

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Tese de Doutorado

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*TRYPANOSOMA*
CRUZI DE DERIVADOS DA ISATINA**

Bianca Nascimento Monteiro da Silva

Prof^ª. Orientadora: Dr^ª. Bárbara Vasconcellos da Silva

Rio de Janeiro

2017

Bianca Nascimento Monteiro da Silva

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*TRYPANOSOMA*
CRUZI DE DERIVADOS DA ISATINA**

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Prof^a. Orientadora: Dr^a. Bárbara Vasconcellos da Silva

S586 Silva, Bianca Nascimento Monteiro da.
Síntese e avaliação da atividade anti-*Trypanosoma cruzi* de
derivados da Isatina / Bianca Nascimento Monteiro da Silva. – Rio de
Janeiro: IQ/UFRJ. 2017.
332f.; il.

Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de
Janeiro, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química,
Rio de Janeiro, 2017.

Orientador: Barbara Vasconcellos da Silva.

1. Isatina. 2. 1*H*-1,2,3-triazóis. 3. Tiossemicarbazona. 4.
Semicarbazona. 5. doença de Chagas. I. Silva, Bárbara Vasconcellos da
(Orient.). II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de
Química. Programa de Pós-Graduação em Química.
III. Título.

CDD: 547

FOLHA DE APROVAÇÃO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*TRYPANOSOMA* *CRUZI* DE DERIVADOS DA ISATINA

Bianca Nascimento Monteiro da Silva

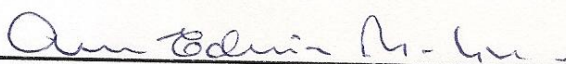
Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovada por:



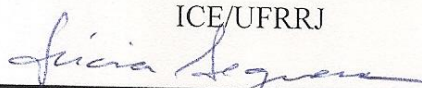
Prof^ª Dr^ª Bárbara Vasconcellos da Silva (Orientadora)

IQ/UFRJ



Prof^ª Dr^ª Aurea Echevarria Aznar Neves Lima

ICE/UFRRJ



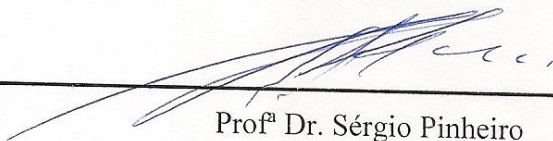
Prof^ª Dr^ª Lúcia Cruz de Sequeira Aguiar

IQ/UFRJ



Prof^ª Dr^ª Sabrina Baptista Ferreira

IQ/UFRJ



Prof^ª Dr. Sérgio Pinheiro

IQ/UFF

Rio de Janeiro, 17 de abril de 2017.

AGRADECIMENTOS

Reservo os meus agradecimentos a Deus por me oferecer a vida e o tempo como inestimáveis professores cujas lições estou aprendendo. Ainda por me oferecer auxílio, através de meus mentores espirituais, nos dias mais difíceis desta caminhada. Obrigada por me fornecer as ferramentas necessárias à conclusão desta importante etapa da minha trajetória acadêmica.

Agradeço aos meus pais, Maria Cristina Nascimento Monteiro da Silva e Antônio Monteiro da Silva, pela proteção nos meus dias de fragilidade e pela educação a mim concebida. Em especial, à minha mãe por ser a base sólida e firme que sustentou a mim e a meus irmãos com bravura, dedicação e abnegação por longos anos das nossas vidas até que pudéssemos alçar o vôo da independência.

Agradeço aos meus irmãos, Bruno Nascimento Monteiro da Silva e Beatriz Nascimento Monteiro da Silva, pelas lágrimas, risadas e grandiosas lições de companheirismo.

Agradeço ao Eurides Francisco Teixeira Júnior pelo apoio incondicional na conclusão desta tese. Agradeço, ainda, pelo exemplo de amor ao próximo oferecido por ele sempre de modo tão desinteressado e dedicado, principalmente, aos menos afortunados. Agradeço por compartilhar comigo a sua filosofia de vida durante os oito anos mais belos da minha existência humana.

Agradeço a amiga e psicóloga Giovana Menezes Cabral por viabilizar a minha permanência no grupo de psicoterapia. Sinto que a dedicação e o cuidado a mim direcionados por ela ultrapassam a relação puramente profissional.

Reservo o meu reconhecimento a Jane Fernanda de Oliveira Pereira que durante as sessões de psicoterapia mostrou ser muito atenciosa as minhas histórias de vida e por proferir, em inúmeras vezes, palavras de motivação e carinho.

Agradeço a amiga Jully Lacerda Fraga pelo companheirismo desde a graduação no IFRJ, em 2007.

Agradeço também ao Dário Aragão, Wellington Bruno dos Santos Monteiro, Rafael Barbosa Simões, Josemar Ferreira de Carvalho Júnior, Lauro Ferreira da Silva, Pedro Luiz de Araújo Filho, Juliano Ramaldes Freire, Lucas Ferreira Bernardino e Bruno Xavier Rodrigues pelas risadas e alegrias que compartilhamos no último ano.

Também dedico os meus agradecimentos ao prof. Dr. Angelo da Cunha Pinto que, em agosto de 2008, ainda quando eu cursava a graduação no IFRJ-Nilópolis, me recebeu no Laboratório de Produtos Naturais e Transformações Químicas no IQ/UFRJ (Laboratório 621).

Rememoro com carinho o primeiro dia em que tive contato com o professor, pois foi exatamente após 4 horas de espera em um banco de madeira envernizada no corredor do 6º andar do IQ que fui recebida de forma tão afável e calorosa em seu grupo de Pesquisa. Neste período, através das palavras de incentivo proferidas por ele, tive a oportunidade de participar de congressos e de jornadas de iniciação científica na qual obtive o prêmio de melhor trabalho de sessão na XXXI Jornada Giulio Massarini (2009), bem como escrever minha primeira resenha à RVQ intitulada “Micro-ondas: A Nova Macro Onda nos Laboratórios de Química” (2009) e o meu primeiro artigo para a Química Nova intitulado “Síntese de 5-nitro-isatina e 5-cloro-isatina a partir de isonitrosoacetanilida” (2010).

Em 2013, ao ingressar no Mestrado no PGQu minha orientação foi transferida oficialmente à prof. Dr^a Bárbara Vasconcellos da Silva, à qual transmito os meus profundos agradecimentos, pois me guiou desde os primeiros dias em laboratório.

Na época Bárbara ainda cursava o doutorado em Química, no mesmo programa, sob a supervisão do prof. Angelo, quando me recebeu como a sua primeira aluna e me mostrou a reação de síntese da 5-metil-isatina. Naquele momento eu soube que estava trilhando o caminho correto, pois fiquei maravilhada com a mudança de cores observadas com o progresso da reação que caminhava de um bege até o violeta-escuro. Agradeço muito a Deus por tê-la colocado em meu caminho, pois sei que daquele instante até hoje muitos foram os desafios, mas ela nunca deixou de transmitir a mim palavras de motivação, carinho e amizade.

Dedico os meus agradecimentos aos integrantes do Laboratório 621, em especial aos alunos de iniciação científica Lucas Barros Barbosa e Eduardo Barbieri pelos trabalhos desenvolvidos com empenho. Reservo meu “muito obrigada” aos mestrandos Luan Duarte, Iara da Silva Santos e Urbano Luiz Marques de Paula; ao prof. Dr. Tiago Lima da Silva (IQ/UFRJ) e a prof. Dr^a. Lidilhone Hamerski (IPPN/UFRJ) pelas palavras de incentivo em diversos momentos em que eu me abatia profundamente com os entraves da vida.

Agradeço ao colaborador Policarpo Ademar Sales (FIOCRUZ/Belo Horizonte) pelos ensaios biológicos e pela prontidão em fornecer os resultados. Muito obrigada por me receber em sua Instituição de Pesquisa, por nunca recusar as nossas reuniões via *Skype* sempre que convocado e pela disposição com a qual me mostrou as etapas dos testes *in vitro* com as substâncias sobre o *T. cruzi*.

Sou grata ao mestrando José Guilherme Aquino Rodrigues, mais conhecido por “Zeca”, e a prof. Dr^a. Eliane D’Elia (IQ/UFRJ) pela paciência e dedicação com a qual me receberam em seu Laboratório. Em especial, ao Zeca por me acompanhar nos ensaios eletroquímicos realizados, pelo auxílio no tratamento dos dados obtidos e por ter oferecido a mim, sobretudo, a sua amizade.

Agradeço a Prof^a Magaly Girão de Albuquerque (IQ/UFRJ) e Camilo Henrique Lima da Silva (IQ/UFF) pelos estudos de docagem molecular.

Agradeço a Prof^a Michelle Jakeline Cunha Rezende e ao doutorando Rodrigo Negrelli Guzzo pela colaboração no projeto de hidrólise dos cetais dioxolanos da isatina promovida pelos calixarenos [4] e [6].

Dedico esta Tese ao povo brasileiro e o agradeço por auxiliar no enriquecimento da cultura e fortalecimento da educação e tecnologia de nosso País através de sua força de trabalho.

Exponho a minha gratidão aos funcionários do Instituto de Química, pois os considero como peças fundamentais que compõem uma grande máquina que colaboram em conjunto para o bom funcionamento do IQ.

Agradeço aos membros da Banca Examinadora: Sabrina Baptista Ferreira (IQ/UFRJ), Lúcia Sequeira (IQ/UFRJ), Aurea Echevarria Aznar Neves Lima (ICE/UFRRJ) e Sérgio Pinheiro (IQ/UFF) pelas sugestões e colaborações à Tese.

Por fim, declaro a minha gratidão aos órgãos de fomento: CNPq, CAPES e FAPERJ pelo apoio financeiro.

RESUMO

Silva, Bianca Nascimento Monteiro da. SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*TRYPANOSOMA CRUZI* DE DERIVADOS DA ISATINA. Rio de Janeiro, 2017. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Este trabalho relata o preparo de novos derivados da isatina contendo os núcleos 1*H*-1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos, tio- e semicarbazona com potencial atividade contra o parasita *T. cruzi*, o causador da doença de Chagas, responsável por alta taxa de mortalidade e de sequelas cardíacas no mundo. Apenas o nifurtimox e o benznidazol são utilizados para o tratamento desta doença, ambos apresentam baixa eficácia clínica e efeitos adversos.

Para a obtenção dos derivados contendo o núcleo 1*H*-1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos, primeiramente foi sintetizado o derivado 5'-azido-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) em 4 etapas. Posteriormente, este derivado foi tratado com alquinos terminais, CuSO₄.5H₂O, ascorbato de sódio, água, *tert*-butanol e ácido acético em condições ultrassônicas para fornecer uma série de 5'-(4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) em 5 minutos e em rendimentos que variaram entre 78 e 98%.

O passo seguinte foi a hidrólise do cetal dioxolano do grupo indolina em TFA e aquecimento sob refluxo durante 48 horas, conduzindo aos derivados 5'-(4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona) em rendimentos entre 78 e 89%. As condições drásticas para remoção do grupo protetor motivaram a investigação de um método para a hidrólise do cetal dioxolano da isatina, usando o aquecimento em reator de micro-ondas, ácido *p*-tolueno-sulfônico ou *p*-sulfóxido-calixarenos [4] e [6] como catalisadores.

Após a liberação da carbonila cetônica, as tio- e semicarbazonas foram obtidas através de reação equimolar com cloridrato de tiossemicarbazida ou semicarbazida em metanol e aquecimento sob refluxo em bons rendimentos (72 a 89%). Em adição, o uso de irradiação de micro-ondas foi investigado para a formação de tio- e semicarbazonas e conduziu à formação dos produtos de interesse em 10 minutos e em rendimentos superiores aos observados pelo método convencional (80 a 94%).

Outra parte do trabalho consistiu na troca do grupo triazol na posição 5 do anel aromático do núcleo indólico pelo grupo 4-fenil-tio- e semicarbazona. Para isso, reagiu-se o ácido 4-formilbenzenoborônico, através do acoplamento cruzado de Suzuki catalisado por paládio, com o cetal dioxolano da *N*-metil-5-iodo-isatina. Em seguida, o aldeído foi transformado em tio- e semicarbazona, em excelentes rendimentos, após 10 minutos em irradiação de micro-ondas.

Os intermediários e os produtos finais foram avaliados frente ao *T. cruzi*, mostrando que as tio- e semicarbazonas são as substâncias mais ativas da série com valores de IC₅₀ entre 9,6 a 378,3 µM. O comportamento redox das tio- e semicarbazonas foi determinado por voltametria cíclica a temperatura ambiente em solução de metanol contendo *n*-Bu₄NClO₄. Adicionalmente, estudos de *docking* molecular foram realizados em dois alvos biológicos, a cruzaina e a fosfodiesterase C.

Palavras-chave: 1. Isatina. 2. 1*H*-1,2,3-triazóis. 3. Tiosemicarbazona. 4. Semicarbazona. 5. doença de Chagas.

ABSTRACT

Silva, Bianca Nascimento Monteiro da. SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*TRYPANOSOMA CRUZI* DE DERIVADOS DA ISATINA. Rio de Janeiro, 2017. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química Universidade Federal do Rio de Janeiro.

The current study addresses the preparation of new isatin derivatives containing 1*H*-1,2,3-triazoles-1,4-disubstituted, thio- and semicarbazone groups presenting potential activity against *T. cruzi*. This parasite causes Chagas disease, which is responsible for high mortality and cardiac sequelae rates worldwide. Nifurtimox and benznidazole are the only drugs used to treat this disease, but both have low clinical efficacy and cause adverse effects.

In order to obtain the derivative containing 1*H*-1,2,3-triazoles-1,4-disubstituted nucleus, the 5'-azido-spiro (2,5-dioxacyclopentane-1,3'-indoline-2'-one) was primarily synthesized through 4 steps. Subsequently, this derivative was treated with terminal alkynes, CuSO₄·5H₂O, sodium ascorbate, water, *tert*-butanol and acetic acid under ultrasonic conditions to provide a series of 5'-(4-alkyl/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-spiro(2,5-dioxa-cyclopentane-1,3'-indoline-2'-one) within 5 minutes and in yield ranging from 78-98%.

Next, the ketal dioxolane from the indoline group in TFA was subjected to hydrolysis and heated under reflux for 48 hours, to generate 5'-(4-alkyl/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-1,3'-indoline-2'-one) in yield between 78 and 89%. The drastic conditions adopted to remove the protective group triggered the investigation about the hydrolysis method applied to ketal dioxolane of isatin, which uses microwave reactor heating, *p*-toluenesulfonic acid or *p*-sulfoxide-calixarenes [4] and [6] as catalysts.

The thio- and semicarbazones were obtained, after ketone carbonyl release, through equimolar reaction with thio- or semicarbazide hydrochloride in methanol and through subsequent heating under reflux in good yield (72 to 89%). The use of microwave irradiation formed the products within 10 minutes, and in yield higher than that found through the conventional method (80 a 94%).

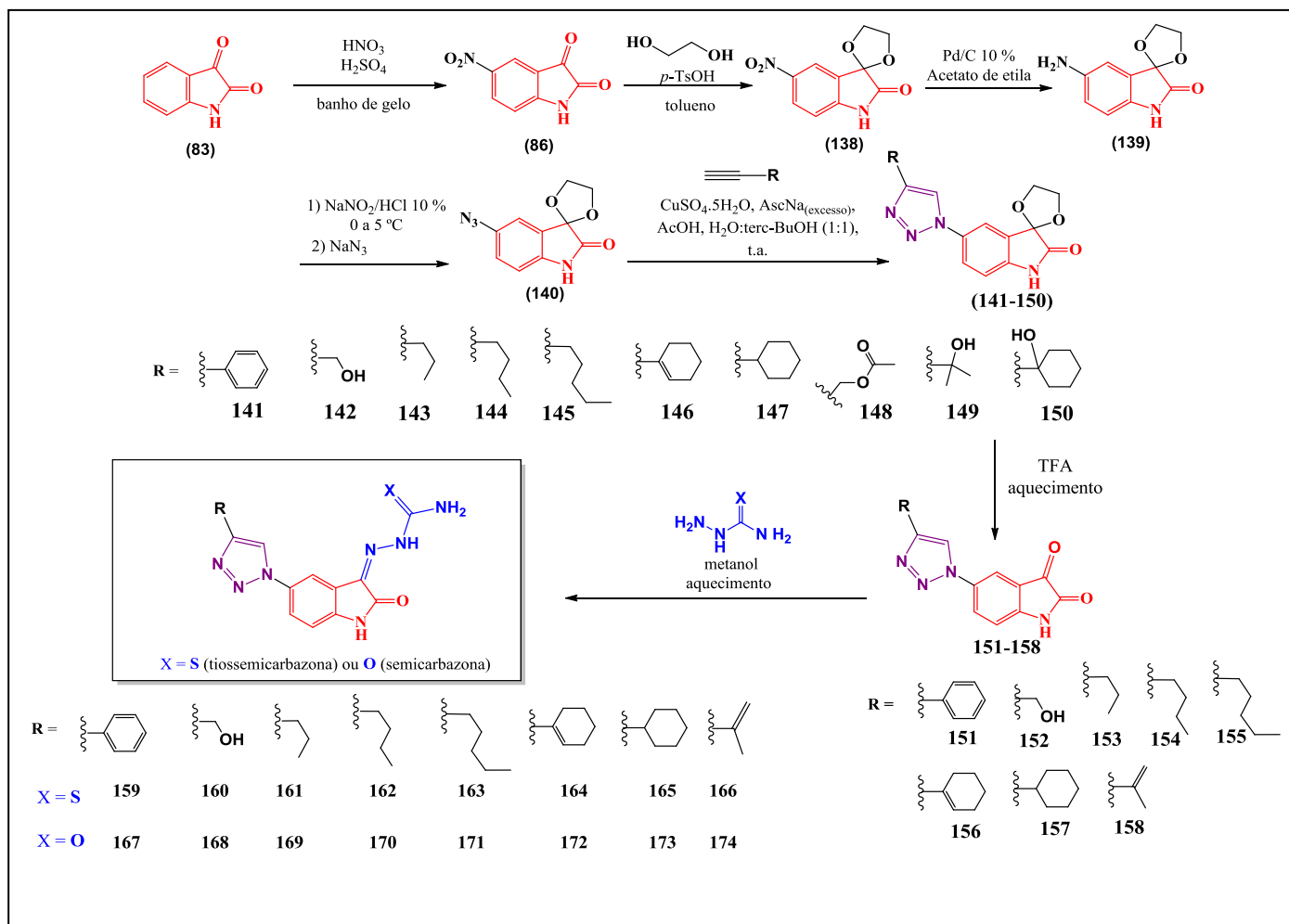
The present study also consisted of exchanging the triazole group at 5-position of the indole nucleus aromatic ring to 4-phenylthio- and semicarbazone group.

Accordingly, the 4-formylbenzeneboronic acid was reacted through palladium-catalyzed Suzuki cross coupling using *N*-methyl-5-iodo-isatin ketal dioxolane. The aldehyde was turned into thio- and semicarbazone, in excellent yields, within 10 minutes under microwave irradiation.

Intermediates and final products were assessed against *T. cruzi*, and showed that thio- and semicarbazones are the most active substances in the series presenting IC₅₀ values between <9.6 and 378.3 μM. The redox behavior of thio- and semicarbazones was set through cyclic voltammetry at room temperature in methanol-*n*-Bu₄NClO₄. In addition, the molecular docking studies were performed in two biological targets, namely: cruzain and phosphodiesterase C.

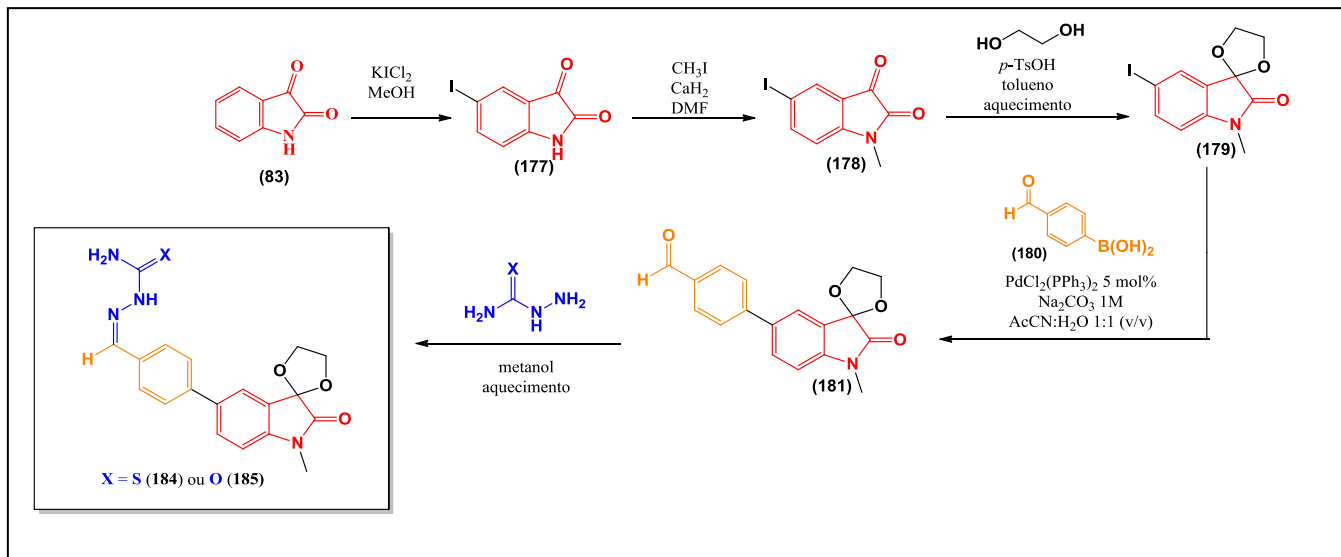
Keywords: 1. Isatin. 2. *1H*-1,2,3-triazole. 3. Thiosemicarbazone. 4. Semicarbazone. 5. Chagas disease.

RESUMO GRÁFICO



Rota de síntese das tio- e semicarbazonas da série 1

RESUMO GRÁFICO CONTINUAÇÃO



Rota de síntese da tio- e semicarbazona da série 2

ÍNDICE DE FIGURAS	19
ÍNDICE DE ESQUEMAS	27
ÍNDICE DE TABELAS	24
ABREVIACÕES E SÍMBOLOS	32
1. INTRODUÇÃO	34
1.1. Doenças Tropicais Negligenciadas	34
1.1.1. Doença de Chagas	34
1.1.2. <i>Trypanosoma cruzi</i> (<i>T. cruzi</i>)	38
1.1.2.1. Ciclo evolutivo do <i>T. cruzi</i>	39
1.1.3. Quimioterapia da Doença de Chagas	41
1.1.3.1. Núcleos ativos contra o <i>T. cruzi</i>	43
1.1.3.1.1. Semicarbazonas e Tiossemicarbazonas	43
1.1.3.1.2. Isatinas	51
1.1.3.1.3. 1,2,3-Triazóis	53
1.2. Etapas para o desenvolvimento de novos candidatos à fármacos contra as DTNs	58
2. OBJETIVOS	62
2.1. Objetivos Específicos	62
3. JUSTIFICATIVA	63
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
4.1. Obtenção dos 5'-(4-alkil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (141-150)	70
4.1.1. Análise dos dados espectroscópicos e espectrométricos dos 5'-(4-alkil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (141-150)	73
4.1.1.1.1. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H)	73
4.1.1.1.2. Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³ C)	75
4.1.1.1.3. RMN 2D - Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC)	76
4.1.1.1.4. Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)	77
4.1.1.1.5. Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR-IES ⁺)	77

4.2.	Reações de hidrólise dos cetais de isatinas e a obtenção dos derivados 5'-(4-alkil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (151-158)	78
4.2.1.	Análise dos dados espectroscópicos e espectrométricos dos derivados 5'-(4-alkil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (151-158)	87
4.2.1.1.	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H)	87
4.2.1.2.	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³ C)	88
4.2.1.3.	Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)	90
4.2.1.4.	Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR-IES ⁺)	90
4.3.	Síntese dos derivados tio- (159-166) e semicarbazonas (167-174) da 5'-(4-alkil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona	91
4.3.1.	Análise dos dados espectroscópicos e espectrométricos dos derivados tio- (159-166) e semicarbazonas (167-174) da 5'-(4-alkil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona	96
4.3.1.1.	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H)	96
4.3.1.2.	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³ C)	104
4.3.1.3.	Ressonância Magnética Nuclear Bidimensional (RMN 2D)	109
4.3.1.4.	Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)	116
4.3.1.5.	Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR-IES ⁺)	119
4.4.	Reação de acoplamento Suzuki-Miyaura e síntese dos grupos tio- e semicarbazonas	120
4.4.1.	Análise dos dados espectroscópicos e espectrométricos dos derivados 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (181), 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (184) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (185)	126
4.4.1.1.	RMN ¹ H do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (181)	126
4.4.1.2.	RMN ¹ H da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-	128

	il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (184) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (185)	
4.4.2.	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³ C)	131
4.4.2.1.	RMN ¹³ C do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (181)	131
4.4.2.2.	RMN ¹³ C da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (184) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (185)	132
4.4.3.	Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)	133
4.4.4.	Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR-IES ⁺)	135
4.5.	Avaliação tripanocida, citotoxicidade e índice de seletividade	135
4.6.	Eletroquímica	143
4.6.1.	Voltametria cíclica	143
4.7.	Modelagem molecular	153
5.	CONCLUSÃO	158
6.	PERSPECTIVAS	160
7.	MATERIAIS E MÉTODOS, E DADOS ESPECTROSCÓPICOS	161
7.1.	Reagentes e solventes	161
7.2.	Métodos cromatográficos	161
7.3.	Métodos espectroscópicos	161
7.4.	Procedimentos e caracterizações	163
7.4.1.	Preparo da 5-nitro-isatina (86)	163
7.4.2.	Preparo do 5'-nitro-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (138)	164
7.4.3.	Preparo do 5'-amino-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (139)	164
7.4.4.	Preparo do 5'-azido-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (140)	165
7.4.5.	Procedimento geral para a obtenção dos derivados 5'-(4-alquil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (141-150)	165

7.4.6. Hidrólise dos derivados 5'-(-4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (141-150)	170
7.4.7. Preparo dos derivados tio- (159-166) e semicarbazonas (167-174) da 5'-(-4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona	173
7.4.8. Preparo da 5-iodo-isatina (177)	180
7.4.9. Preparo da <i>N</i> -metil-5-iodo-isatina (178)	180
7.4.10. Preparo da <i>N</i> -metil-5'-iodo-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (179)	181
7.4.11. Preparo da 4-(<i>N</i> -metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (181)	181
7.4.12. Preparo do 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilidenohidrazinocarbotioamida (184)	182
7.4.13. Preparo do 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilidenohidrazinocarboxamida (185)	183
7.5. Eletroquímica (Voltametria cíclica)	184
7.6. Modelagem Molecular	184
7.6.1. Seleção da atividade biológica, obtenção da estrutura cristalográfica e preparo dos ligantes.	184
7.6.2. Ancoramento Molecular	184
7.7. Atividade Biológica	185
7.7.1. Avaliação anti- <i>T. cruzi</i> em modelo intracelular contra a cepa Tulahúen	185
7.7.2. Avaliação de citotoxicidade <i>in vitro</i> em células L929	186
7.7.3. Determinação do índice de seletividade (IS)	187
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	187
ANEXO I (Dados espectroscópicos, espectrométricos e voltamogramas)	217
ANEXO II (Dados profissionais)	310

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição da doença de Chagas em regiões endêmicas (em vermelho) e não-endêmicas (em rosa) no mundo	35
Figura 2	Ilustração do tamanho do coração de um portador da DC em diferentes fases da doença	38
Figura 3	Representação esquemática do ciclo de vida de <i>T. cruzi</i> no barbeiro e no ser humano	40
Figura 4	Estrutura do benznidazol (BZD - 1) (Rochagan®, Rodanil®, Roche) e do nifurtimox (2) (Lampit®, Bayer), substâncias usadas no tratamento da doença de Chagas	41
Figura 5	Estrutura química da pentamidina (7) e da sulfoximina de butionina (8)	42
Figura 6	Estrutura química do posaconazol (9) e da anfotericina B (10)	43
Figura 7	Estrutura geral de tiossemicarbazonas (X = S) e semicarbazonas (X = O). R₁ , R₂ , R₃ , R₄ = H ou qualquer outro substituinte orgânico	44
Figura 8	Estrutura dos derivados 5-nitrofurano (11-29) e sua atividade <i>in vitro</i> contra a forma epimastigota do <i>T. cruzi</i> . PIC = Porcentagem de inibição do crescimento	45
Figura 9	Tiossemicarbazonas derivadas do 5-[(trifluormetil)feniltio]-2-furaldeído avaliadas contra a doença de Chagas	46
Figura 10	Complexos de rênio e de rutênio derivadas de 5-nitrofurilsemicarbazonas e sua avaliação anti- <i>T. cruzi in vitro</i> em meio axênico. PIC = Porcentagem de inibição do crescimento	47
Figura 11	Complexos de rutênio derivados de 5-nitrofuriltiossemicarbazonas e suas atividades <i>in vitro</i> contra as formas epimastigota e tripomastigota do <i>T. cruzi</i>	48
Figura 12	Derivados de tiossemicarbazonas contendo os grupos ceretrenil (48) e ferrocenil (49 e 50) e suas propriedades antichagásicas frente à cepa Dm28c	48
Figura 13	Tiossemicarbazonas complexadas ao paládio(II) (51-52 , 55-56), à platina(II) (57-58) e ao antimônio(III) (62 , 64 , 66) ativas contra o	49

T. cruzi. PIC = Porcentagem de inibição do crescimento

Figura 14	Tiosemicarbazonas avaliadas frente à enzima cruzaina	50
Figura 15	Atividade anti- <i>T. cruzi</i> contra as formas infectantes (amastigota e tripomastigota) e ação inibitória frente à cruzaina de arilóxi- (73-77) e aril-tiosemicarbazonas (78-82)	51
Figura 16	Estrutura da isatina (83) e alguns exemplos de suas transformações químicas	52
Figura 17	Isatinas com ação inibitória sobre a cruzaina	53
Figura 18	Triazóis 1,4- e 1,5-dissubstituídos análogos ao benzimidazol com atividade tripanocida contra as formas amastigota e tripomastigota do <i>T. cruzi</i> , cepa Tulahúen. IS = Índice de seletividade (IS = EC ₅₀ /IC ₅₀ ; NA = Não avaliado)	55
Figura 19	Unidade monomérica dos triazóis 1,4-dissubstituídos obtidos por CAMPO e colaboradores com ação inibitória sobre <i>trans</i> -sialidases	56
Figura 20	Reação de transferência do ácido siálico catalisada pela enzima <i>trans</i> -sialidase do <i>T. cruzi</i> (TcTs) entre o ácido 2'-(4-metilumbeliferil)- α -D-N-acetilneuramínico (114, MuNANA) e os derivados triazólicos 112 e 113	57
Figura 21	Derivados do nor-lapachol (117-125) e do nor- α -lapachol (126-128) promissores no combate à doença de Chagas	58
Figura 22	Gráfico que mostra a distribuição dos grupos de pesquisa brasileiros dedicados ao combate à DC	63
Figura 23	Relação observada por Trossini e colaboradores entre a ação inibitória sobre a cruzaina do nitrofural (131) e do hidroxinitrofural (132) e os seus respectivos valores de densidade eletrônica	65
Figura 24	Diferença entre as atividades observadas para os derivados 133 e 134, mostrando a importância da ligação C=N para a atividade de tiosemicarbazonas	66
Figura 25	Esqueleto químico do anel 1,2,3-triazólico substituído nas posições 1,4 ou 1,5, bioisósteros do anel imidazólico do BZD (1)	66
Figura 26	Estrutura química do peptídeo K777 (135) e dos derivados 1,2,3-	68

trizólicos-1,4-dissubstituídos (**136** e **137**), compostos promissores contra a DC

- Figura 27** Estrutura química geral das substâncias planejadas na presente Tese 69
- Figura 28** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**145**) 74
- Figura 29** Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**145**) 75
- Figura 30** Espectro de HSQC do 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**145**) 76
- Figura 31** Espectro de IV do 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**145**) 77
- Figura 32** (A) Interação entre o par de elétrons livre (*pseudo-equatorial*) do oxigênio e o orbital do oxigênio; (B) Cetal dioxolano de isatinas protonado, possíveis intermediários da reação 82
- Figura 33** Estrutura química dos *p*-sulfônico-calixarenos [4] (**159**) e [6] (**160**) 82
- Figura 34** Curvas analíticas obtidas para o cetal dioxolano da isatina, com limite de detecção de 0,041 mg/mL (A) e para a isatina, com limite de detecção de 0,073 mg/mL (B) 84
- Figura 35** Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**154**) 88
- Figura 36** Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**154**) 89
- Figura 37** Posição *anti* e posição *sin* adotadas por tio- ($\text{X} = \text{S}$) ou semicarbazonas ($\text{X} = \text{O}$). Destacado em vermelho, a formação do anel de cinco membros devido à ligação de hidrogênio intramolecular na posição *anti*. $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{H}$, alquil ou aril 94
- Figura 38** Estrutura cristalográfica da tiossemicarbazona **175** obtido por PERVEZ e colaboradores 94

Figura 39	Ressonância dos pares de elétrons não compartilhados de N4 em direção à tionila [C9=S] (<i>caminho a</i> , descrito em laranja) e à carbonila da amida [C=O] (<i>caminho b</i> , descrito em azul)	95
Figura 40	Estrutura cristalográfica da tiossemicarbazona 176 obtido por ALI e colaboradores	95
Figura 41	Análise conformacional das tio- (166a-b) e semicarbazona (174a-b) em suas conformações <i>E/anti</i> e <i>Z/anti</i> . As estruturas foram construídas e otimizadas no programa Spartan (https://www.wavefun.com/) e submetidas à análise conformacional sistemática por mecânica molecular, usando o campo de força MMFF94	96
Figura 42	Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (163)	98
Figura 43	Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>Z,E</i>)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (167) a 298 K (25 °C)	99
Figura 44	Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>Z,E</i>)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (167) a 298 K (25 °C – A), 313 K (40 °C – B), 333 K (60 °C – C) e 352 K (80 °C – D). Visão ampliada da região entre 12 ppm e 9 ppm	100
Figura 45	Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>Z,E</i>)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (167) a 298 K (25 °C – A), 313 K (40 °C – B), 333 K (60 °C – C) e 352 K (80 °C – D). Visão ampliada da região entre 9 ppm e 6 ppm	102
Figura 46	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>Z,E</i>)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (167)	103
Figura 47	Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (163)	105

Figura 48	Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO- _{d6}) da (Z,E)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (167)	107
Figura 49	Provável correlação observada na NOESY entre o hidrogênio aromático H4 e o H3 do NH presente no grupo tiossemicarbazona nos derivados obtidos na Tese	109
Figura 50	Espectro NOESY (<i>Nuclear Overhauser Spectroscopy</i> , 500 MHz, DMSO- _{d6}) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (163)	110
Figura 51	Espectro COSY ¹ H- ¹ H (<i>homonuclear COrrrelation SpectroscopY</i> , 300 MHz, DMSO- _{d6}) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (163)	111
Figura 52	Espectro COSY ¹ H- ¹ H (<i>homonuclear COrrrelation SpectroscopY</i> , 300 MHz, DMSO- _{d6}) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (171)	112
Figura 53	Espectro HMBC (<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> , 300 MHz, DMSO- _{d6}) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (163)	113
Figura 54	Espectro HMBC (<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> , 300 MHz, DMSO- _{d6}) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (171)	114
Figura 55	Espectro HMQC (<i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i> , 300 MHz, DMSO- _{d6}) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (163)	115
Figura 56	Espectro HMQC (<i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i> , 300 MHz, DMSO- _{d6}) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (171)	116
Figura 57	Cromatograma e espectro de massas obtidos em CG-EM para o produto de acoplamento 181	122
Figura 58	Proposta de fragmentação para os principais picos oriundos do composto 181	123
Figura 59	Ataque nucleofílico aos carbonos da cetona, para os derivados 5'-(4-alquil/aril-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (151-	126

	158), e ao carbono do aldeído, no 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (181). Os orbitais moleculares envolvidos na formação da nova ligação encontram-se destacados em vermelho	
Figura 60	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- _{d6}) da 4-(N-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (181)	127
Figura 61	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- _{d6}) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (184 – A) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilidenohidrazinocarboxamida (185 – B)	128
Figura 62	Influência do volume dos átomos de enxofre e oxigênio sobre o deslocamento químico do hidrogênio da imina observada nos espectros de RMN ¹ H dos derivados tio- (184) e semicarbazona (185) do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído	130
Figura 63	Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO- _{d6}) do 4-(N-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (181)	131
Figura 64	Espectros de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- _{d6}) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (184 – A) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilidenohidrazinocarboxamida (185 – B)	132
Figura 65	Espectro na região do infravermelho do 4-(N-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (— 181, A) e seus derivados tio- (— 184, B) e semicarbazona (— 185, C)	134
Figura 66	Esquema reacional da clivagem do substrato vermelho de clorofenol- β-D-galactopiranosídeo (186) levando a formação da galactose e vermelho de clorofenol pela ação da enzima β-galactosidase	136
Figura 67	Gráfico que mostra a atividade antichagásica (<i>in vitro</i>) das substâncias obtidas na Tese	142
Figura 68	Gráfico que mostra a relação entre os valores de IC ₅₀ (μM) das	143

	substâncias <i>versus</i> a natureza lipofílica (miLogP)	
Figura 69	<i>N</i> -óxidos (190 , 191 e 192) ativos contra a forma epimastigota do <i>T. cruzi</i> e responsáveis pela formação de espécies reativas do oxigênio	144
Figura 70	Célula eletroquímica empregada para a análise voltamétrica	145
Figura 71	(A) Sinal de excitação em voltametria cíclica e (B) voltamograma cíclico hipotético para uma transferência eletrônica reversível, quase reversível e irreversível	146
Figura 72	Voltamogramas cíclicos obtidos em N ₂ usando como eletrólito de suporte uma solução de (—) 0,2 M perclorato de tetrabutilamônio (TBAP) e 2x10 ⁻⁴ M das tio- (91 , 159 , 161-164 e 166) e semicarbazonas (189 , 167 , 169-172 e 174), primeiro scan (—) e segundo scan (—), $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$	147
Figura 73	Correlação entre os valores de IC ₅₀ (μM) e o comportamento de oxirredução observados para as tiosemicarbazonas (91 , 159 , 161-164 e 166) e das semicarbazonas (189 , 167 , 169-172 e 174)	152
Figura 74	Sobreposições das estruturas dos ligantes 1RV (A) e WYQ (B) obtidas por redocagem (átomos de carbono em cor amarela) com as respectivas estruturas co-cristalizadas (átomos de carbono em cor branca) nos complexos 4KLB (ligante 1RV) e 3V94 (ligante WYQ). As estruturas dos ligantes estão representadas em modelo bastão, os átomos de oxigênio, nitrogênio e enxofre estão coloridos em vermelho, azul e laranja, respectivamente, e os íons de zinco e magnésio estão representados como esferas coloridas em roxo e verde, respectivamente	154
Figura 75	Sobreposição entre as poses de 171 obtidas pelo programa AutoDock e as estruturas co-cristalizadas dos inibidores 1RV (A) e WYQ (B) nos complexos 4KLB (cruzaína) e 3V94 (fosfodiesterase C), respectivamente. Os átomos de hidrogênios apolares foram omitidos para melhor visualização. As estruturas dos ligantes e das proteínas estão representadas em modelo bastão. Código de cores dos átomos: carbono (azul claro, inibidores 1RV e WYQ; verde, semicarbazona 171); hidrogênio	157

polar (branco); oxigênio (vermelho); nitrogênio (azul escuro); enxofre (laranja); zinco e magnésio (esferas em púrpura e vermelho, respectivamente)

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1	Rota de síntese do BZD	42
Esquema 2	Método de Pechmann para a formação de 1,2,3-triazóis	54
Esquema 3	Etapas gerais para o planejamento e desenvolvimento de um fármaco	59
Esquema 4	Diagrama comparativo entre os desenvolvimentos de fármacos para doenças com interesse econômico e os voltados para as DTNs	62
Esquema 5	Ataque nucleofílico do resíduo Cys25 sobre a carbotionila da tiossemicarbazona (C=S) ou da carbonila da semicarbazona (C=O) seguida da transferência de um próton do resíduo His159 ao átomo de enxofre do grupo C=S ou C=O	65
Esquema 6	Rota de síntese para a obtenção dos 5'-(4-alkil/aril-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (141-150)	71
Esquema 7	Aspectos mecanísticos para a formação de 1 <i>H</i> -1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos. L = Ligante e B = base ou solvente	72
Esquema 8	Condição de reação para hidrólise do cetal dioxolano (n = 1) e dioxano (n = 2) da isatina	79
Esquema 9	Hidrólise dos 5'-(4-alkil/aril-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (141-150)	81
Esquema 10	Reações de hidrólise do cetal dioxolano, e reações de hidrólise (148) e eliminação (149 e 150) dos substituintes presentes no anel do triazol	81
Esquema 11	Reação de obtenção dos grupos tio- (X=S , 159-166) e semicarbazona (X=O , 167-174)	91
Esquema 12	Intermediários polares envolvidos na formação de tio- (X = S) e semicarbazonas (X = O)	93
Esquema 13	Equilíbrio tautomérico entre as formas tiona e tiol, se X = S e entre as formas cetona e enol, se X = O	117
Esquema 14	Reação de iodação da isatina (83) seguida de <i>N</i> -metilação do grupo NH e da proteção de C-3 para a obtenção de 179	120

Esquema 15	Métodos investigados para a formação de 181 através de acoplamento cruzado do tipo Suzuki-Miyaura	121
Esquema 16	Ciclo catalítico do acoplamento do tipo Suzuki-Miyaura entre o cetol dioxolano da <i>N</i> -metil-5-iodo-isatina (179) e o ácido borônico (180)	124
Esquema 17	Síntese da tiossemicarbazona 184 e da semicarbazona 185 , derivadas do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (181)	125
Esquema 18	Proposta mecanística para a oxidação das tio- (91 , 159 , 161-164 e 166) e semicarbazonas (189 , 167 , 169-172 e 174)	150

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1	Mudanças na mortalidade, prevalência e incidência por transmissão vetorial da doença de Chagas na América Latina, nos anos de 1990, 2000, 2006 e 2010	36
Tabela 2	Órgãos reguladores de vigilância correspondente a cada País	59
Tabela 3	Fases de um estudo clínico	60
Tabela 4	Dados do 5'-azido-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (140) e dos derivados 5'-(-4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (141-150) obtidos por EMAR-IES ⁺	78
Tabela 5	Conversão dos cetais dioxolanos (n=1) e dioxanos (n=2) à isatinas e seus respectivos tempos de retenção	79
Tabela 6	Avaliação preliminar da relação molar <i>versus</i> tempo de reação de hidrólise do cetal dioxolano da isatina com <i>p</i> -sulfônico-calixarenos [6]	83
Tabela 7	Hidrólise do cetal dioxolano calasada pelo <i>p</i> -TsOH, <i>p</i> -sulfóxido-calixarenos [4] ou [6]	85
Tabela 8	pH dos catalisadores empregados nas reações de hidrólise do cetal dioxolano da isatina sem substituinte	86
Tabela 9	Conversão da hidrólise do cetal dioxolano da isatina, promovida pelo <i>p</i> -sulfóxido-calixareno [4], após reuso da fase aquosa proveniente de reação anterior	86
Tabela 10	Dados de RMN ¹ H dos derivados dos 5'-(-4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (151-158)	87
Tabela 11	Dados de RMN ¹³ C dos 5'-(-4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (151-158)	89
Tabela 12	Dados de Infravermelho dos 5'-(-4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (151-158)	90
Tabela 13	Dados dos derivados 5'-(-4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (151 – 158) obtidos por EMAR-IES ⁺	91
Tabela 14	Rendimentos dos derivados tio- (159-166) e semicarbazonas da 5'-	93

	(4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (167-174)	
Tabela 15	Dados de RMN ¹ H das tiossemicarbazonas (159-166) derivadas dos 5'-(4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona	97
Tabela 16	Relação entre as áreas dos hidrogênios dos isômeros do composto 167 a 298 K (25 °C), 313 K (40 °C), 333 K (60 °C) e 352 K (80 °C)	101
Tabela 17	Deslocamentos químico (δ) dos hidrogênios do grupo NH ₂ da semicarbazona 167 e de seu isômero a 298 K (25 °C), 313 K (40 °C), 333 K (60 °C) e 352 K (80 °C)	101
Tabela 18	Dados de RMN ¹ H dos derivados semicarbazona (167-174) dos 5'-(4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona e seus isômeros	104
Tabela 19	Dados de RMN ¹³ C das tiossemicarbazonas (159-166) derivadas dos 5'-(4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona	105
Tabela 20	Dados de RMN ¹³ C dos derivados semicarbazona (167-174) dos 5'-(4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona e seus isômeros	108
Tabela 21	Dados de infravermelho das tio- (159-166) e semicarbazonas (167-174) derivadas dos 5'-(4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona	118
Tabela 22	Dados dos derivados tio- (159-166) e semicarbazonas (167-174) da 5'-(4-alkuil/aryl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona obtidos por EMAR-IES ⁺	119
Tabela 23	Dados da 4-(<i>N</i> -metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (181) e dos seus derivados tio- (184) e semicarbazona (185) e da obtidos por EMAR-IES ⁺	135
Tabela 24	Atividade anti- <i>T. cruzi</i> (IC ₅₀ , μM), citotoxicidade (CC ₅₀ , μM) e índice de seletividade (IS) e LogP (miLogP) para os compostos 141-150 nos fibroblastos L929 infectados com as formas tripomastigota e amastigota do <i>T. cruzi</i>	137
Tabela 25	Atividade anti- <i>T. cruzi</i> (IC ₅₀ , μM), citotoxicidade (CC ₅₀ , μM) e índice de seletividade (IS) e LogP (miLogP) para os compostos 83, 91, 151-158, 159-166, 167-174 e 189 nos fibroblastos L929 infectados com as formas tripomastigota e amastigota do <i>T. cruzi</i>	138

Tabela 26	Atividade anti- <i>T. cruzi</i> (IC ₅₀ , μM), citotoxicidade (CC ₅₀ , μM) e índice de seletividade (IS) e LogP (miLogP) para os compostos 179 , 181 , 184 e 185 nos fibroblastos L929 infectados com as formas tripomastigota e amastigota do <i>T. cruzi</i>	141
Tabela 27	Valores de energia obtidos através do <i>docking</i> (E, kcal/mol) entre as tio- (161 , 162 , 163 e 166) e semicarbazonas (169 , 170 , 171 e 174) e a cruzaina (CRZ, PDB ID: 4KLB), bem como para a fosfodiesterase C (TcrPDEC, PDB ID: 3V94), usando o software AutoDock (v.4.2)	155
Tabela 28	Reagentes e solventes usados na Tese	161

ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

ANVISA	agência nacional de vigilância sanitária
AcOH	ácido acético
AcOEt	acetato de etila
AscNa	ascorbato de sódio
A _p	área de pico do analito
A _{PI}	área de padrão interno
A _X	área do analito
BZD	benznidazol
CDCl ₃	clorofórmio deuterado
CC ₅₀	citotoxicidade de um composto
CNPq	conselho nacional de desenvolvimento científico e tecnológico
C _P	concentração de um padrão do analito
C _X	concentração do analito
C _{PI}	concentração de padrão interno
C _q	carbono quaternário
CCD	cromatografia em camada delgada
CRZ	cruzaína
CG-EM	cromatografia a gás acoplada à espectroscopia de massas
COSY ¹ H- ¹ H	<i>homonuclear COrrrelation Spectroscopy</i>
DTNs	doenças tropicais negligenciadas
DC	doença de chagas
DMSO-d ₆	dimetil sulfóxido deuterado
d	duplete
dd	duplo duplete
EMAR-IES ⁺	espectrometria de massas de alta resolução com ionização por <i>electrospray</i>
E _{pC}	energia potencial catódica
E _{pA}	energia potencial anódica
FDA	<i>food and drug administration</i>
FIOCRUZ	fundação Oswaldo Cruz
HIV	vírus da imunodeficiência humana
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HOMO	<i>highest occupied molecular orbital</i>
IC ₅₀	concentração do composto necessária para inibir pela metade um processo biológico
IS	índice de seletividade
IV	espectroscopia na região do infravermelho
J	constante de acoplamento (em Hz)

LAFEPE	laboratório farmacêutico de pernambuco
LUMO	<i>lowest unoccupied molecular orbital</i>
<i>m/z</i>	relação massa/carga
MO	micro-ondas
NA	não avaliado
NOESY	<i>nuclear overhauser spectroscopy</i>
OMS	organização mundial da saúde
P_f	temperatura de fusão
PGI	porcentagem de inibição do crescimento
PI	padrão interno
ppm	parte por milhão
PDB	<i>protein data bank</i>
<i>p</i> -TsOH	ácido <i>p</i> -toluenosulfônico
RMN	ressonância magnética nuclear
RMN ^1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono
RMN 2D	ressonância magnética nuclear bidimensional
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
TcNTR	nitro-redutase I
TcrPDEC	fosfodiesterase C
TFA	ácido trifluoroacético
TOM	teoria do orbital molecular
TTBG	enzima β -galactosidase
<i>t</i> -BuOH	<i>tert</i> -butanol
TBAP	perclorato de tetrabutilamônio
SUS	sistema único de saúde
VC	voltametria cíclica
WYQ	sítio ativo da fosfodiesterase C
1RV	sítio ativo da cruzaina
4KLB	complexo da cruzaina
3V94	complexo da fosfodiesterase C
δ	deslocamento químico
s	simpleto
sl	simpleto largo
sextet	sexteto
t	triplete
m	multipleto

1. INTRODUÇÃO

1.1. *Doenças Tropicais Negligenciadas*

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são um grupo diverso de doenças que podem conduzir ao óbito 1,4 bilhão de pessoas, principalmente as populações mais pobres. Atualmente, 17 doenças crônicas são classificadas como DTN: dengue, raiva, úlcera de Buruli (infecção por *Mycobacterium ulcerans*), treponematoses (sífilis endêmica), lepra (doença de Hansen), doença de Chagas (tripanosomíase Americana), doença do sono (tripanosomíase Africana), leishmaniose, cisticercose, dracunculose, equinococose, infecções de origem alimentar de nematoides, filariose linfática, oncocercose (cegueira dos rios), esquistossomose e helmintíases transmitidas pelo solo.¹

Estas doenças são consideradas negligenciadas por serem endêmicas em populações de baixa renda e serem distribuídas, principalmente, em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. Um estudo sobre o financiamento mundial de inovação para doenças negligenciadas revelou que dentre os 850 medicamentos aprovados nos anos 2000 a 2011, apenas 4% foram investidos no grupo de doenças negligenciadas.²

Dentre as DTNs, a tripanossomíase americana (doença de Chagas) é a que mais ocasiona transtornos socioeconômicos por causar a mortalidade e a morbidade em um número de pessoas superior à malária, à esquistossomose e à leishmaniose (BONNEY, 2014).

1.1.1. *Doença de Chagas*

A doença de Chagas (DC) foi descrita pela primeira vez em 1909 pelo cientista brasileiro Carlos Ribeiro Justiniano Chagas (CHAGAS, 1909). Trata-se de uma enfermidade de natureza crônica, que possui como agente etiológico o parasito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) (DIAS, 1995).

¹ Disponível em: World Health Organization (WHO). Specialized Information Services: Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases <http://www.who.int/neglected_diseases/2010report/WHO_NTD_report_update_2011.pdf>. Acesso em: 26 de novembro de 2016.

² Disponível em Drugs for Neglected Diseases Initiative (DNDi): <<http://www.dndi.org/diseases-projects/#ftn1>>. Acesso em: 26 de novembro de 2016.

A DC é considerada, pela Organização Mundial da Saúde (OMS), uma doença de calamidade pública em âmbito mundial por afetar principalmente a população mais ativa, ou seja, conduzir à perda de força de trabalho disponível, gerando grandes impactos econômicos.

Com o processo de globalização, tornou-se crescente o número de pacientes infectadas com a DC em países desenvolvidos não endêmicos, tais como Austrália, Canadá, Japão, Espanha e Estados Unidos (REQUENA-MÉNDEZ *et al.*, 2015) (Figura 1).

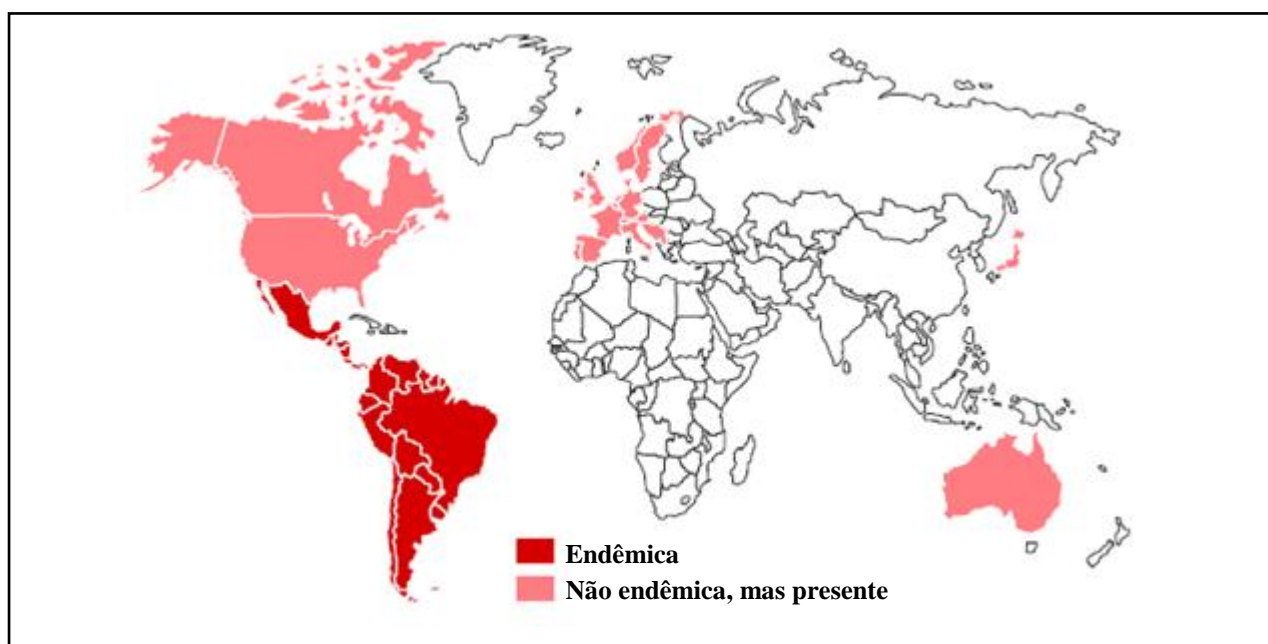


Figura 1. Distribuição da doença de Chagas em regiões endêmicas (em vermelho) e não-endêmicas (em rosa) no mundo²

Atualmente, estima-se que 6 milhões de pessoas possuam a DC, e que entre 5 a 6 milhões estejam na América Latina. Calcula-se que 70 milhões de pessoas estejam em risco de contrair a doença e que menos de 1% recebem o tratamento adequado (MARTINS-MELO *et al.*, 2014).

Alguns fatores, como o êxodo rural, também contribuiu para o número elevado de pessoas portadoras da DC, visto que esta doença predomina em regiões rurais. As emigrações rurais para áreas urbanas entre os anos 1970 e 1980 no Brasil modificaram o padrão epidemiológico tradicional da DC, tornando-a mais urbana (BARATA, 2000).

Dentre as formas de transmissão da doença, encontram-se as transmissões oral (através de ingestão de alimentos contaminados com o *T. cruzi*) e congênita, mediante transplante de órgãos ou transfusão de sangue, pelo barbeiro e, mais raramente por acidentes em manipulação laborial.

A transfusão de sangue, em muitos locais, é reconhecida como a segunda via em importância para a transmissão da DC e considerada como a principal fonte de transmissão em países industrializados, como o Canadá, a Espanha e os Estados Unidos ou em países latino-americanos que estejam em processo de erradicação completa do barbeiro (principal vetor da doença).

Estima-se que nos anos 1960 e 1989, a prevalência de sangue infectado em bancos de sangue em determinadas cidades da América do Sul alcançou de 1,7% em São Paulo a 53% em Santa Cruz (Bolívia). Em outros países latino-americanos, como a Bolívia, uma porcentagem muito maior do que as de hepatite ou HIV foi alcançada (BERN *et al.*, 2009).

O emprego de marcadores sorológico como teste indireto para *T. cruzi*, tais como o HBsAg, e a quimioprofilaxia através do violeta de Genciana, usados em bancos de sangue, são métodos que reduzem a ocorrência da doença de chagas transfusional (DIAS e COURA, 1997).

Em paralelo, medidas governamentais, como a adoção de programas sanitários de erradicação de vetores, também têm contribuído para a redução do número e prevalência de indivíduos infectados.³ A Tabela 1 mostra a prevalência e a incidência da transmissão da DC nos países endêmicos da América Latina nos anos de 1990, 2000, 2006 e 2010 (SCHMUNIS e YADON, 2010; DIAS *et al.*, 2016).

Tabela 1. Mudanças na mortalidade, prevalência e incidência por transmissão vetorial da doença de Chagas na América Latina, nos anos de 1990, 2000, 2006 e 2010

Parâmetros/Estimativas	1990	2000	2006	2010
Número de mortes por ano	> 45.000	21.000	12.500	12.000
Número de pessoas infectadas	30.000.000	18.000.000	15.000.000	5.742.167
Casos novos por ano / transmissão vetorial	700.000	200.000	41.200	29.925
População total em risco	100.000.000	40.000.000	28.000.000	70.199.360

³ Disponível em: World Health Organization (WHO) (Control of Chagas Disease):

<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42443/1/WHO_TRS_905.pdf>. Acesso em: 26 de novembro de 2016.

Embora a Tabela 1 mostre um cenário mais ameno em termos da DC, o cenário epidemiológico ainda traz muitos desafios, principalmente no Brasil, ao que se refere a ações de controle e estabelecimento de um plano consistente do sistema único de saúde (SUS) para diagnóstico e tratamento da doença, bem como para a atenção integral de milhões de pessoas infectadas. Outro fator alarmante advém de estimativas que apontam que em 2055 ainda 31,6% de brasileiros estarão infectadas com o *T. cruzi* (JANNIN e SALVATELLA, 2006).

Clinicamente a doença de Chagas apresenta duas fases bastante distintas: fase aguda e fase crônica. A fase aguda da doença se manifesta em dois estágios. O primeiro caracteriza-se pela ausência de sintomas nos primeiros dias de infecção do hospedeiro vertebrado pelo triatomíneo. Após um período que compreende a 8-10 dias, ocorre o segundo estágio, no qual o indivíduo infectado apresenta alguns sinais, como o de Romaña e o Chagoma de inoculação (AUGER *et al.*, 2002; MELNIKOV *et al.*, 2005; MONCAYO e ORTIZ, 2006).

O sinal de Romaña é um edema indolor na pálpebra inferior e superior de um dos olhos, simultaneamente ocorre uma coloração palpebral eritematoso-violácea, congestão conjuntival e linfonodomegalia satélite. O chagoma de inoculação consiste em um pequeno nódulo eritematoso que pode surgir em qualquer região do corpo. O aparecimento destes sinais vem acompanhado de febre, astenia, cefaleia, inapetência, linfonodomegalia generalizada e hepatoesplenomegalia, bem como manifestações cardíacas (AUGER *et al.*, 2002; MELNIKOV *et al.*, 2005; MONCAYO e ORTIZ, 2006).

Devido à resposta imunológica intensa, a parasitemia regride e o paciente passa a uma fase crônica da doença que se manifesta após a oitava semana de infecção (AUGER *et al.*, 2002; MELNIKOV *et al.*, 2005; MONCAYO e ORTIZ, 2006). Esta fase pode ser subdividida em duas formas: a forma crônica assintomática (indeterminada ou latente) e a forma crônica sintomática.

A forma crônica assintomática é detectada apenas por exames clínicos e laboratoriais e é a mais identificada na população das regiões endêmicas e entre os doadores de sangue. Os indivíduos nesta fase podem apresentar discretos focos de miocardite, redução do número de neurônios nos plexos nervosos parassimpáticos cardíacos e digestivos (ANDRADE, 1999).

Após 20 a 30 anos de infecção, cerca de 20-40% dos pacientes chegam à fase crônica sintomática da DC. Esta fase é definida, principalmente, pelas alterações cardíacas que se justificam

através de miocardite progressiva, com a presença de aneurismas ventriculares e comprometimento da função diastólica, além de insuficiência cardíaca e aumento do coração (Figura 2) (TANOWITZ *et al.*, 1990; HIGUCHI, 1995; ANDRADE, 1999). Comprometimentos no sistema digestivo e danos neurológicos também podem ocorrer nesta fase da doença (CHIMELLI e SCARAVILLI, 1997).

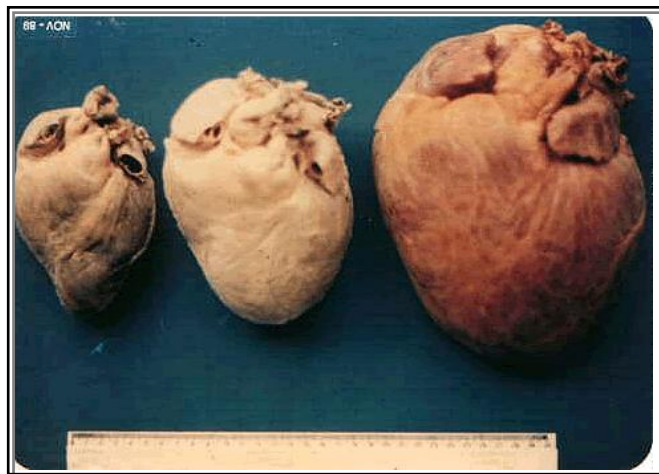


Figura 2. Ilustração do tamanho do coração de um portador da DC em diferentes fases da doença⁴

1.1.2. *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*)

O *T. cruzi* é um protozoário flagelado do Filo Sarcomastigophora, subfilo Mastigophora, classe Zoomastigophora, ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae (REY, 1991). Este micro-organismo possui um ciclo de vida complexo, pois envolve muitas formas que apresentam entre si importantes diferenças morfológicas, bioquímicas, genéticas e clínicas (BRENER, 1963). Existe uma variedade extensa de hospedeiros, bem como de células passíveis à infecção por este parasita.

A forma amastigota (do grego, *a* = desprovido; *mastis* = chicote) é caracterizada por constituir células arredondadas com diâmetro de 2,4-6,5 μm e um flagelo curto não aparente em microscopia óptica. A forma amastigota é definida como o estágio replicativo no hospedeiro vertebrado (MEYER e DE OLIVEIRA, 1948), porém estudos apontam que também são capazes de gerar infecção nos hospedeiros (CARVALHO e DE SOUZA, 1989; LEY *et al.*, 1990; MORTARA, 1991; FERNANDES *et al.*, 2006).

⁴ Disponível em MediFoco: < <http://medifoco.com.br/doenca-de-chagas-sinais-e-sintomas-da-fase-aguda-e-cronica/> >. Acesso em: 15 de dezembro de 2016.

A forma epimastigota (*epi* = anterior) são formas extracelulares, não-infectivas para os vertebrados, com comprimentos de 20-40 µm e largura 2-5 µm, dividem-se por fissão binária.

A forma tripomastigota (*trypo* = perfurar, referindo-se à capacidade que essas células possuem de aderir a uma superfície por um único ponto enquanto fazem rápidos movimentos rotatórios semelhantes a uma broca) são incapazes de se dividir, sendo consideradas infectivas ao hospedeiro vertebrado. Possuem um comprimento de aproximadamente 18 µm, incluindo um flagelo livre de 6 µm e largura de 2-3 µm. Estão presentes nos hospedeiros invertebrados (tripomastigota metacíclico), situadas no intestino posterior perto da ampola retal, e em hospedeiros vertebrados, na corrente sanguínea e em diferentes tecidos (tripomastigota sanguíneo).

O *T. cruzi* também apresenta diversidade morfo-biológica de cepas ou linhagens filogenéticas identificadas com base em diferenças no comportamento biológico da cepa na infecção em animais de laboratório, característica bioquímica dos isolados e características moleculares dos diferentes estoques. Além de diversidade genética revelada através do uso de marcadores enzimáticos e técnicas com o DNA do cinetoplasto (ANDRADE e MAGALHÃES, 1997; COURA *et al.*, 1966).

As linhagens do *T. cruzi* podem ser divididas em dois grupos. As linhagens São Felipe, Silvio X10, Dm28, G, F e Tulahúen estão inseridas no grupo I, e as linhagens CL, CL-Brener, CA1, Esmeraldo e Y compõem o segundo grupo (ANDRADE *et al.*, 1985).

O grupo *T. cruzi* I é, majoritariamente, observado em mamíferos selvagens, enquanto o *T. cruzi* II está associado à primatas e à infecções em seres humanos, consistindo, portanto, em cepas de alta parasitemia (FERNANDES *et al.*, 1998; ZINGALES *et al.*, 1998).

1.1.2.1. Ciclo evolutivo do *T. cruzi*

O ciclo de vida do *T. cruzi* ocorre no interior de dois hospedeiros: um invertebrado (o triatomíneo hematófago), e um vertebrado (mamíferos, incluindo o homem) (MONCAYO e ORTIZ, 2006). A contaminação de um hospedeiro vertebrado ocorre quando a fêmea do barbeiro (*Triatoma infestans*), que é hematófaga, infectada com o *T. cruzi* pica um mamífero para fazer o repasto sanguíneo. Após a ingestão do sangue, geralmente, o inseto deposita seus excrementos (fezes e urina) contaminados com a forma flagelada infectante (tripomastigota metacíclica) sobre a

pele do hospedeiro (TYLER e ENGMAN, 2001). No momento em que o hospedeiro coça a região lesionada da pele, pode carrear o *T. cruzi* para o sistema circulatório. Uma vez no sistema circulatório, o parasita consegue se movimentar pelos fluidos corporais e infectar células musculares, epiteliais e neurônios. O mecanismo de invasão do *T. cruzi* ocorre por meio da internalização por fagocitose, formação de pseudópodes e/ou recrutamento de lisossomos para o local de invasão.

No meio intracelular, o *T. cruzi* se diferencia à forma amastigota para em seguida se diferenciar na forma tripomastigota, capaz de romper a célula e entrar na corrente sanguínea para infectar novos tecidos ou ser absorvido por um outro barbeiro (TYLER e ENGMAN, 2001) (Figura 3). O tatu (*Euphractus sexcinctus*), o gambá (*Didelphis albiventris*), o sagüi-estrela (*Callithrix penicilata*) e roedores (*Thrichomys laurentius*) são exemplos de outros hospedeiros vertebrados do *T. cruzi* reportados na literatura (ZELEDON e RABINOVICH *et al.* 1981; TARLETON *et al.*, 2007).

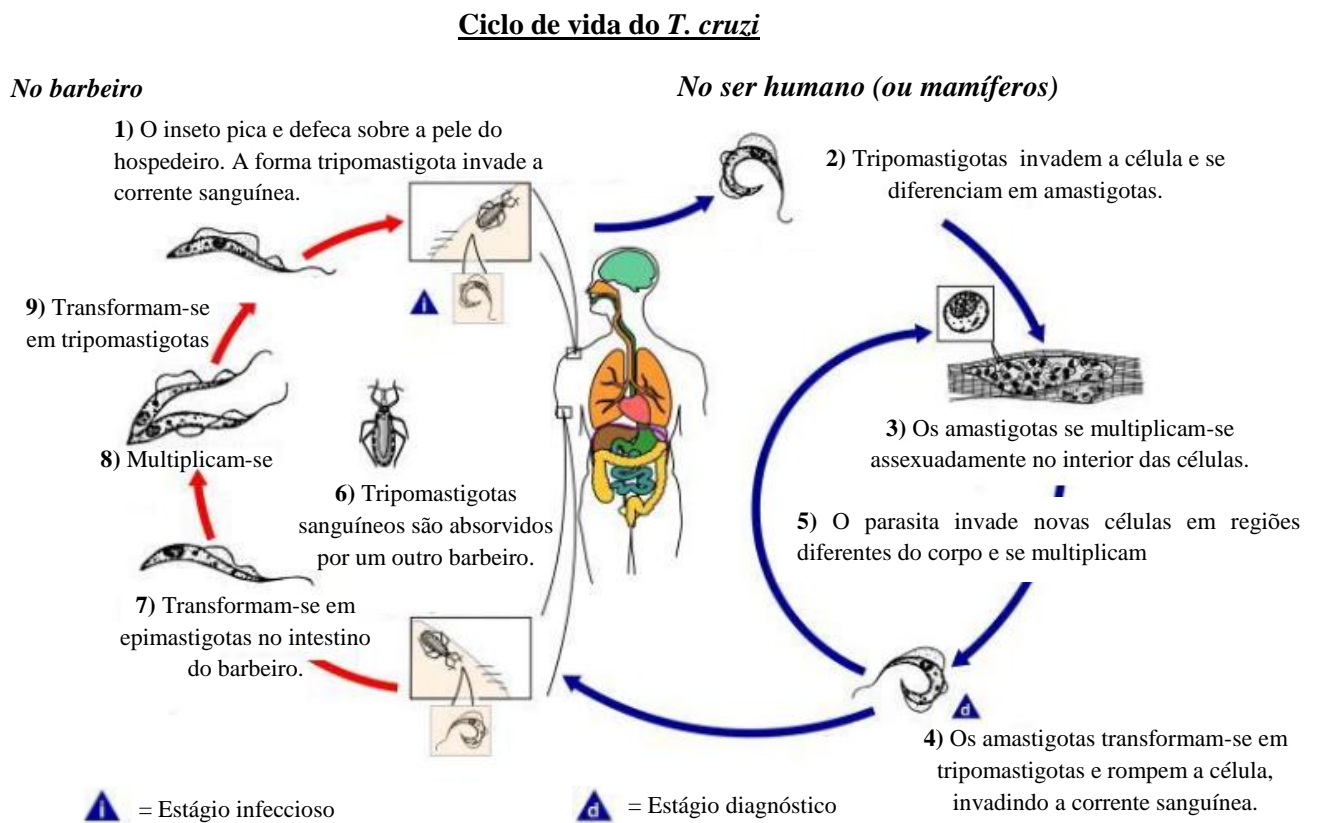


Figura 3. Representação esquemática do ciclo de vida de *T. cruzi* no barbeiro e no ser humano (<http://www.cdc.gov>)⁵

⁵ Disponível em <<https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>>. Acesso em: 15 de dezembro de 2016.

1.1.3. Quimioterapia da Doença de Chagas

A DC não possui cura e o desinteresse das indústrias farmacêuticas (LOWELL e DEARL, 2009) pelo desenvolvimento de novas substâncias contra a doença, aliada aos poucos estudos acerca dos mecanismos pelos quais o *T. cruzi* efetivamente causa a doença, limita a quimioterapia empregada no tratamento da DC ao uso do benznidazol (Lampit[®], **1**) e do nifurtimox (Rochagan[®] ou Rodanil[®], **2**– Figura 4).

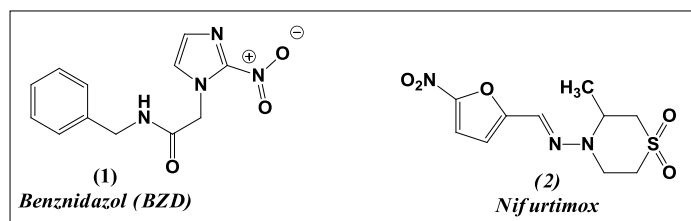


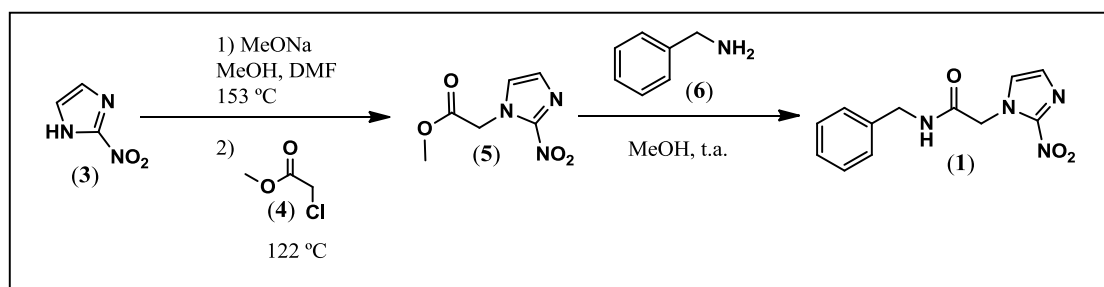
Figura 4. Estrutura do benznidazol (BZD - **1**) (Rochagan[®], Rodanil[®], Roche) e do nifurtimox (**2**) (Lampit[®], Bayer), substâncias usadas no tratamento da doença de Chagas

O nifurtimox é um nitrofurano manufacturado pela Bayer, e o benznidazol (BZD) é um derivado nitroimidazólico manufacturado pela Roche, desenvolvidos nos anos de 1960 e 1970, de modo respectivo. Ambos os fármacos possuem atividade significativa somente na fase aguda da DC, e mostram baixa eficácia clínica. Além disso, existem cepas do *T. cruzi* resistentes à estes fármacos (URBINA, 1994).

O nifurtimox possui elevada toxidez, o que ocasiona baixa tolerância dos pacientes que, em geral, abandonam o tratamento. Por isso, o BZD é o único fármaco comercializado e desenvolvido no Brasil. O laboratório farmacêutico de Pernambuco (LAFEPE) é o único laboratório público do mundo que produz o BZD e o distribui à população infectada através do SUS.⁶

A rota de síntese do BZD foi desenvolvida pela indústria farmacêutica Roche, a qual consiste na reação entre o 2-nitroimidazol (**3**) e metóxido de sódio com posterior substituição nucleofílica no cloroacetato de metila (**4**). Em seguida, o éster (**5**) é submetido à reação com benzilamina (**6**) para fornecer o BZD como produto (Esquema 1) (HOFFMAN-LA ROCHE, 1966).

⁶ Laboratório farmacêutico de Pernambuco (LAFEPE). Disponível em: <<http://www.lafepe.pe.gov.br/category/benznidazol>>. Acesso em: 15 de dezembro de 2016.



Esquema 1. Rota de síntese do BZD

O mecanismo de ação do BZD não é completamente compreendido, mas estudos sugerem que o grupo nitro ligado ao anel imidazol deste fármaco é reduzido por uma enzima conhecida como nitro-redutase I do protozoário (TcNTR). Esta redução desencadeia a formação de metabólitos altamente reativos, responsáveis não apenas pela ação tripanocida, mas também pela elevada toxicidade reportada para o BZD (MORENO *et al.*, 1982; TEMPERTON *et al.*, 1998; MAYA *et al.*, 2003 e 2007).

TROCHINE e colaboradores (TROCHINE *et al.*, 2014) descreveram que cepas do *T. cruzi* resistentes ao BZD utilizam a enzima tripanotona (TSH₂) para inibir a ação do fármaco. Desta forma, substâncias como a pentamidina (7, Fauldpenta[®]) e a sulfoximina de butionina (8, Figura 5) podem ser usadas em combinação com o BZD, pois inibem a produção da glutatona e da espermidina (proteínas essenciais à síntese da TSH₂) (FAUNDEZ *et al.*, 2005; MANTA *et al.*, 2013; DIAZ *et al.*, 2014).

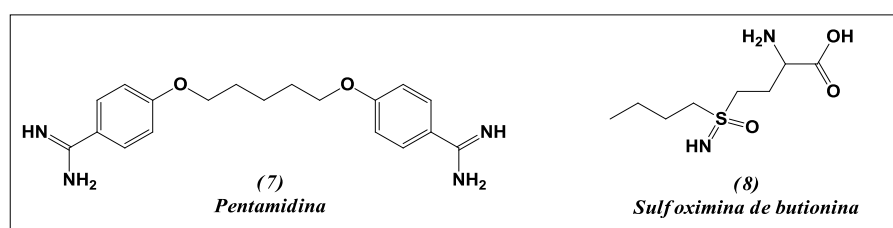


Figura 5. Estrutura química da pentamidina (7) e da sulfoximina de butionina (8)

Outras substâncias investigadas para uso em associação ao BZD são o posaconazol (9), um derivado triazólico que inibiu a infecção pelo *T. cruzi* em camundongos (OLIVIERI *et al.*, 2010; FRANÇA *et al.*, 2014) e a anfotericina B (CENCIG *et al.*, 2011) (AmBisome[®], 10 – Figura 6). Ambos os fármacos possuem ação antifúngica comprovada e atuam sobre o ergosterol, esteróis cuja função envolve a regulação de propriedades físicas, tais como a fluidez e a permeabilidade da membrana plasmática de micro-organismos.

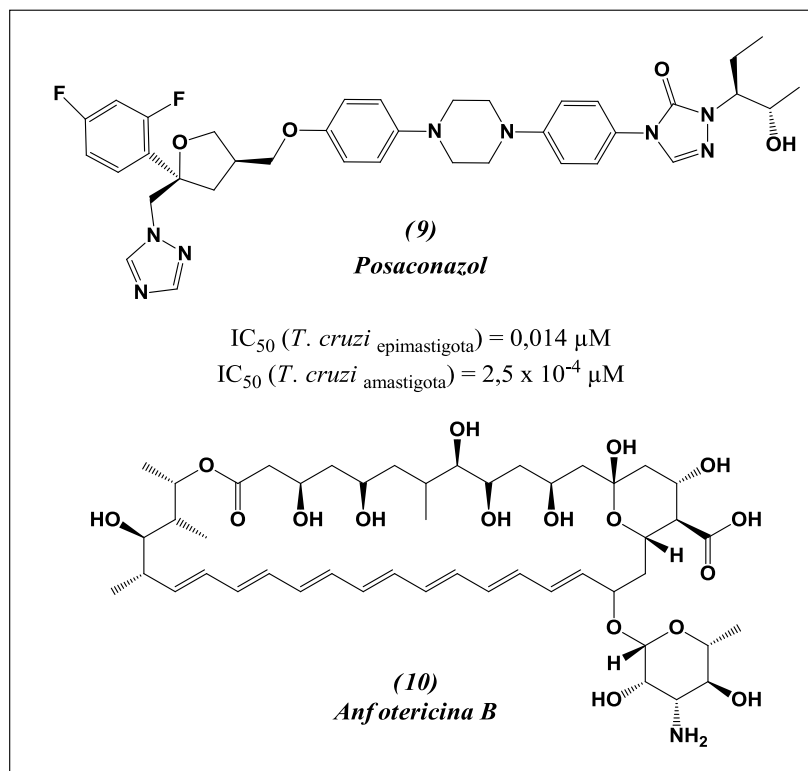


Figura 6. Estrutura química do posaconazol (9) e da anfotericina B (10)

Embora algumas substâncias, como as antifúngicas, possam aumentar a potência do BZD, esforços da comunidade científica são necessários para a obtenção de núcleos ativos e promissores contra DC.

1.1.3.1. Núcleos ativos contra o *T. cruzi*

1.1.3.1.1. Semicarbazonas e Tiosemicarbazonas

No que se refere aos principais núcleos estudados com interesse antichagásico, as tio- e semicarbazonas possuem destaque, devido a sua capacidade de sequestrar metais e sua versatilidade estrutural (Figura 7). Além disso, os métodos para a síntese de tio- e semicarbazonas são geralmente muito simples e consistem na reação entre aldeídos ou cetonas com tio- e semicarbazidas (CHOWDHURY *et al.*, 1999; HEBY *et al.*, 2007; SINGH *et al.*, 2012).

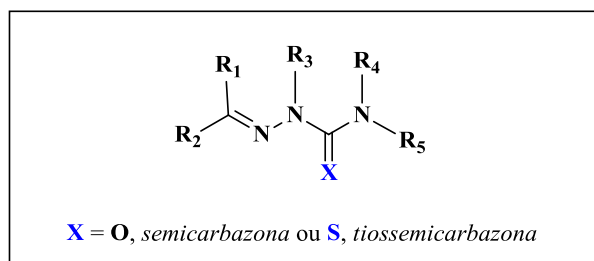
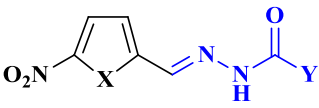


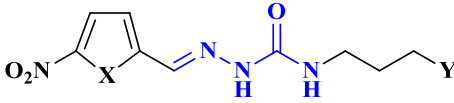
Figura 7. Estrutura geral de tiossemicarbazonas ($\mathbf{X} = \mathbf{S}$) e semicarbazonas ($\mathbf{X} = \mathbf{O}$). \mathbf{R}_1 , \mathbf{R}_2 , \mathbf{R}_3 , $\mathbf{R}_4 = \mathbf{H}$ ou qualquer outro substituinte orgânico

Furanos, piridinas, indanonas, tiazóis, tetrahidronaftalenos e benzofenonas são os núcleos mais descritos na literatura para a associação com carbazidas bioativas. Os metais: antimônio, platina, paládio, cobre, rutênio, rênio, manganês e vanádio estão presentes nos complexos de tio- e semicarbazonas com atividade antichagásica (CERECETTO *et al.*, 2000; OTERO *et al.*, 2006; CAPUTTO *et al.*, 2011; HARAGUCHI *et al.*, 2011; PIZZO *et al.*, 2012; DEMORO, *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2012; ESPÍNDOLA *et al.*, 2015; SCALESE *et al.*, 2015; SILVA, *et al.*, 2016).

Cerecetto e colaboradores (CERECETTO *et al.*, 2000) reportaram a atividade antichagásica *in vitro* contra a forma epimastigota do *T. cruzi* de carbazóis obtidos a partir do 5-nitro-furaldeído ou 5-nitrotiofeno-carboxaldeído. O derivado **26** foi o mais ativo da série, exibindo 97% de inibição sobre o crescimento do parasita. Os compostos **11** e **12** que foram avaliados em dose mais baixa (5 μM) mostram níveis de inibição satisfatórios (51 e 62%, respectivamente).



	PIC (%)	Dose (μM)
X = O, 11, Y = butilamino	51	5
12, Y = hexilamino	62	5
13, Y = 2-metóxi-etilamino	50	10
14, Y = morfolina-4-il	2	10
15, Y = 2-fenil-etilamino	16	10
16, Y = 2-(3,4-dimetóxi-fenil) etilamino	23	10
X = S, 17, Y = butilamino	3	10
18, Y = hexilamino	4	10
19, Y = 2-metóxi-etilamino	0	10
20, Y = morfolina-4-il	0	10
21, Y = 2-fenil-etilamino	3	10
22, Y = 2-(3,4-dimetóxi-fenil) etilamino	0	10



	PIC (%)	Dose (μM)
X = O, 23, Y = 3-dimetilamino	6	25
24, Y = 3-dietilamino	1	10
25, Y = piperidina-1-il	27	25
26, Y = fenilamino	97	25
X = S, 27, Y = 3-dimetilamino	6	25
28, Y = 3-dietilamino	NR	NR
29, Y = piperidina-1-il	33	25

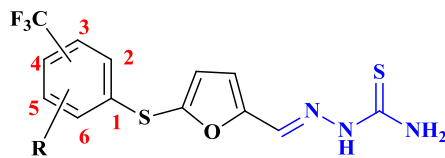
Nifurtimox (2)
PIC (%) = 67
Dose (μM) = 5

Figura 8. Estrutura dos derivados 5-nitrofurano (**11-29**) e sua atividade *in vitro* contra a forma epimastigota do *T. cruzi*.

PIC = Porcentagem de inibição do crescimento

Tiossemicarbazonas derivadas do 5-[(trifluormetil)feniltio]-2-furaldeído contendo substituintes retiradores de elétrons no anel aromático (CF₃ e NO₂) (Figura 9) apresentaram atividade similar ao BZD e ao nifurtimox. O derivado **33** foi o mais promissor, apresentando LC₅₀ igual a 3,2 e 3,4 μg/mL, de modo respectivo. Os dados sugerem que o grupo nitro (NO₂) é

importante para a expressão da atividade atribuída aos compostos avaliados (MORENO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2014).



	<i>Punta lobos</i> LC ₅₀ (µg/mL)	<i>Querétaro</i> LC ₅₀ (µg/mL)
30. CF ₃ (C2), R = H (C3, C4, C5, C6)	11,4	14,0
31. CF ₃ (C3), R = H (C2, C4, C5, C6)	17,8	7,8
32. CF ₃ (C4), R = H (C2, C3, C5, C6)	8,3	29,5
33. CF ₃ (C4), R = NO ₂ (C2), R = H (C3, C5, C6)	3,2	3,4
34. CF ₃ (C4), R = F (C2, C3, C5, C6)	5,1	4,6
Nifurtimox (1)	4,0	6,5
BZD (2)	2,0	8,5

Figura 9. Tiossemicarbazonas derivadas do 5-[(trifluormetil)feniltio]-2-furaldeído avaliadas contra a doença de Chagas

Tio- e semicarbazonas possuem a capacidade de se complexar à diferentes metais. Complexos de rênio e rutênio de semicarbazonas foram preparados e avaliados quanto à habilidade de inibir o crescimento do *T. cruzi*. Os complexos contendo o rênio, **39** e **40**, apresentaram atividade similar ao nifurtimox e todos os complexos de rutênio (**41-44**) mostraram baixa atividade antichagásica quando comparados aos ligantes livres (**35-38** – Figura 10) (OTERO *et al.*, 2003; OTERO *et al.*, 2006).

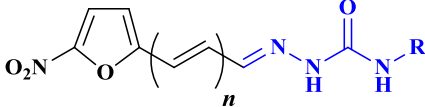
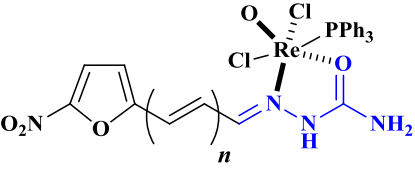
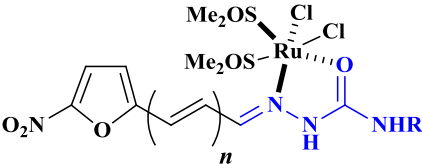
							
		PIC (%)		Dose (μM)			
R = H , 35 , $n = 0$		100	25			PIC (%)	Dose (μM)
		78	5				
36 , $n = 1$		100	25	Nifurtimox (2)		100	25
		50	5				
R = butil , 37 , $n = 0$		25	5				
	38 , $n = 1$	100	25				
		84	5				
							
		PIC (%)		Dose (μM)			
R = H , 39 , $n = 0$		92	25	R = H , 41 , $n = 0$		11	15
		65	5			0	5
40 , $n = 1$		89	25	42 , $n = 1$		71	25
		64	5			20	5
				R = butil , 43 , $n = 0$		0	25
						0	5
				44 , $n = 1$		63	15
						45	5

Figura 10. Complexos de rênio e de rutênio derivadas de 5-nitrofurilsemicarbazonas e sua avaliação anti-*T. cruzi* *in vitro* em meio axênico. PIC = Porcentagem de inibição do crescimento

A ação tripanocida de complexos de rutênio também foi reportada por outros grupos de pesquisa (DEMORA *et al.*, 2013; SARNIQUET *et al.*, 2014; FERNÁNDEZ *et al.*, 2015). Por exemplo, o complexo $[\text{Ru}_2(p\text{-cimeno})_2(\text{L}_4)_2]\text{Cl}_2$ (**46**) foi o mais ativo contra a forma tripomastigota ($\text{IC}_{50} = 8,68 \mu\text{M}$) do que a forma epimastigota ($\text{IC}_{50} = 86,10 \mu\text{M}$), enquanto o complexo **45**, contendo 1,3,5-triazo-7-fosfa-adamantano, mostrou baixa atividade comparada à tiosemicarbazona correspondente. A substância **47** foi a mais promissora, mostrando IC_{50} igual a $0,41 \mu\text{M}$, sendo o nifurtimox o fármaco de referência (Figura 11).

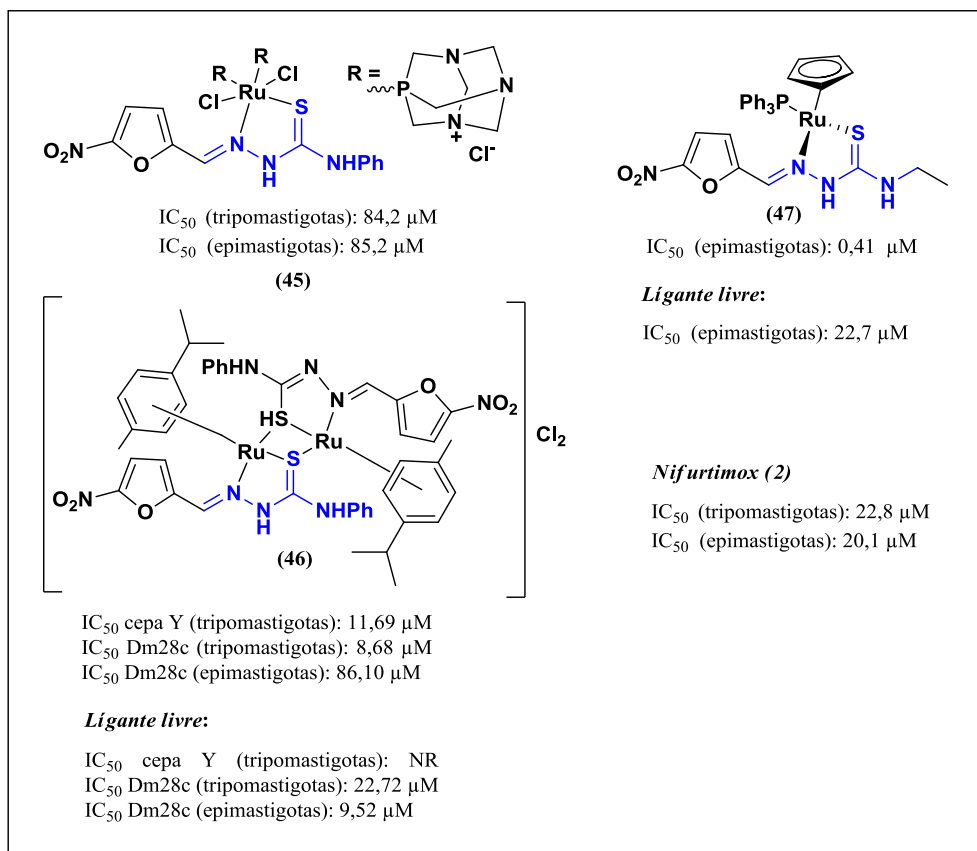


Figura 11. Complexos de rutênio derivados de 5-nitrofuriltiossemicarbazonas e suas atividades *in vitro* contra as formas epimastigota e tripomastigota do *T. cruzi*

Ensaio biológico foram conduzidos com derivados de tiossemicarbazona contendo os grupos ciretrenil (**48**) e ferrocenil (**49** e **50** – Figura 12) frente à cepa Dm28c-*T. cruzi*. Todos os derivados ciretrenil avaliados apresentaram valores de IC_{50} superiores a 100 μ M, enquanto os com o ferrocenil foram mais ativos, provavelmente devido às suas propriedades redox (ARANCIBIA *et al.*, 2014).

	MLn	R ₁	R ₂	<i>T. cruzi</i> (IC_{50} / μ M)
(48)	Re(CO) ₃	H ou CH ₃	H, CH ₃ , CH ₂ CH ₃ ou Ph	> 100
(49)	Fe (h ⁵ -C ₅ H ₅)	H	CH ₃	15,8
(50)	Fe (h ⁵ -C ₅ H ₅)	H	CH ₂ CH ₃	9,1

Figura 12. Derivados de tiossemicarbazonas contendo os grupos ciretrenil (**48**) e ferrocenil (**49** e **50**) e suas propriedades antichagásicas frente à cepa Dm28c

A Figura 13 reúne os resultados da avaliação antichagásica descrita na literatura para complexos de paládio, platina e antimônio associados ao grupo tiossemicarbazona. Os complexos de paládio(II) (**51-52**, **55-56**) e platina(II) (**53-54**, **57-58**) derivados de 1-indanonas, por exemplo, mostraram ação antiproliferativa contra as formas epimastigotas do *T. Cruzi* superior ao derivado sem o ligante. Neste estudo, a atividade biológica das substâncias foi feita frente à cepa Tulahúen 2 (SANTOS *et al.*, 2012). Tiossemicarbazonas complexadas ao antimônio (**62**, **64**, **66**) também mostraram-se promissoras com valores de IC₅₀ para as formas epimastigotas e tripomastigotas do parasita inferiores ao BZD, fármaco empregado como referência.

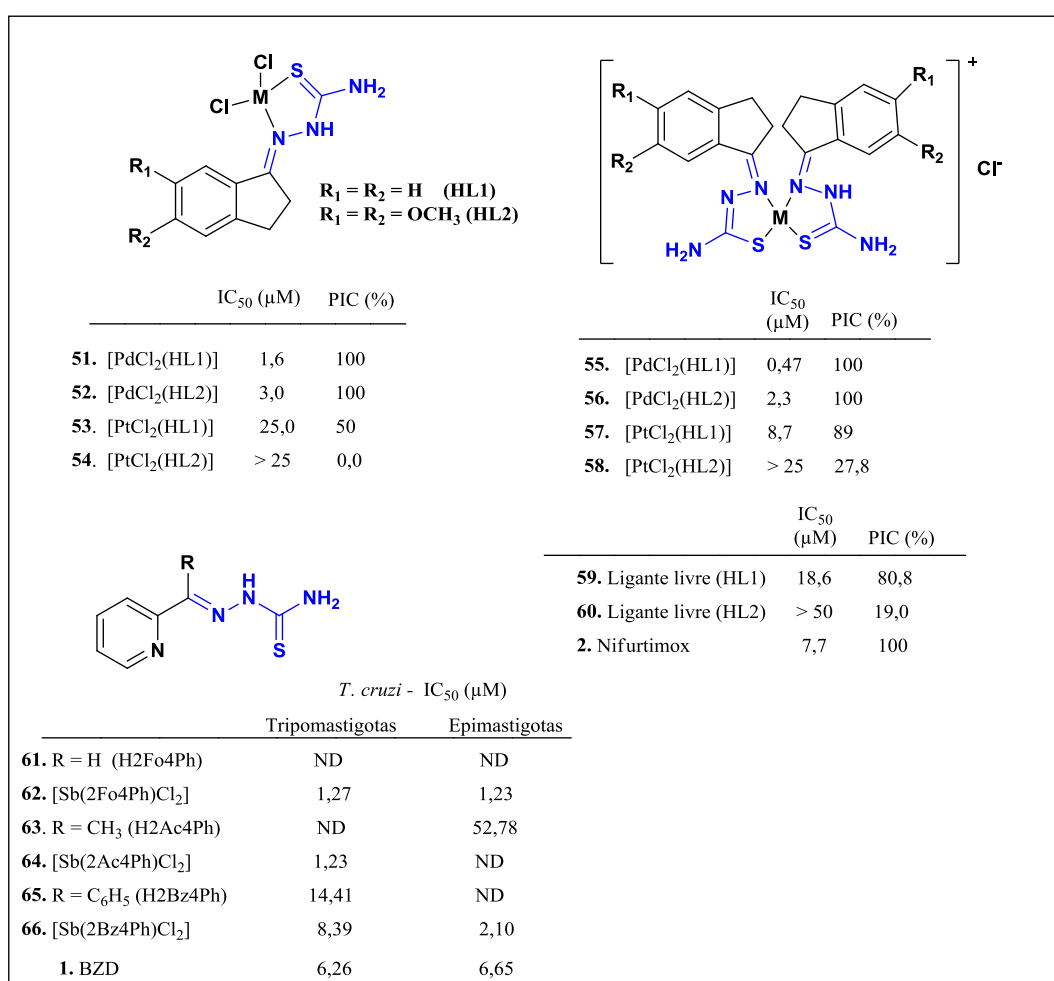


Figura 13. Tiossemicarbazonas complexadas ao paládio(II) (**51-52**, **55-56**), à platina(II) (**57-58**) e ao antimônio(III) (**62**, **64**, **66**) ativas contra o *T. cruzi*. PIC = Porcentagem de inibição do crescimento

Estudos indicam que tiossemicarbazonas inibem a cruzaiína. A cruzaiína é uma isoforma da cruzipaína, enzima envolvida na interação parasita-célula do hospedeiro e presente nas vesículas

lisossomais do *T. cruzi* (SOUTO-PADRON *et al.*, 1990; MEIRELES *et al.*, 1992; HARTH *et al.*, 1993).

Pesquisas conduzidas de modo independente por Du (DU *et al.*, 2002), Greenbaum (GREENBAUM *et al.*, 2004) e Fuji (FUJI *et al.*, 2005) revelaram que tiossemicarbazonas derivadas de acetofenonas (**67-70**) inibiram a cruzaiína com valores de IC₅₀ variando entre 0,019 a 0,1 µM, e que a presença do átomo de cloro no anel aromático forneceu um incremento da atividade biológica para esta série de compostos. O número de carbonos presentes em R¹ também influenciou na atividade, por exemplo, o composto **70** foi aproximadamente 2 vezes mais ativo do que **69** (Figura 14).

Outro exemplo de tiossemicarbazonas ativas frente à cruzaiína foi reportado por Blau e colaboradores (BLAU *et al.*, 2013). No entanto, não houve correlação entre a atividade tripanocida desses derivados (**71** e **72** – Figura 14) e a ação inibitória da cruzaiína.

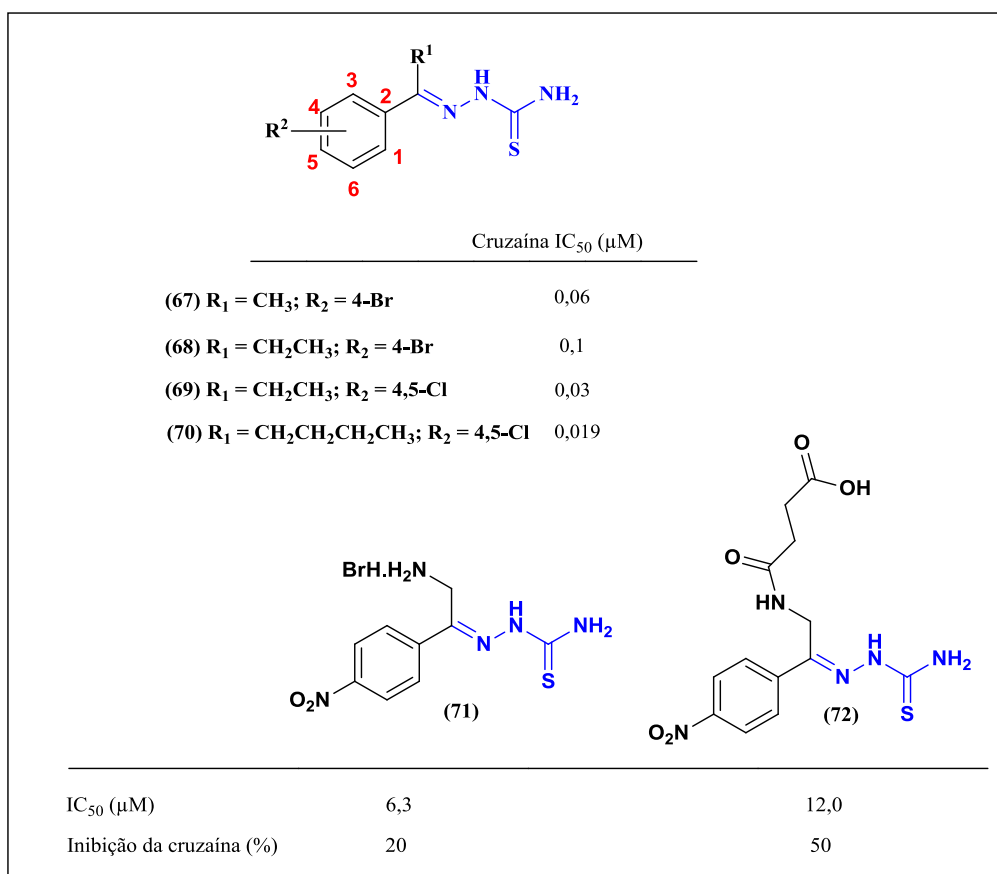
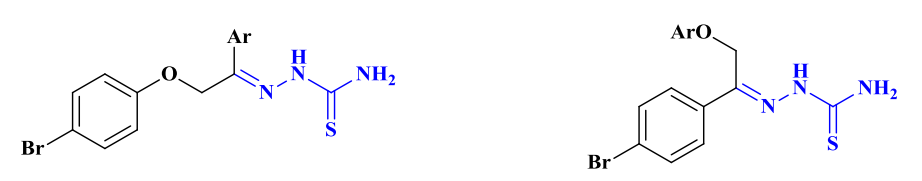


Figura 14. Tiossemicarbazonas avaliadas frente à enzima cruzaiína

Arilóxi- (**73-77**) e aril-tiossemicarbazonas (**78-82** – Figura 15) apresentaram ação tripanocida contra as formas amastigotas e tripomastigotas do *T. cruzi* e inibiram a cruzaina. O composto **82** foi o mais ativo do conjunto, inibindo a cruzaina em 99,1%.



Ar	<i>T. Cruzi</i> IC ₅₀ (mM)	Inibição da Cruzaina (%)	Ar	<i>T. Cruzi</i> IC ₅₀ (mM)	Inibição da Cruzaina (%)
(73) 4-CH ₃ Ph	7,9	70,9	(78) 4-CH ₂ CH ₃ Ph	6,4	75,1
(74) 4-OCH ₃ Ph	11,9	38,7	(79) 4-OCH ₃ Ph	8,9	75,8
(75) 4-FPh	10,7	53,1	(80) 4-FPh	15,7	84,0
(76) 4-ClPh	14,8	67,5	(81) 3-ClPh	25,1	51,8
(77) 4-PhPh	3,3	88,9	(82) 3,4-diClPh	8,3	99,1

Figura 15. Atividade anti-*T. cruzi* contra as formas infectantes (amastigota e tripomastigota) e ação inibitória frente à cruzaina de arilóxi- (**73-77**) e aril-tiossemicarbazonas (**78-82**)

Vale ressaltar que não há, atualmente, tio- ou semicarbazonas em fase de ensaios clínicos para o tratamento da DC. Como o desenvolvimento de fármacos é lento e de custo elevado, vários medicamentos utilizados em outras doenças estão avaliados contra o *T. Cruzi*. Esta técnica é chamada de reposicionamento de fármacos e tem como vantagem a redução de custos e velocidade de desenvolvimento, pois tratam-se de entidades químicas cuja segurança já foi estabelecida (FRANÇA *et al.*, 2014).

1.1.3.1.2. Isatinas

A isatina é um heterociclo pequeno e versátil que possui em sua estrutura um anel aromático passível de reações de substituição eletrofílica, principalmente nas posições 5 e 7, um grupo NH que pode sofrer reações de *N*-alquilação ou *N*-acilação e duas carbonilas de naturezas químicas distintas, uma amídica em C2 e outra cetônica em C3 (Figura 16) (SILVA, GARDEN e PINTO, 2001; SILVA, 2013).

A isatina pode ser encontrada na secreção de glândulas parótidas de sapos do gênero *Bufo* (GUO e CHEN, 1989) e em plantas do gênero *Isatis* nas espécies *Calanthe discolor* Lindl. e *Couropita guianensis* Aubl (ISCHIA, PALUMBO e PROTA, 1988; YOSHIKAWA *et al.*, 1998).

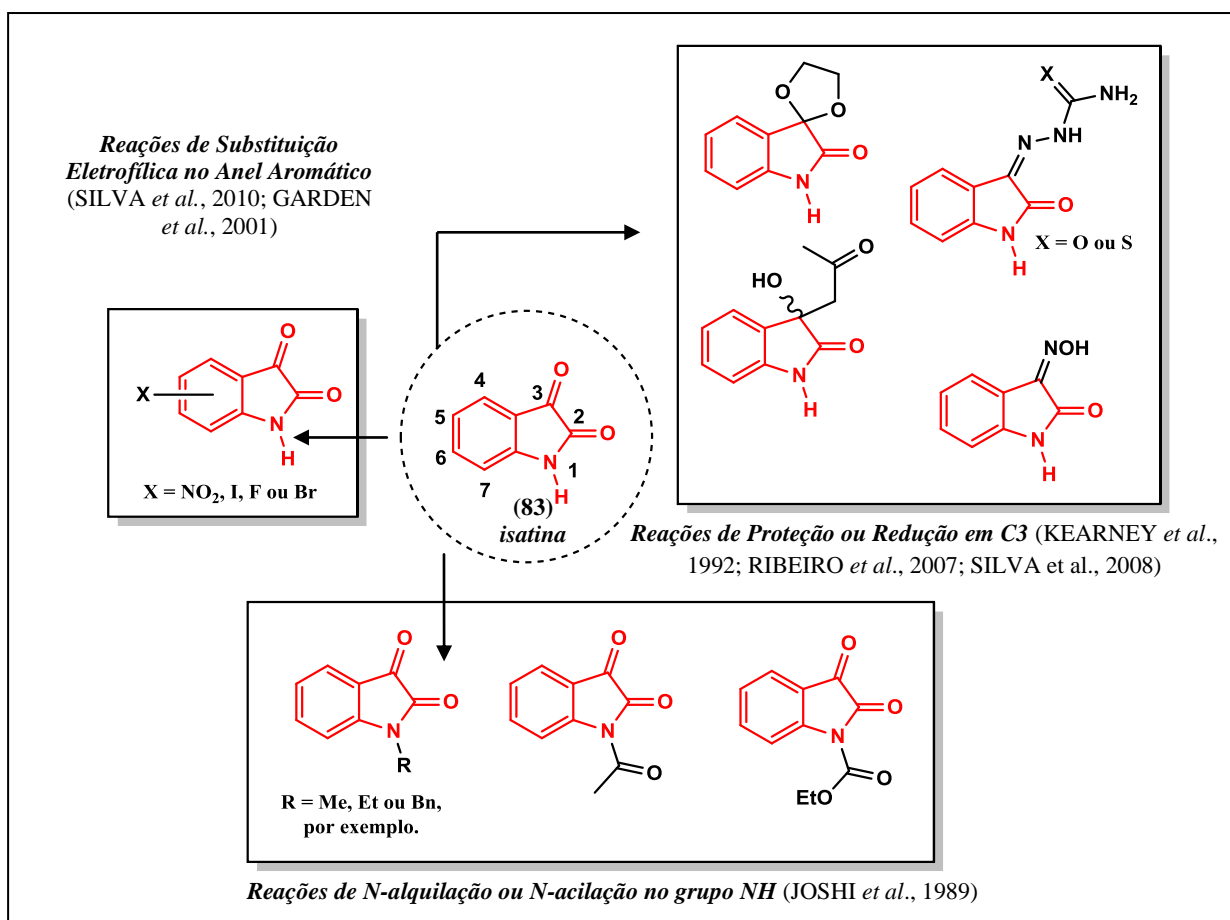


Figura 16. Estrutura da isatina (83) e alguns exemplos de suas transformações químicas

A isatina e seus derivados possuem uma variedade de propriedades biológicas, o que motivou a escrita de artigos de revisão que abordam as suas diferentes aplicações terapêuticas (VINE *et al.*, 2007 e 2009; PAL *et al.*, 2011; SINGH e DESTA, 2012). As isatinas apresentam atividades sedativo-hipnótico (ZAPATA-SUDO *et al.*, 2007; MONTES *et al.*, 2017), antinociceptivas (GIORNO *et al.*, 2016), anticâncer (SUN; SCHILLER, 2007; SILVA *et al.*, 2008), antimicrobiana (PANDEYA *et al.*, 1999), antibacteriana (SRIDHAR *et al.*, 2001), anticonvulsivante (KÜÇÜKGÜZEL *et al.*, 2004), antiviral (QUENELLE *et al.*, 2006), dentre outras.

Embora a isatina permita inúmeras transformações químicas em seu núcleo e possua diversas atividades biológicas, apenas um trabalho foi publicado, em 2003, por Chiyanzu e colaboradores, no qual a descreve como promissora no tratamento da DC por inibir a cruzaína (CHIYANZU *et al.*, 2003).

A Figura 17 mostra alguns dos resultados obtidos pelos autores. Os valores de IC₅₀ (μM) revelam que o substituinte presente no anel aromático da isatina não influenciou sobre a inibição (84-87). A inserção do grupo tiossemicarbazona (91-96) ofereceu um incremento na atividade biológica para este conjunto de moléculas, contudo o derivado *N*-alquilado 89 foi o mais ativo do conjunto, apresentando IC₅₀ igual a 2,8 μM.

Substâncias	X	R ₁	R ₂	IC ₅₀ (μM)
Isatina (83)	O	H	H	>>10
5-metil-isatina (84)	O	5-Me	H	>>10
5,7-dimetil-isatina (85)	O	5,7-Me	H	>>10
5-nitro-isatina (86)	O	5-NO ₂	H	>>10
5-flúor-isatina (87)	O	5-F	H	>>10
88	O	H		>>10
89	O	5-Me		2,8
90	O	5-F		>>10
91	N-NHC(S)NH ₂	H	H	8
92	N-NHC(S)NH ₂	5-Me	H	20-50
93	N-NHC(S)NH ₂	5,7-Me	H	16
94	N-NHC(S)NH ₂	5-NO ₂	H	30
95	N-NHC(S)NH ₂	5-F	H	30
96	N-NHC(S)NH ₂	5-Cl,7-Me	H	10,5

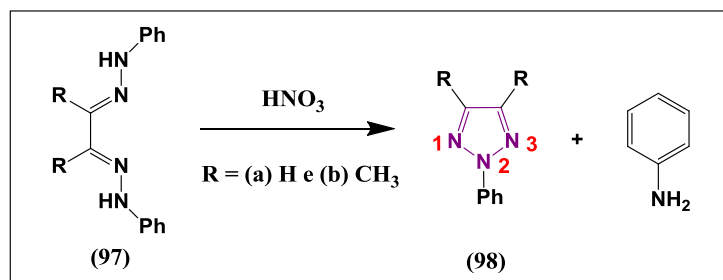
Figura 17. Isatinas com ação inibitória sobre a cruzafina

1.1.3.1.3. 1,2,3-Triazóis

De forma diferente das isatinas, os triazóis são de origem exclusivamente sintética e possuem um anel heteroaromático de 5 membros dentre os quais três são nitrogênicos, podendo ser classificados como vicinais (1,2,3-triazóis) ou como simétricos (1,2,4-triazóis). Apenas na década

de 1950, após a descoberta de suas diferentes aplicações, que vão desde o uso como explosivos até como fármacos, houve um crescente interesse quanto ao estudo desta classe de heterociclos (MELO *et al.*, 2006).

O 1,2,3-triazol foi inicialmente descrito por PECHMANN, em 1888, que tratou a *bis*-fenil-hidrazona **97** com ácido nítrico sob aquecimento para o preparo do triazol **98** (Esquema 2).



Esquema 2. Método de Pechmann para a formação de 1,2,3-triazóis

Dentre os procedimentos descritos na literatura para a obtenção de 1,2,3-triazóis se encontram as reações de ciclização via (2N + 1N) (ALBERT, 1969; ROMEIRO *et al.*, 1997; CUNHA *et al.*, 2003), adição de enolatos em azidas (DIMROTH; LETSCHE, 1902) e a ciclização de triazinas (GRASHEY *et al.*, 1972; BAINES *et al.*, 1981). O método mais empregado atualmente é via cicloadição 1,3-dipolar entre alquinos terminais e azidas orgânicas (MICHAEL, 1893; HUISGEN, 1963 e 1968) catalisada por cobre(I), conhecida como reação *click* (KOLB, FINN e SHARPLESS, 2001; ROSTOVTSSEV *et al.*, 2008; MEDAL e TØRNOE, 2008).

A atividade antiparasitária de 1,2,3-triazóis análogos ao BZD e dissubstituídos nas posições 1,4 ou 1,5 foi investigada por ANDRADE e colaboradores contra as formas amastigota e tripomastigota da cepa Tulahúen (ANDRADE *et al.*, 2015). Todas as substâncias avaliadas apresentaram significativa atividade anti-*T. cruzi* e a Figura 18 reúne alguns exemplos.

Os compostos mais ativos foram os **99**, **103** e **106** com valores de IC₅₀ correspondentes a 7, 40 e 50 µM, sendo **99** cinco vezes mais ativo que o BZD (IC₅₀-benznidazol = 34 µM). Os dados obtidos pelos autores indicam que a presença e a posição do grupo NO₂ no anel aromático contribuíram para a ação tripanocida dessas substâncias. O grupo NO₂ nas posições *meta* (**100**, IC₅₀ > 100 µM) e *orto* (**101**, IC₅₀ > 100 µM) foram pouco ativos comparados ao composto **99**, que possui grupo nitro na posição *para*.

A substituição do anel triazólico contendo o radical *p*-nitro fenil (**99**) pelo grupo *m*-metóxi-fenil (**103**) reduziu a atividade em aproximadamente sete vezes. Quando o grupo nitro foi substituído pelo amino (**102**) a diferença entre os IC₅₀ chegou à ordem de 40 vezes. Todos os triazóis 1,4-dissubstituídos foram mais ativos que os correspondentes 1,5-dissubstituídos, exceto o composto **105** que mostrou valor de IC₅₀ igual a 86 μM.

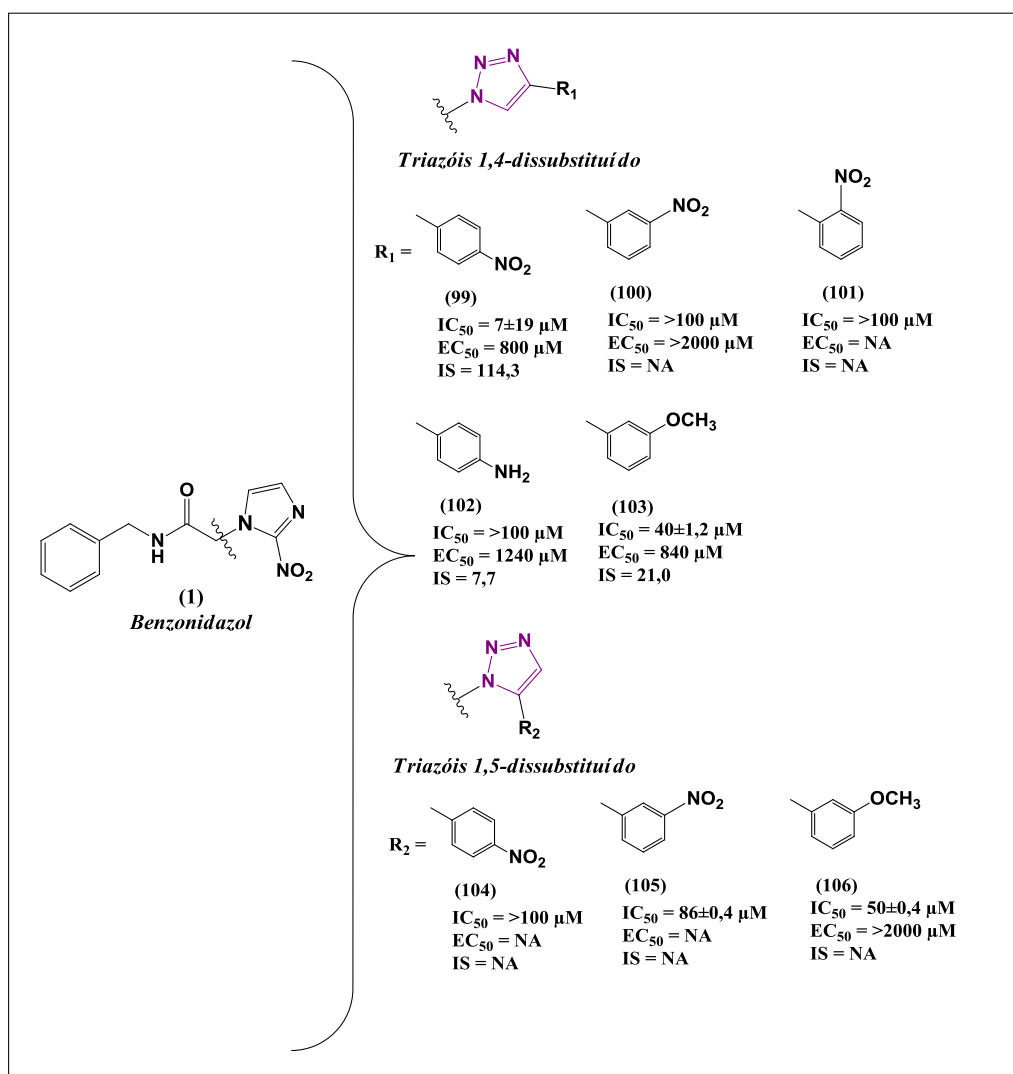


Figura 18. Triazóis 1,4- e 1,5-dissubstituídos análogos ao benzimidazol com atividade tripanocida contra as formas amastigota e tripomastigota do *T. cruzi*, cepa Tulahúen. IS = Índice de seletividade (IS = EC₅₀/IC₅₀; NA = Não avaliado)

Triazóis poliméricos 1,4-dissubstituídos (**107-111** – Figura 19) apresentaram ação inibitória sobre a enzima *trans*-sialidase em valores superiores a 90% (CAMPO *et al.*, 2015).

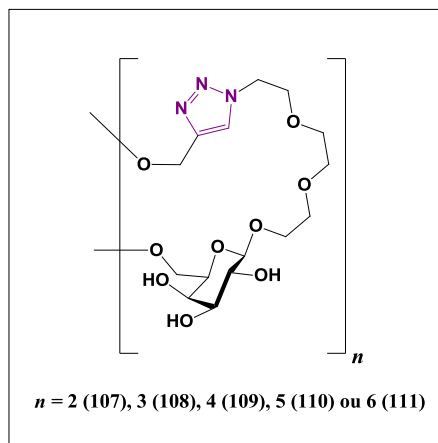


Figura 19. Unidade monomérica dos triazóis 1,4-dissubstituídos obtidos por CAMPO e colaboradores com ação inibitória sobre *trans*-sialidases (CAMPO *et al.*, 2012)

As enzimas *trans*-sialidases (TcTs) são um conjunto de 223 glicoproteínas presentes, principalmente, na forma tripomastigotas do *T. cruzi*. A sua função no processo de invasão e infecção deste micro-organismo não foi completamente esclarecida (dC-RUBIN e SCHENKMAN, 2012; BUTTER *et al.*, 2013). No entanto, estudos conduzidos por PEREIRA e colaboradores (PEREIRA *et al.*, 1996) mostraram que tripomastigotas que não expressavam estas enzimas eram menos invasivos à célula hospedeira que a população que as expressava.

Acredita-se que as TcTs catalisem a transferência de resíduos α 2,3 sialilados, como o ácido siálico presente em glicoproteínas e glicolípídeos na célula do hospedeiro, para glicoproteínas e glicolípídeos presentes nas células do parasita (SCHENKMAN *et al.*, 1994). O ácido siálico assim adicionado é capaz de proteger as formas tripomastigotas da lise mediada pela via alternativa do complemento (TOMLINSON *et al.*, 1994), além de promover a adesão, invasão (SCHENKMAN *et al.*, 1994) e “fuga” do micro-organismo para o citoplasma da célula hospedeira (HALL *et al.*, 1992).

Carvalho e colaboradores (CARVALHO *et al.*, 2010) verificaram, através do método fluorimétrico (NERES *et al.*, 2006), que triazóis 1,4-dissubstituídos presentes nos carbonos C-1 ou C-6, como nos compostos **112** e **113**, podem inibir a TcTs por meio de competição direta com outros substratos, tais como o ácido 2’-(4-metilumbeliferil)- α -D-N-acetilneuramínico (MuNANA) (**114** – Figura 20). Além disso, estudos de *docking* feitos por CAMPO, em 2012, revelaram que o núcleo 1,2,3-triazólico presente em um sistema neoglicoconjugado interage fortemente através de ligações do tipo π -stacking e de ligações de hidrogênio com aminoácidos, como a arginina, tirosina e o triptofano presentes no sítio ativo de TcTs (CAMPO *et al.*, 2012).

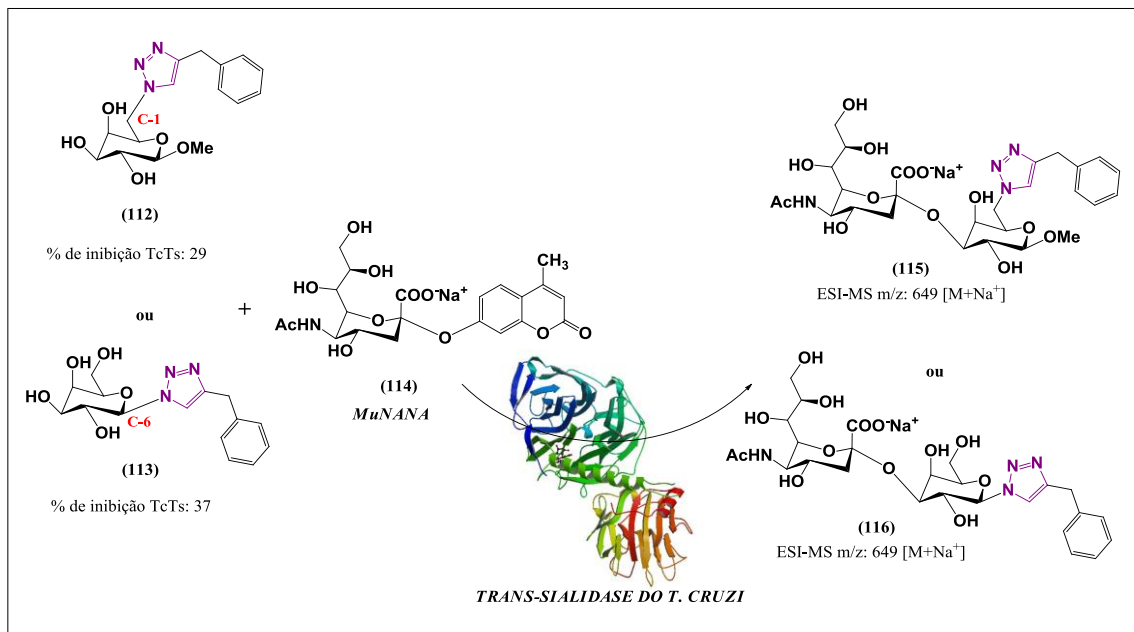


Figura 20. Reação de transferência do ácido siálico catalisada pela enzima *trans*-sialidase do *T. cruzi* (TcTs) entre o ácido 2'-(4-metilumbeliferil)- α -D-*N*-acetilneuramínico (**114**, MuNANA) e os derivados triazólicos **112** e **113**. Imagem cristalográfica da TcTS disponível no sítio <<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1ms9>>

Trabalhos independentes reportam a síntese e a avaliação anti-*T. cruzi* para os derivados do nor-lapachol (**117-125**) (JÚNIOR *et al.*, 2008) e nor- α -lapachol (**126-128**, Figura 21) (DIOGO *et al.*, 2013) contendo o núcleo 1,2,3-triazólico. O BZD e o cristal de violeta foram usados como moléculas de referência. O cristal de violeta ou violeta de Genciana, como também é denominado, vêm sendo empregado na quimioprevenção em bancos de sangue em regiões endêmicas (SOUZA, 1989).

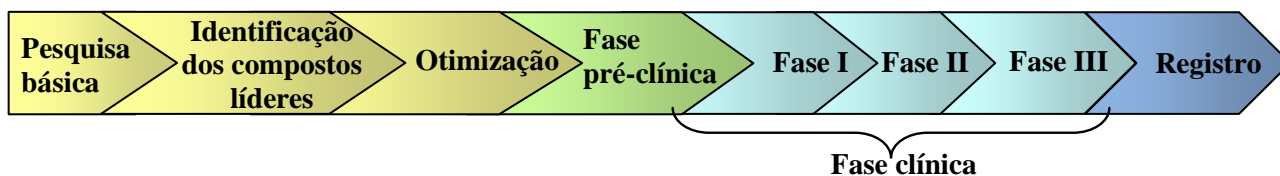
R =		IC ₅₀ (μM)	R =		IC ₅₀ (μM)
	(117)	256,7 ± 38,7		(122)	21,8 ± 3,1
	(118)	348,1 ± 44,2		(123)	20,8 ± 1,9
	(119)	151,9 ± 8,0		(124)	39,6 ± 4,0
	(120)	57,8 ± 5,6		(125)	8,2 ± 0,7
	(121)	17,3 ± 2,0			
	(126)	>2000		(129) Nor-lapachol	IC ₅₀ = 1281,0 ± 167,0 μM
	(127)	>4000		(130) Nor-alpha-lapachol	IC ₅₀ = 1281,0 ± 167,0 μM
	(128)	>4000		BZD (1)	IC ₅₀ = 103,6 ± 0,6 μM
				Cristal de Violeta	IC ₅₀ = 536,0 ± 3,0 μM

Figura 21. Derivados do nor-lapachol (**117-125**) e do nor- α -lapachol (**126-128**) promissores no combate à doença de Chagas

Os compostos **117** a **125** mostraram resultados mais promissores contra o *T. cruzi* do que os observados para os compostos **126** a **128**, para o BZD (IC₅₀ = 103,6 ± 0,6 μM) e para o cristal de violeta (IC₅₀ = 536,0 ± 3,0 μM). O comportamento redox desta classe de substâncias também foi averiguado por voltametria cíclica (DIOGO *et al.*, 2013), pois se acredita que estes derivados atuem por indução de espécies reativas do oxigênio (O₂, OH⁻, O₂²⁻, H₂O₂) (MATÉS e SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, 2000; SILVA, FERREIRA e SOUZA, 2003).

1.2. Etapas para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos contra as DTNs

As DTNs como a DC acomete, principalmente, populações de baixa renda, e o caminho que um candidato a fármaco deve percorrer é longo e custoso. Estes fatores desestimulam a pesquisa e o desenvolvimento de novos protótipos para o combate da DC. O Esquema 3 resume as principais etapas para o desenvolvimento e aprovação de novos fármacos.



Esquema 3. Etapas gerais para o planejamento e desenvolvimento de um fármaco

O registro do novo medicamento deve ser concedido pelos órgãos reguladores de saúde pertinentes a cada País (Tabela 2). Países do continente africano e a Índia (MAITI e RAGHAVENDRA, 2007), por exemplo, não possuem órgãos reguladores de vigilância rigorosos que estabeleçam normas para o desenvolvimento de novos candidatos a medicamentos.

Tabela 2. Órgãos reguladores de vigilância correspondente a cada País

País	Órgão regulador de vigilância de saúde
Brasil	Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) ⁷
Estados Unidos	<i>Food and Drug Administration (FDA)</i> ⁸
Austrália	<i>Departamento of Health Therapeutic Goods Administration (TGA)</i> ⁹
Alemanha	<i>Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfARM)</i> ¹⁰
França	<i>Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM)</i> ¹¹
Hungria	<i>Országos Gyógyszerészeti és Élelmezés-egészségügyi Intézet (OGYÉI)</i> ¹²
União Europeia	<i>European Medicines Agency (EMA)</i> ¹³

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define um estudo clínico como qualquer investigação em seres humanos objetivando descobrir ou verificar os efeitos farmacodinâmicos, farmacológicos, clínicos e/ou outros efeitos de produto(s) em investigação, com o intuito de averiguar aspectos como segurança e/ou eficácia. As diferentes fases dos ensaios ou estudos clínicos encontram-se descritas na Tabela 3.

⁷ <http://www.anvisa.gov.br/>

⁸ <http://www.fda.gov/>

⁹ <http://www.tga.gov.au/>

¹⁰ http://www.bfarm.de/cln_042/DE/Home/startseite__node.html__nnn=true

¹¹ <http://ansm.sante.fr/Produits-de-sante/Medicaments>

¹² <https://www.ogyei.gov.hu/nyitoldal/>

¹³ https://europa.eu/european-union/about-eu/agencies/ema_pt

Tabela 3. Fases de um estudo clínico

Fase	Característica	Observações
Fase pré-clínica	Aplicação da nova substância em animais, após identificada em experimentações <i>in vitro</i> como tendo potencial terapêutico	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Obtêm-se as informações preliminares sobre atividade farmacológica e segurança; ✓ Mais de 90% das moléculas avaliadas nesta fase são eliminadas por não demonstrarem atividade farmacológica e terapêutica e/ou serem demasiadamente tóxicas em humanos; ✓ Substâncias que possuem a atividade farmacológica específica e perfil de toxicidade aceitável passam à fase seguinte
Fase I	Avaliação inicial em humanos saudáveis (o número de voluntários compreende a 20-100)	<p>Avaliam-se características como:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Segurança ✓ Tolerabilidade ✓ Farmacodinâmica ✓ Farmacocinética
Fase II (Estudo Terapêutico Piloto)	Condução de estudos preliminares controlados em pacientes, para mostrar a efetividade potencial da medicação (100 a 200)	<p>Determinam-se características como:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Indicação da eficácia ✓ Confirmação da segurança ✓ Biodisponibilidade e bioequivalência de diferentes formulações
Fase III (Estudo Ampliado)	Realização de estudos internacionais, de larga escala, em múltiplos centros, com diferentes populações de pacientes para demonstrar eficácia e segurança (população mínima de aproximadamente 800 pessoas)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Conhecimento do produto em doenças de expansão ✓ Estabelecimento do perfil terapêutico: <ul style="list-style-type: none"> ❖ Indicações ❖ Dose e via de administração ❖ Contra-indicações ❖ Efeitos colaterais ❖ Medidas de precaução ✓ Demonstração de vantagem terapêutica (ex: comparação com competidores) ✓ Farmacoeconomia e qualidade de vida ✓ Verifica-se a estratégia de publicação e comunicação (exemplo: congressos e workshops) ✓ Determinam-se o risco e o benefício a curto e longo prazos das formulações do princípio ativo ✓ Estima-se de maneira global (geral) o valor terapêutico relativo

Estudos clínicos nas fases I, II e III são conduzidos antes da comercialização do medicamento, enquanto estudos na Fase IV são conduzidos depois que o medicamento recebeu aprovação para comercialização.

Na fase IV são realizadas pesquisas embasadas nas características com que foi autorizado o medicamento e/ou especialidade medicinal. Normalmente, nesta etapa são conduzidos estudos de vigilância pós-comercialização com o intuito de estabelecer o valor terapêutico, o surgimento de novas reações adversas e/ou confirmação da frequência de surgimento das reações adversas já conhecidas e as estratégias de tratamento. Esta fase deve seguir as mesmas normas éticas e científicas aplicadas às pesquisas de fases anteriores.¹⁴

Há uma lacuna de inovação tecnológica no que se refere ao desenvolvimento de novos fármacos para as doenças consideradas negligenciadas (Esquema 4). Contudo, visando minimizar os impactos econômicos e sociais oriundos das DTNs, a Organização Mundial da Saúde (OMS) fundou, em 1975, o Programa Especial para Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais (*Tropical Diseases, Special Programme for Research and Training, TDR*)¹⁵.

De acordo com a OMS, um fármaco com ação anti-*T. cruzi* deve atender os seguintes requisitos¹⁶:

- ✓ Cura na fase aguda e crônica da doença;
- ✓ Ser efetiva em uma única ou poucas doses;
- ✓ Ser acessível aos pacientes, ou seja, de baixo custo;
- ✓ Não possuir efeitos colaterais e/ou teratogênicos;
- ✓ Não precisar de internação para o tratamento e;
- ✓ Não induzir resistência.

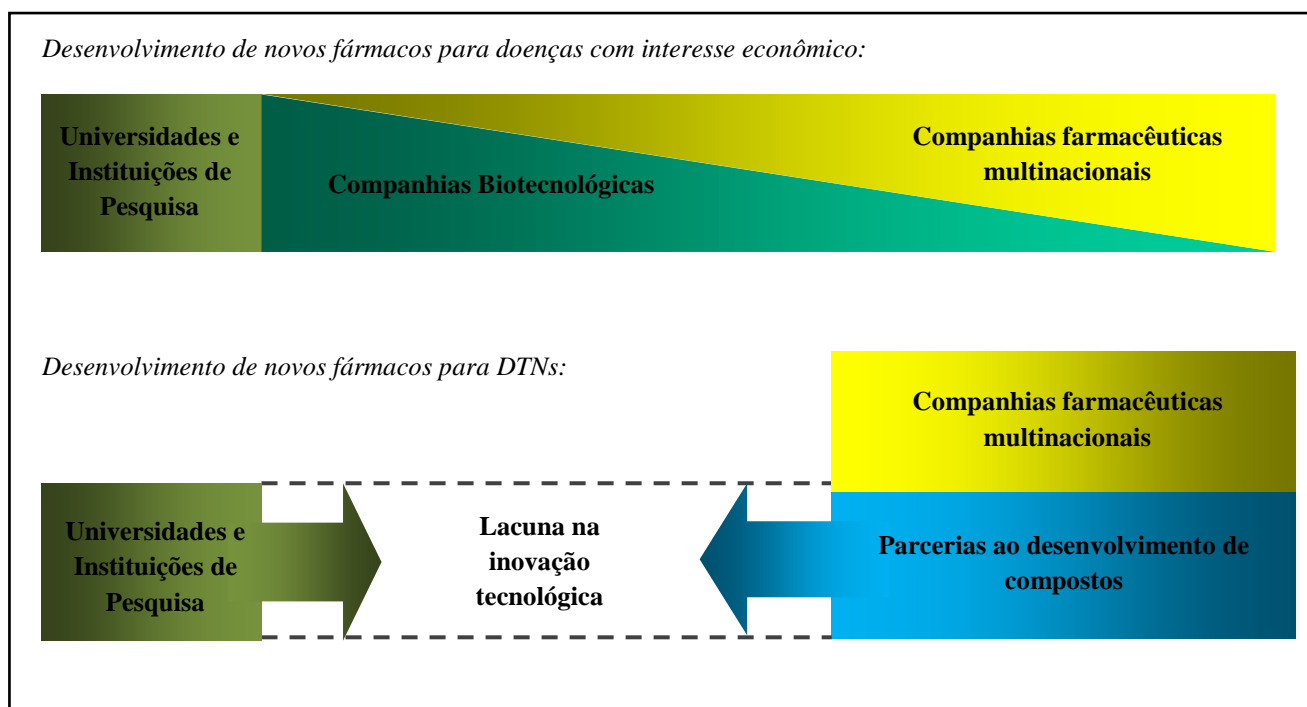
De modo que o caminho percorrido pelo TDR para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos para DTNs também envolve as etapas de triagem de compostos, de identificação de alvos, de farmacocinética, de metabolismo de fármacos e de química medicinal. No

¹⁴ <http://www.anvisa.gov.br/>

¹⁵ <http://www.who.int/tdr/en/>

¹⁶ WHO *Control of Chagas disease: second report of the WHO expert committee*; Geneve, 2002; p. v905.

entanto, somente em 2015, o estudo clínico randomizado para o BZD foi realizado (MORILO *et al.*, 2015).



Esquema 4. Diagrama comparativo entre os desenvolvimentos de fármacos para doenças com interesse econômico e os voltados para as DTNs. (Baseado em LOWELL e EARL (2009))

2. OBJETIVOS

O objetivo desta tese consistiu no preparo e avaliação das propriedades anti-*T. cruzi* de novos derivados da isatina contendo os núcleos 1*H*-1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos, tiossemicarbazona e semicarbazona.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os derivados da 5'-(4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona);
- Estudar a hidrólise dos cetais dioxolanos da isatina empregando ácido *p*-toluenossulfônico e os *p*-sulfóxido-calixarenos [4] e [6] como catalisadores;

- Preparar tio- e semicarbazonas a partir dos 5'-(4-alkuil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona;
- Sintetizar o 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído através da reação de acoplamento Suzuki-Miyaura;
- Preparar as carbazonas derivadas do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído;
- Avaliar a atividade antichagásica de todas as substâncias sintetizadas;
- Determinar o comportamento redox das carbazonas investigadas contra o *T. cruzi*;
- Empregar a modelagem molecular para a identificação das propriedades estruturais e eletrônicas dos derivados tio- e semicarbazonas que estejam relacionados com a atividade antichagásica.

3. JUSTIFICATIVA

A DC não possui cura nem tratamento efetivo, além de ser a doença negligenciada que mais ocasiona transtornos socioeconômicos.

Poucos são os grupos que se dedicam à pesquisa visando o combate à DC. Segundo dados do Diretório de Grupos de Pesquisa do Brasil do CNPq existem 130 grupos desenvolvendo pesquisa sobre fármacos contra a DC. Estes grupos encontram-se distribuídos da seguinte forma: 57% (74) na região Sudeste, 23% (30) na região Nordeste, 10% (13) na região Centro-Oeste, 7,7% (10) na região Sul e 2,3% (3) na região Norte (Figura 22).

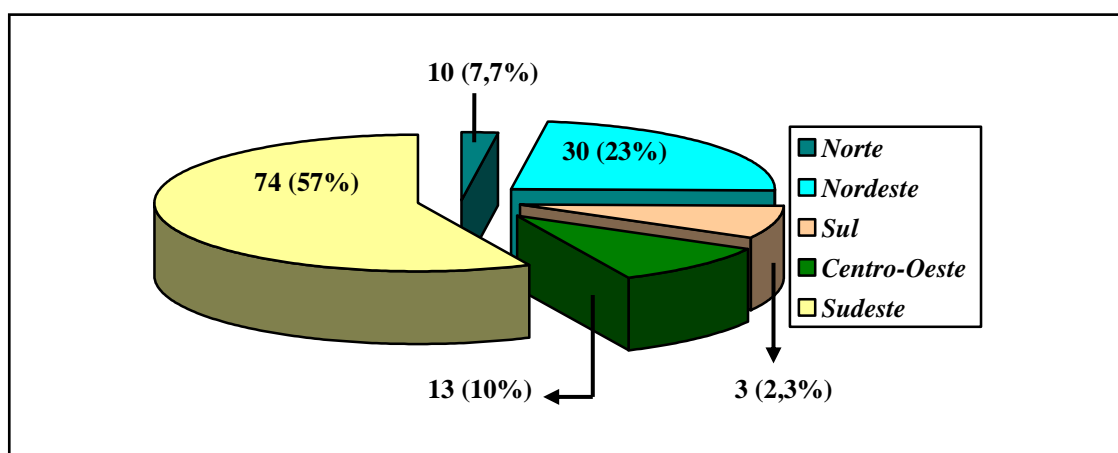


Figura 22. Gráfico que mostra a distribuição dos grupos de pesquisa brasileiros dedicados ao combate à DC

Deste conjunto, apenas 20% (26) são grupos de Química Orgânica ou de Química Medicinal que visam a obtenção de substâncias bioativas contra a DC ou contra o seu agente etiológico, o *T. cruzi*.

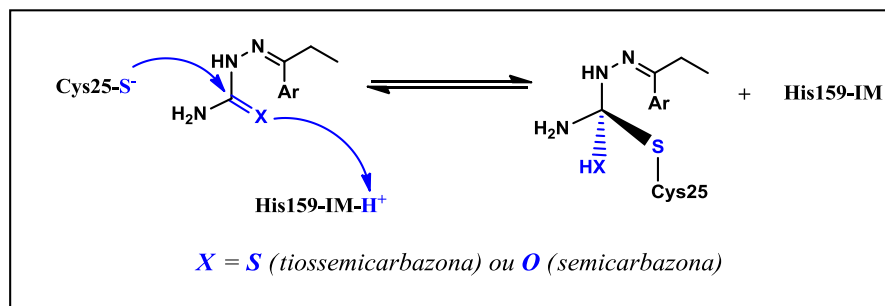
Além disso, é sabido que os grupos tio- e semicarbazona atuam sobre importantes enzimas do *T. cruzi*, como a cruzaina, e embora os estudos de genômica e de metabolômica para este parasita não estejam completamente elucidados, descobriu-se que a cruzaina é um dos alvos biológicos mais investigados para o desenvolvimento de novos protótipos contra a DC por ser expressa em todo o ciclo de vida do *T. cruzi* (BRAGA *et al.*, 2017; MÉNDEZ-LUCIO, *et al.* 2012; BOTERO *et al.*, 2017; MARTÍN, APT e ZULANTAY, 2017; CERQUEIRA *et al.*, 2017). Nos amastigotas intracelulares, encontra-se presente na superfície das células; nas formas epimastigotas, localiza-se nos reservossomas, onde é altamente expressada. Já nas formas tripomastigotas está presente no bolso flagelar (GILLMOR, CRAIK e FLETTERICK, 1997; GEA *et al.*, 2006).

A cruzaina possui uma estrutura tridimensional composta por dois domínios e quatro subsítios (S1, S2, S3 e S1'). Cada subsítio possui características moleculares particulares, mas sabe-se que o S2 é o responsável pela especificidade da enzima por ser o menos exposto ao solvente (SCHESCHTER e BERGER, 1967; HUANG, BRINEN e ELLMAN, 2003; TURK, 2006).

Os dois domínios da cruzaina são constituídos basicamente por hélices do tipo α e o outro formado por extensas folhas do tipo β antiparalelas. Na interface destes domínios, encontra-se o sítio ativo da enzima que, por sua vez, possui três resíduos de aminoácidos; a cisteína (Cys25), a histidina (His159) e a asparagina (Asn175) (CAZZULO *et al.*, 1990; DEL NERY *et al.*, 1997).

O conhecimento da estrutura cristalográfica da cruzaina e de sua tríade catalítica permitiu a compreensão acerca das interações químicas envolvidas entre os grupos tio- e semicarbazona e o receptor enzimático.

Du e colaboradores (DU *et al.*, 2002) planejaram uma série de inibidores da cruzaina contendo os grupos tio- e semicarbazona e sugeriram que o S⁻ do resíduo Cys25 do sítio catalítico desta enzima ataca o carbono da tionila (X=S) em tiosemicarbazonas ou da carbonila (X=O) em semicarbazonas para, em seguida, ocorrer a transferência do próton presente no resíduo His159 ao átomo de enxofre de C=S em tiosemicarbazonas ou para o átomo de oxigênio de C=O em semicarbazonas formando, desta maneira, uma ligação covalente irreversível (Esquema 5).



Esquema 5. Ataque nucleofílico do resíduo Cys25 sobre a carbotionila da tiossemicarbazona (C=S) ou da carbonila da semicarbazona (C=O) seguida da transferência de um próton do resíduo His159 ao átomo de enxofre do grupo C=S ou C=O (Baseado em Du *et al.*, 2002).

A proposta do mecanismo biológico de tio- e semicarbazonas sobre a cruzaina estabelecida por Du e colaboradores foi reforçada por Trossini e colaboradores (TROSSINI *et al.*, 2010), quando em estudos de investigação da ação inibitória da cruzaina para o hidroximetilnitrofural (**131**) e o nitrofural (**132**), observaram que havia uma relação entre a atividade (IC_{50}) com os valores de densidade eletrônica observados na região do carbono da carbonila (C=O) do grupo semicarbazona para estas substâncias (Figura 23).

A Figura 23 mostra que a presença de um grupo $-CH_2OH$ tornou a carbonila da semicarbazona **132** mais eletrofílica do que a carbonila da semicarbazona **131**, ou seja, mais susceptível ao ataque nucleofílico do resíduo Cys25. Como consequência deste efeito, o composto **132** ($IC_{50} = 10,55 \pm 0,8 \mu M$) foi mais ativo do que **131** ($IC_{50} = 22,83 \pm 1,2 \mu M$).

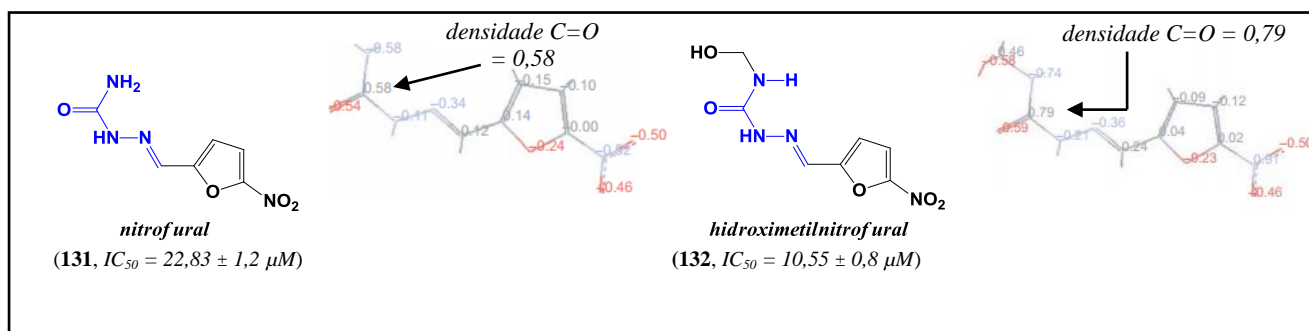


Figura 23. Relação observada por Trossini e colaboradores entre a ação inibitória sobre a cruzaina do nitrofural (**131**) e do hidroxinitrofural (**132**) e os seus respectivos valores de densidade eletrônica (Baseado em TROSSINI *et al.*, 2010).

Em 2003, Chung e colaboradores já haviam relatado que o derivado hidroximetilado do nitrofural (**132**), além de possuir maior atividade tripanomicida, foi quatro vezes menos tóxico em comparação ao nitrofural (**131** – Figura 23) nos ensaios de mutagenicidade (CHUNG *et al.*, 2003).

Estudos conduzidos por Du e colaboradores também apontam que a ligação imina do grupo tiossemicarbazona é fundamental para a expressão da atividade antichagásica observada para estas moléculas, por exemplo, o derivado **133** ($IC_{50} = 0,1 \mu M$) foi 100 vezes mais ativo que o **134** ($IC_{50} = 10 \mu M$ – Figura 24) (DU *et al.*, 2002).

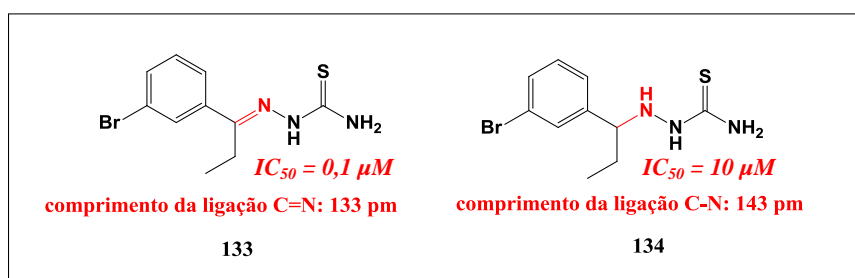


Figura 24. Diferença entre as atividades observadas para os derivados **133** e **134**, mostrando a importância da ligação C=N para a atividade de tiossemicarbazonas

Em adição, o núcleo 1,2,3-triazólico 1,4- ou 1,5-dissubstituídos são bioisómeros do anel imidazólico presente na estrutura química do BZD (**1**), fármaco empregado no tratamento da DC (Figura 25).

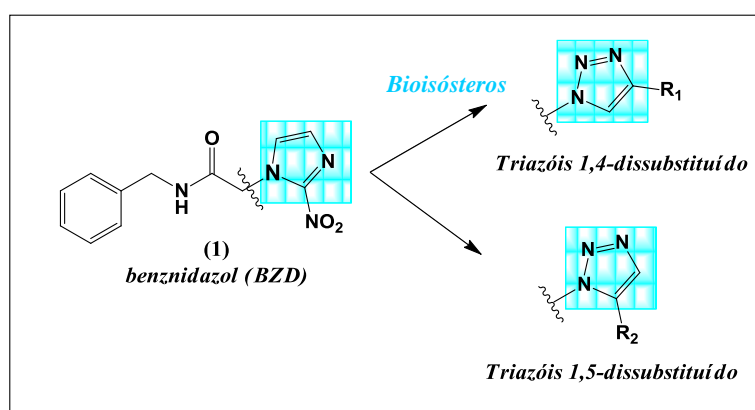


Figura 25. Esqueleto químico do anel 1,2,3-triazólico substituído nas posições 1,4 ou 1,5, bioisómeros do anel imidazólico do BZD (**1**)

Como mencionado na introdução deste trabalho, o 1,2,3-triazol é o grupo farmacofórico em substâncias com ação antiparasitária contra as formas amastigota e tripomastigota da cepa Tulahúen do *T. cruzi* (vide item 1.1.3.1.3) (ANDRADE *et al.*, 2015).

O bioisosterismo é uma ferramenta muito empregada em química medicinal quando se deseja inovar na terapêutica de uma determinada doença. Dois compostos são bioisómeros quando apresentam características topológicas, distribuição eletrônica e propriedades físico-químicas semelhantes entre si e, ainda, apresentam características biológicas análogas, tais como agonista ou antagonista, em relação ao seu protótipo (LIMA e BARREIRO, 2005; BARREIRO e FRAGA, 2009).

Um bioisómero pode apresentar importantes melhorias em relação à farmacocinética e à farmacodinâmica do fármaco de origem, como aumentar os pontos de interação entre o fármaco e o receptor, alterar a seletividade, reduzir a toxicidade e evitar os processos de biotransformação (LIMA e BARREIRO, 2005; WAGENER e LOMMERSE, 2006; BROWN *et al.*, 2012).

Brak e colaboradores relataram que o derivado 1,2,3-triazólico-1,4-dissubstituído (**136**) apresentou potência, lipofilicidade, biodisponibilidade e parâmetros farmacocinéticos melhores no ensaio *in vivo* do que o peptídeo K777 (**135** – Figura 26) e que camundongos infectados com o *T. cruzi*, após 24 dias de tratamento com 20 mg/kg do composto **136**, tiveram 2/4 de sua população curadas (BRAK *et al.*, 2010).

O peptídeo K777 é um inibidor irreversível de diversas cisteíno-proteases, dentre as quais a cruzaina. A administração de 50 mg/kg durante 14 dias deste composto em cães portadores da DC reduziu a parasitemia em níveis inferiores aos detectáveis em hematocitometria, além de proteger os animais contra danos no tecido cardíaco (BARR *et al.*, 2005).

Brak e colaboradores verificaram, através de estudos cristalográficos, que o hidrogênio da posição 5 do anel 1,2,3-triazólico realiza importantes interações com a serina (Ser61) e a glutamina (Glu205), aminoácidos presentes no subsítio 2 da cruzaina (BRAK *et al.*, 2010). Estes resultados corroboram os estudos de Andrade e colaboradores, que realizaram ensaios *in vitro*, e observaram que os 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos, em sua maioria, são mais ativos contra o *T. cruzi* do que os 1,2,3-triazóis-1,5-dissubstituídos (ANDRADE *et al.*, 2015).

O composto **136** foi tão promissor no combate à DC que um grupo de pesquisadores conduzidos por Neitz sintetizou um conjunto de 19 derivados com pequenas alterações na estrutura química desta substância com o intuito de melhorar as suas propriedades farmacocinéticas. A molécula **137** foi a mais ativa da série (Figura 26) (NEITZ *et al.*, 2015).

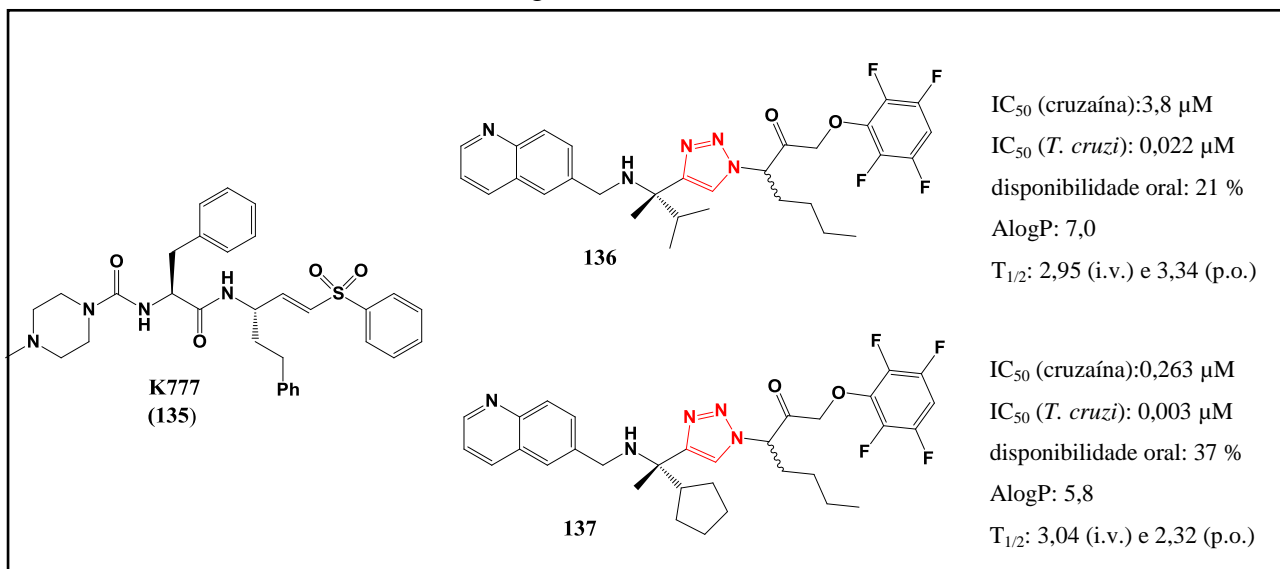


Figura 26. Estrutura química do peptídeo K777 (**135**) e dos derivados 1,2,3-triazólicos-1,4-dissubstituídos (**136** e **137**), compostos promissores contra a DC

Em 2003, a ação inibitória sobre a cruzaína de uma série de isatinas foi investigada e reportada por Chiyanzu e colaboradores (CHIYANZU *et al.*, 2003). Neste estudo, os autores mostram que isatinas apresentaram pouca atividade para a referida enzima, sendo o valor de IC_{50} (cruzaína) da isatina mais ativa igual a 2,8 μ M (*vide item 1.1.3.1.2*).

Entretanto, alguns autores reportam que o subsítio S2 da cruzaína possui elevada afinidade com grupos hidrofóbicos, básicos ou aromáticos, sugerindo que a presença do núcleo indólico da isatina nos derivados planejados neste trabalho ofereça um incremento na atividade anti-*T. cruzi*.

Ademais, a substituição do núcleo 1,2,3-triazólico pelo anel aromático oriundo do acoplamento de Suzuki-Miyaura também pode influenciar a atividade sobre o *T. cruzi* nesta classe de substâncias.

Neste trabalho, também intencionou-se a investigação do comportamento redox das substâncias planejadas, através de ensaios eletroquímicos, visto que alguns compostos com ação

antichagásica, como o benznidazol e o nifurtimox, produzem espécies reativas de oxigênio (O_2 , OH , O_2^{2-} , H_2O_2) inibindo desta forma a TcNTR, enzima vital ao *T. cruzi* (MORENO *et al.*, 1982; TEMPERTON *et al.*, 1998; MAYA *et al.*, 2003 e 2007).

Estes dados, aliados à vasta experiência do nosso grupo de pesquisa em transformações químicas na isatina, justificam o estudo e a obtenção da ação antichagásica de novas tio- e semicarbazonas que contêm o núcleo da isatina e o 1*H*-1,2,3-triazol-1,4-dissubstituídos, assim como a atividade de todos os intermediários envolvidos na obtenção desses grupos.

A Figura 27 reúne as estruturas químicas das substâncias descritas ao longo desta Tese.

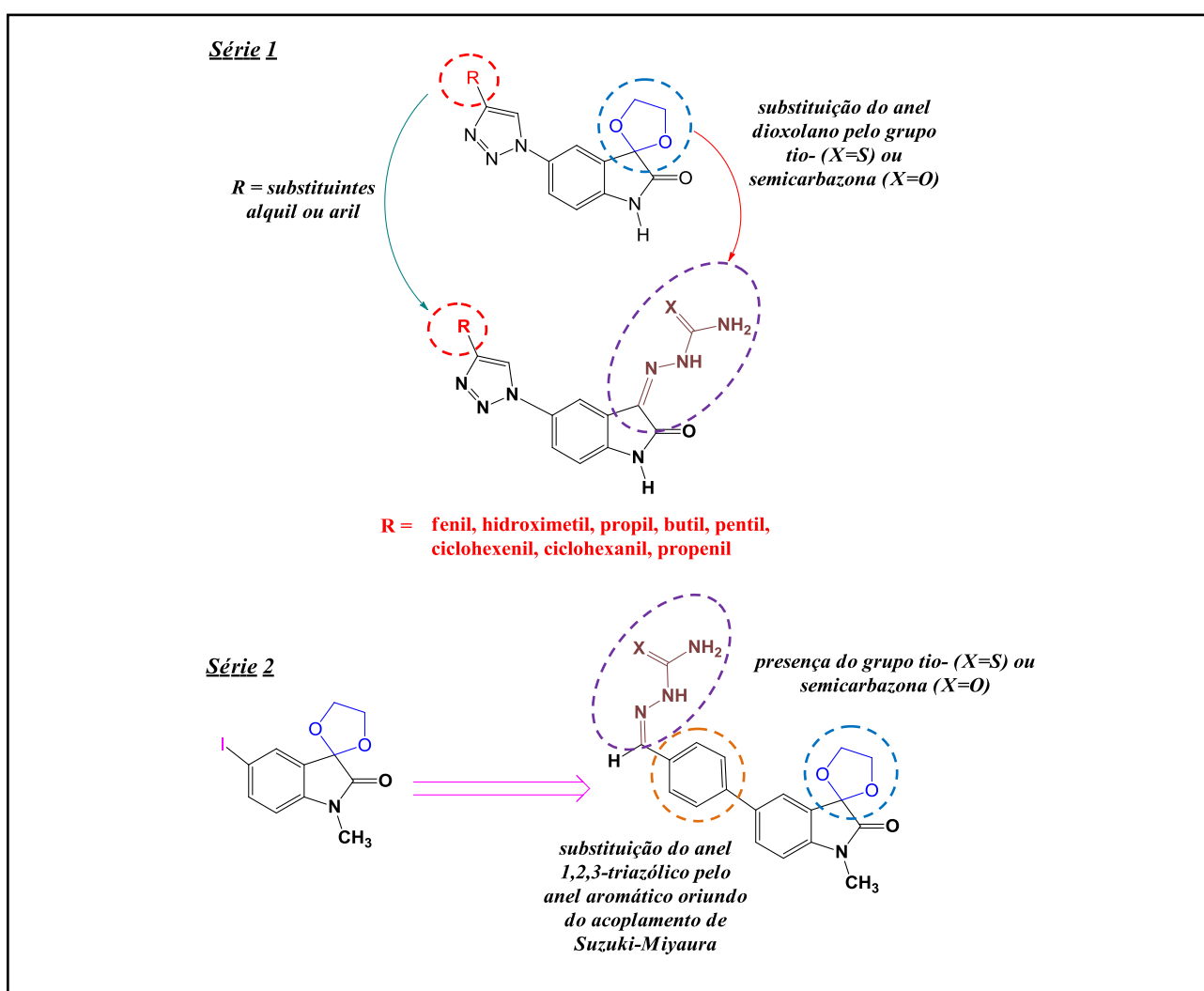


Figura 27. Estrutura química geral das substâncias planejadas na presente Tese

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

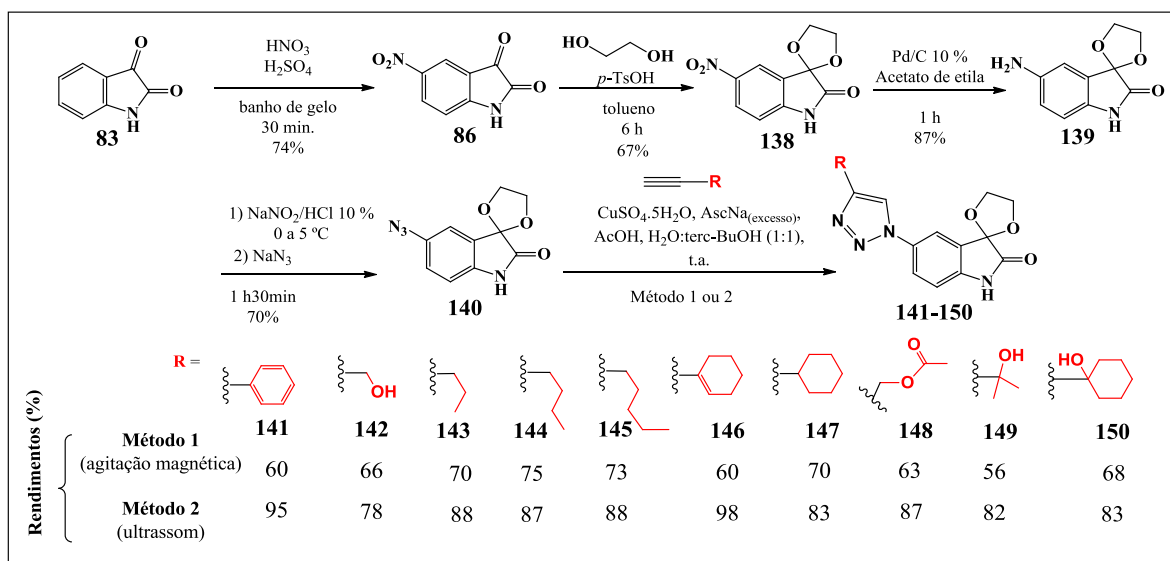
4.1. Obtenção dos 5'-(4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**141-150**)

A síntese dos 5'-(4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**141-150**) foi realizada durante o período de mestrado da autora. Contudo, estes compostos foram matéria-prima para a síntese das substâncias planejadas na presente Tese, portanto a rota de síntese para a obtenção dos compostos **141-150** foi reproduzida e aperfeiçoada neste trabalho.

Inicialmente, reagiu-se a 5-nitro-isatina (**86**), obtida por reação de nitração da isatina (**83**), com etilenoglicol e ácido *p*-toluenossulfônico em tolueno, formando o 5'-nitro-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**138**) em 67% de rendimento (SILVA *et al.*, 2010). A etapa de proteção da carbonila de cetona [C-3] da 5-nitro-isatina foi feita com o intuito de reduzir, em seguida, o grupo nitro por hidrogenação catalítica, levando ao 5'-amino-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**139**) em 87% de rendimento (SILVA *et al.*, 2013).

Na etapa seguinte, o grupo azido foi obtido através de uma reação de diazotação com nitrito de sódio em meio ácido, com subsequente adição de azida de sódio, gerando o 5'-azido-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**140**) em 70% de rendimento (SILVA *et al.*, 2013). Posteriormente, dois métodos foram investigados para a obtenção de uma série de derivados 5'-(4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**141-150**).

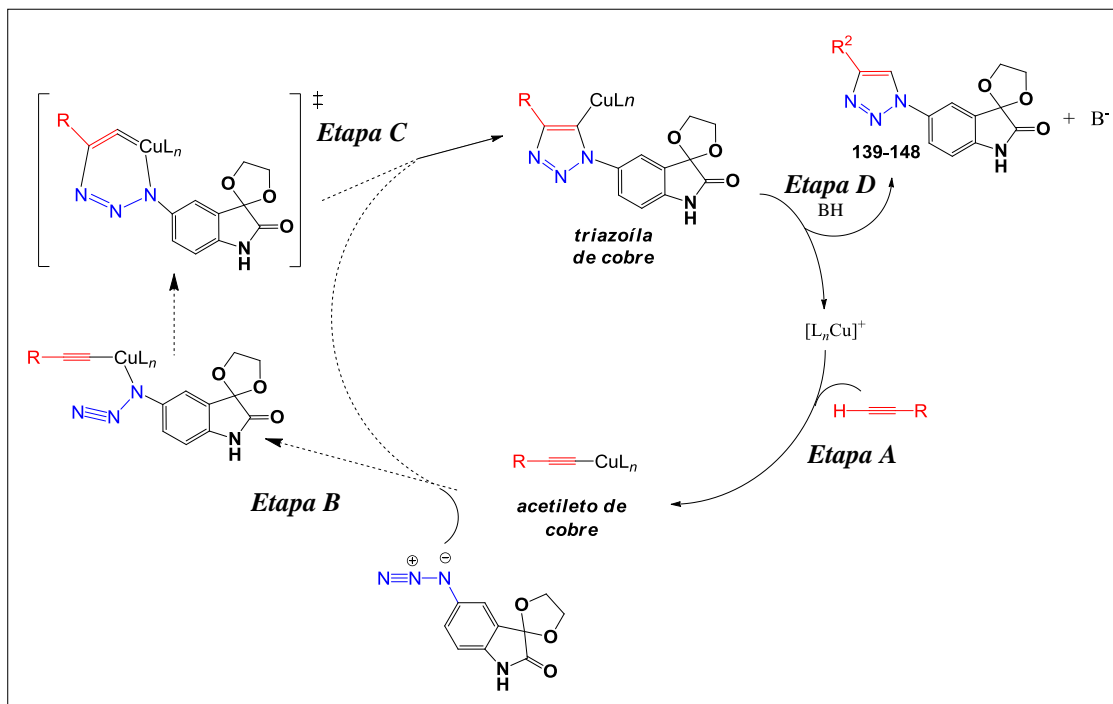
No primeiro método, **140** foi tratado com alquinos terminais em uma razão molar 1:1, CuSO₄.5H₂O, ascorbato de sódio, ácido acético (AcOH) e uma mistura de água e *tert*-butanol (*t*-BuOH) em proporção de 1:1 como solvente da reação (*Método 1* – Esquema 6). Em todos os casos, as reações completaram-se em 24 horas e não houve grandes variações nos rendimentos. Logo, a natureza do substituinte não teve influência significativa na reatividade do alquino. Além disso, embora um meio ácido tenha sido utilizado, não foi observada a desidratação de alcoóis terciários (**149** e **150**) e nem a hidrólise de éster em **148** (SILVA *et al.*, 2013).



Esquema 6. Rota de síntese para a obtenção dos 5'-(4-alkil/aril-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**141-150**)

O segundo método difere do anterior pelo emprego da irradiação por ultrassom (*Método 2* – Esquema 6). Observou-se, neste procedimento, que os produtos de interesse foram obtidos em excelentes rendimentos e em apenas 5 minutos.

Os efeitos dos substituintes sobre a reatividade dos substratos envolvidos na reação de cicloadição 1,3-dipolar são pouco investigados, principalmente na reação do tipo *click*. Mas de modo geral, alquinos (BASTIDE; HENRI-ROUSSEAU, 1978) e azidas (MOLANDER; HAM, 2006) contendo grupos retiradores de elétrons e menos volumosos são mais reativos. Desta forma, Feldman e colaboradores (FELDMAN *et al.*, 2005) mostraram que azidas primárias e secundárias reagem seletivamente com fenilacetileno, e nenhum produto foi observado quando azidas terciárias foram utilizadas. Estudos indicam que na presença de Cu(I), o mecanismo de reação *click*, ocorre em uma sequência de etapas rápidas envolvendo intermediários polares, que definem a regioespecificidade da reação e cujas energias de formação determinam a velocidade da reação. O primeiro momento consiste na formação do acetileno de cobre que também se complexa ao nitrogênio nucleofílico da azida, seguida da obtenção de um intermediário cíclico instável, com ângulo entre as ligações Cu=C=C de 134,9° (HIMO *et al.*, 2005). A contração do anel leva à formação do triazol-4-ila de cobre que sofre protonólise conduzindo ao produto final e regenerando o catalisador (Esquema 7) (ROSTOVTSEV, 2002; HEIN e FOKIN, 2010; FREITAS *et al.*, 2011).



Esquema 7. Aspectos mecanísticos para a formação de 1H-1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos. L = Ligante e B = base ou solvente. (Baseado em ROSTOVTSEV *et al.*, 2002)

Na presença de AcOH, a etapa lenta muda da protonação do complexo triazófilo de cobre (*Etapa A*) para a desprotonação do alquino (*Etapa B*). Em meio neutro, uma molécula de H₂O ou uma molécula de alquino são usados como fonte de próton.

A irradiação por ultrassom, desde a sua observação em 1880, tem sido empregada em síntese orgânica pela eficiência e por permitir condições reacionais mais brandas, um dos princípios de Química Verde (LENARDÃO *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2016).

A reação de Sonogashira (GHOLAP *et al.*, 2005), de Reformatsky (ROSS, MACGREGOR e BARTSCH, 2004) e a *click* (SREEDHAR e SURENDRA REDDY, 2007); CINTAS *et al.*, 2010) são exemplos de reações promovidas por irradiação ultrassônica que a literatura provê.

No entanto, como o ultrassom afeta a reação ainda não é bem esclarecido. Acredita-se que existam dois fenômenos envolvidos: o químico e o físico. Os fenômenos físicos podem ser divididos em três tipos: o primeiro refere-se à pressão sonora, o segundo é a formação de cavidades (cavitação), que é o colapso de microbolhas de um líquido por efeito de uma redução da pressão

total, e o terceiro é um fenômeno relacionado ao transporte de massa resultante da mistura turbulenta e agitação acústica. O fenômeno químico é, geralmente, consequência dos fenômenos físicos, em geral, do efeito de cavitação, o qual produz alterações na temperatura e pressão de um sistema aumentando a velocidade das reações químicas (MASON, 2015; POKHREL *et al.*, 2016).

4.1.1. Análise dos dados espectroscópicos e espectrométricos dos 5'-(4-alkuil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (141-150)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H), de Carbono (RMN ^{13}C), HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*), bem como os espectros na região do Infravermelho (IV) e os de Massas de Alta Resolução (EMAR-IES⁺) dos 5'-(4-alkuil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**141-150**) sintetizados neste trabalho, encontram-se no Anexo I. Este conjunto de espectros foi anteriormente discutido na dissertação de mestrado da autora deste trabalho (SILVA, 2013). No entanto, a título de exemplificação, encontra-se neste item alguns dos sinais de deslocamento químico (δ – ppm) observados para a 5'-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**145**) no RMN ^1H , no RMN ^{13}C e no HSQC, bem como os sinais no IV que caracterizam esta série de moléculas.

4.1.1.1.1. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H)

Nos derivados 5'-(4-alkuil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona), os deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos se apresentam como multipletos entre 4,2–4,4 ppm. Atribui-se este fenômeno a uma restrição à interconversão de confôrmeros, logo estes hidrogênios não são equivalentes (Figura 28) (RIBEIRO, 2004).

O arcabouço triazólico pode ser confirmado através do sinal em 8,5 ppm, correspondente ao hidrogênio em C-10. Já o sinal relativo à presença do grupo NH pode ser observado por volta de 10,7 ppm. O hidrogênio ligado à C-12, caracteriza-se por um tripleto com $J = 8$ Hz em um valor de 2,6 ppm. Os hidrogênios em C-13 e C-16 apresentam sinais não bem resolvidos, como multipletos, cujos valores de deslocamento químico foram observados em 1,65-1,62 e 0,90-0,87 ppm, respectivamente. Os hidrogênios em C-14 e C-15 coincidem e mostram-se como um multipletos em 1,33-1,31 ppm.

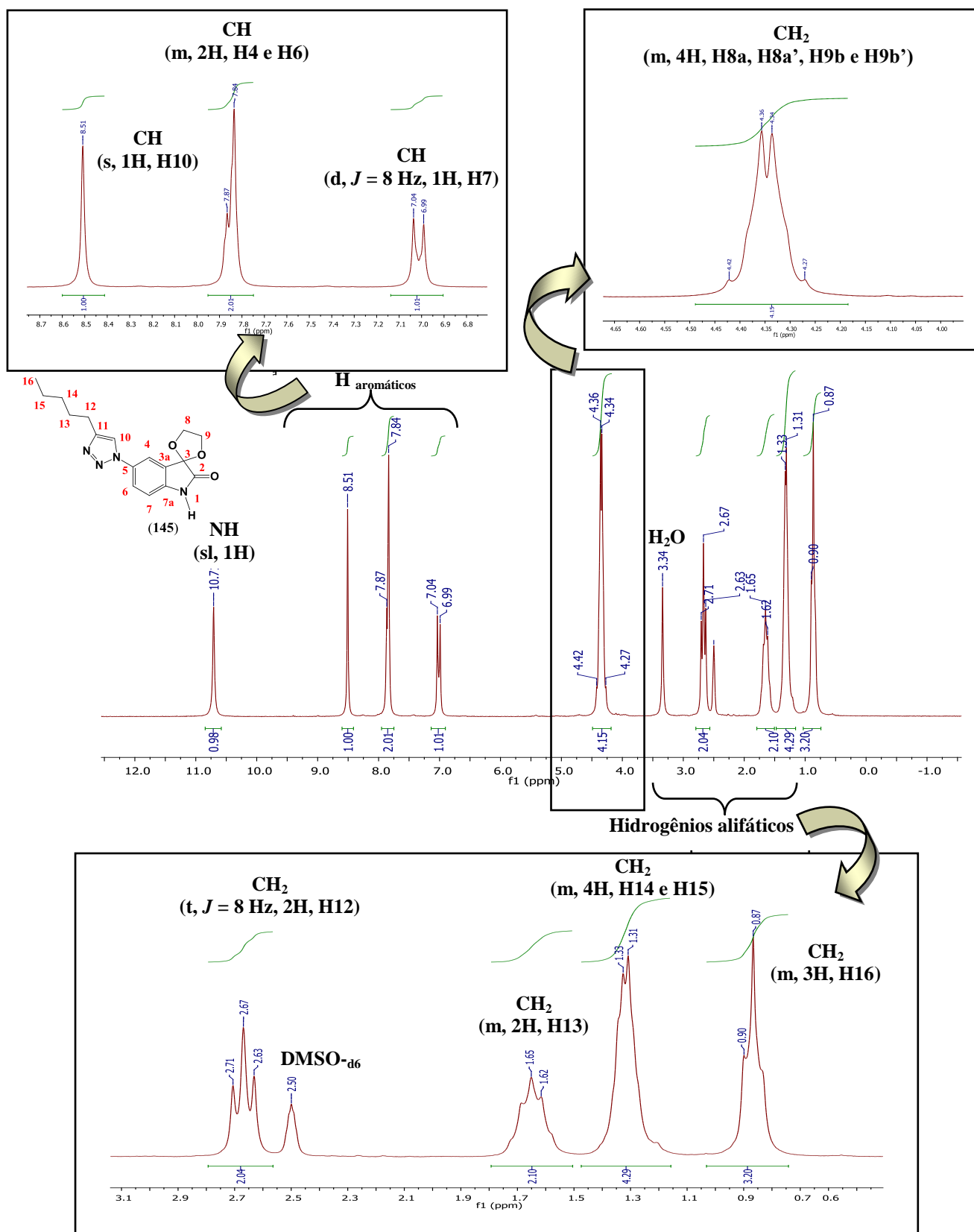


Figura 28. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) do 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxacíclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**145**)

4.1.1.1.2. Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³C)

O deslocamento químico dos carbonos metilênicos [C-8] e [C-9] e da carbonila de amida [C-2] dos derivados triazólicos apresentam-se em torno de 66 e 174 ppm, respectivamente. A carbonila amídica [C-2] é menos desblindada que uma carbonila de cetona devido ao efeito de ressonância que deslocaliza a carga entre N-1 e C-2 (Figura 29).

Os carbonos alifáticos no derivado 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**145**), mostram-se em 31,2 (CH₂); 29,0 (CH₂); 22,4 (CH₂) e 14,4 ppm (CH₃), de modo respectivo. Os picos correspondentes aos carbonos quaternários encontram-se descritos como C_q.

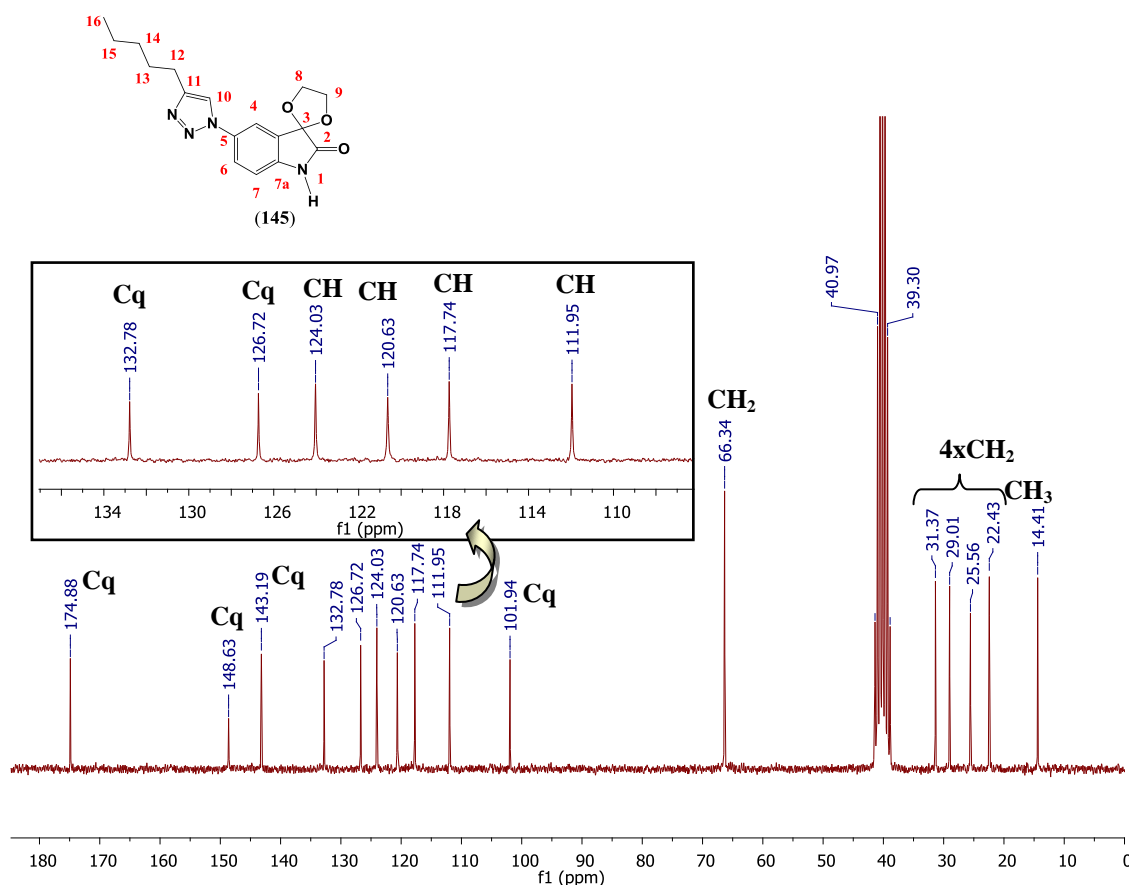


Figura 29. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) do 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**145**)

4.1.1.1.3. RMN 2D - Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC)

Os carbonos quaternários dos derivados triazólicos foram diferenciados de CH e CH₂ com o auxílio do HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*). Através desta técnica foi possível fazer um mapeamento estrutural mais preciso do que utilizando somente as técnicas em 1D (KAISER, 2000). Como exemplo, tem-se na Figura 30 o experimento HSQC para o composto **145**. Este revelou que o sinal em 10,71 ppm observado no RMN ¹H, não se encontra ligado à carbono, visto que não há sinal no espectro 2D. Já os deslocamentos químicos δ_C 120,63 (C-10) e δ_H 8,50 (H-10) são característicos de um grupo metínico que faz parte do anel triazólico.

Os sinais sobrepostos dos hidrogênios aromáticos H-4 e H-6 podem ser atribuídos aos carbonos cujos deslocamentos químicos se encontram em 117,74 ppm e 124,03 ppm. O carbono C-4 é mais protegido do campo magnético do que C-6, logo se encontra em 117,74 ppm. Foram observadas, ainda, as correlações entre δ_C 111,95 (CH_{aromático}, C7) e δ_H 7,02 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H-7); δ_C 55,40 (CH₂, C-12) e δ_H 4,61 (d, $J = 8$ Hz, 2H, H-12); δ_C 66,34 (2x CH₂, C-8 e C-9) e δ_H 4,38 – 4,32 (m, 4H, H-8 e H-9); δ_C 25,56 (CH, C12) e δ_H 2,66 (t, $J = 8$ Hz, 2H, H12); δ_C 29,01 (CH, C13) e δ_H 1,65-1,62 (m, 2H, H13); δ_C 28,88 (2xCH₂, C14 e C15) e δ_H 1,33 – 1,31 (m, 4H, H14 e H15); e δ_C 14,41 (CH, C16) e δ_H 0,90-0,87 (m, 3H, H16) (Figura 30).

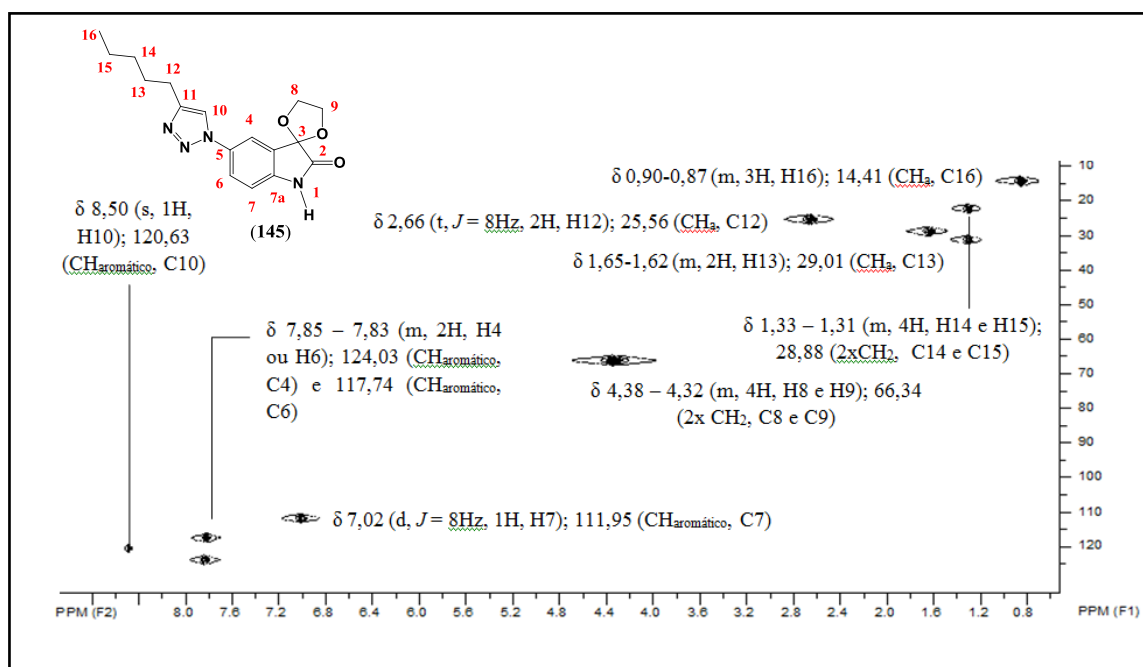


Figura 30. Espectro de HSQC do 5'-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**145**)

4.1.1.1.4. Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho, para os derivados triazólicos, mostram bandas correspondentes à deformação axial de N-H e bandas muito intensas correspondentes ao estiramento da carbonila amídica [C=O]. Além da deformação angular de C-O em torno de 1200 cm^{-1} . As bandas características do 1,2,3-triazol encontram-se entre 2895 a 3100 cm^{-1} , entretanto, por serem de baixa intensidade não foram observadas (Figura 31).

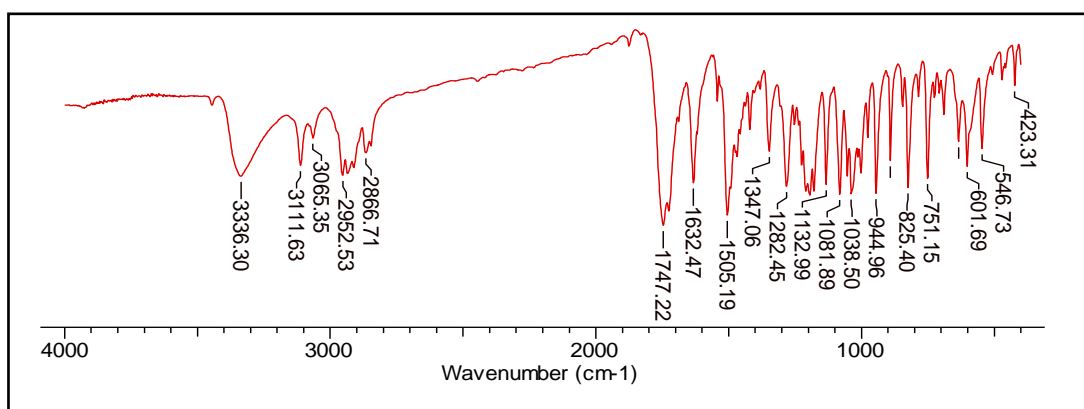


Figura 31. Espectro de IV do 5'-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (145)

4.1.1.1.5. Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR-IES⁺)

As análises de Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 5'-azido-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**140**) e dos derivados 5'-(4-alquil/aril-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**141-150**) foram realizadas em um espectrômetro de massa QTOF Micro (Waters, Manchester, UK) equipado com uma fonte ESI. Neste tipo de análise, as moléculas são convertidas em íons em fase gasosa e posteriormente, separadas de acordo com a sua razão massa (m) sobre a carga (z), m/z . As análises foram registradas entre m/z 90 a 1000 em modo íon positivo. Os resultados obtidos encontram-se dispostos na Tabela 4.

Tabela 4. Dados do 5'-azido-espiro(2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**140**) e dos derivados 5'-(-4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**141-150**) obtidos por EMAR-IES⁺

<i>Compostos</i>	<i>Fórmula molecular</i>	<i>Calculado</i>	<i>Experimental</i>	<i>Erro (ppm)</i>
140	C ₁₀ H ₈ N ₄ NaO ₃ ⁺	255,0489	255,0493	1,57
141	C ₁₈ H ₁₅ N ₄ O ₃ ⁺	335,1139	335,1134	1,49
142	C ₁₃ H ₁₃ N ₄ O ₄ ⁺	289,0931	289,0936	1,73
143	C ₁₅ H ₁₇ N ₄ O ₃ ⁺	301,1295	301,1289	1,99
144	C ₁₆ H ₁₉ N ₄ O ₃ ⁺	315,1452	315,1455	0,95
145	C ₁₇ H ₂₁ N ₄ O ₃ ⁺	329,1608	329,1615	2,13
146	C ₁₈ H ₁₉ N ₄ O ₃ ⁺	339,1452	339,1447	1,47
147	C ₁₈ H ₂₁ N ₄ O ₃ ⁺	341,1608	341,1602	1,76
148	C ₁₅ H ₁₅ N ₄ O ₅ ⁺	331,1037	331,1026	3,32
149	C ₁₅ H ₁₇ N ₄ O ₄ ⁺	317,1244	317,1238	1,89
150	C ₁₈ H ₂₁ N ₄ O ₄ ⁺	357,1557	357,1561	1,12

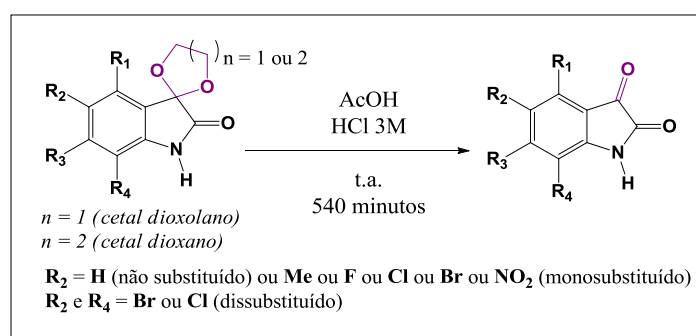
4.2. Reações de hidrólise dos cetais de isatinas e a obtenção dos derivados 5'-(-4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (151-158)

Devido à maior reatividade da carbonila cetônica em [C-3] frente à carbonila amídica em [C-2], houve a necessidade de proteção desse grupamento, com o intuito de realizar a redução do grupo nitro (-NO₂) presente no anel aromático da isatina (*Esquema 6, item 4.1*).

Os grupos de proteção são utilizados para realizar transformações químicas em um composto multifuncional, bloqueando temporariamente outros sítios reativos. Um bom grupo de proteção deve ser estável, removido de forma seletiva e em bons rendimentos por meio de reagentes, preferencialmente, não tóxicos (GRENNE, 1999). Geralmente, os cetais 1,3-dioxolano e 1,3-dioxano são facilmente hidrolisados em meio ácido. Contudo, não há estudos na literatura que descrevam a hidrólise desses cetais isatínicos.

Estudos preliminares realizados pelo nosso grupo de pesquisa mostraram que os cetais isatínicos são resistentes à hidrólise em meio ácido, sendo necessário o uso de ácidos fortes em altas concentrações e longos tempos de reação, dependendo do substituinte presente no anel aromático, para total conversão do cetal à respectiva isatina.

Um grupo de isatinas contendo substituintes doadores e retiradores de elétrons foi submetido à reação de hidrólise em uma mistura de ácido acético e ácido clorídrico 3 M (Esquema 8), e a evolução da reação foi acompanhada por cromatografia em fase gasosa. A Tabela 5 mostra os tempos de retenção e as conversões para cada reação de hidrólise.



Esquema 8. Condição de reação para hidrólise do cetal dioxolano ($n = 1$) e dioxano ($n = 2$) da isatina

Tabela 5. Conversão dos cetais dioxolanos ($n=1$) e dioxanos ($n=2$) à isatinas e seus respectivos tempos de retenção

<i>Cetal Dioxolano (n=1)</i>	t_R (min.)	Conversão (%)	<i>Cetal Dioxano (n=2)</i>	t_R (min.)	Conversão (%)
$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_2=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}$	6,867	100*	$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_2=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}$	7,632	100*
$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2=\mathbf{Me}$	8,188	95	$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2=\mathbf{Me}$	8,749	100*
$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2=\mathbf{F}$	7,167	10	$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2=\mathbf{F}$	7,699	70
$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2 = \mathbf{Br}$	10,894	NR ^a	$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2 = \mathbf{Br}$	12,260	NR
$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2$ e $\mathbf{R}_4 = \mathbf{Br}$	10,203	NR	$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2$ e $\mathbf{R}_4 = \mathbf{Br}$	10,460	32
$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2 = \mathbf{I}$	11,105	NR	$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2 = \mathbf{I}$	11,897	NR
$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2 = \mathbf{Cl}$	9,697	NR	$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2 = \mathbf{Cl}$	10,064	NR
$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2$ e $\mathbf{R}_4 = \mathbf{Cl}$	8,985	NR	$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2$ e $\mathbf{R}_4 = \mathbf{Cl}$	9,110	NR
$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2 = \mathbf{NO}_2$	11,726	NR	$\mathbf{R}_1=\mathbf{R}_3=\mathbf{R}_4=\mathbf{H}; \mathbf{R}_2 = \mathbf{NO}_2$	12,498	NR

*Embora o acompanhamento da hidrólise dos cetais tenha sido realizado durante 540 minutos, após 30 minutos foi observada a completa conversão à isatina correspondente.

^aNão ocorreu a hidrólise.

Para o estudo do comportamento dos cetais avaliados neste trabalho utilizamos o método de cromatografia em fase gasosa, visto que, entre os métodos de separação, tem grande aplicabilidade e permite separar e quantificar componentes com propriedades físico-químicas muito semelhantes (AQUINO NETO *et al.*, 2003).

A separação ocorre através da distribuição dos componentes da amostra entre duas fases: uma fase estacionária, de grande área superficial, que é percolada por um gás inerte (fase móvel), geralmente o gás hidrogênio (COLLINS, 1995).

A quantificação dos analitos foi realizada pelo método de padronização interna, que se baseia em adicionar uma substância de concentração conhecida denominada padrão interno (PI) na amostra a ser analisada, relacionando então as áreas obtidas. O PI aumenta a precisão dos resultados, minimizando os erros obtidos na injeção da amostra e pelas variações de vazão e das condições da coluna (RIBANI *et al.*, 2004). Neste caso, o PI utilizado foi o indol. Sendo assim, para a determinação da concentração dos analitos presentes no meio de reação, fez-se uso da equação a seguir:

$$F = (A_P/C_P) / (A_{PI}/C_{PI})$$

$$C_X = A_X \cdot C_{PI} / F_X \cdot A_{PI}$$

Onde:

A_P = Área de pico do analito

C_P = Concentração de um padrão do analito

A_{PI} = Área de padrão interno

C_{PI} = Concentração de padrão interno

C_X = Concentração do analito

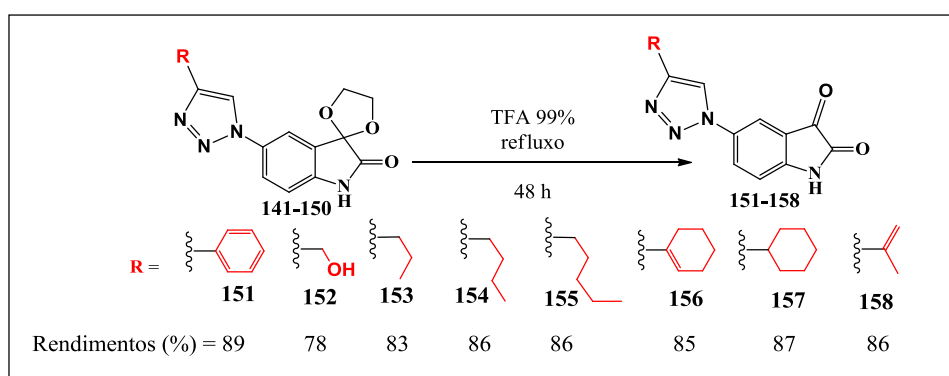
A_X = Área do analito

Os dados da Tabela 5 mostraram que a natureza do substituinte e o tamanho do anel influenciam na velocidade de hidrólise dos cetais de isatina.

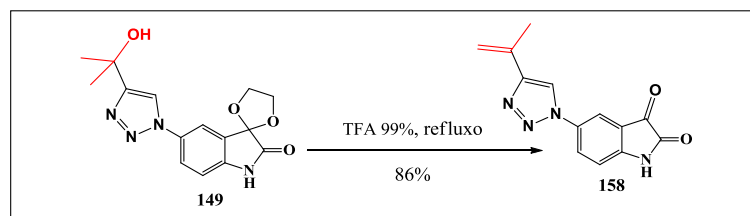
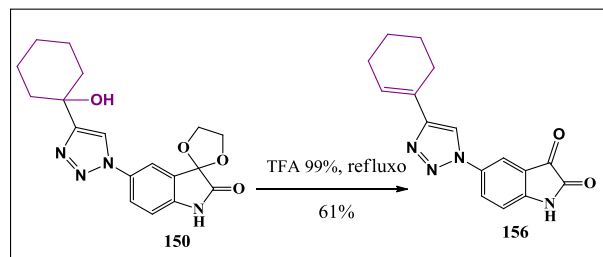
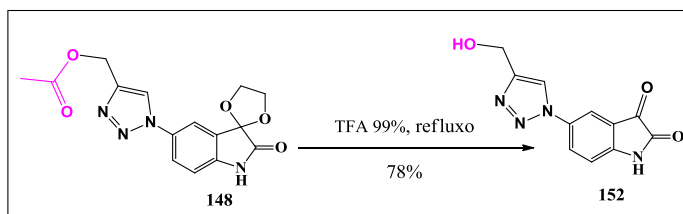
Quando o anel aromático está substituído por grupos retiradores de elétrons, como os grupos NO_2 e Cl , os cetais tiveram baixa ou nenhuma conversão. Já o cetil dioxano da 5-metil-isatina foi completamente hidrolisado em apenas 30 minutos. Para a hidrólise dos cetais **141-150**, inicialmente, foram testadas as mesmas condições do Esquema 8 sem sucesso, visto que não houve consumo total do material de partida.

Mediante a resistência do cetal dioxolano **141-150** à hidrólise, decidiu-se investigar o uso do ácido trifluoroacético (TFA) como fonte de próton e também como solvente (Esquema 9). Nestas condições, os derivados 5'-(4-alkil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona) (**151-158**) foram obtidos em bons rendimentos.

Os produtos de hidrólise foram obtidos após 48 h de reação sob refluxo e não foi observado efeito do grupo presente no anel 1,2,3-triazólico sobre a reação. No entanto, reações de hidrólise e eliminação nos substituintes do triazol ocorreram nos compostos **148**, **149** e **150**, de modo respectivo (Esquemas 9 e 10).



Esquema 9. Hidrólise dos 5'-(4-alkil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**141-150**)



Esquema 10. Reações de hidrólise do cetal dioxolano, e reações de hidrólise (**148**) e eliminação (**149** e **150**) dos substituintes presentes no anel do triazol

A hidrólise do cetal dioxolano de isatinas é dificultada, provavelmente, devido a conformação do anel de cinco membros que reduz significativamente a capacidade do par de elétrons *pseudo*-equatorial do oxigênio interagir com o orbital σ^* do carbono (Figura 32A), tornando a abertura do anel mais lenta. Outra explicação possível para a resistência dos cetais à hidrólise é a estabilidade do cetal protonado, que pode formar os intermediários conforme demonstrado na Figura 32B.

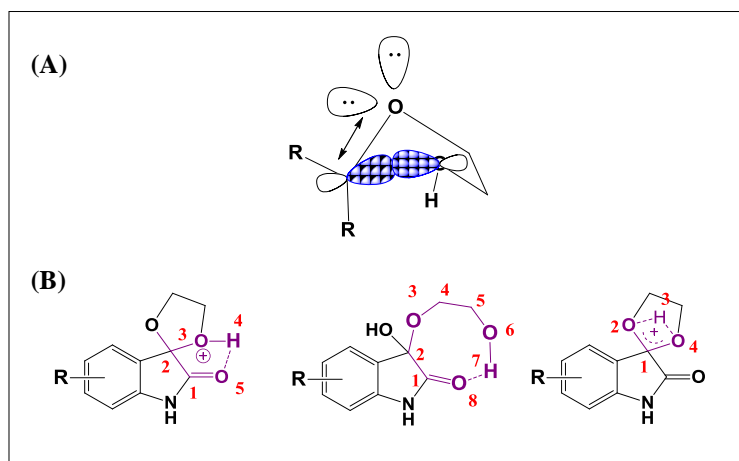


Figura 32. (A) Interação entre o par de elétrons livre (*pseudo*-equatorial) do oxigênio e o orbital do oxigênio; (B) Cetal dioxolano de isatinas protonado, possíveis intermediários da reação

As condições de reação drásticas e o longo tempo para converter os cetais às respectivas isatinas, mesmo em ácido trifluoracético, nos motivaram a investigar condições de reação mais brandas. Para isso, foi utilizado o aquecimento em reator de micro-ondas, água como solvente e *p*-sulfônico-calixarenos [4] (**159**) e [6] (**160**) como catalisadores para a remoção do grupo de proteção (Figura 33).

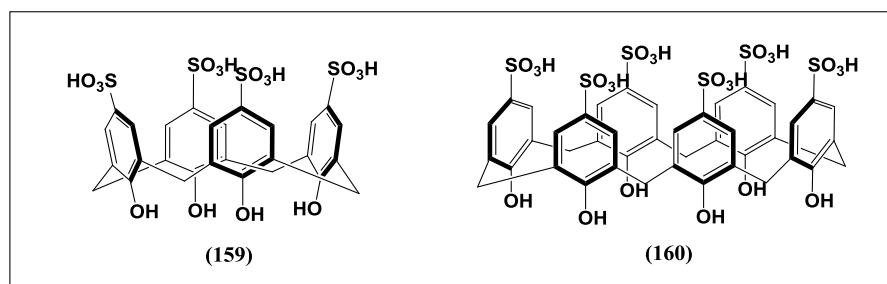


Figura 33. Estrutura química dos *p*-sulfônico-calixarenos [4] (**159**) e [6] (**160**)

Os calixarenos possuem uma estrutura composta de unidades fenólicas ligadas por pontes metilênicas na posição *orto* à hidroxila que combinam uma região polar e uma apolar. São muito empregados em química supramolecular, pois atuam como catalisadores ou transportadores de íons metálicos e de moléculas (ARNAUD-NEU; SCHWING-WEILL; DOZOL, 2001). Além disso, os calixarenos podem ser empregados em reações clássicas, como a de Mannich (SILVA *et al.*, 2011) e a de Michael (DURMAZ *et al.*, 2016).

Reações preliminares, de hidrólise, promovidas por **160**, foram conduzidas usando o cetil dioxolano da isatina sem substituinte em meio aquoso e sob a irradiação de micro-ondas. Na Tabela 6, encontram-se os resultados obtidos.

Tabela 6. Avaliação preliminar da relação molar *versus* tempo de reação de hidrólise do cetil dioxolano da isatina com *p*-sulfônico-calixarenos [6]

<i>Entrada</i>	<i>% molar do p-sulfônico-calixareno [6]</i>	<i>Tempo de reação (min.)</i>	<i>CCD*</i>
1	0,30	-	I
2	0,60	35	C
3	0,75	30	C
4	0,75 ^a	25	C
5	2,00	20	C
6	2,00 ^b	10	C
7	2,50 ^b	10	C

Condições de reação: 0,15 mmol (28,0 mg) do cetil dioxolano da isatina, *p*-sulfóxido-calixareno [6] e 10 mL de água foram submetidos à irradiação por micro-ondas a 150 °C, 800 rpm.

^a Foi adicionado ao meio reacional 0,64 mmol de NaCl.

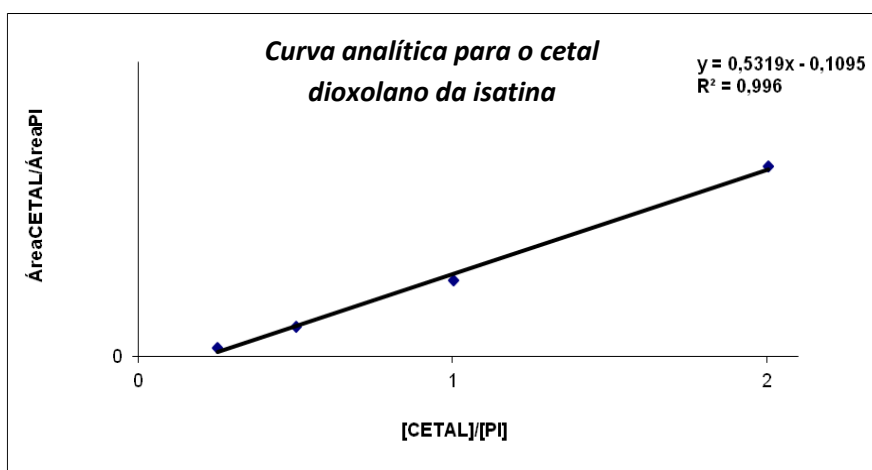
^b Foi acrescido 10 °C à temperatura de reação.

* A evolução da reação foi acompanhada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Atribui-se a letra C para as reações em que houve o consumo do material de partida. A letra I designa as reações onde foi observado material de partida por CCD.

Os resultados indicam que há uma relação linear entre o número de mols do catalisador empregado e o tempo de hidrólise (*ver entradas 2, 3, 5 e 7*). A adição de NaCl ao meio de reação (*ver entrada 4*) provocou a redução do tempo reacional, provavelmente por tornar a condução de calor através da irradiação por micro-ondas mais eficiente.

Em seguida, com o intuito de averiguar a conversão do cetil dioxolano à isatina por Cromatografia a Gás acoplada à Espectroscopia de Massas (CG-EM), realizou-se a curva analítica através de solução-padrão¹⁷, na qual o indol foi empregado como padrão interno. As curvas analíticas (Figuras 34A e B) mostraram que o limite de detecção para a isatina foi de 0,041 mg/mL (A) e o limite de detecção para o cetil dioxolano da isatina foi de 0,073 mg/mL.

(A)



(B)

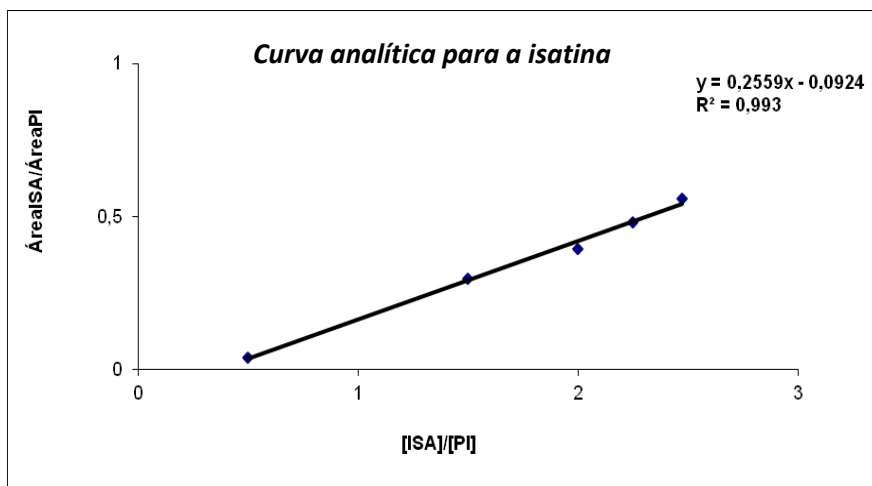


Figura 34. Curvas analíticas obtidas para o cetil dioxolano da isatina, com limite de detecção de 0,041 mg/mL (A) e para a isatina, com limite de detecção de 0,073 mg/mL (B)

¹⁷ A concentração do indol, da isatina e do cetil dioxolano da isatina na solução-padrão foi, de modo respectivo, 2 mg/mL, 1 mg/mL e 0,5 mg/mL.

Posteriormente, as conversões do cetal dioxolano à isatina, catalisadas por **159** ou **160**, foram monitoradas por CG-EM e os resultados encontram-se dispostos na Tabela 7.

Tabela 7. Hidrólise do cetal dioxolano catalisada pelo *p*-TsOH, *p*-sulfóxido-calixarenos [4] ou [6]

<i>%mol do catalisador em relação ao cetal dioxolano da isatina</i>					
Entrada	<i>p</i> -sulfóxido-calix-[4]-areno (159)	<i>p</i> -sulfóxido-calix-[6]-areno (160)	<i>p</i> -TsOH	Tempo de reação (min.)	Conversão em CG-EM
1	-	0,83	-	5	34
2	-	2,5	-	5	91
3	-	2,5	-	10	>94
4	1,25	-	-	5	55
5	2,5	-	-	5	90
6	2,5	-	-	10	>94
7	-	-	2,5	5	<18
8	-	-	5,0	5	41
9	-	-	2,5 ^a	5	< 13

Condições de reação: 0,45 mmol do cetal dioxolano da isatina, *p*-sulfóxido-calixareno [4] ou [6] e 10 mL de água foram submetidos à irradiação por micro-ondas a 150 °C.

^a acrescentou-se ao meio de reação 5 mL de solvente.

A Tabela 7 revelou que em 2,5 %molar, os calixarenos foram mais eficientes que o ácido *p*-toluenossulfônico (*p*-TsOH), possivelmente devido ao maior número de grupos sulfônicos (-SO₃H) (4x superior em **159** e 6x superior em **160**). No entanto, quando em presença de número equivalente de grupos -SO₃H, melhores resultados foram obtidos na presença de **159**.

A conversão à isatina promovida por 2,5 %mol de *p*-TsOH foi inferior à observada na entrada 7, quando o volume reacional sofre um aumento, indicando que a perda de organização afeta a reação. Os resultados sugerem que a catálise seja ácida geral, ou seja, que ocorra um efeito sinérgico favorecido, principalmente, pela estrutura organizada do complexo entre o reagente e o *p*-sulfóxido-calixareno [4].

Os valores de pH obtidos em quantidade molares equivalentes entre os catalisadores investigados na reação de hidrólise se encontram na Tabela 8 e foram medidos com a finalidade de observar se a reação ocorria por catálise ácida geral ou específica.

Tabela 8. pH dos catalisadores empregados nas reações de hidrólise do cetal dioxolano da isatina sem substituinte

<i>Catalisador</i>	<i>Concentração (%.mol)</i>	<i>Quantidade de grupos sulfônicos (%.mol)</i>	<i>pH</i>
160	2,50	15,0	3,17
160	0,83	5,0	3,3
159	2,50	10,0	3,02
159	1,25	5,0	3,29
<i>p</i> -TsOH	2,50	2,5	3,55
<i>p</i> -TsOH	5,00	5,0	3,23

O *p*-TsOH mostrou ser mais ácido do que os catalisadores **159** e **160** quando a mesma proporção molar foi mantida, entretanto o valor de pH foi equivalente quando a relação entre o número de grupos sulfônicos destes catalisadores foi a mesma. Estes dados reforçam a hipótese de catálise ácida geral e não específica (Tabela 8).

Em seguida, investigou-se o reaproveitamento da fase aquosa de uma reação anterior obtida na extração líquido-líquido em uma nova hidrólise com o acréscimo da mesma carga do reagente. O procedimento foi repetido até três reusos e mostrou-se eficiente (Tabela 9). O acetato de etila (AcOEt) foi empregado como solvente orgânico de extração e não houve a necessidade de neutralização do meio.

Tabela 9. Conversão da hidrólise do cetal dioxolano da isatina, promovida pelo *p*-sulfóxido-calixareno [4], após reuso da fase aquosa proveniente de reação anterior

<i>Reuso</i>	<i>Conversão (%)</i>
1	>94
2	>95
3	>94

Em geral, os resultados obtidos indicam que os *p*-sulfóxido-calixarenos são excelentes catalisadores para a hidrólise dos cetais da isatina, possibilitando, inclusive, o uso de água como solvente da reação e com grande potencial de reaproveitamento. Vale mencionar que este estudo foi feito em colaboração com um aluno de iniciação científica do grupo (Lucas Barros Barbosa) e outras reações serão realizadas para aprofundamento do trabalho e breve publicação.

4.2.1. Análise dos dados espectroscópicos e espectrométricos dos derivados 5'-(4-alquil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (151-158)

4.2.1.1. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H)

Os espectros de RMN ¹H dos 5'-(4-alquil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**151-158**) mostram um sinal relativo ao hidrogênio do anel triazólico [H-8] por volta de 8,4 a 9,3 ppm, que se apresentam como simpleto (s). Exceto para a substância **151**, cujo valor de deslocamento químico para este hidrogênio foi de 9,31 ppm, devido a influência do anel aromático como substituinte na porção triazólica. O sinal largo relativo à presença de N-H pode ser observado por volta de 11 ppm (Tabela 10).

Tabela 10. Dados de RMN ¹H dos derivados dos 5'-(4-alquil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**151-158**)

<i>Composto</i>	<i>δH8 (triazol) (em cm⁻¹)</i>	<i>δ N-H (em cm⁻¹)</i>
151	9,31 (s, 1H)	11,35 (sl, 1H)
152	8,69 (s, 1H)	11,26 (sl, 1H)
153	8,42 (s, 1H)	11,10 (sl, 1H)
154	8,62 (s, 1H)	11,28 (sl, 1H)
155	8,62 (s, 1H)	11,29 (sl, 1H)
156	8,72 (s, 1H)	11,22 (sl, 1H)
157	8,56 (s, 1H)	11,22 (sl, 1H)
158	8,92 (s, 1H)	11,37 (sl, 1H)

Como exemplo, a Figura 35 mostra o RMN ¹H da 5'-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**154**), onde os hidrogênios alifáticos apresentam-se como um tripleto (2H, H10), quinteto (2H, H11), sexteto (2H, H12) e um tripleto (3H, H13), de modo respectivo.

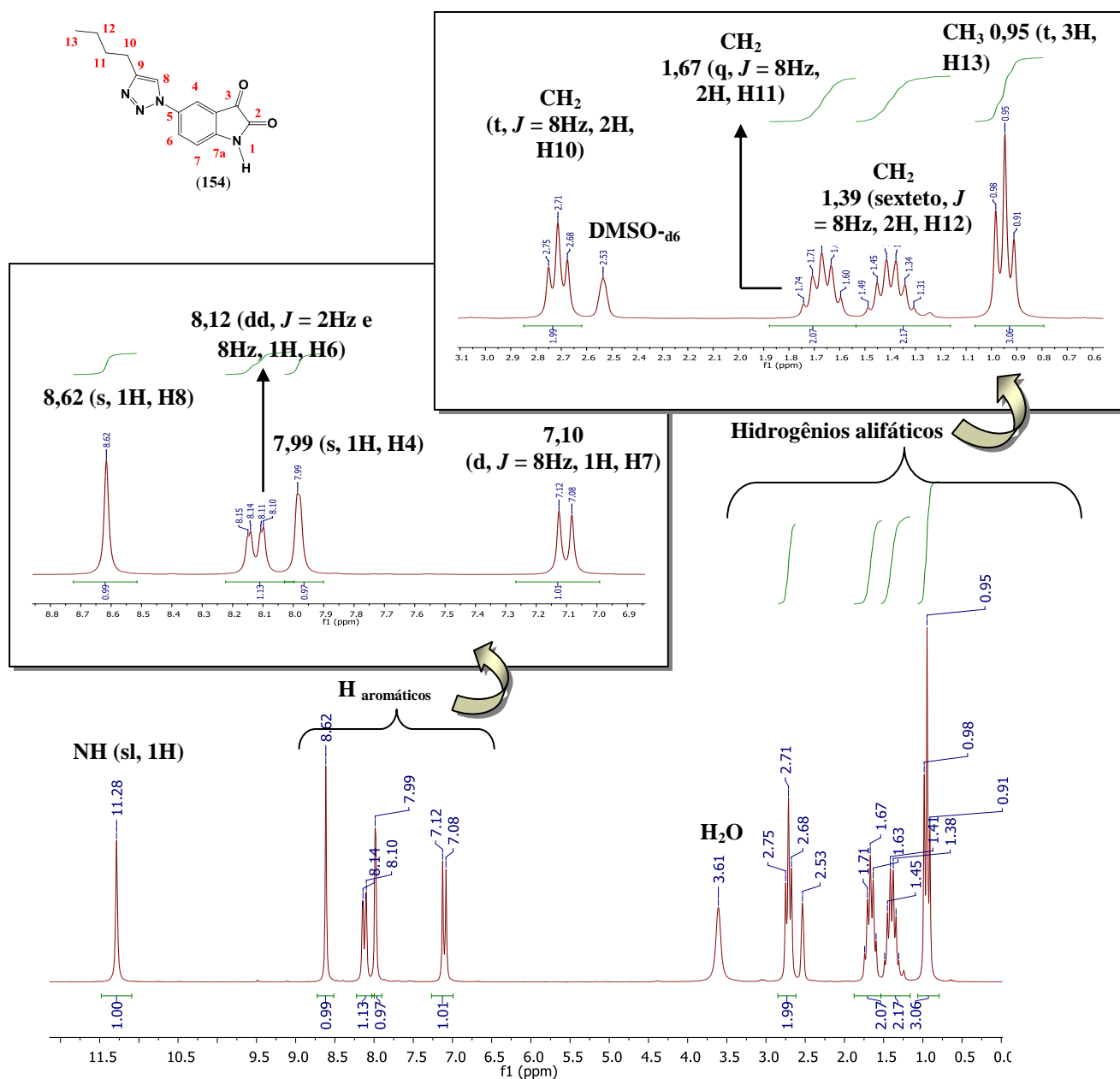


Figura 35. Espectro de RMN ¹H (200 MHz, DMSO-d₆) da 5'-*(*4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**154**)

4.2.1.2. Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³C)

A Tabela 11 mostra os principais sinais observados no RMN ¹³C para os 5'-*(*4-alkil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**151-158**). A carbonila de natureza cetônica [C-3] apresenta, para esta série, valores de deslocamentos químicos entre 183,6 e 184,2 ppm, já a carbonila amídica [C-2] é menos desblindada que C-3 devido ao efeito de ressonância que

deslocaliza a carga entre N-1 e C-2 e apresenta-se em valores que compreendem à 159,4 a 160,0 ppm. Os sinais correspondentes ao C-8 do núcleo triazólico encontram-se entre 119,6 e 124,9 ppm.

Tabela 11. Dados de RMN ^{13}C dos 5'-(4-alkil/aril-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**151-158**)

<i>Composto</i>	δ C8 (<i>triazol</i>)	δ C=O (<i>amida</i>)	δ C=O (<i>cetona</i>)
151	119,67	159,46	183,68
152	121,64	160,02	184,23
153	120,74	160,02	184,28
154	120,68	160,02	184,28
155	120,67	160,02	184,29
156	124,92	159,97	184,23
157	119,57	160,01	184,27
158	120,14	160,02	184,29

Além dos sinais característicos das carbonilas e da região aromática no espectro de RMN ^{13}C para o composto **154**, usado como exemplo, observa-se os picos correspondentes aos carbonos alifáticos: C10, C11, C12 e C13 em 31, 25, 22 e 14 ppm, de modo respectivo. Os picos correspondentes aos carbonos quaternários encontram-se descritos como Cq (Figura 36).

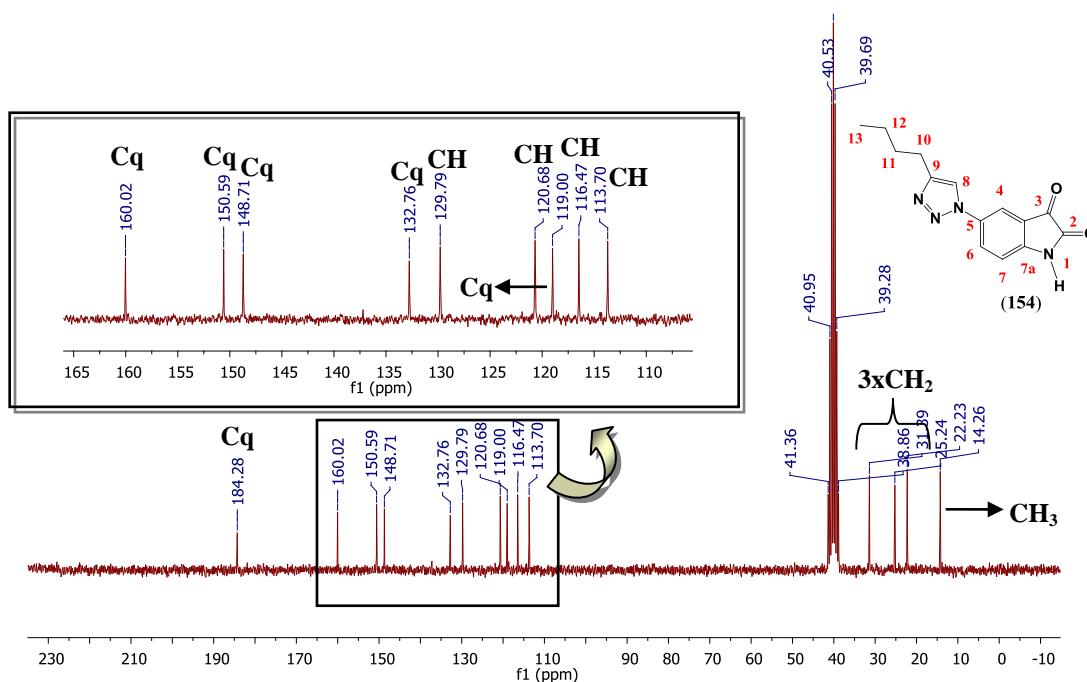


Figura 36. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO-d_6) da 5'-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**154**)

4.2.1.3. Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho, para os 5'-(4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**151-158**), mostram bandas (cm^{-1}) correspondentes à deformação axial de N–H (3127 a 3447 cm^{-1}) e bandas muito intensas correspondentes ao estiramento da carbonila amídica [C-2] (1624 a 1633 cm^{-1}) e das carbonilas de cetona [C-3] (1735 a 1749 cm^{-1}) (Tabela 12). As bandas características do 1,2,3-triazol normalmente encontram-se entre 2895 e 3100 cm^{-1} , entretanto, por serem de baixa intensidade não foram observadas.

Tabela 12. Dados de Infravermelho dos 5'-(4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**151-158**)

<i>Compostos</i>	<i>ν N-H (em cm^{-1})</i>	<i>ν C=O (amida) (em cm^{-1})</i>	<i>ν C=O (cetona) (em cm^{-1})</i>
151	3447	1627	1741
152	3239	1624	1743
153	3142	1627	1743
154	3238	1628	1749
155	3127	1628	1745
156	3531	1633	1735
157	3289	1625	1747
158	3434	1625	1745

4.2.1.4. Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR-IES⁺)

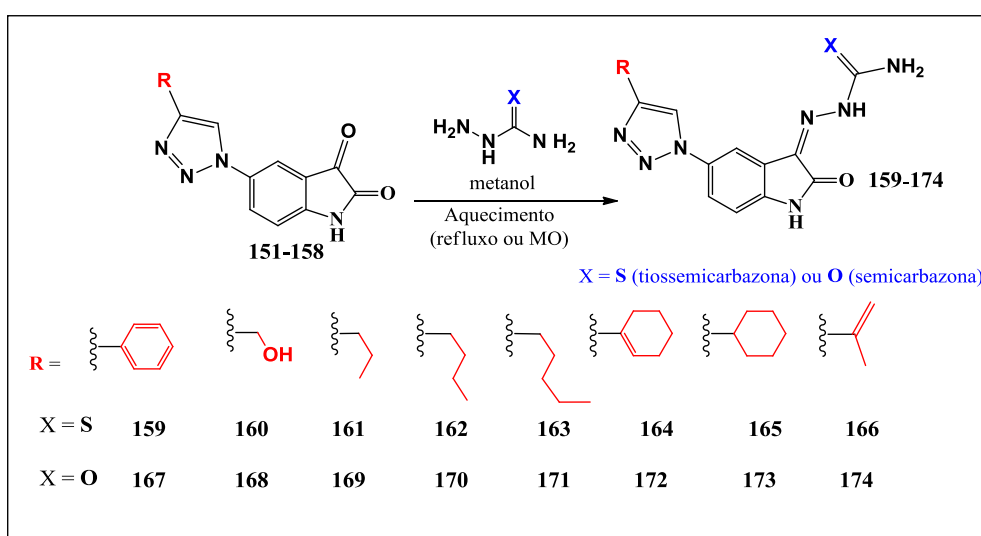
As análises por espectrometria de massas de alta resolução dos derivados dos 5'-(4-alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**151-158**) foram realizadas em um espectrômetro de massa conforme os parâmetros descritos no item 4.1.1.1.5. Os resultados obtidos encontram-se dispostos na Tabela 13.

Tabela 13. Dados dos derivados 5'-(4-alkuil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**151 – 158**) obtidos por EMAR-IES⁺

Compostos	Fórmula molecular	Calculado	Experimental	Erro (ppm)
151	C ₁₆ H ₁₀ N ₄ NaO ₂ ⁺	313,0696	313,0697	0,32
152	C ₁₁ H ₈ N ₄ NaO ₂ ⁺	267,0489	267,0493	1,49
153	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ NaO ₂ ⁺	279,0845	279,0852	2,51
154	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ NaO ₂ ⁺	295,1190	295,1193	1,02
155	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ NaO ₂ ⁺	307,1165	307,1170	1,63
156	C ₁₆ H ₁₄ N ₄ NaO ₂ ⁺	317,1008	317,1009	0,32
157	C ₁₆ H ₁₆ N ₄ NaO ₂ ⁺	319,1165	319,1175	3,13
158	C ₂₆ H ₂₁ N ₈ O ₄ ⁺	509,1680	509,1682	0,39

4.3. Síntese dos derivados tio- (**159-166**) e semicarbazonas (**167-174**) da 5'-(4-alkuil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona

Os grupos tio- e semicarbazonas foram obtidos através de reação equimolar dos derivados carbonilados com cloridrato de tiossemicarbazida (X = S) ou semicarbazida (X = O) em metanol. Nesta reação, dois modos de aquecimento foram investigados, o aquecimento sob refluxo e o obtido através da irradiação por micro-ondas (MO) (Esquema 11).



Esquema 11. Reação de obtenção dos grupos tio- (X=S, **159-166**) e semicarbazona (X=O, **167-174**)

Acredita-se que dois mecanismos estejam envolvidos na forma pela qual ocorre a transferência de energia térmica pelas MO em uma determinada reação química.

No primeiro, o campo magnético alternado gerado pelas MO interage com os dipolos permanentes ou induzidos das moléculas, fazendo com que estas se polarizem. Em seguida, quando o campo magnético é removido, ocorre uma relaxação dielétrica dissipando a energia em forma de calor (GALEMA, 1997; SANSEVERINO, 2002; KAPPE, 2008).

No segundo mecanismo, a migração dos íons dissolvidos no meio é a responsável pela geração de energia e o tamanho do íon, bem como a sua carga, a condutividade e a interação destes com o solvente influenciam na condução iônica (GALEMA, 1997; SANSEVERINO, 2002; KAPPE, 2008).

O estado físico no qual as moléculas se encontram quando submetidas à irradiação de MO é fator importante no fenômeno descrito no primeiro mecanismo. Nos líquidos, o alinhamento magnético não é imediato como nos gases, que possuem maior liberdade e, portanto, varia conforme a viscosidade do meio (GALEMA, 1997; SANSEVERINO, 2002; KAPPE, 2008).

Por exemplo, a água em seu estado sólido e líquido possui um fator de dissipação igual a 9 e 1570, de modo respectivo, a 25 °C e 3 GHz. Ou seja, a água em sua fase sólida, cristalina e altamente organizada sofre aquecimento desprezível pelas MO (GALEMA, 1997).

A constante dielétrica do solvente também afeta a condução de calor. Em geral, solventes polares, como o etilenoglicol, o etanol, o metanol e a água são prontamente aquecidos pelas MO. O oposto ocorre ao tetracloreto de carbono, devido o seu momento de dipolo nulo (GALEMA, 1997). Por isso, a escolha do solvente orgânico a ser empregado em uma reação mediada pelas MO é fundamental para o sucesso da reação.

O uso de irradiação por MO acelerou a reação de formação do grupo tio- ($X=S$) e semicarbazona ($X=O$), além de fornecer os derivados tio- e semicarbazonas da 5'-(4-alkil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona em rendimentos superiores aos observados pelo método convencional (Tabela 14).

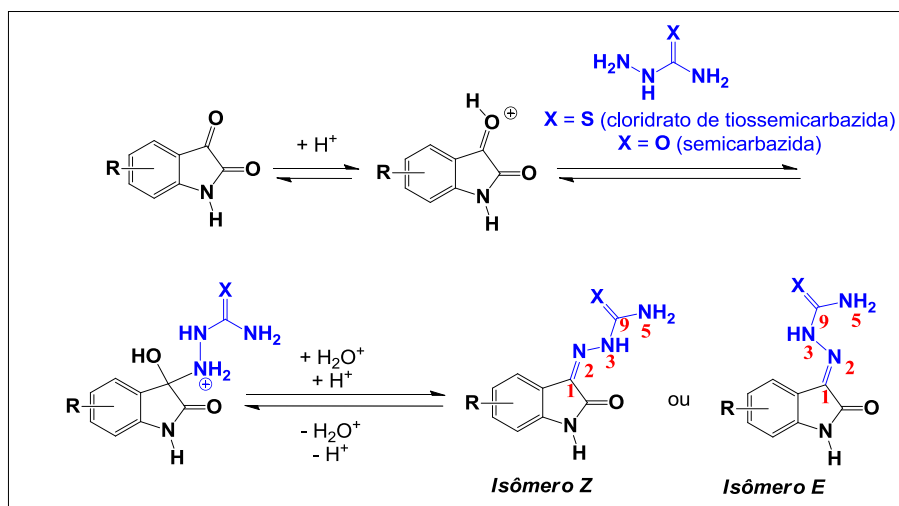
Tabela 14. Rendimentos dos derivados tio- (**159-166**) e semicarbazonas da 5'-(4-alkil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**167-174**)

Tiossemicarbazonas (X = S)	Rendimentos (%)		Semicarbazonas (X = O)	Rendimentos (%)	
	Método 1	Método 2		Método 1	Método 2
159	79	94	167	82	92
160	78	84	168	72	80
161	82	83	169	81	85
162	82	87	170	82	89
163	86	92	171	80	91
164	87	89	172	79	80
165	85	90	173	76	85
166	89	86	174	80	83

Método 1: cloridrato de tiossemicarbazida (X=S) ou semicarbazida (X=O) (1 equiv.) e MeOH, refluxo, 4 h.

Método 2: cloridrato de tiossemicarbazida (X=S) ou semicarbazida (X=O) (1 equiv.) e MeOH, MO, 10 min.

Na síntese de tio- e semicarbazonas ocorre o ataque nucleofílico dos pares de elétrons não-ligantes do grupo NH₂ da tio- ou semicarbazida ao grupo carbonila [C-3]. Nesta reação, uma mistura isomérica pode ser obtida (Esquema 12) (COSTA *et al.*, 2003). Contudo, fatores estéricos e eletrônicos influenciam fortemente esta reação.



Esquema 12. Intermediários polares envolvidos na formação de tio- (X = S) e semicarbazonas (X = O)

No geral, tio- ou semicarbazonas não substituídas em N5 possuem estrutura básica planar com o átomo de enxofre ou o átomo de oxigênio em posição *anti* em relação ao átomo de nitrogênio da função imina [C1=N2] devido a formação da ligação de hidrogênio intramolecular

entre o nitrogênio da imina e os hidrogênios do grupo NH₂ (Figura 37). No entanto, a posição *sin* é preferencialmente adotada conforme grupos substituintes são inseridos em N5 (CASAS, TASENDE e SORDO, 2000; HANG e BERTOZZI, 2001).

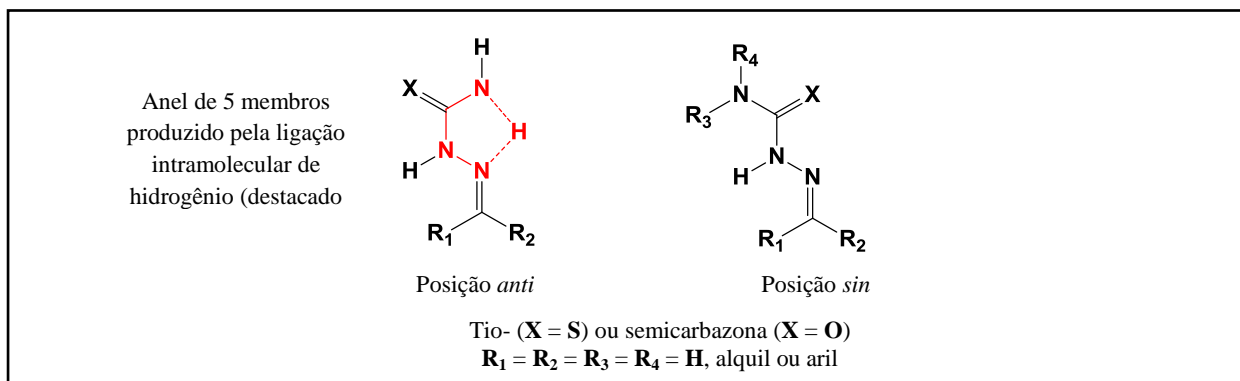


Figura 37. Posição *anti* e posição *sin* adotadas por tio- ($X = S$) ou semicarbazonas ($X = O$). Destacado em vermelho, a formação do anel de cinco membros devido à ligação de hidrogênio intramolecular na posição *anti*. $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$, alquil ou aril (Baseado em TENÓRIO *et al.*, 2005)

PERVEZ e colaboradores descreveram a síntese estereosseletiva de uma série de tiossemicarbazonas substituídas em N5 derivadas da 5-nitro-isatina (PERVEZ *et al.*, 2017). A análise cristalográfica para o derivado **175** revelou que estas substâncias adotam uma conformação planar do tipo *Z* e *anti*, devido à interação entre o átomo de hidrogênio em N4H e o de oxigênio da carbonila de amida [C=O], bem como a interação entre o átomo de hidrogênio em N5H e o de nitrogênio do grupo imina da tiossemicarbazona [C=N3] (Figura 38).

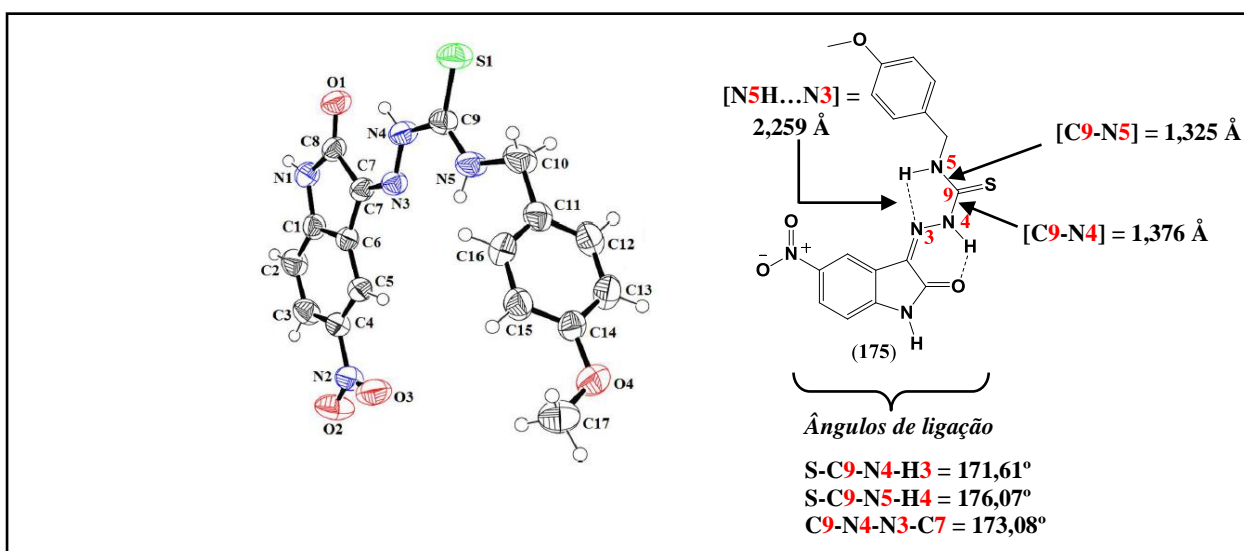


Figura 38. Estrutura cristalográfica da tiossemicarbazona **175** obtido por PERVEZ e colaboradores (Baseado em PERVEZ *et al.*, 2017)

Os comprimentos de ligação observados para N4-C9 e N5-C9 foram iguais a 1,376 Å e 1,325 Å, respectivamente, indicando que estas ligações também possuem natureza de ligação dupla. Além disso, sugerem uma possível deslocalização eletrônica dos pares de elétrons não compartilhados de N4 ligado diretamente à imina não somente em direção à tionila [C9=S] (caminho a – Figura 39), mas também em direção à carbonila da amida (caminho b – Figura 39) (PERVEZ *et al.*, 2017).

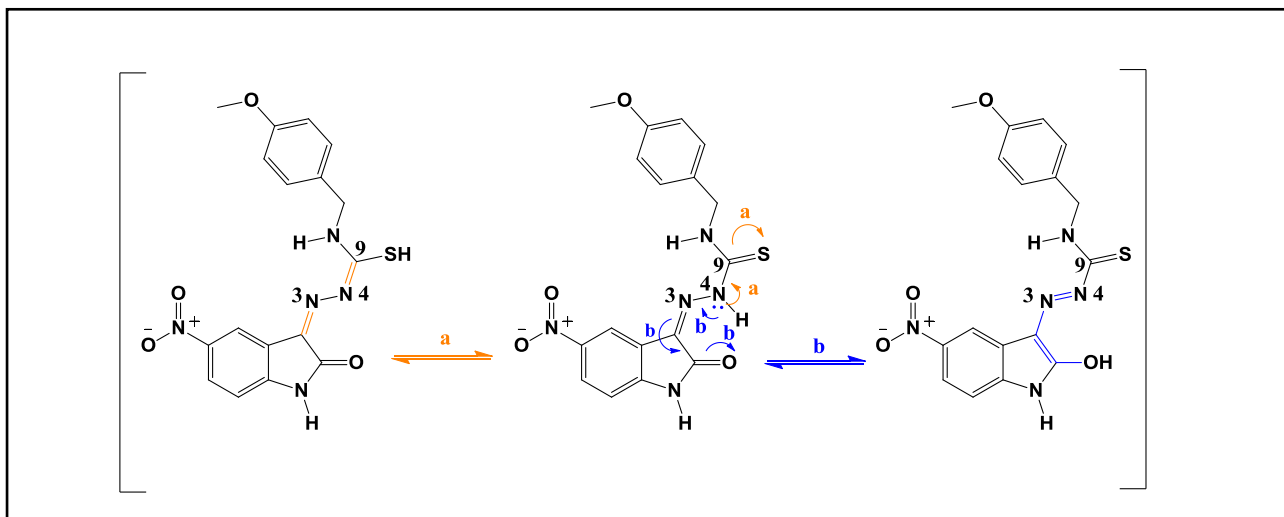


Figura 39. Ressonância dos pares de elétrons não compartilhados de N4 em direção à tionila [C9=S] (caminho a, descrito em laranja) e à carbonila da amida [C=O] (caminho b, descrito em azul)

A tiossemicarbazona contendo o núcleo indólico da isatina (**176** – Figura 40) constitui outro exemplo de como a conformação *Z* e *anti* foi preferencialmente assumida para esta classe de substâncias (ALI *et al.*, 2014).

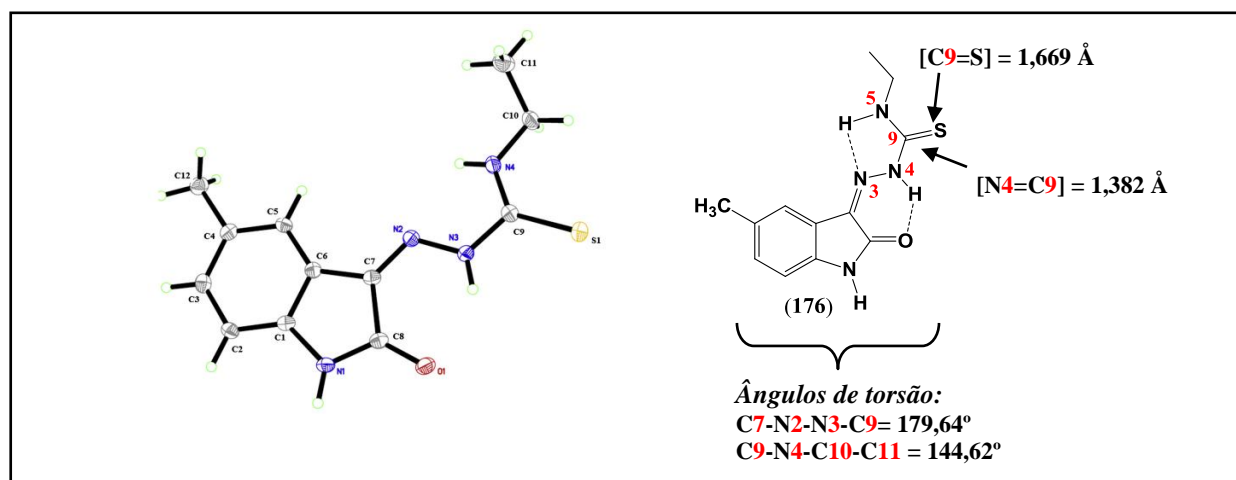


Figura 40. Estrutura cristalográfica da tiossemicarbazona **176** obtido por ALI e colaboradores (Baseado em ALI *et al.*, 2014)

A análise conformacional das tio- (**166**) e semicarbazona (**174**) sintetizadas neste trabalho, em suas formas estruturais *E/anti* e *Z/anti*, foram construídas e otimizadas no programa Spartan (Figura 41).

A diferença de energia observada entre os diastereoisômeros **166a** (*Z/anti*) e **166b** (*E/anti*) da tiossemicarbazona e os diastereoisômeros **174a** (*Z/anti*) e **174b** (*E/anti*) da semicarbazona foram, de modo respectivo, 8,85 kcal/mol e 8,37 kcal/mol. Os resultados obtidos sugerem que a conformação *Z/anti* foi, preferencialmente, adotada por estes compostos.

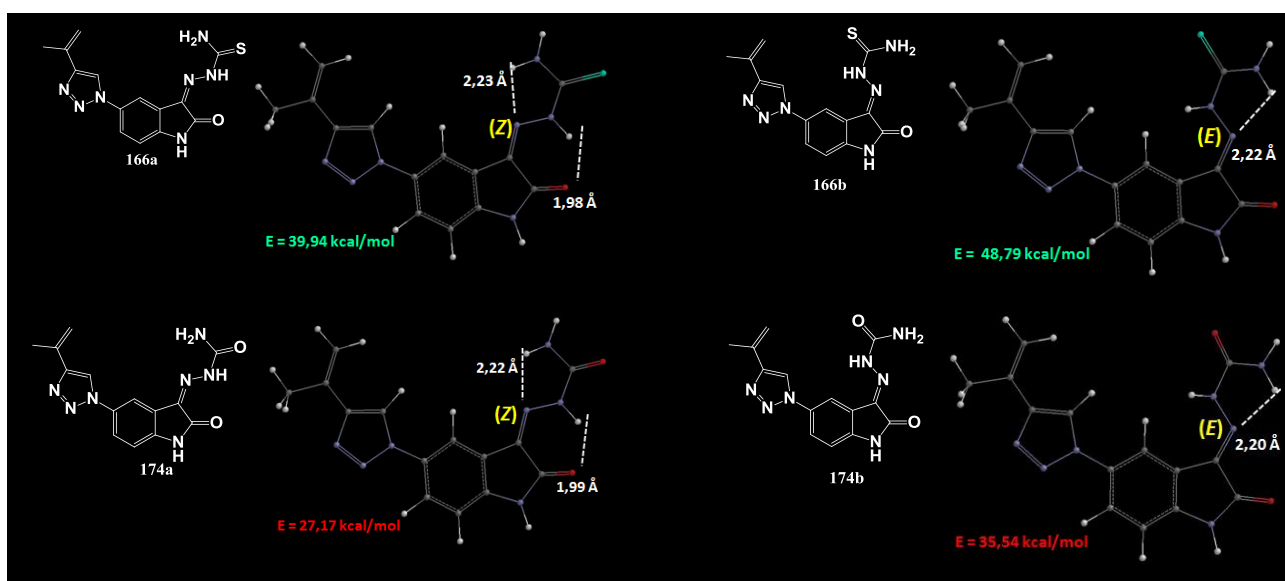


Figura 41. Análise conformacional das tio- (**166a-b**) e semicarbazona (**174a-b**) em suas conformações *E/anti* e *Z/anti*. As estruturas foram construídas e otimizadas no programa Spartan (<https://www.wavefun.com/>) e submetidas à análise conformacional sistemática por mecânica molecular, usando o campo de força MMFF94

4.3.1. Análise dos dados espectroscópicos e espectrométricos dos derivados tio- (**159-166**) e semicarbazonas (**167-174**) da 5'-(4-alquil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona

4.3.1.1. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H)

Somente um dos isômeros foi observado nos espectros de RMN ¹H dos derivados tiossemicarbazonas (**159-166**) da 5'-(4-alquil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona. A Tabela 15 reúne os principais sinais presentes no espectro de RMN ¹H para este conjunto de substâncias.

Tabela 15. Dados de RMN ^1H das tiossemicarbazonas (**159-166**) derivadas dos 5'-(4-alkuil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona

Composto	δ H8 (triazol)	δ N-H (amida)	δ NH (TCZ*)	δ NH ₂ (TCZ)	
				NH	NH
159	9,22 (sl, 1H)	11,48 (sl, 1H, NH)	12,39 (sl, 1H)	9,17 (sl, 1H, NH)	8,89 (sl, 1H, NH)
160	8,51 (sl, 1H)	11,37 (sl, 1H, NH)	12,31 (sl, 1H)	9,11 (sl, 1H, NH)	8,81 (sl, 1H, NH)
161	8,42 (sl, 1H)	11,40 (sl, 1H, NH)	12,35 (sl, 1H)	9,12 (sl, 1H, NH)	8,83 (sl, 1H, NH)
162	8,45 (sl, 1H)	11,42 (sl, 1H, NH)	12,36 (sl, 1H)	9,14 (sl, 1H, NH)	8,85 (sl, 1H, NH)
163	8,45 (sl, 1H)	11,43 (sl, 1H, NH)	12,38 (sl, 1H)	9,16 (sl, 1H, NH)	8,86 (sl, 1H, NH)
164	8,62 (sl, 1H)	11,44 (sl, 1H, NH)	12,34 (sl, 1H)	9,11 (sl, 1H, NH)	8,82 (sl, 1H, NH)
165	8,42 (sl, 1H)	11,41 (sl, 1H, NH)	12,36 (sl, 1H)	9,13 (sl, 1H, NH)	8,83 (sl, 1H, NH)
166	8,79 (sl, 1H)	11,41 (sl, 1H, NH)	12,34 (sl, 1H)	9,11 (sl, 1H, NH)	8,82 (sl, 1H, NH)

* TCZ = tiossemicarbazona

O hidrogênio do grupo [N=NH] da tiossemicarbazona possui deslocamento químico em campo mais baixo do que o hidrogênio da amida, 12 e 11 ppm, de modo respectivo. Ou seja, o N=NH é mais desblindado do que o NH da amida. Este mesmo comportamento químico foi descrito por Pervez (PERVEZ *et al.*, 2017) e Ali (ALI *et al.*, 2014), em trabalhos independentes, para as tiossemicarbazonas isatínicas.

Foram observados sinais distintos no RMN ^1H (9,1 ppm e 8,8 ppm) para o NH₂ das tiossemicarbazonas **159-166**, provavelmente devido à natureza parcialmente dupla da ligação entre os átomos de nitrogênio do grupo NH₂ e o carbono da tionila [C=S]. Desta forma, os hidrogênios presentes neste grupo tornam-se diastereotópicos (TARASCONI *et al.*, 2000; JOUAD *et al.*, 2001). Já os hidrogênios em [H8] do anel 1,2,3-triazólico foi confirmado na faixa que compreende aos deslocamentos químicos entre 9,2 e 8,4 ppm.

A Figura 42 mostra o RMN ^1H da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**), a título de exemplificação. Além dos sinais descritos anteriormente, foram observados um duplete em δ 8,2, área 1 e constante de acoplamento (*J*) igual a 3 Hz (acoplamento em *meta*), ainda um duplo duplete em δ 7,7, área 1 e *J* igual a 3 Hz e 6 Hz (acoplamento *meta* e *orto*) e um duplete em δ 7,0, área 1 e *J* igual a 6 Hz (acoplamento em *orto*). Estes sinais correspondem aos hidrogênios aromáticos do núcleo indólico da isatina. Já os sinais dos hidrogênios da porção alifática encontram-se entre 3 e 0,5 ppm como um tripete (δ 2,7, 2H, *J* = 6 Hz), um quinteto (δ 1,6, 2H, *J* = 6 Hz), um multiplete (δ 1,36-1,33, 4H) e um tripete (0,89, 3H, *J* = 6 Hz).

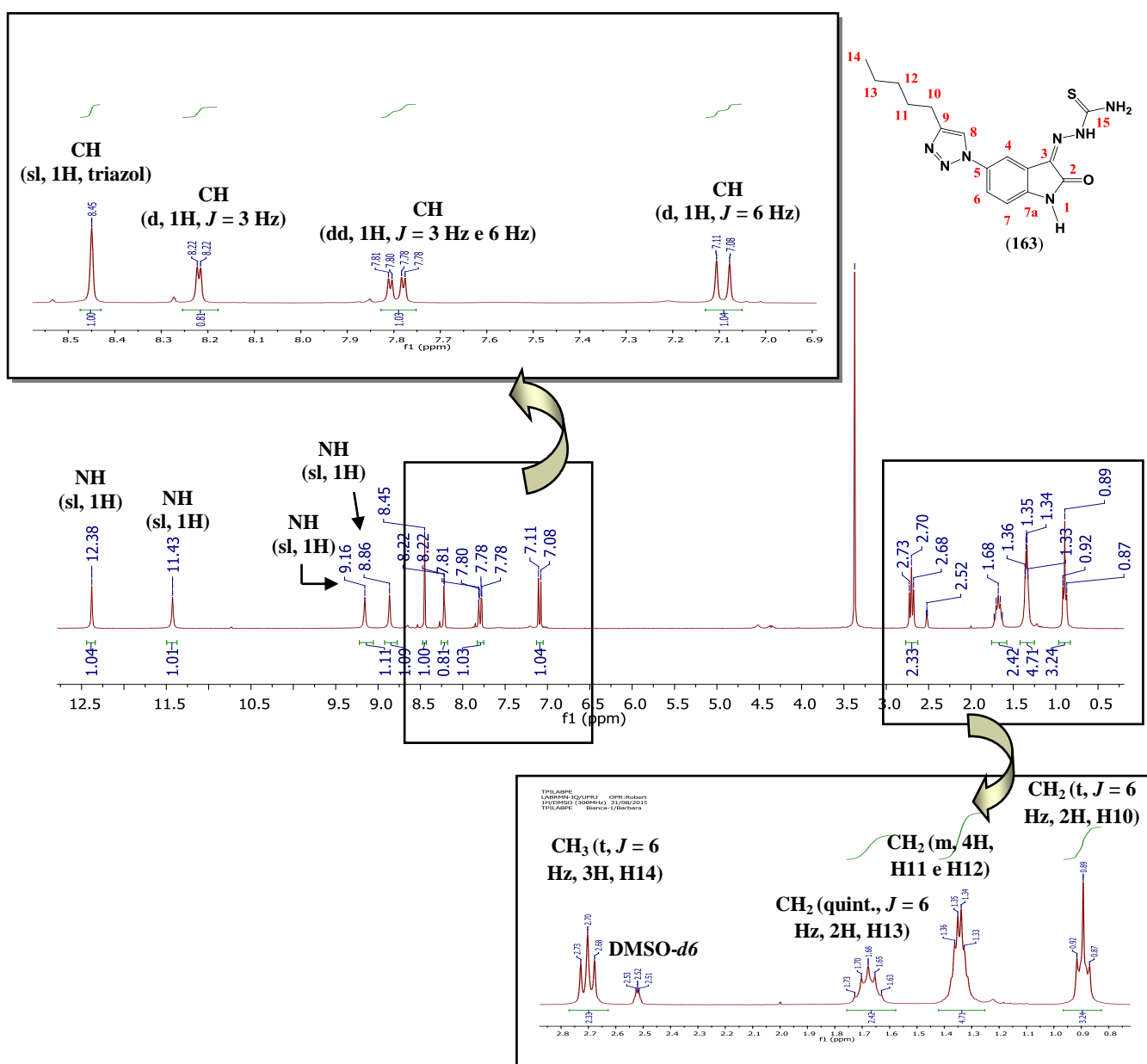


Figura 42. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**)

Apesar da reação de síntese do grupo tiossemicarbazona ter sido estereosseletiva, o mesmo não ocorreu para a reação de formação do grupo semicarbazona, de modo que os espectros de RMN ^1H para os derivados **167-174** evidenciou a presença de isômeros.

Por exemplo, no espectro de RMN ^1H da (*Z,E*)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**167** – Figura 43) eram esperados um total de 13 hidrogênios, contudo foram observados ao todo 26 hidrogênios. Ademais, os sinais correspondentes aos NH da amida e do grupo semicarbazona [N=NH], bem como o do hidrogênio triazólico [H8] encontram-se duplicados com deslocamentos químicos correspondentes a 11,71 ppm (sl, 1H), 11,38 ppm (sl, 1H), 11,01 ppm (sl, 1H), 10,61 ppm (sl, 1H), 9,23 ppm (sl, 1H) e 9,16 ppm (sl, 1H), respectivamente. Dois simpletos largos com área igual a 2 foram observados em 7,27 ppm e 6,9 ppm e correspondem, de modo respectivo, ao grupo NH_2 da semicarbazona **167** e de seu isômero.

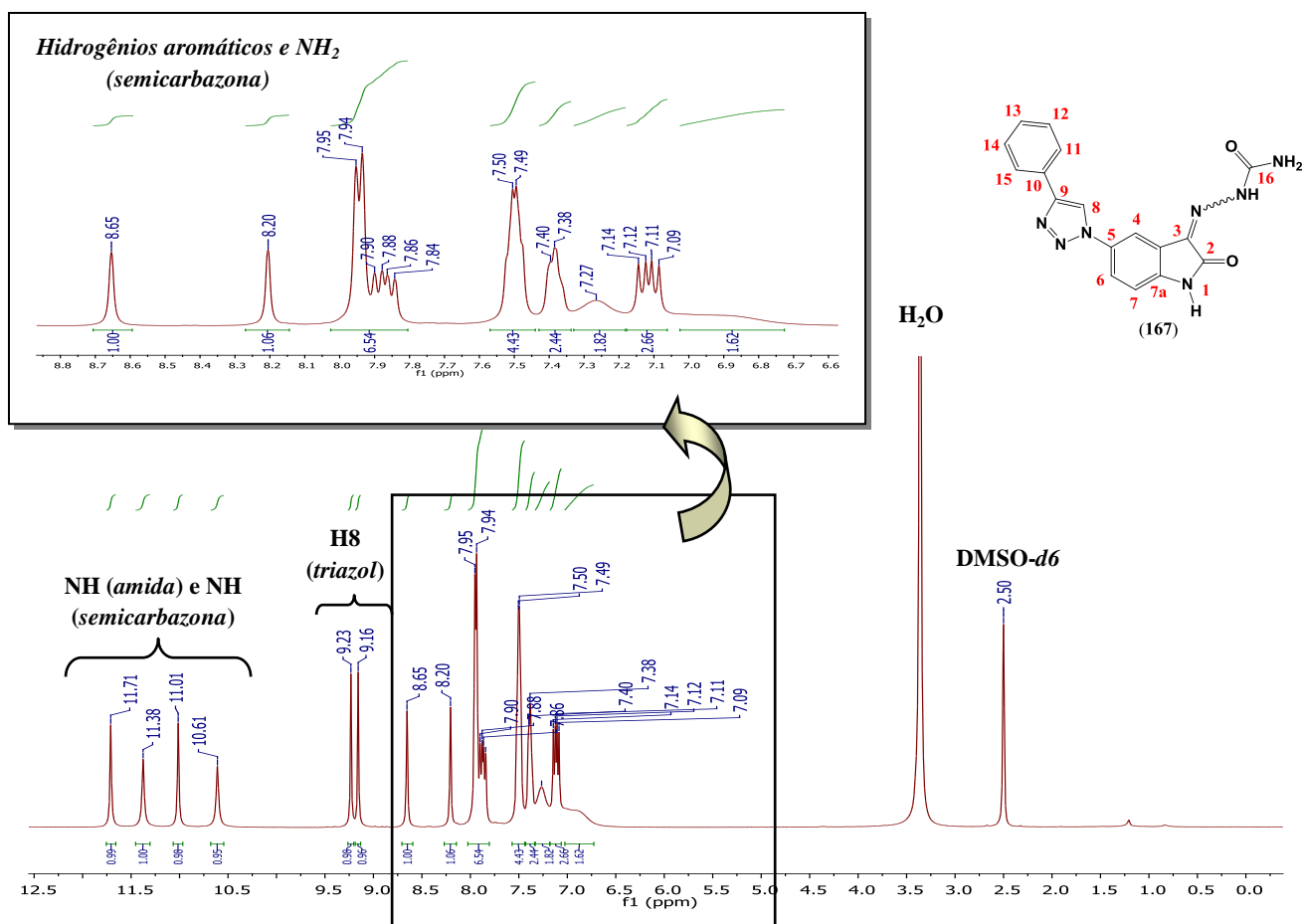


Figura 43. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*Z,E*)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**167**) a 298 K (25 °C)

O RMN ^1H para a (*Z,E*)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**167**) foi obtido em diferentes temperaturas. A Figura 44 mostra a visão ampliada da região entre 12 ppm e 9 ppm, onde se encontram os hidrogênios do NH da amida, do grupo semicarbazona [N=NH] e do triazol [H8] a 298 K (25 °C – **A**), 313 K (40 °C – **B**), 333 K (60 °C – **C**) e 352 K (80 °C – **D**).

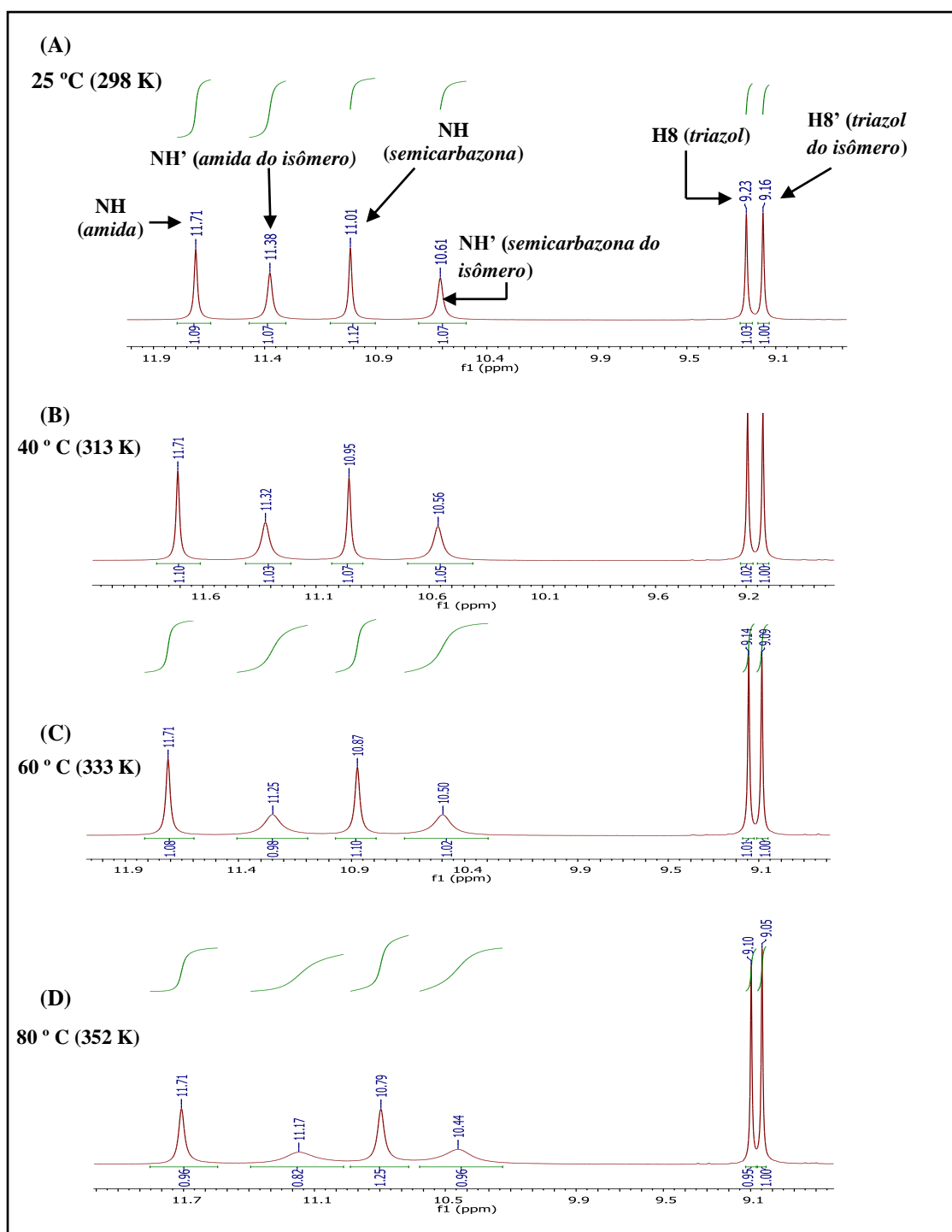


Figura 44. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*Z,E*)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**167**) a 298 K (25 °C – **A**), 313 K (40 °C – **B**), 333 K (60 °C – **C**) e 352 K (80 °C – **D**). Visão ampliada da região entre 12 ppm e 9 ppm

Conforme houve um aumento na temperatura fornecida ao sistema, houve uma pequena variação na relação de área referente aos hidrogênios dos isômeros do composto **167**. O pico do hidrogênio do anel do 1,2,3-triazol [H8] foi o escolhido para os cálculos de proporção entre os isômeros (Tabela 16).

Tabela 16. Relação entre as áreas dos hidrogênios dos isômeros do composto **167** a 298 K (25 °C), 313 K (40 °C), 333 K (60 °C) e 352 K (80 °C)

<i>Temperatura K (°C)</i>	<i>Área do H8 triazol</i>	<i>Área do H8 triazol (isômero)</i>	<i>Relação entre as áreas (Z/E)</i>
298 K (25 °C)	1,03	1,00	50,7:49,3
313 K (40 °C)	1,02	1,00	50,5:49,5
333 K (60 °C)	1,01	1,00	50,2:49,8
352 K (80 °C)	0,95	1,00	48,7:51,3

A Figura 45 mostra uma visão ampliada da região entre 9 e 6 ppm do espectro de RMN ¹H do derivado **167** a 298 K (25 °C – **A**), 313 K (40 °C – **B**), 333 K (60 °C – **C**) e 352 K (80 °C – **D**). Conforme a temperatura aumentou, houve a mudança evidente do deslocamento químico observado para os hidrogênios do grupo NH₂ da semicarbazona e de seu isômero. A 298 K (25 °C) os hidrogênios desse grupo apresentaram-se como simpletos largos em 7,27 ppm e aproximadamente 6,95 ppm, respectivamente.

Quando a temperatura foi de 313 K (40 °C), os sinais mudaram para 7,20 ppm e 6,89 ppm. Já a 333 K (60 °C) um dos sinais coincidiu com os hidrogênios do anel aromático que mostram-se como multipletos entre 7,15 ppm e 7,09 ppm, e o outro apareceu em 6,81 ppm. Ainda a 352 K (80 °C) estes hidrogênios surgem a 7,03 ppm e 6,74 ppm (Tabela 17). Os demais sinais não sofreram deslocamento químico significativo conforme o aumento da temperatura.

Tabela 17. Deslocamentos químicos (δ) dos hidrogênios do grupo NH₂ da semicarbazona **167** e de seu isômero a 298 K (25 °C), 313 K (40 °C), 333 K (60 °C) e 352 K (80 °C)

<i>Temperatura K (°C)</i>	<i>δ NH₂ semicarbazona^a</i>	<i>δ NH₂ semicarbazona (isômero)</i>
298 K (25 °C)	7,27	6,95
313 K (40 °C)	7,20	6,89
333 K (60 °C)	-	6,81
352 K (80 °C)	7,03	6,74

^a A 333 K (60 °C) o sinal correspondente ao grupo NH₂ coincidiu com os hidrogênios do anel aromático que mostram-se como multipletos entre 7,15 ppm e 7,09 ppm.

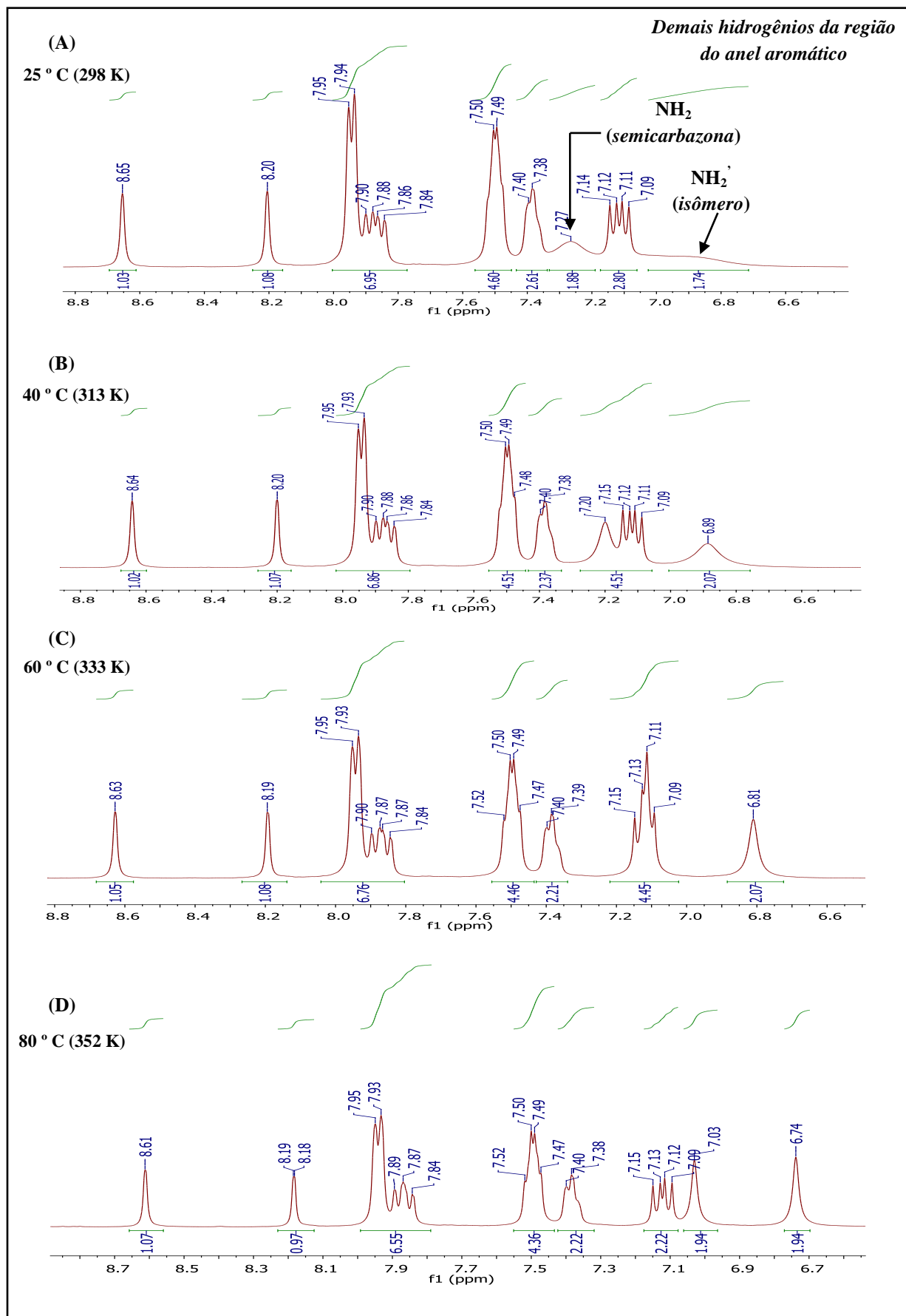


Figura 45. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z,E)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**167**) a 298 K (25 ° C – A), 313 K (40 ° C – B), 333 K (60 ° C – C) e 102 352 K (80 ° C – D). Visão ampliada da região entre 9 ppm e 6 ppm

A Figura 46 mostra o espectro de RMN ^1H da semicarbazona **167**, no qual uma proporção de 86:14 entre os isômeros foi observada, ou seja, a prevalência de 6 vezes de um dos isômeros em relação ao outro. A temperatura da RMN ^1H , neste caso, não foi monitorada, mas a comparação deste espectro de RMN ^1H com os espectros de RMN ^1H obtidos para o mesmo composto a 298 K (25 °C), 313 K (40 °C), 333 K (60 °C) e 352 K (80 °C – Figura 44), no qual a relação isomérica foi, de modo respectivo, 50,7:49,3, 50,5:49,5, 50,2:49,8 e 48,7:51,3 (Tabela 16), revelou que a temperatura de análise para o RMN ^1H da Figura 46 foi superior a 80 °C.

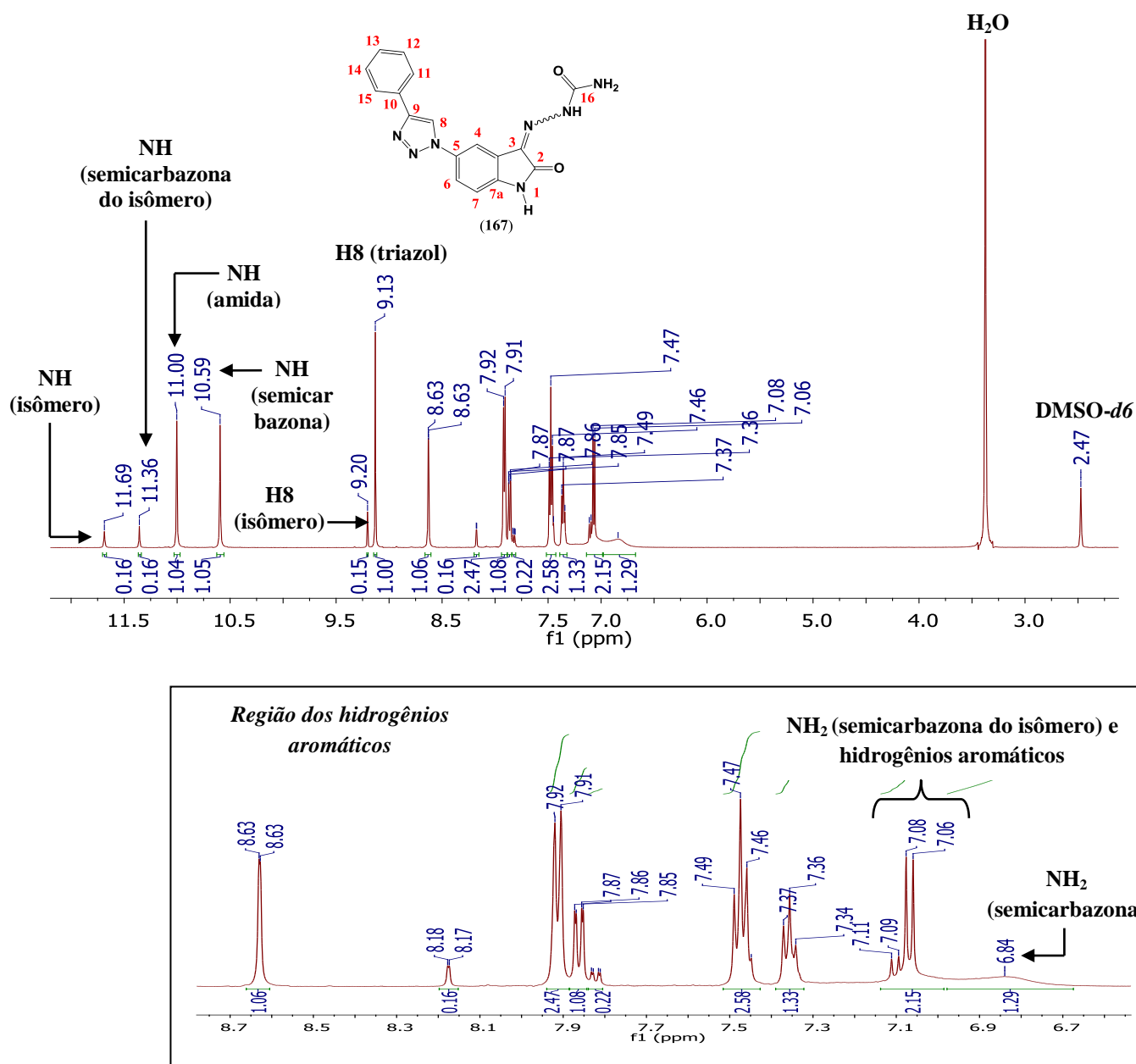


Figura 46. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) da (Z,E)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**167**)

A razão diastereoisomérica das semicarbazonas (**167-174**) foi determinada por RMN ¹H através das proporções dos valores de integrações dos sinais referente ao hidrogênio do núcleo triazólico [H8], sendo então determinada a relação isomérica (Tabela 18).

Tabela 18. Dados de RMN ¹H dos derivados semicarbazona (**167-174**) dos 5'-(4-alkil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona e seus isômeros

<i>Composto</i>	<i>δH8 (triazol)</i>	<i>δH8 (triazol do isômero)</i>	<i>Proporção entre os isômeros</i>
167	9,13	9,20	86:14
168	8,57	8,67	50:50
169	8,46	8,62	93:6
170	8,47	8,56	95:5
171	8,46	8,48	85:15
172	8,66	no	-
173	8,45	8,64	92:8
174	8,76	no	-

*no = não observado

4.3.1.2. Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³C)

Apenas um isômero foi observado nos espectros de RMN ¹³C obtidos para as tiossemicarbazonas (**159-166**). Estas substâncias apresentam sinais característicos do grupo tionila [C=S] por volta de 179 ppm e do grupo amídico em torno de 163 ppm (Tabela 19).

Estes sinais também foram descritos por PERVEZ (PERVEZ *et al.*, 2017) e ALI (ALI *et al.*, 2014) em seus trabalhos de obtenção de tiossemicarbazonas contendo o núcleo da isatina.

O sinal de CH do 1,2,3-triazol pode ser visto entre 118 ppm e 121 ppm. Já o carbono da imina [C=N] pode ser observado entre 162 ppm e 163 ppm.

Tabela 19. Dados de RMN ^{13}C das tiossemicarbazonas (**159-166**) derivadas dos 5'-(4-alkil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona

<i>Composto</i>	δ C8 (triazol)	δ C=O (amida)	δ C=N (imina)	δ C=S (TCZ)
159	120,24	163,27	147,77	179,37
160	121,40	162,23	149,65	179,34
161	120,05	162,63	147,86	178,80
162	120,62	163,24	148,63	179,35
163	120,04	162,70	148,13	178,86
164	121,79	163,22	149,47	179,34
165	118,87	162,63	153,19	178,82
166	120,09	163,25	148,88	179,35

A Figura 47 mostra o RMN ^{13}C da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**). Os carbonos da cadeia alifática possuem deslocamentos químico correspondentes a 30,83 (CH₂), 28,51 (CH₂), 24,99 (CH₂), 21,88 (CH₂) e 13,88 (CH₃).

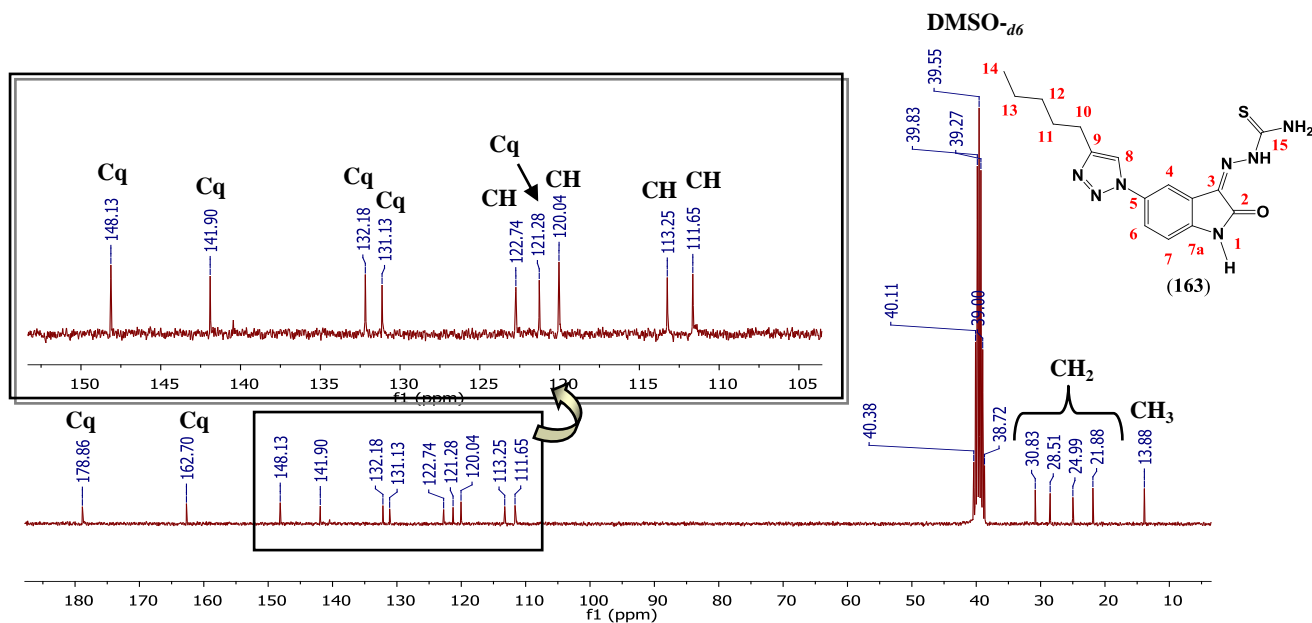


Figure 47. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*₆) da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**)

O espectro de RMN ^{13}C obtido para as semicarbazonas revelou a presença da mistura de diastereoisômeros. Por exemplo, a semicarbazona **167** possui 17 carbonos em sua estrutura. No entanto, os carbonos aromáticos [C12] e [C14] possuem o mesmo ambiente químico, e portanto, o mesmo deslocamento no RMN ^{13}C . O mesmo ocorre aos carbonos [C11] e [C15].

Sendo assim, 15 sinais eram esperados no espectro de RMN ^{13}C deste composto (Figura 48). Contudo, 28 picos foram observados no RMN ^{13}C evidenciando a mistura de isômeros.

Os carbonos quaternários (Cq) foram diferenciados dos CH, CH₂ e CH₃ com o auxílio do DEPT-135. A Tabela 20 mostra os sinais diagnósticos observados para as semicarbazonas **167** a **174**.

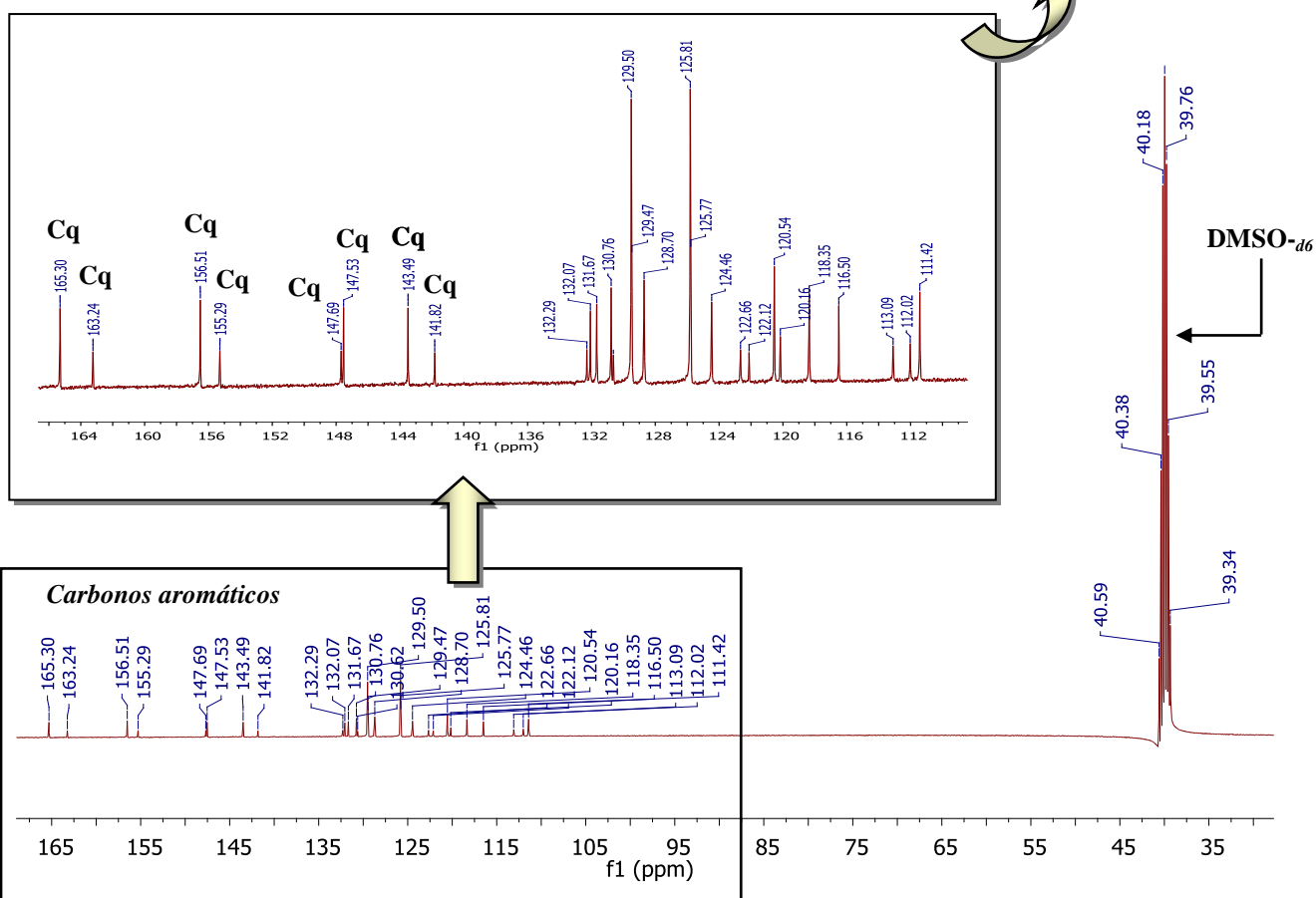
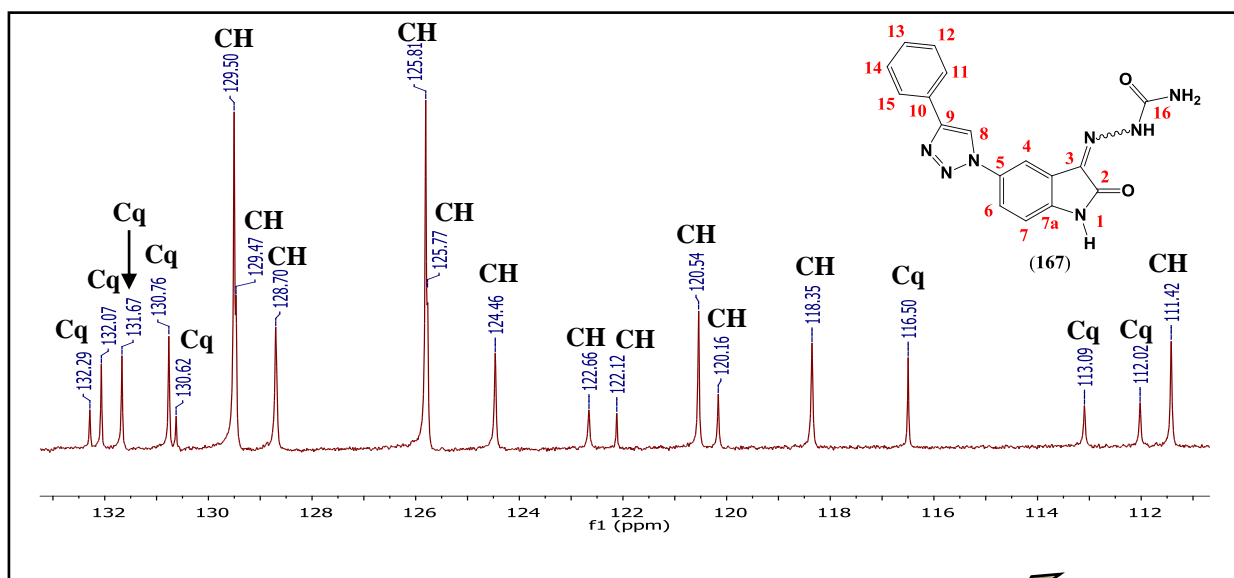


Figure 48. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) da (Z,E)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (167)

Tabela 20. Dados de RMN ^{13}C dos derivados semicarbazona (**167-174**) dos 5'-(4-alkil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona e seus isômeros

<i>Composto</i>	δ C8 (triazol)	δ C8 (triazol do isômero)	δ C=O (amida)	δ C=O (amida do isômero)	δ C=N (imina)	δ C=N (imina do isômero)	δ C=O (SCZ)*	δ C=O (SCZ do isômero)
167	120,54	120,16	165,30	163,24	147,63	147,53	156,51	155,29
168	121,78	121,46	165,42	163,28	149,59	149,50	156,59	155,45
169	120,71	no**	163,34	no	148,42	no	155,42	no
170	120,92	120,63	163,34	163,31	148,58	148,37	156,64	no
171	120,31	120,01	164,75	162,74	148,05	147,84	156,20	154,85
172	121,92	121,56	162,76	no	148,91	no	154,84	no
173	121,94	121,51	162,72	no	141,02	no	154,85	153,20
174	120,35	no	165,35	no	148,63	no	156,57	no

* SCZ = semicarbazona

**no = não observado

4.3.1.3. Ressonância Magnética Nuclear Bidimensional (RMN 2D)

Somente um dos isômeros da tiossemicarbazona foi observado como produto através do RMN ^1H , RMN ^{13}C e RMN 2D como esperado.

Dentre as técnicas de RMN 2D, existe a NOESY (*Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy*). A NOESY é uma poderosa ferramenta de RMN de ^1H bidimensional que relaciona os prótons que acoplam entre si através do espaço, em geral em distância inferior a 4 Å. (BLANCO *et al.*, 1993; KAISER, 2000).

A NOESY foi empregada com o intuito de observar a correlação espacial existente entre o hidrogênio do anel aromático do núcleo indólico [H4] e o hidrogênio do NH do grupo tiossemicarbazona [H3], caso a conformação adotada para as tiossemicarbazonas obtidas na Tese fosse a *E/anti* (Figura 49).

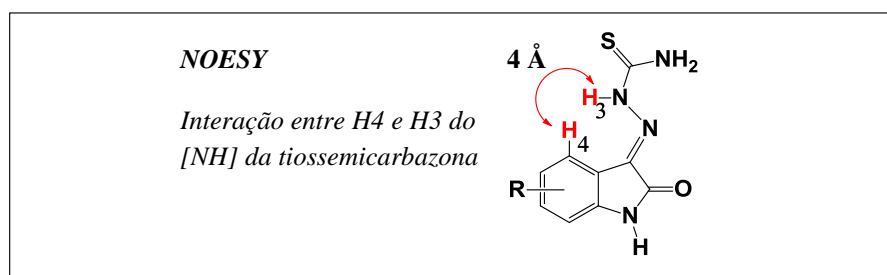


Figura 49. Provável correlação observada na NOESY entre o hidrogênio aromático H4 e o H3 do NH presente no grupo tiossemicarbazona nos derivados obtidos na Tese

A Figura 50 mostra o espectro de NOESY obtido para a tiossemicarbazona **163**. Neste espectro, foram encontradas correlações entre os hidrogênios do grupo NH_2 que possuem sinais distintos no RMN ^1H (9,16 ppm e 8,86 ppm) devido a natureza parcialmente dupla da ligação entre os átomos de nitrogênio do grupo NH_2 e o carbono da tionila [$\text{C}=\text{S}$].

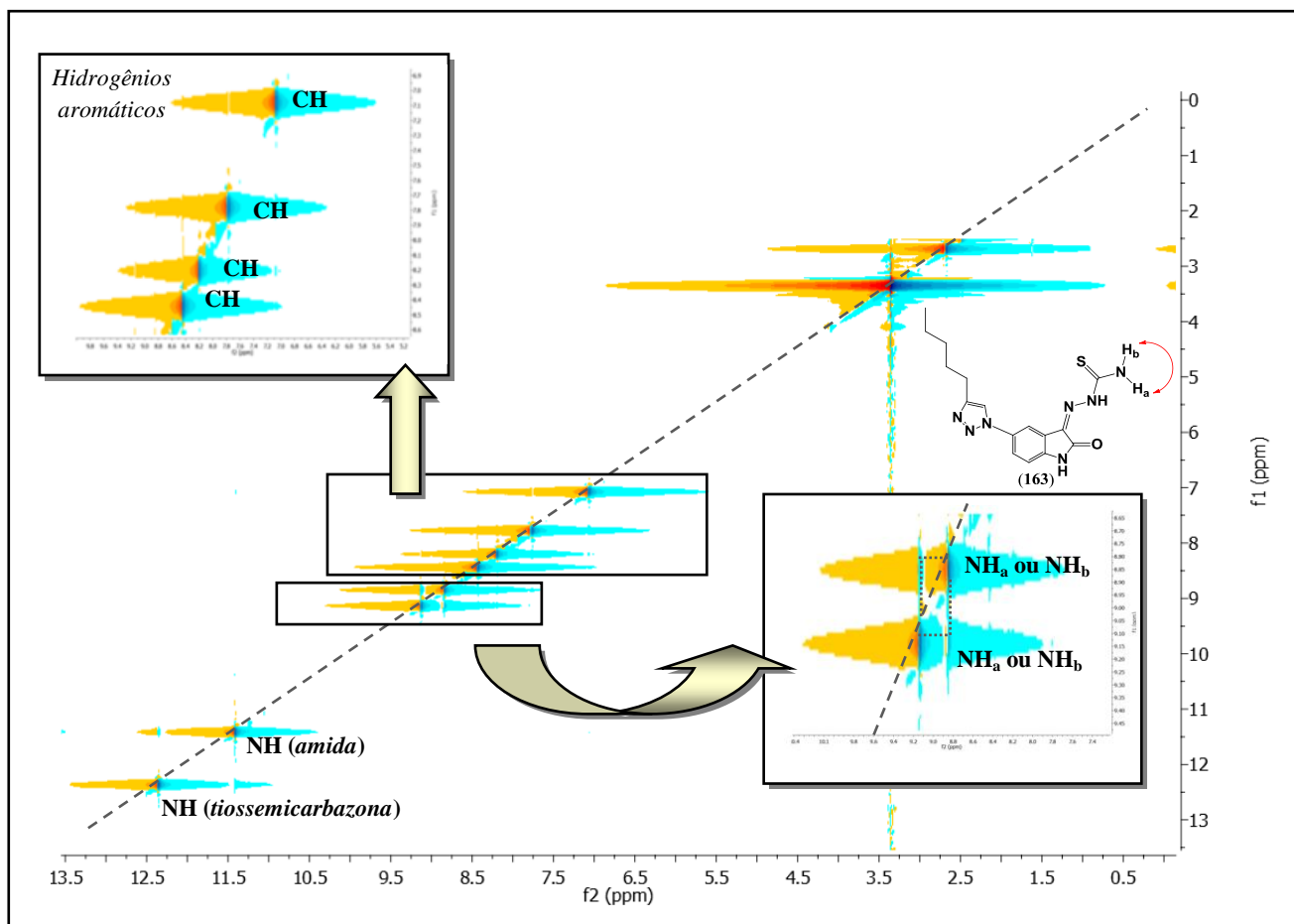


Figura 50. Espectro NOESY (Nuclear Overhauser Spectroscopy, 500 MHz, DMSO- d_6) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**)

Outras técnicas de RMN 2D foram empregadas na elucidação estrutural do composto **163**. Por exemplo, a técnica de COSY ^1H - ^1H (*homonuclear CORrelation SpectroscopY*) que é empregada quando se deseja observar as correlações entre os hidrogênios acoplados por $^{2-3}J_{\text{H,H}}$ ou $^{4-6}J_{\text{H,H}}$ e assim identificar as multiplicidades dos sinais observados no RMN ^1H (KAISER, 2000; PAVIA *et al.*, 2015).

No espectro de COSY ^1H - ^1H para a tiossemicarbazona **163** foi possível identificar a existência das seguintes correlações: H^6 (δ 7,7, dd, 1H, $J = 3$ e 9 Hz) e H^7 (δ 7,0, d, 1H, $J = 9$ Hz); H^{10} (δ 2,7, t, 2H, $J = 6$ Hz) e H^{11} (δ 1,6, quint, 2H, $J = 6$ Hz); H^{11} (δ 1,6, quint, 2H, $J = 6$ Hz) e H^{13} ou 14 e 12 (δ 1,36-1,33, m, 4H); H^{13} ou 14 e 12 (δ 1,36-1,33, m, 4H) e H^{13} ou 14 (δ 0,8, $J = 6$ Hz, 3H) (Figura 51).

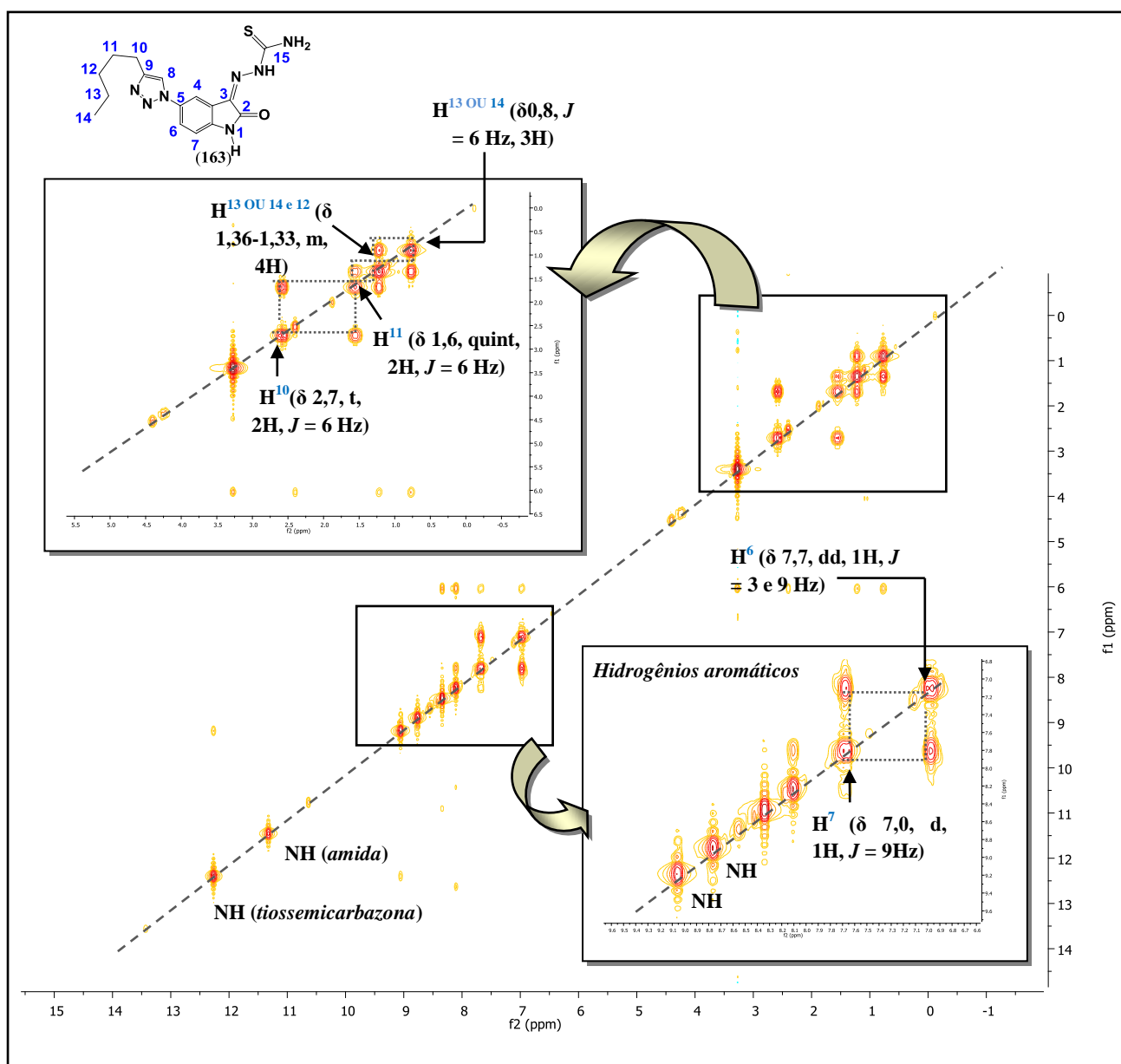


Figura 51. Espectro COSY ^1H - ^1H (*homonuclear CORrelation SpectroscopY*, 300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**)

As mesmas correlações foram observadas para o análogo do composto **163** contendo o grupo semicarbazona (**171** – Figura 52) e o seu isômero correspondente não foi observado. Assim como para o derivado descrito anteriormente, não foram observadas as correlações entre os hidrogênios acoplados com 4J , H^6 e H^4 , provavelmente devido à presença do anel triazólico na posição 5 do anel aromático.

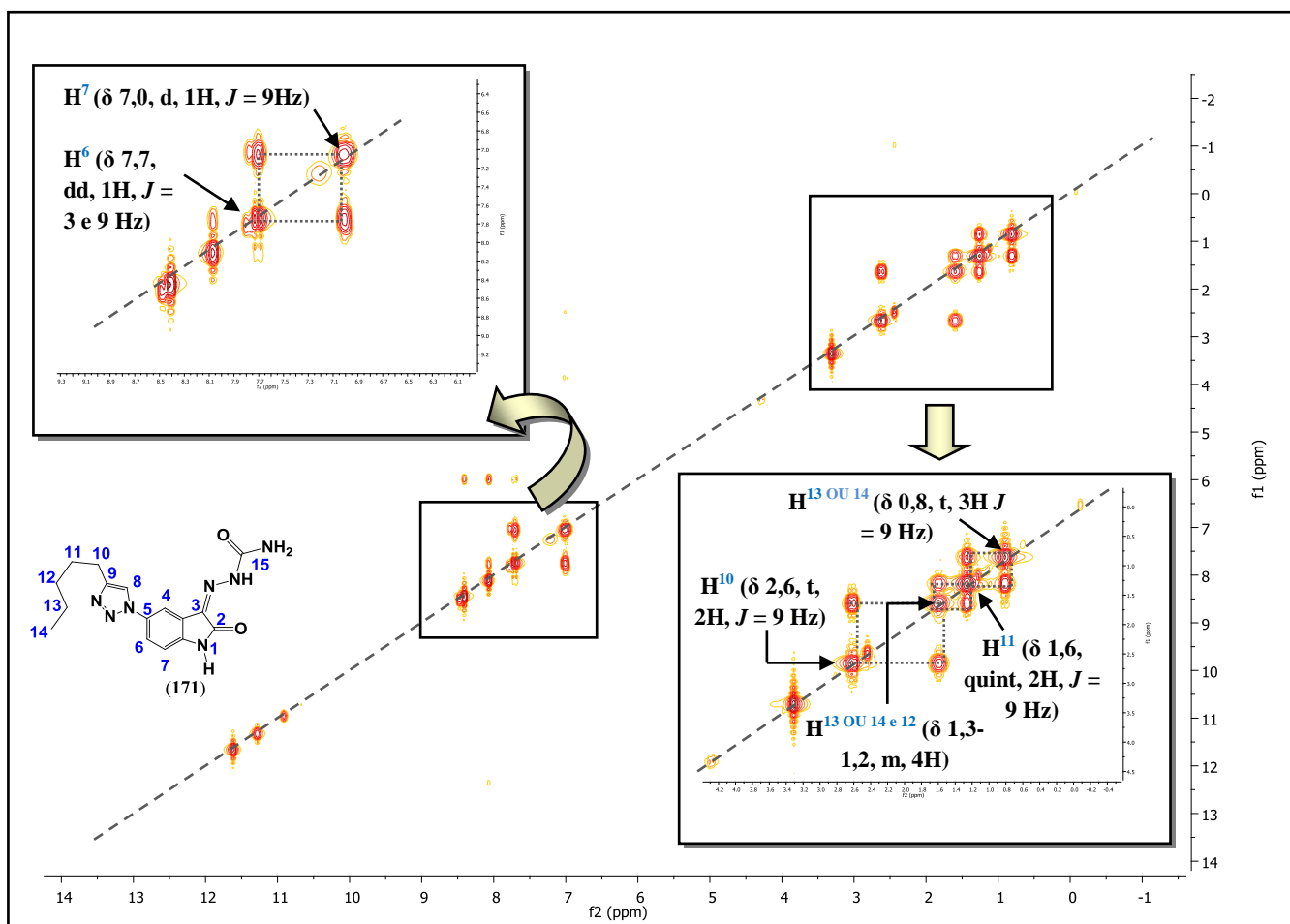


Figura 52. Espectro COSY ^1H - ^1H (*homonuclear COrrelation SpectroscopY*, 300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**171**)

Nos espectros de HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) foi possível o estudo das correlações entre os carbonos e hidrogênios com $^{2-3}J_{\text{C,H}}$ existentes nas tio- (**163** – Figura 53) e semicarbazona (**171** – Figura 54).

A análise por HMBC revelou que ambas as substâncias, **163** e **171**, possuem as mesmas correlações entre os carbonos e hidrogênios, de modo que o hidrogênio ligado ao carbono 6 [H^6] correlaciona-se com os carbonos em [CH^7] e [Cq^5]. Já o hidrogênio em H^7 correlaciona com os carbonos [CH^6] e [Cq^7].

Ainda, os hidrogênios da amida [NH] e do triazol [H^{H}] correlacionam, de modo respectivo, com os carbonos [C^7] e [Cq^9].

No que se refere à cadeia alifática, as correlações entre H^{11} e Cq^9 , CH_2^{12} e CH_2^{10} , bem como a existente entre H^{13} ou 14 e CH_2^{12} e CH_2^{10} , H^{13} ou 14 e CH_2^{10} e CH_2^{12} foram observadas. No entanto, não foram observadas algumas correlações esperadas, por exemplo, entre H^{13} ou 14 e CH_3^{14} .

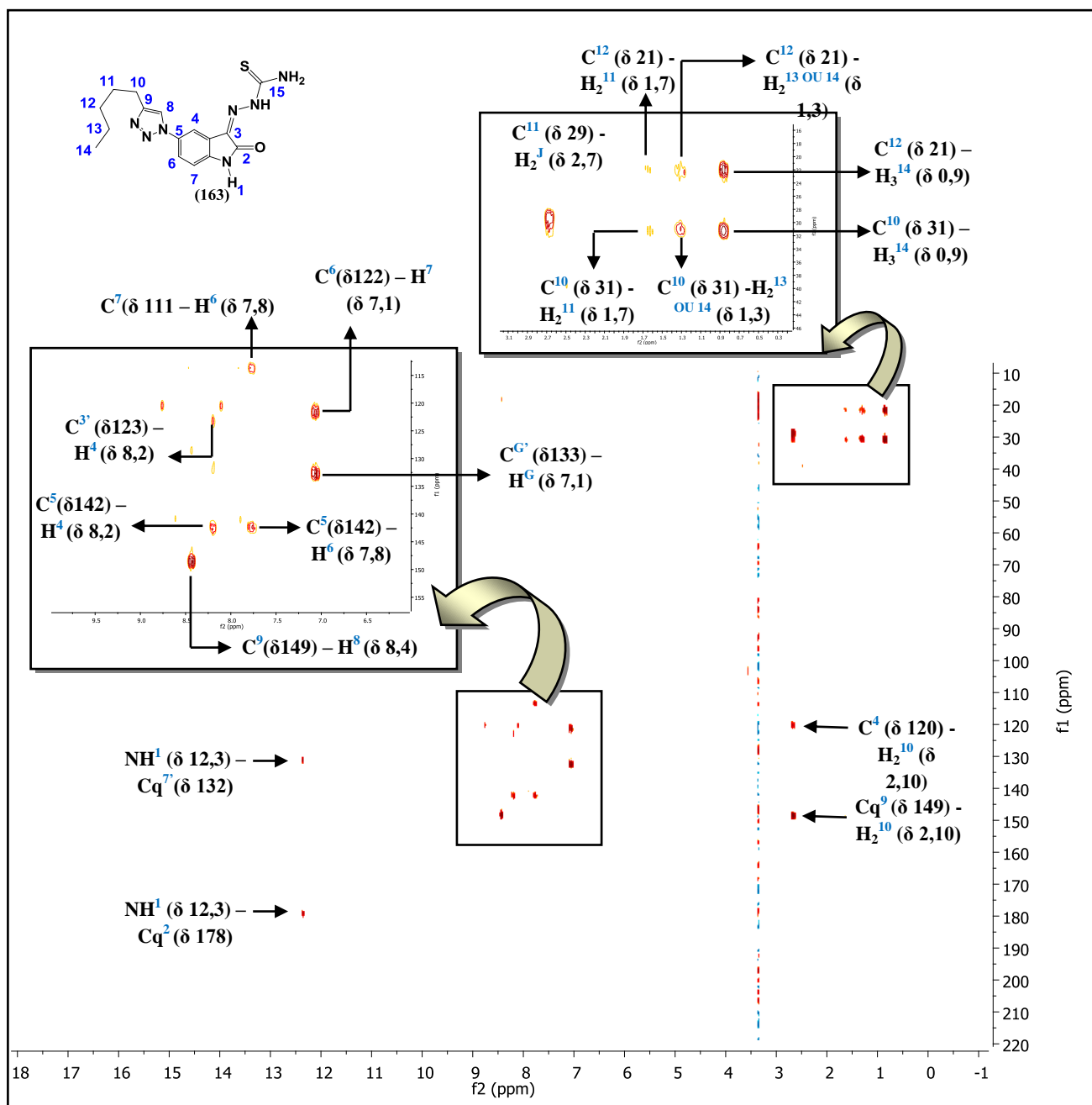


Figura 53. Espectro HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation, 300 MHz, $DMSO-d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**)

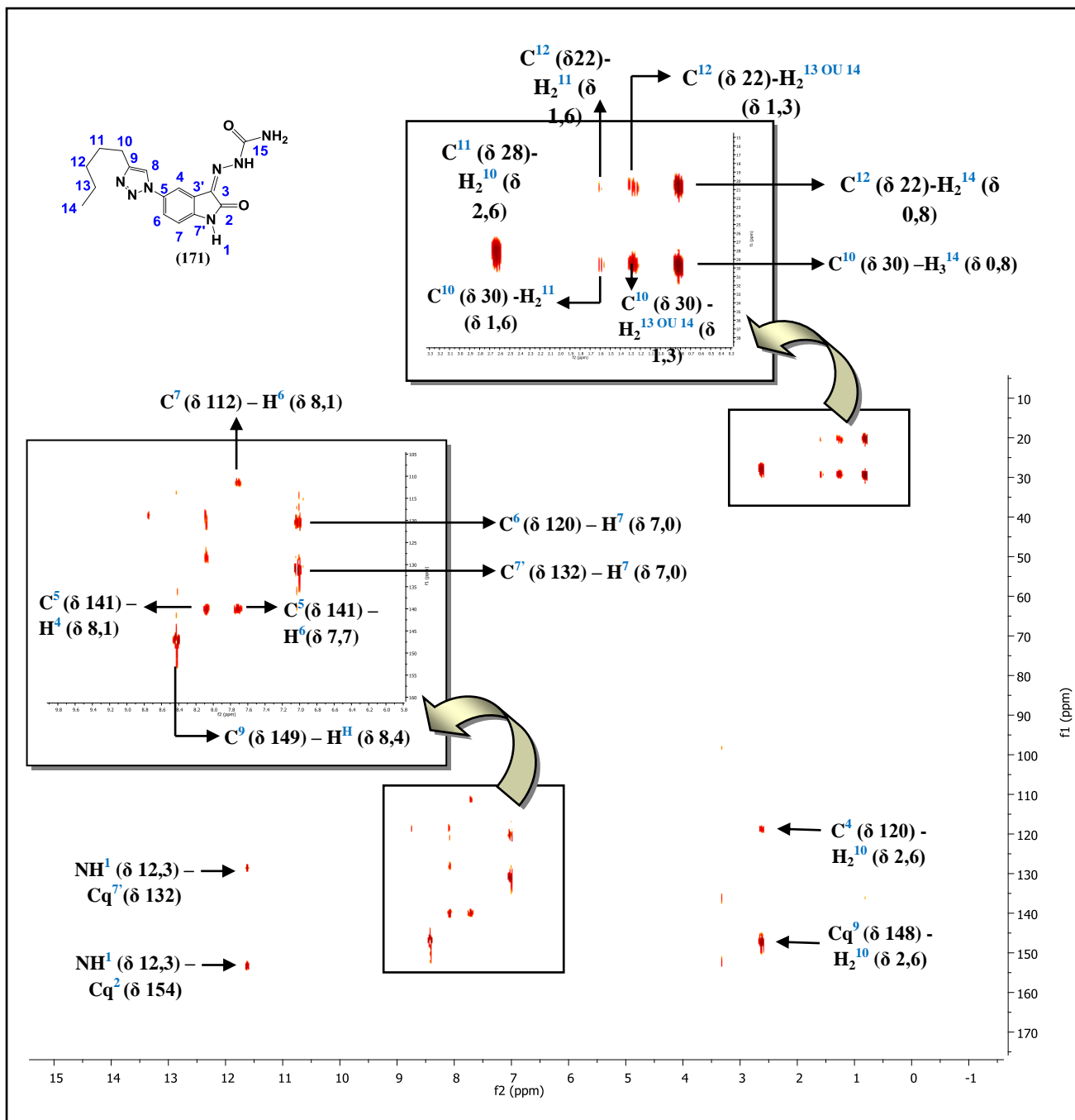


Figura 54. Espectro HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*, 300 MHz, DMSO-*d*₆) da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**171**)

A técnica de HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*), assim como a HMBC, permite a análise das correlações que existem entre carbonos e hidrogênios de uma determinada estrutura molecular. No entanto, somente são observadas as correlações entre os núcleos com $^1J_{C,H}$, ou seja, entre os carbonos e os hidrogênios diretamente ligados (KAISER, 2000; PAVIA *et al.*, 2015).

Os espectros de HMQC para a tio- (**163** – Figura 55) e semicarbazona (**171** – Figura 56) também mostraram o mesmo perfil espectroscópico e auxiliaram na atribuição dos carbonos e hidrogênios observados no RMN ^1H e de ^{13}C discutidos na sessão 4.3.1.1 e 4.3.1.2.

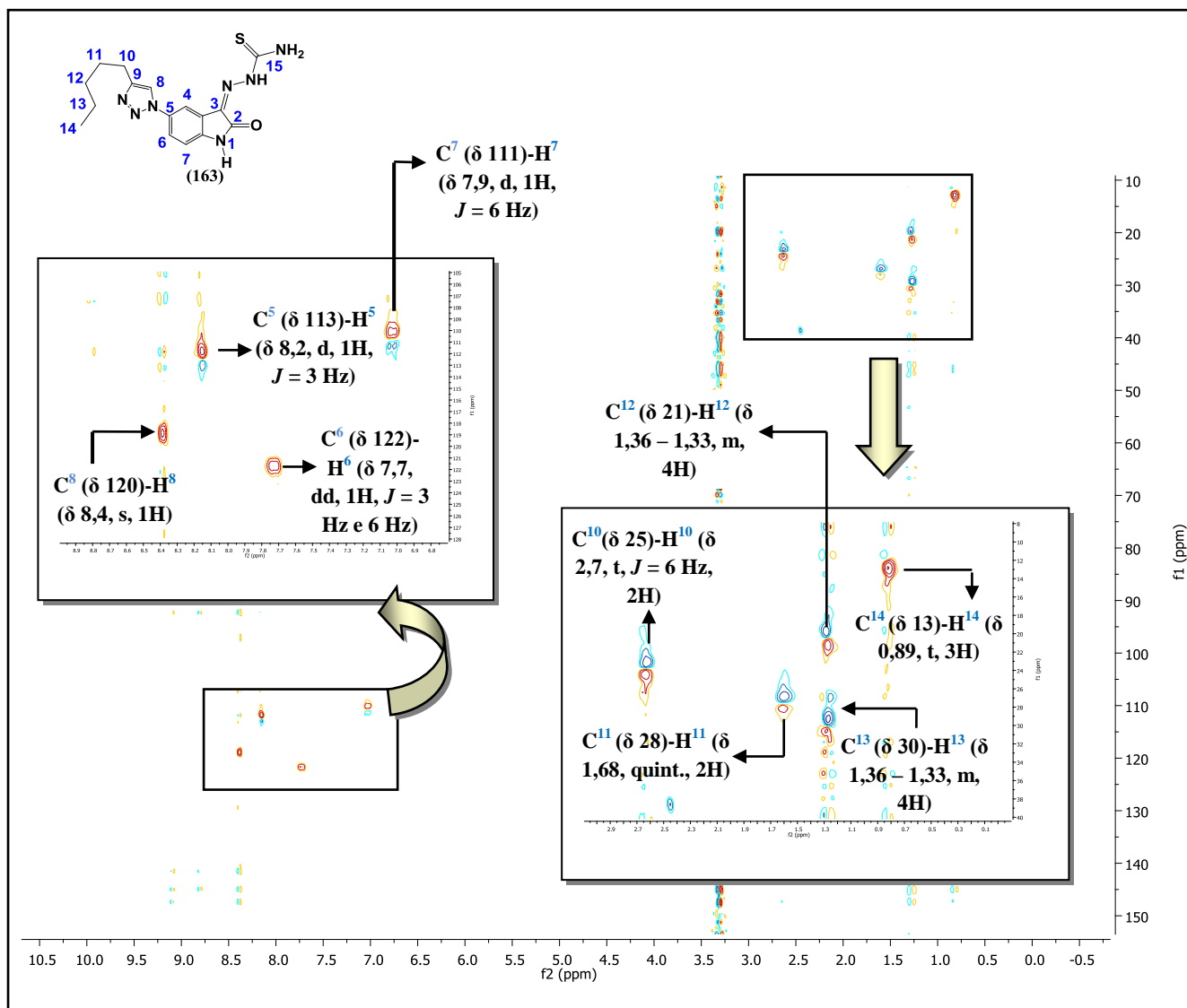


Figura 55. Espectro HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence, 300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**)

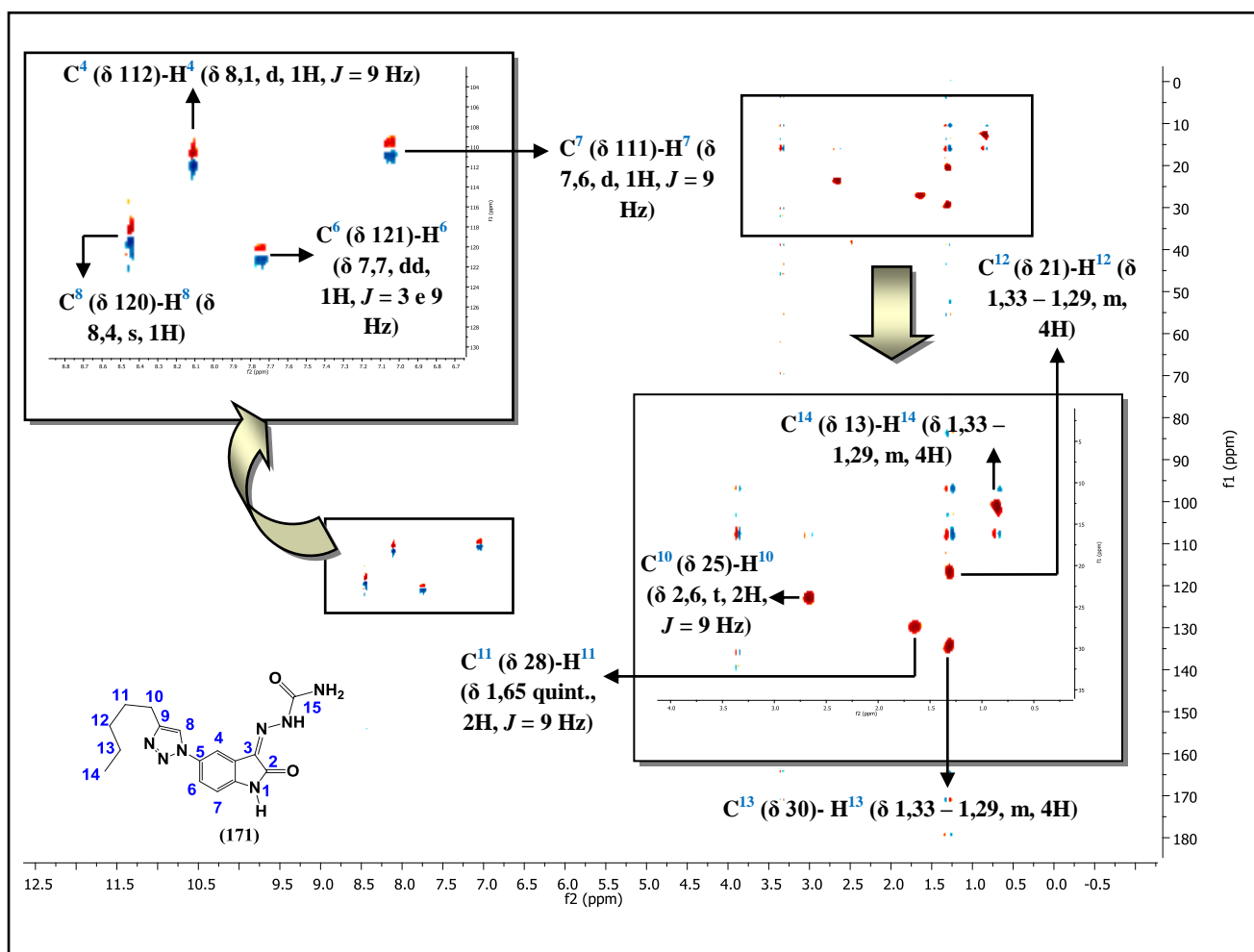
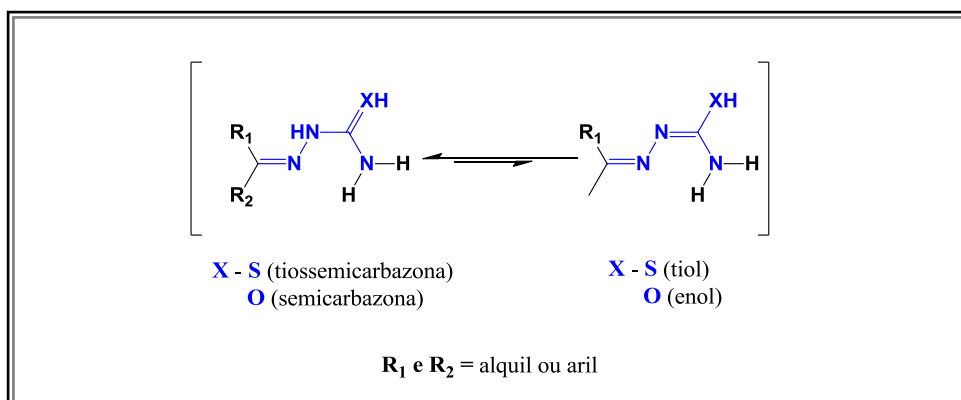


Figura 56. Espectro HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*, 300 MHz, $DMSO-d_6$) da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolino-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**171**)

4.3.1.4. Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)

Tiossemicarbazonas, assim como as semicarbazonas, podem coexistir em equilíbrio com suas respectivas formas tautoméricas devido a intensa deslocalização eletrônica existente nestes grupos (TENÓRIO *et al.*, 2005) (Esquema 13).



Esquema 13. Equilíbrio tautomérico entre as formas tiona e tiol, se **X = S** e entre as formas cetona e enol, se **X = O**

No espectro de infravermelho obtido para os derivados tio- (**159-166**) e semicarbazonas (**167-174**) somente a forma tiona (**X = S**) foi observada para as tiossemicarbazonas através de uma banda intensa na região de 1124 – 1135 cm^{-1} correspondente ao $\nu\text{C}=\text{S}$ e somente a forma cetona (**C=O**) foi observada para as semicarbazonas através de uma banda intensa e larga entre 1687 – 1708 cm^{-1} correspondente ao $\nu\text{C}=\text{O}$ (Tabela 21).

Este mesmo comportamento foi observado no espectro de IV das tiossemicarbazonas preparadas por BHARTI (BHARTI *et al.*, 2003), ALI (ALI *et al.*, 2014) e PERVEZ (PERVEZ *et al.*, 2017), bem como para as semicarbazonas obtidas por LIMAL (LIMAL *et al.*, 1994).

A Tabela 21 mostra as principais bandas observadas no espectro de IV para as tio- (**159-166**) e semicarbazonas (**167-174**) sintetizadas nesta Tese.

Tabela 21. Dados de infravermelho das tio- (**159-166**) e semicarbazonas (**167-174**) derivadas dos 5'-(4-alquil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona

Tiosemicarbazona (X = S)	ν C=O (amida) (em cm^{-1})	ν C=N (imina) (em cm^{-1})	ν C=S (em cm^{-1})	δ simétrica NH ₂ (em cm^{-1})	Semicarbazona (X = O)	ν C=O (amida) (em cm^{-1})	ν C=O (semicarbazona) (em cm^{-1})	ν C=N (imina) (em cm^{-1})	δ simétrica NH ₂ (em cm^{-1})
159	1716	1628	1124	1596	167	1720	*no	1599	1573
160	1685	1612	1135	1598	168	1722	1687	1630	1585
161	1689	1608	1124	1492	169	1729	1708	1628	1589
162	1689	1608	1124	1492	170	1735	1689	1625	1579
163	1700	1610	1133	1498	171	1737	1708	1629	1575
164	1712	1697	1133	1490	172	1731	1695	1629	1575
165	1700	1594	1128	1506	173	no	1687	1612	1587
166	1704	1591	1132	1490	174	no	1704	1623	1575

*no= banda não observada

4.3.1.5. Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR-IES⁺)

As análises por espectrometria de massas de alta resolução dos derivados dos derivados tio- (**159-166**) e semicarbazonas (**167-174**) da 5'-(4-alkil/aril-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona foram realizadas em um espectrômetro de massa conforme os parâmetros descritos no item 4.1.1.1.5. Os resultados obtidos encontram-se dispostos na Tabela 22.

Tabela 22. Dados dos derivados tio- (**159-166**) e semicarbazonas (**167-174**) da 5'-(4-alkil/aril-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona obtidos por EMAR-IES⁺

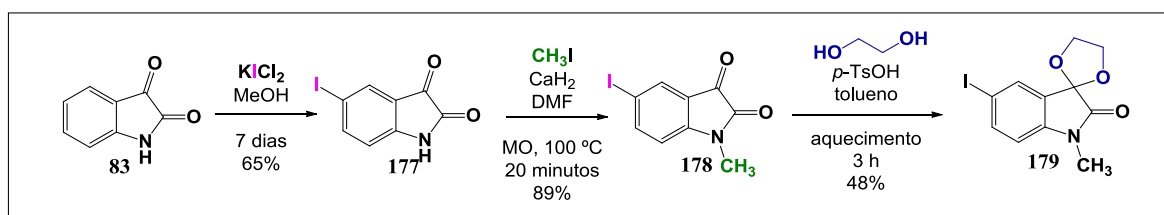
<i>Compostos</i>	<i>Fórmula molecular</i>	<i>Calculado</i>	<i>Experimental</i>	<i>Erro (ppm)</i>
159	C ₁₇ H ₁₄ N ₇ OS ⁺	364,0936	364,0975	1,07
160	C ₁₂ H ₁₁ N ₇ NaO ₂ S ⁺	340,0587	340,0586	0,29
161	C ₁₄ H ₁₅ N ₇ NaOS ⁺	352,0956	352,0945	3,12
162	C ₁₅ H ₁₇ N ₇ NaOS ⁺	366,1107	366,1096	3,00
163	C ₁₆ H ₁₉ N ₇ NaOS ⁺	380,1264	380,1251	3,42
164	C ₁₇ H ₁₇ N ₇ NaOS ⁺	390,1107	390,1104	0,90
165	C ₁₇ H ₁₉ N ₇ NaOS ⁺	392,1264	312,1253	0,28
166	C ₁₄ H ₁₄ N ₇ OS ⁺	328,0936	328,0975	1,19
167	C ₁₇ H ₁₄ N ₇ O ₂ ⁺	348,1164	348,1204	1,15
168	C ₁₂ H ₁₁ N ₇ NaO ₃ ⁺	324,0817	324,0821	0,12
169	C ₁₄ H ₁₆ N ₇ O ₂ ⁺	314,1321	314,1415	2,99
170	C ₁₅ H ₁₈ N ₇ O ₂ ⁺	328,1477	328,1516	1,19
171	C ₁₆ H ₁₉ N ₇ NaO ₂ ⁺	364,1492	364,1485	1,92
172	C ₁₇ H ₁₉ N ₇ O ₂ ⁺	352,1477	352,1507	0,85
173	C ₁₇ H ₁₉ N ₇ NaO ₂ ⁺	376,1498	376,1488	2,65
174	C ₁₄ H ₁₄ N ₇ O ₂ ⁺	312,1164	312,1204	1,28

4.4. Reação de acoplamento suzuki-miyaura e síntese dos grupos tio- e semicarbazonas

O primeiro passo consistiu na síntese da 5-iodo-isatina (**177** – Esquema 15), visto que sistemas aromáticos iodados são mais reativos do que seus correspondentes brometos e cloretos frente à reações de acoplamento cruzado (NICOLAOU; BULGER e SARLAH, 2005).

O agente de iodação empregado para a obtenção de **177** foi uma solução de dicloriodato de potássio (KICl₂) preparada através de iodato de potássio, cloreto de potássio, ácido clorídrico concentrado em meio aquoso. Esta metodologia foi descrita, em 2001, por Garden e colaboradores (GARDEN *et al.*, 2001).

Em seguida, reagiu-se esta solução com a isatina (**83**) em metanol, dando origem à 5-iodo-isatina (**177**) em 65% de rendimento. Esta, por sua vez, sofreu *N*-metilação para fornecer **178** em 89% de rendimento. A próxima etapa foi a proteção da carbonila de cetona [C-3] da *N*-metil-5-iodo-isatina com etilenoglicol, tolueno e ácido *p*-toluenossulfônico (*p*-TsOH), como catalisador, gerando **179** em 48% de rendimento (Esquema 14).



Esquema 14. Reação de iodação da isatina (**83**) seguida de *N*-metilação do grupo NH e da proteção de C-3 para a obtenção de **179**

Em seguida, o acoplamento de Suzuki-Miyaura foi o método adotado para a obtenção do benzaldeído **181** (Esquema 15).

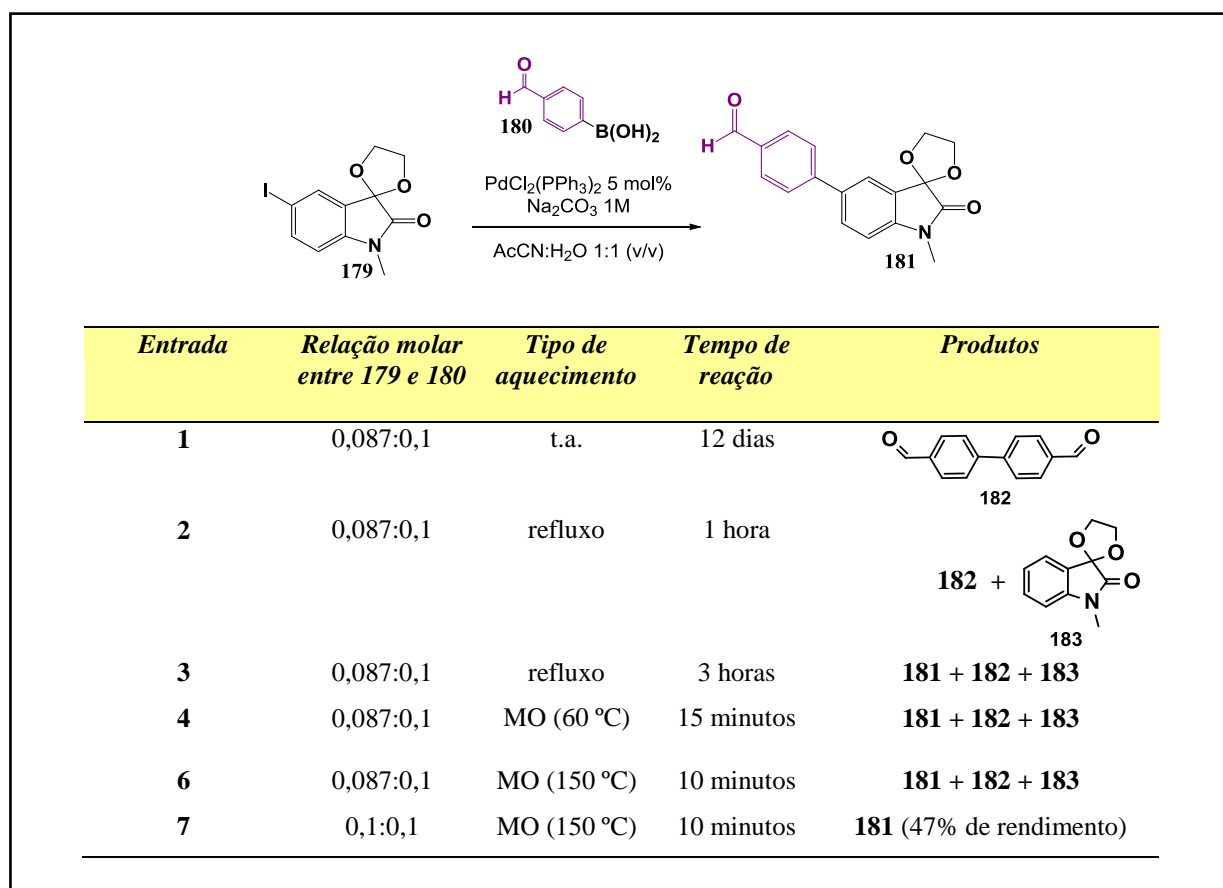
A reação de Suzuki-Miyaura foi descrita pela primeira vez em 1981 (MIYAURA, YANAGI e SUZUKI¹⁹⁸¹, MIYAURA e SUZUKI, 1995; SUZUKI, 1999) e desde então tem sido explorada para a construção de ligações carbono-carbono do tipo sp²-sp², principalmente no planejamento de fármacos (PORCÚ *et al.*, 2014; BARAN *et al.*, 2016).

As reações de Sonogashira (SONOGASHIRA, TODA e HAGIHARA, 1975), Negish (NEGISH *et al.*, 2005), Heck (HECK e NOLLEY, 1972) e Stille (STILLE, 1986) constituem outros

exemplos de reações de acoplamento cruzado que diferenciam entre si apenas pelo tipo de composto organometálico empregado na síntese.

O acoplamento de Suzuki-Miyaura, como mencionado, foi o método escolhido nesta tese, devido à disponibilidade dos reagentes no laboratório de pesquisa. Além disso, organoboranos são os compostos organometálicos menos agressivos ao meio ambiente, comercialmente disponíveis e estáveis à temperaturas elevadas, à água e ao oxigênio presente na atmosfera.

Desta maneira, a substância **179** foi tratada com o ácido 4-formilbenzenoborônico **180**, dicloreto de bis(trifenilfosfina) de paládio(II) [PdCl₂(PPh₃)₂] como catalisador, solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) e uma mistura de acetonitrila (AcCN) e água em razão 1:1 como solvente da reação (Esquema 15).



Esquema 15. Métodos investigados para a formação de **181** através de acoplamento cruzado do tipo Suzuki-Miyaura

Inicialmente, nenhuma fonte de calor foi fornecida à este sistema e somente **182** foi observado como produto após 12 dias de reação (*entrada 1* – Esquema 16). Paralelamente, o

produto oriundo do acoplamento de duas moléculas do ácido borônico (**180**) e da desalogenação da *N*-metil-5-iodo isatina (**179**) foram observados como subprodutos da reação quando a razão molar entre **179** e **180** foi de 0,087:0,1, independente do uso de refluxo ou micro-ondas como fonte de energia ao sistema (*entradas* 2-6). Depois, o 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (**181**) foi obtido em 47% de rendimento após 10 minutos de reação com irradiação de MO, quando a razão molar entre os materiais de partida, **179** e **180**, foi de 1:1 (*entrada* 7).

Os produtos obtidos, no acoplamento de Suzuki-Miyaura, foram analisados por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). A Figura 57 mostra o cromatograma gerado para a substância **181**, proveniente da reação sob as condições observadas na sétima tentativa. O espectro de massas encontra-se em destaque na Figura 57, onde observa-se o pico do íon molecular com razão massa (*m*) sobre a carga (*z*), *m/z* igual a 309.

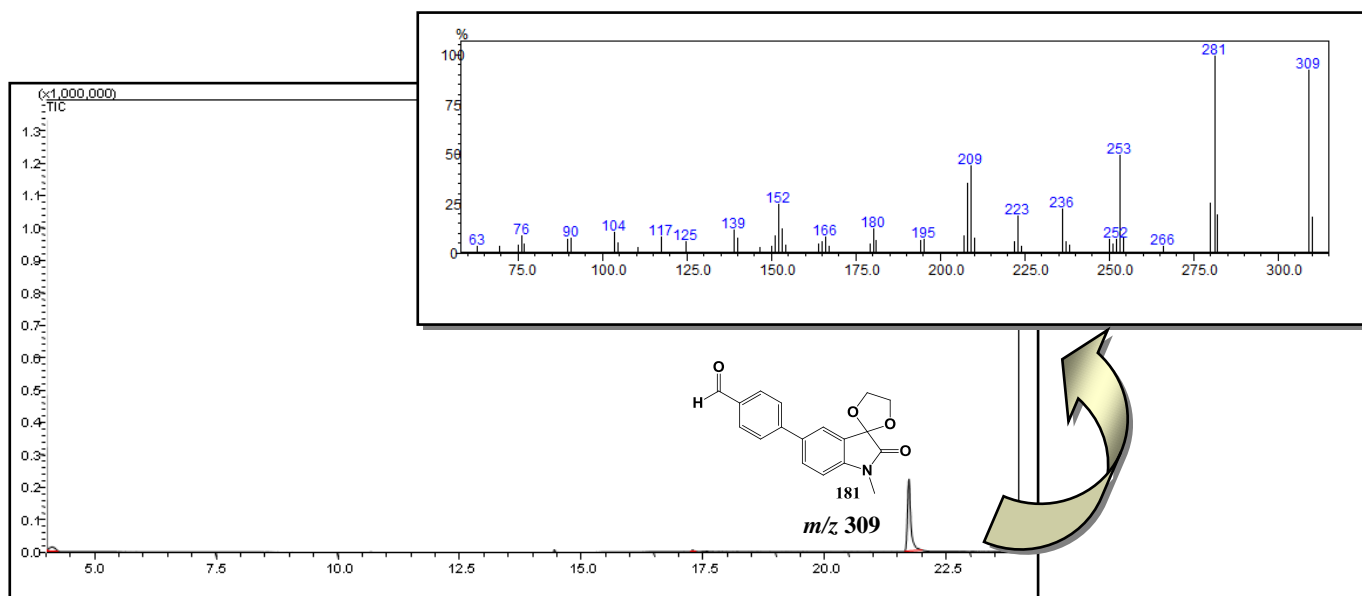


Figura 57. Cromatograma e espectro de massas obtidos em CG-EM para o produto de acoplamento **181**

A Figura 58 mostra os principais fragmentos encontrados no espectro de massas obtido para o composto benzaldeído **181**.

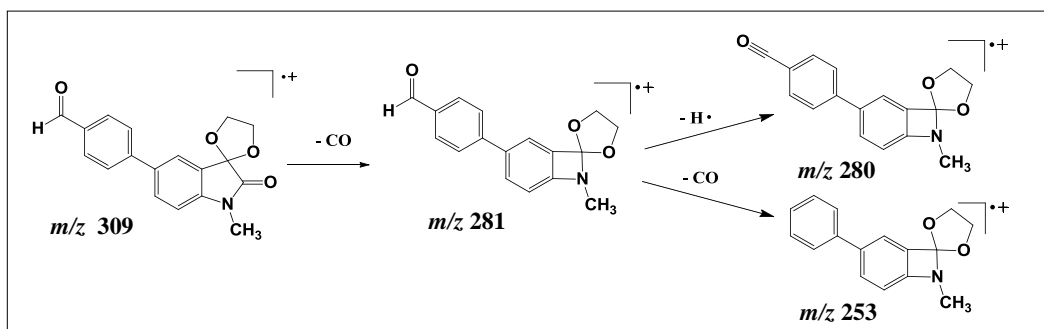
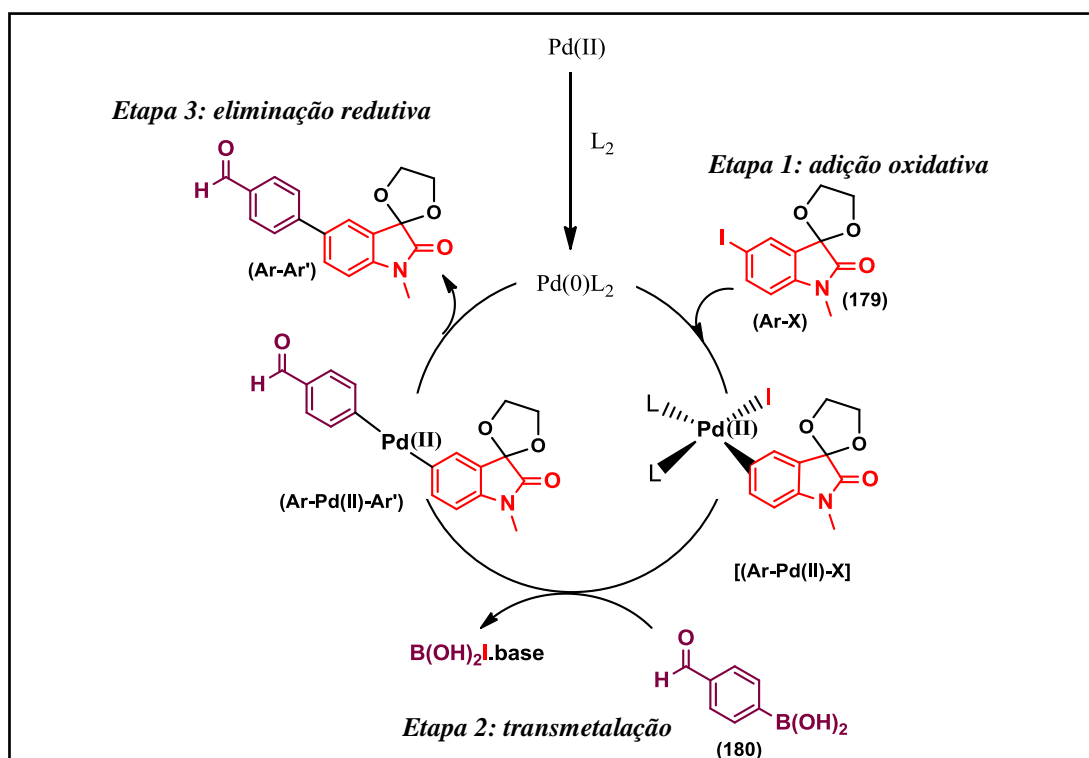


Figura 58. Proposta de fragmentação para os principais picos oriundos do composto **181**

O ciclo catalítico aceito para esta reação é composto por três etapas básicas. A primeira consiste na adição oxidativa do halogeneto de arila ao paládio zerovalente (MIYAURA, YANAGI e SUZUKI¹⁹⁸¹). Nesta etapa, o tipo de precursor de paládio (Pd) empregado é de suma importância, visto que precursores de Pd sem ligantes são eficientes apenas em caso de substratos aromáticos contendo os átomos de iodo ou bromo que possuem substituintes retiradores de elétrons no anel aromático, porém sistemas pouco reativos como os brometos de arila e cloretos de arila não ativados requerem o uso de ligantes, como os do tipo fosfinas monodentadas, por exemplo, PCy_3 , PPh_3 e $\text{P}(o\text{-toluol})_3$ ou bidentadas, como dppp, dppf, e Binap (CORBET e MIGNANI, 2006).

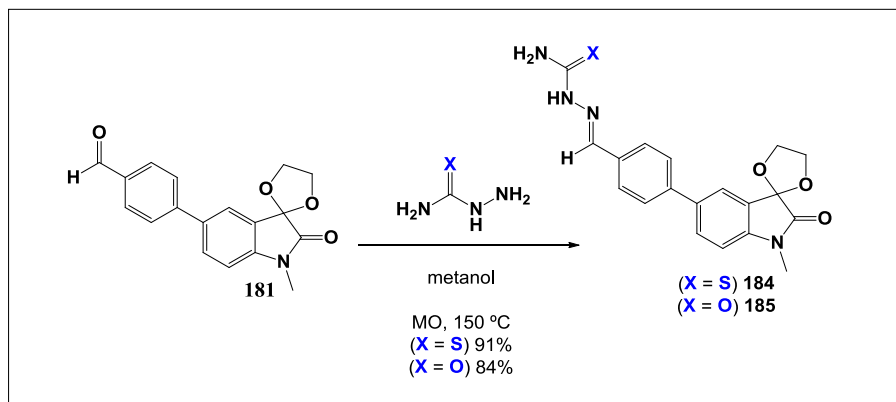
Na segunda etapa do ciclo catalítico, um intermediário $[\text{ArPd(II)X}]$ é produzido para, em seguida, sofrer transmetalção formando a espécie ArPdAr' . Por fim, ocorre a eliminação redutiva, gerando o produto de acoplamento, a bifenila, e regenerando o catalisador em sua forma zerovalente que será consumido em um novo ciclo da reação (MIYAURA, YANAGI e SUZUKI, 1981). O Esquema 16 mostra estas etapas para a reação investigada na Tese.



Esquema 16. Ciclo catalítico do acoplamento do tipo Suzuki-Miyaura entre o cetal dioxolano da *N*-metil-5-iodo-isatina (**179**) e o ácido borônico (**180**)

Os ligantes empregados em Suzuki-Miyaura influenciam não somente a etapa de adição oxidativa, como mencionado anteriormente, mas também a etapa de eliminação redutiva. O aumento da natureza básica e do volume da fosfina conduz ao aumento da densidade de elétrons no centro metálico, facilitando a etapa de oxidação e eliminação redutiva através da formação de espécies de Pd (PdL_2 e PdL) (WOLFE *et al.*, 1999; BARDER *et al.*, 2005; NOBRE, 2008).

Por fim, a etapa seguinte do trabalho consistiu no preparo dos grupos tio- (**184**) e semicarbazona (**185**) fornecidos através de **181**, em excelentes rendimentos, após 10 minutos em irradiação de micro-ondas (Esquema 17).



Esquema 17. Síntese da tiossemicarbazona **184** e da semicarbazona **185**, derivadas do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (**181**)

Os rendimentos observados para a tio- (**184**) e semicarbazona (**185**) do aldeído foram superiores aos derivados tio- (**159-166**) e semicarbazonas (**167-174**) da 5'-(4-alkil/aril-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (*vide item 4.3*).

A reatividade de aldeídos e cetonas frente à nucleófilos (Nu) pode ser explicada através da Teoria do Orbital Molecular (TOM). Esta teoria preconiza que a nova ligação formada entre o carbono da C=O de aldeídos ou cetonas e o Nu, ou seja, os pares de elétrons não ligantes do nitrogênio do grupo tio- ou semicarbazona, origina-se no orbital $\pi_{\text{C=O}}^*$ vazio no estado fundamental. Este orbital é denominado LUMO, do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital* (COSTA *et al.*, 2003).

Durante o ataque nucleofílico os elétrons do Nu são alocados no LUMO mais desenvolvido ao redor do sítio eletrofílico. Desta maneira, o Nu se aproxima do centro deficiente em elétrons em um ângulo que minimiza ao máximo a repulsão eletrônica desestabilizadora no orbital π acerca do átomo de oxigênio. O ângulo de ataque do Nu ao carbono da carbonila é denominado ângulo de Bürgi-Dunitz (107°) (Figura 59) e grupos volumosos acerca do sítio de reação dificultam a trajetória necessária que o Nu deve percorrer ao ataque nucleofílico (COSTA *et al.*, 2003).

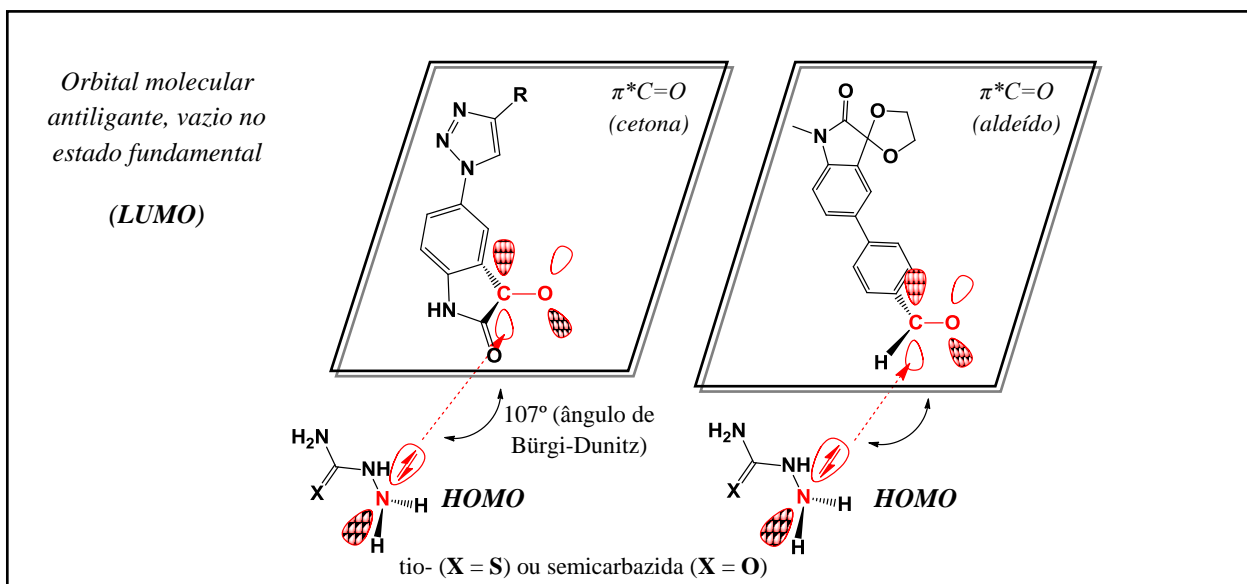


Figura 59. Ataque nucleofílico aos carbonos da cetona, para os derivados 5'-(4-alkuil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona (**151-158**), e ao carbono do aldeído, no 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (**181**). Os orbitais moleculares envolvidos na formação da nova ligação encontram-se destacados em vermelho

4.4.1. Análise dos dados espectroscópicos e espectrométricos dos derivados 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (**181**), 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (**184**) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilidenohidrazinocarboxamida (**185**)

4.4.1.1. RMN 1H do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (**181**)

O espectro de RMM 1H para o 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (**181**) revelou a presença de hidrogênios metilênicos (H8 e H9) que coincidem e surgem como um simpleto largo (sl) em 4,37 ppm.

Os hidrogênios do grupo metila (N-CH₃) foram observados como um sl em 3,13 ppm, enquanto os hidrogênios aromáticos possuíram ressonância próxima de 7 a 8 ppm.

O pico diagnóstico foi observado em 10,04 ppm, pois corresponde ao hidrogênio do grupo aldeído que possui um deslocamento químico bastante desblindado devido ao efeito de anisotropia diamagnética provocado pelo grupo carbonila (C=O) (Figura 60).

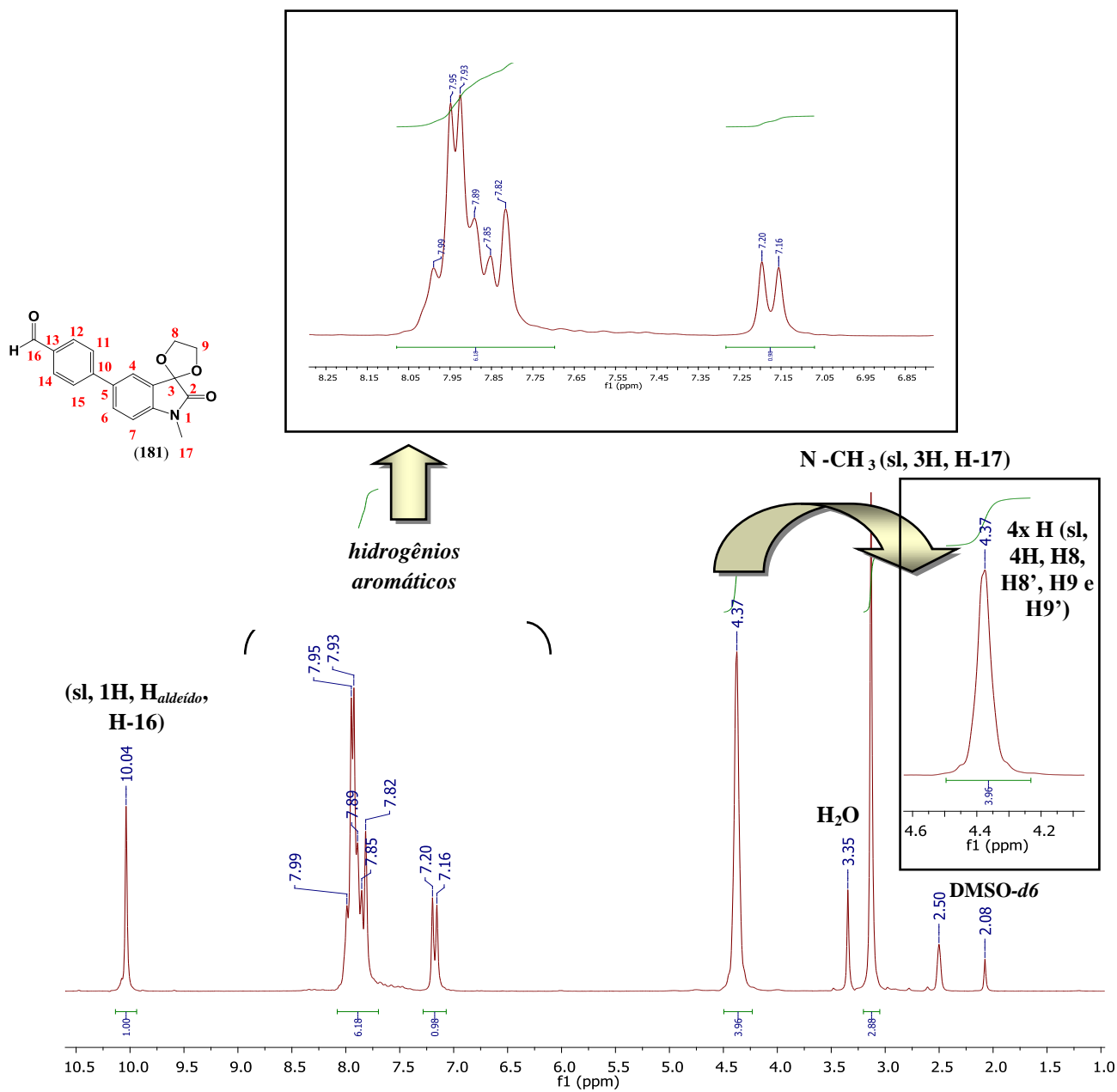


Figura 60. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 4-(N-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (**181**)

4.4.1.2. RMN ^1H da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (184) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (185)

Os espectros de RMN ^1H para os derivados tio- (**184**) e semicarbazona (**185**) do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído mostram sinais característicos do hidrogênio do grupo imina em 11,49 ppm e 10,28 ppm, de modo respectivo (Figura 61A e B). Ou seja, uma diferença de 1,21 ppm.

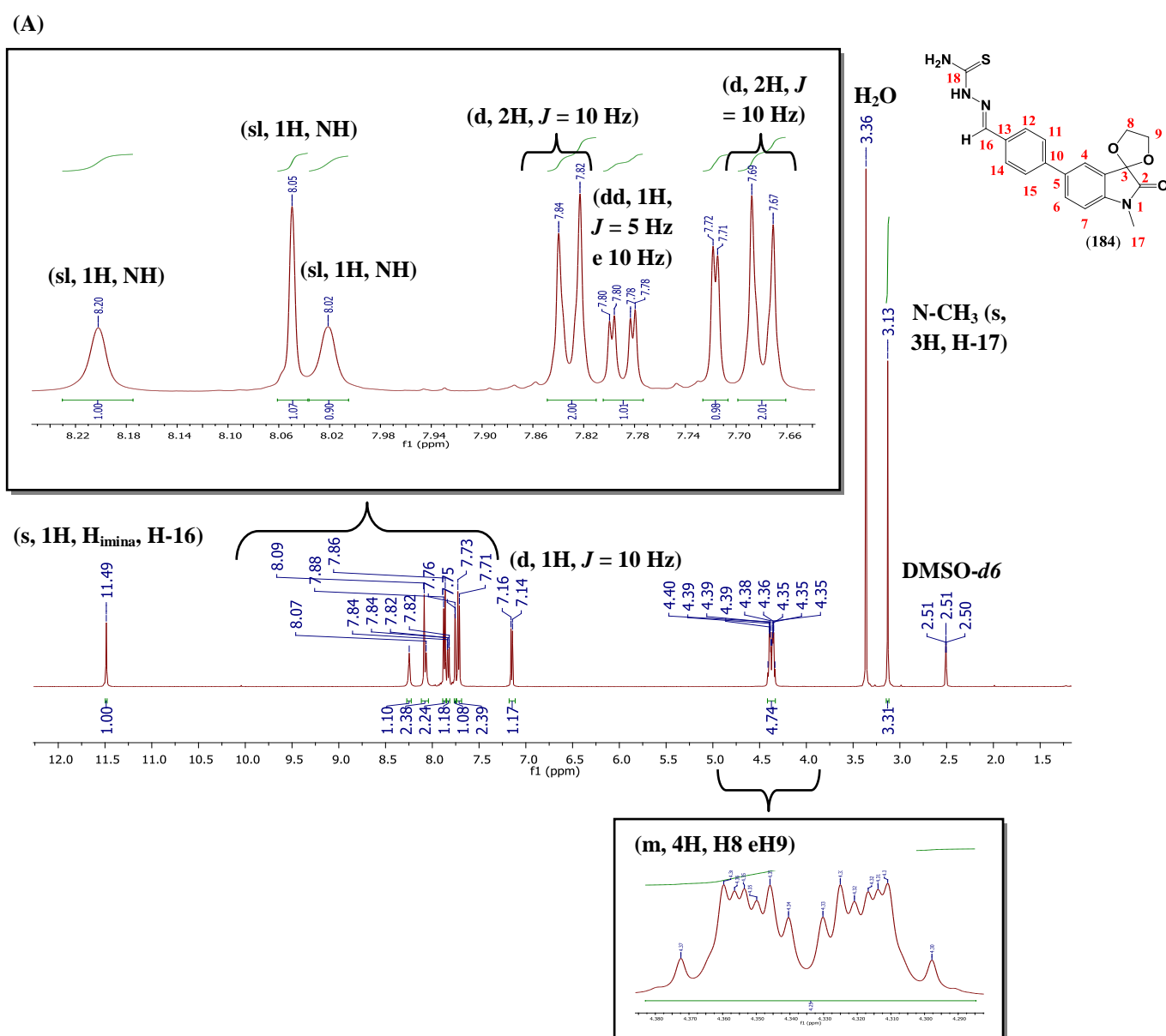


Figura 61. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO-*d*₆) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (**184** – A) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (**185** – B)

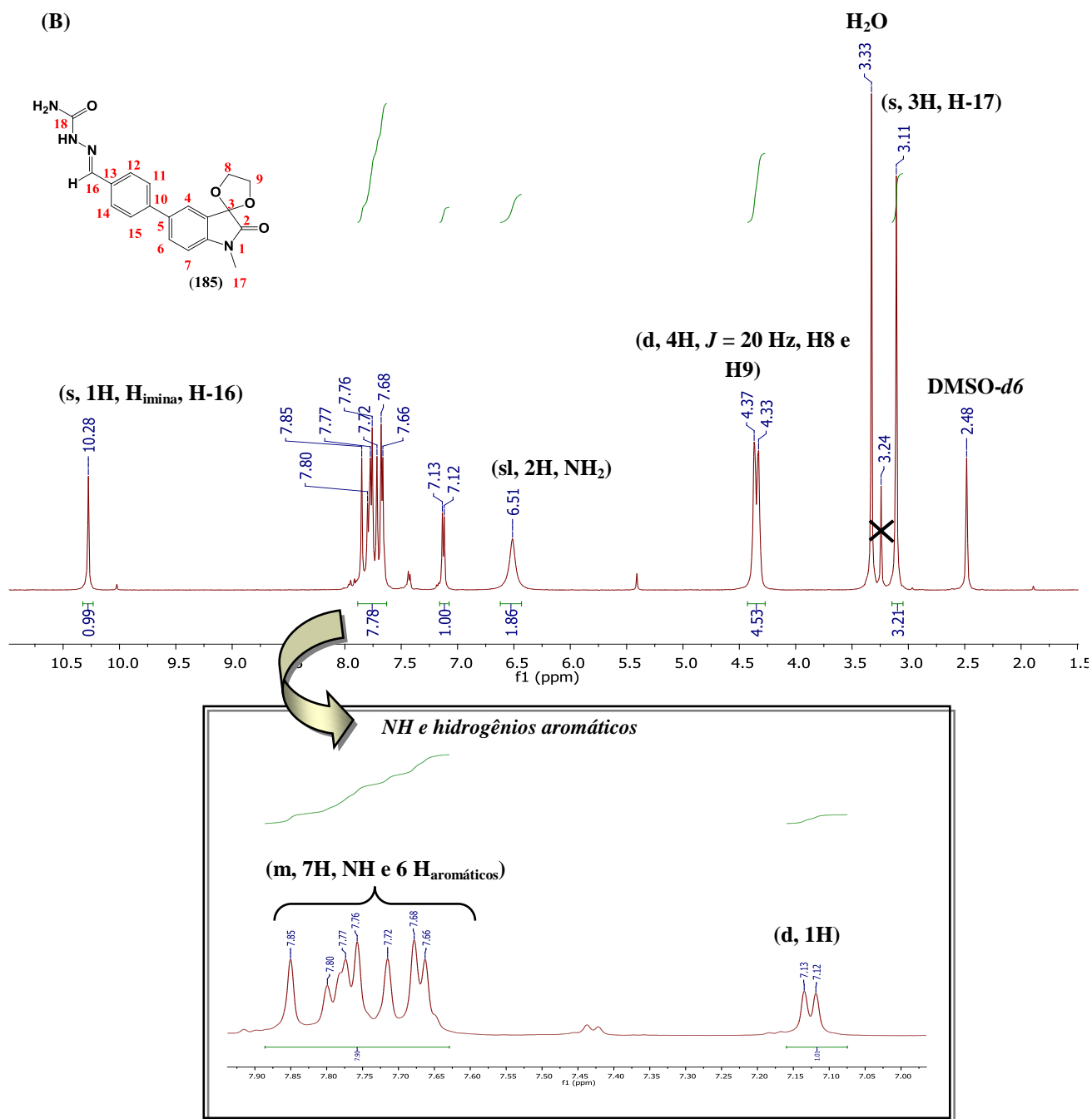


Figura 61 (continuação). Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (**184** – A) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (**185** – B)

O átomo de enxofre tem raio atômico maior (180 pm) do que o átomo de oxigênio (150 pm), portanto, embora o oxigênio seja mais eletronegativo, o átomo de enxofre exerce maior

influência sobre o átomo de hidrogênio do grupo imina, desblindando-o e deslocando-o para regiões de baixo campo no RMN ^1H quando em comparação ao átomo de oxigênio (Figura 62).

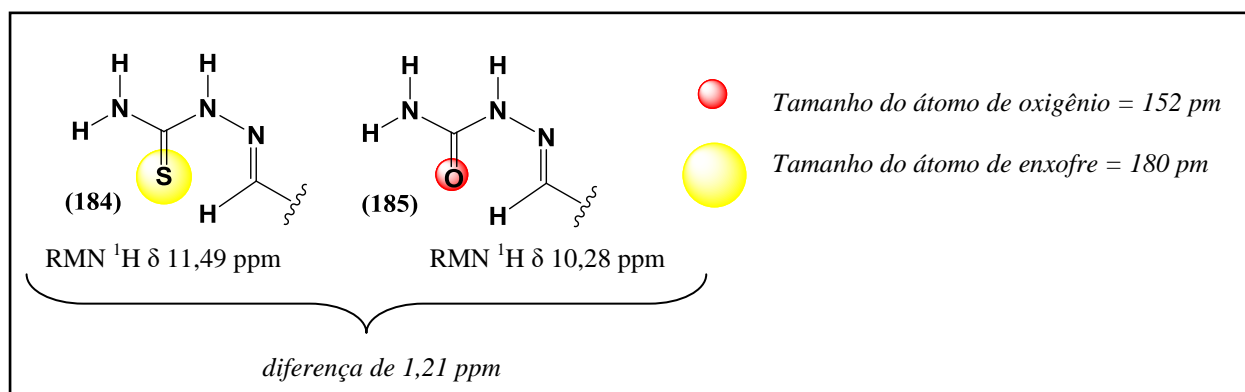


Figura 62. Influência do volume dos átomos de enxofre e oxigênio sobre o deslocamento químico do hidrogênio da imina observada nos espectros de RMN ^1H dos derivados tio- (**184**) e semicarbazona (**185**) do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído

Além disso, no RMN ^1H destas substâncias, foi possível observar os hidrogênios das metilas (C-17), que coincidem e apresentam valores de deslocamento químico em 3,13 ppm e 3,11 ppm.

Os hidrogênios metilênicos mostraram sinais distintos para a tio- (**184**) e semicarbazona (**185**). No derivado **184**, estes hidrogênios coincidiram e apareceram como um multipletto de área igual a quatro. Já no derivado **185**, apareceram como um dupletto cuja constante de acoplamento foi igual a 20 Hz.

Assim como observado nos espectros de RMN ^1H para os derivados tio- (**159-166**) e semicarbazonas (**167-174**) da 5'-(4-alkil/aril-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona, os hidrogênios do NH_2 do grupo carbazona, para esta série, apresentam sinais distintos conforme na presença de um átomo de enxofre ou de um oxigênio.

Para a tiossemicarbazona (**184**), os hidrogênios são diastereotópicos e mostram sinais em 8,20 ppm e 8,02 ppm do tipo simpleto largo. Para a semicarbazona (**185**), os hidrogênios do NH_2 são equivalentes e surgem como um simpleto largo com deslocamento químico igual a 6,51 ppm.

4.4.2. Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ^{13}C)

4.4.2.1. RMN ^{13}C do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (181)

O deslocamento químico dos carbonos metilênicos [C-8] e [C-9] coincidem e aparecem em campos mais altos do espectro, em 66,31 ppm. O carbono do grupo metila [C-17] também aparece em campos mais altos do espectro, cujo valor de deslocamento químico foi observado em 26,45 ppm (Figura 63).

Os carbonos das carbonilas de aldeído [C-16] e amida [C-2] do 4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzaldeído (**181**) apresentam-se em 193,15 e 173,11 ppm, respectivamente. A carbonila amídica [C-2] é menos desblindada que uma carbonila de aldeído devido ao efeito de ressonância que deslocaliza o par de elétrons entre os átomos de nitrogênio e oxigênio. Os carbonos aromáticos, neste derivado, mostram-se entre 100 ppm e 150 ppm. Os sinais correspondentes aos carbonos quaternários encontram-se descritos como Cq.

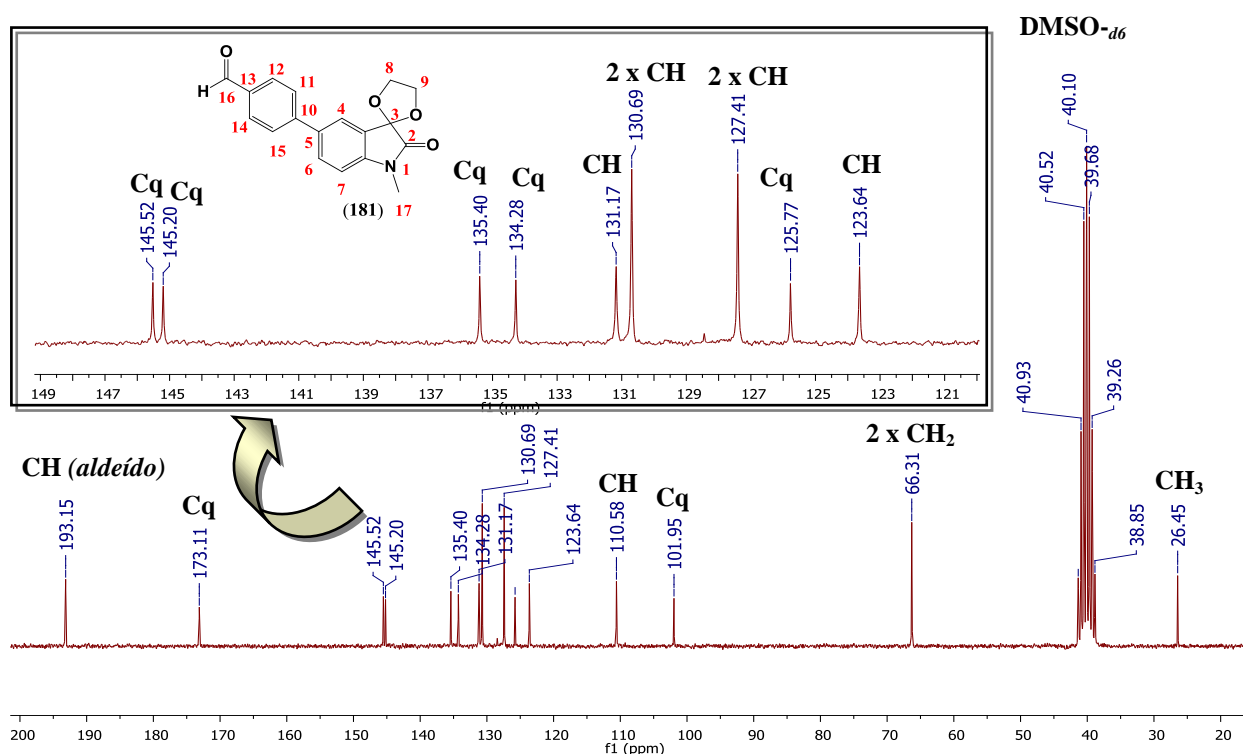


Figura 63. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) do 4-(N-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (**181**)

4.4.2.2. RMN ^{13}C da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (**184**) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (**185**)

Os espectros de RMN ^{13}C para os compostos **184** e **185** mostrou que os carbonos relativos aos grupos metilênicos [C-8 e C-9] e metila [C-17] apresentam valores correspondentes a 66,26 ppm e 26,42 ppm, para as duas substâncias (Figura 64A e B). Ainda, os carbonos aromáticos aparecem na faixa de 100 ppm a 150 ppm. O sinal referente à carbonila de amida, para os dois derivados, foi observado acerca de 173 ppm. Além disso, o carbono ligado ao enxofre [C=S] no derivado **184** apresentou valor de deslocamento químico em campo mais baixo, 178 ppm, quando comparado ao carbono ligado ao oxigênio [C=O] no derivado **185**, 157 ppm (Figura 64B).

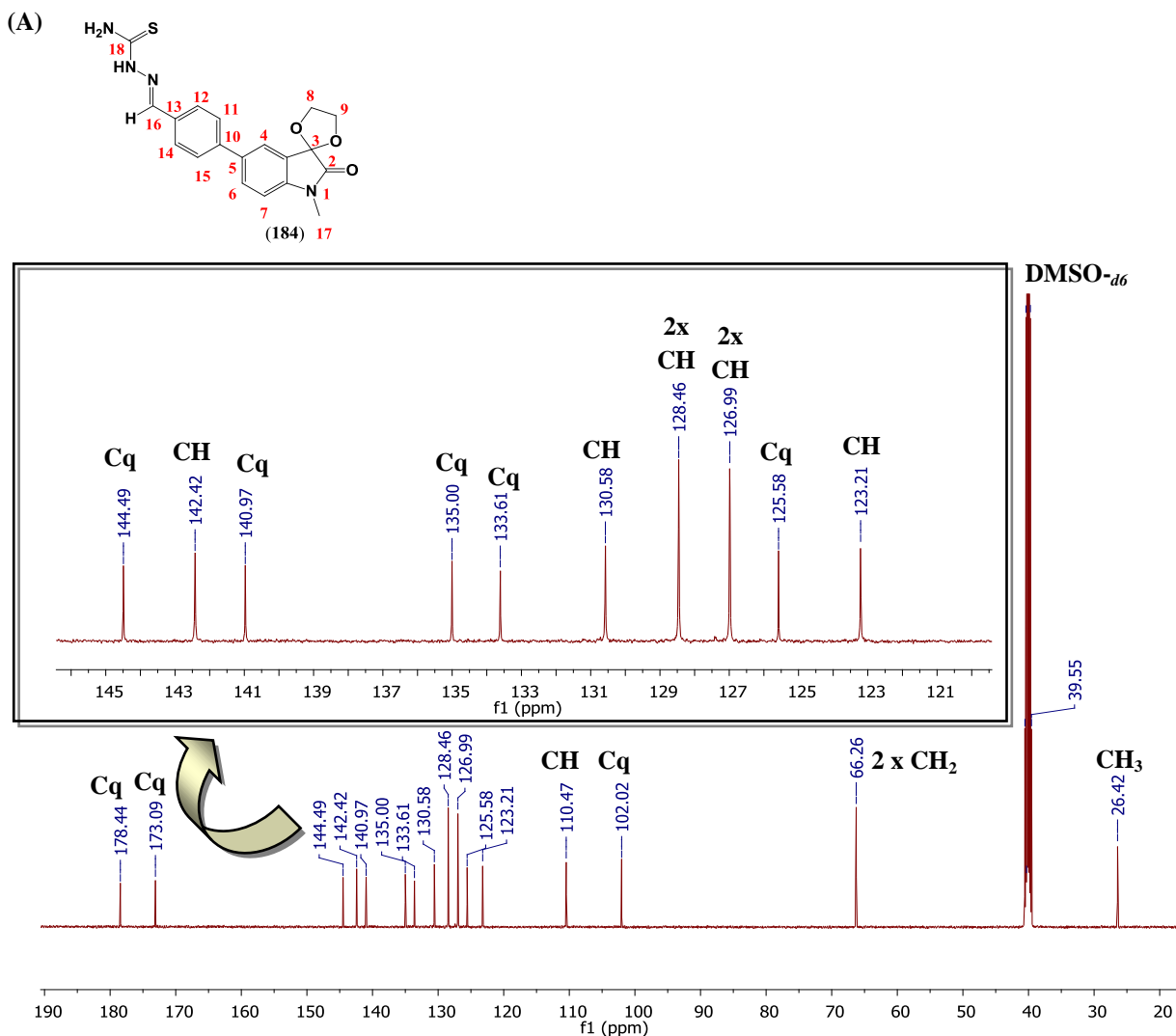


Figura 64. Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (**184** – A) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (**185** – B)

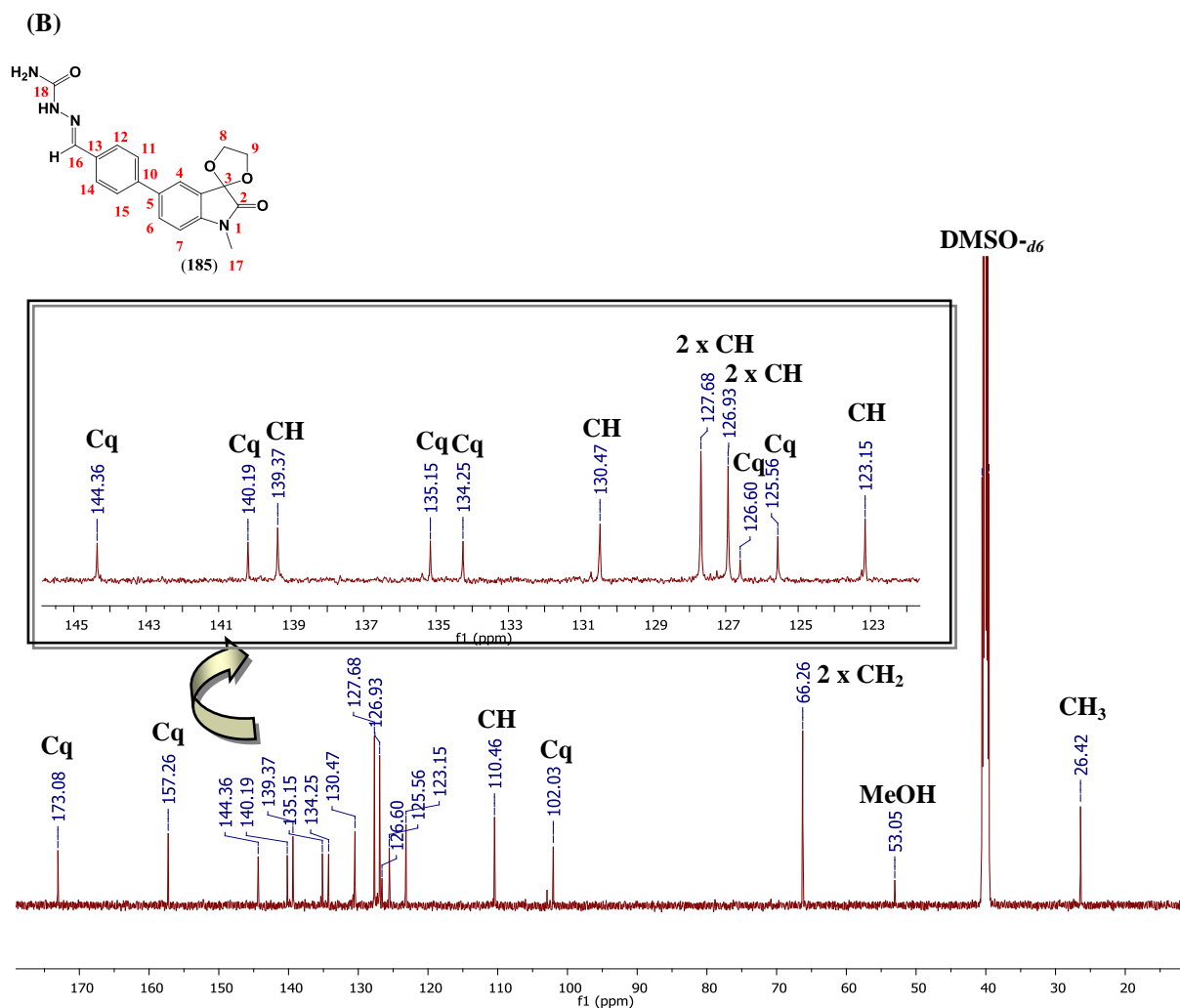


Figura 64 (continuação). Espectros de RMN ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (**184** – A) e da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (**185** – B)

4.4.3. Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho para o 4-(*N*-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (**181**) e seus derivados tio- (**184**) e semicarbazonas (**185**) mostram bandas (cm⁻¹) muito intensas correspondentes ao estiramento da carbonila amídica [C-2] entre 1623 a 1687 cm⁻¹ (Figura 65A-C). Na Figura 65A, observou-se bandas características do aldeído **181**, que apresentou valores próximos a 1725 cm⁻¹ devido à conjugação com C=C do anel aromático. Ainda, a presença dos picos na região de estiramento C-H, 2850 e 2759 cm⁻¹, confirmam a presença do grupo aldeído (Figura 64A) (PAVIA *et al.*, 2015).

Os espectros de infravermelho das substâncias **184** (Figura 65B) e **185** (Figura 65C) apresentaram duas bandas de absorção de estiramento simétrico e assimétrico próximo 3400 e 3300

cm⁻¹ referente ao grupo NH₂ das carbazonas. A ausência da banda em 2500 a 2600 cm⁻¹ (Figura 65B), característica do grupo tiol, revelou que o equilíbrio tautomérico entre as espécies [C=S] e [C-SH], encontra-se deslocado para a forma [C=S]. Normalmente, a presença do grupo tiocarbonila também é diagnosticada pela presença de uma banda forte em 1028-1082 cm⁻¹, contudo esta banda localiza-se em uma região com diversos outras bandas vibracionais, o que dificulta a sua confirmação (TENÓRIO *et al.*, 2005).

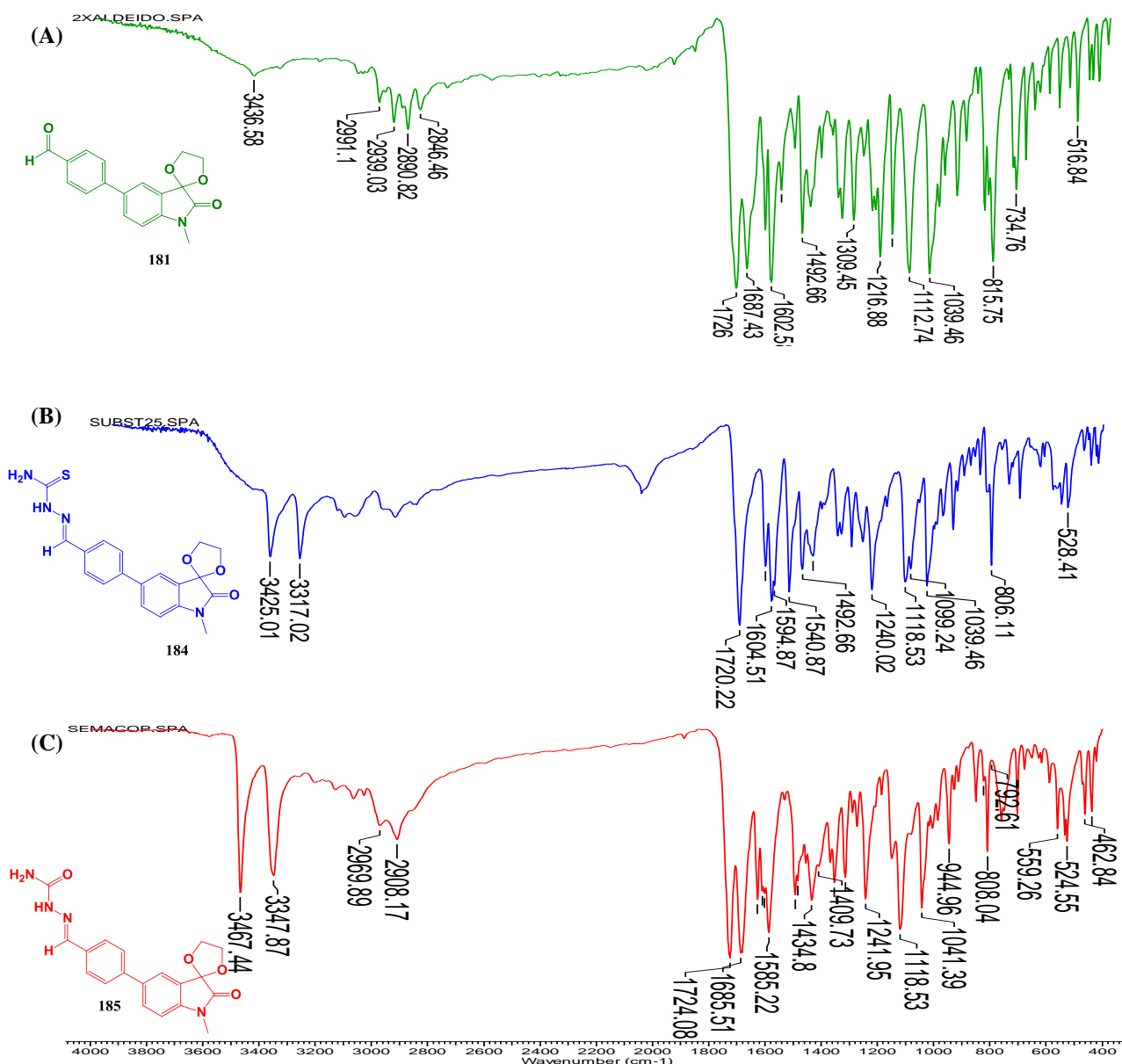


Figura 65. Espectro na região do infravermelho do 4-(*N*-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (— 181, A) e seus derivados tio- (— 184, B) e semicarbazona (— 185, C)

4.4.4. Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR-IES⁺)

As análises por espectrometria de massas de alta resolução da 4-(*N*-metil-2,5-dioxaciclo-pentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (**181**) e dos seus derivados tio- (**184**) e semicarbazona (**185**) foram realizadas em um espectrômetro de massas conforme os parâmetros descritos no item 4.1.1.1.5. Os resultados obtidos encontram-se dispostos na Tabela 23.

Tabela 23. Dados da 4-(*N*-metil-2,5-dioxaciclo-pentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (**181**) e dos seus derivados tio- (**184**) e semicarbazona (**185**) e da obtidos por EMAR-IES⁺

Compostos	Fórmula molecular	Calculado	Experimental	Erro (ppm)
181	C ₁₈ H ₁₆ NO ₄ ⁺	310,1001	310,1074	2,35
184	C ₁₉ H ₁₉ N ₄ O ₃ S ⁺	383,1133	383,1172	1,01
185	C ₁₉ H ₁₉ N ₄ O ₄ ⁺	367,1362	367,1400	1,03

4.5. Avaliação tripanocida, citotoxicidade e índice de seletividade

A avaliação tripanocida foi realizada no Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular do Centro de Pesquisas René Rachou (FIOCRUZ) pelo pesquisador Dr. Policarpo Ademar Sales Júnior.

A atividade anti-*T. cruzi* dos compostos obtidos na presente Tese foi avaliada frente às células L929 infectadas com as formas tripomastigota e amastigota da cepa Tulahúen do *T. cruzi* e seguiu o modelo proposto por Romanha e colaboradores (ROMANHA *et al.*, 2010).

As células L929 de fibroblastos de camundongos usadas neste método foram escolhidas porque são facilmente cultiváveis, estocadas e infectadas com o parasito. Já a cepa Tulahúen foi empregada por ter sido transformada com o gene da bactéria *Escherichia coli* que expressa a enzima β -galactosidase, além de ser sensível ao BZD, fármaco comercialmente disponível contra a DC (BUCKNER *et al.*, 1996).

A enzima β -galactosidase presente no *T. cruzi* recombinante (TTBG) reage colorimetricamente com o indicador denominado vermelho de clorofenol- β -D-galactopiranosídeo (**186**). A atividade enzimática possui relação direta ao número de parasitas presentes no meio

intracelular que, desta forma, pode ser quantificado através de espectrofotometria com absorvância em 570 nm (BUCKNER *et al.*, 1996; JORGE e CASTRO, 2000) (Figura 66).

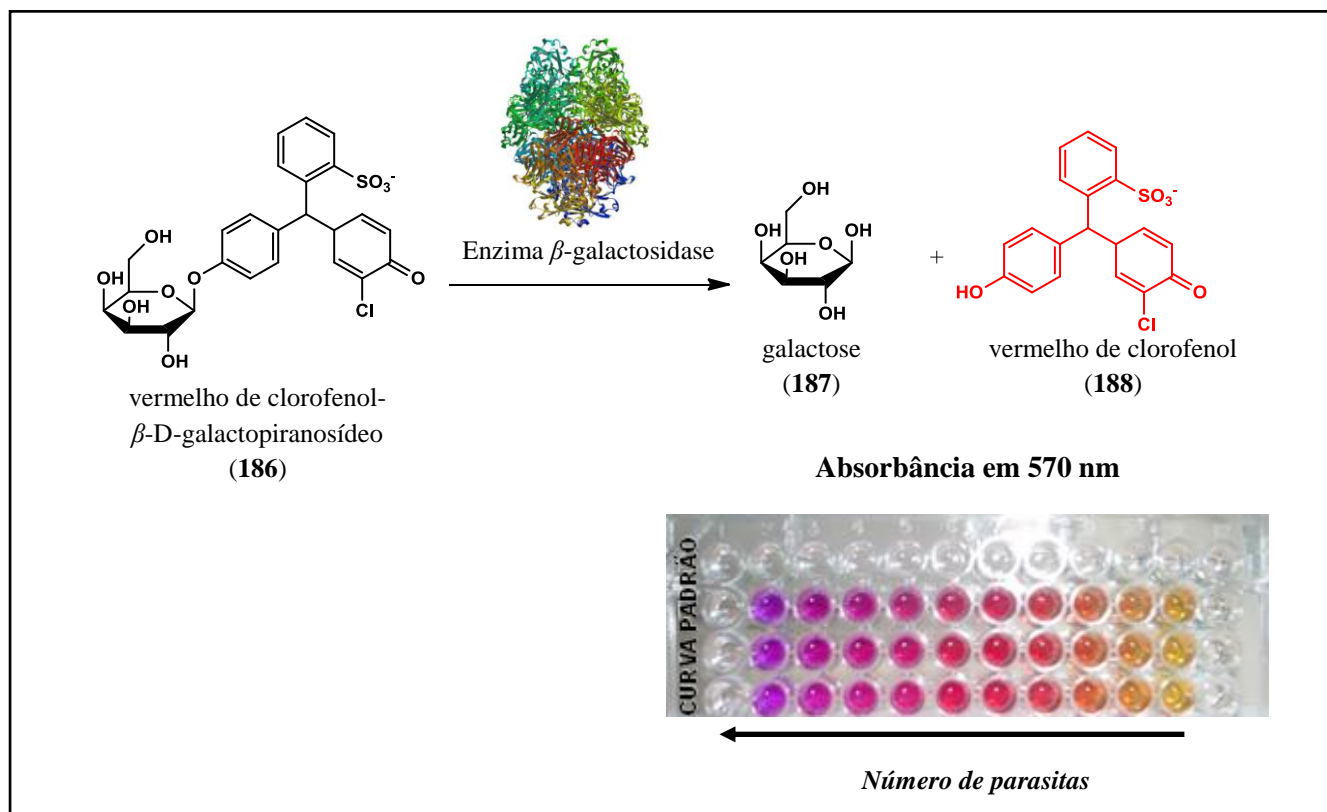


Figura 66. Esquema reacional da clivagem do substrato vermelho de clorofenol- β -D-galactopiranosídeo (186) levando a formação da galactose e vermelho de clorofenol pela ação da enzima β -galactosidase (Baseado em DIAS *et al.*, 2009)

Nesta Tese, as substâncias sintetizadas foram divididas em dois conjuntos: as moléculas que compõem a primeira série (série I) e as moléculas que compõem a segunda série (série II – *vide resumo gráfico*).

Os valores de IC_{50} (μM), de citotoxicidade (CC_{50} , μM), o índice de seletividade ($IS = CC_{50}/IC_{50}$) e o $LogP$ ($miLogP$) para os cetais dioxolanos da série I (141 a 150), encontram-se na Tabela 24 e mostram que estes compostos, em sua maioria, não foram ativos. O benzimidazol foi usado como controle positivo ($IC_{50} = 3,8 \mu M$, $CC_{50} = 2,381 \mu M$, $IS = 625$).

Tabela 24. Atividade anti-*T. cruzi* (IC₅₀, µM), citotoxicidade (CC₅₀, µM) e índice de seletividade (IS) e LogP (miLogP) para os compostos **141-150** nos fibroblastos L929 infectados com as formas tripomastigota e amastigota do *T. cruzi*

	<i>Composto</i>	<i>IC₅₀ (µM)^a</i>	<i>CC₅₀ (µM)^b</i>	<i>IS^c</i>	<i>miLogP^d</i>
<i>Moléculas da Série I</i>	141	125,1 ± 20,3	199,5 ± 86,4	1,6	1,82
	142	I*	nd**	nd	-0,27
	143	I	nd	nd	1,45
	144	I	nd	nd	2,01
	145	70,1 ± 20,1	114,3 ± 53,9	1,6	2,51
	146	> 147,9	nd	nd	2,27
	147	> 73,5	73,5	< 1	2,28
	148	I	nd	nd	1,71
	149	I	nd	nd	0,43
	150	I	nd	nd	0,54
	1^f	3,8	2,381	625	0,78

* Inativo

** Não determinado

^a Concentração do composto necessária para reduzir 50% do crescimento do *T. cruzi* nas células L929. Os valores de IC₅₀ (µM) foram calculados por interpolação linear.

^b Concentração do composto que induz à morte celular de 50% dos fibroblastos L929.

^c Índice de seletividade = CC₅₀/IC₅₀.

^d Os valores de LogP foram obtidos através do Molinspiration Cheminformatics (miLogP, v.2.2, Nova ulica, SK-900 26, Slovensky Grob, Slovak Republic).¹⁸

^f BZD.

A literatura oferece um grande número de trabalhos que citam a importância dos grupos tio- e semicarbazona contra a DC (*vide* tópico 1.1.3.1.1). Desta forma, prosseguimos em nossos esforços para a obtenção de derivados promissores contra o *T. cruzi* através da inserção destes grupos à isatina.

Os derivados tio- (**159-166**) e semicarbazonas (**167-174**), bem como os seus precursores (**151-158**), foram investigados quanto à sua capacidade de inibir o crescimento do *T. cruzi*. Os resultados obtidos para este conjunto de compostos estão dispostos na Tabela 25. Para fins de comparação, a ação biológica da isatina (**83**), substância empregada como material de partida para o conjunto de substâncias da série I também foi investigada.

¹⁸ Disponível em: < <http://www.molinspiration.com/>>. Acessado em: 20 de fevereiro de 2017.

A fim de observar a influência dos grupos tio- e semicarbazona no núcleo indólico da isatina sobre a atividade, também se encontra na Tabela 25 a ação anti-*T. cruzi* da isatina- β -tiossemicarbazona (**91**) e da isatina- β -semicarbazona (**189**), substâncias já reportadas na literatura.

Tabela 25. Atividade anti-*T. cruzi* (IC₅₀, μ M), citotoxicidade (CC₅₀, μ M) e índice de seletividade (IS) e LogP (miLogP) para os compostos **83**, **91**, **151-158**, **159-166**, **167-174** e **189** nos fibroblastos L929 infectados com as formas tripomastigota e amastigota do *T. cruzi*

	<i>Composto</i>	<i>IC₅₀ (μM)^a</i>	<i>CC₅₀ (μM)^b</i>	<i>IS^c</i>	<i>miLogP^d</i>
<i>Moléculas da série I</i>	83	994,3 \pm 104,9	1211,3	1,4	0,83
	91	177,8 \pm 25,9	218,1 \pm 15,7	1,2	1,12
	151	172,3	258,5	1,5	1,88
	152	I*	nd**	nd	-0,22
	153	I	nd	nd	1,50
	154	I	nd	nd	2,06
	155	I	nd	nd	2,57
	156	I	nd	nd	2,33
	157	I	nd	nd	2,33
	158	I	nd	nd	1,18
	159	I	nd	nd	2,17
	160	I	nd	nd	0,07
	161	38,6 \pm 27,6	455,8 \pm 151,9	11,8	1,79
	162	83,2 \pm 18,0	> 1165,6 ^g	> 14,0	2,35
	163	24,1 \pm 7,2	> 280	> 11,6	2,86
	164	151,6 \pm 7,5	272,4	1,8	2,62
	165	47,6 \pm 7,3	67,7	1,4	2,62
	166	85,6 \pm 30	> 611,4	> 7	1,47
	167	70,7 \pm 57,3	> 288,1 ^g	> 4,1	1,63
	168	I	nd	nd	-0,47
169	286,3 \pm 38,6	447,1 \pm 208,2	1,6	1,25	
170	157,7 \pm 62,3	> 611,4 ^g	> 3,9	1,81	
171	55,6 \pm 24,9	75,3 \pm 18,6	1,3	2,31	
172	55,1 \pm 26,4	74,8 \pm 23,6	1,4	2,07	
173	61 \pm 34,7	99,3 \pm 46,2	1,6	2,08	
174	I	nd	nd	0,93	
189	> 490	nd	nd	0,58	

* Inativo

** Não determinado

^a Concentração do composto necessária para reduzir 50% do crescimento do *T. cruzi* nas células L929. Os valores de IC₅₀ (μM) foram calculados por interpolação linear.

^b Concentração do composto que induz à morte celular de 50% dos fibroblastos L929.

^c Índice de seletividade = CC₅₀/IC₅₀.

^d Os valores de LogP foram obtidos através do Molinspiration Cheminformatics (miLogP, v.2.2, Nova ulica, SK-900 26, Slovensky Grob, Slovak Republic).¹⁹

^f BZD.

^g Baixa solubilidade em DMSO.

Dentre os compostos avaliados na primeira série, 17 foram ativos (**141**, **145-147**, **151**, **161-167**, **169-173**) e quatro mostraram-se moderadamente seletivos (IS > 7) (**161**, **162**, **163** e **166**). O restante apresentou baixo índice de seletividade.

A presença dos grupos tiossemicarbazona, substância **91** (IC₅₀ = 177,8 μM), e semicarbazona, composto **189** (IC₅₀ > 490 μM), no carbono [C-3] da isatina aumentou em 5 e 2 vezes a atividade, de modo respectivo, em comparação à observada para o **83** (IC₅₀ = 994,3 μM), conforme o observado também por Chiyanzu e colaboradores (CHIYANZU *et al.*, 2003).

As substâncias mais ativas e seletivas foram as tiossemicarbazonas **161**, **163**, **164** e **165**. De acordo com Pires e colaboradores (PIRES *et al.*, 2013) é recomendável que um protótipo à fármaco possua valor de IS pelo menos acima de 10 para que a segurança do mesmo seja garantida. Das substâncias que respeitam esta característica, encontram-se as **161**, **162** e **163**. Já, segundo Romanha (ROMANHA *et al.*, 2010) um composto promissor contra a DC deve apresentar IS igual ou superior a 50 (IS ≥ 50), além de possuir efeitos tripanocidas semelhantes ou maiores do que o medicamento de referência, o BZD.

Em geral, as semicarbazonas investigadas apresentaram atividade inferior às observadas para as correspondentes tiossemicarbazonas. Dentre as semicarbazonas ativas, destacam-se as **171**, **172** e **173**, que mostram valores de IC₅₀ (μM) correspondentes a 55,6, 55,1 e 61, respectivamente. No entanto, são consideradas tóxicas, uma vez o IS dessas três substâncias encontra-se em torno de 1,4.

Os derivados hidrolisados (**152-158**) não foram ativos, com exceção do composto **151** (IC₅₀ = 173,3 μM) que mostrou ser mais ativo do que **83** (IC₅₀ = 994,3 μM), indicando que a

¹⁹ Disponível em: < <http://www.molinspiration.com/>>. Acessado em: 20 de fevereiro de 2017.

inserção do cetil dioxolano promoveu um incremento na atividade antichagásica, *in vitro*, para os compostos **141**, **145-147** (Tabela 24).

Analisando as Tabelas 24 e 25, pode-se concluir que a natureza polar ou apolar do substituinte na posição 4 do anel triazólico é importante na modulação da atividade anti-*T. cruzi*, visto que os compostos que possuem grupo polar hidrofílico nesta posição, tais como o hidroximetilo (**142**, **152**, **160**, **168**), 1-hidrociclohexilo (**150**), acetato de metilo (**148**) e 2-hidroxipropilo (**148**) foram inativos. Enquanto que os que continham uma cadeia apolar alquílica saturada, com exceção dos **143** e **144**, mostraram atividade. Estes resultados sugerem que a lipofilicidade, provavelmente, desempenha um papel importante na atividade, influenciando na capacidade do composto de atravessar a membrana celular.

A atividade dos compostos da série II também foi avaliada quanto à sua capacidade inibir o crescimento do *T. cruzi*. Os resultados obtidos para este conjunto de compostos estão dispostos na Tabela 26. Para fins de comparação, a ação biológica do cetil da *N*-metil-5-iodo-isatina (**179**), substância empregada como material de partida para o conjunto de substâncias da série II também foi investigada.

A troca do anel triazólico pelo grupo fenila, além da mudança de posição do grupo tiossemicarbazona, foi de extrema importância para o aumento da atividade antichagásica, conforme pode ser observado para o composto **184** (Tabela 26), que apresentou IC₅₀ 9,6 µM, próximo do fármaco de referência. Este composto também se destaca pelo excelente índice de seletividade (IS = 109), o que o torna um candidato promissor para futuros ensaios *in vivo*.

Já a semicarbazona **185** foi pouco ativa e pouco seletiva, inclusive com atividade inferior aos seus precursores **179** e **181**. De maneira geral, estes resultados confirmam duas observações feitas também para a série I: as tiossemicarbazonas e a presença do anel fenil ou triazol na posição 5 do anel aromático são fundamentais para a obtenção de um melhor perfil antichagásico em moléculas derivadas da isatina.

Tabela 26. Atividade anti-*T. cruzi* (IC₅₀, µM), citotoxicidade (CC₅₀, µM) e índice de seletividade (IS) e LogP (miLogP) para os compostos **179**, **181**, **184** e **185** nos fibroblastos L929 infectados com as formas tripomastigota e amastigota do *T. cruzi*

	<i>Composto</i>	<i>IC₅₀ (µM)^a</i>	<i>CC₅₀ (µM)^b</i>	<i>IS^c</i>	<i>miLogP^d</i>
<i>Moléculas da série II</i>	179	329,0 ± 8,7	> 980	> 3	2,08
	181	229,0 ± 1,8	> 647	> 1,3	2,58
	184	9,6 ± 2,3	> 1046,8	109	2,73
	185	378,3 ± 32,8	> 1092,4	> 2,9	2,19
	1^e	3,8	2,381	625	0,78

^a Concentração do composto necessária para reduzir 50% do crescimento do *T. cruzi* nas células L929. Os valores de IC₅₀ (µM) foram calculados por interpolação linear.

^b Concentração do composto que induz à morte celular de 50% dos fibroblastos L929.

^c Índice de seletividade = CC₅₀/IC₅₀.

^d Os valores de LogP foram obtidos através do Molinspiration Cheminformatics (miLogP, v.2.2, Nova ulica, SK-900 26, Slovensky Grob, Slovak Republic).²⁰

^e BZD.

²⁰ Disponível em: < <http://www.molinspiration.com/>>. Acessado em: 20 de fevereiro de 2017.

Para que se tenha uma visão geral dos valores de IC₅₀ das substâncias ativas das séries I e II, a Figura 67 ilustra um gráfico de barras comparativo.

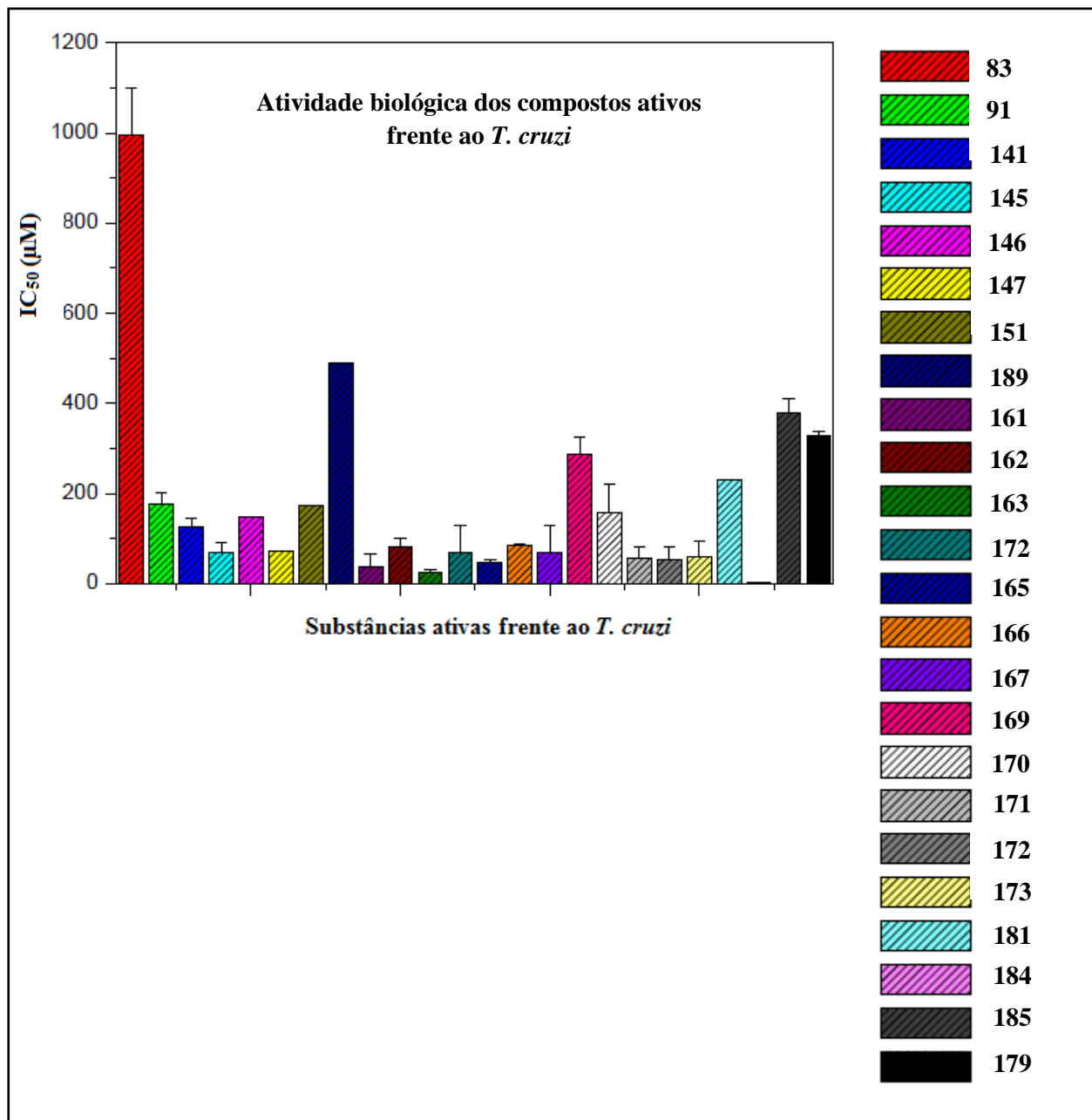


Figura 67. Gráfico que mostra a atividade antichagásica (*in vitro*) das substâncias obtidas na Tese

Considerando que o caráter lipofílico das substâncias avaliadas é um fator que modula a atividade, um gráfico (IC₅₀ versus miLogP) foi gerado, considerando todos os compostos da série I e II, e revelou que de fato existe uma tendência da participação da lipofilicidade, haja vista que o

valor de R^2 foi de 0,6145. Contudo, este parâmetro não é o único determinante para a expressão da ação antichagásica neste conjunto (Figura 68).

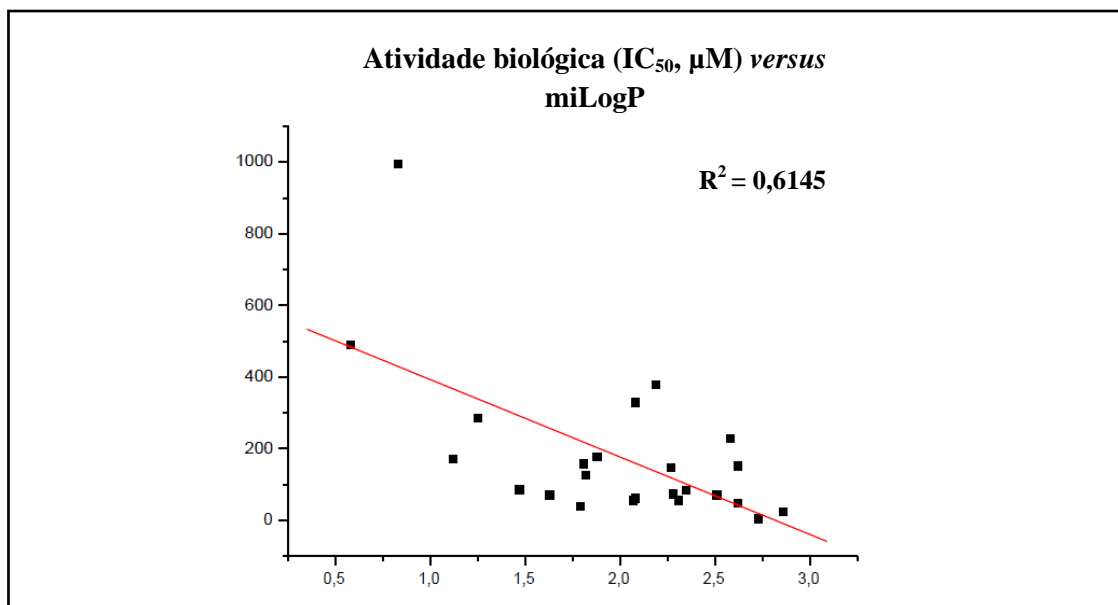


Figura 68. Gráfico que mostra a relação entre os valores de IC_{50} (μM) das substâncias versus a natureza lipofílica (miLogP)

O caráter lipofílico de uma substância pode ser mensurado experimentalmente através do coeficiente de partição 1-octanol/água P expresso como um logaritmo na base 10 (LogP). Para a predição dos valores de LogP deste trabalho foi utilizado o programa Molinspiration Cheminformatics (MiLogP, v 2.2., Molinspiration Cheminformatics, Nova ulica, SK-900 26, Slovensky Grob, República Eslovaca) (<http://www.molinspiration.com/>).

4.6. Eletroquímica

4.6.1. Voltametria cíclica

Os estudos voltamétricos foram realizados no Laboratório de Eletroquímica e Eletroanalítica do Instituto de Química da UFRJ coordenado pela prof^a. Dr^a. Eliane D'Elia com o auxílio do mestrando José Guilherme Aquino Rodrigues.

Como mencionado na introdução desta Tese (*vide item 1.1.3*), o benznidazol atua por indução de espécies reativas do oxigênio (O_2 , OH^\cdot , O_2^{2-} , H_2O_2) inibindo desta forma a TcNTR,

enzima vital ao *T. cruzi* (MORENO *et al.*, 1982; TEMPERTON *et al.*, 1998; MAYA *et al.*, 2003 e 2007).

A literatura dispõe de uma série de exemplos nos quais correlacionam o processo redox de compostos orgânicos à sua ação anti-*T. cruzi* (MÁTES *et al.*, 2003; TONIN *et al.*, 2011; ARAVENA *et al.*, 2011; TORRES *et al.*, 2013; ARCE *et al.*, 2017).

Por exemplo, estudos biológicos conduzidos por Porcal e colaboradores (PORCAL *et al.*, 2008) mostraram que os derivados benzofuroxano contendo os grupos iso-tiossemicarbazona e tiossemicarbazona (**190**, **191** e **192** – Figura 69) foram ativos contra a forma epimastigota da cepa Tulahúen do *T. cruzi*. Neste estudo, ambos os grupos *N*-óxido e o hidroxila foram identificados como os responsáveis pela formação de radicais livres.

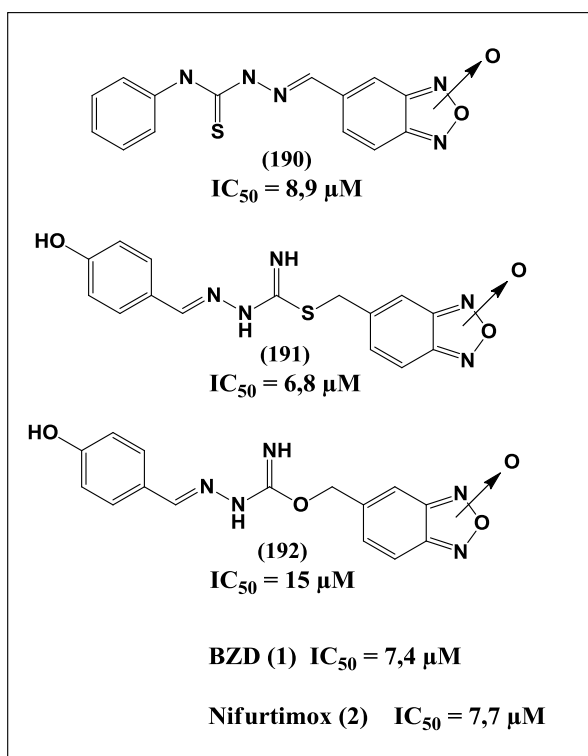


Figura 69. *N*-óxidos (**190**, **191** e **192**) ativos contra a forma epimastigota do *T. cruzi* e responsáveis pela formação de espécies reativas do oxigênio

A voltametria cíclica (VC) foi empregada, neste trabalho, para o estudo do comportamento redox das tio- (**91**, **159**, **161-164** e **166**) e semicarbazonas (**189**, **167**, **169-172** e

174), visto que esta informação pode fornecer indícios sobre o seu mecanismo de ação antichagásico.

A VC também fornece, de forma rápida, informações sobre a termodinâmica de processos redox de compostos orgânicos, bem como informações acerca da cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons e das reações químicas acopladas a processos adsortivos (BRETT e OLIVEIRA-BRETT, 1988; WANG, 2000).

A VC é uma técnica eletroanalítica de interface que consiste na aplicação de um sinal de excitação de potencial variável sobre uma célula eletroquímica com três eletrodos: um eletrodo de trabalho, no qual ocorre a eletrólise investigada; um eletrodo de referência e um contra-eletródo (Figura 70) (BRETT e OLIVEIRA-BRETT, 1988; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2006; PACHECO *et al.*, 2013).

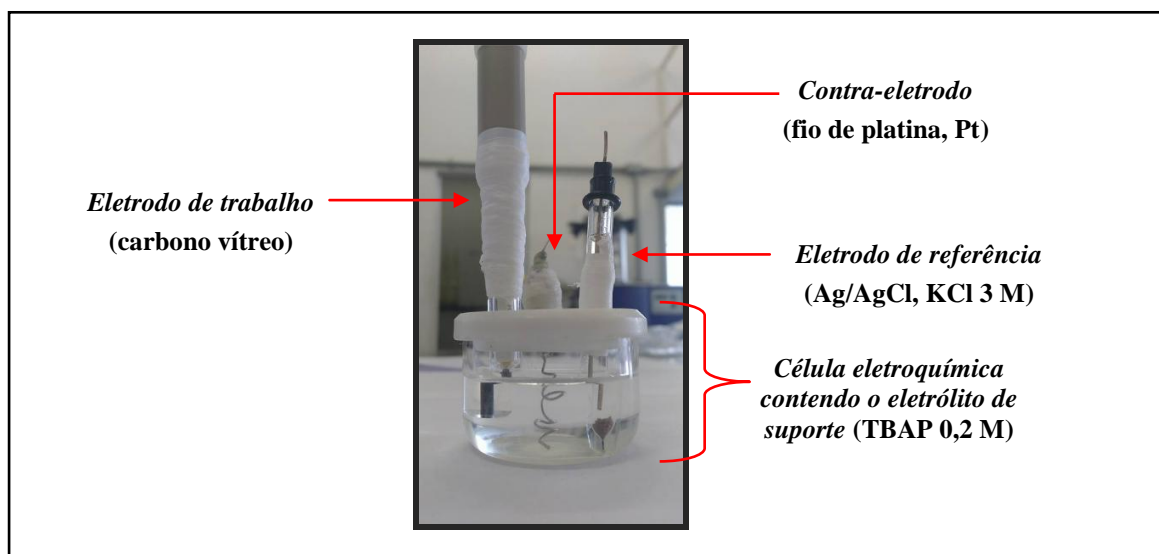


Figura 70. Célula eletroquímica empregada para a análise voltamétrica

A célula eletroquímica é operada na presença de uma corrente elétrica oriunda de um potencial aplicado sobre o eletrodo de trabalho. Desta forma, as informações sobre a natureza eletroquímica da substância em análise são obtidas através da medição da magnitude da corrente elétrica (SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2006; PACHECO *et al.*, 2013).

Os sinais de excitação usados na VC são denominados varredura linear, pulso diferencial, onda quadrada ou triangular. A varredura linear triangular é o tipo de sinal em que o

potencial é repetido ciclicamente em uma faixa de valores pré-determinados, aumentando primeiramente de forma linear até o máximo e, em seguida, diminuindo com o mesmo valor de inclinação até o valor de origem (Figura 71A). O voltamograma cíclico é originado quando a amostra é submetida ao sinal de excitação cíclica com o potencial (Figura 71B) (BRETT e OLIVEIRA-BRETT, 1988; SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2006).

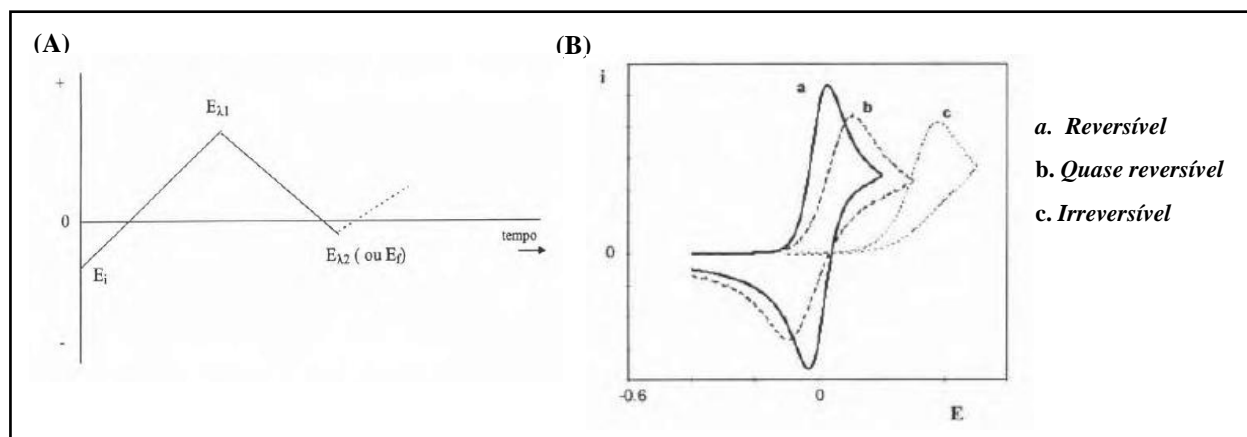


Figura 71. (A) Sinal de excitação em voltametria cíclica e (B) voltamograma cíclico hipotético para uma transferência eletrônica reversível, quase reversível e irreversível (SILVA, 1998)

O voltamograma gerado depende do tipo de mecanismo redox que o analito sofre no eletrodo e pode ser considerado reversível, irreversível ou quase reversível (GONZALEZ e STRADIOTTO, 1982; SILVA, 1998).

No caso de uma reação reversível, os produtos que tiverem sido gerados no sentido direto e, se localizam ainda próximos à superfície do eletrodo, serão oxidados, gerando um pico simétrico ao pico da redução. Ou seja, o processo reversível ocorre quando a reação de transferência de carga torna-se tão rápida que o eletrodo se encontra sempre em equilíbrio químico. Deste modo, o transporte de matéria é, então, a etapa determinante do processo global da reação eletroquímica. Já um comportamento irreversível é observado quando uma ou mais reações de transferência de carga determinam a velocidade do processo global (GONZALEZ e STRADIOTTO, 1982; SILVA, 1998).

Entre o processo voltamétrico reversível e irreversível, existe o denominado quase reversível no qual o transporte de matéria e a reação de transferência de carga apresentam velocidades comparáveis (GONZALEZ e STRADIOTTO, 1982; SILVA, 1998).

Os voltamogramas cíclicos das tio- (**91**, **159**, **161-164** e **166**) e semicarbazonas (**189**, **167**, **169-172** e **174**) foram obtidos (Figura 72) à temperatura ambiente em metanol contendo 0,2 M do eletrólito-suporte, perclorato de tetrabutilamônio (TBAP), na faixa de - 1,5 a 1,5 mV vs. Ag/AgCl/Cl⁻ (3 M).

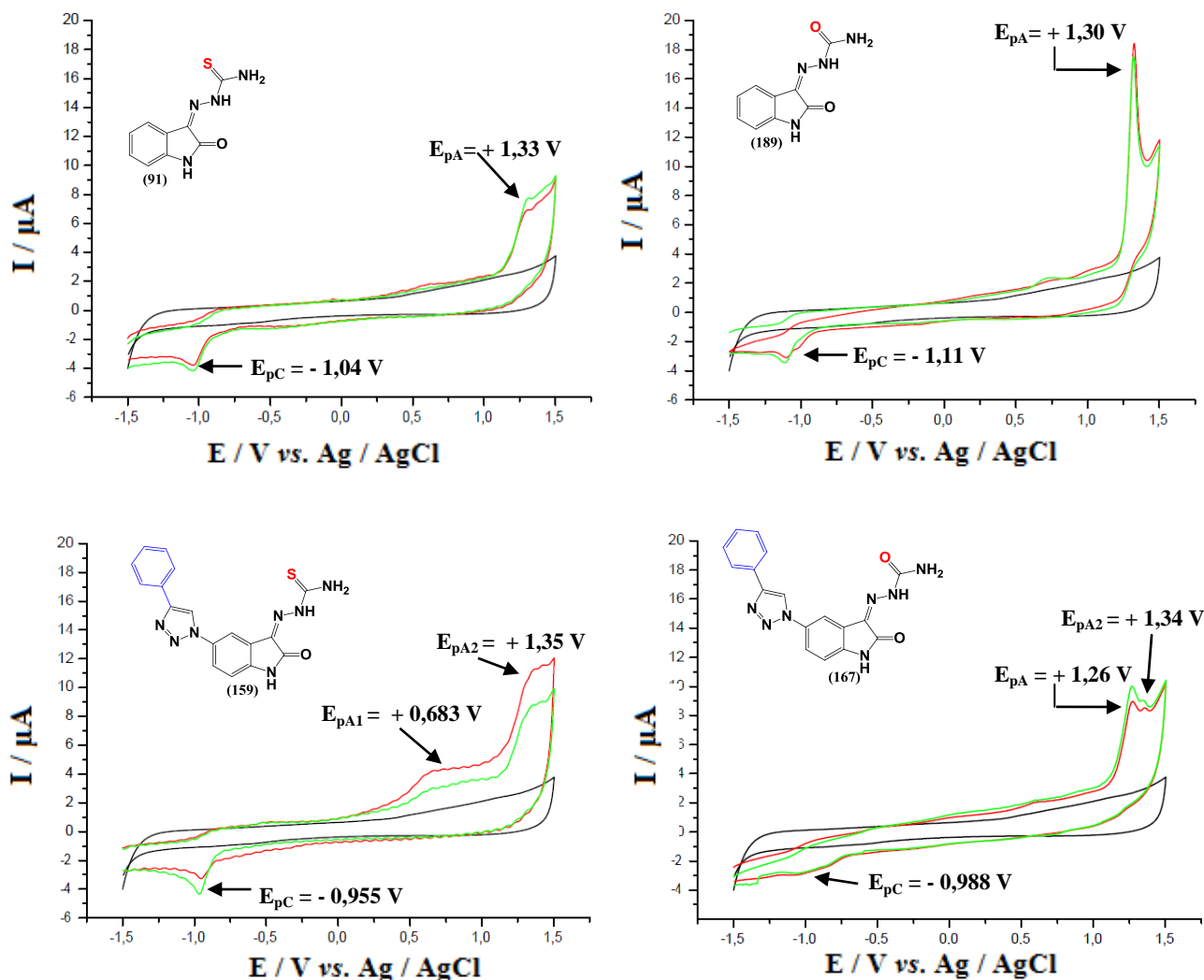


Figura 72. Voltamogramas cíclicos obtidos em N₂ usando como eletrólito de suporte uma solução de (—) 0,2 M perclorato de tetrabutilamônio (TBAP) e 2×10^{-4} M das tio- (**91**, **159**, **161-164** e **166**) e semicarbazonas (**189**, **167**, **169-172** e **174**), primeiro scan (—) e segundo scan (—), $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$

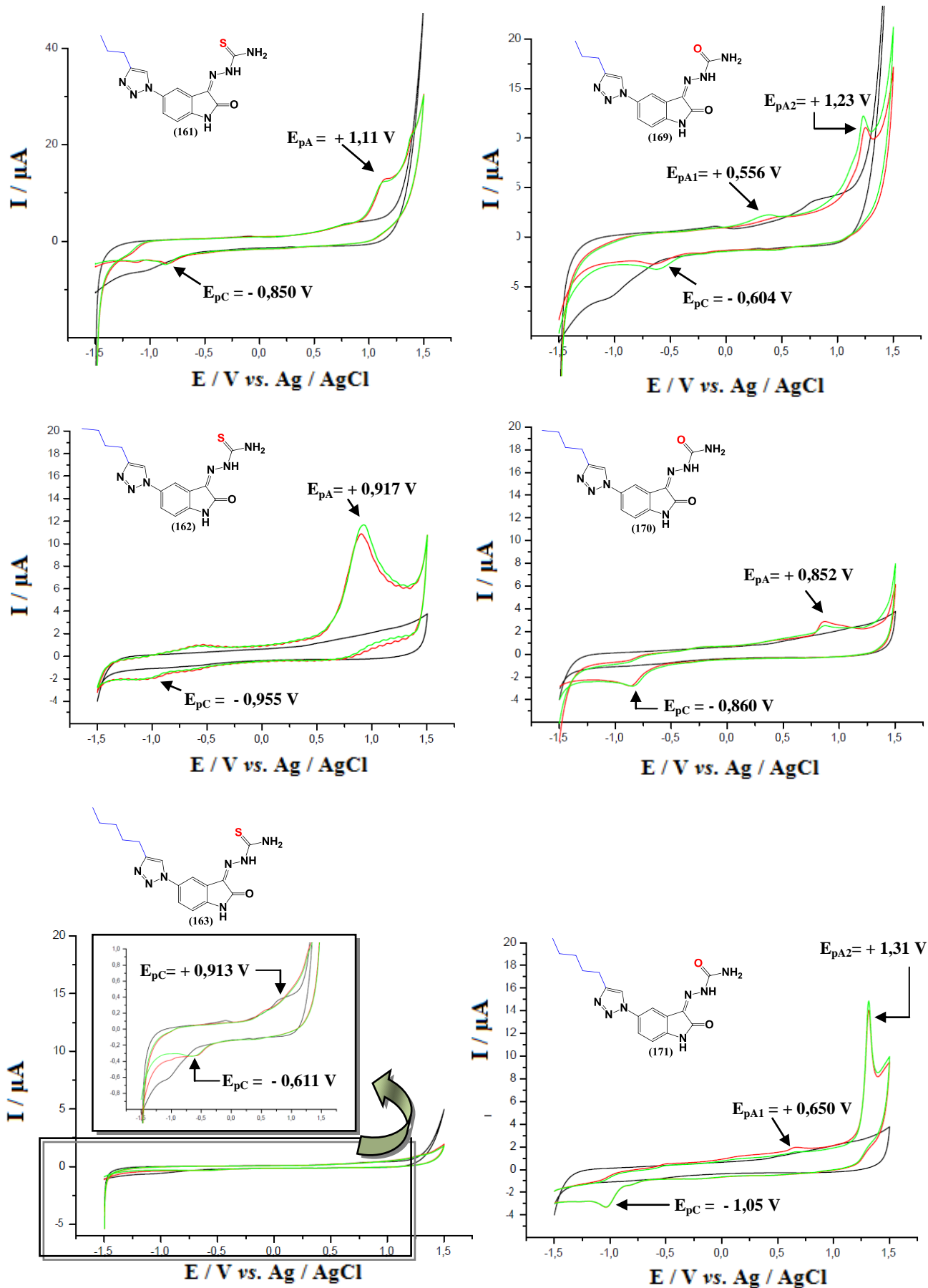


Figura 72. Voltamogramas cíclicos obtidos em N_2 usando como eletrólito de suporte uma solução de (—) 0,2 M perclorato de tetrabutilamônio (TBAP) e 2×10^{-4} M das tio- (91, 159, 161-164 e 166) e semicarbazonas (189, 167, 169-172 e 174) primeiro scan (—) e segundo scan (—), $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$ (continuação) 148

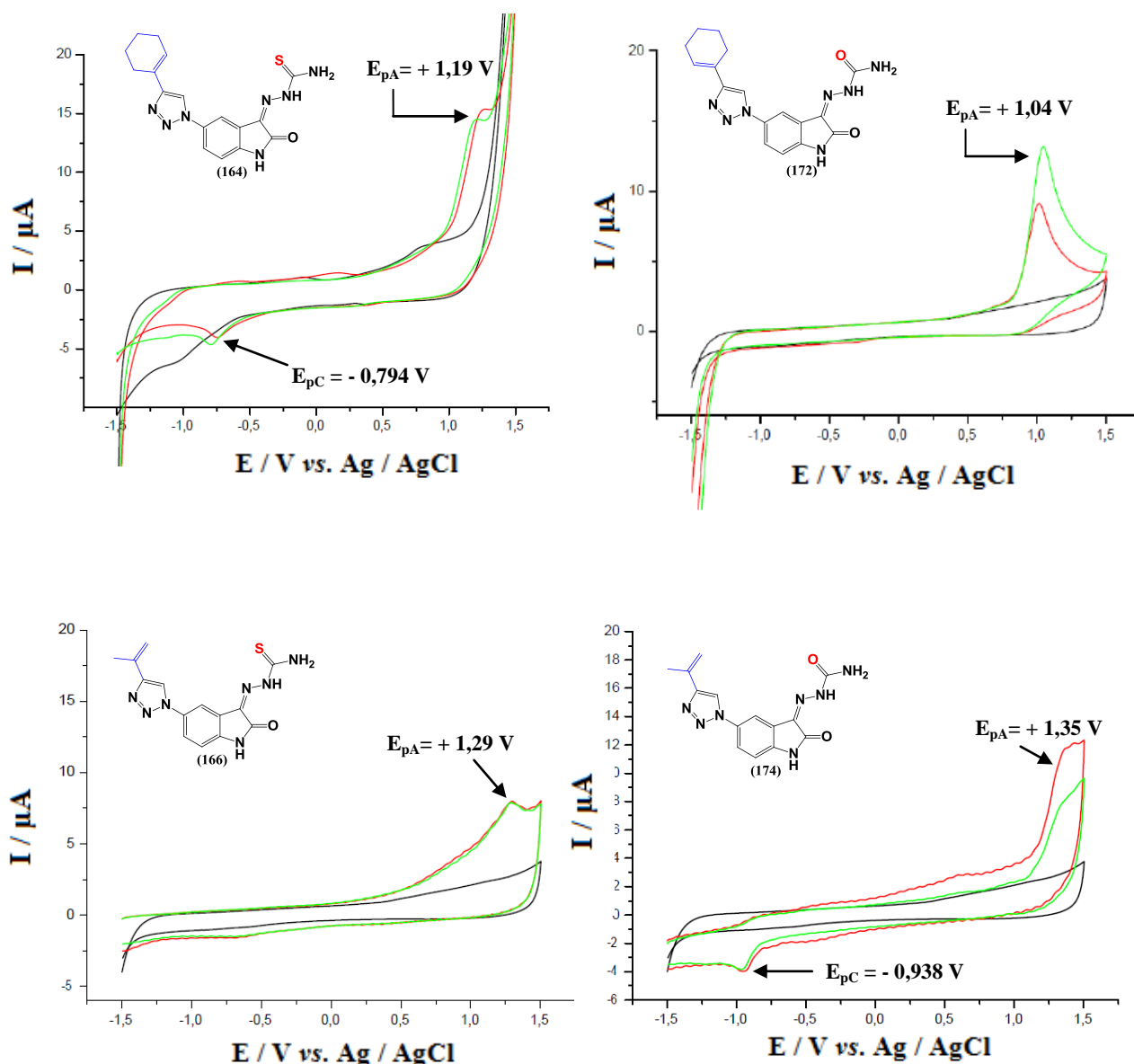
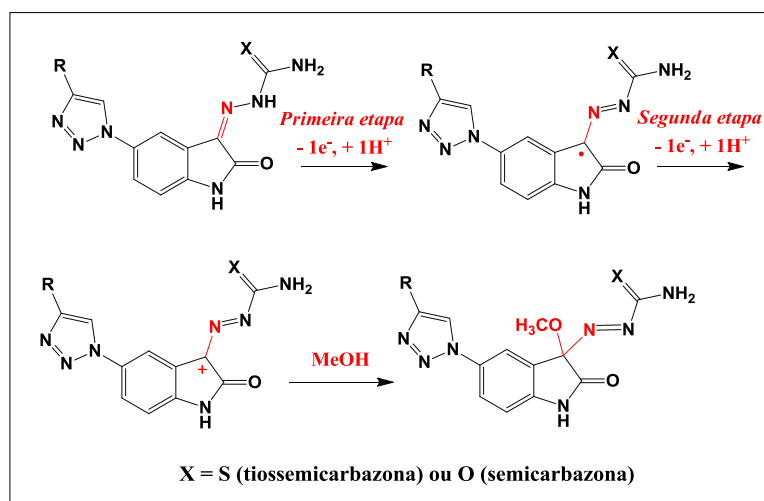


Figura 72. Voltamogramas cíclicos obtidos em N_2 usando como eletrólito de suporte uma solução de (—) 0,2 M perclorato de tetrabutilamônio (TBAP) e 2×10^{-4} M das tio- (91, 159, 161-164 e 166) e semicarbazonas (189, 167, 169-172 e 174) primeiro scan (—) e segundo scan (—), $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$ (continuação)

Todas as substâncias apresentaram ao menos um pico irreversível na região anódica, provavelmente devido ao processo oxidativo em $[C=N-]$. O comportamento redox de derivados da isatina vem sendo explorado pelo grupo de pesquisa da professora Oliveira-Brett (DICULESCU *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2016) e revela que o processo de oxidação pode envolver um elétron e um próton para produzir um radical livre na primeira etapa, em seguida,

um carbocátion pode ser formado através da oxidação do radical livre (Esquema 18). Nesta classe de compostos, estas duas etapas podem ocorrer em potenciais muito próximos, resultando, na maioria dos casos, apenas um único pico anódico. A oxidação do anel triazólico pode ocorrer em valores de potenciais superiores à faixa de potencial investigada no presente trabalho (LOKESH, SATPATI e SHERIGARA, 2010).



Esquema 18. Proposta mecanística para a oxidação das tio- (**91**, **159**, **161-164** e **166**) e semicarbazonas (**189**, **167**, **169-172** e **174**) (Baseado em OLIVEIRA et al., 2013).

A ordem de facilidade com a qual este conjunto de substâncias sofreu oxidação pode estar vinculada com o substituinte presente na porção triazólica, de modo que, por ordem decrescente, **169** ($E_{pA1} = + 0,556$ V) foi mais facilmente oxidado do que **171** ($E_{pA1} = + 0,650$ V), **159** ($E_{pA} = + 0,683$ V), **170** ($E_{pA} = + 0,852$ V), **163** ($E_{pA} = + 0,913$ V), **162** ($E_{pA} = + 0,917$ V), **172** ($E_{pA} = + 1,04$ V), **161** ($E_{pA} = + 1,11$ V), **164** ($E_{pA} = + 1,19$ V), **167** ($E_{pA1} = + 1,26$ V), **166** ($E_{pA} = + 1,29$ V), **189** ($E_{pA} = + 1,30$ V), **91** ($E_{pA} = + 1,33$ V) e **174** ($E_{pA} = + 1,35$ V). No entanto, vale ressaltar que a corrente de pico observada para o composto **162** foi quatro vezes superior à observada para **170**.

O processo catódico revelou ser independente do processo anódico e a ordem de facilidade para o processo de redução ficou estabelecida da seguinte forma: **169** ($E_{pC} = -0,604$ V), **163** ($E_{pC} = -0,611$ V), **161** ($E_{pC} = -0,850$ V), **164** ($E_{pC} = -0,794$ V), **170** ($E_{pC} = -0,860$ V), **174** ($E_{pC} = -0,938$ V), **159** ($E_{pC} = -0,955$ V) ~ **162** ($E_{pC} = -0,955$ V), **167** ($E_{pC} = -0,988$ V), **91** ($E_{pC} = -1,04$ V), **171** ($E_{pC} = -1,05$ V) and **189** ($E_{pC} = -1,11$ V).

Apenas a substância **166** e **172** não apresentaram pico na região catódica. O pico catódico pode estar relacionado à redução da porção [C=N]. A redução da porção N=N do triazol ocorre em potenciais mais negativos do que $-1,5\text{ V vs. Ag/AgCl/Cl}^-$ com nenhum pico de redução na varredura reversa. O aumento da corrente catódica observado em aproximadamente $-1,4\text{ V}/-1,5\text{ V vs. Ag/AgCl/Cl}^-$ é provavelmente devido à redução do grupo triazólico.

Em geral, a presença do núcleo 1,2,3-triazólico favoreceu os processos de oxidação e redução quando comparados aos observados para a isatina- β -tiossemicarbazona (**91**) e para a isatina- β -semicarbazona (**189**).

A fim de averiguar se a ação anti-*T. cruzi* e o comportamento eletroquímico das moléculas investigadas estavam intimamente vinculados, três gráficos foram gerados: no primeiro, correlacionou-se apenas os potenciais de oxidação que se encontravam na faixa de $+0,556\text{ V}$ a $+0,852\text{ V}$ com os seus correspondentes valores de IC_{50} (μM) (Gráfico 1); em seguida, correlacionou-se os potenciais de oxidação cujos valores encontravam-se entre $+0,852\text{ V}$ e $+1,35\text{ V}$ (Gráfico 2) e, por fim, os potenciais de redução (Gráfico 3 – Figura 73). Nenhuma correlação foi observada.

Gráfico 1: Atividade anti-T. cruzi vs. Potencial de Oxidação 1

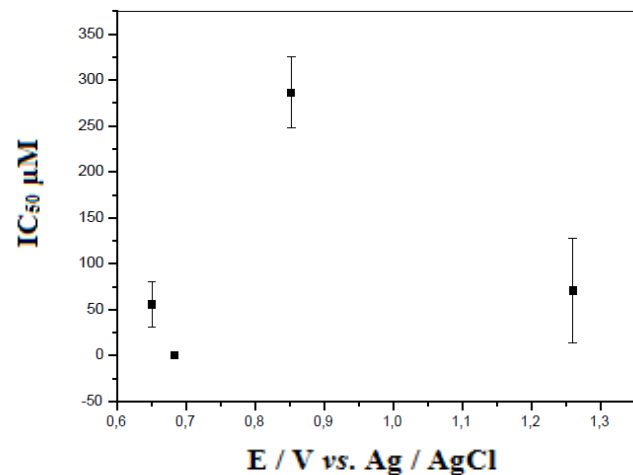


Gráfico 2: Atividade anti-T. cruzi vs. Potencial de Oxidação 2

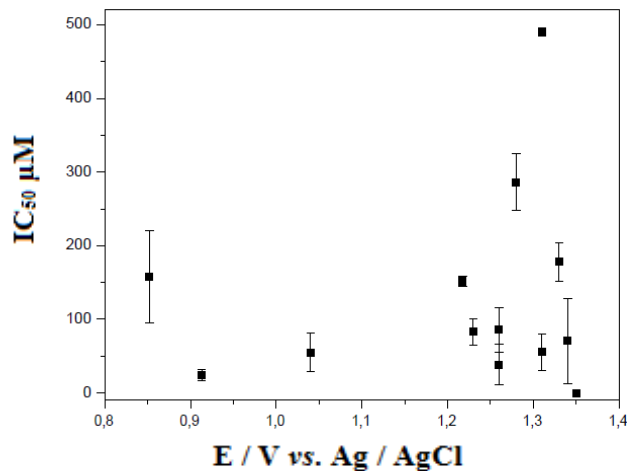
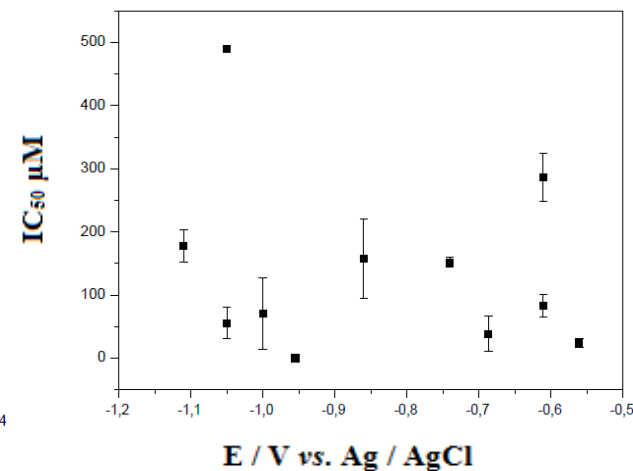


Gráfico 3: Atividade anti-T. cruzi vs. Potencial de Redução



Substância	IC ₅₀ (µM)	Potencial de Oxidação 1 E/V vs. Ag/AgCl/Cl ⁻
159	na*	+ 0,683
169	286,3 ± 38,6	+ 0,556
170	157,7 ± 62,3	+ 0,852
171	55,6 ± 24,9	+ 0,650

*na = não apresentou atividade

Substância	IC ₅₀ (µM)	Potencial de Oxidação 2 E/V vs. Ag/AgCl/Cl ⁻	Potencial de Redução E/V vs. Ag/AgCl/Cl ⁻	Substância	IC ₅₀ (µM)	Potencial de Oxidação 2 E/V vs. Ag/AgCl/Cl ⁻	Potencial de Redução E/V vs. Ag/AgCl/Cl ⁻
159	na*	+ 1,35	- 0,955	169	286,3 ± 38,6	+ 1,23	- 0,604
161	38,6 ± 27,6	+ 1,11	- 0,850	170	157,7 ± 62,3	+ 0,852	- 0,860
162	83,2 ± 18,0	+ 0,917	- 0,955	171	55,6 ± 24,9	+ 1,31	- 1,05
163	24,1 ± 7,2	+ 0,913	- 0,611	172	55,1 ± 26,4	+ 1,04	-
164	151,6 ± 7,5	+ 1,19	- 0,794	174	na	+ 1,35	- 0,938
166	85,6 ± 30	+ 1,29	-	91	177,8 ± 25,9	+ 1,30	- 1,04
167	70,7 ± 57,3	+ 1,26	- 0,988	189	> 490	+ 1,33	- 1,11

*na= não apresentou atividade

Figura 73. Correlação entre os valores de IC₅₀ (µM) e o comportamento de oxirredução observados para as tiossemicarbonas (91, 159, 161-164 e 166) e das semicarbonas (189, 167, 169-172 e 174)

4.7. Modelagem molecular

Os resultados obtidos nos ensaios eletroquímicos mostram que não há correlação entre o comportamento redox e a atividade inibitória, (*in vitro*), das tio- e semicarbazonas, sugerindo que estas substâncias não atuam pela formação de radicais livres como é proposto para algumas substâncias com ação antichagásica. Sendo assim, decidiu-se investigar se o perfil de atividade das tio- e semicarbazonas preparadas neste trabalho está relacionado às interações com enzimas do *T. cruzi* (GREENBAUM *et al.*, 2004; FUJI *et al.*, 2005; CARDOSO *et al.*, 2014; SCOTTI *et al.*, 2016).

Neste contexto, os estudos de docagem (*docking*) molecular foram realizados em dois alvos biológicos do *T. cruzi*, as enzimas cruzaina (CRZ) e fosfodiesterase C (TcrPDEC), em razão dos fragmentos isatina, 1,2,3-triazol, tio- e semicarbazona serem descritos como grupos farmacofóricos para esses alvos (CHIYANZU *et al.*, 2003; MAREDDY *et al.*, 2013; FERNICOLA *et al.*, 2015; LIPEEVA *et al.*, 2015; NAGARSENKAR *et al.*, 2016).

Os estudos de docagem molecular foram realizados no Laboratório de Modelagem Molecular (LabMMol) do Instituto de Química da UFRJ pela Prof^a. Dr^a Magaly Girão Albuquerque e pelo Prof. Dr. Camilo Henrique da Silva Lima.

Antes da docagem das carbazonas nas enzimas CRZ e TcrPDEC, fez-se a validação do procedimento de redocagem (*redocking*) que avalia a habilidade do protocolo a ser empregado na docagem em prever o modo de ligação (i.e., a conformação e a orientação) do ligante na proteína observado nos complexos da 4KLB (cruzaina) (WIGGERS *et al.*, 2013) e da 3V94 (fosfodiesterase C) (WANG *et al.*, 2012), ambos obtidos por experimentos de cristalização e difração.

A Figura 74 mostra a sobreposição das poses das estruturas dos ligantes 1RV (Figura 74A) e WYQ (Figura 74B) obtidas por redocagem nos sítios ativos das enzimas cruzaina (PDB ID: 4KLB) e fosfodiesterase C (PDB ID: 3V94), respectivamente, com as correspondentes estruturas desses ligantes co-cristalizados nessas proteínas. Os valores de desvio médio quadrático das posições atômicas (*Root Mean Square Deviation*, RMSD) calculados foram de 0,68 Å e 1,67 Å para os ligantes 1RV e WYQ, respectivamente.

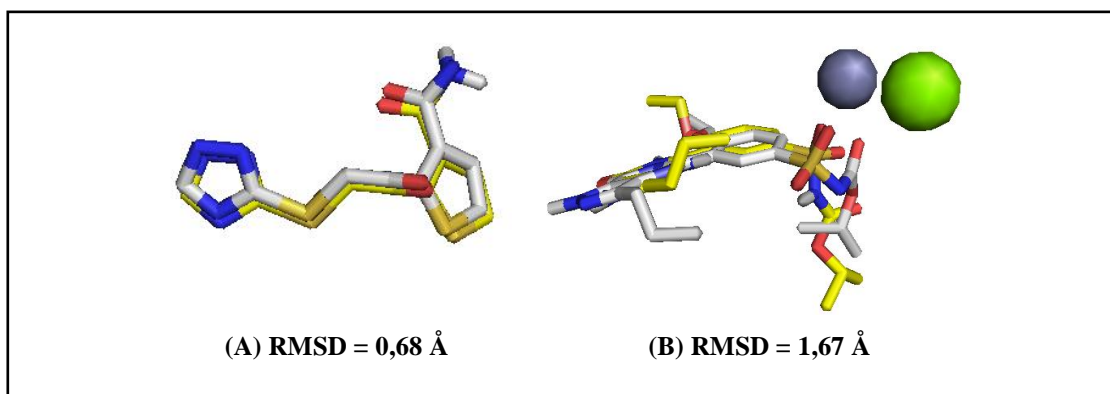


Figura 74. Sobreposições das estruturas dos ligantes 1RV (A) e WYQ (B) obtidas por redocagem (átomos de carbono em cor amarela) com as respectivas estruturas co-cristalizadas (átomos de carbono em cor branca) nos complexos 4KLB (ligante 1RV) e 3V94 (ligante WYQ). As estruturas dos ligantes estão representadas em modelo bastão, os átomos de oxigênio, nitrogênio e enxofre estão coloridos em vermelho, azul e laranja, respectivamente, e os íons de zinco e magnésio estão representados como esferas coloridas em roxo e verde, respectivamente

O valor de RMSD da sobreposição entre duas estruturas avalia o grau de semelhança estrutural, assim, quanto menor é o valor de RMSD, maior é a semelhança. Em estudos de docagem, valores de RMSD inferiores a 2,0 Å são considerados satisfatórios, indicando que os algoritmos e os parâmetros utilizados são confiáveis para a obtenção das poses (KONTOYIANNI *et al.*, 2004).

Em seguida, a docagem molecular foi feita apenas para as tiosemicarbazonas com IS superior a 7 (**161**, **162**, **163** e **166**) e para as semicarbazonas correspondentes (**169**, **170**, **171** e **174**) com ambas as proteínas (cruzaína e fosfodiesterase C) do *T. cruzi*. Somente o isômero Z das tio- e semicarbazonas foi considerado para este tipo de análise.

A Tabela 27 resume os valores de energia de ligação obtidos para as melhores poses obtidas por docagem referente ao *cluster* (i.e., agrupamento de poses com valores de RMSD < 0,5 Å) mais populoso.

Tabela 27. Valores de energia obtidos através do *docking* (E, kcal/mol) entre as tio- (**161**, **162**, **163** e **166**) e semicarbazonas (**169**, **170**, **171** e **174**) e a cruzafina (CRZ, PDB ID: 4KLB), bem como para a fosfodiesterase C (TcrPDEC, PDB ID: 3V94), usando o software AutoDock (v.4.2)

<i>Ligante-CRZ</i>				<i>Ligante-TcrPDEC</i>			
Composto	E	Composto	E	Composto	E	Composto	E
161	-5,40	169	-5,97	161	-7,47	169	-9,12
162	-5,36	170	-5,64	162	-7,90	170	-9,19
163	-5,18	171	-5,65	163	-8,31	171	-9,43
166	-5,75	174	-6,95	166	-7,75	174	-9,29

Em todos os casos (Tabela 27), as diferenças de energia entre as correspondentes tio- e semicarbazonas, considerando o mesmo sistema, são menores do que 1,7 Kcal/mol. Esta diferença não é significativa, o que era esperado, visto que a única diferença estrutural entre estas duas séries de substâncias é a troca de um átomo de enxofre (tiosemicarbazonas) por oxigênio (semicarbazonas).

De qualquer modo, em ambos os sistemas, as semicarbazonas possuem melhores valores de energia de ligação (valores mais baixos) do que as tiosemicarbazonas. No entanto, as diferenças de energia entre os sistemas CRZ/TcrPDEC para o mesmo composto, em todos os casos, foram $\geq 2,0$ kcal/mol, indicando que o sistema TcrPDEC forneceu melhores valores de energia de ligação.

Segundo os dados observados na Tabela 27, as semicarbazonas são teoricamente melhores ligantes para a TcrPDEC e, portanto, deveriam ter maior atividade contra o *T. cruzi* do que as tiosemicarbazonas. A aparente contradição entre os resultados teóricos (docagem ligante-enzima) e experimentais (ensaio *in vitro* com o *T. cruzi*) não deve ser supervalorizada, pois o método de docagem não leva em consideração eventos farmacocinéticos, como a permeabilidade das substâncias através da membrana celular do parasito, mas somente a interação ligante-proteína que é um evento farmacodinâmico. Desta forma, os resultados de docagem devem ser futuramente confrontados com os resultados dos ensaios experimentais com a enzima TcrPDEC.

O sítio ativo da CRZ contém os resíduos de aminoácidos da tríade catalítica, i.e., cisteína-25 (Cys25), histidina-162 (His162) e asparagina-182 (Asn182), e da “cavidade do oxianion”, i.e., glutamina-19 (Gln19) (esta região é assim denominada porque o grupo carbonila do substrato peptídico, após sofrer um ataque nucleofílico, é

transformado em um intermediário tetraédrico que contém um grupo oxianion que interage via ligação hidrogênio nessa cavidade). A inspeção visual das melhores poses obtidas (Tabela 27) mostra que todos os compostos exibiram o mesmo modo de ligação potencial no sítio ativo da CRZ, com o anel 1,2,3-triazol e o seu substituinte na posição 4 próximos da Cys25, enquanto que o grupo tio- ou semicarbazona está orientado na direção da carbonila da cadeia principal da leucina-160 (Leu160) e da amida da cadeia lateral da Gln159. Na Figura 75A, este modo de ligação preferencial está exemplificado pela pose do composto **171** sobreposta à estrutura experimental do inibidor 1RV no sítio ativo da CRZ, cujo anel 1,2,4-triazol está orientado na direção do carboxilato da cadeia lateral do ácido aspártico-60 (Asp60).

O sítio catalítico da TcrPDEC contém dois cátions metálicos divalentes, os íons Zn(II) (tetracoordenado aos resíduos His372, His409, Asp410 e Asp521) e Mg(II) (coordenado ao resíduo Asp410). A análise visual das melhores poses obtidas revela dois modos de ligação potenciais distintos no sítio ativo da TcrPDEC. No primeiro, os compostos **166**, **169**, **170**, **171** e **174** interagem com o Mg(II) através dos átomos de enxofre ou oxigênio dos grupos tio- ou semicarbazona, enquanto que no segundo modo de ligação, o grupo tiosemicarbazona de **161**, **162** e **163** está orientado em direção oposta e, portanto, distante do Mg(II). A Figura 75B mostra a pose preferencial adotada por **171** no sítio ativo da TcrPDEC, exemplificando o primeiro modo de ligação, onde é possível observar a interação do átomo de oxigênio do grupo semicarbazona com o íon Mg(II). Ainda nesta Figura 75B, a pose de **171** está sobreposta à estrutura do inibidor WYQ que não interage com o íon Mg(II), nem seu grupo sulfonilcarbamato que mesmo estando orientado na direção do Mg(II) ainda assim está distante cerca de 5,5 Å.

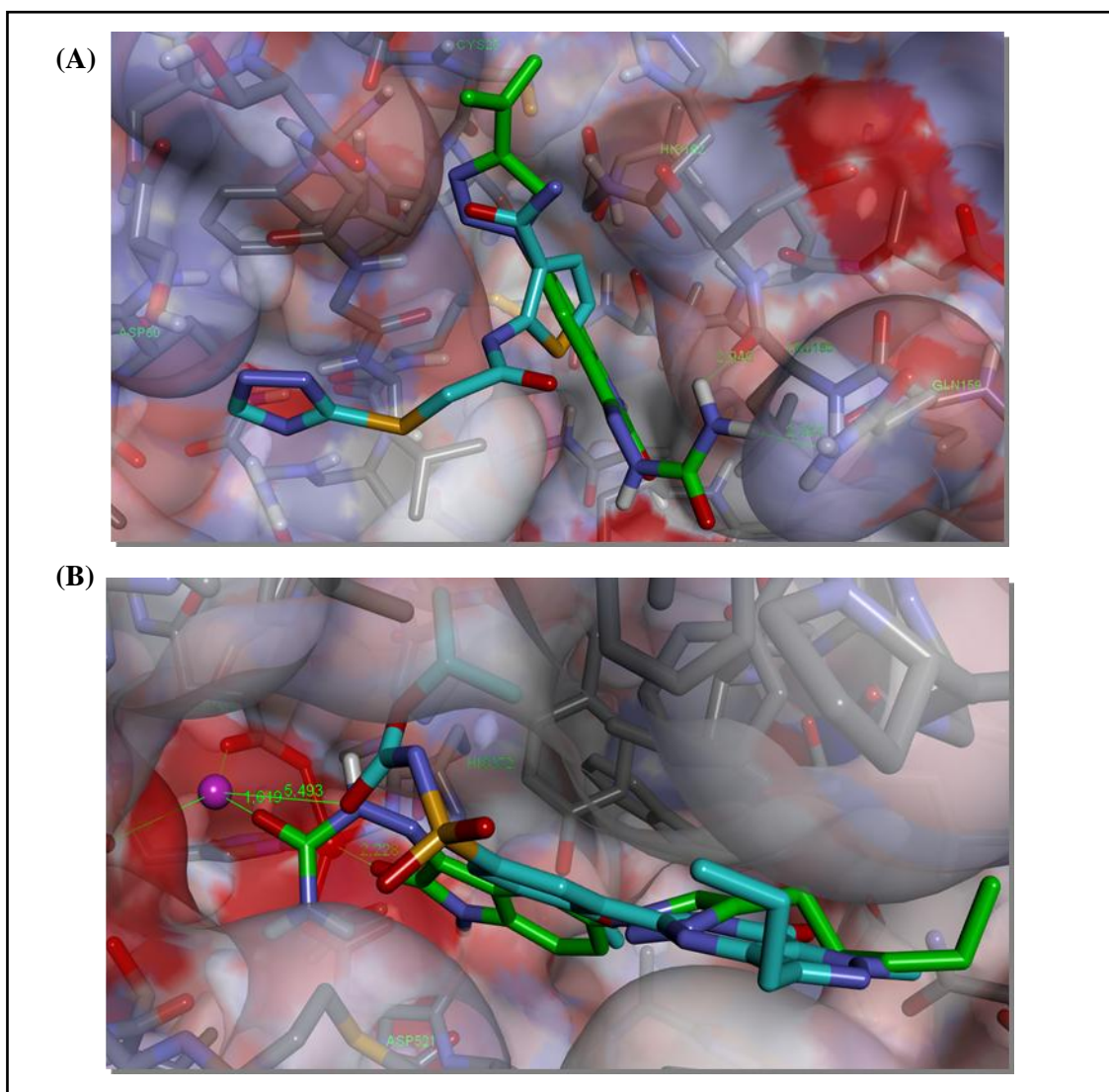


Figura 75. Sobreposição entre as poses de **171** obtidas pelo programa AutoDock e as estruturas co-cristalizadas dos inibidores 1RV (A) e WYQ (B) nos complexos 4KLB (cruzaína) e 3V94 (fosfodiesterase C), respectivamente. Os átomos de hidrogênios apolares foram omitidos para melhor visualização. As estruturas dos ligantes e das proteínas estão representadas em modelo bastão. Código de cores dos átomos: carbono (azul claro, inibidores 1RV e WYQ; verde, semicarbazona **171**); hidrogênio polar (branco); oxigênio (vermelho); nitrogênio (azul escuro); enxofre (laranja); zinco e magnésio (esferas em púrpura e vermelho, respectivamente)

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho, 34 substâncias foram obtidas através de métodos simples e com o emprego de reagentes de baixo custo. Dentre estes compostos, 27 (**151 – 174**, **181**, **184** e **185**) são inéditos.

Todos os compostos foram obtidos em rendimentos satisfatórios e tiveram sua estrutura confirmada através de métodos espectroscópicos e espectrométricos, como EMAR-ESI(+), IV, RMN ¹H e RMN ¹³C.

Experimentos de NOESY, COSY ¹H-¹H, HMQC e HMBC auxiliaram na confirmação da estrutura da tiossemicarbazona **163** e da semicarbazona **171**.

Foi observado que os cetais de isatinas são resistentes à hidrólise, mesmo em condições reacionais muito ácidas e que esta reação possui forte influência do substituinte presente no anel aromático. Contudo, o produto de hidrólise desses cetais foi obtido em menor tempo de reação na presença de calixarenos [4] e [6], o que mostra que estas moléculas são eficientes catalisadores para esta reação.

Dados de RMN ¹H e RMN ¹³C revelaram que a reação de síntese de carbazonas oriundas de isatinas é estereosseletiva na presença de tiossemicarbazidas. Uma mistura de isômeros foi obtida quando a semicarbazida foi empregada como material de partida.

Menores valores de energia foram obtidos, através de cálculos teóricos no programa Spartan, para a formação do diastereoisômero Z das tio- e semicarbazonas da série I.

Todos os compostos sintetizados neste trabalho foram investigados quanto as suas propriedades frente à células L929 infectadas com o *Trypanosoma cruzi*.

As substâncias mais ativas foram as tiossemicarbazonas **161**, **162**, **163**, **165**, **166** e **184**. O composto **184** foi o mais promissor da série, mostrando IC₅₀ igual a 9,6 μM (CC₅₀ > 1046,8 μM e IS = 109), ou seja, valores próximos aos observados ao benznidazol (IC₅₀ = 3,8 μM, CC₅₀ > 2,381 μM e IS > 625).

Os ensaios voltamétricos realizados para as tiosemicarbazonas (**91**, **159**, **161-164** e **166**) e das semicarbazonas (**189**, **167**, **169-172** e **174**) revelaram que não há relação entre o comportamento redox desta classe de substância com a ação tripanocida.

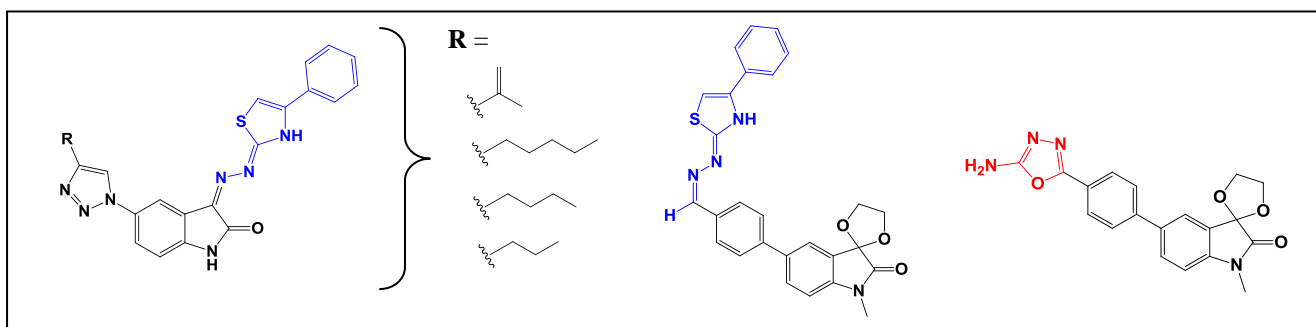
De acordo com os resultados obtidos na docagem molecular, as semicarbazonas (**169**, **170**, **171** e **174**) foram melhores ligantes do que as tiosemicarbazonas (**161**, **162**, **163** e **166**) para duas importantes enzimas ao ciclo de vida do *T. cruzi*, a cruzaina e a fosfodiesterase C. Estes resultados foram contraditórios aos observados *in vitro*, no entanto, requerem estudos aprofundados visto que o método de docagem não considera parâmetros farmacocinéticos.

Este trabalho possui grande relevância científica e social, visto que a doença de Chagas não possui cura e poucos são os grupos de pesquisa que se dedicam a busca de novos compostos contra esta doença.

6. PERSPECTIVAS

Este trabalho gerou as seguintes perspectivas:

- Investigação do uso de calixarenos como catalisadores em reação de hidrólise de cetais dioxolanos da isatina com diferentes substituintes para publicação em periódico indexado. Este estudo já está em andamento com o auxílio do estudante de iniciação científica Lucas Barros Barbosa.
- Publicação dos resultados referentes à síntese, ensaios eletroquímicos e biológicos das tio- (**159**, **161-164** e **166**) e semicarbazonas (**167**, **169-172** e **174**) e docagem molecular. O artigo encontra-se em fase de finalização e será submetido ao *Bioorganic Medicinal Chemistry*.
- Ampliação da série que levou ao composto mais ativo (**184**), a partir da obtenção e avaliação antichagásica das tiazolidinas (em azul) e a oxazolidina (em vermelho). A obtenção de tiazolidinas a partir dos derivados triazólicos também pode conduzir a compostos mais ativos:



- Investigação de outras atividades, como leishmanicida em colaboração com a professora Elvira Saraiva do Departamento de Microbiologia Médica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro (CCS/UFRJ).

7. MATERIAIS E MÉTODOS, E DADOS ESPECTROSCÓPICOS

7.1. Reagentes e solventes

A Tabela 28 mostra os reagentes e solventes empregados na Tese. Todos os solventes foram usados sem tratamento prévio.

Tabela 28. Reagentes e solventes usados na Tese

<i>Fornecedor</i>	<i>Reagentes e Solventes</i>
Vetec [®]	etilenoglicol, ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄), ácido acético (AcOH), ácido clorídrico (HCl), ácido nítrico (HNO ₃), cloreto de potássio (KCl), iodato de potássio (KI)
Sigma-Aldrich [®]	isatina, ácido <i>p</i> -toluenossulfônico (<i>p</i> -TsOH), nitrito de sódio (NaNO ₂), azida de sódio (NaN ₃), <i>tert</i> -butanol (<i>t</i> -BuOH), sulfato de cobre(II) penta-hidratado (CuSO ₄ ·5H ₂ O), ascorbato de sódio (AscNa), nitrato de potássio (KNO ₃), carvão suportado em paládio 10%, ácido trifluoroacético (TFA), hidreto de cálcio (CaH ₂), ácido 4-fenil-benzeno-borônico, dicloro bis(trifenilfosfina) paládio(II) (PdCl ₂ (PPh ₃) ₂) e alquinos terminais
Tédia [®]	acetato de etila (AcOEt), tolueno, etanol, metanol, dimetilformamida (DMF) e hexano

7.2. Métodos cromatográficos

As colunas cromatográficas foram feitas através de sílica-gel flash Silicycle[®] (230-400 mesh) e pressão com um compressor. As análises por cromatografia em camada fina (CCD) foram realizadas em placas de cromatofolhas de alumínio com sílica-gel 60 F₂₅₄ (Silicycle[®]) como adsorvente. A visualização dos derivados da isatina na placa foi feita utilizando-se lâmpada de ultravioleta.

7.3. Métodos espectroscópicos

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e de carbono (RMN ¹³C) foram realizados em aparelho Bruker, modelo DRX-200, operando a 500 MHz, 300 MHz ou 200 MHz para os núcleos de ¹H e 125 MHz, 75 MHz, ou 50 MHz para os de ¹³C. O dimetil-sulfóxido deuterado (DMSO-_d6) ou o clorofórmio deuterado (CDCl₃) foram usados como solventes. O núcleo de hidrogênio residual do dimetil-sulfóxido deuterado ou do clorofórmio deuterado foi utilizado como referencial interno. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por

milhão (ppm) e os valores das constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As áreas relativas dos sinais de hidrogênio foram obtidas por integração eletrônica e a multiplicidade das bandas de absorção foi indicada segundo a convenção: simpleto (s); simpleto largo (sl); duplete (d); duplo duplete (dd); tripleto (t); quinteto (quint), sexteto (sext) ou multiplete (m). A abreviação q foi utilizada para descrever átomos de carbono quaternário nos espectros de RMN ^{13}C . As *fid*s adquiridas foram editadas com programa MestReNova[®] versão cortesia de demonstração 9.0.2 (© 2014 Mestrelab Research S. L., Santiago de Compostela, Espanha).

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um aparelho Nicolet Magna IR 760, com pastilhas comprimidas de brometo de potássio (KBr) anidro. Os valores de absorção foram expressos em números de onda (cm^{-1}).

As massas exatas dos derivados indólicos foram obtidas em um aparelho Quadrupolo-Tempo-de-vôo (Q-TOF – Micromass, Manchester, U.K.) conforme os seguintes parâmetros: o gás de nebulização foi ajustado para 500 L/h a 140 °C, o gás de cone estabelecido para 50 L/h e a temperatura da fonte ajustada para 100 °C. A tensão capilar foi ajustada para 4500 V e a tensão do cone ajustada entre 10 e 30 V. A taxa de aquisição do QTOF foi ajustada para 1,0 s, com um retardo entre varreduras de 0,4 s e os dados processados no software MassLynx 4,0 (Waters, Manchester, REINO UNIDO). Os analitos foram adquiridos utilizando o LockSpray e ácido fosfórico (0,1% em acetonitrilo/água 1:1) como padrão interno para garantir a precisão da massa. As soluções de amostra (0,5 mg/mL) foram preparadas em acetonitrila com adição de 20 μL de ácido fórmico. As análises foram realizadas por infusão direta usando uma bomba de seringa com uma razão de fluxo de 5,0 $\mu\text{L}/\text{min}$.

As análises por CG para a hidrólise dos cetais de isatina foi feita em cromatógrafo a gás modelo Hewlett Packard – 5890 com detector de ionização em chama (DIC) com divisão de fluxo na razão 1:20, coluna capilar DB-1 (30 m X 0,25 mm X 0,25 μm) (J&M, Scientific) empregando como gás de arraste hidrogênio com fluxo constante de 1 mL min^{-1} . A temperatura inicial foi de 100 °C, seguida por taxa de aquecimento de 12 °C min^{-1} até 220 °C com tempo total de corrida de 15 minutos. A temperatura do detector e injetor foi de 280 °C. O volume de injeção foi 1,0 μL . O indol foi usado com padrão interno.

As análises por CG-EM para a hidrólise do cetil dioxolano da isatina catalisada pelos calixarenos foram feitas em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (QP 2010 Ultra, Shimadzu) com detector de ionização em chama (DIC) com divisão de fluxo na razão 1:20, coluna capilar DB-1 (30 m X 0,25 mm X 0,25 μm) (J&M, Scientific) empregando como gás de arraste hidrogênio com fluxo constante de 1 mL min^{-1} . A temperatura inicial foi de 50 $^{\circ}\text{C}$, seguida por taxa de aquecimento de 15 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 290 $^{\circ}\text{C}$ com tempo total de corrida de 24 minutos. A temperatura do detector e injetor foi de 280 $^{\circ}\text{C}$. O volume de injeção foi 1,0 μL . O indol foi usado com padrão interno.

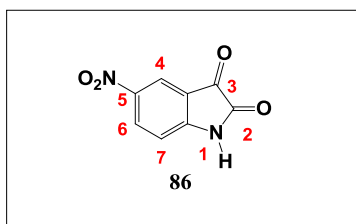
As temperaturas de fusão (P.F.) dos produtos foram determinadas em aparelho Mel-Temp, utilizando capilares de vidro, e os seus valores não foram corrigidos.

7.4. Procedimentos e caracterizações

7.4.1. Preparo da 5-nitro-isatina (86)

A um Erlenmeyer com 10 mL de ácido sulfúrico concentrado, mantido sob agitação magnética, foi adicionado lentamente 3,3 g (20 mmol) da isonitrosoacetanilida. Após a solução adquirir coloração púrpura, o Erlenmeyer foi imerso em banho de gelo (temperatura controlada entre 0 e 3 $^{\circ}\text{C}$), e a este gotejou-se, durante 1 h, uma solução de 1,9 g (19 mmol) de KNO_3 em 19 mL de ácido sulfúrico. A mistura foi vertida sobre gelo picado e o precipitado amarelo formado foi filtrado à pressão reduzida, em funil de Büchner, e lavado exaustivamente com água gelada. A 5-nitro-isatina foi obtida em 74% de rendimento (SILVA *et al.*, 2010).

Caracterização da 5-nitro-isatina (86)

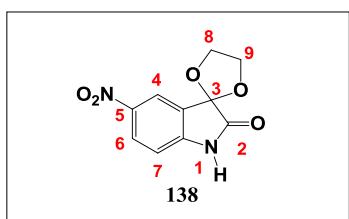


RMN ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) δ 11,66 (sl, 1H, NH), 8,37 (dd, $J = 2$ Hz e 8 Hz, 1H, H6), 8,20 (d, $J = 2$ Hz, 1H, H4), 7,08 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H7); RMN ^{13}C ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$, 50 MHz) δ 180,99 (Cq), 157,96 (Cq), 153,77 (Cq), 141,34 (Cq), 131,54 (CH), 118,34 (CH), 115,99 (Cq), 111,17 (CH); P.F.: 249-251 $^{\circ}\text{C}$, *lit.*(CALVERY *et al.*, 1925) 254-255 $^{\circ}\text{C}$, cor: amarela.

7.4.2. Preparo do 5'-nitro-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (138)

Uma mistura da 5-nitro-isatina (1,3 g; 6,8 mmol), etilenoglicol (6 mL; 108 mmol), *p*-TsOH (0,1 g; 0,58 mmol) e tolueno (15 mL) foi mantida sob refluxo em balão de fundo redondo, conectado a um aparato Dean-Stark. O progresso da reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada (CCD). Após 6 horas, foi feita uma extração líquido-líquido com acetato de etila e água, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente evaporado a pressão reduzida. O 5'-nitro-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) foi obtido em 67% de rendimento (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Caracterização do 5'-nitro-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (138)

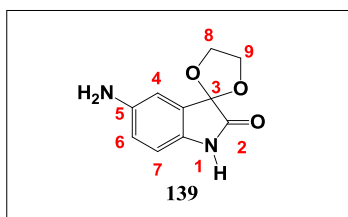


RMN ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) δ 10,71 (sl, 1H, NH), 8,12 (dd, $J = 2$ e 10 Hz, 1H, H6), 8,06 (d, $J = 2$ Hz, 1H, H4), 6,88 (d, $J = 10$ Hz, 1H, H7), 4,47–4,22 (m, 2H, H8 e H9); RMN ^{13}C ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$, 50 MHz) δ 174,47 (Cq), 148,65 (Cq), 142,45 (Cq), 127,50 (CH), 124,75 (Cq), 120,24 (CH), 110,12 (CH), 100,50 (Cq), 65,29 (CH_2), cor: bege.

7.4.3. Preparo do 5'-amino-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (139)

Em frasco de vidro apropriado, foi adicionado 40 mL de acetato de etila, 0,09 g de carvão suportado em paládio 10% e 0,5 g (2 mmol) do 5'-nitro-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (136). O frasco foi devidamente condicionado ao hidrogenador do tipo Parr a 35 psi. Após 1 h, o meio de reação foi filtrado e o solvente evaporado a pressão reduzida (SILVA *et al.*, 2013). O 5'-amino-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) foi obtido em 87% de rendimento.

Caracterização do 5'-amino-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (139)



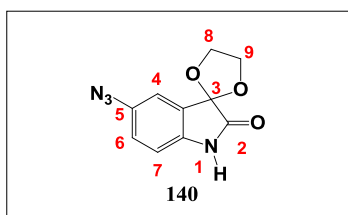
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 9,97 (sl, 1H, NH); 7,09–7,02 (m, 2H, H4 e H6); 6,65 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H7); 4,85 (sl, 2H, NH $_2$) 4,50-4,00 (m, 2H, H8 e H9); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ 174,78 (Cq); 144,93 (Cq); 132,59 (Cq); 125,76 (Cq); 116,52 (CH); 112,06 (CH); 111,30 (CH);

102,81 (Cq); 65,80 (CH $_2$), cor: bege.

7.4.4. Preparo do 5'-azido-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (140)

Uma solução contendo 1,9 g (27,5 mmol) de nitrito de sódio dissolvido em 50 mL de água destilada foi preparada e vertida em outra solução contendo 4,0 g (19,4 mmol) do 5'-amino-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**139**) em 21 mL de ácido clorídrico 6 M. Após 30 minutos mantendo o meio de reação a 0-5 °C, foi adicionada uma solução de azida de sódio (5,1 g) em 103 mL de água destilada, gota a gota. Depois de 1 h de agitação, a mistura foi neutralizada com solução saturada de bicarbonato de sódio e o precipitado formado foi filtrado à pressão reduzida, em funil de Büchner (SILVA *et al.*, 2013). O 5'-azido-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) foi obtido em 70% de rendimento.

Caracterização do 5'-azido-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (140)



EMAR-ESI(+): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Encontrado 255,0493, $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{NaO}_3^+$. Requerido 255,0489; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 10,52 (sl, 1H, NH); 7,11–7,07 (m, 2H, H4 e H6); 6,87 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H7), 4,38–4,23 (m, 4H, H8 e H9); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ 174,73 (Cq); 140,47 (Cq); 134,42 (Cq); 127,07 (Cq);

122,73 (CH); 116,65 (CH); 112,32 (CH); 101,97 (Cq); 66,19 (CH $_2$), cor: verde claro.

7.4.5. Procedimento geral para a obtenção dos derivados 5'-(4-alquil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (141-150)

Método 1: Uma mistura contendo 2,64 mmol (0,61 g) da 5'-azido-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**140**), 3,17 mmol do alquino, 0,19 mmol (0,047 g) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, excesso de AscNa (0,42 mmol, 0,07 g), 0,87 mmol (30 mol.% baseado

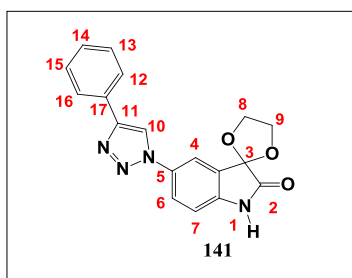
em **140**) de ácido acético e uma igual quantidade de *tert*-butanol e água (2,24 mL) foi adicionada à um balão de fundo redondo envolto com papel alumínio. O meio de reação foi mantido sob agitação magnética à temperatura ambiente por 24 h.

Após o consumo do material de partida verificado por CCD, foi realizada uma extração líquido-líquido com acetato de etila e água. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida (SILVA *et al.*, 2013).

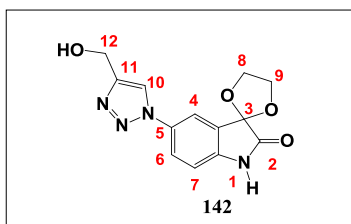
Método 2: Um balão de fundo redondo contendo 2,64 mmol (0,61 g) da 5'-azido-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (**140**), 3,17 mmol do alquino, 0,19 mmol (0,047 g) de CuSO₄.5H₂O, excesso de AscNa (0,42 mmol, 0,07g), 0,87 mmol (30 mol.% baseado em **140**) de ácido acético e uma igual quantidade de *tert*-butanol e água (2,24 mL) foi encoberto com papel alumínio e mantido sob onda ultrassônica por 5 minutos a temperatura ambiente em ultrassom Branson 1510 Ultrasonic Cleaner. Após este período, foi realizada uma extração líquido-líquido com acetato de etila e água. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida (SILVA *et al.*, 2016).

Os rendimentos para os derivados triazólicos obtidos nos dois métodos se encontram dispostos na Esquema 6 (*vide item 4.1*).

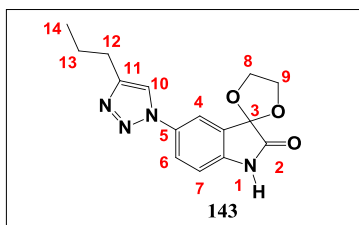
Caracterização dos derivados 5'-(-4-alquil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (141-150)



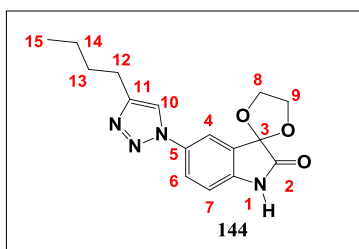
EMAR-ESI(+): [M+H]⁺ Encontrado: 335,1134; C₁₈H₁₅N₄O₃⁺ calculado 335,1139; IV_{vmáx.} (KBr)/cm⁻¹: 3291,1736, 1637, 1508, 1470, 1292, 1213, 1077, 762, 553 e 507; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,80 (sl, 1H, NH); 9,25 (sl, 1H, H10); 7,95–7,93 (m, 4H); 7,51–7,47 (m, 2H); 7,37 (t, *J* = 8 Hz, 1H); 7,08 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H7); 4,42–4,32 (m, 4H, H8 e H9); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 174,77 (Cq); 147,62 (Cq); 143,41 (Cq); 132,40 (Cq); 130,72 (Cq); 129,43 (CH); 128,60 (CH); 126,50 (Cq); 125,73 (CH); 124,26 (Cq); 120,11 (CH); 117,82 (CH); 111,98 (CH); 111,95 (CH); 101,77 (Cq); 66,23 (CH₂); P.F.: 231-232 °C, cor: branca.



EMAR-ESI(+): $[M+H]^+$ Encontrado: 289,0936;
 $C_{13}H_{13}N_4O_4^+$ calculado: 289,0931; $IV_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} :
 3443, 3143, 2968, 1727, 1635, 1508, 1473, 1289, 1149,
 994, 844 e 547; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 10,74
 (s, 1H, NH); 8,64 (s, 1H, H10); 7,89–7,87 (m, 2H, H4 e
 H6); 7,02 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H7); 5,34 (t, $J = 8$ Hz, OH); 4,61 (d, $J = 8$ Hz, 2H, H12);
 4,39–4,30 (m, 4H, H8 e H9); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 174,72 (Cq); 149,41
 (Cq); 143,13 (Cq); 132,52 (Cq); 126,67 (Cq); 124,03 (CH); 121,43 (CH); 117,74 (CH);
 111,84 (CH); 101,74 (Cq); 66,23 (CH $_2$); 55,40 (CH $_2$); P.F.: 222-224 °C, cor: amarelo
 claro.

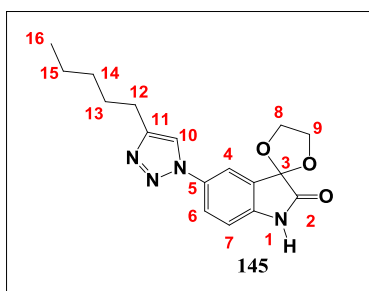


EMAR-ESI(+): $[M+H]^+$ Encontrado 301,1289;
 $C_{15}H_{17}N_4O_3^+$ calculado 301,1295; $IV_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} :
 3315, 3076, 2960, 1748, 1633, 1507, 1223, 1081, 947,
 838 e 545; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 10,73 (sl,
 1H, NH); 8,52 (s, 1H, H10); 7,86–7,84 (m, 2H, H4 e
 H6); 7,02 (d, $J = 12$ Hz, 1H, H7); 4,39–4,30 (m, 4H, H8 e H9); 2,66 (t, $J = 8$ Hz, 2H,
 H12); 1,67 (sext, $J = 8$ Hz, 2H, H13); 0,94 (t, $J = 8$ Hz, 3H, H14); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 ,
 100 MHz) δ 174,74 (Cq); 148,30 (Cq); 143,02 (Cq); 132,62 (Cq); 126,55 (Cq); 123,91
 (CH); 120,61 (CH); 117,60 (CH); 111,83 (CH); 101,77 (Cq); 66,22 (CH $_2$); 27,50 (CH $_2$);
 22,51 (CH $_2$); 14,07 (CH $_3$); P.F.: 182-184 °C, cor: amarelo claro.

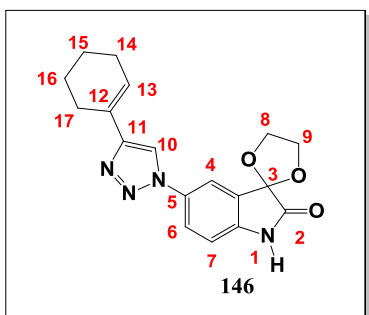


EMAR-ESI(+): $[M+H]^+$ Encontrado: 315,1455;
 $C_{16}H_{19}N_4O_3^+$ calculado 315,1452; $IV_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} :
 3316, 2927, 1751, 1633, 1506, 1221, 1091, 1034, 947 e
 838; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ ; 10,72 (sl, 1H,
 NH); 8,53 (s, 1H, H10); 7,86–7,84 (m, 2H, H4 e H6);
 6,99 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H7); 4,37–4,28 (m, 4H, H8 e H9); 2,68 (t, $J = 8$ Hz, 2H, H12);
 1,63 (quint, $J = 8$ Hz, 2H, H13); 1,36 (sext, $J = 8$ Hz, 2H, H14); 0,91 (t, $J = 8$ Hz, 3H,
 H15); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 174,74 (Cq); 143,00 (Cq); 132,63 (Cq); 126,55
 (Cq); 123,89 (CH); 120,63 (CH); 117,57 (CH); 111,83 (CH); 109,99 (Cq); 101,76 (Cq);

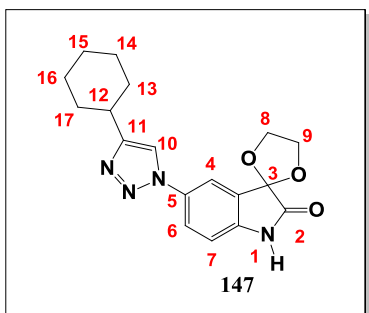
66,21 (CH₂); 31,32 (CH₂); 25,13 (CH₂); 22,11 (CH₂); 14,15 (CH₃); P.F.: 126-128 °C, cor: bege.



EMAR-ESI(+):[M+H]⁺ Encontrado 329,1615; C₁₇H₂₁N₄O₃⁺ calculado 329,1608; IV_{vmáx.} (KBr)/cm⁻¹: 3336, 3111, 2952, 1747, 1632, 1505, 1282, 944, 751 e 546; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,74 (sl, 1H, NH); 8,50 (s, 1H, H10); 7,85–7,83 (m, 2H, H4 e H6); 7,02 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H7); 4,38–4,29 (m, 4H, H8 e H9); 2,66 (t, *J* = 8 Hz, 2H, H12); 1,64 (quint, *J* = 8Hz, 2H, H13); 1,32–1,31 (m, 4H, H14 e H15); 0,86 (t, *J* = 4 Hz, 3H, H16); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 174,77 (Cq); 148,51 (Cq); 143,00 (Cq); 132,61 (Cq); 126,57 (Cq); 123,92 (CH); 120,52 (CH); 117,58 (CH); 111,87 (CH); 101,77 (Cq); 66,23 (CH₂); 31,22 (CH₂); 28,88 (CH₂); 25,39 (CH₂); 22,31 (CH₂); 14,31(CH₃); P.F.: 111-113 °C, cor: bege.

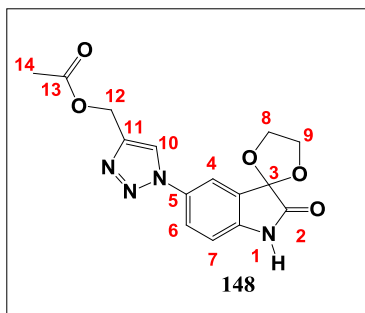


EMAR-ESI(+): [M+H]⁺ Encontrado 339,1447; C₁₈H₁₉N₄O₃⁺ calculado 339,1452; IV_{vmáx.} (KBr)/cm⁻¹: 3197, 3163, 2935, 1742, 1628, 1505, 1277, 1056, 954, 777 e 728; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,75 (sl, 1H, NH); 8,73 (s, 1H, H10); 7,89–7,87 (m, 2H, H4, H6); 7,03 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H7); 6,51 (sl, 1H, H11); 4,40–4,30 (m, 4H, H8 e H9); 2,38 (m, 2H); 2,17 (m, 2H); 1,66 (m, 4H); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 174,74 (Cq); 149,33 (Cq); 143,13 (Cq); 132,51 (Cq); 127,60 (Cq); 126,53 (Cq); 124,69 (CH); 123,92 (CH); 118,44 (CH); 117,56 (CH); 111,86 (CH); 101,79 (Cq); 66,21 (CH₂); 26,24 (CH₂); 25,16 (CH₂); 22,44 (CH₂); 22,29 (CH₂); P.F.: 227-229 °C, cor: amarela-claro.

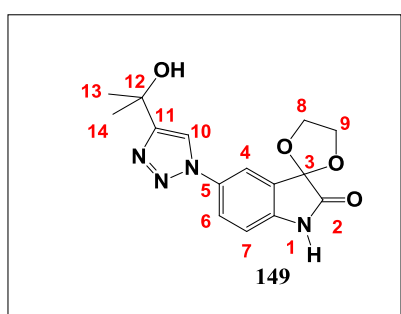


EMAR-ESI(+):[M+H]⁺ Encontrado 341,1602; C₁₈H₂₁N₄O₃⁺ calculado 341,1608; IV_{vmáx.} (KBr)/cm⁻¹: 3313, 3148, 2924, 1755, 1630, 1267, 1218, 1063, 996, 825, 726 e 550; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,71 (s, 1H, NH); 8,50 (s, 1H, H10); 7,86–7,84 (m, 2H, H4 e H6); 7,01 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H7); 4,39–4,30 (m, 4H, H8 e H9); 2,72 (quint., 1H, H12); 2,02–2,00 (m, 2H); 1,91 (sl, 3H); 1,77–1,74 (m, 3H); 1,48–1,36 (m, 4H); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ

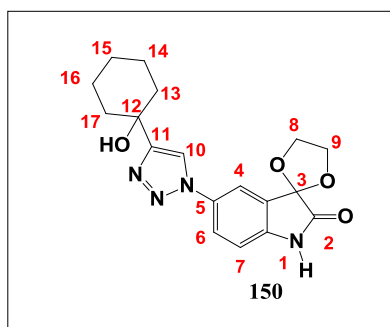
174,74 (Cq); 172,47 (Cq); 153,64 (Cq); 142,98 (Cq); 132,66 (Cq); 126,55 (Cq); 123,85(CH); 119,39 (CH); 117,56 (CH); 111,83 (CH); 109,99; 101,77; 66,21(CH₂); 35,04 (CH); 32,87 (CH₂); 25,96 (CH₂); 25,96 (CH₂); 21,48 (CH₂); P.F.: 179-181 °C, cor: verde-musgo.



EMAR-ESI(+): [M+H]⁺ Encontrado 331.1026; C₁₅H₁₅N₄O₅⁺ calculado 331,1037; IV_{vmáx.} (KBr)/cm⁻¹: 3154, 2899, 1748, 1632, 1507, 1217, 1038, 998, 730 e 543 RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,74 (s, 1H, NH); 8,79 (s, 1H, H10); 7,88–7,86 (m, 2H, H4 e H6); 7,03 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H7); 5,20 (s, 2H, H12); 4,39–4,31 (m, 4H, H8 e H9); 2,06 (sl, 3H, H14); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 174,72 (Cq); 170,53 (Cq); 143,45 (Cq); 143,43 (Cq); 132,26 (Cq); 126,66 (Cq); 124,39 (CH); 123,36 (CH); 118,62 (CH); 111,87 (CH); 101,73 (Cq); 66,25 (CH₂); 57,40 (CH₂); 21,05 (CH₃); P.F.: 171-174 °C, cor: bege.



EMAR-ESI(+): [M+H]⁺ Encontrado 317,1238; C₁₅H₁₇N₄O₄⁺ calculado 317,1244; IV_{vmáx.} (KBr)/cm⁻¹: 3461,2979, 1727, 1631, 1508, 1286, 1158, 1080, 837, 723 e 554; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,74 (sl, 1H, NH); 8,56 (s, 1H, H10); 7,90–7,88 (m, 2H, H4 e H6); 7,02 (d, *J* = 12 Hz, 1H, H7); 5,23 (sl, 1H, OH); 4,39–4,30 (m, 4H, H8 e H9); 1,53 (s, 6H, H13 e H14); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 174,73 (Cq); 157,16 (Cq), 143,01(Cq); 132,60 (Cq); 132,60 (CH); 126,67 (Cq); 119,30 (CH); 117,64 (CH); 111,84 (CH); 101,75 (CH); 67,39 (Cq); 66,24 (CH₂); 30,97 (CH₂); P.F.: 131-133 °C, cor: bege.



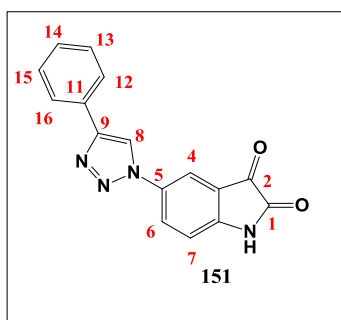
EMAR-ESI(+): [M+H]⁺ Encontrado 357,1561; C₁₈H₂₁N₄O₄⁺ calculado 357,1557; IV_{vmáx.} (KBr)/cm⁻¹: 3268, 3104, 2931, 1754, 1632, 1498, 1279, 970, 896 e 605; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,72 (sl, 1H, NH); 8,58 (s, 1H, H10); 7,90–7,88 (m, 2H, H4 e H6); 7,01 (d, *J* = 12 Hz, 1H, H7); 4,97 (s, 1H, OH), 4,39–

4,30 (m, 4H, H8 e H9); 4,05–4,00 (quart, $J = 8$ Hz, 2H), 1,98–1,91 (m, 4H), 1,79–1,68 (m, 4H), 1,17 (t, $J = 8$ Hz, 2H); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 174,74 (Cq); 156,98 (Cq); 143,00 (Cq); 132,63 (Cq); 126,67 (Cq), 123,86 (CH); 119,79 (CH); 119,77 (CH), 117,59 (CH); 111,83 (CH); 101,77 (Cq); 68,37 (CH $_2$); 66,25 (CH $_2$); 25,68 (CH $_2$); 22,18 (CH $_2$); 21,19 (CH $_2$); 14,52 (CH $_2$); P.F.: 187-188 °C, cor: bege.

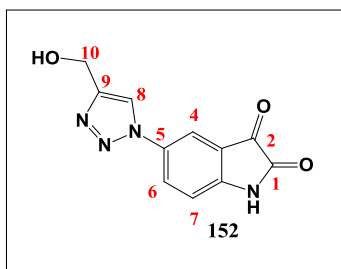
7.4.6. Hidrólise dos derivados 5'-(4-alkuil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (151-158)

Uma quantidade correspondente a 0,32 mmol de um dos derivados 5'-(4-alkuil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) foi adicionada vagarosamente em 1,3 mL (16 mmol) de ácido trifluoroacético (TFA). A reação ocorreu em refluxo por período igual a 24 h. Em seguida, a mistura reacional foi neutralizada com solução saturada de bicarbonato de sódio até a formação de um precipitado.

Os derivados 5'-(4-alkuil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona foram obtidos após filtração em funil de Büchner e os seus rendimentos se encontram dispostos no Esquema 8 (item 4.2).

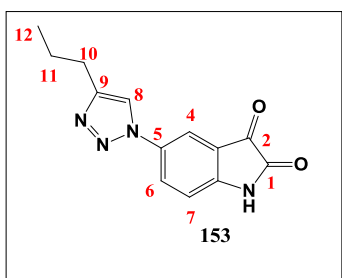


EMAR-ESI(+): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Encontrado 313,0697; $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{NaO}_2^+$ calculado 313,0696; $\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3447, 3143, 1741, 1627, 1504, 1208, 1180, 764, 709; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 11,35 (sl, 1H, NH); 9,31 (s, 1H, H-Ar); 8,17 (dd, $J = 2$ e 8 Hz, 1H, H-Ar); 8,03 (d, $J = 2$ Hz, 1H, H-Ar); 7,92 (d, $J = 8$ Hz, 2H, H-Ar); 7,53-7,34 (m, 3H, H-Ar); 7,14 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H-Ar); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) 183,68 (Cq); 159,46 (Cq); 150,35 (Cq); 147,28 (Cq); 131,93 (Cq); 130,17 (Cq); 129,44 (CH); 128,99 (CH); 128,24 (CH); 125,29 (CH); 119,67 (CH); 118,47 (Cq); 116,13 (CH); 113,24 (CH); P.F.: 254-255 °C, cor: vermelha.

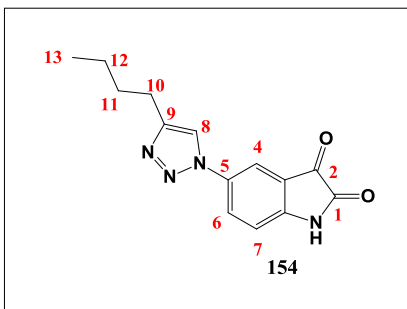


EMAR-ESI(+): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Encontrado 267,0493; $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_4\text{NaO}_3^+$ calculado 267,0489; $\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} :

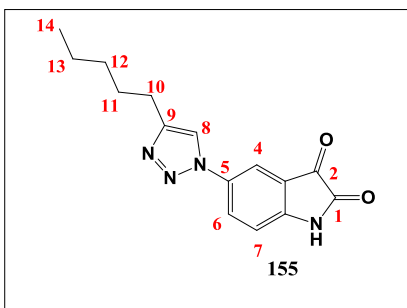
3239, 3127, 1743, 1624, 1500, 1214, 1041, 830, 647; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 11,26 (sl, 1H, NH); 8,69 (s, 1H, H-Ar); 8,10 (dd, $J = 2$ Hz e 8 Hz, 1H, H-Ar); 7,97 (d, $J = 2$ Hz, 1H, H-Ar); 7,08 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H-Ar); 4,59 (s, 2H, CH $_2$); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ 184,23 (Cq); 160,02 (Cq); 150,74 (Cq); 149,65 (Cq); 132,67 (Cq); 130,05 (CH); 121,64 (CH); 119,03 (Cq); 116,72 (CH); 113,72 (CH); 55,50 (CH $_2$); P.F.: 280-281 °C; cor: laranja-escuro.



EMAR-ESI(+): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Encontrado 279,0845; $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{NaO}_2^+$ calculado 279,0852; $\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3142, 2931, 1743, 1627, 1503, 1198, 1032, 840, 652; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 11,10 (sl, 1H, NH); 8,42 (s, 1H, H=Ar); 7,93 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H-Ar); 7,79 (s, 1H, H-Ar); 6,92 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H-Ar); 2,50 (t, $J = 8$ Hz, 2H, CH $_2$); 1,51 (quart., $J = 8$ Hz, 2H, CH $_2$); 0,79 (t, $J = 8$ Hz, 3H, CH $_3$); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ 184,28 (Cq); 160,02 (Cq); 150,60 (Cq); 148,55 (Cq); 132,76 (Cq); 129,81 (CH); 120,74 (CH); 119,00 (Cq); 116,48 (CH); 113,71 (CH); 27,63 (CH $_2$); 22,57 (CH $_2$); 14,19 (CH $_3$); P.F.: 281-283 °C; cor: laranja.

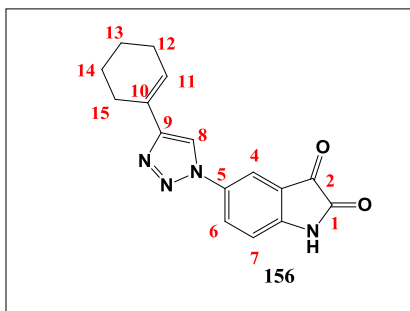


EMAR-ESI(+): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Encontrado 295,1193; $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{NaO}_2^+$ calculado 295,1190; $\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3238, 2930, 1749, 1627, 1506, 1320, 1312, 1044, 846, 468; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 11,28 (sl, 1H, NH); 8,62 (s, 1H, H-Ar); 8,12 (dd, $J = 2$ Hz e 8Hz, 1H, H-Ar); 7,99 (s, 1H, H-Ar); 7,10 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H-Ar); 2,71 (t, $J = 8$ Hz, 2H, CH $_2$); 1,67 (q, $J = 8$ Hz, 2H, CH $_2$); 1,39 (sextet., $J = 8$ Hz, 2H, CH $_2$); 0,95 (t, 3H, CH $_3$); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ 184,28 (Cq); 160,02 (Cq); 150,59 (Cq); 148,71 (Cq); 132,76 (Cq); 129,79 (CH); 120,68 (CH); 119,00 (Cq); 116,47 (CH); 113,70 (CH); 31,39 (CH $_2$); 25,24 (CH $_2$); 22,23 (CH $_2$); 14,26 (CH $_3$); P.F.: 281-282 °C; cor: laranja.



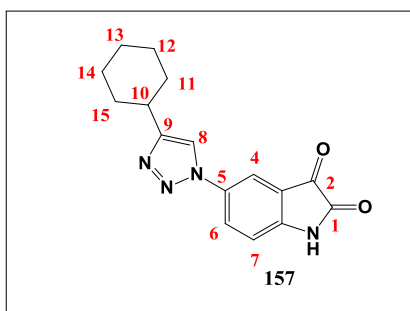
EMAR-ESI(+): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Encontrado 307,1170; $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{NaO}_2^+$ calculado 307,1165; $\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3127, 1745, 1628, 1509, 1222, 1043,

847, 461; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 11,29 (sl, 1H, NH); 8,62 (s, 1H, H-Ar); 8,12 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H, H-Ar); 7,99 (s, 1H, H-Ar); 7,11 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H, H-Ar); 2,70 (t, $J = 8\text{Hz}$, 2H, CH $_2$); 1,69 (sl, 2H, CH $_2$); 1,35 (sl, 4H, CH $_2$); 0,91 (sl, 3H, CH $_3$); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ 184,29 (Cq); 160,02 (Cq); 150,59 (Cq); 148,75 (Cq); 132,76 (Cq); 129,79 (CH); 120,67 (CH); 119,01 (Cq); 116,47 (CH); 113,71 (CH); 31,36 (CH $_2$); 28,95 (CH $_2$); 25,54 (CH $_2$); 22,45 (CH $_2$); 14,43 (CH $_3$); P.F.: 153-155 $^\circ\text{C}$; cor: laranja.



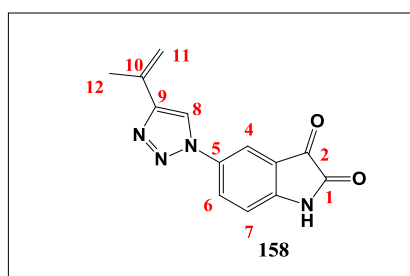
EMAR-ESI(+): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Encontrado 317,1009; $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{Na}^+$ calculado, 317,1008; $\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3531, 3137, 1735, 1633, 1504 1226, 1035, 767, 646; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) 11,22 (sl, 1H, NH); 8,72 (sl, 1H, H8); 8,05 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H, H6); 7,91 (sl, 1H, H-Ar); 7,02 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H, H-Ar);

6,45 (sl, 1H, H-Ar); 2,32 (sl, 2H, CH $_2$); 2,12 (sl, 2H, CH $_2$); 1,64-1,62 (m, 4H, CH $_2$); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) 184,23 (Cq); 159,97 (Cq); 150,59 (Cq); 149,51 (Cq); 132,58 (Cq); 129,67 (CH); 127,63 (Cq); 124,92 (CH); 118,94 (Cq); 118,51 (CH); 116,37 (CH), 111,66 (CH); 26,28 (CH $_2$); 25,25 (CH $_2$); 22,50 (CH $_2$); 22,35 (CH $_2$); P.F.: 247-248 $^\circ\text{C}$; cor: laranja.



EMAR-ESI(+): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ Encontrado 319,1175; $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{NaO}_2^+$ calculado 319,1165; $\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3289, 2852, 1747, 1625, 1508, 1309, 1203, 1050, 847, 466; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 11,22 (sl, 1H, NH); 8,56 (s, 1H, H-Ar); 8,07 (d, $J = 10\text{Hz}$, 1H, H-Ar); 7,93 (s, 1H, H-Ar); 7,04 (d, $J = 10\text{Hz}$, 1H, H-Ar); 2,69 (t, $J = 10\text{Hz}$, 1H, CH), 1,99-1,95 (m, 2H, CH $_2$), 1,74-1,64 (m, 3H, CH $_2$), 1,37 (sext, $J = 10\text{Hz}$, 4H, CH $_2$), 1,22-1,19 (m, 1H, CH); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 ,

125 MHz) δ 184,27 (Cq); 160,01 (Cq); 153,84 (Cq); 150,50 (Cq); 132,74 (Cq); 129,68 (Cq); 119,57 (CH); 118,99 (CH); 116,40 (CH); 113,65 (CH); 39,54 (CH $_2$); 35,11 (CH); 32,91 (CH $_2$); 26,17 (CH $_2$); 26,04 (CH $_2$); P.F.: 195-196 $^\circ\text{C}$; cor: laranja.



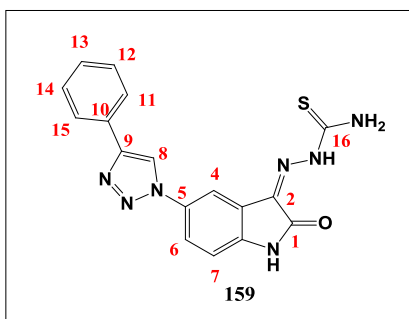
EMAR-ESI(+): $[\text{2M}+\text{H}]^+$ Encontrado 509,1682; $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_8\text{O}_4^+$ calculado 509,1680; $\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3434, 2929, 1745, 1625, 1500, 1201, 1049, 831, 462;

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 11,37 (sl, 1H, NH); 8,92 (s, 1H, H-Ar); 8,10 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H, H-Ar); 7,97 (d, $J = 2\text{Hz}$, 1H, H-Ar), 7,10 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H, H-Ar); 5,73 (sl, 1H, CH $_2$); 5,12 (sl, 1H, CH $_2$); 2,10 (s, 3H, CH $_3$); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ 184,29 (Cq); 160,02 (Cq); 150,83 (Cq); 148,95 (Cq); 133,88 (CH); 132,50 (CH); 129,89 (Cq); 120,14 (CH); 118,95 (Cq); 116,57 (CH); 113,79 (CH); 112,98 (CH $_2$); 20,80 (CH $_3$); P.F.: 237-239 °C; cor: marrom.

7.4.7. Preparo dos derivados tio- (159-166) e semicarbazonas (167-174) da 5'-(4-alkuil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona

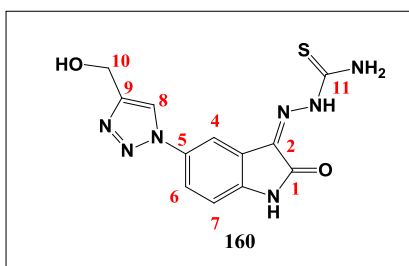
Método 1: Em um balão de fundo redondo, uma mistura contendo 0,7 mL de MeOH, 0,13 mmol de cloridrato de tio- (0,017 g) ou semicarbazida (0,014 g) e igual quantidade molar do derivado 5'-(4-alkuil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona foi mantida em refluxo e agitação magnética por 4 h. As tio- e semicarbazonas foram obtidas após remoção do MeOH em rotaevaporador.

Método 2: Em um vial de micro-ondas G10, 0,13 mmol de cloridrato de tio- (0,017 g) ou semicarbazida (0,014 g) e igual quantidade molar do derivado 5'-(4-alkuil/aryl-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolino-2'-ona foram solubilizadas em 0,7 mL de MeOH e submetidas à irradiação por micro-ondas a 120 °C por 10 minutos em um reator Monowave 300 (Anton Paar). Após o consumo do material de partida, verificado por CCD, o meio contendo o produto foi transferido para um balão de fundo redondo com o auxílio de um funil para líquidos e o solvente removido em evaporador rotatório. Os rendimentos das moléculas (159-174) se encontram descritos na seção 4.2, Tabela 14.

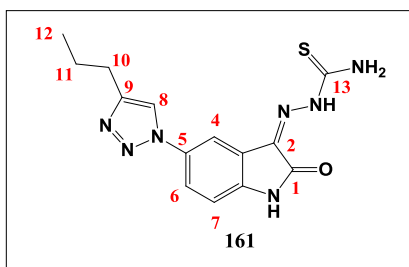


EMAR-ESI(+): $[\text{M}+\text{H}]^+$ Encontrado 364,0975; $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_7\text{OS}^+$ calculado 364,0936; $\text{IV}_{\text{vmáx.}}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3388, 3322, 1716, 1699, 1596, 1488, 1299, 1207, 1124, 1052, 858, 763, 557, 441; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 12,39 (sl, 1H, NH); 11,48 (sl, 1H, NH); 9,22 (sl, 1H, H-Ar); 9,17 (sl, 1H, NH); 8,89 (s, 1H, NH); 8,29 (d, $J = 5\text{ Hz}$, 1H, H-Ar); 7,95 (d, 2H, $J = 10\text{Hz}$, H-Ar); 7,86 (dd, $J = 5\text{Hz}$ e 10Hz , 1H, H-Ar); 7,50 (t, $J = 5\text{ Hz}$, 2H, H-Ar); 7,39 (t, $J = 10\text{ Hz}$, 1H, H-Ar); 7,14 (d, $J = 5\text{ Hz}$, 1H, H-Ar); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 179,37 (Cq); 163,27 (Cq); 147,77 (Cq); 142,77 (Cq); 132,47 (Cq); 131,64 (Cq);

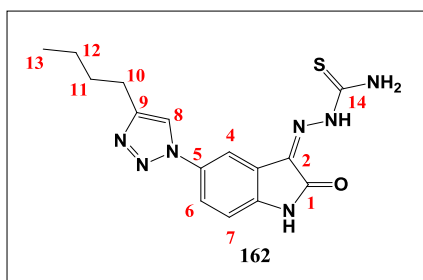
130,80 (Cq); 129,55 (CH); 128,78 (CH); 125,86 (CH); 123,55 (CH); 121,90 (Cq); 120,24 (CH); 114,05 (CH); 112,28 (CH); P.F.: 252 °C; cor: amarela.



EMAR-ESI(+): $[M+Na]^+$ Encontrado 340,0586; $C_{12}H_{11}N_7NaO_2S^+$ calculado 340,0587; $IV_{vm\acute{a}x.}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3411, 3253, 2973, 2684, 1685, 1612, 1598, 1496, 1214, 1135, 1049, 854, 767, 601, 414; RMN 1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 12,31 (sl, 1H, NH); 11,37 (sl, 1H, NH); 9,11 (sl, 1H, NH); 8,81 (sl, 1H, NH); 8,51 (s, 1H, H-Ar); 8,20 (d, $J = 5$ Hz, 1H, H-Ar); 7,77 (dd, $J = 5$ Hz e 10 Hz, 1H, H-Ar); 7,04 (d, $J = 10$ Hz, 1H, H-Ar); 4,58 (s, 2H, CH_2); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 179,34 (Cq); 163,23 (Cq); 149,65 (Cq); 142,55 (Cq); 132,57 (Cq); 131,65 (Cq); 123,28 (CH); 121,85 (Cq); 121,40 (CH); 113,81 (CH); 112,21 (CH); 55,52 (CH_2); P.F.: 234-236 °C; cor: amarela.

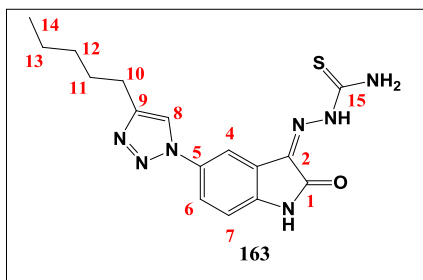


EMAR-ESI(+): $[M+Na]^+$ Encontrado 352,0945; $C_{14}H_{15}N_7NaOS^+$ calculado 352,0956; $IV_{vm\acute{a}x.}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3419, 3143, 1689, 1608, 1492, 1205, 1132, 1124, 854, 769, 505; RMN 1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 12,35 (sl, 1H, NH); 11,40 (sl, 1H, NH); 9,12 (sl, 1H, NH); 8,83 (sl, 1H, NH); 8,42 (s, 1H, H-Ar); 8,19 (d, $J = 2$ Hz, 1H, H-Ar); 7,76 (dd, $J = 2$ Hz e 6 Hz, 1H, H-Ar); 7,06 (d, $J = 6$ Hz, 1H, H-Ar); 2,66 (t, $J = 10$ Hz, 2H, CH_2); 1,66 (sext., $J = 6$ Hz, 2H, CH_2); 0,94 (t, $J = 6$ Hz, 3H, CH_3); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ 178,80 (Cq); 162,63 (Cq); 147,86 (Cq); 141,85 (Cq); 132,11 (Cq); 131,07 (Cq); 122,70 (CH); 121,20 (Cq); 120,05 (CH); 113,20 (CH); 111,00 (CH); 27,00 (CH_2); 22,05 (CH_2); 13,57 (CH_3); P.F.: 235-236 °C; cor: amarela.



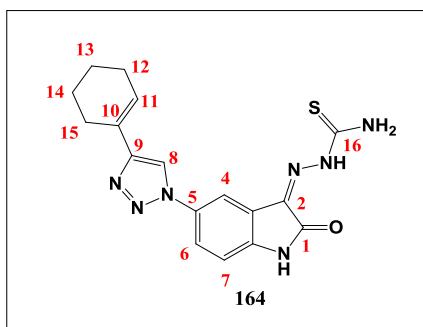
EMAR-ESI(+): $[M+Na]^+$ Encontrado 366,1096; $C_{15}H_{17}N_7NaOS^+$ calculado 366,1107; $IV_{vm\acute{a}x.}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3419, 3143, 1689, 1608, 1133, 1124, 854, 507; RMN 1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 12,36 (sl, 1H, NH); 11,42 (sl, 1H, NH); 9,14 (sl, 1H, NH); 8,85 (sl, 1H, NH); 8,45 (s, 1H, H-Ar); 8,21 (d, $J = 5$ Hz, 1H, H-Ar); 7,78 (dd, $J = 5$ Hz e 10 Hz, 1H, H-Ar); 7,08 (d, $J = 10$ Hz, 1H, H-Ar);

2,71 (t, $J = 10$ Hz, 2H, CH₂); 1,65 (quint, $J = 5$ Hz, 2H, CH₂); 1,37 (sext., $J = 10$ Hz, 2H, CH₂); 0,93 (t, $J = 10$ Hz, 3H, CH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 179,35 (Cq); 163,24 (Cq); 148,63 (Cq); 142,44 (Cq); 132,69 (Cq); 131,68 (Cq); 123,29 (CH); 121,81 (Cq); 120,62 (CH); 113,80 (CH); 112,19 (CH); 31,49 (CH₂); 25,20 (CH₂); 22,23 (CH₂); 14,25 (CH₃); P.F.: 227-228 °C; cor: amarela.



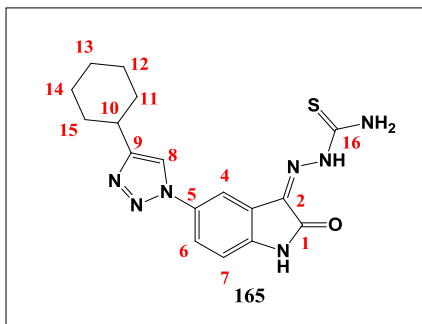
EMAR-ESI(+): [M+Na]⁺ Encontrado 380,1251
 C₁₆H₁₉N₇NaOS⁺ calculado 380,1264; IV_{vmáx.}
 (KBr)/cm⁻¹: 3421, 1700, 1681, 1610, 1207, 1133,
 854, 740, 580; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ
 12,38 (sl, 1H, NH); 11,43 (sl, 1H, NH); 9,16 (sl, 1H,
 NH); 8,86 (sl, 1H, NH); 8,45 (s, 1H, H-Ar); 8,22 (d,

$J = 3$ Hz, 1H, H-Ar); 7,79 (dd, $J = 3$ Hz e 6 Hz, 1H, H-Ar); 7,09 (d, $J = 6$ Hz, 1H, H-Ar); 2,70 (t, $J = 6$ Hz, 2H, CH₂); 1,68 (quint., $J = 6$ Hz, 2H, CH₂); 1,34 (quart., $J = 3$ Hz, 4H, CH₂); 0,89 (t, $J = 6$ Hz, 3H, CH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 178,86 (Cq); 162,70 (Cq); 148,13 (Cq); 141,90 (Cq); 132,18 (Cq); 131,13 (Cq); 122,74 (CH); 121,28 (Cq); 120,04 (Cq); 113,25 (CH); 111,65 (CH); 30,83 (CH₂); 28,51 (CH₂); 24,99 (CH₂); 21,88 (CH₂); 13,88 (CH₃); P.F.: 202-204 °C; cor: amarela.



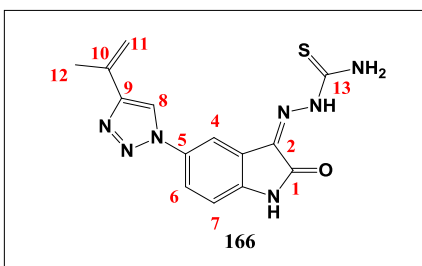
EMAR-ESI(+): [M+Na]⁺ Encontrado 390,1104
 C₁₇H₁₇N₇NaOS⁺ calculado 390,1107; IV_{vmáx.}
 (KBr)/cm⁻¹: 3255, 3158, 1712, 1697, 1600, 1490,
 1122, 1133, 788, 765, 547; RMN ¹H (DMSO-*d*₆,
 300 MHz) δ 12,34 (sl, 1H, NH); 11,44 (sl, 1H, NH);
 9,11 (sl, 1H, NH); 8,82 (s, 1H, NH); 8,62 (s, 1H, H-
 Ar); 8,19 (s, 1H, H-Ar); 7,76 (d, 1H, $J = 6$ Hz, H-

Ar); 7,05 (d, 1H, $J = 3$ Hz, H-Ar); 6,49 (sl, 1H, H-Ar); 2,35 (sl, 2H, CH₂); 2,14 (sl, 2H, CH₂); 1,69-1,68 (m, 2H, CH₂); 1,60-1,59 (m, 2H, CH₂); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 179,35 (Cq); 163,22 (Cq); 149,47 (Cq); 142,53 (Cq); 132,56 (Cq); 131,67 (Cq); 127,65 (Cq); 124,93 (CH); 123,25 (Cq); 121,79 (CH); 118,51 (CH); 113,73 (CH); 112,20 (CH); 26,34 (CH₂); 25,26 (CH₂); 22,53 (CH₂); 22,36 (CH₂); P.F.: 227-228 °C; cor: amarela.



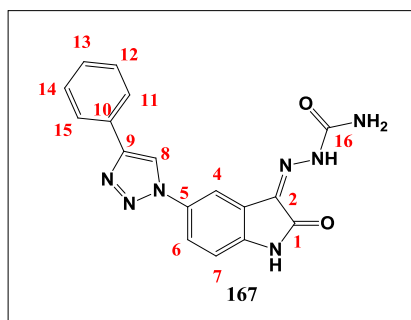
EMAR-ESI(+): $[M+Na]^+$ Encontrado 392,1253; $C_{17}H_{19}N_7ONaS^+$ calculado 392,1264; $IV_{vm\acute{a}x.}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3411, 3266, 2929, 1749, 1700, 1594, 1128, 1045, 860, 526; RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 12,36 (sl, 1H, NH); 11,41 (sl, 1H, NH); 9,13 (sl, 1H, NH); 8,83 (s, 1H, NH); 8,42 (s, 1H, H-Ar); 8,19 (d, $J = 3$ Hz, 1H, H-Ar); 7,78 (dd, $J = 3$

Hz e 6 Hz, 1H, H-Ar); 7,08 (d, $J = 6$ Hz, 1H, H-Ar); 2,77-2,71 (m, 1H, CH); 2,03-2,00 (m, 2H); 1,78-1,67 (m, 3H); 1,51-1,21 (m, 5H); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ 178,82 (Cq); 162,63 (Cq); 153,19 (Cq); 141,84 (Cq); 132,17 (Cq); 131,08 (Cq); 122,75 (CH); 121,19 (Cq); 118,87 (CH); 113,22 (CH); 111,59 (CH); 34,58 (CH); 32,41 (CH $_2$); 25,58 (CH $_2$); 25,49 (CH $_2$); P.F.: 234-235 °C; cor: amarela.



EMAR-ESI(+): $[M+H]^+$ Encontrado, 328,0975 $C_{14}H_{14}N_7OS^+$; calculado 328,0936; $IV_{vm\acute{a}x.}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3151, 1704, 1591, 1270, 1132, 1120, 856, 765, 715; RMN 1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 12,34 (sl, 1H, NH); 11,41 (sl, 1H, NH); 9,11 (sl, 1H, NH); 8,82 (sl, 1H, NH); 8,79 (s, 1H, H-Ar); 8,20 (d,

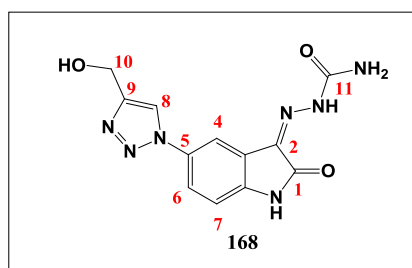
$J = 5$ Hz, 1H, H-Ar); 7,78 (dd, $J = 5$ Hz e 10 Hz, 1H, H-Ar); 7,06 (d, $J = 10$ Hz, 1H, H-Ar); 5,73 (sl, 1H, CH $_2$); 5,11 (sl, 1H, CH $_2$); 2,09 (s, 3H, CH $_3$); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ 179,35 (Cq); 163,25 (Cq); 148,88 (Cq); 142,64 (Cq); 133,91 (Cq); 132,45 (Cq); 131,64 (Cq); 123,43 (CH); 121,83 (Cq); 120,09 (CH); 113,86 (CH); 112,93 (CH $_2$); 112,22 (CH); 20,88 (CH $_3$); P.F.: 249-251 °C; cor: amarela.



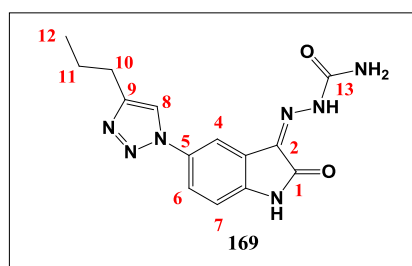
EMAR-ESI(+): $[M+H]^+$ Encontrado, 348,1204 $C_{17}H_{14}N_7O_2^+$; calculado 348,1164; $IV_{vm\acute{a}x.}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3467, 3135, 1720, 1598, 1573, 1500, 1330, 1195, 1052, 761, 524; RMN 1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 11,69 (sl, 1H, NH); 11,36 (sl, 1H, NH); 11,00 (sl, 1H, NH); 10,59 (sl, 1H, NH); 9,20 (sl, 1H, H-Ar); 9,13 (sl, 1H, H-Ar); 8,63 (d, $J = 5$ Hz, 1H, H-Ar);

8,17 (d, $J = 5$ Hz, 1H, H-Ar); 7,92 (d, $J = 5$ Hz, 2H, H-Ar); 7,86 (dd, $J = 5$ Hz e 10 Hz, 1H, H-Ar); 7,82 (dd, $J = 5$ Hz e 10 Hz, 1H, H-Ar); 7,47 (t, $J = 10$ Hz, 2H, H-Ar); 7,36 (t,

$J = 10$ Hz, 1H, H-Ar); 7,10 (d, $J = 10$ Hz, 1H, H-Ar); 7,07 (d, $J = 10$ Hz, 1H, H-Ar); 6,84 (sl, 2H, NH₂); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 165,30 (Cq); 163,24 (Cq); 156,91 (Cq); 155,29 (Cq); 147,69 (Cq); 147,53 (Cq); 147,49 (Cq); 141,82 (Cq); 132,29 (Cq); 132,07 (Cq); 131,67 (Cq); 130,76 (Cq); 130,62 (Cq); 129,50 (CH); 129,47 (CH); 128,70 (CH); 125,81 (CH); 125,77 (CH); 124,46 (CH); 122,66 (CH); 122,12 (CH); 120,54 (CH); 120,16 (CH); 118,35 (CH); 116,50 (Cq); 113,09 (Cq); 111,42 (CH); proporção *Z:E* (86:14); cor: amarela.

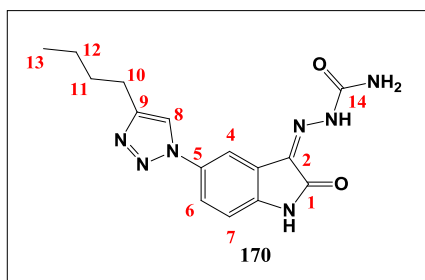


EMAR-ESI(+): [M+Na]⁺ Encontrado, 324,0821
 C₁₂H₁₁N₇NaO₂⁺ calculado 324,0817; IV_{vmáx.}
 (KBr)/cm⁻¹: 3357; 1722; 1687; 1585; 1461; 1166;
 1214; 1097; 1018; 792; 580; RMN ¹H (DMSO-*d*₆,
 500 MHz) δ 11,61 (sl, 1H, NH); 11,33 (sl, 1H, NH);
 10,97 (sl, 1H, NH); 10,68 (sl, 1H, NH); 8,67 (sl, 1H,
 H-Ar); 8,57 (sl, 1H, H-Ar); 8,54 (s, 1H, H-Ar); 8,13 (s, 1H, H-Ar); 7,86 (d, $J = 10$ Hz,
 1H, H-Ar); 7,76 (d, 1H, $J = 10$ Hz, 1H, H-Ar); 7,19 (sl, 2H, NH₂); 7,06-6,80 (m, 4H, H-
 Ar e NH₂); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 165,42 (Cq); 163,28 (Cq); 156,59 (Cq);
 155,45 (Cq); 149,59 (Cq); 149,50 (Cq); 143,28 (Cq); 141,73 (Cq); 132,48 (Cq); 132,05
 (Cq); 131,90 (Cq); 130,69 (Cq); 123,96 (CH); 122,57 (CH); 122,13 (Cq); 121,78 (CH);
 121,46 (CH); 117,63 (CH); 116,50 (Cq); 113,06 (CH); 112,04 (CH); 111,56 (CH);
 55,63 (CH₂); 55,52 (CH₂); proporção *Z:E* (50:50); cor: amarela.



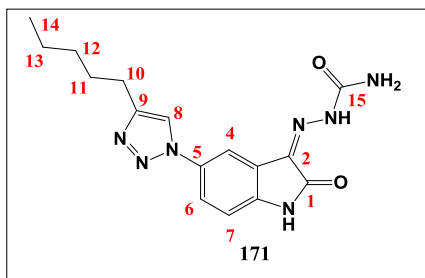
EMAR-ESI(+): [M+H]⁺ Encontrado, 314,1415
 C₁₄H₁₆N₇O₂⁺ ; calculado 314,1321; IV_{vmáx.}
 (KBr)/cm⁻¹: 3440, 3137, 2871, 1729, 1708, 1589,
 1498, 1483, 1162, 1054, 892, 790, 543, 524; RMN
¹H (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ 11,66 (sl, 1H, NH); 8,62
 (sl, 1H, H-Ar); 8,46 (sl, 1H, H-Ar); 8,30 (sl, 1H, H-
 Ar); 8,09 (d, $J = 5$ Hz, 1H, H-Ar); 7,89 (sl, 1H, H-Ar); 7,82 (d, $J = 10$ Hz, 1H, H-Ar);
 7,74 (dd, $J = 5$ Hz e 10 Hz, 1H, H-Ar); 7,22 (sl, 2H, NH₂); 7,05 (d, $J = 10$ Hz, 1H, H-
 Ar); 6,87 (d, $J = 5$ Hz, 1H, H-Ar); 2,65 (t, $J = 10$ Hz, 2H, CH₂); 1,66 (sext., $J = 10$ Hz,
 2H, CH₂); 0,93 (t, $J = 10$ Hz, 3H, CH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 163,54 (Cq);
 155,43 (Cq); 148,40 (Cq); 141,00 (Cq); 132,50 (Cq); 130,90 (CH), 122,51 (CH); 122,19

(Cq); 120,72 (CH); 112,98 (CH), 112,06 (CH); 27,61 (CH₂); 22,66 (CH₂); 14,20 (CH₃); proporção *Z:E* (93:6); cor: amarela.



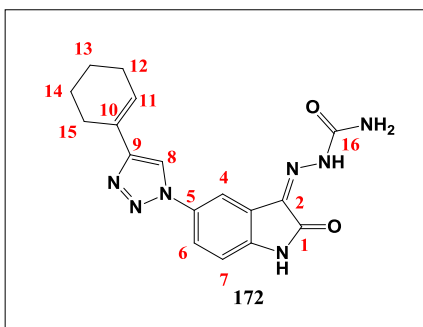
EMAR-ESI(+): [M+H]⁺ Encontrado, 328,1516; C₁₅H₁₈N₇O₂⁺ calculado 328,1477; IV_{vmáx.} (KBr)/cm⁻¹: 3419, 3236, 3143, 1689, 1608, 1492, 1456, 1133, 1124, 854, 680, 503; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 12,44 (sl, 1H, NH); 11,66 (sl, 1H, NH); 11,53 (sl, 1H, NH); 11,38 (sl, 1H, NH); 8,56 (sl, 1H,

H-Ar); 8,47 (s, 1H, H-Ar); 8,20 (sl, 1H, H-Ar); 8,12 (d, *J* = 3 Hz, 1H, H-Ar); 7,94-7,83 (m, 1H, H-Ar); 7,76 (dd, *J* = 3 Hz e 6 Hz, 1H, H-Ar); 7,41 (sl, 1H, NH₂); 7,24 (sl, 2H, NH₂); 7,07 (d, *J* = 6 Hz, 1H, H-Ar); 2,68 (t, 2H, *J* = 6 Hz, CH₂); 1,64 (quint., *J* = 6 Hz, 2H, CH₂); 1,36 (sext, 2H, *J* = 6 Hz, CH₂), 0,91 (t, *J* = 6 Hz, 3H, CH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 162,74 (Cq); 154,88 (Cq); 148,03 (Cq); 141,07 (Cq); 132,05 (Cq); 130,19 (Cq); 121,93 (CH); 121,55 (CH), 120,07 (CH); 112,41 (CH); 111,48 (CH); 30,94 (CH₂); 24,69 (CH₂); 21,70 (CH₂); 13,70 (CH₃); proporção *Z:E* (95:5); cor: amarela.



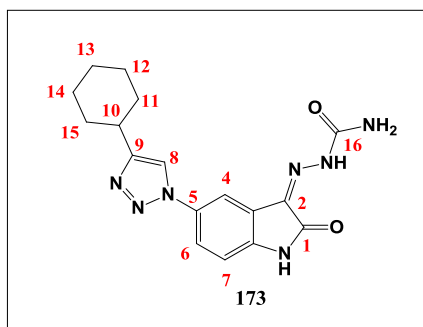
EMAR-ESI(+): [M+Na]⁺ Encontrado, 364,1485; C₁₆H₁₉N₇NaO₂⁺ calculado 364,1492; IV_{vmáx.} (KBr)/cm⁻¹: 3475, 3236, 2858, 1737, 1708, 1575, 1508, 1457, 1168, 817, 790, 530; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 11,66 (sl, 1H, NH); 11,33 (sl, 1H, NH); 10,96 (sl, 1H, NH); 10,61 (sl, 1H, NH); 8,53

(d, *J* = 3 Hz, 1H, H-Ar); 8,48 (sl, 1H, H8); 8,46 (sl, 1H, H8); 8,12 (d, *J* = 3 Hz, 1H, H-Ar); 7,83 (dd, *J* = 3 Hz e 6 Hz, 1H, H-Ar); 7,75 (dd, *J* = 3 Hz e 6 Hz, 1H, H-Ar); 7,26 (sl, 2H, NH₂); 7,06 (d, *J* = 6 Hz, 1H, H-Ar); 7,02 (s, 1H, H-Ar); 2,67 (t, *J* = 6 Hz, 2H, CH₂); 1,65 (quint., *J* = 6 Hz, 2H, CH₂); 1,33-1,29 (m, 4H, CH₂); 0,87 (t, *J* = 6 Hz, 3H, CH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 164,75 (Cq); 162,74 (Cq); 156,10 (Cq); 154,85 (Cq); 148,05 (Cq); 147,84 (Cq); 142,66 (Cq); 141,01 (Cq); 132,04 (Cq); 131,60 (Cq); 130,14 (Cq); 123,49 (CH); 121,90 (CH); 121,54 (Cq); 120,31 (Cq); 120,01 (CH); 117,27 (CH); 115,96 (CH); 115,96 (CH); 112,38 (CH); 111,42 (CH); 110,87 (CH); 30,81 (CH₂); 28,48 (CH₂); 24,97 (CH₂); 21,86 (CH₂); 13,85 (CH₃); proporção *Z:E* (81:15); cor: amarela.



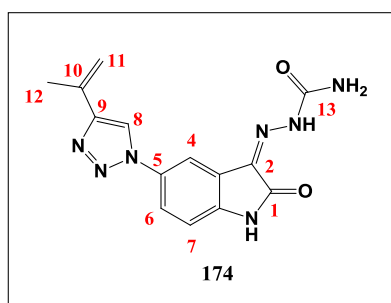
EMAR-ESI(+): $[M+H]^+$ Encontrado, 352,1507; $C_{17}H_{19}N_7O_2^+$ calculado 352,1477; $IV_{\text{vmáx.}} (\text{KBr})/\text{cm}^{-1}$: 3471, 3234, 2927, 1731, 1695, 1575, 1506, 1479, 1168, 1035, 788, 642; RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz) 11,69 (sl, 1H, NH); 11,33 (sl, 1H, NH); 8,66 (sl, 1H, H-Ar); 8,12 (sl, 1H, H-Ar); 7,77 (d, $J = 6$ Hz, 1H, H-Ar); 7,25 (sl, 2H, NH_2); 7,06 (d, $J = 9$

Hz, 1H, H-Ar); 6,51 (sl, 1H, H-Ar); 2,38 (sl, 2H); 2,17 (sl, 2H); 1,72-1,62 (m, 4H); RMN ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz) δ 162,76 (Cq); 154,84 (Cq); 148,91 (Cq); 141,11 (Cq); 131,94 (Cq); 130,20 (Cq); 127,17 (Cq); 124,28 (CH); 121,92 (Cq); 121,56 (CH); 117,94 (CH); 112,35 (CH); 111,45 (CH); 25,81 (CH_2); 24,72 (CH_2); 22,00 (CH_2); 21,84 (CH_2); cor: amarela.



EMAR-ESI(+): $[M+Na]^+$ Encontrado, 376,1488; $C_{17}H_{19}N_7NaO_2^+$ calculado 376,1498; $IV_{\text{vmáx.}} (\text{KBr})/\text{cm}^{-1}$: 3432, 3066, 2665, 1687, 1612, 1587, 1390, 1216, 1182, 1056, 771, 586; RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz) δ 12,44 (sl, 1H, NH); 11,67 (sl, 1H, NH); 11,51 (sl, 1H, NH); 11,36 (sl, 1H, NH); 8,64 (sl, 1H, H-Ar); 8,45 (sl, 1H, H-Ar); 8,12

(d, $J = 3$ Hz, 1H, H-Ar); 7,95 (d, $J = 3$ Hz, 1H, H-Ar); 7,90 (dd, $J = 3$ Hz e 6 Hz, 1H, H-Ar); 7,76 (dd, $J = 3$ Hz e 6 Hz, 1H, H-Ar); 7,39 (sl, 2H, NH_2); 7,25 (sl, 2H, NH_2); 7,07 (d, $J = 6$ Hz, 1H, H-Ar); 2,75-2,69 (m, 1H); 2,03-1,99 (m, 2H); 1,77-1,66 (m, 3H); 1,50-1,35 (m, 5H); RMN ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz) δ 162,72 (Cq); 154,85 (Cq); 153,20 (Cq); 141,02 (Cq); 132,08 (Cq); 130,19 (Cq); 121,94 (CH); 121,51 (Cq); 118,91 (CH); 112,39 (CH); 111,45 (CH); 34,62 (CH); 32,44 (CH_2); 25,62 (CH_2); 25,53 (CH_2); proporção Z:E (92:8); cor: amarela.

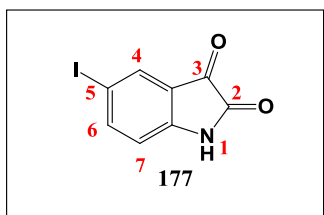


EMAR-ESI(+): $[M+H]^+$ Encontrado, 312,1204; $C_{14}H_{14}N_7O_2^+$ calculado 312,1164; $IV_{\text{vmáx.}} (\text{KBr})/\text{cm}^{-1}$: 3469, 3236, 2819, 1704, 1623, 1575, 1465, 1392, 1213, 1112, 755, 676; RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz) δ 10,96 (sl, 1H, NH); 10,55 (sl, 1H, NH); 8,76 (sl, 1H, H-Ar); 8,53 (d, $J = 5$ Hz, 1H, H-Ar); 7,81 (dd, $J = 5$

Hz e 10 Hz, 1H, H-Ar); 7,04-7,00 (m, 3H, H-Ar e NH₂); 5,72 (sl, 1H, CH₂); 5,12 (sl, 1H, CH₂); 2,11 (sl, 3H, CH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 165,35 (Cq); 156,57 (Cq); 148,63 (Cq); 143,37 (Cq); 133,90 (Cq); 132,08 (Cq); 131,66 (Cq); 124,64 (CH); 120,35 (CH); 118,17 (CH); 116,44 (Cq); 112,84 (CH₂); 111,40 (CH); 20,85 (CH₃); proporção *Z:E* (80:20); cor: marrom.

7.4.8. Preparo da 5-iodo-isatina (177)

Em balão de fundo redondo, uma solução contendo 27,2 mmol (4 g) de isatina, 80 mL de MeOH e igual quantidade de KICl₂²¹ foi submetida à agitação magnética. Após 5 dias de reação, adicionou-se ao meio reacional 20 mL de MeOH e 20 mL de KICl₂. A suspensão resultante permaneceu sob agitação magnética por um período de 3 dias (GARDEN *et al.*, 2001). A 5-iodo-isatina foi obtida em 66% de rendimento após recristalização em etanol.



RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) δ 11,10 (sl, 1H, NH); 7,72–7,65 (m, 2H, H4 e H6); 6,59 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H7); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 50 MHz) δ 183,61 (Cq); 159,21 (Cq); 150,52 (Cq); 146,34 (CH); 132,95 (CH); 120,48 (Cq); 115,16 (CH); 85,60 (Cq); P.F.: 281-282 °C, *lit.*(GARDEN

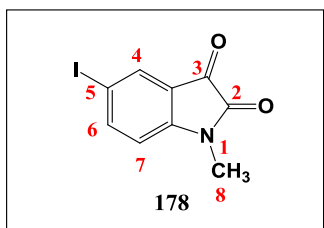
et al., 2001) 280-281 °C; cor: vermelha.

7.4.9. Preparo da *N*-metil-5-iodo-isatina (178)

Em um vial de micro-ondas G10, contendo 1 mmol da 5-iodo-isatina (0,273 g), 2 mmol (0,084 g) de hidreto de cálcio (CaH₂), 4,0 mL de dimetilformamida (DMF), e 9,24 mmol (0,577 mL) de iodometano foi submetida à irradiação por micro-ondas à 100 °C por 20 minutos (SHMIDT *et al.*, 2008). O progresso da reação foi acompanhado por CCD, utilizando-se uma mistura de acetato de etila e hexano (1:1) como eluente. A *N*-metil-5-iodo-isatina foi obtida em 89% de rendimento como um sólido vermelho

²¹ Preparo do KICl₂: Uma mistura de 105,4 mmol (17,5 g) de KI e 268,3 mmol (20 g) de KCl em 3 mL de HCl concentrado e 50 mL de água destilada foi submetida à agitação magnética à temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se 85 mL de HCl concentrado e uma solução de 331,3 mmol (55 g) de KI em 100 mL de água destilada. Após 2h, o volume da mistura reacional foi ajustado para 500 mL originando a solução de KICl₂ 2N (LARSEN *et al.*, 2011).

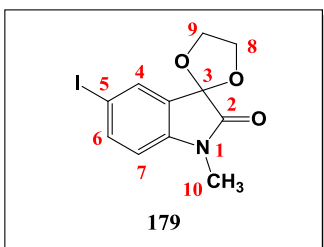
crystalino, após extração líquido-líquido e remoção do DMF remanescente em alto-vácuo.



RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ 7,93–7,85 (m, 2H, H4 e H6); 6,59 (d, $J = 8\text{Hz}$, 1H, H7); 3,11 (s, 3H, H8); RMN ^{13}C ($\text{CHCl}_3\text{-d}_6$, 50 MHz) δ 182,04 (Cq); 157,30 (Cq); 150,83 (Cq); 146,52 (CH); 133,78 (CH); 119,05 (Cq); 112,17 (CH); 86,11 (Cq); 26,40 (CH_3); cor: vermelha.

7.4.10. Preparo da *N*-metil-5'-iodo-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (179)

Em um balão de fundo redondo acoplado a um Dean-Stark, foram misturados 1,13 mmol (0,324 g) de *N*-metil-5-iodo-isatina, 1,0 mL de etilenoglicol, 0,093 mmol (0,016 g) de ácido *p*-TsOH e 2,5 mL de tolueno. Após 4 h em refluxo, adicionou-se solução saturada de bicarbonato de sódio ao meio reacional até a formação de um precipitado bege que foi filtrado a vácuo em funil de Büchner. O produto foi obtido em 48% de rendimento.



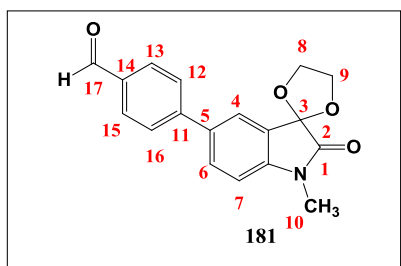
RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ 7,72–7,65 (m, 2H, H4 e H6); 6,59 (d, $J = 8\text{ Hz}$, 1H, H7); 4,65–4,24 (m, 4H, H8 e H9); 3,11 (s, 3H, H10); RMN ^{13}C ($\text{CHCl}_3\text{-d}_6$, 50 MHz) δ 172,59 (Cq); 144,51 (Cq); 140,41 (CH); 133,72 (CH); 126,32 (Cq); 110,75 (CH); 101,71 (Cq); 85,60 (Cq); 66,05 (CH_2); 25,94

(CH_3); cor: bege.

7.4.11. Preparo da 4-(*N*-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (181)

Em um vial de micro-ondas G30, 2,5 mmol (0,375 g) de ácido 4-fenil-benzeno-borônico, 2,5 mmol (0,825 g) de *N*-metil-5'-iodo-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona), 0,125 mmol (0,0875 g, 5 mol.%) de $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, 5,0 mL de acetonitrila e 5,0 mL de Na_2CO_3 1 M foram submetidos à irradiação de micro-ondas por 10 minutos a 150 °C em reator Monowave (Anton Paar) (GONG *et al.*,

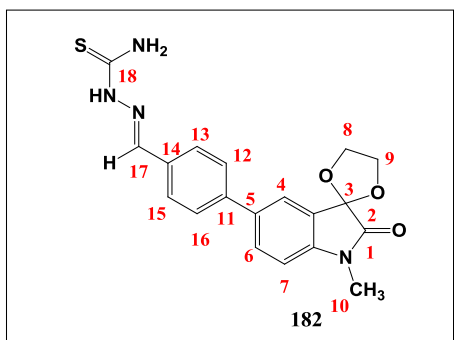
2002). Após consumo do material de partida averiguado por CCD, foi feita uma filtração simples para a remoção do paládio. Em seguida, adicionou-se solução saturada de bicarbonato de sódio à solução filtrante. O precipitado formado foi filtrado a vácuo em funil de Büchner. O produto foi obtido em 47% de rendimento.



EMAR-ESI(+): $[M+H]^+$ Encontrado 310,1074, $C_{18}H_{16}NO_4^+$ calculado 310,1001; $IV_{vm\acute{a}x.}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3434, 2991, 2939, 2890, 2846, 1726, 1687, 1602, 1492, 1309, 1216, 1112, 1039, 815, 734, 516; RMN 1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 10,04 (sl, 1H, H17); 7,99-7,82 (m, 6H, H-Ar); 7,18 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H7); 4,37 (sl, 4H, H8 e H9); 3,13 (s, 3H, H10); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ 193,15 (CH); 173,11 (Cq); 145,52 (Cq); 145,20 (Cq); 135,40 (Cq); 134,28 (Cq); 131,17 (CH); 130,69 (CH); 127,41 (CH); 125,77 (Cq); 123,64 (CH); 110,58 (CH); 101,95 (Cq); 66,31 (CH $_2$); 26,45 (CH $_3$); P.F.: 193-195 °C, cor: amarelo claro.

7.4.12. Preparo do 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilidenohidrazinocarbotioamida (184)

Em um vial de micro-ondas G10, 0,017 g (0,13 mmol) de cloridrato de tiossemicarbazida e igual quantidade molar do 4-(*N*-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído foram solubilizadas em 0,7 mL de MeOH e submetidas à irradiação por micro-ondas durante 10 minutos em reator Monowave (Anton Paar). Em seguida, após o consumo do material de partida verificado por CCD, o meio contendo o produto foi transferido para um balão de fundo redondo com o auxílio de um funil para líquidos e o solvente removido em evaporador rotatório. A 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilidenohidrazinocarbotioamida (**184**) foi obtida como um sólido branco em 91% de rendimento.

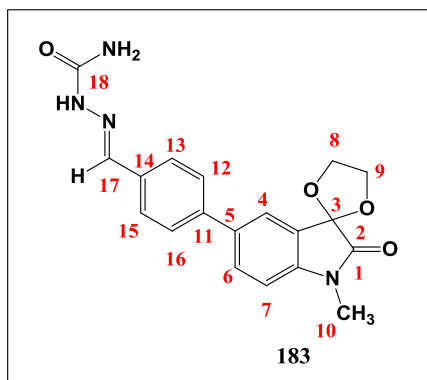


EMAR-ESI(+): $[M+H]^+$ Encontrado, 383,1172 $C_{19}H_{19}N_4O_3S^+$ calculado 383,1133; $IV_{vm\acute{a}x.}$ (KBr)/ cm^{-1} : 3425, 3317, 1720, 1604, 1594, 1540, 1492, 1240, 1118, 1039, 806, 528; RMN 1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 11,44 (sl, 1H, H17); 8,20

(sl, 1H, NH₂); 8,05 (sl, 1H, NH); 8,02 (sl, 1H, NH₂); 7,83 (d, *J* = 10 Hz, 2H, H-Ar); 7,79 (dd, *J* = 5 e 10 Hz, H6); 7,72 (d, *J* = 5Hz, 1H, H-Ar); 7,68 (d, *J* = 10 Hz, 2H, H-Ar); 4,37-4,30 (m, 4H, CH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 178,44 (Cq); 173,09 (Cq); 144,49 (Cq); 142,42 (CH); 140,97 (Cq); 135,00 (Cq); 133,61 (Cq); 130,58 (CH); 128,46 (CH); 126,99 (CH); 125,58 (Cq); 123,21 (CH); 110,47 (CH); 102,02 (Cq); 66,26 (CH₂); 26,42 (CH₃); P.F.: 223-225 °C; cor: branca.

7.4.13. Preparo do 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilidenohidrazinocarboxamida (185)

Em um vial G30, 3,09 g (10 mmol) de 4-(*N*-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)-5'-il)benzaldeído foi solubilizada em um vial G30 contendo 15 mL de MeOH e 1,1 g (10 mmol) de cloridrato de semicarbazida. Durante 10 minutos, a mistura de reação foi submetida à irradiação por micro-ondas a 150 °C em reator Monowave (Anton Paar). Após o consumo do material de partida, o meio reacional foi transferido para um balão de fundo redondo com o auxílio de um funil para líquidos e o solvente removido em evaporador. O 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolino]-5'-il)benzilidenohidrazinocarboxamida (**185**) foi obtido após filtração à vácuo em 84% de rendimento.



EMAR-ESI(+): [M+H]⁺ Encontrado, 367,1400
 C₁₉H₁₉N₄O₄⁺ calculado 367,1362; IV_{vmáx.} (KBr)/cm⁻¹: 3467, 3347, 2969, 1724, 1685, 1585, 1434, 1118, 944, 524; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ 10,28 (sl, 1H, NH); 7,85 (sl, 1H, H-Ar); 7,80-7,66 (m, 6H, H-Ar); 6,51 (sl, 2H, NH₂); 4,47-4,33 (m, 4H, H8 e H9); 3,11 (s, 3H, H10); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ 173,08 (Cq); 157,26 (Cq); 144,36 (Cq);

140,19 (Cq); 139,37 (CH); 135,15 (Cq); 134,25 (Cq); 130,47 (CH); 127,68 (CH); 126,93 (CH); 125,56 (Cq); 123,15 (CH); 110,46 (CH); 102,03 (Cq); 66,26 (CH₂); 26,42 (CH₃); P.F.: 255-257 °C; cor: branca.

7.5. *Eletroquímica (Voltametria cíclica)*

Os voltamogramas cíclicos foram obtidos em potenciostato-galvanostato Epsilon – BAS. Foram utilizadas soluções dos compostos 2×10^{-4} mol.L⁻¹ em MeOH contendo 0,2 mol.L⁻¹ do eletrólito *n*-Bu₄NClO₄, a temperatura ambiente e sob atmosfera de nitrogênio.

Um sistema de três componentes-padrão foi usado: um eletrodo de carbono vítreo de trabalho, um eletrodo auxiliar de platina e um de referência de Ag/AgCl para meios orgânicos.

7.6. *Modelagem Molecular*

7.6.1. *Seleção da atividade biológica, obtenção da estrutura cristalográfica e preparo dos ligantes.*

Para o estudo de docagem molecular, foram selecionadas no banco de dados *Protein Data Bank* (PDB) do *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RCSB) (BERMAN *et al.*, 2000), as estruturas cristalográficas, obtida por difração de raios-X, da cruzaina 4KLB (R=2,62 Å), complexada com 1RV (WIGGS *et al.*, 2013) e fosfodiesterase C 3V94 (R = 2,33 Å), complexada com WYQ (WANG *et al.*, 2012).

As estruturas 3D dos ligantes 1RV e WYQ foram construídas usando o programa Spartan'10 (Wavefunction, Inc.) (DEWAR *et al.*, 1985). Em seguida, esses ligantes foram submetidos a uma análise conformacional sistemática, em busca da conformação mais estável, usando o método semi-empírico RM1 (ROCHA *et al.*, 2006). As conformações mais estáveis para cada ligante tiveram suas cargas atômicas parciais calculadas pelo método DFT/B3LYP, usando a função de base 6-31+G(d), disponível no programa Spartan'10.

7.6.2. *Ancoramento Molecular*

Para as simulações de docagem molecular, foi utilizado o programa Autodock 4.2 que inicia com uma conformação arbitrária e tenta prever a pose (orientação e conformação) mais favorável para interação com o sítio ativo através do algoritmo genético (MORRIS *et al.*, 2009).

O preparo das proteínas e dos ligantes foi realizado utilizando a extensão *Python Molecular Viewer* do Programa ADT (*Autodock tools*), onde todas as moléculas de água e íons foram retiradas, exceto os íons zinco e magnésio da estrutura 3V94. Para a proteína, foram adicionados os hidrogênios polares e as cargas dos átomos foram assinaladas pelo método Kollman. O mapa de rede (grid) foi adicionado utilizando a extensão Autogrid4.2. Para a 4KLB, a grid foi centrada no átomo de enxofre do resíduo catalítico Cys25 (x: 32,549; y: 32,549; z: -27,088), com espaçamento de rede de 0,375 e dimensões 40x40x40. No caso da 3V94, a grid foi centrada no centro de massa do inibidor WYQ (x: -45,225; y: -24,518; z: -50,819), com espaçamento de rede de 0,375 e dimensões 40x40x60.

O método utilizado para o estudo de docking molecular da 4KLB foi o algoritmo genético (GA), utilizando os seguintes parâmetros: população de 600, número máximo de 2500000 avaliações de energia, número máximo de 27000 gerações, mutações de 0,02, taxa de cruzamento (*crossover*) de 0,8 e número de corridas de 50. Já para o estudo de docking molecular da 3V94, o algoritmo utilizado foi Lamarkiano (LGA) com os seguintes parâmetros: população de 150, número máximo de 2500000 avaliações de energia, número máximo de 27000 gerações, mutações de 0,02, taxa de cruzamento (*crossover*) de 0,8 e número de corridas de 100.

Após o ancoramento molecular dos complexos 4KLB e 3V94, todas as estruturas geradas foram separadas em agrupamentos (clusters) com base em uma tolerância de RMSD de 2 Å a partir da estrutura de menor energia. Para identificar o melhor resultado, considerou-se a pose de menor energia com o menor RMSD (<2 Å). A avaliação da interação por ligação hidrogênio foi realizada utilizando o Programa *Discovery Studio 3.1*²².

7.7. Atividade Biológica

7.7.1. Avaliação anti-*T. cruzi* em modelo intracelular contra a cepa Tulahúen

Este ensaio foi realizado como descrito por Buckner e colaboradores (BUCKNER *et al.*, 1996), utilizando o *T. cruzi* (cepa Tulahúen) que expressa o gene β -galactosidase de *Escherichia coli*. Formas tripomastigotas infecciosas foram obtidas

²² *Discovery Studio 3.1*, (2010).

através da cultura em monocamadas de fibroblastos de camundongos L929 no meio RPMI-1640 (pH 7,2 – 7,4), sem vermelho de fenol (Gibco BRL), contendo 10% de soro fetal bovino e glutamina 2 mM. Para o bioensaio, 4.000 células L929 em 80 µL de meio suplementado foram adicionados a cada poço de uma placa de microtitulação de 96 poços. Depois de uma incubação durante a noite, 40.000 tripomastigotas em 20 µL foram adicionadas às células e estas foram incubadas durante 2 h. O meio contendo parasitas que não penetram nas células foi substituído por 200 µL de meio fresco e a placa foi incubada durante mais 48 h para estabelecer a infecção. O meio foi então substituído com soluções de compostos a 1,0 µg/mL em meio fresco (200 µL) e a placa foi incubada durante 96 h a 37 °C. Após este período, adicionou-se 50 µL de vermelho de clorofenol D-galactopiranosido (500 µM) em 0,5% de Nonidet P40 a cada poço e a placa foi incubada durante 18 h a 37 °C. Em seguida, mediu-se a absorvância a 570 nm. Em paralelo, controles com células não infectadas e células infectadas tratadas com benznidazol (Bz) foram executados.

Os resultados foram expressos como a percentagem de inibição do crescimento de *T. cruzi* em células testadas com composto em comparação com as células infectadas e células não tratadas. Os ensaios foram executados em triplicata.

7.7.2. Avaliação de citotoxicidade in vitro em células L929

Para este bioensaio, 4.000 células de mamíferos em 200 µL de meio RPMI-1640 (pH 7,2-7,4) (Gibco BRL) mais 10% de soro fetal bovino e glutamina 2 mM são adicionados a cada poço de uma placa de microtitulação de 96 poços que foi incubada durante três dias a 37 °C. O meio foi então substituído com soluções dos 268 compostos (diluído em 200 µL de meio suplementado sem vermelho de fenol) em concentrações 50 vezes acima do IC₅₀ encontrados no ensaio de atividade anti-*Trypanosoma cruzi* e a placa foi incubada durante quatro dias a 37 °C. Após este período, adicionou-se 20 µL de AlamarBlue™ cada poço e a placa foi incubada durante mais 4-6 horas. A absorvância foi medida a 570 nm. Controles com células não tratadas e tratadas com Bz foram feitos em paralelo. Os ensaios foram feitos em triplicata.

Os resultados foram expressos como a diferença percentual na redução entre tratado (CT) e células não tratadas (UT), usando a seguinte equação:

(117,216) (Abs₅₇₀ TC) - (80,586) (Abs₆₀₀ TC) X 100

(117,216) (Abs₅₇₀ UT) - (80,586) (Abs₆₀₀ UT)

7.7.3. Determinação do Índice de Seletividade (IS)

Os resultados obtidos nas análises foram calculados por interpolação linear e expressos em valores de IC₅₀. O índice de seletividade (IS) foi determinado com base na razão entre o valor de IC₅₀ observado para as células L929 e o valor de IC₅₀ observado para as células infectadas com o parasita.

$$IS = \frac{IC_{50} \text{ (células L929)}}{IC_{50} \text{ (} T. \text{ cruzi)}}$$

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERT, A. 1,2,3,4,6-penta-azaindenes (8-azapurines). Part V. A comparison of 1,2,3-triazoles and pyrimidines as intermediates for the preparation of 9-substituted 8-azapurines. Rearrangement of 6-mercapto-8-azapurines and of 4-aminotriazoles. **Journal of the Chemical Society C: Organic**, p. 152-160, 1969.

ALI, A.Q.; TEOH, S.G.; SALHIN, A.; ELTAYEB, N.E.; AHAMED, M.B.K; MAJID, A.M.S.A. Synthesis of isatin thiosemicarbazones derivatives: In vitro anti-cancer, DNA binding and cleavage activities. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 125, p. 440-448, 2014.

ANDRADE, V.; ANDRADE, S.G.; NETTO, M.B.; PONTES, A.L.; CASTRO, R. Avaliação do comportamento de diferentes cepas do trypanosoma cruzi na infecção de seis linhagens isogênicas de camundongos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 18, p. 143-154, 1985.

ANDRADE Z.A. Immunopathology of Chagas' disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, suppl. 1, p. 71-80, 1999.

ANDRADE, S.G.; MAGALHÃES, J.B. Biodemes and zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains: correlations with clinical data and experimental pathology. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, p. 27-35, 1997.

ANDRADE, P.; GALO, O.G.; CARVALHO, M.R.; LOPES, C.D.; CARNEIRO, Z.A.; SESTI-COSTA, R.; MELO, E.B.; SILVA, J.S.; CARVALHO, I. 1,2,3-triazole-based analogue of benzimidazole displays remarkable activity against *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 6815-6826, 2015.

AQUINO NETO, F. R. NUNES, D. S. S. **Cromatografia: Princípios básicos e Técnicas afins**. Editora Interciência Ltda. 2003, 82p.

ARAVENA, CM; OLEA, AC; CERECETTO, H; GONZÁLEZ, M.; MAYA, JD; RODRIGUEZ-BECERRA, J. Potent 5-nitrofurán derivatives inhibitors of *Trypanosoma cruzi* growth. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular**, v. 79, p. 312-319, 2011.

ARCE, E.R.; MACHADO, I.; RODRÍGUEZ, B.; LAPIER, M.; ZÚÑIGA, M.C.; MAYA, J.D.; AZAR, C.O.; OTERO, L.; GAMBINO, D. Rhenium(I) tricarbonyl compounds of bioactive thiosemicarbazones: synthesis, characterization and activity against *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 170, p. 125-133, 2017.

ARNAUD-NEU, F.; SCHWING-WEILL, M. –F.; DOZOL, J. –F. **Calixarenes for nuclear waste treatment**. Editora: Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2001, 662p.

AUGER, S.; STORINO, R.; ORDOÑEZ, I.O.; URRUTIA, M.I.; SANMARTINO, M.; ROMERO, D.; JÖRG, M. Emergencies in patients with Chagas' disease in Buenos Aires city, Argentina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p. 609-616, 2002.

BAINES, K.M.; ROURKE, T.W.; VANGHAN, K.; HOOPER, D.L. 5-(Arylamino)-1,2,3-triazoles and 5-amino-1-aryl-1,2,3-triazoles from 3-(cyanomethyl)triazenes. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 46, p. 856-859, 1981.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. **Química Medicinal: as bases moleculares da terapêutica**. Artmed: Porto Alegre, 3^{ed}, 608p. 2009.

BARNER, T.E.; WALKER, S.D.; MARTINELLI, J.R.; BUCHWALD, S.L. Catalysts for Suzuki–Miyaura coupling processes: scope and studies of the effect of ligand structure. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, p. 4685–4696, 2005.

BARAN, T.; SARGIN, I.; KAYA, M.; MENTES, A. An environmental catalyst derived from biological waste materials for Green synthesis of biaryls via Suzuki coupling reactions. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 420, p. 216-221, 2016.

BARATA, R.B. Cem anos de endemias e epidemias. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 5, p. 333-345, 2000.

BARR, S.C.; WARNER, K.L.; KORNREIC, B.G.; PISCITELLI, J.; WOLFE, A.; BENET, L.; MCKERROW, J.H. A cysteine protease inhibitor protects dogs from cardiac damage during infection by *Trypanosoma cruzi*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, p. 5160-5161, 2005.

BASTIDE, J.; HENRI-ROUSSEAU, O. **In the chemistry of the carbon-carbon triple bond**; Patai, S., 5^o Ed, Editora: Interscience Publishers, London, p. 447, 1978.

BERMAN, H.M.; WESTBROOK, Z.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T.N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I.N.; BOURNE, P.E. The protein data bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, p. 235-242, 2000.

BERN, C.; VERASTEGUI, M.; GILMAN, R.H.; LAFUENTE, C.; GALDOS-CARDENAS, G.; CALDERON, M.; PACORI, J.; ABASTOFLOR, M.C.; APARICIO, H.; BRADY, M.F.; FERRUFINO, L.; ÂNGULO, N.; MARCUS, S.; STERLING, C.; MAGUIRE, J.H. Congenital *Trypanosoma cruzi* transmission in Santa Cruz. Bolivia, **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, p. 1667-1674, 2009.

BHARTI, N.; SHAIENDRA; SHARMA, S.; NAQVI, F.; AZAM, A. New palladium(II) complexes of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones: synthesis, spectral studies and In vitro anti-Amoebic activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 2923-2929, 2003.

BLANCO, I.; PACHOLSKI, I.L.; ZANATTA, N.; MARTINS, M.A.P. Aplicação de NOESY 2-D na atribuição dos prótons do isômeros de n-metil-4-trialometil-2-pirimidinonas. **Química Nova**, v. 16, p. 15-17, 1993.

BLAU, L.; MENEGON, R. F.; TROSSINI, G.H.G.; MOLINO, J.V.D.; VITAL, D.G.; CICARELLI, R.M.B.; PASSERINI, G. D.; BOSQUESI, P. L.; CHIN, C.M. Design, synthesis and biological evaluation of new aryl thiosemicarbazone as antichagasic candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 67, p. 142-151, 2013.

BONNEY, K.M. Chagas disease in the 21st Century: a public health success or an emerging threat?. **Parasite**, v. 21, p. 11, 2014.

BOTERO, A.; KEATLEY, S.; PEACOCK, C.; THOMPSON, R.C.A. *In vitro* drug susceptibility of two strains of the wildlife trypanosome, *Trypanosoma copemani*: a comparison with *Trypanosoma cruzi*. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 7, p. 34-41, 2017

BRAGA, S.F.P.; MARTINS, L.C.; SILVA, E.B.; JÚNIOR, P.A.S.; MURTA, S.M.F.; ROMANHA, A.J.; SOH, W.T.; BRANDSTETTER, H.; FERREIRA, R.S.; OLIVEIRA, R.B. Synthesis and biological evaluation of potential inhibitors of the cysteine proteases cruzain and rhodesain designed by molecular simplification. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 1889–1900, 2017.

BRAK, K.; KERR, I.D.; BARRETT, K.T.; FUCHI, N.; DEBNATH, M.; ANG, K.; ENGEL, J.C.; MCKERROW, J.H.; DOYLE, P.S.; BRINEN, L.S.; ELLMAN, J.A. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 1763-1773, 2010.

BRETT, CMA.; OLIVEIRA-BRETT, AM **Electroanalysis**, 1ª. edição, Oxford University Press, 1998, 96p.

BRENER Z.; CHIARI E. Variações morfológicas observadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** v.5, p. 220-224, 1963.

BROWN, N.; MANNHOLD, R.; KUBINYI, H.; FOLKERS, G. **Bioisosteres in medicinal chemistry**. Editora Wiley, Weinheim (VHC) – Alemanha. 2012, vol. 54, 256p.

BUCKNER, F.S.; VERLINDE, C.L.; LAFLAMME A.C.; VANVOORHIS, W.C. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. **Antimicrobial Agents and Chemother.**, v. 40, p. 2592-2597, 1996.

BUTLER, C.E.; DE CARVALHO, T.M.U.; GRISARD, E.C.; FIELD, R.A.; TYLER, K. M. **Traffic**, v. 14, p. 853-869, 2013.

CAMPO, V.L.; SESTI-COSTA, R.; CARNEIRO, Z.A.; SILVA, J.S.; SCHENKMAN, S.; CARVALHO, I. Design, synthesis and the effect of 1,2,3-triazole sialylmimetic neoglycoconjugates on *Trypanosoma cruzi* and its cell surface trans-sialidase. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 145–156, 2012.

CAMPO, V.L.; IVANOVA, I.M.; CARVALHO, I.; LOPES, C.D.; CARNEIRO, Z.A.; SAALBACH, G.; SCHENKMAN, S.; SILVA, J.S.; NEPOGODIEV, S.A.; FIELD, R.A. Click chemistry oligomerisation of azido-alkyne-functionalised galactose accesses triazole-linked linear oligomers and macrocycles that inhibit *Trypanosoma cruzi* macrophage invasion. **Tetrahedron**, v. 71, p. 7344-7353, 2015.

CAPPELLACCI, L.; CUTRUZZOLA, F. Synthesis of triazole-linked analogues of c-di-GMP and their interactions with diguanylate cyclase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, p. 8269-8284, 2015.

CAPUTTO, M.E.; FABIAN, L.E.; BENÍTEZ, D.; MERLINO, A.; RÍOS, N.; CERECETTO, H.; MOLTRASIO, G.Y.; MOGLIONI, A.G.; GONZÁLEZ, M.; COLLINS, C.H. BRAGA, G.L. BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 6^a ed., Campinas: Editora da UNICAMP, 1995.

CARDOSO, M.V.O.; SIQUEIRA, L.R.P.; SILVA, E.B.; COSTA, L.B.; HERNANDES, M.Z.; RABELLO, M.M.; FERREIRA, R.S.; CRUZ, L.F.; MOREIRA, D.R.M.; PEREIRA, V.R.A.; CASTRO, M.C.A.B.; BERNHARDT, P.V.; LEITE, A.C.L. 2-Pyridyl thiazoles as novel anti-*Trypanosoma cruzi* agents: Structural design, synthesis and pharmacological evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 86, p. 48-59, 2014.

CARDOSO, J.; NARDELLI, S.C.; KRIEGER, M.A.; FRANCO, G.R.; MACEDO, A.M.; PENA, S.D.J.; SCHENKMAN, S.; GOMES, D.A.; GUERRA-SÁ, R.; MACHADO, C.R. Effect of ionizing radiation exposure on *Trypanosoma cruzi* ubiquitin-proteasome system. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 212, p. 55-67, 2017.

CARVALHO, I.; ANDRADE, P.; CAMPO, V.L.; GUEDES, R.S.-C.; SILVA, J.S.; SCHENKMAN, S.; DEDOLA, S.; HILL, L.; REJZEK, M.; NEPOGODIEV, S.A.; FIELD, R.A. 'Click chemistry' synthesis of a library of 1,2,3-triazole-substituted galactose derivatives and their evaluation against *Trypanosoma cruzi* and its cell surface trans-sialidase. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 2412–2427, 2010.

CARVALHO, T.M.U.; DE SOUZA, W. Early events related with the behaviour of *Trypanosoma cruzi* within an endocytic vacuole in mouse peritoneal macrophages. **Cell Structure and Function**, v. 14, p. 383-392, 1989.

CASAS, J. S.; TASENDE, M. S. G.; SORDO, J. Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 209, p. 197-261, 2000.

CAZZULO, J.J.; FRANKE, M.C.C.; MARTINEZ, J.; CAZZULO, B.M.F. Some kinetic properties of a cysteine proteinase (cruzipain) from *Trypanosoma cruzi*. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1037, p. 186-191, 1990.

CERECETTO, H.; MAIO, R.D.; GONZÁLEZ, M.; RISSO, M.; SAGRERA, G.; SEOANE, G.; DENICOLA, A.; PELUFFO, G.; QUIJANO, C.; STOPPANI, A.O.M.; PAULINO, M.; OLEA-AZAER, C.; BASOMBRÍO, M.A. Synthesis and antitrypanosomal evaluation of *E*-isomers of 5-nitro-2-furaldehyde and 5-nitrothiophene-2-carbozaldehyde semicarbazone derivatives. Structure-activity relationships. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 343-350, 2000.

CERQUEIRA, P.G.; PASSOS-SILVA, D.G.; VIEIRA-DA-ROCHA, J.P.; MENDES, I.C.; OLIVEIRA, K.A.; OLIVEIRA, C.F.B.; VILELA, L.F.F.; NAGEM, R.A.P.;

CENCIG S, COLTEL N, TRUYENS C, CARLIER Y. Parasitic loads in tissues of mice infected with *Trypanosoma cruzi* and treated with AmBisome. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, p. e1216, 2011.

CHAGAS, C. Nova Tripanossomíase humana. Estudos, morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*, n. gen. n. sp. Agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1, p. 159-218, 1909.

CHIYANZU, I.; HANSELL, E.; GUT, J.; ROSENTHAL, P.J.; MCKERROWB, J.H.; CHIBALE, K. Synthesis and evaluation of isatins and thiosemicarbazone derivatives against cruzain, falcipain-2 and rhodesain. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, p. 3527-3530, 2003.

CHIMELLI L.; SCARAVILLI F. Trypanosomiasis. **Brain Pathology**, v.7, p. 599-611, 1997.

CHOWDHURY, S.F.; VILLAMOR, V.B; GUERRERO, R.H.; LEAL, I.; BRUN, R.; CROFT, S.L.; GOODMAN, J.M.; MAES, L.; RUIZ-PEREZ, L.M.; PACANOWSKA, D.G.; GILBERT, I.H. Design, synthesis, and evaluation of inhibitors of trypanosomal and leishmanial dihydrofolate reductase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, p. 4300-4312, 1999.

CHUNG, M.-C.; GÜIDO, R.V.C.; MARTINELLI, T.F.; GONÇALVES, M.F.; POLLI, M.C.; BOTELLHO, K.C.A.; VARANDA, E.A.; COLLI, W.; MIRANDA, T.M.; FERREIRA, E.I. Synthesis and in vitro evaluation of potential antichagasic hydroxymethylnitrofurazone (NFOH-121): a new nitrofurazone prodrug. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 4779-4783, 2003.

CINTAS P.; BARGE A.; TAGLIAPIETRA S.; BOFFA L.; CRAVOTTO G. Alkyne-azide click reaction catalyzed by metallic copper under ultrasound. **Nature Protocols**, v. 5, p. 607-616, 2010.

CORBET, J.P.; MIGNANI, G. Selected patented cross-coupling reaction technologies. **Chemical Reviews**, v. 106, p. 2651-2710, 2006.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, M.; **Substâncias carboniladas e seus derivados**, 1ª ed., Bookman: Porto Alegre/MG, 2003.

COURA, J.R.; FERREIRA, L.F.; RUBENS, J.; PEREIRA, N.C.; SILVA, J.R. Trypanosoma do “complexo cruzi” em reservatório silvestre no Estado da Guanabara. Estudo de sua patogenicidade. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 8, p. 125-133, 1966.

CUNHA, A.C.; FIGUEIREDO, J.M.; TRIBUTINO, J.; MIRANDA, A.L.; CASTRO, H. C.; ZINGALI, R.B.; FRAGA, C.A.; DE SOUZA, M.C.; FERREIRA, V.F.; BARREIRO, E. J. Antiplatelet properties of novel *N*-substituted-phenyl-1,2,3-triazole-4-acylhydrazone derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 2051-2059, 2003.

DEL NERY, E.; JULIANO, M.A.; LIMA, A.P.C.A.; SCHARFSTEIN, J.; JULIANO, L. Kininogenase activity by the major cysteinyl proteinase (cruzipain) from *Trypanosoma cruzi*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 25713-25718, 1997.

DEWAR, M.J.S.; ZOEBISCH, E.G.; HEALY, E.F.; STEWART, J.J.P. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. **Journal of the American Chemical Society**, v. 107, p. 3902-3909, 1985.

DEMORO, B.; ROSSI, M.; CARUSO, F.; LIEBOWITZ, D.; OLEA-AZAR, C.; KEMMERLING, U.; MAYA, J. D.; GUISET, H.; MORENO, V.; PIZZO, C.; MAHLER, G.; OTERO, L.; GAMBINO, D. Potential mechanism of the anti-trypanosomal activity of organoruthenium complexes with bioactive thiosemicarbazones. **Biological Trace Element Research**, v. 153, p. 371–381, 2013.

DIAS, J.C.P.; COURA, J.R. **Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral** [online]. Editora: FIOCRUZ, 1997, 486 p.

DIAS J. História natural da Doença de Chagas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 65, p. 359-366, 1995.

DIAS, J.C.P.; JR, A.N.R.; GONTIJO, E. D.; LUQUETTI, A.; SHIKANAI-YASUDA, A.; COURA, J.R.; TORRES, R.M.; MELO, J.R.C.; ALMEIDA, E.A.; JR, W.O.; SILVEIRA, A.C.; REZENDE, J.M.; PINTO, F.S.; FERREIRA, A.W.; RASSI, A.; FILHO, A.A.F.; SOUZA, A.S.; FILHO, D.C.; JANSEN, A.M.; ANDRADE, G.M.Q.; BRITTO, C.F.P.C.; CAMPOS, E.; ABAD-FRANCH, F.; SANTOS, S.E.; CHIARI, E.; HASSLOCHER-MORENO, A.M.; MOREIRA, E.F.; MARQUES, D.S.O.; SILVA, E.L.; MARIN-NETO, J.A.; GALVÃO, L.M.C.; XAVIER, S.S.; VALENTE, S.A.S.; CARVALHO, N.B.; CARDOSO, A.V.; SILVA, R.A.; COSTA, V.M.; VIVALDINI, S.M.; OLIVEIRA, S.M.; VALENTE, V.C.; LIMA, M.M.; ALVES, R.V. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 7-86, 2016.

DIAS, L.C.; DESSOY, M.A.; SILVA, J.J.N.; THIEMANN, O.H.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A.D. Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Química Nova**, v. 32, p. 2444-2457, 2009.

DIAZ, M.V., MIRANDA, M.R., CAMPOS-ESTRADA, C., REIGADA, C., MAYA, J.D., PEREIRA, C.A., LOPEZ-MUNOZ, R. Pentamidine exerts in vitro and in vivo anti *Trypanosoma cruzi* activity and inhibits the polyamine transport in *Trypanosoma cruzi*. **Acta Tropica**, v. 134, p. 1-9, 2014.

DICULESCU, VC; KUMBHAT, S; OLIVEIRA-BRETT, AM. Electrochemical behaviour of isatin at a glassy carbon electrode. **Analytical Chemical Acta**, v. 575, p. 190-197, 2006.

DIMROTH, O.; LETSCHE, E. Synthesen mit diazobenzolimid. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 35, p. 4041-4060, 1902 *apud* MELO, J. O. F.; DONNICI, C.L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M.C.B.V.; FERREIRA, M.L.G.; CUNHA, A.C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. **Química Nova**, v. 29, p. 569-579, 2006.

DIOGO, E.B.T.; DIAS, G.G.; RODRIGUES, B.L.; GUIMARÃES, T.T.; VALENÇA, W.O.; CAMARA, C.A.; OLIVEIRA, R.N.; SILVA, M.G.; FERREIRA, V.F.; PAIVA, Y.G.; GOULART, M.O.F.; MENNA-BARRETO, R.F.S.; CASTRO, S.L.; JÚNIOR, E.N.S. Synthesis and anti-*Trypanosoma cruzi* activity of naphthoquinone-containing triazoles: Electrochemical studies on the effects of the quinoidal moiety. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 6337-6348, 2013.

D'ISCHIA, M.; PALUMBO, A.; PROTA, G. Adrenalin oxidation revisited. New products beyond the adrenochrome stage. **Tetrahedron**, v. 44, p. 6441-6446, 1988.

dC-RUBIN; S.S.C.; SCHENKMAN, S. *Trypanosoma cruzi* transialidase as a multifunctional enzyme in Chagas' disease. **Cellular Microbiology**, v. 14, p. 1522-1530, 2012.

DU, X.; GUO, C.; HANSELL, E.; DOYLE, P.S.; CAFFREY, C.R.; HOLLER, T.P.; MCKERROW, J.H.; COHEN, F.E. Synthesis and structure-activity relationship study

of potent trypanocidal thio semicarbazone inhibitors of the trypanosomal cysteine protease cruzain. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2695-2707, 2002.

DURMAZ, M.; TATAROGLU, A.; YILMAZ, H.; SIRIT, A. Calixarene-derived chiral tertiary amine–thiourea organocatalyzed asymmetric Michael additions of acetyl acetone and dimethyl malonate to nitroolefins. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 27, p. 148-156, 2016.

ESPÍNDOLA, J.W.P.; CARDOSO, M.V.O.; FILHO, G.B.O.; SILVA, D.A.O.; MOREIRA, D.R.M.; BASTOS, T.M.; SIMONE, C.A.; SOARES, M.B.P.; VILLELA, F.S.; FERREIRA, R.S.; CASTRO, M.C.A.B.; PREREIRA, V.R.A.; MURTA, S.M.F.; JUNIOR, P.A.S.; ROMANHA, A.J.; LEITE, A.C.L. Synthesis and structure-activity relationship study of a new series of antiparasitic aryloxyl thiosemicarbazones inhibiting *Trypanosoma cruzi* cruzain. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 101, p. 818-835, 2015.

FAUNDEZ, M., PINO, L., LETELIER, P., ORTIZ, C., LOPEZ, R., SEGUEL, C., FERREIRA, J., PAVANI, M., MORELLO, A., MAYA, J.D. Buthionine sulfoximine increases the toxicity of nifurtimox and benznidazole to *Trypanosoma cruzi*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, p. 126-130, 2005.

FELDMAN, A.K.; COLASSON, B.; SHARPLESS, K.B.; FOKIN, V.V. The allylic azide rearrangement: achieving selectivity. **Journal of the American Chemical Society** v. 127, p. 13444, 2005.

FERNICOLA, S.; TORQUATI, I.; PAIARDINI, A.; GIARDINA, G.; RAMPIONI, G.; MESSINA, M.; LEONI, L.; BELLO, F.D.; PETRELLI, R.; RINALDO, S.;

FERNÁNDEZ, M.; ARCE, E.R.; SARNIGUET, C.; MORAIS, T.S.; TOMAZ, A.I.; AZAR, C.O.; FIGUEROA, R.; MAYA, J.D.; MEDEIROS, A.; COMINI, M.; GARCIA, M.H.; OTERO, L.; GAMBINO, D. Novel ruthenium(II) cyclopentadienyl thiosemicarbazone compounds with antiproliferative activity on pathogenic trypanosomatid parasites. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 153, p. 306–314, 2015.

FERNANDES, A.B; NEIRA, I; FERREIRA, A.T; MORTARA, R.A. Cell invasion by *Trypanosoma cruzi* amastigotes of distinct infectivities: studies on signaling pathways. **Parasitology Research**, v. 100, p. 59–68, 2006.

FERNANDES, IPG; SILVA, BV; SILVA, BNM; PINTO, AC; OLIVEIRA, SCB; OLIVEIRA-BRETT, AM. Isatin halogen-derivatives redox behaviour. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 780, p. 75-83, 2016.

FERNANDES, O., STURM, N.R., DERRE, R., CAMPBELL, D.A. The mini-exon: genetic marker for zymodeme III. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 95, p. 129-133, 1998.

FINKIELSZTEIN, L.M. Thiosemicarbazones derived from 1-indanones as new anti-*Trypanosoma cruzi* agentes. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 6818-6826, 2011.

FRANÇA, R.R.F.; CARVALHO, A.S.; BRANCO, F.S.C.; PINTO, A.C.; BOECHAT, N. Inibidores potentes da enzima esterol 14 α -desmetilase contra *Trypanosoma cruzi*. **Revista Virtual de Química**, v. 6, p. 1483-1516, 2014.

FREITAS, L.B.O.; RUELA, F.A.; PEREIRA, G.R.; ALVES, R.B.; FREITAS, R.P.; SANTOS, L.J. A reação click na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, p. 1791-1804, 2011.

FUJII, N; MALLARI, J.P; HANSELL, E.J.; MACKEY, Z.; DOYLE, P.; ZHOU, Y. M.; GUT, J.; ROSENTHAL, P.J.; MCKERROW, J.H.; GUY, R.K. Discovery of potente thiosemicarbazone inhibitors of rhodesain and cruzain. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 121–123, 2005.

GALEMA, S.A. Microwave chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 26, p. 233-238, 1997.

GARDEN, S.J.; TORRES, J.C.; MELO, S.C.S; LIMA, A.S.; PINTO, A.C.; LIMA, E.L.S. Aromatic iodination in aqueous solution. A new lease of life for aqueous potassium dichloroiodate. **Tetrahedron Letters**, v. 42, p. 2089-2092, 2001.

GEA S., GUIÑAZU, N.; PELLEGRINI, A.; CARRERA, E.A.S.; GIORDANENGO, L.; CANO, R.; AOKI, M.P. Cruzipain, a major *Trypanosoma cruzi* cysteine protease in the host-parasite interplay. **Immunología**, v. 25, p. 225-238, 2006.

GHOLAP AR, VENKATESAN K, PASRICHA R, DANIEL T, LAHOTI RJ, SRINIVASAN KV. Copper- and ligand-free sonogashira reaction catalyzed by Pd(0) nanoparticles at ambient conditions under ultrasound irradiation. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 70, p. 4869–4872, 2005.

GILLMOR, S.A.; CRAIK, C.S.; FLETTERICK, R.J. Structural determinants of specificity in the cysteine protease cruzain. **Protein Science**, v. 6, p. 1603-1611, 1997.

GIORNO, T.B.S.; SILVA, B.V.; PINTO, A.C.; FERNANDES, P.D. Antinociceptive effect and mechanism of action of isatin, *N*-methyl isatin and oxopropyl isatin in mice. **Life Sciences**, v. 151, p.189-198, 2016.

GRASHEY, R.; BAUMANN, M.; BAUER, H.; **Journal für praktische Chemie / Chemiker-Zeitung**, v. 96, p. 225, 1972.

GREENBAUM, DC; MACKEY, Z; HANSELL, E; DOYLE, P; GUT, J; CAFREEY, CR; LEHRMAN, J; ROSENTHAL, PJ; MCKERROW, JH; CHIBALE, K. Synthesis and structure–activity relationships of parasitocidal thiosemicarbazone cysteine protease inhibitors against *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei* and *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 3212-3219, 2004.

GRENNE, T. WUTS, P. **The Role of Protective Groups in Organic Synthesis**. 3th ed. John Wiley & Sons, Inc. 1999, 1 - 16p.

GONG, Y.; HE, W. Direct Synthesis of unprotected 4-aryl phenylalanines via the Suzuki reaction under microwave irradiation. **Organic Letters**, v. 22, p. 3803-3805, 2002.

GONZALEZ, ER; STRADIOTTO, NR. Métodos de determinação de parâmetros cinéticos de processos eletródicos. **Química Nova**, v. 5, p. 38-42, 1982.

GUO, Y. CHEN, F. TLC-UV-spectrophotometric and TLC-scanning determination of isatin in leaf of *Isatis*. **Chemical Abstracts**, v. 17, p. 8-11, 1986.

HALL B.F.; WEBSTER P.; MA K.A.; JOINER K.A. & ANDREWS N.W. Desialylation of lysosomal membrane glycoproteins by *Trypanosoma cruzi*: a role for surface neuraminidase facilitating parasite entry into the host cell cytoplasm. **The Journal of Experimental Medicine** v. 176, p. 313-325, 1992.

HANG, H. C.; BERTOZZI, C. R. Chemoselective Approaches to Glycoprotein Assembly. **Accounts of Chemical Research**, v. 34, p. 727-736, 2001.

HARAGUCHI, S.K.; SILVA, A.A.; VIDOTTI, G.J.; SANTOS, P.V.; GARCIA, F.P.; PEDROSO, R.B.; NAKAMURA, C.V.; OLIVEIRA, C.M.A.; SILVA, C.C. Antitrypanosomal activity of novel benzaldehyde-thiosemicarbazone derivatives from kaurenoic acid. **Molecules**, v. 16, p. 1166-1180, 2011.

HARTH G.; ANDREWS N.; MILLS A.A.; ENGEL J.C.; SMITH R. & MCKERROW J.H. Peptide-fluoromethyl ketones arrest intracellular replication and intracellular transmission of *Trypanosoma cruzi*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 58, p. 17-24, 1993.

HEBY, O.; PERSSON, L.; RENTALA, M. Targeting the polyamine biosynthetic enzymes: a promising approach to therapy of African sleeping sickness, Chagas' disease, and leishmaniasis. **Amino Acids**, v. 33, p. 359-366, 2007.

HECK, R.F.; NOLLEY, J.P. Palladium-catalyzed vinylic hydrogen substitution reactions with aryl, benzyl, and styryl halides. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 37, p. 2320-2322, 1972.

HEIN, J.E.; FOKIN, V.V. Copper-catalyzed dipolar cycloaddition and beyond: new reactivity of copper(i) acetylides. **Chemical Society Reviews**, v. 39, p. 1302-1315, 2010.

HIGUCHI M.L. Doença de Chagas. Importância do parasita na patogênese da doença cardíaca crônica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 64, p. 251-254, 1995.

HIMO, F.; LOVELL, T.; HILGRAF, R.; ROSTOVTSEV, V.V.; NOODLEMAN, L.; SHARPLESS, B.; FOKIN, V.V. Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, p. 210-216, 2005.

HOFFMAN-LA ROCHE, **Production method for producing *n*-benzyl-2-(2-nitro-1*H*-imidazol-1-yl)acetamide (WO 2015076760 A1)**. 1966, Lon. Pat. L138,529.

HUANG, L.; BRINEN, L.S.; ELLMAN, J.A. Crystal structures of reversible ketone-based inhibitors of the cysteine protease cruzain. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 21-29, 2003.

HUISGEN, R.; Kinetics and mechanisms of 1,3-dipolar cycloadditions. **Angewandte Chemie International**, v. 2, p. 633-645, 1963.

HUISGEN, R. On the Mechanism of 1,3-Dipolar Cycloadditions. A Reply. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 33, p. 2291-2297, 1968.

JANNIN, J.; SALVATELLA, R. Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas em las Américas/quantitative estimation of Chagas disease in the Americas, organización panamericana de La salud, OPS/HDM/CD/425-06, 28p, 2006.

JORGE, TCA; CASTRO, SL. **Doença de chagas: manual para experimentação animal [online]** Antropologia e Saúde collection, Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2000. 368 p.

JOSHI, K.C.; JAIN, R.; DANDIA, A.; SHARMA, K.; BAWEJA, S. Chem. Ind. (London) 1989, 569.

JOUAD, E.M.; RIOU, A.; ALLAIN, M.; KHAN, M.A.; BOUET, G.M. Synthesis, structural and spectral studies of 5-methyl 2-furaldehyde thiosemicarbazone and its Co, Ni, Cu and Cd complexes. **Polyhedron**, v. 20, p. 67-74, 2001.

JÚNIOR, E.N.S.; MENNA-BARRETO, R.F.S.; PINTO, M.C.F.R.; SILVA, R.S.F.; TEIXEIRA, D.V.; SOUZA, M.C.B.V.; SIMONE, C.A.; CASTRO, S.L.; FERREIRA, V.F.; PINTO, A.V. Naphthoquinoidal [1,2,3]-triazole, a new structural moiety active against *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 1774-1780, 2008.

KAISER, C.R. RMN 2D: detecção inversa e gradiente de campo na determinação estrutural de compostos orgânicos **Química Nova**, v. 23, p. 231-236, 2000.

KAPPE, C.O. Microwave dielectric heating in synthetic organic chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 37, p. 1127-1139, 2008.

KEARNEY, T.; HARRIS, P.A.; JACKSON, A.; JOULE, J.A. Synthesis of isatin 3-oximes from 2-nitroacetanilides. **Synthesis**, v. 1992, p. 769-772, 1992;

KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. **Angewandte Chemie International**, v. 11, p. 2004-2006, 2001.

KONTOYIANNI, M.; MCCLELLAN, L.M.; SOKOL, G.S. Evaluation of docking performance: comparative data on docking algorithms. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 558-565, 2004.

LARSEN, A.A.; MOORE, C.; SPRAGUE, J.; CLOKE, B.; MOSS, J.; HOPPE, J.O. **Journal of the American Chemical Society**, v. 78, p. 3210-3216, 1956.

LENARDÃO, E.J.; FREITAG, R.A.; DABDOUB, M.J.; BATISTA, A.C.F.; SILVEIRA, C.C. “Green Chemistry” – os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, p. 123-129, 2003.

LEY, V.; ROBBINS, E.S.; NUSSENZWEIG, V.; ANDREWS, N.W. The exit of *Trypanosoma cruzi* from the phagosome is inhibited by raising of pH of acidic compartments. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 171, p. 401-413, 1990.

LIMA, L.M.; BARREIRO, E.J. Bioisosterism: a useful strategy for molecular modification and drug design. **Current medicinal chemistry**, v. 12, p. 23-49, 2005.

LIMAL, D.; GRAND, V.; VANDERESSE, R.; MARRAUD, M. The semicarbazone peptidomimetic group in imino aza peptides. **Tetrahedron Letters**, v. 35, p. 3711-3714, 1994.

LIPEEVA, A.V.; POKROVSKY, M.A.; BAEV, D.S.; SHAKIROV, M.M.; BAGRYANSKAYA, I.Y.; TOLSTIKOVA, T.G.; POKROVSKY, A.G.; SHULTS, E.E. Synthesis of 1*H*-1,2,3-triazole linked aryl(arylamidomethyl) – dihydrofurocoumarin hybrids and analysis of their cytotoxicity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 100, p. 119-128, 2015.

LOKESH, S.V.; SATPATI, A.K.; SHERIGARA, B.S. Electrochemical Behavior of 1,2,4-triazole and benzotriazole at glassy carbon electrode in acidic media. **The Open Electrochemistry Journal**, v. 2, p. 15-21, 2010.

LOWELL, J.E.; EARL, C.D. Leveraging biotech's drug discovery expertise for neglected diseases. **Biotechnology**, v. 27, p. 323-329, 2009.

MAITI, R.; RAGHAVENDRA, M. Clinical trials in India. **Pharmacological Research**, v. 56, p. 1–10, 2007.

MANTA, B., COMINI, M., MEDEIROS, A., HUGO, M., TRUJILLO, M., RADI, R. Trypanothione: a unique bis-glutathionyl derivative in trypanosomatids. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 5, p. 3199-3216, 2013.

MAREDDY, J.; NALLAPATI, S.B.; ANIREDDY, J.; DEVI, Y.P.; MANGAMOORI, L.N.; KAPAVARAPU, R.; PAL, S. Synthesis and biological evaluation of nimesulide based new class of triazole derivatives as potential PDE4B inhibitors against cancer cells. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, p. 6721-6727, 2013.

MARTINS-MELO, F.R.; RAMOS, A.N.J.; ALENCAR, C.H.; HEUKELBACH, J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analysis, **Acta Tropical**, v. 130, p. 167-174, 2014.

MARTÍN, C.M.-S.; APT, W.; ZULANTAY, I. Real-time PCR strategy for the identification of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units directly in chronically infected human blood. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 49, p. 300-308, 2017.

MASON, T.J. Some neglected or rejected paths in sonochemistry: a very personal view. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 25, p. 89, 2015.

MASON, R.P.; HOLTZMAN, J.L. The role of catalytic superoxide formation in the O₂ inhibition of nitroreductase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 67, p. 1267-1274, 1975.

MATÉS, J.M.; SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, F.M. Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 32, p. 157-170, 2000.

MAYA, J.D.; BOLLO, S.; NUÑEZ-VERGARA, L.J.; SQUELLA, J.A.; REPETTO, Y.; MORELLO, A.; PÉRIÉ, J.; CHAUVIÈRE, G. *Trypanosoma cruzi*: effect and mode of action of nitroimidazole and nitrofurán derivatives. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, p. 999-1006, 2003.

MAYA, J.D.; CASSELS, B. K.; ITURRIAGA-VÁSQUEZ, P.; FERREIRA, J.; FAÚDEZ, M.; GALANTI, N.; FERREIRA, A.; MORELLO, A. Mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular and Integrative Physiology**, v. 146, p. 601-620, 2007.

MEDAL, M.; TØRNOE, C. W. *Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition*. **Chemical Reviews**, v. 108, p. 2952-3015, 2008.

MEIRELLES M.N.L.; JULIANO L.; CARMONA E.; SILVA S.G.; COSTA E.M.; MURTA A.C.M.; SCHARFSTEIN J. Inhibitors of the major cysteinyl proteinase (GP57/51) impair host cell invasion and arrest intracellular development of *Trypanosoma cruzi* in vitro. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v.52, p. 175-184, 1992.

MÉNDEZ-LUCIO, O.; ROMO-MANCILLAS, A.; MEDINA-FRANCO, J.L.; CASTILHO, R. Computacional study on the inhibition mechanism of cruzain by nitrile-containing molecules. **Journal of Molecular Graphics Modelling**, v. 35, p. 28-35, 2012.

MEYER, H.; DE OLIVEIRA, M.M. Cultivation of *Trypanosoma cruzi* in tissue culture: a four year study. **Parasitology**, v. 31, p. 91-94, 1948.

MELNIKOV, V.G.; VELASCO, F.F.; GOMÉZ, F.E.; RODRIGUÉZ, F.G.; DOBROVINSKAYA, O.R. Pathologic changes in lungs caused by Mexican isolates of *Trypanosoma cruzi* in the acute phase of infection in mice. **The American Journal of Tropical Medicine Hygiene**, v. 73, p. 301-306, 2005.

MELO, J.O. F.; DONNICI, C.L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V.F.; SOUZA, M.C.B. V.; FERREIRA, M.L.G.; CUNHA, A.C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. **Química Nova**, v. 29, p. 569-579, 2006.

MICHAEL, A. Ueber die einwirkung von diazobenzolimid auf acetylcendicarbonsauremethylester. **Journal für Praktische Chemie**, v. 48, p. 94-95, 1893.

MIYAURA, N.; YANAGI, T.; SUZUKI, A. The palladium-catalyzed cross-coupling reaction of phenylboronic acid with haloarenes in the presence of bases. **Synthetic Communications**, v. 11, p. 513-519, 1981.

MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. **Chemical Reviews**, v. 95, p. 2457-2483, 1995.

MONTES, G.C.; SILVA, B.N.M.; RESENDE, B.; SUDO, R.T.; FERREIRA, V.F.; SILVA, F.C.; PINTO, A.C.; SILVA, B.V.; ZAPATA-SUDO, G. *The Hypnotic, Anxiolytic, and Antinociceptive Profile of a Novel μ -Opioid Agonist*. **Molecules**, v. 16, p. 22, 2017.

NICOLAOU, KC; BULGER, PG; SARLAH, D. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions in total synthesis. **Angewandte Chemie International**, v. 44, p. 4442-4489, 2005.

MONCAYO, A., ORTIZ YANINE, M.I. An update on Chagas disease (human American trypanosomiasis). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 100, p. 663-77, 2006.

MORENO-RODRÍGUEZ, A.; SALAZAR-SCHETTINO, P.M.; BAUTISTA, J.L.; HERNÁNDEZ-LUIS, F.; TORRENS, H.; GUEVARA-GÓMEZ, Y.; PINA-CANSECO, S.; TORRES, M.B.; CABRERA-BRAVO, M.; MARTINEZ, C.M.; PÉREZ-CAMPOS, E. In vitro antiparasitic activity of new thiosemicarbazones in strains of *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 87, p. 23-29, 2014.

MORENO, S. N.; DOCAMPO, R.; MASON, R. P.; LEÓN, W.; STOPPANI, A. O. Different behaviors of benznidazole as free radical generator with mammalian and *Trypanosoma cruzi* microsomal preparations. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 218, p. 585-591, 1982.

MORILLO, C.A., MARIN-NETO, J.A., AVEZUM, A., SOSA-ESTANI, S., RASSI JR., A., ROSAS, F., VILLENA, E., QUIROZ, R., BONILLA, R., BRITTO, C., GUHL, F., VELAZQUEZ, E., BONILLA, L., MEEKS, B., RAO-MELACINI, P., POGUE, J., MATTOS, A., LAZDINS, J., RASSI, A., CONNOLLY, S.J., YUSUF, S. Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas' cardiomyopathy. **The New England Journal of Medicine**, v. 373, p. 1295-1306, 2015.

MORRIS, G.M.; HUEY, R.; LINDSTROM, W.; SANNER, M.F.; BELEW, R.K.; GOODSELL, D.S.; OLSON, A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, p. 2785-2791, 2009.

MORTARA, R.A. *Typanosoma cruzi*: amastigotes and trypomastigotes interact with different structures on the surface of HeLa cells. **Experimental Parasitology**, v. 73, p. 1-14, 1991.

MOLANDER, G. A.; HAM, J. *Synthesis of functionalized organotrifluoroborates via the 1,3-dipolar cycloaddition of azides*. **Organic Letters**, v. 8, p. 2767-2770, 2006.

NAGASENKAR, A.; GUNTUKU, L.; GUGGILAPU, S.D.; BAI, D.; SRINIVASULU, G.; NAIDU, V.G.M.; BATHINI, N.B. Synthesis and apoptosis inducing studies of triazole linked 3-benzylidene isatin derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 124, p. 782-793, 2016.

NEGISHI, E-I.; HU, Q.; HUANG, Z.; QIAN, M.; WANG, G. Palladium-catalyzed alkenylation by the Negishi coupling. **Aldrichimica Acta**, v. 38, p. 71-87, 2005.

NEITZ, R.J.; BRYANT, C.; CHEN, S.; GUT, J.; CASELLI, E.H.; PONCE, S.; CHOWDHURY, S.; XU, H.; ARKIN, M.R.; ELLMAN, J.A. RENSLO, A.R. Tetrafluorophenoxymethyl ketone cruzain inhibitors with improved pharmacokinetic properties as therapeutic leads for Chagas' disease. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, p. 4834-4837, 2015.

NERES, J.; BUSCHIAZZO, A.; ALZARI, P.M.; WALSH, L.; DOUGLAS, K.T. Continuous fluorimetric assay for high-throughput screening of inhibitors of *trans*-sialidase from *Trypanosoma cruzi*. **Analytical Biochemistry**, v. 357, p. 302-304, 2006.

NOBRE, SM. **Reações de acoplamento C-C: desenvolvimento de sistemas catalíticos, estudo do mecanismo e aplicação na síntese do *trans*-resveratrol**. 132f. (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2008.

OLIVIERI B.P., MOLINA J.T., DE CASTRO S.L., PEREIRA M.C., CALVET C.M., URBINA J.A.; ARAÚJO-JORGE, T.C. 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. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 36, p. 79-83, 2010.

OLIVEIRA, S.C.B.; FERNANDES, I.P.G.; SILVA, B.V.; PINTO, A.C.; OLIVEIRA-BRETT, A.M. Isatin nitro-derivatives redox behavior. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 689, p. 207-215, 2013.

OTERO, L.; AGUIRRE, G.; BOIANI, L.; DENICOLA, A.; RIGOL, C.; OLEA-AZAR, C.; MAYA, J.D.; MORELLO, A.; GONZÁLEZ, M.; GAMBINO, D.; CERECETTO, H. Nitrofurylsemicarbazone rhenium and ruthenium complexes as anti-trypanosomal agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, p. 1231-1239, 2006.

OTERO, L.; NOBLIA, P.; GAMBINO, D.; CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M.; ELLENA, J.A.; PIRO, O.E. Synthesis and characterization of new ruthenium complexes with active ligands against Chagas' disease. **Inorganica Chimica Acta**, v. 344, p. 85-94, 2003.

PACHECO, W.F.; SEMAAN, F.S.; ALMEIDA, V.G.K.; RITTA, A.G.S.L.; AUCÉLIO, R.Q. Voltamétricas: Uma breve revisão sobre os conceitos, **Revista Virtual Química**, v. 5, p. 516-537, 2013.

PALL, M.; SHARMA, N.K.; PRIYANKA, K.K.J. Synthetic and biological multiplicity of isatin: A review. **Journal of Advanced Scientific Research**, v. 2, p. 35-44, 2011.

PANDEYA, S. N.; SRIRAM, D.; NATH, G.; DECLERCQ, E. Synthesis, antibacterial, antifungal and anti-HIV activities of Schiff and Mannich bases derived from isatin derivatives and *N*-[4-(4'-chlorophenyl)thiazol-2-yl] thiosemicarbazide. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 9, p. 25-31, 1999.

PAVIA, DL; LAMPMAN, GM; KRIZ, GS; VYVYAN, JR. **Introdução à espectroscopia**, 4ª ed. norte-americana, 2015, 691 p.

PECHMANN, H.V.; WESHARG, K. "Dinitrosoacetonylhydrazon CH(NO₂).C(N₂HC₆H₅).CH(NO₂)". **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 21, p. 2992-2996, 1888.

PEREIRA, M.E; ZHANG, K; GONG, Y; HERRERA, E.M; MING, M. Invasive phenotype of *Trypanosoma cruzi* restricted to a population expressing trans sialidase. **Infection and Immunity**, v. 64, p. 3884-3892, 1996.

PERVEZ, H.; KHAN, N.; ZAIB, S.; YAQUB, M.; NASEER, M.M.; TAHIR, M.N.; IQBAL, J. Synthesis, X-ray molecular structure, biological evaluation and molecular docking studies some *N*⁴-benzyl substituted 5-nitroisatin-3-thiosemicarbazones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 1022-1029, 2017.

PIRES, C.L.; RODRIGUES, S.D.; BRISTOT, D.; GAETA, H.H.; TOYAMA, D.O.; FARIAS, W.R.L.; TOYAMA, M.H. Evaluation of macroalgae sulfated polysaccharides on the *Leishmania (L.) amazonensis* promastigote. **Marine Drugs**, v. 11, p. 934-943, 2013.

PIZZO, C.; FARAL-TELLO, P.; SALINAS, G.; FLÓ, M.; ROBELLO, C.; WIPF, P.; MAHLER, S.G. Selenosemicarbazones as potent cruzipain inhibitors and their antiparasitic properties against *Trypanosoma cruzi*. **Medicinal Chemical Communications**, v. 3, p. 362-368, 2012.

PORCAL, W.; HERNÁNDEZ, P.; BOIANI, M.; FERREIRA, A.; CHIDICHIMO, A.; CAZZULO, J.J.; OLEA-AZAR, C.; GONZÁLEZ; CERECETTO, H. New trypanocidal hybrid compounds from the association of hydrazone moieties and benzofurozan heterocycle. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 6995-7004, 2008.

PORCÚ, E; SIPOS, A; BASSO, G; HAMEL, E; BAI, R; STEMPFER, V; UDVERDV, A; BÉNVEI, ACs; SCHMIDHAMMER, H; ANTUS, S; VIOLA, G. Novel 9'-substituted-noscapines: synthesis with Suzuki cross-coupling, structure, elucidation and biological evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 84, p. 476-490, 2014.

POKHREL, N.; VABBINA, P.K.; PALA, N. Sonochemistry: science and engineering. **Ultrasonics Sonochemistry** v. 29, p. 104, 2016.

QUENELLE, D.C.; KEITH, K.A.; KERN, E.R. In vitro and in vivo evaluation of isatin- β -thiosemicarbazone and marboran against vaccinia and cowpox virus infections **Antiviral Research**, v. 71, p. 24-30, 2006.

RAMSEY, J.M.; ELIZONDO-CANO, M.; SANCHEZ-GONZÁLEZ, G.; PEÑA-NIEVES, A.; FIGUEROA-LARA, A. Opportunity Cost for Early Treatment of Chagas Disease in Mexico. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.8, e2776, 2014.

REQUENA-MÉNDEZ, A.; ALDASORO, E.; LAZZARI, E.; SICURI, E.; BROWN, M.; MOORE, D.A.; GASCON, J.; MUÑOZ, J. Prevalence of Chagas disease in latin-american migrants living in europe: a systematic review and meta-analysis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, e0003540, 2015.

REY L. **Bases da Parasitologia Médica**. 3ª edição, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro - Brasil, 1991, 136p.

RIBANI, M. BOTTOLI, C.B.G. COLLINS, C.H. JARDIM, I.C.S.F. MELO, L.F.C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, N.M. **Argilas brasileiras e transformações químicas da isatina (Cetalizações)**. 210f. Dissertação (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

RIBEIRO, N.M.; PINTO, A.C.; VIOLANTE, F.A.; DIAS, M.O. A fast, efficient and eco-friendly procedure to prepare isatin ketals. **Catalysis Communications**, v. 8, p. 2130-2136, 2007.

ROCHA, G.B.; FREIRE, R.O.; SIMAS, J.J.P.; STEWART, A.M. RM1: A reparameterization of AM1 for H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br and I. **Journal of Computational Chemistry**, v. 27, p. 1101-1111, 2006.

RODRIGO ARANCIBIA; A. HUGO KLAHN; MICHEL LAPIER; JUAN D. MAYA; ANDRÉS IBAÑEZ; MARIA TERESA GARLAND; SÉVERINE CARRÈRE-KREMER; LAURENT KREMER; CHRISTOPHE BIOT F. Synthesis, characterization and in vitro anti-Trypanosoma cruzi and anti-*Mycobacterium tuberculosis* evaluations of cyrhetrenyl and ferrocenyl thiosemicarbazones **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 755, p. 1-6, 2014.

ROMANHA, A.J.; CASTRO, S.L.; SOEIRO, M.D.E.N.; LANNES-VIEIRA, J.; ROBEIRO, I.; TALVANI, A.; BOURDIN, B.; BLUM, B.; OLIVEIRA, B.; ZANI, C.; SPADAFORA, C.; CHIARI, 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.D.E.A. In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 233-238, 2010.

ROMEIRO, G. A.; PEREIRA, L. O. R.; SOUZA, M. C. B. V.; FERREIRA, V. F.; CUNHA, A. C. A new and efficient procedure for preparing 1,2,3-triazoles. **Tetrahedron Letters**, v. 38, p. 5103-5106, 1997.

ROSA, GR. **Ciclopaladato do tipo pinça nitrogênio, carbono e fósforo (NCP): aplicações nas reações de Suzuki e Heck.** 106f. (Tese de doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

ROSTOVTSEV, V.V.; GREEN, L.G.; FOKIN, V.V.; SHARPLESS, K.B. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective ligation of azides and terminal alkynes. **Angewandte Chemie International**, v. 41, p. 2596-2599, 2002.

ROSS N.A.; MACGREGOR R.R.; BARTSCH R.A. Synthesis of β -lactams and β -aminoesters via high intensity ultrasound-promoted Reformatsky reactions. **Tetrahedron**, v. 60, p. 2035-2041, 2004.

SANSEVERINO, A.M. Microondas em síntese orgânica. **Química Nova**, v. 25, p. 660-667, 2002.

SANTOS, D.; PARAJÓN-COSTA, B.; ROSSI, M.; CARUSO, F.; BENÍTEZ, D.; VARELA, J.; CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M.; GÓMEZ, N.; CAPUTTO, M. E.; MOGLIONI, A. G.; MOLTRASIO, G. Y.; FINKIELSZTEIN, L. M.; GAMBINO, D. Activity on *Trypanosoma cruzi*, erythrocytes lysis and biologically relevant physicochemical properties of Pd(II) and Pt(II) complexes of thiosemicarbazones derived from 1-indanones. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 117, p. 270–276, 2012.

SARNIGUET, C.; TOLOZA, J.; CIPRIANI, M.; LAPIER, M.; VIEITES, M.; TOLEDANO-MAGAÑA, Y.; GARCÍA-RAMOS, J. C.; RUIZ-AZUARA, L.; MORENO, V.; MAYA, J. D.; AZAR, C. O.; GAMBINO, D.; OTERO, L. Water-soluble ruthenium complexes bearing activity against protozoan parasites. **Biological Trace Element Research**, v. 159, p. 379–392, 2014.

SCALESE, G.; BENÍTEZ, J.; ROSTÁN, S.; CORREIA, I.; BRADFORD, L.; VIEITES, M.; MININI, L.; MERLINO, A.; COITIÑO, E.L.; BIRRIEL, E.; VARELA, J.; CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M.; PESSOA, J.C.; GAMBINO, D. Expanding the family of heteroleptic oxidovanadium(IV) compounds with salicylaldehyde semicarbazones and polypyridyl ligands showing anti-*Trypanosoma cruzi* activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 147, p. 116-125, 2015.

SCHENKMAN S.; EICHINGER D.; PEREIRA M.E.A.; NUSSENZWEIG, V. Structural and functional properties of *Trypanosoma cruzi* transialidase. **Annual Review of Microbiology** v. 48, p. 499-523, 1994.

SCHESCHTER, I.; BERGER, A. On the side of the active site in proteases. I. Papain. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 27, p. 157-162, 1967.

SCHMUNIS, G.A.; YADON, Z.E. Chagas disease: A Latin American health problem becoming a world health problem. **Acta Tropica**, v. 115, p. 14-21, 2010.

SHAHA, D.O.; CHANGA, C.-D.; CHENGA, K.Y.; SALBILLAA, V.A.; ADYA, N.; MARCHLEWICZA, B.A.; KIRCHHOFF, L.V. Comparison of the analytic sensitivities of a recombinant immunoblot assay and the radioimmune precipitation assay for the

detection of antibodies to *Trypanosoma cruzi* in patients with Chagas disease. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 67, p. 402–405, 2010.

SHMIDT, M.S.; REVERDITO, A.M.; KREMENCHUZKY, L.; PERILLO, I.S.; BLANCO, M.M. Simple and efficient microwave assisted *N*-alkylation of isatin. **Molecules**, v. 13, p. 831-840, 2008.

SILVA, R.B.; TORRES, J.C.; GARDEN, S.J.; VIOLANTE, F.A.; REZENDE, M.J.C; SILVA, B.V.; PINTO, A.C. Do isolamento à síntese da convolutamidina A. **Quim. Nova**, v. 31, p. 924-929, 2008.

SILVA, B.N.M.; BASTOS, R.S.; SILVA, B.V.; PINTO, A.P. Síntese de 5-nitro-isatina e 5-cloro-isatina a partir da isonitrosoacetanilida. **Química Nova**, v. 33, p. 2279-2282, 2010.

SILVA, B.N.M.; SILVA, B.V.; SILVA, F.C.; GONZAGA, D.T.G.; FERREIRA, V.F.; PINTO, A.C. Synthesis of novel isatin-type 5'-(4-alkyl/aryl-1*H*-1,2,3-triazoles) via 1,3-dipolar cycloaddition reactions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 179-183, 2013.

SILVA, B.N.M.; PINTO, A.C.; SILVA, F.C.; FERREIRA, V.F.; SILVA, B.V.; Ultrasound-Assisted Synthesis of Isatin-Type 5'-(4-Alkyl/Aryl-1*H*-1,2,3-triazoles) via 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 2378-2382, 2016.

SILVA, B.V.; SILVA, B.N.M. Thio- and semicarbazones: Hope in the search for treatment of Leishmaniasis and Chagas disease. **Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 1-17, 2017.

SILVA, B.N.M. **Obtenção e avaliação sedativo-hipnótico de novos derivados 5'-(4-alkyl/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) via reação de cicloadição 1,3-dipolar**. 194f. (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

SILVA, J.F.M.; GARDEN, S.J.; PINTO, A.C. The Chemistry of Isatins: a Review from 1975 to 1999. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 273-324, 2001.

SILVA, B.V. Isatin, a versatile molecule: studies in Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 707-720, 2013.

SILVA, B.V.; RIBEIRO, N.M.; PINTO, A.C.; VARGAS, M.D.; DIAS, L.C. Synthesis of ferrocenyl oxindole compounds with potential anticancer activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, p. 1244-1435, 2008.

SILVA, M.N.; FERREIRA, V.F.; SOUZA, M.C.B.V. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados. **Química Nova**, v. 26, p. 407-416, 2003.

SILVA, M.F.C.G. **Voltametria cíclica: aplicações ao estudo de mecanismos de reacções induzidas por transferência electrónica.** Boletim da Sociedade Portuguesa de Química, Nº 70, 1998.

SILVA, D.L.; FERNANDES, S.A.; SABINO, A.A.; FÁTIMA, A. *p*-Sulfonic acid calixarenes as efficient and reusable organocatalysts for the synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1*H*)-ones/-thiones. **Tetrahedron Letters**, v. 52, p. 6328-6330, 2011.

SINGH, N.; KUMAR, M.; SINGH, R.K. Leishmaniasis: current status of available drugs and new potential drug targets. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 5, p. 485-9710, 2012.

SINGH, G. S.; DESTA, Z. Y. Isatins as privileged molecules in design and synthesis of spiro-fused cyclic frameworks. **Chemical Reviews**, v. 112, p. 6104-6155, 2012.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Princípios de Análise Instrumental**, 5ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2006, 836p.

SONOGASHIRA, K.; TOHDA, Y.; HAGIHARA, N. A convenient synthesis of acetylenes: catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines. **Tetrahedron Letters**, v. 50, 4467-4470, 1975.

SOUTO-PADRÓN T.; CAMPETELLA O.E.; CAZZULO J.J.; DE SOUZA W. Cysteine proteinase in *Trypanosoma cruzi*: immunocytochemical localization and involvement in parasite-host cell interaction. **Journal of Cell Science**, v. 96, p. 485-490, 1990.

SOUZA, H.M. Quimioprofilaxia da Doença de Chagas transfusional: Realidade atual. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 22, p. 1-3, 1989.

SREEDHAR B, SURENDRA REDDY P. Sonochemical synthesis of 1,4- disubstituted 1,2,3-triazoles in aqueous medium. **Synthetic Communications**, v. 37, p. 805–812, 2007.

SRIDHAR, S.K.; SARAVANAN, M.; RAMESH, A. Synthesis and antibacterial screening of hydrazones, Schiff and Mannich bases of isatin derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, p. 615-625, 2001.

STILLE, J.K. The palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organotin reagents with organic electrophiles [new synthetic methods (58)]. **Angewandte Chemie International**, v. 25, p. 508–524, 1986.

SUN, S.; SCHILLER, J.H. Angiogenesis inhibitors in the treatment of lung cancer. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 62, p. 93-104, 2007.

SUZUKI, A.J. Recent advances in the cross-coupling reactions of organoboron derivatives with organic electrophiles, 1995–1998. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 576, p. 147-168, 1999.

TANOWITZ H.B.; BURNS E.R.; SHINA A.K.; KHAN N.M.; MORRIS A.S.; FACTOR S.M.; HATCHER V.B.; BILEZIKIAN J.P.; BAUM S.G. & ITTNER M. Enhanced platelet adherence and aggregation in Chagas' disease: a potential pathogenic mechanism to cardiopathy. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v.43, p. 274-281, 1990.

TARASCONI, P.; CAPACCHI, S.; PELOSI, G.; CORNIA, M.; ALBERTINI, R.; BONATI, A.; DALL'AGLIO, P.P.; LUNGHI, P.; PINELLI, S. Synthesis, spectroscopic characterization and biological properties of new natural aldehydes thiosemicarbazones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 8., p. 157-162, 2000.

TARLETON, R.L.; REITHINGER, R.; URBINA, J.A.; KITRON, U.; GÜRTLER, R.E. The challenges of Chagas disease- grim outlook or glimmer of hope. **PLoS Medicine**, v. 4, p. e332, 2007.

TEMPERTON, N.J.; WILKINSON, S.R.; MEYER, D.J.; KELLY, J.M. Overexpression of superoxide dismutase in *Trypanosoma cruzi* results in increased sensitivity to the trypanocidal agents gentian violet and benznidazole. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 96, p. 167-174, 1998.

TENÓRIO, R.P.; GÓES, A.J.S.; LIMA, J.G.; FARIA, A.R.; ALVES, A.J.; AQUINO, T.M. Tiosemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, p. 1030-1037, 2005.

TOMLINSON S.; PONTES DE CARVALHO L.C.; VANDERKECKHOVE F. NUSSENZWEIG, V. Role of sialic acid in resistance of *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes to complement. **The Journal of Immunology**, v. 153, p. 3141-3148, 1994.

TONIN, LTD; BARBOSA, VA; BOCCA, CC; RAMOS, ERF; NAKAMURA, CV; COSTA, WF; BASSO, EA; NAKAMURA, TU; SARRAGIOTTO, MH. Comparative study of the trypanocidal activity of the methyl 1-nitrophenyl-1,2,3,4-9H-tetrahydro-b-carboline-3-carboxylate derivatives and benznidazole using theoretical calculations and cyclic voltammetry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 1745-1750, 2009.

TORRES, E; MORENO-VIGURI, E; GALIANO, S; DEVARAPALLY, G; CRAWFORD, PW; AZQUETA, A; ARBILLAGA, L; VARELA, J; BIRRIEL, E; MAIO, RD; CERECETTO, H; GONZÁLEZ, M; ALDANA, I; MONGE, A; PÉREZ-SILANES, S. Novel quinoxaline 1,4-di-N-oxide derivatives as new potential antichagasic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 66, p. 324-334, 2013.

TROCHINE, A.; CREEK, D.J.; FARAL-TELLO, P.; BARRETT, M.P.; ROBELLO, C. *Benznidazole Biotransformation and Multiple Targets in Trypanosoma cruzi Revealed by Metabolomics*. **PLOS Neglected Tropical Disease**, v. 8, p. e2844, 2014.

TROSSINI, G.H.G.; MAVEZZI, A.; AMARAL, A.T.; RANGEL-YAGUI, C.O.; IZIDORO, M.A.; CEZARI, M.H.S.; JULIANO, L.; CHIN, C.M.; MENEZES, C.M.S.; FERREIRA, E.I. Cruzain inhibition by hydroxymethylnitrofurazone and nitrofurazone: investigation of a new target in *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Enzyme Inhibition Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 62-67, 2010.

TURK, B. Targeting proteases: successes, failures and future prospects. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 5, p. 785-799, 2006.

TYLER, K.M. ENGMAN, D.M. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 472-481, 2001.

URBINA, J.A. Intermediary metabolism of *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology Today**, v. 10, p. 107-110, 1994.

VINE, K. L.; LOCKE, J. M.; RANSON, M.; BENKENDORFF, K.; PYNE, S. G.; BREMNER, J. B. *In vitro cytotoxicity evaluation of some substituted isatin derivatives*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 931-938, 2007.

VINE, K. L.; MATESIC, L.; LOCKE, J.M.; RANSON, M.; SKROPETA, D. Cytotoxic and anticancer activities of isatin and its derivatives: A comprehensive review from 2000-2008. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 9, p. 397-414, 2009.

WAGENER, M.; LOMMERSE, J.P.M. The quest for bioisosteric replacements. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 46, p. 677-685, 2006.

WANG, J.; **Analytical Electrochemistry**, 2^a. edição, Wiley-VCH: New Jersey, 2000, 272p.

WANG, H.; KUNZ, S.; CHEN, G.; SEEBECK, T.; WAN, Y.; ROBINSON, H.; MARTINELLI, S.; KE, H. Biological and structure characterization of *Trypanosoma cruzi* phosphodiesterase C and implications for design of parasite selective inhibitors. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 287, p. 11788-11797, 2012.

WIGGERS, H.J.; ROCHA, J.R.; FERNANDES, W.B.; SESTI-COSTA, R.; CARNEIRO, Z.A.; CHELESKI, J.; SILVA, A.B.F.; JULIANO, F.; CEZARI, M.H.S.; SILVA, J.S.; MCKERROW, J.H.; MONTANARI, C.A. Non-peptidic cruzain inhibitors with trypanocidal activity discovered by virtual screening and in vitro assay. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, p. e2370, 2013.

WOLFE, J.P.; SINGER, R.A.; YANG, B.H.; BUCHWALD, S.L. Highly active palladium catalysts for Suzuki coupling reactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 121, p. 9550-9561, 1999.

YOSHIKAWA, M.; MURAKAMI, T.; KISHI, A.; SAKURAMA, T.; MATSUDA, H.; NOMURA, M.; MATSUDA, H.; KUBO, M. Novel indole S,O-bisdesmoside,

calanthoside, the precursor glycoside of tryptanthrin, indirubin, and isatin, with increasing skin blood flow promoting effects, from two *Calanthe* species (Orchidaceae). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 46, p. 886-888, 1998.

ZAPATA-SUDO, G. PONTES, L. B. GABRIEL, D. MENDES, T. C. F. RIBEIRO, N. M. PINTO, A. C. TRACHEZ, M. M. SUDO, R. T. Sedative-hypnotic profile of novel isatin ketals. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 86, p. 678-685, 2007.

ZELEDON, R., RABINOVICH, J.E. Chagas disease: an ecological appraisal with special emphasis on insect vectors. **Annual Review of Entomology**, v. 26, p. 101-133, 1981.

ZINGALES, B., SOUTO, R.P., MANGIA, R.H., LISBOA, C.V., CAMPBELL, D.A., COURA, J.R., JANSEN, A.M., FERNANDES, O. Molecular epidemiology of American trypanosomiasis in Brazil base don dimorphisms of rRNA and mini-exon gene sequences. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 105-112, 1998.

SUMÁRIO DO ANEXO I

Figura A1	Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz) da 5'-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (141)	217
Figura A2	Espectro de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 50 MHz) da 5'-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (141)	219
Figura A3	Espectro de IV da 5'-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (141)	219
Figura A4	Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 200 MHz) da 5'-(4-hidroximetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (142)	220
Figura A5	Espectro de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 50 MHz) da 5'-(4-hidroximetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (142)	221
Figura A6	Espectro de IV do 5'-(4-hidroximetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (142)	222
Figura A7	Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 200 MHz) da do 5'-(4-propil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (143)	222
Figura A8	Espectro de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 50 MHz) do 5'-(4-propil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (153)	224
Figura A9	Espectro de IV do 5'-(4-propil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (143)	225
Figura A10	Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 200 MHz) da 5'-(4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (144)	225
Figura A11	RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 50 MHz) da 5'-(4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (144)	227
Figura A12	Espectro de IV da 5'-(4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (144)	228
Figura A13	RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 200 MHz) da 5'-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (145)	228
Figura A14	Espectro de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 50 MHz) da 5'-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (145)	230
Figura A15	Espectro de IV do 5'-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (145)	231
Figura A16	Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 200 MHz) da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (146)	243

Figura A17	Espectro de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 50 MHz) da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (146)	233
Figura A18	Espectro de IV da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (146)	233
Figura A19	Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 200 MHz) da 5'-(4-ciclohexil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (147)	234
Figura A20	Espectro de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 50 MHz) do 5'-(4-ciclohexil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (147)	236
Figura A21	Espectro de IV do 5'-(4-ciclohexil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (147)	237
Figura A22	Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 200 MHz) da 5'-(4-acetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (148)	237
Figura A23	Espectro de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 50 MHz) da 5'-(4-acetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (148)	239
Figura A24	Espectro de IV da 5'-(4-acetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (148)	239
Figura A25	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-(2-hidroxiopropan-2-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (149)	240
Figura A26	Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-(2-hidroxiopropan-2-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (149)	241
Figura A27	Espectro de IV da 5'-(4-(2-hidroxiopropan-2-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (149)	241
Figura A28	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-(1-hidroxicicloexil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (150)	242
Figura A29	Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-(1-hidroxicicloexil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (150)	243
Figura A30	Espectro de IV da 5'-(4-(1-hidroxicicloexil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (150)	244
Figura A31	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (151)	245
Figura A32	Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (151)	246

Figura A33	Espectro de IV da 5'-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (151)	246
Figura A34	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-hidroximetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (152)	247
Figura A35	Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-hidroximetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (152)	248
Figura A36	Espectro de IV da 5'-(4-hidroximetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (152)	248
Figura A37	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-propil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (153)	249
Figura A38	Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-propil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (153)	250
Figura A39	Espectro de IV da 5'-(4-propil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (153)	251
Figura A40	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (154)	251
Figura A41	Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (154)	253
Figura A42	Espectro de IV da 5'-(4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (154)	253
Figura A43	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (155)	254
Figura A44	Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (155)	255
Figura A45	Espectro de IV da 5'-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (155)	255
Figura A46	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (156)	256
Figura A47	Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (156)	256
Figura A48	Espectro de IV da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (156)	257
Figura A49	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-ciclohexil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (157)	257
Figura A50	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-ciclohexil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (157)	259
Figura A51	Espectro de IV da 5'-(4-ciclohexil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-	259

2'-ona (**157**)

Figura A52	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (158)	260
Figura A53	Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 5'-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (158)	261
Figura A54	Espectro de IV da 5'-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (158)	261
Figura A55	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (159)	262
Figura A56	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (159)	263
Figura A57	Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (159)	264
Figura A58	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da Z)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (160)	264
Figura A59	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (160)	265
Figura A60	Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (160)	266
Figura A61	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (161)	266
Figura A62	Espectro de RMN ¹³ C (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (161)	268
Figura A63	Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (161)	268
Figura A64	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilidene)hidrazinocarbotioamida (162)	269
Figura A65	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilidene)hidrazinocarbotioamida (162)	270
Figura A66	Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilidene)hidrazinocarbotioamida (162)	271
Figura A67	Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (163)	272
Figura A68	Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (163)	273

Figura A69	Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (163)	274
Figura A70	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (164)	274
Figura A71	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (164)	276
Figura A72	Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (164)	276
Figura A73	Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (165)	277
Figura A74	Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (165)	278
Figura A75	Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (165)	279
Figura A76	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (166)	279
Figura A77	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (166)	281
Figura A78	Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (166)	281
Figura A79	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (E,Z)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (167)	282
Figura A80	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (E,Z)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (167)	283
Figura A81	Espectro de IV da (E,Z)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (167)	284
Figura A82	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (E,Z)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (168)	284
Figura A83	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (E,Z)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (168)	285

Figura A84	Espectro de IV da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (168)	286
Figura A85	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (169)	287
Figura A86	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (167)	288
Figura A87	Espectro de IV da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (169)	289
Figura A88	Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (170)	290
Figura A89	Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (170)	292
Figura A90	Espectro de IV da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (170)	292
Figura A91	Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (171)	293
Figura A92	Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (171)	295
Figura A93	Espectro de IV da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (171)	296
Figura A94	Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-(ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (172)	296
Figura A95	Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-(ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (172)	298
Figura A96	Espectro de IV da (<i>Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-(ciclohex-1-en-1-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (172)	298
Figura A97	Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (173)	299
Figura A98	Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (173)	300
Figura A99	Espectro de IV da (<i>E,Z</i>)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (173)	301

il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**173**)

Figura A100	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (174)	301
Figura A101	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (174)	302
Figura A102	Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (174)	303
Figura A103	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 4-(N-metil-2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (181)	303
Figura A104	Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 4-(N-metil-2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (181)	304
Figura A105	Espectro de IV da 4-(N-metil-2,5-dioxaciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (181)	305
Figura A106	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (184)	305
Figura A107	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (184)	307
Figura A108	Espectro de IV da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (184)	307
Figura A109	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (185)	308
Figura A110	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (185)	309
Figura A111	Espectro de IV da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (185)	309

ANEXO I

DADOS ESPECTROSCÓPICOS, ESPECTROMÉTRICOS E VOLTAMOGRAMAS

Nas páginas a seguir, encontram-se reunidos os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H), de Carbono (RMN ^{13}C) e os Espectros na Região do Infravermelho (IV) para todos os compostos descritos na Tese.

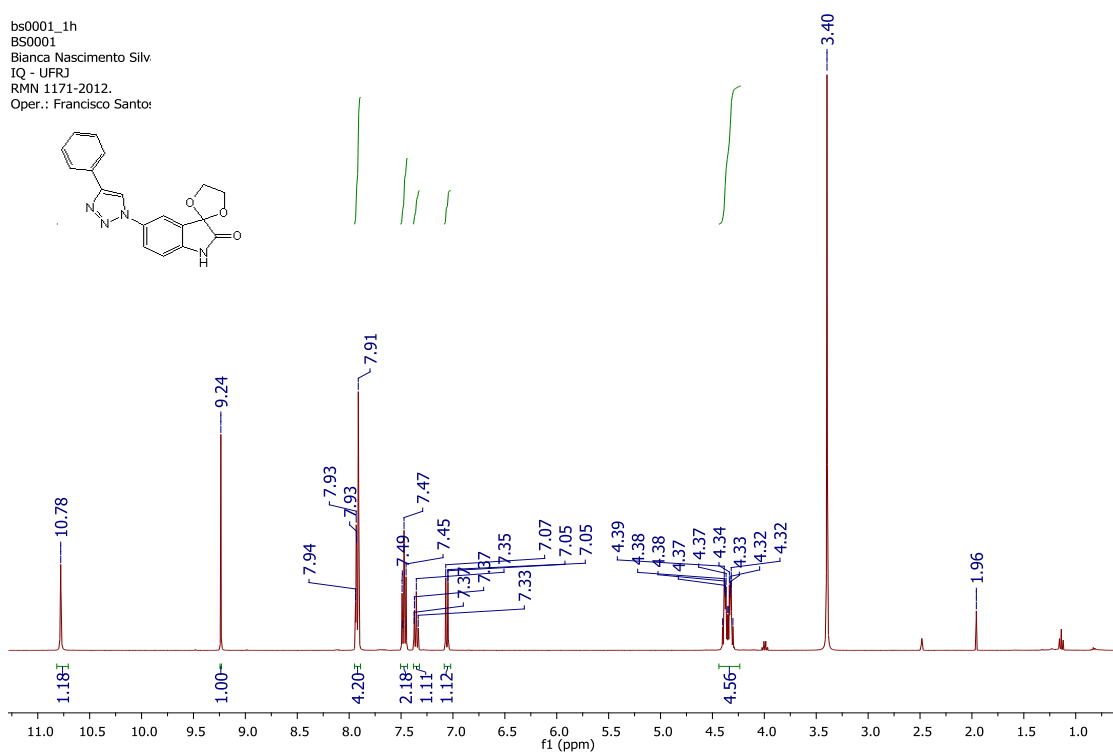
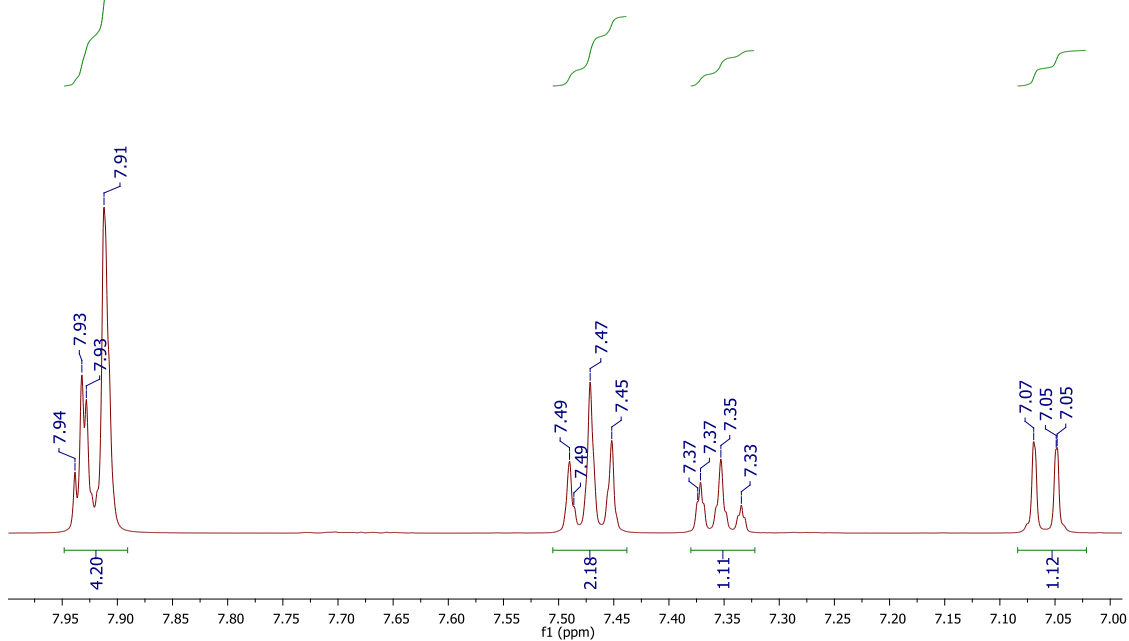


Figura A1. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) da 5'-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**141**)

bs0001_1h
BS0001
Bianca Nascimento Silv
IQ - UFRJ
RMN 1171-2012.
Oper.: Francisco Santos



bs0001_1h
BS0001
Bianca Nascimento Silv
IQ - UFRJ
RMN 1171-2012.
Oper.: Francisco Santos

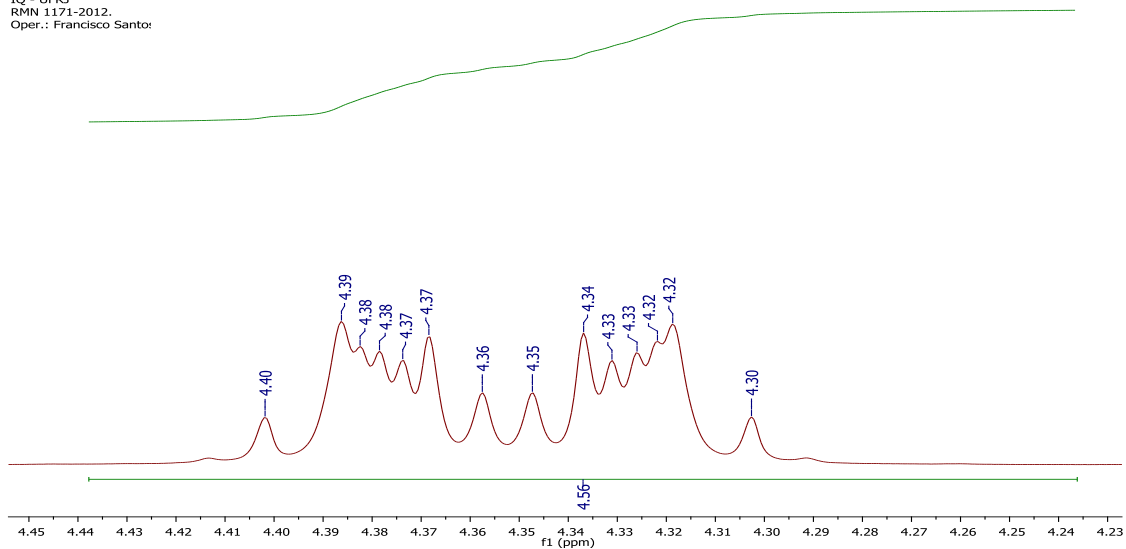


Figura A1. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) da 5'-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**141**) (continuação)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OP: Roberta
 13C/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
 PILAB1 Bianca-190/Barbara
 Quant: 35mg Scans: 2048 02h15'38"

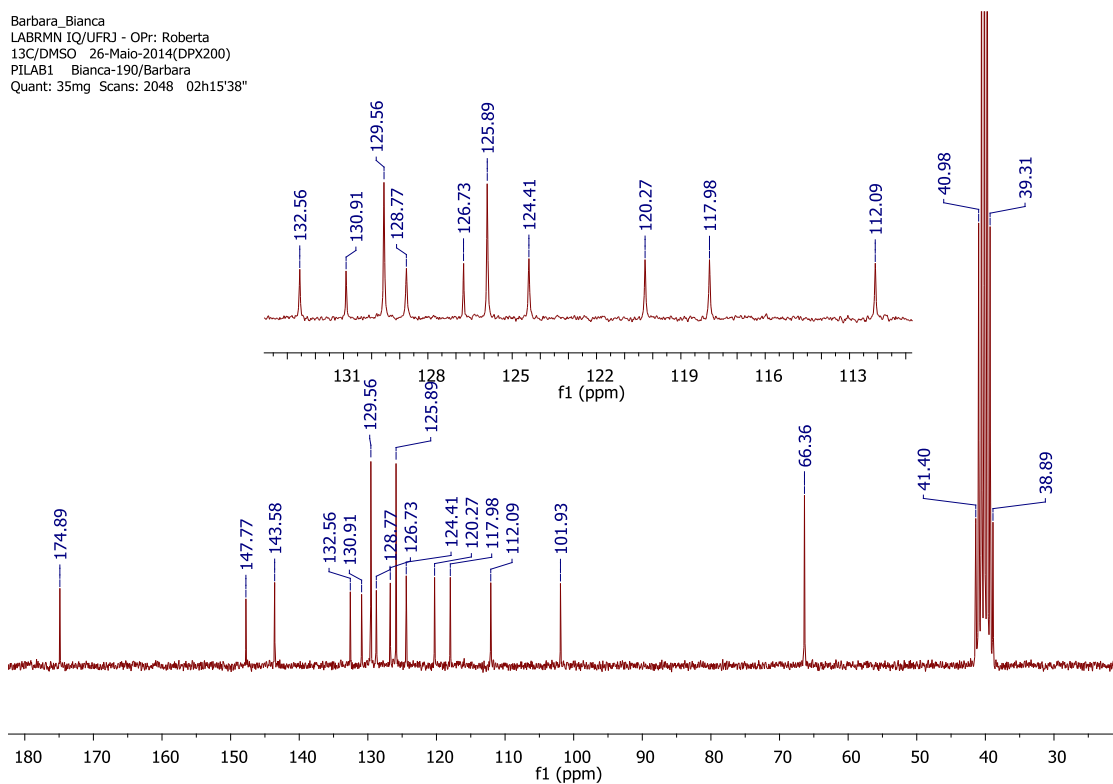


Figura A2. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) da 5'-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**141**)

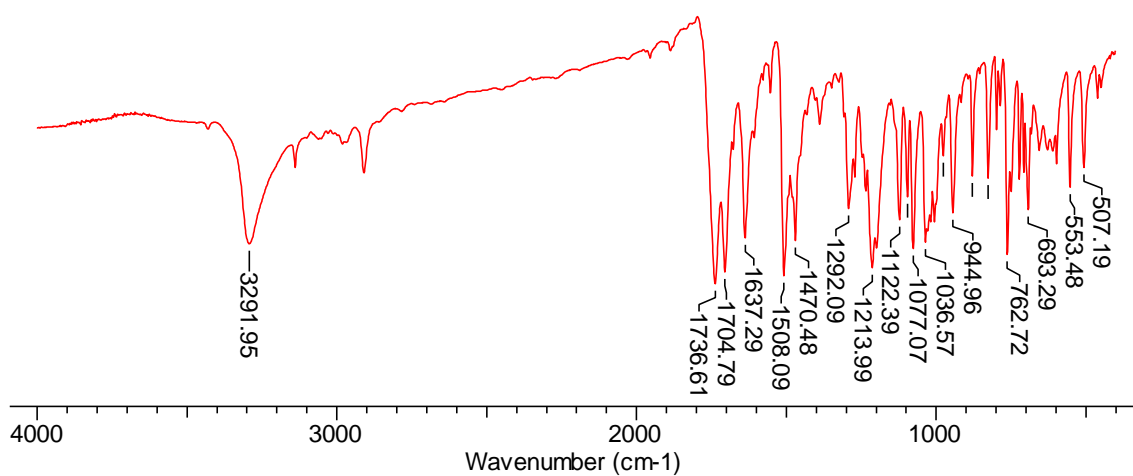
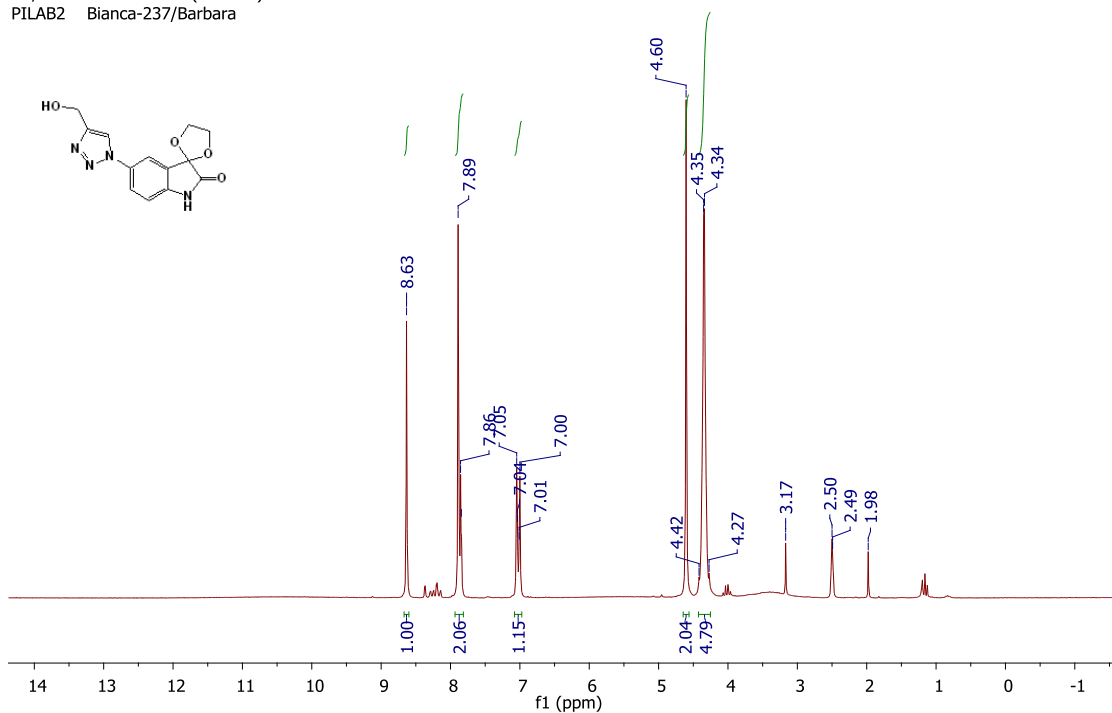


Figura A3. Espectro de IV da 5'-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**141**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UF RJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
PILAB2 Bianca-237/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UF RJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
PILAB2 Bianca-237/Barbara

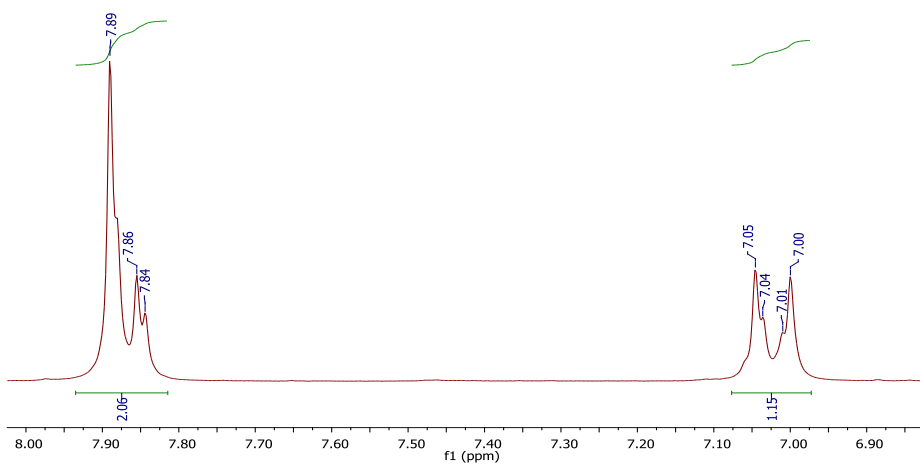


Figura A4. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da 5'-(4-hidroximetil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**142**)

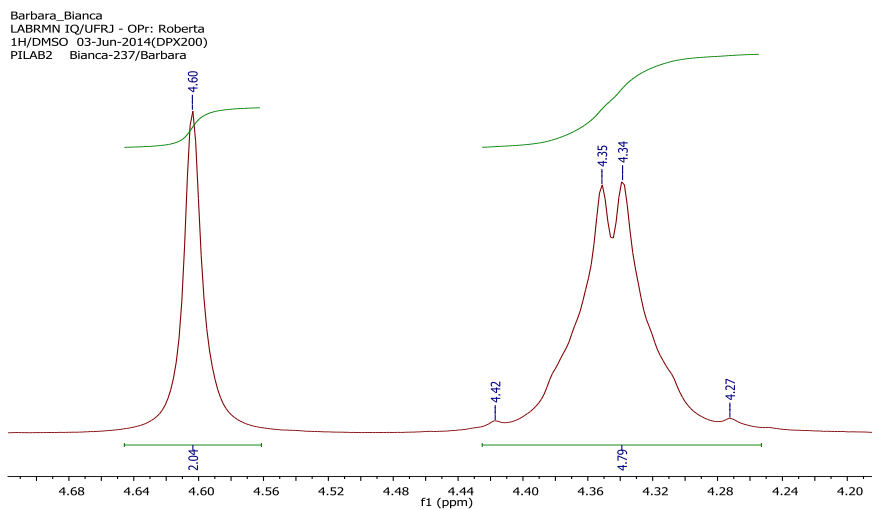


Figura A4. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da 5'-(4-hidroxi-metil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**142**) (continuação)

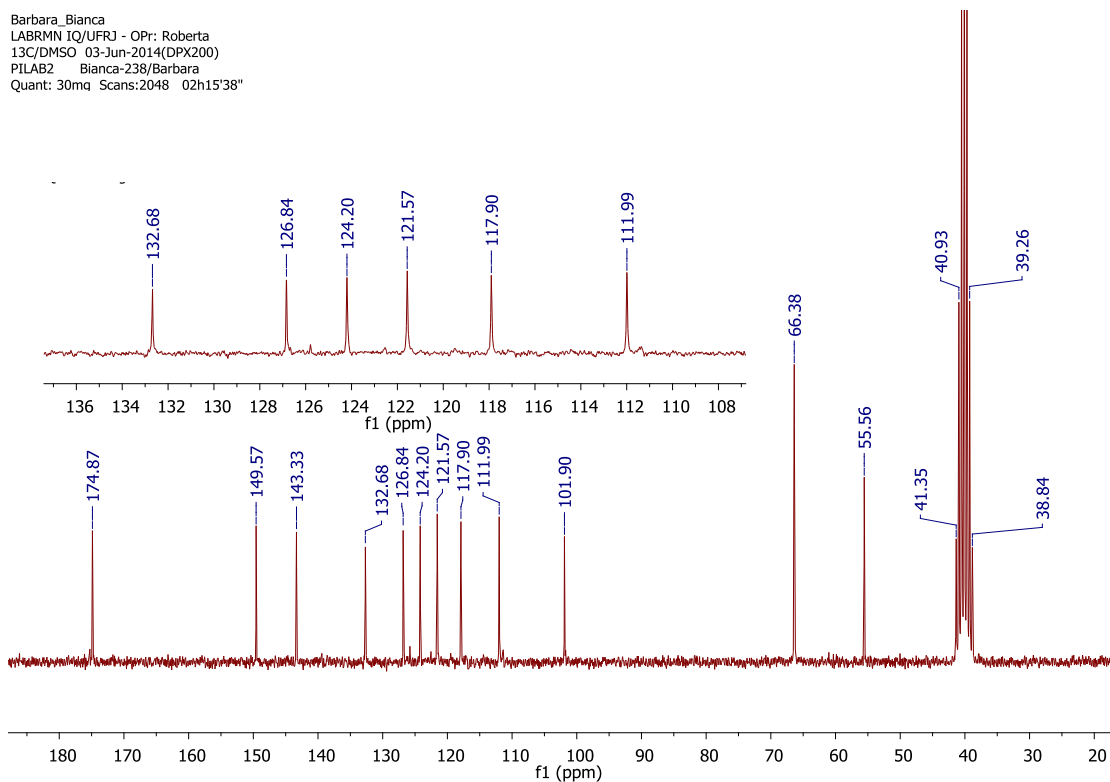


Figura A5. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) da 5'-(4-hidroxi-metil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**142**)

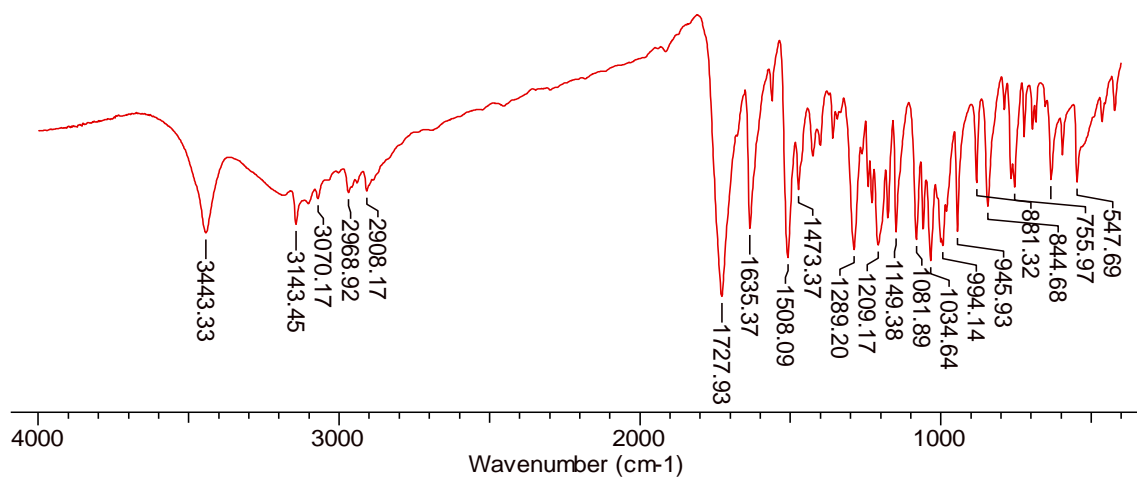


Figura A6. Espectro de IV do 5'-(4-hidroximetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**142**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
 1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
 P1LAB7 Bianca-183/Barbara

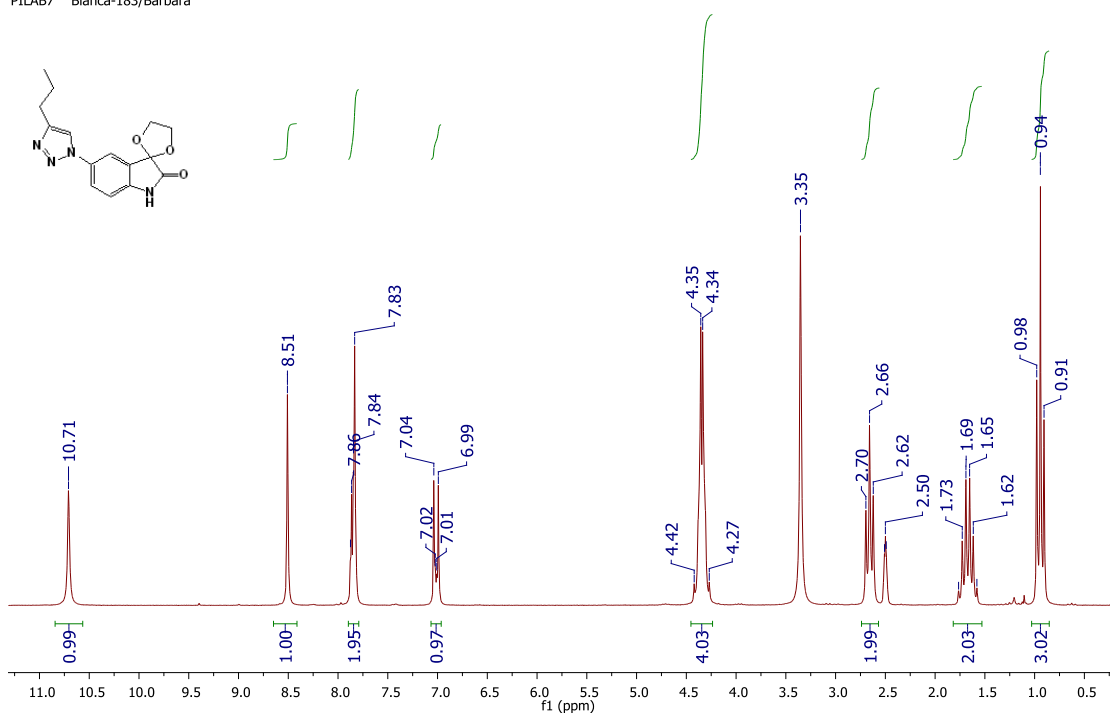
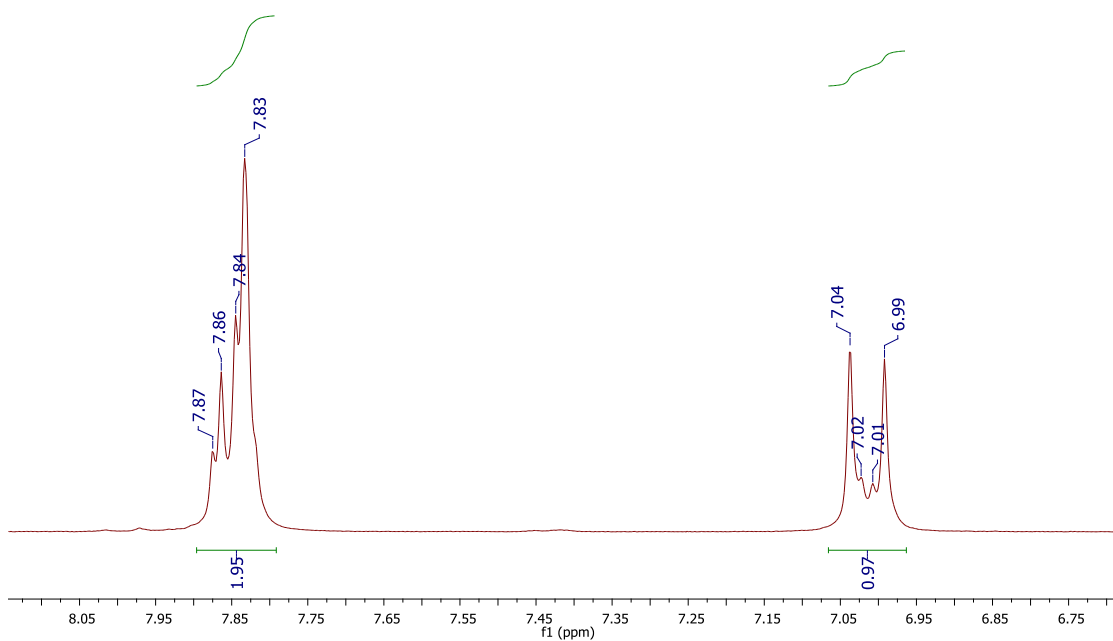


Figura A7. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da do 5'-(4-propil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**143**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB7 Bianca-183/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB7 Bianca-183/Barbara

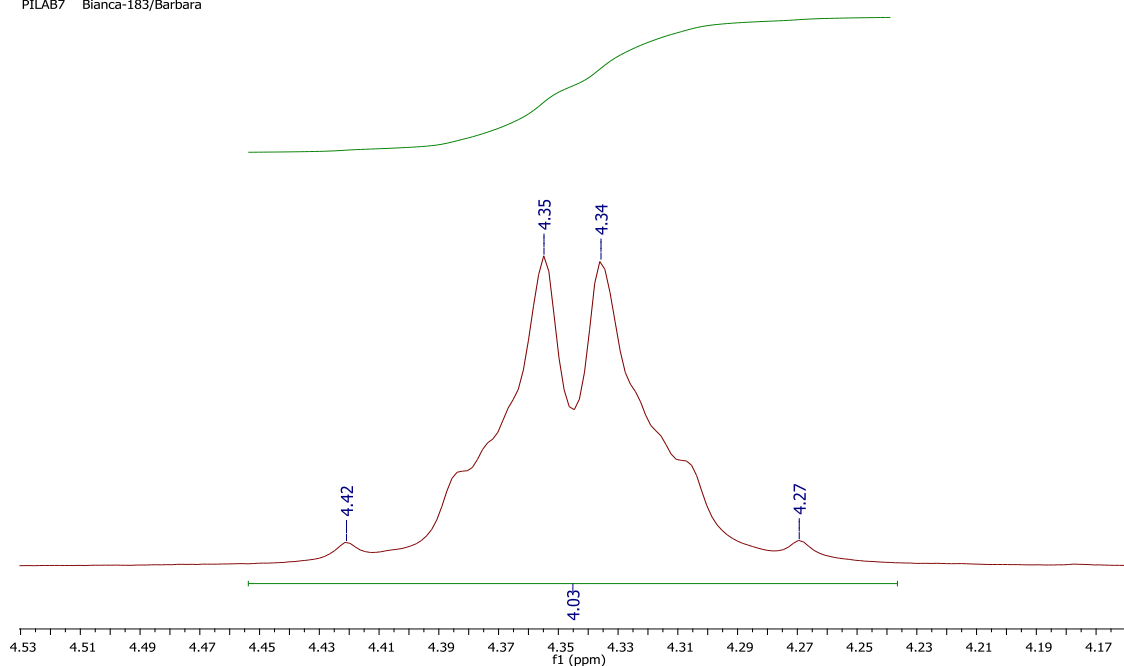


Figura A7. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da do 5'-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**143**) (continuação)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB7 Bianca-183/Barbara

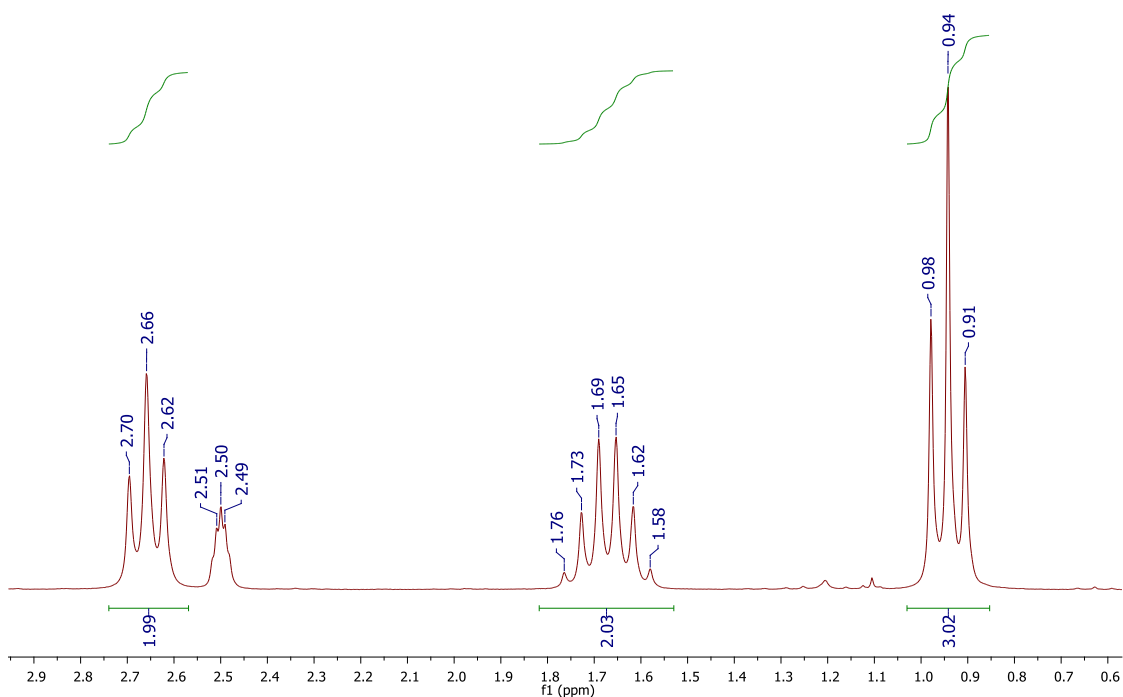


Figura A7. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da do 5'-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**143**) (continuação)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
13C/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB7 Bianca-184/Barbara
Quant: 35mg Scans: 2048 02h15'38"

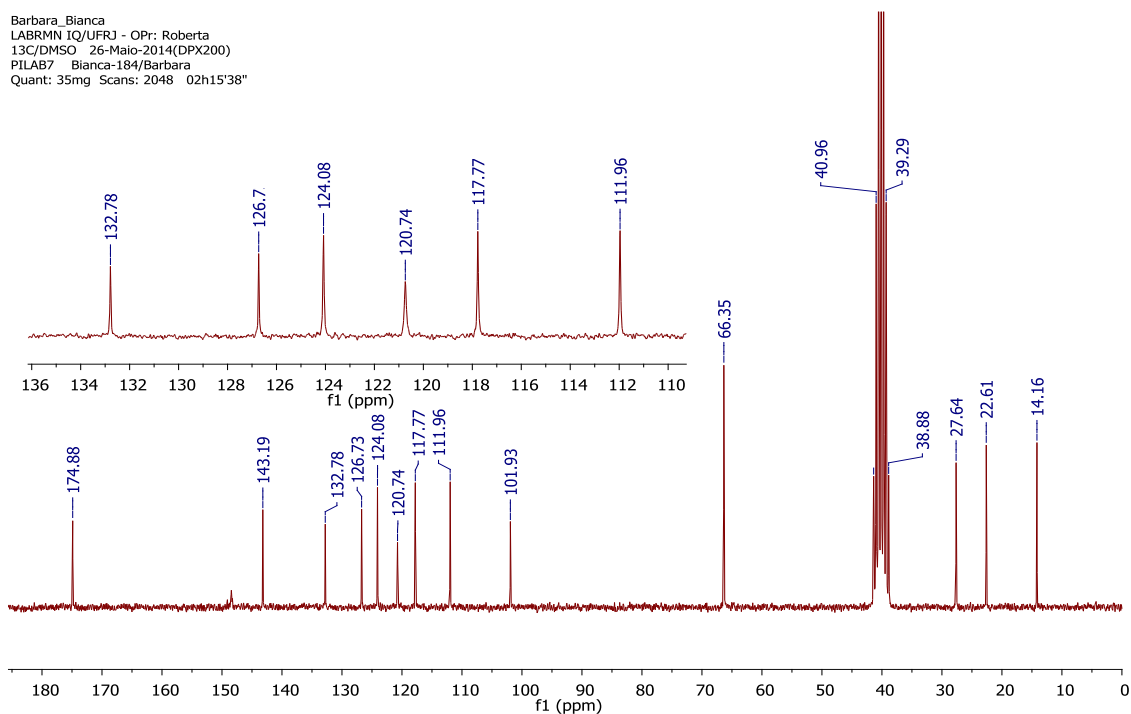


Figura A8. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) do 5'-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**153**)

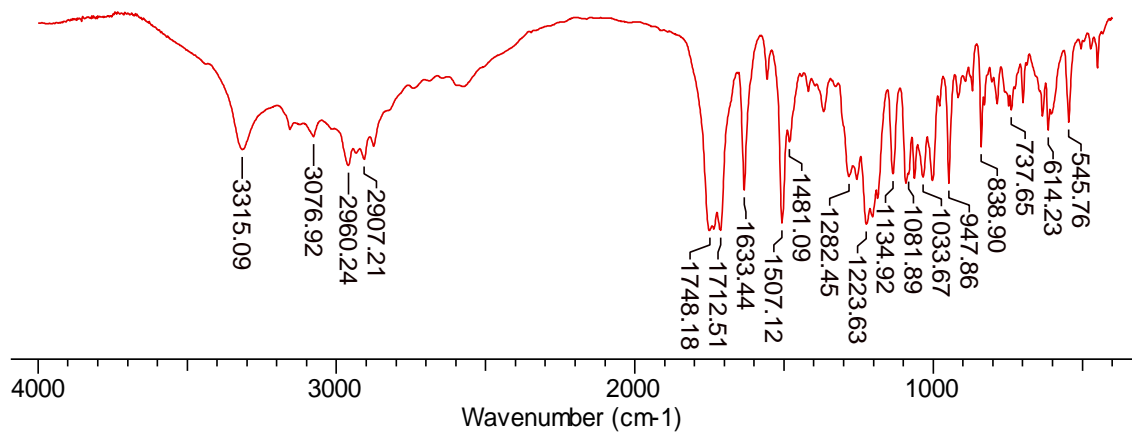


Figura A9. Espectro de IV do 5'-(4-propil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**143**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
 1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
 PILAB6 Bianca-180/Barbara

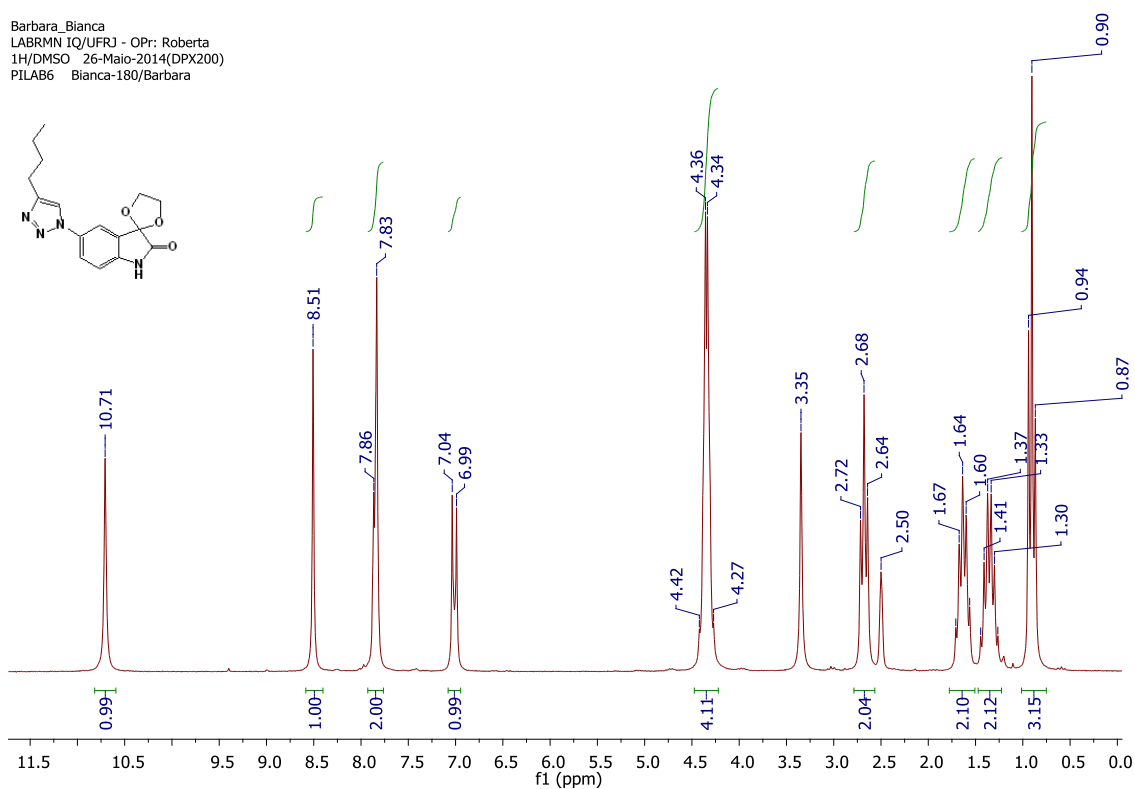
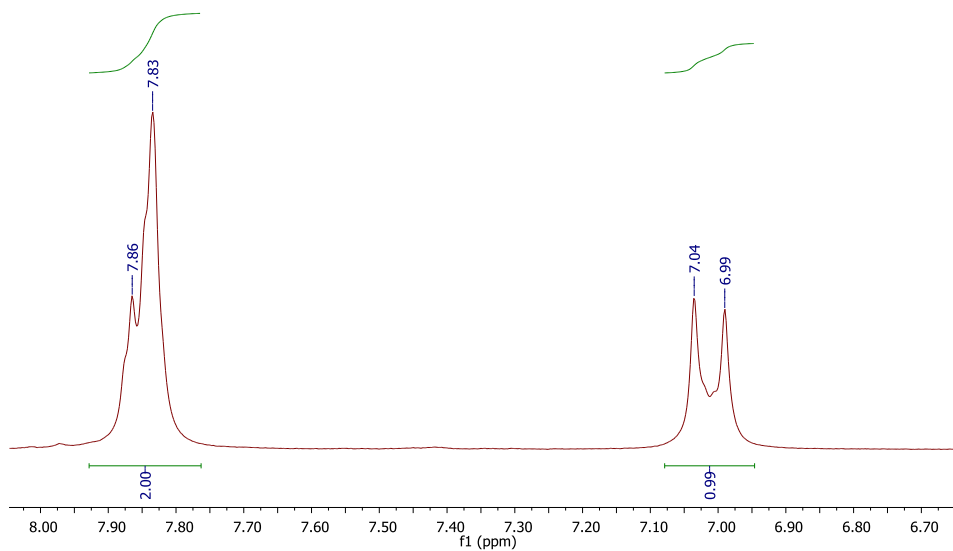


Figura A10. Espectro de RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) da 5'-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**144**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB6 Bianca-180/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB6 Bianca-180/Barbara

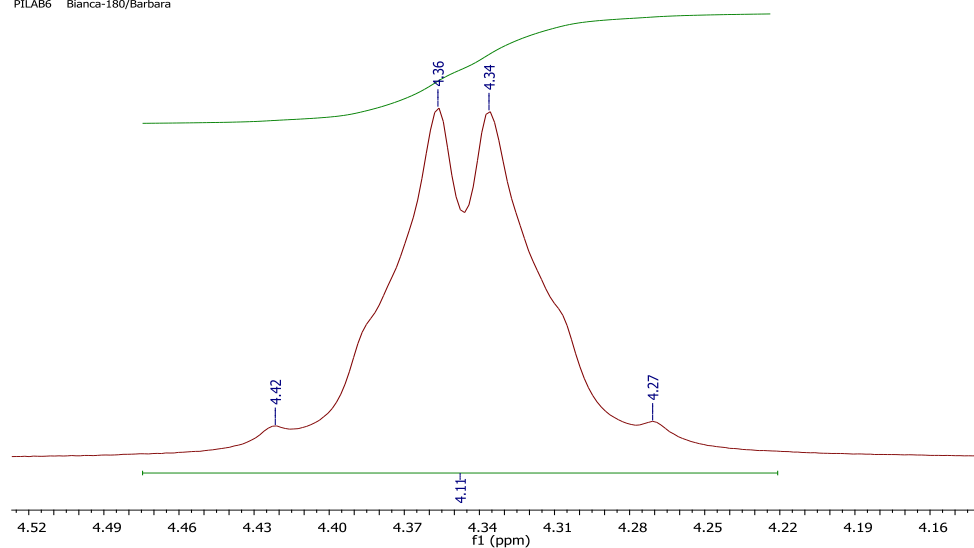


Figura A10. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da 5'-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**144**) (continuação)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB6 Bianca-180/Barbara

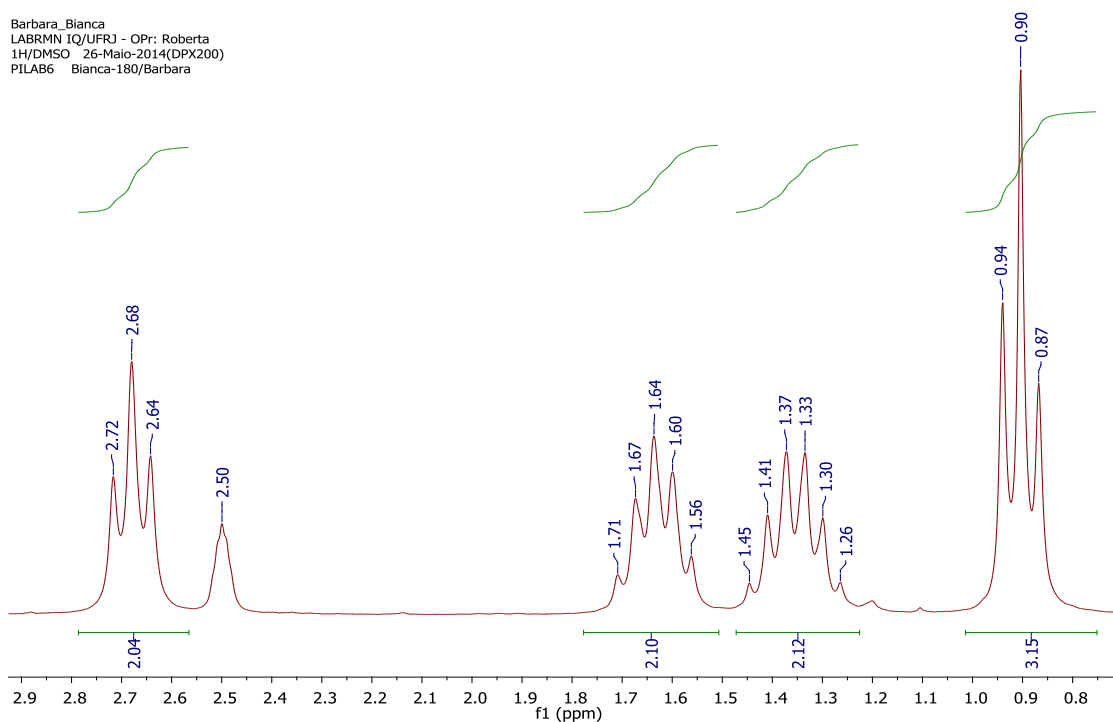


Figura A10. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da 5'-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**144**) (continuação)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
13C/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB6 Bianca-181/Barbara
Quant: 35mg Scans: 2048 02h15'38"

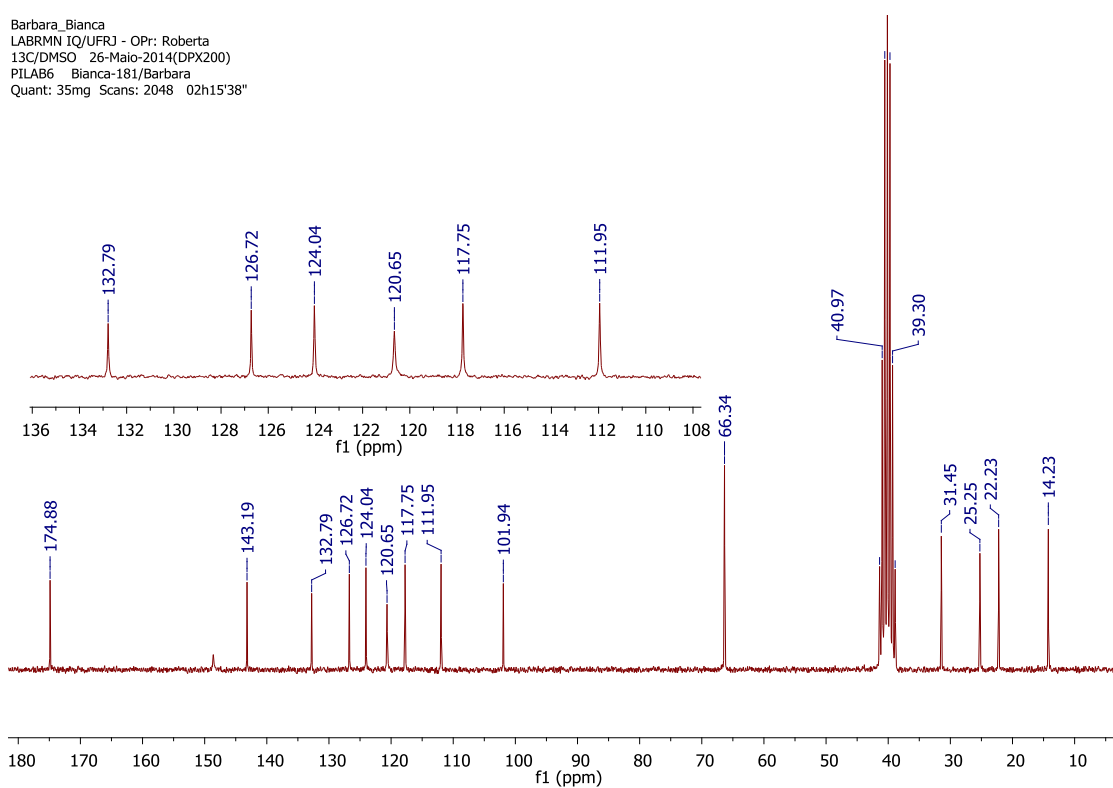


Figura A11. RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) da 5'-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**144**)

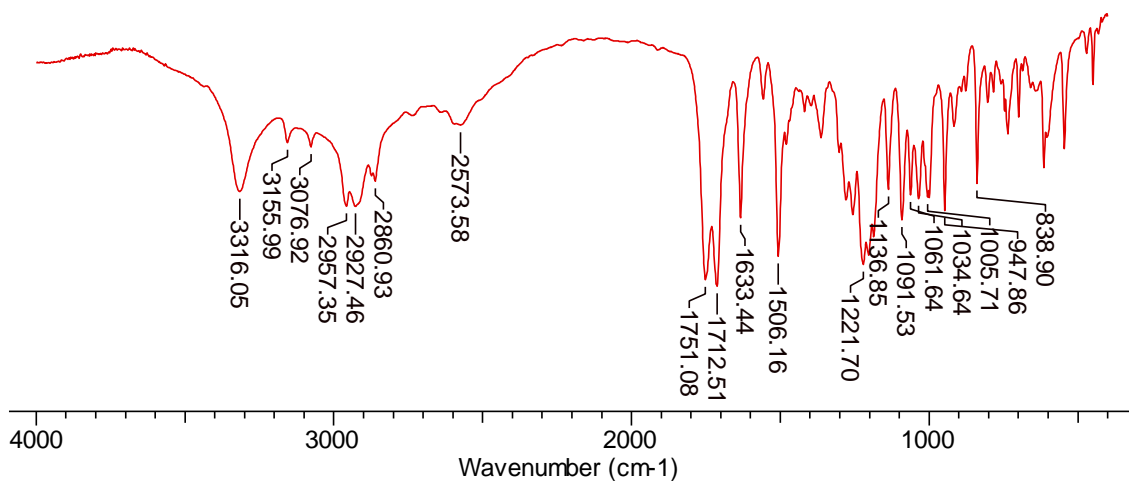


Figura A12. Espectro de IV da 5'-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**144**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - Opr: Roberta
 1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
 PILAB5 Bianca-186/Barbara

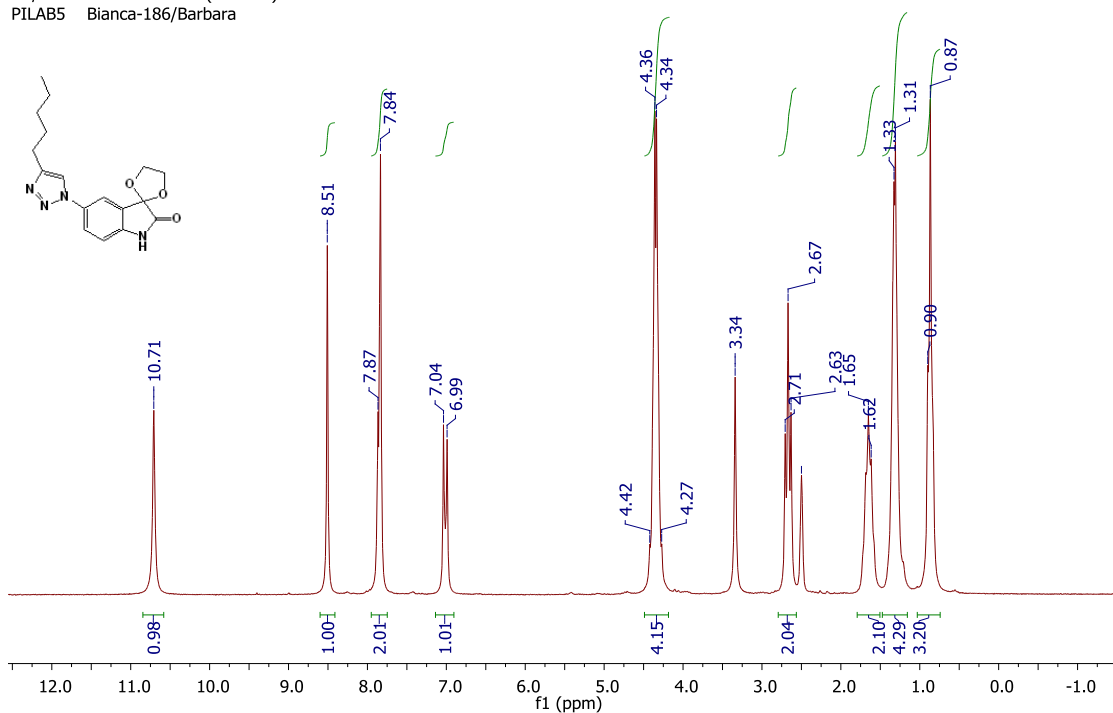
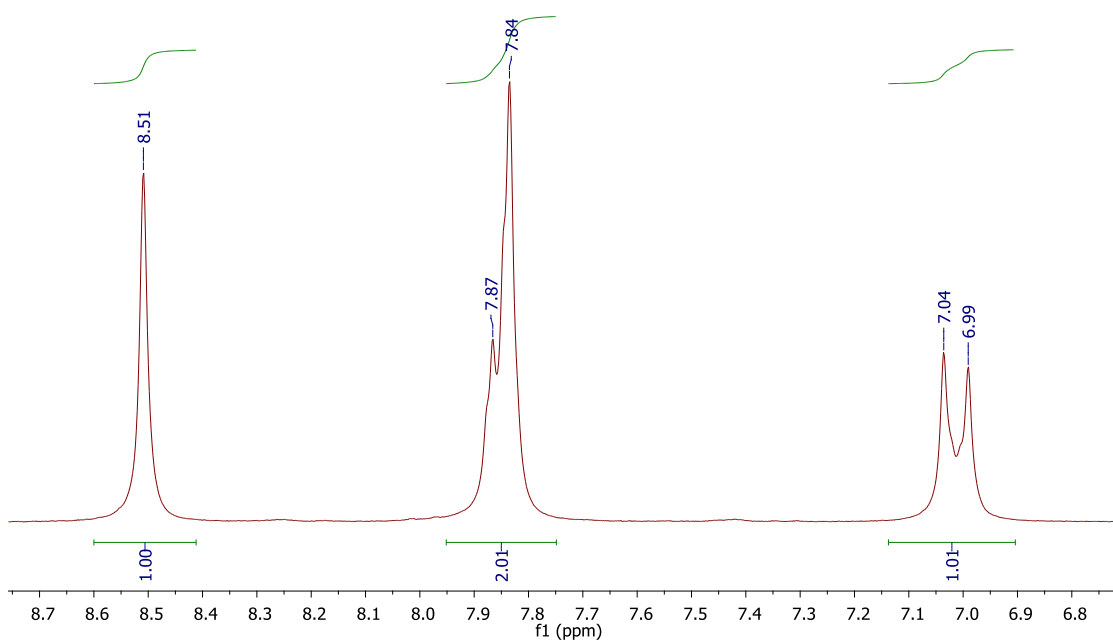


Figura A13. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**145**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - Opr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB5 Bianca-186/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - Opr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB5 Bianca-186/Barbara

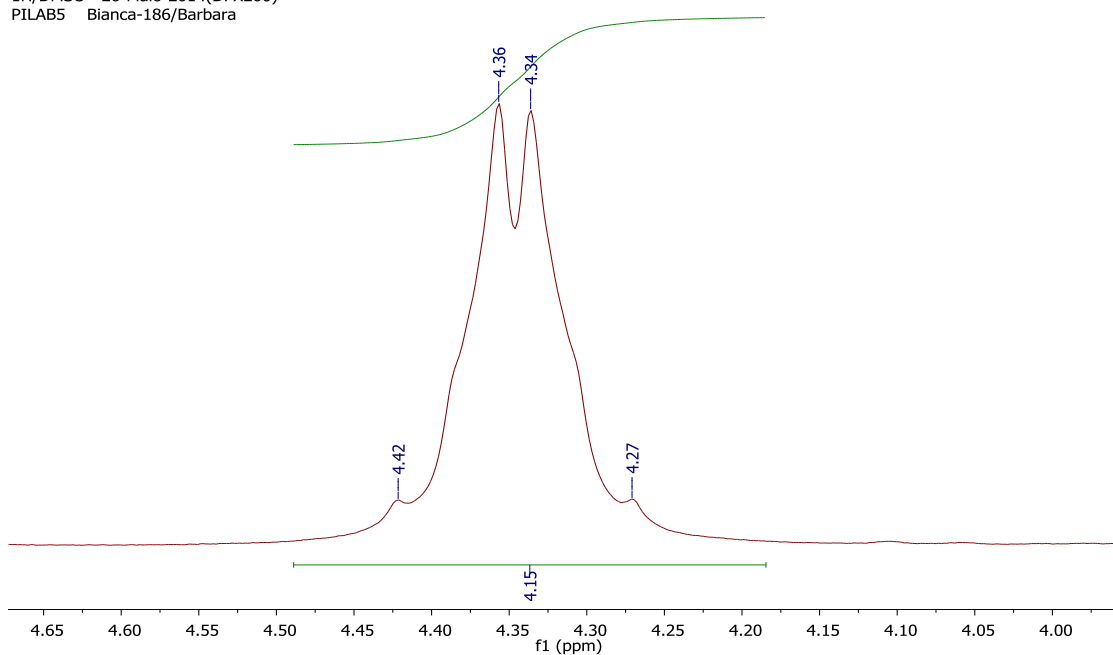


Figura A13. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da 5'-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**145**) (continuação)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB5 Bianca-186/Barbara

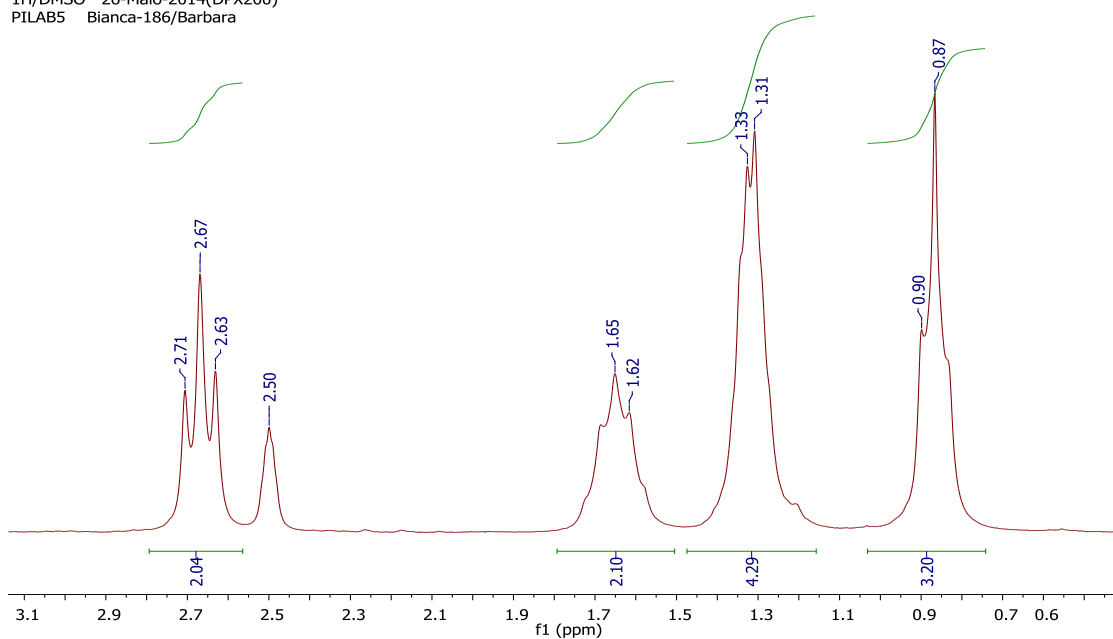


Figura A13. Expansão do espectro de RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) da 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**145**) (continuação)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
13C/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB5 Bianca-187/Barbara
Quant: 35mg Scans: 2048 02h15'38"

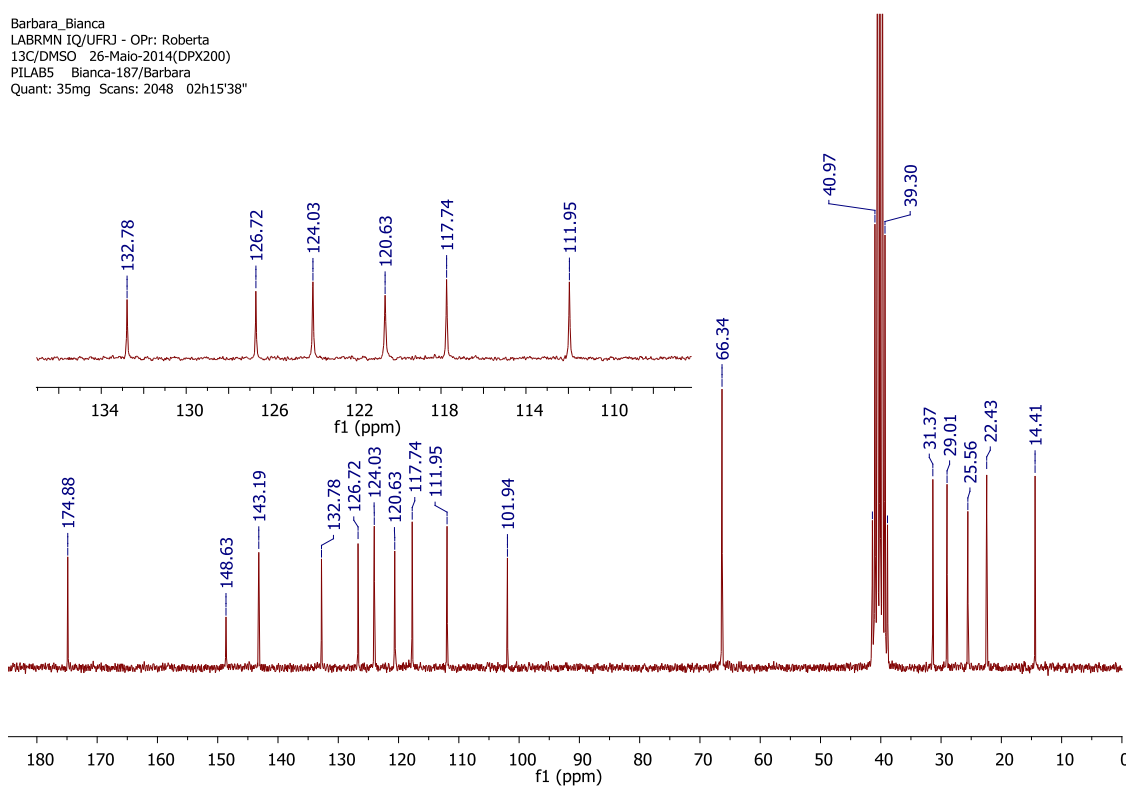


Figura A14. Espectro de RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 50 MHz) da 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**145**)

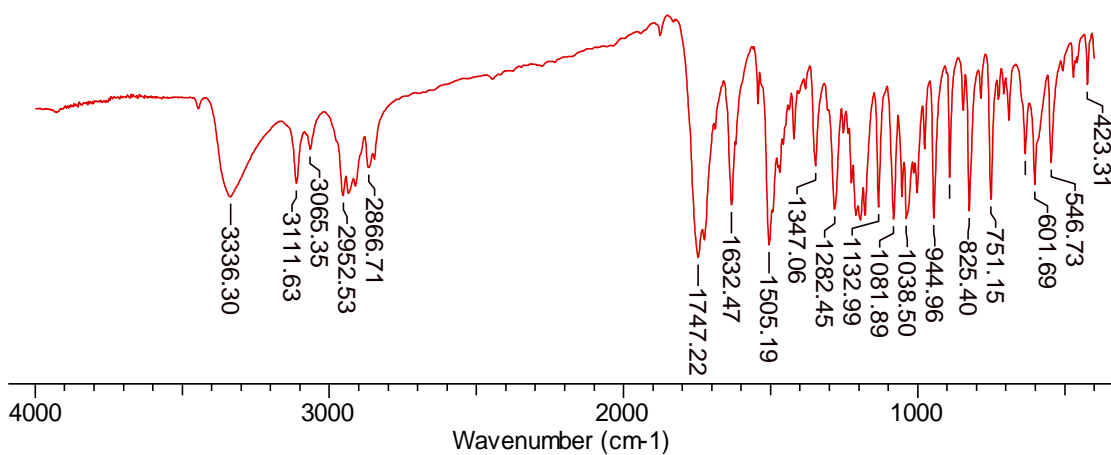


Figura A15. Espectro de IV do 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**145**)

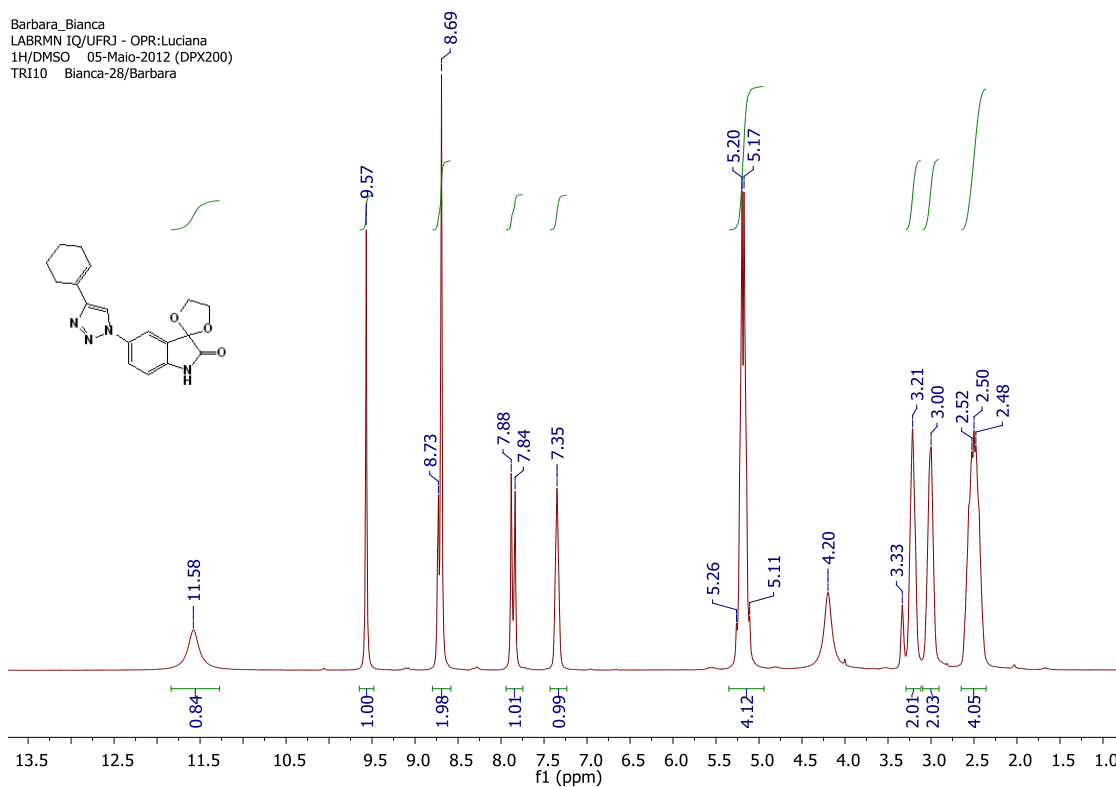
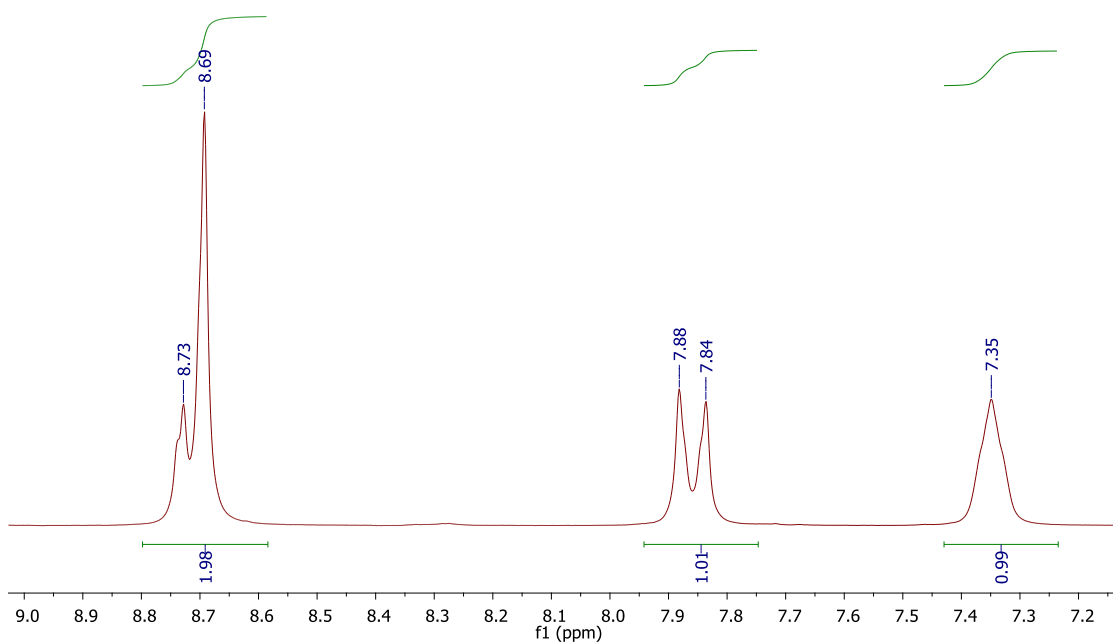


Figura A16. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**146**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPR:Luciana
1H/DMSO 05-Maio-2012 (DPX200)
TR110 Bianca-28/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPR:Luciana
1H/DMSO 05-Maio-2012 (DPX200)
TR110 Bianca-28/Barbara

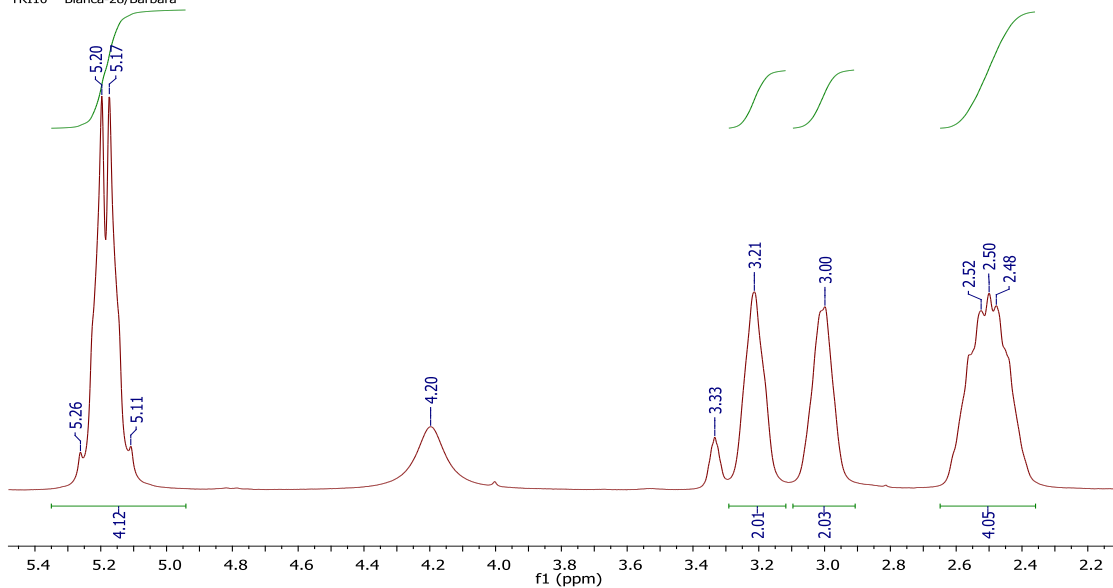


Figura A16. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**146**) (continuação)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPR:Luciana
 13C/DMSO 08-Maio-2012 (DPX200)
 TRI10 Bianca-29/Barbara
 Quant. 30ma 2048scans 2h15`38`

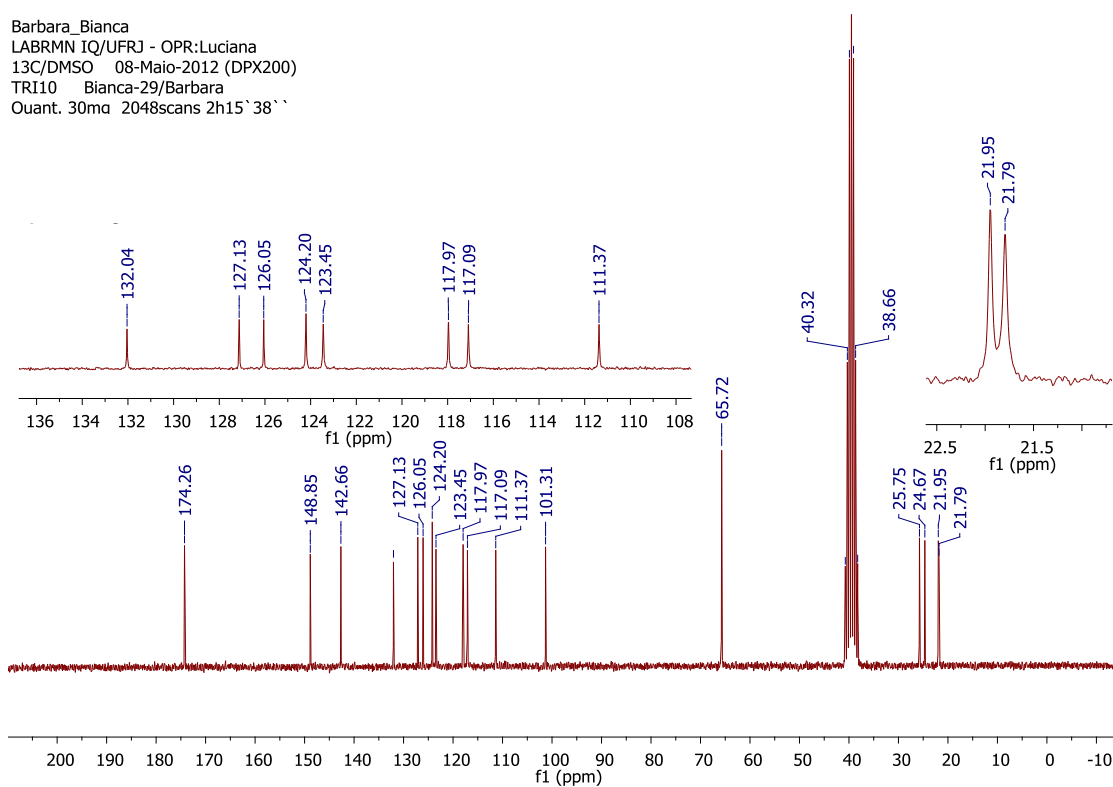


Figura A17. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**146**)

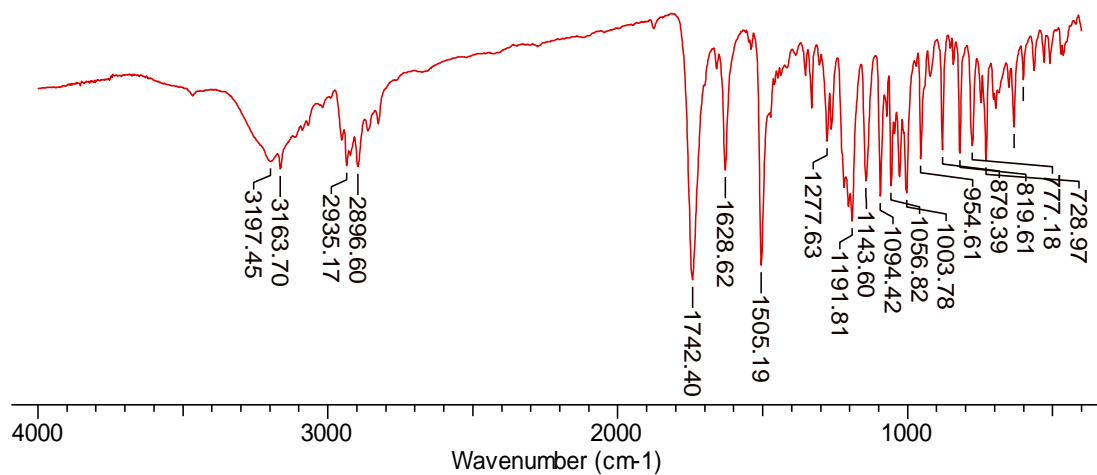
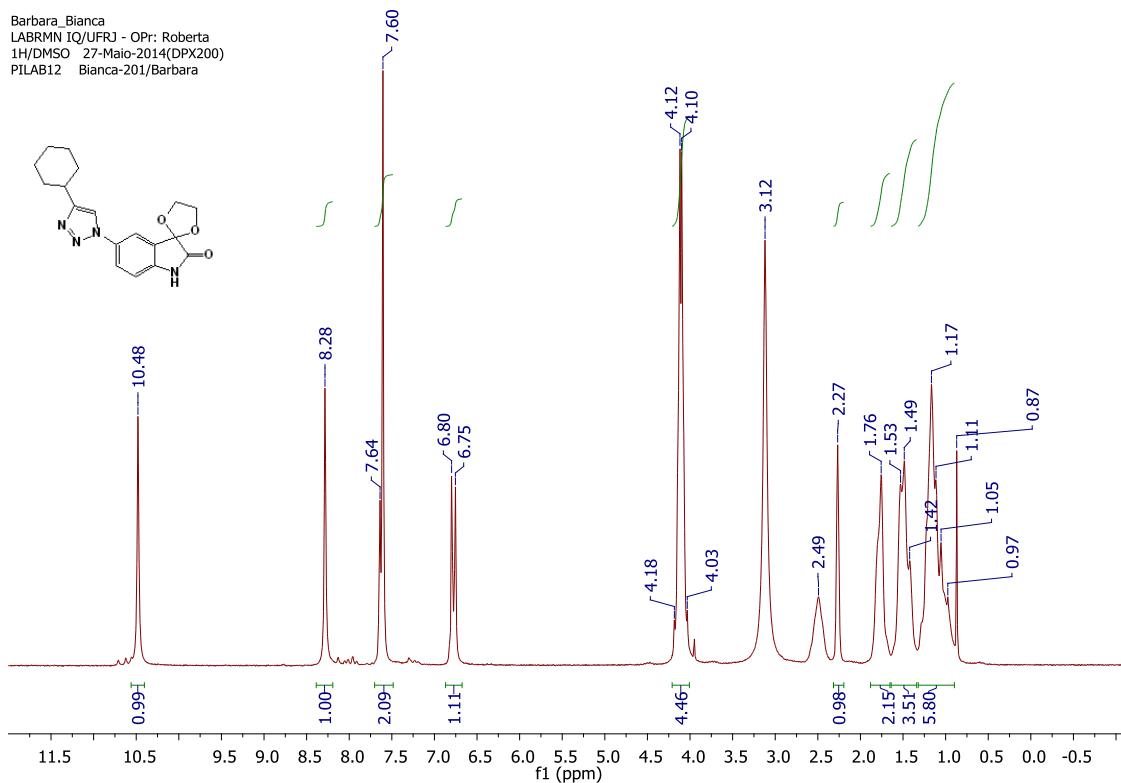


Figura A18. Espectro de IV da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**146**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
 1H/DMSO 27-Maio-2014(DPX200)
 PILAB12 Bianca-201/Barbara



Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
 1H/DMSO 27-Maio-2014(DPX200)
 PILAB12 Bianca-201/Barbara

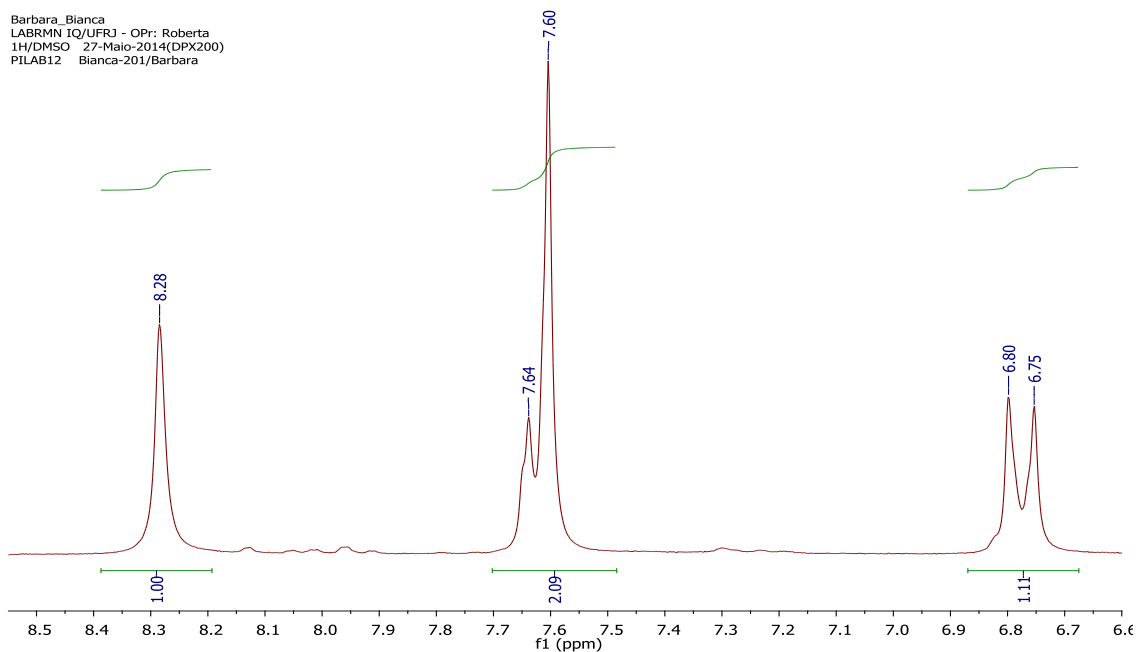
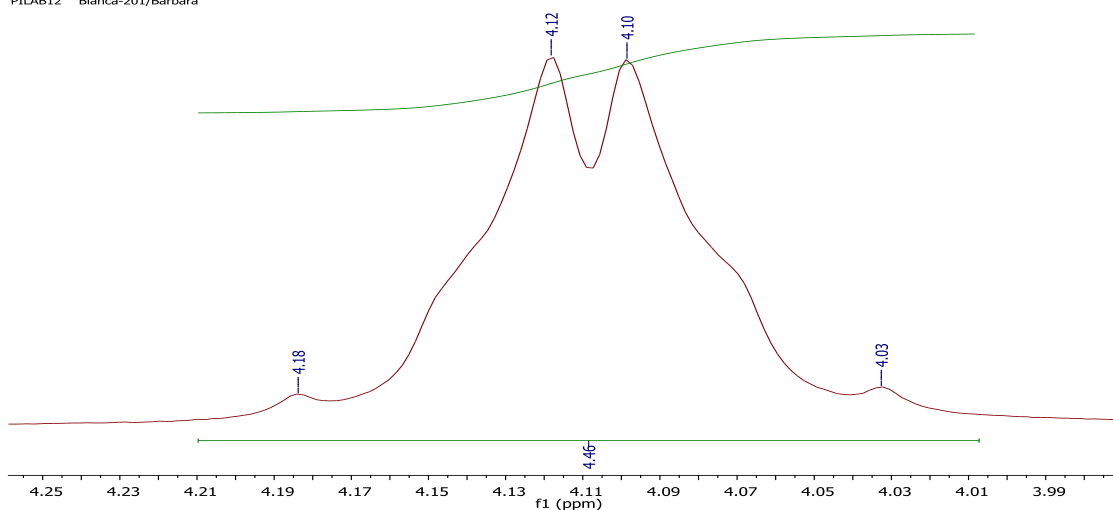


Figura A19. Espectro de RMN ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) da 5'-(4-ciclohexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**147**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 27-Maio-2014(DPX200)
PILAB12 Bianca-201/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 27-Maio-2014(DPX200)
PILAB12 Bianca-201/Barbara

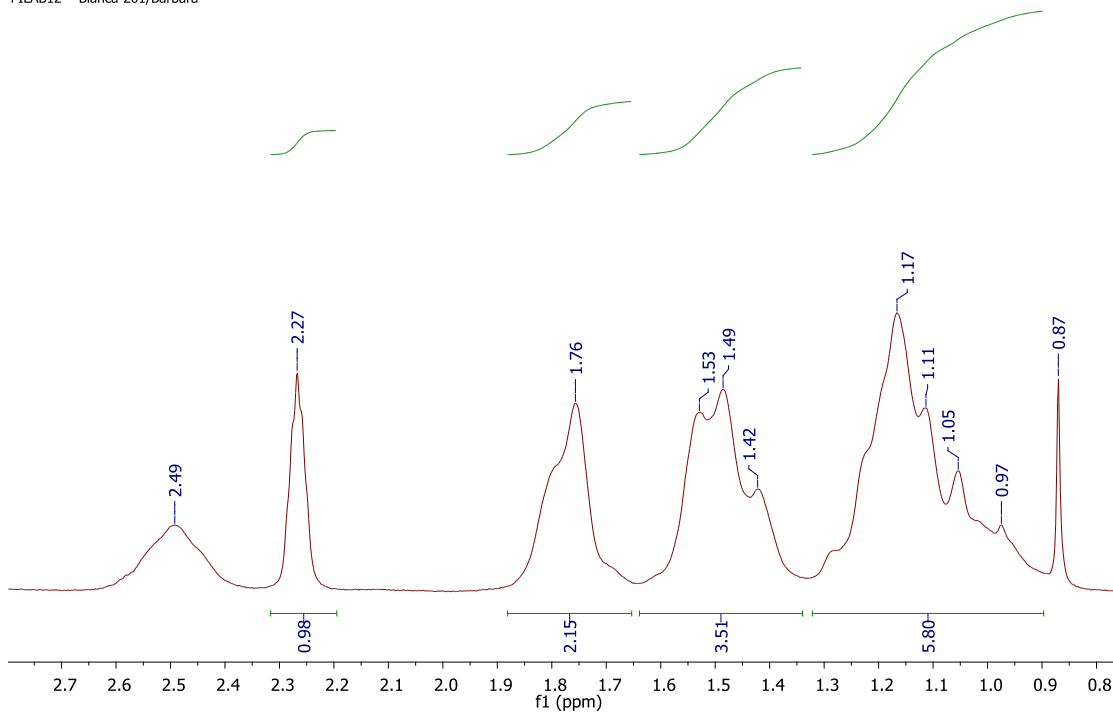
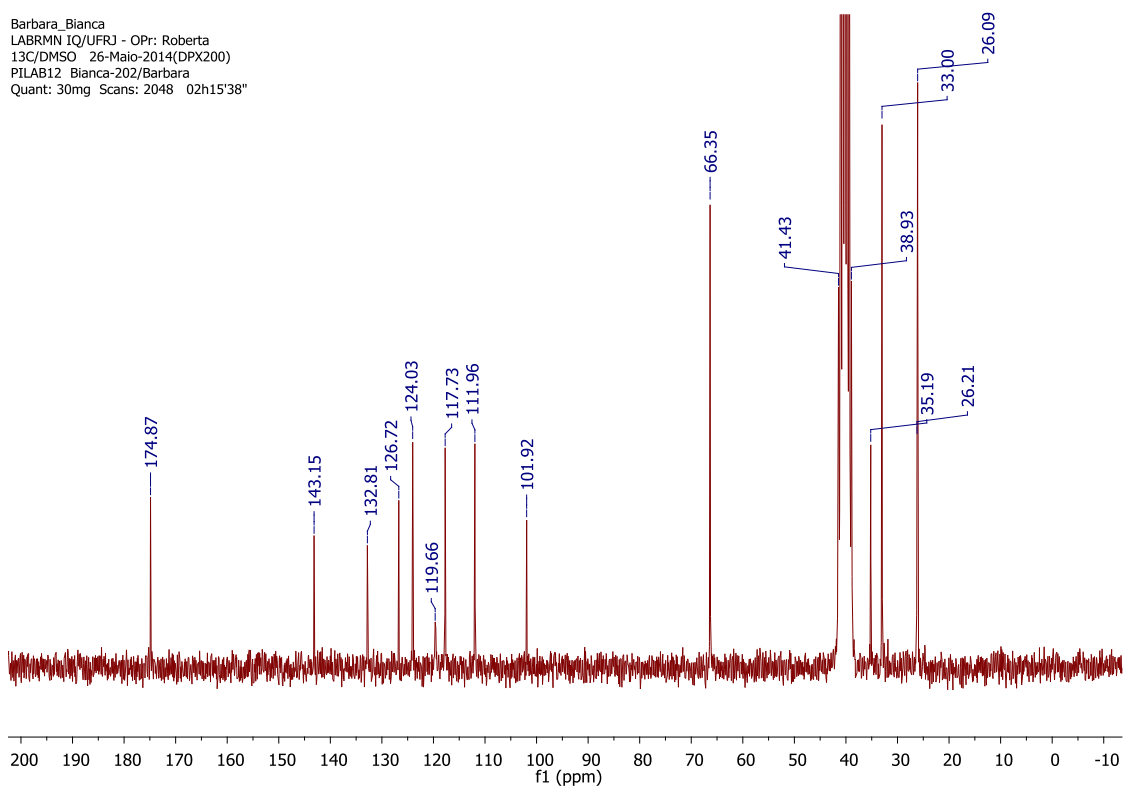


Figura A19. Expansão do espectro de RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) da 5'-(4-ciclohexil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**147**) (continuação)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
13C/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB12 Bianca-202/Barbara
Quant: 30mg Scans: 2048 02h15'38"



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
13C/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB12 Bianca-202/Barbara
Quant: 30mg Scans: 2048 02h15'38"

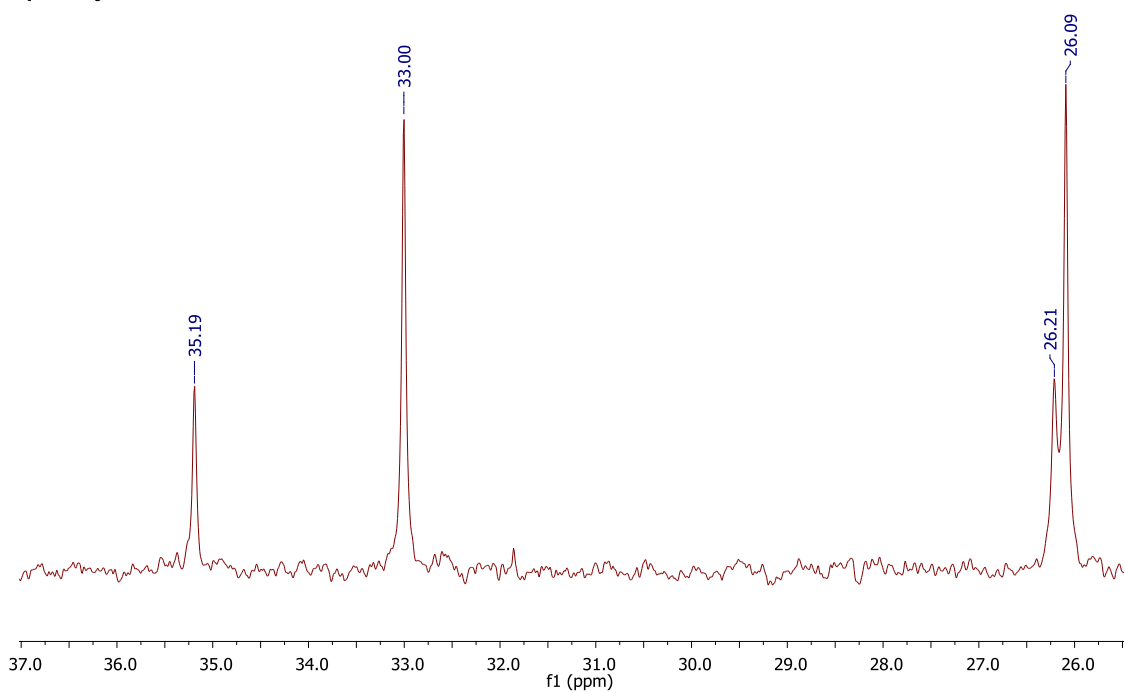


Figura A20. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) do 5'-(4-ciclohexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**147**)

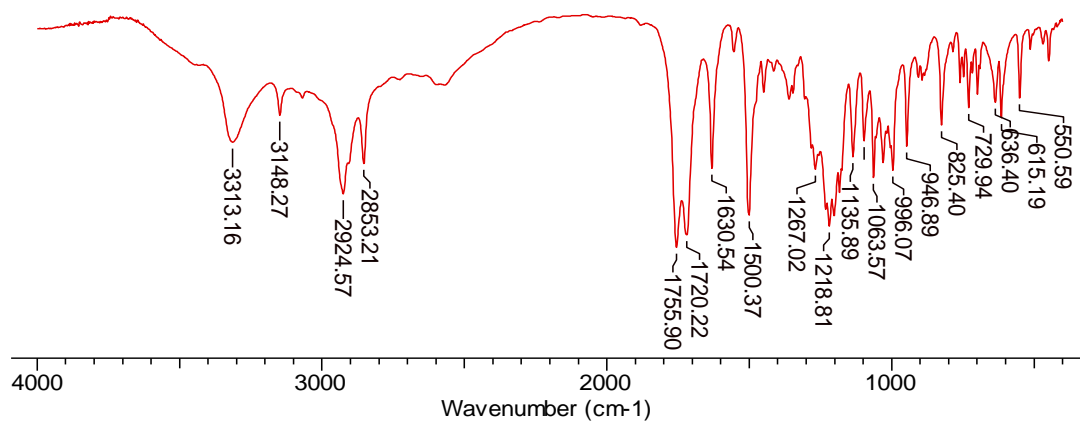


Figura A21. Espectro de IV do 5'-(4-ciclohexil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**147**)

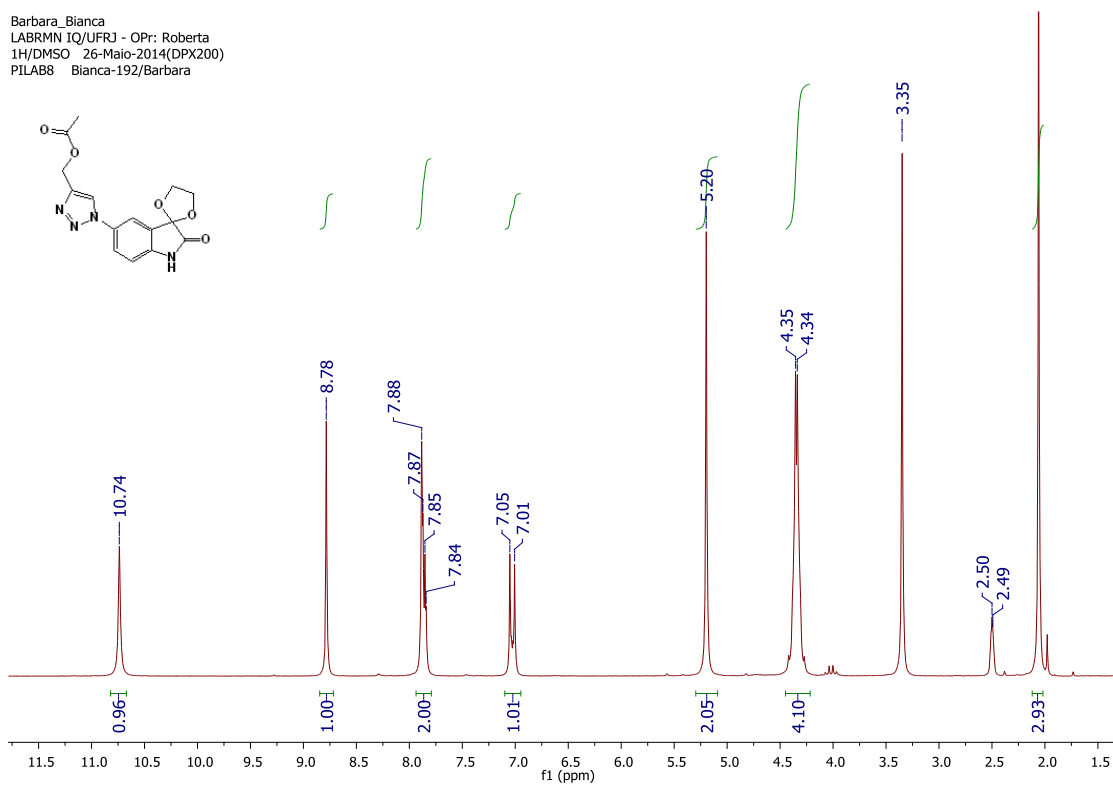
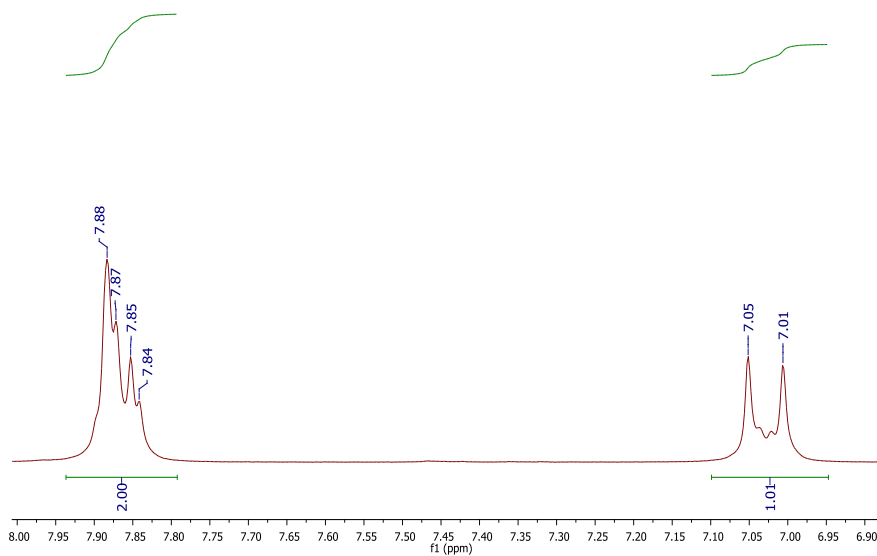


Figura A22. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da 5'-(4-acetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**148**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB8 Bianca-192/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
PILAB8 Bianca-192/Barbara

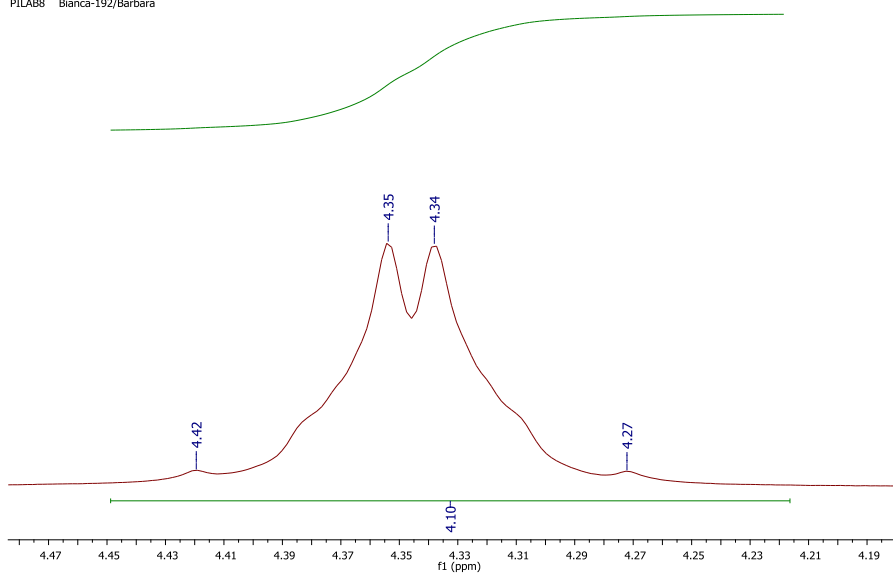


Figura A22. Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) da 5'-(4-acetil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**148**) (continuação)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
 13C/DMSO 26-Maio-2014(DPX200)
 PILAB8 Bianca-193/Barbara
 Quant: 35mg Scans: 2048 02h15'38"

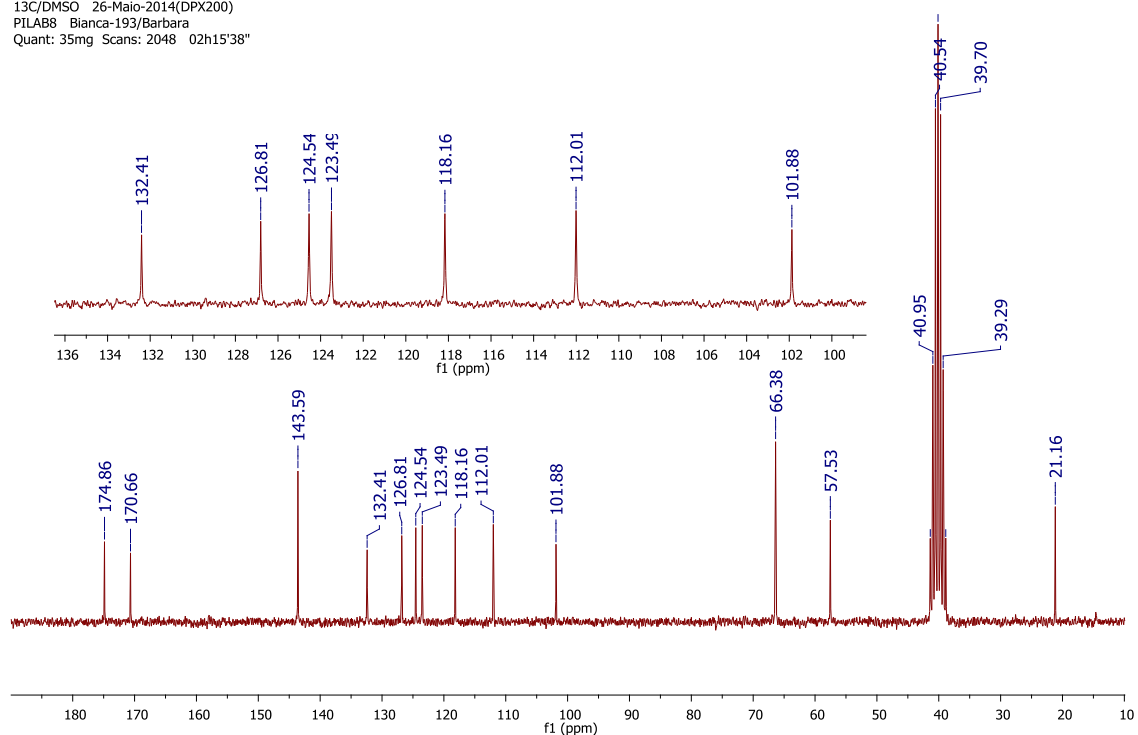


Figura A23. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz) da 5'-(4-acetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**148**)

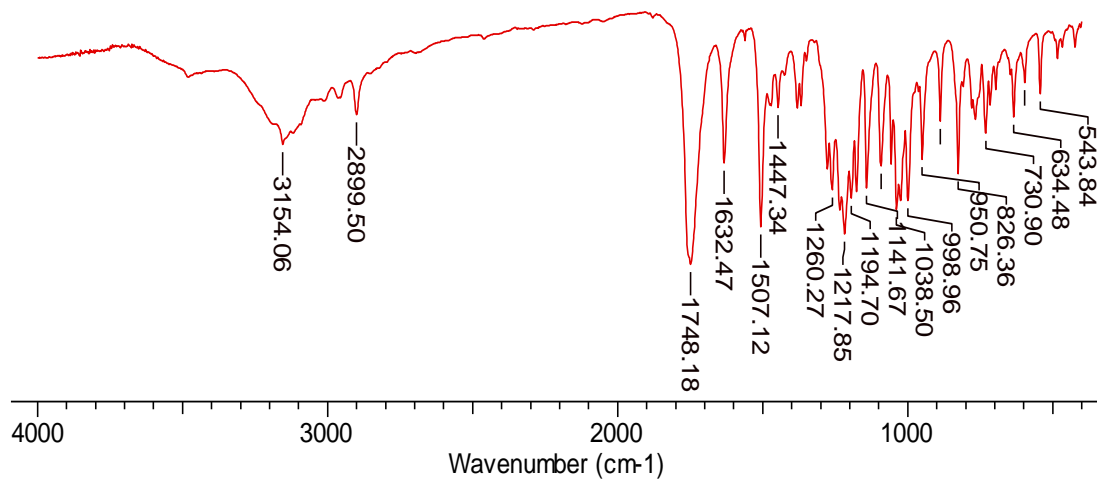
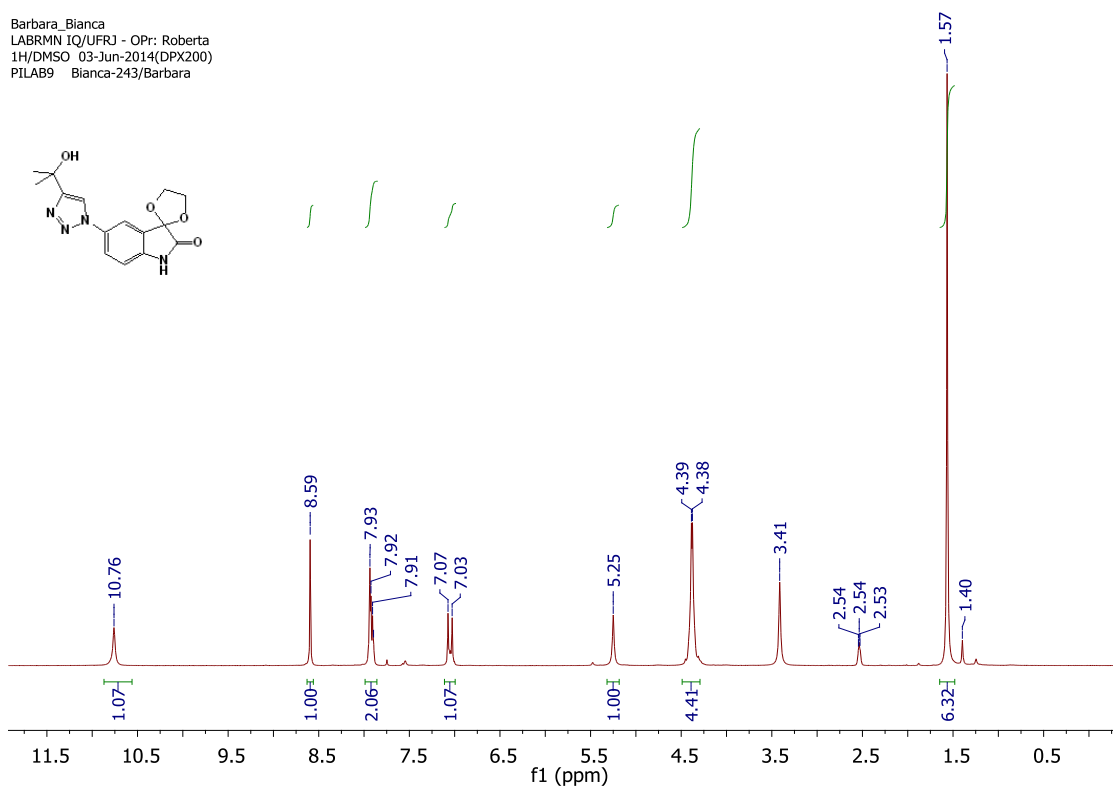


Figura A24. Espectro de IV da 5'-(4-acetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**148**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
PILAB9 Bianca-243/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
PILAB9 Bianca-243/Barbara

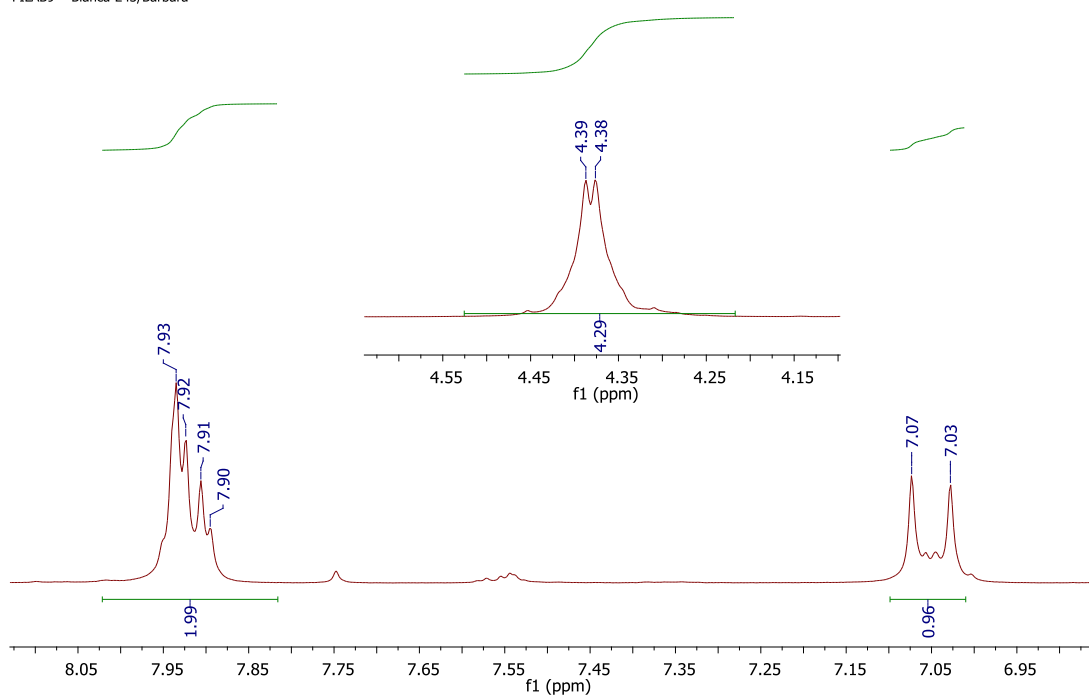


Figura A25. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-(2-hidroxipropan-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**149**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OP: Roberta
 13C/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
 P1LAB9 Bianca-244/Barbara
 Quant: 30mg Scans:2048 02h15'38"

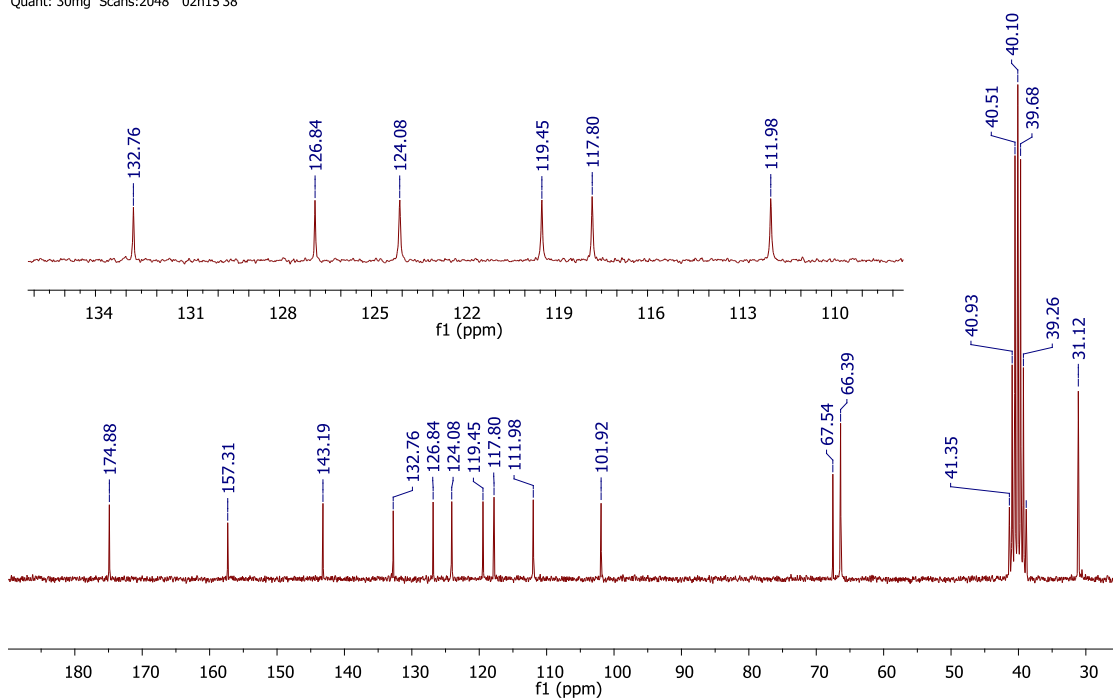


Figura A26. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-(2-hidroxiopropan-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**149**)

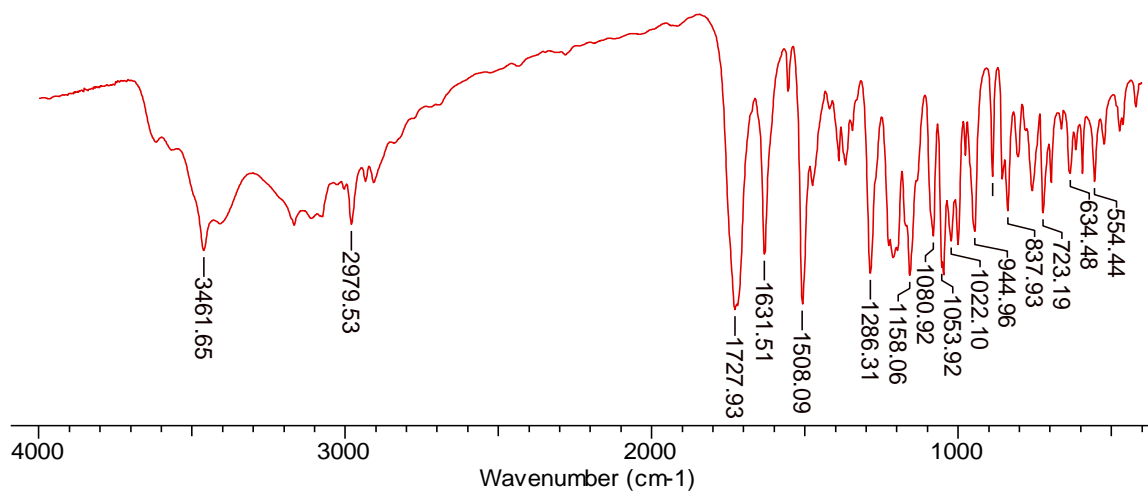
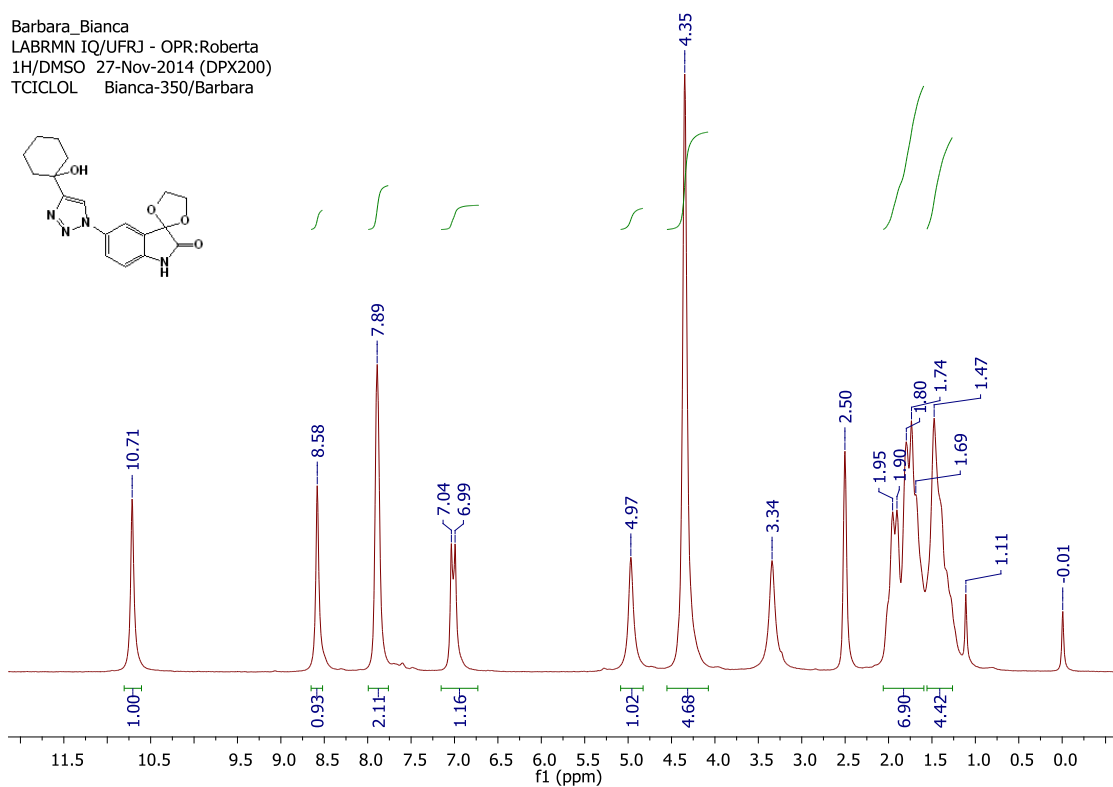


Figura A27. Espectro de IV da 5'-(4-(2-hidroxiopropan-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**149**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPR:Roberta
 1H/DMSO 27-Nov-2014 (DPX200)
 TCICLLOL Bianca-350/Barbara



Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPR:Roberta
 1H/DMSO 27-Nov-2014 (DPX200)
 TCICLLOL Bianca-350/Barbara

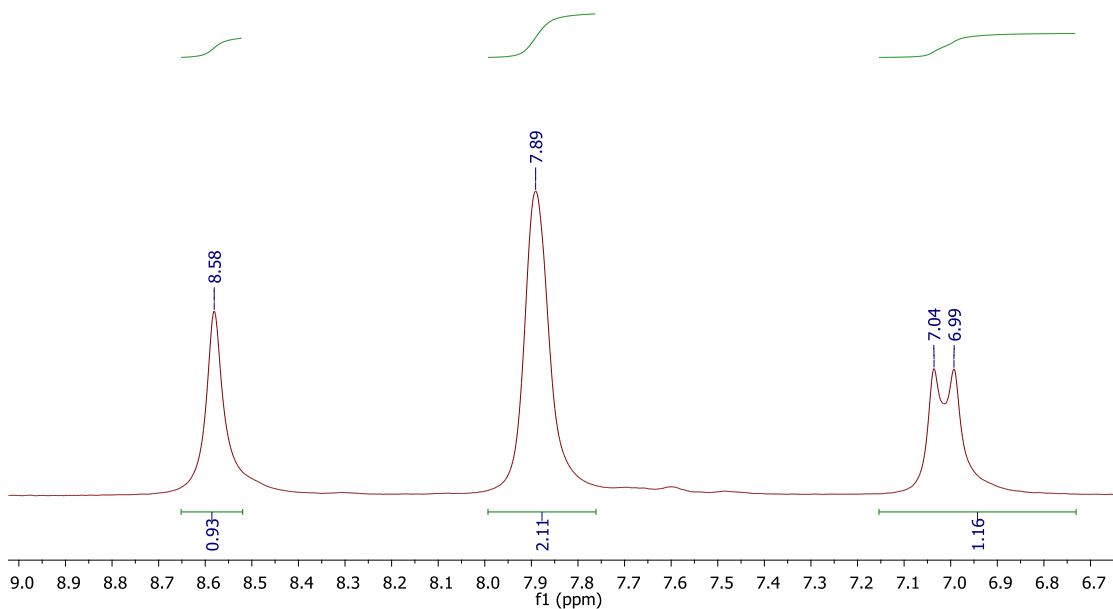


Figura A28. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-(1-hidroxicicloexil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**150**)

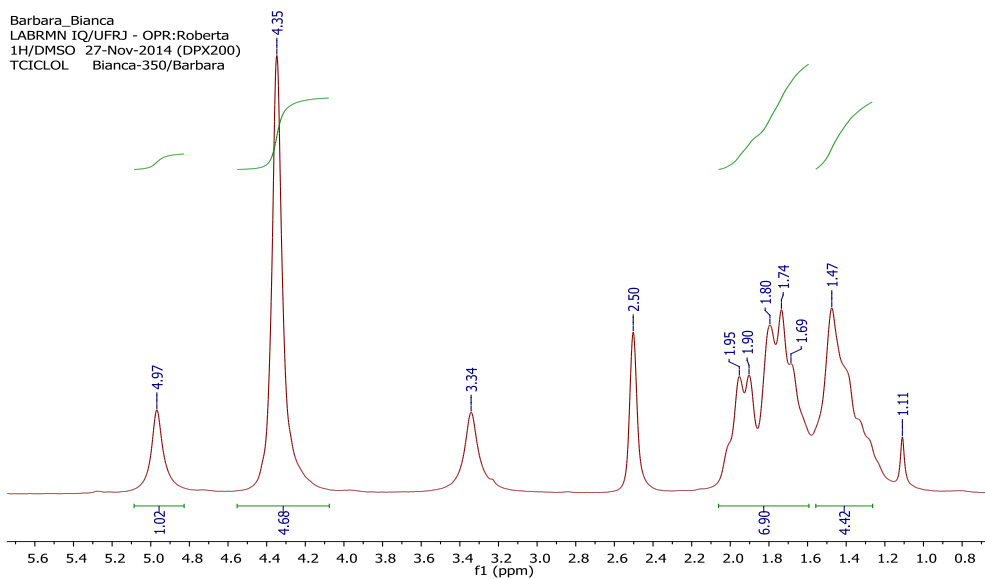


Figura A28. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-(1-hidroxicicloexil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**150**) (continuação)

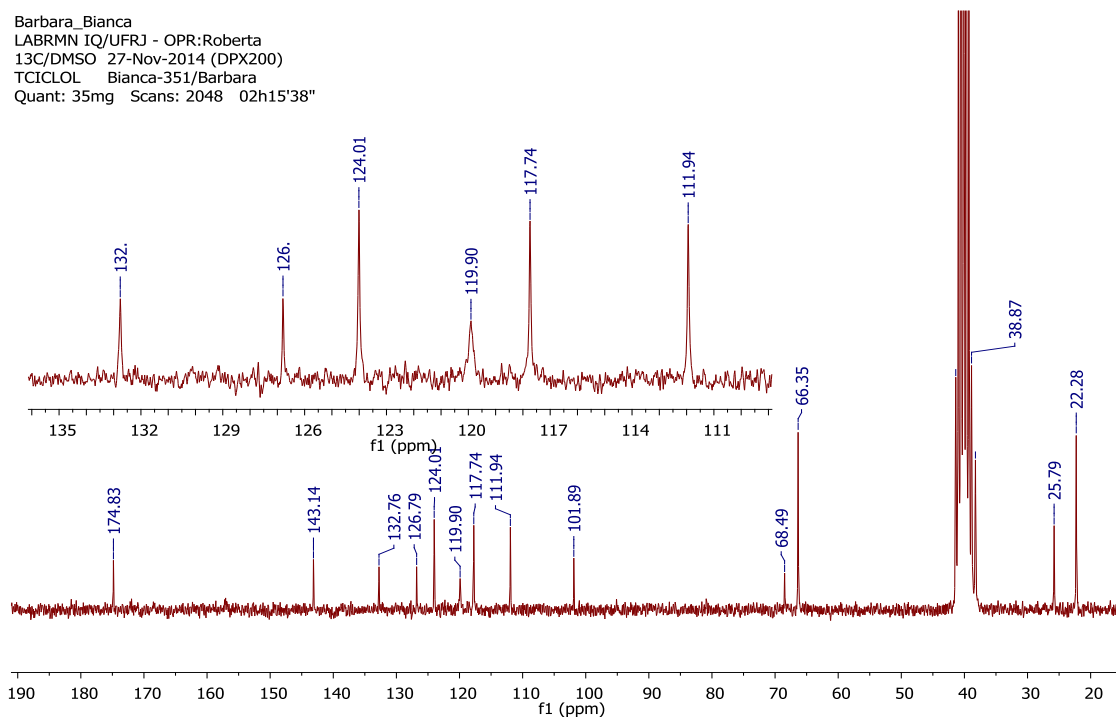


Figura A29. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-(1-hidroxicicloexil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**150**)

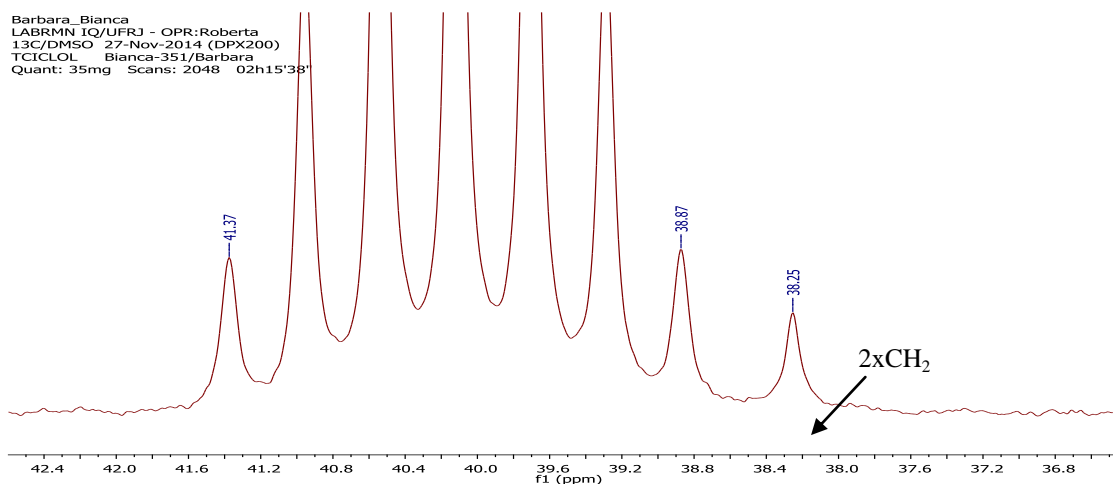


Figura A29. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-(1-hidroxicicloexil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**150**) (continuação)

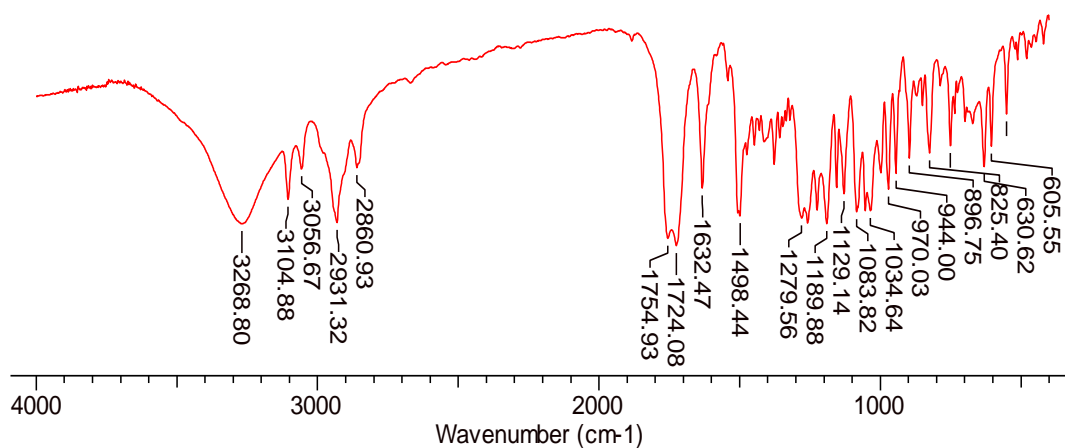
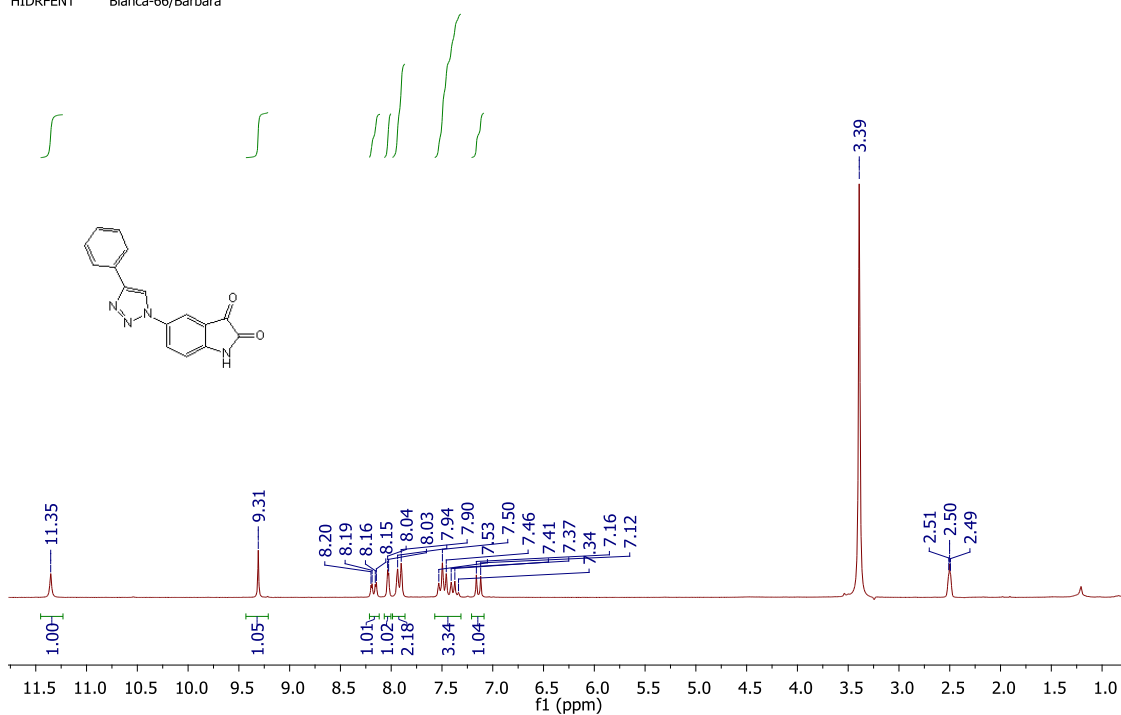


Figura A30. Espectro de IV da 5'-(4-(1-hidroxicicloexil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona) (**150**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPR:Luciana
1H/DMSO 03-Abril-2013 (DPX200)
HIDRFENT Bianca-66/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPR:Luciana
1H/DMSO 03-Abril-2013 (DPX200)
HIDRFENT Bianca-66/Barbara

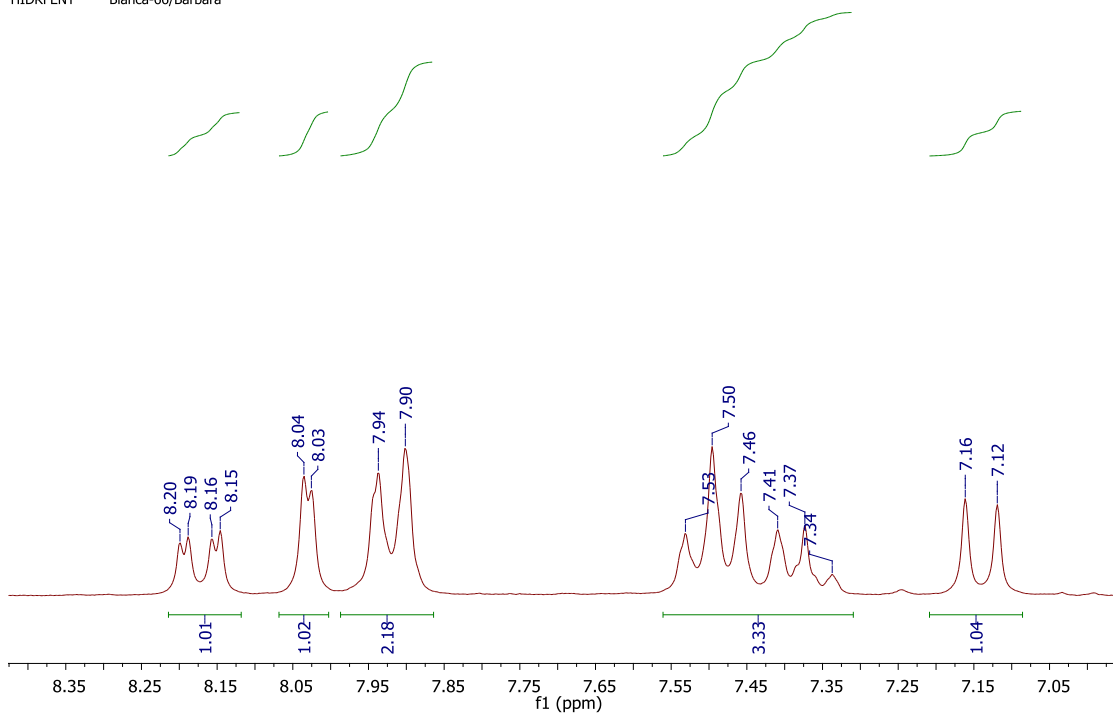


Figura A31. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)1,3'-indolina-2'-ona (**151**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPR:Luciana
 13C/DMSO 03-Abril-2013 (DPX200)
 HIDRFENT Bianca-67/Barbara
 Quant: 30mg 2048scans 02h15'38"

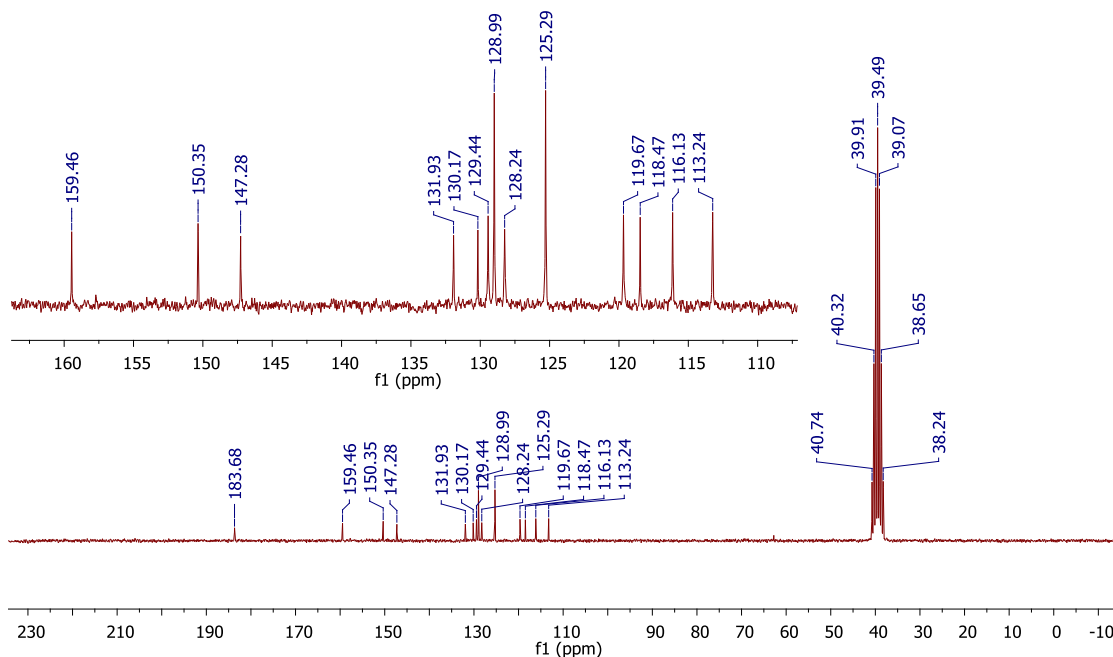


Figura A32. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)1,3'-indolina-2'-ona (**151**)

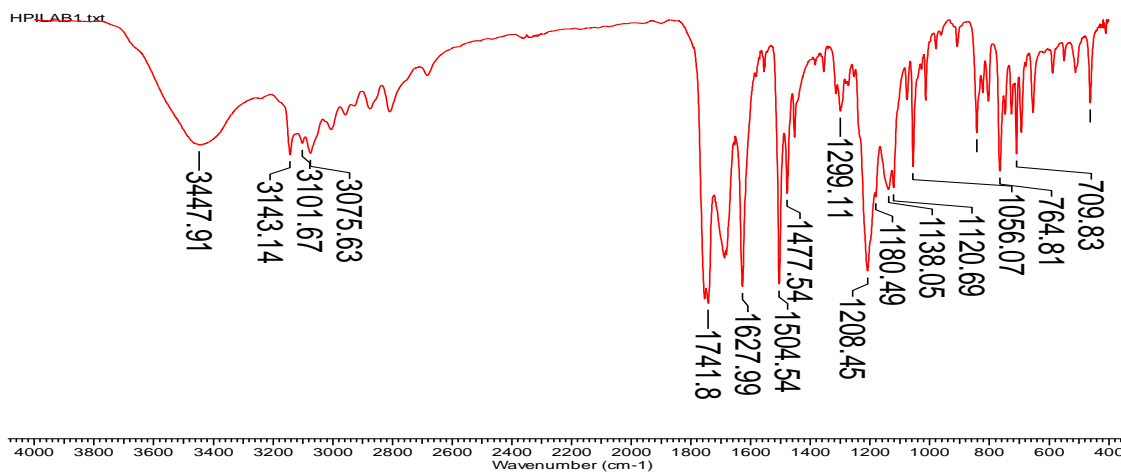
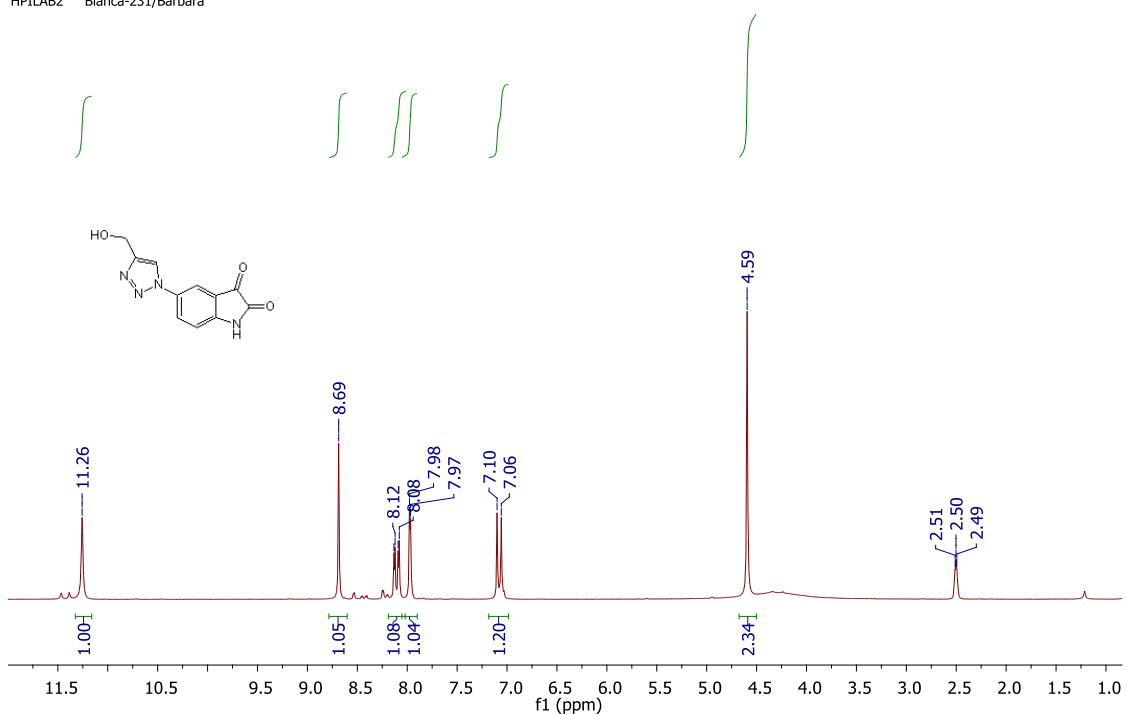


Figura A33. Espectro de IV da 5'-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)1,3'-indolina-2'-ona (**151**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB2 Bianca-231/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB2 Bianca-231/Barbara

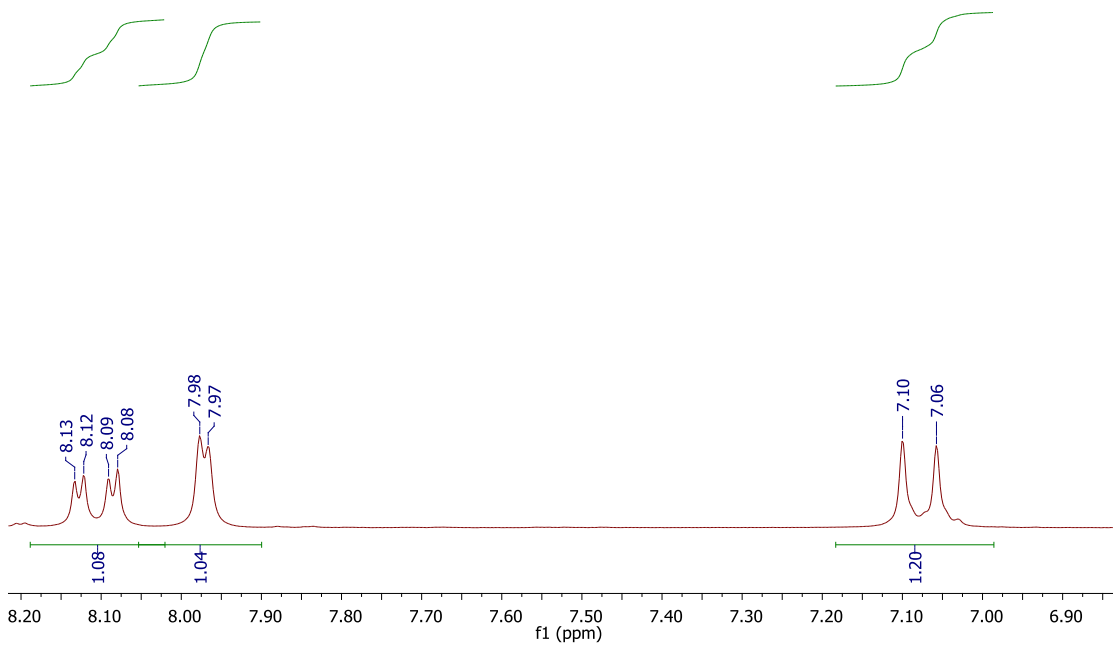


Figura A34. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-hidroxi-metil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**152**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
 13C/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
 HPILAB2 Bianca-232/Barbara
 Quant: 30mg Scans:2048 02h15'38"

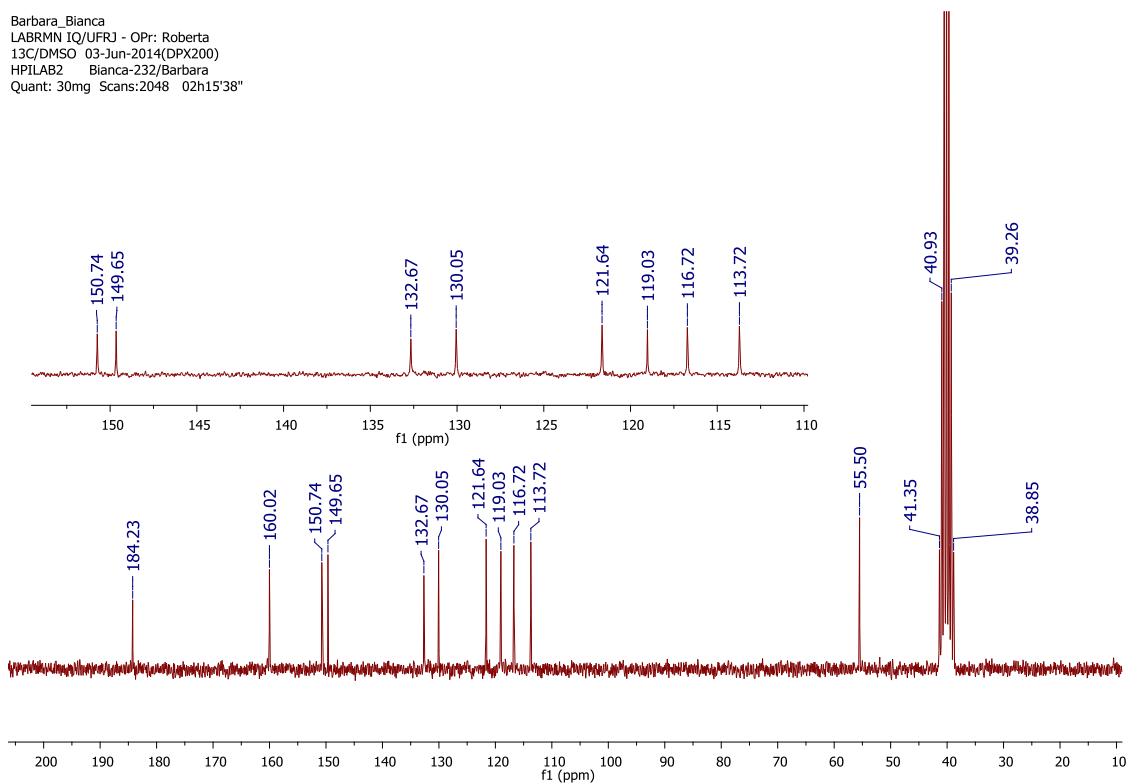


Figura A35. Espectro de RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) da 5'-(4-hidroximetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**152**)

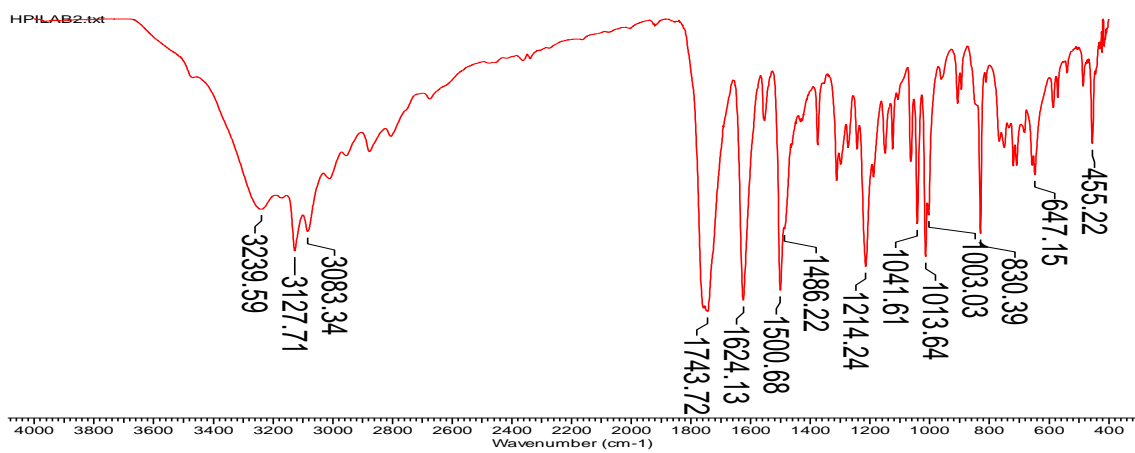
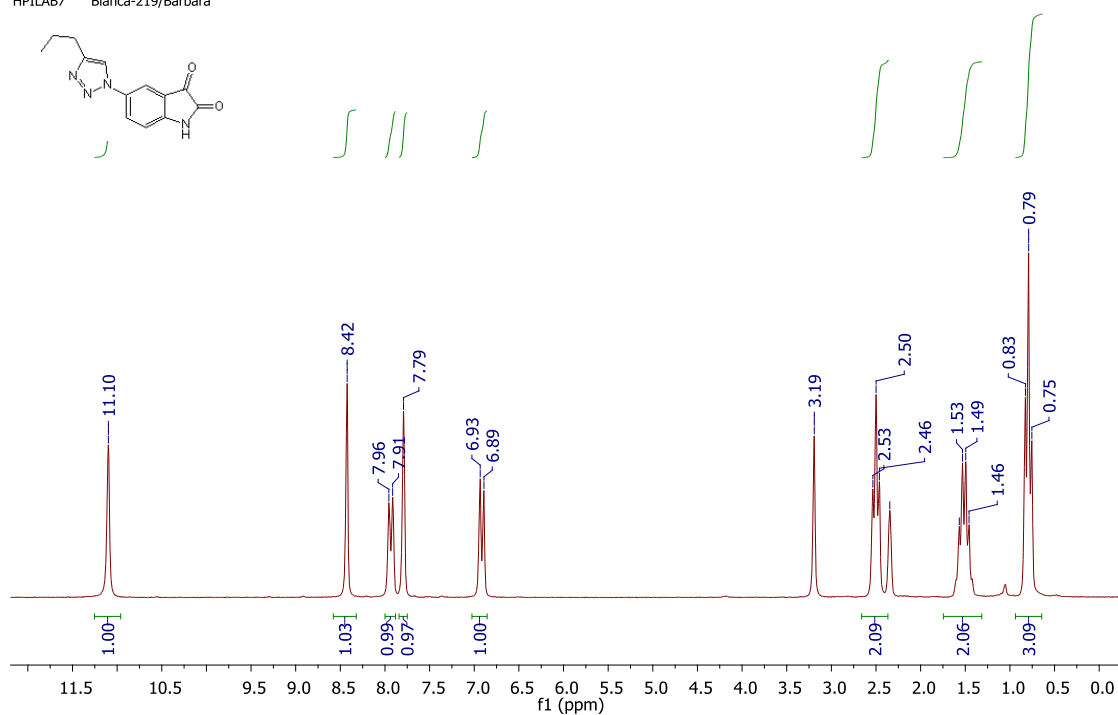


Figura A36. Espectro de IV da 5'-(4-hidroximetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**152**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB7 Bianca-219/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB7 Bianca-219/Barbara

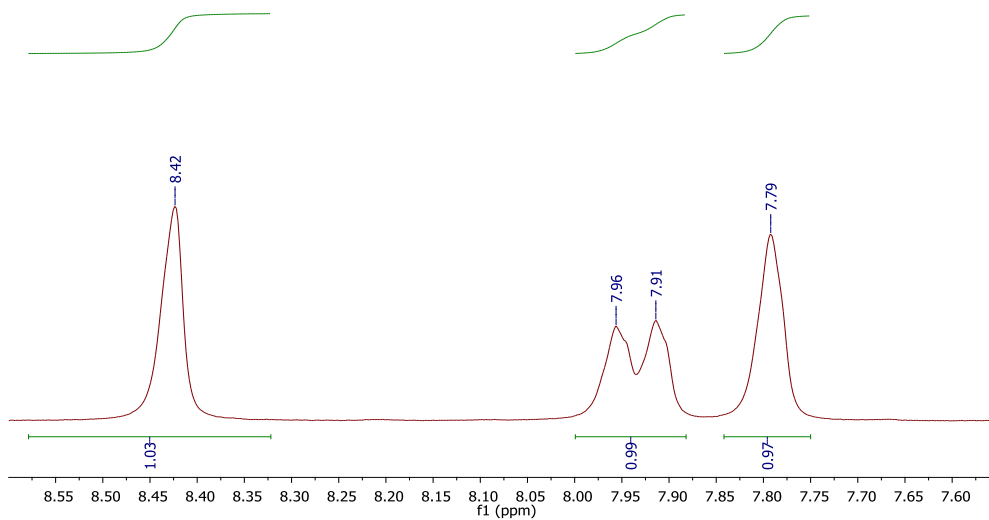


Figura A37. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (153)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UF RJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB7 Bianca-219/Barbara

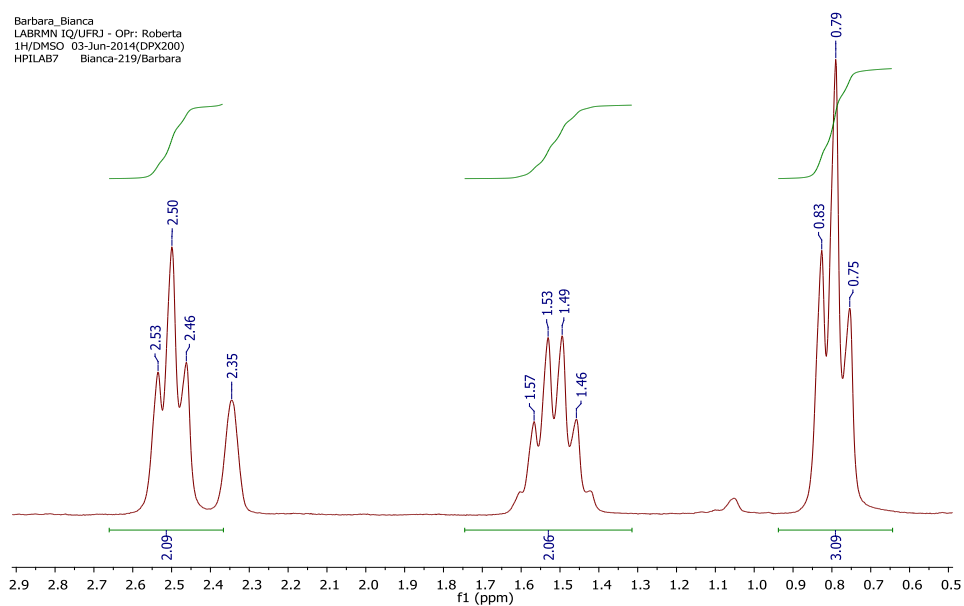


Figura A37. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-propil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**153**) (continuação)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UF RJ - OPr: Roberta
13C/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB7 Bianca-220/Barbara
Quant: 30mg Scans:2048 02h15'38"

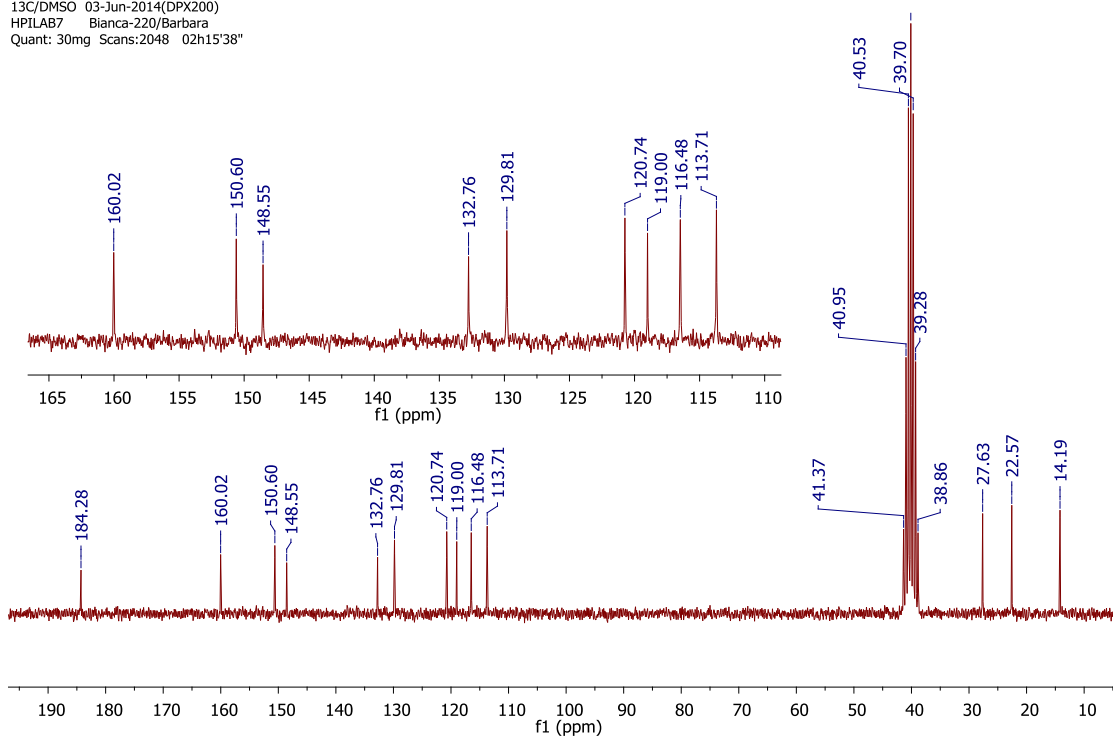


Figura A38. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-propil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**153**)

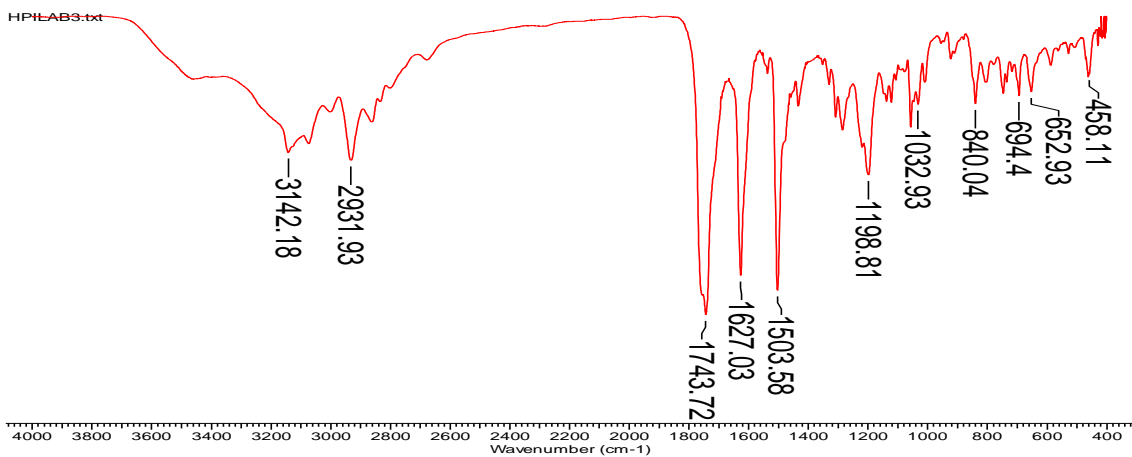


Figura A39. Espectro de IV da 5'-(4-propil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**153**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
 1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
 HPILAB6 Bianca-222/Barbara

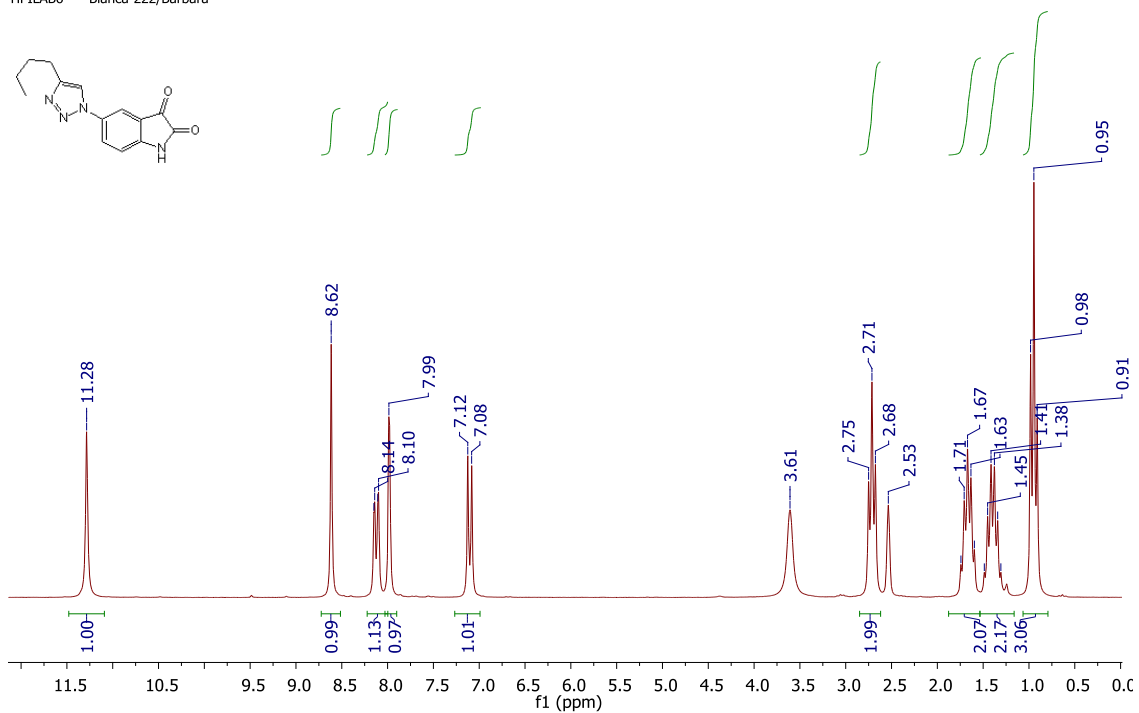
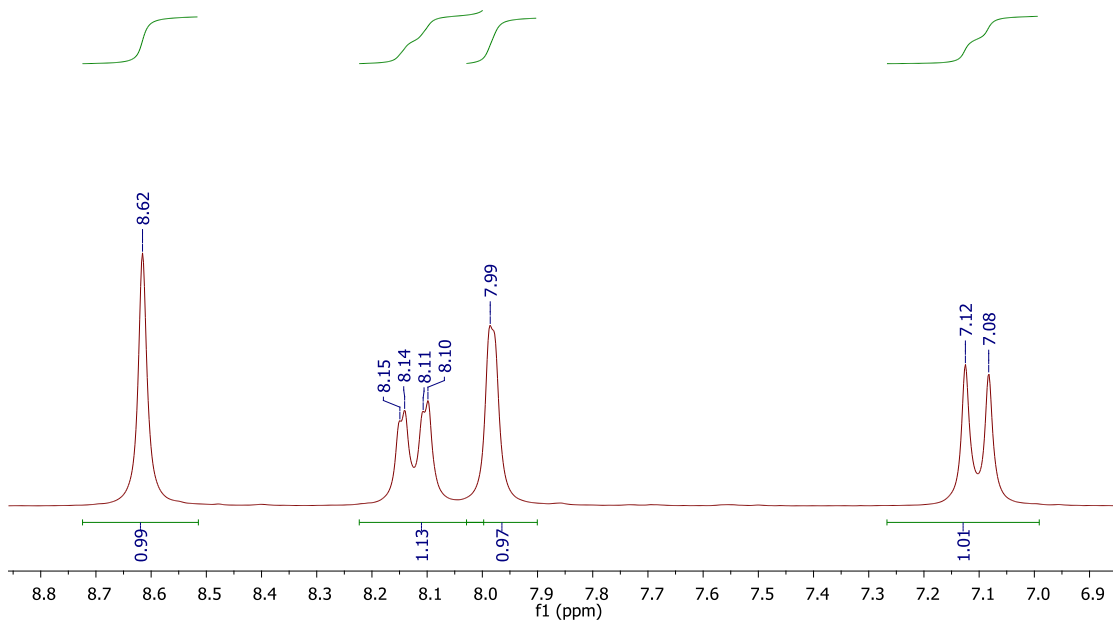


Figura A40. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**154**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB6 Bianca-222/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB6 Bianca-222/Barbara

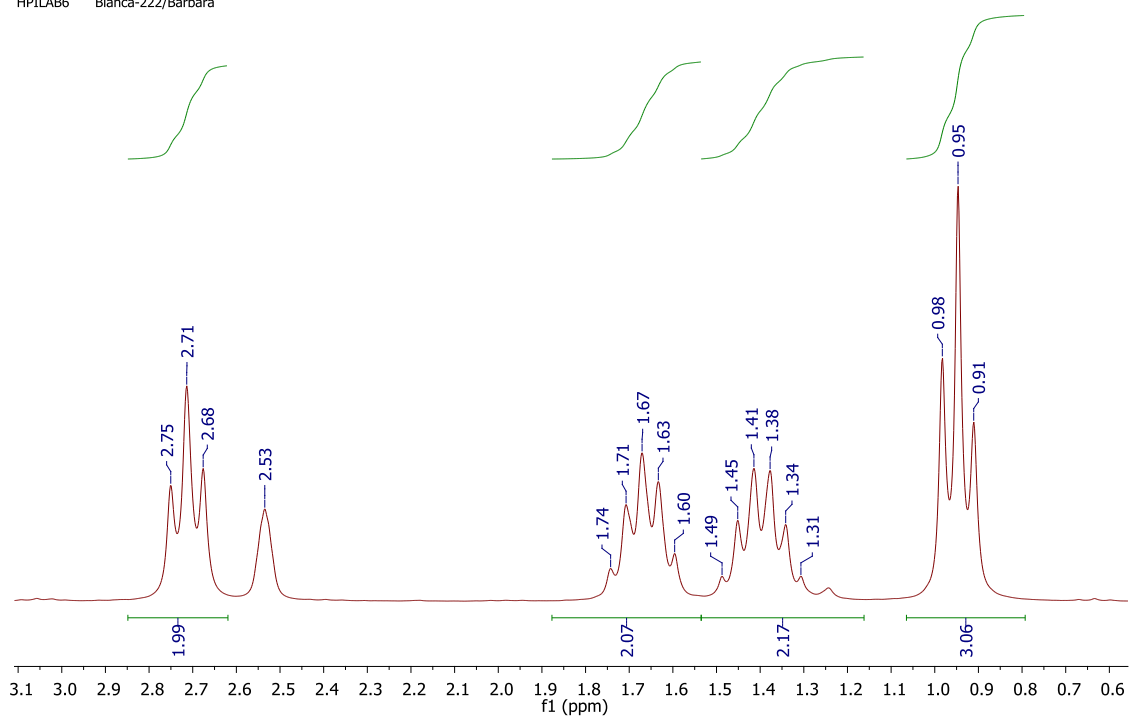


Figura A40. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**154**) (continuação)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OP: Roberta
 13C/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
 HPILAB6 Bianca-223/Barbara
 Quant: 30mg Scans:2048 02h15'38"

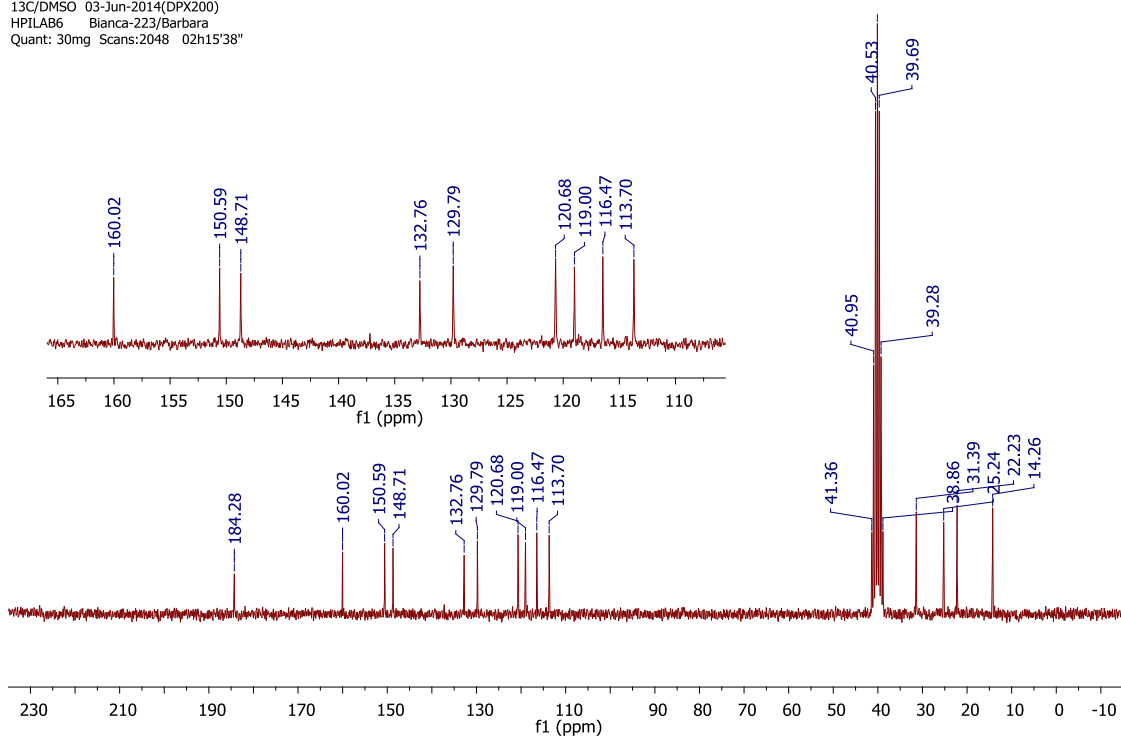


Figura A41. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**154**)

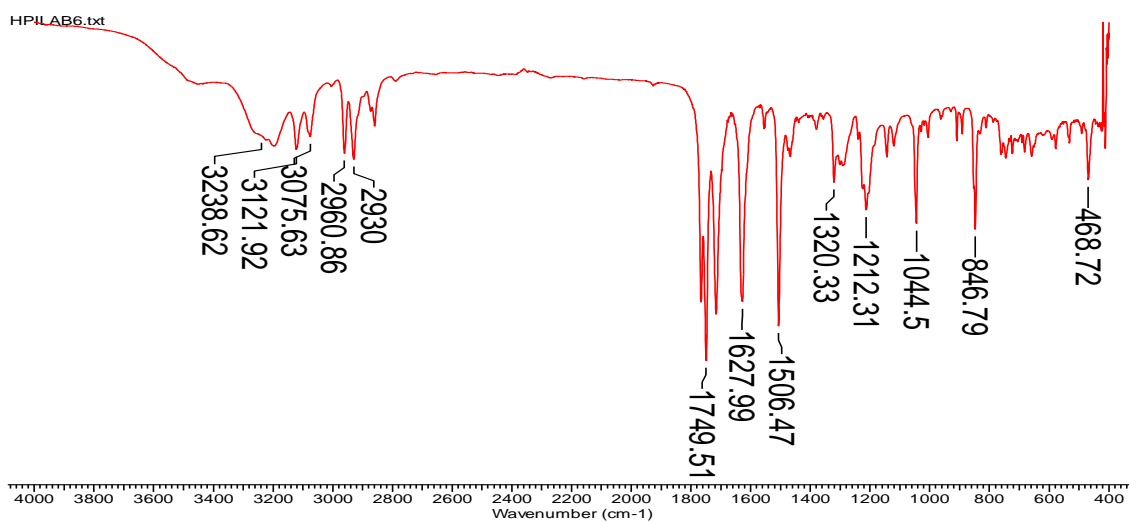
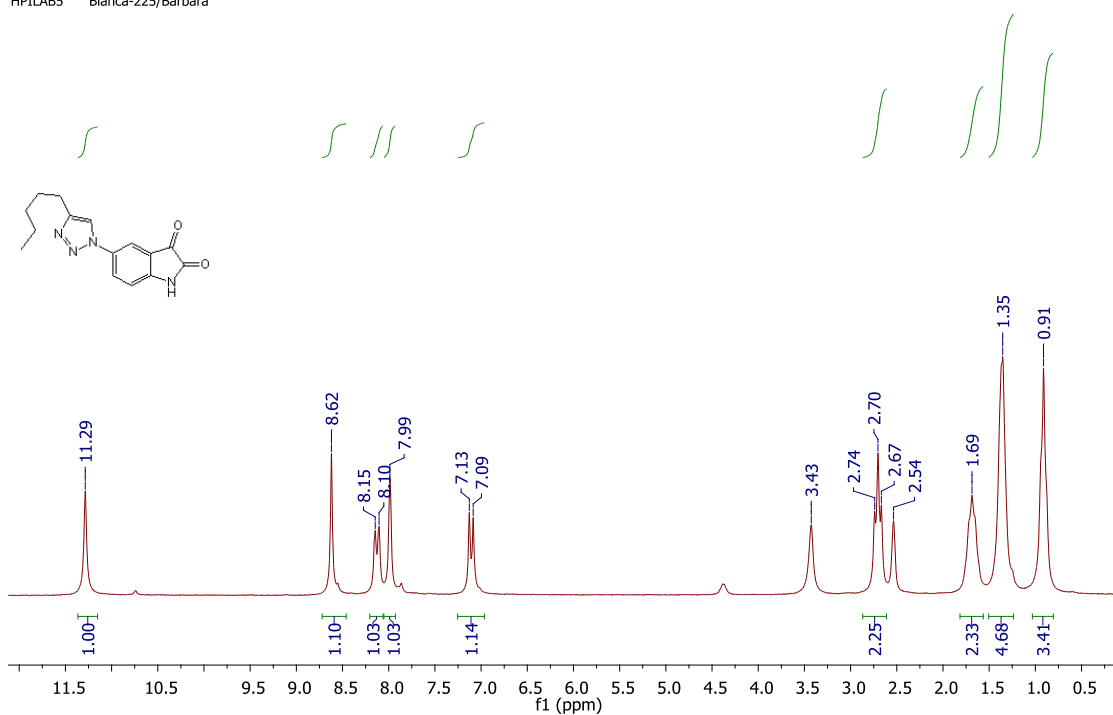


Figura A42. Espectro de IV da 5'-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**154**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB5 Bianca-225/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB5 Bianca-225/Barbara

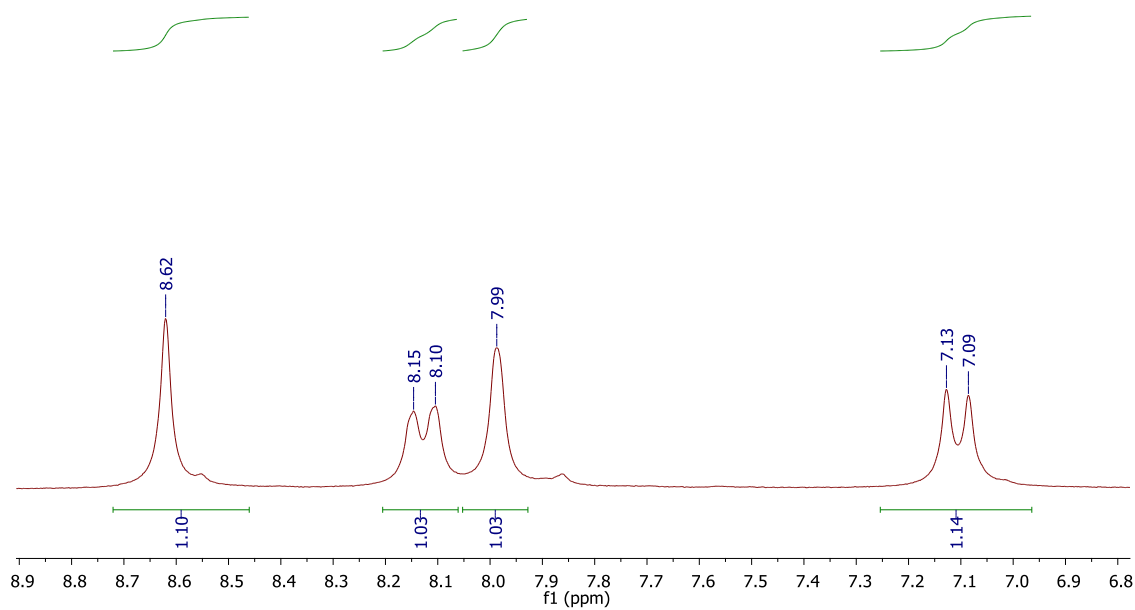


Figura A43. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**155**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
 13C/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
 HPILAB5 Bianca-226/Barbara
 Quant: 30mg Scans:2048 02h15'38"

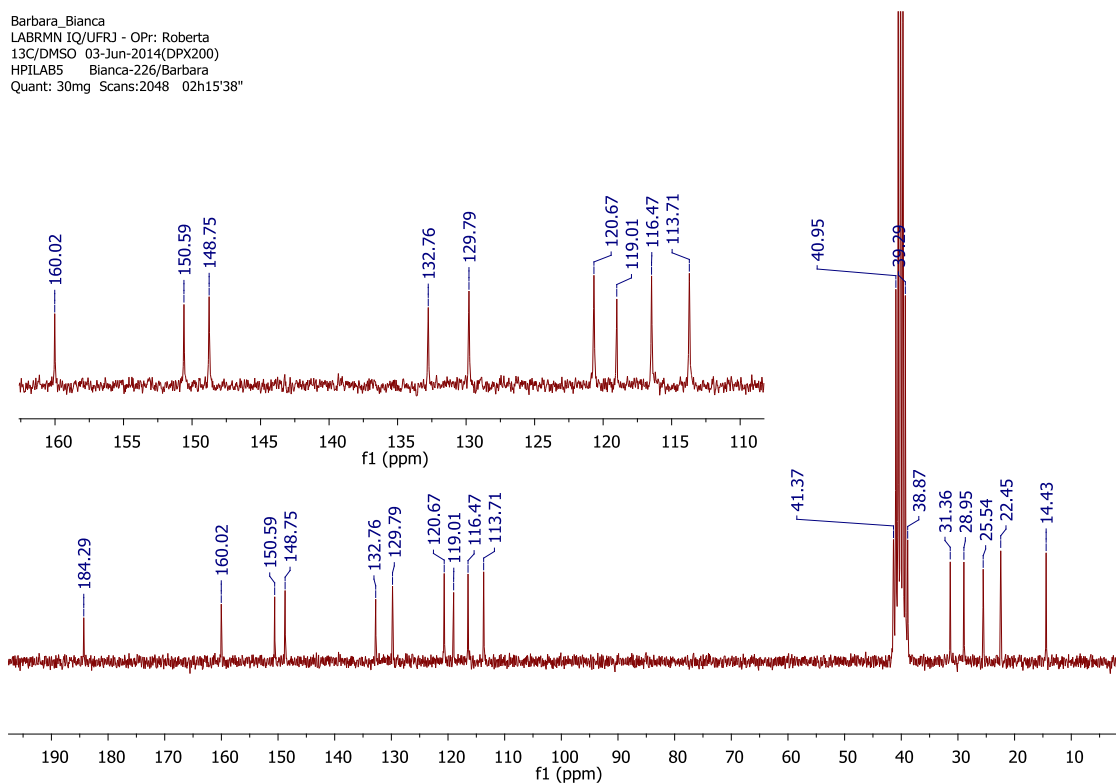


Figura A44. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**155**)

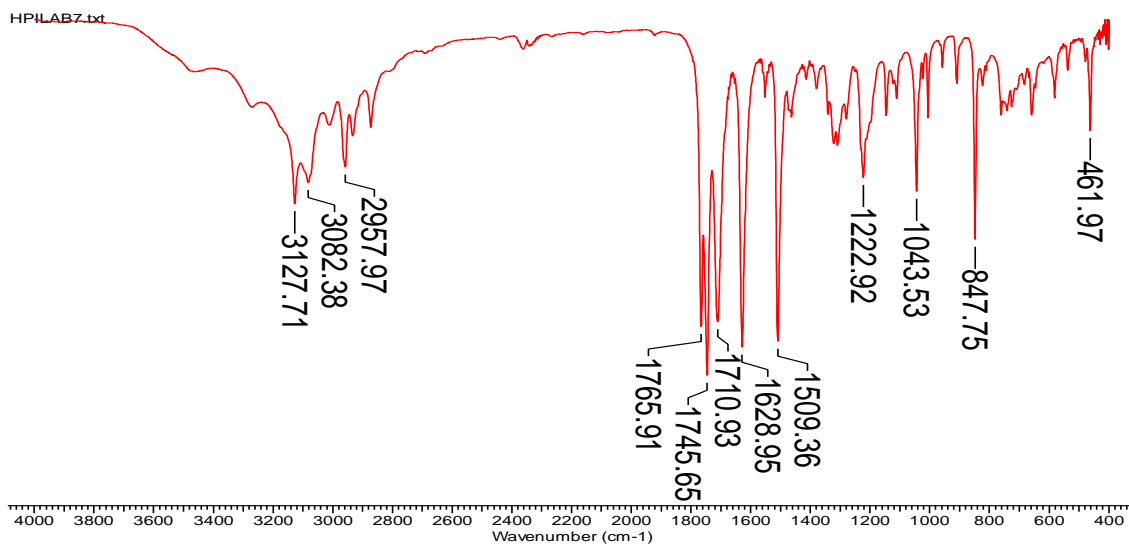


Figura A45. Espectro de IV da 5'-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**155**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ Opr: Roberta
 1H/DMSO 18-Set-2015 (DPX200)
 HCICLOEX Bianca-419/Barbara

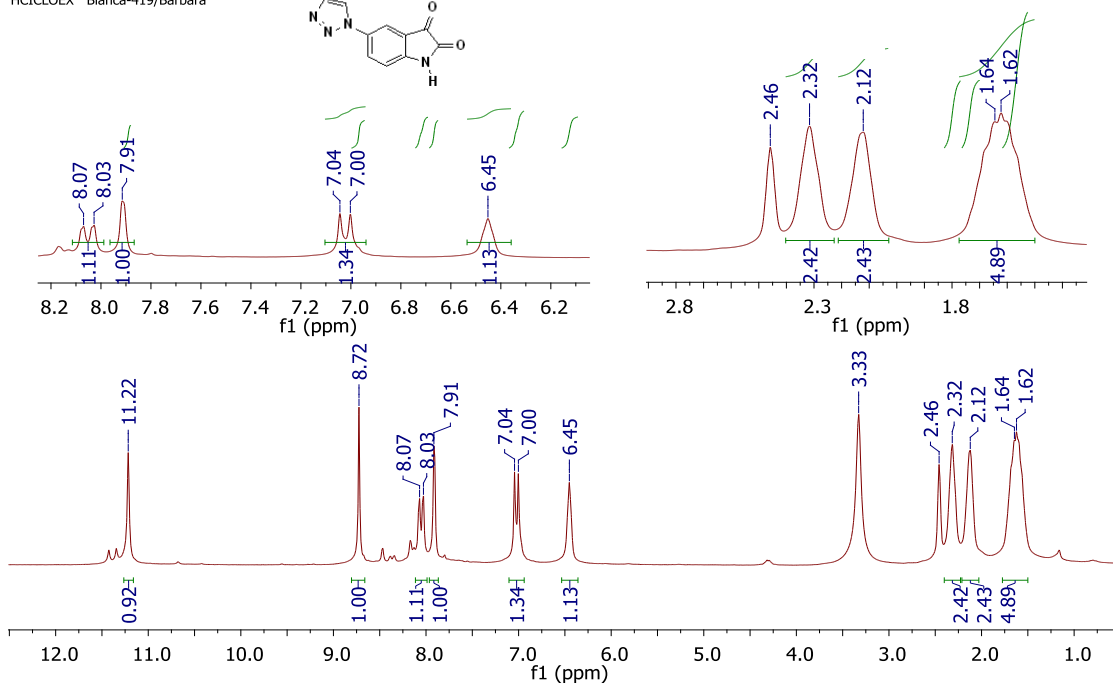
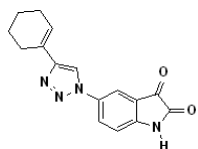


Figura A46. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**156**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ Opr: Roberta
 13C/DMSO 18-Set-2015 (DPX200)
 HCICLOEX Bianca-420/Barbara
 Quant:30mg Scans:2048 02h15'38"

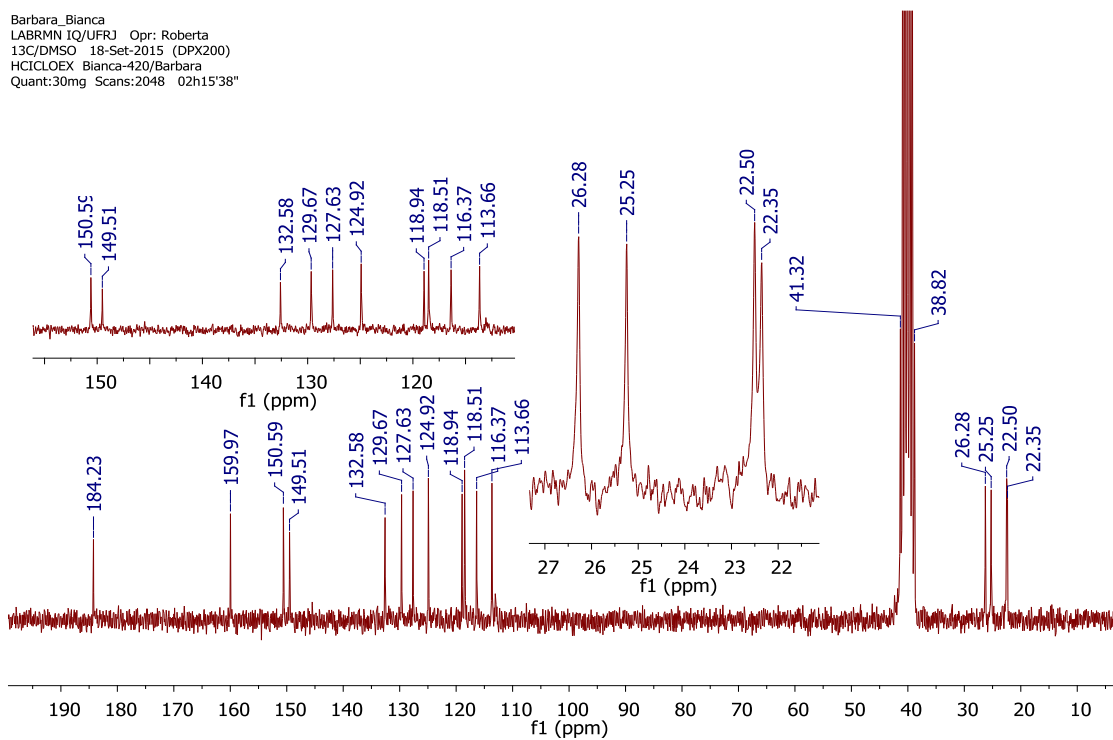


Figura A47. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**156**)

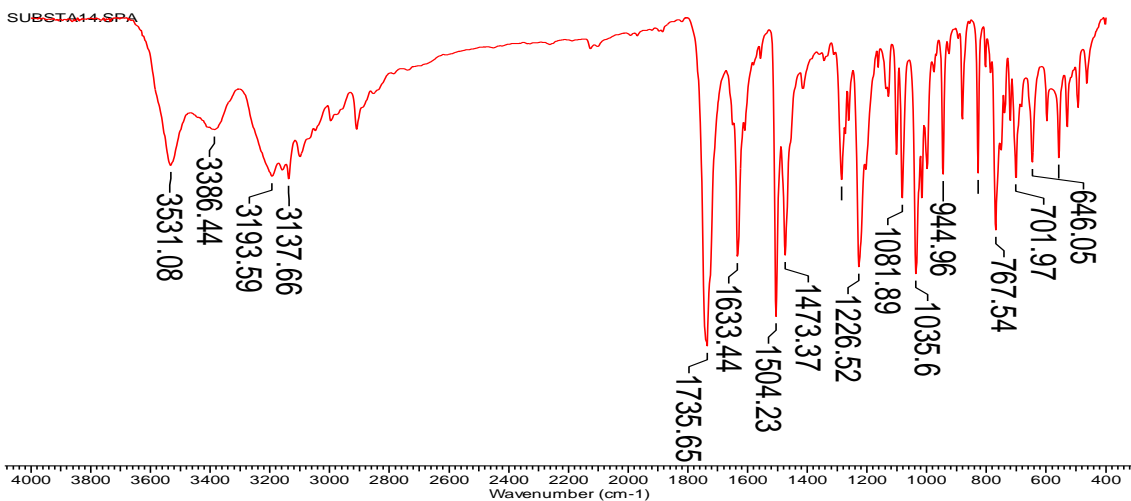


Figura A48. Espectro de IV da 5'-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**156**)

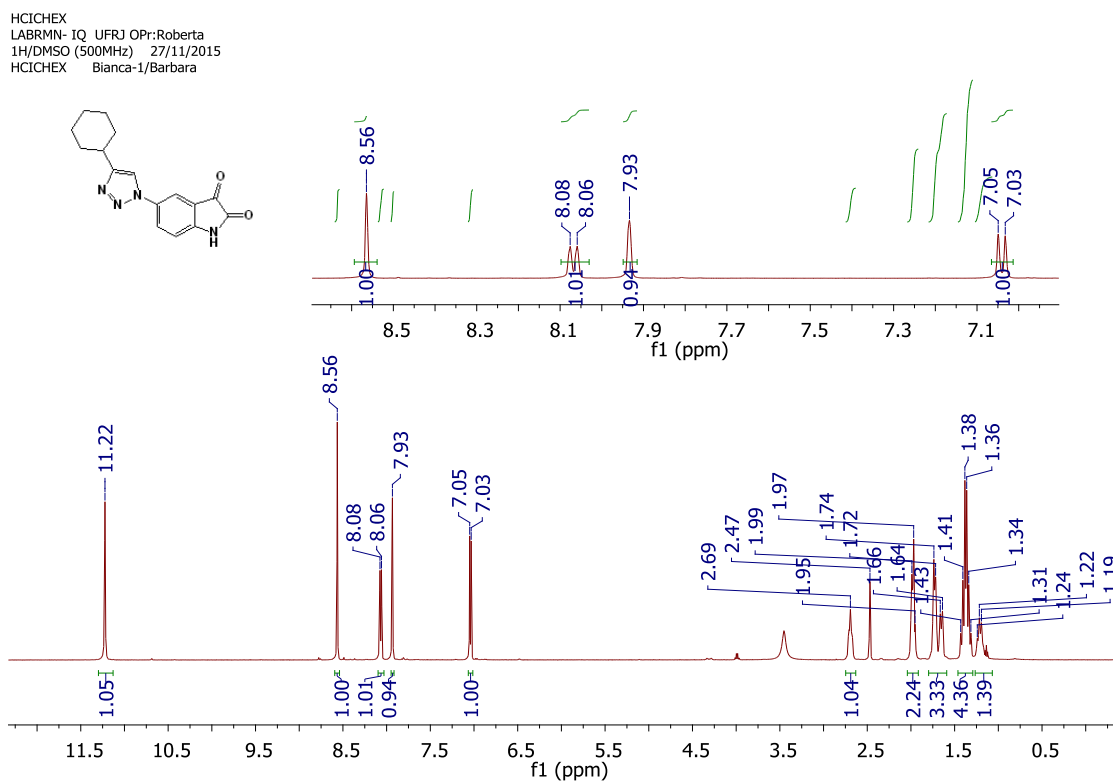


Figura A49. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) da 5'-(4-ciclohexil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**157**)

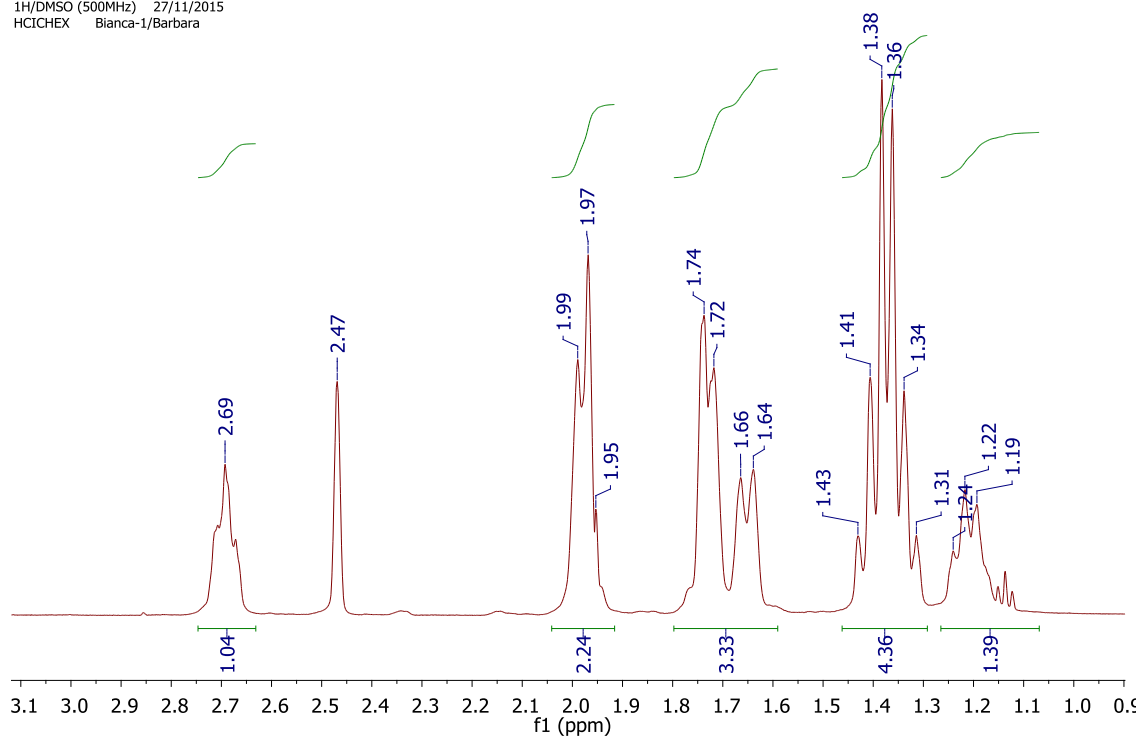


Figura A49. Expansão do espectro de RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) da 5'-(4-ciclohexil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**157**) (continuação)

HCICHEX
 LABRMN- IQ UFRJ OPr:Roberta
 13C/DMSO (500MHz) 27/11/2015
 HCICHEX Bianca-2/Barbara
 20mg

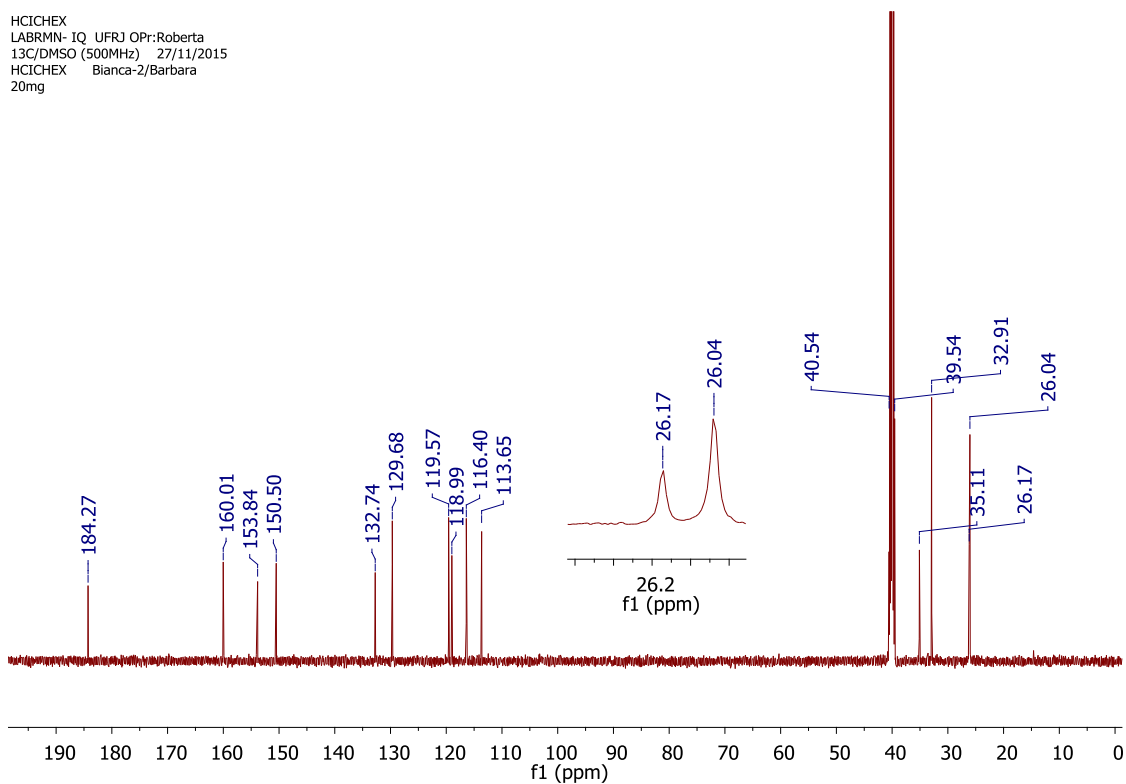


Figura A50. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) da 5'-(4-ciclohexil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**157**)

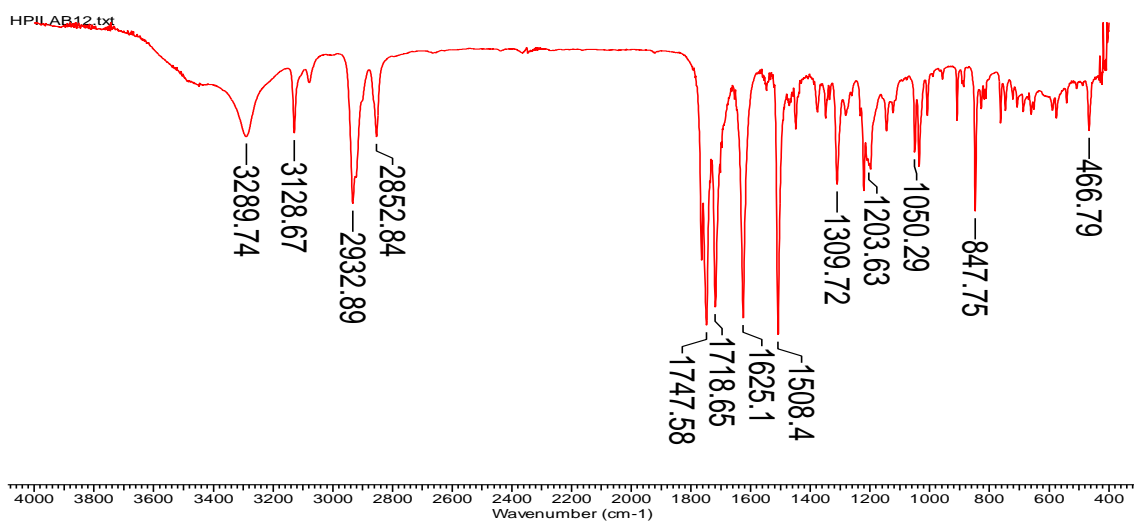
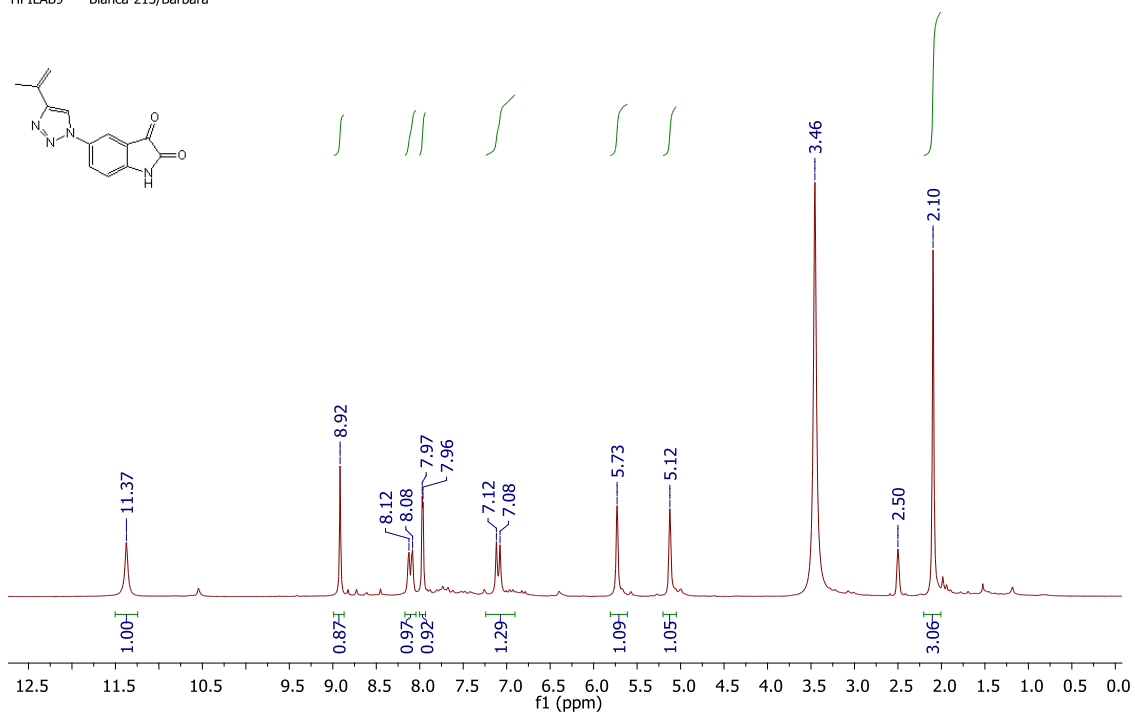


Figura A51. Espectro de IV da 5'-(4-ciclohexil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**157**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB9 Bianca-213/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
1H/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
HPILAB9 Bianca-213/Barbara

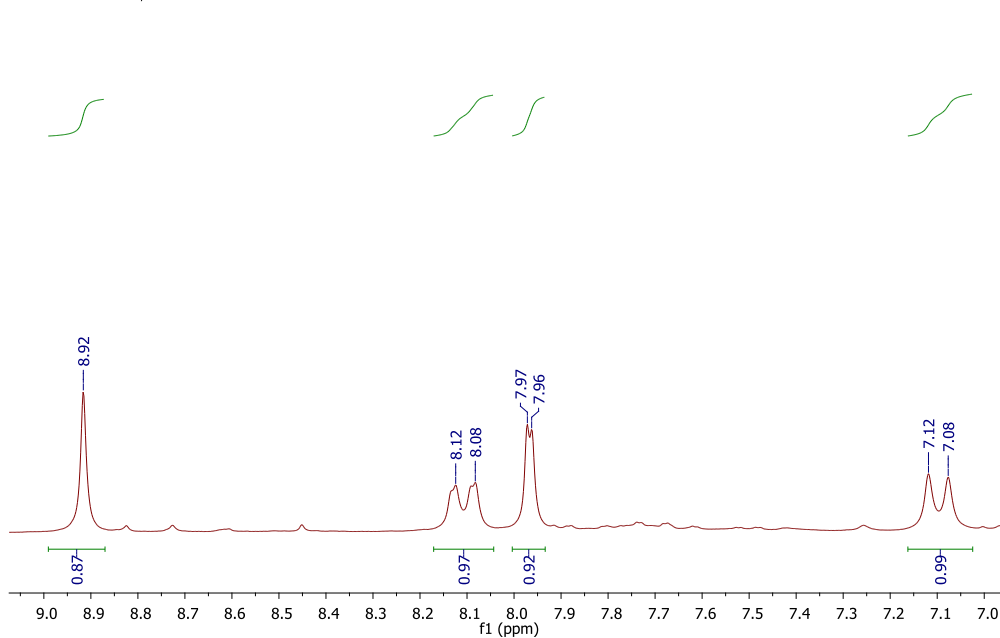


Figura A52. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5'-(4-(prop-1-en-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-1,3'-indolona-2'-ona (**158**)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ - OPr: Roberta
 13C/DMSO 03-Jun-2014(DPX200)
 HPILAB9 Bianca-214/Barbara
 Quant: 30mg Scans:2048 02h15'38"

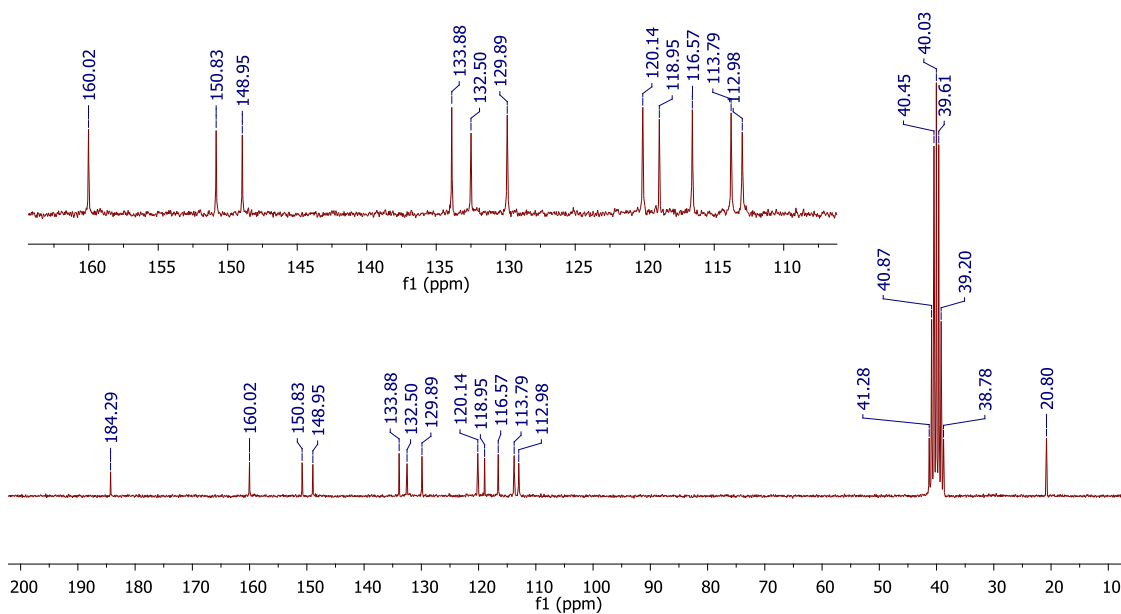


Figura A53. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5'-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**158**)

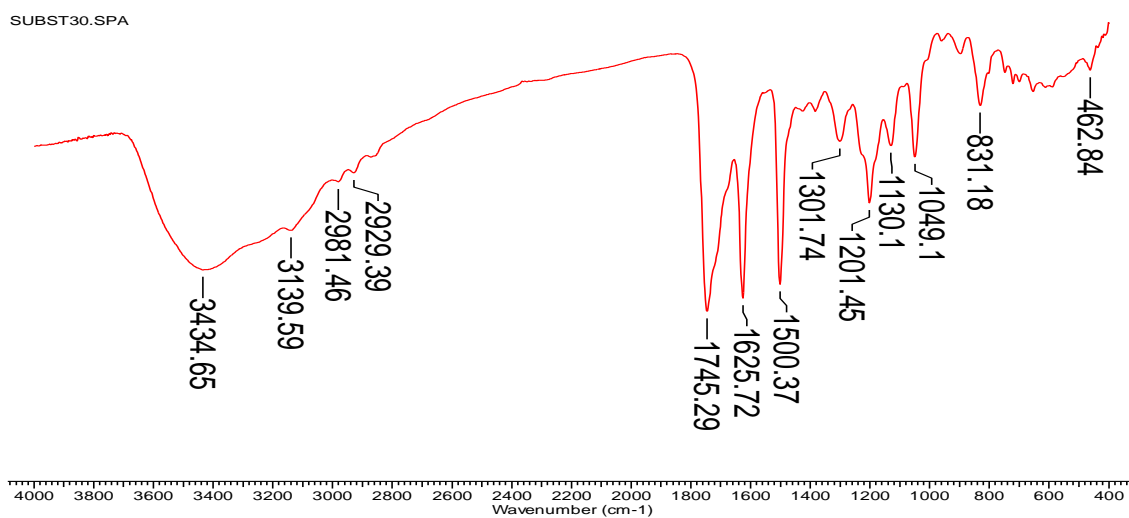
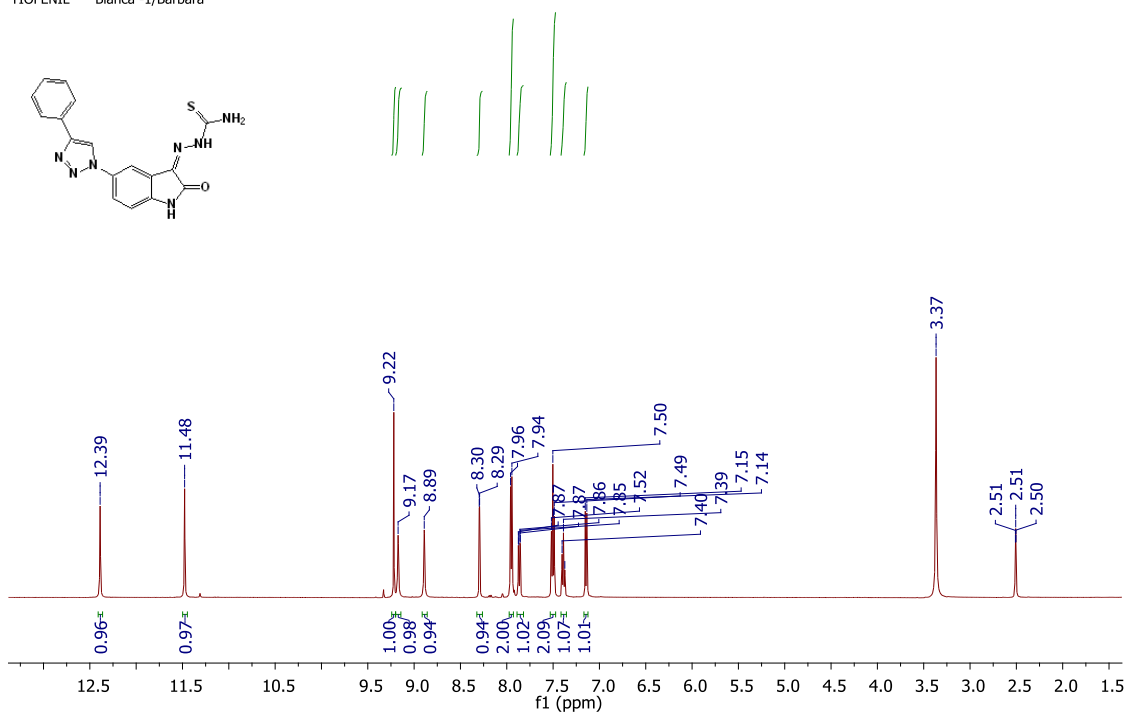


Figura A54. Espectro de IV da 5'-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-1,3'-indolina-2'-ona (**158**)

TIOFENIL
 LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
 1H/DMSO (AV500) 23/02/2016
 TIOFENIL Bianca -1/Barbara



TIOFENIL
 LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
 1H/DMSO (AV500) 23/02/2016
 TIOFENIL Bianca -1/Barbara

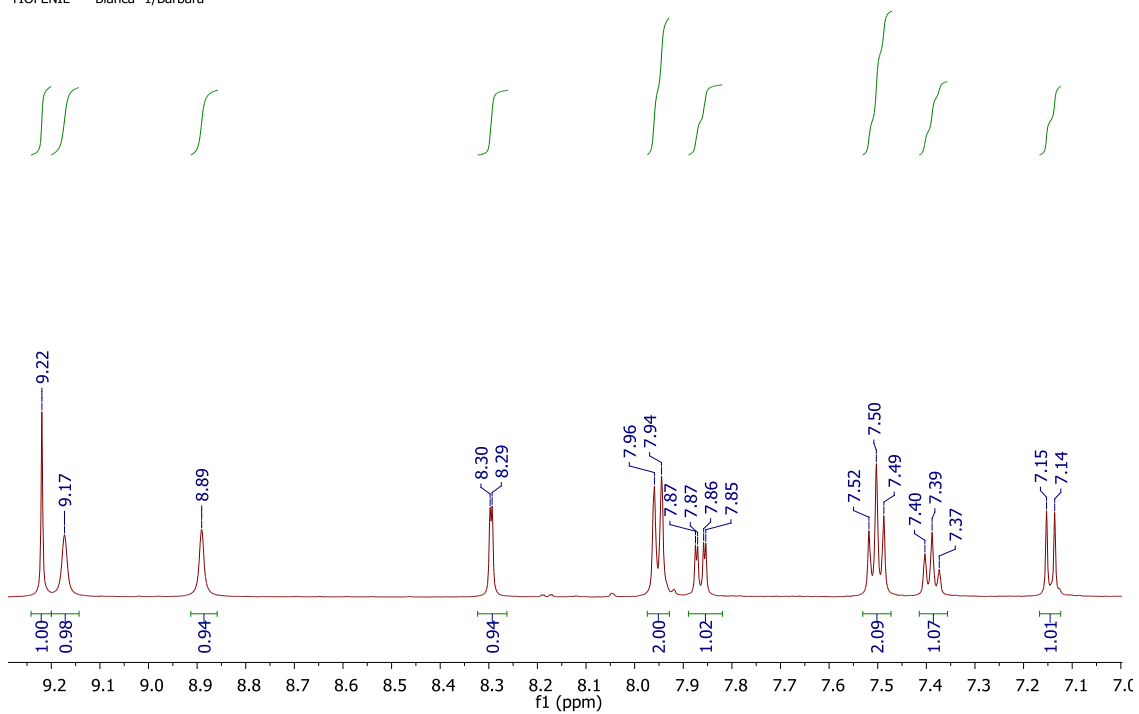


Figura A55. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**159**)

TIOFENIL
 LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
 1H/DMSO (AV500) 23/02/2016
 TIOFENIL Bianca -1/Barbara

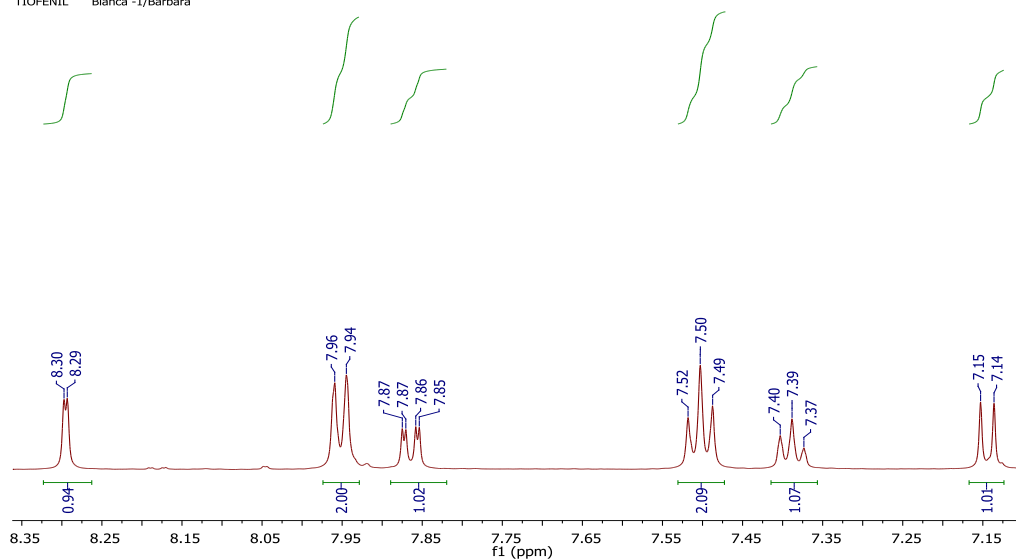


Figura A55. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**159**) (continuação)

TIOFENIL
 LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
 13C/DMSO (AV500) 23/02/2016
 TIOFENIL Bianca -5/Barbara
 20mg

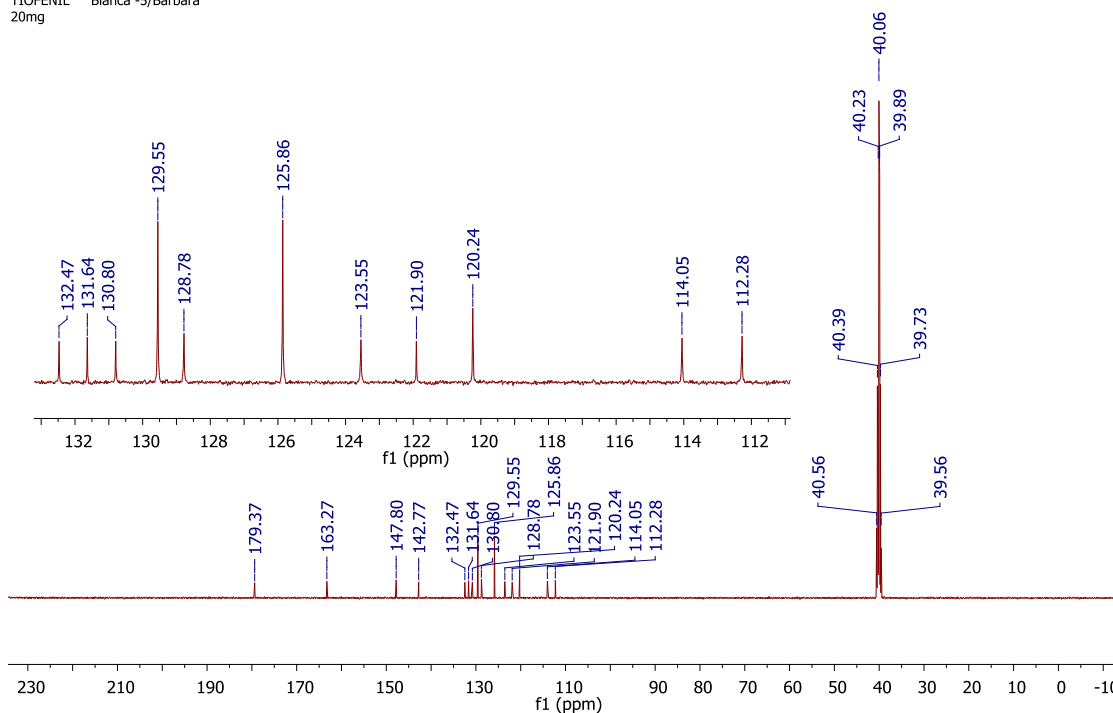


Figura A56. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**159**)

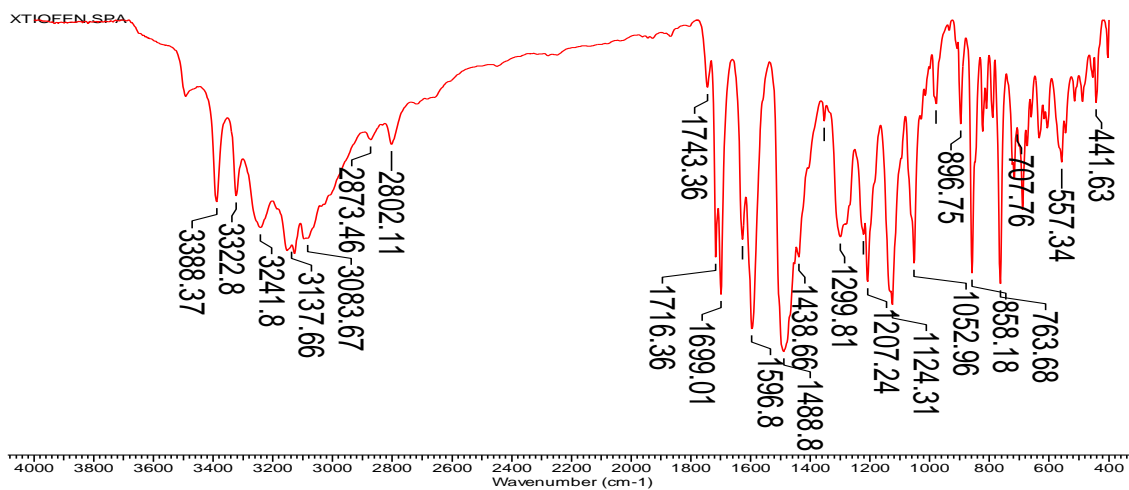


Figura A57. Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**159**)

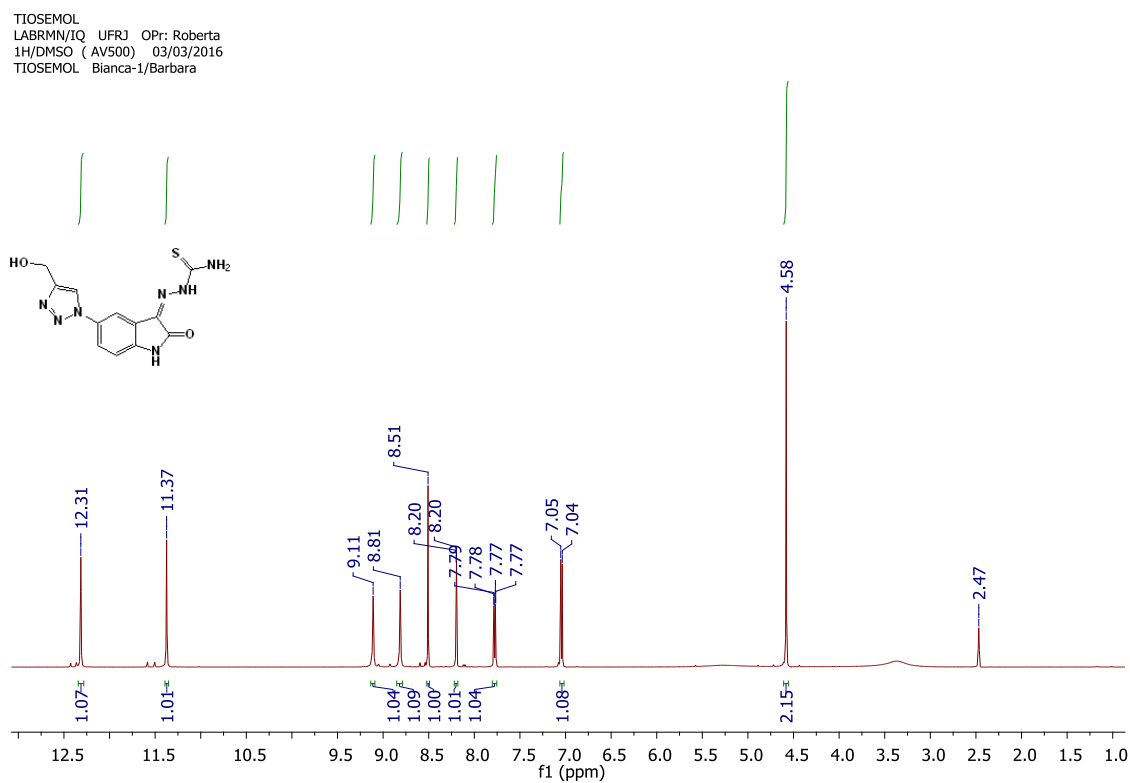


Figura A58. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da Z)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**160**)

TIOSEMOL
 LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
 1H/DMSO (AV500) 03/03/2016
 TIOSEMOL Bianca-1/Barbara

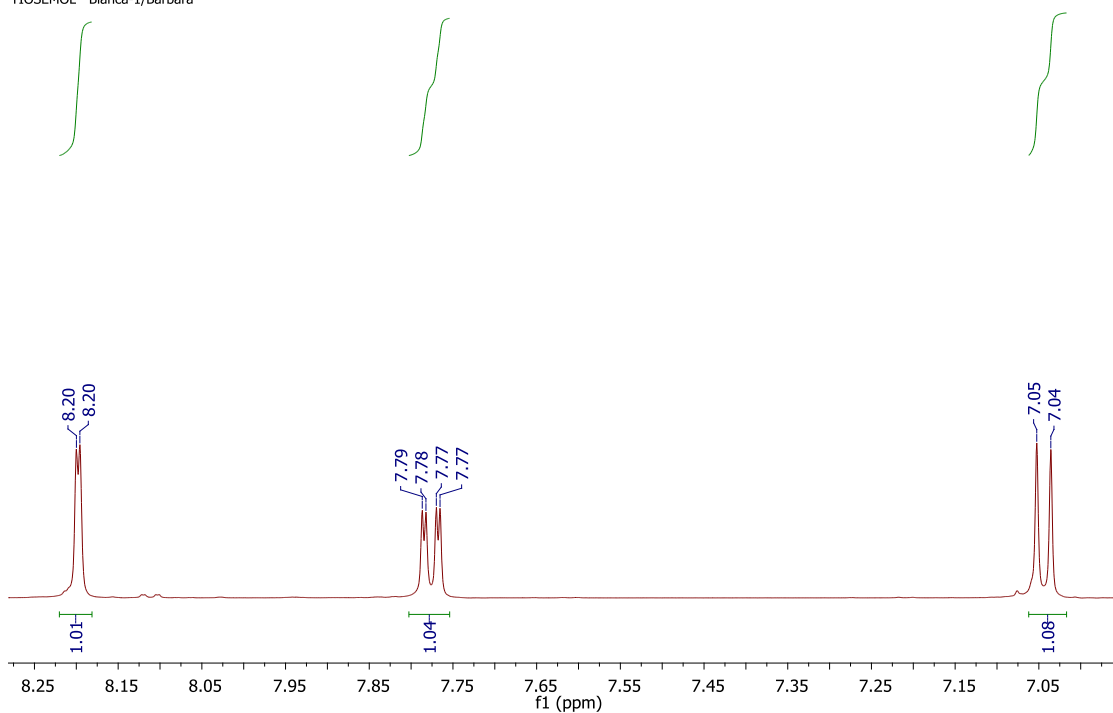


Figura A58. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da *Z*-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**160**) (continuação)

TIOSEMOL
 LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
 13C/DMSO (AV500) 03/03/2016
 TIOSEMOL Bianca-2/Barbara
 32mg

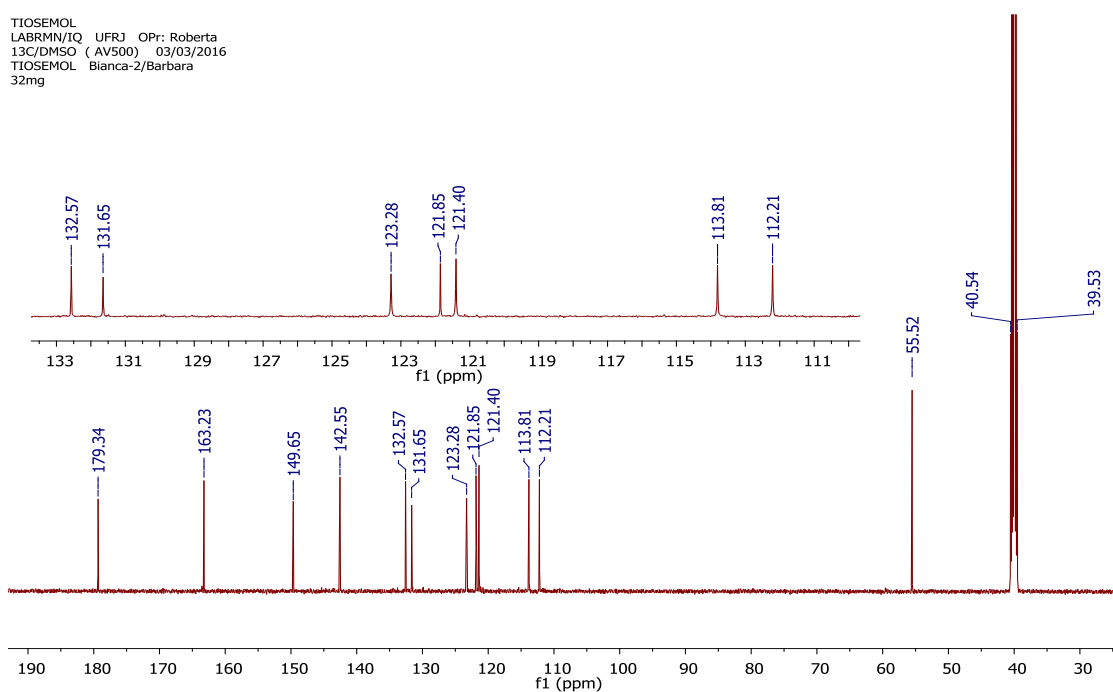


Figura A59. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da *Z*-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**160**)

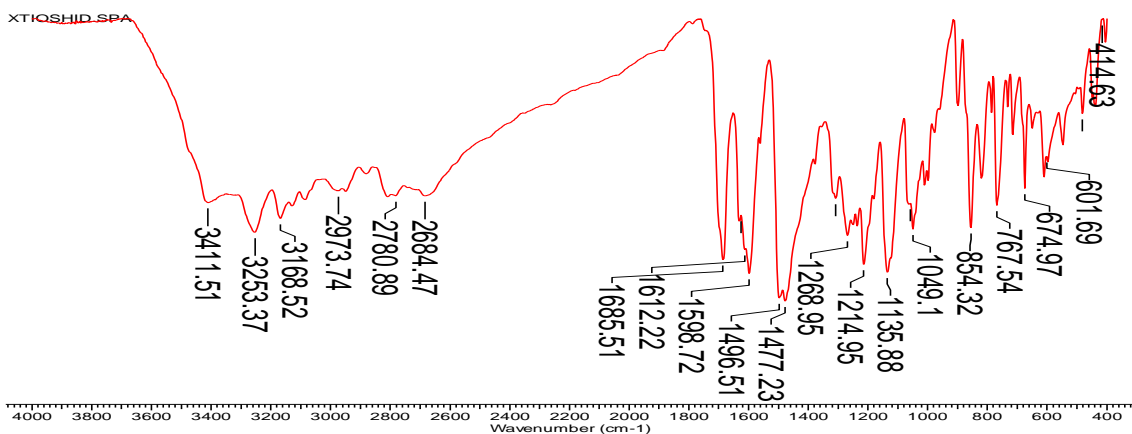


Figura A60. Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**160**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UF RJ OPR:Kaiser
1H/DMSO 17-Jul-2014 (DPX 200)
TPILA7 Bianca-294/Barbara

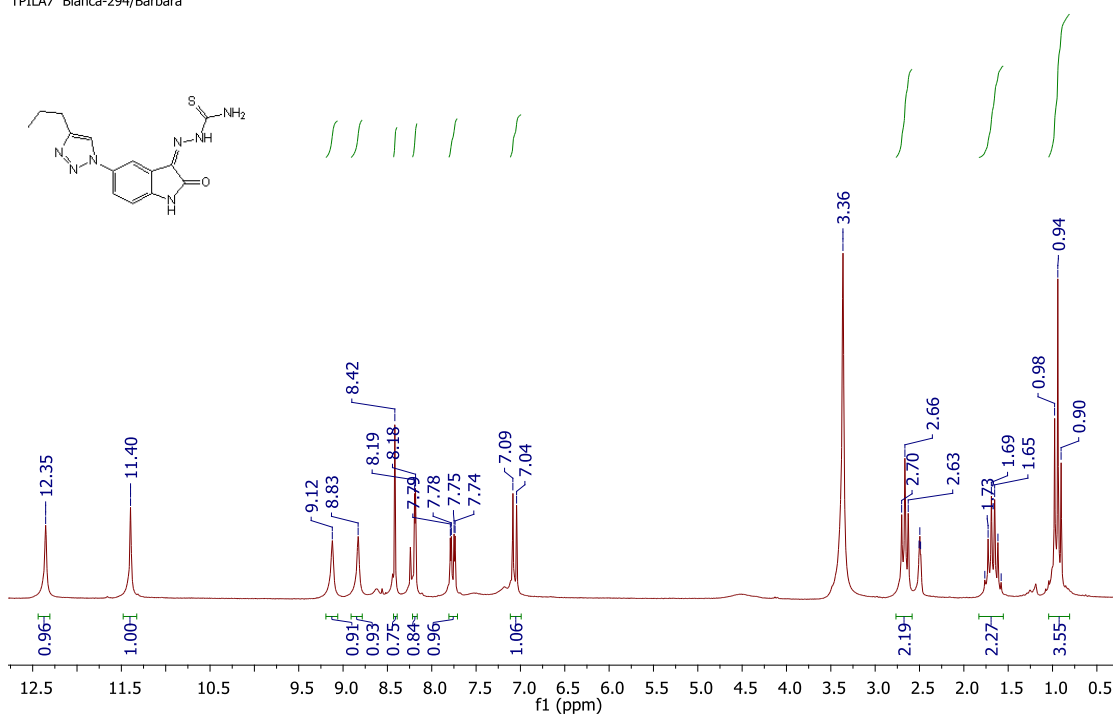
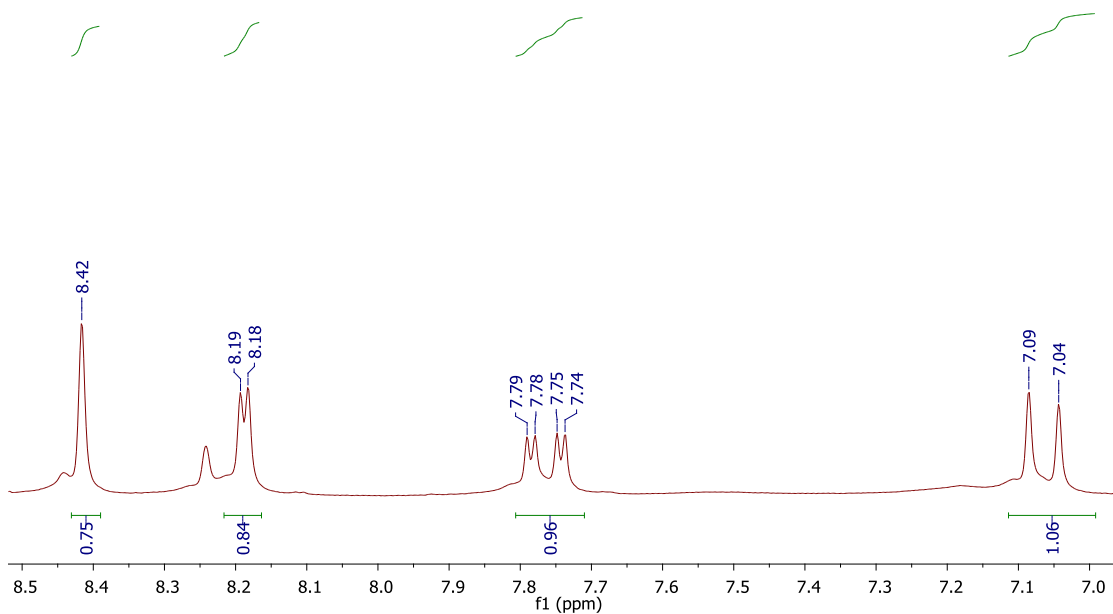


Figura A61. Espectro de RMN ¹H (200 MHz, DMSO-*d*₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**161**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ OPR:Kaiser
1H/DMSO 17-Jul-2014 (DPX 200)
TPILA7 Bianca-294/Barbara



Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ OPR:Kaiser
1H/DMSO 17-Jul-2014 (DPX 200)
TPILA7 Bianca-294/Barbara

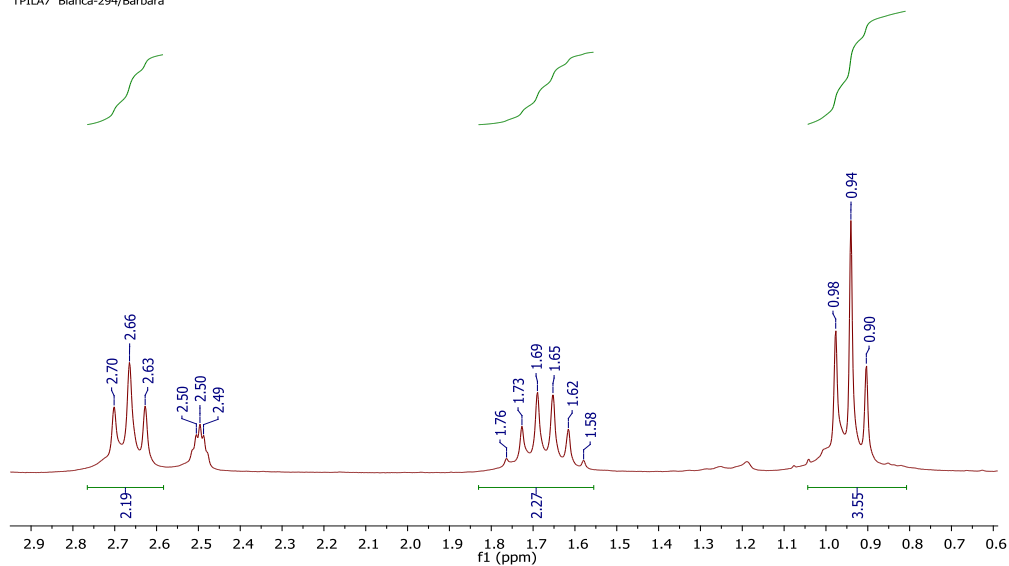


Figura A61. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**161**) (continuação)

Barbara_Bianca
 LABRMN IQ/UFRJ OPR:Kaiser
 13C/DMSO 17-Jul-2014 (DPX 200)
 TPILA7 Bianca-295/Barbara
 Quant: 31,8mg Scans: 2048 02h15'38"

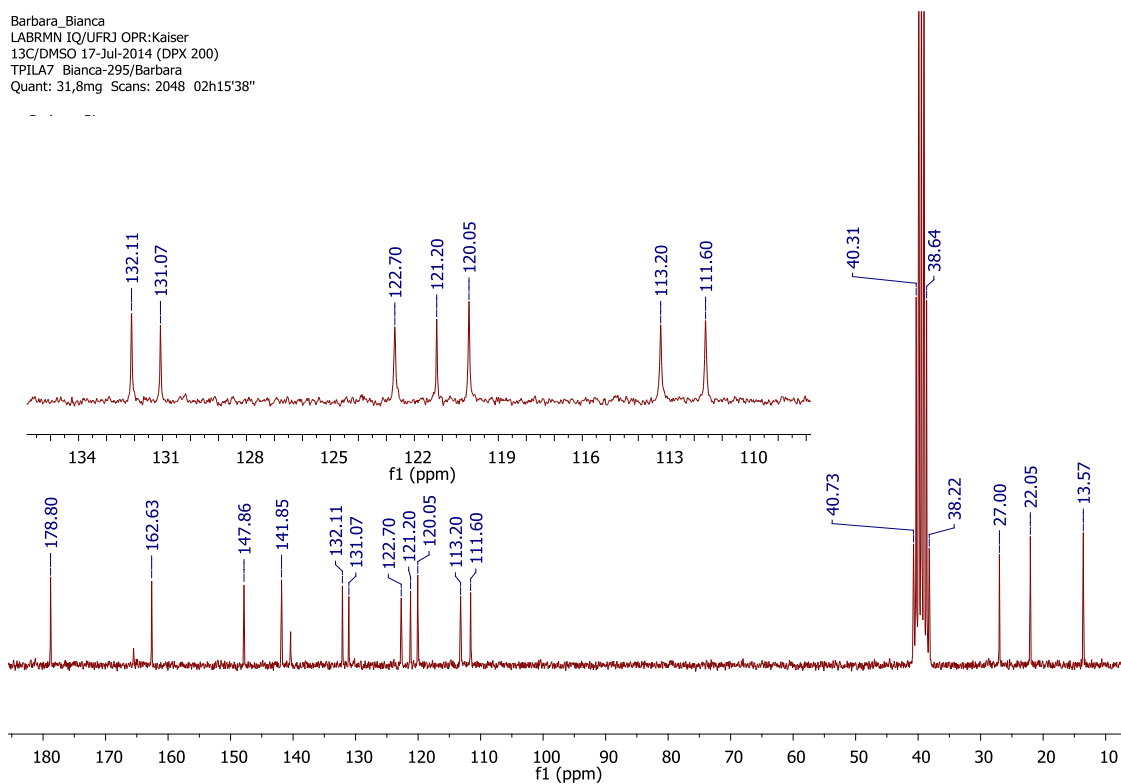


Figura A62. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**161**)

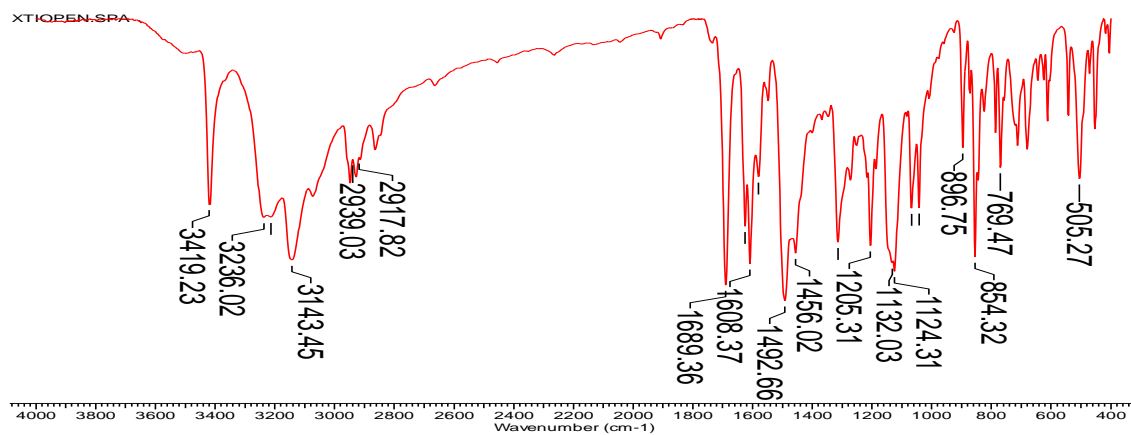
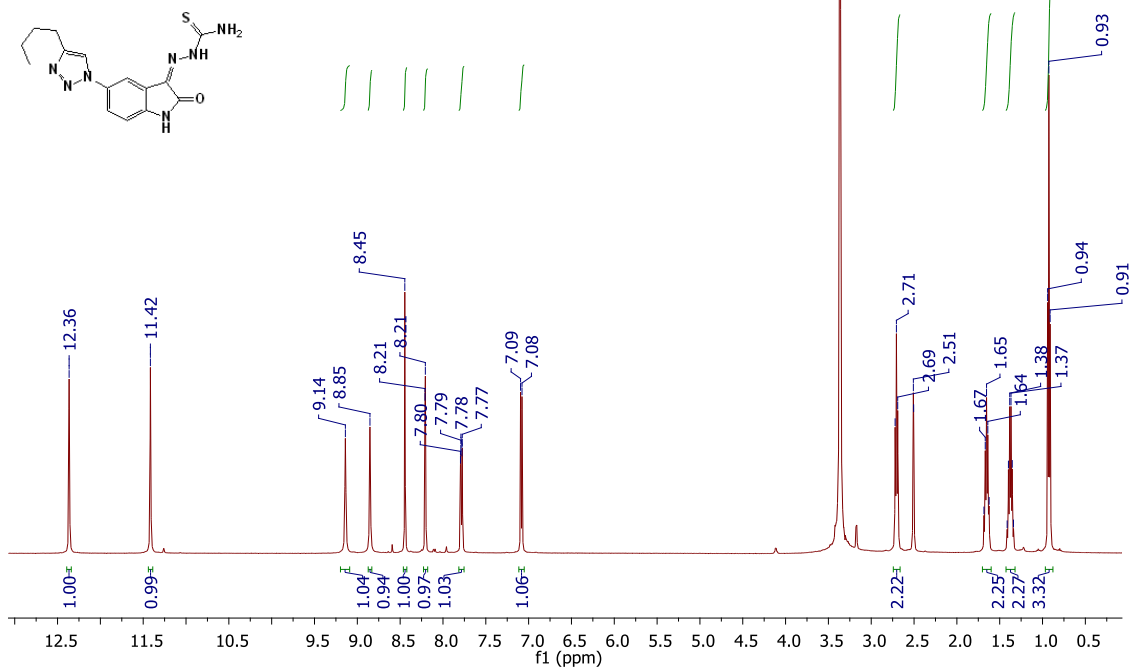


Figura A63. Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**161**)

HEXITIOS
 LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
 1H/DMSO (AV500) 23/02/2016
 HEXITIOS Blanca -1/Barbara



HEXITIOS
 LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
 1H/DMSO (AV500) 23/02/2016
 HEXITIOS Blanca -1/Barbara

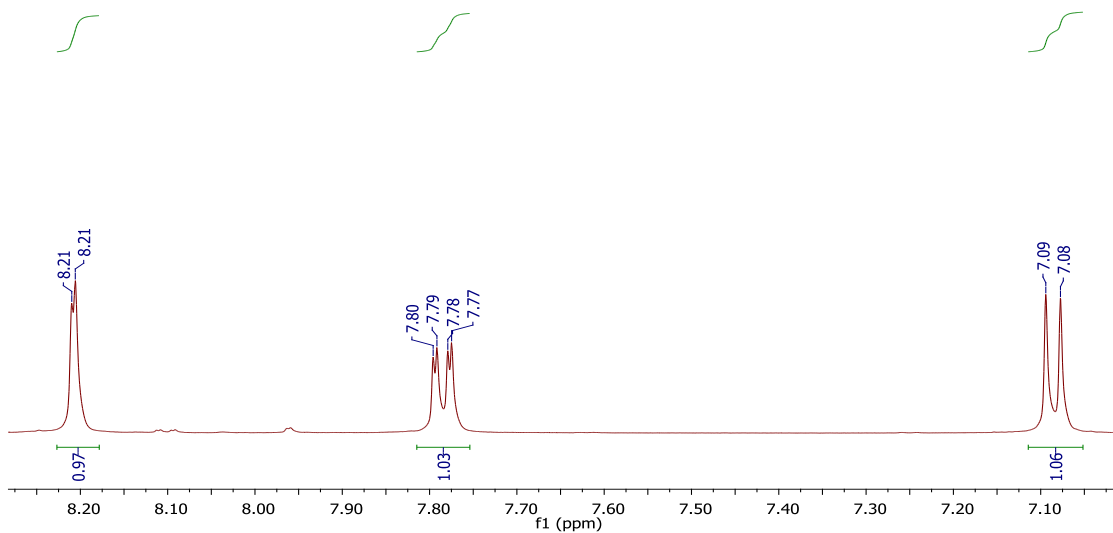


Figure A64. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-butyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)indolina-3-ilidene)hidrazinocarboxamida (**162**)

HEXITIOS
LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
1H/DMSO (AV500) 23/02/2016
HEXITIOS Bianca -1/Barbara

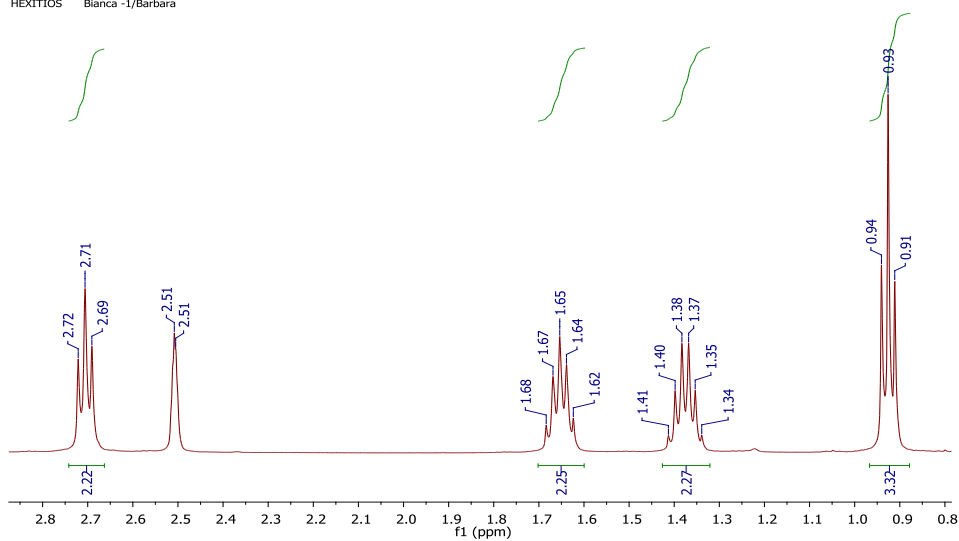


Figure A64. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilidene)hidrazinocarbotoamida (**162**) (continuação)

HEXITIOS
LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
13C/DMSO (AV500) 23/02/2016
HEXITIOS Bianca -5/Barbara
15mg

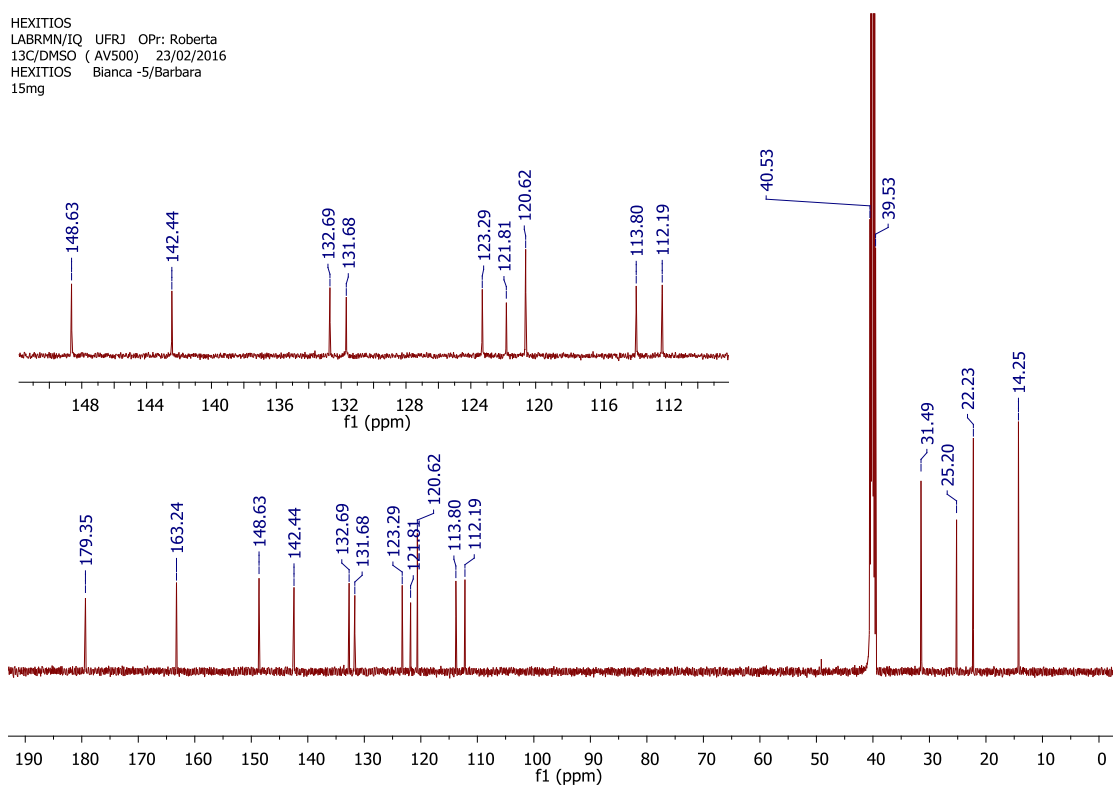


Figura A65. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilidene)hidrazinocarbotoamida (**162**)

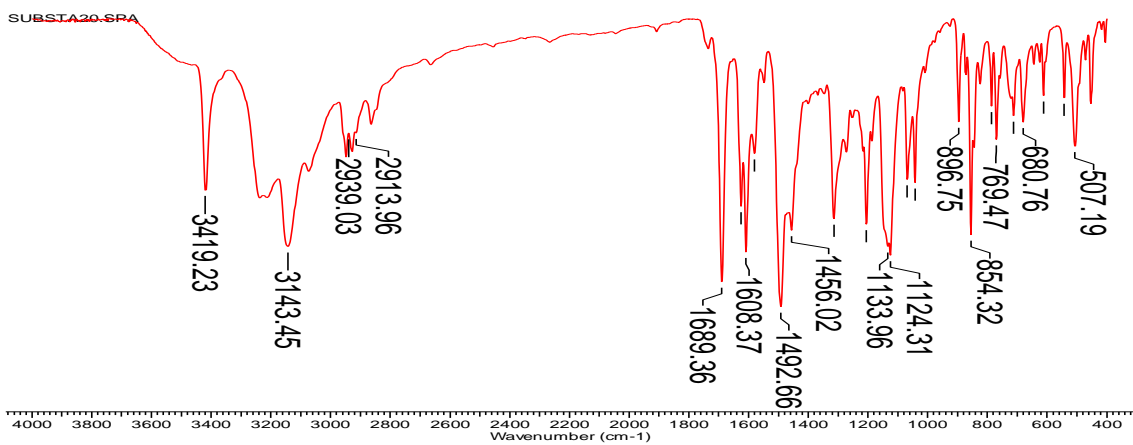
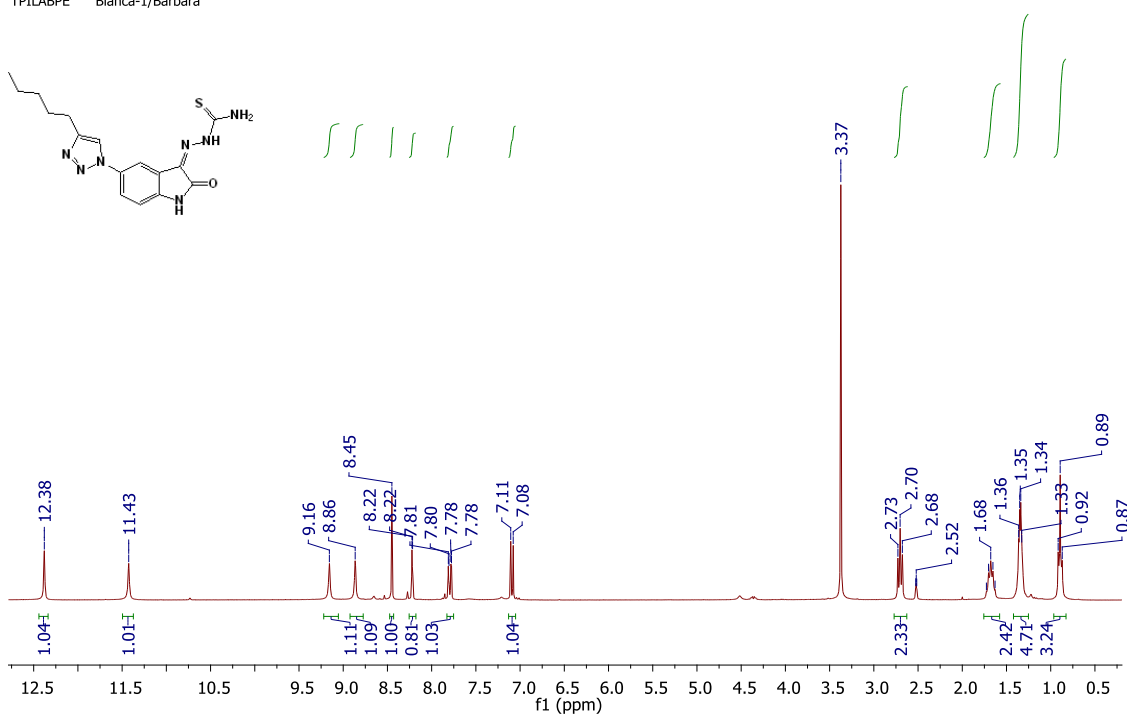


Figura A66. Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilidene)hidrazinocarbotioamida (**162**)

TPILABPE
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Robert
 1H/DMSO (300MHz) 31/08/2015
 TPILABPE Bianca-1/Barbara



TPILABPE
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Robert
 1H/DMSO (300MHz) 31/08/2015
 TPILABPE Bianca-1/Barbara

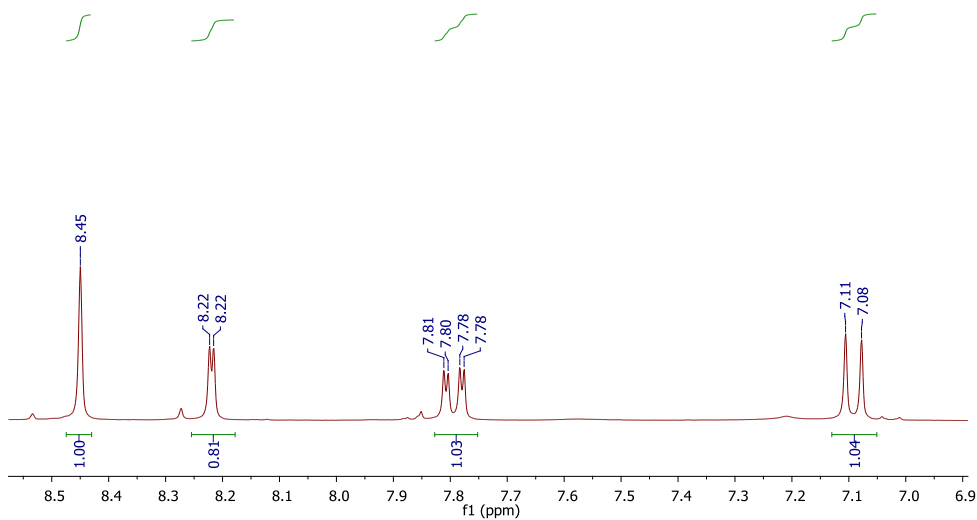


Figura A67. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**)

TPILABPE
LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Robert
1H/DMSO (300MHz) 31/08/2015
TPILABPE Bianca-1/Barbara

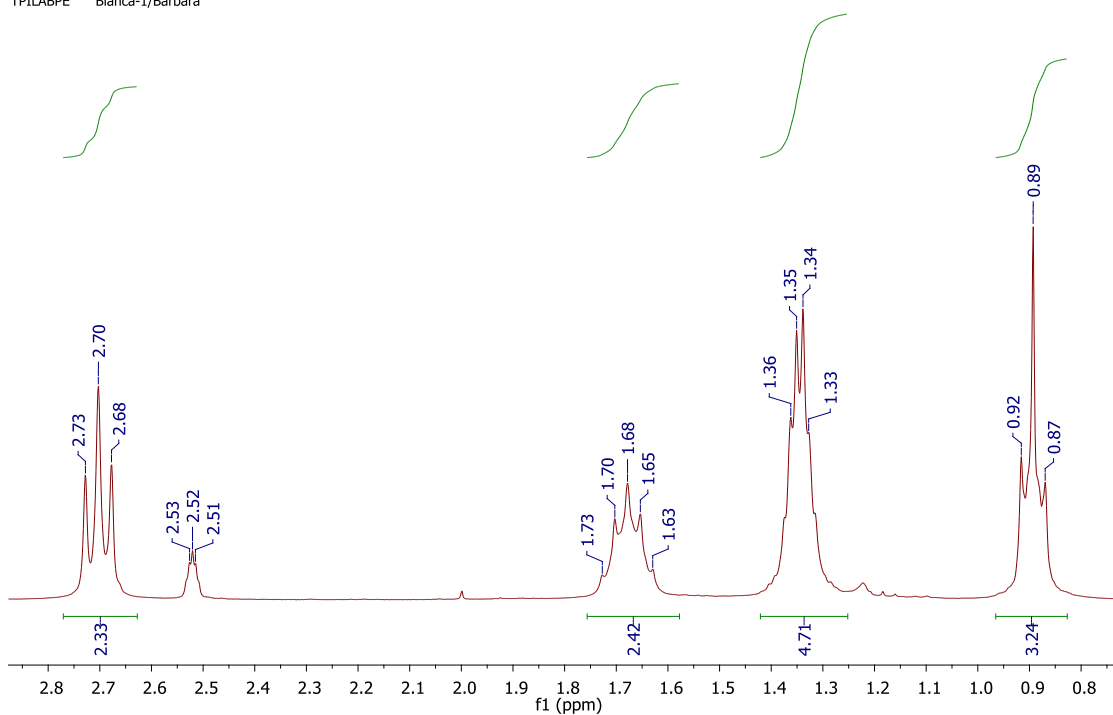


Figura A67. Expansão do espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**) (continuação)

TPILABPE
LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Robert
13C/DMSO (300MHz) 31/08/2015
TPILABPE Bianca-2/Barbara

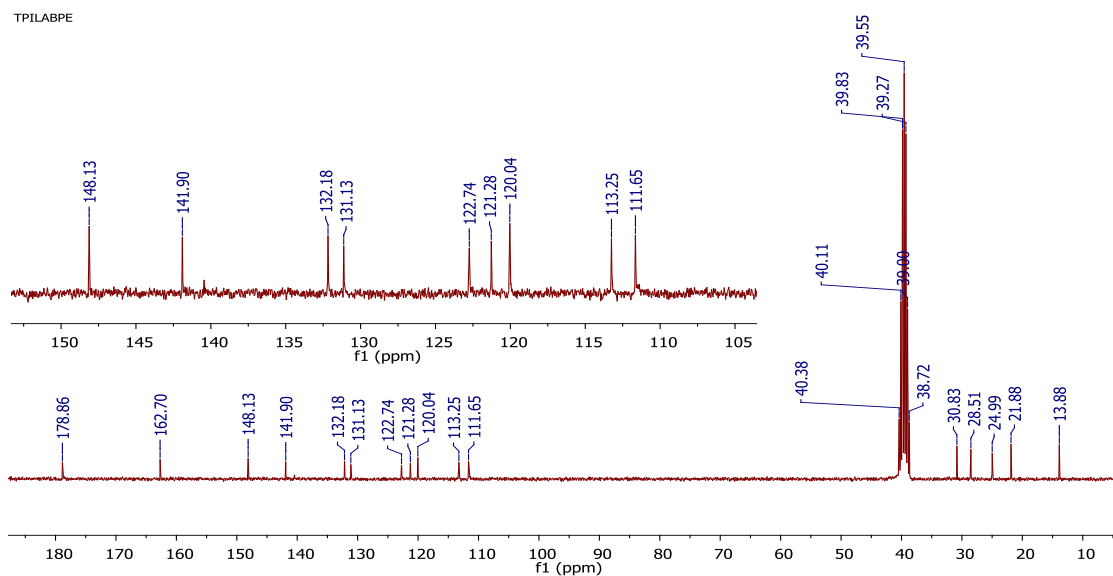


Figure A68. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**)

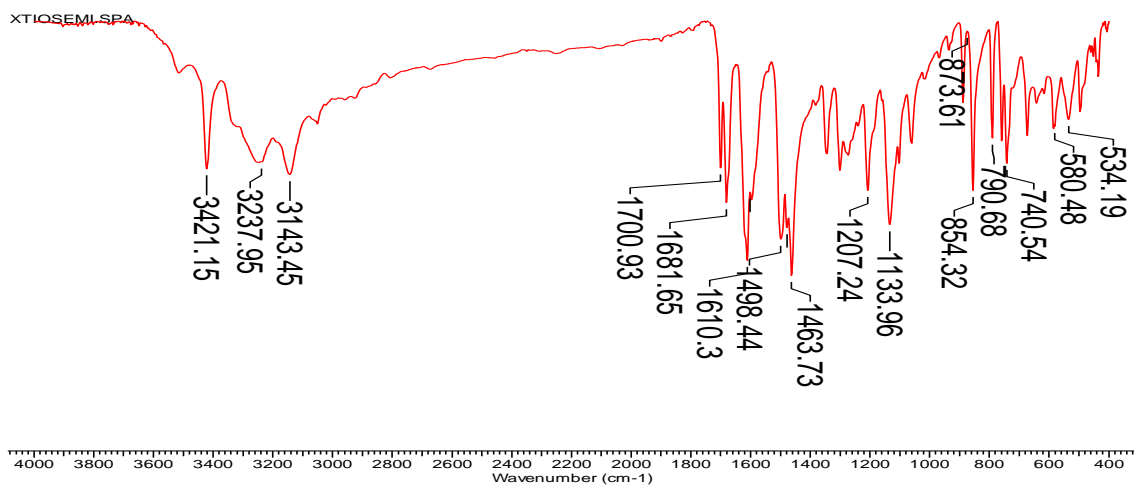


Figure A69. Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**163**)

SUBST2
 LABRMN-IQ UFRJ Opr: Roberta
 1H/DMSO (AV500) 03/02/2017
 SUBST2 Bianca-1/Barbara

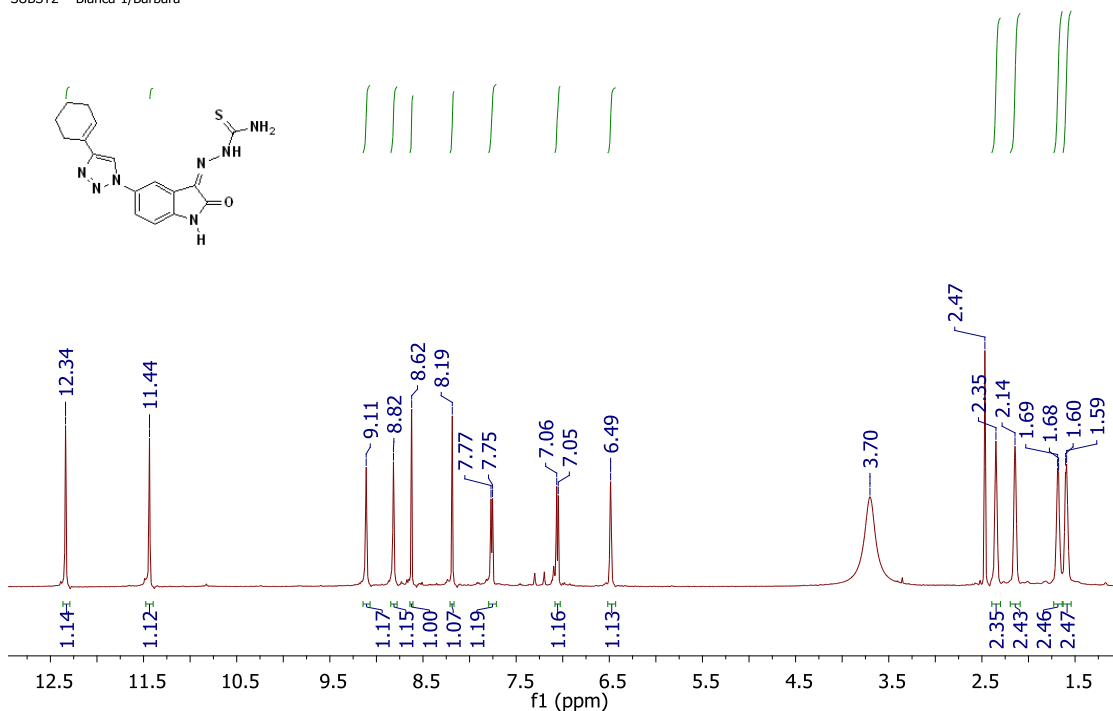
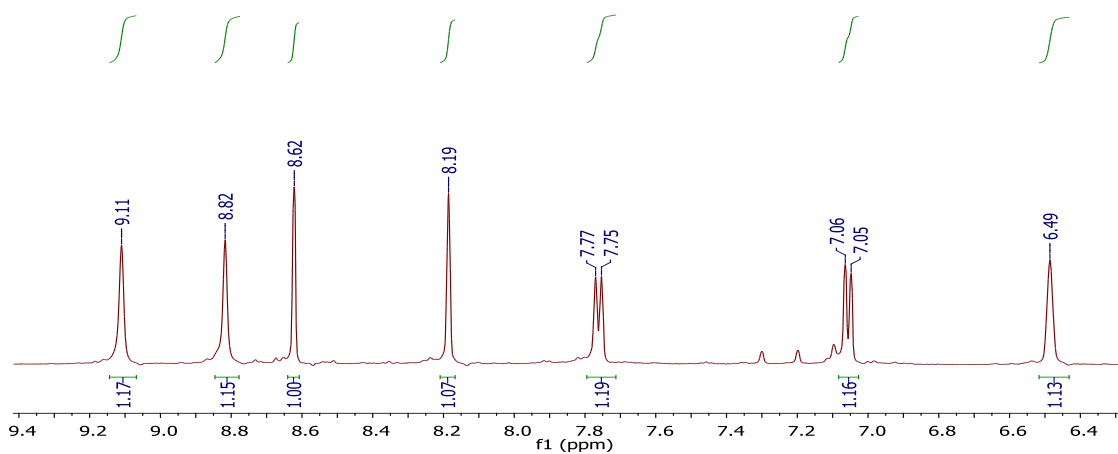


Figure A70. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**164**)

SUBST2
LABRMN-1Q UFRJ Opr: Roberta
1H/DMSO (AV500) 03/02/2017
SUBST2 Bianca-1/Barbara



SUBST2
LABRMN-1Q UFRJ Opr: Roberta
1H/DMSO (AV500) 03/02/2017
SUBST2 Bianca-1/Barbara

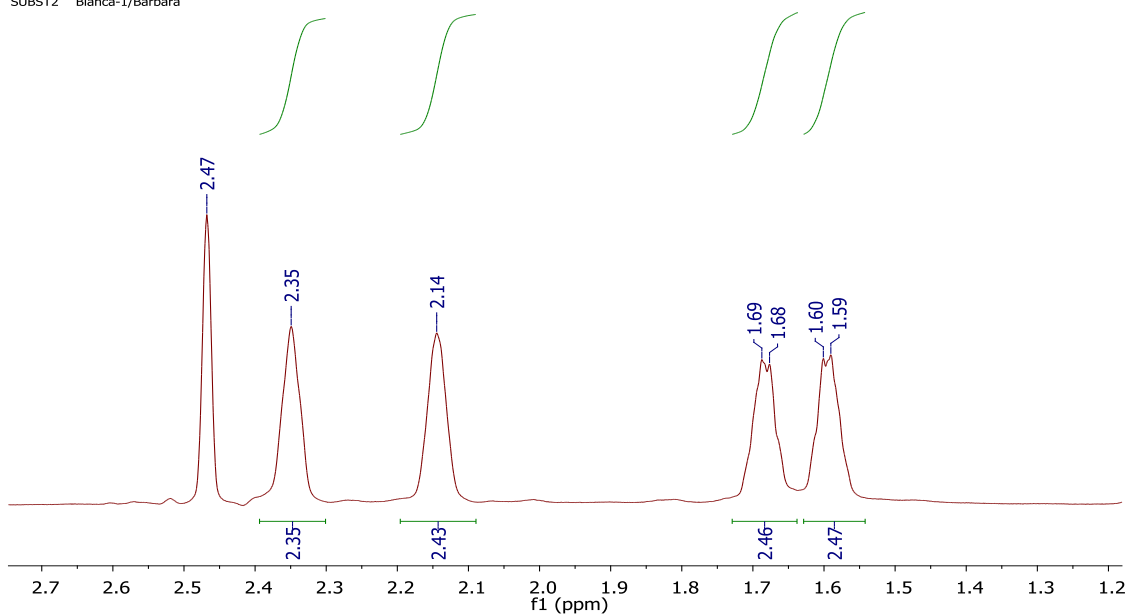


Figura A70. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotoamida (**164**) (continuação)

SUBST2
 LABRMN-IQ UFRJ Opr: Roberta
 13C(H)/DMSO(AV500) 03/02/2017
 SUBST2 Bianca-2/Barbara
 30.1 mg

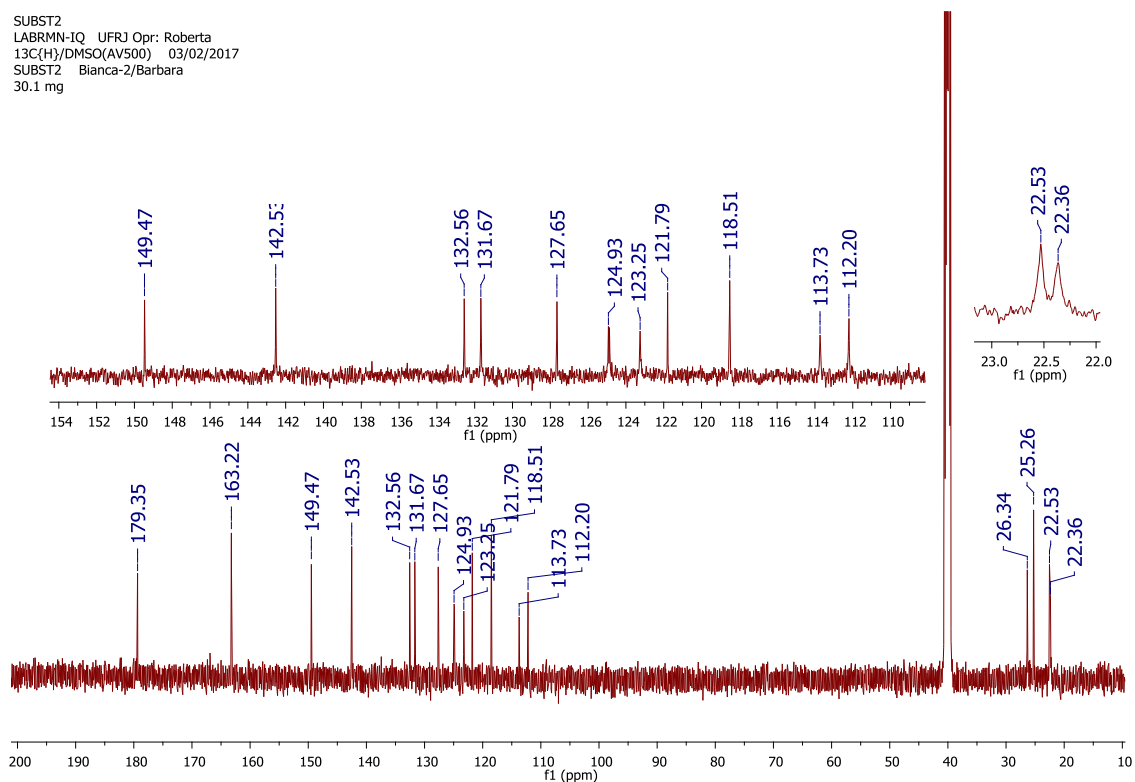


Figure A71. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**164**)

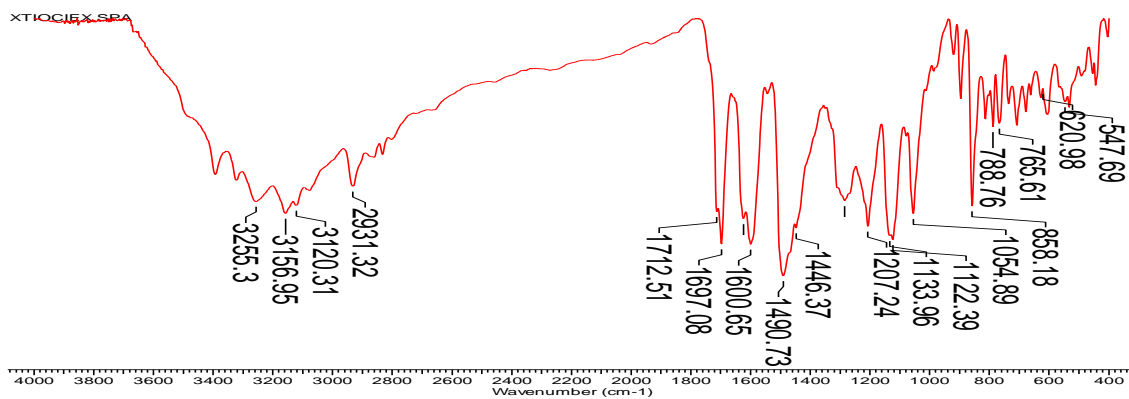
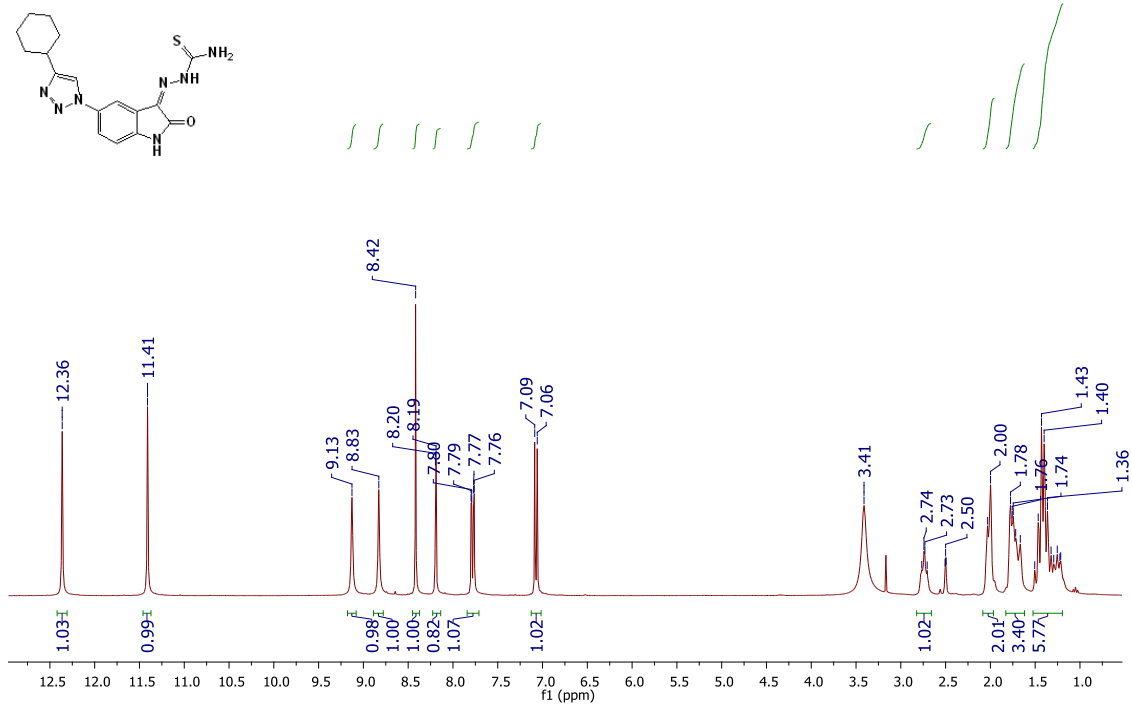


Figure A72. Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**164**)

CIHETIO
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR: Victor
 1H/DMSO (300MHz) 10/12/201
 CIHETIO Bianca-1/Barbara



CIHETIO
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR: Victor
 1H/DMSO (300MHz) 10/12/201
 CIHETIO Bianca-1/Barbara

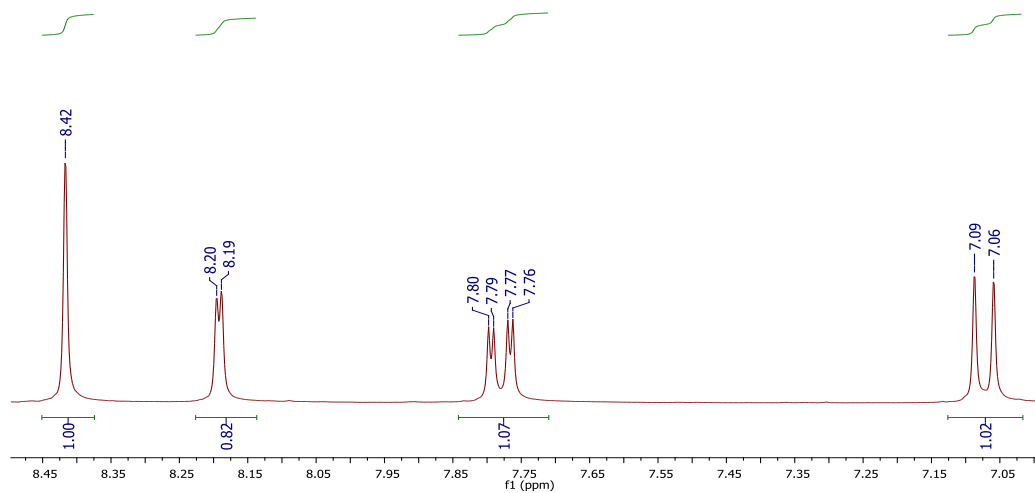


Figura A73. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**165**)

CIHETIO
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR: Victor
 1H/DMSO (300MHz) 10/12/201
 CIHETIO Bianca-1/Barbara

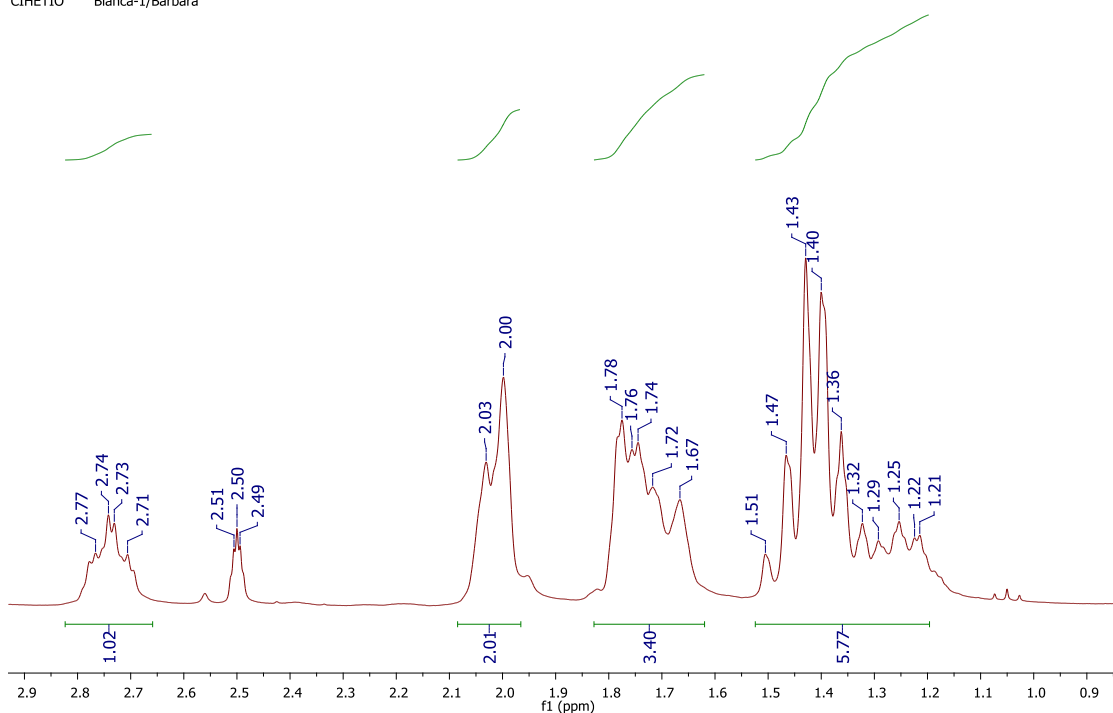


Figura A73. Expansão do espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**165**) (continuação)

CIHETIO
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR: Victor
 13C/DMSO (300MHz) 10/12/201
 CIHETIO Bianca-2/Barbara

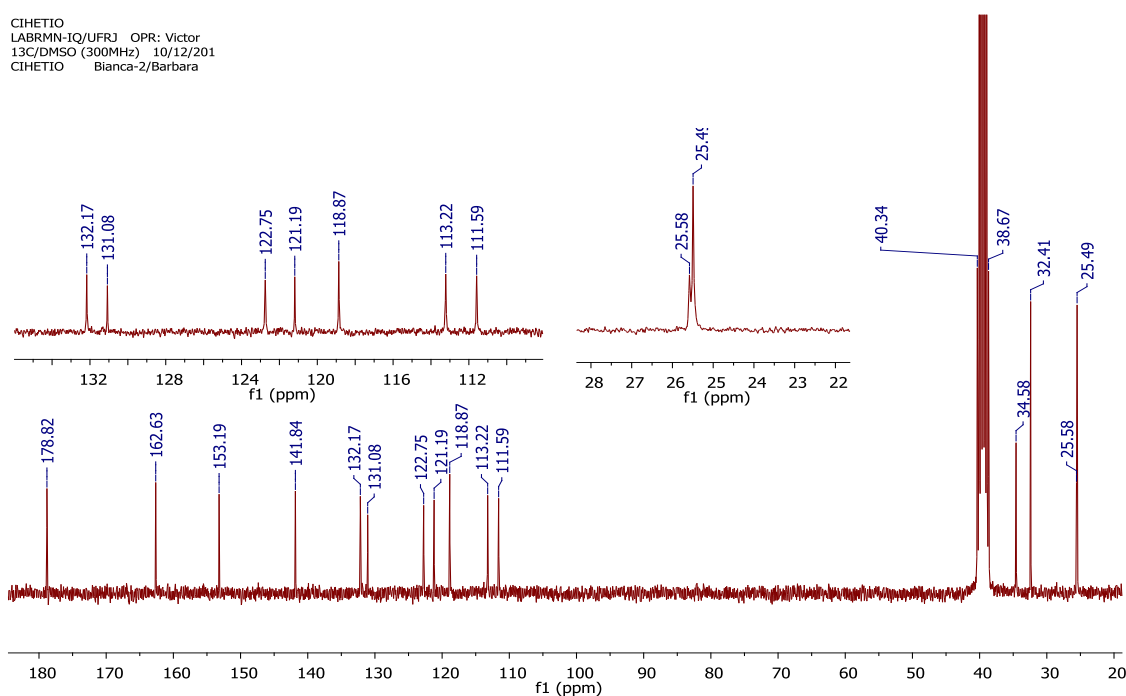


Figura A74. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**165**)

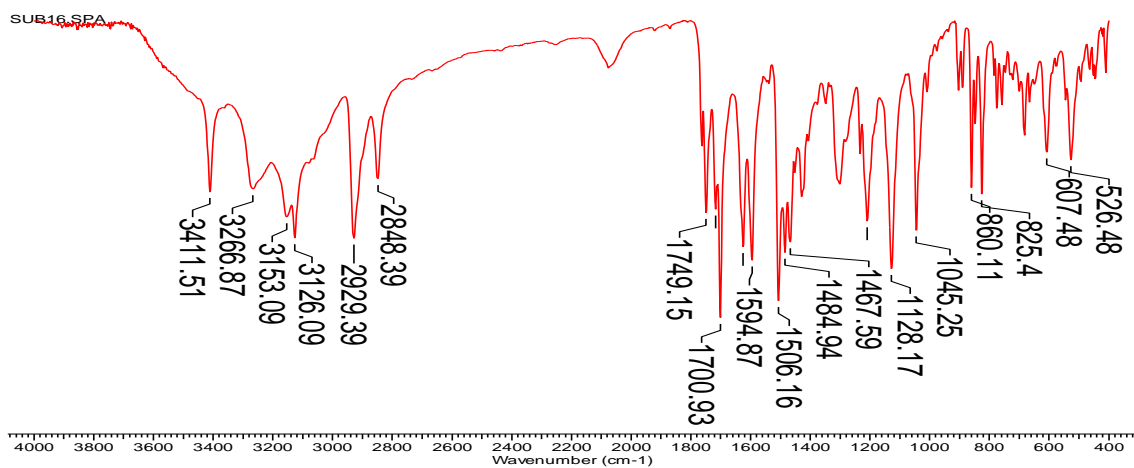


Figura A75. Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**165**)

TIOSEENO
 LABRMN/IQ UFRJ OP: Roberta
 1H/DMSO (AV500) 03/03/2016
 TIOSEENO Bianca-1/Barbara

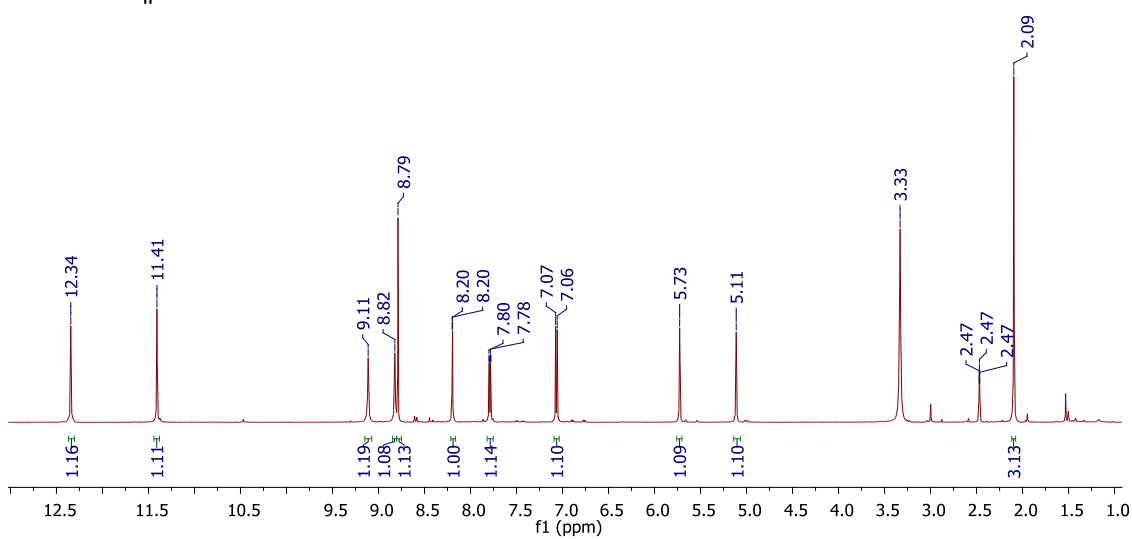
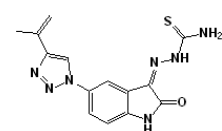
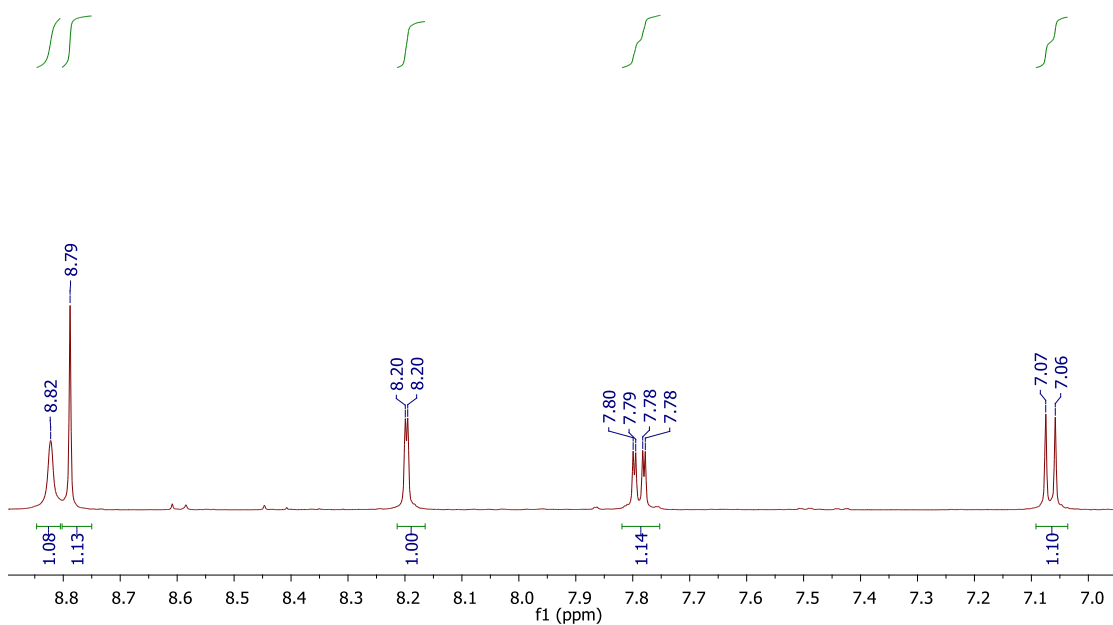


Figura A76. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarbotioamida (**166**)

TIOSEENO
LABRMN/IQ UFRJ Opr: Roberta
1H/DMSO (AV500) 03/03/2016
TIOSEENO Bianca-1/Barbara



TIOSEENO
LABRMN/IQ UFRJ Opr: Roberta
1H/DMSO (AV500) 03/03/2016
TIOSEENO Bianca-1/Barbara

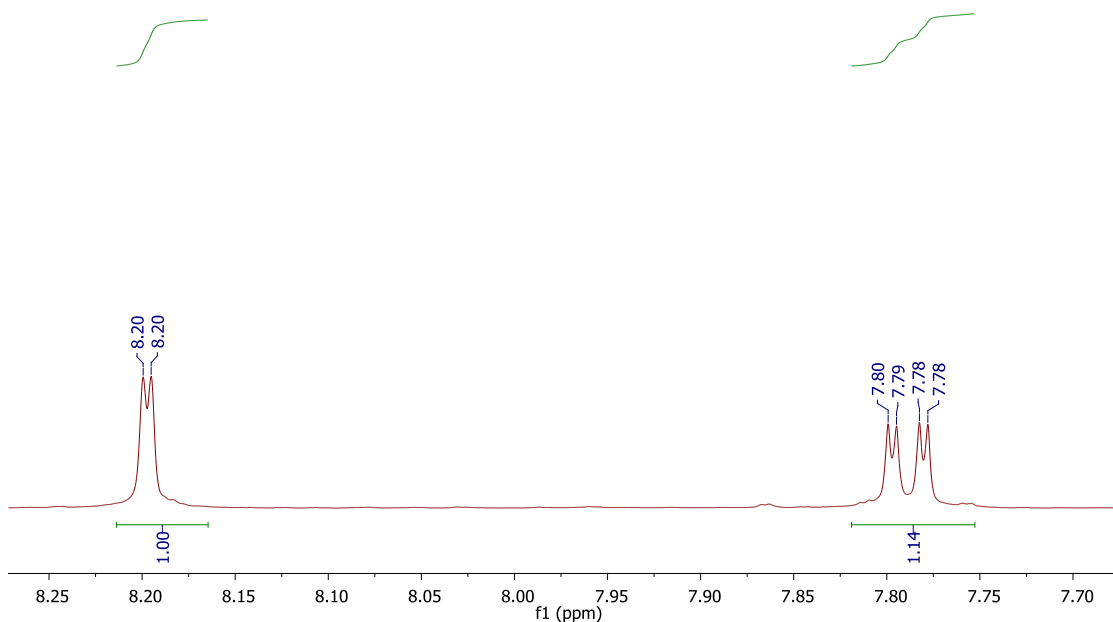


Figura A76. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinacarbotoamida (**166**) (continuação)

TIOSEENO
 LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
 13C/DMSO (AV500) 03/03/2016
 TIOSEENO Bianca-2/Barbara
 28.2 mg

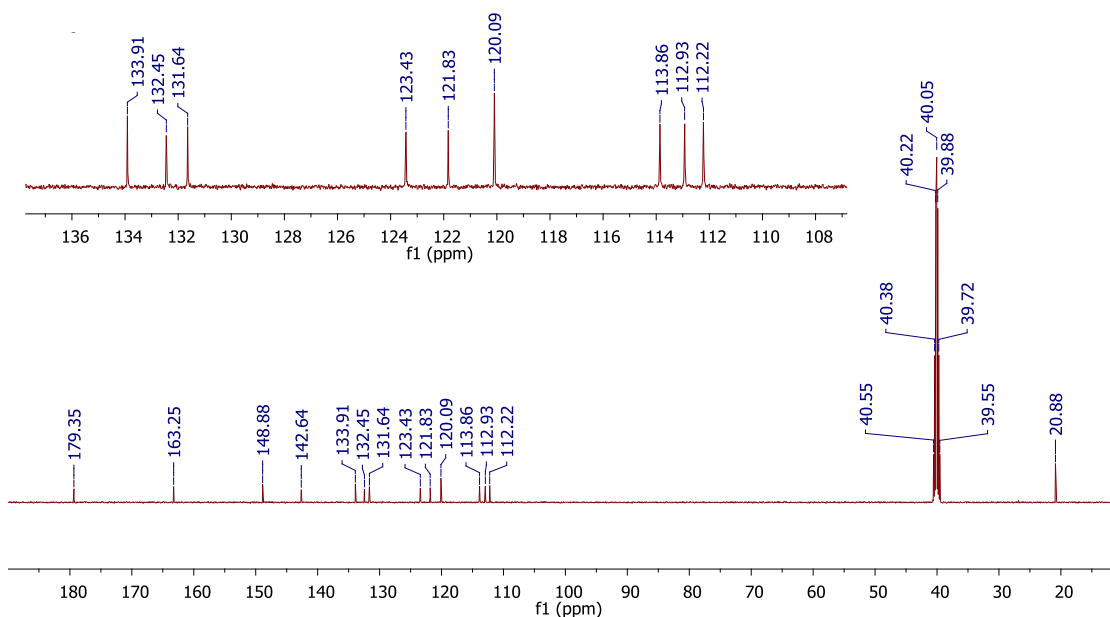


Figure A77. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinacarbotoamida (**166**)

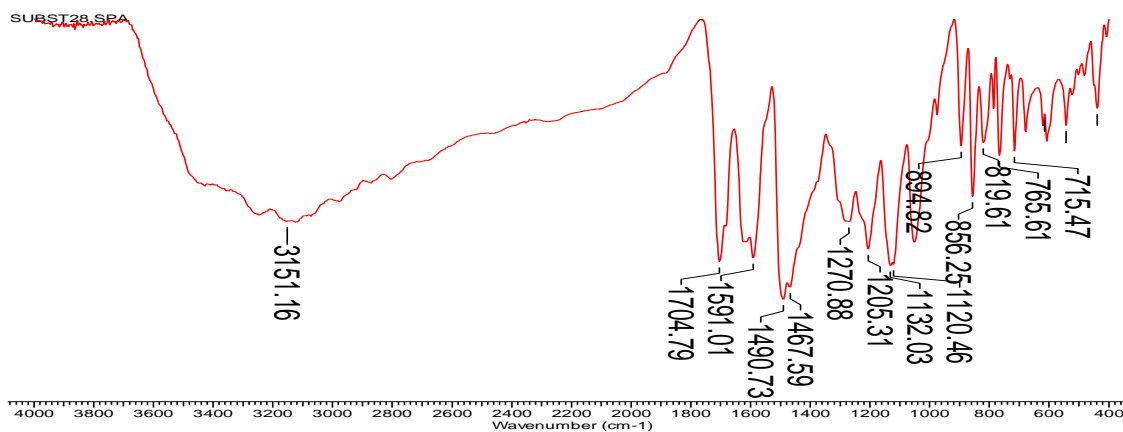
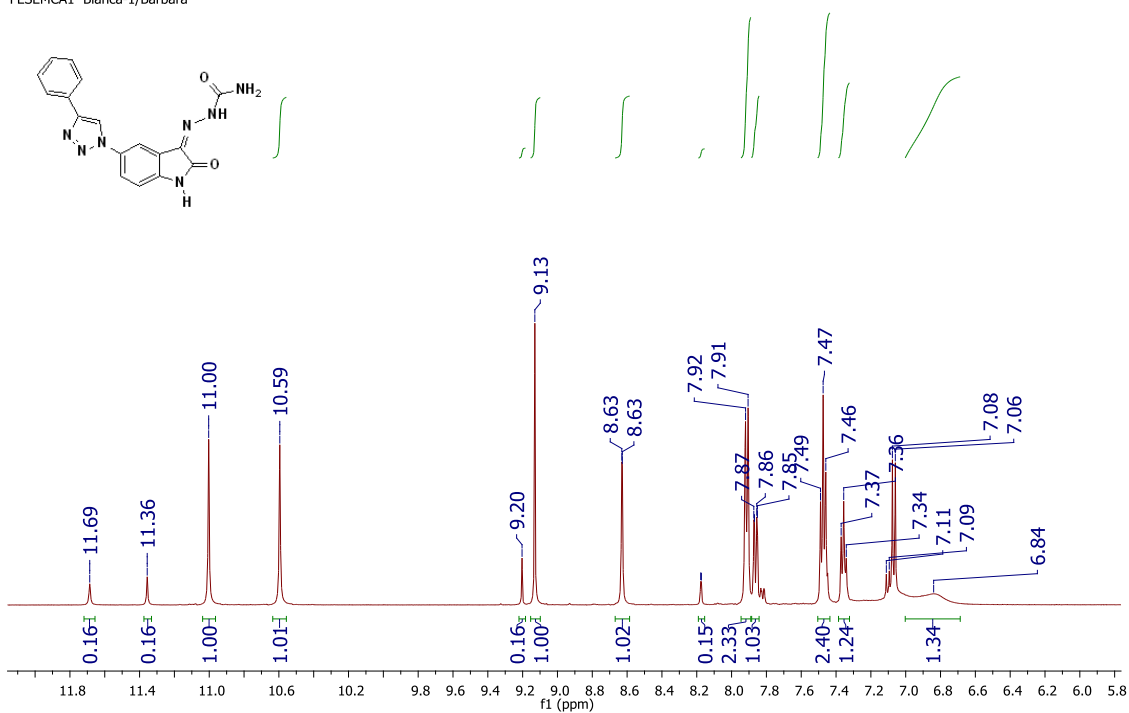


Figure A78. Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinacarbotoamida (**166**)

FESEMCA1
LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
1H/DMSO (AV500) 21/10/2016
FESEMCA1 Bianca-1/Barbara



FESEMCA1
LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
1H/DMSO (AV500) 21/10/2016
FESEMCA1 Bianca-1/Barbara

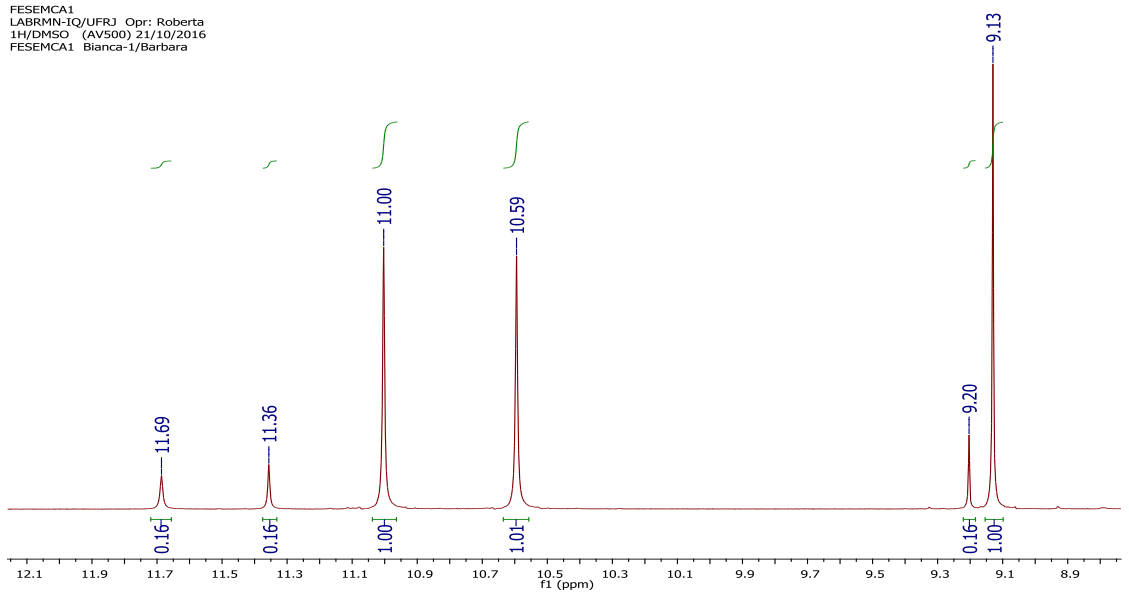


Figura A79. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinacarboxamida (**167**)

FESEMCA1
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
 1H/DMSO (AV500) 21/10/2016
 FESEMCA1 Bianca-1/Barbara

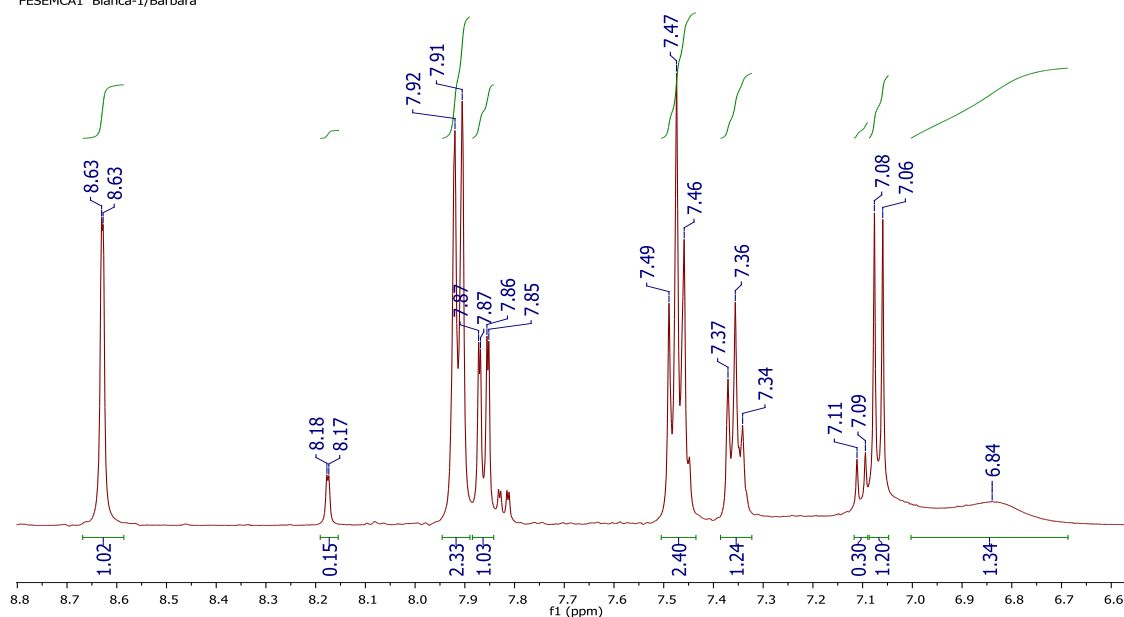


Figura A79. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinacarboxamida (**167**) (continuação)

ufrj02160699
 SFenil - Barbara
 Op. Eliane

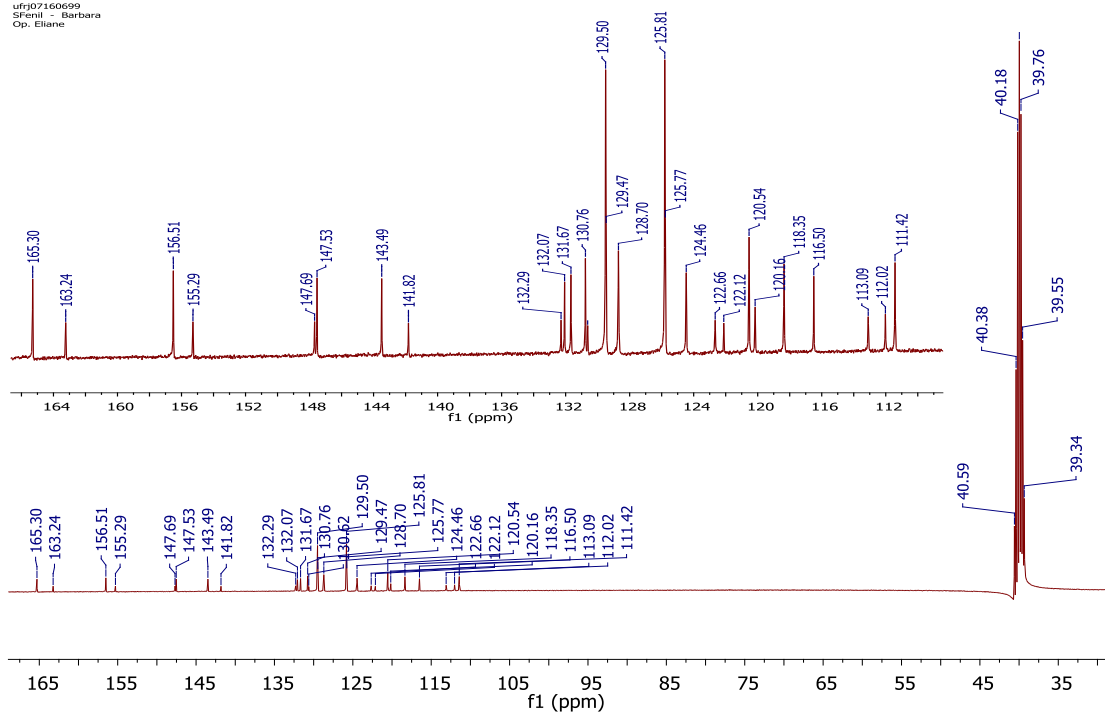


Figura A80. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinacarboxamida (**167**)

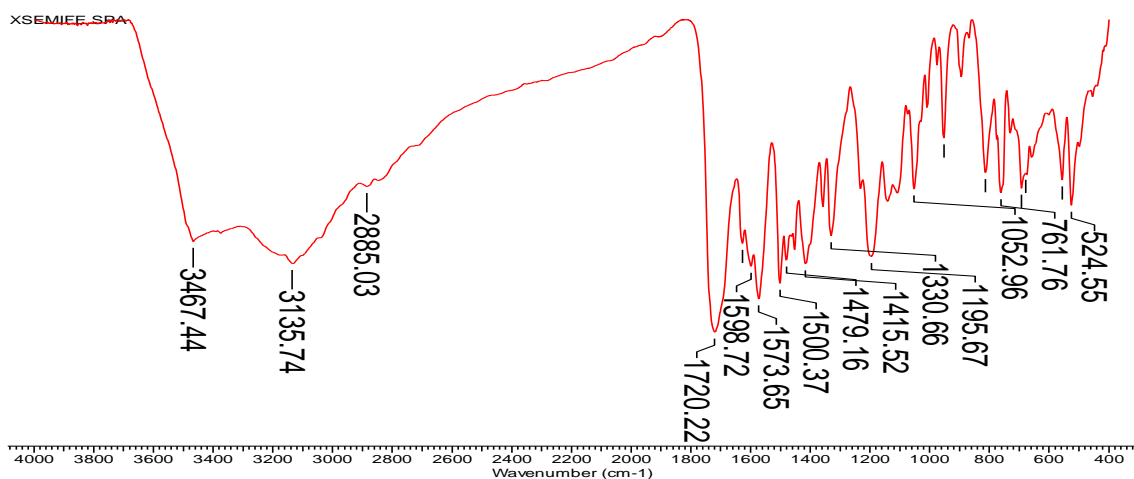


Figura A81. Espectro de IV da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinacarboxamida (**167**)

SUBST1
LABRMN-IQ UFRJ Opr: Roberta
1H/DMSO (AV500) 03/02/2017
SUBST1 Bianca-1/Barbara

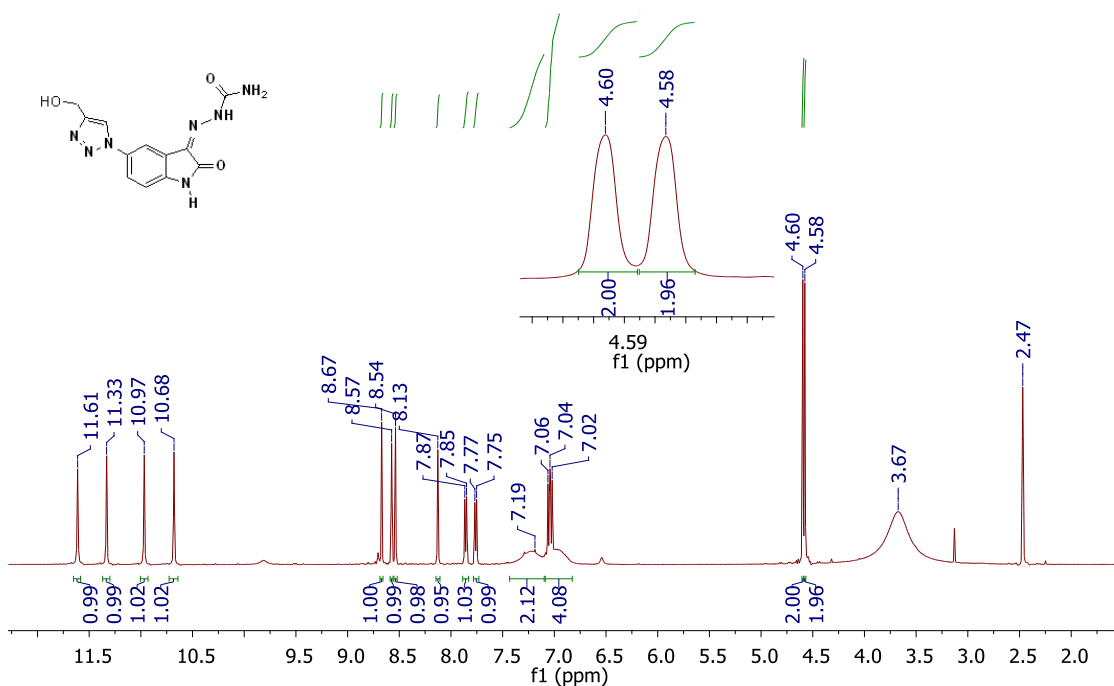


Figura A82. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-hidroxiometil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinacarboxamida (**168**)

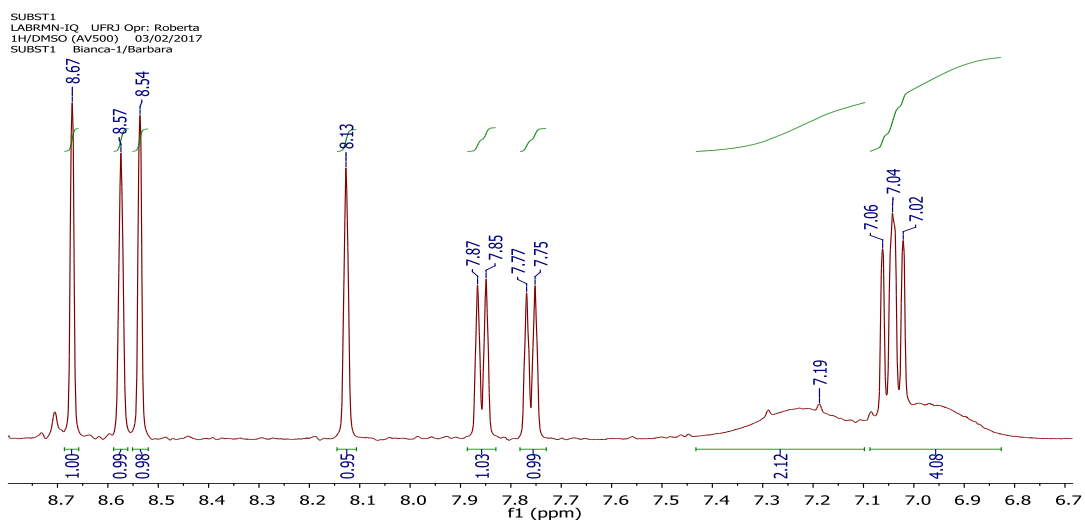


Figura A82. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**168**) (continuação)

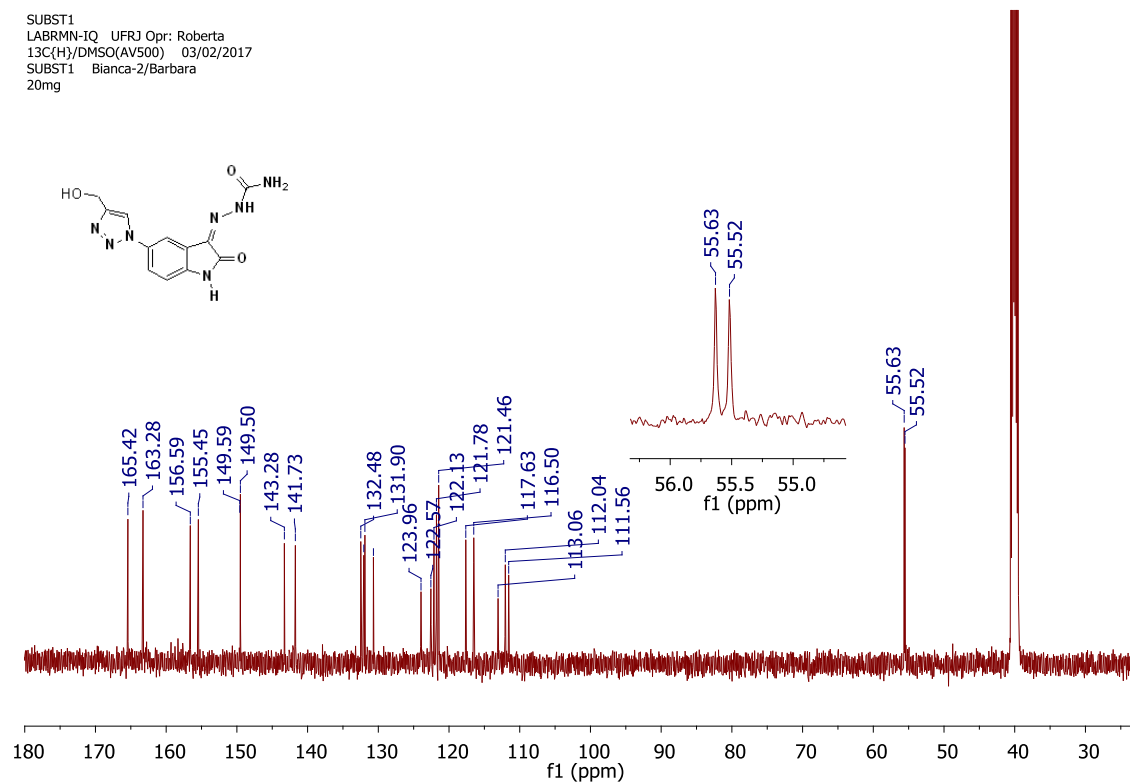


Figura A83. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**168**)

SUBST1
 LABRMN-IQ UFRJ Opr: Roberta
 13C(H)/DMSO(AV500) 03/02/2017
 SUBST1 Blanca-2/Barbara
 20mg

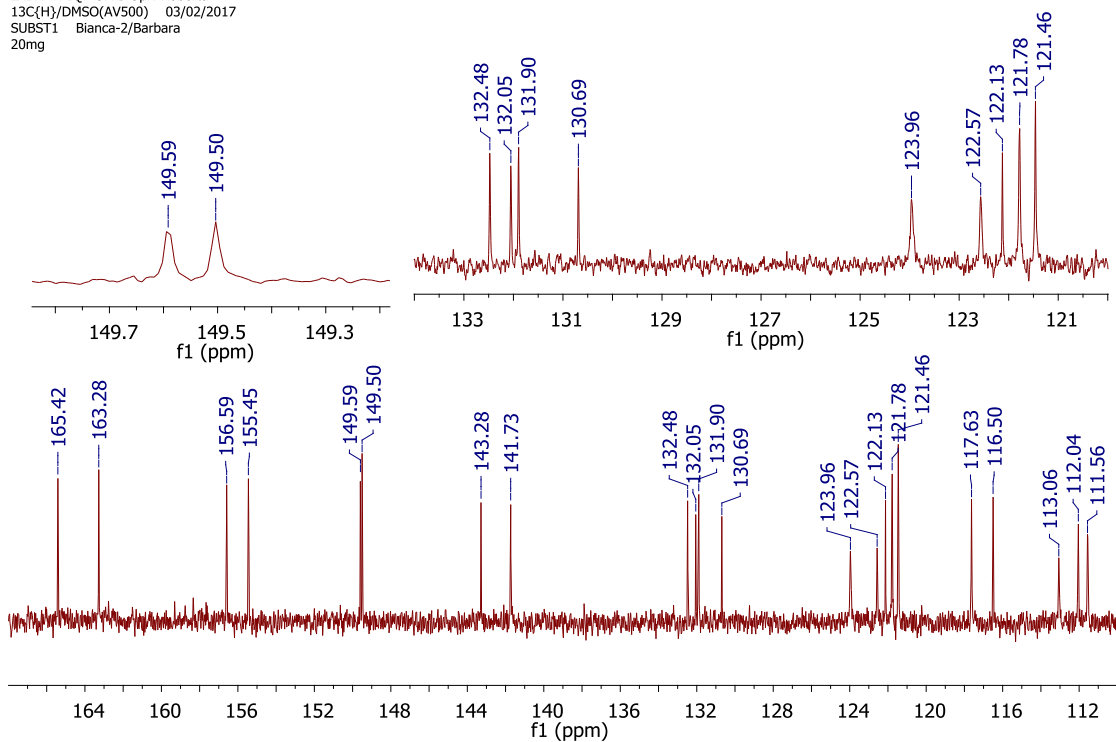


Figura A83. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**168**) (continuação)

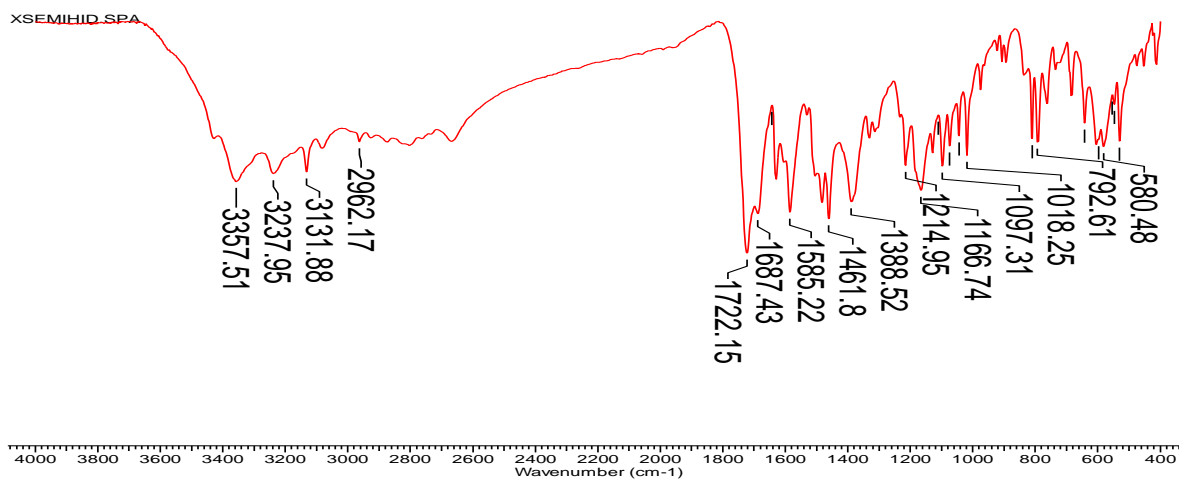
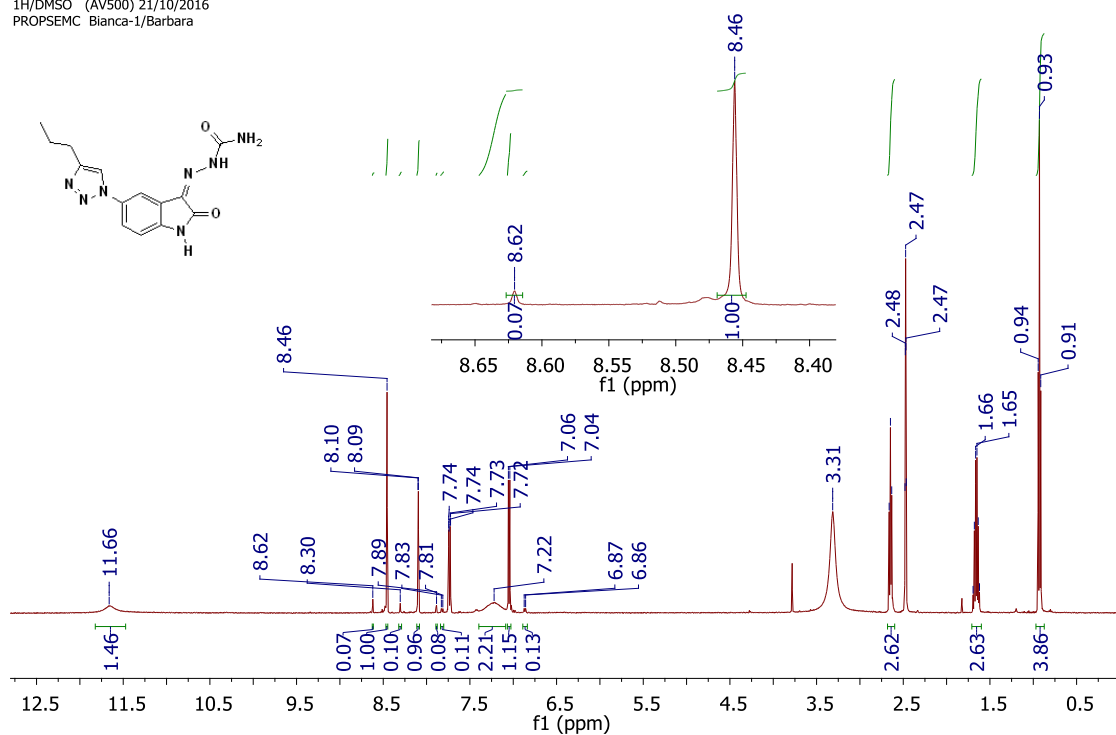


Figura A84. Espectro de IV da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-hidroximetil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**168**)

PROPSEM
LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
1H/DMSO (AV500) 21/10/2016
PROPSEM Bianca-1/Barbara



PROPSEM
LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
1H/DMSO (AV500) 21/10/2016
PROPSEM Bianca-1/Barbara

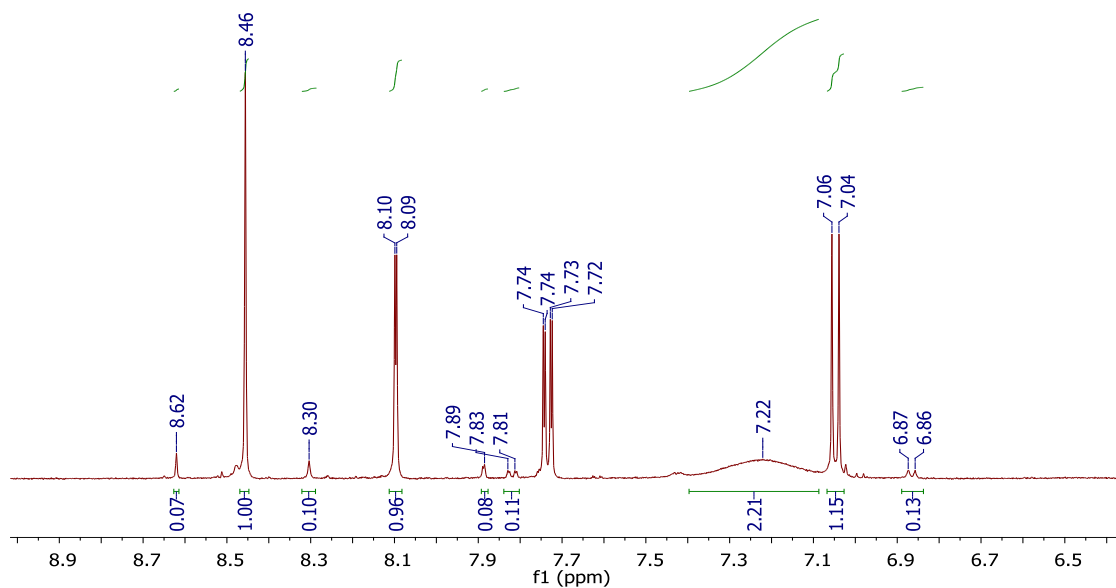


Figura A85. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) da (E,Z)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**169**)

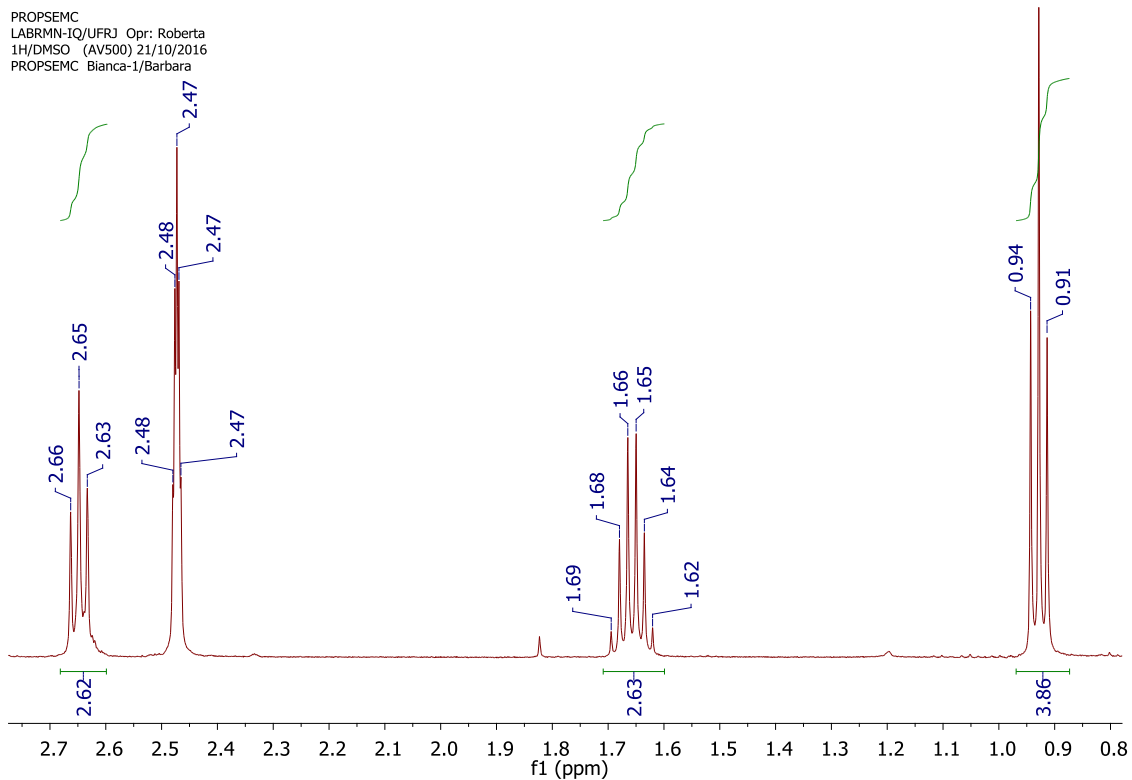


Figura A85. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**169**) (continuação)

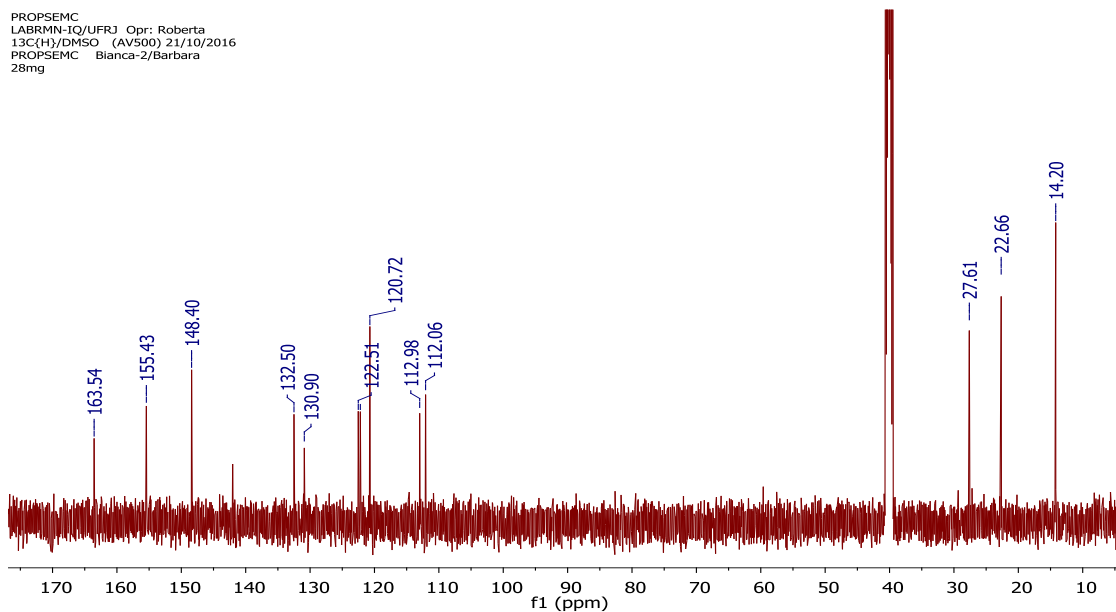


Figura A86. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**167**)

PROPSEMC
LABRMN-IQ/UFRJ Opr: Roberta
13C(H)/DMSO (AV500) 21/10/2016
PROPSEMC Blanca-2/Barbara
28mg

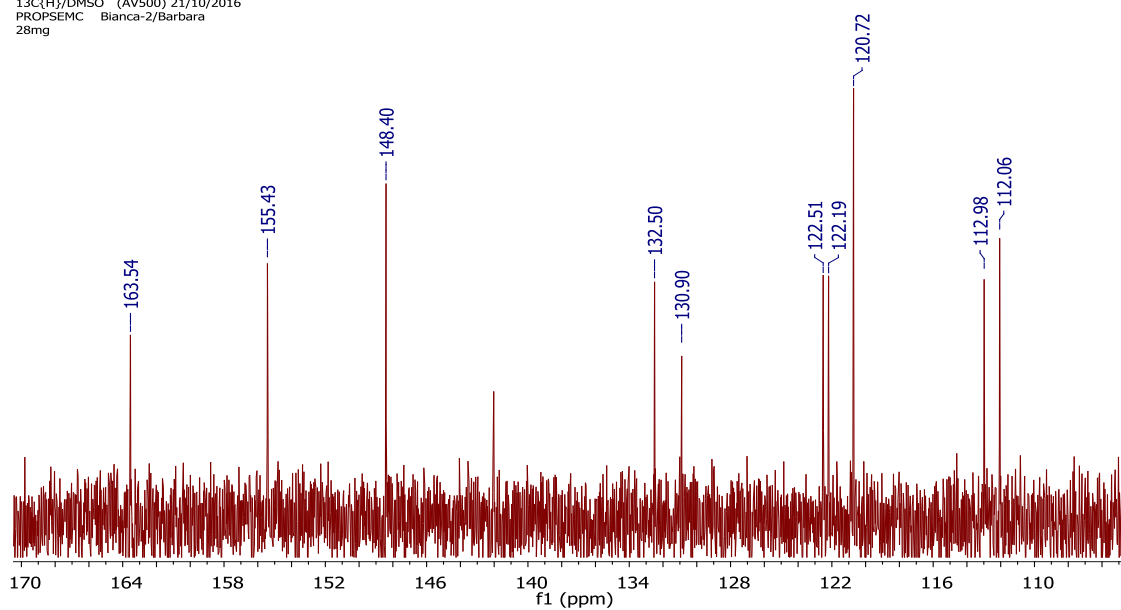


Figura A86. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**169**) (continuação)

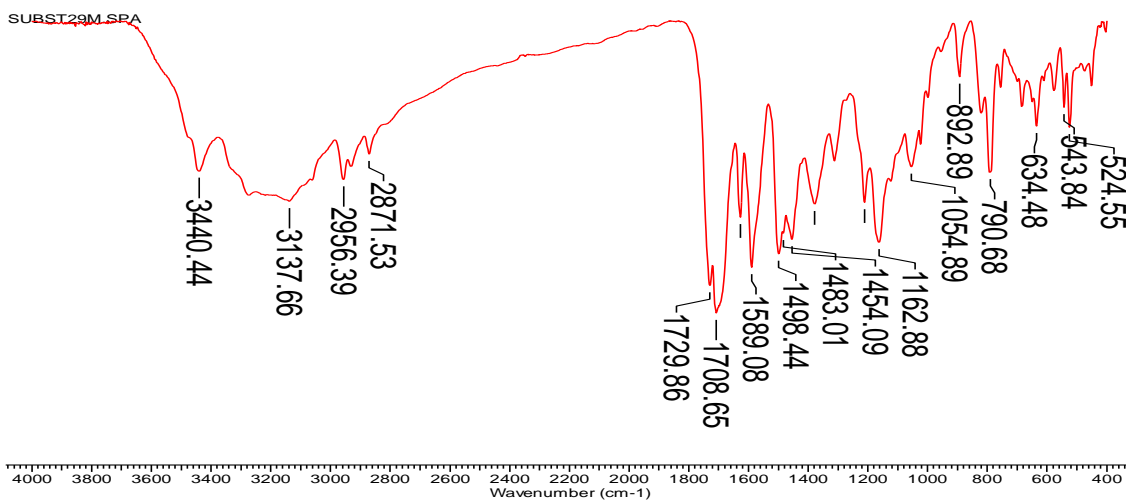
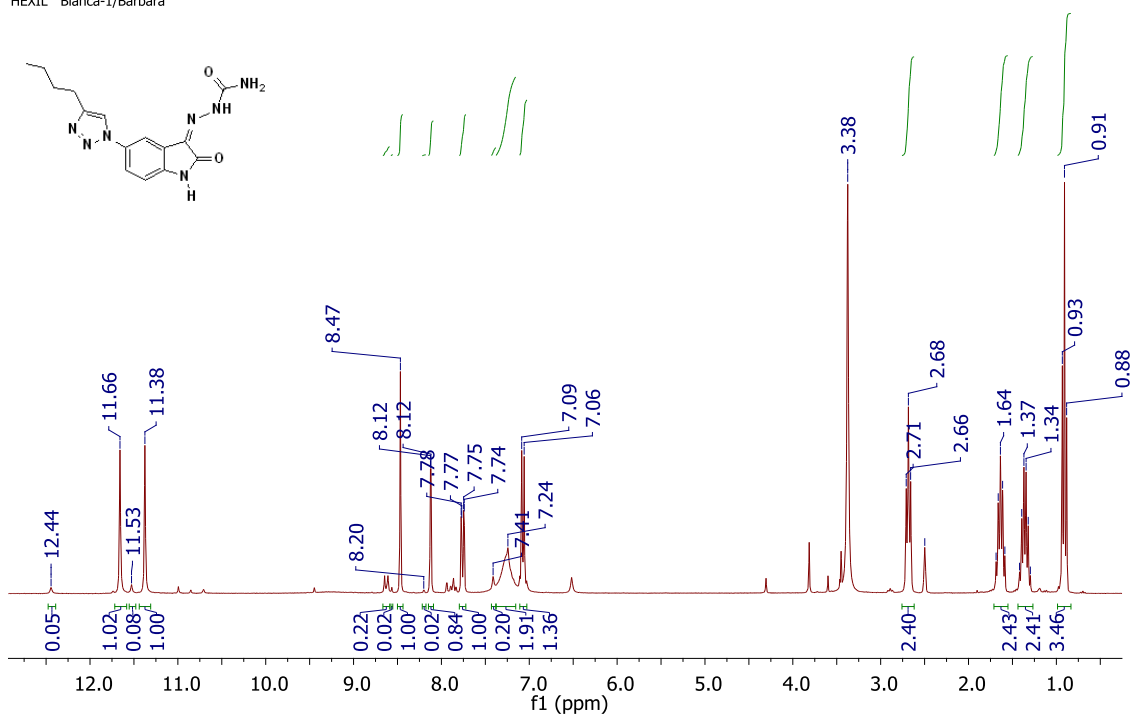


Figura A87. Espectro de IV da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-propil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**169**)

HEXIL
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Roberta
 1H/DMSO (300MHz) 24/11/201
 HEXIL Bianca-1/Barbara



HEXIL
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Roberta
 1H/DMSO (300MHz) 24/11/201
 HEXIL Bianca-1/Barbara

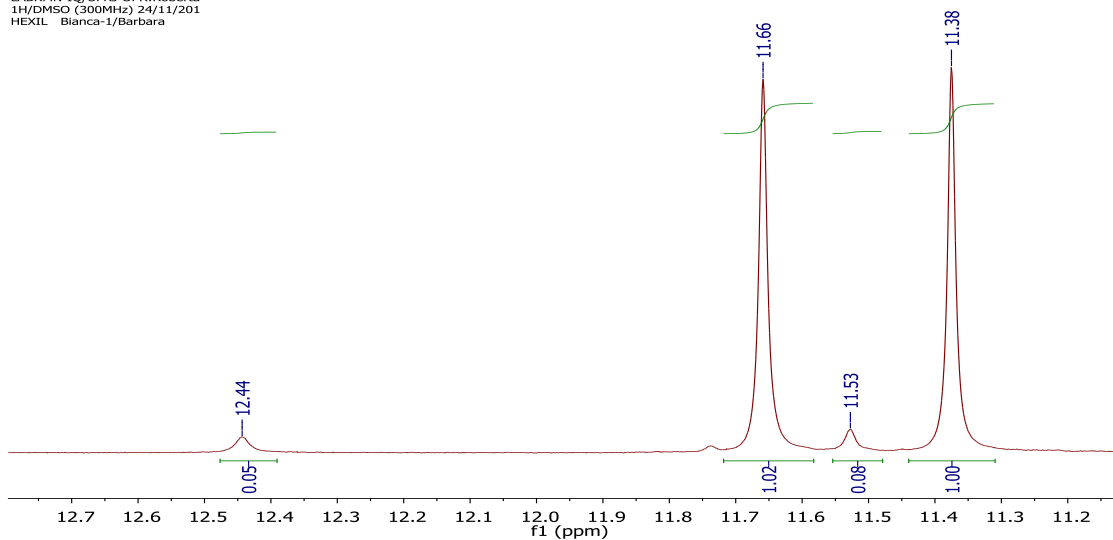


Figura A88. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**170**)

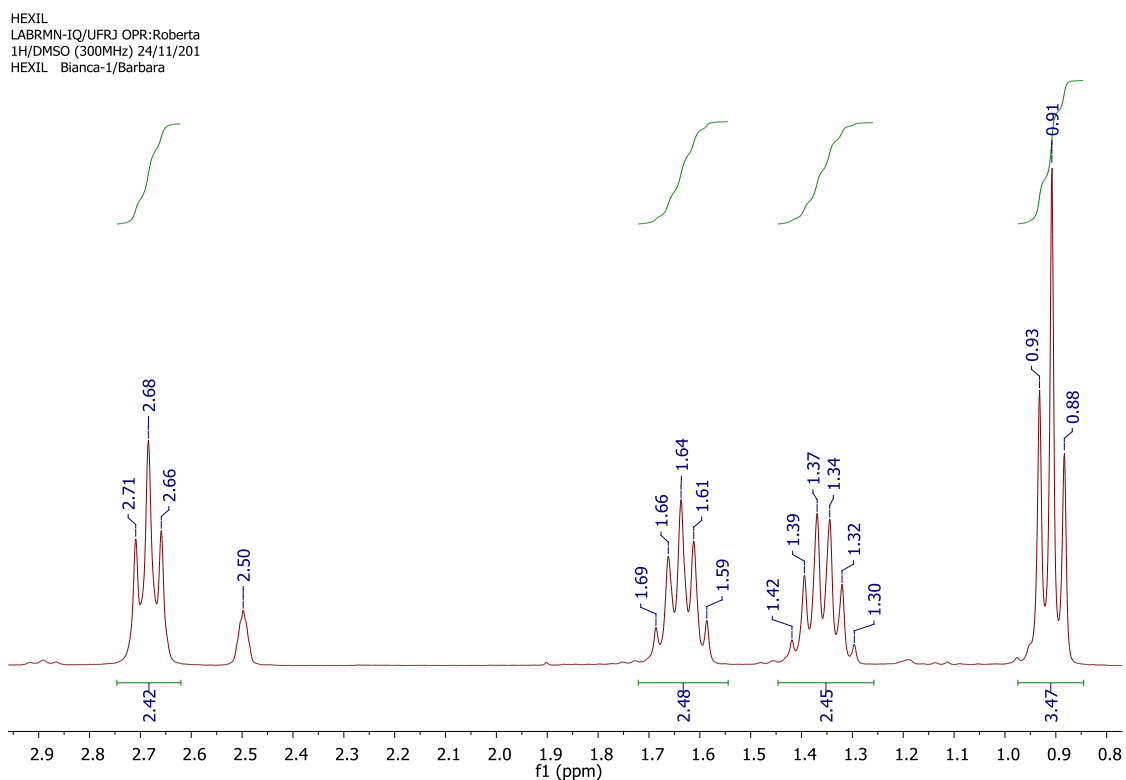
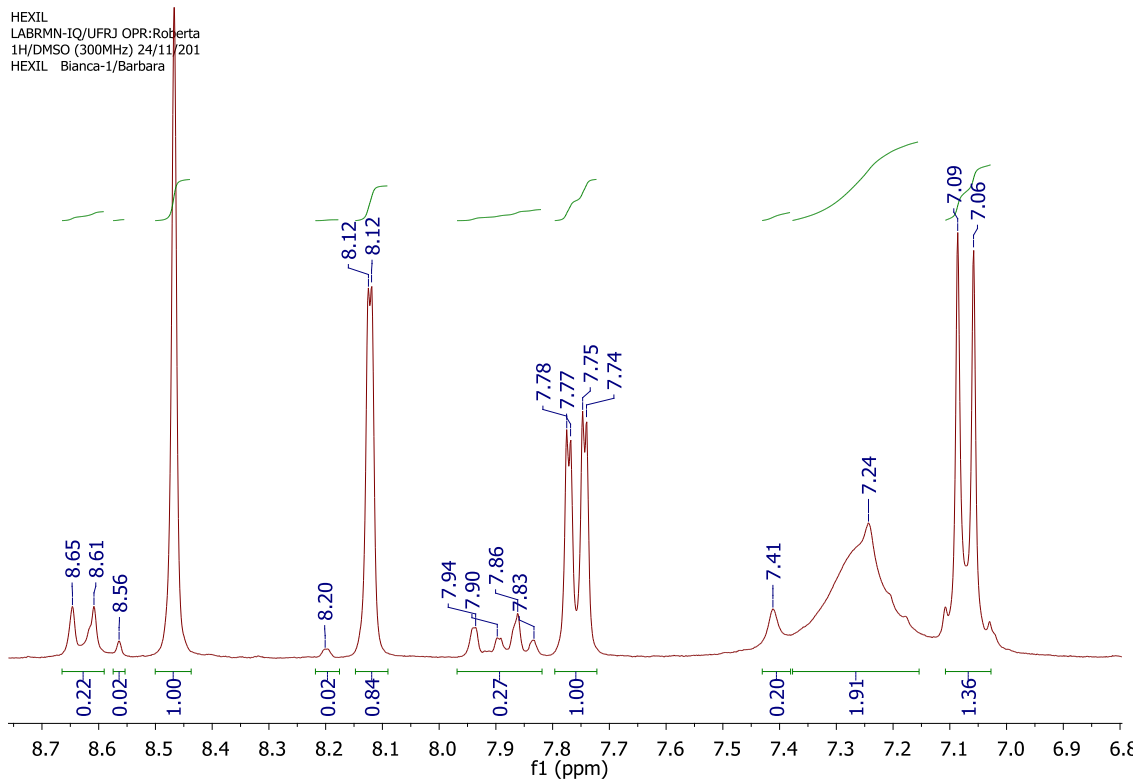


Figura A88. Expansão do espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**170**) (continuação)

HEXIL
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Roberta
 13C/DMSO (300MHz) 24/11/201
 HEXIL Bianca-2/Barbara

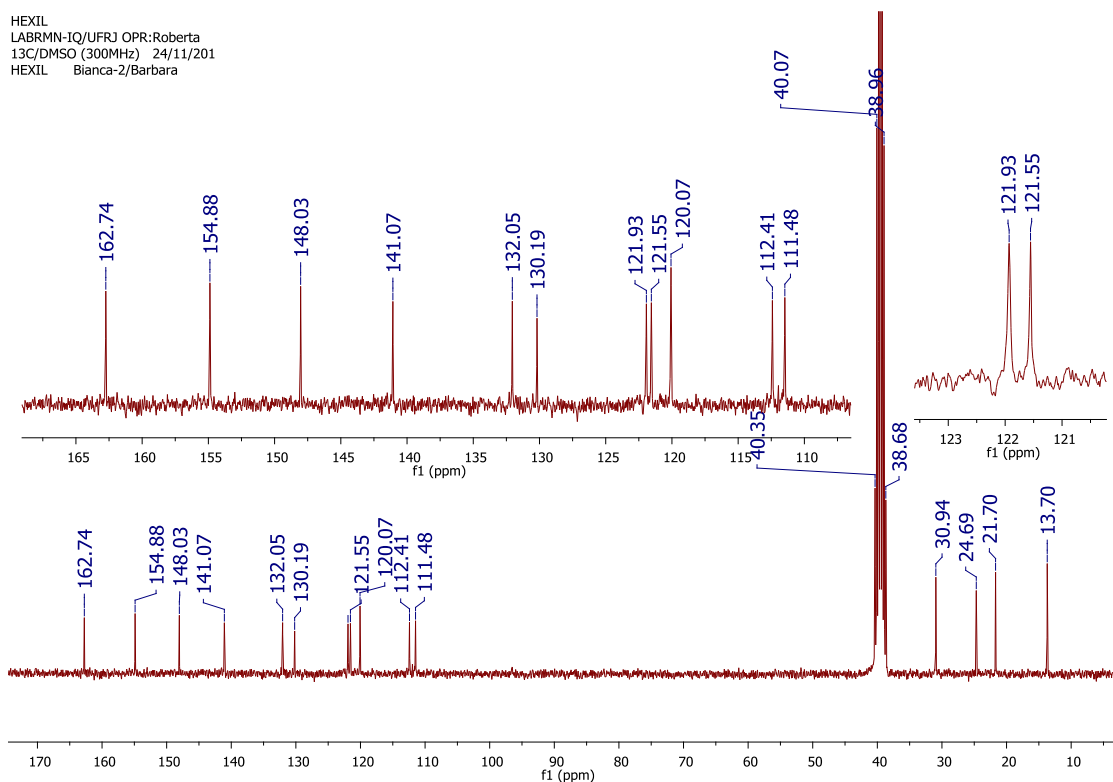


Figura A89. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**170**)

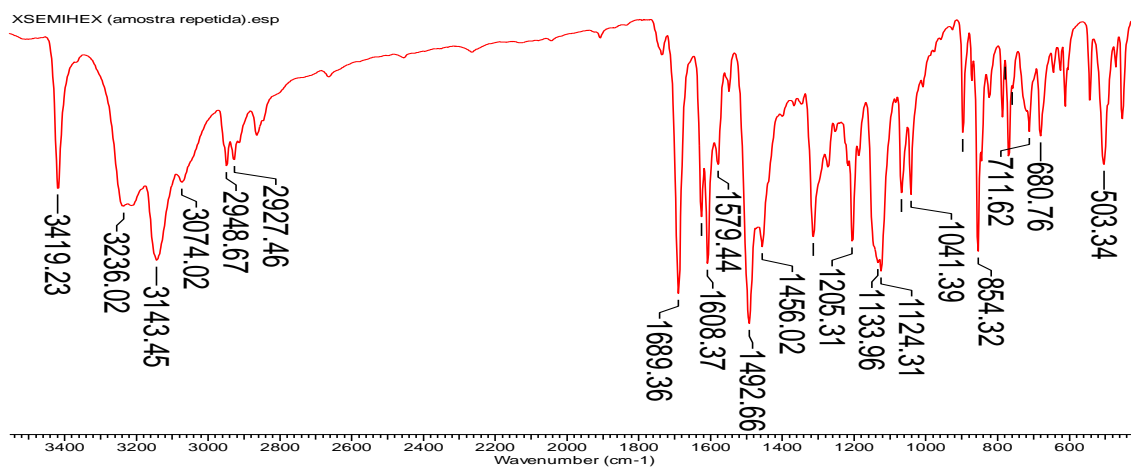
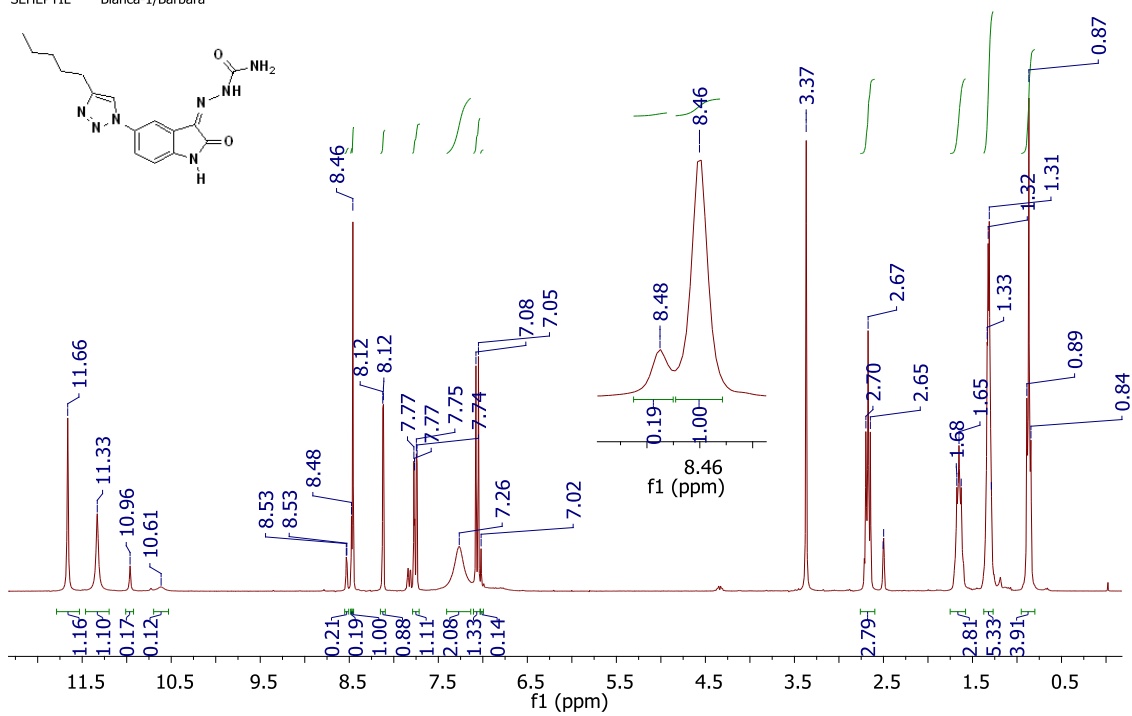


Figura A90. Espectro de IV da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**170**)

SEHEPTIL
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Roberta
 1H/DMSO (300MHz) 23/02/201
 SEHEPTIL Bianca-1/Barbara



SEHEPTIL
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Roberta
 1H/DMSO (300MHz) 23/02/201
 SEHEPTIL Bianca-1/Barbara

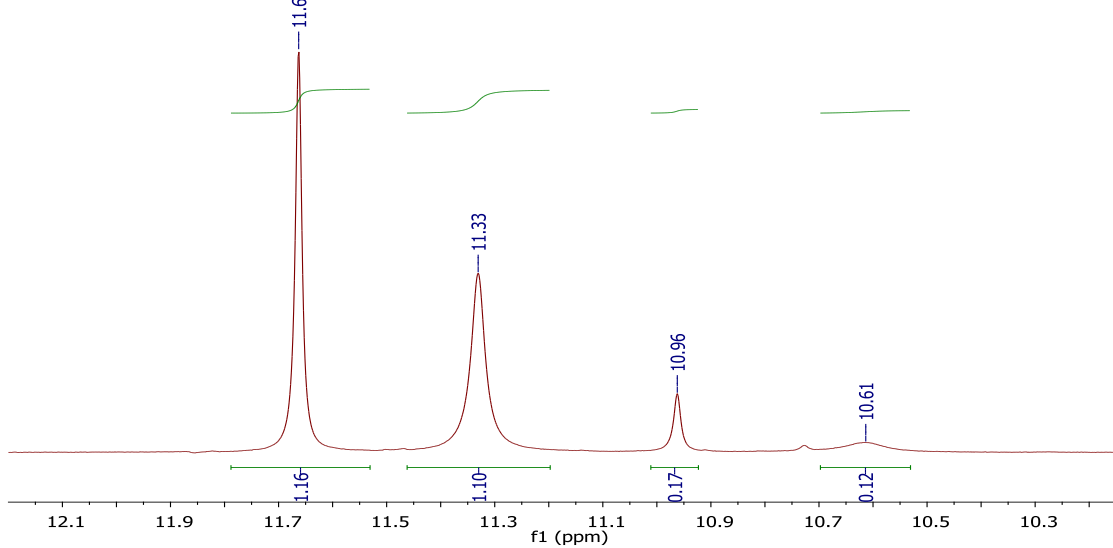


Figura A91. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (E,Z)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-yl)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**171**)

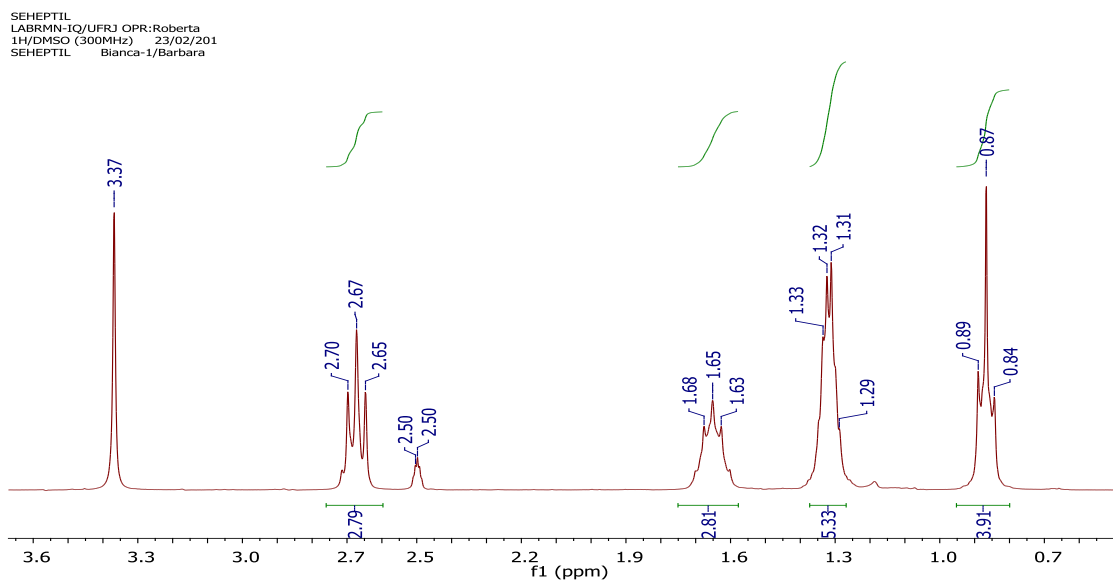
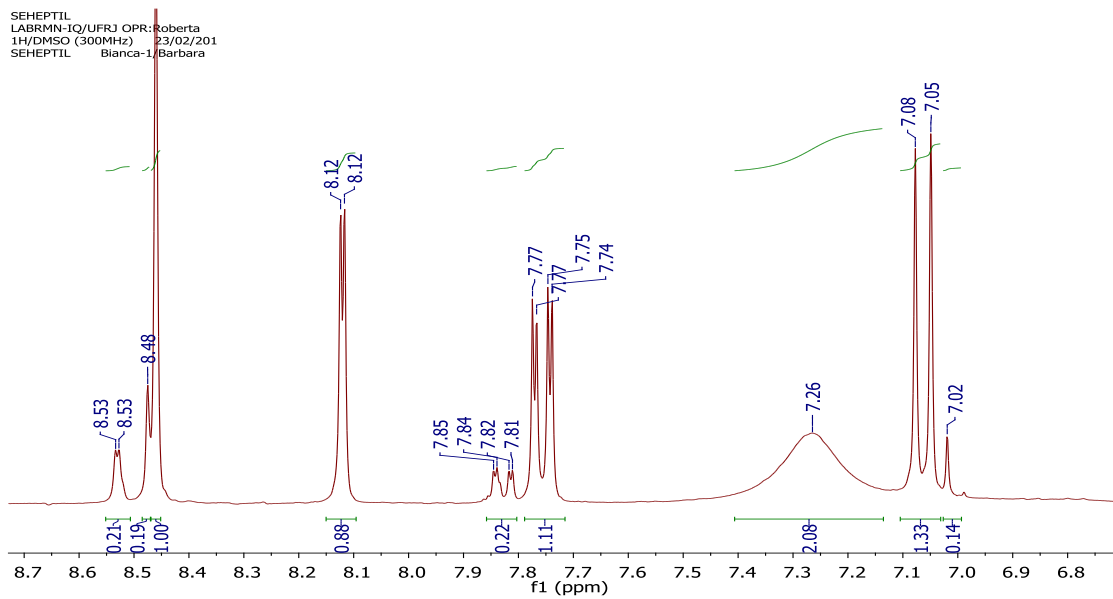
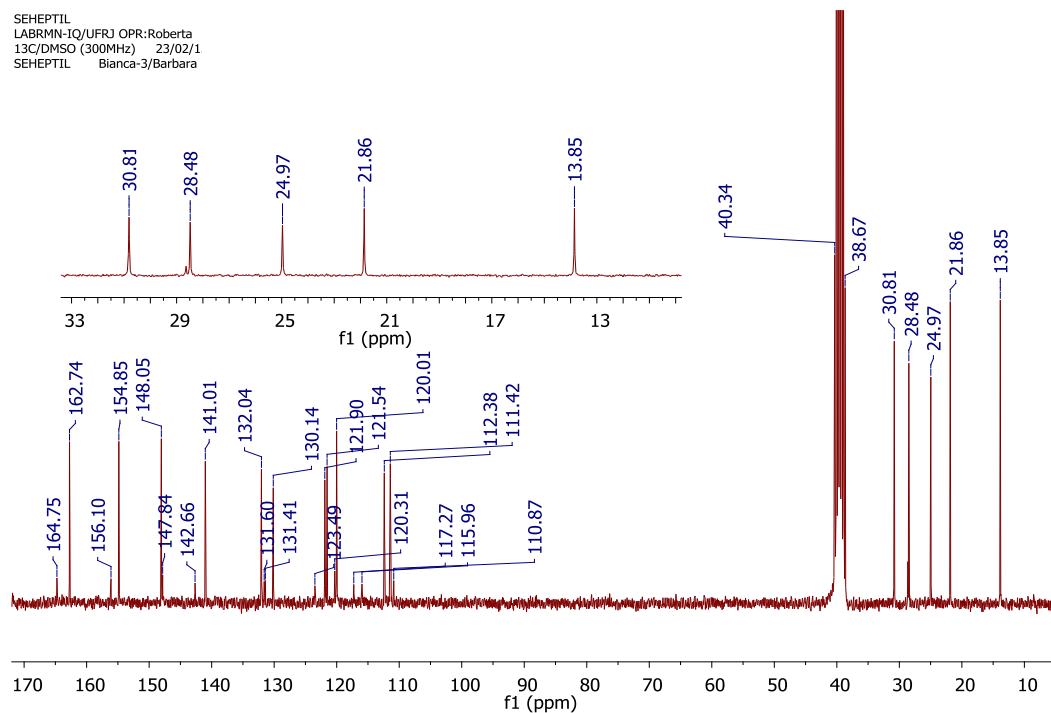


Figura A91. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**171**) (continuação)

SEHEPTIL
LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Roberta
13C/DMSO (300MHz) 23/02/1
SEHEPTIL Bianca-3/Barbara



SEHEPTIL
LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Roberta
13C/DMSO (300MHz) 23/02/1
SEHEPTIL Bianca-3/Barbara

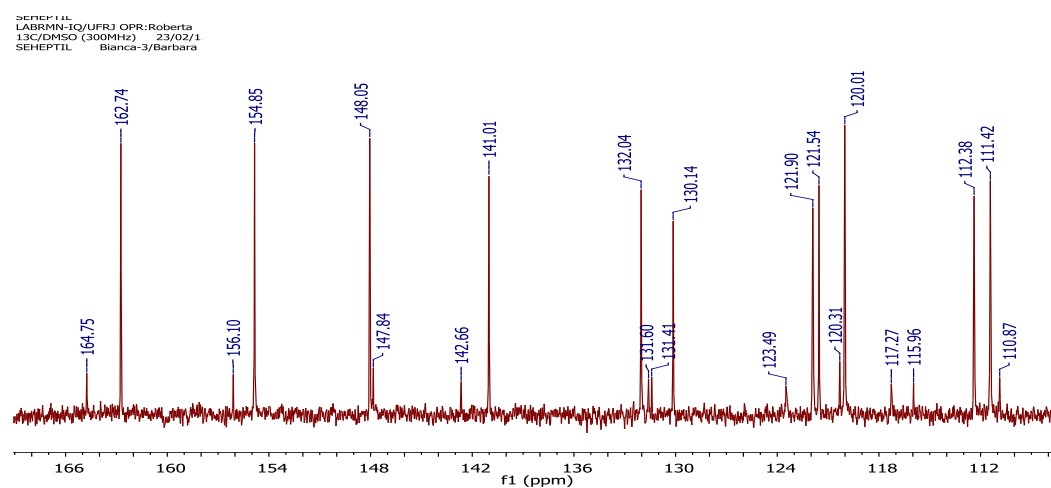


Figura A92. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**171**)

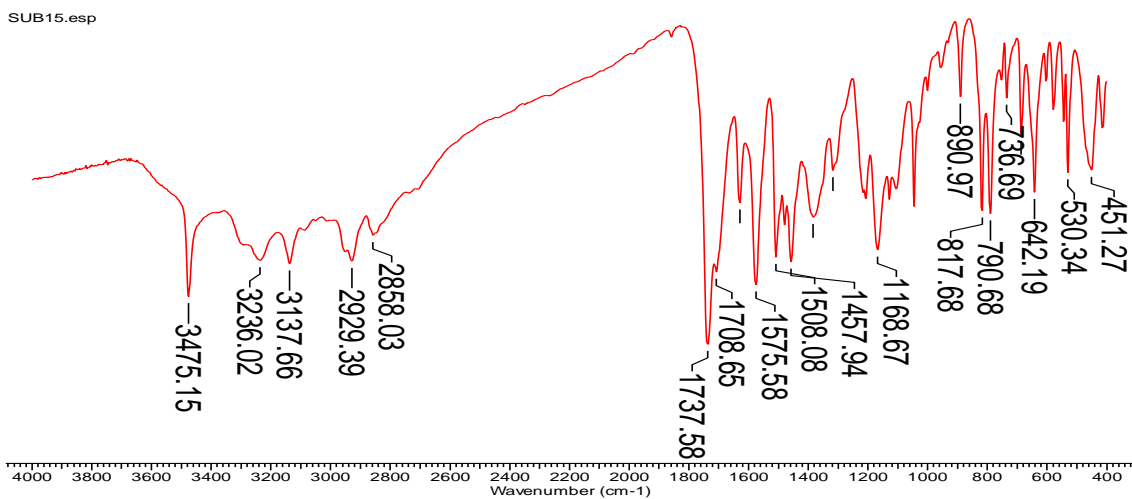


Figura A93. Espectro de IV da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**171**)

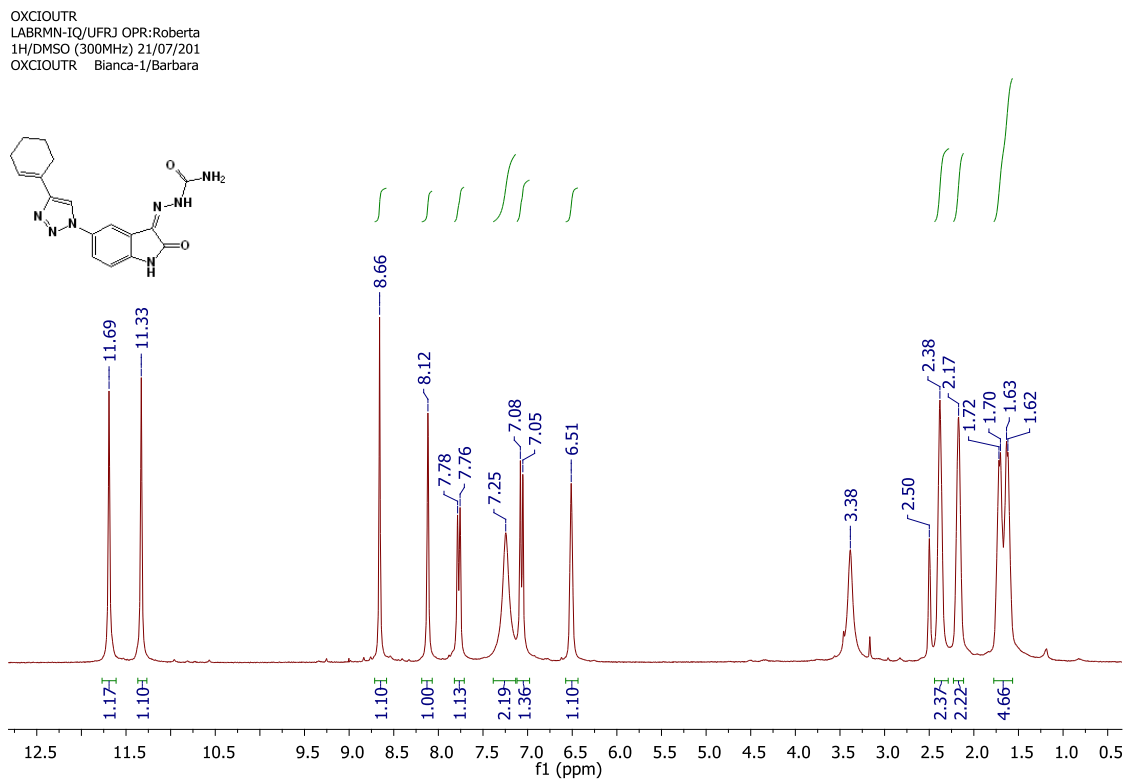
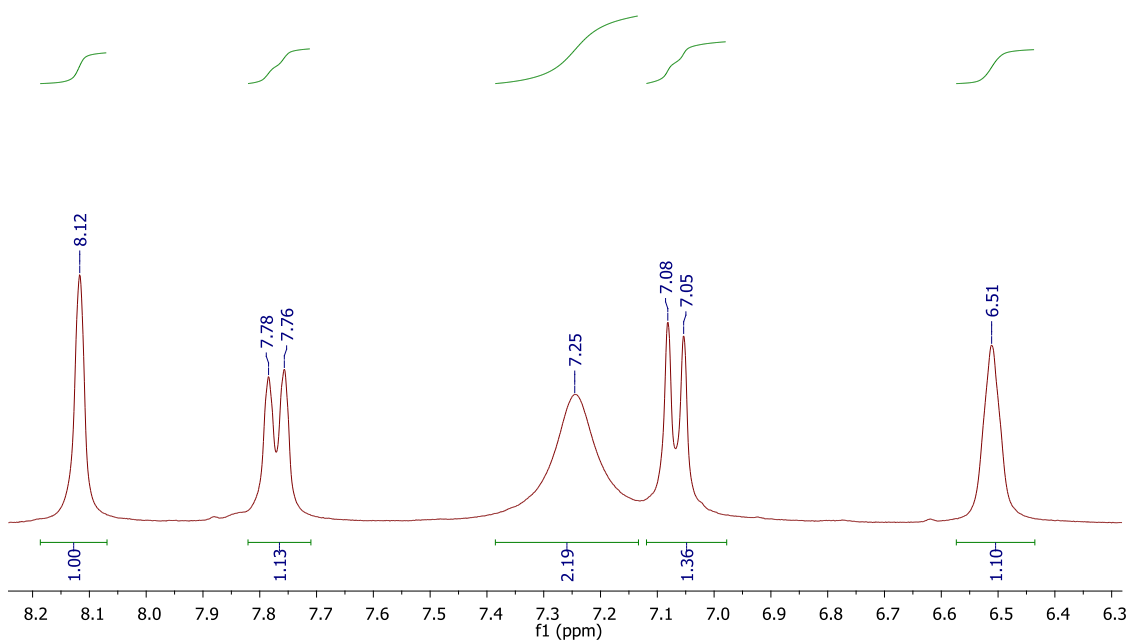


Figura A94. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-(ciclohex-1-en-1-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**172**)

OXCIOUTR
LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Roberta
1H/DMSO (300MHz) 21/07/201
OXCIOUTR Bianca-1/Barbara



OXCIOUTR
LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Roberta
1H/DMSO (300MHz) 21/07/201
OXCIOUTR Bianca-1/Barbara

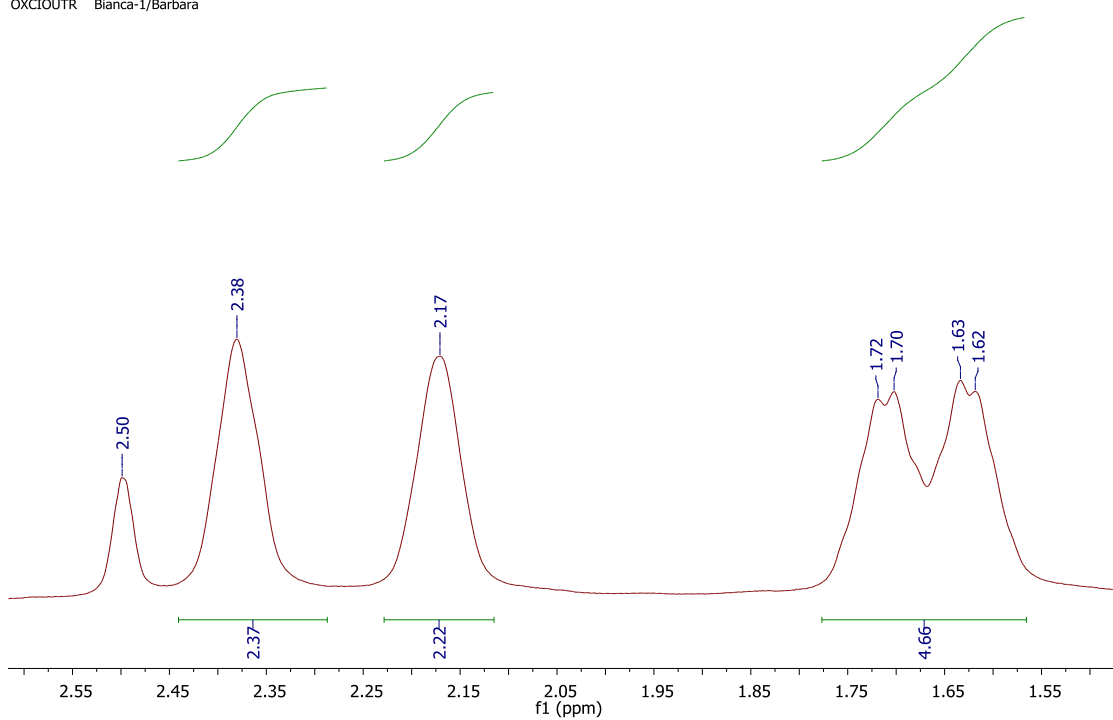


Figura A94. Expansão do espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**172**) (continuação)

OXCIOUTR
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR:Roberta
 13C/DMSO (300MHz) 21/07/201
 OXCIOUTR Bianca-2/Barbara

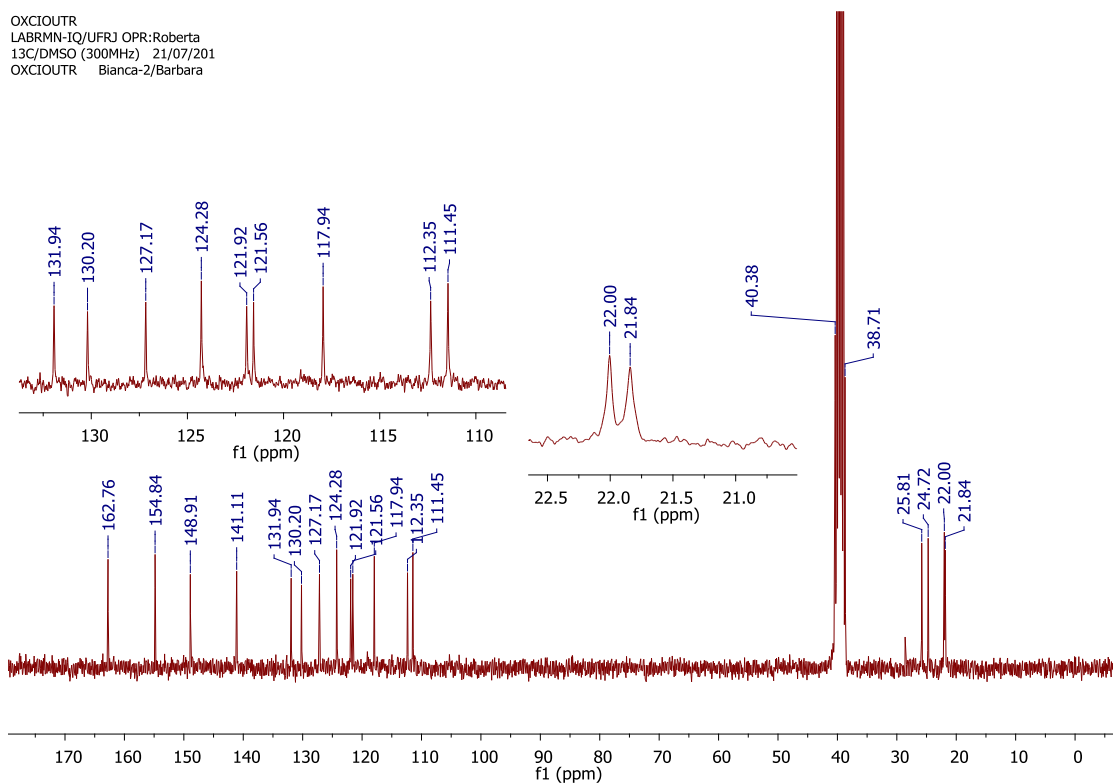


Figura A95. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**172**)

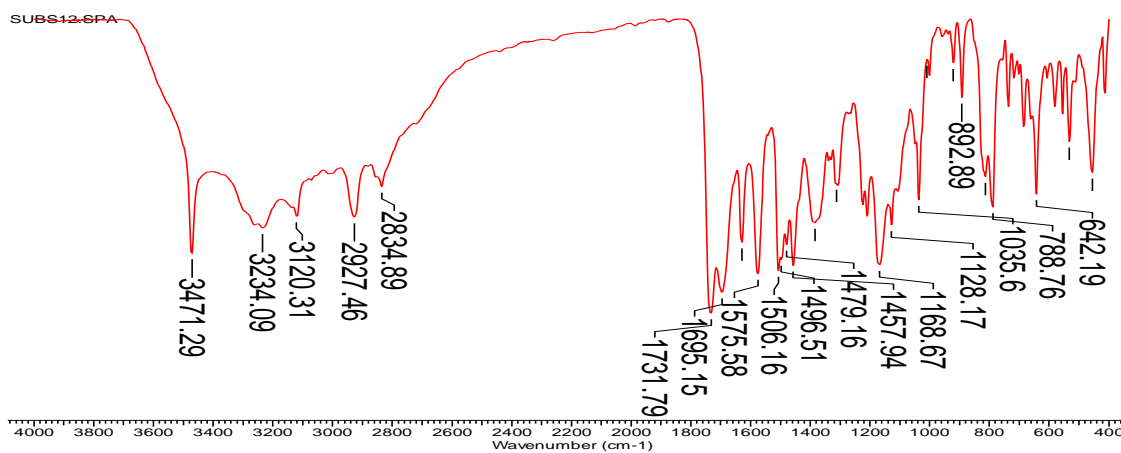
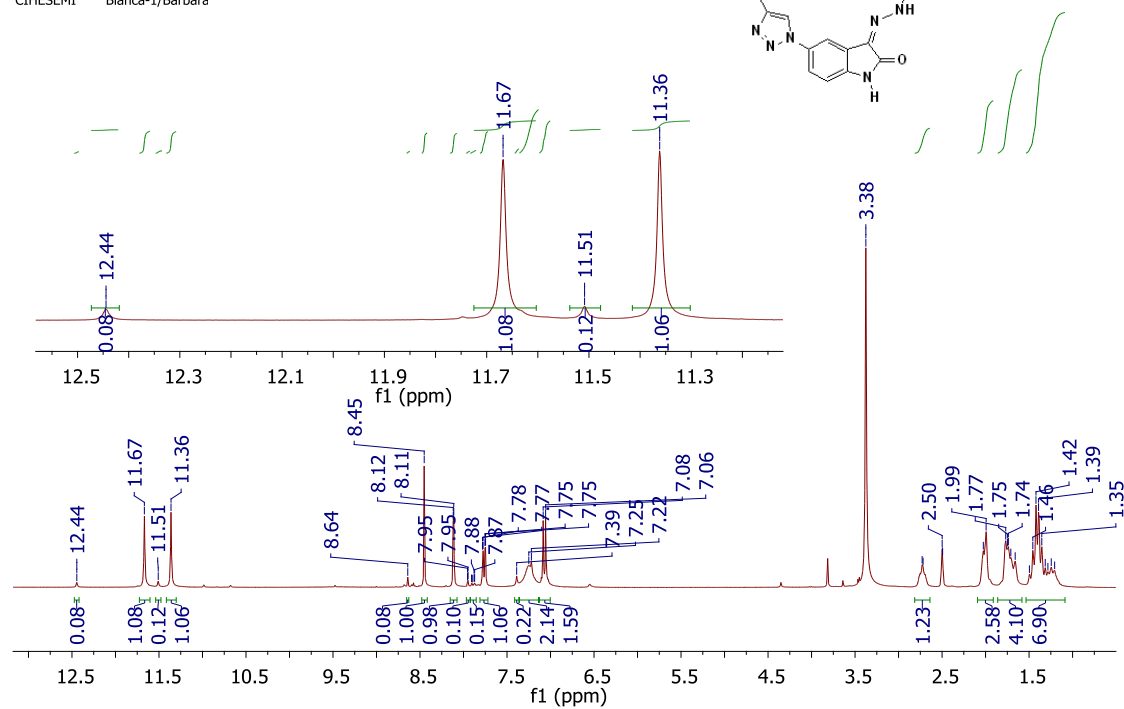
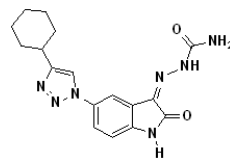


Figura A96. Espectro de IV da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(ciclohex-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**172**)

CIHESEMI
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR: Victor
 1H/DMSO (300MHz) 09/12/201
 CIHESEMI Bianca-1/Barbara



CIHESEMI
 LABRMN-IQ/UFRJ OPR: Victor
 1H/DMSO (300MHz) 09/12/201
 CIHESEMI Bianca-1/Barbara

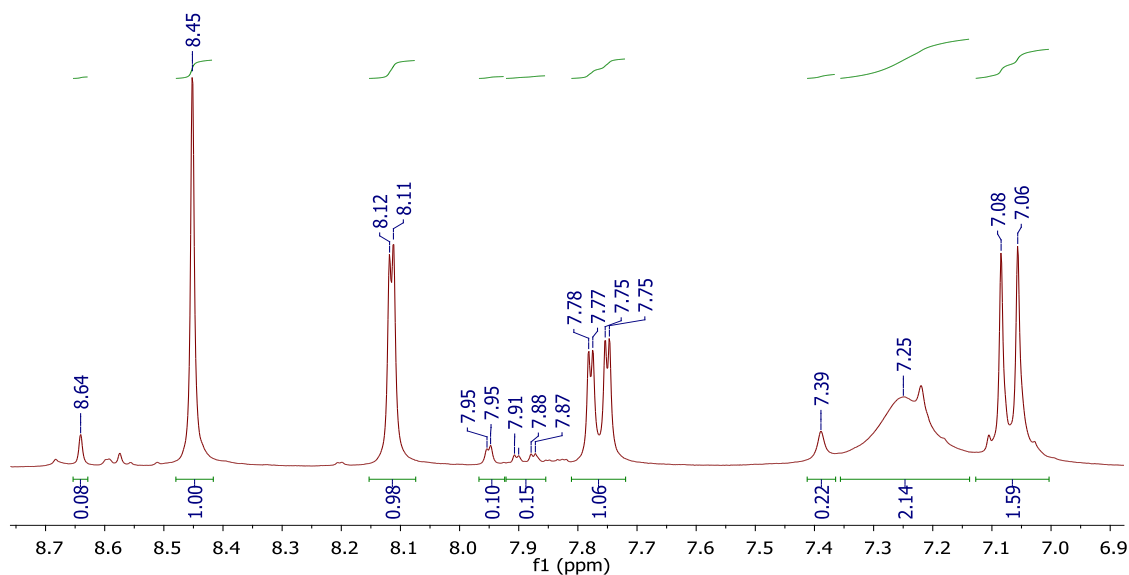


Figura 97. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**173**)

CIHESEMI
LABRMN-IQ/UFRJ OPR: Victor
1H/DMSO (300MHz) 09/12/201
CIHESEMI Bianca-1/Barbara

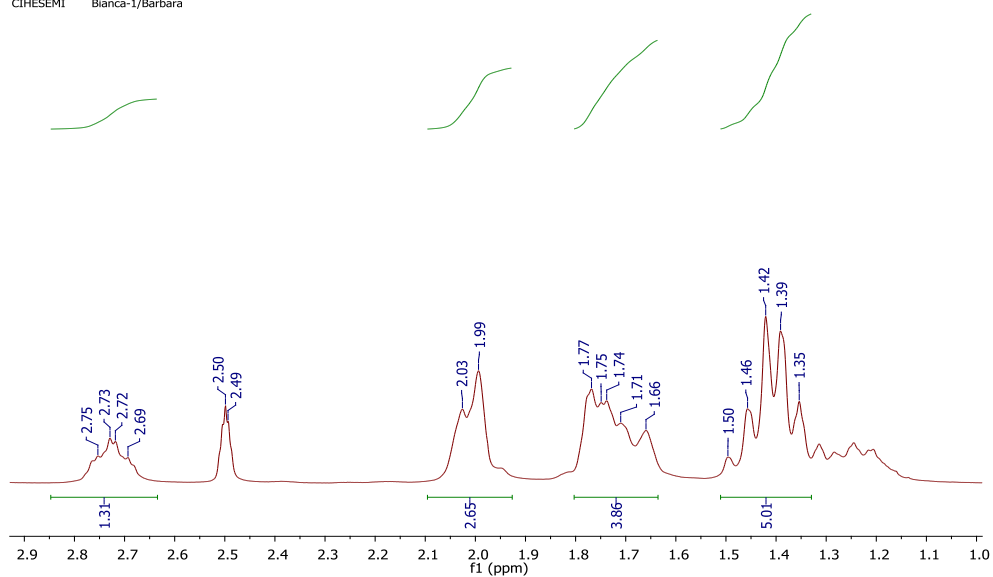


Figura 97. Expansão do espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**173**) (continuação)

CIHESEMI
LABRMN-IQ/UFRJ OPR: Victor
13C/DMSO (300MHz) 09/12/201
CIHESEMI Bianca-2/Barbara

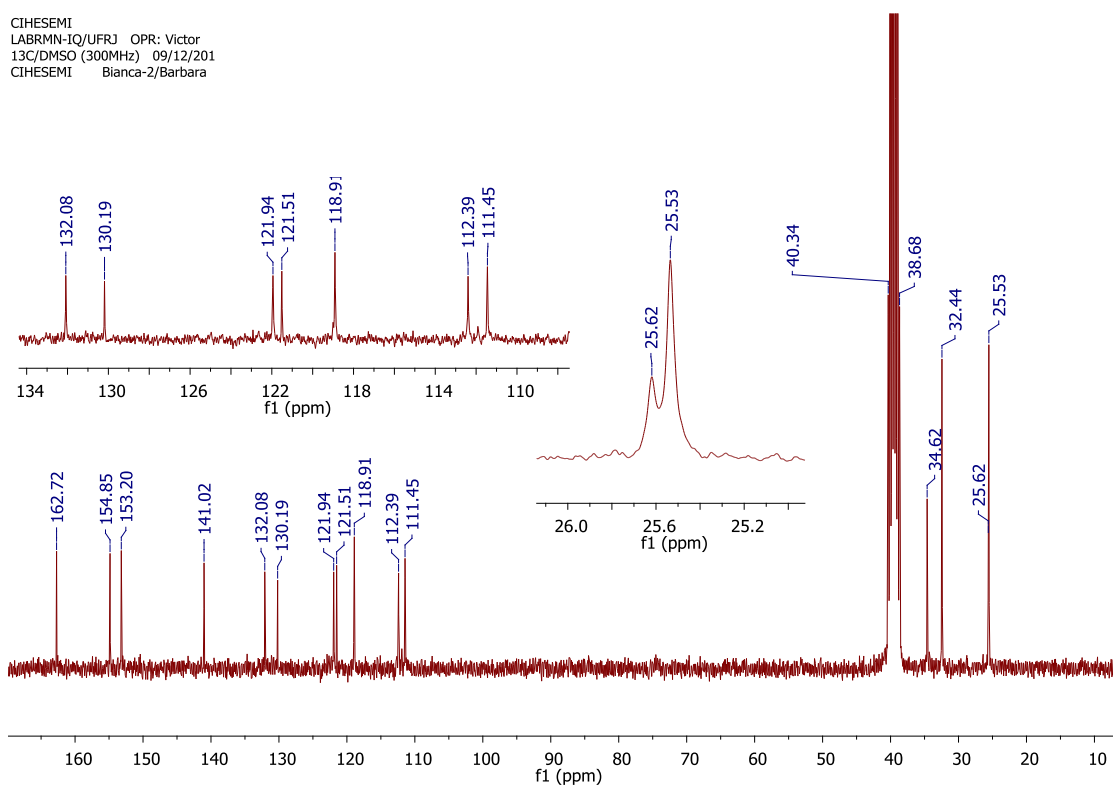


Figura 98. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**173**)

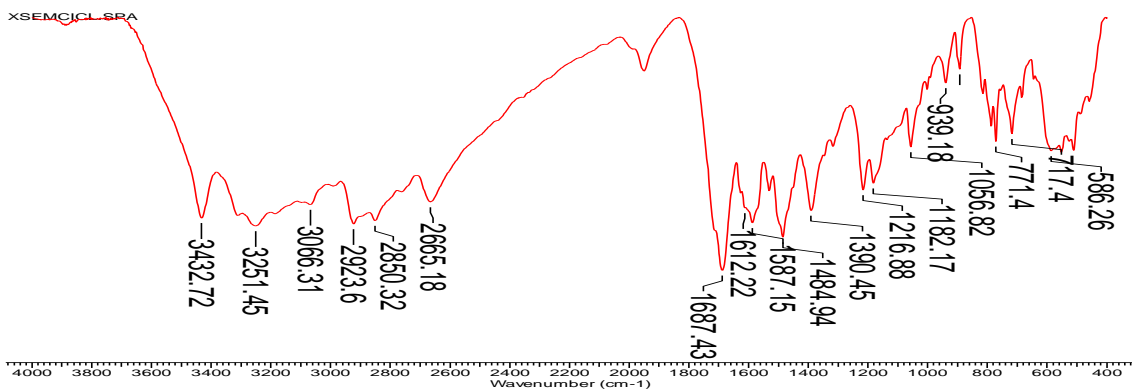


Figura 99. Espectro de IV da (*E,Z*)-2-(2-oxo-5-(4-ciclohexil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**173**)

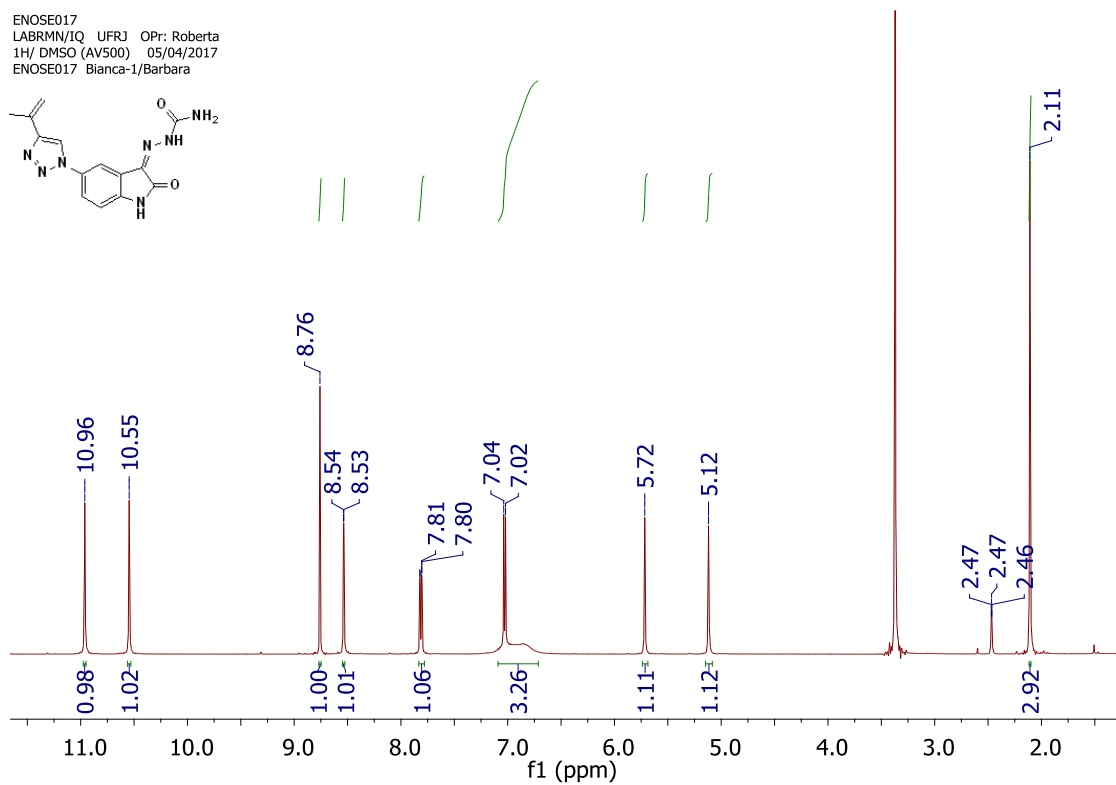


Figura A100. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**174**)

ENOSE017
LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
1H/ DMSO (AV500) 05/04/2017
ENOSE017 Bianca-1/Barbara

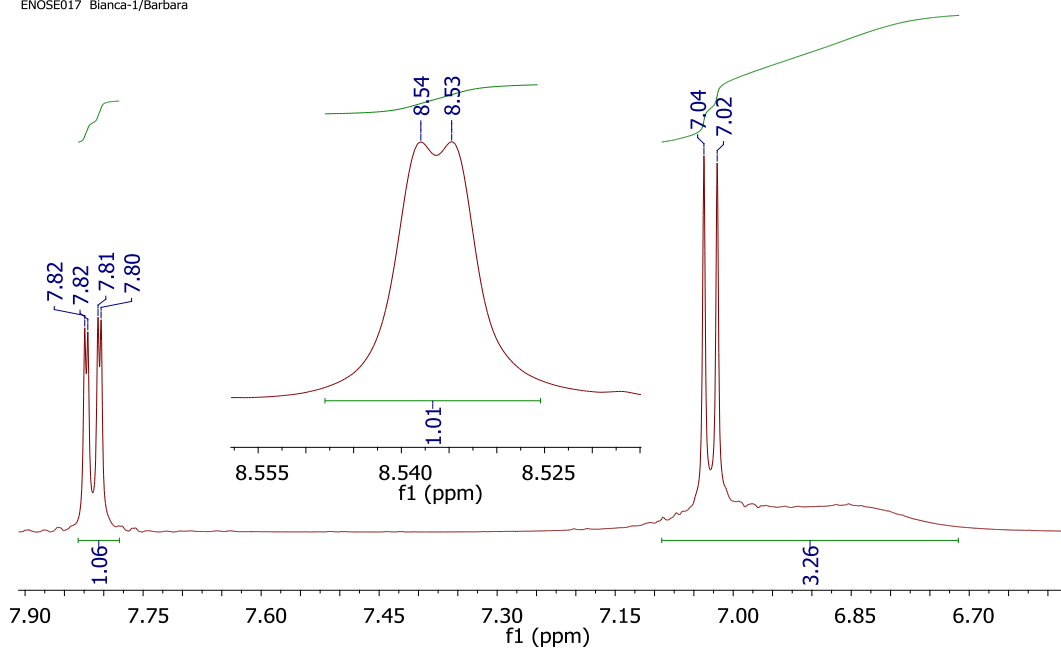


Figura A100. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**174**) (continuação)

ENOSE017
LABRMN/IQ UFRJ OPr: Roberta
13C(H)/DMSO (AV500) 05/04/2017
ENOSE017 Bianca-2/Barbara
45 mg

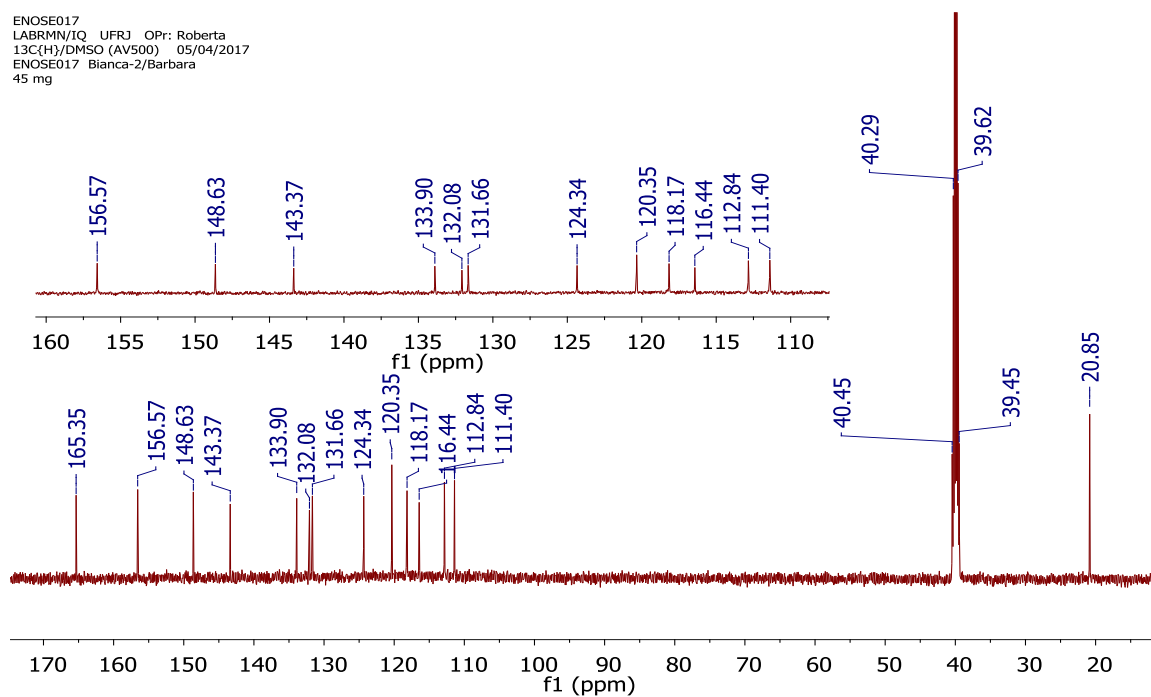


Figura A101. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da (Z)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**174**)

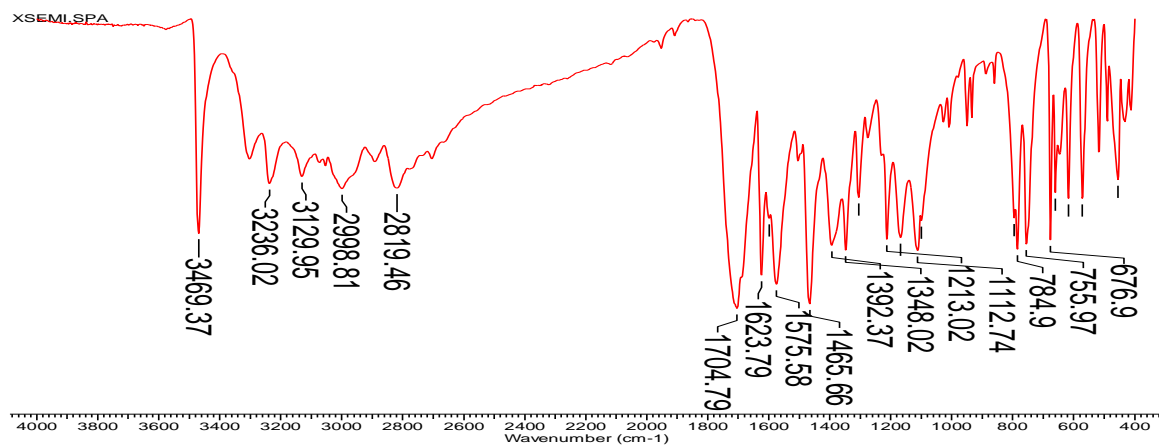


Figura A102. Espectro de IV da (*Z*)-2-(2-oxo-5-(4-(prop-1-en-2-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)indolina-3-ilideno)hidrazinocarboxamida (**174**)

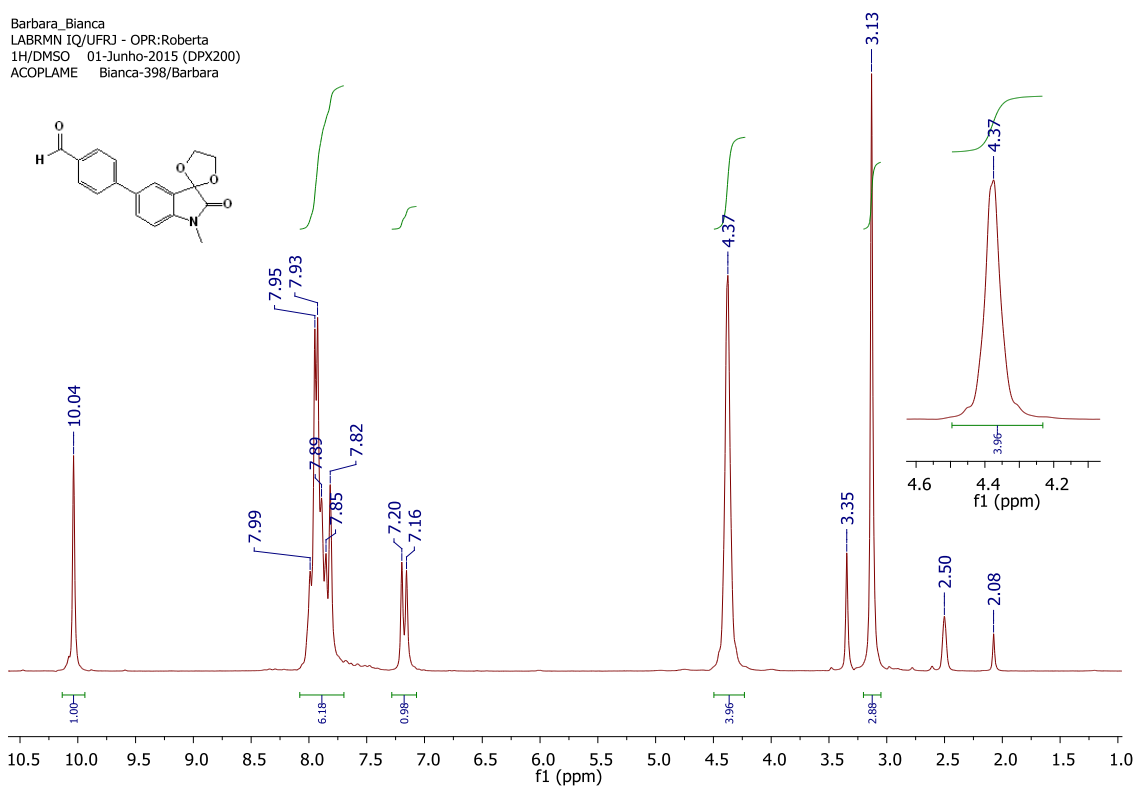


Figura 103. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 4-(*N*-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (**181**)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPR:Roberta
1H/DMSO 01-Junho-2015 (DPX200)
ACOPLAME Bianca-399/Barbara

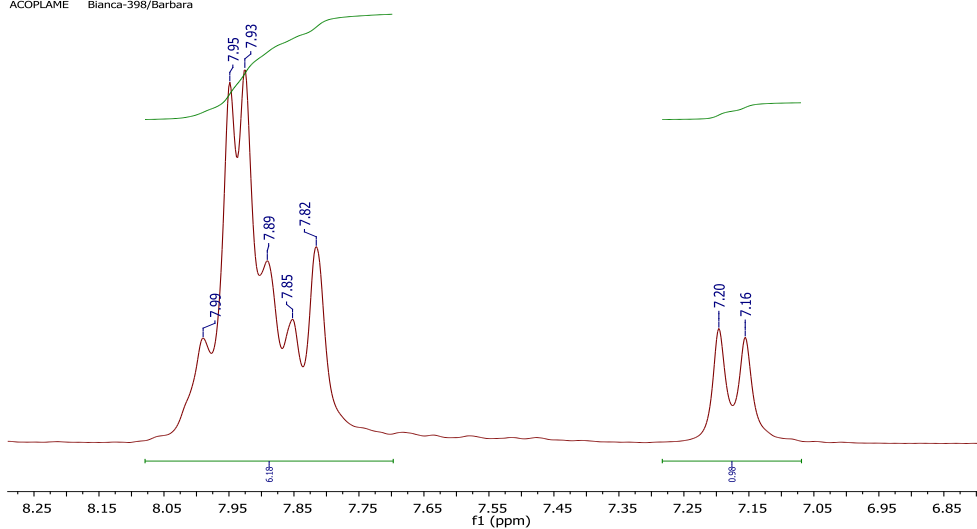


Figura 103. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 4-(*N*-metil-2,5-dioxacíclopentano-1,3'-indolina-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (**181**) (continuação)

Barbara_Bianca
LABRMN IQ/UFRJ - OPR:Roberta
13C/DMSO 01-Junho-2015 (DPX200)
ACOPLAME Bianca-399/Barbara
Quant:38 mg scans: 2048 02h15'38"

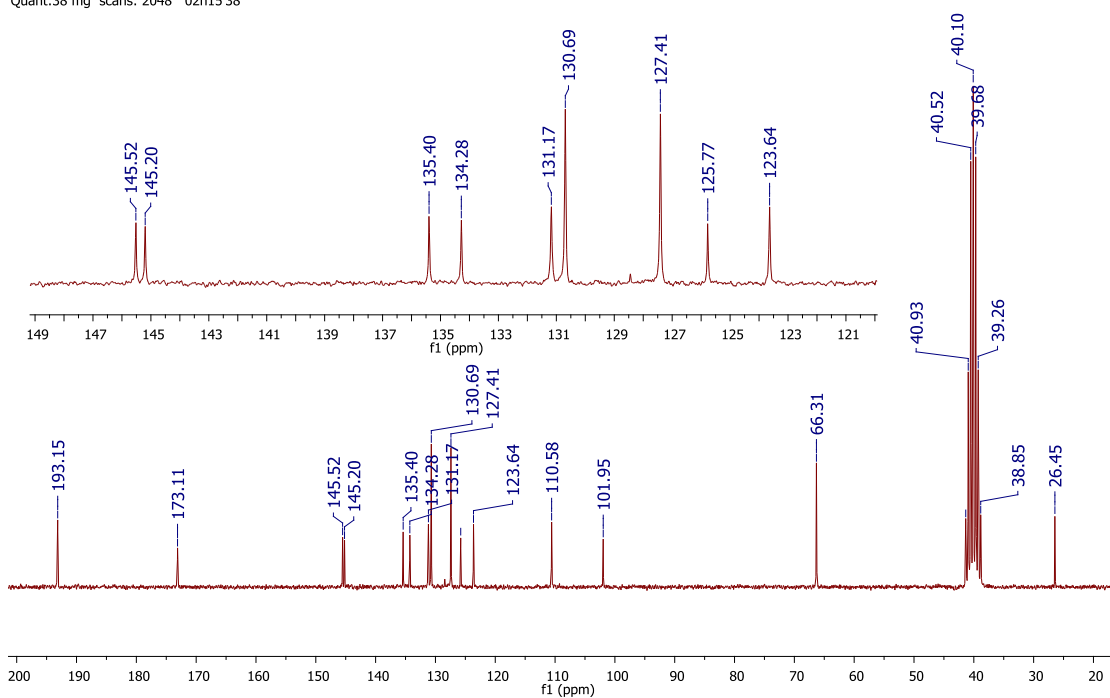


Figura A104. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 4-(*N*-metil-2,5-dioxacíclopentano-1,3'-indolina-2'-ona)-5'-il)benzaldeído (**181**)

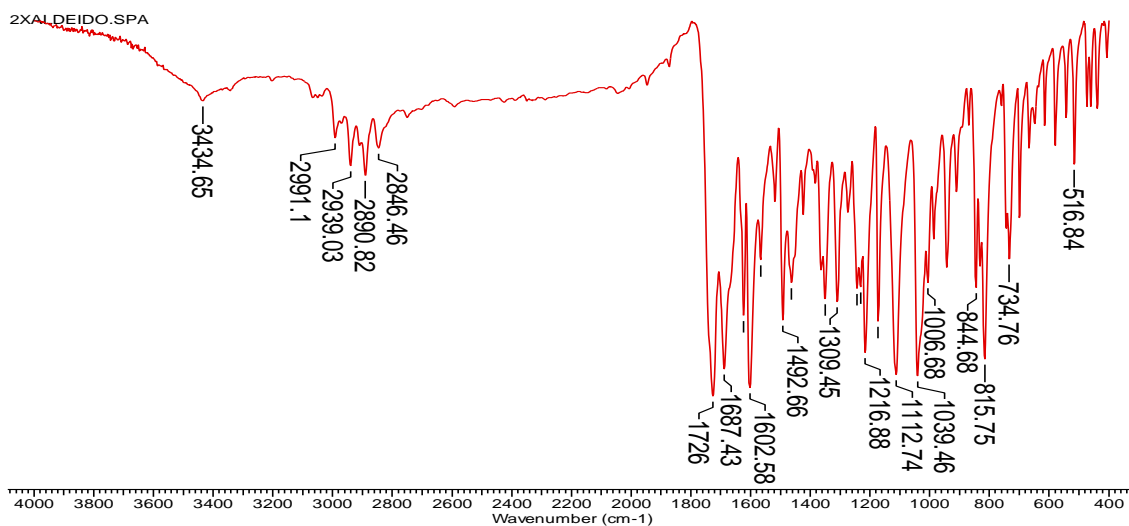


Figura A105. Espectro de IV da 4-(N-metil-2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-indolina-2'-ona)-5'-il)benzaléido (**181**)

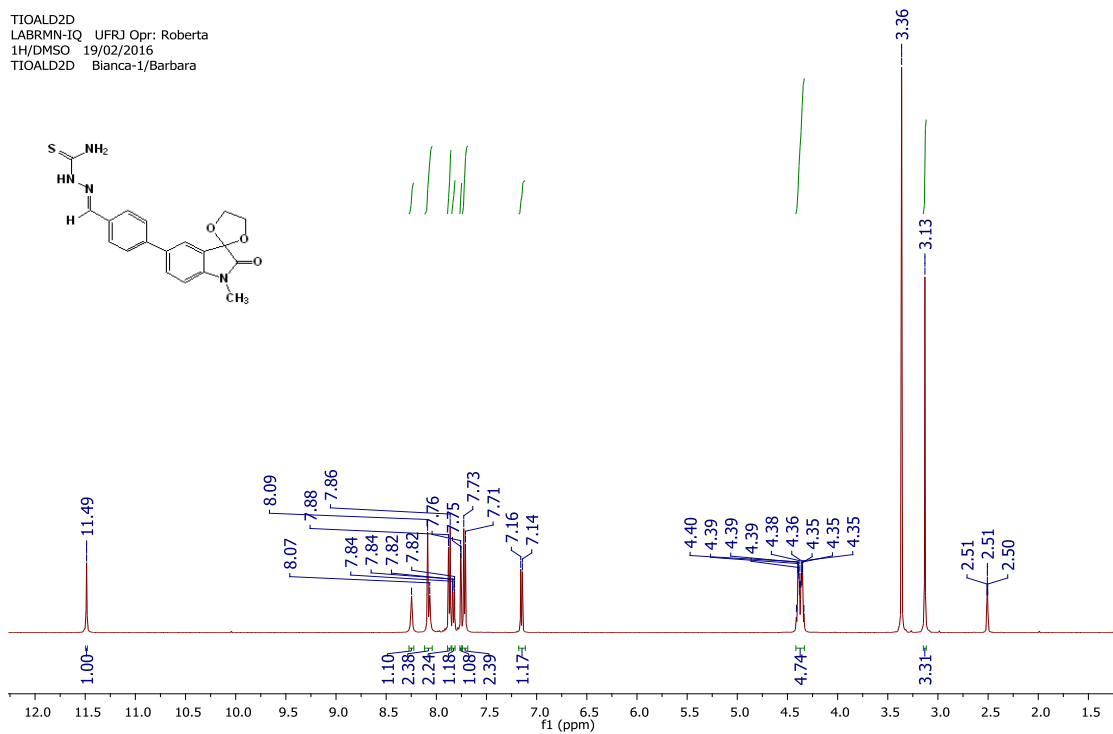
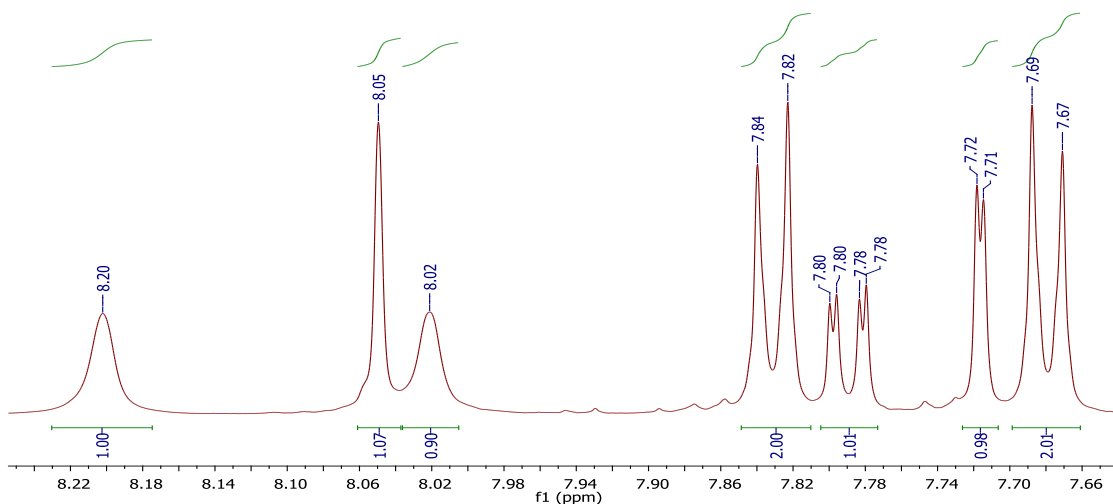


Figura A106. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotoamida (**184**)

TIOALDEI
LABRMN-IQ UFRJ Opr: Roberta
1H/CDCI3 17/02/2016
TIOALDEI Blanca-1/Barbara



TIOALDEI
LABRMN-IQ UFRJ Opr: Roberta
1H/CDCI3 17/02/2016
TIOALDEI Blanca-1/Barbara

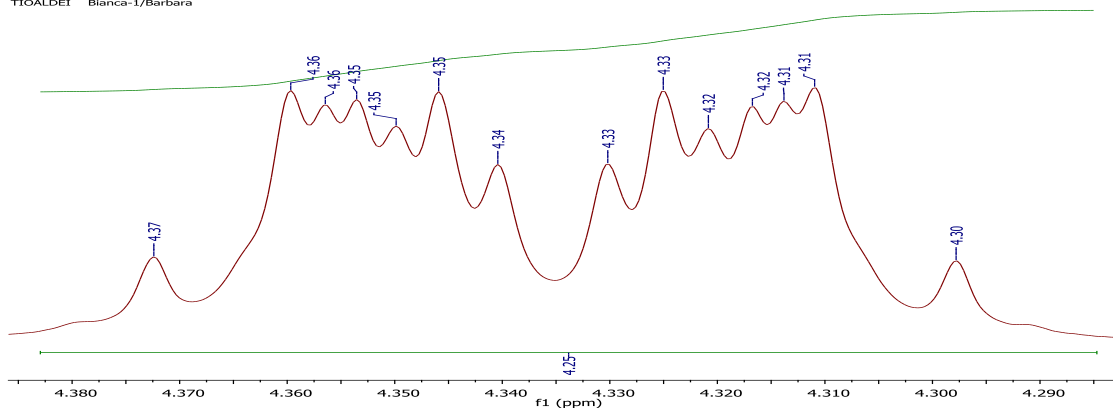


Figura A106. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotoiameda (**184**) (continuação)

TIOALDEI
 LABRMN-IQ UFRJ Opr: Roberta
 13C/CDC13 17/02/2016
 TIOALDEI Bianca-2/Barbara
 20mg

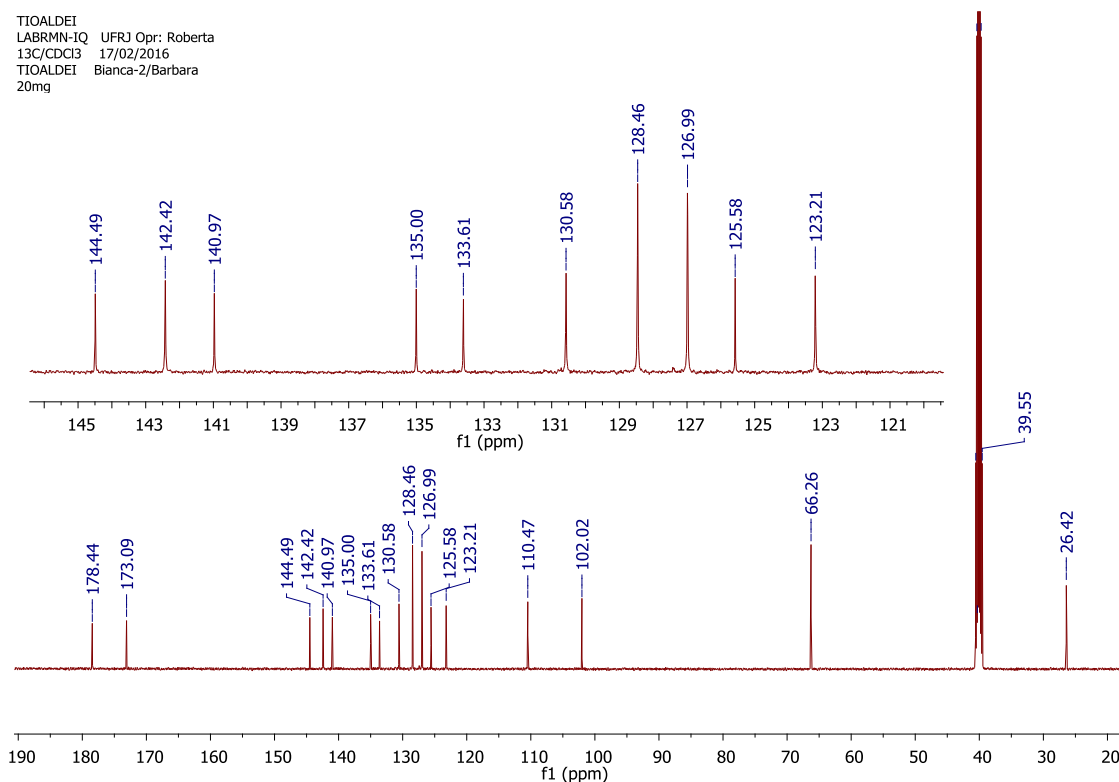


Figura A107. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (**184**)

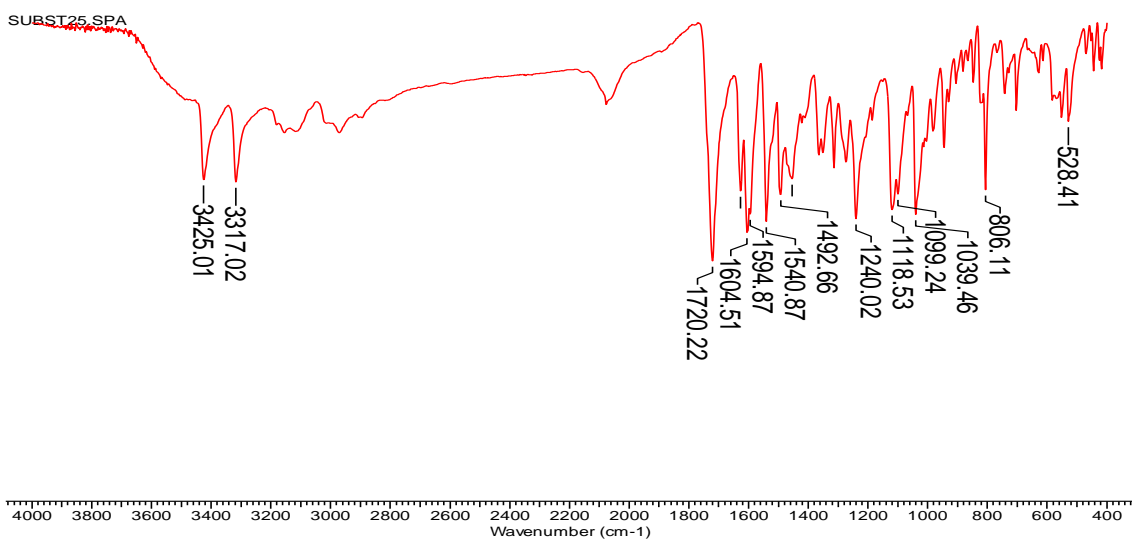
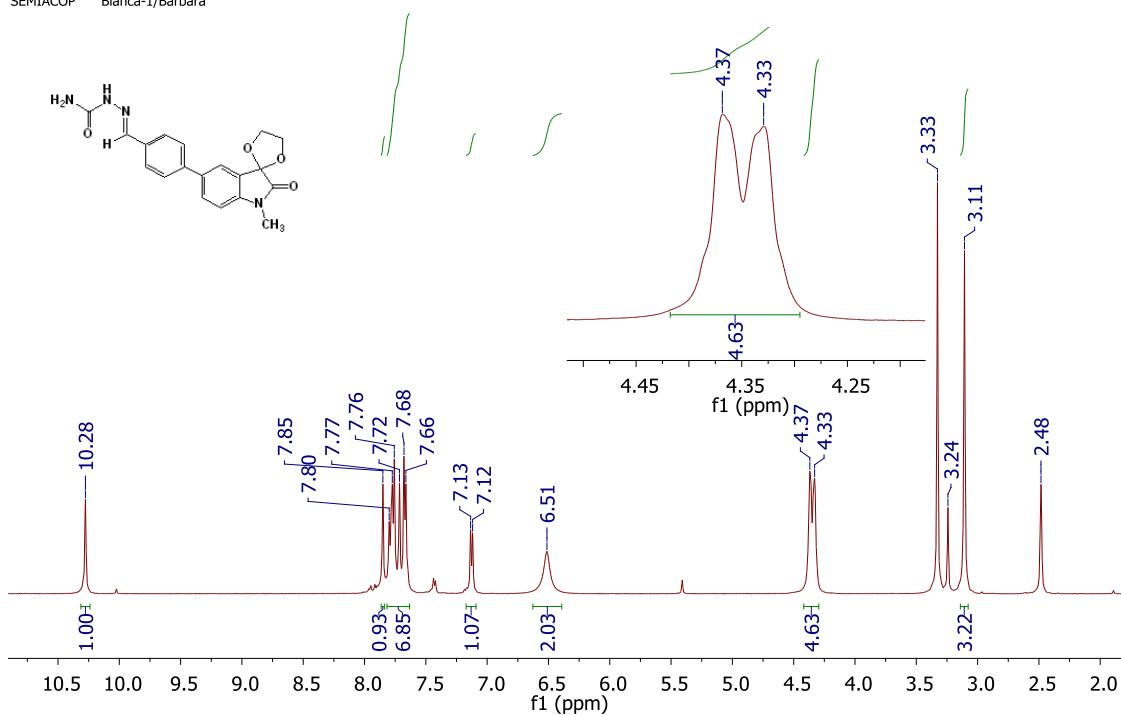


Figura A108. Espectro de IV da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarbotioamida (**184**)

SEMIACOP
LABRMN-IQ/UFRJ Opr:Roberta
1H/DMSO (500MHz) 22/01/2015
SEMIACOP Bianca-I/Barbara



SEMIACOP
LABRMN-IQ/UFRJ Opr:Roberta
1H/DMSO (500MHz) 22/01/2015
SEMIACOP Bianca-I/Barbara

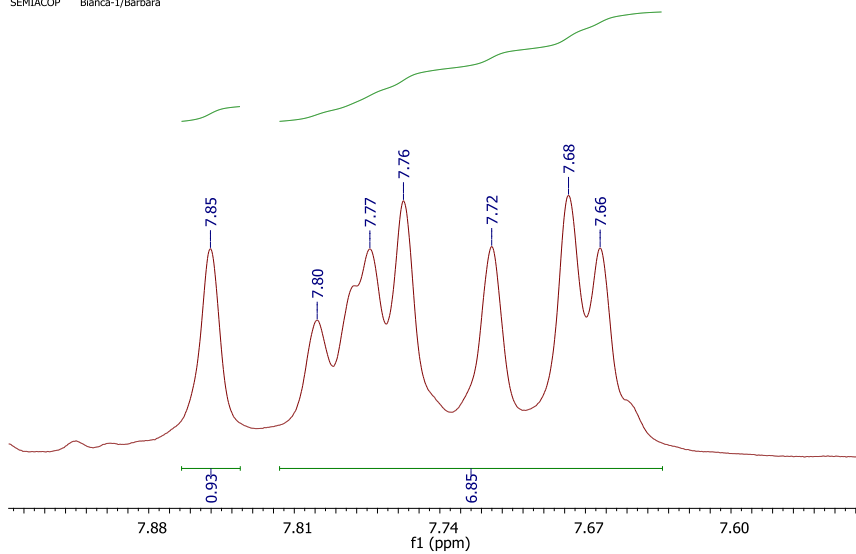


Figura A109. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilideno)hidrazinocarboxamida (**185**)

SEMIACOP
 LABRMN-IQ/UFRJ Opr:Roberta
 13C/DMSO (500MHz) 22/01/2015
 SEMIACOP Bianca-2/Barbara
 31 mg

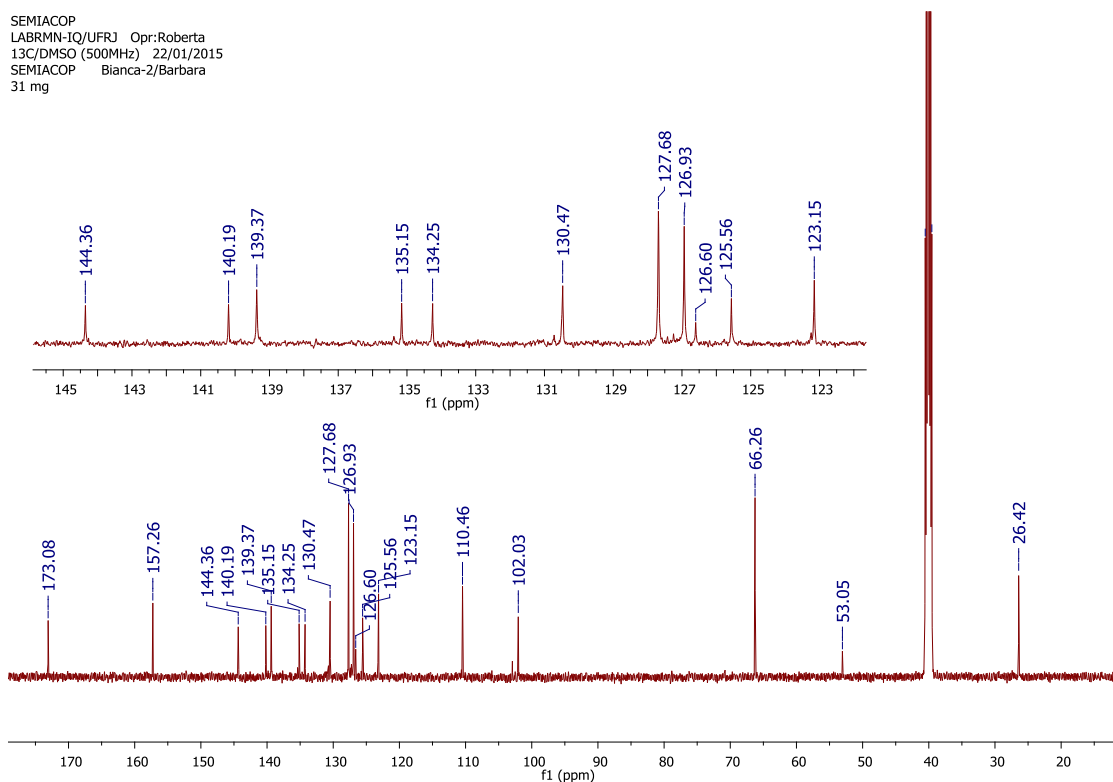


Figura A110. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilidenohidrazinocarboxamida (**185**)

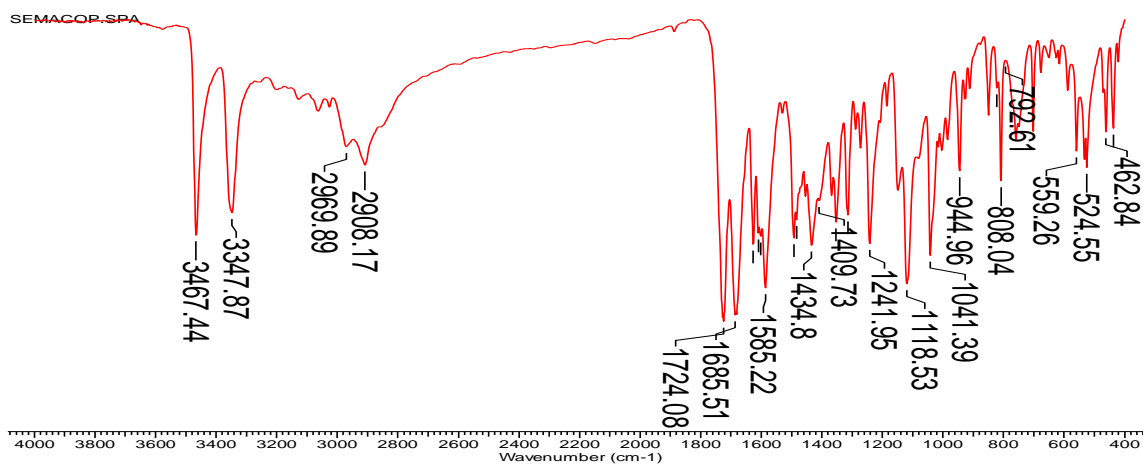


Figura A111. Espectro de IV da 2-(4-(1'-metil-2'-oxo-espiro[[1,3]dioxolano-2,3'-indolina]-5'-il)benzilidenohidrazinocarboxamida (**185**)

ANEXO II

DADOS PROFISSIONAIS

Neste anexo, encontra-se uma breve descrição de minha trajetória acadêmica composta por alguns dados e documentos.

Curriculum Vitae

Bianca Nascimento Monteiro da Silva

Endereço profissional: Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química
Avenida Athos da Silveira Ramos, 149. Centro de
Tecnologia, Bl. A – 6º andar
Laboratório 621
Ilha do Fundão – Rio de Janeiro
21941-909, RJ – Brasil
Telefone: (21) 3938-7139

Endereço eletrônico: bianca_qnascimento@yahoo.com.br

Formação acadêmica/titulação:

- 2011-2013** Mestre em Ciências (Química)
Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Rio de Janeiro – Brasil
Título: Obtenção e avaliação sedativo-hipnótico de novos derivados 5'-(4-
alquil/aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-espiro(2,5-dioxa-ciclopentano-1,3'-
indolino-2'-ona) via reação de cicloadição 1,3-dipolar.
Ano de obtenção: 2013
Orientador: Bárbara Vasconcellos da Silva
Bolsista da: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
Superior
- 2015** Licenciatura em Química
Faculdade Souza Marques, FTESM, Rio de Janeiro – Brasil
- 2007-2010** Graduação em Tecnologia em Química com ênfase em Produtos Naturais
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro,
IFRJ, Rio de Janeiro – Brasil
Título: Estudo da Hidrólise dos Cetais de Isatina
Orientador: Bárbara Vasconcellos da Silva e Angelo da Cunha Pinto
Bolsista da: Fundação Movimento Universitar (PETROBRÁS)

Produção técnica:

SILVA, B. N. M. Micro-ondas, a nova macro onda nos laboratórios de química. Publicado no Portal da SBQ Rio em 18/02/2009.

Artigos publicados:

SILVA, B.N.M.; BASTOS, R.S.; SILVA, B.V. *Síntese de 5-nitro-isatina e 5-cloro-isatina a partir de isonitrosoacetanilida*. **Química Nova**, v. 33, p. 2279, 2010.

SILVA, B.N.M.; SILVA, B.V.; SILVA, F.C.; GONZAGA, D.T.G.; FERREIRA, V.F.; PINTO, A. C. *Synthesis of novel isatin type 5'-(4-alkyl/aryl-1H-1,2,3-triazoles) via 1,3-dipolar cycloaddition reactions*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 179, 2013.

ROSAS, M.S.L.; **SILVA, B.N.M.**; PINTO, R. G. P.; PINTO, A. C.; SILVA, B. V.; SILVA, R.A.; ABREU, F.G.; SILVA, G.; CASTRO, H.C.; LIONE, V. *Incidência do câncer no Brasil: mudanças e perspectivas*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, p. 243, 2013.

SILVA, A.B.; GOMES, J.A.C.P.; D'ELIA, E.; REZENDE, M.J.C.; PINTO, A.C.; **SILVA, B.N.M.**; SILVA, B.V. *Isatin-Derived Compounds as Carbon Steel Corrosion Inhibitors in Highly Saline Media*. **International Journal of Electrochemical Science**, v.8, p.9317, 2013.

BIROLI, W.G.; FERREIRA, I.M.; JIMENEZ, D.E.Q.; SILVA, B.V.; PINTO, A.C.; PORTO, A.L.M.; **SILVA, B.N.M.** *First Asymmetric Reduction of Isatin by Marine-Derived Fungi*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.28, p.1023-1029, 2017.

FERNANDES, I.P.G.; SILVA, B.V.; **SILVA, B.N.M.**; PINTO, A.C.; OLIVEIRA, S.C.B.; OLIVEIRA-BRETT, A.M. *Isatin halogen-derivatives redox behaviour*. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.780, p.75, 2016.

SILVA, B.V.; **SILVA, B.N.M.** *Thio- and semicarbazones: Hope in the search for treatment of Leishmaniasis and Chagas disease*. **Medicinal Chemistry (Hilversum)**, v.13, p.110-126, 2017.

SILVA, B.N.M.; PINTO, A.C.; SILVA, F.C.; FERREIRA, V.F.; SILVA, B.V. *Ultrasound-Assisted Synthesis of Isatin-Type 5'-(4-Alkyl/Aryl-1H-1,2,3-triazoles) via 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.27, p.2378-2382, 2016.

PEREIRA, A.M.V.M.; LACERDA, P.S.S.; **SILVA, B.N.M.**; NEVES, M.G.O.M.S.; SILVA, A.M.S.; SILVA, B.V.; SILVA, F.C.; FERREIRA, V.F. PINTO, A.C.; CAVALEIRO, J.A.S. *One-pot synthesis of new isatin-porphyrin conjugates by the palladium Buchwald-Hartwig methodology involving β -aminoporphyrinatonicel(II) and 3-ketal isatin derivatives* **Dyes and Pigments**. v. 139, p. 247, 2017.

MONTES, G.C.; SILVA, B.N.M.; RESENDE, B.; SUDO, R.T.; FERREIRA, V.F.; SILVA, F.C.; PINTO, A.C.; SILVA, B.V.; ZAPATA-SUDO, G. *The Hypnotic, Anxiolytic, and Antinociceptive Profile of a Novel μ -Opioid Agonist*. **Molecules**. v. 16, p. 22, 2017.

FERNANDES, I.P.G.; SILVA, B.V.; SILVA, B.N.M.; PINTO, A.C.; OLIVEIRA, S.C.B.; OLIVEIRA-BRETT, A.M. *Isatin 1-morpholinomethyl, 1-hydroxymethyl 1-methyl, and their halogenated derivatives, redox behaviour*. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 2017. *No prelo*.

Resumos em jornadas e congressos:

SILVA, B. N. M.; SILVA, B.V; PINTO, A.C. Estudo da hidrólise de cetais de isatinas. XXXI Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica, Artística e Cultural da UFRJ, 2009, Ilha do Fundão.

SILVA, B.N.M.; DIAS, R. A.; SILVA, B. V.; PINTO, A.C. Síntese da 5-nitroisonitrosoacetanilida-isatina. XII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Rio de Janeiro.

SILVA, B.N.M.; SILVA, B.V; PINTO, A.C. Síntese da 5-isonitrosoacetanilida-isatina. XXXII Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica, Artística e Cultural da UFRJ, 2010, Ilha do Fundão.

SILVA, B.N.M.; ANACHORETA, R.D.; REZENDE, M.J.C.; SILVA, B.V; PINTO,

A.C. Prospecção tecnológica de inibidores de corrosão para campos de óleo e gás. XXXII Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica, Artística e Cultural da UFRJ, 2010, Ilha do Fundão.

SILVA, B.N.M.; BASTOS, R.S.; SILVA, B.V.; PINTO, A.C. Síntese de 5-nitro-isatina por reação direta da isonitrosoacetanilida. 33º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia.

SILVA, B. N. M.; SILVA, B.V.; SILVA, F.C.; GONZAGA, D.T.G.; FERREIRA, V.F.; PINTO, A.C. Obtenção de novos derivados 5'-(4-alkyl/aryl-1*H*-1,2,3-triazóis)-isatina via reação do tipo *click*. 35º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2012, Águas de Lindóia.

FERREIRA, G.A.; SILVA, G.C.C.; **SILVA, B.N.M.**; SILVA, B.V.; PINTO, A.C.; CASTRO, H.C.; LIONE, V.O.F. Padronização de modelos *in vitro* para avaliação de moléculas antitumorais. II Simpósio Nacional de Estratégias do Governo para Desenvolvimento e Aplicação da Biotecnologia no Brasil, 2012, Gávea/Rio de Janeiro.

REZENDE, B.; MONTES, G.C.; **SILVA, B.N.M.**; SILVA, B.V.; PINTO, A.C.; SUDO, R.T.; ZAPATA-SUDO, G. Avaliação das atividades sedativa-hipnótica, ansiolítica e antinociceptiva de novos triazóis. XXIX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE, 2014, Caxambu – MG.

REZENDE, B.; MONTES, G.C.; **SILVA, B.N.M.**; SILVA, B.V.; PINTO, A.C.; SUDO, R.T.; ZAPATA-SUDO, G. Ação sedativa-hipnótica e ansiolítica de novos triazóis em camundongos. XXXVII Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica, Tecnológica, Artística e Cultural da UFRJ, 2015.

SILVA, B.N.M.; SILVA, B.V.; PINTO, A.C. Synthesis of new series of substituted isatin type 5'-(4-alkyl/aryl-1*H*-1,2,3-triazoles)semicarbazones and thiosemicarbazones as potential drugs against *T. cruzi*. 16th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 2015, Búzios – Rio de Janeiro, Brasil.

Membro do Corpo Editorial: Revista Virtual de Química (RVq)

Premiações:

2009 Melhor trabalho de Sessão, XXXI Jornada Giulio Massarini de Iniciação Científica, Artística e Cultural da UFRJ.

2013 Trabalho selecionado na XIVERSBQ-Rio (área: Química Medicinal), XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – Rio.

Orientações:

Thaís Vasconcellos. **Preparação de novos derivados do salicilaldeído.** 2013. Graduação em Farmácia – UFRJ.

Larissa Corrêa da Silva. **Grupos de Proteção na Isatina.** 2014. Técnico em Análises Químicas – Instituto Politécnico de Cabo Frio.

Mariana de Aquino Rosa Fonseca. **Isatina e Química Medicinal.** 2014. Técnico em Análises Químicas – Instituto Politécnico de Cabo Frio.

Andre Luiz Emmanuel de Lima Abreu. **Técnicas Cromatográficas.** 2014. Técnico em Análises Químicas – Instituto Politécnico de Cabo Frio.

Maíra Martins Santos. **Cromatografia em Camada Delgada na Química Orgânica.** 2015. Técnico em Análises Químicas – Instituto Politécnico de Cabo Frio.

Shaianny Couto Silva Turbano. **Isatina.** 2015. Técnico em Análises Químicas – Instituto Politécnico de Cabo Frio.

Lucas Barros Barbosa. **Estudo da hidrólise de isatinas catalisada por *p*-sulfóxido-calixarenos [4] e [6].** Em andamento. Engenharia Química – Escola de Química da UFRJ.

Produção Científica:

10/11/2016

Microondas em síntese



[Gestão atual](#) [Gestões anteriores](#) [Arquivo SBO Regional RJ](#)
[Químicos do RJ](#) [Laboratórios e Grupos de Pesquisa](#) [Entrevistas](#)
[Encontros Regionais da SBO-Rio](#) [Notícias na ciência](#) [Eventos & outras notícias](#)

Publicado no Portal da SBQ Rio em 18/02/2009

Micro-ondas, a nova macro onda nos laboratórios de química

Contribuição de Bianca Nascimento Monteiro da Silva (aluna do Centro Federal de Educação Tecnológica em Química de Nilópolis e aluna de Iniciação Científica do PILAB-IQ/UFRJ), recebida em 4 de fevereiro de 2009.



As micro-ondas são frequentemente utilizadas na síntese orgânica

A primeira vista pode parecer curioso para um leigo a presença de um aparelho de micro-ondas em um laboratório de química. Ele se questiona: – Será que eles esquentam a comida aqui dentro do laboratório? A resposta é não. Tem sido um fato cada vez mais comum encontrarmos em laboratórios de síntese aparelhos de micro-ondas, tanto domésticos quanto especializados (Figura 1). Estes utensílios têm roubado o lugar de muitas placas aquecedoras como explica o artigo publicado na revista [Chemistry World](#) em outubro de 2008.

SÍNTESE DE 5-NITRO-ISATINA E 5-CLORO-ISATINA A PARTIR DA ISONITROSOACETANILIDA[#]

Bianca N. M. da Silva*, Renato S. Bastos, Bárbara V. Silva e Angelo C. Pinto

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, CT, Bl. A, 21941-909 Rio de Janeiro - RJ, Brasil

Recebido em 11/6/10; aceito em 10/10/10; publicado na web em 8/11/10

PREPARATION OF 5-NITROISATIN AND 5-CHLOROISATIN FROM ISONITROSOACETANILIDE. This article describes the preparation of 5-nitroisatin and of 5-chloroisatin from isonitrosoacetanilide in a single step, using readily available and inexpensive reagents. These reactions require around 90 minutes and may be carried out as an undergraduate experiment, providing an opportunity to discuss the electrophilic aromatic substitution mechanism, as well as spectroscopic techniques for product identification.

Keywords: 5-nitroisatin; 5-chloroisatin; isonitrosoacetanilide.

INTRODUÇÃO

A isatina (1, Esquema 1) (1-*H*-indol-2,3-diona) é um heterociclo muito utilizado em síntese orgânica, devido às possibilidades de modificação na sua estrutura. Possui duas carbonilas com reatividades distintas, uma cetônica [C-3] e outra amídica [C-2], um grupo N-H suscetível a reações de alquilação e acilação, e um anel aromático que pode sofrer reações de substituição eletrofílica nas posições C-5 e C-7. A isatina é encontrada em plantas do gênero *Isatis*, por exemplo, nas espécies *Calanthe discolor* Lindl. e *Coroupita guianenses* Aubl.,¹ na secreção da glândula parótida de sapos do gênero *Bufo*² e, ainda, distribuída em diferentes regiões do cérebro e em fluidos corporais de seres humanos.³

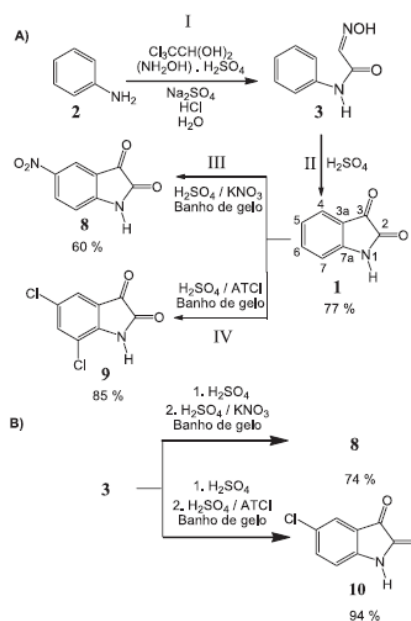
O método de Sandmeyer é o mais utilizado para a obtenção da isatina e de seus derivados. Nesta metodologia, a anilina (2) ou as anilinas substituídas (Esquema 1, etapa I) reage(m) com hidrato de cloral e sulfato de hidroxilamina (ou outro sal de hidroxilamina), na presença de uma solução saturada de sulfato de sódio, para formar isonitrosoacetanilida(s) (3). Em seguida, a(s) isonitrosoacetanilida(s) 3 sofre(m) ciclização em ácido sulfúrico concentrado, para formar a(s) isatina(s) respectiva(s) (Esquema 1, etapa II).^{4,5} Outras metodologias para a síntese de isatinas, como as de Stolle,⁶ Martinet,⁷ Gassman⁸ e Pinto,⁹ são descritas na literatura.

A isatina e seus derivados são conhecidos na literatura pela variedade de suas propriedades biológicas, sendo, também, frequentemente empregados como matéria-prima para a obtenção de compostos bioativos como, por exemplo, fármacos.¹ Este é o caso do sunitinibe (4, Figura 1), aprovado, em 2006, pelo FDA (*Food and Drugs Administration*) para o tratamento de carcinoma de células renais (RCC) e de tumores do estroma gastrointestinal (GIST).¹⁰

Vine e colaboradores¹¹ mostraram que algumas isatinas substituídas apresentam ação anticancerígena sobre células humanas de linfoma histiocítica (U937), principalmente as halogenadas e nitradas na posição 5. Na Figura 1 estão ilustrados exemplos de derivados contendo, ao mesmo tempo, os grupos nitro e bromo (5), apenas bromo (6) e flúor (7). Os valores de CI_{50} (concentração que causa 50% de inibição do crescimento das células) destas isatinas são bem menores do que os observados para a isatina (1).

A escolha de reagentes de preço baixo e menos agressivos ao meio ambiente são dois dos requisitos mais procurados pelos químicos orgânicos de síntese. Estes requisitos são quase que obrigatórios quando se trata do emprego de reagentes em disciplinas experimentais

*e-mail: bianca_qnascimento@yahoo.com.br

[#] Artigo em homenagem ao Prof. Hans Viertler

Esquema 1. (A) Obtenção da isonitrosoacetanilida a partir da anilina (etapa I), ciclização da isonitrosoacetanilida levando à formação da isatina (etapa II), nitração da isatina (etapa III), cloração da isatina (etapa IV). (B) Método de obtenção da 5-nitro-isatina (8) e 5-cloro-isatina (10) por única etapa através da isonitrosoacetanilida (3)

de Cursos de Graduação em Química e de áreas afins.

Neste artigo, descreve-se a preparação de 5-cloro-isatina e 5-nitro-isatina obtidas diretamente de isonitrosoacetanilida, através de uma metodologia simples e eficiente, partindo-se de reagentes baratos e de baixa toxicidade.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais e métodos

Os produtos obtidos em cada etapa de reação foram caracteriza-



Synthesis of Novel Isatin-Type 5'-(4-Alkyl/Aryl-1*H*-1,2,3-triazoles) via 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions

Bianca N. M. Silva,^{*,a} Bárbara V. Silva,^a Fernando C. Silva,^b Daniel T. G. Gonzaga,^b Vitor F. Ferreira^b and Angelo C. Pinto^a

^aInstituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21949-900 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

^bInstituto de Química, Universidade Federal Fluminense, 24020-141 Niterói-RJ, Brazil

As isatinas e os 1*H*-1,2,3-triazóis são duas classes de compostos com grande destaque na síntese orgânica e na química medicinal uma vez que são núcleos heterociclos com elevada reatividade, que permitem a obtenção de diversos compostos com importantes propriedades biológicas. Neste artigo, a síntese de novos 5'-(4-alkil/aryl-1*H*-1,2,3-triazóis)-isatina via reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada por ácido acético é descrita.

Isatin and 1*H*-1,2,3-triazoles are two classes of compounds with great prominence in organic synthesis and medicinal chemistry as they are heterocycle nuclei with a high reactivity allowing to obtain several compounds with important biological properties. Herein, the synthesis of novel 5'-(4-alkyl/aryl-1*H*-1,2,3-triazole)-isatin via reaction of 1,3-dipolar cycloaddition catalyzed by acetic acid is reported.

Keywords: isatin, 1*H*-1,2,3-triazoles, 1,3-dipolar cycloaddition reactions

Introduction

Isatin (2,3-dihydro-2,3-dioxo-1*H*-indole **1**, Figure 1a) is a simple small molecule that is present in plants of the genus *Isatis*¹ and in some animals like, such as *Bufo* frogs.² This compound is also distributed in different regions of the brain and in various body fluids in humans.³⁻⁵ Its reactivity has been explored by several research groups due to its structure, which allows nucleophilic substitution reactions involving the aromatic ring, especially at positions 5 and 7;⁶ acylation⁷ or alkylation⁸ at the N-H; and reduction⁹ or condensation¹⁰⁻¹² at the amide [C-2] and ketone [C-3] carbonyls, which have distinct reactivities.

Isatin and its derivatives have been reported to exhibit a variety of biological properties, and are also frequently employed as raw materials to produce bioactive compounds.¹³ Isatin and its derivatives show sedative-hypnotic,¹⁴ antitumor,^{15,16} antimicrobial,¹⁷ antibacterial,¹⁸ anticonvulsant,¹⁹ anticancer,²⁰ and anti-HIV²¹ activities, among others.

Triazoles represent a class of five-membered heterocyclic compounds of great importance in the

preparation of new drugs with diverse biological activities because these compounds can have different structures with the same numbers of carbon and nitrogen atoms. 1*H*-1,2,3-Triazoles (**4**, Figure 1b) are compounds of exclusively synthetic origin,²² and there are several methods available for the 1,4 regioselective synthesis of 1*H*-1,2,3-triazoles. The 1,3-dipolar cycloaddition of organic azides (**2**) with terminal alkynes (**3**) catalyzed by Cu (I) is one of the most versatile of these methods.²³

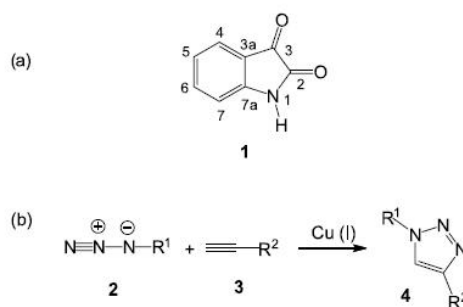


Figure 1. (a) Structure of isatin and (b) scheme for obtaining 1,2,3-triazoles (**4**) from organic azides (**2**) and terminal alkynes (**3**).

*e-mail: biancanascimento@iq.ufrj.br

Artigo

Incidência do Câncer no Brasil e o Potencial Uso dos Derivados de Isatinas na Cancerologia Experimental

Rosas, M. S. L.; Silva, B. N. M.; Pinto, R. G. M. P.; Silva, B. V.; Silva, R. A.;
Guerra, L. R.; Soares G. C. M. T.; Castro, H. C; Lione, V. O. F.*

Rev. Virtual Quim., 2013, 5 (2), 243-265. Data de publicação na Web: 30 de abril de 2013

<http://www.uff.br/rvq>

Incidence of Cancer in Brazil and the Potential Use of Isatin Derivatives in Experimental Oncology

Abstract: Nearly all cases of cancer are caused by mutations of genes that control cell growth and cellular mitosis, and constitute a single disease, but a set of different types, with multiple causes and natural history. Neoplastic diseases gradually develop from any tissue of any organ inside, when normal cells lose their functional capacity, dividing uncontrollably, to produce a mass of cancerous tissue. Cancer has been considered a major public health problem. According to the National Institute of Cancer it was estimated for the year 2013, 518,510 new cases in Brazil. The cancers that are well diagnosed are skin cancer (134,000 new cases), prostate (60,000), female breast (53,000), colorectal (30,000), lung (27,000) stomach (20,000) and cervical (18,000). This paper aims, to review the incidence of cancer in Brazil, emphasizing the importance of preventive exams for early diagnosis and also the need for discovery of new drugs containing the indole nucleus to treat this disease.

Keywords: Cancer; malignant neoplasm; epidemiologic studies; isatin.

Resumo

O câncer é causado, em quase todos os casos, por mutações de genes celulares que controlam o crescimento e a mitose celular, constituindo-se em uma única doença, porém de um conjunto de diferentes tipos, com multiplicidade de causas e de história natural. As doenças neoplásicas desenvolvem-se progressivamente, a partir de qualquer tecido no interior de qualquer órgão, quando células normais perdem a sua capacidade funcional, dividindo-se descontroladamente, até produzir uma massa de tecido cancerosa. O câncer é considerado um grande problema de saúde pública, e segundo o Instituto Nacional do Câncer estima-se para o ano de 2013, 518.510 novos casos no Brasil. Os tipos de câncer mais diagnosticados são pele (134 mil novos casos), próstata (60 mil), mama feminina (53 mil), cólon e reto (30 mil), pulmão (27 mil), estômago (20 mil) e colo de útero (18 mil). Este trabalho tem como objetivo, através de uma revisão da literatura, analisar a incidência do câncer no Brasil, enfatizando a importância de exames preventivos para um diagnóstico precoce e a necessidade da descoberta de novos fármacos com o núcleo indólico para o tratamento desta doença.

Palavras-chave: Câncer; neoplasia maligna; estudos epidemiológicos; isatina.

*Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Departamento de Medicamentos, Laboratório de Bioensaios Farmacêuticos, Av. Carlos Chagas Filho, 373, CCS, Bloco L subsolo, sala 22, Cidade Universitária, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ vivianelione@pharma.uff.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20130025](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130025)

Isatin-Derived Compounds as Carbon Steel Corrosion Inhibitors in Highly Saline Media

A. B. da Silva¹, J. A. C. P. Gomes^{1,*}, E. D'Elia², M. J. C. Rezende², A. C. Pinto², B. N. M. Silva², B. V. Silva²

¹ Laboratório de Corrosão, Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Ilha do Fundão, Centro de Tecnologia, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

² Instituto de Química, UFRJ Avenida Athos da Silveira Ramos 149, Centro de Tecnologia, Bloco A, CEP 21941-909, Cidade Universitária, Rio de Janeiro - RJ, Brazil.

*E-mail: ponciano@metalmat.ufrj.br

Received: 8 April 2013 / Accepted: 13 June 2013 / Published: 1 July 2013

Carbon steel corrosion in CO₂-saturated solutions, simulating the produced water generated in oil and gas extraction, was investigated using weight loss, electrochemical measurements and surface characterization. The effectiveness of two isatin compounds, *N*-morpholine-isatin (MI) and *N*-morpholine-3-isatin-thiosemicarbazone (MIT) as corrosion inhibitors in these highly saline media was also evaluated. Only MIT was shown to act as a corrosion inhibitor for carbon steel immersed in both of the simulated produced water solutions evaluated. The impedance results corroborated the corrosion mechanisms commonly accepted in the literature.

Keywords: carbon steel; CO₂ corrosion; chloride media; corrosion inhibitor; isatin.

1. INTRODUCTION

Carbon steel corrosion is a common problem in the petroleum industry. Produced water, a saline medium generated during oil production, is considered the most corrosive environment in oil field operations due to the presence of aggressive corrosive agents, such as chloride and sulfate ions, and gases, such as carbon dioxide (CO₂) and hydrogen sulfide (H₂S). CO₂ dissolves in water, creating a weak acid, carbonic acid, which can severely corrode the steel pipelines and equipment used in the production and transportation of oil and gas. Cations, such as sodium (Na⁺), potassium (K⁺), calcium (Ca²⁺), magnesium (Mg²⁺), barium (Ba²⁺), and strontium (Sr²⁺), and anions, such as sulfate (SO₄²⁻), carbonate (CO₃²⁻) and bicarbonate (HCO₃⁻), can also affect the buffering capacity, salinity and scale potential of the produced water [1]. The injection of corrosion inhibitors has been an effective and

First Asymmetric Reduction of Isatin by Marine-Derived Fungi

Willian G. Birolli,^a Irlon M. Ferreira,^{a,b} David E. Q. Jimenez,^a Bianca N. M. Silva,^c
 Bárbara V. Silva,^c Angelo C. Pinto^{6,†} and André L. M. Porto^{8,a}

^aLaboratório de Química Orgânica e Biocatálise, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Av. João Dagnone, Ed. Química Ambiental, J. Santa Angelina, 1100, 13563-120 São Carlos-SP, Brazil

^bGrupo de Biocatálise e Biotransformação em Química Orgânica, Colegiado de Química, Universidade Federal do Amapá, Rod. JK, KM 2, 68902-280 Macapá-AP, Brazil

^cInstituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21949-900 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

In this study, whole cells of marine-derived fungi were used to reduce isatin (1*H*-indole-2,3-dione) to dioxindole (3-hydroxyindolin-2-one) for 7 days at 32 °C. The screening showed that several strains could reduce isatin and produce the enantioenriched dioxindole. The best conversions were obtained by *Cladosporium* sp. CBMAI 1237 and *Westerdykella* sp. CBMAI 1679, however, the best enantiomeric excess was obtained only by *Aspergillus sydowii* CBMAI 935 (66% *ee*). In conclusion, marine-derived fungi show potential for asymmetric and chemoselective reduction of isatin (1*H*-indole-2,3-dione).

Keywords: whole cells, marine fungi, biocatalysis, chemoselective reaction

Introduction

Isatin (1*H*-indole-2,3-dione) and its derivatives were found in fungi, plants, animals and even in humans as a metabolic derivative of adrenaline.¹ It was first synthesized by Erdmann and Laurent in 1840 when these researchers reacted indigo with nitric and chromic acids.² In addition, diverse pharmacological properties were reported for isatin and its derivatives including anticancer, antioxidant, anti-histaminic, antiviral, anti-inflammatory, anti-Parkinson's, antidiabetic, anti-allergic, antimalarial and antimicrobial activities.^{3,4}

The compound 3-hydroxyindolin-2-one is a derivative of the reduction of isatin and showed pharmacological potential to anti-allergic, anti-inflammatory and anticancer

activities.⁴ In addition, they have been found in many bioactive natural products, such as convolutamydine A,⁵ flustraminol A⁶ and donaxaridine⁷ (Figure 1).

Few studies in the literature have focused on the biotransformation of isatin derivatives by whole cells. One example is the stereoselective reduction of 1*H*-indole-2,3-dione and analogues by *Candida parapsilosis*, which gives *R*-alcohol in good yields.⁸ More recently, the biotransformation of indole was carried out by a newly isolated KK10, member of the genus *Cupriavidus* that oxidize the *N*-heterocyclic ring of indole and ring cleavage through *N*-formylanthranilic acid.⁹ In another work, a biphenyl dioxygenase was cloned from *Dyella ginsengisoli* LA-4 and expressed in *Escherichia coli* for the biotransformation of indole to indigo.¹⁰

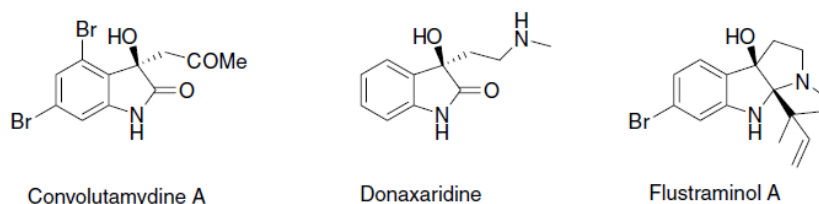


Figure 1. Examples of biologically active 3-substituted-3-hydroxy-2-oxindoles.

*e-mail: alporto@iqsc.usp.br

†This paper is dedicated to the memory of our wonderful Professor Angelo da Cunha Pinto.



Ultrasound-Assisted Synthesis of Isatin-Type 5'-(4-Alkyl/Aryl-1*H*-1,2,3-triazoles) via 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions

Bianca N. M. Silva,^a Angelo C. Pinto,^{a,†} Fernando C. Silva,^b Vitor F. Ferreira^b and Bárbara V. Silva^{*a}

^aInstituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21949-900 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

^bInstituto de Química, Universidade Federal Fluminense, 24020-141 Niterói-RJ, Brazil

This short report describes the preparation of twelve isatin derivatives, 5'-(4-alkyl/aryl-1*H*-1,2,3-triazoles), using 5-azido-spiro[1,3-dioxolane-2,3'-indol]-2'-(1'*H*)-one in the presence of various alkynes under acidic conditions and ultrasound irradiation. Compared with conventional methods, yields increased to 78-98%, and reaction times decreased to 5 min. Besides time and energy saving, there was no need for purification of the product by column chromatography on silica gel, generating less waste and spent solvent.

Keywords: isatin, 1*H*-1,2,3-triazoles, 1,3-dipolar cycloaddition reactions, ultrasound irradiation

Introduction

Isatin is a multifunctional heterocyclic compound employed in obtaining a large number of compounds of pharmacological interest. Its structure allows for electrophilic substitution reactions of the aromatic ring, acylating or alkylating the NH group, and the selective reduction or condensation in two chemically distinct carbonyls.¹⁻⁷

The 1,3-dipolar cycloaddition reaction between the regioselective organic azides and the terminal alkynes catalyzed by copper(I) is currently the most commonly used method for obtaining 1*H*-1,2,3-triazoles, which are heterocycles of exclusively synthetic origin.⁸ This class of compounds also has several applications in medicinal chemistry.⁹⁻¹¹

Our research group recently published the synthesis of 1*H*-1,2,3-triazoles containing isatin nuclei via different terminal alkynes.¹² However, advances related to the use of ultrasound in organic synthesis aroused our attention.

Ultrasound irradiation has been considered a clean and useful method in organic synthesis. Compared with traditional methods, ultrasound-assisted organic synthesis features short reaction times, high yields and mild conditions. In addition, ultrasound irradiation follows the

sixth principle of green chemistry, which proposes the pursuit of energy efficiency.^{13,14}

Experimental

General procedure for preparation of 5'-(4-alkyl/aryl-1*H*-1,2,3-triazole)-isatin (**2a-2l**) through ultrasound

A mixture of 2.64 mmol of 5-azido-spiro[1,3-dioxolane-2,3'-indol]-2'-(1'*H*)-one, 3.17 mmol of the alkyne (see Scheme 1), 0.19 mmol of CuSO₄·5H₂O, an excess of sodium ascorbate (AscNa, 0.42 mmol), 0.87 mmol (30 mol% based on **2**) of acetic acid and an equal amount of *tert*-butanol and water (2.24 mL) was subjected to ultrasound (Branson 1510DTH) irradiation for 5 minutes. After this period, a liquid-liquid extraction was performed with ethyl acetate and water. The organic layer was dried with anhydrous sodium sulfate and filtered, and the solvent was evaporated under reduced pressure. The yields are shown in Table 1.

Results and Discussion

Initially, the nitration reaction of isatin¹⁵ was performed, and the ketal dioxolane of 5-nitro-isatin was prepared from 5-nitro-isatin using ethylene glycol and *p*-TsOH in toluene. Then, the nitro group was reduced by catalytic hydrogenation to give the ketal dioxolane of 5-amine-isatin.

In the next step, the azido group was obtained by a

*e-mail: barbara.iq@gmail.com

[†]This paper is dedicated to the memory of our wonderful Professor Angelo da Cunha Pinto, who recently passed away.



Isatin halogen-derivatives redox behaviour



Isabel P.G. Fernandes^a, Bárbara V. Silva^b, Bianca N.M. Silva^b, Angelo C. Pinto^b,
S. Carlos B. Oliveira^{a,c}, Ana Maria Oliveira-Brett^{a,*}

^a Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, 3004-535 Coimbra, Portugal

^b Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21945-970 Rio de Janeiro, Brazil

^c Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, PE, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 March 2016

Received in revised form 1 September 2016

Accepted 5 September 2016

Available online 7 September 2016

Keywords:

Isatin derivatives

Halogens

Redox behaviour

Glassy carbon

Voltammetry

ABSTRACT

Isatin halogen-derivatives like other isatin derivatives have several pharmacotherapeutic applications, such as antibacterial, antitubercular, and anticancer activities. The electrochemical behaviour, at a glassy carbon electrode, of some mono- and di- fluoro, chloro, bromo and iodo isatin derivatives, by cyclic, square wave and differential pulse voltammetry, over a wide pH range, was investigated, and compared with isatin electrochemical behaviour. The presence of one or two halogens in the benzene ring affected the oxidation processes. The oxidation mechanism of isatin monohalogen-derivatives, with only one halogen at the position C5 or C7, was an irreversible, pH-dependent, adsorption-controlled process, and occurred in three consecutive charge transfer reactions, first on the benzene ring with the production of one hydroxyl group attached to the ring, and the electroactive oxidation product formed was oxidized to *para*- and/or *ortho*-quinone derivatives and polymeric products. The isatin dihalogen-derivatives oxidation was also irreversible, in two consecutive charge transfer reactions, with the formation of polymeric products, and occurred at more positive potentials. The reduction mechanism of isatin halogen-derivatives was a pH-dependent two consecutive charge transfer reactions. The first process was the reversible reduction of the carbon-halogen bond and the second the irreversible cleavage of the carbonyl group at the position C3 in the heterocyclic ring. The halogens substituents in the isatin benzene ring gave rise to different redox processes, depending on the number and halogen position.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Isatin (1*H*-indole-2,3-dione) (ISA), one of the most important derivatives of indole, is an endogenous compound identified in many organisms, present in mammalian tissues and body fluids, and also as a natural product of plants, for example genus *Isatis*, in *Calanthe discolor*, Lindl, and in *Couroupita guianensis*, Aubl [1–3].

Isatin is a very important molecule due to its broad range of biological and pharmacological properties, and also because it is a synthetically versatile substrate. Isatin and its derivatives are extensively used as important raw materials for designing potential bioactive agents [3–5]. Recently the study of isatin derivatives have been shown to demonstrate antiprotozoal, antibacterial, antifungal, antiviral, *anti*-HIV, anti-convulsant, antitumoral, anti-inflammatory, antihelminthic activities, to influence neurodegenerative diseases, and to participate in metabolism [3,6–8].

Isatin halogen-derivatives have also been reported to exhibit several pharmacotherapeutic activities, such as antibacterial, antitubercular, anticancer and antineoplastic activities [9–20].

* Corresponding author.

E-mail address: brett@ci.uc.pt (A.M. Oliveira-Brett).

Isatin fluoro-derivatives are used in the synthesis of new compounds that may belong to a class of chemotherapeutic agents for the treatment of various bacterial infections, act by inhibiting DNA gyrase, the principal target in gram-negative bacteria, and also the topoisomerase IV, the principal target in gram-positive bacteria [13]. The isatin 5-fluoro-derivatives were also synthesized and the antitubercular activity was evaluated and some of the compounds presented complete inhibition against the *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv strain [14]. In 2006, an isatin 5-fluoro-derivative (sunitinib) was approved by FDA for the treatment of gastrointestinal stromal tumours and advanced renal cell carcinoma [15–16].

Isatin bromo-derivatives have been shown to exhibit anticancer activity [17–19]. The in vitro cytotoxic activities of isatin bromo-derivatives were determined against the human monocyte-like, histiocytic lymphoma cell line (U937), showing that the introduction of electron-withdrawing groups at positions C5, C6, and C7 significantly increased the anticancer activity when compared with isatin, the substitution at the 5-position being the most favourable [18]. The C5 substitution in the isatin ring has been associated with increased biological activity for a range of indole-based compounds [18]. Both chloro and bromo substituted isatin derivatives presented antifungal and antibacterial activity but the isatin 5-chloro-derivatives, when compared with the



(/)

Search for...

Q Search

Search in: All Article Chapter eBook

Medicinal Chemistry

ISSN (Print): 1573-4064
ISSN (Online): 1875-6638

Atta-ur-Rahman
Honorary Life Fellow
Kings College
University of Cambridge
Cambridge
UK
Email: mc@benthamscience.org (<mailto:mc@benthamscience.org>)

[Back \(/node/627/thio-and-semicarbazones-hope-in-the-search-for-treatment-of-leishmaniasis-and-chagas-disease/track/1\)](#)

Thio- and semicarbazones: Hope in the search for treatment of Leishmaniasis and Chagas disease

Author(s): Barbara V. da Silva and Bianca N. M. Silva

Affiliation: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21949-900, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Abstract:

Background: Trypanosomiasis and leishmaniasis cause severe infections in humans and domestic animals in the tropics. Although typical diseases in Latin America, globalization and the migration of infected people has spread these diseases to countries in North America, Asia and Europe. Currently available drugs are not effective in the chronic phase, as well as causing side effects and the development of resistance. Results: Among the chemical groups studied as potential anti-T. cruzi and anti-Leishmania are the thio- and semicarbazones, which are easy to obtain, possess structural versatility and can sequester metal. In this article, we present an overview of thio- and semicarbazones associated with heterocycles, indanones, and styryl and aryl skeletons, including their metal complexes with antimony, platinum, palladium, copper, ruthenium, rhenium, manganese and vanadium. Conclusion: Because of the efficiency and selectivity that some of these derivatives have shown, it can be concluded that thio- and semicarbazones constitute promising chemical scaffolds in the search for new anti-parasitic agents.

Keywords: Thiosemicarbazone, Semicarbazone, Chagas disease, Leishmaniasis, Trypanosomiasis, Trypanosoma cruzi

[Mark Item](#) [Purchase PDF](#) [Rights & Permissions](#) [Print](#) [Export](#)

Other

Article Details

VOLUME: 12
DOI: 10.2174/1573406412666160909152614
Price: \$95

[\(/terms/termandcondition.html?1\)](#)

© 2016 Bentham Science Publishers (<http://www.eurekaselect.com/136826/page/terms-and-conditions>)





Contents lists available at ScienceDirect

Dyes and Pigments

journal homepage: www.elsevier.com/locate/dyepig

One-pot synthesis of new isatin-porphyrin conjugates by the palladium Buchwald-Hartwig methodology involving β -aminoporphyrinatonicel(II) and 3-ketal isatin derivatives



Ana M.V.M. Pereira ^{a,**}, Paula S.S. Lacerda ^b, Bianca N.M. Silva ^c, Maria G.P.M.S. Neves ^a, Artur M.S. Silva ^a, Bárbara V. Silva ^c, Fernando C. da Silva ^b, Vitor F. Ferreira ^b, Angelo C. Pinto ^{c,1}, José A.S. Cavaleiro ^{a,*}

^a Department of Chemistry and QOPNA, University of Aveiro, 3810-193, Aveiro, Portugal

^b Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, 24010-141, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil

^c Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-970, Rio de Janeiro, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 October 2016

Received in revised form

6 December 2016

Accepted 6 December 2016

Available online 9 December 2016

Keywords:

Porphyrin

Isatin

Intracyclized derivatives

C-N coupling

Palladium

Buchwald-Hartwig

ABSTRACT

A simple methodology giving rise to a new series of isatin-porphyrin conjugates and corresponding intracyclized derivatives is described. Palladium-catalyzed amination reactions of iodinated isatin derivatives containing the 3-carbonyl group protected with ketal functionalities and 2-amino-5,10,15,20-tetraphenylporphyrinatonicel(II) was the used procedure. The combination of palladium catalysts and the phosphine ligand dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl (XPhos) led to isatin-porphyrin conjugates in good yields. Nevertheless, the use of palladium acetate even resulted on the formation of additional six membered fused ring compounds. This brings a new perspective to access quinolino[2,3,4-*at*]porphyrins, a set of compounds which are typically obtained by harsh Cadogan or thermal cyclization approaches.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

During the last decades, the combination of many reaction sites available for functionalization and fine-tuning of optical, physical and redox properties, definitively places porphyrins as one of the greatest challenges to chemists. For this reason, numerous interdisciplinary studies have pointed out their great potentialities as catalysts [1–3], advanced biomimetic models for photosynthesis [4–7], new electronic materials [8,9], chemical sensors [10–12] and photoinactivation of microorganisms and drugs [13–15].

Among the available synthetic tools to modify the porphyrinoid structure [16–18], the Buchwald-Hartwig palladium-catalyzed

amination has emerged as a powerful strategy for the formation of carbon-nitrogen bonds [19–21]. On the other hand, the fusion of aromatic rings with the porphyrin nucleus is the most obvious way to extend the molecular architecture and modify the physico-chemical properties [22–28]. This can be achieved intermolecularly by directly adding aromatic rings to the porphyrin core, or in a simpler approach, using the *meso*-aryl groups already present to make connections of them with the β -pyrrolic positions [29,30]. In 2004, Callot et al. reported for the first time the synthesis of a porphyrin in which the linker was a nitrogen atom. Starting from readily available β -nitro derivatives and using the Cadogan cyclization conditions (heat, triethyl phosphite), the desired quinolino [2,3,4-*at*]porphyrins were isolated in reasonable yields [31]. Later on, the same structures were obtained from β -azido systems [32]. Alternatively, Cavaleiro et al. described a series of novel *N*-aryl substituted derivatives attained by thermal oxidative cyclization of β -arylaminoporphyrins [33,34]. The ring extension led to a significant change of the compounds' optical features, their redox characteristics and the HOMO-LUMO energy gap [33,35].

* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: mafaldapereira@ua.pt (A.M.V.M. Pereira), jcavaleiro@ua.pt (J.A.S. Cavaleiro).

¹ A tribute is due to (the late) Angelo C. Pinto, coordinator of Project A-08 of the "CAPES C&F-Science without Borders Program", for his efforts and enthusiasm which made possible the work here reported to be carried out.

Article

The Hypnotic, Anxiolytic, and Antinociceptive Profile of a Novel μ -Opioid Agonist

Guilherme Carneiro Montes ¹, Bianca Nascimento Monteiro da Silva ², Bismarck Rezende ¹, Roberto Takashi Sudo ^{1,3}, Vitor Francisco Ferreira ⁴, Fernando de Carvalho da Silva ⁴, Angelo da Cunha Pinto ^{2,3}, Bárbara Vasconcellos da Silva ² and Gisele Zapata-Sudo ^{1,3,*}

¹ Programa de Pesquisa em Desenvolvimento de Fármacos, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro RJ 21941-902, Brazil; montes.guilherme@gmail.com (G.C.M.); bismarckrezende@gmail.com (B.R.); rtakashisudo@gmail.com (R.T.S.)

² Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro RJ 21941-909, Brazil; bianca_qnascimento@yahoo.com.br (B.N.M.d.S.); angelocpinto@gmail.com (A.d.C.P.); barbara.iq@gmail.com (B.V.d.S.)

³ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fármacos e Medicamentos (INCT-INOVAR), Rio de Janeiro RJ 21941-971, Brazil

⁴ Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói RJ 24020-150, Brazil; cegvito@vm.uff.br (V.F.F.); gqofernando@vm.uff.br (F.d.C.d.S.)

* Correspondence: gzsudo@oi.com.br; Tel./Fax: +55-21-3938-6505

Academic Editor: Derek J. McPhee

Received: 10 March 2017; Accepted: 26 April 2017; Published: 16 May 2017

Abstract: 5'-4-Alkyl/aryl-1H-1,2,3-triazole derivatives PILAB 1–12 were synthesized and a pharmacological screening of these derivatives was performed to identify a possible effect on the Central Nervous System (CNS) and to explore the associated mechanisms of action. The mice received a peritoneal injection (100 μ mol/kg) of each of the 12 PILAB derivatives 10 min prior to the injection of pentobarbital and the mean hypnosis times were recorded. The mean hypnosis time increased for the mice treated with PILAB 8, which was prevented when mice were administered CTOP, a μ -opioid antagonist. Locomotor and motor activities were not affected by PILAB 8. The anxiolytic effect of PILAB 8 was evaluated next in an elevated-plus maze apparatus. PILAB 8 and midazolam increased a percentage of entries and spent time in the open arms of the apparatus compared with the control group. Conversely, a decrease in the percentages of entries and time spent in the closed arms were observed. Pretreatment with naloxone, a non-specific opioid antagonist, prior to administration of PILAB 8 exhibited a reverted anxiolytic effect. PILAB 8 exhibited antinociceptive activity in the hot plate test, and reduced reactivity to formalin in the neurogenic and the inflammatory phases. These data suggest that PILAB 8 can activate μ -opioid receptors to provoke antinociceptive and anti-inflammatory effects in mice.

Keywords: novel μ -opioid agonist; hypnosis; antinociception; anti-inflammatory effect; mice

1. Introduction

Pain is defined as an unpleasant sensory feeling that results from activation of sensory nerve endings in response to a stimulus which can vary among individuals due to emotional state, gender, ethnicity, anxiety level, early experiences and memories [1–6]. Pain management to improve quality of life depends on agents with analgesic properties such as non-narcotic analgesics (e.g., acetaminophen and aspirin), narcotic analgesics (opioids), and other drug classes, including antidepressants and anticonvulsants [7,8]. However, reduction of pain is limited, which is the main



Isatin 1-morpholinomethyl, 1-hydroxymethyl, 1-methyl, and their halogenated derivatives, redox behaviour

Isabel P.G. Fernandes^a, Bárbara V. Silva^b, Bianca N.M. Silva^b, Angelo C. Pinto^b, Severino Carlos B. Oliveira^{a, c}, Ana Maria Oliveira-Brett^a  

[Show more](#)

<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.05.030>

[Get rights and content](#)



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Química
Laboratório de Produtos Naturais e Transformações Químicas
Estudo da Hidrólise de Cetais de Isatina



Bianca N. M. da Silva (IC)*, Bárbara V. Silva (PG), Angelo C. Pinto (PQ)
*bianca_qnascimento@yahoo.com

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ – Instituto de Química.

Introdução

A isatina (1, Esquema 1) é uma molécula de origem natural, largamente empregada em química orgânica como matéria-prima na síntese de fármacos em função de sua alta versatilidade sintética. Estudos recentes demonstram que isatinas e seus derivados possuem atividades anti-inflamatória, antiviral, anticonvulsivante e antitumoral.¹⁻³

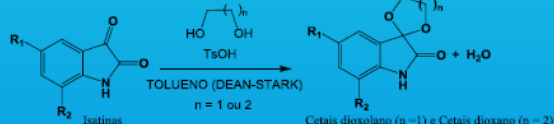
Em diversas sínteses utilizando isatina como material de partida, faz-se necessária uma etapa de proteção da carbonila C-3, que é bem mais eletrofílica do que a carbonila amídica C-2. A cetalização é um dos métodos mais usados para proteção de carbonilas de aldeídos e cetonas. Cetais dioxolano ou dioxano são normalmente utilizados para a proteção de C-3 nas isatinas.

Geralmente, os cetais dioxolano e dioxano são facilmente hidrolisados em meio ácido. Contudo, nenhum estudo desta natureza está descrito na literatura para estes cetais isatinínicos.

O objetivo deste trabalho foi sintetizar cetais dioxano e dioxolano com diferentes substituintes no anel aromático e estudar a hidrólise desses cetais utilizando a cromatografia gasosa para acompanhar a evolução da reação de desproteção.

Procedimento Experimental

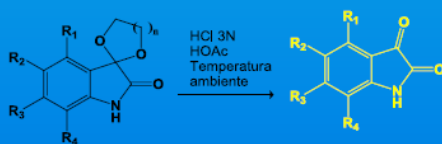
Os cetais dioxolano e dioxano foram preparados a partir das respectivas isatinas, utilizando etilenoglicol e ácido *p*-tolueno-sulfônico, em tolueno, sob refluxo (Esquema 1).



1) R₁ = H, R₂ = H; 2) R₁ = Me, R₂ = H; 3) R₁ = H, R₂ = Me; 4) R₁ = F, R₂ = H; 5) R₁ = L, R₂ = H; 6) R₁ = Cl, R₂ = H; 7) R₁ = Cl, R₂ = Cl; 8) R₁ = NO₂, R₂ = H; 9) R₁ = Br, R₂ = H

Esquema 1: Reação de cetalização da isatina

A hidrólise dos cetais dioxano e dioxolano foi avaliada em reações independentes com 1 mmol do substrato na presença de ácido acético e ácido clorídrico 3N (Esquema 2). A reação de hidrólise de cada um dos cetais foi acompanhada por cromatografia gasosa, retirando alíquotas a cada 30 minutos. O indol foi utilizado como padrão interno.



Esquema 2: Reação de hidrólise dos cetais da isatina

Resultados e discussões

A Figura 1 mostra os gráficos Conversão (%) à isatina versus Tempo de hidrólise em minutos para os cetais dioxano e dioxolano da isatina (1) e 5-flúor-isatina (4). Os cetais dioxano da 5-nitro- (8), 5-cloro- (6), 5,7-dicloro-isatina (7) não hidrolisaram no mesmo período avaliado para os compostos 1 e 4. O cetal dioxano da 5-bromo-isatina (9) apresentou conversão de apenas 32%. O cetal dioxano da 5-metil-isatina (2) apresentou conversão de 100% em um período de 30 minutos.

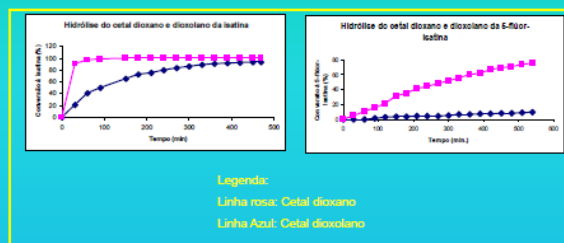


Figura 1: Gráficos de conversão (%) à isatina versus tempo em minutos

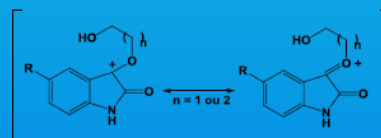
Fatores que afetam a velocidade da hidrólise dos cetais da isatina:

Natureza do substituinte

Grupos doadores de elétrons facilitam a hidrólise, enquanto retiradores dificultam-na (Esquema 3). Os gráficos da Figura 1 mostram que o cetal sem substituinte (1) e com a metila (2) são totalmente convertidos à isatina em 540 minutos. Quando o anel aromático está substituído por grupos retiradores de elétrons (4, 6, 7-9), os cetais tiveram baixa ou nenhuma conversão.

Fatores entrópicos

O ganho entrópico do anel de 6 membros é maior do que o de 5 membros, o que torna a hidrólise do cetal dioxano mais rápida do que do dioxolano, conforme pode ser observado na Figura 1.



Esquema 3: Intermediário formado na hidrólise dos cetais

Conclusão

A hidrólise dos cetais da isatina é bastante influenciada pela presença dos grupamentos funcionais no anel aromático. Outro fator importante é o tamanho do anel, visto que os cetais dioxano hidrolisam mais rápido do que os respectivos dioxolanos.

Agradecimentos: Aos orientadores e aos amigos do laboratório.

Referências bibliográficas

- 1 Da Silva, J. M.; Garden, S. J.; Pinto, A. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* 2001, 12, 273.
- 2 Zhou, L.; Liu, Y.; Zhang, W.; Wei, P.; Huang, C.; Pei, J.; Yuan, Y.; Lai, L.; *J. Med. Chem.* 2006, 3.
- 3 Matheus, M. E.; Violante, F. A.; Garden, S. J.; Pinto, A. C.; Fernandes, P. D.; *Eur. J. Pharmacol.* 2007, 556, 200.

Painel apresentado na XXXI Jornada Giulio Massarini de Iniciação Científica, Artística e Cultural da UFRJ (2009).



Síntese da 5-isonitrosoacetanilida-isatina

Bianca Nascimento Monteiro da Silva (IC)*; Rafael Anachoreta Dias (IC); Bárbara Vasconcellos da Silva (PQ); Angelo da Cunha Pinto (PQ)

e-mail: bianca_nascimento@yahoo.com

Instituto de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro

Palavras chave: isatinas, cetal dioxolano, isonitrosoacetanilida



Introdução

A isatina (Figura 1) é um substrato de grande interesse na química orgânica devido a sua versatilidade sintética. A isatina e seus derivados tem sido intensamente relatada na literatura como compostos de amplo potencial farmacológico. Estudos recentes mostraram que essas substâncias possuem atividades antiviral, anti-inflamatória, anticonvulsivante e antitumoral.

A isatina possui duas carbonilas de reatividades distintas, uma de natureza cetônica [C-3] e outra de natureza amídica [C-2]. Para a proteção da carbonila mais eletrofílica [C-3] costuma-se utilizar cetais dioxolano ou dioxano, em função de sua estabilidade e fácil obtenção.

O objetivo deste trabalho foi a preparação da 5-isonitrosoacetanilida-isatina a partir do cetal dioxolano da 5-amino-isatina, empregando as condições de Sandmeyer⁶.

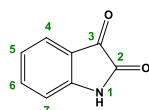
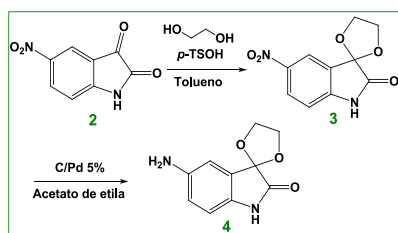


Figura 1. Estrutura da isatina.

Procedimento Experimental

Preparo do cetal dioxolano

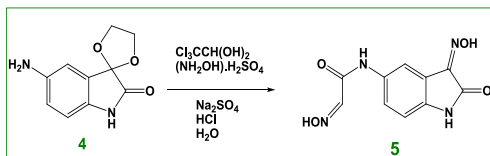
O cetal dioxolano da 5-nitro-isatina (3) foi preparado a partir da 5-nitro-isatina (2), utilizando etilenoglicol e ácido *p*-tolueno-sulfônico em tolueno. O cetal obtido teve o seu grupo nitro reduzido com C/Pd 5% em acetato de etila, formando o composto 4 (Esquema 1).



Esquema 1. Obtenção do cetal dioxolano da 5-amino-isatina.

Preparo da 5-isonitrosoacetanilida-isatina

O produto da redução (4) foi submetido às condições de Sandmeyer para obtenção da isonitrosoacetanilida. Foi utilizado cloral hidratado, sulfato de hidroxilamina, sulfato de sódio e água em meio ácido, fornecendo o produto inédito 5 (Esquema 2).



Esquema 2. Obtenção da 5-isonitrosoacetanilida-isatina.

Análise dos produtos

Os produtos obtidos em cada etapa foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massas (EM).

Resultados e Discussões

Os rendimentos dos produtos 3-5 estão mostrados na tabela 1.

Produtos	Rendimento (%)
3	92
4	53
5	61

O produto inédito 5 foi caracterizado por RMN ¹H, ¹³C e IV. Na figura 2 estão os espectros de RMN e os principais assinalamentos.

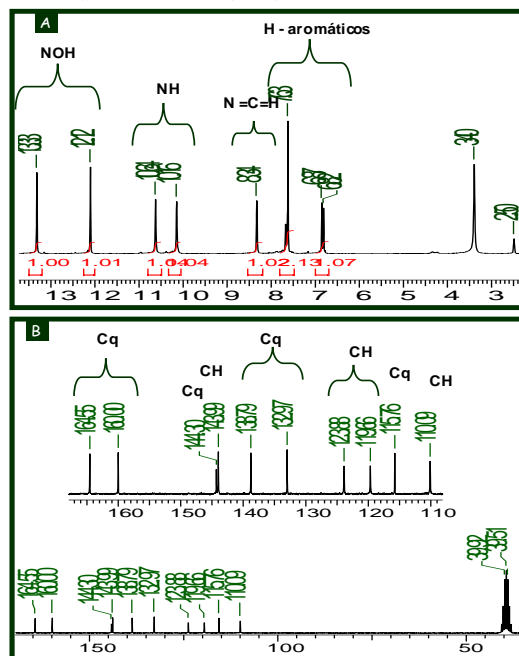


Figura 2. A - Espectro de RMN ¹H, B - Espectro de RMN ¹³C.

Conclusão

A 5-isonitrosoacetanilida-isatina (5) foi preparada empregando uma rota sintética simples e eficiente. Esse produto é bastante interessante do ponto de vista sintético para a preparação de fármacos, podendo ser utilizados na obtenção de diversos sistemas heterocíclicos, como derivados indólicos e quinolínicos.

Agradecimentos
Ao CNPq e FAPERJ pelo apoio financeiro



Síntese de 5-nitro-isatina por reação direta da isonitrosoacetanilida

Bianca Nascimento Monteiro da Silva (IC¹); Renato Saldanha Bastos (P6); Bárbara Vasconcelos da Silva (P6); Angelo da Cunha Pinto (PQ)

e-mail: bianca_nascimento@yahoo.com.br

Instituto de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro
Palavras chave: 5-nitro-isatina, isonitrosoacetanilida, isatina



Introdução

A isatina (1) (1-*H*-indol-2,3-diona) é um heterociclo natural de grande versatilidade sintética. Essa molécula e seus derivados são conhecidos na literatura pelo gama de propriedades biológicas que possuem, sendo, portanto, frequentemente empregados como matéria-prima para a obtenção de compostos bioativos.¹

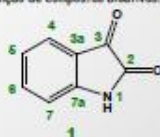


Figura 1. Estrutura da isatina (1)

A 5-nitro-isatina (2-Figura 2), por exemplo, foi empregada para a obtenção de flassenicarbazonas (3a-3c), que apresentaram atividade citotóxica frente a linhagens celulares de câncer de mama (MCF-7), câncer de pulmão (NCI-H460) e do sistema nervoso central (SNC - SF-268), sendo capazes de reduzir 32% do crescimento das células cancerígenas na concentração de 10⁻⁶ M, em 48 horas.²

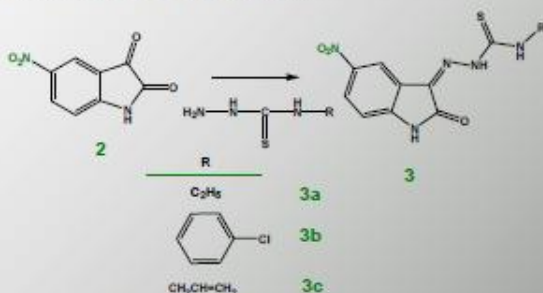


Figura 2. Derivados da 5-nitro-flassenicarbazona (3)

Normalmente, a 5-nitro-isatina (2) é sintetizada em duas etapas. Primeiro, a isatina (5) é produzida empregando o método de Sandmeyer: cicização de isonitrosoacetanilida (4) em ácido sulfúrico. Posteriormente, o ataque eletrofílico ao anel aromático com o grupo nitrô é promovido em meio ácido e em banho de gelo (Figura 3).^{3,4}

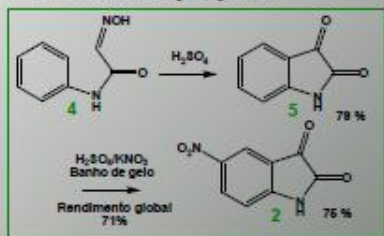


Figura 3. Esquema de reação para a obtenção da isatina (5) empregando o método de Sandmeyer e da 5-nitro-isatina (2) pelo de Calvery e colaboradores.

Neste trabalho descrevemos um novo método para a produção de 5-nitro-isatina, por reação direta da isonitrosoacetanilida.

Resultados e discussão

Preparo da 5-nitro-isatina por reação direta da isonitrosoacetanilida

A reação foi conduzida em uma única etapa com isonitrosoacetanilida (4), ácido sulfúrico e nitrato de potássio durante 1 hora (Figura 4). A temperatura do meio de reação foi rigorosamente controlada entre 0 e 3° C. A mistura foi vertida sobre gelo picado e o produto (2) filtrado e seco em estufa. Este se apresenta com coloração marrom e ponto de fusão de 249-251 ° C.

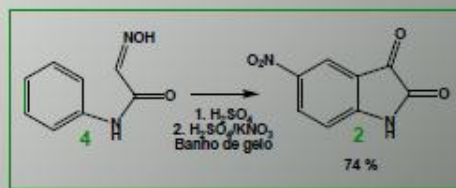


Figura 4. Esquema de reação para a obtenção da 5-nitro-isatina (2) por reação direta da isonitrosoacetanilida (4)

O produto obtido foi caracterizado por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹³C e ¹H e os acasalamentos dispostos nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Deslocamentos químicos dos carbonos de 2

C2	C3	C3a	C4	C5	C6	C7	C7a
159,1	162,4	117,0	133,0	120,0	143,0	112,7	155,2

Tabela 2: Deslocamentos químicos dos hidrogênios de 2

	Deslocamento químico (ppm)
NH	11,60 (s, 1H)
H-4	8,22 (d, 1H, J=2)
H-6	8,34 (dd, 1H, J=2, J=9)
H-7	7,04 (d, J=9)

Conclusão

A 5-nitro-isatina (2) foi preparada em uma única etapa de forma simples e eficiente. O método que investigamos resultou em economia de tempo, não sendo necessário isolar a isatina (5) intermediária da reação. Derivados da isatina substituídos na posição 5 pelo grupo nitrô podem se tornar matérias-primas para a obtenção de agentes antitumorais.

¹ Silva, J. F. M.; Santos, S. J.; Pinto, A. C. J. *Braz. Chem. Soc.* 2001, 22, 273.
² Kasli, N.; *Eur. J. Med. Chem.* 2002, 37, 909.
³ Sandmeyer, T. *Helv. Chim. Acta* 1919, 2, 234.
⁴ Calvery, H. O.; Noller, C. R.; Adams, R. *J. Am. Chem. Soc.* 1925, 47, 3058.

Agradecimentos

Ao CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro



Obtenção de novos derivados 5'-(4-alkil/aryl-1H-1,2,3-triazóis)-isatina via reação do tipo "click"

Bianca Nascimento Monteiro da Silva (PG)¹; Bárbara Vasconcelos da Silva (PQ)¹; Fernando C. da Silva (PQ)²; Daniel Tadeu G. Gonzaga (PG)²; Vitor F. Ferreira (PQ)²; Angelo da Cunha Pinto (PQ)¹
e-mail: biancanascimento@iq.ufjf.br

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ - Instituto de Química
Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro/RJ - Instituto de Química
Palavras-chave: isatina, 1,2,3-triazol, reação "click"



Introdução

A isatina (1 - Figura 1) possui em seu núcleo indólico duas carbonilas de reatividade diferentes, uma cetônica [C-2] e outra amidica [C-3], um anel aromático que pode sofrer reação de substituição eletrofílica nas posições 5 e 7, um grupo NH passível de alquilação e acilação. Por este motivo, esta substância é empregada na obtenção de um vasto número de substâncias bioativas.¹

A reação de cicloadição 1,3-dipolar regioselectiva entre azidas orgânica e alcinos terminais catalisadas por Cu (I), é atualmente a metodologia mais empregada para a obtenção de 1,2,3-triazol (2 - Figura 1),² heterociclo versátil e puramente sintético. Esta classe de compostos, também, apresenta aplicação na química medicinal.³

O objetivo deste trabalho foi a preparação de novos derivados triazólicos a partir do cetal dioxolano da 5-azido-isatina, empregando as condições de Huisgen modificada por Meldal e Sharpless.

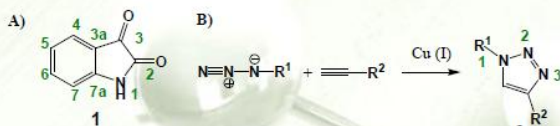
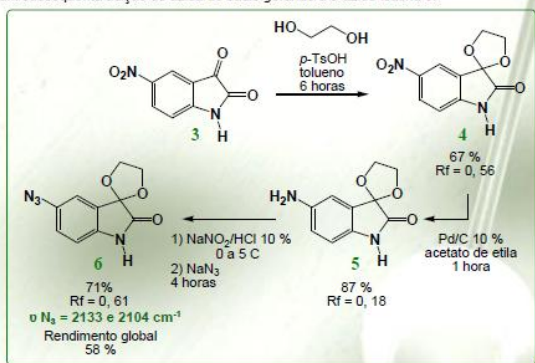


Figura 1. A - Estrutura da isatina (1). B - Reação "click" utilizada para a formação do anel 1,2,3-triazol (2).

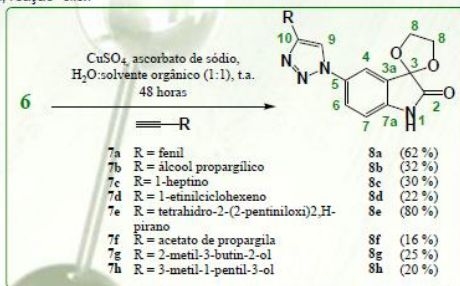
Resultados e Discussões

Inicialmente o cetal dioxolano da 5-nitro-isatina (3) foi preparado a partir da 5-nitro-isatina (4), utilizando-se etilenoglicol, ácido *p*-toluenossulfônico em tolueno, em 67 % de rendimento. Em seguida, o grupo nitro foi reduzido por hidrogenação catalítica obtendo-se a 5-amino-isatina 5, em 87 % de rendimento (Esquema 1). Na etapa seguinte, o grupo azido foi obtido através de uma reação de diazotação com nitrato de sódio em meio ácido, com subsequente adição de azida de sódio gerando a 5-azido-isatina 6.



Esquema 1. Obtenção do cetal dioxolano da 5-azido-isatina (6).

O produto (6) foi tratado com os respectivos alcinos terminais (7a-j), CuSO₄, ascorbato de sódio para fornecer os triazóis isatinícos (Esquema 2). A evolução da reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), empregando acetato de etila e hexano (1:1) como eluente. A revelação da placa foi feita em ultravioleta e carbonização com solução de vanilina sulfúrica.



Esquema 2. Esquema de reação para a obtenção dos novos derivados 1,2,3-triazóis (8a-h).

Houve a necessidade do uso de coluna em sílica flash (230 - 400 mesh), utilizando-se como eluente acetato de etila e hexano, sendo os produtos obtidos caracterizados por RMN de ¹³C e ¹H. Na figura 2 estão os espectros de RMN e os principais assinalamentos do composto 8d, como ilustração.

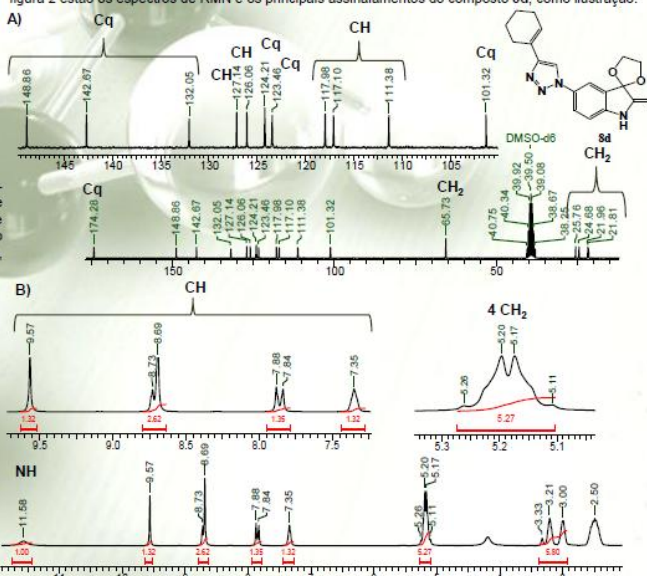


Figura 2. A - Espectro de RMN ¹³C. B - Espectro de RMN ¹H do composto 8d.

Conclusão

A reação "click" revelou ser uma metodologia limpa e eficiente para a obtenção de novos derivados 5'-(4-alkil/aryl-1H-1,2,3-triazóis)-isatina em rendimentos moderados.

¹ Da Silva, et al. *J. Braz. Chem. Soc.* 2001, 12, 273.; ² Freitas, L. B. et al. *Quim. Nova.* 2011, 34, 1791.; ^{3a} Silva, F. C. et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2009, 44, 373.; ^{3b} Bochat, N. et al. *J. Med. Chem.* 2011, 54, 5988.; ^{4a} Tomoe, C. W. et al. *J. Org. Chem.* 2002, 67, 3057.; ^{3c} Rostovtsev, V., V. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, 41, 2596.



Painel apresentado na 35^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (2012).



Avaliação da atividade sedativo-hipnótica de derivados 5'-(4-alkil/aril-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro-(2,5-dioxo-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)

Bianca N. M. Silva (PG),^{1*} Bárbara V. Silva (PQ),¹ Daniel Tadeu G. Gonzaga (PQ),² Fernando C. Silva (PQ),² Vitor F. Ferreira (PQ),² Bismarck Rezende (IC),¹ Gisele Zapata-Sudo (PQ),¹ Roberto T. Sudo (PQ),¹ Angelo C. Pinto (PQ)¹

bianca_qnascimento@yahoo.com.br

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ; ² Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro/RJ – Instituto de Química.

Palavras-chave: isatina, triazol, sedativo-hipnótico



Introdução e Objetivos

A isatina (1 – Figura 1) e seus derivados atuam inibindo a enzima monoamino oxidase B (MAO-B)¹ presente no cérebro, e, também reduzem a formação do nucleotídeo GMPcíclico.² Além de interagir com receptores benzodiazepínicos, como o receptor ionotrópico GABA, o que pode resultar em um efeito sobre os sistemas nervoso central (SNC), tais como sedativo, hipnótico, analgésico, entre outros. Apesar dos compostos 1,2,3-triazólicos (2 – Figura 1) também atuarem sobre o SNC, estudos que descrevam o seu mecanismo de ação são escassos, se restringindo apenas a alguns exemplos.³

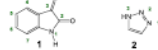


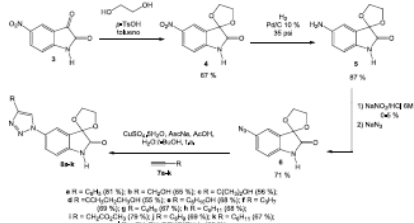
Figura 1. Estrutura da isatina (1) e do núcleo triazólico (2).

Este trabalho descreve a avaliação das propriedades sedativo-hipnótico de derivados triazólicos obtidos através da cicloadição 1,3-dipolar entre o 5'-azido-espiro(2,5-dioxo-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) e alquinos terminais catalisadas por Cu(I).⁴

Resultados e Discussão

Preparo dos derivados 5'-(4-alkil/aril-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro-(2,5-dioxo-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)

Inicialmente, o 5'-nitro-espiro(2,5-dioxo-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) (3) foi preparado a partir da 5-nitro-isatina (4), utilizando-se etilenoglicol, ácido p-tolueno-sulfônico em tolueno, em 67 % de rendimento. Em seguida, o grupo nitro foi reduzido por hidrogenação catalítica obtendo-se o 5'-amino-espiro(2,5-dioxo-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) 5, em 87 % de rendimento. Na etapa seguinte, o grupo azido foi obtido através de uma reação de diazotação com nitrato de sódio em meio ácido, com subsequente adição de azida de sódio reagido o composto 6 que em foi tratado com os alquinos terminais (7a-k), CuSO₄·5H₂O, ascorbato de sódio e ácido acético como catalisador para fornecer os triazóis isatínicos 8a a 8k (Esquema 1).



Esquema 1. Reação para a obtenção dos derivados 5'-(4-alkil/aril-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro-(2,5-dioxo-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona) 8a a 8k.

Avaliação do efeito sedativo-hipnótico dos derivados 5'-(4-alkil/aril-1H-1,2,3-triazol-1-il)-espiro-(2,5-dioxo-ciclopentano-1,3'-indolino-2'-ona)

Avaliação da duração da hipnose induzida pelo pentobarbital sódico (8a-d e 8f-I)

O teste chamado "sleeping time" foi utilizado para avaliar a duração da hipnose induzida por um barbitúrico. O pentobarbital sódico é administrado por injeção intravenosa na cauda do camundongo, na dose de 7 μmol.kg⁻¹ após o pré-tratamento com o veículo (DMSO). A duração da hipnose é determinada a partir do momento da injeção venosa e perda do reflexo de postura do camundongo.

Na Figura 2, pode-se observar que alguns compostos (6, 8a-d, 8f-I e 9) avaliados na dose 100 μmol.kg⁻¹ prolongaram a duração da hipnose induzida pelo pentobarbital. Sendo os derivados 8h e 8k os mais promissores.

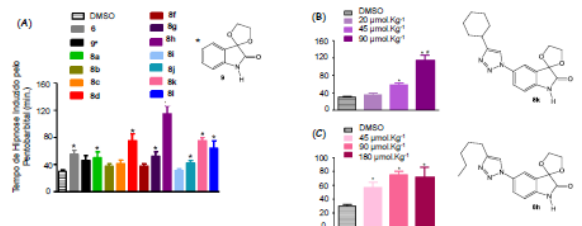


Figura 2. (A) Efeito da injeção intraperitoneal das substâncias 6, 8a-d, 8f-I e 9 na dose de 100 μmol.kg⁻¹ e o efeito da injeção intraperitoneal de 8h (B) e 8k (C) nas doses de 20, 45 e 90; e 45, 90 e 180 μmol.kg⁻¹, respectivamente. Os dados representam a média ± EPM de 10 camundongos para cada dose testada. *P<0,05 comparado ao DMSO.

Avaliação da atividade locomotora em camundongos (8a, h e i)

A atividade sedativa dos derivados 8a, h e i foi investigada através da avaliação da atividade locomotora de camundongos após tratamento pela via intraperitoneal (Figura 3). Em todos os experimentos, o midazolam, um fármaco benzodiazepínico hipnótico e sedativo, foi utilizado como referência. Dentre as substâncias avaliadas, destacou-se 8h, que nas doses de 45 e 90 μmol.kg⁻¹, apresentou valores abaixo de 100 mov./min.

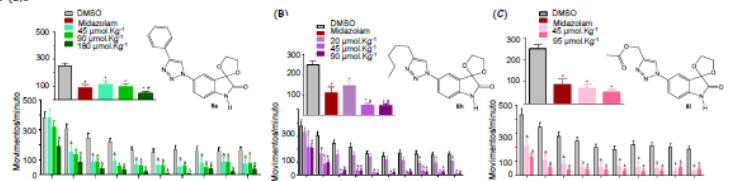


Figura 3. Efeito da injeção intraperitoneal nas doses de 45, 90 e 180 μmol.kg⁻¹ para as substâncias 8a (A) e 8h (B), e, nas doses de 45 e 95 μmol.kg⁻¹ para a substância 8i (C). Os dados representam a média ± EPM de 10 camundongos para cada dose testada. *P<0,05 comparado ao DMSO

Conclusão

Neste trabalho, 12 derivados contendo os núcleos da isatina e do triazol foram sintetizados e tiveram a sua atividade sedativo-hipnótico investigada.

As substâncias 8a-d e 8f-I apresentaram propriedades sedativo-hipnóticas, indicando a atuação destas moléculas no sistema nervoso central. Dentre as substâncias avaliadas, destacou-se 8h, que nas doses de 45 e 90 μmol.kg⁻¹, apresentou valores abaixo de 100 mov./min, sendo mais ativa que o midazolam (7 μmol.kg⁻¹) e prolongou o tempo de ação do pentobarbital sódico de 38 min. (DMSO) para 115 min. (90 μmol.kg⁻¹; P<0,05).

1a Medvedev, A. E.; Clow, A.; Zapata-Sudo, G. et al. *Pharm. Biochem. Behav.* 2007, 86, 678; 2 Glover, V.; Medvedev, A. E.; Sandler, M. *Life Sci.* 1995, 57, 2073; 3a Shafi, S. et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2012, 49, 324; 4a Silva, B. N. M. et al. *J. Braz. Chem. Soc.* 2013, 24, 179; b Tornøe, C. W. et al. *J. Org. Chem.* 2002, 67, 3067; b Restovtsov, V. V. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, 41, 2696.

Agradecimentos

Ao CNPq e FAPERJ pelo apoio financeiro

Painel apresentado na XVI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (2013).



Universidade Federal do Rio de Janeiro
 Instituto de Química
 Laboratório de Produtos Naturais e Transformações Químicas
**Synthesis of Novel Semicarbazones and
 Thiosemicarbazones of Isatin Derivatives as Potential
 Drugs Against *T. cruzi***

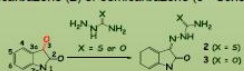


Bianca Nascimento Monteiro da Silva (PG)¹, Bárbara Vasconcellos da Silva (PQ) e Angelo da Cunha Pinto (PQ)
 *bianca_qnascimento@yahoo.com.br
 Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ.

Keywords: Isatin, Thiosemicarbazones and Semicarbazones.

Introduction:

The isatin (1) has in your structure two distinct chemical reactivity of carbonyls, an amidic [C-2] and another ketonic [C-3].¹ The carbonyl group at C-3 can undergo a chemoselective condensation reaction with semicarbazide or thiosemicarbazide to provide, respectively, the thiosemicarbazone (2) or semicarbazone (3) - Scheme 1).



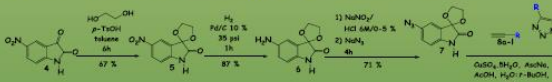
Scheme 1. Synthesis of thiosemicarbazone (2) and semicarbazone (3) from isatin (1).

There are numerous biological properties described in the literature for isatinas² and for thiosemicarbazones.⁴ This number is reduced to the semicarbazones.⁵ This work is aimed at the synthesis of a series of semicarbazones and thiosemicarbazone derivatives of isatin with properties against *T. cruzi*.

Results and Discussion:

Initially, the ketal dioxolane of 5-nitro-isatin (5) was prepared from 5-nitro-isatin (4), using ethylene glycol, *p*-TSAH in toluene, in 67 % yield. Then, the nitro group was reduced by catalytic hydrogenation to give 6 in 87 % yield. In the next step, the azido group was obtained by a diazotization reaction with sodium nitrite in acid medium, with subsequent addition of NaN_3 generating compound 7 which was treated in with terminal alkynes (8a-1), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, sodium ascorbate and acetic acid as catalyst to provide triazoles 9a to 9l (Scheme 2).⁶

The reaction for the formation of 9a-l triazoles was investigated in order to reduce the time required to obtain the triazoles. The yield for this group of substances using ultrasound were higher than yields observed in the conventional method, and the consumption of the starting material even in the presence of different alkynes, was only 5 minutes (Table 1).



Scheme 2. Reaction for obtaining derivatives of triazole-isatins (9a-1).
 Table 1. Yields obtained for the triazoles to the conventional method and ultrasound.

Compound (R)	9a	9b	9c	9d	9e	9f	9g	9h	9i	9j	9k	9l
Yield (%)	60	69	67	65	68	60	63	66	56	73	74	77
Ultrasound	95	98	88	82	83	78	87	82	92	88	87	88

The literature describes the hydrolysis of ketal dioxolane in HCl dilute.⁷ However, this was not observed for derivatives of triazole-isatins. This group underwent hydrolysis by trifluoroacetic acid (TFA) after 24h (Scheme 3).



Scheme 3. Reaction of hydrolysis in TFA.

Table 2 *. Income obtained for the triazoles.

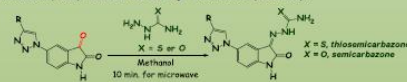
Compound (R)	10a	10b	10c	10f	10h	10j	10k	10l
Yield (%)	89	85	87	78	86	86	83	83

* The compounds 9d and 9l were not hydrolyzed since they have different physical and chemical properties of other substances. And the compounds 9e and 9k undergo elimination reactions in the presence of TFA.

The dioxolane of isatin ketal was resistant in media respectively containing acetic acid (AcOH), concentrated hydrochloric acid (HCl) and sulfuric acid (H_2SO_4).

The hydrolysis reaction was also subjected to irradiation in a microwave and ultrasound in the presence of different mineral acids and Lewis in catalytic amounts, however, it was observed by thin layer chromatography that the conversion of the dioxolane ketal the hydrolysis product is not it was complete.

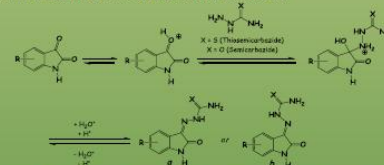
The semicarbazones and thiosemicarbazones were obtained by the condensation reaction between 10 and thiosemicarbazide or semicarbazide, respectively (Scheme 4). These substances, too, were obtained by microwave (Table 3).



Scheme 4. The synthesis of thiosemicarbazones (X = S) and semicarbazones (X = O) isatins.
 Table 3. Income obtained for thiosemicarbazones (X = S) and semicarbazones (X = O) to the conventional method and microwave.

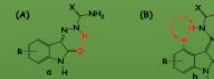
Compound (R)	10a	10b	10c	10f	10h	10j	10k	10l	
Yield (%)	X-S	79	87	85	78	89	87	86	82
	Microwave	94	89	90	84	86	92	87	83
X-O	Reflux	82	79	76	72	80	82	81	80
	Microwave	92	87	88	80	83	91	89	87

Synthesis of thio- and semicarbazones occurs by nucleophilic attack of the carbonyl [C-3] of isatin by electron pairs nonbonding the NH_2 in thio- and semicarbazide. In this reaction, a mixture of isomers may be produced as product (Scheme 3).



Scheme 3. Mechanism of reaction of thiosemicarbazones (X=S) e semicarbazones (X=O).

However, only one of isomers a or b (Scheme 3) was observed as product by ^1H NMR, ^{13}C NMR and RMN2D. In the NOESY spectrum it was not observed the interaction between the hydrogen of the aromatic ring and the hydrogen [NH] of the thio- and semicarbazone group, indicating that the isomer a was the product obtained in this reaction.



Scheme 4. (A) Intramolecular bond between the hydrogen atoms of the NH group and the oxygen of the carbonyl [C-2]. (B) And the interaction observed for isomer b in the NOESY spectrum.

The progress of the all reaction was monitored by TLC. And, all substances obtained were identified by IR, NMR ^1H and NMR ^{13}C .

Biological evaluation of these derivatives is being evaluated against *Trypanosoma cruzi* by Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Conclusion:

The ketals dioxolane of the triazole-isatins are resistant to hydrolysis. Novels derivatives of thiosemicarbazone and semicarbazone were synthesized in good yields through condensation chemoselective. And, these derivatives as potential agents against *T. cruzi*.

Thanks:

We thank CAPES, FAPERJ and CNPq for financial support.

References:

¹Silva, J. F. M. et al. *J. Braz. Chem. Soc.* 2010, 12, 273; ²Zhang, -X. M. et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2015, 101, 419; ³Dunbar, R. E.; Kalland, A. E. *Microchem. J.* 1958, 2, 119; ⁴Nishio, J. et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2014, 84, 556; ⁵Zapata, G. -S. et al. *Pharm. Biochem. Behav.* 2007, 86, 678; ⁶West, D. X. et al. *Coord. Chem. Rev.* 1993, 123, 49; ⁷Glisoni, R. J. et al. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2012, 47, 596; ⁸Liu, Z. et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2014, 87, 782; ⁹Silva, B. N. M. et al. *J. Braz. Chem. Soc.* 2013, 24, 1; ¹⁰Greene, T.; Wuts, P. *The Role of Protective Groups in Organic Synthesis*. 3th ed. John Wiley & Sons, Inc. 1999, 779p.

Painel apresentado na 16ª Brazilian Meeting on Organic Synthesis (2015).