes padrões de substituição é a síntese de tiazóis de Hantzsch do ano de 1887, baseada na condensação entre tioamidas primárias ou tioureias (substituídas ou não) com compostos α -halocarbonílicos (Esquema 2)⁹⁸.



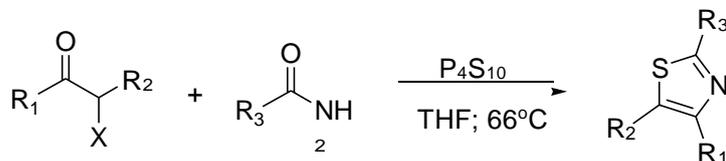
Esquema 2 - Preparação de tiazóis, a partir de α -bromocetonas e tioamidas (ou tioureias) via metodologia de Hantzsch.

No mecanismo dessa reação (Esquema 3) observa-se na primeira etapa o ataque do enxofre no carbono halogenado do α -halo aldeído ou da α -halo cetona ocorrendo então a substituição nucleofílica. Em seguida, ocorre transferência protônica no sal S-alquilimínio formado e por fim há a ciclização produzindo um sal de 4-hidroxi-2-tiazolina, que é convertido no tiazol 2,5 dissustituído, em solvente prótico com eliminação de água catalisada por ácido.



Esquema 3 – Proposta de mecanismo para a formação de um tiazol pelo método de Hantzsch.

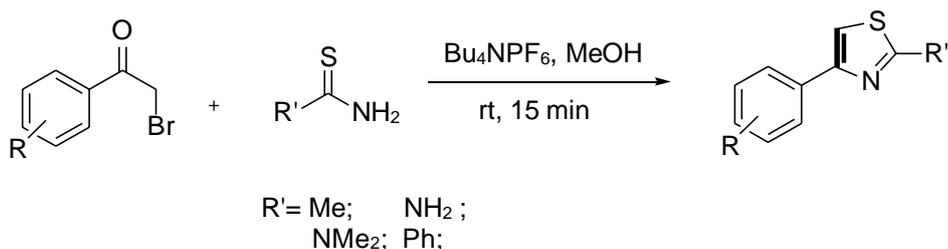
Uma metodologia desenvolvida pelo grupo de Erlenmeyer (Esquema 4) em 1945 dispensou o uso das tioamidas comerciais, elas passaram a ser formadas *in situ*, porém esse método apresenta muitas desvantagens, uma vez que exige o excesso de pentassulfeto de fósforo (P_4S_{10}), atmosfera inerte, o uso de solvente anidro (dioxano ou THF), além do tempo reacional elevado e baixo rendimento global que varia entre 40% a 70%⁹⁸.



R_1 e R_2 = H, grupos alquílicos, grupos arílicos;
 R_3 = NH_2 , grupo alquílico;

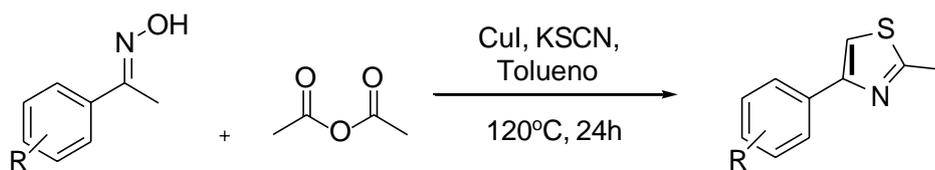
Esquema 4 – Método reacional com formação de tioamidas *in situ*.

Uma adaptação recente do método de Hantzsch foi desenvolvida por Kocabas e colaboradores (2010)¹⁰⁰ com objetivo de sintetizar tiazóis substituídos nas posições 2 e 5. Nele, diversos tiazóis foram obtidos a partir da reação entre acetofenonas α -bromadas substituídas com grupos doadores e retiradores de elétrons e derivados de tiourea/tioamidas na presença de hexafluorofosfato de tetrabutilamônio (Bu_4NPF_6) à temperatura ambiente e sob intensa agitação (Esquema 5). Independentemente da substituição nos brometos de fenila foram alcançados altos rendimentos, variando entre 81% e 96%.



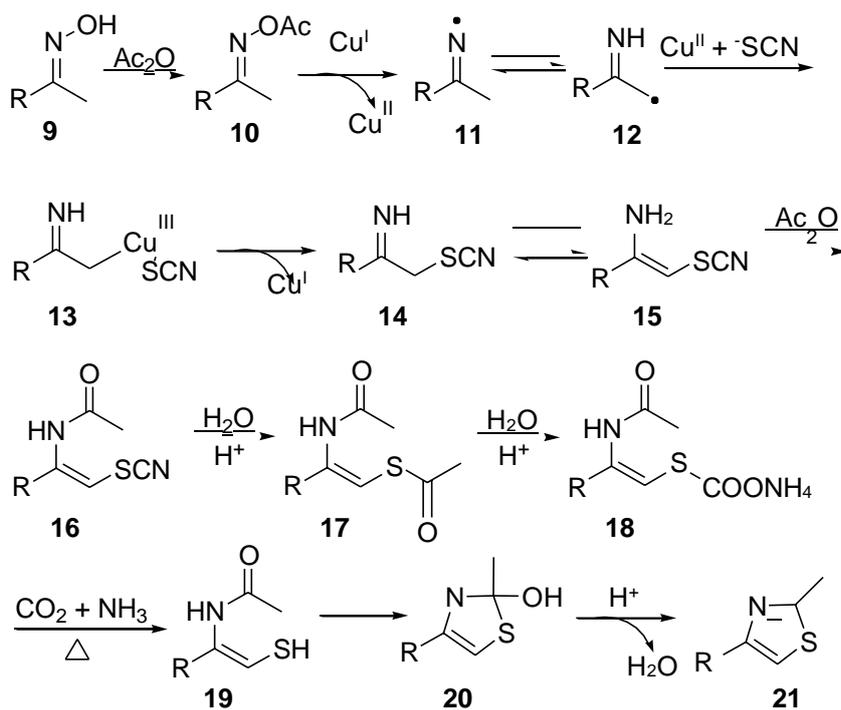
Esquema 5 - Síntese de derivados de tiazol na presença de hexafluorofosfato de tetrabutilamônio.

Um método alternativo para formação de tiazóis foi descrito em 2016 por Tang e colaboradores. Nessa reação ocorre uma condensação do tipo [3+1+1] catalisada por cobre, entre uma oxima e o tiocianato de potássio (KSCN) na presença de anidridos de ácidos carboxílicos (Esquema 6). Essa reação leva a tiazóis com bons rendimentos sob condições de reação moderadas¹⁰¹.



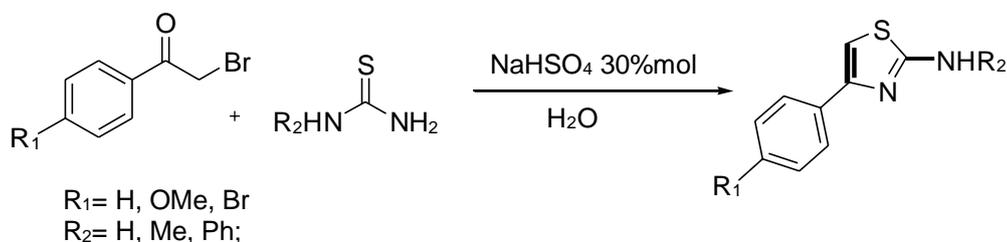
Esquema 6 -- Síntese de tiazóis via reação de condensação do tipo [3+1+1] catalisada por cobre

A explicação detalhada desta reação está representada no Esquema 7, tendo como base experimentos de controle reacional. Para iniciar a reação a cetoxima (**9**) reage com o anidrido acético disponível gerando o composto **10**, em seguida, o radical livre imina (**11**) é formado a partir da redução do composto **10** pelo mecanismo de transferência de um único elétron (SET) do CuI. O composto **11** se converte rapidamente no isômero **12**, e este último captura um elétron do Cu^{II} e então reage com o ânion tiocianato fornecendo o composto Cu^{III}-alquila (**13**). O intermediário **14** é formado por eliminação redutiva do Cu^{III} em **13**. Após isso, ocorre o processo de isomerização levando ao intermediário **15** e em seguida ocorre a acilação deste gerando o intermediário **16**. Logo após, o intermediário **18** é gerado por um processo de hidrólise em duas etapas em condições ácidas. O Intermediário **19** é formado quando o composto **18** perde dióxido de carbono e amônia em condições de aquecimento. Finalmente, ocorre o ataque nucleofílico intramolecular do enxofre na carbonila do composto **19**, seguido de desidratação intramolecular de **20** dando origem ao produto esperado (**21**). A reação global ocorre sob condições redox-neutras e para os autores isso é um novo caminho para a síntese de tiazóis partindo de oximas.



Esquema 7 – Etapas da reação de formação do tiazol via oxima pelo método [3+1+1].

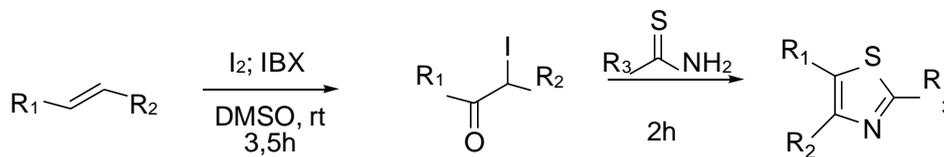
Atualmente uso das metodologias que levam em conta os princípios da química verde vêm se tornando mais comuns e ganhando destaque, uma destas foi desenvolvida por Rostamizadeh e colaboradores¹⁵⁶, para a síntese de 2-amino-1,3-tiazóis usando um procedimento de baixo impacto ambiental, os melhores resultados desse estudo foram alcançados quando a água foi usada como solvente e NaHSO_4 como catalisador, o tempo reacional é inferior a 1h e o rendimento chegou a alcançar 81%, a reação está representada no Esquema 8.



Esquema 8 – Síntese de tiazóis por protocolo verde.

Outra metodologia (Esquema 9) descrita na última década por Donohoe e colaboradores¹⁵⁷ consiste na síntese de 1,3-tiazóis partindo de alcenos, para isso emprega-

se o iodo molecular para promover a ciclização, pois a halogenação das α -multi-cetonas nesse tipo de reação ocorre *in situ*, evitando assim o isolamento de α -halo-cetonas e levando a altos rendimentos entre 67% e 83%. Neste tipo de reação o IBX que é um oxidante age na conversão do alceno em cetona.



Esquema 9 – Síntese de tiazóis a partir de alcenos.

Através destas e muitas outras metodologias, novos derivados de tiazol vêm sendo sintetizados e utilizados na composição de potenciais fármacos que são avaliados frente a diversas doenças, e quando estes obtêm resultados satisfatórios em todas as etapas, passam a ser disponibilizados no mercado de fármacos.

2.3.1. Derivados de tiazol com atividade anti *T. cruzi*

Uma das razões para os tiazóis serem interessantes estruturas protótipos são seus precursores químicos de síntese acessível e baixo custo. Soma-se a isso o fato das reações de obtenção destes compostos normalmente apresentarem bons rendimentos e capacidade de diversidade química tanto em relação à α -halocetona quanto em relação ao tiocomposto ($RCSNH_2$) empregados na síntese⁹⁸.

Pelo fato do anel tiazólico ser um isómero do anel imidazol presente no fármaco benzimidazol, como pode ser visto na Figura 14, muitos compostos com um núcleo tiazólico têm sido avaliados contra *T. cruzi*^{15,102}. Alguns deles, como o ravuconazol (Figura 11), têm mostrado potencial tripanocida e viabilidade celular igual ou superior ao fármaco anti-chagásico de referência⁸¹. Essas características observadas são fundamentais no planejamento de novos fármacos que combatam a tripanossomíase.

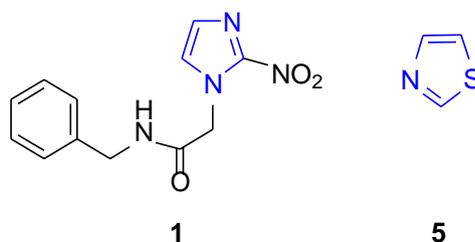
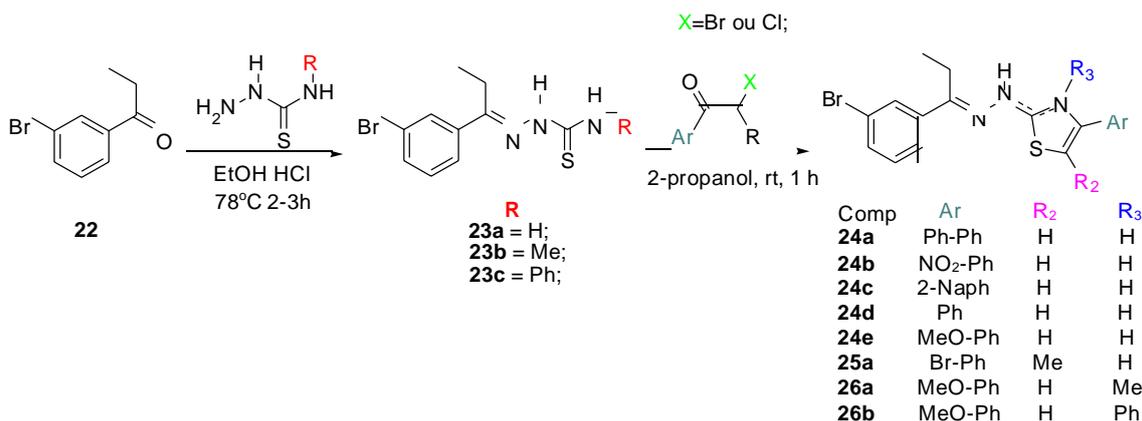


Figura 14 - Semelhança nas estruturas do imidazol do BZ e um tiazol genérico.

Recentemente, Gomes e colaboradores (2016) descreveram uma série de compostos derivados do tiazol com atividade tripanocida *in vitro* semelhante ao benzimidazol. O estudo visou comparar a atividade e a citotoxicidade de moléculas contendo o anel tiazol com aril tiossemicarbazonas, já amplamente investigadas como potenciais inibidoras da cruzaina de *T.cruzi*¹⁶. Além disso, também foi determinado o índice de seletividade (IS), que relaciona a citotoxicidade de uma molécula às células de mamíferos e sua atividade tripanocida, ou seja, quanto um composto é ativo contra o parasito sem prejudicar as células de mamíferos^{104,105}.

Os compostos produzidos nesse estudo foram sintetizados em duas etapas, na primeira a 3-bromofenil-1-propanona foi reagida com a tiossemicarbazida correspondente em refluxo de etanol, catalisado por HCl, durante 3 horas e na etapa final o intermediário tiossemicarbazona foi reagido com a halo-cetona correspondente, em 2-propanol, em temperatura ambiente por 1 hora (Esquema 10).



Esquema 10 – Síntese dos compostos empregados nesse estudo das tiossemicarbazonas (**23a-23c**); e dos tiazóis (**24a-24e**; **25a**; **26a-26b**);

Em relação à citotoxicidade à célula hospedeira, a tiossemicarbazona e o 1,3-tiazol que não apresentam substituição (**23a** e **24d**) mostraram-se tóxicos nas dosagens de 35 μM e 64 μM respectivamente. Foi identificado que a inserção de um substituinte na posição *para* da arila ligada a C5 do tiazol aumenta a tolerância das células aos compostos (Figura 15)¹⁶.

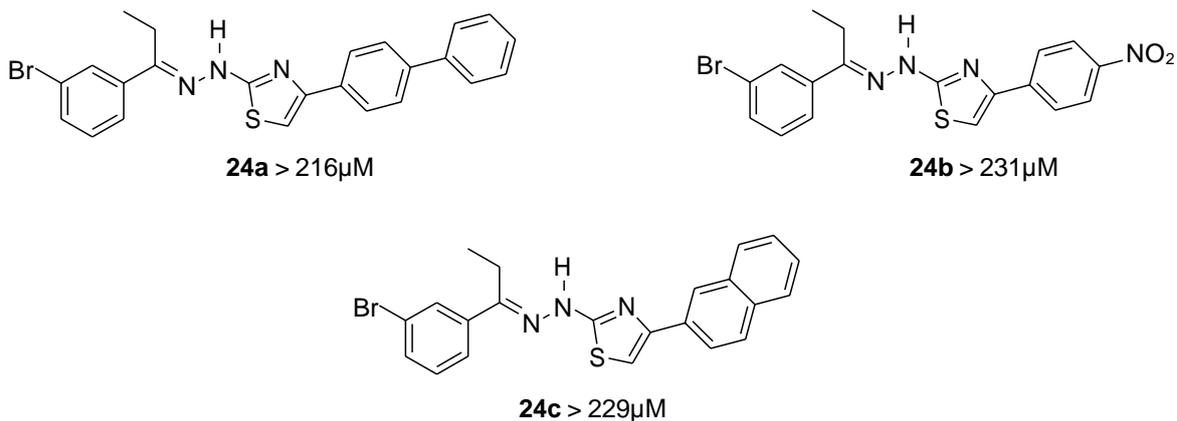


Figura 15 – Citotoxicidade de alguns derivados arilados de tiazol.

As moléculas sintetizadas com a estrutura hidrazinil-1,3-tiazóis dispostas no Esquema 10 foram testadas em ensaios *in vitro* mostrando atividade antiparasitária substancial contra as formas epimastigota e tripomastigota de *T. cruzi*¹⁶. Através da pesquisa observou-se que compostos contendo o grupo metoxi (**24e**) como substituinte apresentam importante atividade antiparasitária, bem como a biarila (**24a**), que levou a um composto 4 vezes mais seletivo que a fenila (**24d**). Por outro lado, compostos que contém um grupo rígido, como o naftil (**24c**) (Figura 15), não apresentaram atividade tripanocida tão elevada quanto os compostos com substituição mais flexível.

A adição de metila na posição C5 do anel de tiazol, levou a uma drástica elevação na citotoxicidade (12 μ M) quando comparada aos compostos da série que não apresentam esta substituição, e a uma boa atividade tripanocida (4,79 μ M). Quando uma metila ou uma fenila é inserida na posição N3 no anel tiazólico (**26a** e **26b**) e este é comparado ao seu análogo **24e** observa-se a redução da atividade antiparasitária frente a forma tripomastigota, indo de 3,84 μ M em **24e** para 76 μ M e 56 μ M, para **26a** e **26b**, respectivamente. Além disso, os compostos **26a** e **26b** tem um baixo IS e são 50% mais tóxicos que **24e**¹⁶. Os compostos com substituições em C-4 e em N3 tem sua estrutura apresentada na Figura 16.

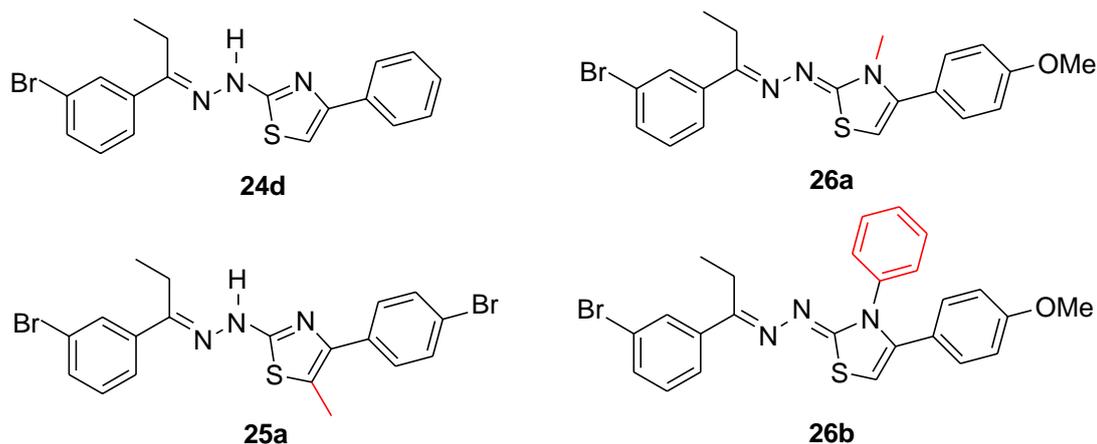


Figura 16 - Derivados com a estrutura hidrazinil-1,3-tiazóis com substituições em C5 e no N do anel tiazólico.

Apesar dessas moléculas terem sido planejadas como potenciais inibidoras da cruzaina, os derivados com maior ação tripanocida mataram o parasita, mas não inibiram a atuação da enzima, o que indica a atuação destes em outros alvos moleculares¹⁶.

Os compostos com melhor atividade antiparasitária foram **24e** e **24a** (Figura 17), e para além disso, a molécula **24a** apresentou índice de seletividade (IS) duas vezes melhor para a forma tripomastigota que todos os compostos testados nessa série e que o BZ¹⁶.

R₂ = Metil ou fenil reduzem a atividade tripanocida



R₁ = Metoxi e fenila aumentam a atividade tripanocida

R₃ = Metila aumenta a atividade tripanocida

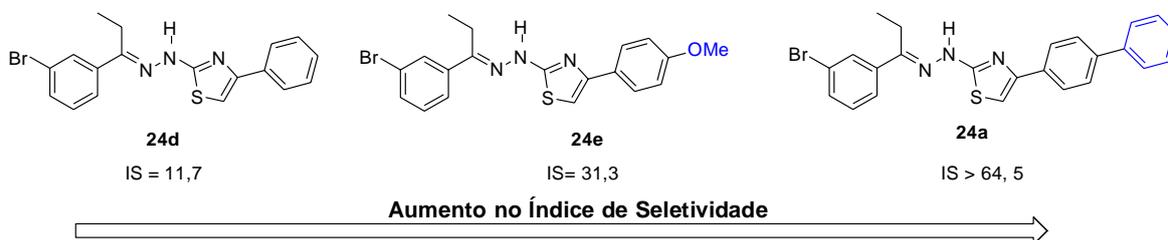
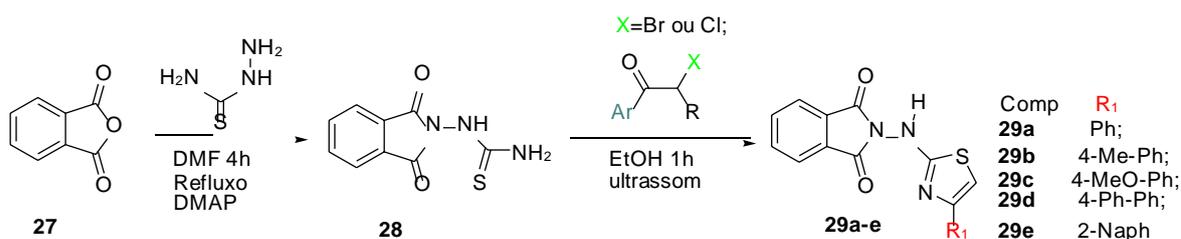


Figura 17 - Análise da atividade tripanocida de tiazóis e seletividade frente a *T. cruzi*.

O mesmo grupo de pesquisa desenvolveu uma série nova com compostos com potencial anti *T. cruzi* baseados na estrutura ftalimido-tiazol (Esquema 11) buscando alta

atividade tripanocida e baixa toxicidade. Para isso foram analisados os efeitos de diferentes grupos arila na posição 4 (R_1) do tiazol¹⁰⁷.

A nova série de compostos foi preparada seguindo duas etapas: reação de anidrido ftálico (**27**) com tioamicarbazida, em DMF sob refluxo por 4h, com uma quantidade catalítica de DMAP levando ao intermediário ftalimido; e síntese da porção tiazólica via Ciclização Hantzsch entre o composto **28** e a α -halo-cetona apropriada sob irradiação de ultrassom, à temperatura ambiente por 1 hora.



Esquema 11 – Síntese dos ftalimido-tiazol.

Da primeira série, apenas o composto com o grupo nafil (29e) substituído em R_1 mostrou importante atividade tripocida (em epimastigotas $IC_{50} = 8.0 \mu M$ e em tripomastigotas $IC_{50} = 4.7 \mu M$), atrelado a sua baixa citotoxicidade ($>269,2 \mu M$). Por isso, Gomes e colaboradores (2016), passaram a investigar a influência da adição de um grupo espaçador ($-CH_2-CH=N$) entre a ftalimida e o núcleo tiazólico (Figura 18) na atividade biológica, além da adição de uma fenila em N3 no anel tiazólico¹⁰⁷.

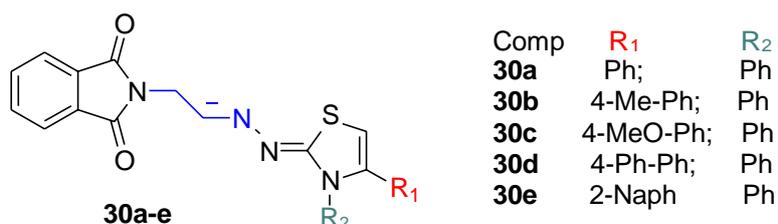


Figura 18 – Nova série de ftalimido-tiazol com adição de grupo espaçador ($-CH_2-CH=N$).

Para esta nova série, a atividade tripanocida apresentou valores de IC_{50} variando entre $0,5 \mu M$ e $98 \mu M$, mostrando excelente desempenho frente a forma tripomastigota da cepa Y, levando a alterações estruturais na morfologia do parasito, como encurtamento do flagelo, alteração nos reservossomos, condensação anormal de cromatina, vacuolização intensa no citoplasma, inchaço do cinetoplasto e dilatação do retículo endoplasmático¹⁰⁷.

Novamente, o grupo arila que levou ao composto com maior atividade foi o nafil

(**30e**) (Figura 19) (em epimastigotas $IC_{50}= 11.9\mu M$ e em tripomastigotas $IC_{50}= 0.5\mu M$) apresentando um índice seletivo de 409, sendo 26 vezes mais seletivo do que BZ. Ademais, todas as moléculas aril substituídas apresentaram alta tolerância citotóxica na concentração tripanocida nas células do baço de camundongos infectadas com a forma tripomastigota, mostrando-se mais seguras que o fármaco padrão no uso clínico. Dessa forma, os autores consideram que os ftalimido-tiazóis podem ser candidatos promissores para tratar a tripanossomíase¹⁰⁷. Diferente dos resultados do trabalho anterior, foi verificado que a inserção de uma ramificação no nitrogênio tiazólico do composto, em específico naquele com substituição naftil (**29e**), leva a um aumento extra na atividade tripanocida.

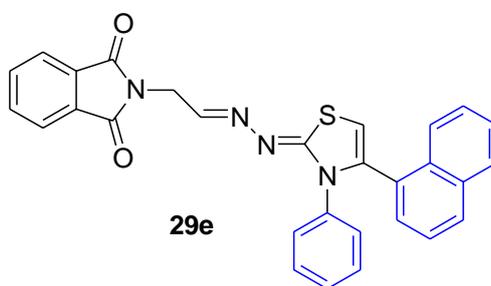


Figura 19 - Estrutura do composto mais efetivo frente a forma tripomastigota da Cepa Y do estudo realizado com a inserção do espaçador (-CH₂-CH=N).

Nogueira e colaboradores (2018) analisaram por simulação molecular (superposição molecular, docking e dinâmica molecular) uma série de 4-ariltiazolilhidrazonas (Figura 20) com potencial atividade tripanocida. Eles avaliaram os efeitos tanto de modificações no grupo arila ligado ao aril tiazol (R₄), quanto no anel aromático ligado à porção hidrazona (com variações de R₁, R₂ e R₃)¹⁸.

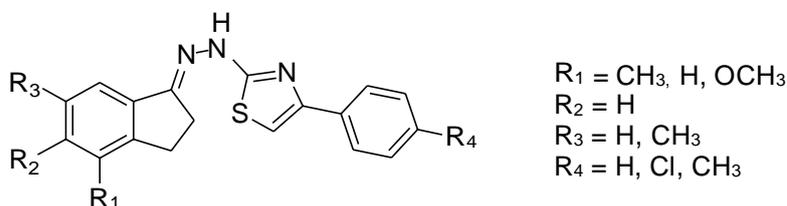


Figura 20 - Estrutura base de 4-ariltiazolil-hidrazonas

Esses compostos apresentaram atividades promissoras contra a forma epimastigota de *T. cruzi*. O mecanismo de ação desses derivados de tiazol está relacionado à inibição da esqualeno epoxidase (SE), o que diminui a produção de ergosterol, composto essencial na constituição da membrana celular em parasitas

tripanossomas, desempenhando papel estrutural análogo ao colesterol em humanos, sendo que não havia relatos sobre esta avaliação experimental na literatura até a realização do presente estudo¹⁸. Cabe ressaltar que a inibição dessa enzima leva ao acúmulo de esqualeno, que é um intermediário da rota de produção do ergosterol. A análise do modelo 3D mostrou que a presença de dois grupos hidrofóbicos (cloroarila e para-tolil) e um acceptor de ligação de hidrogênio (nitrogênio do anel tiazólico) é essencial à inibição da SE.

Assim, através de modelagem os autores concluíram que há correlação entre a atividade anti *T. cruzi* e o acúmulo de esqualeno para a maioria das moléculas analisadas, sendo o composto mais ativo, aquele que levou a maior acúmulo de esqualeno (**30**) (Figura 21)¹⁸.

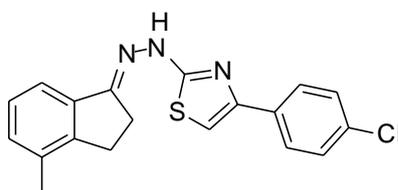
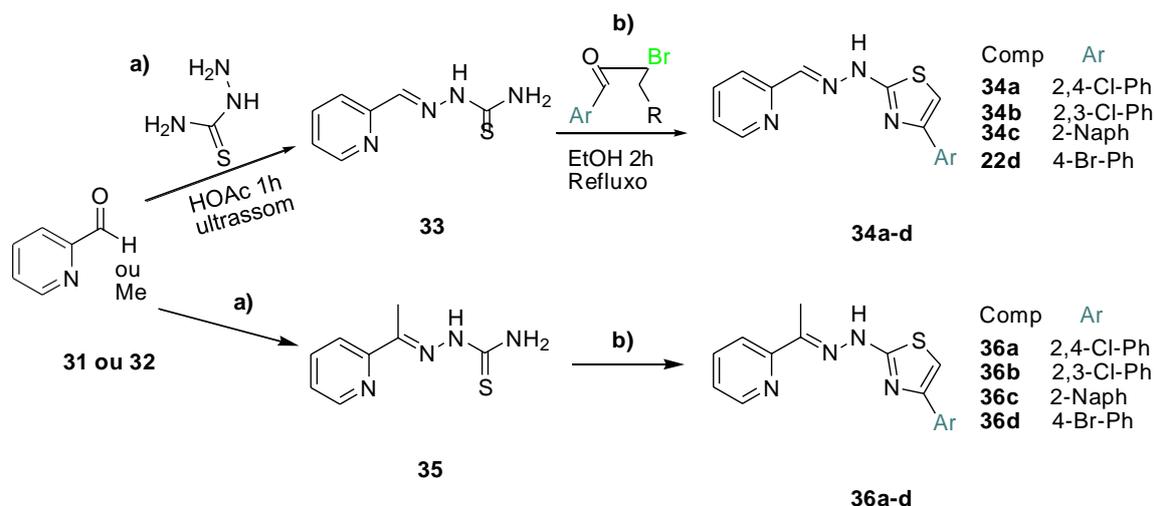


Figura 21 - Derivado de tiazol (**30**) que levou a maior acúmulo de esqualeno, através da inibição da esqualeno oxidase.

Adicionalmente, foram realizados estudos *in silico* que confirmaram a capacidade das 4-ariltiazolil-hidrazonas de acumular esqualeno e conseqüentemente inibir a esqualeno epoxidase de *T. cruzi*, o que para os autores, são dados importantes para a concepção de novos inibidores de SE e posteriormente podem se tornar medicamentos viáveis no tratamento da doença de Chagas¹⁸.

No trabalho de Cardoso e colaboradores (2014), derivados de tiazóis substituídos com grupos arila na posição 4 e com grupos hidrazônicos na posição 2 (Esquema 12) são apresentados como inibidores em potencial da cruzaina, sendo sua atividade comparada à da tiossemicarbazona intermediária (**33**)¹³.

Os compostos dessa série foram preparados reagindo tiossemicarbazidas com o aldeído (compostos sem substituição) ou cetona (para adição da ramificação metílica) via condensação para base de Schiff usando irradiação de ultrassom na presença de AcOH. A Ciclização de Hantzsch foi usada para a formação do anel tiazol em refluxo de etanol por 2 horas.



Esquema 12 – Síntese de tiossemicarbazonas com anel piridino e da série 2-(piridin-2-il)-imino-tiazóis (**34a-d**; **36a-d**)

O estudo mostrou novas relações estruturais de ação anti *T. cruzi* em relação à substituição na porção arilica de 2-(piridin-2-il)-1,3-tiazóis no desenvolvimento de novos medicamentos para tratar a doença de Chagas, sendo os compostos **34a** e **34b** (Figura 22) os mais potentes com valores IC_{50} de 1,2 mM. Porém, estes apresentaram índice de inibição da cruzaina próximo a zero, mostrando que o mecanismo de atuação das moléculas **34a** e **34b** no parasito se dá por outra via. Cabe ressaltar que todos os novos tiazóis desta série foram tanto ou mais eficazes que o Benznidazol¹³.

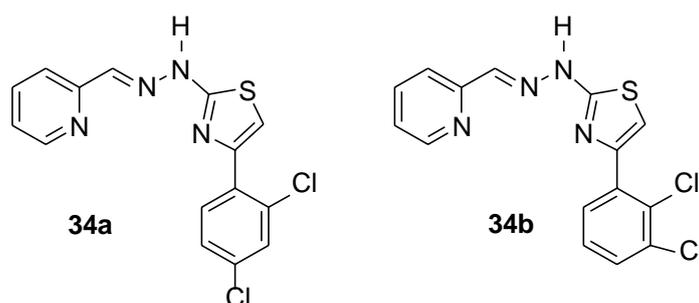


Figura 22 - Estrutura dos tiazóis mais potentes que o Benznidazol nos testes *in vitro*.

Por isso, o grupo realizou adaptação na estrutura destas moléculas adicionando a ramificação metila (**36a-d**), a síntese destes está disposta no Esquema 12. Ao realizar os testes para essa nova série observou-se que a cruzaina é potentemente inibida por vários compostos chegando a uma porcentagem de inibição próxima a 90%. Os compostos contendo a porção tiazólica mostraram atividade tripanocida superior à das tiossemicarbazonas de partida, mostrando potência semelhante ao benznidazol frente as

formas tripomastigotas e epimastigotas (Tabela 1)¹³. Para efeito de ilustração, na Figura 23 são mostradas as estruturas dos compostos que obtiveram os resultados mais relevantes nesse estudo, além dos compostos **34a** e **34b**.

Tabela 1: Comparação da atividade tripanocida dos principais 2-(piridin2-il)-1,3-tiazóis com e sem substituição no carbono c6 da hidrazona.

| Composto | % de inibição da cruzaina em 100µM | IC50 tripomastigotas ^a | IC50 epimastigotas ^b | HepG2 ^b |
|------------|------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------|
| 33 | 1 | 17 | 119 | ND |
| 35 | 5 | 2,8 | 4,5 | ND |
| 34a | 0 | 1,2 | 4,8 | 100 |
| 36a | 81 | 1,9 | 14,9 | 100 |
| 34b | 21 | 1,2 | 4 | 100 |
| 36b | 89 | 3,1 | 5,0 | 100 |
| 34c | 2,1 | 18,3 | 10 | 100 |
| 36c | 2,3 | 2,3 | 27 | 85,1 |
| 34d | 3 | 2,1 | 8,3 | 100 |
| 36d | 94 | 2 | 4,1 | 100 |
| BZ | ND | 6,2 | 6,6 | ND |

a: tempo de incubação de 24 horas; b: tempo de incubação de 72 horas;

Fonte: Adaptado de Cardoso (2014)¹³

Outro aspecto importante é que adição da metila na semicarbazona melhorou a atividade tripanocida do composto de partida, além de incrementar seu potencial de inibição da cruzaina. Quanto a citotoxicidade, a maioria dos compostos demonstrou baixa citotoxicidade para HepG2 (linhagem celular hepática que secreta uma variedade de grandes proteínas plasmáticas)¹³.

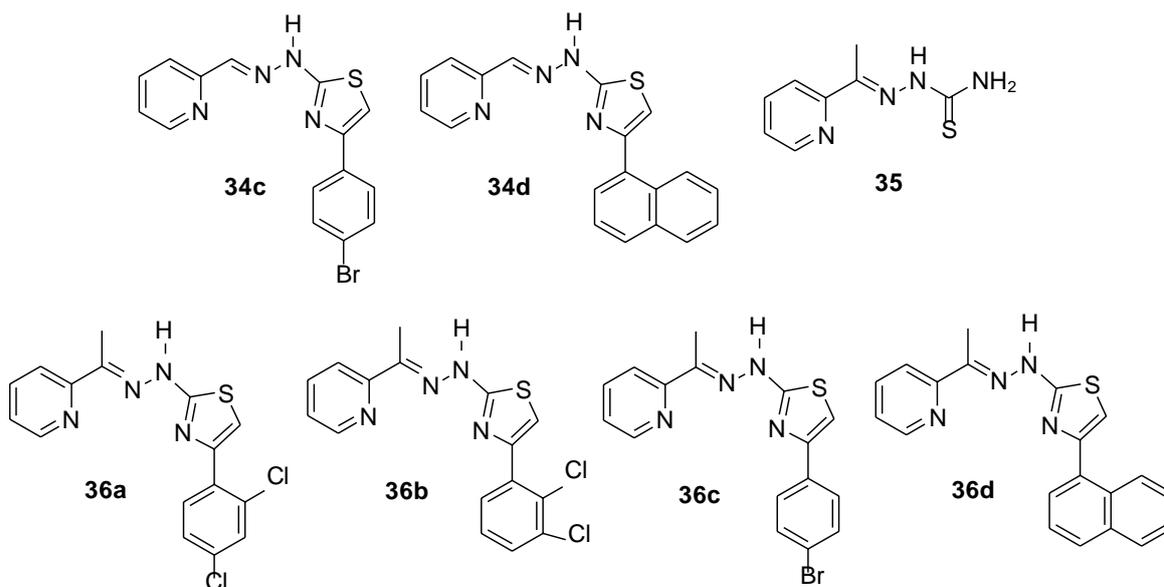


Figura 23 – Estrutura dos compostos mais relevantes do estudo

A análise das estruturas não revelou uma correlação entre ligantes com substituintes doadores ou receptores de elétrons em termos de atividade tripanocida. Os estudos *in silico* apontaram para inibição *in vitro* da cruzaina, mostrando que moléculas com maior afinidade ao sítio também são potentes inibidoras para cruzaina¹³. Um esquema geral sobre os efeitos dos grupos ligados ao anel tiazólico estão resumidos na Figura 24.

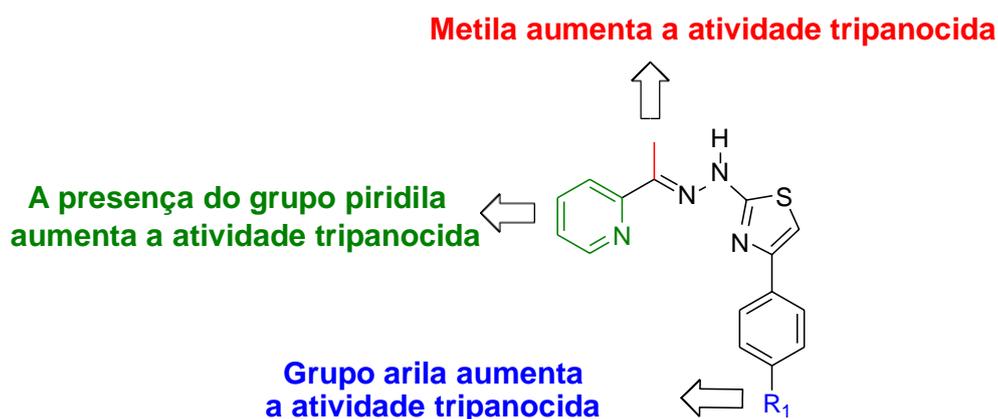
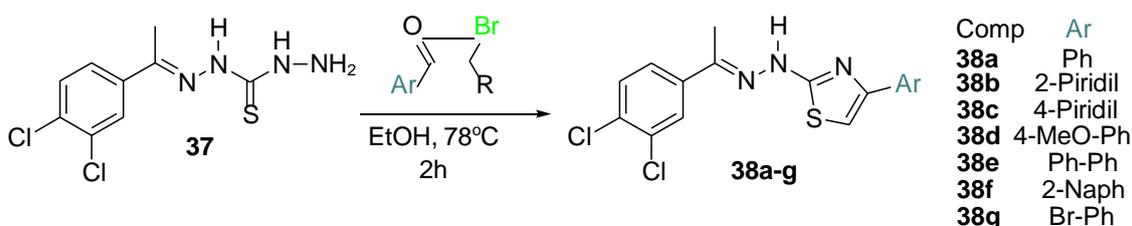


Figura 24 - Análise do efeito dos grupos ligados ao tiazol na atividade tripanocida.

Retirado de¹³

Sabendo da elevada atividade tripanocida dos compostos contendo o grupo piridina, metoxila, biarila e naftila, o mesmo grupo realizou um novo estudo sobre a efetividade das substituições na posição C5 do tiazol, utilizando a mesma rota do trabalho

anterior (Esquema 13)¹⁰⁸. Assim, verificaram que ao trocar uma fenila (**38a**) que apresenta IC₅₀ contra a forma tripomastigota > 50 µM pelo heterociclo 2-piridil (**38b**), o IC₅₀ caiu para excelente valor de 0,37 µM, já para o anel 4-piridil (**38c**), o IC₅₀ foi 16,8µM, se mantendo relativamente baixo em comparação a substituição fenila, mostrando então que estes heterociclos levam a um excelente incremento na atividade antiparasitária.



Esquema 13 – Síntese da série de ariltiazóis com substituição em C5.

O heterociclo 2-piridil é uma substituição importante, pois tem reconhecida atividade biológica uma vez que facilita a ligação de com um possível alvo biológico por possuir um aceptor de ligação de hidrogênio¹⁰⁸. Com esses resultados identificou-se que o composto **38b** foi 27 vezes mais potente do que o benznidazol, induzindo as células parasitárias a morte por apoptose. Outra substituição que mostrou importante atividade tripanocida foi a metoxila (**38d**) que culminou num IC₅₀= 17,1 µM. Por outro lado, a troca por biarila (**38e**), naftila (**38f**) ou 4-bromofenila (**38g**) não resultou em aumento da atividade tripanocida, tendo os três compostos IC₅₀>50 µM.

Em relação à citotoxicidade os compostos com substituição piridina (**38b** e **38c**) se mostraram tóxicos em concentrações menores que 50 µM tanto para os macrófagos quanto para o cardiomioblasto de rato H9c2. Já os compostos **38d**, **38e**, **38f** e **38g** apresentaram baixos níveis toxicidade (>50 µM) mostrando que as vias podem ser modificadas afim de melhorar a atividade tripanocida destes compostos.

Assim, os autores identificaram que os compostos **38c** e **38d** apresentam atividade tripanocida similar a do fármaco referência (BZ). Além disso, ao combinar **38b** (o composto mais efetivo da série) e BZ observaram que estes levam a efeitos sinérgicos, diminuindo significativamente a parasitemia sanguínea nos ratos, mostrando um perfil promissor para combinação de drogas¹⁰⁸.

Nesse sentido, o avanço nos estudos químicos pode permitir a exploração e a otimização de propriedades físico-químicas de compostos contendo um núcleo tiazólico, viabilizando assim, a descoberta de novos candidatos a fármacos que possam auxiliar no tratamento de diversas doenças infecciosas negligenciadas, dentre elas, a Doença de Chagas.

Além disso, não foram encontrados estudos abordando moléculas similares ao ravuconazole, que não apresenta porção imino ou hidrazona ligada ao anel tiazólico. Dessa forma cabe planejar moléculas que contenham as características apontadas nos estudos aqui apresentados (Figura 25) e, para mais, que possam ampliar a variedade de funções químicas presentes em compostos que sejam aplicáveis no tratamento da tripanossomíase.

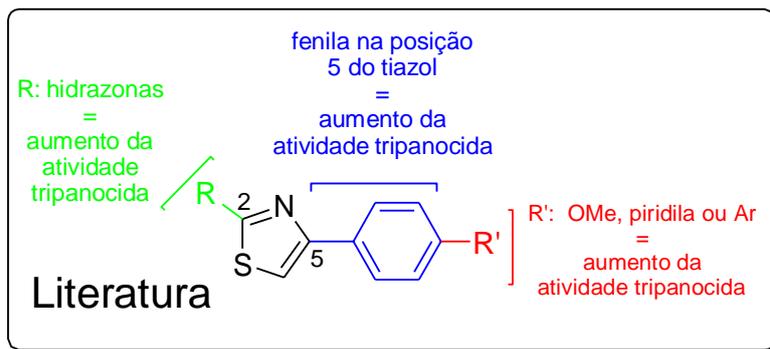


Figura 25 – Algumas substituições nos tiazóis que os levam a aumento na atividade contra *T.cruzi*.

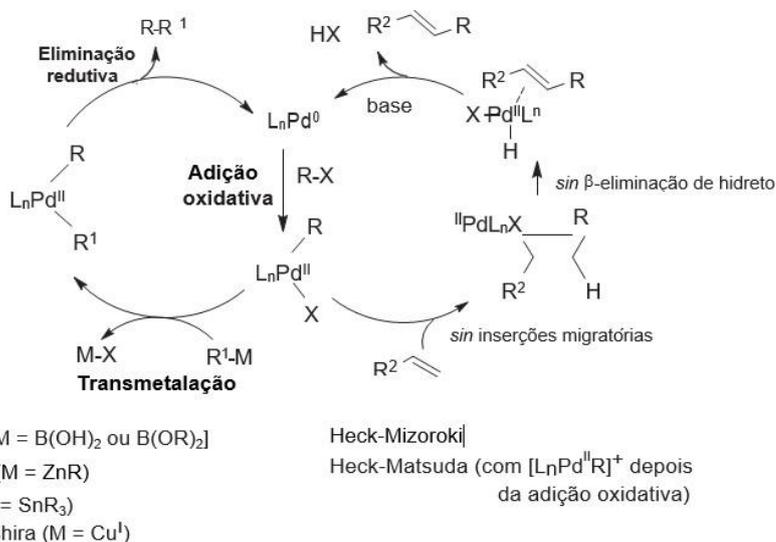
2.4 Reações de acoplamento e a síntese de fármacos

A evolução na síntese orgânica no mundo começou a se intensificar na segunda metade do século XX, especialmente com a descoberta de vias sintéticas empregando compostos organometálicos, como o organopaládio, que possibilitaram além da formação de ligação do tipo C-C, até então complexa via metodologias tradicionais - a transformação de grupos funcionais, aumentando sua aplicação na área medicinal, conferindo assim, um caráter ainda mais dinâmico e interdisciplinar à química orgânica^{19,109,110}.

Nas reações de acoplamento, dois fragmentos orgânicos são acoplados na presença de um catalisador metálico formando ligações carbono-carbono ou carbono-heteroátomo através da transmetalção de compostos organometálicos nucleofílicos com eletrófilos orgânicos¹¹¹. Esse tipo de reação foi impulsionada nas décadas de 1970/80, quando Suzuki-Miyaura, Kumada-Tamao-Corriu, Mizoroki-Heck, Sonogashira, Stille, Negishi e Hiyama apresentaram diversos trabalhos descrevendo o uso de metais de transição como catalisadores na construção desse tipo de ligação¹¹², e continua relevante até hoje, com a larga aplicação do paládio, tendo os professores Richard F. Heck, Ei-ichi Negishi e Akira Suzuki sido laureados com o prêmio Nobel de Química em 2010, pela

Academia Real das Ciências da Suécia, por seus esforços na diversificação do emprego deste metal de transição na síntese orgânica¹¹³.

Existem inúmeros sistemas catalíticos usados nas reações de acoplamento, cada um contendo suas particularidades, porém, existem três etapas consecutivas praticamente invariáveis^{111,114,115}, como visto no Esquema 14: i) adição oxidativa que normalmente envolve um haleto orgânico (eletrófilo) e um complexo de níquel(0) ou paládio(0). ii) transmetalção caracterizada pela transferência de ligantes de um metal para outro, formando o intermediário $\text{RMetalR}'$ (dependente dos reagentes e das condições reacionais empregados), iii) eliminação redutiva leva a molécula alvo contendo a ligação C-C formada nesta etapa e a “regeneração da espécie catalítica”¹¹². O Esquema 14 também decreve as reações de Mizoroki-Heck e Heck-Matsuda, onde, respectivamente haletos orgânicos e sais de arildiazônio são acoplados com olefinas. Nessas reações, além da adição oxidativa e da eliminação redutiva, existem as etapas elementares de inserção/migração e β -eliminação.



Esquema 14 - Ciclo catalítico das principais reações de acoplamento cruzado catalisadas por paládio. Adaptado de¹²³.

A eficiência de um sistema catalítico pode ser alcançada alterando um ou mais reagentes envolvidos na reação¹¹⁶, principalmente os ligantes – geralmente fosfinas^{117,118} - empregados nesse tipo de reação por sua “capacidade de se coordenar e estabilizar o precursor metálico”¹¹⁹.

2.4.1. Reação de Acoplamento de Suzuki

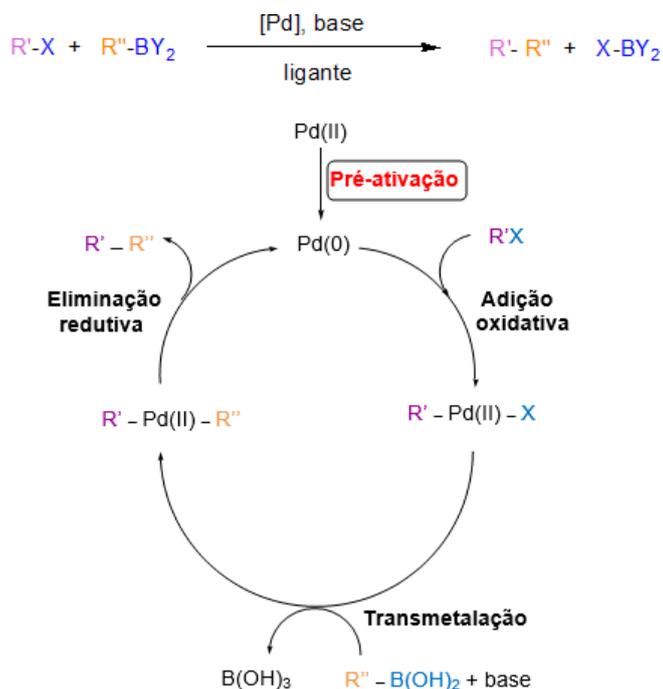
O primeiro estudo do sistema catalítico para a reação entre haletos de arila e ácidos arilborônicos foi publicado em 1981 por Suzuki e Miyaura (Esquema 15). Esta reação empregava haletos (brometos ou iodetos) de arila e ácidos arilborônicos usando $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ como catalisador, levando à formação de compostos do tipo bifenilas com rendimentos altos de até 98%^{120,20}.



Esquema 15 - Sistema catalítico desenvolvido por Suzuki.

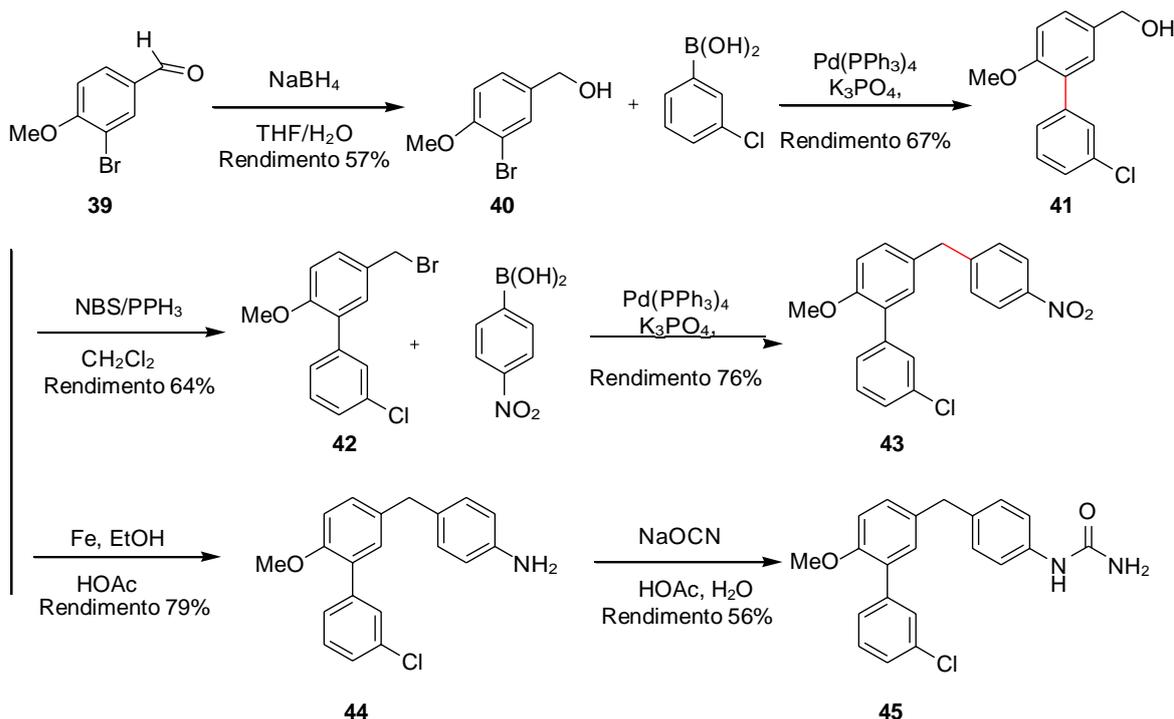
O mecanismo clássico para o acoplamento de Suzuki é mostrado no Esquema 16. O processo se inicia pela pré-ativação do precursor de Pd(II), levando com a uma espécie de Pd(0), e esta entra no ciclo catalítico, onde sofre a adição oxidativa, etapa determinante da velocidade da reação, do haleto orgânico e gera o intermediário $\text{R}^1\text{Pd}^{\text{II}}\text{X}$. Na etapa seguinte, a transmetalção, o intermediário formado reage com um ácido arilborônico que foi ativado pela base. Por fim, o intermediário $\text{R}^1\text{Pd}^{\text{II}}\text{R}^2$ sofre a eliminação redutiva, o que ocasiona a formação da nova ligação C-C e regeneração do Pd(0)^{116,120-122}. A velocidade global deste tipo de reação depende da interação entre o precursor catalítico, os ligantes e da forma que os substratos interagem com a espécie ativa nas condições reacionais¹²³.

Esse tipo de reação traz muitas vantagens em relação a outros acoplamentos cruzados, uma vez que emprega reagentes organoboro, que são facilmente obtidos e apresentam grande variedade estrutural¹¹¹ e trazem poucos problemas relacionados a resíduos químicos¹¹³.



Esquema 16 – Esquema geral de uma reação de acoplamento de Suzuki e seu ciclo catalítico.

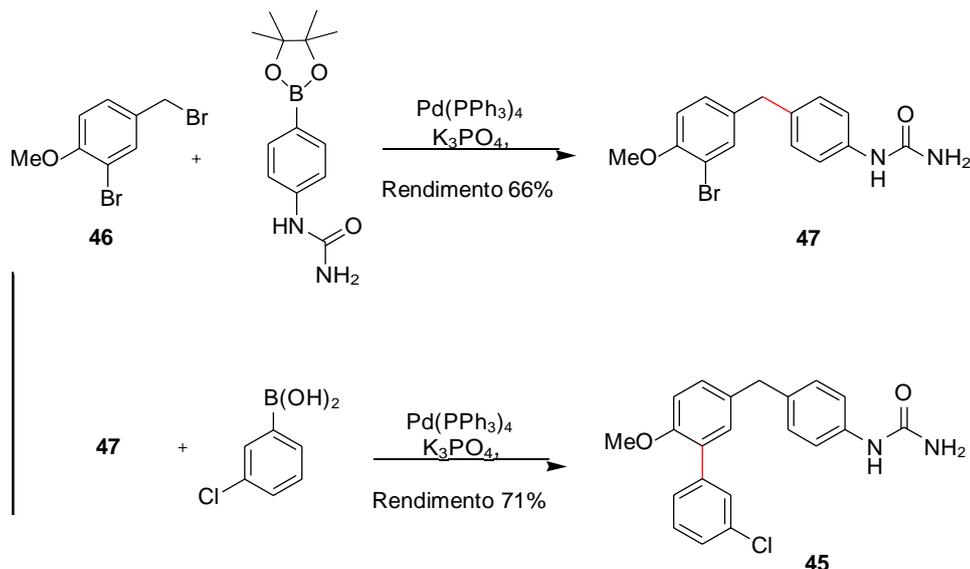
A descoberta do acoplamento de Suzuki possibilitou e impulsionou o desenvolvimento de muitos outros sistemas catalíticos, antes impossíveis, ampliando o escopo de moléculas alvo¹²³. Um exemplo da importância do aprofundamento nos estudos da reação de Suzuki é a otimização reacional alcançada para a síntese do composto D159687 (**45**), um modulador alostérico parcial da enzima fosfodiesterase-4 (PDE4) relacionada principalmente a doenças inflamatórias respiratórias, como a asma¹²⁴. Burgin e colaboradores reportaram uma síntese englobando 6 etapas para a obtenção do D159687, nela a reação de Suzuki foi empregada na quarta etapa reacional e o rendimento global foi de 8,2% (Esquema 17)^{125,126}.



Esquema 17 - Síntese clássica do D159687 com rendimento global de 8,2%.

Adaptado de Burgin e cols (2010)¹²⁵

No ano de 2013, Dalby e colaboradores mostraram uma metodologia¹²⁷ mais eficiente com apenas duas etapas, ambas sendo reações de Suzuki, para obter o D159687 (Esquema 18), esta foi baseada em outros estudos do controle da seletividade do processo de acoplamento de Suzuki envolvendo brometos arílicos e benzílicos¹²⁸. Assim, na primeira etapa porção de brometo de benzila do dibrometo **46** foi acoplado com o borônico adequado levando ao intermediário **47**, já na segunda etapa a outra porção brometo restante do intermediário em conjunto a outro borônico foram acopladas também via reação de Suzuki, modificando-se a temperatura e o tempo reacional, obtendo-se então o D159687 (**45**) com rendimento global de 46,1%, um resultado cinco vezes maior que o alcançado na metodologia apresentada por Burgin e colaboradores.



Esquema 18 – Reações de Suzuki consecutivas empregadas na síntese do D159687 com rendimento global de 46,1%

Nesse sentido, é vasto o número de trabalhos que reportam a aplicação da reação de acoplamento de Suzuki na síntese de candidatos a fármacos¹²³ e de agroquímicos¹²⁹, dentre estes, pode-se citar, por exemplo a síntese de anti-hipertensivos, como o valsartana¹³¹ (**48**), a estrutura destes três compostos está presente na Figura 26, e também, na síntese de fungicidas como o Boscalid (**49**), cuja síntese é mostrada no Esquema 19, sendo o acoplamento utilizado na segunda etapa desta reação¹³².

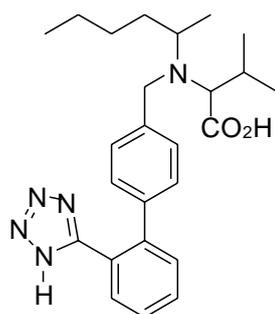
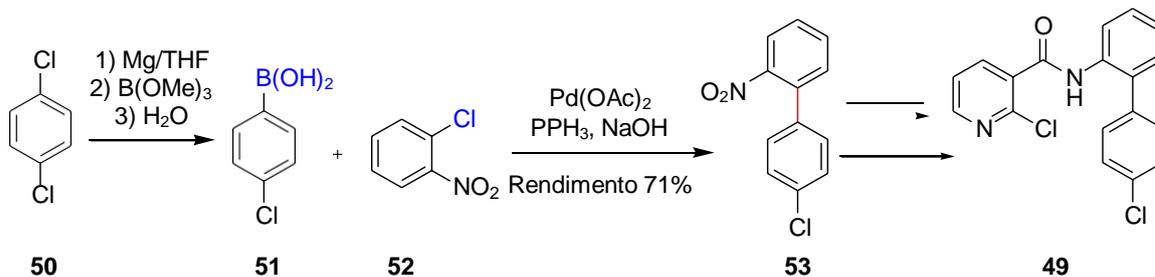


Figura 26 - Estrutura do fármaco valsartana (**48**).

Em suma, as reações acoplamento catalisadas por paládio são eficientes para a síntese de potenciais fármacos, sendo a reação de Suzuki a mais explorada, devido como já dito anteriormente, a formação de diversificadas biarilas substituídas. Ademais, esta é uma via que utiliza organoborônicos que são estáveis ao ar e à água, atóxicos e de fácil manipulação¹²³.



Esquema 19 – Síntese do fungicida Boscalid (**49**) utilizando acoplamento de Suzuki

Dada a relevância das pesquisas de potenciais tratamentos para a Doença de Chagas e o reduzido número de trabalhos que empregam a reação de acoplamento de Suzuki na síntese de novos candidatos a fármacos para esta enfermidade. Este trabalho apresenta a síntese de doze derivados de tiazol, dos quais oito são inéditos, majoritariamente por reação de acoplamento de Suzuki e avaliação preliminar da ação destes contra *T.cruzi*.

3. Objetivos

Planejar, sintetizar e caracterizar derivados de tiazol com potencial atividade anti *T. cruzi* e baixa toxicidade, avaliando-se o efeito de modificações nas posições 2 e 5 do anel tiazólico na atividade biológica e toxicidade dos compostos.

Abaixo estão listados os objetivos específicos:

- Viabilizar rotas para derivados de tiazol com potencial atividade biológica;
- Sintetizar, via reação de acoplamento de Suzuki, novos derivados de tiazol biaril e heteroaril-substituídos na posição 5 do núcleo tiazólico.
- Sintetizar derivados de tiazol com diferentes substituintes na posição 2 do anel tiazólico.
- Avaliar a atividade tripanocida *in vitro* dos novos derivados de tiazol contra a forma amastigota da Cepa Tulahuen.
- Estimar a toxicidade aguda (LC₅₀) *in vitro* dos compostos sintetizados frente as células hospedeiras de mamíferos da linhagem celular L929.
- Tendo como base os compostos mais promissores nas avaliações preliminares, propor modificações estruturais nos compostos, buscando maior atividade frente a *T. cruzi*.

4. Resultados e discussão

Este capítulo divide-se em: i) planejamento (Seção 4.1) onde é *apresentado* o plano de síntese partindo da análise dos dos derivados de tiazol que têm se mostrado ativos contra *T.cruzi* em trabalhos já descritos na Literatura; ii) síntese (Seção 4.2) onde são descritas as condições reacionais que levaram à obtenção dos derivados de tiazóis partindo-se da 4-bromoacetofenona (**54**); iii) avaliação preliminar da atividade anti *T. cruzi* das moléculas alvo (Seção 4.3), onde são apresentados os dados dos experimentos *in vitro*, que permitiram um estudo preliminar da relação entre estrutura dos tiazóis sintetizados com sua citotoxicidade e atividade tripanocida.

4.1 Planejamento dos derivados de tiazol

Conforme já foi amplamente discutido até aqui, os núcleos tiazólicos e seus derivados têm se mostrado uma opção de bloco construtor no planejamento fármacos com diversas atividades biológicas como antimicrobiana, anticonvulsivante, antitumorais⁹⁵⁻⁹⁷ e antichagásticos^{13,14,60,133-136}. Portanto, foi elaborado um esquema, apresentado na parte superior da Figura 27, para mapear algumas das substituições que potencializam a atividade tripanocida dos tiazóis, destacando-se as substituições de diversas hidrazonas em C2 e a adição de arilas substituídas e/ou biarilas não substituídas na posição C5 do tiazol.

Partindo dessa premissa, planejou-se a síntese de tiazóis (Figura 27) que pudessem ser obtidos através de rotas já estabelecidas, utilizando como reagente de partida a 4-bromoacetofenona (**54**), reagente de baixo custo e que pode ser bromada facilmente.

A primeira classe de compostos planejados foram os iminotiazóis, (Figura 27a), sintetizados a partir da reação de aldeídos aromáticos com um intermediário 2-aminotiazol. Escolheu-se realizar essa conversão na amina presente na posição C2 do ariltiazol a fim de analisar se o efeito deste grupamento pode ser equivalente ao apresentado pela porção hidrazona, observado nos estudos de Gomes e colaboradores (2016)⁷⁴, Nogueira e colaboradores (2018)¹⁸, Cardoso e colaboradores (2014)¹³ e Oliveira Filho e colaboradores (2017)¹⁰⁸.

Mantendo o foco na obtenção de compostos tripanocidas potentes, uma vez que Gomes e colaboradores (2014)⁷⁴ apontaram que a presença de uma biarila ligada ao anel

tiazólico leva a uma boa atividade tripanocida e a um melhor índice de seletividade, desenvolveram-se biariltiazóis e heteroariltiazóis através da reação de acoplamento de Suzuki levando a substituição do bromo da posição *para* da fenila dos intermediários tiazólicos, esboço mostrado na Figura 27b.

Num esforço adicional, considerou-se analisar se presença de um heteroátomo entre as duas arila (Figura 27c) é benéfica para a ação tripanocida. Para isso foram realizadas reações de aminação de Bulchwald-Hartwig, bem como através de uma metodologia alternativa mudando o precursor para a 4-fluoracetofenona via substituição nucleofílica aromática, gerando uma oxima que através de condensação [3+1+1] forma o anel tiazólico.

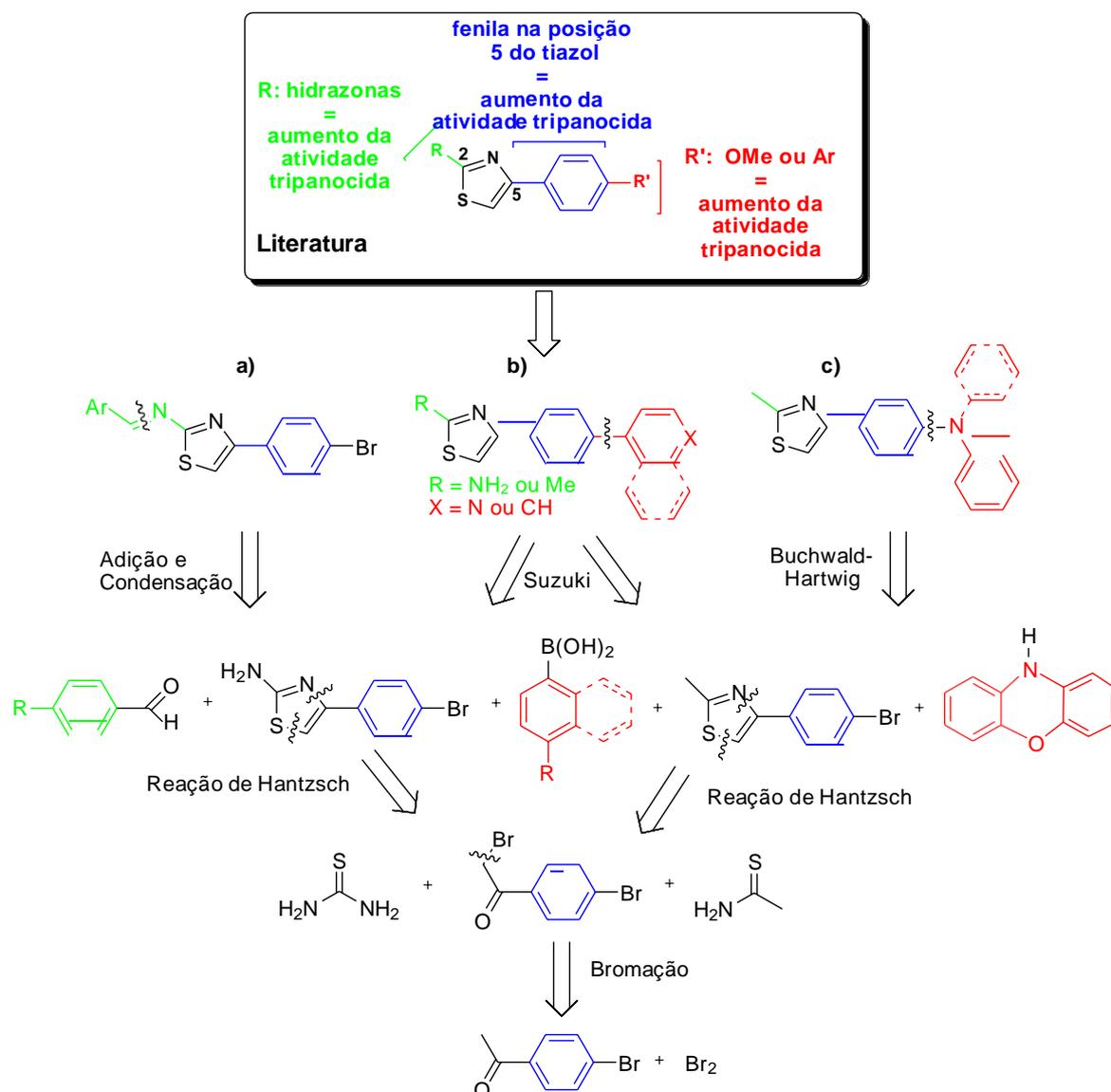
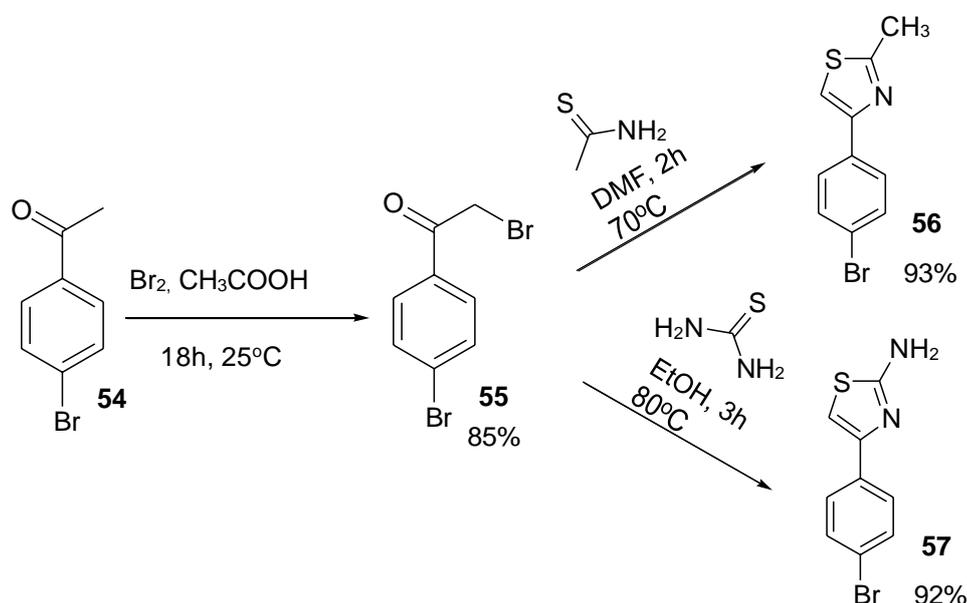


Figura 27 - Planejamento das moléculas alvo a partir do levantamento bibliográfico

4.2. Síntese de tiazóis

4.2.1 síntese dos intermediários tiazólicos

A rota sintética utilizada para a obtenção das moléculas alvo foi iniciada pela bromação da 4-bromoacetofenona (**54**) com bromo molecular e em ácido acético à temperatura ambiente¹³⁷, resultando num sólido branco perolado com rendimento de 85%. Em seguida, dependendo do derivado de tiazol a ser sintetizado, o composto **55** foi reagido com a tioacetamida ou com a tiourea, levando aos intermediários tiazólicos bromados **56** e **57** com excelentes rendimentos de 93% e 92%, respectivamente (Esquema 20).



Esquema 20 – Etapas que levam a formação dos intermediários tiazólicos **56** e **57**.

Com o objetivo de ilustrar a ciclização e, conseqüente formação do anel tiazólico, na Figura 28 é mostrado o espectro de RMN ¹H do composto **57**. Nele, além dos dois dubletes arílicos em 7,74 e 7,55 ppm, pode ser observado um singlete em 7,07, integrando para 1H, que corresponde ao único hidrogênio do núcleo tiazólico. A presença desse sinal comprova que a ciclização foi efetiva. Outro indicativo que a reação foi produtiva é a ausência nesse espectro do sinal metilênico em 4,5 ppm característico dos hidrogênios α-carbonila, que estava presente no material de partida.

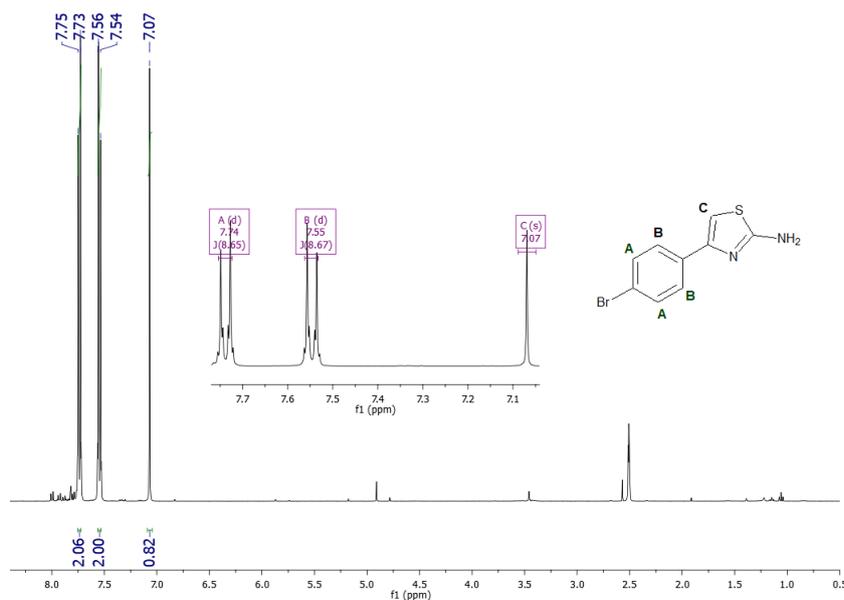
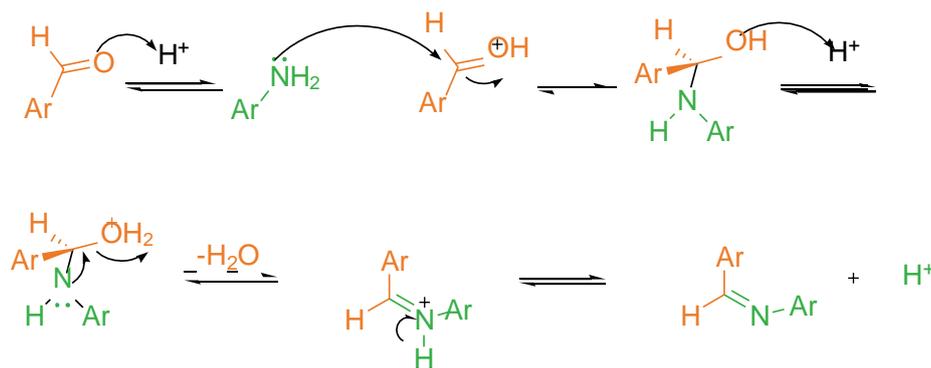


Figura 28 - Espectro de RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) do intermediário tiazólico **57**.

4.2.2 Síntese de iminas

Considerando a boa atividade tripanocida de derivados 1,3-tiazóis ligados a hidrazonas na posição C2, foram sintetizados compostos análogos, substituindo a porção hidrazona, por grupos imina, uma vez que esses compostos têm apresentado atividade biológica significativa na síntese de moléculas antifúngicas, antitumoral, dentre outras^{138,25}.

A síntese de iminas aromáticas é favorecida quando ocorre sob catálise ácida, sendo mais rápidas em pH entre 4 e 6, nela o íon hidrogênio protonará o oxigênio da carbonila diminuindo assim a energia de ativação¹⁵⁷ e originará o ácido conjugado do aldeído que é mais eletrofílico que a molécula neutra de partida^{159,160}. Sem a presença de um catalisador a reação ocorre lentamente dependendo assim da saída do hidrogênio ácido da amina para se completar. O ácido empregado não deve ser muito forte, pois tornará a reação mais lenta diminuindo inclusive a nucleofilicidade da amina envolvida na reação¹⁵⁸. Uma proposta genérica de mecanismo é apresentada no Esquema 21.



Esquema 21 – Mecanismo de formação de iminas em catálise ácida.

Nesse mecanismo, enquanto o estado de transição (ET) se forma o oxigênio da carbonila começa a receber os elétrons da dupla ligação culminando na formação da carga negativa sobre o calcogênio. A eletronegatividade do oxigênio permite que os elétrons recebidos se acomodem bem na sua nuvem eletrônica, sendo assim, a principal causa da reatividade do grupo carbonila frente ao ataque nucleofílico^{158, 159}.

Ao analisar as estruturas de ressonância de aldeídos aromáticos *para* substituídos e o efeito de grupos doadores e retiradores de elétrons (Figura 29) verifica-se que grupos fortemente doadores, como a metoxila, tornam a carbonila menos suscetível ao ataque nucleofílico, em comparação com o benzaldeído, uma vez que a doação de densidade eletrônica diminui a eletrofilicidade do carbono carbonílico. Para grupos retiradores, como o grupo nitro, o efeito é contrário, uma vez que eles tendem a aumentar o caráter positivo do carbono da carbonila facilitando assim a adição do nucleófilo¹⁵⁷⁻¹⁵⁹.

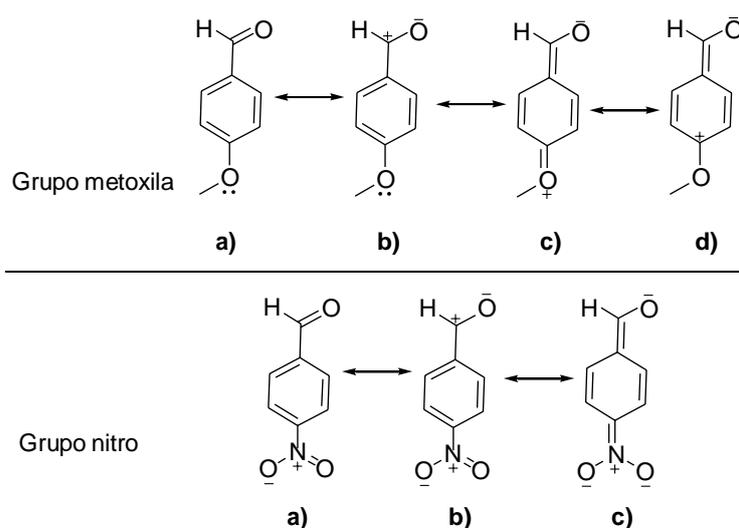
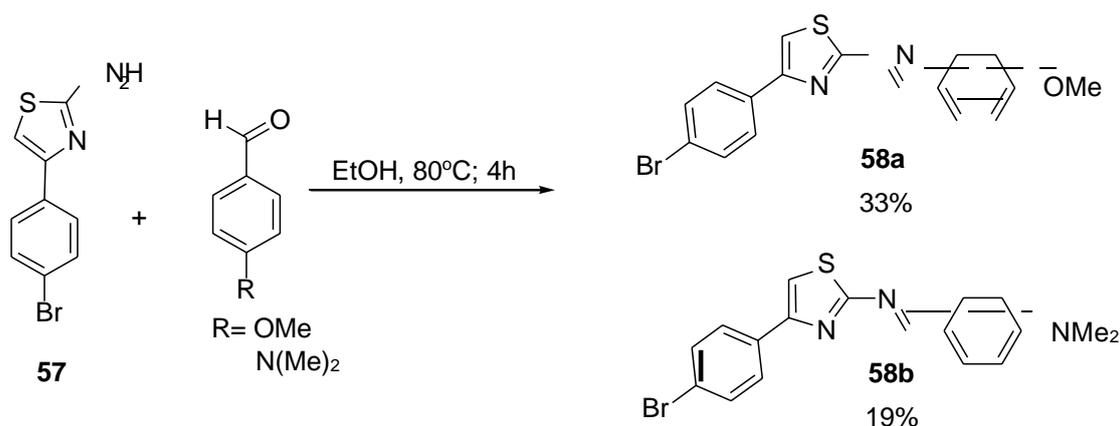


Figura 29 – Estruturas de ressonância de benzaldeídos *para* substituídos.

Para a síntese desses compostos, o tiazol **57** foi reagido com os benzaldeídos **a-f** (Figura 30) em refluxo de etanol. De acordo com a literatura, iminas costumam ser obtidas com grande facilidade, bastando apenas quantidades equimolares de benzaldeídos e uma amina para que ocorra a condensação^{138,141}. Porém, apenas quando foram utilizados o 4-metoxibenzaldeído e o 4-dimetilaminobenzaldeído foram sintetizados os compostos esperados. Assim, **58a** e **58b** foram obtidos com 33% e 19% de rendimento, respectivamente (Esquema 22).



Já eram esperadas certas dificuldades no emprego destes benzaldeídos *para* substituídos com grupos doadores de elétrons, pois como foi explicado anteriormente, estes tornam a carbonila menos suscetível ao ataque nucleofílico¹⁵⁸. Por outro lado, ao utilizar os demais aldeídos em condições ácidas esperava-se que os produtos alvo fossem obtidos com um maior rendimento, pois grupos retiradores de elétrons tendem a aumentar o caráter positivo do carbono da carbonila favorecendo a adição nucleofílica. Infelizmente, a tentativa de aumentar o escopo e obter análogos aos compostos **58a** e **58b** foi infrutífera, uma vez que não foi possível isolar as demais iminas em quantidades que permitissem a análise de sua estrutura em RMN de ¹H, mesmo testando-se diferentes condições reacionais, como pode ser observado na Tabela 2,

Tabela 2 - Otimização das condições para formação de imina

| Entrada | Aldeído | Solvente | Catalisador | Temperatura (°C) | Tempo (h) | Rendimento % |
|---------|---------|----------|-------------|------------------|-----------|--------------|
| 1 | a | Etanol | - | 78 | 5 | 33 |
| 2 | b | Etanol | - | 78 | 18 | 2 |
| 3 | c | Etanol | - | 78 | 5 | 5 |
| 4 | b | Etanol | - | 78 | 1,5 | 19 |
| 5 | d | Etanol | - | 78 | 3 | NF |
| 6 | d | Tolueno | - | 110 | 1 | NF |

| | | | | | | |
|----|---|--------|---|----|---|----|
| 7 | d | Etanol | 1 gota de HOAc | 78 | 4 | NF |
| 8 | e | Etanol | - | 78 | 2 | NF |
| 9 | f | Etanol | 1 gota H ₂ SO ₄ | 78 | 2 | NF |
| 10 | e | Etanol | H ₂ SO ₄ até pH 5 | 78 | 2 | NF |
| 11 | f | Etanol | H ₂ SO ₄ até pH 4,5 | 78 | 3 | NF |

*NF – Não foi observada formação de produto.

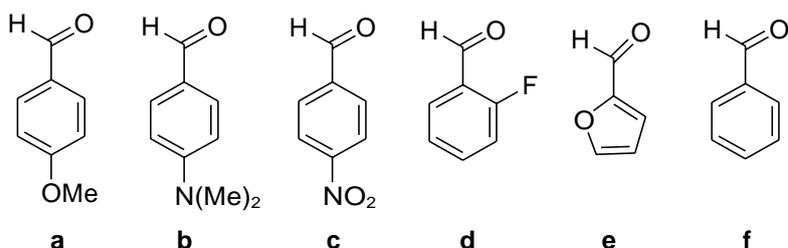


Figura 30 – Grupos de entrada (benzaldeídos) utilizados na otimização da síntese de iminas.

A fim de ilustrar a obtenção de dos imino-tiazóis, a Figura 31 apresenta o espectro de RMN de ¹H do composto **58a**. Nele, a presença do grupo imina (-HC=N-) é atribuída ao singlete em 8.93 ppm, integrando para 1H corresponde ao hidrogênio do grupo imina. Constatam-se os quatro dubletes arílicos, referentes aos hidrogênios das duas arilas. Em 7.95 e 6.99 ppm, com constante de acoplamento entre esses CHs aromáticos $J = 8.4$ Hz, o deslocamento em 7,95 é correspondente aos CHs próximos ao nitrogênio imínico e o em 6,99 pode ser atribuídos aos CHs mais próximos ao grupo metoxila. Os outros dois dubletes de hidrogênios arílicos em 7.81 e 7.53 ppm, integrando para 4 hidrogênios, apresentam a constante de acoplamento ($J = 8.2$ Hz) e podem ser atribuídos a arila ligada ao anel tiazólico. Além disso, em 7,32 ppm existe um singlete, integrando para 1H que corresponde ao hidrogênio do núcleo tiazólico, que no material de partida (**57**) apresentava um deslocamento de 7,07 ppm. E, por fim, em 3,88 ppm há um singlete, integrando para 3, que representa os 3 hidrogênios da metoxila da imina. Vale destacarm que os compostos **58a** e **58b** são apresentados na conformação do isômero *E*, pois esta confere um menor impedimento estérico as iminas^{139,140}.

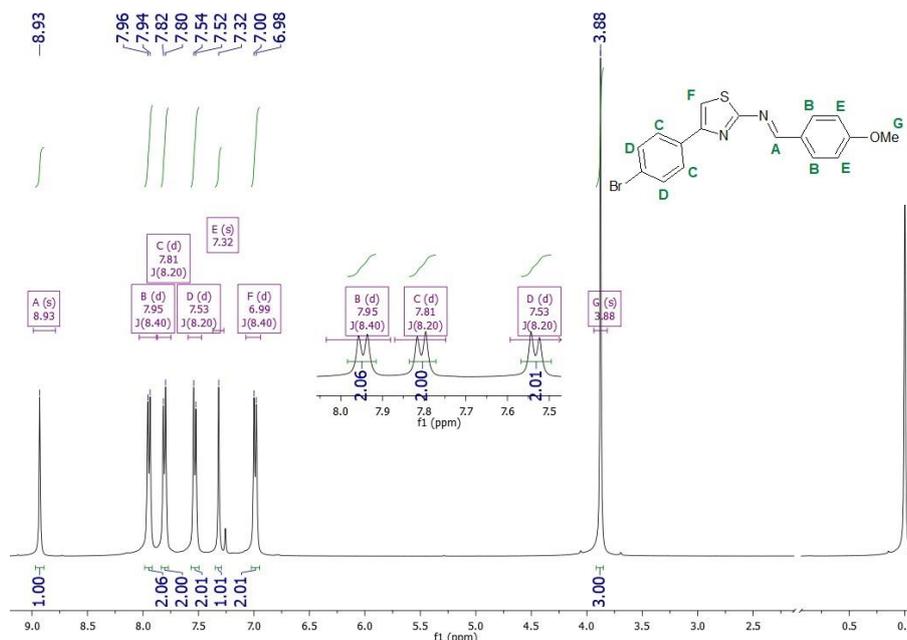
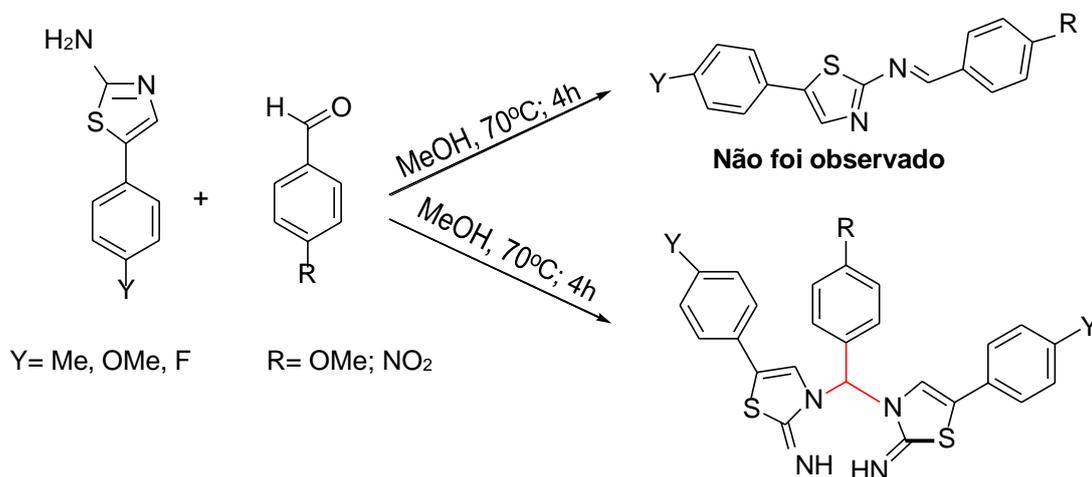


Figura 31 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **58a**

A dificuldade de obtenção de iminas a partir de 4-aryl-2-aminotiazóis, foi descrita por Periakaruppan e colaboradores (2017). Neste trabalho foi observada a formação quimiosseletiva de derivados arilbis(tiazol-2-imina) metano em detrimento das respectivas iminas, como mostrado no Esquema 23.



Esquema 23 - Formação quimiosseletiva de diversos arilbis(2-imino-tiazóis).

A explicação para o insucesso neste tipo de reação, pode vir do fato da porção 2-amino do 1,3 tiazol se comportar como o tautômero amino-imino (Figura 32)¹⁴³. Partindo desse princípio, os autores elaboraram um mecanismo provável (Esquema 24) pelo qual o 2-aminotiazol substituído na sua forma imino pode se condensar com aldeído fornecendo

um intermediário que se será atacado pelo par de elétrons do nitrogênio do 1,3 tiazol levando aos arilbis(2-imino-tiazóis) metano substituídos¹⁴⁴.

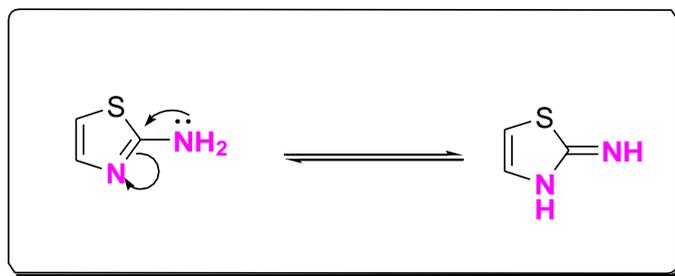
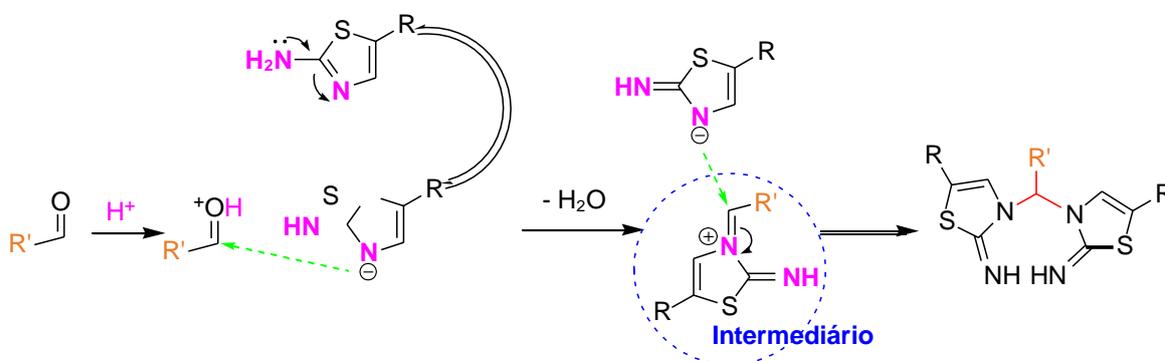


Figura 32 – par tautômero imino e amino do 1,3 tiazol genérico.



Esquema 24 – Mecanismo geral da síntese dos diversos arilbis(2-imino-tiazóis).

Pode-se considerar ainda que o baixo rendimento observado na formação de **58a** e **58b** está relacionado a formação desse tipo de produto. Por isso, a busca pela síntese de iminas pelo mecanismo clássico foi interrompida e novos compostos foram planejados partindo dos intermediários **56** e **57**, até aqui sintetizados.

4.2.3 Síntese de biaril e heteroaril tiazóis via acoplamento de Suzuki

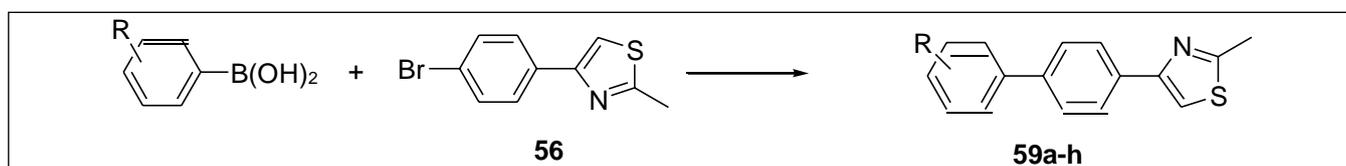
De acordo com a literatura, quando o anel tiazólico está ligado a uma biarila, sua atividade tripanocida e seu índice de seletividade tendem a ser aumentados (Figura 17, p.36)¹⁶. Baseado nisso, foi planejada a síntese de diversos biariltiazóis e heteroaril tiazóis, empregando o acoplamento de Suzuki entre os intermediários **56** ou **57** e os ácidos aril/heteroaril borônicos **g-p** (Figura 33).

Os ácidos arilborônicos foram escolhidos considerando os resultados de incremento na atividade tripanocida observados em outros estudos, bem como nas propriedades físico químicas que podem conferir à biarila sintetizada.

Segundo Razgulin e Mecozzi (2006) o átomo de flúor por sua interação com o carbono, contribui para o aumento das interações intermoleculares, criando um momento dipolo que pode levar a ligações de hidrogênio através da interação da molécula com a água¹⁴⁵, conseqüentemente, gerando moléculas mais solúveis. Ainda que o flúor seja um halogênio, que normalmente dão efeito hidrofóbico às moléculas, ele contribui muito pouco na hidrofobicidade de um composto¹⁴⁶. Outro substituinte considerado relevante na síntese de moléculas bioativas atualmente é o anel piridínico, principalmente por levar a compostos com baixa citotoxicidade, estando presente em mais de 7000 núcleos dos compostos bioativos disponíveis na indústria farmacêutica¹⁴⁷.

Assim, foram escolhidos os ácidos arilborônicos que levariam a compostos com potencial atividade tripanocida, então partiu-se para a otimização das condições de Suzuki entre **56** e diferentes ácidos arilborônicos (Tabela 3). Inicialmente, foi escolhido um sistema clássico baseado em Pd(OAc)₂, PPh₃, KOH em uma mistura de THF e metanol, utilizando-se o ácido 4-(Dimetilamino)fenilborônico (**g**) durante 24 horas a 75°C (Entrada 1). Nessas condições, não houve formação do produto desejado. Na seqüência, uma nova condição foi testada, nela o solvente foi trocado para uma mistura de tolueno e metanol e a base utilizada foi K₂CO₃. Infelizmente, também não houve consumo do substrato, resultado que se manteve quando se testou diferentes ácidos arilborônicos e variou-se a fosfina (entradas 2 a 5). Optou-se então por empregar uma condição mais drástica de temperatura, adicionando-se também água à mistura de solventes, buscando melhorar a solubilidade da base. Nessas condições houve a formação do produto **59a** com **23%** de rendimento (entrada 6). Apesar do rendimento ter sido baixo, resolveu-se estender essa condição para outros ácidos arilborônicos. Assim, o produto **59b** foi obtido com 65% de rendimento. Infelizmente, a condição não funcionou para todos os ácidos arilborônicos, uma vez que a reação com **g** não levou a consumo do material de partida e com **h** levou a uma quantidade significativa do produto de debromação. No entanto, ela foi produtiva para diversos ácidos parceiros de acoplamento, levando a uma série de mais oito compostos (**59a-59h**), dos quais seis são inéditos, com rendimentos entre 12 e 88%, como pode ser observado no Esquema 25.

Tabela 3 - Otimização das condições do acoplamento de Suzuki entre **56** e ácidos arilborônicos



| Entrada | Borônico | Catalisador | Ligante | Base | Solvente | Tempo (h) | Temperatura (°C) | Resultado |
|---------|----------|----------------------|------------------|--------------------------------|---------------------|-----------|------------------|-----------------------|
| 1 | g | Pd(OAc) ₂ | PPh ₃ | KOH | THF/Metanol | 24 | 75 | NF |
| 2 | g | Pd(OAc) ₂ | PPh ₃ | K ₂ CO ₃ | Tolueno/Etanol | 24 | 100 | NF |
| 3 | h | Pd(OAc) ₂ | PPh ₃ | K ₂ CO ₃ | Tolueno/Etanol | 24 | 75 | NF |
| 4 | i | Pd(OAc) ₂ | PPh ₃ | K ₂ CO ₃ | Tolueno/Etanol | 24 | 75 | NF |
| 5 | j | Pd(OAc) ₂ | BINAP | K ₂ CO ₃ | Tolueno/Etanol | 24 | 75 | NF |
| 6 | i | Pd(OAc) ₂ | PPh ₃ | K ₂ CO ₃ | Dioxano/Etanol/Água | 3 | 120 | Rendimento 23% |
| 7 | j | Pd(OAc) ₂ | PPh ₃ | K ₂ CO ₃ | Dioxano/Etanol/Água | 18 | 120 | Rendimento 65% |
| 8 | g | Pd(OAc) ₂ | PPh ₃ | K ₂ CO ₃ | Dioxano/Etanol/Água | 3 | 120 | NF |
| 9 | h | Pd(OAc) ₂ | PPh ₃ | K ₂ CO ₃ | Dioxano/Etanol/Água | 3 | 120 | Debromação |

*NF – Nenhum produto formado.

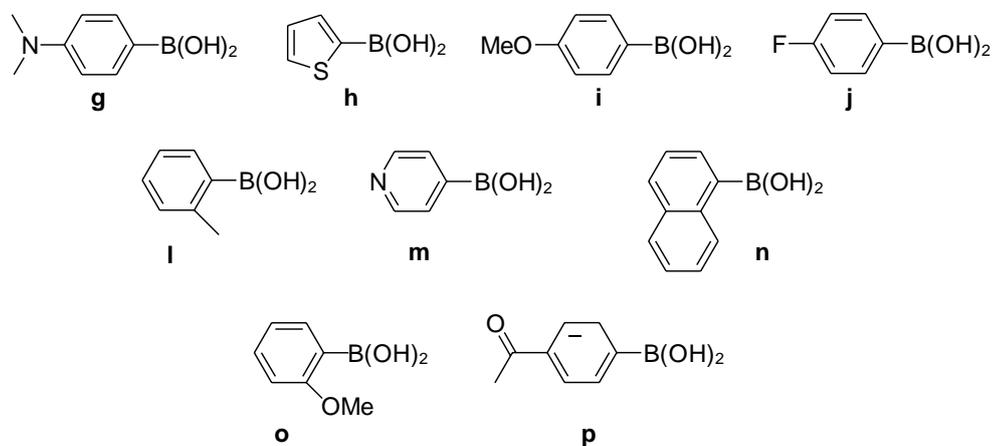
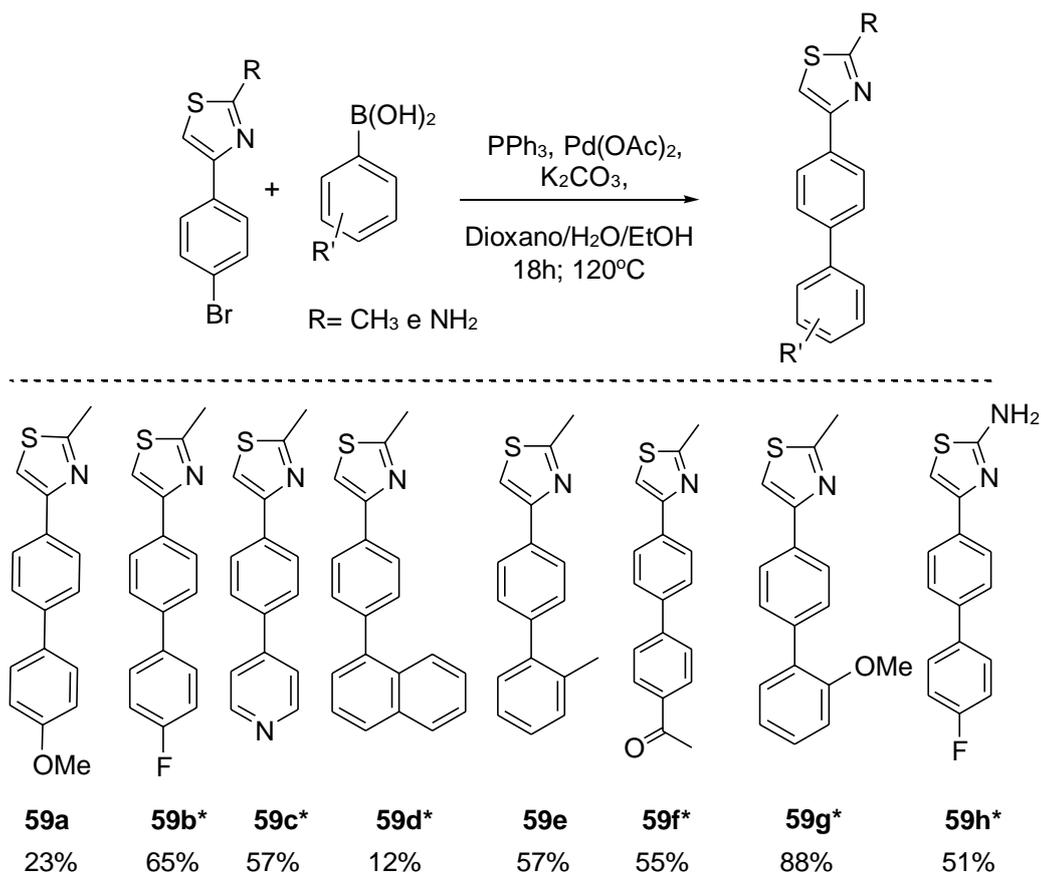


Figura 33 – Ácidos borônicos empregados nas reações de Suzuki.



Esquema 25 - Estrutura e rendimento das reações de acoplamento de Suzuki.

*produtos inéditos na literatura.

Os compostos **59a-59h** foram caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono (RMN de ^1H e RMN de ^{13}C). Para ilustração dos espectros de RMN dessa classe de compostos, na Figura 34 é mostrado o RMN de ^1H do composto **59a**. Nesse espectro, os singletes em 2,76 e 3,81 ppm, integrados para 3 hidrogênios, representam as metilas da posição 2 do anel tiazólico e da metoxila, respectivamente. Em 7,20 ppm localiza-se o singlete integrado para 1 hidrogênio característico desse tiazol, os dubletes em 7.80 e 6.89 ppm são integrados para 2 hidrogênios arílicos. E por fim em 6.99ppm há um duplo dublete de hidrogênios arílicos com constante de acoplamento ($J = 8.53$ Hz), integrando para 4 hidrogênios.

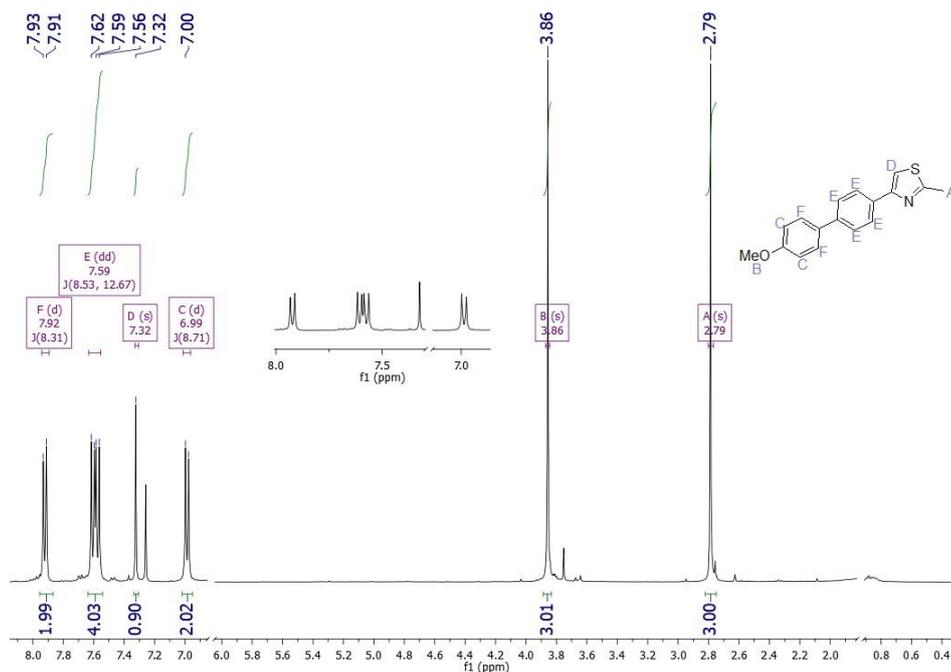


Figura 34 - Espectro de ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **59a**.

Uma vez que os anéis piridínico e tiazólico vêm sendo apontados como importantes blocos na construção de candidatos a fármaco com atividade tripanocida¹³, e ajudam na baixa toxicidade dos compostos, um dos destaques desse trabalho foi a obtenção do 2-metil-4-(4-(piridin-4-il)fenil)tiazol (**59c**) ilustrado no Esquema 26, com bom rendimento reacional.

No espectro de RMN de ^1H do composto **59c** (Figura 35), podem-se observar dois dubletes, integrando para 4 hidrogênios referentes aos CHs da piridila, em 8,67 e 7,55 ppm com constante de acoplamento ($J = 6,0$ Hz), integrando para 2 hidrogênios. Há outros dois dubletes arílicos, integrando cada sinal para 2 hidrogênios referentes aos CHs da arila ligada ao tiazol em 8,0 e 7,7 ppm, apresentando constante de acoplamento ($J=8,4$ Hz). O hidrogênio pertencente ao tiazol está presente no singlete em 7,4 integrado para 1H, e por fim, o singlete em 2,8 ppm, integrado para 3, representa os 3 hidrogênios da metila ligada a posição 2 do tiazol.

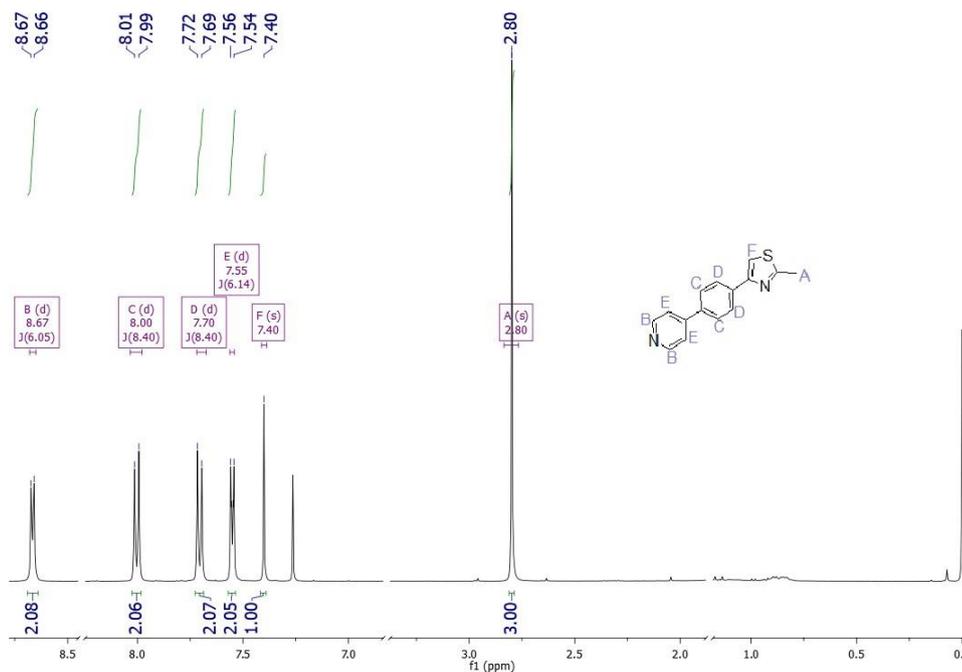


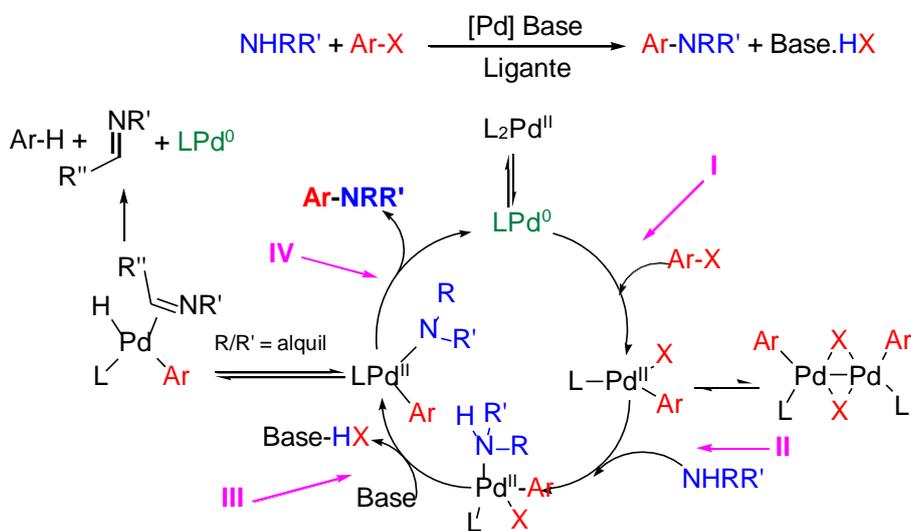
Figura 35 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 59c

O sucesso na síntese desta série de compostos foi considerado de alta importância para este estudo uma vez que Gomes e colaboradores (2016) apontaram excelentes atividades tripanocidas e índice de seletividade de um biariltiazol⁷⁴, em adicional, os compostos **59a** e **59g** com substituição metoxila e **59d** com a presença do naftil podem ser relevantes na busca na melhoria da atividade tripanocida, uma vez que em outros estudos foram substituições altamente eficientes¹⁰³⁻¹³. Além disso, quis-se avaliar se a presença do grupo tolil (**59e**) e da acetila (**59f**) com característica mais hidrofóbica e do átomo de flúor (**59b** e **59h**) que conferem interações intermoleculares a um composto, apresentam boa atividade tripanocida.

4.2.4 Síntese do composto 60 via aminação de Buchwald-Hartwig

Considerando que a presença do grupo metoxila ligado na posição 4 de ariltiazóis levou a compostos com boa atividade tripanocida¹⁰³, decidiu-se sintetizar novos derivados de tiazol com outros grupos doadores de elétrons e que também possam atuar (assim como a metoxila) como aceptores de ligação de hidrogênio. A proposição inicial foi a inserção nessa posição de grupos nitrogenados ou oxigenados, mas que também possuam anéis adicionais, uma vez que a presença dessas arilas extras já se mostrou benéfica para a atividade tripanocida em ariltiazóis¹⁰³.

Existem diversos métodos clássicos para a formação da ligação C-N de arilaminas, porém mais recentemente o desenvolvimento de reações de aminação empregando haletos de arila e aminas como par de acoplamento, paládio como catalisador e quantidades estequiométricas de base permitiu a conversão de um único substrato diretamente num conjunto mais diversificado de anilinas *N*-substituídas em condições brandas, contribuindo para uma síntese mais eficiente de moléculas simples que podem ser usadas em agentes farmacêuticos. Uma das metodologias mais aplicadas foi desenvolvida independentemente por Buchwald e Hartwig¹⁶²⁻¹⁶⁵, cujo esquema geral e ciclo catalítico são mostrados no Esquema 26.



Esquema 26 – Esquema geral e ciclo catalítico acoplamento Buchwald-Hartwig. Em I ocorre a adição oxidativa; em II a coordenação da amina; em III a desprotonação e em IV a eliminação redutiva.

O ciclo catalítico deste tipo de reação de acoplamento consiste numa primeira etapa de adição oxidativa de haletos de arila a uma espécie Pd^0 . Na segunda etapa amina é coordenada e logo em seguida ocorre a desprotonação mediada por uma base. A última etapa é a eliminação redutiva onde se forma a ligação C-N no produto $\text{Ar-NRR}'$ e o Pd^0 é regenerado¹⁶⁶. Durante o planejamento destas reações é importante estar atento a escolha do ligante, para isso devem-se considerar as propriedades estéricas e eletrônicas dos parceiros de acoplamento envolvidos na aminação, um bom ligante auxilia na rapidez da adição oxidativa e ajuda a evitar a formação de subprodutos de β -eliminação favorecendo a maior interação areno-Pd^{162,167}.

Assim, para a síntese do derivado de tiazol nitrogenado, o intermediário **56** foi submetido à condições de aminação de Buchwald-Hartwig, utilizando a fenoxazina como

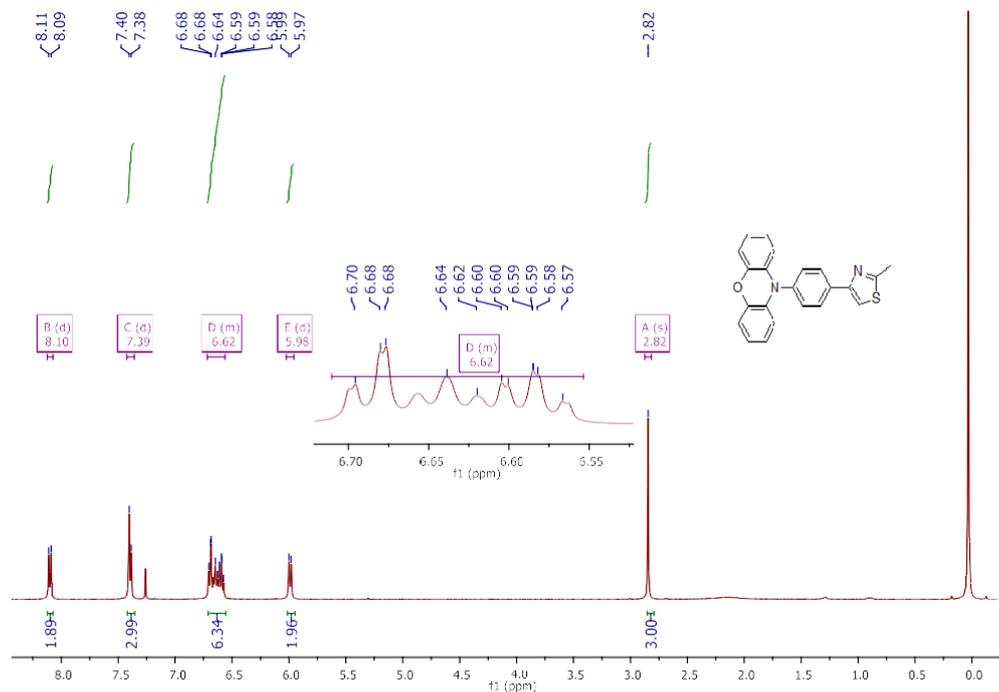
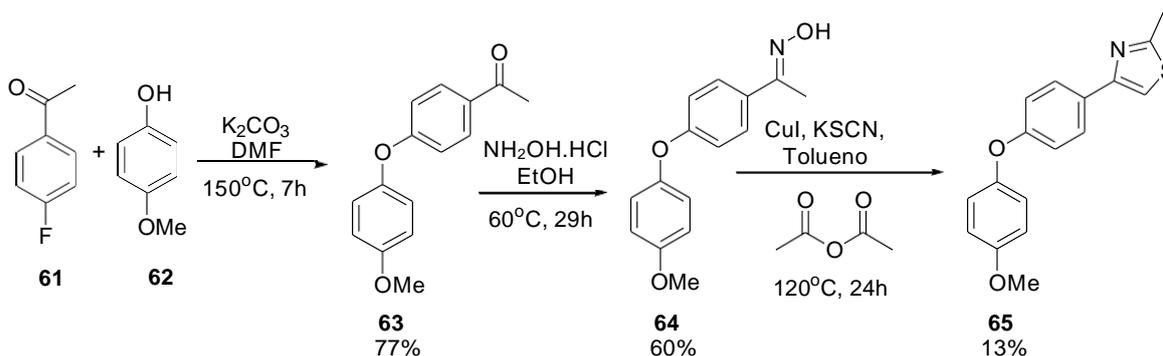


Figura 36 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 60

4.2.5 Síntese do composto 65 via condensação [3+1+1] catalisada por cobre com intermediário oxima

Na sequência à reação de acoplamento C-N, decidiu-se inserir um grupo OAr na mesma posição. Tentativas de obtenção de um éter biarílico na posição 4 foram realizadas utilizando-se condições de Ullmann, Buchwald-Hartwig e Substituição Nucleofílica Aromática no composto **56**, tendo o 4-metoxifenol como parceiro de acoplamento. No entanto, em nenhuma das condições observou-se formação do produto. Dessa forma, decidiu-se mudar a rota empregando uma metodologia onde o anel tiazólico é obtido através da reação entre oximas e isotiocianato de potássio na presença de CuI e anidrido acético¹⁰¹.

Nessa rota, inicialmente, foi realizada uma reação de substituição nucleofílica aromática entre a 4-fluoracetofenona (**62**) e o 4-metoxifenol (**51**), o que levou à acetofenona arilóxi-substituída (**63**) com 77% de rendimento. Na sequência, **63** foi reagido com cloridrato de hidroxilamina, levando à oxima **64** com 60% de rendimento. Finalmente, na última etapa sintética, a oxima **64** foi reagida com KSCN e anidrido acético, na presença de CuI, utilizando-se metodologia de condensação [3+1+1] (cujo mecanismo genérico é apresentado na p.35) o que levou ao derivado de tiazol inédito e de interesse **65** com 13% de rendimento (Esquema 28).



Esquema 28 - rota sintética para a obtenção do tiazol **65** via condensação [3+1+1] catalisada por cobre.

Na Figura 37 é mostrado o espectro de RMN de ^1H do composto **65**. Pode-se observar um singlete em 2,76 ppm, integrando para três hidrogênios, referente a metila do tiazol. Em 3,81 ppm outro singlete, integrando para três hidrogênios, referente aos hidrogênios da metoxila. Em 7,80 ppm aparece um dublete integrando para dois hidrogênios aromáticos da arila ligada ao tiazol, centrado em 6,99 há um multiplete integrando para quatro hidrogênios aromáticos. E em 6,89 ppm está o outro dublete referente aos outros dois hidrogênios aromáticos mais próximos a metoxila.

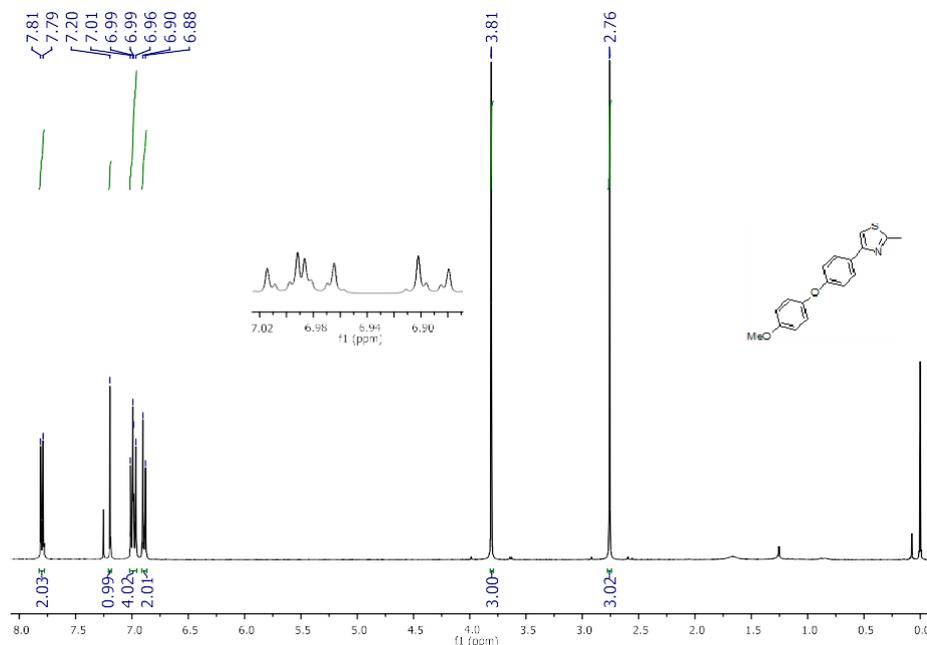


Figura 37 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **65**

4.3 Avaliação preliminar da atividade anti *T. cruzi* dos derivados de tiazol *in vitro*

Com o intuito de avaliar pelo modelo *in vitro*, a ação dos derivados tiazólicos **58a**, **58b**, **59a-f**, **60** e **65** contra as formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi*, foram realizados os ensaios de citotoxicidade e também de redução da atividade parasitária em colaboração com o Laboratório de Biologia Celular do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz). O primeiro teste realizado foi o de toxicidade *in vitro*, contra células hospedeiras de mamíferos (linhagens celulares L929) para identificar qual a concentração dos tiazóis testados que reduz em 50% a viabilidade celular. Esses dados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Toxicidade *in vitro* (LC₅₀) dos compostos estudados contra células hospedeiras de mamíferos (linhagens celulares L929) após incubação por 96 horas a 37°C.

| Composto | Valores de LC ₅₀ em µM |
|--------------------|-----------------------------------|
| Benznidazol | >400 |
| 58a | >400 |
| 58b | >400 |
| 59a | 311 ± 38 |
| 59b | >400 |
| 59c | >400 |
| 59d | ND |
| 59e | ND |
| 59f | 175 ± 100 |
| 60 | >400 |
| 65 | >400 |

ND: Não foi solúvel em nenhuma concentração.

Dentre os derivados de tiazol sintetizados, **59d** e **59e** não puderam ser avaliados devido à problemas de solubilidade. Isso pode ser explicado pela presença dos grupos naftila e 2-tolúila e ausência de grupos polares ligados nas arila, o que diminui a solubilidade desses compostos no meio aquoso. Os compostos **58a-b**, **59b-c**, **60** e **65**, assim como o benznidazol apresentaram baixa toxicidade, com valores de LC₅₀ maiores que 400 µmol L⁻¹. Os dois compostos que apresentaram valor de LC₅₀ um pouco menor foram **59a** (311 µmol L⁻¹) e **59f** (175 µmol L⁻¹). No segundo caso, o aumento da toxicidade pode estar relacionado à presença do grupo acetila, que tem eletrofilicidade relativamente alta e, portanto, pode interagir com espécies nucleofílicas do meio celular. Cabe ressaltar que os valores de LC₅₀ de **59a** e **59f**, apesar de serem menores que os dos outros

compostos, ainda estão muito longe da concentração usual de substâncias com boa atividade contra *T. cruzi*. Nesse sentido, considera-se que todos os compostos testados apresentaram níveis adequados de toxicidade.

Na sequência, avaliou-se a atividade dos derivados de tiazol frente à forma amastigota de *T. cruzi*. Foram feitos testes avaliando a porcentagem de redução no índice de infecção de células hospedeiras, utilizando-se concentrações fixas das moléculas (10 ou 20 μM L⁻¹) e o resultado dos ensaios de avaliação da redução na infecção de células hospedeiras está disposto na Tabela 5.

Tabela 5 - Efeito *In vitro* dos compostos estudados contra formas intracelulares de *T. cruzi* (Cepa Tulahuen transfectada com β -galactosidase) após tratamento por 96 horas à 37°C.

| Composto | % de redução no índice de infecção das células hospedeiras ^a |
|--------------------------------|---|
| Benznidazol^b | 83 \pm 0.4 |
| 58a^b | 4.1 \pm 2.4 |
| 58b^b | 5.1 \pm 1.6 |
| 59a^b | 0 \pm 0 |
| 59b^c | 0 \pm 0 |
| 59c^c | 76 \pm 2.24 |
| 59d^c | ND |
| 59e^c | ND |
| 59f^c | 11 \pm 16 |
| 60^b | 0.7 \pm 0.5 |
| 65^b | 0.9 \pm 0.9 |

^a média \pm desvio padrão de dois ensaios realizados em triplicata.

^b usando uma concentração fixa de 10 μM dos compostos analisados

^c usando uma concentração fixa de 20 μM dos compostos analisados

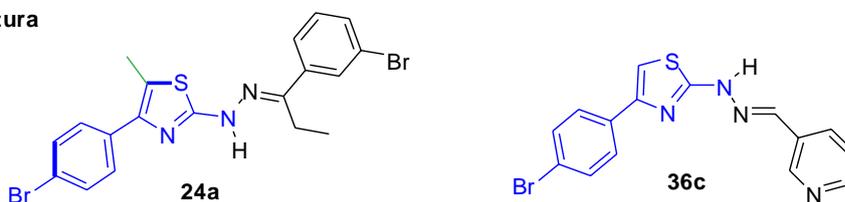
ND: Não foi solúvel em nenhuma concentração, independentemente do solvente utilizado.

Como pode ser observado na Tabela, a maioria dos derivados de tiazol avaliados apresentou baixa porcentagem de redução na infecção pelo parasito. A exceção foi o composto **59c**, cuja redução foi de 76% em uma concentração de 20 μmol L⁻¹. Nos próximos parágrafos serão comparados os dados da Tabela 3 com os resultados descritos na literatura para compostos análogos.

Apesar das iminas sintetizadas (**58a-b**) terem suas estruturas bastante similares à dos compostos **12a**¹⁶ e **24c**¹³, como pode ser observado na Figura 38, não foi observada nelas atividade tripanocida equiparável a dos modelos, mesmo na imina que contém o

grupo metoxila (**58a**) que de acordo com os estudos é importante a atividade antiparasitária. Nesse sentido, pode-se considerar que para que haja a atividade tripanocida é a função hidrazona deve estar associada ao anel tiazólico, preferencialmente.

Da literatura



Deste trabalho

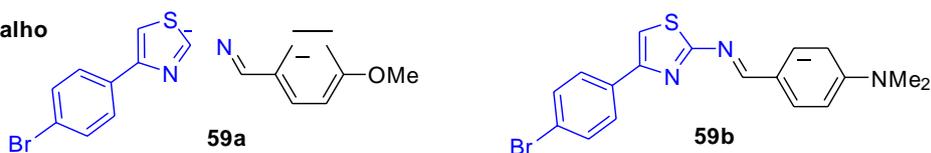


Figura 38 – comparação das estruturas das iminas sintetizadas com as dos compostos similares disponíveis na literatura com atividade contra *T. cruzi*

Passando a análise dos biariltiazóis sintetizados, diferentemente do que apontou o estudo com compostos ariltiazólicos feito por Gomes e colaboradores (2016)¹⁶, quando mostraram o efeito positivo na atividade anti *T. cruzi* causado pela inserção de uma segunda arila não substituída na posição C4 do ariltiazol não foi observado na série de biariltiazóis que apresentaram solubilidade (**59a**, **59b** e **59f**). Mesmo com a presença de uma metoxila na posição *para* do biariltiazol (**59a**) não foi observada qualquer atividade antiparasitária relevante nestes compostos. Nesse sentido, reforça-se a importância da substituição hidrazona na porção C2 do tiazol, pois compostos com estrutura similar aos aqui sintetizados (Figura 39) mostraram excelente atividade tripanocida.

Análogo ao que foi proposto para as iminas, é importante buscar novas vias que levem a estruturas similares as das moléculas propostas aqui, uma vez que a exceção de **59f**, todas têm baixa citotoxicidade, apesar desta ter levado ao segundo melhor resultado obtido por esta série.

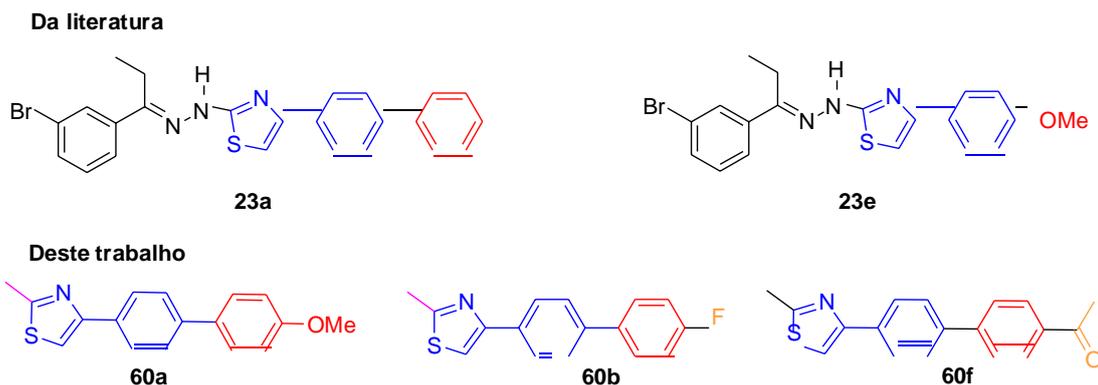


Figura 39 – comparação das estruturas dos biariltiazóis sintetizados aos compostos da literatura.

Dentre todos os compostos testados, **59c** foi o que mais se destacou em termos de atividade anti parasitária frente a forma amastigotas. O uso de uma concentração fixa de 20 μM resultou em mais de 76% de redução do parasitismo nas células hospedeiras, mostrando que a inserção do anel piridínico leva a altas atividades tripanocidas mesmo quando não está associado diretamente a hidrazona, como o que ocorre com as moléculas **24a** ou ligado diretamente ao anel tiazólico em **26c**. As três moléculas estão ilustradas na Figura 40.

O composto apresenta $\text{mlog P} = 3,88$, enquanto o composto **24a** tem $\text{mlog P} = 5,44$ e **26c** tem $\text{mlog P} = 4,58$, mostrando que **59c** portanto, pode apresentar maior equilíbrio entre as propriedades de permeabilidade e solubilidade. Em adicional ao compará-los ao fármaco referência, esses três compostos têm melhores resultados, uma vez que o log P do BZ é aproximadamente 7, o que o enquadra na classe de fármacos com baixa permeabilidade e solubilidade^{148–150}.

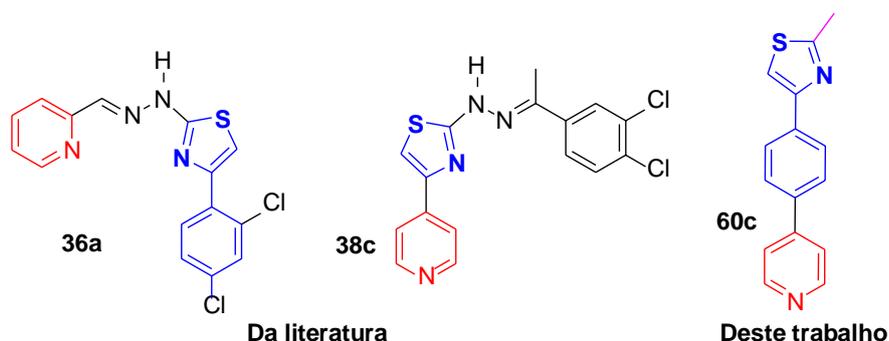


Figura 40 – comparação entre moléculas com porção piridínica.

As tentativas adicionais de analisar a influência de heteroátomos, mostraram-se infrutíferas, pois os compostos **60** e **65** não apresentaram atividade tripanocida relevante.

Dessa forma cabe revisar o planejamento dos compostos empregando o intermediário tiazólico **57**, para observar se gera algum incremento na atividade tripanocida do composto, melhorando também suas propriedades enquanto potenciais fármacos.

No que tange o tiazol **59e** buscavam-se os primeiros resultados quanto a influência da substituição *orto*-tolil em tiazóis potencialmente ativos contra *T. cruzi*. Conforme falado anteriormente, é preciso voltar ao planejamento e otimizar essa estrutura.

Cabe ressaltar que as moléculas **59g** e **59h** ainda não passaram pela avaliação em laboratório, dessa forma existem grandes expectativas que elas apresentem um desempenho mais eficiente que as testadas até o presente momento, uma vez que o composto **59g** apresenta a substituição metoxila, que pode levar ao aumento da atividade tripanocida quando associada a um composto tiazólico. Nenhum dos estudos apresentou informações sobre o efeito de substituições feitas na posição *orto* em arilas. O composto **59h** apresenta o grupo amina, apresentando grande tendência a formação de ligações de hidrogênio, característica importante em compostos biologicamente ativos.

5. Conclusão

Ao longo do projeto foram sintetizados dez compostos alvo substituídos na posição C4 do anel tiazólico, dos quais oito são inéditos, um héteroaril tiazol **59c**, cinco biaril tiazóis **59b**, **59d**, **59f**, **59g** e **59h** sintetizados via reação de acoplamento de Suzuki, um biaril tiazol com nitrogênio entre a biarila (**60**) obtido via reação de aminação de Buchwald-Hartwig e um biaril tiazol com oxigênio entre a biarila (**65**) via conversão do intermediário oxima em tiazol. Quanto a substituição na posição C2 do anel tiazólico foi possível obter duas iminas não inéditas **58a** e **58b**. Todos os produtos tiveram suas estruturas comprovadas por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono.

Dentre as moléculas sintetizadas, até o presente momento dez delas já passaram pela avaliação preliminar da atividade tripanocida contra a forma amastigota da Ceba Tulahuen e tiveram sua toxicidade aguda (LC₅₀) estimada em células hospedeiras de mamíferos da linhagem celular L929. Após analisar os resultados alcançados nestes dois testes *in vitro*, constatou-se que a maior parte dos compostos obtidos não foi tóxica às células hospedeiras, mesmo quando ministradas em concentrações elevadas, porém a grande maioria delas não mostrou ser ativa frente a forma *T.cruzi* avaliada, por isso é necessário fazer adequações no planejamento das moléculas, para que os resultados da atividade tripanocida possam vir a ser mais promissores.

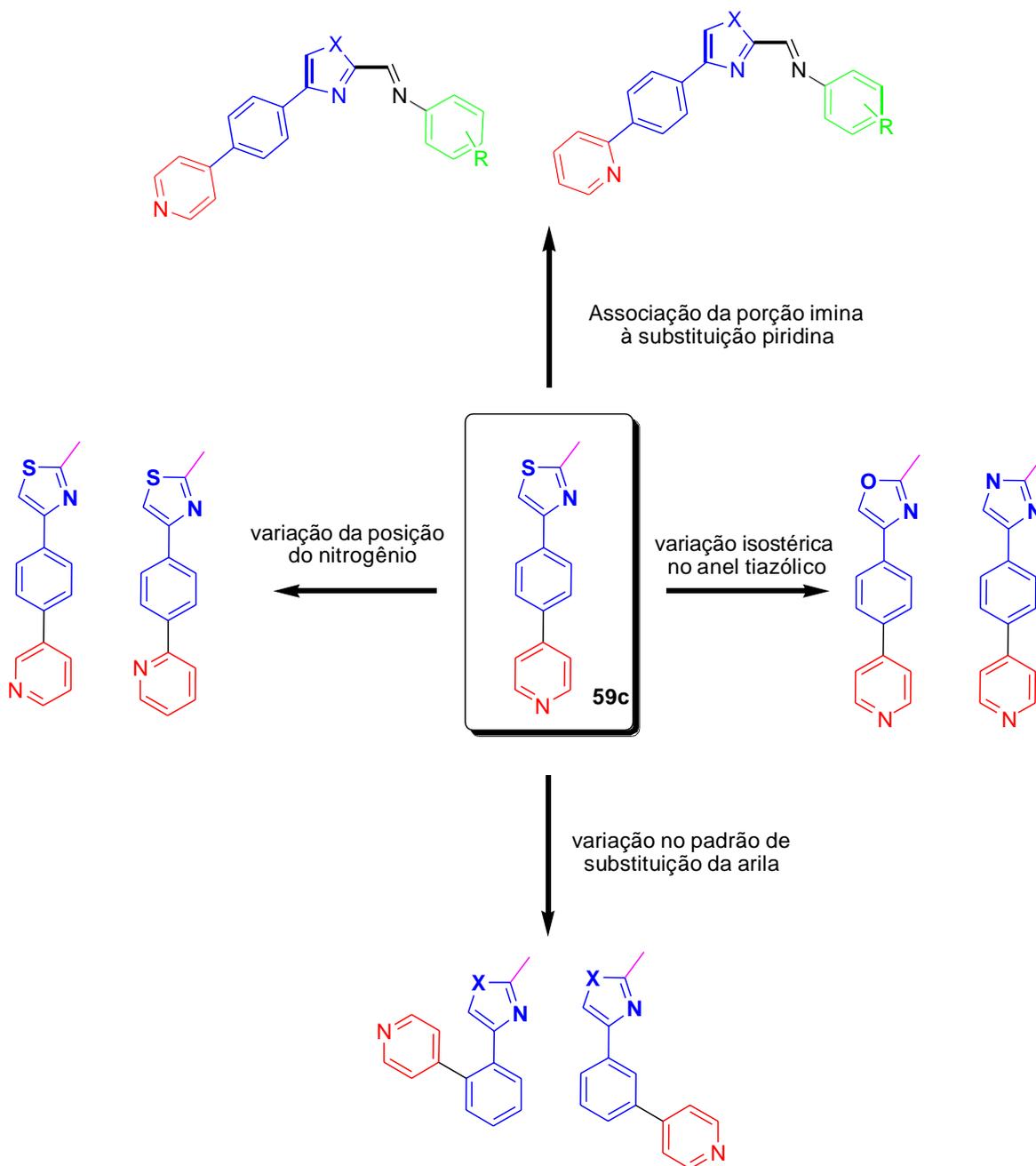
Apesar de serem dados preliminares e diversos outros testes se fizerem necessários, o composto piridil substituído (**59c**) servirá como base para novas otimizações, uma vez que se destacou apresentando a melhor atividade tripanocida dentre a série compostos. Assim serão propostas mudanças estruturais que levem ao incremento da atividade tripanocida.

Ademais, o estudo dos efeitos da adição de uma segunda arila substituída aos tiazóis na atividade tripanocida ainda é recente, bem como a aplicação do acoplamento de Suzuki nas sínteses desses compostos, não existindo dados disponíveis para comparações mais aprofundadas.

6. Perspectivas

Podem ser destacadas como perspectivas desse trabalho, a continuação da avaliação da atividade biológica do composto **59c**. Nesse sentido pretende-se, inicialmente, determinar a relação dose/resposta *in vitro*. Caso esses dados sejam promissores, a atividade *in vivo* desse composto será avaliada.

Considerando a maior atividade do composto piridil-substituído, pretende-se fazer a síntese de novos análogos contendo esse heterociclo nitrogenado, como pode ser observado no Esquema 29, considerando também que nos estudos de Oliveira Filho, foi demonstrado que a inserção de diferentes anéis piridínicos em compostos causa incremento na atividade tripanocida¹⁷. Além disso, pretende-se avaliar o efeito da substituição do anel tiazólico pelo anel oxazol, pois segundo Moura e colaboradores, este tipo de molécula pode levar a boas atividades tripanocidas¹⁵¹ e também a adição do imidazol, grupo característico do fármaco referência benznidazol. Outra modificação planejada em busca da melhoria na atividade tripanocida é a adição de um anel piridínico associado a função imina na posição C2 do tiazol **59c**, uma vez que a associação deste heterociclo a hidrazona - similar a imina - já tem seu papel reconhecido nos testes *in vitro* e *in vivo* contra o parasito¹⁴⁻¹⁸.



Esquema 29: Planejamento da síntese de novos análogos ao composto **59c** contendo heterociclos nitrogenados

7. Procedimentos experimentais

7.1. Materiais e Métodos

Os reagentes usados neste trabalho foram adquiridos da Sigma-Aldrich Co, os solventes utilizados foram adquiridos nas empresas Vetec Química Fina Ltda., Labsynth e Isofar. Para as reações de Suzuki, Dioxano, Água e Etanol, foram deaierados através de fluxo de nitrogênio. Para a aminação de Buchwald-Hartwig empregou-se tolueno anidro, destilado sob Na/Benzofenona em atmosfera de nitrogênio.

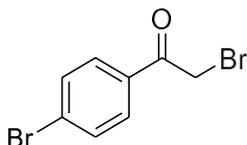
Para a identificação dos compostos sintetizados, os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C em solução foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance III HD-400 MHz da Central Analítica do Departamento de Química da PUC-Rio. Nesse processo também foram realizados espectros de CG/MS da Central Analítica do Departamento de Química da PUC-Rio, utilizando equipamento ThermoScientific, Cromatógrafo Modelo Trace 1300 MS-ISQ SINGLE E QUADRUPOLE MS, utilizando coluna DB-5MS.

As análises da redução da atividade parasitária e da citotoxicidade *in vitro* foram feitas pelo Laboratório de Biologia Celular do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) em Manguinhos-RJ, conforme procedimento descrito no item 7.6.

7.2 Síntese dos intermediários e novo derivados de tiazol

7.2.1 Bromação da 4-bromoacetofenona (54)

Em um balão de 250mL foram adicionados a 4-bromoacetofenona **54** (10 mmol; 1,99 g) e 4mL de ácido acético. A reação foi colocada sob agitação à 25°C, em seguida uma solução de Br_2 (10 mmol; 0,49 mL) em 4 mL de ácido acético foi adicionada gota-à-gota no balão reacional durante 15 minutos. A reação ficou sob agitação durante 18 horas à 25°C até o desaparecimento da cor laranja característica do bromo, quando foi observada a formação de um sólido branco. Ao término, a mistura reacional foi filtrada a vácuo e lavada com uma solução gelada contendo água destilada e etanol na proporção de 50%. Assim, foram obtidos 1,8 g de um sólido branco (**55**).

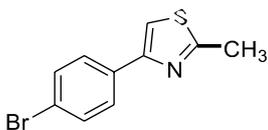


2-bromo-1-(4-bromofenil)etanona (55): rendimento 85%. Sólido branco. PF = 111°C. Reportado em¹⁵².

7.3 Síntese dos 4-bromotiazóis (56 e 57) via reação de ciclocondensação

7.3.1. Procedimento usando tioacetamida

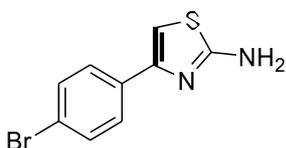
Em um tubo de Schlenk reselável foram adicionados 2-bromo-1-(4-bromofenil)etanona (**55**) (695,4 mg, 2,5 mmol) a tioacetamida (200 mg, 2,6 mmol) em 4,5 mL de DMF colocou-se sob aquecimento por 2 horas a 70°C, sendo o progresso da reação acompanhado por cromatografia em camada delgada. Ao término da reação adicionou-se água para precipitar o produto e em seguida o conteúdo foi filtrado a vácuo e lavado com água. Foram obtidos 589 mg de um sólido branco (**56**).



4-(4-bromofenil)-2-metiltiazol (56): rendimento 93%. Sólido branco. PF = 134°C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.78 – 7.75 (m, 2H), 7.56 – 7.53 (m, 2H), 7.32 (s, 1H), 2.78 (s, 3H). Em concordância com a literatura¹⁵³⁻¹³⁷.

7.3.2. Procedimento utilizando tioureia

Em um tubo de Schlenk reselável foram adicionados 2-bromo-1-(4-bromofenil)etanona (**55**) (278 mg, 1 mmol) e tioureia (83mg, 1,1 mmol) em 10 mL de etanol. A reação foi aquecida à 80°C por 4h e seu progresso acompanhado por cromatografia em camada delgada. Ao término, a reação foi resfriada e vertida em um erlenmeyer contendo 20 mL de água gelada. O frasco foi colocado em banho de gelo e agitação por 30 minutos, em seguida, foi feito o ajuste de pH da reação até 8 utilizando uma solução de Na₂CO₃ 1mol/L. Por fim, o conteúdo do recipiente foi filtrado a vácuo e lavado com água gelada e seco sob vácuo, obtendo-se um sólido levemente amarelado com massa de 235mg (**57**).

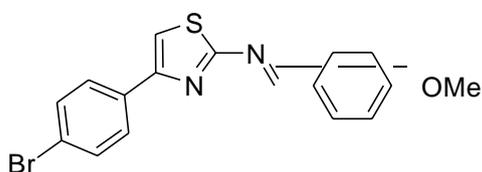


4-(4-bromofenil)-2-aminotiazol (57): rendimento 92%. Sólido amarelo claro. PF = 181°C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ 7.74 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.55 (d, *J*

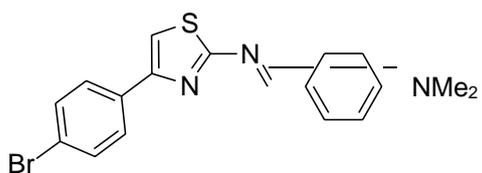
= 8.6 Hz, 2H), 7.07 (s, 1H). De acordo com a literatura¹³⁷⁻¹⁵⁴.

7.4 Síntese de iminas

Em um tubo de Schlenk reselável foram adicionados 4-(4-bromofenil)tiazol-2-amina (**57**) (50mg, 0,2mmol) e p-anisaldeído (35mg, 0,25 mmol) ou 4-(dimetilamino)benzaldeído (45 mg, 0,3mmol) em 2,5 mL de etanol. A mistura foi aquecida por 4 horas à 80°C, foram adicionadas peneiras moleculares e o progresso da reação também foi acompanhado por cromatografia em camada delgada. Ao término da reação o conteúdo do Schlenk foi filtrado com etanol gelado, sendo que sólidos amarelos, referentes a **58a** e **58b** foram obtidos.



(E)-N-4-(4-bromofenil)tiazol-2-il)-1-(4-metoxifenil) metanoimina (58a): rendimento 33%. Sólido amarelo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.93 (s, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.81 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.32 (s, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.88 (s, 3H). Não há dados de RMN experimentais na disponíveis na literatura até o momento.



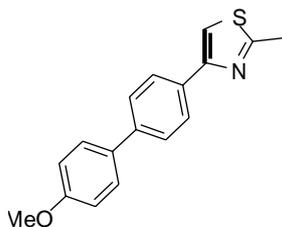
(E)-N-4-(((4-(4-bromofenil)-tiazol-2-il)imino)metil)-N,N-dimetilanilina (58b): rendimento 19%. Sólido amarelo.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.81 (s, 1H), 7.85 (dd, *J* = 18.8, 8.6 Hz, 4H), 7.53 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.26 (s, 1H), 6.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.09 (s, 6H). Reportado na literatura¹⁵⁴.

7.5 Procedimento das reações de Suzuki

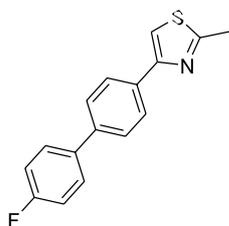
Em um tubo de Schlenk reselável foram adicionados 4-(4-bromofenil)-2-metiltiazol (**56**) ou 4-(4-bromofenil)-2-aminotiazol (**57**) (50mg, 0,2mmol), ácido aril/heteroaril/naftil borônico (0,22 mmol), carbonato de potássio (85mg, 0,6 mmol), trifenilfosfina (3,7mg, 6mol%) e acetato de Paládio (2,4mg, 3 mol%) sob atmosfera inerte em 1,2mL de

dioxano/água/etanol (7:1:1) deaerados por 18 horas à 120°C. Após o término da reação, foi realizada cromatografia em camada delgada comprovando a formação do produto, então foi feita extração básica utilizando uma solução 1 mol/L de NaOH, acetato de etila e água. O bruto da reação filtrado, seco e purificado em coluna cromatográfica, utilizando misturas de hexano/acetato de etila, com a porcentagem de acetato de etila variando de 5% até 4:1, dependendo do composto a ser purificado.



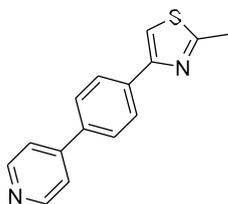
4-(metóxi-[1,1-bifenil]-4-il)-2-metiltiazol (59a):

rendimento 23%. Sólido branco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.80 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.20 (s, 1H), 6.99 (dd, $J = 11.0, 8.9$ Hz, 4H), 6.89 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.76 (s, 3H). Reportado em¹²²



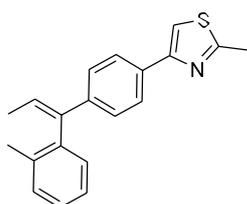
4-(4-fluor-[1,1-bifenil]-4-il)-2-metiltiazol (59b):

rendimento 65%. Sólido branco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.94 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.63 – 7.54 (m, 4H), 7.35 (s, 1H), 7.15 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 2.79 (s, 3H).

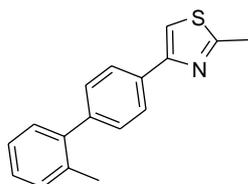


2-metil-4-(4-(piridin-4-il)fenil)tiazol (59c):

rendimento 63%. Sólido branco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.67 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 8.00 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.70 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 7.40 (s, 1H), 2.80 (s, 3H).

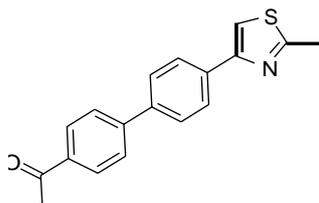


2-metil-4-(4-(naftalen-1-il)fenil)tiazol (59d): rendimento 13%. Sólido branco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.01 – 7.97 (m, 2H), 7.95 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.57 – 7.53 (m, 2H), 7.52 – 7.47 (m, 2H), 7.46 – 7.43 (m, 1H), 7.34 (s, 1H), 2.78 (s, 3H).

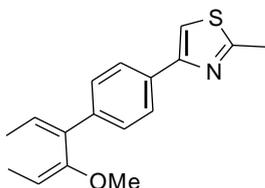


2-metil-4-(2-metil-[1,1-bifenil]-4-il)tiazol (59e):

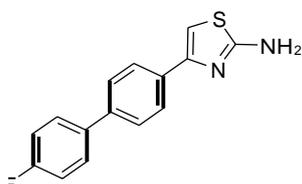
rendimento 57%. Sólido branco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.98 – 7.93 (m, 2H), 7.43 – 7.40 (m, 2H), 7.37 (s, 1H), 7.32 – 7.27 (m, 4H), 2.82 (s, 3H), 2.34 (s, 3H). Reportado em¹²².



1-(4-(2-metiltiazol-4-il)-[1,1-bifenil]-4-il)etanona (59f): rendimento 55%. Sólido branco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.08 – 7.95 (m, 4H), 7.71 (dd, $J = 15.6, 8.2$ Hz, 4H), 7.38 (s, 1H), 2.80 (s, 3H), 2.63 (s, 3H).



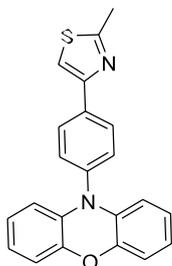
4-(2-metoxi-[1,1-bifenil]-4-il)-2-metiltiazol (59g): rendimento 88%. Sólido branco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.91 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.58 (t, $J = 10.1$ Hz, 2H), 7.43 – 7.28 (m, 3H), 7.03 (dt, $J = 14.7, 10.2$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.78 (s, 3H).



4-(4-fluor-[1,1-bifenil]-4-il)thiazol-2-amina (59h): rendimento 51%. Sólido branco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 7.87 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.76 – 7.70 (m, 2H), 7.65 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.28 (t, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.06 (s, 1H).

7.6.1 Síntese do derivado de tiazol 60 via acoplamento de Buchwald-Hartwig

Em um tubo de Schlenk reselável foram adicionados 4-(4-bromofenil)-2-metiltiazol **56** (99,5mg, 0,4mmol), fenoxazina (110,6mg, 0,6mmol), terc-butóxido de sódio (58 mg, 0,6 mmol), acetato de paládio (2mg, 2mol%), tri-tert-butilfosfônio tetrafluorborato (8,4 mg, 6mol%) em 2,5 mL de tolueno anidro. A reação ocorreu sob atmosfera inerte durante 24 horas à 110°C. Após o término da reação, foi realizada cromatografia em camada delgada comprovando a formação do produto, então o bruto da reação foi filtrado, seco e purificado em coluna cromatográfica com uma mistura hexano/acetato de etila 1%, obtendo-se um sólido marrom com massa de 62mg (**60**).

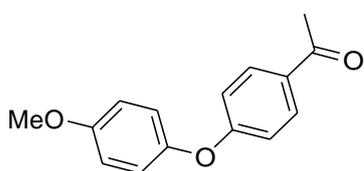


10-(4-(2-metiltiazol-4-il)fenil)-10H-fenoxazina (60): rendimento 31%. Sólido marrom. PF = 195°C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.10 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 6.71 – 6.55 (m, 6H), 5.98 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.82 (s, 3H).

7.5.2 Síntese do derivado de tiazol 65 via condensação [3+1+1] catalisada por cobre com intermediário oxima

7.5.2.1 Síntese da Fluoracetofenona bromada

Em um tubo de Schlenk foram adicionados 4-fluoroacetofenona (**61**) (500mg, 3,62mmol), 4-metoxifenol (**62**) (450,1mg, 3,62mmol), carbonato de potássio (600mg, 4,35mmol) em 3,6mL de DMF. A mistura foi aquecida por 7 horas à 150°C. O andamento da reação foi acompanhado via cromatografia em camada delgada até a formação do produto desejado. Em seguida, a reação foi diluída em acetato de etila e lavada com água e solução de hidróxido de sódio. A fase orgânica foi seca sob sulfato de sódio, filtrada e concentrada sob vácuo, obtendo-se um sólido branco com massa de 679mg (**63**).

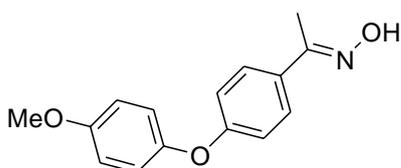


1-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)etanona (63): rendimento 77%. Sólido branco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.94 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 6.96 (dd, $J = 8.9, 6.1$ Hz, 4H), 3.85 (s, 3H), 2.58 (s, 3H).

7.5.2.2 Síntese da oxima 64 via acetofenona 63

A reação posterior foi feita em tubo de Schlenk reselável, no qual foram adicionados 1-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)etanona (**63**) (339mg, 1,4mmol), cloridrato de hidroxilamina (118mg, 1,65mmol) e trietilamina (428mg, 4,2mmol) em 10,8 mL de etanol, a mistura foi aquecida por 29 horas à 60°C e o progresso da reação, novamente, foi acompanhado por cromatografia em camada delgada.

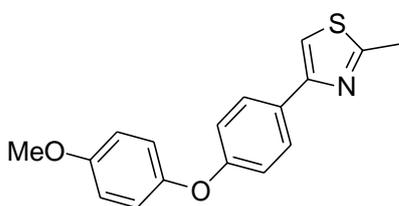
Ao ser constatado o término da reação o conteúdo do Schlenk foi seco no rotaevaporador e em seguida extraído utilizando acetato de etila e água e seco, obtendo-se um sólido branco com massa de 187mg (**64**).



1-[4-(4-metoxifenoxi)fenil]-oxima (64): rendimento 60%. Sólido branco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.58 – 7.55 (m, 2H), 7.02 – 6.97 (m, 2H), 6.95 – 6.88 (m, 4H), 3.81 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.65 (s, 1H).

Na última etapa sintética, a 1-[4-(4-metoxifenoxi)fenil]-oxima (**64**) (186mg, 0,73mmol) foi adicionada a um tubo de Schlenk reselável juntamente com tiocianato de potássio (143mg, 1,46 mmol), iodeto de cobre (15mg, 0,073mmol) e anidrido acético (224mg, 2,19 mmol) a mistura foi solubilizada em 4,4 mL de Tolueno e aquecida a 120°C por 24 horas.

Ao constatar o término da reação por cromatografia em camada delgada, foi realizada extração acetato de etila e água, em seguida, para purificar o bruto da reação, este foi seco e purificado em coluna cromatográfica com uma mistura hexano/acetato de etila 6:1 obtendo-se um sólido branco de massa 28mg (**65**).



4-(4-(4-metoxifenoxi)fenil)-2-metiltiazol (65): rendimento 13%. Sólido branco.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.19 (s, 1H), 6.98 (dd, *J* = 11.0, 8.9 Hz, 4H), 6.88 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.75 (s, 3H).

7.6. Metodologia de avaliação da atividade tripanocida e da toxicidade

7.6.1. Preparação das soluções estoque

Todos os derivados de tiazol analisados foram solubilizados em DMSO, com concentrações variando entre 10 e 20µM, de modo que a concentração final de solvente nunca excedesse 0,6%, não sendo tóxico para as células parasitas e mamíferos¹⁶⁰.

7.6.2. Parasitos

Inicialmente 4x10³ células/poço (L929) foram semeadas em uma placa de 96 poços em 80 µl de meio RPMI's (suplementado com 10% de SFB, 2% de L-glutamina) e mantidas a 37°C em atmosfera de 5% de CO₂. Após 24 h, as culturas foram infectadas por 2 horas com formas de tripomastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen-β gal) (razão parasito:célula de 10 parasito:1 célula), seguida de lavagem e incubação por 48 horas. Após esse período, foram adicionados os compostos (10µM ou 20µM) ou BZ (10µM) e as placas incubadas por 96 horas. Após tratamento, foram adicionados 50µL da solução glicosídeo vermelho de clorofenol a 500µM diluído em 0,5% de Nonidet P40 e as culturas foram incubadas por 18 horas a 37°C. Finalmente, foi feita a leitura em espectrofotômetro no comprimento de 570 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de redução da carga parasitária

comparando os dados obtidos entre culturas de células infectadas e tratadas, e com culturas infectadas, mas que não foram tratadas. Por fim foi feito o cálculo dos valores de EC_{50} ¹⁶¹.

Amastigotas de cultivo celular da cepa Tulahuen, que expressam o gene β -galactosidase de *Escherichia coli*, foram recolhidas a partir do sobrenadante de culturas celulares infectadas (células L929)¹⁶¹.

7.6.3. Análise da Toxicidade dos Compostos Sobre Células de Mamíferos *in vitro*

As células L929 foram cultivadas a 37°C, incubadas por 96 horas, juntamente com os compostos em análise diluídos em meio de cultura. Dessa forma foram avaliados por microscopia a morfologia, a densidade celular e a contratibilidade espontânea e a sua viabilidade celular determinada pelo teste Presto Blue. No teste colorimétrico com Alamar Blue® (teste de detecção de viabilidade celular) a leitura foi realizada em um espectrofotômetro com absorvância de 570 e 600 nm. Todos os ensaios foram feitos em triplicata¹⁶⁰.

8. Referências bibliográficas

1. Lindoso, J. A. L. & Lindoso, A. A. B. P. Neglected tropical diseases in Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **51**, 247–253 (2009).
2. WHO. *Integrating Neglected tropical diseases into global health and development: fourth WHO report on neglected tropical diseases*. World Health Organization (2017).
3. Sangenis, L. H. C., Nielebock, M. A. P., da Silva Santos, C., da Silva, M. C. C. & Bento, G. M. R. Transmissão da doença de Chagas por consumo de carne de caça: Revisão sistemática. *Rev. Bras. Epidemiol.* **19**, 803–811 (2016).
4. Luquetti, A. *et al.* Doença de Chagas - Triagem e diagnóstico sorológico em unidades hemoterápicas e de saúde pública. 76 (1998).
5. Kropf, S. P. Carlos Chagas e os debates e controvérsias sobre a doença do Brasil (1909-1923). *História, Ciências, Saúde-Manguinhos* **16**, 205–227 (2009).
6. Coutinho, M. & Dias, C. J. P. A descoberta da doença de Chagas. *Cad. Ciências e Technol.* **16**, 11–51 (1999).
7. Federal, U., Acre, D. O., De, U. P., Ci, E. M. & Para, T. Panorama Epidemiológico Da Doença De Chagas No Estado Do Amazonas , No Período De 2004 a 2014
Panorama Epidemiológico Da Doença De Chagas No Estado Do Amazonas , No Período De 2004 a 2014. (2018).
8. Dias, L. C. *et al.* Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. *Quim. Nova* **32**, 2444–2457 (2009).
9. Hall, B. S., Wu, X., Hu, L. & Wilkinson, S. R. Exploiting the drug-activating properties of a novel trypanosomal nitroreductase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 1193–1199 (2010).
10. Oliveira, M. de F. *et al.* Tratamento etiológico da doença de Chagas no Brasil. *Rev. Patol. Trop.* **37**, 209–228 (2008).
11. Álvarez, G. *et al.* Identification of a new amide-containing thiazole as a drug candidate for treatment of chagas' disease. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 1398–1404 (2015).
12. Rassi, A., Rassi, A. & Marcondes de Rezende, J. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). *Infect. Dis. Clin. North Am.* **26**, 275–291 (2012).
13. Cardoso, M. V. D. O. *et al.* 2-Pyridyl thiazoles as novel anti-Trypanosoma cruzi agents: Structural design, synthesis and pharmacological evaluation. *Eur. J. Med.*

- Chem.* **86**, 48–59 (2014).
14. Caputto, M. E. *et al.* Synthesis and biological evaluation of some novel 1-indanone thiazolyldrazones derivatives as anti-*Trypanosoma cruzi* agents. *Eur. J. Med. Chem.* **55**, 155–163 (2012).
 15. da Silva, E. B. *et al.* Design and synthesis of potent anti-*Trypanosoma cruzi* agents new thiazoles derivatives which induce apoptotic parasite death. *Eur. J. Med. Chem.* **130**, 39–50 (2017).
 16. De Moraes Gomes, P. A. T. *et al.* New 1,3-thiazole derivatives and their biological and ultrastructural effects on *Trypanosoma cruzi*. *Eur. J. Med. Chem.* **121**, 387–398 (2016).
 17. de Oliveira Filho, G. B. *et al.* Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against *Trypanosoma cruzi*. *Eur. J. Med. Chem.* **141**, 346–361 (2017).
 18. Noguera, G. J., Fabian, L. E., Lombardo, E. & Finkielstein, L. M. Studies of 4-arylthiazolyldrazones derived from 1-indanones as *Trypanosoma cruzi* squalene epoxidase inhibitors by molecular simulations. *Org. Biomol. Chem.* **16**, 8525–8536 (2018).
 19. Victor, M. M. & Da Silva, G. S. B. Sínteses totais no Brasil empregando acoplamentos cruzados mediados por paládio. *Quim. Nova* **39**, 859–875 (2016).
 20. Nobre, S. M. REAÇÕES DE ACOPLAMENTO C-C: DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS CATALÍTICOS, ESTUDO DO MECANISMO E APLICAÇÃO NA SÍNTESE DO TRANS-RESVERATROL Sabrina Madruga Nobre. 107 (2008).
 21. Hauptmann, S. *Theophil Eicher, Siegfried Hauptmann The Chemistry of Heterocycles.* (2003).
 22. Keenan, M. *et al.* Analogues of fenarimol are potent inhibitors of *trypanosoma cruzi* and are efficacious in a murine model of chagas disease. *J. Med. Chem.* **55**, 4189–4204 (2012).
 23. Beraldo, H. & Gambino, D. The Wide Pharmacological Versatility of Semicarbazones, Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes. *Mini-Reviews Med. Chem.* **4**, 31–39 (2005).
 24. Khan, K. M. *et al.* Schiff bases of thiazole as antibacterial and antifungal agents. *J. Pharm. Res.* **5**, 651–656, 6 pp. (2012).
 25. Echevarria, A., Nascimento, M. D. G., Gerônimo, V., Miller, J. & Giesbrecht, A. NMR Spectroscopy, Hammett Correlations and Biological Activity of Some Schiff Bases Derived from Piperonal. *J. Braz. Chem. Soc.* **10**, 60–64 (1999).
 26. Azab, M. E., Rizk, S. A. & Amr, A. E. G. E. Synthesis of some novel heterocyclic and

- schiff base derivatives as antimicrobial agents. *Molecules* **20**, 18201–18218 (2015).
27. Patel, N. A., Surti, S. C., Patel, R. G. & Patel, M. P. Synthesis, characterization, and biological activity of some new benzoic acid and thiazoloacridine derivatives. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **183**, 2191–2203 (2008).
 28. Brito, C. C. B. *et al.* Synthesis and biological evaluation of thiazole derivatives as LbSOD inhibitors. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **34**, 333–342 (2019).
 29. VALVERDE, R. Doenças Negligenciadas. *Agência Fiocruz* <https://agencia.fiocruz.br/doencas-negligenci> (2013).
 30. ZICKER, F. Doenças tropicais negligenciadas: uma agenda inacabada. *Dep. Molest. Infeciosas e Parasit.* 3–45 (2015).
 31. Molyneux, D. H., Hotez, P. J. & Fenwick, A. 'Rapid-impact interventions': How a policy of integrated control for Africa's neglected tropical diseases could benefit the poor. *PLoS Med.* **2**, 1064–1070 (2005).
 32. Rocha, A. D. J. O Impacto Social Das Doenças Negligenciadas No. *Trab. Conclusão Curso* (2012).
 33. DIAS, J. Fiocruz debate doenças negligenciadas e Agenda 2030. <https://portal.fiocruz.br/noticia/fiocruz-debate-doencas-negligenciadas-e-agenda-2030> (2019).
 34. Neglected tropical diseases. *world health organization* https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/ (2017).
 35. de Souza, H. P. *et al.* Infectious and parasitic diseases in Brazil, 2010 to 2017: Considerations for surveillance. *Rev. Panam. Salud Publica/Pan Am. J. Public Heal.* **44**, 1–7 (2020).
 36. Brasil. Ministério da Saúde. Agenda de Prioridades de Pesquisa do Ministério da Saúde - APPMS. 26 (2018).
 37. SOBRAL, N. V. PESQUISADORES EM DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS NO BRASIL: PRODUÇÃO CIENTÍFICA E CONVERGÊNCIAS COM O PLANO NACIONAL DE SAÚDE (2016 a 2019). *Ayar* vol. 8 (2019).
 38. Andricopulo, A. D. A luta contra as doenças tropicais negligenciadas continua. *Veja Saúde* <https://saude.abril.com.br/blog/com-a-palavra/a-luta-contra-as-doencas-tropicais-negligenciadas-continua/> (2020).
 39. DNDi. Por um tratamento mais seguro e eficaz para as pessoas que vivem com Doença de Chagas. *Atualização do portfólio da DNDi no Combat. à doença Chagas* (2018).
 40. OLIVEIRA, E. Quais são as doenças que a indústria farmacêutica negligencia por não darem lucro? (2019).

41. MORI, L. As doenças negligenciadas pela indústria farmacêutica que afetam milhões de pessoas no mundo e no Brasil. *BBC News Brazil* <https://www.bbc.com/portuguese/geral-46961306> (2019).
42. PINHEIRO, P. DOENÇA DE CHAGAS – INFECÇÃO PELO PROTOZOÁRIO TRYPANOSOMA CRUZI. <https://www.mdsaude.com/doencas-infecciosas/parasitoses/doenca-de-chagas/> (2020).
43. Araújo, A. J. G. de, Sabroza, P. C. & Silva, L. F. R. F. da. Situação atual da epidemiologia da doença de Chagas. *Portal da Doença de Chagas* <http://chagas.fiocruz.br/epidemiologia/> (2017).
44. ARUJO, J. doença de Chagas. [https://agencia.fiocruz.br/doenca-de-chagas#:~:text=No Brasil%2C atualmente predominam os,casos isolados em outros estados.](https://agencia.fiocruz.br/doenca-de-chagas#:~:text=No%20Brasil%20atualmente%20predominam%20os,casos%20isolados%20em%20outros%20estados.) (2013).
45. Dias, J. C. P. A doença de Chagas e seu controle na América Latina: uma análise de possibilidades. *Cad. Saude Publica* **9**, 201–209 (1993).
46. DNDi. DOENÇA DE CHAGAS. (2020).
47. Tyler, K. M. & Engman, D. M. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *Int. J. Parasitol.* **31**, 472–481 (2001).
48. Añez, N. & Crisante, G. Supervivencia de formas de cultivo de *Trypanosoma cruzi* en alimentos experimentalmente contaminados. *Bol. malarial. salud Ambient* 91–94 (2008).
49. Dias, J. C. P. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bioecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **39**, 370–375 (2006).
50. Bern, C. Chagas' disease. *N. Engl. J. Med.* **373**, 456–466 (2015).
51. Magalhães, L. *Trypanosoma cruzi*. <https://www.todamateria.com.br/trypanosoma-cruzi/> (2017).
52. Azambuja, P., Ratcliffe, N. A. & Garcia, E. S. Towards an understanding of the interactions of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* within the reduviid insect host *Rhodnius prolixus*. *An. Acad. Bras. Cienc.* **77**, 397–404 (2005).
53. Miranda, M. da S. Síntese, Caracterização Estrutural e Avaliação da Atividade Anti-*Trypanosoma cruzi* de Derivados Tiazolidínicos e Imidazolidínicos. 137 (2009).
54. Oral, U. S. O. Protease Enzima que hidrolisa proteínas.
55. Lima, C. V. D. P. Identificação de proteínas que interagem com a ubiquitilação em *Trypanosoma cruzi* Universidade Federal do Paraná Instituto Carlos Chagas Curso de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular por. (2015).
56. Contreras, V. T. *et al.* Biological aspects of the Dm 28c clone of *Trypanosoma cruzi*

- after metacyclogenesis in chemically defined media. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* vol. 83 123–133 (1988).
57. Contreras, V. T. *et al.* Production of amastigotes from metacyclic trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **97**, 1213–1220 (2002).
 58. Teixeira, A. R. L., Nascimento, R. J. & Sturm, N. R. *Teixeira_et al_Evolution and pathology in Chagas disease - A Review.pdf*. **101**, 463–491 (2006).
 59. Marin-Neto, J. A. *et al.* Rationale and design of a randomized placebo-controlled trial assessing the effects of etiologic treatment in Chagas' cardiomyopathy: The BENznidazole Evaluation For Interrupting Trypanosomiasis (BENEFIT). *Am. Heart J.* **156**, 37–43 (2008).
 60. De Nazaré Correia Soeiro, M. *et al.* In vitro and *in vivo* studies of the antiparasitic activity of sterol 14 α -demethylase (CYP51) INHIBITOR VNI against drug-resistant strains of *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 4151–4163 (2013).
 61. CASTRO, E. DE. COMPOSTO ATIVADOR DE PROCASPASE-1 INDUZ APOPTOSE-LIKE EM TRYPANOSOMA CRUZI. (2018).
 62. Braz, S. Investigação do tratamento com o benzonidazol sobre a resposta imunológica de portadores crônicos da doença de Chagas. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* vol. 58 (2015).
 63. Castro, S. L. de & Soeiro, M. de N. C. Drogas tripanossomicidas. *Fiocruz* (2017).
 64. ESTUDO DA AÇÃO TERAPÊUTICA E PERFIL CITOTÓXICO DE NOVOS CANDIDATOS Á FÁRMACOS SOBRE A INFECÇÃO POR *Trypanosoma cruzi* IN VITRO. 1–13 (2020).
 65. Ostermayer, A. L. & Maria De Castro, A. S O R O L Ó G I C O Da D O E N Ç a De C H a G a S. (1997).
 66. Moreira, D. R. Planejamento estrutural, síntese e avaliação das propriedades tripanocidas de 2-iminotiazolidina-4-onas e seus análogos estruturais do tipo 2-imino-1,3-tiazóis. 195 (2012).
 67. Rusanen, O., Keranen, K., Blomberg, M. & Lehto, A. Adhesive flip chip bonding in a miniaturized spectrometer. *IEEE Int. Symp. Polym. Electron. Packag. PEP* 95–100 (1997) doi:10.1109/pep.1997.656479.
 68. Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods Enzymol.* **186**, 1–85 (1990).
 69. Dunford, H. B. Free radicals in iron-containing systems. *Free Radic. Biol. Med.* **3**, 405–421 (1987).
 70. Free Radical Metabolites in the Mode of Action of Chemotherapeutic Agents and

- Phagocytic Cells on *Trypanosoma cruzi* Author (s): Roberto Docampo and Silvia N . J . Moreno Published by: Oxford University Press Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/445>. **6**, 223–238 (2016).
71. Físicas, B. D. P. & Janeiro, R. De. Mechanism of Nifurtimox Toxicity in Different. **30**, 1947–1951 (1981).
 72. Antonio Marin-Neto, J., Rassi, A., Avezum, A., Mattos, A. C. & Rassi, A. The Benefit trial: Testing the hypothesis that trypanocidal therapy is beneficial for patients with chronic Chagas heart disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **104**, 319–324 (2009).
 73. FERREIRA, R. A. A. DESENVOLVIMENTO DE NOVOS INIBIDORES DA ENZIMA CRUZAÍNA DE T. CRUZI, ALVO TERAPÊUTICO VALIDADO PARA A DOENÇA DE CHAGAS **147**, 11–40 (2016).
 74. Hildemagna, F. & Da, G. Novas abordagens na pesquisa de alvos terapêuticos frente à infecção por *Trypanosoma cruzi* Novas abordagens na pesquisa de alvos terapêuticos frente à infecção por *Trypanosoma cruzi*. (2016).
 75. Olivieri, B. P. *et al.* A comparative study of posaconazole and benznidazole in the prevention of heart damage and promotion of trypanocidal immune response in a murine model of Chagas disease. *Int. J. Antimicrob. Agents* **36**, 79–83 (2010).
 76. Simone, S. G. De. Metabolismo do T. cruzi - Resumo.
 77. Silva-López, R. E. da. Proteases de *Leishmania*: novos alvos para o desenvolvimento racional de fármacos. *Quim. Nova* **33**, 1541–1548 (2010).
 78. Celular, B. Análise estrutural e molecular de aspártico peptidases em *Trypanosoma cruzi* Análise estrutural e molecular de aspártico peptidases em *Trypanosoma cruzi*. (2019).
 79. Renslo, A. R. & McKerrow, J. H. Drug discovery and development for neglected parasitic diseases. *Nat. Chem. Biol.* **2**, 701–710 (2006).
 80. Paulo, U. D. S. & Carlos, S. Planejamento , Síntese e Atividade Tripanossomicida de Inibidores covalentes reversíveis da enzima Cruzaína . Planejamento , Síntese e Atividade Tripanossomicida de Inibidores covalentes reversíveis da enzima Cruzaína . (2017).
 81. GAMA, A. N. S. DA. Rio de Janeiro Maio de 2015 INSTITUTO OSWALDO CRUZ. (INSTITUTO OSWALDO CRUZ, 2015).
 82. Korolkovas, A. Planejamento de fármacos. *Ciênc. cult. (São Paulo)* **41**, 528–37 (1989).
 83. Do Amaral, A. T. & Montanari, C. A. 25 Years of medicinal chemistry in Brazil. *Quim. Nova* **25**, 39–44 (2002).
 84. Lombardino, J. G. & Lowe, J. A. The role of the medicinal chemist in drug discovery

- Then and now. *Nat. Rev. Drug Discov.* **3**, 853–862 (2004).
85. Onah, E. Medicinal plants: Prospective drug candidates against the dreaded Coronavirus. **04**, 314–321 (2020).
86. Dreassi, E. *et al.* Determination of permeability and lipophilicity of pyrazolo-pyrimidine tyrosine kinase inhibitors and correlation with biological data. *Eur. J. Med. Chem.* **44**, 3712–3717 (2009).
87. Pieroni, J. P., Capanema, L. X. D. L., Reis, C., Souza, J. O. B. De & Silva, L. G. da. Terceirização Da P&D De Medicamentos: Panorama Do Setor De Testes Pré-Clínicos No Brasil. *BNDES Setorial* **29**, 131–58 (2009).
88. Melo, J. O. F. *et al.* Heterociclos 1,2,3-triazólicos: Histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. *Quim. Nova* **29**, 569–579 (2006).
89. Zald, M. N. The Power and Functions of Boards of Directors: A Theoretical Synthesis. *Am. J. Sociol.* **75**, 97–111 (1969).
90. Ko, T. C. *et al.* Synthesis of 4-alkoxy-2-phenylquinoline derivatives as potent antiplatelet agents. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **11**, 279–282 (2001).
91. Das, B., Saidi Reddy, V. & Ramu, R. A rapid and high-yielding synthesis of thiazoles and aminothiazoles using ammonium-12-molybdophosphate. *J. Mol. Catal. A Chem.* **252**, 235–237 (2006).
92. Silva, L. E. da. Heterociclos Aromáticos Nitrogenados – Síntese e Potencial Quimioterápico. (2006).
93. Silva, B. V., Horta, B. A. C., Alencastro, R. B. de & Pinto, A. C. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. *Quim. Nova* **32**, 453–462 (2009).
94. Mcinnes, C. *et al.* Compostos tiazol, oxazol, imidazol-quinazolina capazes de inibir proteínas cinases. **70** (2004).
95. Patel, N. B., Purohit, A. C. & Rajani, D. Newer thiazolopyrimidine-based sulfonamides clubbed with benzothiazole moiety: Synthesis and biological evaluation. *Med. Chem. Res.* **23**, 4789–4802 (2014).
96. Paulo, U. D. E. S. Ã. O., Teresa, M. & González, P. Síntese de híbrido Ritonavir / Lopinavir como inibidor de protease do vírus HIV-1 e estudo do núcleo 1, 3, 5-triazina em busca de derivados com atividade biológica. (2019).
97. Dondoni, A., Merino, P. & Perrone, D. Totally chemical synthesis of azasugars via thiazole intermediates. Stereodivergent routes to (-)-nojirimycin, (-)-mannojirimycin and their 3-deoxy derivatives from serine. *Tetrahedron* **49**, 2939–2956 (1993).
98. De Souza, M. V. N., Ferreira, S. B., Mendonça, J. S., Costa, M. & Rebello, F. R. Métodos de obtenção e aplicações sintéticas de tiazóis, uma importante classe de compostos heterocíclicos. *Quim. Nova* **28**, 77–84 (2005).

99. Shi, H. B. *et al.* Synthesis and anticancer evaluation of thiazolyl-chalcones. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **20**, 6555–6559 (2010).
100. Kocabas, E., Sariguney, A. B. & Coskun, A. A rapid and high-yielding synthesis of thiazoles and aminothiazoles using tetrabutylammonium salts. *Heterocycles* **81**, 2849–2854 (2010).
101. Tang, X. *et al.* Access to Thiazole via Copper-Catalyzed [3+1+1]-Type Condensation Reaction under Redox-Neutral Conditions. *J. Org. Chem.* **81**, 11461–11466 (2016).
102. Caterina, M. C. *et al.* Imidazolidines as new anti-*Trypanosoma cruzi* agents: Biological evaluation and structure-activity relationships. *Bioorganic Med. Chem.* **16**, 2226–2234 (2008).
103. De Moraes Gomes, P. A. T. *et al.* New 1,3-thiazole derivatives and their biological and ultrastructural effects on *Trypanosoma cruzi*. *Eur. J. Med. Chem.* **121**, 387–398 (2016).
104. Don, R. & Ioset, J. R. Screening strategies to identify new chemical diversity for drug development to treat kinetoplastid infections. *Parasitology* **141**, 140–146 (2014).
105. Marques, F. Estudo in vitro revela composto com alta atividade e seletividade contra o *T. cruzi*. *Fiocruz* [https://agencia.fiocruz.br/estudo-in-vitro-revela-composto-com-alta-atividade-e-seletividade-contra-o-t-cruzi#:~:text=cruzi foi ainda menor \(0,viabilidade das células de mamíferos. \(2009\).](https://agencia.fiocruz.br/estudo-in-vitro-revela-composto-com-alta-atividade-e-seletividade-contra-o-t-cruzi#:~:text=cruzi foi ainda menor (0,viabilidade das células de mamíferos. (2009).)
106. Tempone, A. G., Martins De Oliveira, C. & Berlinck, R. G. S. Current approaches to discover marine antileishmanial natural products. *Planta Med.* **77**, 572–585 (2011).
107. De Moraes Gomes, P. A. T. *et al.* Phthalimido-thiazoles as building blocks and their effects on the growth and morphology of *Trypanosoma cruzi*. *Eur. J. Med. Chem.* **111**, 46–57 (2016).
108. de Oliveira Filho, G. B. *et al.* Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against *Trypanosoma cruzi*. *Eur. J. Med. Chem.* **141**, 346–361 (2017).
109. Correia, C. R. D. & Oliveira, C. C. A evolução da química orgânica sintética: Quo vadis? *Cienc. Cult.* **63**, 33–36 (2011).
110. Correia, C. R. D. & Ferreira, V. F. Introdução. *O Social. ea oiência. Moscou Prog.* **25**, 74–81 (1987).
111. Miyaura, N., Yanagi, T. & Suzuki, a. Synthetic Communications : An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry The Palladium-Catalyzed Cross- Coupling Reaction of Phenylboronic Acid with Haloarenes in the Presence of Bases. *Synth. Commun.* **11**, 513–519 (1981).
112. Batalha, P. N., Sagrillo, F. S. & Gama, I. L. C-C cross-coupling: New methodologies,

- applications and discoveries over the last few years. *Rev. Virtual Quim.* **6**, 494–550 (2014).
113. Brocksom, T. J., Alves, L. de C., Wulf, G. D., Desiderá, A. L. & Oliveira, K. T. de. O Prêmio Nobel de Química em 2010: União Direta de Carbonos sp² e sp. *Química Nov. na Esc.* **32**, 233–239 (2010).
 114. Peña-López, M., Ayán-Varela, M., Sarandeses, L. A. & Pérez Sestelo, J. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organogold(I) reagents with organic electrophiles. *Chem. - A Eur. J.* **16**, 9905–9909 (2010).
 115. Teixeira, R. R., Barbosa, L. C. A. & Piló-Veloso, D. Reações de acoplamento cruzado de organossilanos catalisadas por paládio: aspectos históricos, sintéticos e mecanísticos. *Quim. Nova* **30**, 1704–1720 (2007).
 116. Joshi, H., Prakash, O., Sharma, A. K., Sharma, K. N. & Singh, A. K. Suzuki coupling reactions catalyzed with palladacycles and palladium(II) complexes of 2-thiophenemethylamine-based schiff bases: Examples of divergent pathways for the same ligand. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, 1542–1551 (2015).
 117. Reddy, C. R., Srikanth, B., Narsimha Rao, N. & Shin, D. S. Solid-supported acid-catalyzed C3-alkylation of 4-hydroxycoumarins with secondary benzyl alcohols: access to 3,4-disubstituted coumarins via Pd-coupling. *Tetrahedron* **64**, 11666–11672 (2008).
 118. Corbet, J. P. & Mignani, G. Selected patented cross-coupling reaction technologies. *Chem. Rev.* **106**, 2651–2710 (2006).
 119. Johansson Seechurn, C. C. C., Kitching, M. O., Colacot, T. J. & Snieckus, V. Palladium-catalyzed cross-coupling: A historical contextual perspective to the 2010 nobel prize. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **51**, 5062–5085 (2012).
 120. Suzuki, A. R2. **57**, 1749–1758 (1985).
 121. Limberger, J. & Monteiro, A. L. Acoplamentos de Heck, Suzuki e Ullmann em Compostos Vinílicos: Desenvolvimento de Sistemas Catalíticos e Aplicação na Síntese de Fármacos. *Inst. Química Tese de Do*, 241 (2012).
 122. Dawood, K. M. & El-Deftar, M. M. Microwave-assisted synthesis of 2-substituted 4-biaryl-1,3-thiazoles by carbon-carbon cross-coupling in water. *Synthesis (Stuttg)*. 1030–1038 (2010) doi:10.1055/s-0029-1218662.
 123. Biajoli, A. F. P., Schwalm, C. S., Limberger, J., Claudino, T. S. & Monteiro, A. L. Recent progress in the use of Pd-catalyzed C-C cross-coupling reactions in the synthesis of pharmaceutical compounds. *J. Braz. Chem. Soc.* **25**, 2186–2214 (2014).
 124. Desenvolvimento, C. N. De. Inibidores de fosfodiesterases : novas perspectivas de uma antiga terapia na asma ? * Phosphodiesterase inhibitors : new perspectives on

- an old therapy for asthma ? 405–412 (2003).
125. Burgin, A. B. *et al.* Design of phosphodiesterase 4D (PDE4D) allosteric modulators for enhancing cognition with improved safety. *Nat. Biotechnol.* **28**, 63–70 (2010).
 126. SINGH, Jasbir; GURNEY, Mark; KISELYOV, Alexander; RAO, Munagala; HAGEN, T. Biaryl inhibitors for treating pulmonary and cardiovascular disorders. 145 (2008).
 127. Dalby, A. *et al.* A concise synthesis of biaryl PDE4D allosteric modulators. *Tetrahedron Lett.* **54**, 2737–2739 (2013).
 128. Bolliger, J. L. & Frech, C. M. Dichloro-bis(aminophosphine) complexes of palladium: Highly convenient, reliable and extremely active suzuki-miyaura catalysts with excellent functional group tolerance. *Chem. - A Eur. J.* **16**, 4075–4081 (2010).
 129. Söderberg, B. C. G. Transition metals in organic synthesis: Highlights for the year 2003. *Coord. Chem. Rev.* **250**, 300–387 (2006).
 130. Cheng, K. *et al.* Synthesis, antibacterial activities and molecular docking studies of peptide and Schiff bases as targeted antibiotics. *Bioorganic Med. Chem.* **17**, 7861–7871 (2009).
 131. Larsen, R. D. *et al.* Efficient Synthesis of Losartan,. *J. Org. Chem.* **59**, 6391–6394 (1994).
 132. Silva, T. B., Da Silva, F. C. & Ferreira, V. F. Synthetics Methods for the Preparation of Biaryls. *Rev. Virtual Quim.* **9**, 1258–1284 (2017).
 133. Diniz, L. D. F. *et al.* Effects of ravuconazole treatment on parasite load and immune response in dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 2979–2986 (2010).
 134. Urbina, J. A., Payares, G., Sanoja, C., Lira, R. & Romanha, A. J. In vitro and *in vivo* activities of ravuconazole on *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease. *Int. J. Antimicrob. Agents* **21**, 27–38 (2003).
 135. Parrado, R. *et al.* Usefulness of serial blood sampling and PCR replicates for treatment monitoring of patients with chronic Chagas disease. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* vol. 63 (2019).
 136. Planejamento Estrutural , Síntese E Avaliação Das Propriedades Tripanocidas De 4-Tiazolinonas E Seus Análogos Estruturais Do Tipo 1 , 3-Tiazóis Planejamento Estrutural , Síntese E Avaliação Das Propriedades Tripanocidas De 4-Tiazolinonas E Seus. (2013).
 137. Narsaiah, A. V., Ghogare, R. S. & Biradar, D. O. Glycerin as alternative solvent for the synthesis of Thiazoles. *Org. Commun.* **4**, 75–81 (2011).
 138. Esteves-Souza, A., Echevarria, A., Sant'Anna, C. M. R. & Nascimento, M. D. G. Estudo experimental e teórico da redução de bases de schiff derivadas da 3,3-

- difenilpropilamina. *Quim. Nova* **27**, 72–75 (2004).
139. Cram, D. J. & Elhafez, F. A. A. Studies in Stereochemistry. X. The Rule of “Steric Control of Asymmetric Induction” in the Syntheses of Acyclic Systems. *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 5828–5835 (1952).
 140. Raban, M., Carlson, E. H., Lauderback, S. K., Moldowan, J. M. & Jones, F. B. Torsional Diastereomerism in N-Arenesulfonyl-N-alkylsulfenamides. *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 2738–2742 (1972).
 141. König, K., Göhlert, A., Liehr, T., Loncarevic, I. F. & Riemann, I. Two-Photon Multicolor FISH: A Versatile Technique to Detect Specific Sequences with in Single DNA Molecules in Cells and Tissues. *Single Mol.* **1**, 41–51 (2000).
 142. Prabhakaran, E. N., Nugent, B. M., Williams, A. L., Nailor, K. E. & Johnston, J. N. Free radical-mediated vinyl amination: Access to N,N-dialkyl enamines and their β -stannyl and β -thio derivatives. *Org. Lett.* **4**, 4197–4200 (2002).
 143. Tseng, C. K. Proton and carbon-13 NMR studies of 2-aminothiazoles and 2-iminothiazolines. *Magn. Reson. Chem.* **25**, 105–108 (1987).
 144. Abraham, R. & Prakash, P. A novel substrate controlled chemoselective synthesis of aryl bis(thiazole-2-imine)methanes from 2-aminothiazoles and aldehydes. *Tetrahedron Lett.* **58**, 3057–3063 (2017).
 145. Razgulin, A. V. & Mecozzi, S. Binding properties of aromatic carbon-bound fluorine. *J. Med. Chem.* **49**, 7902–7906 (2006).
 146. Katritzky, A. R. *et al.* Skin permeation rate as a function of chemical structure. *J. Med. Chem.* **49**, 3305–3314 (2006).
 147. Henry, G. D. De novo synthesis of substituted pyridines. *Tetrahedron* **60**, 6043–6061 (2004).
 148. Propriedades Físico-químicas de fármacos Visão geral.
 149. Characterization, P., Antichagasic, O. F. & Currently, B. *Quim. Nova*,. **33**, 1714–1719 (2010).
 150. Filosofia, F. De. Universidade De São Universidade De São. *Teses.Usp.Br* **126**, 2016 (2004).
 151. De Moura, K. C. G. *et al.* Trypanocidal Activity of Isolated Naphthoquinones from *Tabebuia* and Some Heterocyclic Derivatives: A Review from an Interdisciplinary Study. *J. Braz. Chem. Soc.* **12**, 325–338 (2001).
 152. Sharma, D. *et al.* 4-(4-Bromophenyl)-Thiazol-2-Amine derivatives: Synthesis, biological activity and molecular docking study with ADME profile. *BMC Chem.* **13**, 1–16 (2019).
 153. Boyarskii, V. P., Zhesko, T. E., Larionov, E. V. & Polukeev, V. A. Synthesis of

- heteroaromatic carboxylic acids by carbonylation of hetaryl halides with catalysts based on cobalt carbonyl modified with epoxides. *Russ. J. Appl. Chem.* **80**, 571–575 (2007).
154. Zarnegar, Z., Shokrani, Z. & Safari, J. Asparagine functionalized Al₂O₃ nanoparticle as a superior heterogeneous organocatalyst in the synthesis of 2-aminothiazoles. *J. Mol. Struct.* **1185**, 143–152 (2019).
155. ARAÚJO, J. S. DE. ENSAIOS BIOLÓGICOS IN VITRO E *IN VIVO* DE NOVOS COMPOSTOS SINTÉTICOS SOBRE INFECÇÃO POR Trypanosoma. (2015).
156. Rostamizadeh, S.; Aryan, R.; Ghaieni, H. R.; Amani, A. M. *Monatsh Chem.* **2008**, 139, 1241.
157. Donohoe, T. D.; Kabeshov, M. A.; Rathi, A. H.; Smith, I. E. D. *Synlett*, **2010**, 2956
158. Clayden, J; Greeves, N; Warren, P. Wothers, Organic Chemistry, Oxford University Press, 2001.
159. March, J; Smith, M B. March's Advanced Organic Chemistry, Reaction, Mechanism and Structures, 6.ed., 2007.
160. Timm B.L., Da Silva P.B., Batista M.M., Farahat A.A., Kumar A., Boykin D.W., Soeiro M.N. In vitro investigation of the efficacy of novel diamidines against Trypanosoma cruzi. *Parasitology*. 2014 Sep;141(10):1272-6. doi: 10.1017/S0031182014000407. Epub 2014 Apr 15.
161. Romanha A.J., De Castro S.L., Soeiro M.N.C., Lannes-Vieira J., Ribeiro I., Talvani A., Bourdin B., Blum B., Olivieri B., Zani C., Spadafora C., Chiari E., Chatelain E., Chaves G., Calzada J.E., Bustamante J.M., Freitas-Junior L.H., Romero L.I., Bahia M.T., Lotrowska M., Soares M., Andrade S.G., Armstrong T., Degrave W., Andrade Z.A.. 2010. In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 401 105: 233-238.
162. Jiang L, Buchwald SL. In *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions* Wiley VCH Verlag GmbH: Weinheim, Germany, pp 699–760.
163. Kosugi M, Kameyama M, Migita T. *Chem Lett*. 1983; 12: 927–928.
164. Boger DL, Duff SR, Panek JS, Yasuda M. *J Org Chem*. 1985; 50: 5790– 5795.
165. Guram AS, Buchwald SL. *J Am Chem Soc*. 1994; 116: 7901–7902.
166. Paul, F., Patt, J., Hartwig, J.F., *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 7901-7902
167. CZAKÓ, B., KÜRTI, L., Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis. Elsevier. Inglaterra. (p. 70-71; 464-467), **2005**.

9. Anexos

9.1. Espectros de RMN ^1H e ^{13}C

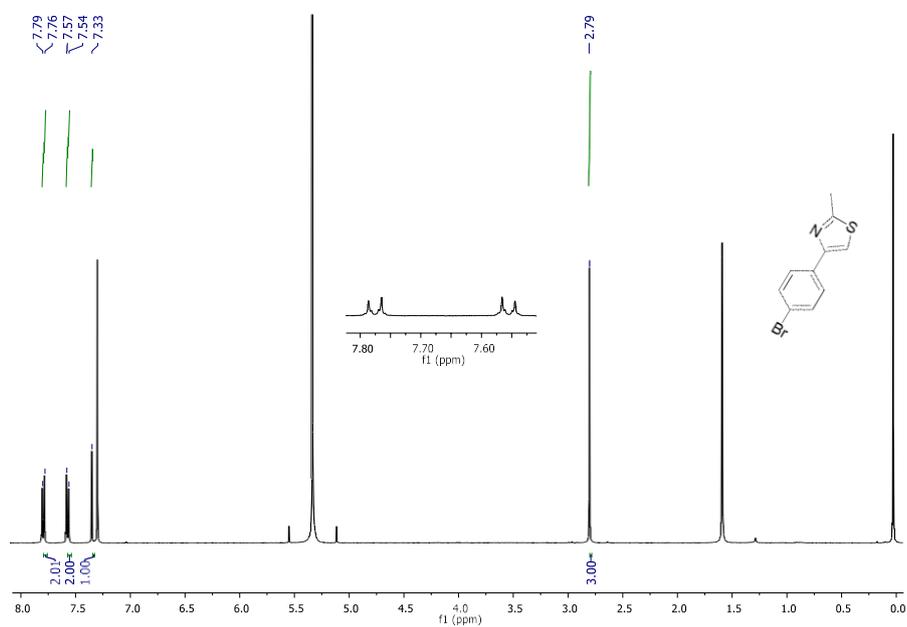


Figura S1: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **56**.

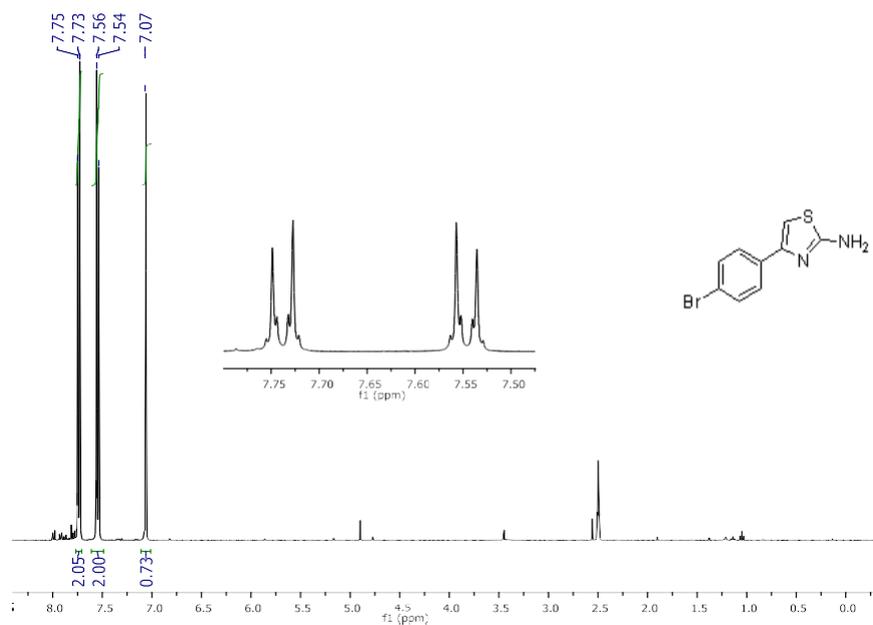


Figura S2: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **57**.

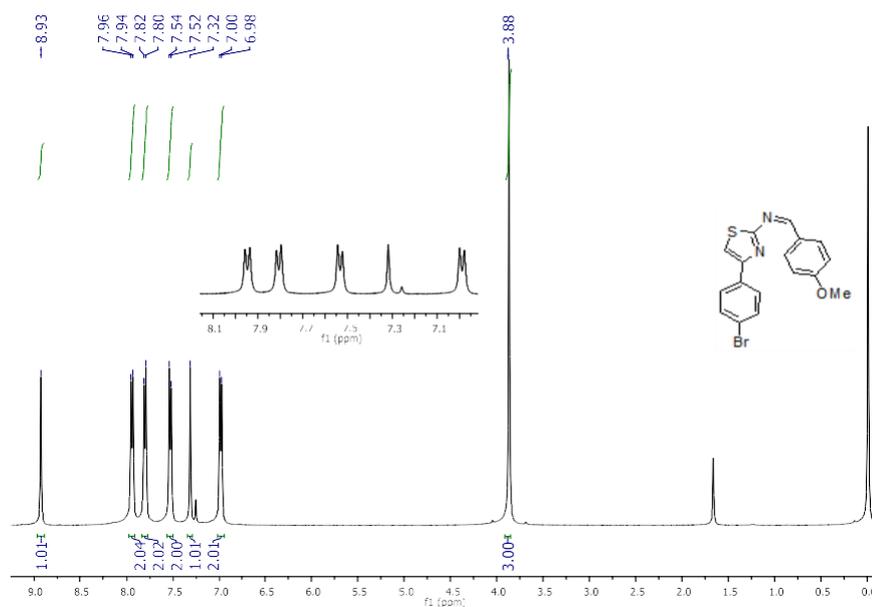


Figura S3: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **58a**.

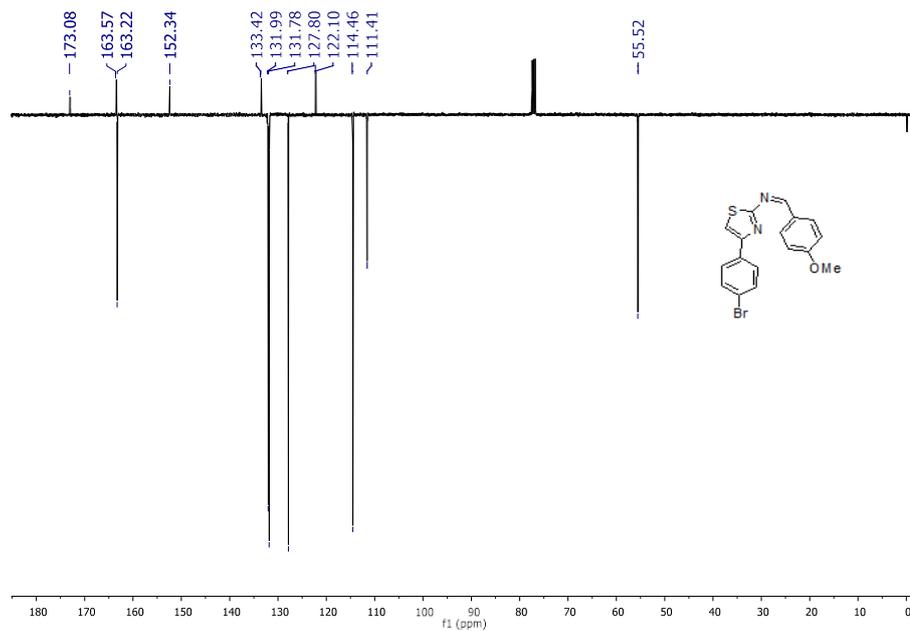


Figura S4: Espectro de RMN de ^{13}C (APT) (100 MHz, CDCl_3) do composto **58a**.

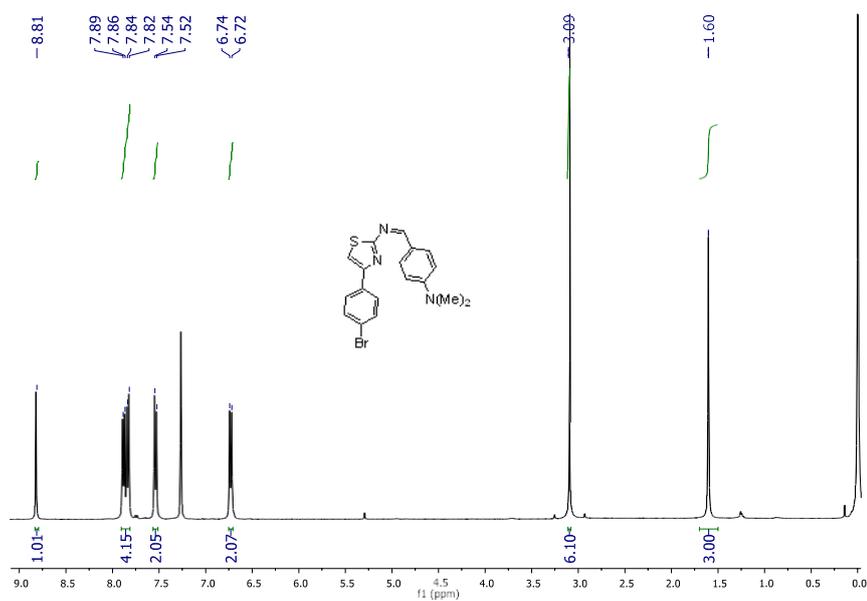


Figura S5: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **58b**.

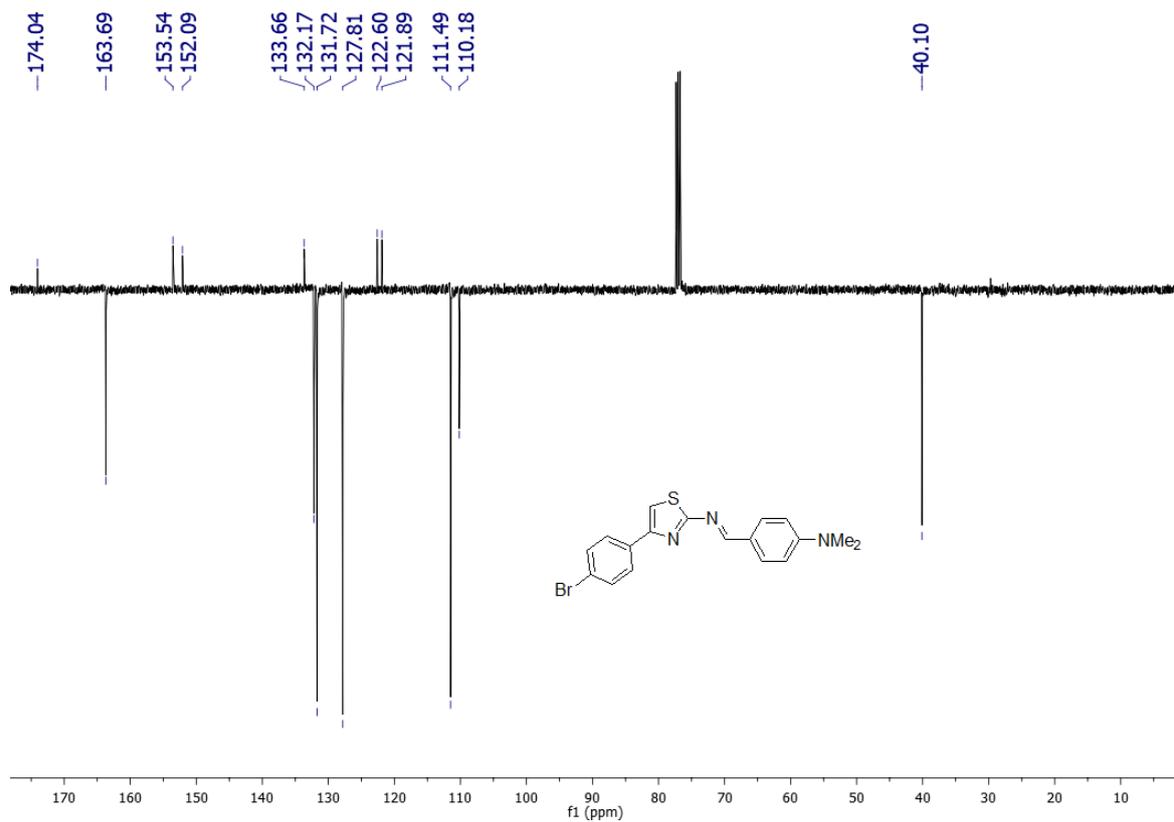


Figura S6: Espectro de RMN de ¹³C (APT) (100 MHz, CDCl₃) do composto **58b**.

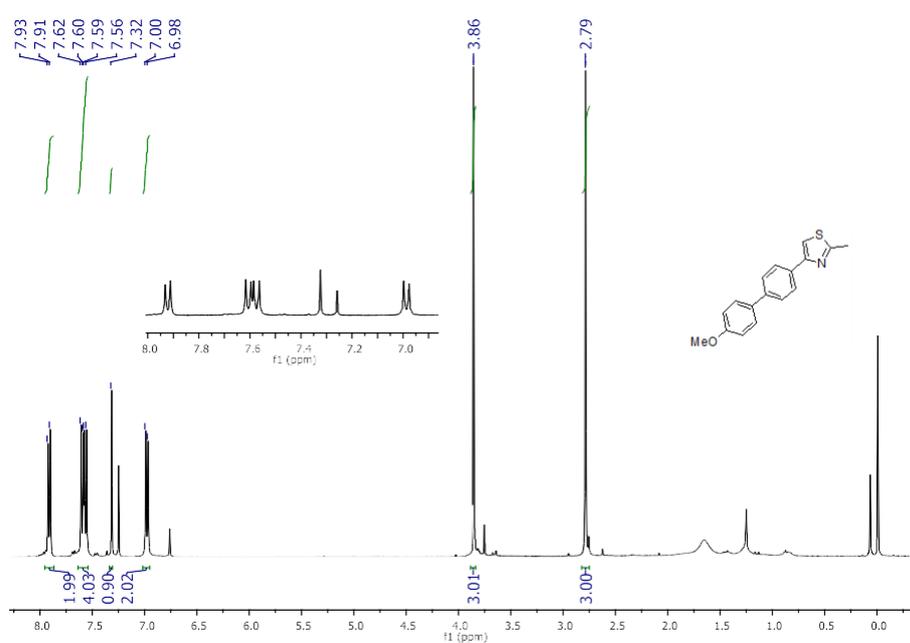


Figura S7: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **59a**.

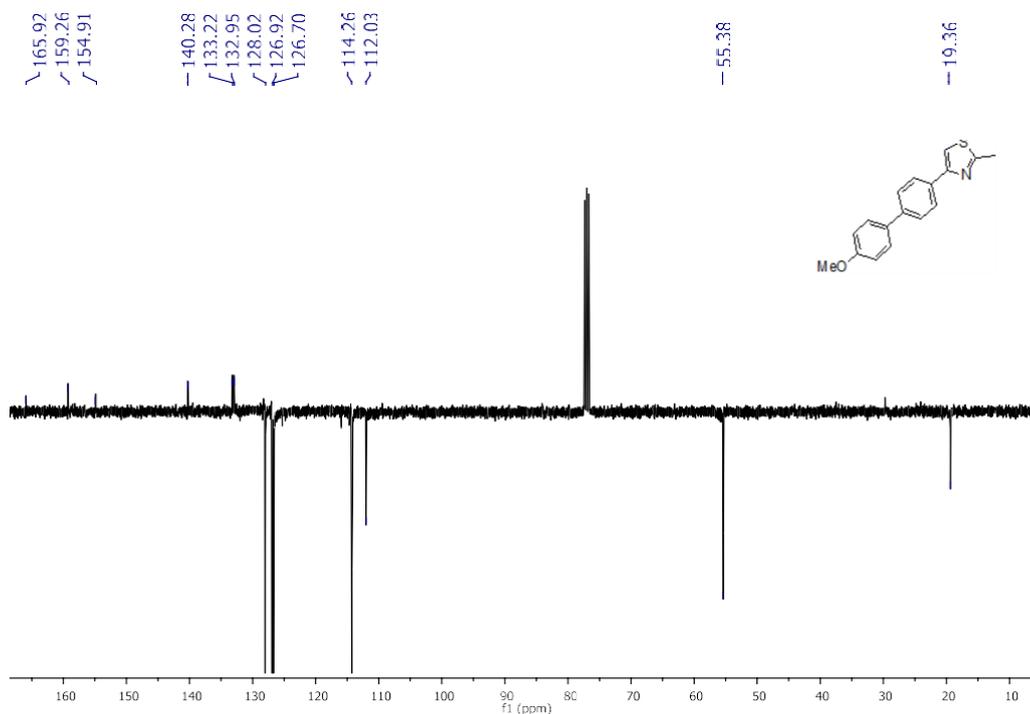


Figura S8. Espectro de RMN de ^{13}C (APT) (100 MHz, CDCl_3) do composto **59a**.

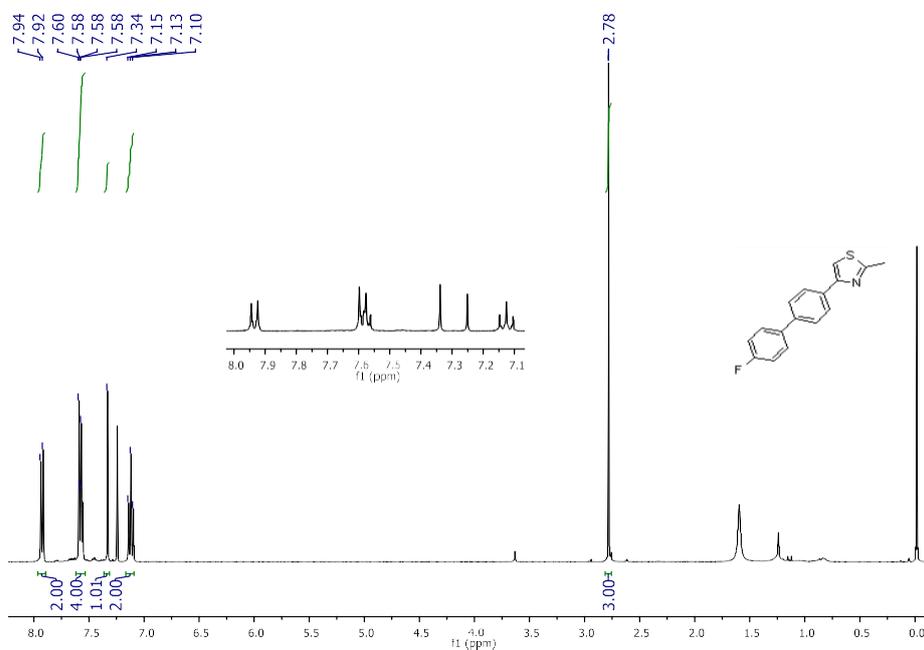


Figura S9: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **59b**.

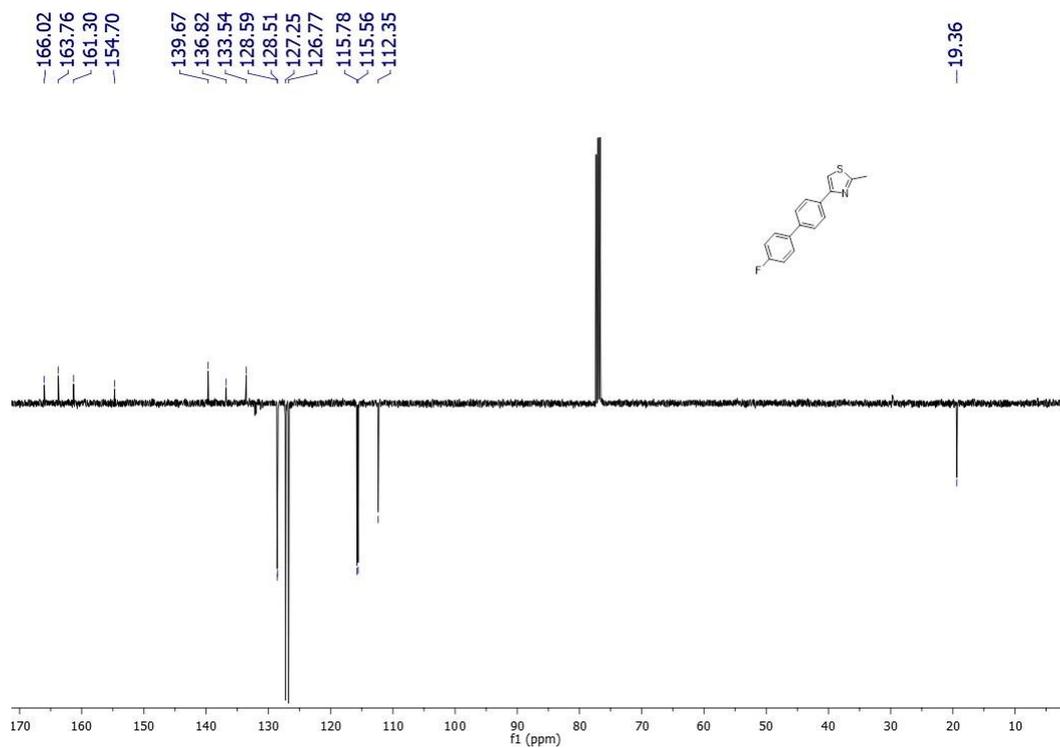


Figura S10: Espectro de RMN de ^{13}C (APT) (100 MHz, CDCl_3) do composto **59b**.

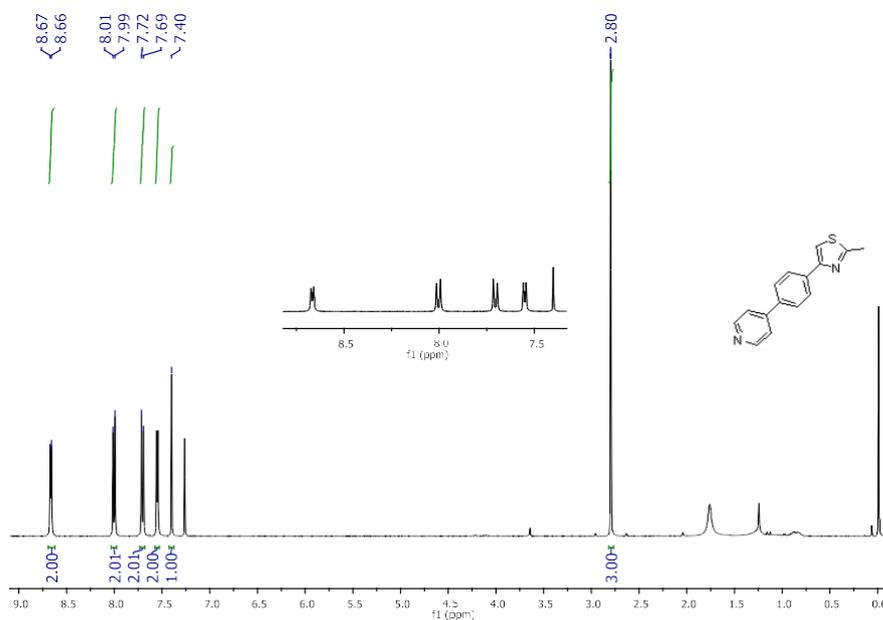


Figura S11: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **59c**.

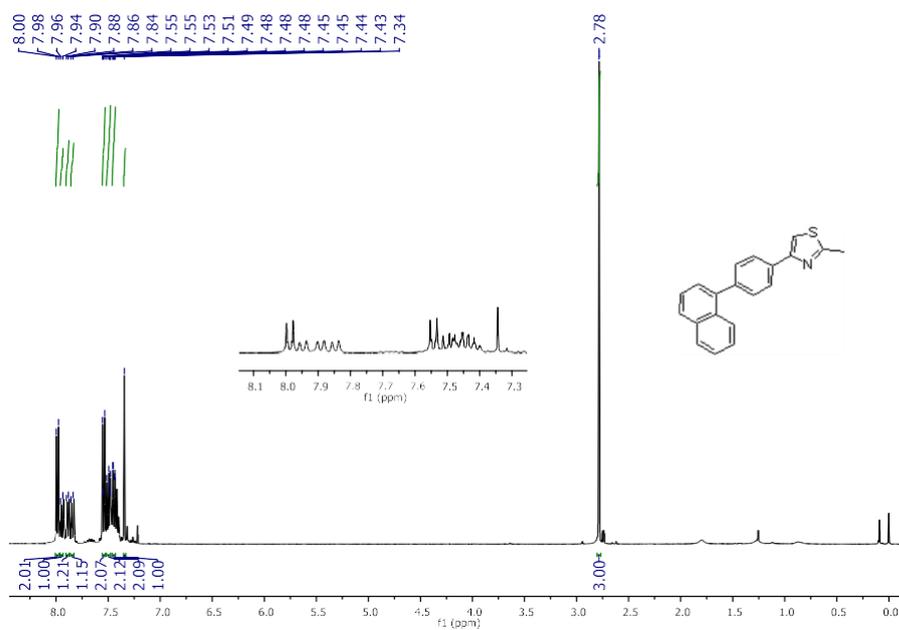


Figura S12: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **59d**.

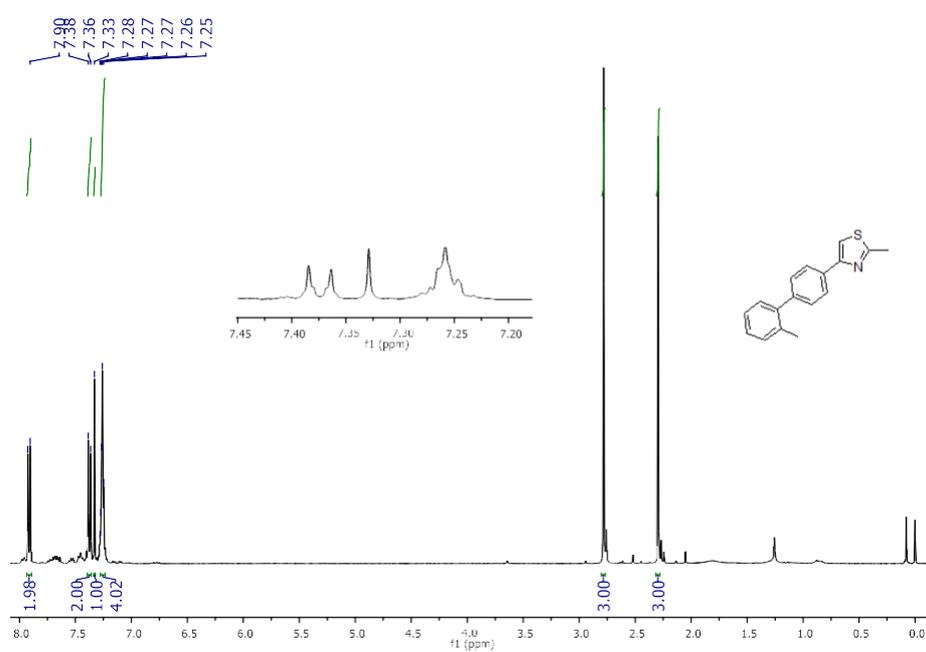


Figura S13: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **59e**.

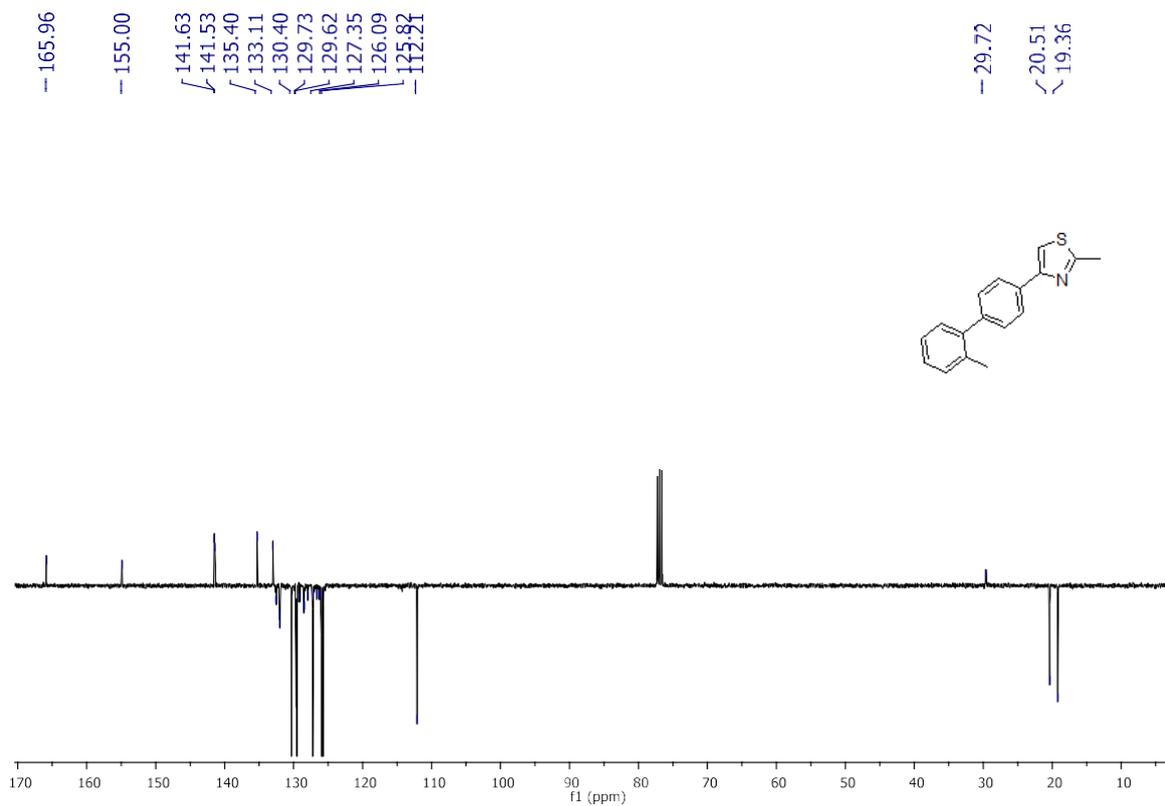


Figura S14: Espectro de RMN de ^{13}C (APT) (100 MHz, CDCl_3) do composto **59e**.

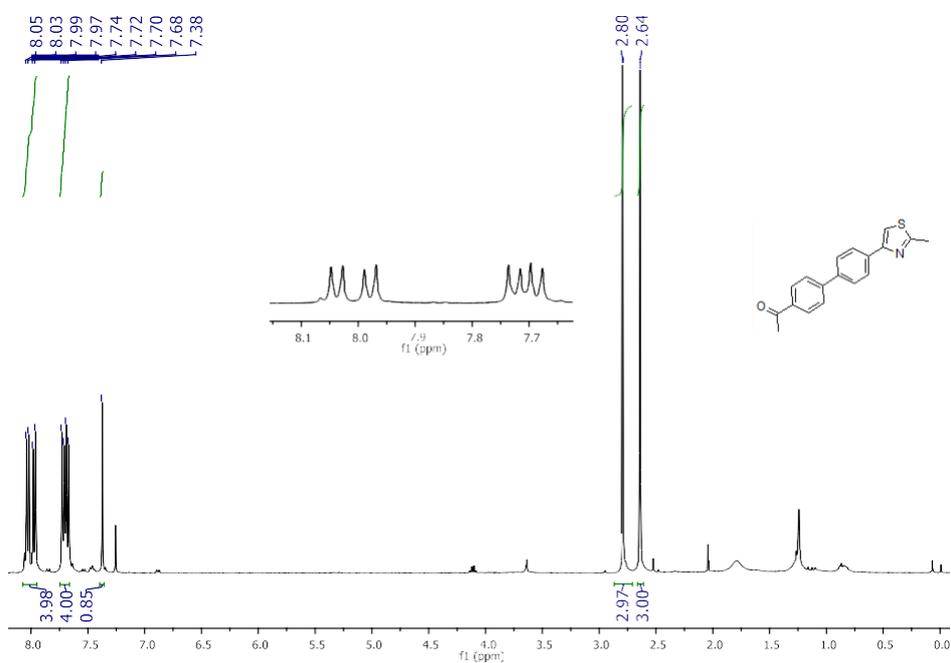


Figura S15: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **59f**.

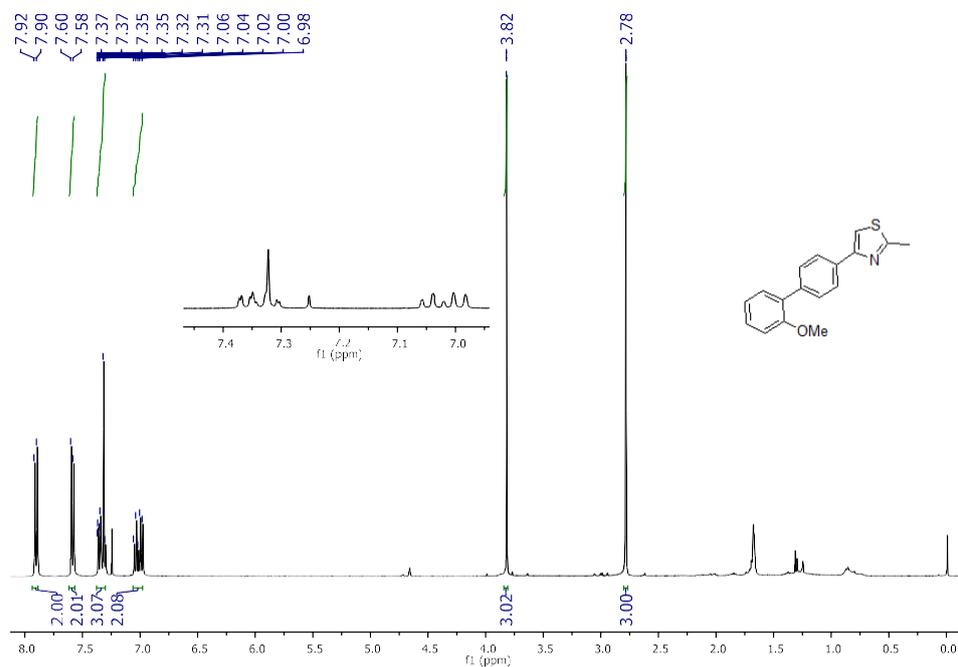


Figura S16: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **59g**.

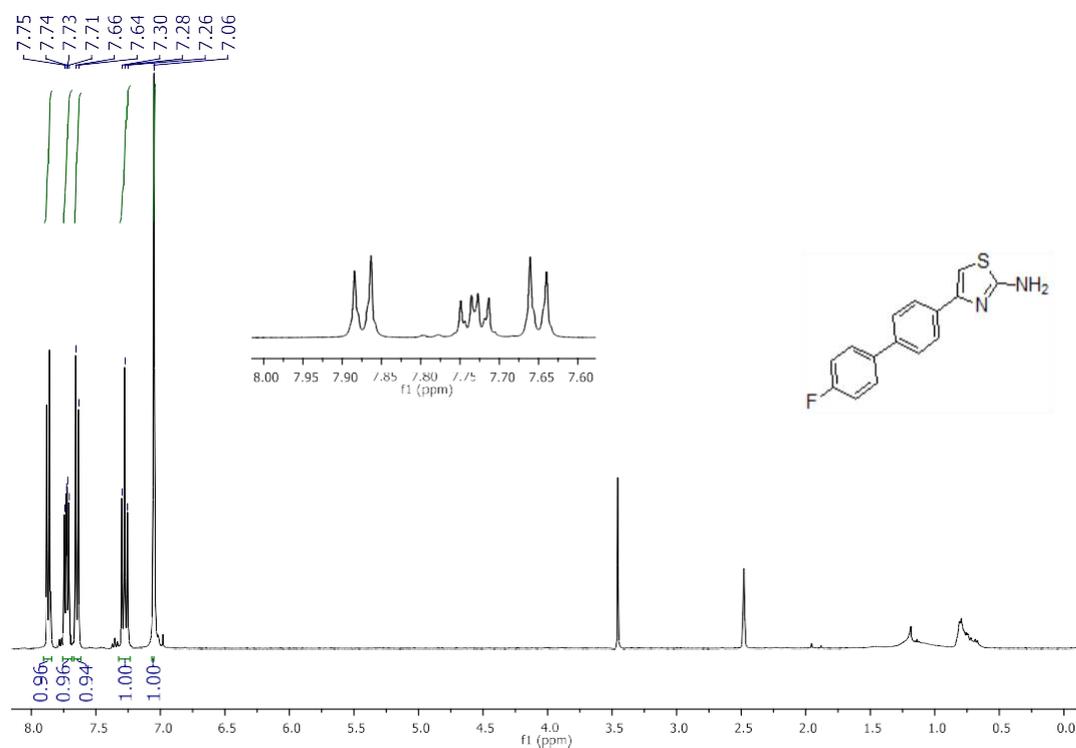


Figura S17: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) do composto **59h**.

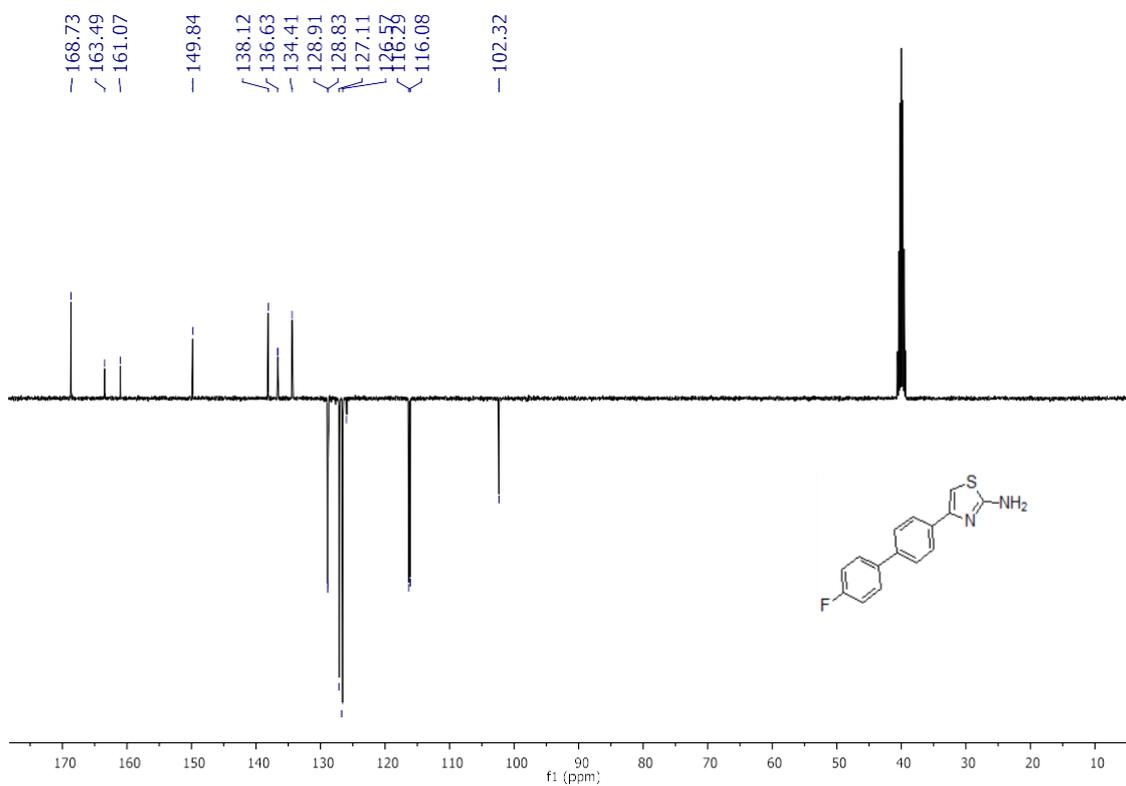


Figura S18. Espectro de RMN de ^{13}C (APT) (100 MHz, CDCl_3) do composto **59h**.

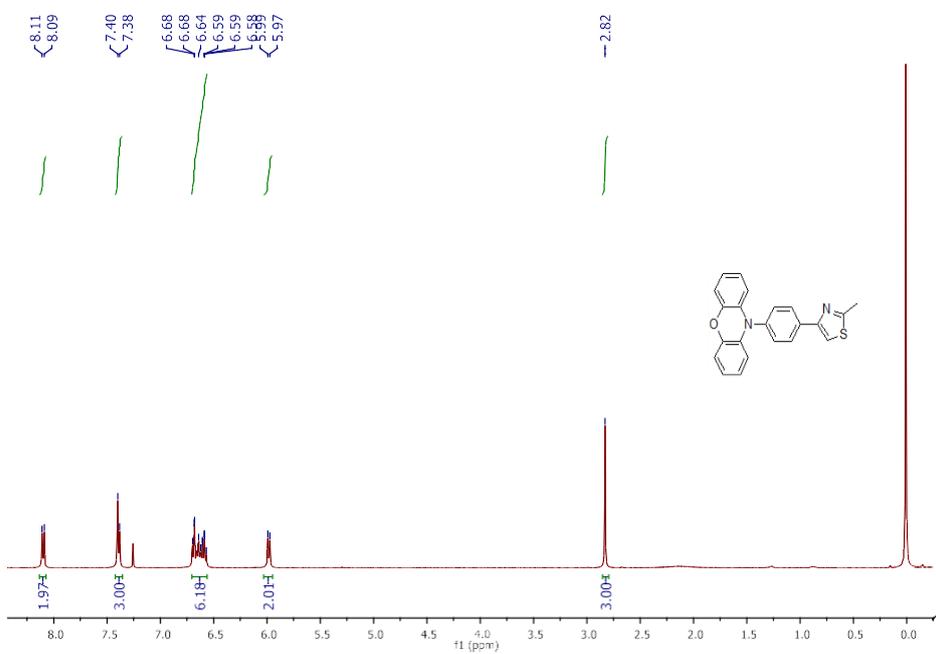


Figura S19: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **60**.

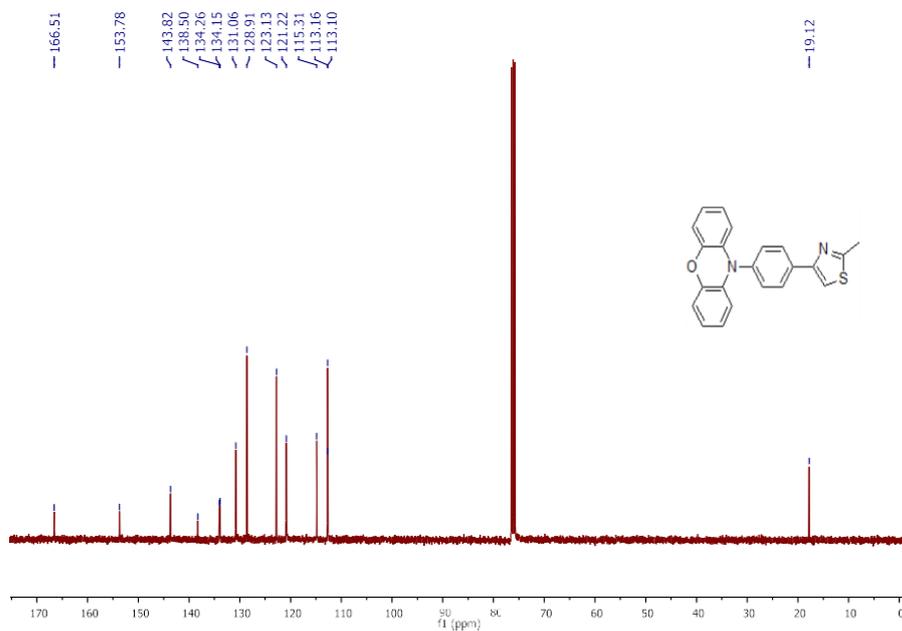


Figura S20: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **60**.

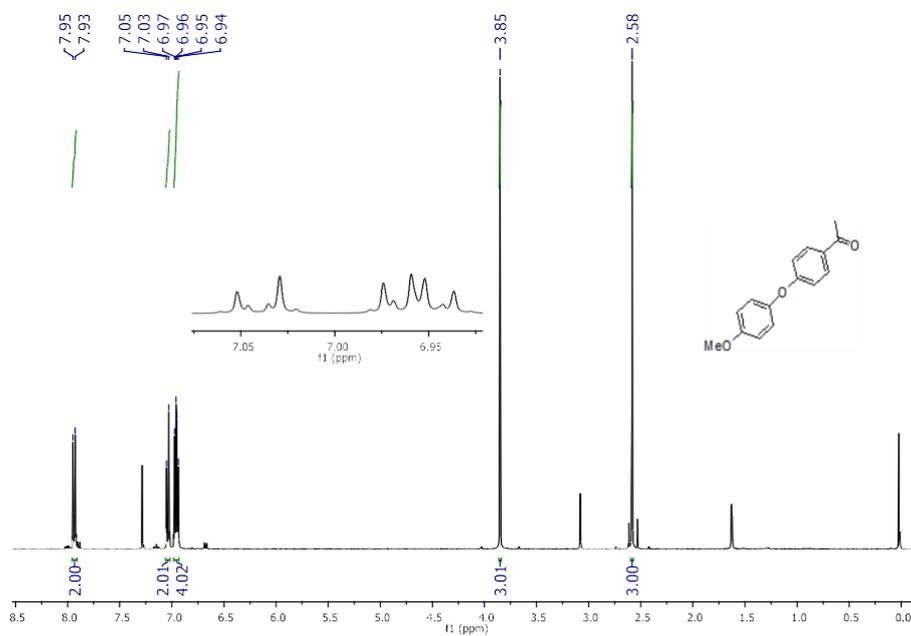


Figura S21: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **63**.

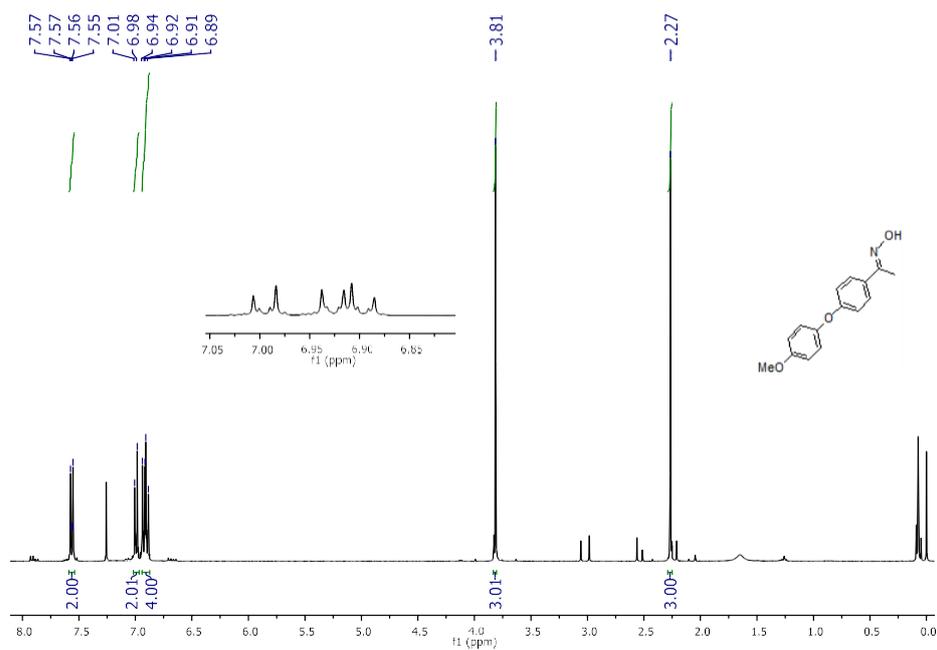


Figura S22: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **64**.

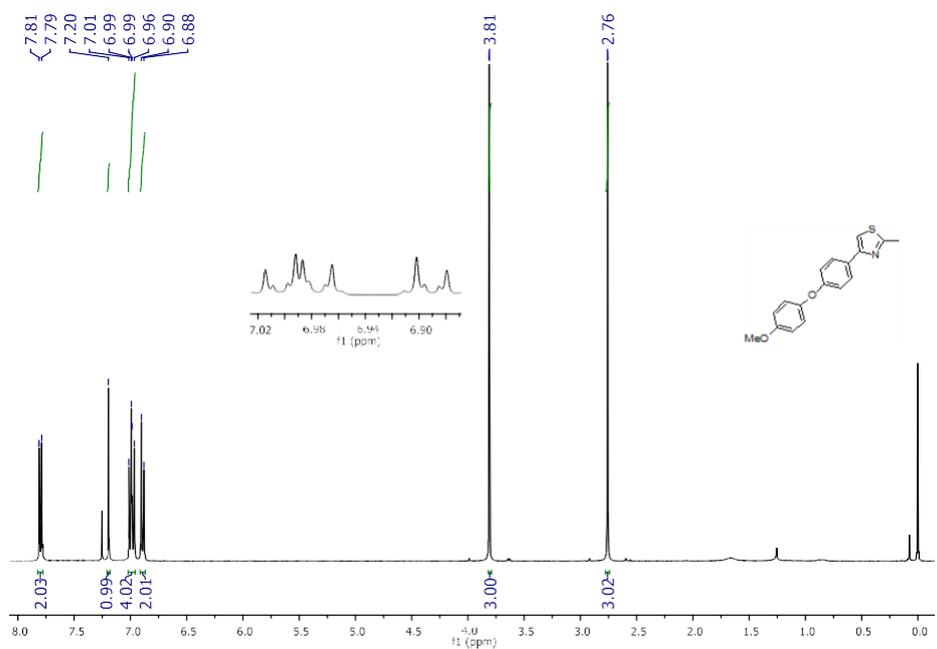


Figura S23: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **65**.

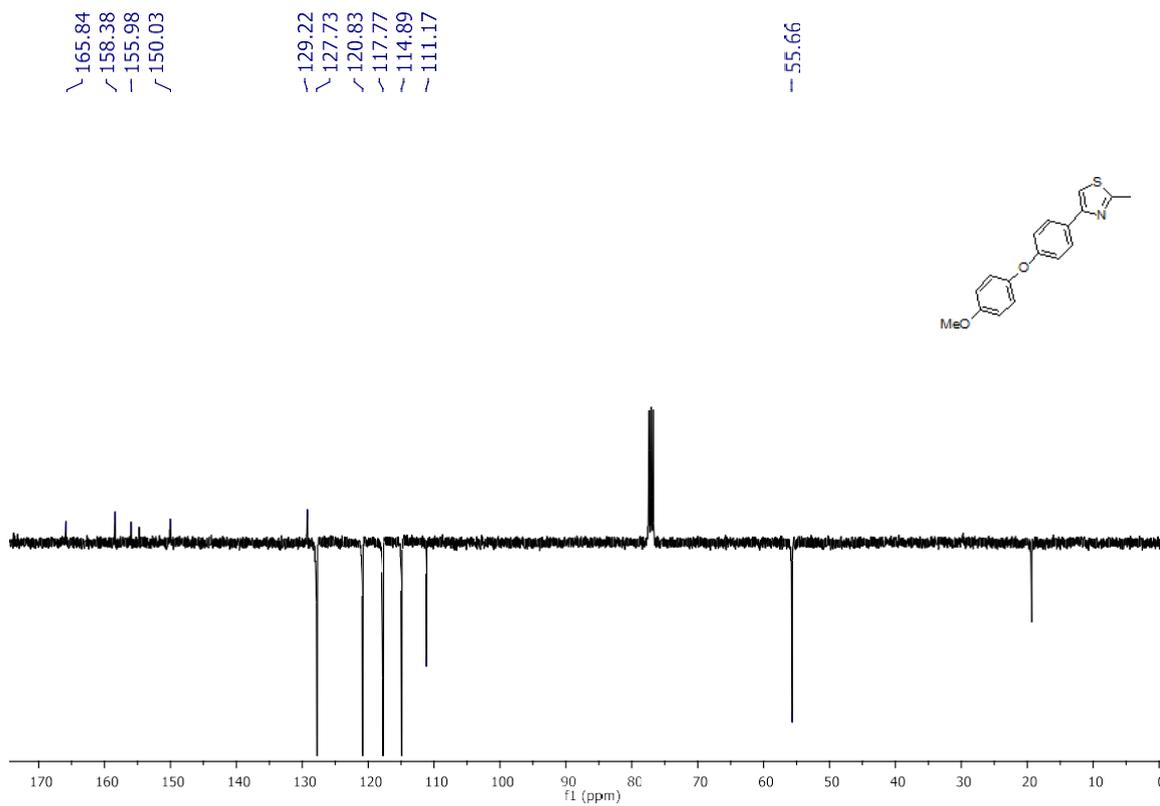


Figura S24. Espectro de RMN de ^{13}C (APT) (100 MHz, CDCl_3) do composto **65**.