

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE BIOISÓSTEROS DE NITROFURAL
ATIVOS CONTRA *Leishmania amazonensis***

DANIELA HARTMANN JORNADA

ORIENTADORA: Prof^a. Dra. Chung Man Chin

COORIENTADORA: Prof^a. Dra. Priscila Longhin Bosquesi

ARARAQUARA – SP

2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE BIOISÓSTEROS DE NITROFURAL
ATIVOS CONTRA *Leishmania amazonensis***

DANIELA HARTMANN JORNADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADORA: Prof^a. Dra. Chung Man Chin

COORIENTADORA: Prof^a. Dra. Priscila Longhin Bosquesi

ARARAQUARA-SP

2015

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

J8s

Jornada, Daniela Hartmann

Síntese e avaliação biológica de bloisósteros de nitrofural ativos contra *Leishmania amazonensis* / Daniela Hartmann Jornada. — Araraquara, 2015
142 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho".
Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Chung Man Chin

Coorientador: Priscila Longhin Bosquesi

1. Leishmaniose tegumentar. 2. Nitrofural. 3. Bloisosterismo. I. Chung, Man Chin, orient.
II. Bosquesi, Priscila Longhin Título.

CAPES: 40300005

Dedico este trabalho à minha tia Claire (in memorian), que sempre acreditou no meu potencial, por todos os ensinamentos e conselhos que tornaram tudo isso possível.

À minha mãe Rossane, pelo carinho e por todos seus esforços em me garantir a melhor qualidade educacional possível.

Ao meu querido Tiago pela paciência e amor em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por permitir a realização desse trabalho, pelo crescimento pessoal e profissional adquirido.

À minha mãe, Rossane Hartmann, pelos momentos de apoio e carinho, sempre me incentivando a perseverar e auxiliando para que tudo fosse feito da melhor forma possível.

À minha tia, Claire Hartmann (*in memoriam*), por todo o amor, pelos ensinamentos e conselhos.

Ao meu amado Tiago Ferreira, pela cumplicidade e apoio em todos os momentos difíceis, pelo incentivo e ajuda na realização deste trabalho, e pelo amor incondicional.

À minha segunda família, Cidinha Lima e José Carlos Ferreira, por todo carinho e receptividade, que me fizeram sentir parte da família.

À minha orientadora Prof^a. Dra. Chung Man Chin, pelos ensinamentos, conselhos e pela amizade em todas as horas.

À minha coorientadora Prof^a. Dra. Priscila Longhin Bosquesi, pelos ensinamentos, paciência, disponibilidade e ajuda em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos pelas conversas e ensinamentos, que sempre incitaram boas idéias e raciocínios, pelas contribuições na correção desse trabalho.

Aos meus queridos amigos e colegas de laboratório, Diego Chiba, Thaís Melo, Rafael Chelucci, Aline Pavan, Guilherme Fernandes, Sílvio Lopes, Paulo Yamasaki, Marcella Machado, Aylime Castanho, Juliana Reis, Luiz Dutra, Isabela Junqueira e Luiza Mota, por toda ajuda, pelos ensinamentos, amizade e pelos momentos de descontração.

Aos técnicos de laboratório Marileide Silva e Mateus Scontri, que facilitaram a execução do trabalho, auxiliando sempre que possível.

À Prof^a. Dra. Márcia Aparecida Silva Graminha por disponibilizar o laboratório de parasitologia para realização dos testes *in vitro*.

Aos colegas da parasitologia, Thaís Passalacqua e Fábio Torres, em especial à Letícia Almeida e à técnica do laboratório, Isabel Martinez, que auxiliaram diretamente na realização dos ensaios *in vitro*.

Às amigas, Ligia Casula e Mariane Curbette, pela amizade e momentos de descontração.

A toda equipe da biblioteca da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, pelo material

Agradecimentos

bibliográfico, em especial à Irani Coito, pelas orientações e ajuda.

À equipe da seção técnica de pós-graduação, Daniela Altieri, Flavia Sousa de Jesus, Cláudia Molina e Joyce Romero, pelas informações e orientações necessárias.

À Fundação CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) pelo auxílio financeiro.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Lute com determinação, abrace a vida com paixão,
perca com classe e vença com ousadia, porque o mundo
pertence a quem se atreve e a vida é muito para ser
insignificante.”
(Charles Chaplin).*

RESUMO

A leishmaniose tegumentar possui ampla distribuição mundial, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) e estima-se que haja o surgimento de 500 mil a um milhão de casos por ano. Segundo dados do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), no ano de 2005 registraram-se mais de 180 milhões de casos de leishmaniose tegumentar no Brasil. Apesar da existência de tratamentos disponíveis, a cura da leishmaniose é um processo complexo, em virtude das dificuldades na administração dos fármacos injetáveis, dos inúmeros efeitos adversos e da toxicidade hepática, renal e cardíaca. Dessa forma o desenvolvimento de novos fármacos mais eficazes e menos tóxicos torna-se urgente. O bioisosterismo é uma ferramenta de modificação molecular que visa à obtenção de novos análogos com a mesma atividade biológica. Assim, tem sido utilizado na pesquisa de novos fármacos, buscando a melhoria na eficácia e segurança no tratamento de diversas doenças. O nitrofural (NF), 5-nitro-2-furaldeído semicarbazona, é um fármaco utilizado como antimicrobiano de uso tópico em vários tipos de lesões de pele, que apresenta atividade descrita contra formas amastigotas de *L. donovani*, *L. enriettii* e *L. major*. Baseando-se nas diversas atividades do fármaco, o trabalho proposto objetivou a síntese de bioisósteros de nitrofural e avaliação dos compostos quanto à atividade leishmanicida *in vitro*. Foram sintetizados e caracterizados através de métodos analíticos oito compostos, sendo um inédito. Sete deles foram avaliados quanto à atividade biológica frente às formas amastigotas de *L. amazonensis*, através do ensaio de MTT (brometo de 3-metil[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5 difeniltetrazólio). O composto Lapdesf-MetSFS (**8**) apresentou atividade comparável à da pentamidina, fármaco padrão utilizado na terapêutica.

Palavras-chave: leishmaniose tegumentar, nitrofural, bioisosterismo.

ABSTRACT

Cutaneous leishmaniasis is a world widely distributed disease and it is estimated, by the World Health Organization (WHO), the incidence of 500,000 to one million cases per year. According to the Department of the Unified Health System (DATASUS), in 2005 it was registered more than 180 million cases of cutaneous leishmaniasis in Brazil. Although treatments for leishmaniasis are available, it is a complex process, because of difficulties in administration, once the majority of the drugs are injectable, the several numbers of adverse effects, and liver, renal and cardiac toxicity. Due to that, the development of more effective and less toxic drugs becomes urgent. The bioisosterism is a molecular modification strategy that aims to obtain new analogues with the same biological activity. It has been used in the research for new drugs, in order to improve the effectiveness and safety in the treatment of various diseases. The nitrofur (NF) 5-nitro-2-furaldehyde semicarbazone, is a drug used as topical antimicrobial in various types of skin lesions is described which has activity against *L. donovani*, *L. enriettii* and *L. major* amastigote forms. Based on the various drug activities, the proposed work aimed the synthesis of bioisosters of nitrofur and evaluation of compounds for in vitro leishmanicidal activity. Were synthesized and characterized via analytical methods eight compounds, one unpublished. Seven of them were evaluated for biological activity against the amastigotes forms of *L. amazonensis* by MTT assay (3-methyl bromide [4,5-dimethylthiazol-2-yl] -2,5-diphenyltetrazolium bromide). The Lapdesf-MetSFS (**8**) compound showed activity comparable to that of pentamidine, standard drug used in therapy.

Keywords: cutaneous leishmaniasis, nitrofur, bioisosterism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Huaco pré-colombiano com lesões no nariz e lábios sugestivas de leishmaniose tegumentar.	18
Figura 2- Distribuição mundial da leishmaniose cutânea no ano de 2012.	19
Figura 3 - Distribuição dos casos de leishmaniose tegumentar no Brasil no ano de 2004.	20
Figura 4- Ciclo de transmissão da leishmaniose.	22
Figura 5 – Formas do parasito: (A) promastigota, (B) amastigota; (C) fêmea do inseto vetor ingurgitada.	23
Figura 6 - Formas clínicas apresentadas na leishmaniose tegumentar.	24
Figura 7 - (A) Lesão ulcerada típica da forma localizada, (B) lesão inicial antes de ocorrer ulceração.	25
Figura 8 - Lesões características de leishmaniose cutânea disseminada.	25
Figura 9 - Lesões características de leishmaniose recidiva cutis.	26
Figura 10 - Leishmaniose na forma cutânea difusa.	27
Figura 11 - Leishmaniose tegumentar muco-cutânea tardia.	28
Figura 12 - Paciente com leishmaniose mucosa concomitante. A) lesão mucosa infiltrativa na base da pirâmide nasal, B) lesão cutânea com placas verrucosas nos cotovelos.	29
Figura 13 - Estrutura química do antimoniato de N-metilglucamina.	30
Figura 14 - Estrutura química da aminosidina.	32
Figura 15 - Estrutura química da anfotericina B.	33
Figura 16 - Estrutura química do isotionato de pentamidina	34
Figura 17 - Estrutura química da miltefosina.	35
Figura 18 - Regra do hidreto de Grimm	37
Figura 19 - Sistema glicoxalase em tripanossomatídeos.	41
Figura 20 – Derivados de tiossemicarbazonas e semicarbazonas inibidores de cisteína protease recombinante de <i>L. mexicana</i>	43
Figura 21 - Estrutura química do 5-nitro-2-furaldeído semicarbazona.	44
Figura 22 - Bioisósteros propostos.	47
Figura 23 - Esquema representando a placa de 96 poços utilizada no teste.	57
Figura 24 - Representação esquemática da possível interação entre a enzima e o melhor composto obtido.	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Bioisósteros clássicos e não-clássicos.....	38
Tabela 2- Comparação dos parâmetros sintéticos entre as metodologias utilizadas e as já descritas na literatura para Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5).	62
Tabela 3 - Comparação dos valores de absorção na região de infravermelho do Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5).....	63
Tabela 4 - Deslocamentos químicos referentes à RMN de ^1H e ^{13}C do Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5).	66
Tabela 5 – Comparação entre a metodologia de obtenção utilizada e descrita para o composto Lapdesf-MetSFS (8)	74
Tabela 6 - Comparação dos valores de absorção na região de infravermelho dos reagentes (6 e 2) e do Lapdesf-MetSFS (8) e Lapdesf-MetSFTS (9).....	75
Tabela 7 - Deslocamentos químicos referentes à RMN de ^1H e ^{13}C do Lapdesf-MetSFS (8) e Lapdesf-MetSFTS (9).....	79
Tabela 8 - Comparação dos parâmetros sintéticos em relação às metodologias empregadas na obtenção do Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMTS (12).	88
Tabela 9 - Comparação dos valores de absorção na região de infravermelho do Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12).....	89
Tabela 10 - Deslocamentos químicos referentes à RMN ^1H e ^{13}C do Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12).	92
Tabela 11 - Comparação dos valores de absorção na região de infravermelho do Lapdesf-BrFS (13) e Lapdesf-BrFTS (14).....	99
Tabela 12 - Deslocamentos químicos referentes à RMN ^1H e ^{13}C dos Lapdesf-BrFS (13) e Lapdesf-BrFTS (14).	102
Tabela 13 - Dados obtidos através da espectrometria de massas dos bioisósteros sintetizados.	108
Tabela 14 - Valores de IC_{50} obtidos contra formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> e carga parcial do carbono da imina.....	110

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Planejamento estrutural dos bioisósteros de nitrofural.....	46
Esquema 2- Esquema geral de síntese dos compostos obtidos.	49
Esquema 3 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-FS (3).	49
Esquema 4 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-FTS (5).	50
Esquema 5 - Esquema sintético de formação do Lapdesf-IMetS (7).	51
Esquema 6 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-MetsFS (8).	51
Esquema 7 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-MetSFTS (9).	52
Esquema 8 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-HMFS (11).	53
Esquema 9 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-HMFTS (12).	53
Esquema 10 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-BrFS (13).	54
Esquema 11 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-BrFTS (14).	55
Esquema 14 - Mecanismo de formação de iminas para os compostos obtidos.	60
Esquema 15 - Mecanismo de reação para o intermediário Lapdesf-IMetS (7).	73

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf – FS (3).....	64
Espectro 2 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-FTS (5).....	65
Espectro 3 - Espectro de RMN ^1H do Lapdesf – FS (3) (DMSO).....	67
Espectro 4 - Ampliações do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-FS (3) - regiões entre 7,64 e 7,84 ppm e 6,60 e 6,90 ppm	67
Espectro 5 - Espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf – FS (3)	68
Espectro 6 - Espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-FTS (5)	69
Espectro 7 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-FTS (5) nas regiões entre 6,50 e 6,75 ppm e 6,85 e 7,05 ppm (DMSO $_{d6}$).....	69
Espectro 8 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-FTS (5) nas regiões entre 7,78 e 7,84 ppm	70
Espectro 9 - Espectro RMN de ^{13}C do Lapdesf-FTS (5)	71
Espectro 10 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-MetSFS (8).....	76
Espectro 11 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-MetSFTS (9).	77
Espectro 12 - Espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-IMetS (7)	80
Espectro 13–Ampliações do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-IMetS (7) - regiões entre 7,45 e 7,75 ppm e 3,25 e 3,50 ppm	81
Espectro 14 - Espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-MetSFS (8)	82
Espectro 15 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-MetSFS (8) - regiões entre 6,90 e 7,50 ppm	82
Espectro 16–Ampliação do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-MetSFS (8) - regiões entre 6,40 e 6,65 ppm e 3,20 e 3,45 ppm	83
Espectro 17 - Espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-MetSFS (8)	84
Espectro 18 - Espectro de RMN ^1H do Lapdesf-MetSFTS (9)	85
Espectro 19 - Espectro de RMN ^1H do Lapdesf-MetSFTS (9) - ampliação da região entre 7,1 ppm e 8,5 ppm	86
Espectro 20 - Ampliação do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-MetSFTS (9) - regiões entre 7,18 ppm e 7,42 ppm	86
Espectro 21 - Espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-MetSFTS (9)	87
Espectro 22 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-HMFS (11).....	90

Espectro 23 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-HMFTS (12).	91
Espectro 24- Espectro de RMN ^1H do Lapdesf-HMFS (11)	93
Espectro 25–Ampliações do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-HMFS (11) - regiões entre 6,20 e 6,50 ppm e 5,15 e 5,45 ppm	93
Espectro 26–Ampliações do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-HMFS (11) - regiões entre 4,32 e 4,52 ppm e 6,67 e 6,82 ppm	94
Espectro 27 - Espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-HMFS (11)	95
Espectro 28 - Ampliação do espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-HMFS (11) - regiões entre 155,5 e 159,5 ppm	95
Espectro 29 - Espectro RMN ^1H do Lapdesf-HMFTS (12)	96
Espectro 30 - Ampliação do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-HMFTS (12) - regiões entre 6,30 e 7,00 ppm	97
Espectro 31 - Espectro RMN ^{13}C do Lapdesf-HMFTS (12)	98
Espectro 32 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-BrFS (13).	100
Espectro 33 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-BrFTS (14).	101
Espectro 34 - Espectro de RMN ^1H do Lapdesf-BrFS (13)	103
Espectro 35 - Ampliação do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-BrFS (13) - regiões entre 6,0 e 7,8 ppm.	103
Espectro 36 - Espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-BrFS (13)	104
Espectro 37 - Espectro RMN ^1H do Lapdesf-BrFTS (14)	105
Espectro 38 - Ampliação do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-BrFTS (14) - regiões entre 6,70 e 7,15 ppm	106
Espectro 39 - Espectro RMN ^{13}C do Lapdesf-BrFTS (14)	107
Espectro 40 - Espectro na região de infravermelho do furano-2-carbaldeído (1).	125
Espectro 41 - Espectro de RMN ^1H do reagente furano-2-carbaldeído (1)	126
Espectro 42 - Ampliações do espectro de RMN ^1H do furano-2-carbaldeído (1) - regiões entre 6,55 e 6,85 ppm e 5,85 e 6,10 ppm	126
Espectro 43 - Espectro na região de infravermelho do cloridrato de semicarbazida (2).	127
Espectro 44 - Espectro de RMN de ^1H do cloridrato de semicarbazida (2)	128
Espectro 45 - Espectro na região de infravermelho da tiossemicarbazida (4).	129
Espectro 46 - Espectro de RMN de ^1H da tiossemicarbazida (4)	130
Espectro 47 - Espectro na região de infravermelho do 5-bromo-2-furaldeído (6).	131

Espectro 48 - Espectro de RMN de ^1H do 5-bromo-2-furaldeído (6) .	132
Espectro 49 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H do 5-bromo-2-furaldeído (6) – ampliação da região entre 7,40 e 7,80 ppm e 6,70 e 7,10 ppm	132
Espectro 50 - Espectro na região de infravermelho do 5-hidroximetil-2-furaldeído (10).....	133
Espectro 51 - Espectro de RMN ^1H do 5-hidroximetil-2-furaldeído (10)	134
Espectro 52–Ampliações do espectro de RMN ^1H do 5-hidroximetil-2-furaldeído (10) – regiões entre 7,35 e 7,70 ppm e 6,45 e 6,80 ppm	134
Espectro 53 - Ampliações do espectro de RMN ^1H do 5-hidroximetil-2-furaldeído (10) – regiões entre 5,45 e 5,75 ppm e 4,35 e 4,75 ppm	135
Espectro 54 - Espectro de massas do composto Lapdesf – FS (3).	136
Espectro 55 - Espectro de massas do Lapdesf-FTS (5)	137
Espectro 56 - Espectro de massas do Lapdesf – MetSFS (8).	138
Espectro 57 - Espectro de massas do Lapdesf-HMFS (11).	139
Espectro 58 - Espectro de massas do Lapdesf-HMFTS (12).	140
Espectro 59 - Espectro de massas do Lapdesf –BrFS (13).	141
Espectro 60 - Espectro de massas do Lapdesf-BrFTS (14).	142

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	Doenças negligenciadas e as leishmanioses	16
1.2	Leishmaniose tegumentar.....	17
1.2.1	Epidemiologia e prevalência	19
1.2.2	Transmissão e ciclo evolutivo	20
1.2.3	Manifestações clínicas.....	23
1.2.4	Diagnóstico e tratamento.....	29
1.3	Pesquisa de novos fármacos	36
1.3.1	Alvos terapêuticos na pesquisa de fármacos contra a leishmaniose	38
2	OBJETIVOS.....	46
2.1	Objetivo geral	46
3	PLANEJAMENTO ESTRUTURAL	46
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	48
4.1	Reagentes e solventes	48
4.2	Equipamentos	48
4.3	Métodos	49
4.3.1	Metodologias sintéticas	49
4.3.2	Métodos Analíticos.....	55
4.3.3	Ensaio biológico para determinação de atividade leishmanicida em formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i>	57

4.3.4	Cálculo de carga parcial dos carbonos 6 (imina) e 9 (carbonila/tiocarbonila).....	58
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1	Síntese e caracterização estrutural.....	59
5.1.1	Síntese e caracterização estrutural do Lapdesf – FS (2-(furan-2-ilmetileno)hidrazinacarboxamida) (3) e Lapdesf-FTS (2-(furan-2-ilmetileno)hidrazinacarbotioamida) (5).....	61
5.1.2	Síntese e elucidação estrutural do Lapdesf-MetSFS (2-((5-(metilsulfonil)furan-2-il)metileno)hidrazinacarboxamida) (8) e Lapdesf-MetSFTS (2-((5-(metilsulfonil)furan-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida) (9).....	72
5.1.3	Síntese e elucidação estrutural do Lapdesf-HMFS (2-((5-(hidroximetil)furan-2-il)metileno)hidrazinacarboxamida) (11) e Lapdesf-HMFTS (2-((5-(hidroximetil)furan-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida) (12).....	87
5.1.4	Síntese e elucidação estrutural do Lapdesf-BrFS (2-((5-bromofuran-2-il)metileno)hidrazinacarboxamida) (13) e Lapdesf-BrFTS (2-((5-bromofuran-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida) (14).....	98
5.2	Ensaio biológico (determinação da atividade leishmanicida in vitro) e determinação das cargas parciais dos carbonos 6 e 9 in silico	109
6	CONCLUSÕES.....	113
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114
	APÊNDICE	125

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças negligenciadas e as leishmanioses

Os custos envolvidos no processo de descoberta de um novo fármaco, desde sempre onerosos, representam parte decisiva na proposta de realização dessas pesquisas. Geralmente, esses valores são sustentados diretamente pelos consumidores ou pelo interesse político dos governos, capazes de fornecer o suporte monetário necessário para o desenvolvimento desses fármacos (DON; CHATELAIN, 2009). As doenças negligenciadas representam um grupo de enfermidades que não atraem muitos investimentos, uma vez que acometem populações que não representam fonte de retorno financeiro para a indústria farmacêutica. Essas populações apresentam pouca voz política, baixo poder aquisitivo e, geralmente, são pertencentes a países em desenvolvimento (DON; CHATELAIN, 2009; BRASIL, 2010a; ALVAR; PECÓUL, 2014). Segundo dados do Ministério da saúde (2010a) cerca de um sexto da população mundial está infectada por uma ou mais doenças negligenciadas, dentre as quais fazem parte as leishmanioses, doença de Chagas, esquistossomose, hanseníase, filariose linfática, raiva humana, cisticercose, teníase, oncocercose, doença do sono (tripanossomíase humana africana – THA), dengue, entre outras (VALVERDE, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014a).

Além disso, observa-se ainda, que há uma distribuição desigual entre as pesquisas e investimentos para essas doenças, uma vez que existem mais indicações para o HIV (Vírus da Imunodeficiência Adquirida) infantil e a malária, comparativamente com a dengue, o tracoma e a leishmaniose tegumentar. Nos últimos três anos, somente uma nova entidade química foi aprovada para uso, a bedaquilina, utilizada no tratamento da tuberculose (COHEN et al., 2014).

As leishmanioses representam um grupo de doenças parasitárias causadas por mais de vinte espécies de parasitos do gênero *Leishmania* e sendo difundidas mundialmente (ASHFORD, 2000; ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2014; WHO, 2014a).

As manifestações clínicas dependem da espécie do agente causador, que apresenta tropismo por locais específicos do organismo, sendo, portanto, considerados agentes nosológicos distintos (LAISON; SHAW, 1987). Assim, a doença pode se apresentar de duas

formas: a tegumentar, que envolve a pele, mucosas ou ambas e a visceral, caracterizada por acometimento dos órgãos internos. Esta última, também chamada de calazar, é considerada a mais grave, caracterizada por episódios de febre, inchaço de baço e fígado, perda de peso e anemia causada por acometimento de medula óssea (WHO, 2014a; CDC, 2014). No Brasil a espécie causadora do calazar é a *Leishmania chagasi* também conhecida como *Leishmania infantum chagasi*, tendo como principal vetor o inseto *Lutzomya longipalpis* (Diptera: *Psychodidae*) (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006; BRASIL, 2013; SCHWANKE et al., 2014).

Quando há o acometimento da pele a leishmaniose é conhecida como leishmaniose tegumentar, que inclui a forma muco-cutânea, caracterizada por destruição parcial ou total das membranas mucosas do nariz; e a forma cutânea, em que se observa o aparecimento de úlceras com fundo granuloso e bordas elevadas (ARRUDA, 2010; WHO, 2014a). A forma difusa, chamada de leishmaniose cutânea difusa (LCD), consiste em uma forma grave e rara da doença, caracterizada por lesões crônicas e difusas pelo corpo, com aspecto semelhante às lesões lepromatosas (BASANO; CAMARGO, 2004; BRASIL, 2010b; WHO, 2014a).

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) estimam-se o surgimento de 500 mil a um milhão de novos casos de leishmaniose tegumentar por ano no mundo, sendo somente 19% a 37% deles notificados às autoridades de saúde (ÁFRICA, 2014).

1.2 Leishmaniose tegumentar

Também conhecida como úlcera de Bauru, nariz de tapir ou botão do Oriente, a leishmaniose tegumentar inclui a forma cutânea e muco-cutânea. É causada por parasitos intracelulares, digenéticos, da ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidae*, gênero *Leishmania*. A transmissão ocorre através da picada da fêmea do inseto de várias espécies de flebótomos (ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003; BRASIL, 2006; NEGRÃO; FERREIRA, 2014).

Os primeiros registros mundiais de casos da doença surgiram antes do séc. I d.C. No continente americano, os primeiros relatos são de 400 a 900 d. C, encontrados em cerâmicas pré-colombianas retratadas com mutilações em lábios e nariz. As imagens conhecidas como *huacos*, eram figuras que retratavam estados patológicos humanos da época, produzidos por

ceramistas no Peru, Colômbia e Equador (figura 1) (ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003; BASANO; CAMARGO, 2004).

Figura 1- Huaco pré-colombiano com lesões no nariz e lábios sugestivas de leishmaniose tegumentar.



Fonte: Extraído de ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003.

No Brasil, a primeira descrição da doença surge com Frei Dom Hipólito Sanches de Fayas y Quiros (1827) em seus registros de viagem, conforme citado por Altamirano-Enciso et al. (2003):

[...]... de los mosquitos y otras muchas especies de moscardones y de sus **picaduras** o mordeduras de estos, salen las llagas asquerosas y muchas de una consecuencia fatal. Es común en todas estas tierras a la par de su fertilidad y húmedades: la lepra y el quedar-se sin narices; si no se vive con precaución los mosquitos y demás insectos, son (si no se tiene cuidado) un poderoso fomento de **llagas profundas y fétidas en piernas y brazos, hedor de boca e gallico** etc. (ALTAMIRANO-ENCISO et al., 2003; grifo nosso).

Em 1805, Breda evidenciou lesões em italianos oriundos de São Paulo, mas somente em 1909 Lindenberg confirmou a natureza das lesões ao encontrar formas idênticas às já descobertas por Wright (1903) em trabalhadores do interior de São Paulo com lesões na pele (BASANO; CAMARGO, 2004).

A doença era considerada uma zoonose, no entanto, com a invasão do homem no habitat do inseto, através do crescimento das cidades, o homem deixou de ser hospedeiro acidental tornando a doença uma antroponose (BRASIL, 2013). Atualmente, as leishmanioses estão associadas às populações de baixo poder aquisitivo, má nutrição,

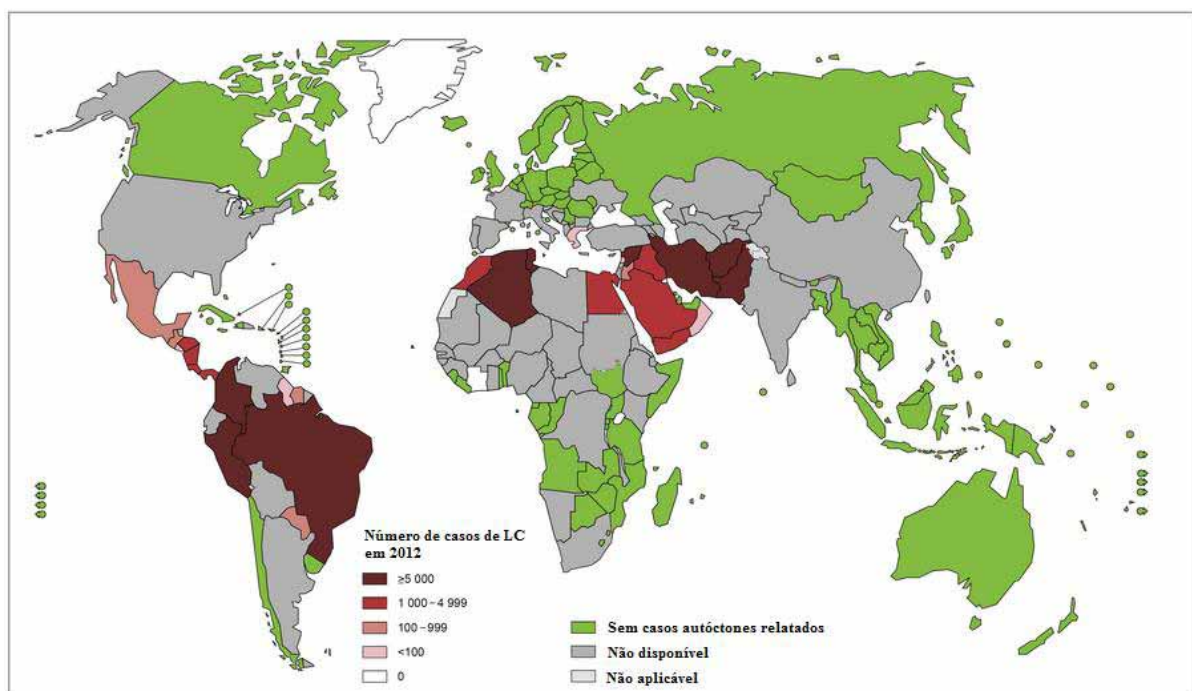
deslocamento populacional e desmatamento (WHO, 2014b; CDC, 2014).

1.2.1 Epidemiologia e prevalência

A leishmaniose tegumentar possui ampla distribuição mundial (figura 2), a prevalência exata ainda é desconhecida, mas segundo a OMS (2014), estima-se o surgimento de 500 mil a um milhão de novos casos por ano, sendo somente 19% a 37% deles notificados às autoridades de saúde. Nos Estados Unidos o padrão de distribuição da doença reflete as viagens e a imigração, os destinos turísticos e os militares infectados no Iraque e Afeganistão (ÁFRICA, 2013; CDC, 2014; WHO, 2014).

No continente americano a leishmaniose cutânea, também conhecida por leishmaniose tegumentar americana (LTA), está relacionada às espécies do subgênero *Leishmania* e *Viannia*, sendo 90% dos casos causados pelo segundo subgênero e da espécie *L. (V.) braziliensis* (DEN BOER et al., 2011).

Figura 2- Distribuição mundial da leishmaniose cutânea no ano de 2012.



Fonte: Adaptado de <http://gamapserver.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx>, acesso em 26 out. 2014.

No Brasil, a prevalência é difícil de ser avaliada, devido à falta de registros oficiais

que ocorrem na maioria dos casos, às diversidades de espécies causadoras e aos diagnósticos incorretos (LAISON; SHAW, 1978; LAISON, 1981, BRASIL, 2006). Mesmo assim, estima-se que o Brasil está entre os dez países mais acometidos pela leishmaniose tegumentar (DEN BOER et al., 2011; ALVAR; VELÉZ, 2012). Segundo dados do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), em 2005 registraram-se mais de 26 mil novos casos de leishmaniose tegumentar no Brasil.

A maior incidência da leishmaniose tegumentar é nas regiões centro-oeste, sudeste, norte e nordeste (Figura 3), sendo as espécies *Leishmania (Viannia) braziliensis* e *Leishmania (Leishmania) amazonensis* as mais amplamente distribuídas (GRIMALDI et al., 1987; DORVAL et al., 2006).

Figura 3 - Distribuição dos casos de leishmaniose tegumentar no Brasil no ano de 2004.



Fonte: Ministério da Saúde. BRASIL, 2010b.

1.2.2 Transmissão e ciclo evolutivo

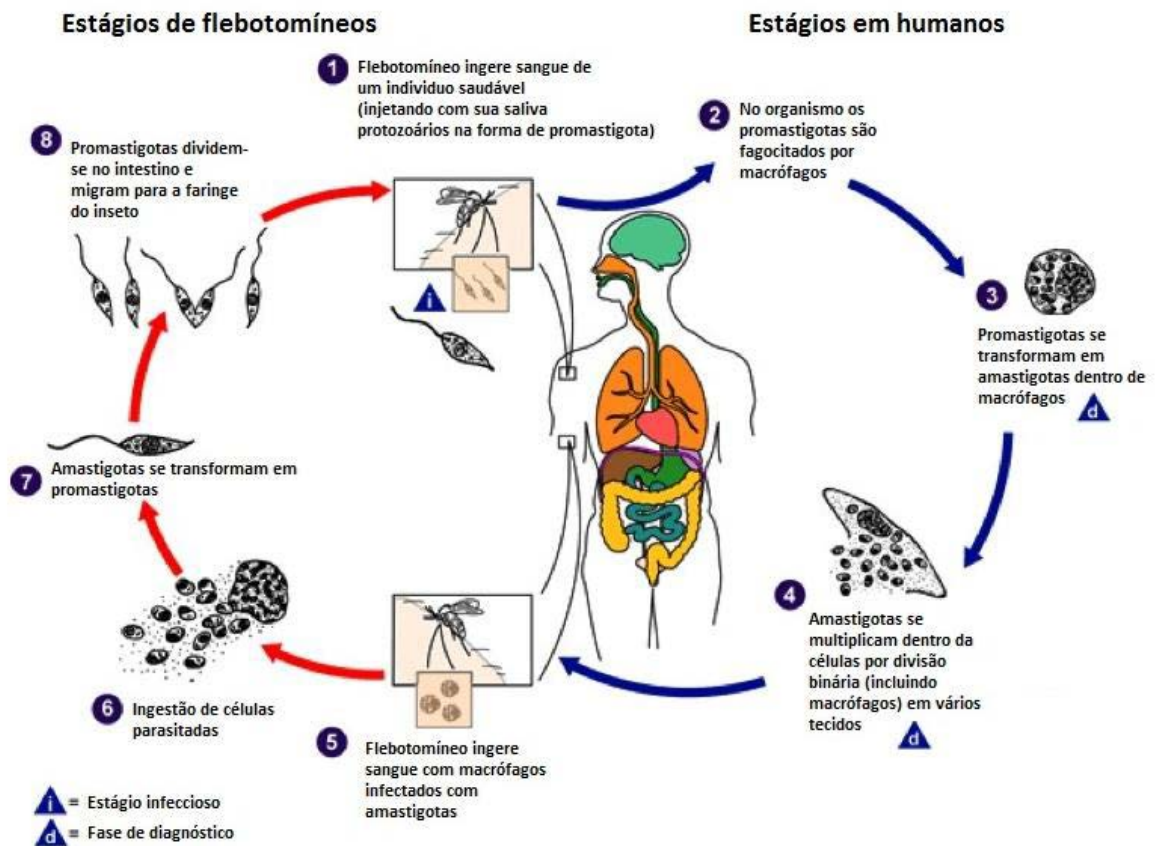
O agente etiológico da leishmaniose é um parasito pertencente a uma das 20 espécies do gênero *Leishmania* e da família *Trypanosomatidae*. As espécies *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) amazonensis* estão associadas à doença humana (REITHINGER et al., 2007; ANTINORI et al., 2012; DA-CRUZ; PIRMEZ, 2012; STOCKDALE; NEWTON, 2013; WHO, 2014b).

A transmissão ocorre através da picada da fêmea do inseto contaminado, durante o

repasto sanguíneo, no entanto, a transmissão congênita tem sido relatada (ARRUDA, 2010; CDC, 2014).

O inseto vetor, também conhecido como mosquito palha, birigui ou tatuquira, é da ordem *Diptera*, família *Psychodidae*, subfamília *Phlebotominae*, e pertence a dois gêneros *Lutzomyia* (Europa, África, Oriente Médio, Ásia Central e Subcontinente indiano) ou *Phlebotomo* (América do Sul e América Central). De coloração palha, mede cerca de dois a três milímetros, aproximadamente um terço do tamanho dos mosquitos típicos, podendo ser menor (ARRUDA, 2010; BRASIL, 2010b; SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DO DISTRITO FEDERAL, 2013; CDC, 2014; WHO, 2014b).

O repasto sanguíneo ocorre preferencialmente no período noturno. O ciclo de transmissão pode ser observado na Figura 4, e inicia quando o vetor se contamina com as formas amastigotas do parasito, que estão internalizadas em macrófagos (BRASIL, 2013; WHO, 2014b; CDC, 2014). No trato digestivo anterior, os macrófagos se rompem, liberando as formas amastigotas, que sofrem diferenciação em promastigotas e se multiplicam. Em seguida, ocorre transformação em paramastigotas, as quais se depositam no esôfago e faringe do inseto através do flagelo. Ocorre a metaciclogênese, transformação em promastigotas metacíclicos, que são as formas infectantes do parasito a serem inoculadas em um novo hospedeiro durante o repasto sanguíneo (ARRUDA, 2010; BRASIL, 2010b; BRASIL, 2013; CDC, 2014; WHO, 2014b). O ciclo no inseto vetor dura aproximadamente 72 horas (BRASIL, 2013).

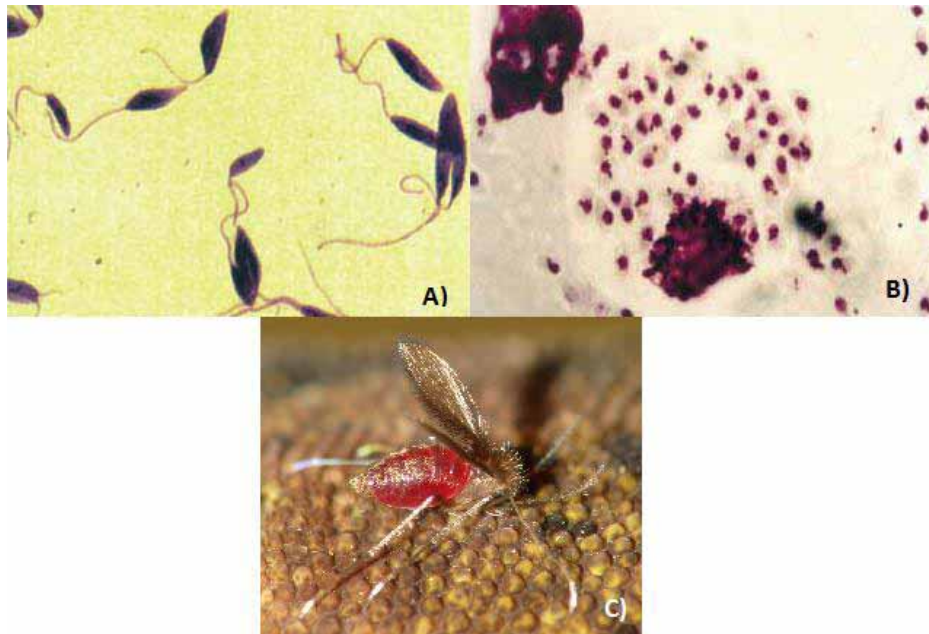
Figura 4- Ciclo de transmissão da leishmaniose.

Fonte: Extraído de CDC, 2014.

O vetor, ao picar um novo indivíduo, libera junto com a saliva as formas promastigotas metacíclicas, que serão fagocitadas por células do sistema monocítico fagocitário, mais comumente macrófagos, onde sofrem nova transformação em amastigotas e multiplicam-se, provocando o rompimento da célula hospedeira e disseminando a infecção (ARRUDA, 2010; BRASIL, 2013; WHO, 2014b; CDC, 2014).

Na figura 5 é possível observar as formas promastigotas, amastigotas e a fêmea do inseto vetor ingurgitada.

Figura 5 – Formas do parasito: (A) promastigota, (B) amastigota; (C) fêmea do inseto vetor ingurgitada.



Fonte: Extraído de BRASIL, 2010 e WHO, 2014, disponível em:

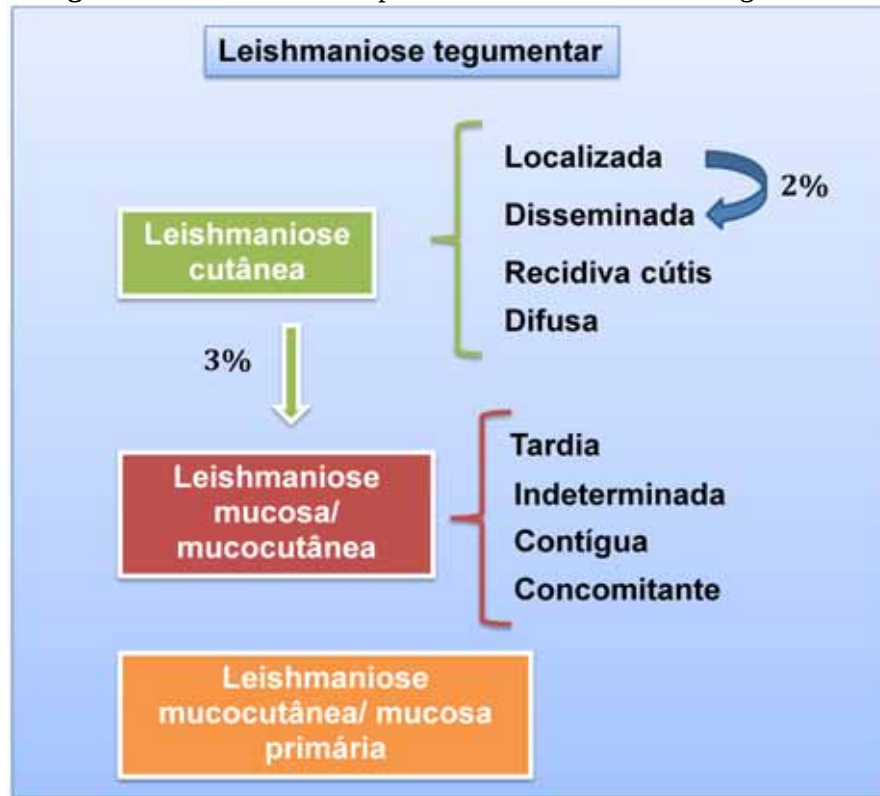
<http://www.who.int/leishmaniasis/vector/en/>, acesso em 14 out. 2014.

Os hospedeiros naturais da *Leishmania* spp são mamíferos silvestres como preguiça e tamanduá e aqueles que vivem próximos ao homem, como gambá, raposas e roedores silvestres de modo geral. No meio urbano, o cão é o principal hospedeiro reservatório (SES–DF, 2013; BRASIL, 2013).

1.2.3 Manifestações clínicas

De modo geral, as manifestações clínicas da leishmaniose tegumentar são caracterizadas por lesões nas partes expostas do corpo, principalmente face, braços e pernas (ARRUDA, 2010; WHO, 2014b; SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA, 2014). No entanto, existem duas formas características de lesão tecidual, a forma cutânea e a forma muco-cutânea. De acordo com o tecido acometido, a doença se expressa em maior ou menor gravidade.

A figura 6 esquematiza os tipos de manifestações clínicas para cada forma da leishmaniose tegumentar.

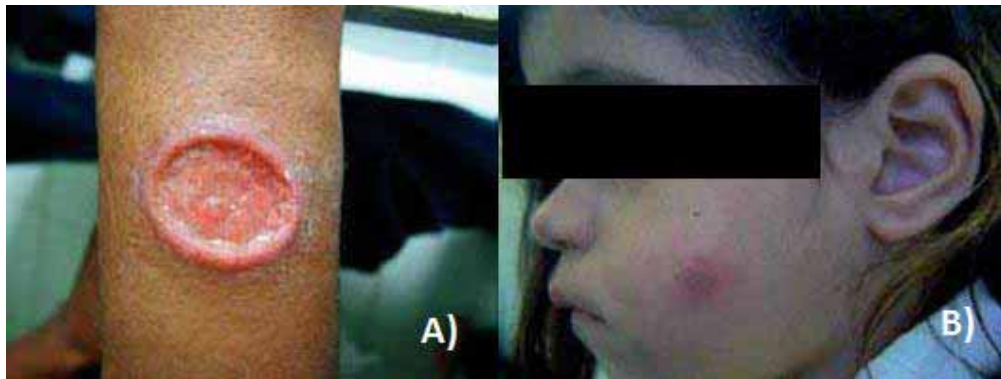
Figura 6 - Formas clínicas apresentadas na leishmaniose tegumentar.

Fonte: próprio autor.

A leishmaniose cutânea é considerada a menos grave, os sinais iniciam com pápulas ou nódulos, progredindo para úlceras granuladas de bordas elevadas que podem ser cobertas por crostas. Alguns pacientes são assintomáticos (CDC, 2014). Geralmente as úlceras são indolores, mas pode haver dor no local ou nos gânglios linfáticos próximos às lesões (WHO, 2014b).

A forma cutânea subdivide-se em localizada, disseminada, recidiva cútis e difusa. A forma cutânea localizada é caracterizada por lesões ulceradas localizadas ou múltiplas (até 20 lesões), normalmente no local onde ocorreu a picada do inseto (figura 7), o paciente pode apresentar dor nos linfonodos próximos e vasos linfáticos ascendentes. O agente causador mais comum é a *Leishmania amazonensis*. As lesões tendem a curar em alguns meses e, embora respondam bem ao tratamento, deixam cicatrizes ao longo da vida (ARRUDA, 2010; BRASIL 2006, BRASIL, 2010b; SBI, 2014; WHO, 2014b).

Figura 7 - (A) Lesão ulcerada típica da forma localizada, (B) lesão inicial antes de ocorrer ulceração.



Fonte: Extraído de BRASIL, 2010b.

A forma cutânea disseminada representa um tipo de evolução rara da forma cutânea (2% dos casos), que ocorre através da disseminação hematogênica do parasito. As espécies identificadas como causadoras são *Leishmania (V.) braziliensis* e a *Leishmania (L.) amazonensis*. As lesões são múltiplas e papulares (figura 8), semelhantes às causadas por acne e surgem em diversas partes do corpo, especialmente face e tronco. Alguns pacientes apresentam manifestações sistêmicas como febre, mal-estar, dores musculares, emagrecimento e anorexia. É comum em pacientes portadores do vírus HIV, podendo ocorrer o acometimento das mucosas, entretanto respondem bem ao tratamento (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b).

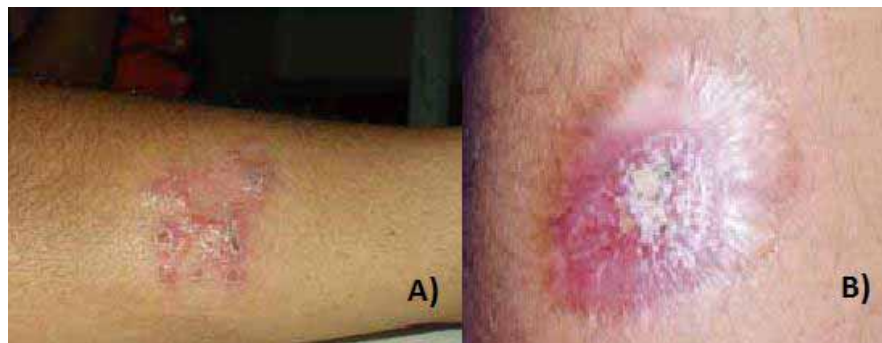
Figura 8 - Lesões características de leishmaniose cutânea disseminada.



Fonte: Extraído de BRASIL, 2006 e 2010b.

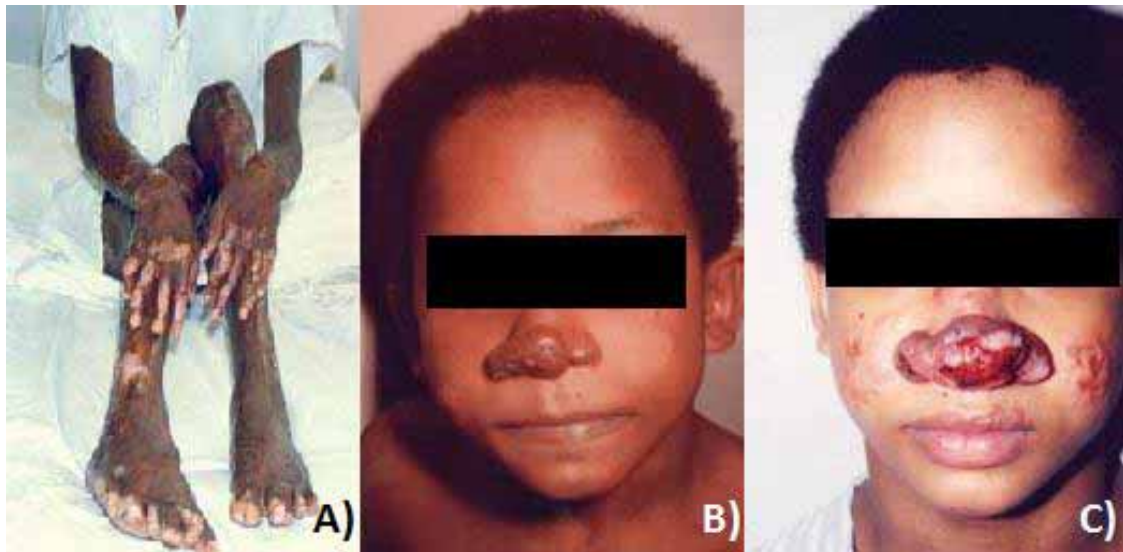
A forma recidiva cútis é caracterizada por evolução da úlcera com cicatrização espontânea ou medicamentosa com posterior reativação na borda da lesão, a qual pode apresentar-se com borda elevada e outras lesões satélites (figura 9 - A). A figura 9 - B demonstra lesão causada pela forma recidiva cútis tratada com antimonial pentavalente. De modo geral, essas lesões praticamente não respondem à terapia medicamentosa (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b).

Figura 9 - Lesões características de leishmaniose recidiva cútis.



Fonte: Extraído de BRASIL, 2006 e 2010b.

Apesar de rara, a forma difusa é a mais grave lesão causada pela leishmaniose cutânea. Ocorre devido à deficiência específica na resposta imune celular contra antígenos do parasito e é caracterizada por lesão única, progressão lenta que evolui para formação de placas e nodulações não ulceradas, mas verrucosas, que recobrem grande parte da pele. Essa forma apresenta má resposta terapêutica, conforme se pode comprovar através da figura 10 (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b). A figura 10 - A mostra lesões em placa infiltrada com formação de úlceras, tubérculos, nódulos e deformação de extremidades, paciente há 11 anos com a doença. A figura 10 - B mostra paciente com lesão aos seis anos de idade, causada por leishmaniose adquirida desde o primeiro ano de vida, e a figura 10 - C mostra o mesmo paciente, com lesão aos sete anos de idade, sem resposta a diversos tratamentos (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b).

Figura 10 - Leishmaniose na forma cutânea difusa.

Fonte: Extraído de BRASIL, 2006 e 2010b.

A leishmaniose muco-cutânea ou mucosa é considerada um agravamento da forma cutânea através da disseminação hematogênica do parasito para as mucosas, representa 3% dos casos da forma cutânea e geralmente ocorre quando a lesão ulcerosa inicial progride para cura espontânea (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b). No entanto, pode ocorrer de maneira independente, através da picada direta do inseto transmissor na região mucosa, chamada de leishmaniose mucosa primária.

De forma geral, o início é insidioso e praticamente sem sintomatologia, mas com o tempo, verificam-se lesões destrutivas na mucosa das vias aéreas superiores, causando lesões ulcerosas e perfurantes ou vegetantes e necróticas do septo cartilaginoso, cornetos nasais, palato mole e duro, queda da pirâmide nasal, úvula, faringe e laringe (PESSÔA; BARRETO, 1948; MARSDEN, 1986; BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b). Em casos mais graves há comprometimento da estrutura óssea, podendo levar a problemas de deglutição, fonação, respiração, além dos prejuízos estéticos faciais do paciente. A cronicidade e complicações respiratórias podem levar o paciente à morte (PESSÔA; BARRETO, 1948; MARSDEN, 1986).

A leishmaniose mucosa pode se apresentar de diversas formas, tardia, indeterminada, concomitante, contígua e primária, já discutida anteriormente (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b).

A mucosa tardia é caracterizada pelo aparecimento de lesão mucosa tempo depois da forma cutânea, conforme se observa na figura 11. Em A, o paciente apresenta-se com destruição de septo nasal e em B outro paciente com a forma tardia causada por *L. amazonensis*, destruição parcial do nariz e septo que evoluiu para órbito devido à broncopneumonia aspirativa (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b).

A leishmaniose concomitante, caracterizada pelo aparecimento de lesão mucosa e cutânea. A forma indeterminada é caracterizada por ausência de identificação da forma cutânea inicial, enquanto a contígua é caracterizada por expansão local da lesão cutânea que se torna também lesão mucosa (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b).

Figura 11 - Leishmaniose tegumentar muco-cutânea tardia.



Fonte: Extraído de BRASIL, 2006 e 2010b.

A forma mucosa de origem indeterminada é caracterizada por lesão mucosa sem identificação de lesão cutânea prévia. Geralmente, estão associadas às lesões subclínicas ou de evolução rápida e que não deixaram cicatrizes aparentes (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b).

Figura 12 - Paciente com leishmaniose mucosa concomitante. A) lesão mucosa infiltrativa na base da pirâmide nasal, B) lesão cutânea com placas verrucosas nos cotovelos.



Fonte: Extraído de BRASIL, 2006.

Por outro lado, quando as lesões são simultâneas, mas em locais próximos, é caracterizada como leishmaniose mucosa contígua. Essa forma é observada em pacientes em que houve disseminação direta da lesão local cutânea para a mucosa próxima (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b).

A interação entre o sistema imune do paciente e o parasito é um fator determinante para o estabelecimento da doença e o tipo de manifestação clínica. Sistemas imunes hiper-reativos ocasionam lesões destrutivas, caracterizadas por infiltrado celular com necrose tecidual, sendo encontrados nos casos de leishmaniose muco-cutânea. Por outro lado, a hiporesponsividade imune leva a lesões nodulares e demonstra a fragilidade da resposta imune celular em controlar a infecção, nesses casos a resposta ao tratamento é ruim (BRASIL, 2006; SILVEIRA et al., 2008). A forma cutânea é considerada como pertencente ao entremeio da anergia e hiper-responsividade imunológica (BRASIL, 2006).

1.2.4 Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico inicial é realizado com base nos dados epidemiológicos e clínicos, e confirmado através dos testes parasitológicos e determinação da espécie por eletroforese de

isoenzimas (ÁFRICA, 2014).

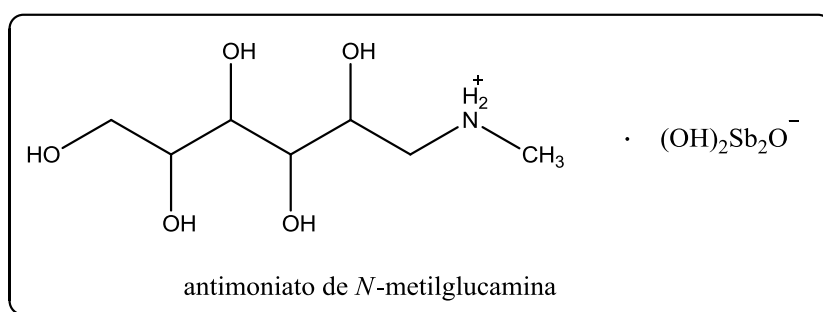
Nos testes parasitológicos é feita a pesquisa das formas amastigotas em tecido da lesão, por meio de inoculação em animais (isolamento *in vivo*) ou isolamento em meios artificiais (isolamento *in vitro* das formas promastigotas) (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b; ÁFRICA, 2014).

Existem, ainda, outros ensaios laboratoriais, como testes histopatológicos, ensaios imunológicos, como a intradermoreação de Montenegro (IDRM), ensaio imunoenzimático (ELISA) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI); ou moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b).

Quanto à quimioterapia disponível, esta é dependente da espécie do parasito envolvido, devido à sensibilidade intrínseca de cada um deles, o que faz com que cada novo tratamento ou combinação terapêutica tenha que ser reavaliados de acordo com cada área endêmica (CROFT; OLLIARO, 2011; DORLO et al., 2012). No Brasil existem três fármacos disponíveis para o tratamento, sendo o antimoníato de *N*-metilglucamina considerado o fármaco de primeira escolha e a anfotericina B e a pentamidina fármacos de segunda escolha (ROMERO et al., 2001; ARRUDA, 2010; SESAB, 2014).

O antimoníato de *N*-metilglucamina (figura 13) pertence à classe dos antimoniais pentavalentes (Sb^{+5}), de apresentação injetável podendo ser aplicado por via intramuscular ou endovenosa (ROMERO et al., 2001; ARRUDA, 2010; SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DA BAHIA, 2014; ÁFRICA, 2014). O estibogluconato de sódio também pertence à classe dos antimoniais pentavalentes e não está disponível no Brasil, embora seja padronizado pela OMS (BRASIL, 2010b).

Figura 13 - Estrutura química do antimoníato de *N*-metilglucamina.



Fonte: próprio autor.

Para o antimoniato de *N*-metilglucamina a dose recomendada é em mg/kg de peso/dia, através de administração parenteral e diária. Para as lesões cutâneas, o esquema de tratamento é de 15 mg/Kg/dia por um período de 20 dias; para a forma cutânea difusa o tratamento é de 20 mg/Kg/dia por um período de 20 dias; e para forma mucosa 20 mg/Kg/dia por 30 dias. As aplicações injetáveis causam intensa dor e enrijecimento local (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010b; MÉDICOS SEM FRONTEIRAS, 2014; SESAB, 2014).

Com relação ao mecanismo de ação desses fármacos, existem três modelos propostos, no entanto, não há consenso entre qual deles é o verdadeiro. O primeiro considera que os antimoniais atuam como pró-fármacos, sendo metabolizados dentro dos macrófagos e convertidos em antimoniais trivalentes (Sb^{+3}), tornando-se tóxicos para o parasito e também para o homem (FREZARD et al., 2000; HALDAR et al., 2011). Outro mecanismo sugerido está relacionado à atividade intrínseca do fármaco, atuando como leishmanicida direto, inibindo a glicólise e oxidação de ácidos graxos, alterando processos vitais por redução de ATP e GTP do parasito (BRASIL, 2010b; HALDAR et al., 2011; BRASIL, 2013). Por fim, o terceiro mecanismo envolve a ativação do fármaco pelo sistema imune do hospedeiro, que poderia ocorrer via imunidade inata ou adaptativa e que além de promover a cura contribuiria para a redução de chances de recidivas através da estimulação do sistema imunológico do hospedeiro (HALDAR et al., 2011).

Os antimoniais causam diversos efeitos adversos, dentre eles náuseas, vômitos, mialgia, cefaleia, aumento da diurese e em casos mais graves, elevada toxicidade hepática, pancreática, renal e cardíaca (ROMERO et al., 2001; BRASIL, 2006; ARRUDA, 2010; BRASIL, 2010b; BRASIL, 2013; MSF, 2014).

Em áreas endêmicas pode haver casos de resistência à terapia, sendo necessária a repetição do esquema de tratamento ou substituição pela linha terapêutica de segunda escolha (ROMERO, 2001; ARRUDA, 2010; BRASIL, 2010b; SES-DF, 2013; MSF, 2014). A associação com outros fármacos é comum, objetivando a redução dos casos de resistência (WHO, 2014b).

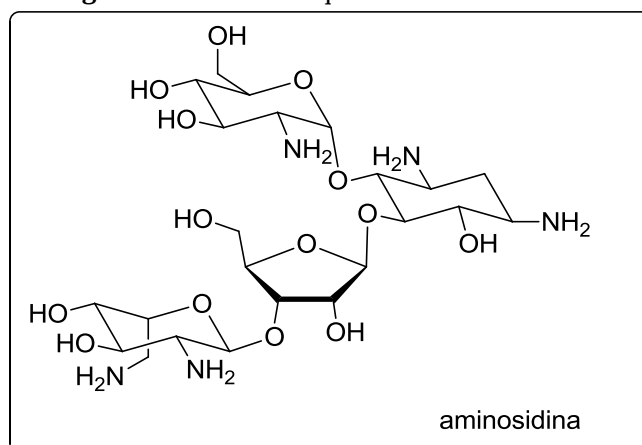
No tratamento da forma difusa, associa-se a classe com interferon- γ , a fim de auxiliar na resposta imune (BRASIL, 2006). Além disso, os antimoniais podem ser associados com alopurinol, pois o fármaco é substrato para várias enzimas da síntese das purinas, com isso, incorpora-se aos ácidos nucleicos do parasito. No entanto, seu uso isolado é ineficaz tanto

para leishmaniose cutânea quanto visceral, que pode ser explicado pela inibição da enzima xantina oxidase e consequentemente, da produção de radicais livres, importantes no processo de eliminação do parasito (KAGER et al., 1981; MOMENI, 2002; BRASIL, 2006; LOISEAU; BORIS, 2006; LIMA et al., 2007).

O sulfato de aminosidina (figura 14) ou paromomicina, um antibiótico aminoglicosídeo, também é utilizado em associação com os antimoniais. No entanto, o uso em associação no tratamento da forma cutânea é controverso, pois alguns autores indicam que devido à baixa eficácia ou até mesmo a falta de informações de estudos científicos mais aprofundados não se aconselha o uso em rotina (FALQUETO; SESSA, 2005; FERREIRA et al., 2012). Na Índia, o fármaco associado, com a miltefosina e anfotericina B lipossomal, está em fase clínica III no tratamento da forma visceral da doença (HALDAR et al., 2011; DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INITIATIVE, 2015).

O mecanismo de ação da aminosidina está relacionado à redução da fluidez da membrana do parasito, através da inibição da síntese proteica e alteração da permeabilidade seletiva. Porém, também pode causar efeitos adversos como nefrotoxicidade, ototoxicidade, além de ocasionar dor no local da aplicação (HALDAR et al., 2011).

Figura 14 - Estrutura química da aminosidina.

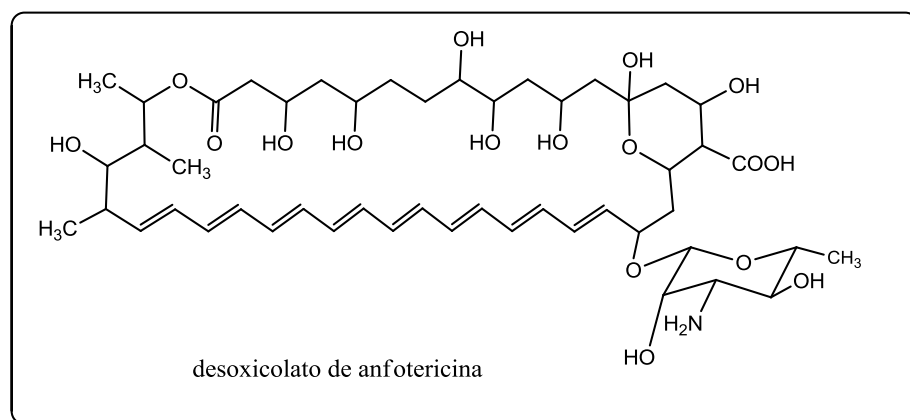


Fonte: próprio autor.

A anfotericina B (desoxicolato de anfotericina, figura 15) é o segundo fármaco de escolha, isolado da bactéria *Streptomyces nodosus*, possui ação leishmanicida, sendo indicada em casos de falha da terapia de primeira escolha ou impossibilidade de uso do antimonial, em

pacientes com nefropatia e gestantes (BRASIL, 2006; SEIFERT, 2011). Além disso, é indicado em casos de leishmaniose cutânea com lesão acentuada de mucosa, apresentando boa resposta terapêutica (BERN et al., 2006; BRASIL, 2006). Sua apresentação é injetável, sendo administrada em três aplicações semanais, na dose máxima de 1mg/kg/dia (BRASIL, 2006).

Figura 15 - Estrutura química da anfotericina B.



Fonte: próprio autor.

O mecanismo de ação da anfotericina B está baseado na interferência nos ésteres da membrana citoplasmática da leishmania (BRASIL, 2010b). O fármaco possui afinidade pelo episterol, precursor do ergosterol, componente da membrana do parasito, promovendo a ligação entre a porção hidrofóbica do fármaco com o episterol, formando agregados transmembrana que formam canais. Estes provocam a despolarização, permitindo a entrada de cátions e prótons monovalentes (BERN et al., 2006; LANIADO-LABORÍN; CABRALES-VARGAS, 2009). Além disso, os grupos hidroxila, carboxila e amina presentes na estrutura do fármaco estabilizam o canal aberto, provocando extravasamento do conteúdo intracelular e levando à morte do parasito (LANIADO-LABORÍN; CABRALES-VARGAS, 2009).

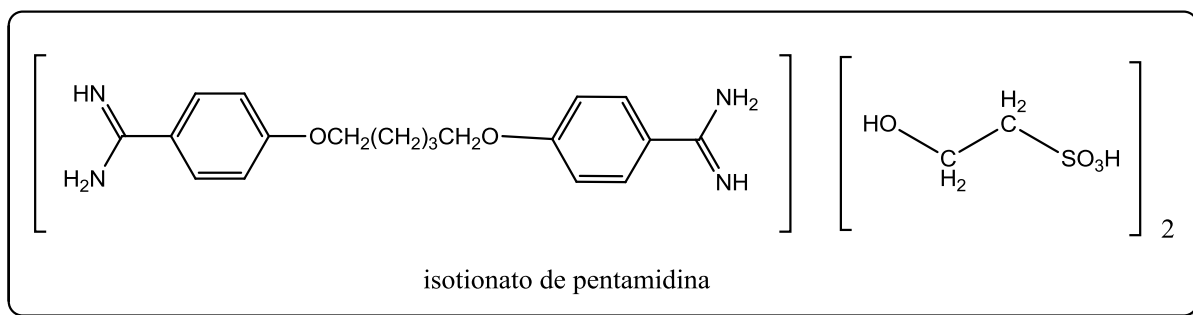
A afinidade da anfotericina B pelos esteróis não é seletiva, o fármaco é capaz de interagir com o colesterol presente nas membranas celulares humanas, e embora essa afinidade seja menor em comparação com o episterol, contribui para os efeitos tóxicos apresentados pelo fármaco (LANIADO-LABORÍN; CABRALES-VARGAS, 2009). Os principais efeitos adversos relatados com o uso da anfotericina B incluem náuseas, calafrios, vômito, febre, hipotensão ou hipertensão, hipóxia, nefrotoxicidade e tromboflebite

(HUSSAIN et al., 2001; LANIADO-LABORÍN; CABRALES-VARGAS, 2009; HALDAR et al., 2011).

A formulação lipossomal da anfotericina B é mais potente que o desoxicolato de anfotericina devido à elevada permeabilidade, que proporciona elevação dos níveis plasmáticos do fármaco (BRASIL, 2006; ARRUDA, 2010; BRASIL, 2010b). Além disso, apresenta preferencial sensibilidade a macrófagos infectados pela leishmania (BERN et al., 2006). No Brasil o fármaco é indicado somente para uso em leishmaniose visceral, sendo considerada uma alternativa *off label* (fármaco prescrito para uma nova indicação não usual) no tratamento da leishmaniose tegumentar (BRASIL, 2010b).

Outra opção de tratamento são as pentamidinas, diamidinas aromáticas utilizadas como fármacos de segunda escolha na terapia, o uso pode ser isolado ou associado com os antimoniais pentavalentes (BRASIL, 2010b). Os ativos são o isotionato (figura 16) ou o mesilato de pentamidina, de aplicação injetável, via intramuscular ou endovenosa, quatro miligramas por quilograma por dia até completar, no máximo, dois gramas, de dois em dois dias. No Brasil, somente o isotionato é disponibilizado para uso, que é feito por via intramuscular profunda (COELHO et al., 2007; BRASIL, 2010b).

Figura 16 - Estrutura química do isotionato de pentamidina



Fonte: próprio autor.

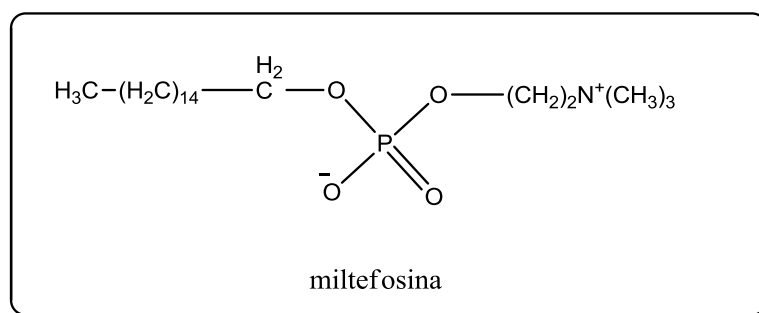
O mecanismo de ação dessa classe de substâncias ainda permanece incerto, no entanto, parece estar relacionado às mitocôndrias, possivelmente causando colapso na membrana mitocondrial (HASSAN et al., 2014). Apresentam toxicidade renal, hepática e cardíaca e doses superiores a um grama podem induzir o surgimento de diabetes insulino-dependente, por provocar a destruição das células β do pâncreas (ASSAN et al., 1995; BRASIL, 2006;

BRASIL, 2010b; GENEBRA, 2010; HASSAN et al., 2014). Além disso, tendem a causar dor ou enrijecimento no local da aplicação, abscessos, náuseas, vômitos, tontura, adinamia, mialgias, cefaleia, hipotensão, lipotimias e síncope (BRASIL, 2010b).

O Sistema Único de Saúde (SUS) oferece tratamento específico e gratuito para a leishmaniose tegumentar, sendo realizado inicialmente com antimonial pentavalente, repouso e boa alimentação (BRASIL, 2006; ARRUDA, 2010). O critério de cura é clínico, mas os pacientes devem ser acompanhados até 12 meses após o fim do tratamento, com reavaliação após 24 meses, a fim de evitar recidivas (BRASIL, 2006). A leishmaniose é uma doença de notificação compulsória no País, por isso a confirmação de doença deve ser comunicada ao Sistema de Informação e Agravos de Notificação (Sinan) (BRASIL, 2006).

A miltefosina (figura 17) é o único tratamento oral para leishmaniose tegumentar. Usualmente empregado no tratamento do câncer, é utilizada na Colômbia e Bolívia, como fármaco de segunda escolha no tratamento da leishmaniose tegumentar e na Índia, Bangladesh, Nepal e Alemanha no tratamento da forma visceral da doença (SOTO; SOTO, 2006; CROFT; OLLIARO, 2011; DORLO et al., 2012). Esse fármaco provoca sérios efeitos colaterais, principalmente gastrointestinais como anorexia, vômito e diarreia, além de causar hemólise e elevação das transaminases hepáticas e creatinina (GENEBRA, 2010; HALDAR et al., 2011; MOREIRA, 2013). Em alguns casos, os efeitos colaterais são tão graves que impedem a continuidade do tratamento (GENEBRA, 2010). Outra barreira para o uso é o tempo de meia vida elevado (150 horas), o que proporciona acúmulo do fármaco, maior chance de resistência do parasito e o potencial teratogênico (HALDAR et al., 2011). Seu mecanismo de ação ainda permanece desconhecido (HALDAR et al., 2011).

Figura 17 - Estrutura química da miltefosina.



Fonte: próprio autor.

1.3 Pesquisa de novos fármacos

Por vezes, o desenvolvimento de novos fármacos leva a obtenção de uma substância protótipo ativa para determinada doença, mas que apresenta propriedades indesejadas ou alterações em sua biodisponibilidade, metabolismo e excreção. O bioisosterismo consiste em uma técnica de modificação molecular que visa à obtenção de compostos protótipos seguros e mais efetivos (PATANI; LA VOIE, 1996; LIMA; BARREIRO, 2005; GAIKWAD et al., 2012).

Os bioisósteros são grupos ou substituintes com propriedades físico-químicas semelhantes que produzem compostos químicos com propriedades biológicas amplas e similares (GAIKWAD et al., 2012). Essas modificações podem alterar diversas propriedades do composto final, como pK_a , solubilidade, polarizabilidade e tamanho, alterando também o modo de ligação com o receptor (GAIKWAD et al., 2012). Dessa forma, o objetivo maior da modificação bioisostérica é a busca de novos análogos com atividades semelhantes, mais seguros e efetivos (PATANI; LAVOIE, 1996; LIMA; BARREIRO, 2005; CIAPETTI; GIETHLEN, 2008; SETHY et al., 2013).

O conceito de isosterismo surgiu em 1919, com o pesquisador Langmuir, que estudava o comportamento químico e a reatividade de determinadas substâncias que tinham átomos com o mesmo número de elétrons de valência, chamados de isoeletrônicos (PATANI; LA VOIE, 1996; SETHY et al., 2013). Mais tarde, houve uma ampliação do conceito de isosterismo com a regra do hidreto de Grimm (1925), que estabelecia que a adição de um átomo de hidrogênio com um par de elétrons (hidreto) a um átomo gerava um pseudo-átomo, que apresentava as mesmas propriedades físicas dos substituintes de sua coluna posterior (PATANI; LA VOIE, 1996; LIMA; BARREIRO, 2005; SETHY et al., 2013). Na figura 18 é possível observar a regra do hidreto de Grimm, onde cada coluna representa um grupo de isósteros.

Figura 18 - Regra do hidreto de Grimm

Total de elétrons	6 e ⁻	7 e ⁻	8 e ⁻	9 e ⁻	10 e ⁻	11 e ⁻
	C	N	O	F	Ne	NeH ⁺
		CH	NH	OH	FH	FH ₂ ⁺
			CH ₂	NH ₂	OH ₂	OH ₃ ⁺
				CH ₃	NH ₃	NH ₄ ⁺
					CH ₄	

C + H = pseudoátomo do N

Fonte: Adaptado de BARREIRO; FRAGA, 2008.

Somente em 1951 surgiu o conceito de bioisosterismo, definido por Friedman para descrever como bioisósteros todos átomos ou moléculas isostéricas que apresentavam propriedades biológicas semelhantes ou até mesmo antagônicas (PATANI; LA VOIE, 1996). Em 1970, Alfred Burguer complementou esse conceito, postulando que os bioisósteros deviam possuir atividades biológicas semelhantes ou iguais, e que o mesmo deveria ocorrer em relação à sua forma, volume atômico, distribuição eletrônica e propriedades físicas. Além disso, e mais importante, o bioisósteros devia possuir ação no mesmo alvo terapêutico como agonista ou antagonista, apresentando, portanto, atividades relacionadas um com o outro (BURGER, 1991; PATANI; LA VOIE, 1996; GAIKWAD et al., 2012).

Burguer classificou o bioisosterismo em dois tipos: clássico, formado pelos bioisósteros com camadas de valência semelhantes (monovalentes, divalentes, trivalentes, tetravalentes) e o não-clássico, que inclui as demais mudanças, como retroisosterismo em que se faz a mudança da posição dos grupos funcionais, com possível alteração no modo de ligação com o receptor; substituições por grupos funcionais com propriedades estruturais equivalentes, subunidades estruturais com sítio de interação equivalentes com biorreceptores, introdução e abertura de anéis (tabela 1) (PATANI; LAVOIE, 1996; LIMA; BARREIRO, 2005; CIAPETTI; GIETHLEN, 2008; SETHY et al., 2013).

Tabela 1 - Bioisósteros clássicos e não-clássicos

Grupos e átomos bioisósteros clássicos						
Monovalentes		Divalentes		Trivalentes		Tetravalentes
-F, -OH, -NH ₂ ,		-CH ₂ -, -O-,		=CH-, =N-,		=C=, =Si=,
-CH ₃ , -OR, -Cl,		-S-, -Se-, -Te-		=P-, =As-, =Sb-		=N ⁺ =, =P ⁺ =,
-SH, -PH ₂ , -SiH ₃ ,						=As ⁺ =, =Sb ⁺ =
-SR, -Br, -I						
Bioisósteros não-clássicos						
-CO-	-COOH	-SO ₂ NH ₂	-H	-CONH-	-COOR-	-CONH ₂
-CO ₂ -	-SO ₃ H	-PO(OH)NH ₂	-F	-NHCO-	-ROCO-	-CSNH ₂
-SO-	Tetrazol		-OH		Catecol	
-SO ₂ NR-	-SO ₂ NHR		-CH ₂ OH		Benzimidazol	
-CH(CN)-						
R-S-R'						-C ₅ H ₄ N
(R-O-R')	=N-	-NHCONH ₂				-C ₄ H ₄ N
R-N(CN)-	-C(CN)=	-NH				
R'	-halogênio	-CS				
	-CF ₃	-NH ₂				
	-CN					

Fonte: Extraído de BARREIRO; FRAGA, 2001.

1.3.1 Alvos terapêuticos na pesquisa de fármacos contra a leishmaniose

O conhecimento de alvos que proporcionem ação potente e seletiva constitui fator de grande importância na pesquisa de novos fármacos, principalmente alvos não existentes nos organismos humanos, ou substancialmente diferentes do homólogo humano, sendo determinante para a sobrevivência do parasito. Para isso, o conhecimento sobre a bioquímica e ciclo do parasito é importante. Tratando-se de uma proteína, o conhecimento de sua estrutura conformacional, bem como as ligações químicas importantes com inibidor específico, permitem o planejamento de novas substâncias terapêuticas (CHAWLA; MADHUBALA, 2010).

A seguir encontram-se alguns alvos terapêuticos importantes que podem ser utilizados no desenvolvimento de novos compostos leishmanicidas.

1.3.1.1 Biossíntese de ergosterol

Tripanossomatídeos de modo geral, utilizam esteróis como o ergosterol na estrutura de suas membranas. Considerando que o ser humano não proporciona diversidade de esteróis livres para uso e que o colesterol humano (homólogo do ergosterol) não está presente no parasito, a síntese de ácidos graxos representa um alvo interessante na busca por novas alternativas terapêuticas (HUSSAIN et al., 2014). Enzimas como esqualeno sintase, que catalisa a primeira etapa da biossíntese, e a enzima metiltransferase que é exclusiva do parasito, são alvos de quinuclidinas e azasteróis, respectivamente (CHAWLA; MADHUBALA, 2010). A inibição das enzimas envolvidas na síntese de esteróis provoca acúmulo de precursores com potencial citotóxico ou citostático (ROBERTS et al., 2003).

1.3.1.2 Via glicolítica

A via glicolítica é outro alvo importante para os parasitos, a obtenção de energia ocorre através de diversas enzimas, como a hexoquinase e fosfofrutoquinase, que são compartimentadas em glicossomas. Isso, associado ao fato de existir grande diferença filogenética entre o parasito e o hospedeiro torna essas enzimas alvos promissores no tratamento da doença. No hospedeiro humano, as formas amastigotas obtêm energia a partir da glicose sanguínea ou da utilização de ácidos graxos do hospedeiro. Já a forma vetorial do parasito codifica a enzima amilase para obtenção de glicose a partir do néctar ingerido pelo inseto (BRINGAUD et al., 2006; CHAWLA; MADHUBALA, 2010).

1.3.1.3 Via do folato

O folato atua como cofator na síntese de DNA, RNA e no metabolismo de aminoácidos. Duas enzimas têm sido utilizadas como alvos terapêuticos, a timidilatosintase (TS) e a dihidrofolato redutase, que atuam na formação do tetrahydrofolato, uma coenzima importante na síntese de timina (CHAWLA; MADHUBALA, 2010; SHUKLA et al., 2010). A inibição dessas enzimas provoca redução de timina, prejudicando a replicação e ocasionando morte celular do parasito (CAVAZZUTI et al., 2008).

1.3.1.4 Biossíntese de hipusina

A inserção de hipusina, um aminoácido, na proteína eIF5A (processo de hipusinação) é importante para o funcionamento e viabilidade celular do parasito. Inibidores enzimáticos da biossíntese da hipusina também representam alvos promissores, através da inibição da enzima deoxihipusina sintase (DHS) e desoxihipusina hidrolase (DOHH) (CHAWLA; MADHUBALA, 2010). Pesquisa descrita por Chawla e autores (2010) identificou e caracterizou a presença da enzima DHS em cepas de *L. donovani*, que apresentou baixa homologia com a enzima humana, representando um alvo promissor na terapêutica da leishmaniose.

1.3.1.5 Topoisomerases

As topoisomerases são enzimas envolvidas na replicação, recombinação, transcrição e reparo do DNA, sendo encontradas tanto no núcleo, nas mitocôndrias quanto no cinetoplasto do parasito. Existem dois tipos de topoisomerases, I e II, diferindo de acordo com a forma de clivagem do material genético, a topoisomerase I é responsável pela clivagem da fita simples, sendo encontrada mais frequentemente no núcleo, enquanto a topoisomerase II é responsável pela clivagem da fita dupla (DAS et al., 2007; CHAWLA; MADHUBALA, 2010; HUSSAIN et al., 2014). Estudos indicam que a atividade enzimática das topoisomerases é independente de ATP, tanto no *Trypanosoma cruzi* quanto em parasitos do gênero *Leishmania* (HUSSAIN et al., 2014). No caso da topoisomerase mitocondrial, segundo estudos de Reguera et al. (2006) existem diferenças significativas entre as topoisomerases parasitárias e humanas.

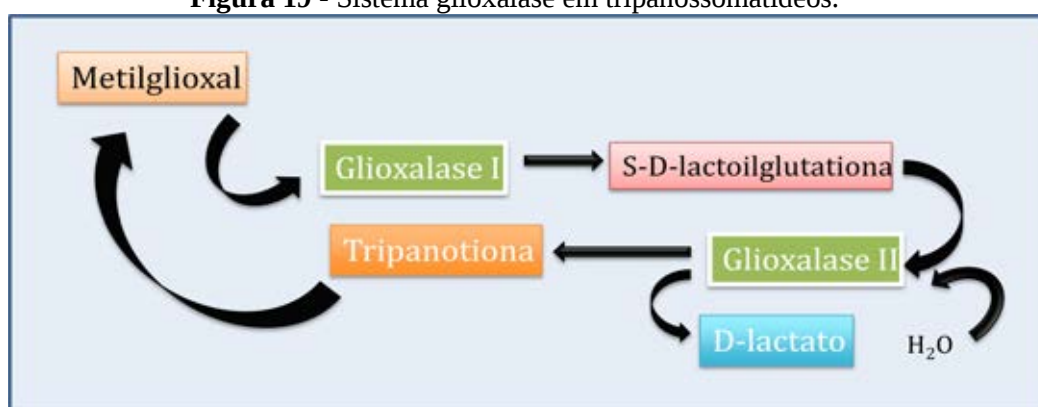
Com relação aos inibidores, a maior parte deles atua estabilizando o complexo enzima-DNA e interrompendo o processo de replicação, recombinação, transcrição ou reparo do DNA (FIDALGO; GILLE, 2011). O estibogluconato de sódio, fármaco aprovado para uso pela OMS, atua como inibidor da topoisomerase I, enquanto derivados de acridina inibem a topoisomerase II (CHAWLA; MADHUBALA, 2010).

1.3.1.6 Sistema glioxalase

O sistema glioxalase (figura 9) é responsável pelo processo de detoxificação do

parasito, através da eliminação do metilglioxal, um intermediário tóxico do glioxal capaz de se ligar às espécies nucleofílicas como DNA, RNA e proteínas (CHAWLA; MADHUBALA, 2010; SHUKLA et al., 2010). Essa substância tóxica é gerada a partir da degradação de subprodutos da glicólise e também catabolismo da treonina e oxidação da acetona. Nos tripanossomatídeos o sistema glioxalase utiliza a tripanotiona como cofator. As enzimas glioxalase I e II atuam nesse sistema e são responsáveis pela eliminação do metilglioxal através de sua conversão enzimática em tripanotiona (CHAWLA; MADHUBALA, 2010).

Figura 19 - Sistema glioxalase em tripanossomatídeos.



Fonte: Adaptado de: BIOCHEMICAL SOCIETY, 2013, disponível em:

<http://www.biochemistry.org/tabid/379/MeetingNo/SA158/view/Conference/default.aspx>,

acesso em 19 fev. 2015.

1.3.1.7 Biossíntese da tripanotiona

A tripanotiona sintase (TS) e a tripanotiona redutase (TR), também têm se tornado alvo terapêutico. A primeira delas é responsável pela síntese da tripanotiona reduzida a partir de glutaciona e espermidina, enquanto a segunda utiliza a tripanotiona reduzida no processo de bloqueio do estresse oxidativo dentro do parasito (CHAWLA; MADHUBALA, 2010; SHUKLA et al., 2010). Estudo realizado por Dumas et al. (2007) evidenciaram a importância da enzima TR no processo de infecção dos parasitos do gênero *Leishmania*, os autores observaram redução da infectividade dos parasitos que sofreram deleção da enzima.

1.3.1.8 Proteínas quinases

As proteínas quinases desempenham papel importante no processo de divisão celular. Como alvo terapêutico na leishmaniose, estudos têm mostrado a importância de proteínas quinase CKR1 tanto para formas promastigotas quanto amastigotas de *L. mexicana* (HASSAN et al., 2001). Além disso, inibidores de CKR3 são capazes de bloquear a replicação de *L. donovani* (GRANT et al., 2004). Da mesma forma, enzimas chamadas de MAP quinases (*mitogen-activated protein*) estão envolvidas na transdução de sinal em processos de divisão celular, e por isso também têm se tornado novos alvos terapêuticos (CHAWLA; MADHUBALA, 2010).

1.3.1.9 Transportadores de nucleosídeos

As purinas são bases nitrogenadas encontradas no hospedeiro essenciais para a síntese de nucleotídeos, mas parasitos são auxotróficos, ou seja, não apresentam via de síntese dessas bases, necessitando captá-las do hospedeiro (CHAWLA; MADHUBALA, 2010). Existem dois transportadores que captam e translocam as purinas através da membrana do parasito (VALDÉS et al., 2004; CHAWLA; MADHUBALA, 2010). Os LdNT1 (*L. donovani nucleosideo transporter I*) responsáveis pelo transporte de nucleosídeos adenosina e pirimidina, presente tanto nas formas promastigotas e amastigotas; e LdNT2 (*L. donovani nucleosideo transporter I*) responsável pelo transporte de iosina e guanossina, encontrado somente nas formas amastigotas do parasito (CHAWLA; MADHUBALA, 2010; SHUKLA et al., 2010; HUSSAIN et al., 2014).

1.3.1.10 Biossíntese de nucleosídeos

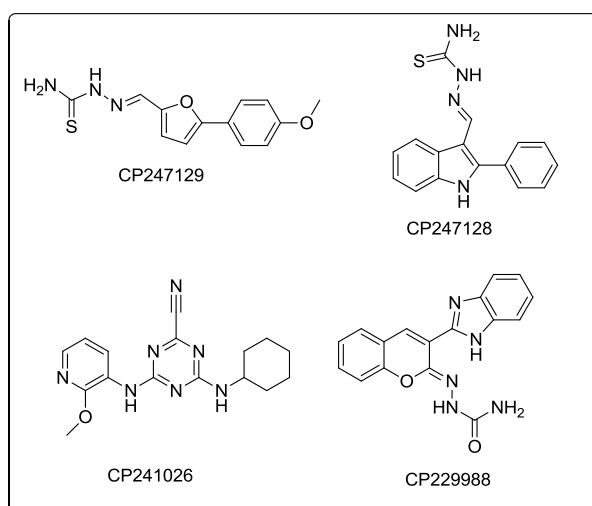
Os inibidores da enzima fosforribosil transferase, que converte purinas defosforiladas em nucleosídeos, importante no processo de obtenção de purinas e que constitui outra estratégia na busca por novas alternativas terapêuticas. Existem três tipos de enzimas pertencentes a essa classe encontradas em parasitos do gênero *Leishmania*, adenina fosforribosil transferase, hipoxantina guanina fosforribosil transferase e xantina fosforribosil transferase (CHAWLA; MADHUBALA, 2010).

1.3.1.11 Proteinases

Proteínases como aspartato, serina, metaloenzimas e principalmente cisteínas proteases, são enzimas presentes em parasitos do gênero *Plasmodium*, *Leishmania* e *Trypanosoma*, que estão diretamente relacionadas ao processo de invasão do parasito, escapes do sistema imune do hospedeiro e nutrição (BOCEDI et al., 2004; HUSSAIN et al., 2014). O nome de cada proteinase se refere ao resíduo presente no sitio ativo da enzima, sendo as cisteínas proteases as mais identificadas, que diferem das homólogas do hospedeiro humano e são abundantemente encontradas no citoplasma das formas amastigotas de tripanossomatídeos como *Leishmania* e *Trypanosoma* (CHAWLA; MADHUBALA, 2010; SILVA-LÓPEZ, 2010).

Schröder e colaboradores (2013), em estudos de triagem por *docking* com cisteína protease recombinante de *Leishmania mexicana* (CPB2.8) descobriram que as semicarbazonas, tiosemicarbazonas, triazinas e nitrilas possuem atividade inibitória *in vitro* de cisteínas proteases B2. Os estudos sugeriram que somente inibidores derivados de tiosemicarbazonas e semicarbazonas (figura 20) seriam seletivos em relação a CPB2.8, quando comparados à uma cisteína protease bovina, e que atuam como inibidores reversíveis da enzima (SCHRÖDER et al., 2013).

Figura 20 – Derivados de tiosemicarbazonas e semicarbazonas inibidores de cisteína protease recombinante de *L. mexicana*.



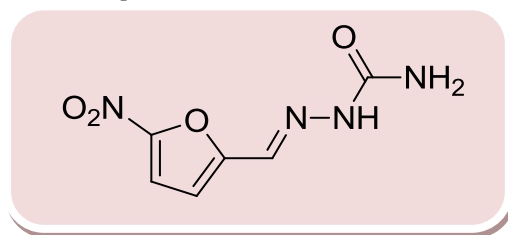
Fonte: extraído de SCHRÖDER et al., 2013.

Segundo Petrópolis et al. (2014) em estudos de infecção por *Leishmania amazonensis* em matriz celular de colágeno tipo I, simulando a invasão na pele do hospedeiro, os parasitos se mostraram capazes de migrar através da matriz extracelular bem como de promover adesão e invadi-la. Segundo o estudo, na presença de inibidores de cisteínas proteases há redução da degradação da matriz extracelular, comprovando a importância dessas enzimas no processo de invasão tecidual e estabelecimento da infecção (PETRÓPOLIS et al., 2014). Segundo estudos de Das et al., (2001) 80% de inibição da cisteína protease de leishmania é suficiente para prevenir a replicação do parasito.

A cruzipaina é uma cisteína protease que recebeu essa denominação por ser encontrada no *T. cruzi* e também apresenta papel essencial para a sobrevivência do parasito (MELOS; ECHEVARRIA, 2012). Du et al. (2002) observaram que compostos contendo a porção semicarbazona e tiosemicarbazona apresentam atividade tripanossomicida pela inibição da cruzipaina, a forma recombinante da enzima. Em 2013 Blau e colaboradores descreveram a obtenção e estudo de *docking* de aril-tiosemicarbazonas com atividade inibitória do *T. cruzi* e em estudos de Trossini e colaboradores (2010) observaram que o nitrofural (NF) gerava 30% de inibição da cruzipaina na concentração de 10µM.

De fato, estudos de Neal e Van Bueren (1988) demonstraram a atividade leishmanicida do NF (figura 21) contra cepas de *Leishmania donovani*, *Leishmania enriettii* e *Leishmania major*, em ensaios *in vitro* com macrófagos infectados com as formas amastigotas. Segundo o ensaio, o NF foi ativo contra as três espécies avaliadas, mas nas doses utilizadas (9 mg/L) também foi citotóxico para os macrófagos.

Figura 21 - Estrutura química do 5-nitro-2-furaldeído semicarbazona.



Fonte: próprio autor.

O NF foi sintetizado em 1944 e muito utilizado na II Guerra Mundial em lesões de queimaduras dos soldados como antimicrobiano, devido ao seu amplo espectro de ação

(CRENSHAW et al., 1976).

Atualmente, seu uso por via oral é restrito para disenteria bacilar e tripanossomíase africana devido aos efeitos tóxicos, causando hemólise e neuropatia grave (WHO, 1990). Além disso, é utilizado como antimicrobiano tópico no tratamento de infecções em lesões de pele causadas por queimaduras, procedimentos cirúrgicos, traumas, úlceras e rejeições, atingindo bactérias Gram positivas e negativas (DODD, 1946, ERDUR et al., 2008).

Em 1957 Evens e colaboradores descreveram a utilização do NF em pacientes com tripanossomíase africana, chamada de doença do sono e causada pelo parasito *Trypanosoma gambiense*. Segundo os resultados da pesquisa, o NF poderia ser utilizado sozinho ou associadamente com fármacos da terapêutica, por via oral, nas doses entre 2,1-12,5 mg/kg/dia por sete a 66 dias. Além disso, não houve efeitos adversos permanentes, mas os pacientes apresentaram náuseas, vômitos, dores musculares e articulares (EVENS et al., 1957).

Entre 1952 e 1957 Packchanian evidenciou a eficácia de compostos nitrofurânicos no tratamento da doença de Chagas, dentre eles o nitrofural. Em 1961, Brener descreveu a eficácia do NF em curar aproximadamente 95% dos camundongos infectados com a doença de Chagas, tratados com doses de 100 mg/kg/dia por 53 dias.

Considerando a atividade do nitrofural frente aos tripanossomatídeos e sua afinidade por cisteína proteases, foi realizada, através da técnica de bioisosterismo, a substituição de diversos grupos químicos na posição 5 do anel furânico, além do oxigênio da semicarbazona pelo enxofre da tiosemicarbazona, buscando novos compostos ativos derivados do nitrofural.

2 OBJETIVOS

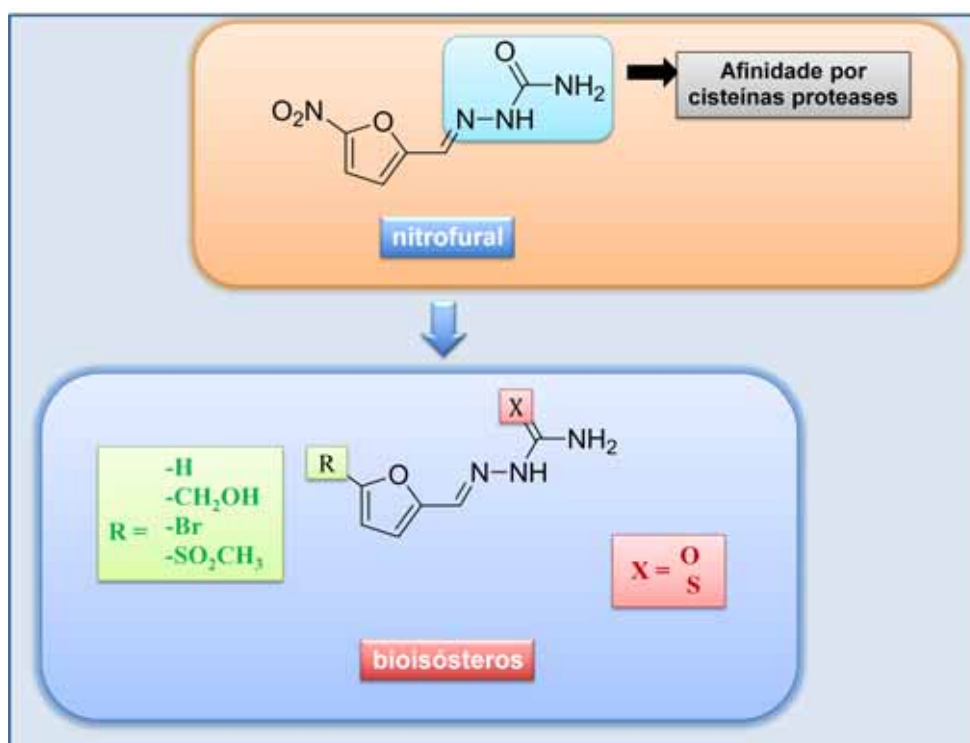
2.1 Objetivo geral

Baseando-se no planejamento a seguir, este trabalho visou à síntese e caracterização estrutural dos bioisósteros de nitrofurais, sendo um deles inéditos, e avaliação biológica *in vitro* contra cepas promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

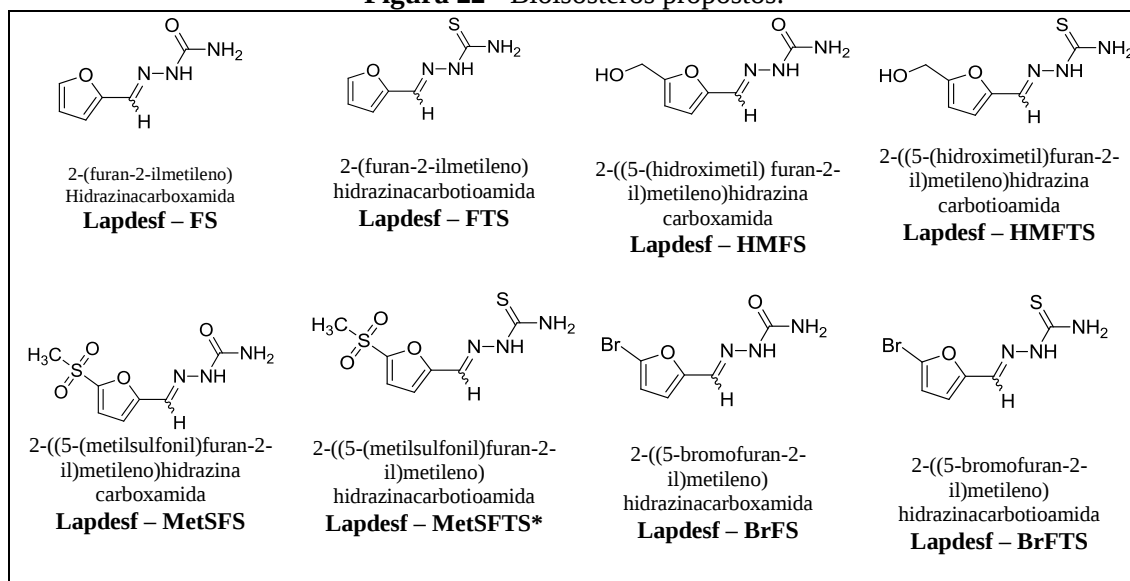
Considerando que compostos contendo grupos semicarbazona e tiossemicarbazona possuem afinidade por enzimas cisteínas proteases, determinantes no estabelecimento da infecção causada por diversos tripanossomatídeos, e que o nitrofurais demonstrou atividade leishmanicida *in vitro*, o presente trabalho propõe a obtenção de bioisósteros de nitrofurais (esquema 1 e figura 22).

Esquema 1 - Planejamento estrutural dos bioisósteros de nitrofurais.



Fonte: próprio autor.

Figura 22 - Bioisósteros propostos.



* Composto inédito.

Fonte: próprio autor.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Reagentes e solventes

- acetato de sódio (Mallinckodt[®])
- ácido acético glacial (Synth[®])
- 5-bromo-2-furaldeído (Sigma[®])
- cloridrato de semicarbazida (Fluka[®])
- dimetilformamida (DMF) (Sigma[®])
- dimetilsulfóxido (DMSO) (Vetec[®])
- éter etílico (Chemes[®])
- furano-2-carbaldeído (Fluka[®])
- 5-hidroximetil-2-furaldeído (Sigma[®])
- metanol (Synth[®])
- metanossulfinato de sódio (Sigma[®])
- tiosemicarbazida (Fluka[®])
- carbonato de potássio (Sigma[®])
- permanganato de potássio (Sigma[®])

4.2 Equipamentos

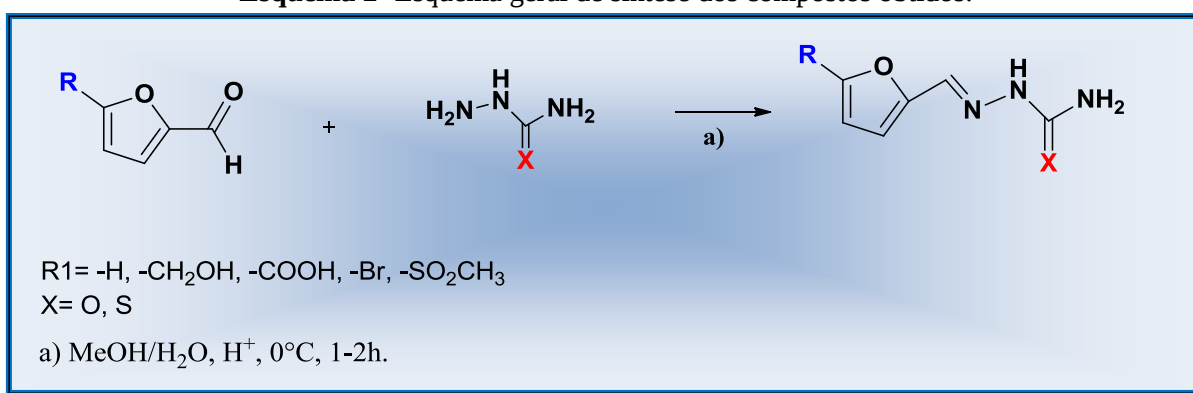
- Agitador magnético IKA[®] modelo C-Mag HS4;
- Aparelho de ponto de fusão capilar modelo SMP3 da Bibby Stuart Scientific[®];
- Balança analítica Marte[®] - modelo AY 220;
- Balança semi-analítica Gehaka[®] - modelo BG 200;
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear Bruker[®] modelo DPX-300 operando a 300 MHz para ¹H e 75 MHz para ¹³C;
- Espectrofotômetro de infravermelho Shimadzu[®] modelo IR Prestige-21;
- Rotaevaporador Ika[®] - modelo RV10;
- Rotaevaporador Buchi[®] – modelo R-215
- Sonicador Unique[®] -modelo UltraSonic Cleaner.

4.3 Métodos

4.3.1 Metodologias sintéticas

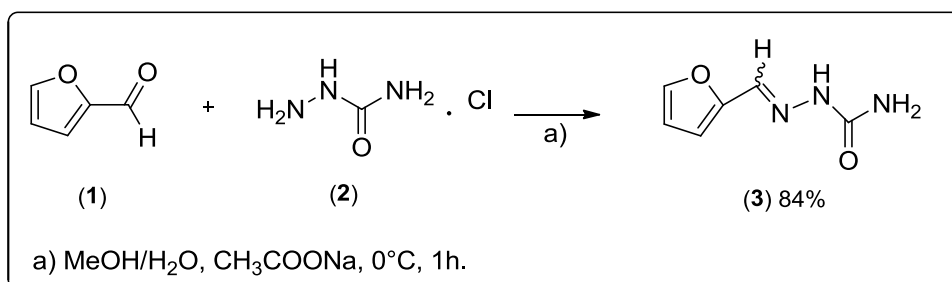
Para a síntese dos bioisósteros de nitrofural utilizou-se a metodologia de síntese de Bases de Schiff, a reação entre o grupamento químico aldeído e uma amina primária, de acordo com o Esquema 2. A reação é catalisada pelo meio reacional ácido e ocorre a formação da ligação imínica.

Esquema 2- Esquema geral de síntese dos compostos obtidos.



4.3.1.1 Síntese do composto Lapdesf-FS (2-(furan-2-ilmetileno)hidrazinacarboxamida)(3)

Esquema 3 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-FS (3).

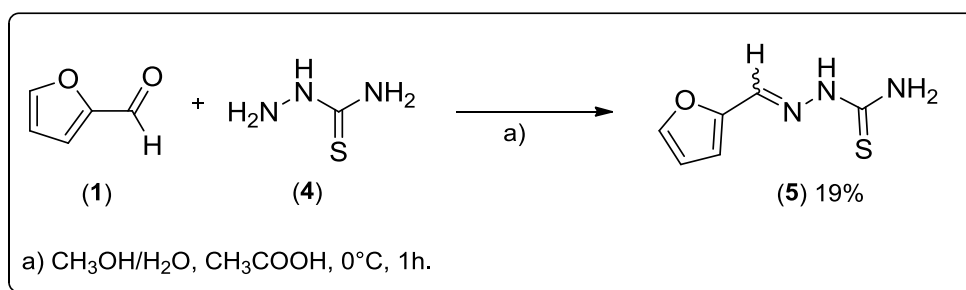


A metodologia utilizada seguiu a descrita por Bosquesi (2009). Em balão de 100 mL adicionou-se 1g de cloridrato de semicarbazona (2) (9 mmol) e 10 mL de água destilada mantendo-se sob agitação. Em seguida, adicionou-se 10 mL de metanol e 861,4 mg (10,5

mmols) de acetato de sódio. A reação foi resfriada em banho de gelo, e 0,5 mL de furano-2-carbaldeído (**1**) (6 mmols) foram adicionados lentamente. O acompanhamento da reação foi realizado por cromatografia em camada delgada (CCD), em fase móvel clorofórmio: metanol: ácido acético nas proporções 95:5:3 (v/v/v) e revelado com iodo. Após precipitação, o mesmo foi filtrado a vácuo e lavado com éter etílico.

4.3.1.2 Síntese do composto Lapdesf-FTS (2-(furan-2-ilmetileno)hidrazinacarbotoamida) (**5**)

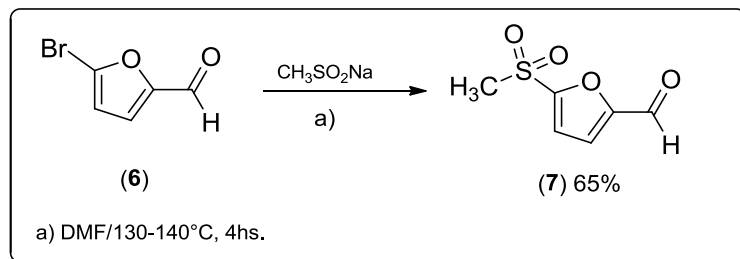
Esquema 4 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-FTS (**5**).



A metodologia utilizada baseou-se na descrita por Blau (2009) com adaptações. Em balão de 100 mL adicionou-se 711,58 mg de tiossemicarbazida (**4**) (7,80 mmol) em 10 mL de água destilada mantendo-os sob agitação. Em seguida, adicionou-se 10 mL de metanol, 0,2 mL de ácido acético e 0,43 mL (5,16 mmols) de furano-2-carbaldeído (**1**). O acompanhamento da reação foi feito por CCD, em fase móvel clorofórmio: metanol: ácido acético nas proporções 95:5:3 (v/v/v). Houve formação de precipitado, o mesmo foi filtrado a vácuo e lavado com éter etílico.

4.3.1.3 Síntese do composto Lapdesf-MetSFS (2-(furan-2-ilmetileno)hidrazinacarboxamida) (8)

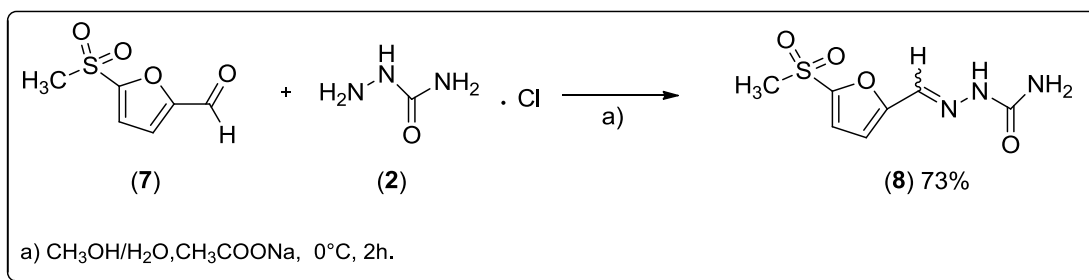
Esquema 5 - Esquema sintético de formação do Lapdesf-IMetS (7).



A metodologia utilizada seguiu a descrita por Bosquesi (2009). Em balão reacional de 50 mL, solubilizou-se 500 mg de 5-bromofurano-2-carbaldeído (6) (2,86 mmols) em 10 mL de dimetilformamida (DMF) sob agitação. Em seguida, adicionou-se 294,3 mg (2,86 mmols) de metanossulfonato de sódio. A reação foi mantida em banho de glicerina com sistema de refluxo por quatro horas a 130-140°C e acompanhada por CCD em fase móvel acetato de etila: hexano 60:40 (v/v). O composto obtido (7) foi purificado através de cromatografia em coluna utilizando como fase móvel acetato de etila: hexano 60:40 (v/v) e revelado com iodo.

O composto Lapdesf-MetSFS (8) foi obtido pela reação entre o Lapdesf-IMetS (7) e cloridrato de semicarbazida (2) (Esquema 6).

Esquema 6 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-MetsFS (8).



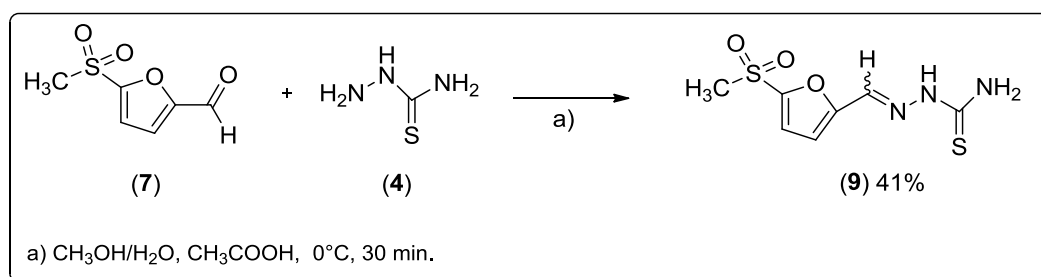
A metodologia utilizada seguiu a descrita por Bosquesi (2009). O intermediário Lapdesf-IMetS (7) purificado e dissolvido em 5 mL de metanol foi transferido para uma balão de 10 mL (85 mg; 0,49 mmols). Após o qual, em banho de gelo, adicionou-se 84 mg de

cloridrato de semicarbazida (2) (0,75 mmols) previamente dissolvido em 3 mL de água destilada. 68 mg de acetato de sódio (0,83 mmols) foram adicionados e a reação foi mantida sob agitação. Ocorreu a formação de precipitado e após uma hora, este foi filtrado a vácuo e lavado com éter etílico. O acompanhamento da reação foi feito por CCD utilizando como fase móvel clorofórmio: metanol nas proporções 85:15 (v/v) e revelado com iodo.

4.3.1.4 Síntese do composto Lapdesf-MetSFTS (2-((5-(metilsulfonil)furan-2-il)metilene)hidrazinecarbotioamida) (9)

O composto Lapdesf-MetSFTS (9) foi obtido através da reação entre o Lapdesf-IMetS (7) e tiossemicarbazida (4) (esquema 7).

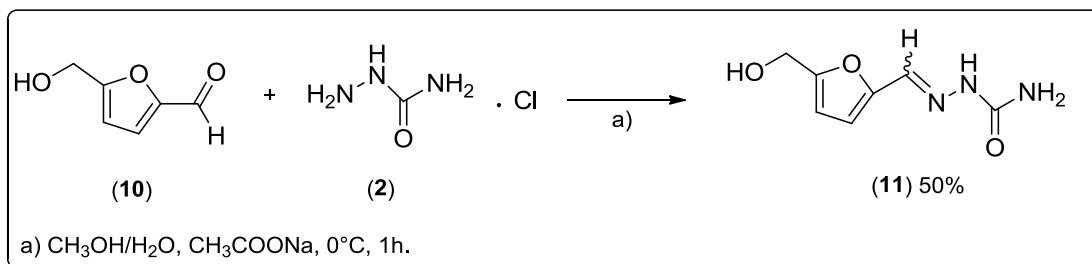
Esquema 7 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-MetSFTS (9).



A metodologia utilizada baseou-se na descrita por Blau (2009) com adaptações. O Lapdesf-IMetS (7) purificado, citado no item 3.3.1.3, foi transferido para balão reacional de 10 mL (72 mg; 0,41 mmols) previamente dissolvido em 5mL de metanol. Em seguida, com o balão em banho de gelo, adicionou-se 56,5 mg de tiossemicarbazida (4) (0,62 mmols) com 5 mL de água destilada e 5 gotas de ácido acético glacial. Houve precipitação, a reação permaneceu por uma hora e o composto foi isolado por meio de filtração a vácuo e lavagem com éter etílico. O acompanhamento da reação foi realizado por CCD, em fase móvel acetato de etila: hexano nas proporções de 60:40 (v/v).

4.3.1.5 Síntese do composto Lapdesf-HMFS (2-((5-(hidroximetil)furan-2-il)metileno)hidrazinacarboxamida) (11)

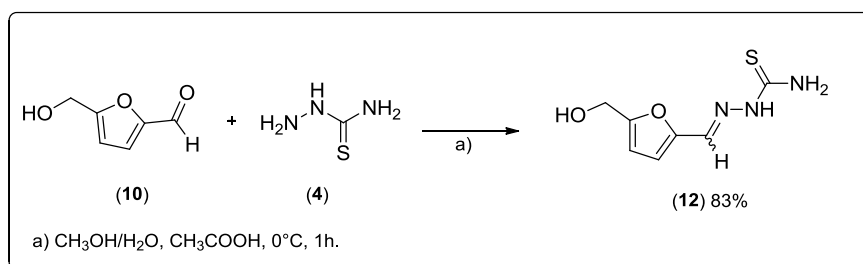
Esquema 8 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-HMFS (11).



A metodologia utilizada seguiu a descrita por Bosquesi (2009). Em balão de 50 mL adicionou-se 300 mg (2,38 mmols) de 5-hidroximetil-2-furfuraldeído (10) e 10 mL de metanol. Em seguida, adicionou-se 398,2 mg (3,57 mmols) de cloridrato de semicarbazida (2) dissolvido em 10 mL de água destilada, a reação foi mantida em banho de gelo. Adicionou-se 337,95 mg (4,11 mmols) de acetato de sódio, em seguida, observou-se a formação de precipitado. A reação foi mantida por uma hora sob agitação, em temperatura ambiente, em seguida o precipitado foi filtrado e lavado com éter etílico. O acompanhamento da reação foi realizado por CCD utilizando como fase móvel clorofórmio: metanol: ácido acético nas proporções 85:15:5 (v/v/v).

4.3.1.6 Síntese do Lapdesf-HMFTS (2-((5-(hidroximetil)furan-2-il)metileno)hidrazinacarbotioamida) (12)

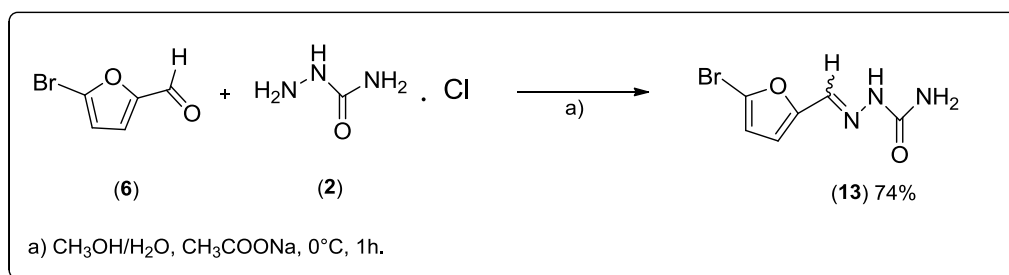
Esquema 9 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-HMFTS (12).



A metodologia utilizada baseou-se na descrita por Blau (2009) com adaptações. Em balão reacional de 25 mL adicionou-se 300 mg (2,37 mmols) de 5-hidroximetil-2-furfuraldeído (10) com 10 mL de metanol. Colocou-se o balão em banho de gelo e adicionou-se 216 mg (2,37 mmols) de tiosemicarbazida (4) com 5 mL de água e 0,2 mL de ácido acético glacial. A reação foi mantida por uma hora em temperatura ambiente e o acompanhamento da reação foi feito por CCD, em fase móvel acetato de etila: hexano nas proporções 80:20 (v/v). O precipitado formado foi filtrado a vácuo e lavado com éter etílico.

4.3.1.7 Síntese do composto Lapdesf-BrFS (2-((5-bromofuran-2-il)metileno)hidrazinacarboxamida) (13)

Esquema 10 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-BrFS (13).

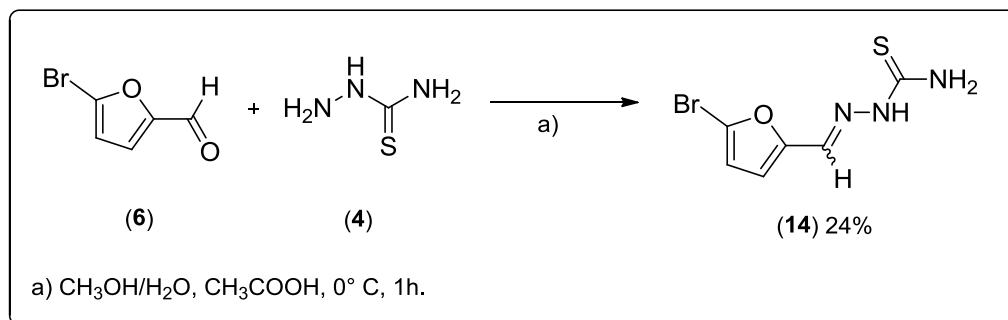


A metodologia utilizada seguiu a descrita por Bosquesi (2009). Em balão de 50 mL adicionou-se 300 mg (1,71 mmols) de 5-bromo-2-furfuraldeído (6) em 5 mL de metanol. Em seguida, adicionou-se 190,72 mg (1,71 mmols) de cloridrato de semicarbazida (2) dissolvido em 5 mL de água destilada, a reação foi colocada em banho de gelo e sob agitação. Adicionou-se 245 mg (2,98 mmols) de acetato de sódio e a reação foi mantida por uma hora.

O acompanhamento da reação foi feito por CCD, em fase móvel acetato de etila: hexano nas proporções 60: 40 (v/v) e revelação com iodo. Em seguida, observou-se a formação de precipitado que foi filtrado a vácuo e lavado com éter etílico. O composto foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica gel (63-200 μM) e fase móvel acetato de etila.

4.3.1.8 Síntese do Lapdesf-BrFTS (2-((5-bromofuran-2-il)metileno)hidrazinacarboxamida) (14)

Esquema 11 - Esquema sintético de obtenção do Lapdesf-BrFTS (14).



A metodologia utilizada baseou-se na descrita por Blau (2009), com adaptações. Em balão de 100 mL adicionou-se 300 mg (1,71 mmols) de 5-bromo-2-furfuraldeído (**6**) com 5 mL de metanol. Em seguida, a reação foi colocada em banho de gelo, e adicionou-se 156,26 mg (1,71 mmols) de tiossemicarbazida (**4**), 5 mL de água destilada e 0,2 mL de ácido acético glacial. A reação foi mantida sob agitação, em temperatura ambiente por uma hora e o acompanhamento foi feito por CCD, em fase móvel acetato de etila: hexano nas proporções 60:40 (v/v). Observou-se a formação de precipitado, que foi filtrado a vácuo e lavado com éter etílico.

4.3.2 Métodos Analíticos

4.3.2.1 Análise cromatográfica em camada delgada (CCD)

As análises foram realizadas em cromato-folhas de alumínio (AL TLC) de sílica-gel 60 F₂₅₄ Sigma[®], para o acompanhamento das reações e avaliação dos compostos sintetizados. A visualização das substâncias foi realizada em lâmpada ultravioleta (254-365 nm), exposição à solução de reagente de Brady (2,4-dinitrofenilhidrazina) ou cuba contendo iodo, como revelador universal.

4.3.2.2 Determinação da faixa de fusão

As faixas de fusão (ou decomposição) foram determinadas em aparelho capilar *Melting Point Apparatus SMP3*, *Stuart Scientific*[®], disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, SP.

4.3.2.3 Análise de espectrofotometria de absorção no infravermelho (I.V.)

Os espectros de absorção no infravermelho na região de 4.000 a 400 cm^{-1} , foram obtidos em pastilhas de KBr no espectrofotômetro de infravermelho *IR-Prestige 21* da *SHIMADZU Corporation*, disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, SP.

4.3.2.4 Análise de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio 1 (RMN ^1H) e de Carbono 13 (RMN ^{13}C)

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram obtidos no espectrômetro *Bruker*[®] Fourier com Dual probe operando a 300 MHz para ^1H e a 75 MHz para ^{13}C do laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – Unesp Araraquara. Utilizando como solvente $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ (dimetilsulfóxido deuterado).

4.3.2.5 Análise de Espectroscopia de Massas

As análises foram realizadas por espectroscopia de massas por cromatógrafo a gás, acoplado a um analisador de massas ESI-TOF (ionização por impacto de elétrons - *time of flight*) de alta resolução nos modos positivo e negativo, disponível no Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais e Sintéticos – NPPNS/Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP.

4.3.3 Ensaio biológico para determinação de atividade leishmanicida em formas promastigotas de *L. amazonensis*

A avaliação da atividade leishmanicida das substâncias sintetizadas foi realizada no laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, Departamento de Biociências e Biotecnologias, com colaboração da Prof^a. Dra. Márcia Aparecida Silva Graminha.

Com o objetivo de avaliar a atividade leishmanicida dos compostos em estudo, realizou-se o ensaio colorimétrico do MTT (brometo de 3-metil[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5 difeniltetrazólio). Para isso, foram colocados em placas de 96 poços, contendo 97 µL de uma suspensão de parasitos (1×10^7 promastigotas/mL) em meio LIT (*Liver Infusion Tryptose*) e 3,0 µL dos compostos em diferentes concentrações (100,0 a 0,0122 µg/mL, em diluições seriadas de 1:2), de acordo com a figura 23.

Figura 23 - Esquema representando a placa de 96 poços utilizada no teste.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	97 µL <i>Leishmania</i> sp + 3 µL COMPOSTO 1			97 µL meio LIT + 3 µL COMPOSTO 1			97 µL <i>Leishmania</i> sp + 3 µL COMPOSTO 2			97 µL meio LIT + 3 µL COMPOSTO 2		
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H	Controle 100 µL <i>Leishmania</i> sp			Controle 100 µL meio LIT			Controle 100 µL <i>Leishmania</i> sp			Controle 100 µL meio LIT		

As placas foram incubadas por 72 horas a 26 °C e ao final da incubação, foram adicionados 10,0 µL de solução MTT/PMS (MTT 2,5 mg/mL; PMS (metanossulfonato de fenazina) 0,22 mg/mL) em todos os poços e a placa foi incubada ao abrigo da luz por 75 minutos a 28°C. Posteriormente, adicionou-se 100,0 µL da solução SDS (dodecilsulfato de sódio) 10%, HCl 0,01N, incubando-se à temperatura ambiente por 30 minutos, também ao

abrigo da luz (MUELAS-SERRANO et al., 2000).

A leitura da densidade óptica (DO) foi realizada em espectrofotômetro (leitor de Elisa – ReadwellTouch/Robonik) a 492 nm e os resultados foram obtidos em absorbância. A porcentagem de citotoxicidade (%) foi calculada segundo a Equação 1:

Equação 1- Cálculo para obtenção do IC₅₀ dos compostos.

$$\%C=[(Gc-Gp)/Gc] \times 100$$

$$Gc=Ac-Am$$

$$Gp= Ap-Apm$$

Sendo que, **Gc** representa o número de parasitos/mL nos poços controles e **Gp**, o número de parasitos/mL detectados em diferentes concentrações de substâncias. **Ac** corresponde ao valor de absorbância nos poços controle (na ausência de substância) com parasitos; **Am** representa o valor da absorbância nos poços controle (na ausência de substância) sem parasito; **Ap** o valor da absorbância nos testes e **Apm**, o valor da absorbância das diferentes concentrações de substâncias na ausência do parasito.

4.3.4 Cálculo de carga parcial dos carbonos 6 (imina) e 9 (carbonila/tiocarbonila)

AS estruturas foram construídas no programa *HyperChem 7*, a partir da estrutura cristalográfica do nitrofural obtido de um complexo inibidor-enzima, disponível na base de dados *Protein Data Bank* (PDB) (PDB-ID: 1IKI). As geometrias das moléculas foram otimizadas utilizando modelagem molecular com o objetivo de obter as conformações de mais baixo estado energético, ou seja, a conformação que se aproximaria da bioativa. Essa otimização foi realizada, inicialmente, utilizando a teoria de Mecânica Molecular (MM+) seguida de *Austin Model 1* (AM1 – nível semi-empírico).

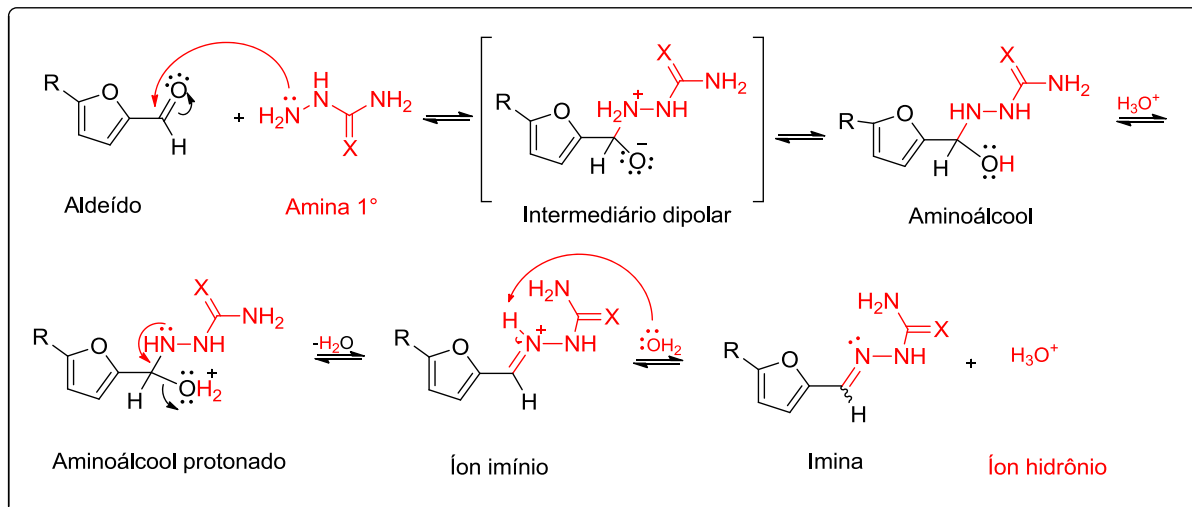
A partir das estruturas otimizadas foi feita a determinação, também no programa *HyperChem 7*, do valor de carga parcial para cada carbono da função imina (C6) e carbonila/tiocarbonila (C9).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos sintetizados foram identificados pelas análises de infravermelho, ressonância magnética nuclear (RMN ^1H e ^{13}C) e espectrometria de massas. Para auxílio na interpretação dos espectros foram utilizadas as seguintes referências: SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000; PAVIA, et al., 2010; BOSQUESI, 2009 e BLAU, 2009. Os espectros dos reagentes encontram-se dispostos na seção Apêndice.

5.1 Síntese e caracterização estrutural

A estratégia geral de síntese compreende em uma reação de formação de Bases de Schiff (adição-eliminação), entre um grupamento aldeídico e uma amina primária, neste caso, a semicarbazida e a tiosemicarbazida. O mecanismo envolve o ataque nucleofílico do par de elétrons da amina primária ao carbono da carbonila, formando um intermediário dipolar (Esquema 14). Ocorre uma transferência intermolecular do próton da amina para o oxigênio, formando um aminoálcool, que favorecido pelo pH do meio reacional (4-5), captura um próton e forma o aminoálcool protonado, que é um bom grupo abandonador, gerando a perda de uma molécula de água e formação do íon imínio. Este, por sua vez, perde um próton para o meio reacional, formando a imina e regenerando o íon hidrônio catalítico (SOLOMONS; FRYHLE, 2012; MCMURRY, 2011; CLAYDEN et al., 2001).

Esquema 12 - Mecanismo de formação de iminas para os compostos obtidos.

Fonte: Adaptado de SOLOMONS; FRYHLE, 2012.

O pH do meio reacional influencia diretamente na formação da ligação imínica, a necessidade de prótons no meio, para que ocorra a eliminação da molécula de água (CLAYDEN et al., 2001). Por outro lado, a disponibilidade exagerada de íons hidrônio (H_3O^+) pode ocasionar a protonação da amina, diminuindo a disponibilidade de nucleófilo para o ataque e reduzindo a velocidade da reação (SOLOMONS; FRYHLE, 2012; CLAYDEN et al., 2001).

No caso das semicarbazonas, em que o reagente encontrava-se na forma de cloridrato, ocorria a formação de ácido clorídrico no meio reacional, reduzindo bruscamente o pH. Em virtude disso, foi feita a adição do acetato de sódio, um sal de caráter básico, que possibilitou a regulação do pH ideal, em torno de 4-5. Já no caso das tiosemicarbazonas, o pH do meio reacional encontrava-se acima do valor ideal, uma vez que o reagente tiosemicarbazida não se encontrava na forma de cloridrato, dessa forma, o ajuste foi feito com a adição de ácido acético glacial.

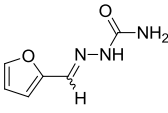
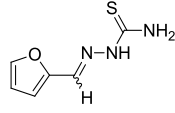
5.1.1 Síntese e caracterização estrutural do Lapdesf – FS (2-(furan-2-ilmetileno)hidrazinacarboxamida) (3) e Lapdesf-FTS (2-(furan-2-ilmetileno)hidrazinacarbotioamida) (5)

O composto Lapdesf – FS (3) obtido apresentou-se como um sólido de coloração levemente amarelada, R_f (fator de retenção) de 0,48, faixa de fusão de 186° C a 190° C e o rendimento global da reação foi de 84%, rendimento considerado equivalente ao obtido pela literatura (Bosquesi 2009), conforme apresentado na tabela 2.

O composto Lapdesf-FTS (5) apresentou-se como um sólido levemente amarelado, R_f de 0,57, faixa de fusão de 196° C a 200° C. O rendimento global da reação foi de 19,4%, contrariamente ao trabalho de Yi e colaboradores (2011) que obtiveram rendimento de 77% na síntese do mesmo composto. A diferença deste resultado pode estar associada ao aquecimento e tempo de reação insuficiente. Esse composto deverá ser obtido novamente seguindo a metodologia descrita pela literatura (Yi et al., 2011).

Resultados e discussão

Tabela 2- Comparação dos parâmetros sintéticos entre as metodologias utilizadas e as já descritas na literatura para Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5).

Parâmetros reacionais	 Lapdesf-FS (3)		 Lapdesf-FTS (5)	
	Obtido	Bosquesi (2009)	Obtido	Yi e colaboradores (2011)
Proporção de reagentes (aldeído: amina) (mols)	1 :1,5	1 :1,5	1 :1,5	1,1 :1
Meio reacional	metanol e água com acetato de sódio	metanol e água com acetato de sódio	metanol e água com ácido acético	etanol anidro com ácido acético
Temperatura	0°C	0°C	0°C	refluxo
Tempo de reação	1 hora	instantânea	1 hora	10 horas
Rendimento global obtido	84%	83%	19%	77%
Remoção de impurezas	lavagem com éter etílico	lavagem com éter etílico	lavagem com éter etílico	lavagem com éter etílico e recristalização em etanol
Faixa de fusão do produto obtido	186-190°C	187-192°C	196-200°C	200-201°C

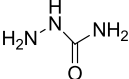
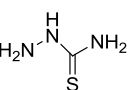
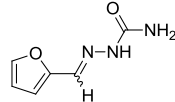
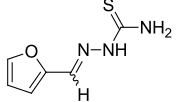
Fonte: dados da pesquisa.

5.1.1.1 Absorção na região do infravermelho do Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5)

A tabela 3 compara os valores de absorção na região de infravermelho de ambos os compostos. Os compostos Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5) apresentam estiramentos axiais referentes ao sistema imínico, em 1600 cm^{-1} e 1608 cm^{-1} , respectivamente. Além disso, quando comparados aos valores de absorção do reagente furano-2-carbaldeído, verifica-se a ausência da banda C-H do aldeído, sugerindo a formação dos compostos desejados.

Resultados e discussão

Tabela 3 - Comparação dos valores de absorção na região de infravermelho do Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5).

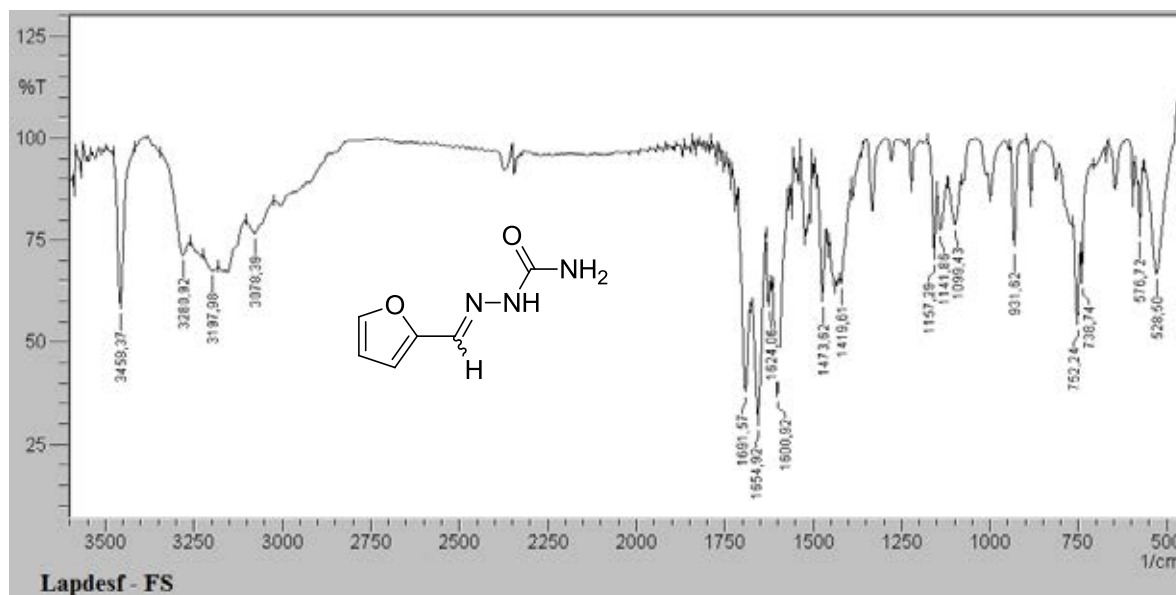
Grupo funcional ν (cm ⁻¹)	 furano-2-carbaldeído (1)	 Cloridrato de semicarbazida (2)	 Tiossemicarbazida (4)	 Lapdesf-FS (3)	 Lapdesf-FTS (5)
C=O	1674	1683	-	1654	-
N-H primária	-	3309, 3255	3261, 3178	3280, 3197, 1624	3219,3138
N-H secundária	-	3421	3369	3458	3412
C=N	-	-	-	1600	1608
C=C aromático	1473	-	-	1473	1475
C=S	-	-	1001	-	1018
N-N	-	1521	1533	-	1527
C-H aldeído	2848, 2812	-	-	-	-

Fonte: dados da pesquisa.

O composto Lapdesf-FS (3), apresentou espectro de infravermelho característico (Espectro 1), com estiramento em 1654 cm⁻¹ correspondente à ligação C=O da amida, bandas de deformação em 3280 cm⁻¹ (simétrica), 3193 cm⁻¹ (assimétrica) e 1624 cm⁻¹ referente à amida primária, banda em 3458 cm⁻¹ de deformação axial de N-H livre. Além disso, banda de estiramento em 1600 cm⁻¹, sugerindo que houve a formação de composto, correspondente a banda da imina (C=N) e em 1473 cm⁻¹ estiramento das ligações C=C do anel aromático.

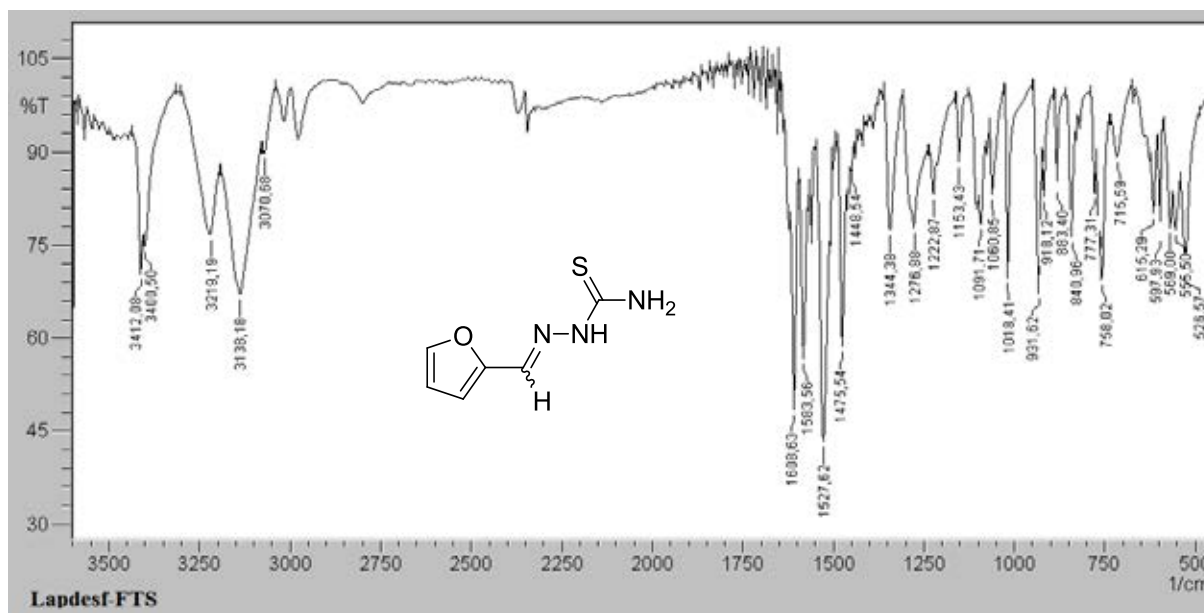
Resultados e discussão

Espectro 1 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf – FS (3).



Fonte: dados da pesquisa.

No caso do composto Lapdesf-FTS (5) (espectro 2) é possível observar estiramento da ligação imina em 1608 cm^{-1} e estiramentos referentes à ligação N-H da amina primária em 3219 cm^{-1} (assimétrica) e 3138 cm^{-1} (simétrica). Observa-se ainda, estiramento em 1527 cm^{-1} sugestivo de deformação axial N-N, em 1018 cm^{-1} deformação axial referente à ligação C=S (tiona) e em 3412 cm^{-1} estiramento da ligação N-H secundária. O estiramento em 1475 cm^{-1} corresponde à ligação C=C aromática.

Espectro 2 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-FTS (5).

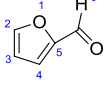
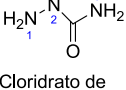
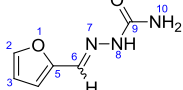
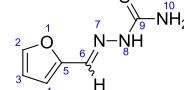
Fonte: dados da pesquisa.

5.1.1.2 Ressonância magnética nuclear do Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5)

A tabela 4 apresenta os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos para os compostos Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5), comparando os dados obtidos foi possível observar deslocamentos químicos referente ao hidrogênio e carbono da posição 6 em δ 7,75; 129,9 ppm e δ 7,96; 132,5 ppm, respectivamente, os quais correspondem à formação da ligação imina. Os deslocamentos químicos de RMN de ^1H dos hidrogênios da posição 8 dos compostos Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5) aparecem, respectivamente, em δ 10,27 e δ 11,43 ppm. Além disso, observa-se os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C referentes aos carbonos da carbonila e tiocarbonila (carbono da posição 9) dos compostos Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5) em δ 156,5 e δ 177,7 ppm, respectivamente.

Resultados e discussão

Tabela 4 - Deslocamentos químicos referentes à RMN de ^1H e ^{13}C do Lapdesf-FS (3) e Lapdesf-FTS (5).

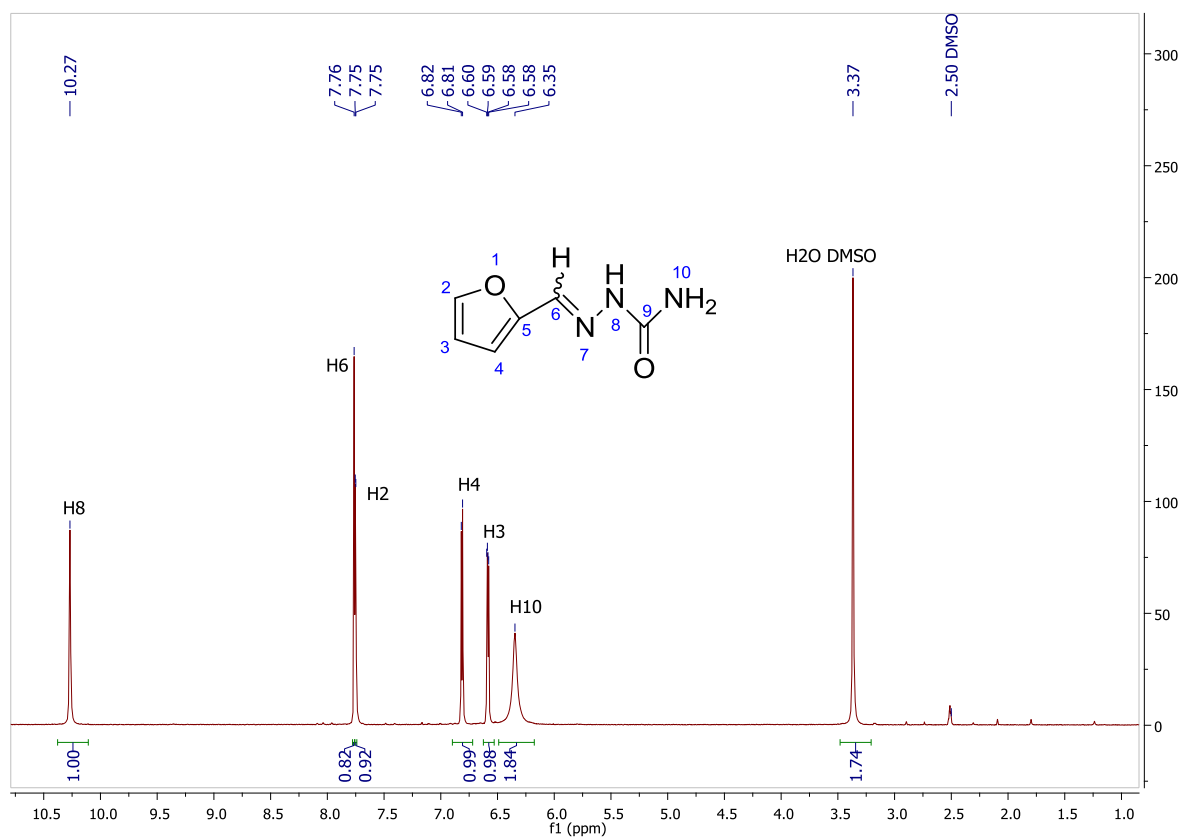
Posição	 furano-2-carbaldeído (1)	 Cloridrato de semicarbazida (2)	 Tiossemicarbazida (4)	 Lapdesf-FS (3)	 Lapdesf-FTS (5)		
	¹ H δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹³ C δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹³ C δ (ppm)
1		9,99 (s, 2H)	7,16(s, 2H)	-	-	-	-
2	7,26 (s, 1H)	8,87 (s, 1H)	8,60/4,48 (s/s, 1H)	7,74 (d, J=1,8Hz, 1H)	144,0	7,80 (d, J=1,8 Hz, 1H)	144,9
3	6,71 (d-dd, 1H, J=5,2 Hz)	6,65 (s, 2H)	7,52 (s, 2H)	6,57 (dd, J=3,4 Hz/1,8 Hz, 1H)	110,9	6,62 (dd, J=3,4 Hz/1,8 Hz, 1H)	112,3
4	5,96 (dd, J=3,6 Hz, 1H)	-	-	6,80 (d, J=3,4 Hz, 1H)	111,9	6,96 (d, J=3,4 Hz, 1H)	112,8
5	-	-	-	-	149,8	-	149,3
6	8,78 (s, 1H)	-	-	7,75 (s, 1H)	129,9	7,96 (s, 1H)	132,5
8	-	-	-	10,27 (s, 1H)	-	11,43 (s, 1H)	-
9	-	-	-	-	156,5	-	177,7
10	-	-	-	6,33 (s, 2H)	-	8,82/7,63 (s/s, 1H/1H)	-

Fonte: dados da pesquisa.

Com relação ao espectro de RMN de ^1H do composto Lapdesf-FS (3) (Espectros 3 e 4), observa-se ainda deslocamentos químicos referentes às posições 3 e 4 em δ 6,57 e δ 6,80 ppm, como duplo-duplete e duplete, com constantes de acoplamento (J) 3,4 Hz e 1,8 Hz para posição 3 e J 3,4 Hz para hidrogênio da posição 4, além de deslocamento químico referente ao hidrogênio da posição 2 que aparece em δ 7,74 ppm como um duplete (J 1,5 Hz), tais deslocamentos correspondem aos hidrogênios do anel furânico. Os hidrogênios da amida primária correspondentes à posição 10 apresentam deslocamento químico em δ 6,33 ppm como um simpleto que integra para dois hidrogênios.

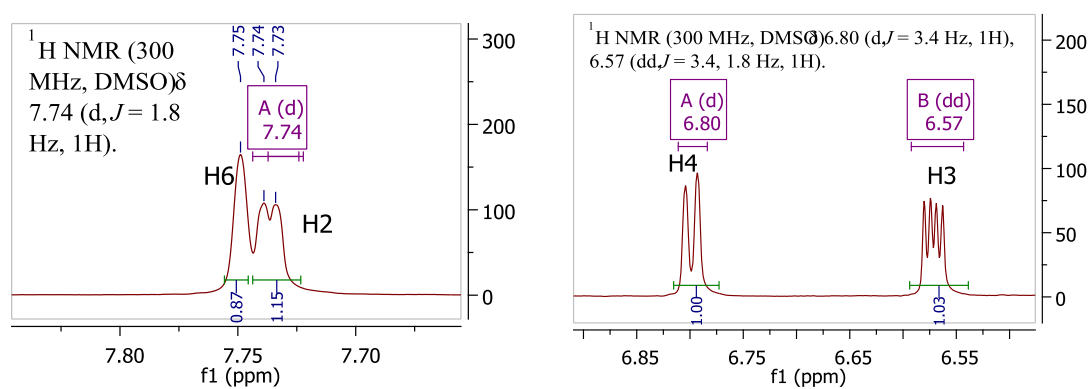
Resultados e discussão

Espectro 3 - Espectro de RMN ^1H do Lapdesf – FS (3) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 4 - Ampliações do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-FS (3) - regiões entre 7,64 e 7,84 ppm e 6,60 e 6,90 ppm (DMSO).

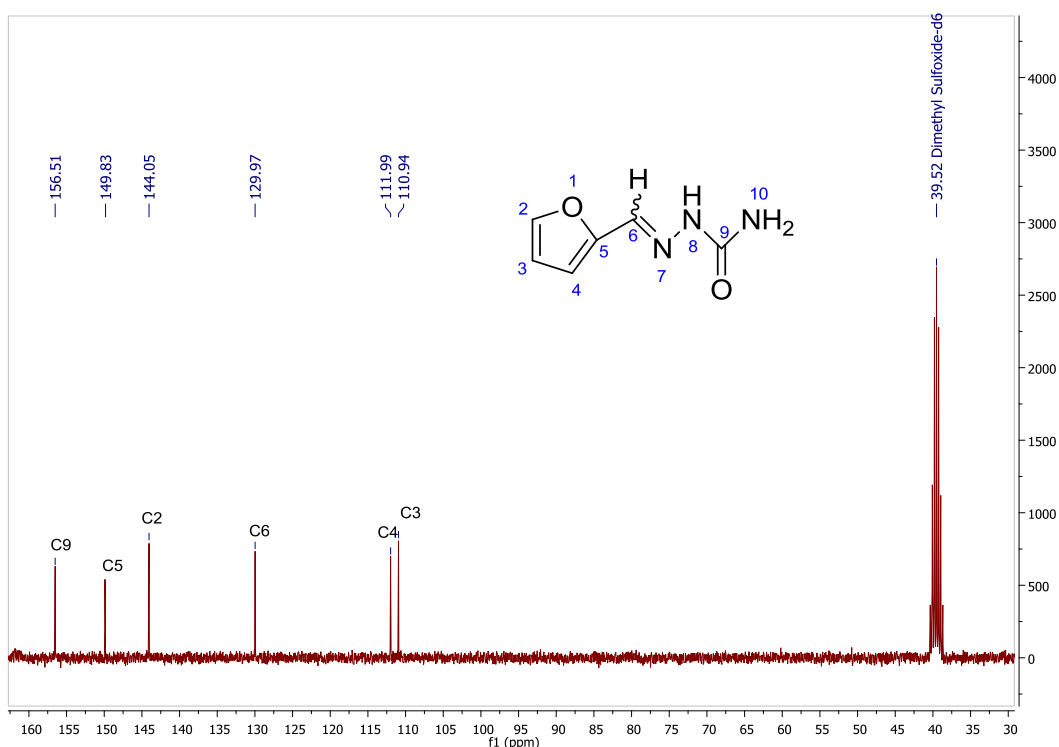


Fonte: dados da pesquisa.

Resultados e discussão

Segundo os dados de RMN de ^{13}C do composto Lapdesf-FS (3) (Espectro 5) foi possível verificar a presença de todos os carbonos do composto final e, além dos deslocamentos das posições 6 e 9 já discutidas anteriormente, observou-se os deslocamentos químicos referentes aos carbonos do anel furânico em δ 144,0 ppm, δ 110,9 ppm, δ 111,9 ppm e δ 149,8 ppm atribuídos aos carbonos das posições 2, 3, 4, e 5, respectivamente.

Espectro 5 - Espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf – FS (3) (DMSO).

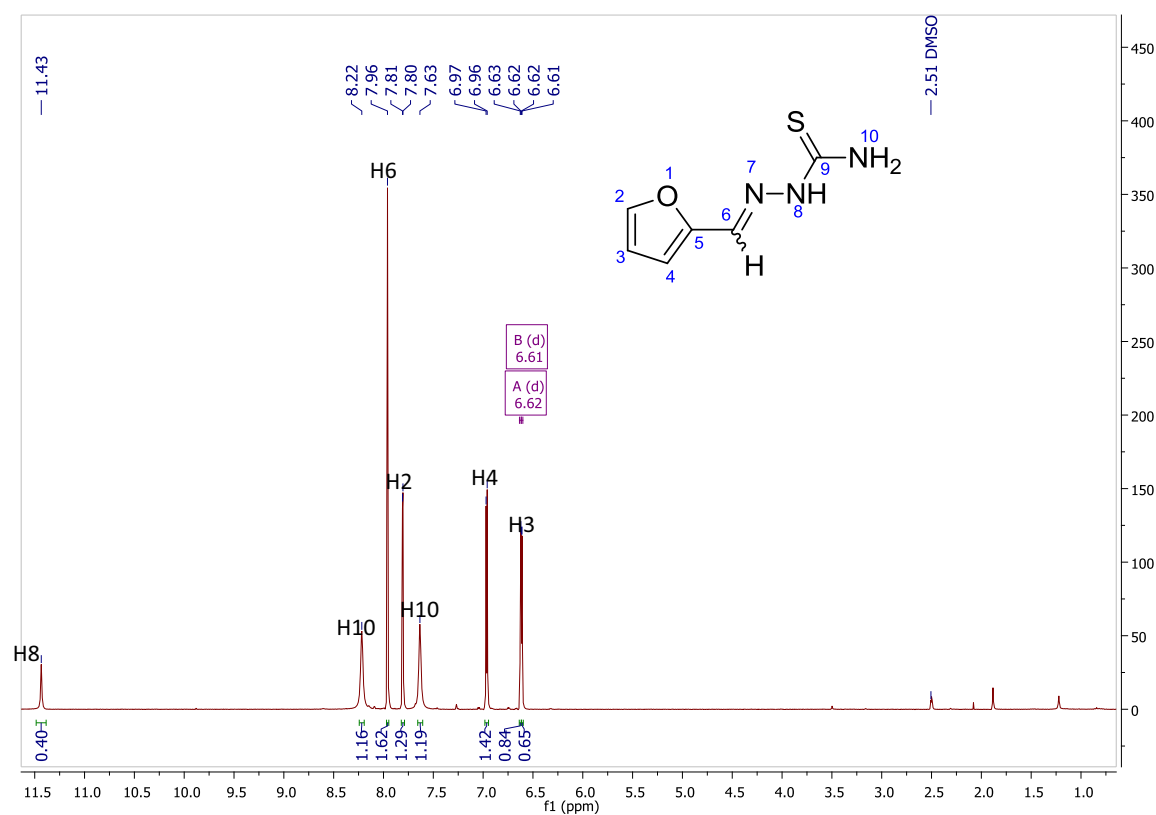


Fonte: dados da pesquisa.

Segundo os dados de RMN de ^1H do composto Lapdesf-FTS (5) (Espectros 6, 7 e 8), verificou-se os hidrogênios da posição 10 com deslocamentos químicos em δ 8,82 ppm e δ 7,63 ppm integrando para um hidrogênio cada, possivelmente devido ao caráter de dupla ligação do fragmento N-C-N, conforme descrito por TENÓRIO (2005) e outros (TARASCONI et al., 2000; CASAS et al., 2000). Os outros deslocamentos químicos observados referem-se aos hidrogênios do anel furânico e aparecem em δ 7,80, δ 6,62 e δ 6,96 ppm referentes às posições 2 (duplete; $J=1,2$ Hz), 3 (duplo-duplete; $J= 3,4$ Hz e $1,8$ Hz), 4 (duplete; $J=3,4$ Hz).

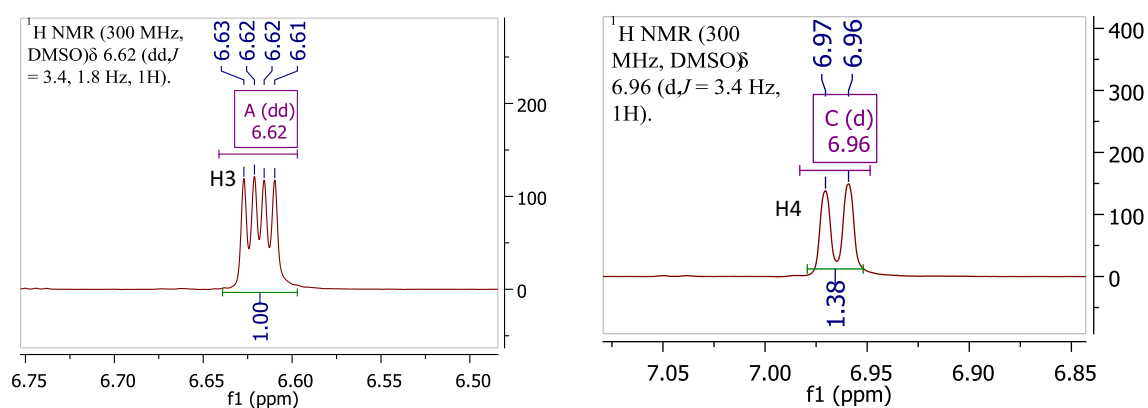
Resultados e discussão

Espectro 6 - Espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-FTS (5) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

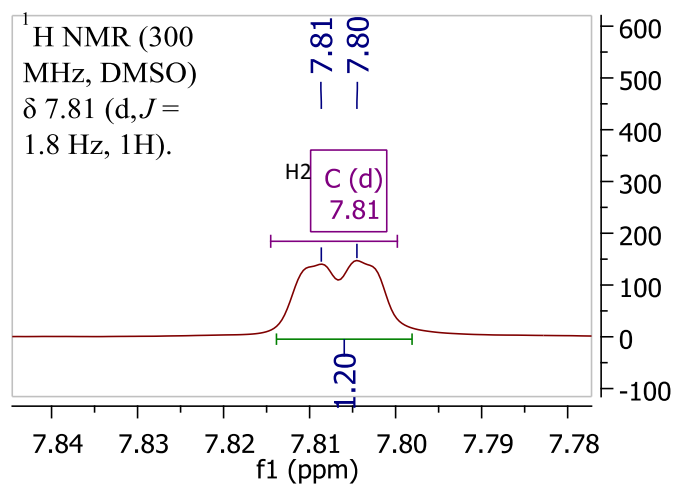
Espectro 7 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-FTS (5) nas regiões entre 6,50 e 6,75 ppm e 6,85 e 7,05 ppm (DMSO $_{d6}$).



Fonte: dados da pesquisa.

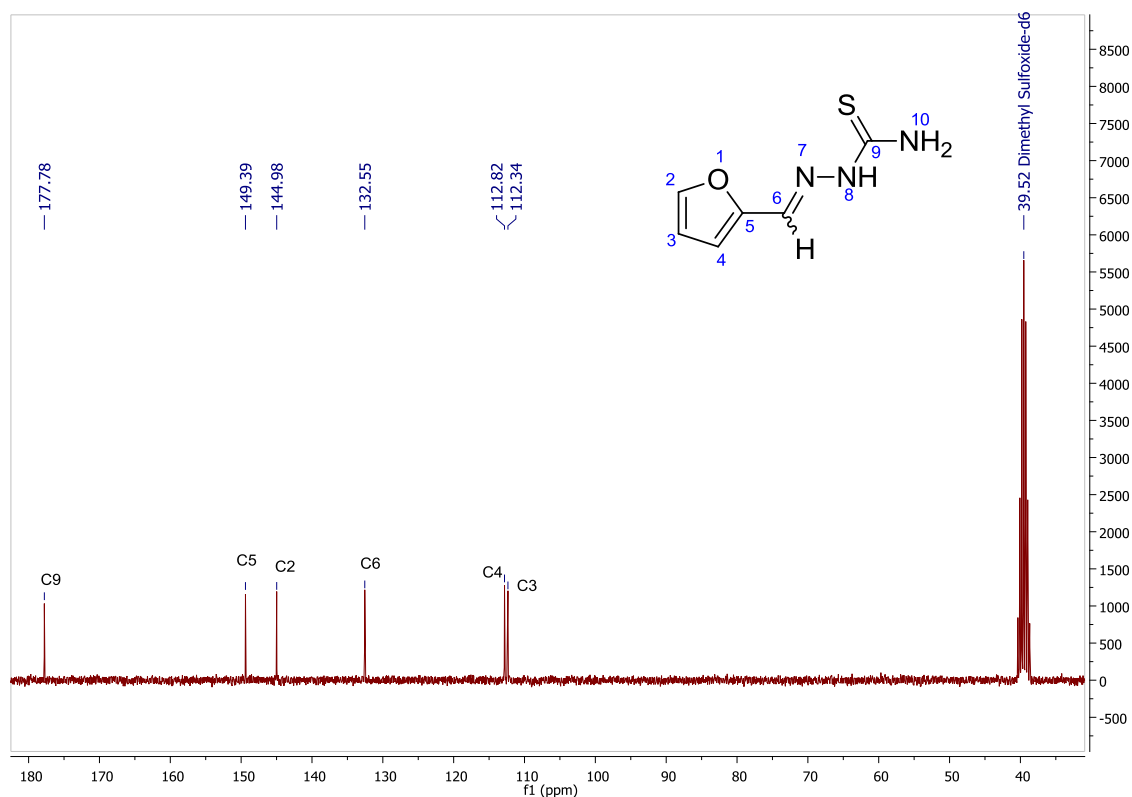
Resultados e discussão

Espectro 8 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-FTS (5) nas regiões entre 7,78 e 7,84 ppm (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

Os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C estão apresentados no espectro 9. Além dos deslocamentos químicos já discutidos anteriormente para o compostos Lapdesf-FTS (5), outros deslocamentos químicos são observados em δ 144,9 ppm (carbono da posição 2), δ 112,3 e δ 112,8 ppm (posições 3 e 4, respectivamente) e δ 149,3 ppm (carbono da posição 5).

Espectro 9 - Espectro RMN de ^{13}C do Lapdesf-FTS (5) (DMSO).

Fonte: dados da pesquisa.

As informações relacionadas aos deslocamentos químicos obtidos nos espectros sugerem que os compostos desejados foram obtidos. No que diz respeito à estereoquímica, de acordo com dados descritos na literatura (PALLA et al., 1982; PALLA et al., 1986) a condensação ácido catalisada de hidrazidas com aldeídos leva a formação de *N*-acil-hidrazonas com configuração diastereoisomérica (*E*), pois é esta menos impedida do que a forma (*Z*). A predominância da forma diastereoisomérica (*Z*) só foi observada em derivados orto-piridínicos, possivelmente pela formação de uma ligação hidrogênio intramolecular entre o átomo de nitrogênio piridínico e o hidrogênio da função amida da *N*-acil-hidrazona (PALLA et al., 1982; PALLA et al., 1986). A presença de sinal duplo no RMN é atribuída à presença de ambos conformeros, *anti* e *sin*-periplanares (RAHMAN et al., 2005; TIAN et al., 2009).

Baseado nessas informações e nos dados obtidos, observa-se a presença de apenas uma forma diastereoisomérica predominantemente para todas as *N*-acil-hidrazonas sintetizadas, uma vez que apresentam deslocamento químico único do hidrogênio da imina.

Da mesma forma, tiossemicarbazonas sintetizadas a partir de aldeídos encontram-se predominantemente na forma diastereoisomérica (*E*) em meio líquido, devido à maior estabilidade termodinâmica (OTA et al., 1998).

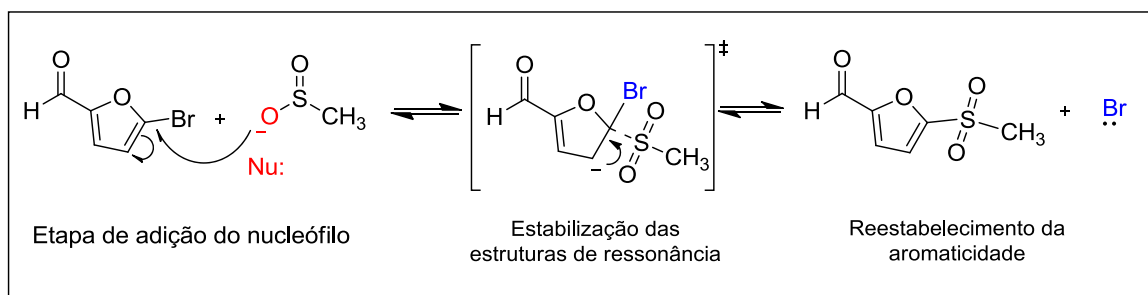
Em estudos de RMN de ^1H , Karabastos et al. (1962) determinaram que os hidrogênios da imina no diastereoisômero (*E*) prevalecem em deslocamentos mais baixos do que (*Z*). No entanto, da mesma forma que ocorre com as *N*-acil-hidrazonas, essas substâncias sofrem efeitos dos substituintes ligados ao carbono da azometina, da presença de ácido, do solvente em que se encontram e dos substituintes ligados à tioamida (CARDOSO, 2008).

A determinação da forma diastereoisomérica deve ser confirmada através de métodos mais específicos como difratometria de raios-X.

5.1.2 Síntese e elucidação estrutural do Lapdesf-MetSFS (2-((5-(metilsulfonil)furan-2-il)metileno)hidrazinacarboxamida) (8) e Lapdesf-MetSFTS (2-((5-(metilsulfonil)furan-2-il)metilene)hidrazinecarbotoamida) (9)

O intermediário Lapdesf-IMetS (7) apresentou-se como um óleo verde e R_f de 0,76 e rendimento de 65% após purificação em coluna cromatográfica.

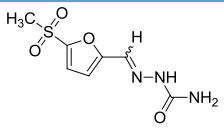
O mecanismo da reação é a substituição nucleofílica aromática (Esquema 15), com eliminação de haleto orgânico. O meio reacional em solvente polar aprótico reduz a energia do estado de transição, estabilizando o íon sódio e facilitando o ataque do nucleófilo. Na primeira etapa é feita a adição do grupo ao carbono halogenado, quebrando a ligação π e formando um carbânion. Em seguida, a carga negativa restaura a aromaticidade do anel e ocorre a eliminação do halogênio, que é um bom grupo abandonador (SOLOMONS; FRIHLE, 2012).

Esquema 13 - Mecanismo de reação para o intermediário Lapdesf-IMetS (7).

O aldeído Lapdesf-IMetS (7) obtido e purificado na etapa anterior reagiu com o cloridrato de semicarbazida (2) e o composto formado, neste caso o Lapdesf-MetSFS (8), apresentou-se como um sólido de coloração levemente amarelado com R_f de 0,63, faixa de fusão entre 233 e 236° C e rendimento reacional de 73% e rendimento global de 35%.

De acordo com a tabela 5, observam-se algumas diferenças com relação aos rendimentos obtidos e os descritos na literatura (BOSQUESI, 2009). A redução do rendimento não deve estar relacionada ao tempo de reação da segunda etapa, de uma hora para 48 horas, uma vez que o rendimento dessa etapa foi superior ao rendimento da primeira. Na verdade, pode haver relação entre o baixo rendimento e a etapa de purificação do intermediário, através da cromatografia em coluna. Além disso, o baixo poder nucleofílico do metanossulfonato de sódio e a riqueza de elétrons do anel furânico, que o tornam menos susceptível a um ataque nucleofílico, podem estar relacionados a rendimentos não tão elevados nesta etapa da reação.

Tabela 5 – Comparação entre a metodologia de obtenção utilizada e descrita para o composto Lapdesf-MetSFS (8)

Parâmetros reacionais	 Lapdesf-MetSFS (8)			
	Etapa 1 (5-bromo-2-furaldeído: metanossulfonato de sódio)		Etapa 2 (Lapdesf-IMetS: cloridrato de semicarbazida)	
	Obtido	Bosquesi (2009)	Obtido	Bosquesi (2009)
Proporção de reagentes (mols)	1:1	1:1	1:1,5	1,25:1
Meio reacional	DMF	DMF	metanol e água com acetato de sódio	metanol e água
Temperatura	refluxo	refluxo	0°C	nd*
Tempo de reação	4 horas	4 horas	1 hora	48 horas
Rendimento reacional	65%	nd*	73%	nd*
Rendimento global	35%	59%	35%	59%
Remoção de impurezas/isolamento	cromatografia em coluna	extração com clorofórmio	lavagem com éter etílico	extração com acetato de etila e cristalização
Faixa de fusão do composto obtido	óleo à temperatura ambiente	óleo à temperatura ambiente	233-236°C	nd*

*nd – dados não disponíveis.

Fonte: dados da pesquisa.

Já o composto Lapdesf-MetSFTS (9), um composto inédito, apresentou-se como um sólido amarelo, com R_f de 0,36, faixa de decomposição entre 211° e 215° C, rendimento reacional da segunda etapa de 41% e rendimento global de 27%.

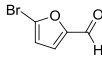
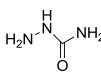
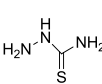
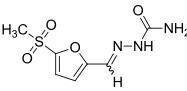
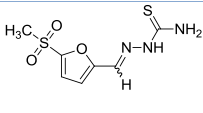
5.1.2.1 Caracterização do Lapdesf-MetSFS (8) e Lapdesf-MetSFTS (9) por infravermelho

A tabela 6 apresenta os dados obtidos no espectro de absorção no infravermelho dos compostos Lapdesf-MetSFS (8) e Lapdesf-MetSFTS (9), com isso, pode-se sugerir a formação da ligação imina através da do surgimento de banda próxima a 1600 cm^{-1} , além do

Resultados e discussão

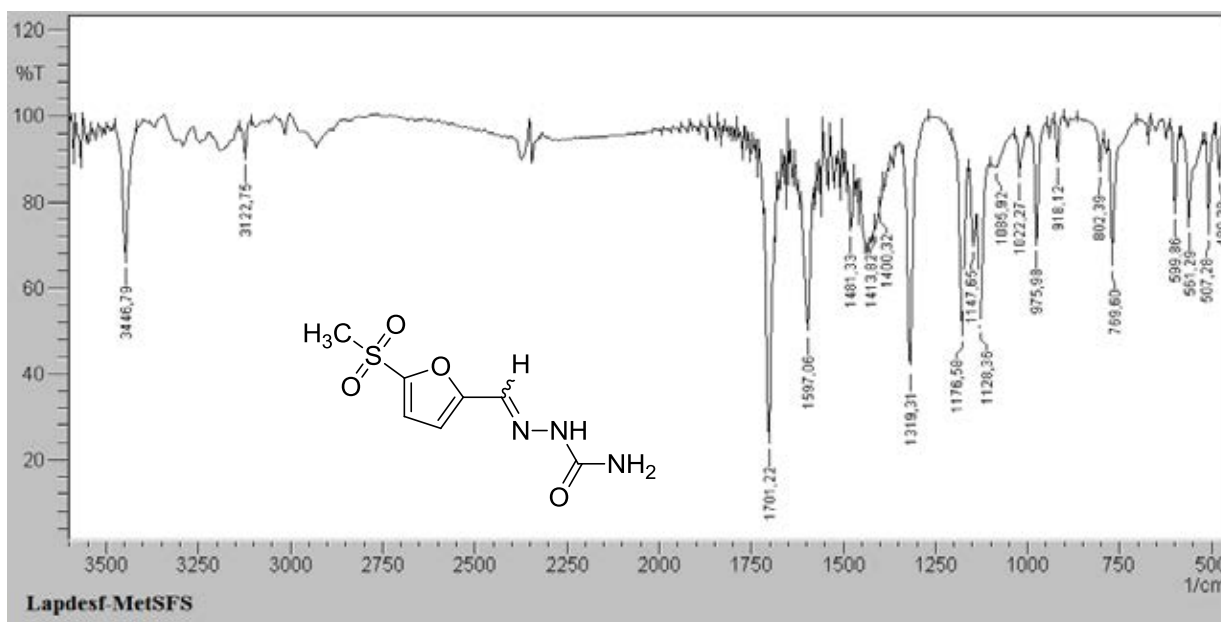
desaparecimento da banda do estiramento C-H do aldeído em 2848 cm^{-1} . Além disso, verifica-se estiramento em 1319 cm^{-1} possivelmente causada pelo grupo sulfona (S=O) do grupo metil sulfonil que foi substituído na posição dois do anel furânico.

Tabela 6 - Comparação dos valores de absorção na região de infravermelho dos reagentes (6 e 2) e do Lapdesf-MetSFS (8) e Lapdesf-MetSFTS (9).

Grupo Funcional $\nu\text{ (cm}^{-1}\text{)}$	 5-bromo-2-furaldeído (6)	 Cloridrato de semicarbazida (2)	 Tiossemicarbazida (4)	 Lapdesf-MetSFS (8)	 Lapdesf-MetSFTS (9)
C=O	1670	1683	-	1701	-
N-H primária	-	3309, 3255	3261, 3178	3122	3263,3170
N-H secundária	-	3421	3369	3446	3394
C=N	-	-	-	1597	1618
C=C aromático	1458	-	-	1481	1489
S=O (sulfona)	-	-	-	1319	1311
N-N	-	1521	1533	-	1517
C-H aldeído	2848	-	-	-	-
C=S (tiona)	-	-	1001	-	1024

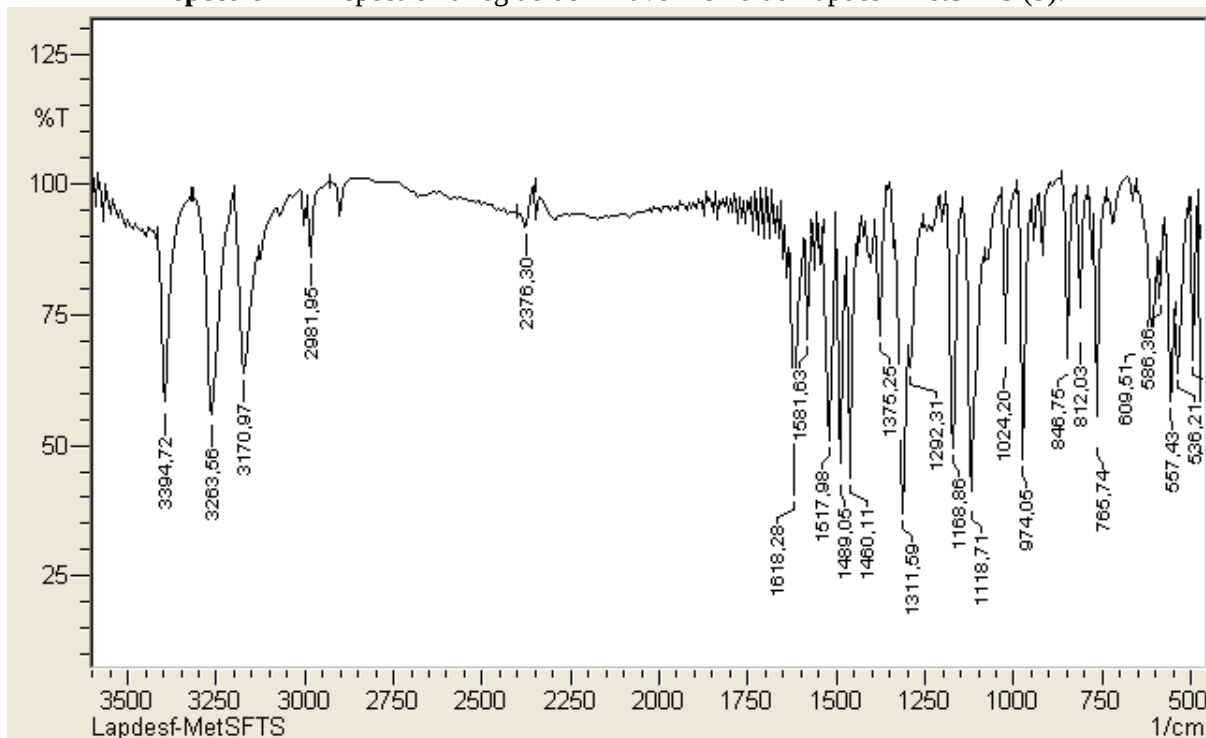
Fonte: dados da pesquisa.

Com relação ao espectro de infravermelho do composto Lapdesf-MetSFS (8) (espectro 10), verificou-se estiramento em 1597 cm^{-1} sugerindo a formação da ligação imina (C=N), que não aparece no reagente 5-bromo-2-furaldeído (espectro 17). Além disso, verificaram-se banda característica da ligação C=O da amida em 1701 cm^{-1} e estiramentos em aproximadamente 3200 cm^{-1} (assimétrica) e em 3122 cm^{-1} (simétrica) provavelmente da amida primária, estiramento em 3446 cm^{-1} da ligação N-H da amida secundária e em 1318 cm^{-1} estiramento assimétrico da sulfona (S=O), conforme mencionado anteriormente.

Espectro 10 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-MetSFS (8).

Fonte: dados da pesquisa.

Com relação ao espectro 11, do Lapdesf-MetSFTS (9) observa-se estiramento em 1581 cm^{-1} sugerindo a presença da ligação C=N (imina). Além disso, em 1024 cm^{-1} estiramento referente ao grupo tiona (C=S) e aproximadamente em 3263 cm^{-1} e 3170 cm^{-1} estiramentos assimétrico e simétrico referentes à ligação N-H primária e em 3394 cm^{-1} estiramento da ligação N-H secundária.

Espectro 11 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-MetSFTS (9).

Fonte: dados da pesquisa.

5.1.2.2 Ressonância magnética nuclear do Lapdesf-MetSFS (8) e Lapdesf-MetSFTS (9)

A tabela 7 apresenta a comparação entre os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C do composto Lapdesf-MetSFS (8) e Lapdesf-MetSFTS (9), seus reagentes e do intermediário Lapdesf-IMetS (7). Pode-se observar que possivelmente houve a formação do intermediário Lapdesf-IMetS (7), uma vez que se verifica o deslocamento químico em δ 3,42 e δ 3,33 ppm e δ 3,35 ppm atribuídos aos hidrogênios da metila do grupo metilsulfona (posição 7 para o intermediário e 11 para os compostos), respectivamente. Além disso, quando se observa o composto Lapdesf-MetSFS (8) verificam-se os deslocamentos químicos em campo magnético reduzido se comparados ao reagente 5-bromo-2-furaldeído (6) e Lapdesf-IMetS (7), o hidrogênio da posição 6, agora pertencente à função imina se desloca em δ 7,80 ppm, enquanto seu carbono, da mesma função, apresentou deslocamento químico em δ 128,1 ppm, o mesmo ocorre para o composto Lapdesf-MetSFTS (9), que aparece em

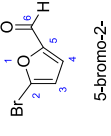
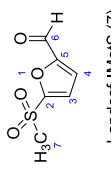
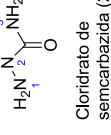
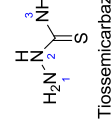
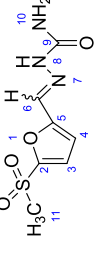
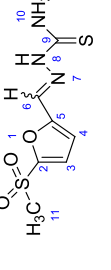
Resultados e discussão

deslocamento químico δ 7,98 ppm, seu carbono aparece em δ 130,7 ppm .

Foi possível observar deslocamento químico em δ 10,56 ppm e δ 11,71 ppm para o hidrogênio da amida e tioamida (hidrogênios da posição 8), respectivamente. Observa-se ainda, deslocamentos químicos em δ 156, 1 ppm e δ 178,2 ppm (carbonos da posição 9) referente ao carbono da carbonila e tiocarbonila, respectivamente.

Resultados e discussão

Tabela 7 - Deslocamentos químicos referentes à RMN de ¹H e ¹³C do Lapdesf-MetSFS (8) e Lapdesf-MetSFTS (9).

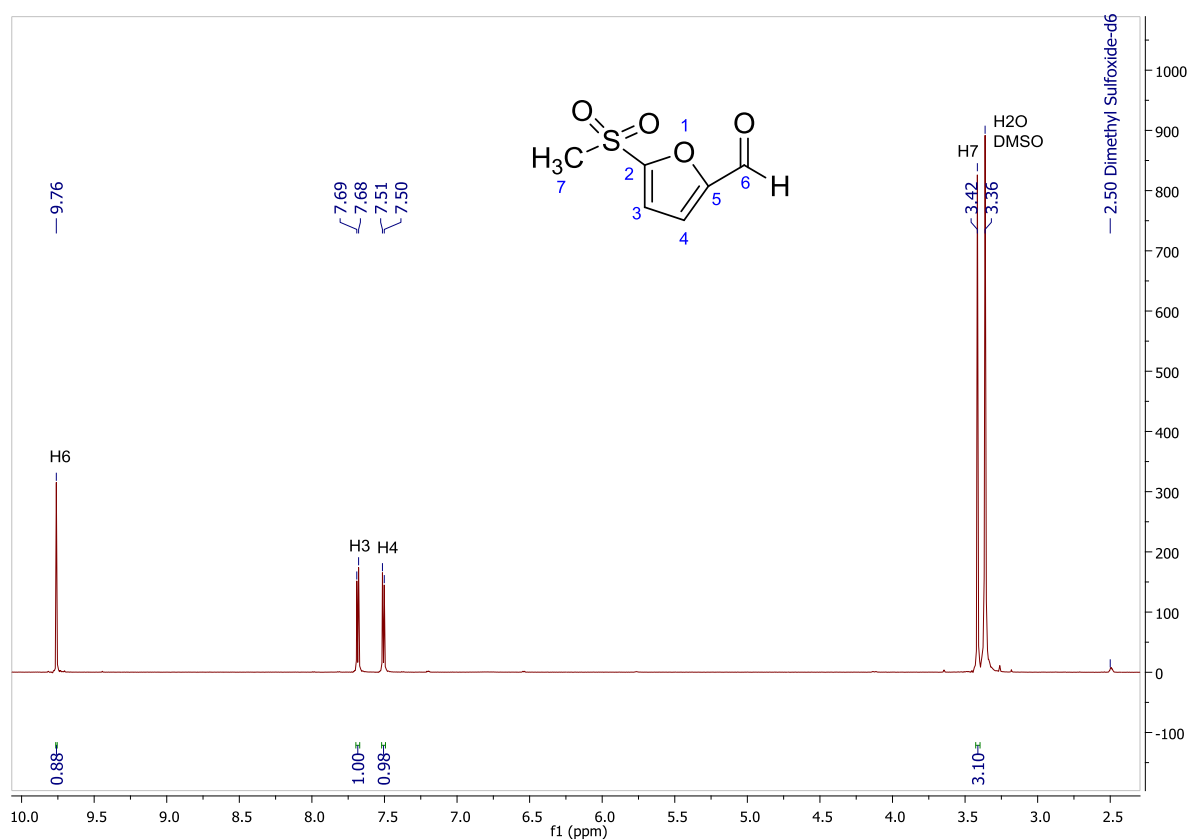
Posição	 5-bromo-2-furaldeído (6)	 Lapdesf-lMetS (7)	 Cloridrato de semicarbazida (2)	 Tiossemicarbazida (4)	 Lapdesf-MetSFS (8)	 Lapdesf-MetSFTS (9)
	¹ H δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹³ C δ (ppm)
1	-	-	9,99 (s, 2H)	7,16(s, 2H)	-	-
2	-	-	8,87 (s, 1H)	8,60/4,48 (s/s, 1H)	-	149,6
3	7,58 (d, J= 3,7 Hz, 1H)	7,69 (d, J=3,8 Hz, 1H)	6,65 (s, 2H)	7,52 (s, 2H)	7,34 (d, J=3,7 Hz, 1H)	118,6
4	6,95 (d, J= 3,7 Hz, 1H)	7,51 (d, J= 3,8 Hz, 1H)	-	-	7,04 (d, J=3,7 Hz, 1H)	111,0
5	-	-	-	-	-	153,7
6	9,48 (s, 1H)	9,76 (s, 1H)	-	-	7,80 (s, 1H)	130,7
7	-	3,42 (s, 3H)	-	-	-	-
8	-	-	-	-	10,56 (s, 1H)	-
9	-	-	-	-	-	178,2
10	-	-	-	-	6,50 (s, 2H)	-
11	-	-	-	-	3,33 (s, 3H)	43,0

Fonte: dados da pesquisa.

Resultados e discussão

Através do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-IMetS (7) (Espectro 12 e 13), observou-se deslocamentos químicos em δ 7,69 e δ 7,51 ppm, dois dupletos, referentes aos hidrogênios das posições 3 e 4 respectivamente. Em δ 9,76 ppm o deslocamento químico é correspondente ao hidrogênio pertencente ao hidrogênio da função aldeído (hidrogênio da posição 6).

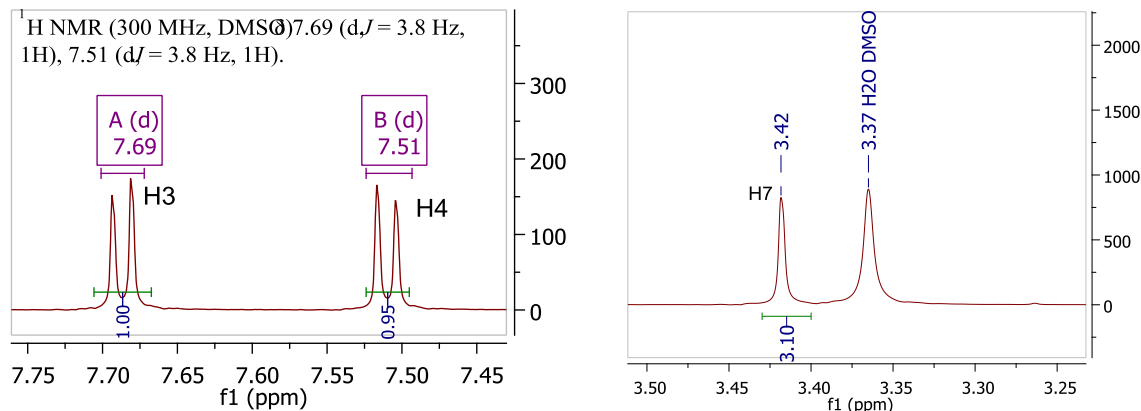
Espectro 12 - Espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-IMetS (7) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

Resultados e discussão

Espectro 13—Ampliações do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-IMetS (7) - regiões entre 7,45 e 7,75 ppm e 3,25 e 3,50 ppm (DMSO).

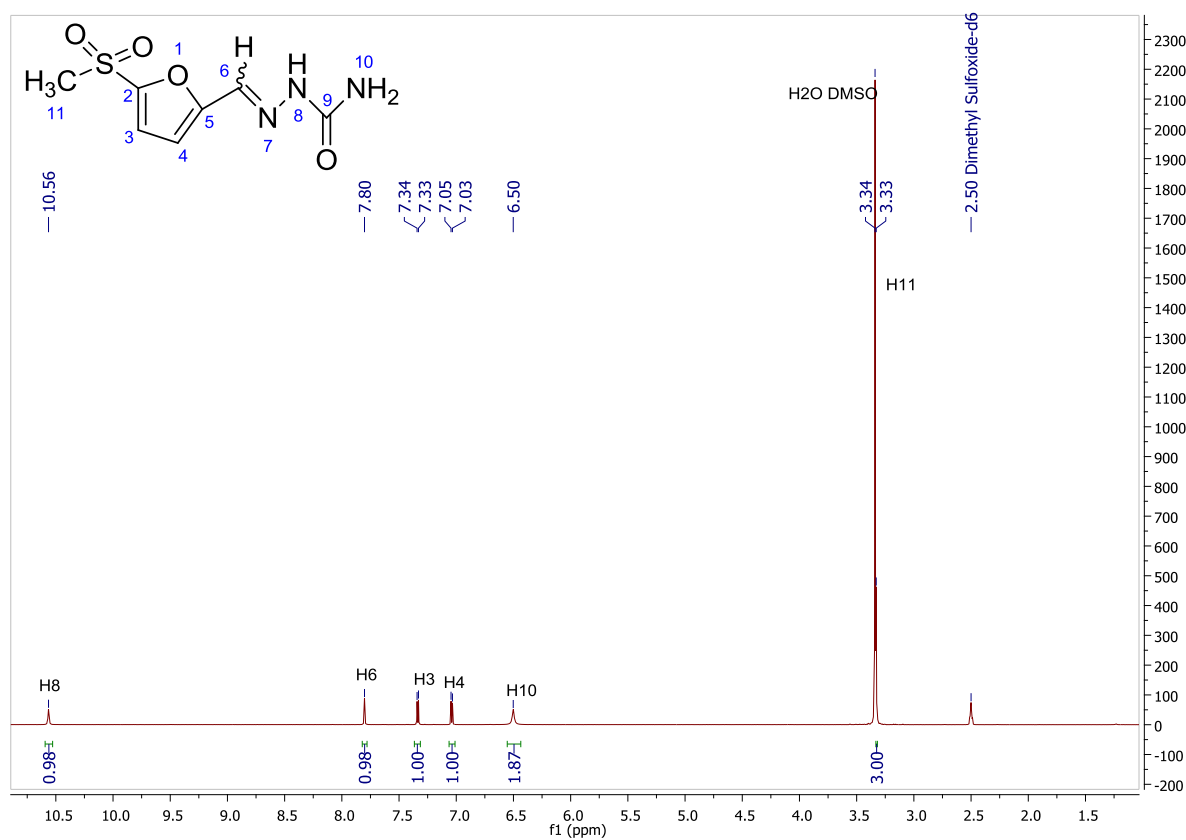


Fonte: dados da pesquisa.

O espectros 14, 15 e 16 de RMN de ^1H do composto final Lapdesf-MetSFS (8), apresentam deslocamento químico em δ 7,80 ppm que sugere a formação da ligação imínica, conforme discutido anteriormente. Além disso, observa-se deslocamento químico em δ 3,33 ppm, que integra para três átomos de hidrogênio, possivelmente os hidrogênios da posição 11. É possível verificar ainda, em δ 7,34 e 7,04 ppm dois dupletos com constante de acoplamento (J) de 3,7 Hz referentes aos hidrogênios das posições 3 e 4 (anel furânico), além disso, o deslocamento químico em δ 6,50 ppm, simpleto integrando para dois hidrogênios que foram atribuídos à posição 10.

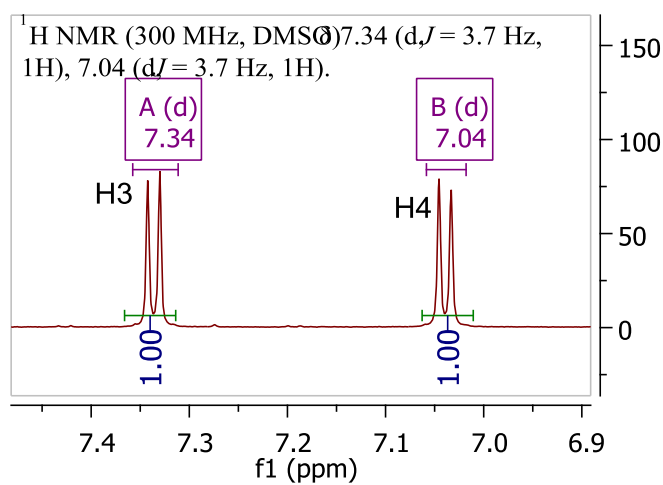
Resultados e discussão

Espectro 14 - Espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-MetSFS (**8**) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

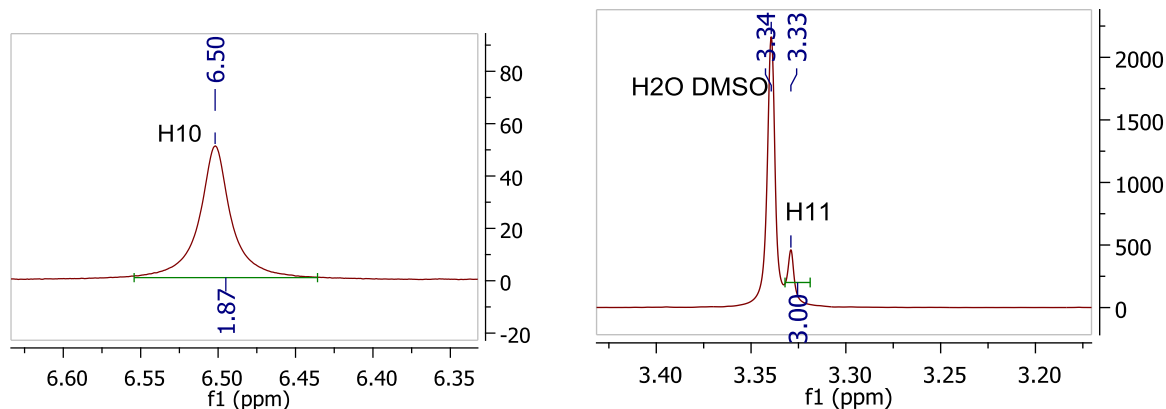
Espectro 15 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-MetSFS (**8**) - regiões entre 6,90 e 7,50 ppm (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

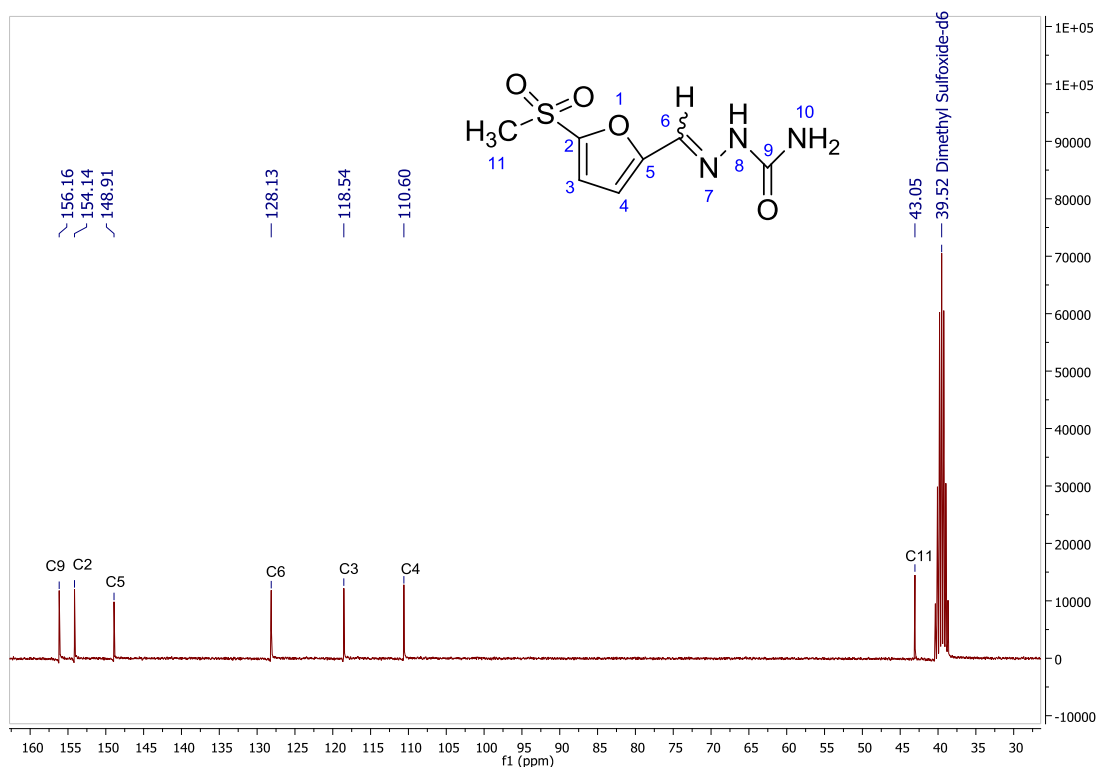
Resultados e discussão

Espectro 16—Ampliação do espectro de RMN de ^1H do Lapdesf-MetSFS (**8**) - regiões entre 6,40 e 6,65 ppm e 3,20 e 3,45 ppm (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

Através do espectro de RMN de ^{13}C do composto Lapdesf-MetSFS (**8**) (Espectro 17) é possível identificar os deslocamentos químicos em δ 43,0 ppm atribuído ao carbono da posição 11, correspondente à metila, em δ 154,1, δ 118,5, δ 110,6 e δ 148,9 ppm referentes às posições dos carbonos 2, 3, 4 e 5.

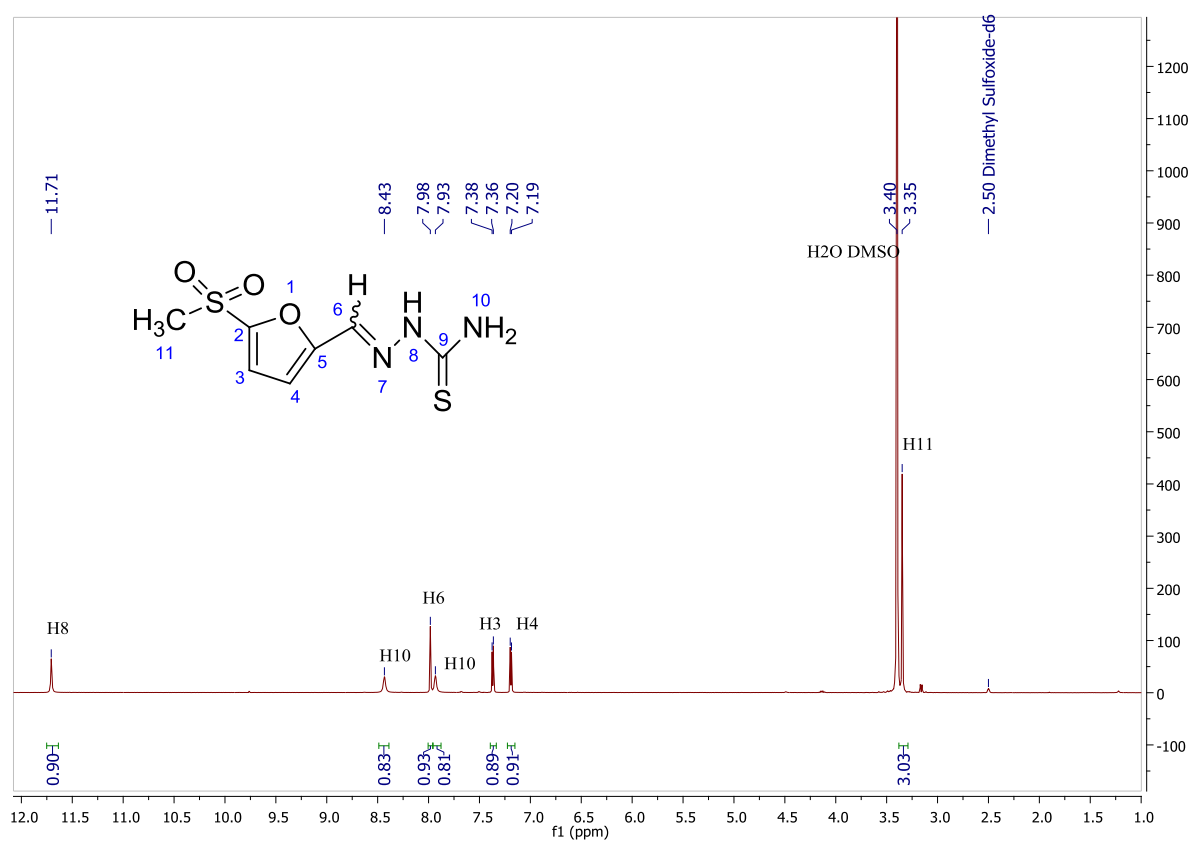
Espectro 17 - Espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-MetSFS (8) (DMSO).

Fonte: dados da pesquisa.

Com relação ao espectro de RMN ^1H do composto Lapdesf-MetSFS (9) (Espectros 18, 19 e 20), observou-se também deslocamento químico referente aos hidrogênios da posição 10 em δ 8,43 ppm e δ 7,83 ppm. Os hidrogênios no anel furânico aparecem em deslocamentos químicos δ 7,38 ppm, δ 7,20 ppm, referentes às posições 3 e 4 respectivamente.

Resultados e discussão

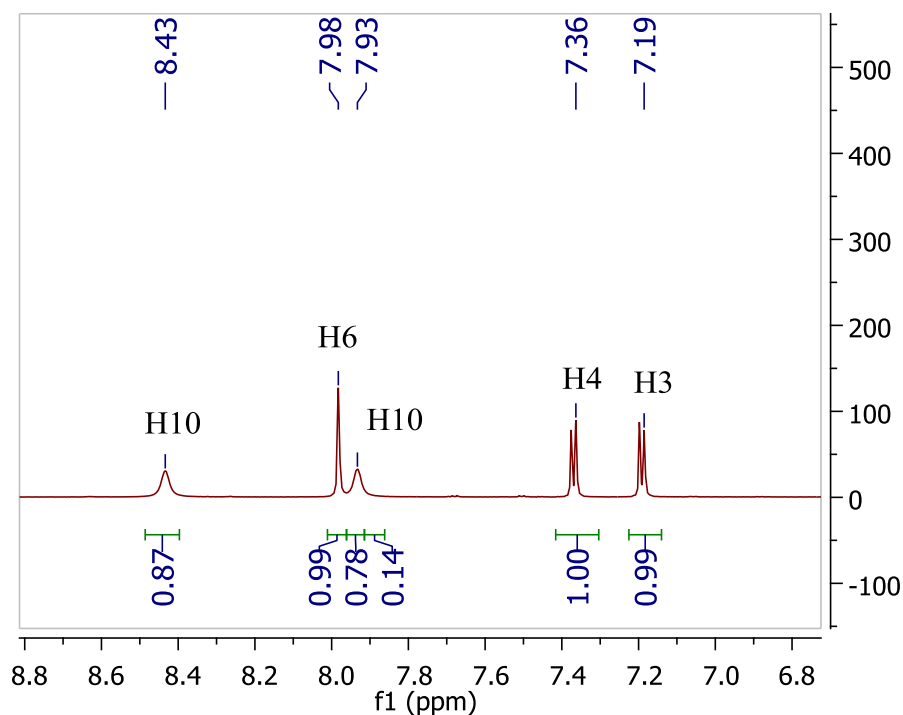
Espectro 18 - Espectro de RMN ^1H do Lapdesf-MetSFTS (**9**) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

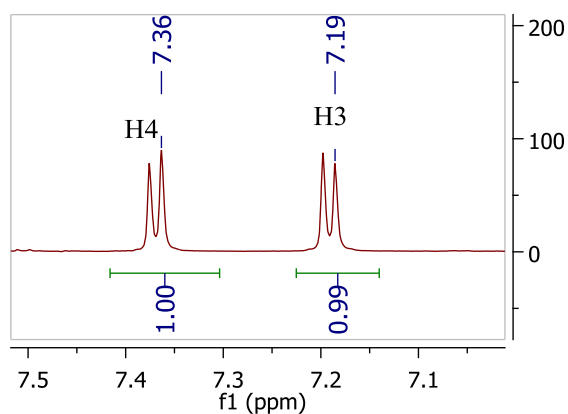
Resultados e discussão

Espectro 19 - Espectro de RMN ^1H do Lapdesf-MetSFTS (**9**) - ampliação da região entre 7,1 ppm e 8,5 ppm (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 20 - Ampliação do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-MetSFTS (**9**) - regiões entre 7,18 ppm e 7,42 ppm (DMSO).



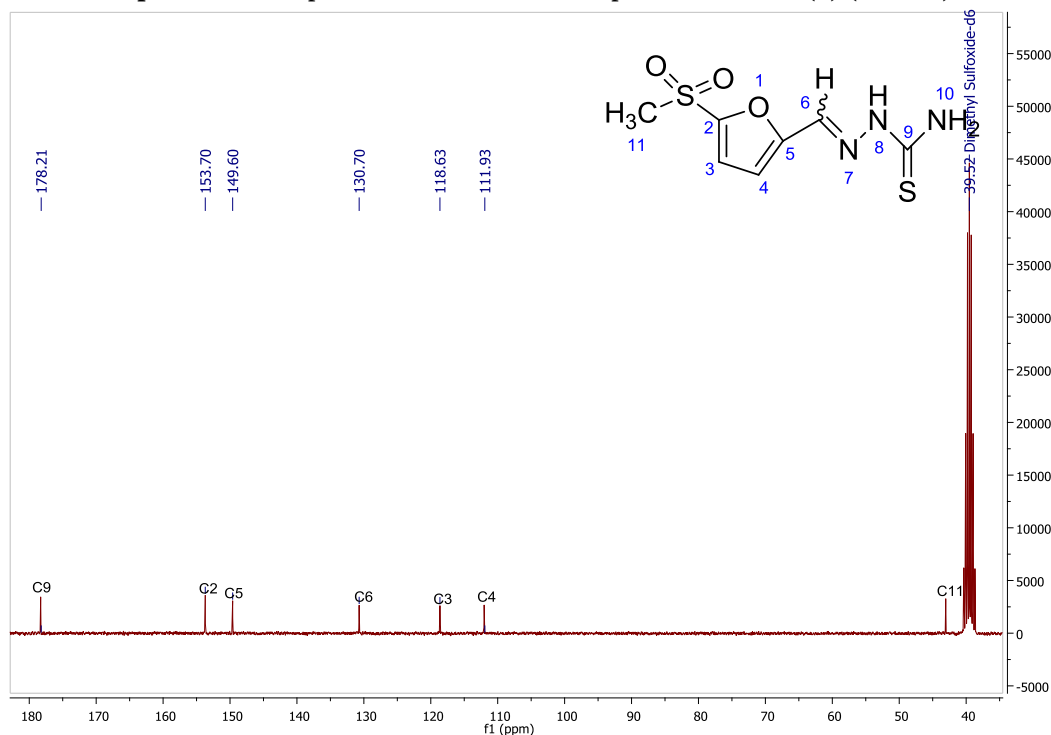
Fonte: dados da pesquisa.

A partir do espectro de RMN ^{13}C do composto Lapdesf-MetSFTS (**9**) (Espectro 21) foi possível observar ainda deslocamentos químicos referente aos carbonos do anel furânico, em

Resultados e discussão

δ 153,7 ppm, δ 118,6 ppm, 111,0 ppm e δ 149,6 ppm das posições 2, 3, 4 e 5, respectivamente. Além do carbono metilênico que aparece em deslocamento químico δ 43,0 ppm.

Espectro 21 - Espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-MetSFTS (**9**) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

5.1.3 Síntese e elucidação estrutural do Lapdesf-HMFS (2-((5-(hidroximetil)furan-2-il)metileno)hidrazinacarboxamida) (**11**) e Lapdesf-HMFTS (2-((5-(hidroximetil)furan-2-il)metileno)hidrazinacarbotoamida) (**12**)

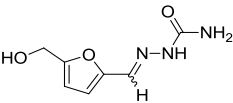
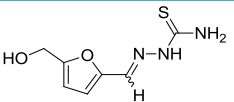
O composto Lapdesf-HMFS (**11**) apresentou-se como um sólido levemente amarelado, com R_f 0,60, faixa de fusão entre 196°C a 200°C, e o rendimento global foi de 50%. Já o composto Lapdesf-HMFTS (**12**) apresentou-se como um sólido brilhante, levemente amarelado, R_f 0,60, faixa de fusão entre 181°C a 186°C e rendimento global de 83%.

Comparando as metodologias de obtenção do Lapdesf-HMFS (**11**), conforme se observa na tabela 8, é possível inferir a respeito da importância do excesso de um dos reagentes aumentando o rendimento reacional, por outro lado, analisando a obtenção do

Resultados e discussão

Lapdesf-HMFTS (12), o mesmo não ocorre com a tiossemicarbazida. Com relação às faixas de fusão, para os compostos Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12) verificou-se equivalência aos mesmos já descritos na literatura, por Bosquesi (2009) e Gardner e colaboradores (1951), respectivamente.

Tabela 8 - Comparação dos parâmetros sintéticos em relação às metodologias empregadas na obtenção do Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12).

Parâmetros reacionais	 Lapdesf-HMFS (11)		 Lapdesf-HMFTS (12)	
	Obtido	Bosquesi (2009)	Obtido	Gardner et al. (1951)
Proporção de reagentes (aldeído: amina) (mols)	1 :1,5	1 :2	1 :1	1,1 :1
Meio reacional	metanol e água com acetato de sódio	metanol e água com acetato de sódio	metanol e água com ácido acético	etanol e água com ácido acético
Temperatura	0°C	0°C	0°C	aquecimento
Tempo de reação	1 hora	instantânea	1 hora	1 horas
Rendimento global obtido	50%	59%	83%	76%
Remoção de impurezas	lavagem com éter etílico	cristalização com água destilada	lavagem com éter etílico	recristalização em etanol
Faixa de fusão do produto obtido	196-200°C	196-199°C	181-186°C	190°C

Fonte: dados da pesquisa.

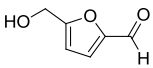
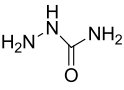
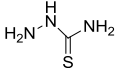
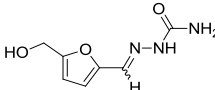
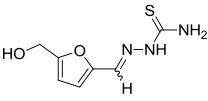
5.1.3.1 Análise de absorção nas regiões de infravermelho do Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12)

A tabela 9 apresenta a comparação dos dados de absorção na região de infravermelho dos compostos e dos reagentes utilizados. Pode-se observar que ambos os compostos, Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12), apresentaram banda de estiramento em 1600

Resultados e discussão

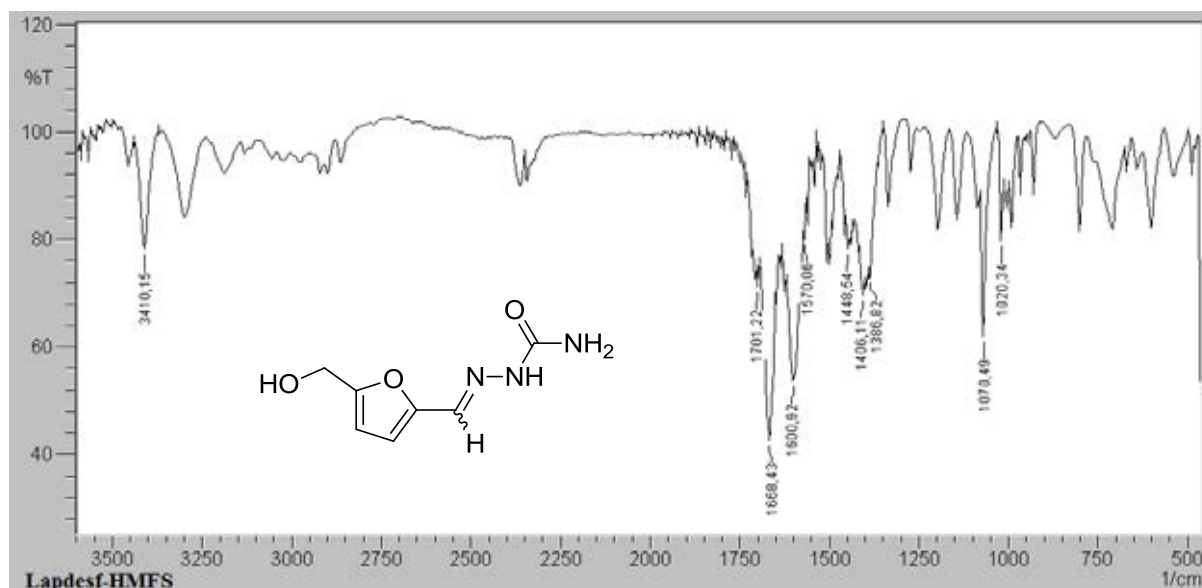
cm^{-1} , referente à ligação C=N (imina) e a ausência de banda de deformação axial referente à ligação C-H do aldeído.

Tabela 9 - Comparação dos valores de absorção na região de infravermelho do Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12).

Grupo funcional $\nu \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	 5-hidroximetil-2-furaldeído (10)	 Cloridrato de semicarbazida (2)	 Tiossemicarbazida (4)	 Lapdesf-HMFS (11)	 Lapdesf-HMFTS (12)
C=O	1670	1683	-	1668	-
N-H primária	-	3309, 3255	3261, 3178	3300, 3200	3317, 3149
N-H secundária	-	3421	3369	3410	-
C=N	-	-	-	1600	1600
C=C aromático	-	-	-	-	-
C=S	-	-	1001	-	1008
N-N	-	1521	1533	-	1558
C-H aldeído	2846	-	-	-	-
O-H	3327				3437

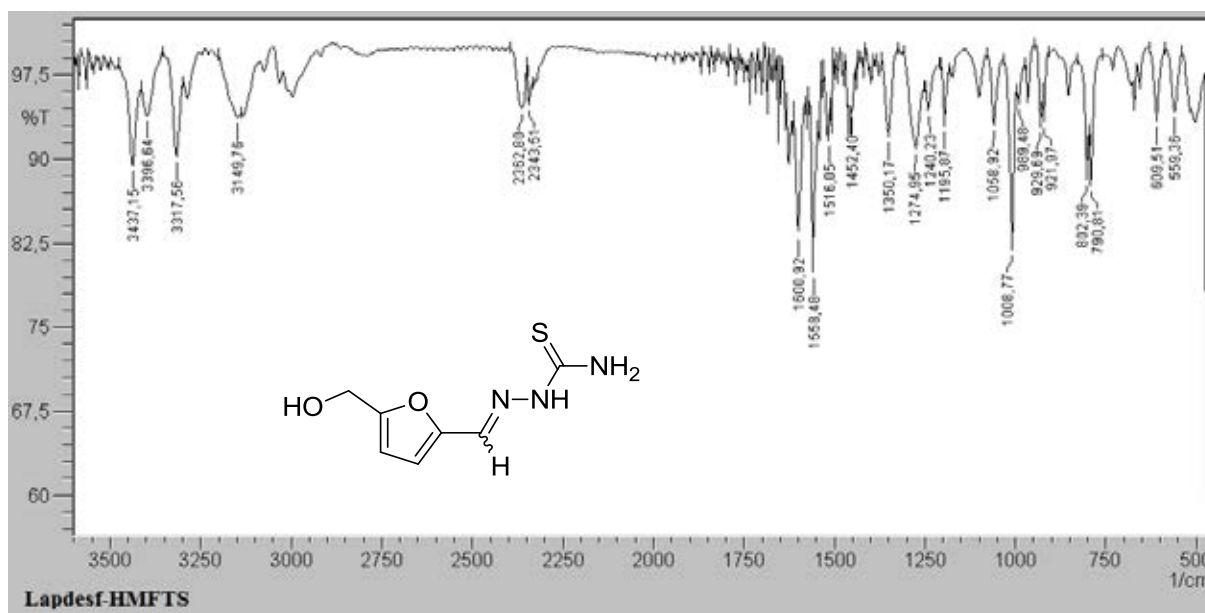
Fonte: dados da pesquisa.

Através do espectro de absorção na região de infravermelho do composto Lapdesf-HMFS (11) (Espectro 22), observou-se também estiramento referente à ligação C=O em 1675 cm^{-1} , estiramento em 3300 cm^{-1} e 3200 cm^{-1} , assimétrico e simétrico, respectivamente, referentes à ligação N-H da amida primária. Além disso, observa-se estiramento referente à ligação N-H secundária em 3410 cm^{-1} .

Espectro 22 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-HMFS (11).

Fonte: dados da pesquisa.

Quanto ao espectro de absorção na região de infravermelho do composto Lapdesf-HMFTS (12) (Espectro 23), além dos estiramentos já discutidos, verificou-se deformação axial referente a C=S em 1008 cm^{-1} . Ainda, estiramento em 3317 cm^{-1} (assimétrico) e em 3149 cm^{-1} (simétrico), referentes à ligação N-H, em 1558 cm^{-1} deformação axial da ligação N-N e a banda de OH com estiramento em 3437 cm^{-1} .

Espectro 23 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-HMFTS (12).

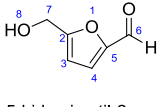
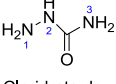
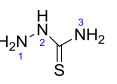
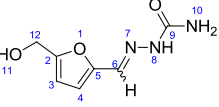
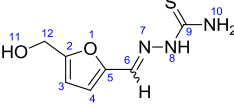
Fonte: dados da pesquisa.

5.1.3.2 Análise de ressonância magnética nuclear do Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12)

Na tabela 10 são apresentados os deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C obtidos para os compostos Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12). Comparando os dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C dos compostos foi possível observar deslocamentos químicos referente ao hidrogênio e carbono da posição 6 em δ 7,72; 130,1 ppm e δ 7,93; 132,7 ppm, respectivamente, os quais correspondem à formação da ligação imina. Os deslocamentos químicos de RMN de ^1H dos hidrogênios da posição 8 dos compostos Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12) aparecem, respectivamente, em δ 10,22 e δ 11,39 ppm. Além disso, os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C referentes aos carbonos da carbonila e tiocarbonila (carbono da posição 9) dos compostos Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12) aparecem em deslocamentos químicos em δ 156,7 e δ 177,6 ppm, respectivamente.

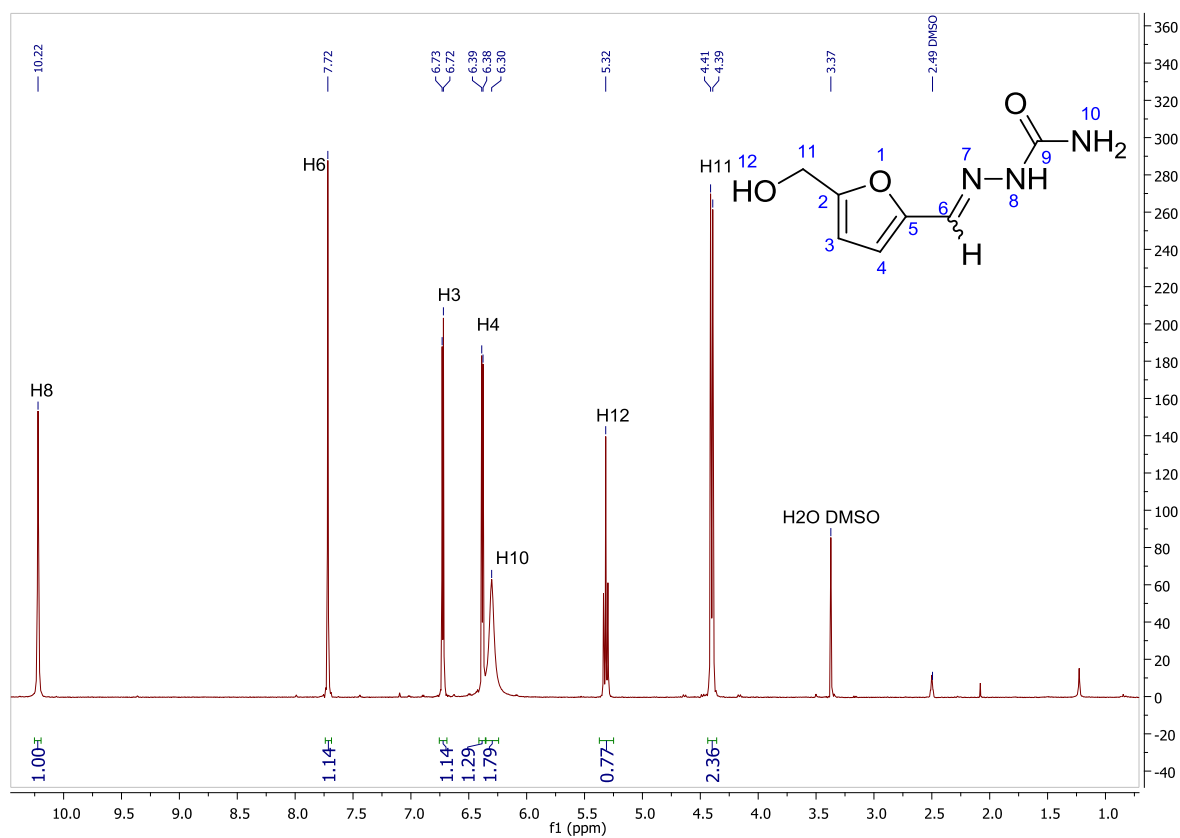
Resultados e discussão

Tabela 10 - Deslocamentos químicos referentes à RMN ^1H e ^{13}C do Lapdesf-HMFS (11) e Lapdesf-HMFTS (12).

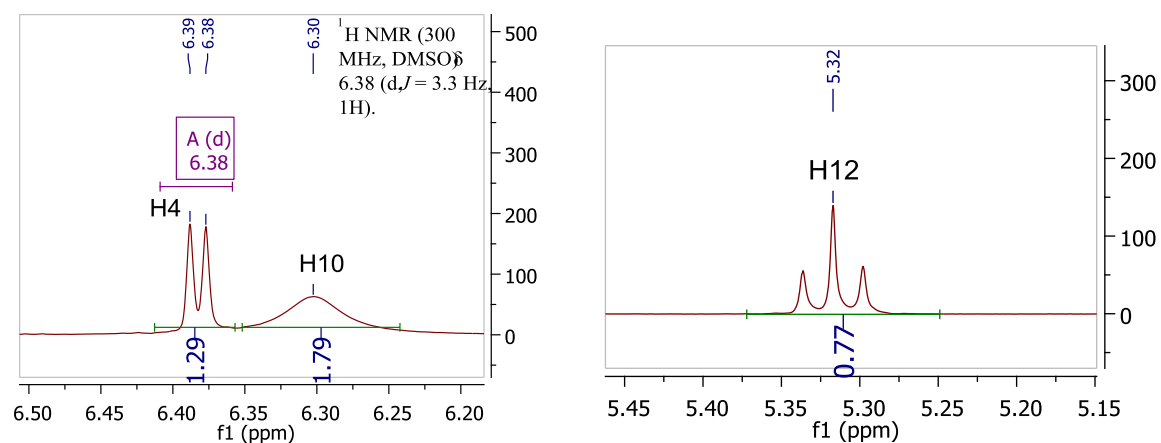
Posição	 5-hidroxiometil-2-furaldeído (10)	 Cloridrato de semcarbazona (2)	 Tiossemicarbazida (4)	 Lapdesf-HMFS (11)		 Lapdesf-HMFTS (12)	
	^1H δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)
1	-	9,99 (s, 2H)	7,16(s, 2H)	-	-	-	-
2	-	8,87 (s, 1H)	8,60/4,48 (s/s, 1H)	-	149,0	-	148,5
3	7,49 (d, J= 3,5 Hz, 1H)	6,65 (s, 2H)	7,52 (s, 1H/s, 2H)	6,73 (d, J=3,3Hz, 1H)	111,9	6,89 (d, J=3,4 Hz, 1H)	113,7
4	6,60 (d, J= 3,5 Hz, 1H)	-	-	6,38 (d, J=3,3 Hz, 1H)	109,1	6,43 (d, J= 3,4 Hz, 1H)	109,4
5	-	-	-	-	156,5	-	157,6
6	9,54 (s, 1H)	-	-	7,72 (s, 1H)	130,1	7,93 (s, 1H)	132,7
7	4,50 (d, 5,1 Hz, 2H)	-	-	-	-	-	-
8	5,58 (t, 1H)	-	-	10,22 (s, 1H)	-	11,39 (s, 1H)	-
9	-	-	-	-	156,7	-	177,6
10	-	-	-	6,30 (s, 2H)	-	8,17/7,55 (s/s, 1H/1H)	-
11	-	-	-	5,32 (t, 1H)	-	5,33 (s, 1H)	-
12	-	-	-	4,40 (d, J= 5,7 Hz, 2H)	55,7	4,42 (s, 2H)	55,7

Fonte: dados da pesquisa.

Pela análise de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do composto Lapdesf-HMFS (11) (Espectro 24) observa-se deslocamento químico em δ 4,40 ppm, que se apresenta como um duplete (J=5,7 Hz) atribuído ao hidrogênio da hidroxila na posição 12. Em δ 6,30 ppm deslocamento químico atribuído ao hidrogênio da amida primária, na posição 10 e em δ 5,32 ppm deslocamento químico referente aos hidrogênios da posição 11. Os hidrogênios 3 e 4 do anel furânico foram atribuídos aos dupletos com deslocamentos químicos em δ 6,73 ppm e δ 6,38 ppm, respectivamente, apresentando a mesma constante de acoplamento (J=3,3 Hz).

Espectro 24- Espectro de RMN ^1H do Lapdesf-HMFS (**11**) (DMSO).

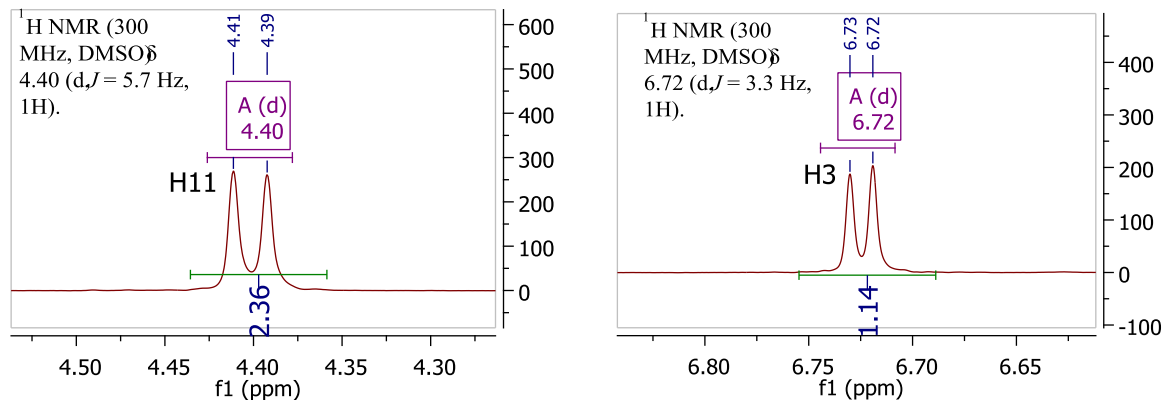
Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 25—Ampliações do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-HMFS (**11**) - regiões entre 6,20 e 6,50 ppm e 5,15 e 5,45 ppm (DMSO).

Fonte: dados da pesquisa.

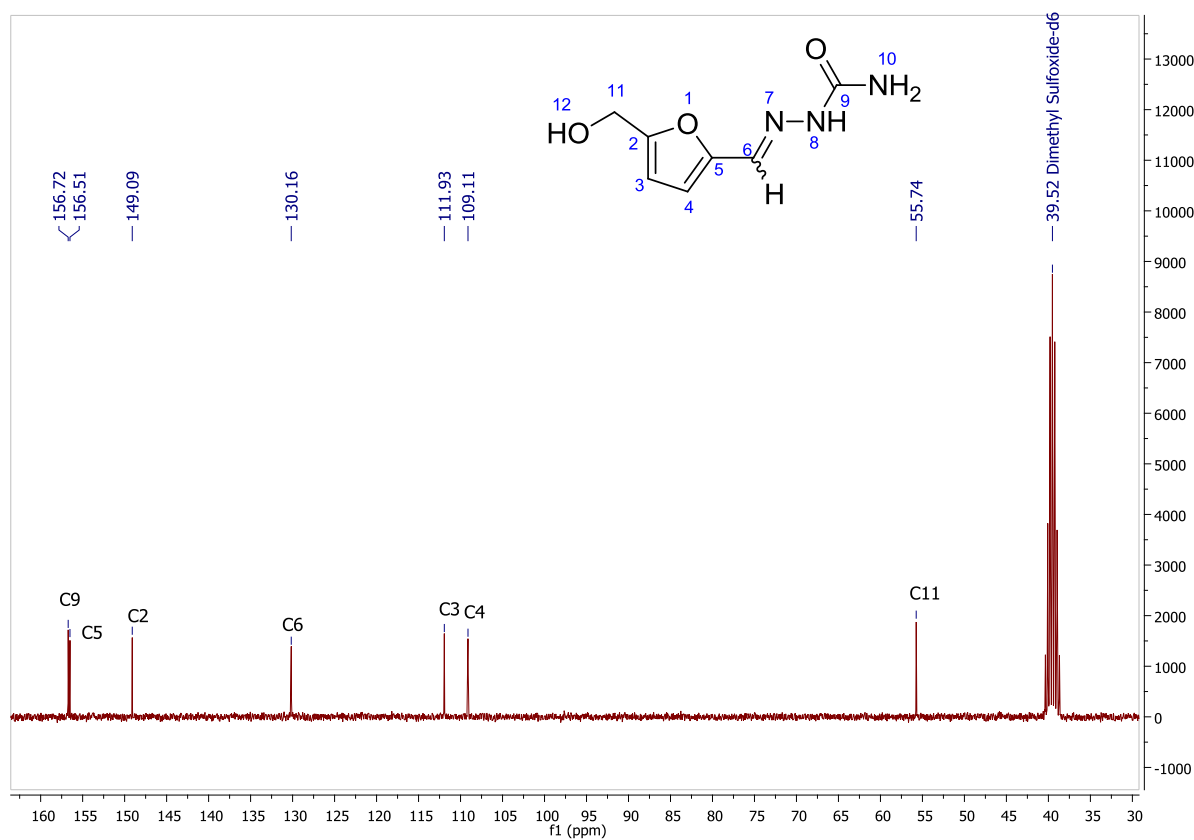
Resultados e discussão

Espectro 26—Ampliações do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-HMFS (**11**) - regiões entre 4,32 e 4,52 ppm e 6,67 e 6,82 ppm (DMSO).

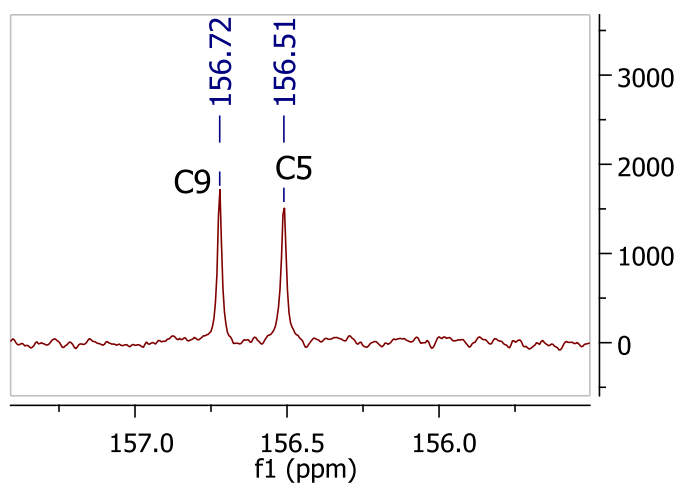


Fonte: dados da pesquisa.

A partir do espectro de RMN ^{13}C do composto Lapdesf-HMFS (**11**) (Espectro 27) foi possível atribuir todos os sinais referentes aos átomos de carbono presentes no composto. Verificou-se em δ 156,5, δ 111,9, δ 109,1, δ 149,0 ppm deslocamentos químicos correspondentes aos carbonos do anel furânico, das posições 2, 3, 4, e 5, respectivamente. O carbono da posição 11, referente à metila foi atribuído com deslocamento químico em δ 55,7 ppm.

Espectro 27 - Espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-HMFS (**11**) (DMSO).

Fonte: dados da pesquisa.

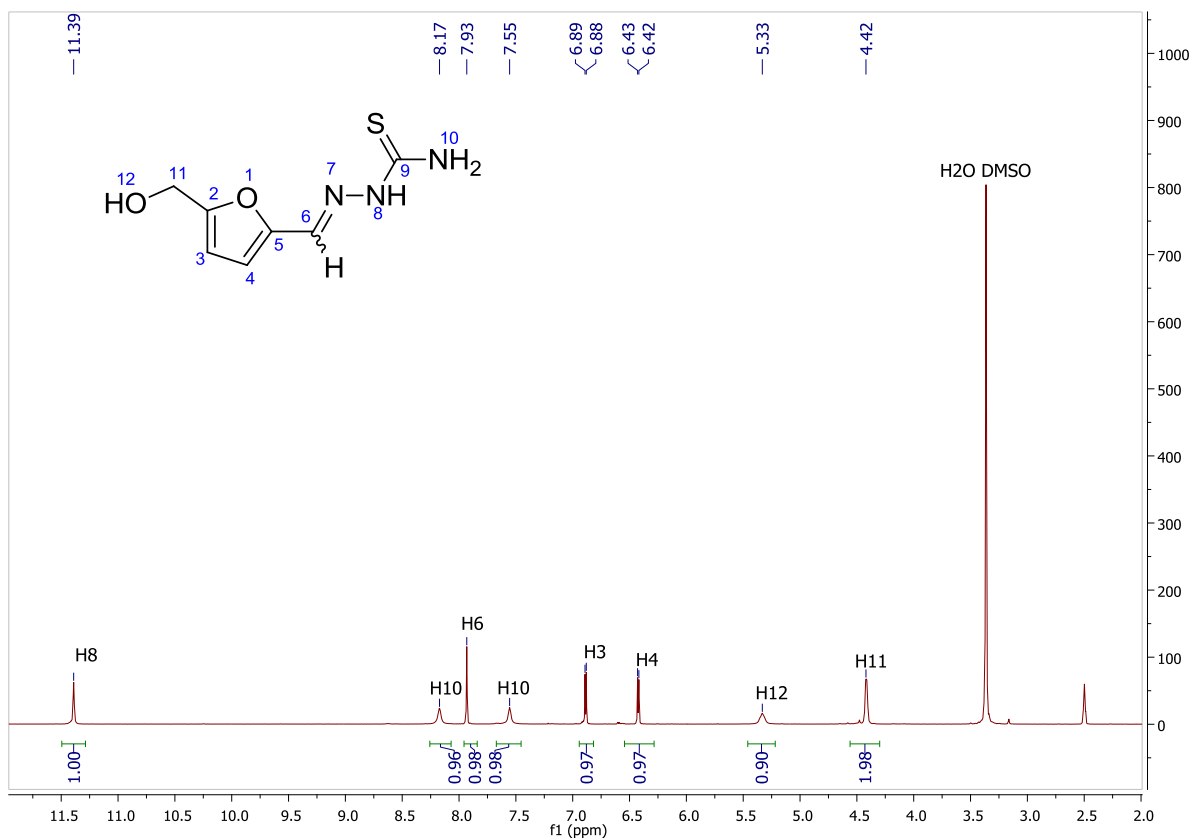
Espectro 28 - Ampliação do espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-HMFS (**11**) - regiões entre 155,5 e 159,5 ppm (DMSO).

Fonte: dados da pesquisa.

Resultados e discussão

Com relação aos dados obtidos através do espectro de RMN ^1H do composto Lapdesf-HMFTS (**12**) (Espectros 29, 30), observou-se em δ 8,17 e δ 7,55 ppm deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios da posição 10, que não são equivalentes, conforme discutido anteriormente. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios do anel furânico aparecem em δ 6,89 ppm e δ 6,43 ppm, referentes às posições 3 e 4, respectivamente, apresentados como dois dupletos ($J=3,4$ Hz). Foi possível verificar ainda, deslocamentos químicos dos hidrogênios do grupo metil em δ 4,42 ppm, referente à posição 12 e o deslocamento químico pertencente ao hidrogênio da hidroxila em δ 5,33 ppm, correspondente à posição 11.

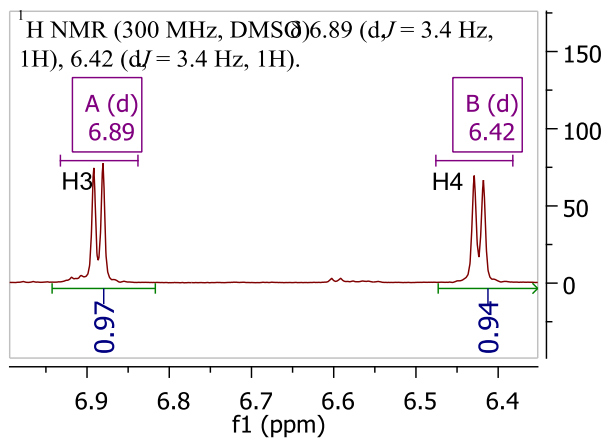
Espectro 29 - Espectro RMN ^1H do Lapdesf-HMFTS (**12**) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

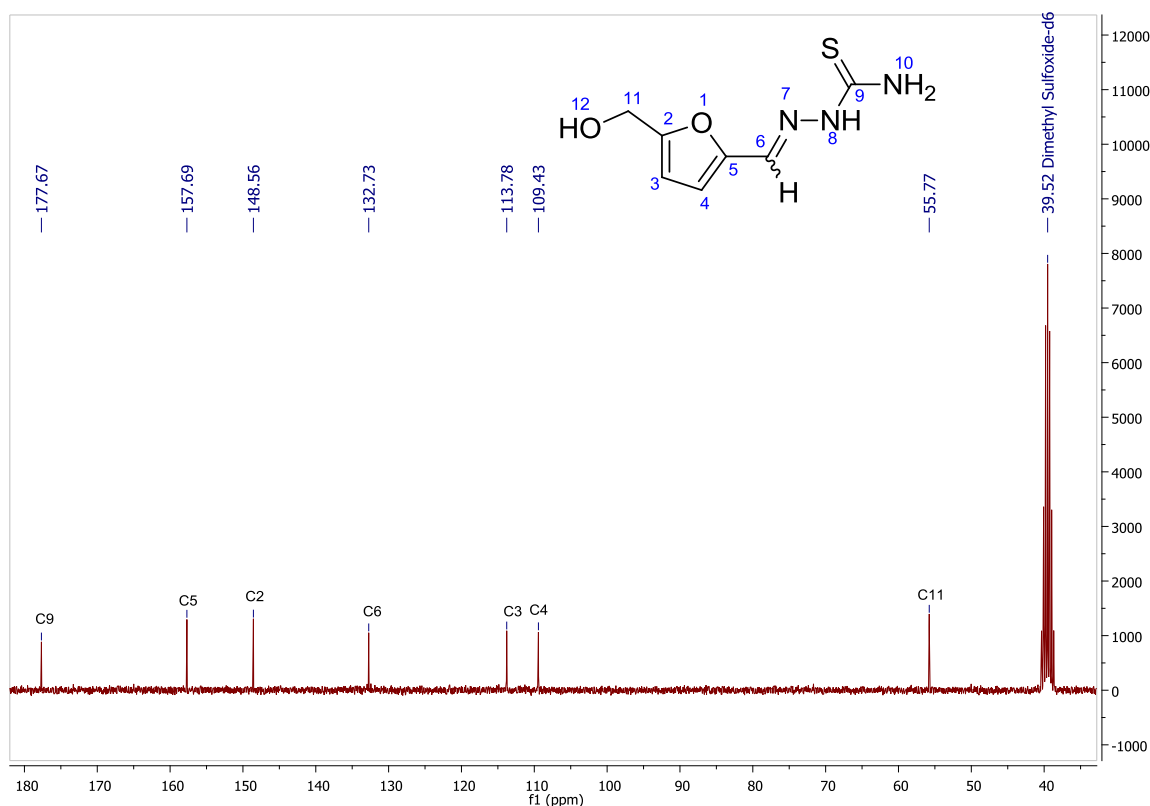
Resultados e discussão

Espectro 30 - Ampliação do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-HMFTS (**12**) - regiões entre 6,30 e 7,00 ppm (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

Através do espectro de RMN ^{13}C do composto Lapdesf-HMFTS (**12**) (Espectro 31) foi possível identificar os sete átomos de carbono presentes na molécula. Atribuiu-se em δ 55,7 ppm deslocamento químico referente ao carbono da posição 12, do carbono metilênico. Os carbonos pertencentes ao anel furânico são vistos em deslocamentos químicos de δ 156,7, δ 113,7, δ 109,4 e δ 148,5 ppm correspondentes aos carbonos das posições 2, 3, 4 e 5, respectivamente.

Espectro 31 - Espectro RMN ^{13}C do Lapdesf-HMFTS (**12**) (DMSO).

Fonte: dados da pesquisa.

5.1.4 Síntese e elucidação estrutural do Lapdesf-BrFS (2-((5-bromofuran-2-il)metileno)hidrazinacarboxamida) (**13**) e Lapdesf-BrFTS (2-((5-bromofuran-2-il)metileno)hidrazinacarbotoamida) (**14**)

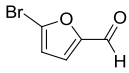
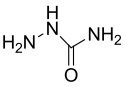
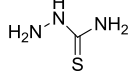
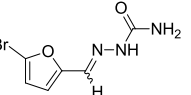
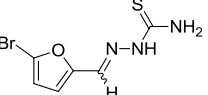
O composto Lapdesf-BrFS (**13**) apresentou-se como um sólido branco, com R_f 0,11 em fase móvel 60:40 acetato de etila:hexano, o rendimento global foi de 74% e a faixa de decomposição foi de 158 °C a 176 °C. Embora este composto já tenha sido descrito na literatura (RAFFAUF, 1950), o trabalho em questão não traz informações referentes à sua obtenção que sejam passíveis de comparação com a metodologia obtida.

Já no caso do composto Lapdesf-BrFTS (**14**), este se apresentou como um sólido rosado, com faixa de fusão entre 63 °C e 68 °C e R_f 0,76, com rendimento global de 24% e embora o compostos tenha sido descrito na literatura por Ivanov e Donova (1957), não se obteve acesso ao trabalho a fim de possibilitar comparação metodológica.

5.1.4.1 Absorção na região do infravermelho do Lapdesf-BrFS (13) e Lapdesf-BrFTS (14)

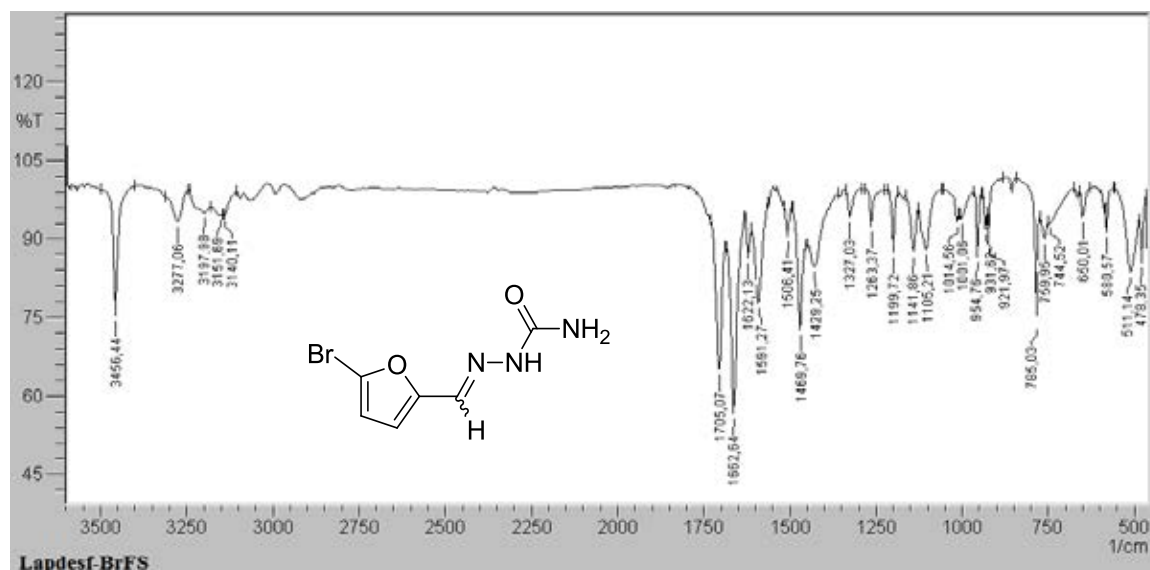
A Tabela 11 apresenta a comparação dos valores de absorção na região de infravermelho dos compostos Lapdesf-BrFS (13) e Lapdesf-BrFTS (14). Verificam-se em 1662 cm^{-1} e 1589 cm^{-1} bandas de estiramento referentes à ligação imina, identificando a possível formação dos compostos Lapdesf-BrFS (13) e Lapdesf-BrFTS (14), respectivamente. Além disso, é possível observar a ausência da banda C-H aldeído nos espectros de infravermelho.

Tabela 11 - Comparação dos valores de absorção na região de infravermelho do Lapdesf-BrFS (13) e Lapdesf-BrFTS (14).

Grupo funcional $\nu\text{ (cm}^{-1}\text{)}$	 5-bromo-2-furaldeído (6)	 Cloridrato de semicarbazida (2)	 Tiossemicarbazida (4)	 Lapdesf-BrFS (13)	 Lapdesf-BrFTS (14)
C=O	1670	1683	-	1705	-
N-H primária	-	3309, 3255	3261, 3178	3277, 3197	3352, 3161
N-H secundária	-	3421	3369	3456	3460
C=N	-	-	-	1662	1589
C=C aromático	1458	-	-	1469	1438
C=S	-	-	1001	-	-
S-H	-	-	-	-	2358
N-N	-	1521	1533	-	1533
C-H aldeído	2848	-	-	-	-

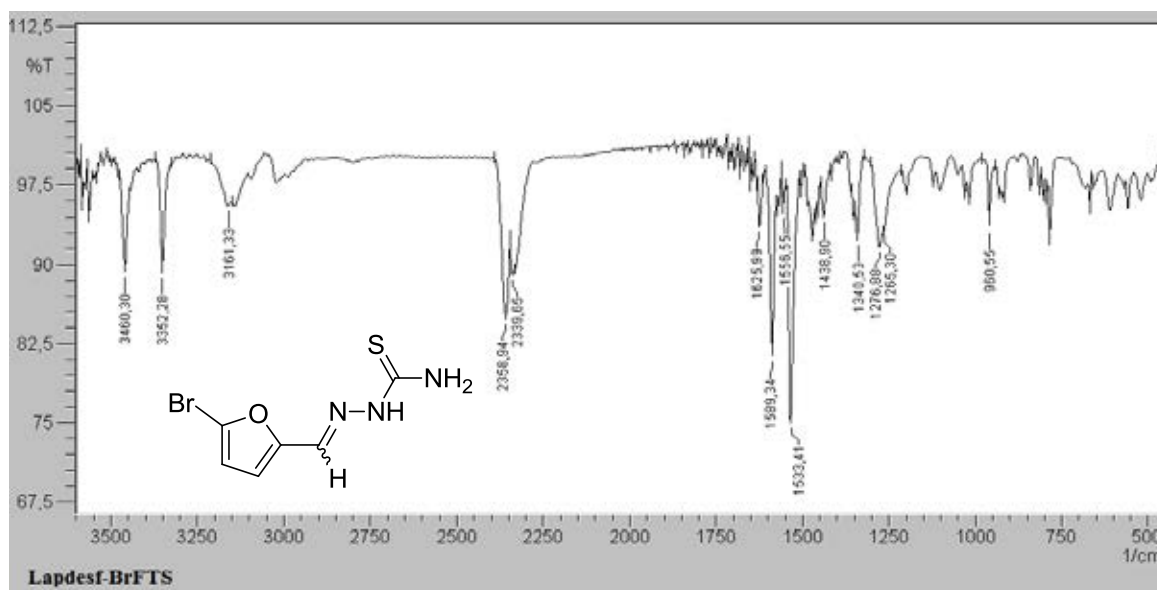
Fonte: dados da pesquisa.

Através do espectro de absorção na região de infravermelho do Lapdesf-BrFS (13) (Espectro 32), verificou-se estiramento da ligação C=O em 1705 cm^{-1} . Ainda, estiramento em 3277 cm^{-1} assimétrico e em 3197 cm^{-1} simétrico referentes à ligação N-H da amida primária, e em 3455 cm^{-1} estiramento referente à ligação N-H secundária. Em 1469 cm^{-1} observou-se, ainda, estiramento referente à ligação C=C do anel aromático.

Espectro 32 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-BrFS (13).

Fonte: dados da pesquisa.

Através da análise de absorção em infravermelho do Lapdesf-BrFTS (14) (Espectro 33) foi possível identificar em 2358 cm^{-1} deformação axial sugestiva do tautômero em sua forma tiol (S-H), conforme descrito por Tenório et al. (2005). Observa-se ainda ausência da banda C=S entre $1028\text{--}1081\text{ cm}^{-1}$ e em 3352 cm^{-1} deformação axial assimétrica e simétrica em 3161 cm^{-1} da ligação N-H. Em 3460 cm^{-1} observa-se estiramento correspondente à ligação N-H secundária.

Espectro 33 - Espectro na região de infravermelho do Lapdesf-BrFTS (**14**).

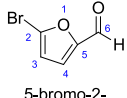
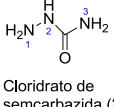
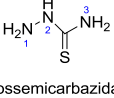
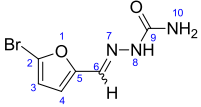
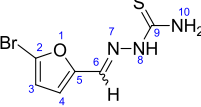
Fonte: dados da pesquisa.

5.1.4.2 Análise de ressonância magnética nuclear do Lapdesf-BrFS (**13**) e Lapdesf-BrFTS (**14**)

A Tabela 13 apresenta os deslocamentos químicos obtidos através do espectro de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos Lapdesf-BrFS (**13**) e Lapdesf-BrFTS (**14**). Comparando os dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C dos compostos Lapdesf-BrFS (**13**) e Lapdesf-BrFTS (**14**), respectivamente, foi possível observar deslocamentos químicos referente ao hidrogênio e carbono da posição 6 em δ 7,67; 128,8 ppm e δ 7,88; 131,3 ppm, respectivamente, os quais correspondem à formação da ligação imina. Os deslocamentos químicos de RMN de ^1H dos hidrogênios da posição 8 dos compostos Lapdesf-BrFS (**13**) e Lapdesf-BrFTS (**14**) aparecem, respectivamente, em δ 10,30 e δ 11,47 ppm. Além disso, os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C referentes aos carbonos da carbonila e tiocarbonila (carbono da posição 9) dos compostos Lapdesf-BrFS (**13**) e Lapdesf-BrFTS (**14**) em δ 156,4 e δ 177,8 ppm, respectivamente.

Resultados e discussão

Tabela 12 - Deslocamentos químicos referentes à RMN ^1H e ^{13}C dos Lapdesf-BrFS (**13**) e Lapdesf-BrFTS (**14**).

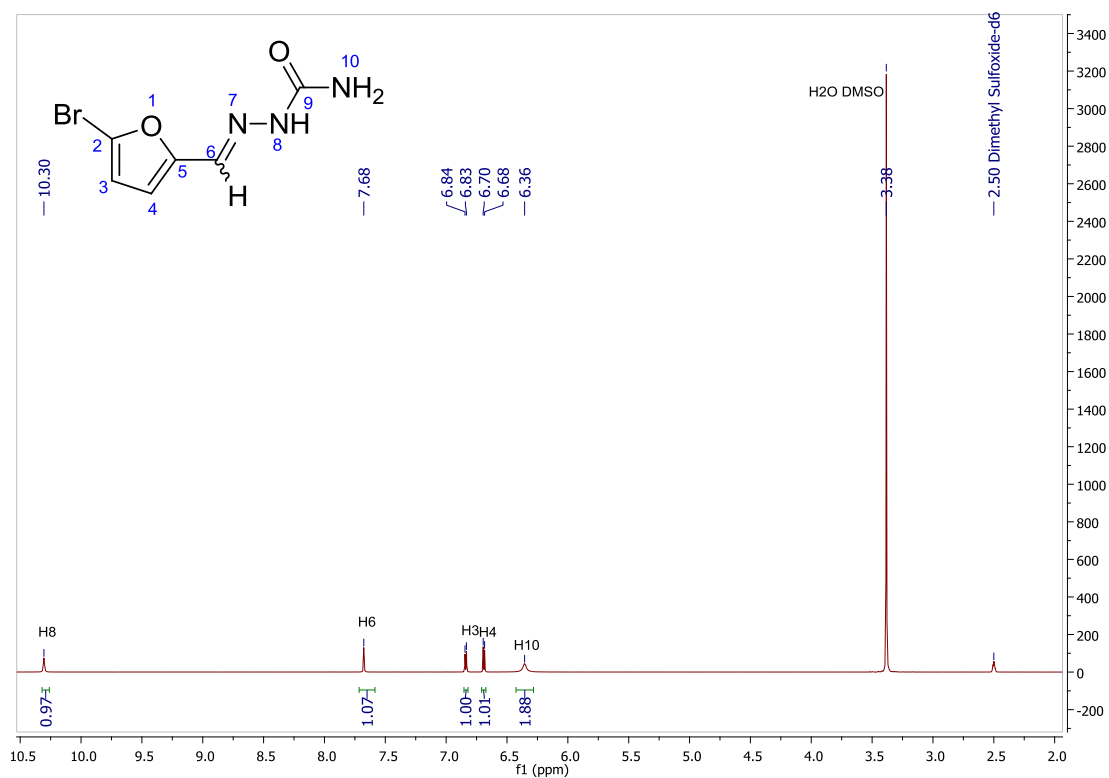
Posição	 5-bromo-2-furaldeído (6)	 Cloridrato de semcarbazida (2)	 Tiossemicarbazida (4)	 Lapdesf-BrFS (13)	 Lapdesf-BrFTS (14)		
	¹ H δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹³ C δ (ppm)	¹ H δ (ppm)	¹³ C δ (ppm)
1	-	9,99 (s, 2H)	7,16(s, 2H)	-	-	-	-
2	-	8,87 (s, 1H)	8,60/4,48 (s/s, 1H)	-	151, 9	-	151,4
3	7,57 (d, J= 3,7 Hz, 1H)	6,65 (s, 2H)	7,52 (s, 1H/s, 2H)	6,83 (d, J=3,5Hz, 1H)	114,0	7,00 (d, J=3,5 Hz, 1H)	115,3
4	6,95 (d, J= 3,7 Hz, 1H)	-	-	6,68 (d, J=3,5 Hz, 1H)	113,5	6,74 (d, J= 3,5 Hz, 1H)	114,4
5	-	-	-	-	123,0	-	124,1
6	9,48 (s, 1H)	-	-	7,67 (s, 1H)	128,8	7,88 (s, 1H)	131,3
8	-	-	-	10,30 (s, 1H)	-	11,47 (s, 1H)	-
9	-	-	-	-	156,4	-	177,8
10		-	-	6,35 (s, 2H)	-	8,24/7,68 (s/s, 1H/1H)	-

Fonte: dados da pesquisa.

Além dos deslocamentos químicos citados anteriormente, observou-se através dos espectros de RMN ^1H do Lapdesf-BrFS (**13**) (Espectros 34 e 35) observou-se em δ 6,83 ppm e δ 6,68 ppm deslocamentos químicos correspondentes aos hidrogênios 3 e 4 do anel furânico, respectivamente, se apresentam como dupletos apresentando a mesma constante de acoplamento ($J=3,5$ Hz). Com relação aos hidrogênios da amida primária, esses aparecem com deslocamentos químicos em δ 6,35 ppm, como um simpleto integrando para 2 hidrogênios.

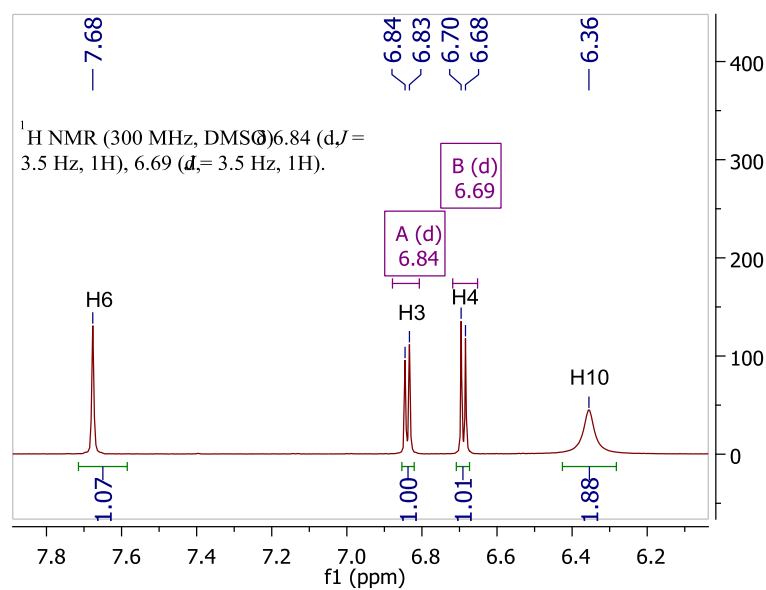
Resultados e discussão

Espectro 34 - Espectro de RMN ^1H do Lapdesf-BrFS (**13**) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 35 - Ampliação do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-BrFS (**13**) - regiões entre 6,0 e 7,8 ppm (DMSO).

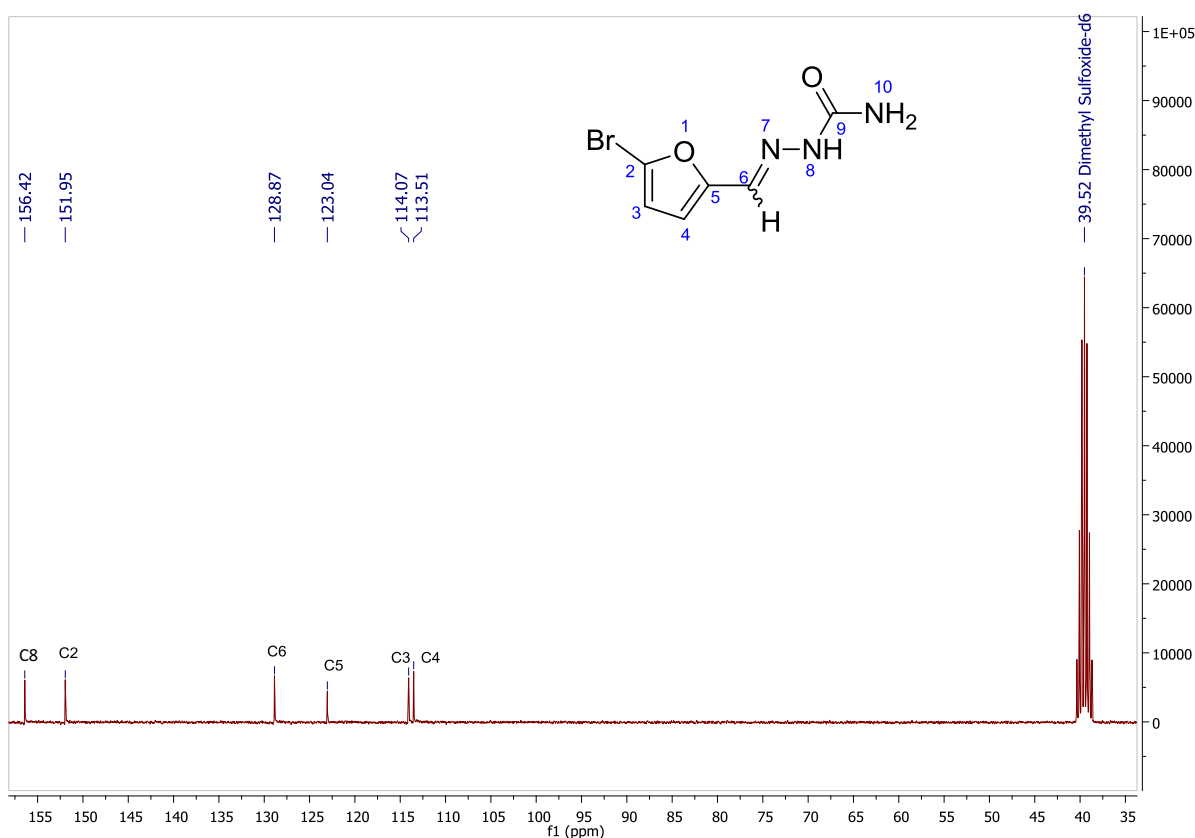


Fonte: dados da pesquisa.

Resultados e discussão

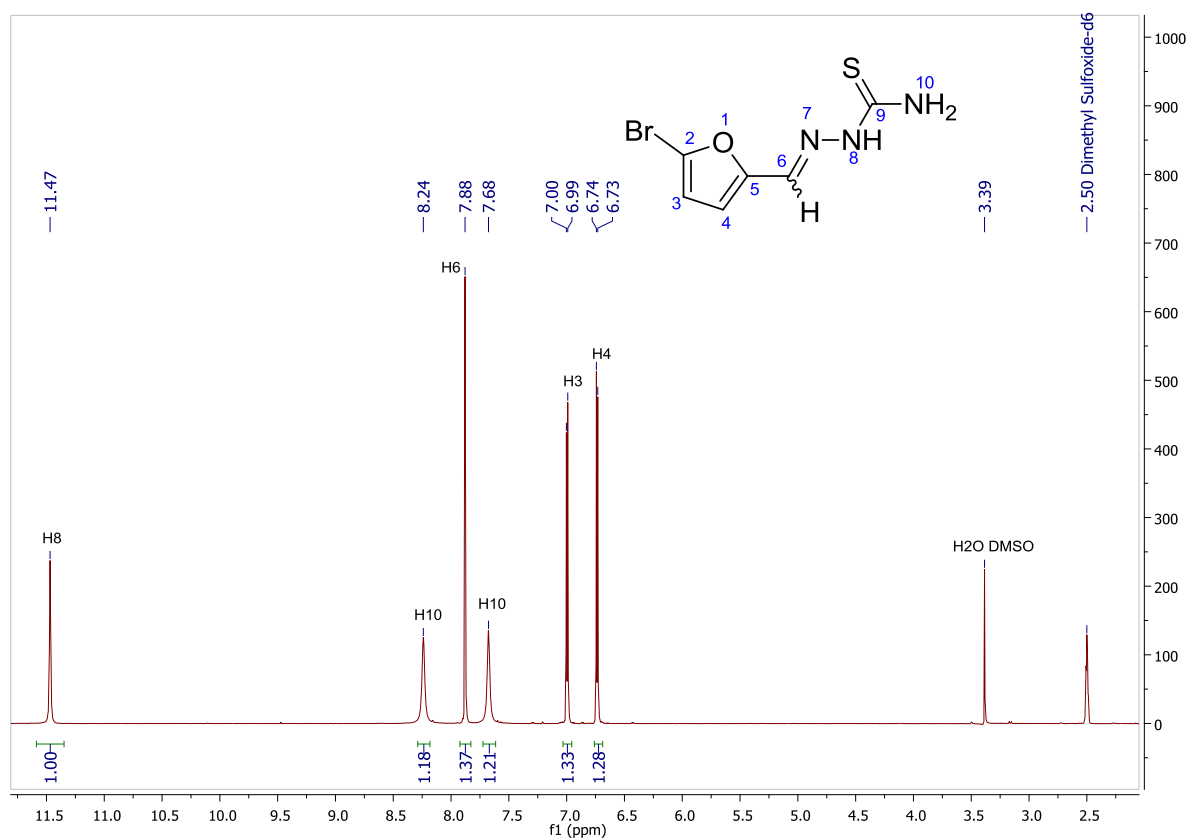
Através dos deslocamentos químicos obtidos no espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-BrFS (**13**) (Espectro 36) foi possível atribuir todos os átomos de carbono pertencentes ao composto. Além dos deslocamentos discutidos anteriormente, observa-se os demais carbonos do anel furânico com deslocamentos químicos em δ 151,9, δ 114,0, δ 113,5 e δ 123,0 ppm referentes às posições 2, 3, 4, e 5, respectivamente.

Espectro 36 - Espectro de RMN ^{13}C do Lapdesf-BrFS (**13**) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

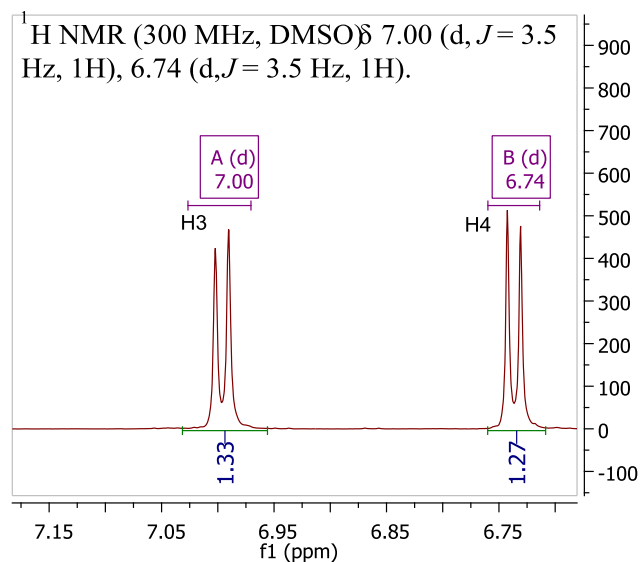
Com relação ao composto Lapdesf-BrFTS (**14**), a partir dos deslocamentos obtidos através do espectro de RMN de ^1H (Espectros 37 e 38), observa-se em δ 8,24 ppm e δ 7,68 ppm os hidrogênios da posição 10, possivelmente devido ao caráter de dupla ligação do fragmento N-C-N (TENÓRIO et al., 2005; TARASCONI et al., 2000; CASAS et al., 2000). Os deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios do anel furânico aparecem em δ 7,00 ppm e δ 6,74 ppm, e foram atribuídos às posições 3 e 4, respectivamente.

Espectro 37 - Espectro RMN ^1H do Lapdesf-BrFTS (**14**) (DMSO).

Fonte: dados da pesquisa.

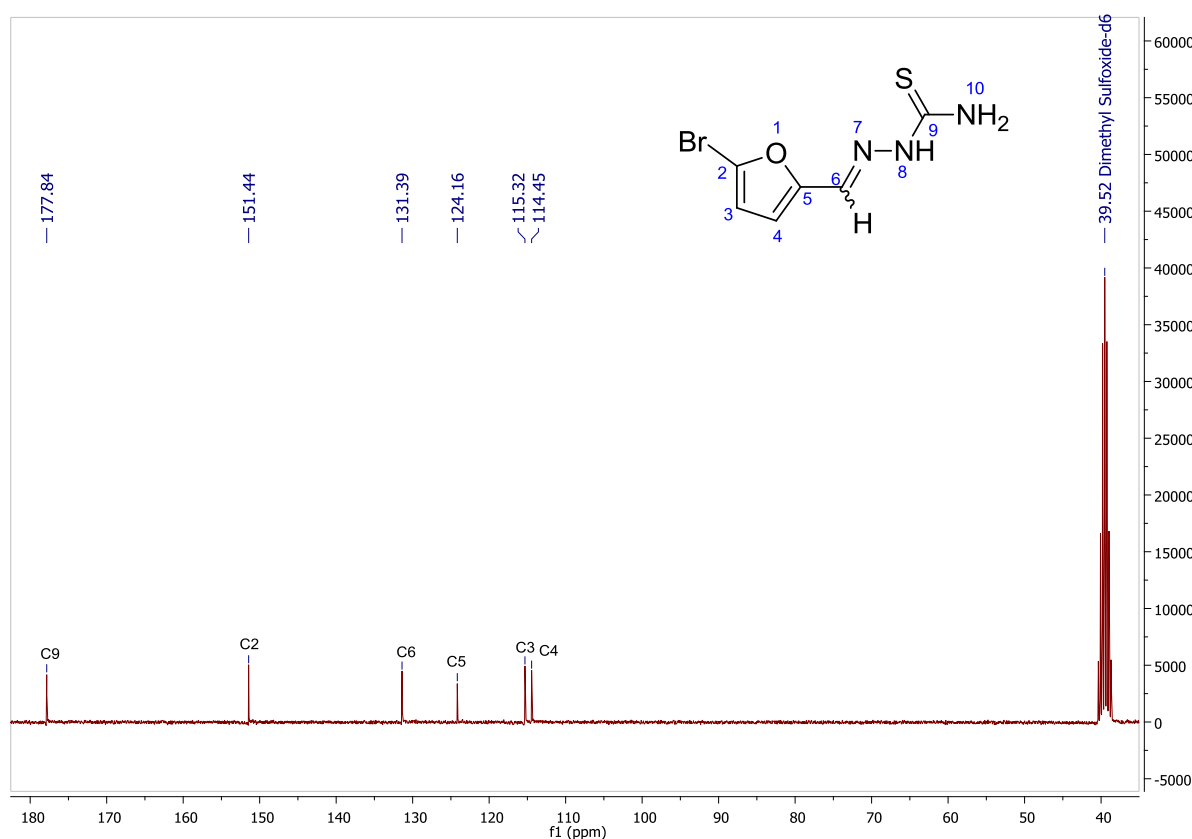
Resultados e discussão

Espectro 38 - Ampliação do espectro de RMN ^1H do Lapdesf-BrFTS (**14**) - regiões entre 6,70 e 7,15 ppm (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

Segundo os dados de RMN de ^{13}C do composto Lapdesf-BrFTS (**14**) (Espectro 39) foi possível verificar a presença de todos os carbonos do composto final. Além dos deslocamentos já discutidos anteriormente, observou-se deslocamentos químicos em δ 151,4, δ 115,3, δ 114,4 e δ 124,1 ppm atribuídos às posições 2, 3, 4, e 5, respectivamente.

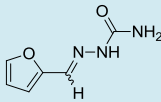
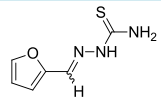
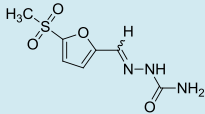
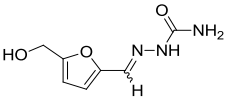
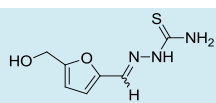
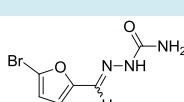
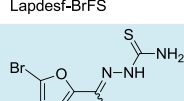
Espectro 39 - Espectro RMN ^{13}C do Lapdesf-BrFTS (**14**) (DMSO).

Fonte: dados da pesquisa.

5.1.4.3 Espectro de massas dos bioisósteros sintetizados

A tabela 13 apresenta os picos referentes ao íon molecular dos compostos obtidos através dos espectros de massas de alta resolução (ESI-TOF), em modo positivo e negativo. Todos se apresentaram concordantes com cada massa monoisotópica calculada, confirmando a obtenção dos compostos. Os espectros encontram-se dispostos na seção Apêndice.

Tabela 13 - Dados obtidos através da espectrometria de massas dos bioisósteros sintetizados.

Composto	Fórmula molecular	Massa monoisotópica calculada	Massa obtida
 Lapdesf-FS	$C_6H_7N_3O_2$	153,14 g/mol	$[M+H]^+ = m/z$ 154,06
 Lapdesf-FTS	$C_6H_7N_3OS$	169,20 g/mol	$[M+Na]^+ = m/z$ 192,02
 Lapdesf-MetSFS	$C_7H_9N_3O_4S$	231,23 g/mol	$[M+Na]^+ = m/z$ 254,02
 Lapdesf-HMFS	$C_7H_9N_3O_3$	183,16 g/mol	$[M+H]^+ = m/z$ 184,07
 Lapdesf-HMFTS	$C_7H_9N_3O_2S$	199,23 g/mol	$[M+Na]^+ = m/z$ 222,03
 Lapdesf-BrFS	$C_6H_6BrN_3O_2$	232,03 g/mol	$[M]^+ = m/z$ 231,95
 Lapdesf-BrFTS	$C_6H_6BrN_3OS$	248,10 g/mol	$[M+Na]^+ = m/z$ 271,92

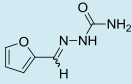
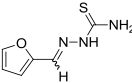
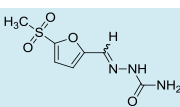
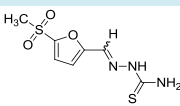
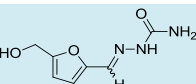
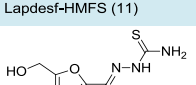
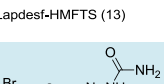
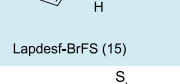
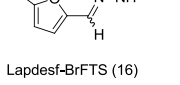
Fonte: dados da pesquisa.

5.2 Ensaio biológico (determinação da atividade leishmanicida *in vitro*) e determinação das cargas parciais dos carbono 6 e 9 *in silico*

Os compostos obtidos foram avaliados quanto à atividade leishmanicida frente às cepas promastigotas de *L. amazonensis*. Os resultados de IC₅₀ obtidos após a conversão através de regressão linear dos valores de absorvância e os valores das cargas parciais do carbono 6 (imina) e do carbono 9 (carbonila/tiocarbonila) estão apresentados na tabela 14.

Resultados e discussão

Tabela 14 - Valores de IC₅₀ obtidos contra formas promastigotas de *L. amazonensis* e carga parcial do carbono da imina.

Compostos	IC ₅₀ -promastigotas (µg/mL)	Carga parcial do C6 (C=N _{imina})	Carga parcial do C9 (C=O/C=S)
 Lapdesf-FS (3)	25,00	-0,115	0,413
 Lapdesf-FTS (5)	45,00	-0,100	0,189
 Lapdesf-MetSFS (8)	3,40	-0,160	0,425
 Lapdesf-MetSFTS (9)	nd*	-0,100	0,189
 Lapdesf-HMFS (11)	>100,00	-0,120	0,414
 Lapdesf-HMFTS (13)	10,30	-0,103	0,187
 Lapdesf-BrFS (15)	19,50	-0,132	0,419
 Lapdesf-BrFTS (16)	31,20	-0,111	0,186
 Nitrofurural	1,10	-0,124	0,415
Pentamidina	3,47	-	-
Anfotericina B	2,98	-	-

*nd – não determinado.

Fonte: dados da pesquisa.

Resultados e discussão

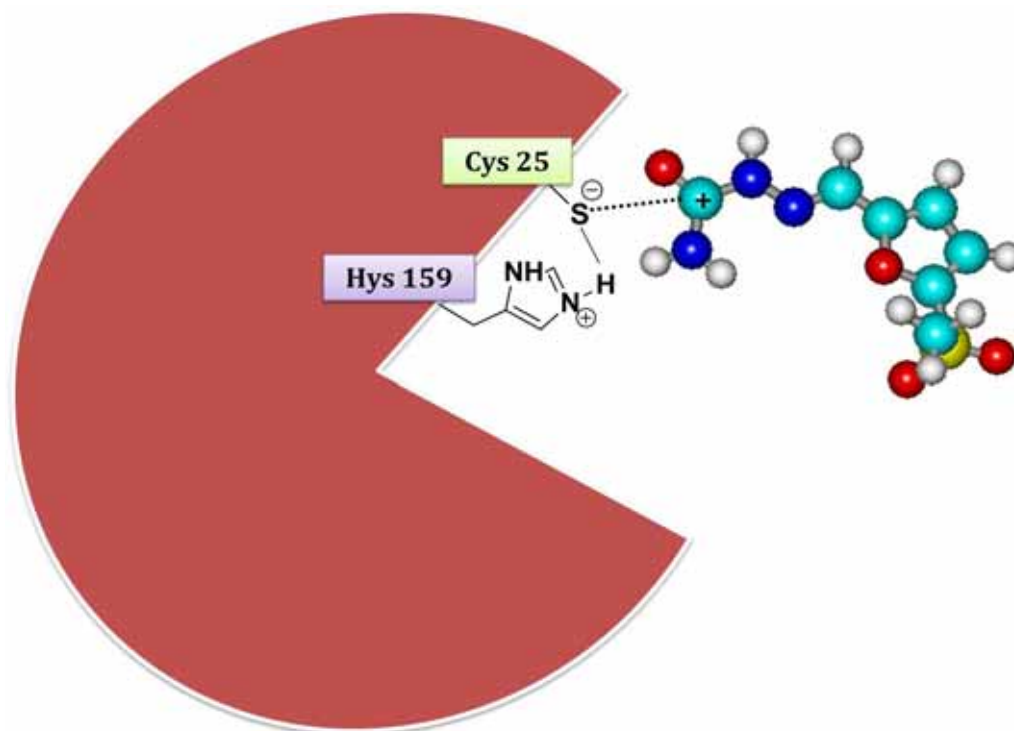
O composto Lapdesf –MetSFS (**8**) apresentou IC₅₀ de 3,40 µg/mL, equivalente ao da pentamidina (IC₅₀ 3,47 µg/mL), fármaco padrão utilizado no ensaio. Obteve-se ainda, outros dois compostos com valores baixos de IC₅₀, o composto Lapdesf – HMFTS (**12**), que apresentou IC₅₀ 10,30 µg/mL e o composto Lapdesf –BrFS (**13**) com IC₅₀ de 19,50 µg/mL. Nenhum dos compostos sintetizados apresentou maior potência que o NF (IC₅₀ 1,10 µg/mL), que apresentou valor IC₅₀ aproximadamente duas vezes mais potente que a Anfotericina B, que possui o menor IC₅₀ entre os fármacos utilizados como padrões.

O composto Lapdesf –HMFS (**11**) não apresentou atividade contra as formas promastigotas de *L. amazonensis* nas concentrações empregadas. Além disso, os compostos Lapdesf – FTS (**5**) e Lapdesf –FS (**3**) não se mostraram muito ativos, apresentaram IC₅₀ aproximadamente 13 e sete vezes maiores que o da pentamidina, respectivamente.

Para a maioria dos compostos, a substituição do oxigênio (semicarbazona) pelo enxofre (tiossemicarbazona) promoveu redução da atividade biológica. Este fato pode estar relacionado com a mudança da reatividade do carbono da carbonila/tiocarbonila (C9) observada através das cargas parciais.

A cisteína protease possui um grupo tiol no resíduo de cisteína (S-H) que sofre desprotonação por um resíduo de histidina próximo, formando um nucleófilo (íon tiolado-imidazólio) capaz de atacar centros positivados (STERVENDING et al., 2006; SAJID; MCKERROW, 2002). A influência de grupos eletroatratores no anel furânico pode atuar aumentando a deficiência eletrônica do carbono da carbonila/tiocarbonila (C9) e tornando-o um possível sítio de ataque nucleofílico para essa enzima, conforme sugerido pela figura 24.

Figura 24 - Representação esquemática da possível interação entre a enzima e o melhor composto obtido.



Fonte: próprio autor.

No caso do carbono da imina (C6), a influencia de grupos eletroatratores também promove alterações na carga parcial. No entanto, não há relação direta com a atividade biológica, sugerindo que as alterações eletrônicas nessa posição não são determinantes para a atividade.

No caso dos compostos Lapdesf –HMFS (11) e Lapdesf –HMFTS (12), observa-se o inverso, em que o derivado com oxigênio é inativo. Além disso, o composto Lapdesf –HMFTS (12), contendo enxofre, apresentou a segunda melhor atividade biológica da série sintetizada ($IC_{50}=10,30 \mu\text{g/mL}$), o que corrobora com estudo realizado por Du et al (2002) em que tiossemicarbazonas apresentaram-se mais ativas que semicarbazonas, isso sugere que outros mecanismos possam estar envolvidos na atividade biológica desses compostos.

6 CONCLUSÕES

Foram sintetizados e caracterizados estruturalmente através de métodos analíticos todos os bioisósteros propostos. Sete deles foram testados quanto às suas atividades biológicas frente às formas promastigotas de *L. amazonensis*, e obteve-se um composto (Lapdesf-MetSFS (**8**)) com IC₅₀ equivalente ao da pentamidina. Os outros cinco compostos demonstraram atividade inferior variando de 3 a 13 vezes. Além disso, o composto Lapdesf-HMFS (**11**) foi inativo nas concentrações utilizadas e os compostos Lapdesf-HMFTS (**12**) e Lapdesf-BrFS (**13**) demonstraram atividade, porém, inferior ao nitrofurais, variando de 3 a 40 vezes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As referências bibliográficas foram feitas de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas – NBR6023 de 2002 e NBR10520 de 2002.

ÁFRICA. World health organization (WHO) – **Manual for case management of cutaneous leishmaniasis in the WHO Eastern Mediterranean region**, Cairo, Egito, 2014. Disponível em: http://applications.emro.who.int/dsaf/EMROPUB_2013_EN_1590.pdf?ua=1. Acesso em 12 de out. 2014.

ALTAMIRANO-ENCISO, A. J.; MARZOCHI, M. C. A.; MOREIRA, J. S.; SHUBACHI, A. O.; MARZOCH, K. B. F. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 10, n. 3, 2003.

ALVAR, J.; PECÓUL, B. Enfermedades de La pobreza, enfermedades tropicales desatendidas. **EU-topias**, v. 7, p. 75-84, 2014.

ALVAR, J.; VELÉZ, I.D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; DEN BOER, M. “The WHO Leishmaniasis Control Team”. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **Plos One**, v. 7, n. 5, p. 1-12, 2012.

ANTINORI, S.; SCHIFANELLA, L.; CORBELLINO, M. Leishmaniasis: new insights from an old and neglected disease. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 31, n. 2, p. 109–118, 2012.

ARRUDA, M.. Leishmanioses. Programa de zoonoses região sul - **Manual de zoonoses**. Conselho Regional De Medicina Veterinária do Rio Grande Do Sul (CRMVRS), v. I, 2. ed. p. 68-90, 2010.

ASHFORD, R. W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1262-81, 2000.

ASSAN, R.; PERRONNE, C.; ASSAN, D.; CHOTARD, L.; MAYAUD, C.; MATHERON, S.; ZUCMAN, D. Pentamidine- induced derangements of glucose homeostasis. **Diabetes Care**, v. 18, n. 1, p. 47-55, 1995.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 1º ed. Porto Alegre: Artmed, p. 121, 164, 2001.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p.

328-337, 2004.

BERN, C.; ADLER-MOORE, J.; BERENGUER, J.; BOELAERT, M.; DEN BOER, M.; DAVIDSON R. N.; FIGUERAS, C.; GRADONI, L.; KAFETZIS, D.A.; RITMEIJER, K.; ROSENTHAL, E.; ROYCE, C.; RUSSO, R.; SUNDAR, S.; ALVAR, J. Liposomal amphotericin B for the treatment of visceral leishmaniasis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 43, n. 7, p. 917–924, 2006.

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.; CHUNG, M.C. Design, synthesis and biological evaluation of new aryl thiosemicarbazone as antichagasic candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 67, p. 142-151, 2013.

BLAU, L. **Obtenção de nanoanticorpos e síntese de compostos antichagásicos derivados de tiossemicarbazona**. Tese de doutorado (Ciências Farmacêuticas). Universidade estadual paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2009.

BOCEDI, A.; GRADONI, L.; MENEGATTI, E.; ASCENZI, P. Kinetics of parasite cysteine proteinase inactivation by NO-donors. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 35, p. 710-718, 2004.

BOSQUESI, P. L. **Avaliação da presença do grupo nitro na atividade antichagásica e mutagênica do candidato a fármaco hidroximetilnitrofural (NFOH)**. Dissertação de mestrado (Ciências Farmacêuticas). Universidade estadual paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Atlas de leishmaniose tegumentar americana. Diagnóstico diferencial**. Série A – Normas e manuais técnicos, Brasília, Distrito Federal, 1. ed. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. **Rev. Saúde Pública**. São Paulo, v. 44, n. 1, fev. 2010a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana**. Série A – Normas e manuais técnicos. Brasília, Distrito Federal, 2. Ed. 2010b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, Distrito Federal, 1. ed. 2013.

BRINGAUD, F.; RIVIÈRE, L.; COUSTOU, V. Energy metabolism of trypanosomatids: adaptation to available carbon sources. **Molecular & Biochemical Parasitology**, v. 149, p. 1-9, 2006.

BURGER, A. Isosterism and Bioisosterism in drug design. **Progress in Drug Research**, v. 37, p. 287-371, 1991.

CARDOSO, M.V.O. **Síntese e avaliação de tiosemicarbazonas e tiazolinona como inibidores da protease cruzada de *Trypanosoma cruzi***. Dissertação de mestrado (Ciências farmacêuticas). Universidade Federal de Pernambuco – Centro de ciências da saúde, Recife, 2008.

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

CAVAZZUTI, A.; PAGLIETTI, G.; HUNTER, W.N.; GAMARRO, F.; PIRAS, S.; LORIGA, M.; ALLECA, S.; CORONA, P.; MCLUSKEY, K.; TULLOCH, L.; GIBELLINI, F.; FERRARI, S.; COSTI, M.P. Discovery of potent pteridine reductase inhibitors to guide antiparasite drug development. **Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America**, v. 105, n. 5, p. 1448-1453, 2008.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Leishmaniasis**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/>. Acesso em 24 set. 2014.

CHAWLA, B.; MADHUBALA, R. Drug targets in Leishmania. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 34, n. 1, p. 1-13, 2010.

CHAWLA, B.; JHINGRAN, A. SINGH, S.; TYAGI, N.; PARK, M.H.; SRINIVASAN, N.; ROBERTS, S.C.; MADHUBALA, R. Genomics, proteomics, and bioinformatics: Identification and characterization of a novel deoxyhypusine synthase in *Leishmania donovani*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 285, p. 453-463, 2010.

CIAPETTI, P.; GIETHLEN, B. Molecular variations based on isosteric replacements. In: Wermuth, CG. Ed. **The practice of medicinal chemistry**. 3 ed. London: Academic Press, 2008, p. 290-334.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic Chemistry**. 1 ed. New York: Oxford University Press, p. 346, 2001.

COELHO, A. C.; MESSIER, N.; OUELLETTE, M.; COTRIM, P. C. Role of the ABC transporter PRP1 (ABCC7) in pentamidine resistance In: *Leishmania* amastigotes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 8, p. 3030-3032, 2007.

COHEN, J.P.; STURGEON, G.; COHEN, A. Measuring progress in neglected disease drug development. **Clinical Therapeutics**, v. 36, n. 7, p. 1037-1042, 2014.

CRENSHAW, C. A.; GLANGES, E.; STUART, B.H.; PIERCE, J. Nitrofurazone Therapy In: “Middle Burns”: A Review. **Current Therapeutic Research Clinical and Experimental**, v.19, n. 4, p.487-492, 1976.

CROFT, S. L.; OLLIARO, P. Leishmaniasis chemotherapy-challenges and opportunities.

Clinical Microbiology and Infection, v. 17, p. 1478-1483, 2011.

DA-CRUZ, A.M.; PIRMEZ, C. Leishmaniose tegumentar Americana. In: Coura JR (eds). **Dinâmica das Doenças Infecciosas**. 2. ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2012.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Visceral leishmaniasis in Brasil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 3, p. 151-156, 2006.

DAS, B.B.; GANGULY, A.; MAJUMDER, H.K. DNA topoisomerases of Leishmania: **The potencial targets for anti-leishmanial therapy**. In: Drug targets in kinetoplastid parasites, editado por Hemanta K. Majumder, 2007.

DAS, L.; DATTA, N.; BANDYOPADHYAY, S.; DAS, P.K. Successful therapy of lethal murine visceral leishmaniasis with cystatin involves up-regulation of nitric oxide and a favorable T cell response. **Journal of Immunology**, n. 166, p. 4020 – 4028, 2001.

DEN BOER, M.; ARGAW, D.; JANNIN, J.; ALVAR, J. Leishmaniasis impact and treatment access. **Clinical Microbiology and Infection**, v.17, n. 10, p. 1471–1477, 2011.

DEPARTAMENTO DE INFORMÁTICA DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (DATASUS). **Indicadores de morbidade e fatores de risco** - Ministério da Saúde, Brasil. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?idb2006/d0204.def>. Acesso em 3 out. 2014.

DODD, MC. The chemotherapeutic properties of 5-nitro-2furaldehyde semicarbazone (Furacin). **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 86, p. 311-323, 1946.

DON, R.; CHATELAIN, E. *Drug discovery for neglected diseases: View of a public-private partnership*. In: **Antiparasitic Antibacterial Drug Discovery**. Ed: SELZER, P., M., 2009.

DORLO, P. C.; BALASEGARAM, M.; BEIJNEN, J.N.; de VRIES, P.J. Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, p. 2576-2597, 2012.

DORVAL, M.E.M.C.; OSHIRO, E.T.; CUPOLLILO, E; DE CASTRO, A.C.C.; ALVES, T.P. Ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Estado do Mato Grosso do Sul associada à infecção por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n. 1, p. 43-46, 2006.

DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INITIATIVE – DNDi. **New VL treatments in India**. Disponível em: <http://www.dndi.org/diseases-projects/portfolio/new-vl-treatments-asia.html> , acesso em 12 jan, 2015.

DU, X.; GUO, C.; HANSELL, E.; DOYLE, P.S.; CAFFREY, C.R.; HOLLER, T.P.; MCKERROW, J.H.; COHEN, F. 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.

DUMAS, C.; OUELLETTE, M.; TOVAR, J.; CUNNINGHAM, M.L.; FAIRLAMB, A.H.; TAMAR, S.; OLIVIER, M.; PAPADOPOULOU, B. Disruption of the trypanothione reductase gene of *Leishmania* decreases its ability to survive oxidative stress in macrophages. **The EMBO Journal**, v.16, n. 10, p. 2590-2598, 1997.

ERDUR, B.; ERSOY, G.; YILMAZ, O.; OZKUTUK, A.; SIS, B.; KARCIOGLU, O.; PARLAK, I.; AYRIK, C; AKSAY, E; GURYAY, M. A comparison of the prophylactic uses of topical mupirocin and nitrofurazone in murine crush contaminated wounds. **The American Journal of Emergency Medicine**, v. 26, n. 2, p. 137-143, 2008.

EVEN, F.; NIEMEGER, K.; PACKCHANI, A. Nitrofurazone therapy of *Trypanosoma gambiense* sleeping sickness in man. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 6, n. 4, p. 665-678, 1957.

FALQUETO, A.; SESSA, P. A. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: VERONESI, Ricardo. **Tratado de Infectologia**. 3. ed. São Paulo, Atheneu. Capítulo 96, p. 1545-1559, 2005.

FERREIRA, C. C.; MAROCHIO, G. G.; PARTATA, A. K.. Estudo sobre a leishmaniose tegumentar americana com enfoque na farmacoterapia. **Revista científica do ITPAC – Araguaína**, v. 5, n. 4, pub. 1, 2012.

FIDALGO, L.M.; GILLE, L. Mitochondria and trypanosomatids: targets and drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 28, n. 11, p. 2758-2770, 2011.

FRÉZARD, F.; MICHALICK, M. S.; SOARES, C. F.; DEMICHELI, C. Novel methods for encapsulation of meglumine antimoniate into liposomes. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 7, p. 841–846, 2000.

GENEBRA. Organización Mundial de la Salud. **Control de las leishmaniasis**. Informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control de las leishmaniasis, Ginebra, 2010. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO_TRS_949_spa.pdf. Acesso em 13 out. 2014.

GAIKWAD, P.L.; GANDHI, P.S.; JAGDALE, D.M.; KADAM, V.J. The use of bioisosterism in drug design and molecular modification. **American Journal of Pharmtech Research**, v. 2, n. 4, p. 1-23, 2012.

GRANT, K.M.; DUNION, M.H.; YARDLEY, V.; SKALTSOUNIS, A.L.; MARKO, D.; EISENBRAND, G.; CROFT, S.L.; MEIJER, L.; MOTTRAM, J.C. Inhibitors of *Leishmania mexicana* CRK3 cyclin-dependent kinase: chemical library screen and antileishmanial activity. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 48, n. 8, p. 3033-3042, 2004.

GRIMALDI, JR. G.; DAVID, JR.; MCMAHON-PRATT, D. Identification and distribution of New World *Leishmania* species characterized by serademe analysis using monoclonal antibodies. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 36, p. 270-287, 1987.

HALDAR, A.K.; SEM, P.; ROY, S. Use of antimony in the treatment of leishmaniasis: current status and future directions. **Molecular Biology International**, v.11, 2011. DOI: 10.4061/2011/571242.

HASSAN, P.; FERGUSON, D.; GRANT, K.M.; MOTTRAN, J.C. The CRK3 protein kinase is essential for cell cycle progression of *Leishmania mexicana*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 113, n. 2, p. 189-198, 2001.

HUSSAIN, H.; AL-HARRASI, A.; AL-RAWAHI, A.; GREEN, I. R.; GIBBONS, S. Fuitful decade for antileishmanial compounds from 2002 to late 2011. **Chemical Reviews**, v. 114, p. 10369-10428, 2014.

KAGER, P.A.; REES, P.H.; WELLDE, B.T.; HOCKMEYER, W.T.; LYERLY, W.H. Allopurinol in the Treatment of Visceral Leishmaniasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, n. 75, p. 556 – 559, 1981.

KARABASTOS, G.J.; GRAHAM, J.D.; VANE, F.M.. Syn-anti isomer determination of 2,4-dinitrophenylhydrazones and semicarbazones by N.M.R. **Journal of the American Chemical Society**, v. 84, n. 5, p. 753-755, 1962.

LAINSON, R. Epidemiologia e ecologia de leishmaniose tegumentar na Amazônia. **Hiléia Médica**, v. 3, p. 35-40, 1981.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Epidemiology and ecology of leishmaniasis in Latin America. **Nature**, v. 273, p. 596-600, 1978.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographic distribution. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. (Ed.). **The leishmaniasis in biology and medicine**. London: Academic Press, p.100-120, 1987.

LANIADO-LABORÍN, R.; CABRALES-VARGAS, M. N. Amphotericin B: side effects and toxicity. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 26, n. 4, p. 223-227, 2009.

LIMA, L.M.; BARREIRO, E. J. Bioisosterism: a useful strategy for molecular modifications and drug design. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 1, p. 23-49, 2005.

LIMA, E.B.; MOTTA, J.O.C; PORTO, C.; SAMPAIO, R.N.R. Tratamento da Leishmaniose tegumentar americana. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 2, p. 111-124, 2007.

LOISEAU, P.M.; BORIS, C. Mechanisms of drug action and drug resistance in leishmania as

basis for therapeutic target identification and design of antileishmanial modulators. **Current Topical Medicinal Chemistry**, n. 6, p. 530 – 550, 2006.

MARSDEN, P. D.. Mucosal leishmaniasis (“espundia” Escomel, 1911). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 1, p. 859-876, 1986.

MCMURRY, J. **Química orgânica**. 7. ed. São Paulo: Cengage Learning, v. 2, p. 668-670, 2011.

MÉDICOS SEM FRONTEIRAS (MSF). **Leishmaniose**. Disponível em: <http://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/leishmaniose>. Acesso em 24 set. 2014.

MELOS, J.L.R.; ECHEVARRIA, A. Sistemas Enzimáticos de Tripanossomatídeos como Potenciais Alvos Quimioterápicos. **Revista Virtual de Química**, n. 4, p. 374 – 392, 2012.

MOMENI, A.Z.; REISZADAE, M.R.; AMINJAVAHERI.M. Treatment of cutaneous leishmaniasis with a combination of allopurinol and low-dose meglumine antimoniate. **International Journal of Dermatology**, v. 3, p. 41-441, 2002.

MOREIRA, R.A.; MEDANHA, S.A.; HANSEN, D.; ALONSO, A. Interaction of miltefosine with the lipid and protein components of the erythrocyte membrane. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 5, p. 1661-1669, 2013

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL-RUIZ, J.J.; GÓMEZ-BARRIO, A . Setting of a colorimetric method to determine the viability of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. **Parasitology Research**, v.86, n.12, p. 999-1002, 2000.

NEAL, R.A.; VAN BUEREN, J.; HOOPER, G. The activity of nitrofurazone and furazolidone against *L.donovani*, *L.major*, *L.enrietti* *in vitro* and *in vivo*. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 82, n. 5, p. 453-456, 1988

NEGRÃO, G. N.; FERREIRA, M. E. M. C. Considerações sobre a leishmaniose tegumentar americana e sua expansão no território brasileiro. **Revista Percorso – NEMO**, Maringá, v. 6, n. 1, p. 147-168, 2014.

PACKCHANIAN, A.. Chemotherapy of experimental Chagas disease with nitrofurantoin compounds. **Journal of Parasitology**, n. 38, p. 30-40, 1952.

PACKCHANIAN, A.. Chemotherapy of experimental Chagas disease with nitrofurantoin compounds. **Antibiotics and Chemotherapy**, v. 7, p. 13-23, 1957.

PALLA, G.; PELIZZI, C.; PREDIERI, G.; VIGNALI, C. Conformational study on N-acylhydrazones of aromatic aldehydes by NMR spectroscopy. **Gazzetta Chimica Italiana**, v. 112, p. 339- 341, 1982.

PALLA, G.; PREDIERI, G.; DOMIANO, P. Conformational behaviour and E/Z isomerization of N-acyl and N-aroarylhydrazones. **Tetrahedron**, v. 42, n. 13, p. 3649–3654, 1986.

PATANI, G.A.; LAVOIE, E.J. Bioisosterism: a racional approach in drug design. **Chemical Reviews**, v. 96, n. 8, p. 3147-3176, 1996.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 1. ed. São Paulo, Cengage, 2010.

PESSÔA, S. B.; BARRETO, M. P. **Leishmaniose tegumentar americana**. Rio de Janeiro, Ministério da Educação e Saúde, p. 527, 1948.

PETRÓPOLIS, D.P.; RODRIGUES, J.C.F.; VIANA, N.B.; PONTES, B.; PEREIRA, C.F.A.; SILVA-FILHO, F.C. *Leishmania amazonensis* promastigotes in 3D Collagen I culture: an in vitro physiological environment for the study of extracellular matrix and host cell interactions. **PeerJ** 2:e317; DOI 10.7717/peerj.317, 2014.

RAHMAN, V.M.; MUKHTAR, S.; ANSARI, W.H.; LEMIERE, G. Synthesis, stereochemistry and biological activity of some novel long alkyl chain substituted thiazolidim-4-ones and thiazan-4-one from 10- undecenoic acid hydrazide. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, p. 173 – 184, 2005.

REGUERA, R.M.; REDONDO, C.M.; GUTIERREZ DE PRADO, R.; PÉREZ-PERTEJO, Y.; BALAÑA-FOUCE R. DNA topoisomerase I from parasitic protozoa: a potential target for chemotherapy. **Biochimica and Biophysica Acta**, v. 1759, n. 3-4, p.117–131, 2006.

REITHINGER, R.; DUJARDIN, J.C.; LOUZIR, H., PIRMEZ, C.; ALEXANDER, B.; BROOKER, S. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet Infectious Disease**, v. 7, n. 9, p. 581-596, 2007.

ROBERTS, C.W.; MCLEOD, R.; RICE, D.W.; GINGER, M.; CHANCE, M.L.; GOAD, L.J. Fatty acid and sterol metabolism: potential antimicrobial targets in apicomplexan and trypanosomatid parasitic protozoa. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 126, n.2, p. 126:129, 2003.

ROMERO, G.A.S.; GUERRA, M.V.F; PAES, M.G.; MACÊDO, V.O. Comparison of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (viannia) braziliensis* and *L. (V.) guyanensis* in Brazil: therapeutic response to meglumine antimoniate. **American Journal of Tropical Medicines and Hygiene**, v. 65, n. 5, p. 456–465, 2001.

SAJID, M.; MCKERROW, J. H. Cysteine proteases of parasitic organisms. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 120, n.1, p. 1-21, 2002.

SCHRÖDER, J.; NOACK, S.; MARHÖFER, R.J.; MOTTRAM, J.C.; COOMBS, G.H.;

SELZER, P.M. Identification of semicarbazones, thiosemicarbazones and triazine nitriles as inhibitors of *Leishmania mexicana* cysteine protease CPB. **Plos one**, v. 8, n. 10, 2013.

SCHWANKE, K.; SILVA, A. M. M.; PACHECO, A.; BAHIA, M.; SILVEIRA, F. T.; SCOFIELD, A.; GÓES-CAVALCANTE, G.. Diagnóstico molecular e frequência de anticorpos anti-*Leishmania infantum chagasi* em cães do município de Belém, Pará. **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 255-260, 2014.

SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DA BAHIA (SESAB). **Leishmaniose – Orientações e prevenção**, 2014. Disponível em: http://www.saude.ba.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=167:leishmaniose&catid=3:orientacaoeprevencao&Itemid=18. Acesso em 24 set. 2014.

SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DO DISTRITO FEDERAL (SES-DF). **Informativo ambiental das leishmanioses no DF**. Boletim anual de 2013. Disponível em: http://www.saude.df.gov.br/images/Informativos/DIVAL/Informativo_Ambiental__2013_Leishmanioses_EM_PDF.pdf. Acesso em 24 set. 2014.

SEIFERT, K. Structures, targets and recent approaches in anti-leishmanial drug discovery and development. **The Open Medicinal Chemistry Journal**, v. 5, p. 31-39, 2011.

SHUKLA, A.K.; SINGH, B.K.; PATRA, S.; DUBEY, V.K. Rational approaches for drug designing against leishmaniasis. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 160, n. 8, p. 2008-2018, 2010.

SETHY, S.P.; MEHER, C. P.; BISWAL, S.; SAHOO, U.; PATRO, S. K. The role of bioisosterism in molecular modification and drug design: a review. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 1, p. 61-87, 2013.

SILVA-LÓPEZ, R.E. Protease de *Leishmania*: Novos alvos para o desenvolvimento racional de fármacos. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1541-1548, 2010.

SILVEIRA, F. T.; MÜLLER, S. R.; de SOUZA, A. A. A.; LAINSON, R.; GOMES, C. M. C.; LAURENTI, M. D.; CORBETT, C. E. P. Revisão sobre a patogenia da leishmaniose tegumentar americana na Amazônia, com ênfase à doença causada por *Leishmania (V.) braziliensis* e *Leishmania (L.) amazonensis*. **Revista Paraense de Medicina**, v. 22, n. 1, p. 9-20, 2008.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA (SBI). **Leishmaniose tegumentar americana**. Disponível em: <http://www.infectologia.org.br/publico/doencas?id=194>. Acesso em 26 set. 2014.

SOLOMONS, G.T.W.; FRYHLE, C.B. **Química orgânica**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC,

2012.

SOTO, J.; SOTO, P. Miltefosina oral para el tratamiento de La leishmaniasis. **Biomédica**, v. 26, n. 1, p. 207-217, 2006.

STEVERDING, D.; CAFFREY, C.R.; SAJID, M. Cysteine proteinase inhibitors as therapy for parasitic diseases: advances in inhibitor design. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 6, n. 9, p. 1025-1032, 2006.

STOCKDALE, L.; NEWTON, R. A review of preventative methods against human leishmaniasis infection. **Plos Neglected Tropical Disease**, v. 7, n. 6, p. 2278, 2013.

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.

TENÓRIO, R. P.; GÓES, A. J. S.; de LIMA, J. G.; de FARIA, A. J. A.; de AQUINO, T. M. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1030-1037, 2005.

TIAN, B.; HE, M.; HEWLITT, I.; TAN, Z.; LI, J.; JIN, Y.; YANG, M. Synthesis and antiviral activities of novel acylhydrazones derivatives targeting HIV-1 capsid protein. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 8, p. 2162-2167, 2009.

TROSSINI, G.H.G.; MALVEZZI, A.; T.-DO AMARAL, A.; RANGEL-YAGUI, C.O.; IZIDORO, M.A.; CEZARI, M.H.S.; JULIANO, L.; CHUNG, M.C.; 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 and Medicinal Chemistry**, v.25, p. 62-67, 2010.

VALDÊS, R.; VASUDEVAN, G.; CONKLIN, D.; LANDFEAR, S.M. Transmembrane domain 5 of the LdNT1.1 nucleoside transporter is an amphipathic helix that forms part of the nucleoside translocation pathway. **Biochemistry**, v. 43, n. 21, p. 6793-6802, 2004.

VALVERDE, R. Doenças negligenciadas. FIOCRUZ – Disponível em: <http://www.agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas>. Acesso em 23 set. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Iarc monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Pharmaceutical drugs, v.50, 1990. Disponível em: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol50/index.php>, acesso em 15 dez. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO – **Interventions for Old World Cutaneous leishmaniasis**, 2014. Disponível em:

Referências bibliográficas

http://www.who.int/leishmaniasis/resources/Interventions_old_world_cutaneous_leish.pdf?ua=1. Acesso em 18 out. 2014b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO – **Leishmaniasis**, 2014. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>. Acesso em: 21 jul. 2014a.

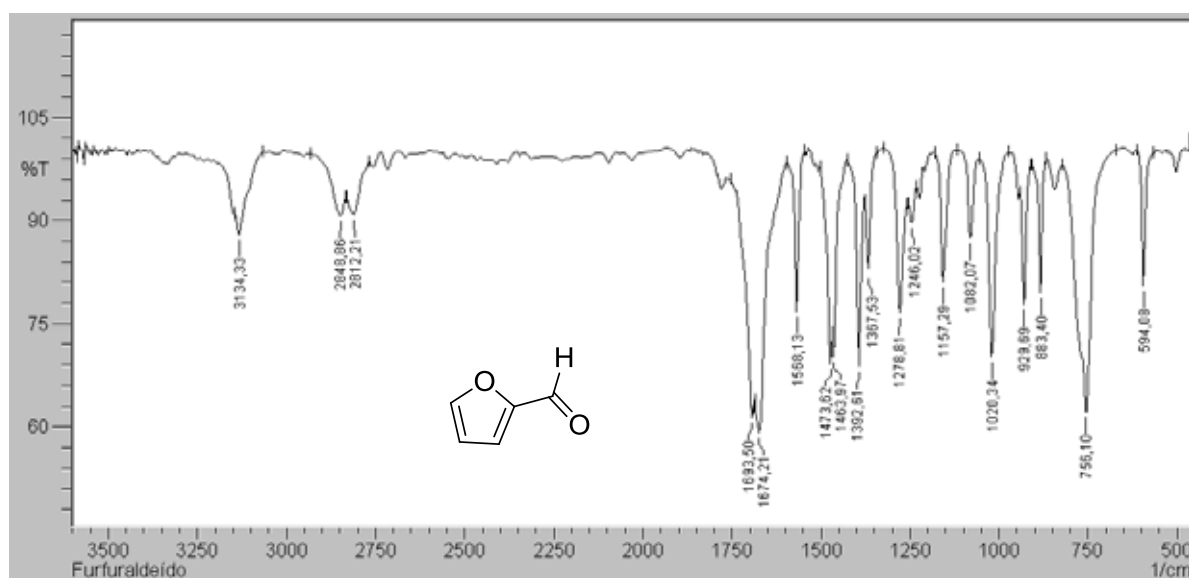
APÊNDICE

Os espectros dos reagentes utilizados estão dispostos nessa seção, bem como os espectros obtidos através de espectrometria de massa dos bioisósteros sintetizados.

Caracterização estrutural do reagente (1) - furano-2-carbaldeído

Infravermelho (pastilhas KBr): C=O aldeído: 1674,21 cm^{-1} ; C-H aldeído: 2848,86 cm^{-1} e 2812,21 cm^{-1} , C=C aromático: 1473,62 cm^{-1} .

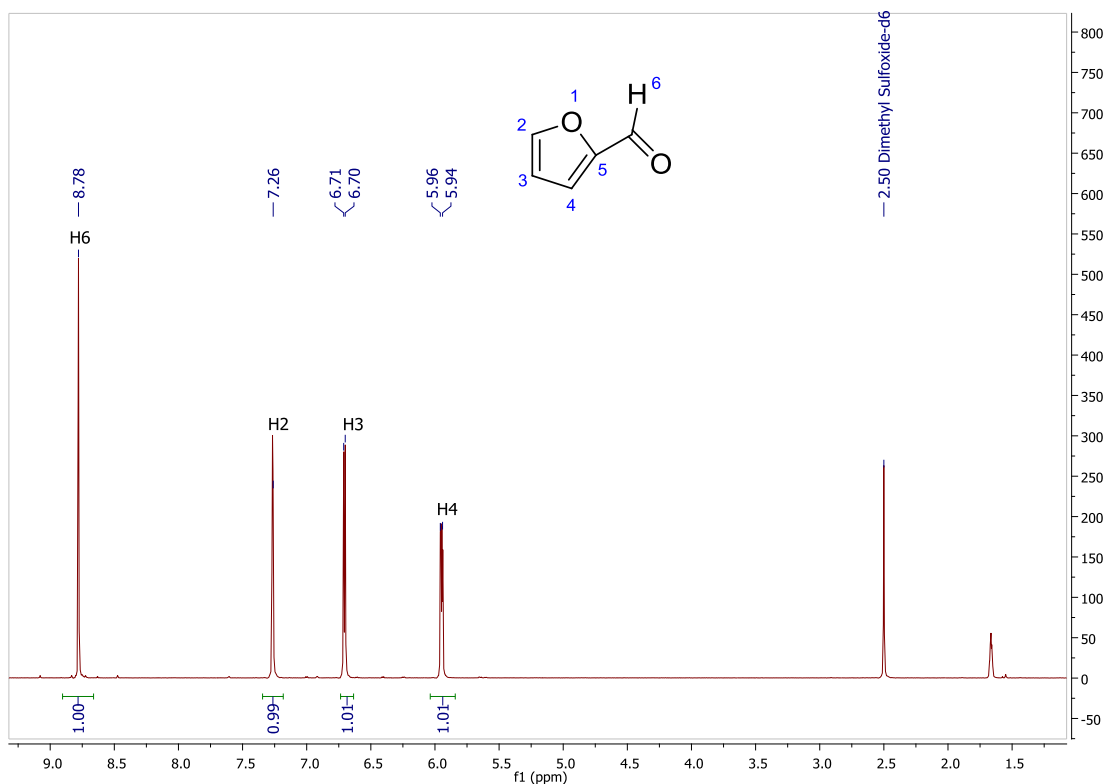
Espectro 40 - Espectro na região de infravermelho do furano-2-carbaldeído (1).



Fonte: dados da pesquisa.

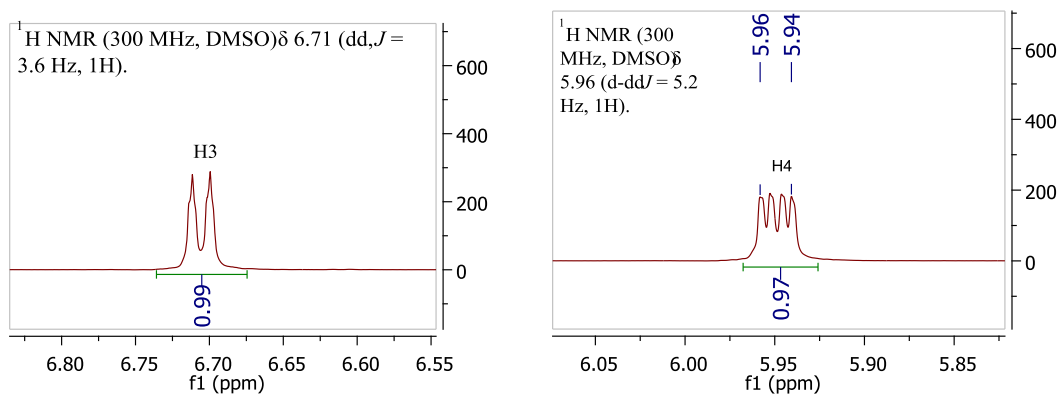
RMN ^1H (300 MHz; DMSO): δ 7,26 (H2, 1H, s); δ 6,71 (H3, 1H, d-dd, $J = 5,2\text{Hz}$); δ 5,96 (H4, 1H, dd, $J = 3,6\text{ Hz}$); δ 8,78 (H6, 1H, s).

Espectro 41 - Espectro de RMN ^1H do reagente furano-2-carbaldeído (**1**) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 42 - Ampliações do espectro de RMN ^1H do furano-2-carbaldeído (**1**) - regiões entre 6,55 e 6,85 ppm e 5,85 e 6,10 ppm (DMSO).

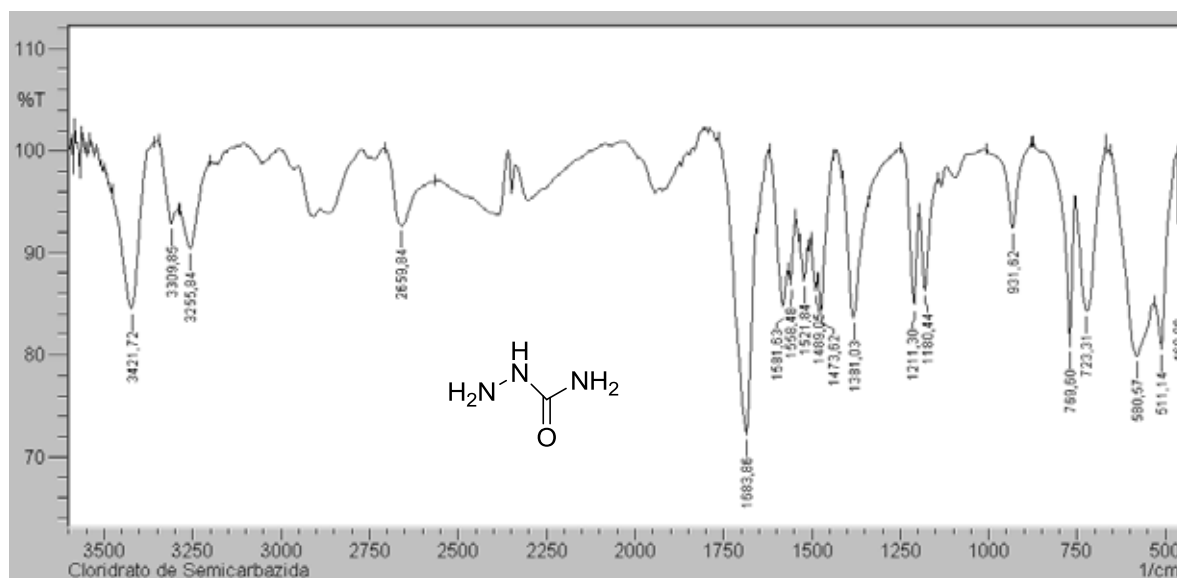


Fonte: dados da pesquisa.

Caracterização estrutural do reagente (2) - cloridrato de semicarbazida

Infravermelho (pastilhas KBr): C=O amida: $1683,86\text{ cm}^{-1}$; N-H primária: $3309,85\text{ cm}^{-1}$ (simétrica) e 3255 cm^{-1} (assimétrica), N-H secundária: $3421,72\text{ cm}^{-1}$.

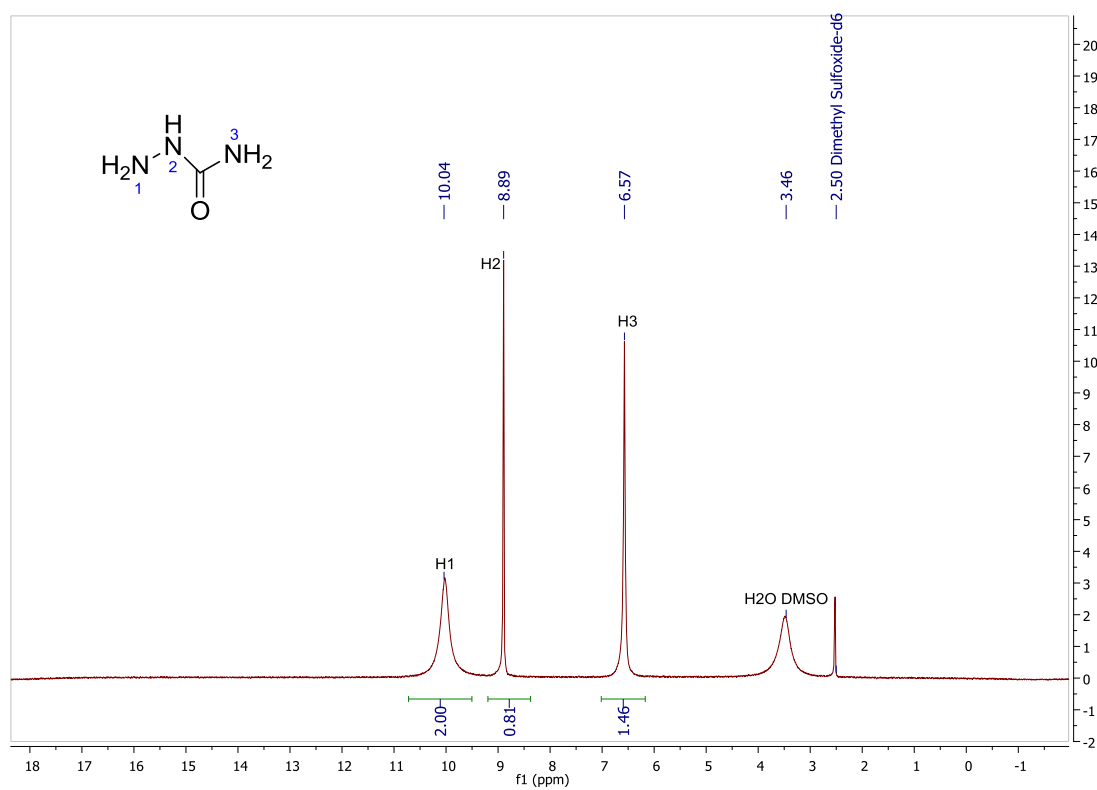
Espectro 43 - Espectro na região de infravermelho do cloridrato de semicarbazida (2).



Fonte: dados da pesquisa.

RMN ^1H (300 MHz; DMSO): δ 9,99 (H1, 2H, s); δ 8,87 (H2, 1H, s); δ 6,55 (H3, 2H, s).

Espectro 44 - Espectro de RMN de ^1H do cloridrato de semicarbazida (**2**) (DMSO).

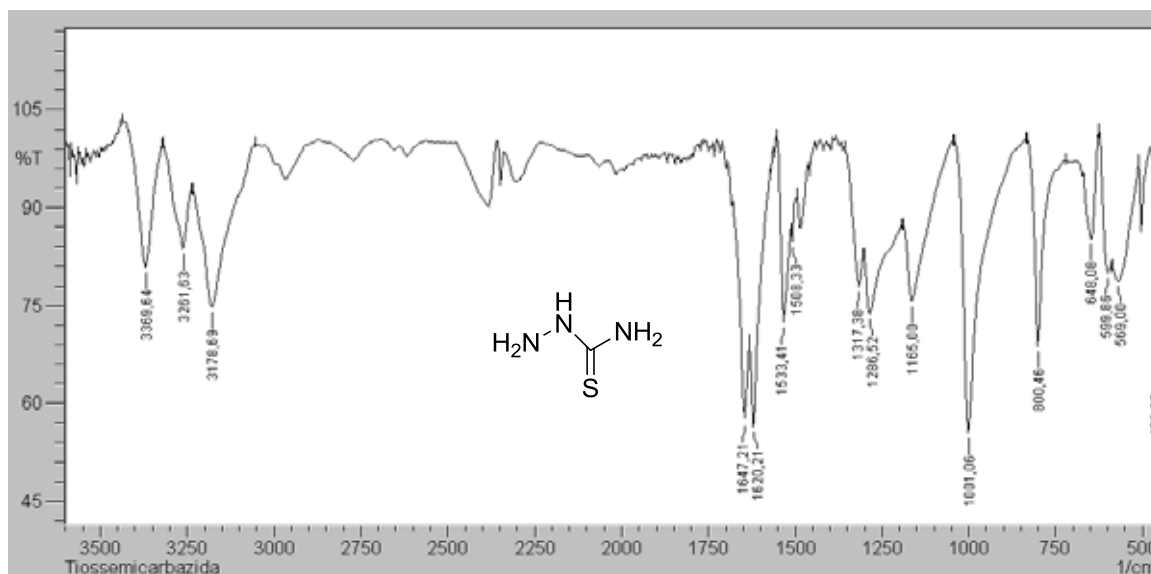


Fonte: dados da pesquisa.

Caracterização estrutural do reagente (4) – tiossemicarbazida

Infravermelho (pastilhas KBr): C=S tiona: 1001 cm^{-1} ; N-H primária: $3261,63\text{ cm}^{-1}$ (assimétrica) e 3178 cm^{-1} (simétrica), N-H secundária: $3369,64\text{ cm}^{-1}$.

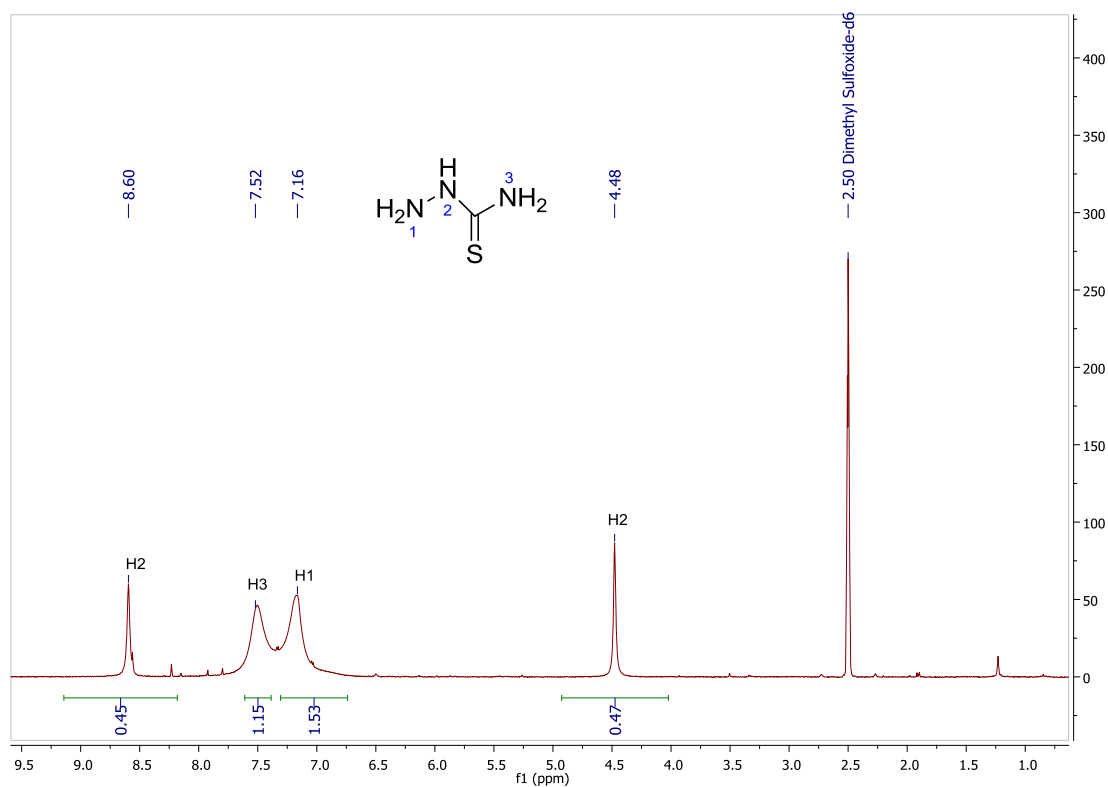
Espectro 45 - Espectro na região de infravermelho da tiossemicarbazida (4).



Fonte: dados da pesquisa.

RMN ^1H (300 MHz; DMSO): δ 7,16 (H1, 2H, s); δ 8,60/4,48 (H2, 1H, s/s); δ 7,52 (H3, 2H, s).

Espectro 46 - Espectro de RMN de ^1H da tiossemicarbazida (**4**) (DMSO).

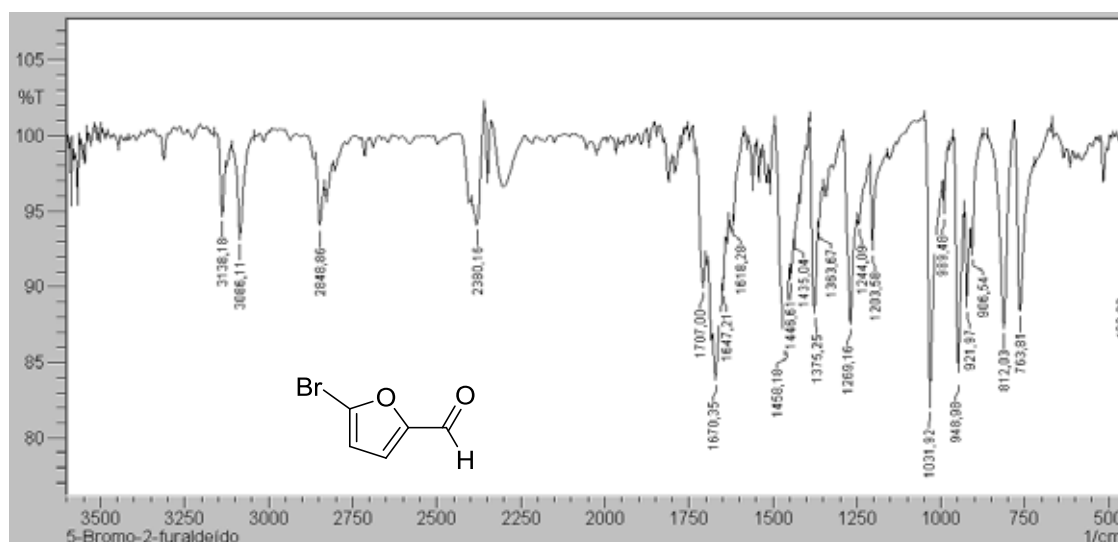


Fonte: dados da pesquisa.

Caracterização estrutural do reagente (6) - 5-bromo-2-furaldeído

Infravermelho (pastilhas KBr): C=O aldeído: 1670,35 cm^{-1} ; C-H aldeído: 2848,86 cm^{-1} , C=C aromático: 1458,18 cm^{-1} .

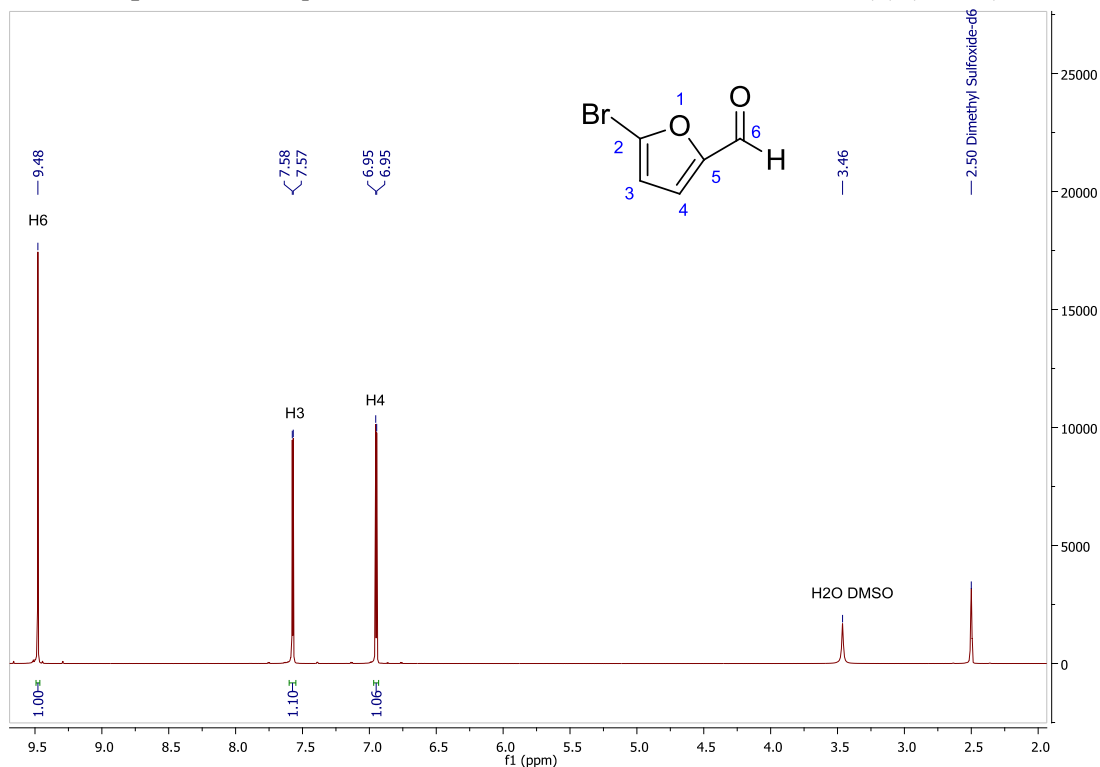
Espectro 47 - Espectro na região de infravermelho do 5-bromo-2-furaldeído (6).



Fonte: dados da pesquisa.

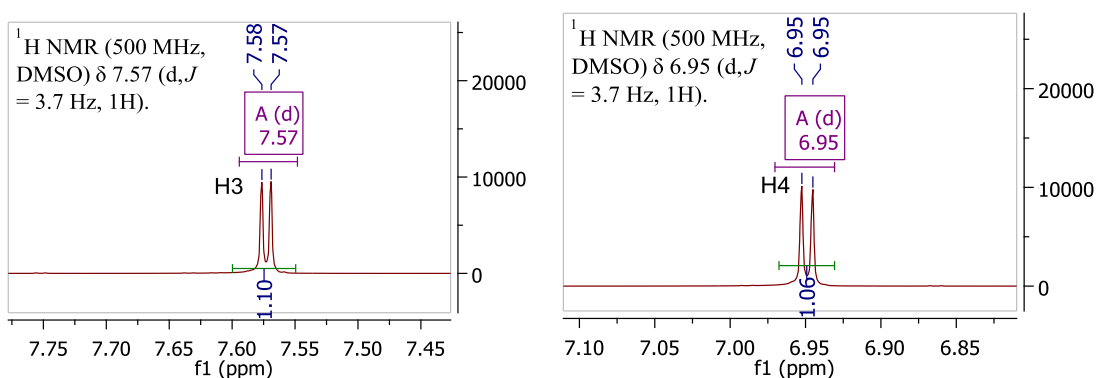
RMN ^1H (300 MHz; DMSO): δ 7,57 (H3, 1H, d, $J=3,7$ Hz); δ 6,95 (H4, 1H, d, $J=3,7$ Hz); δ 9,48 (H6, 1H, s).

Espectro 48 - Espectro de RMN de ^1H do 5-bromo-2-furaldeído (**6**) (DMSO).



Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 49 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H do 5-bromo-2-furaldeído (**6**) – ampliação da região entre 7,40 e 7,80 ppm e 6,70 e 7,10 ppm (DMSO).

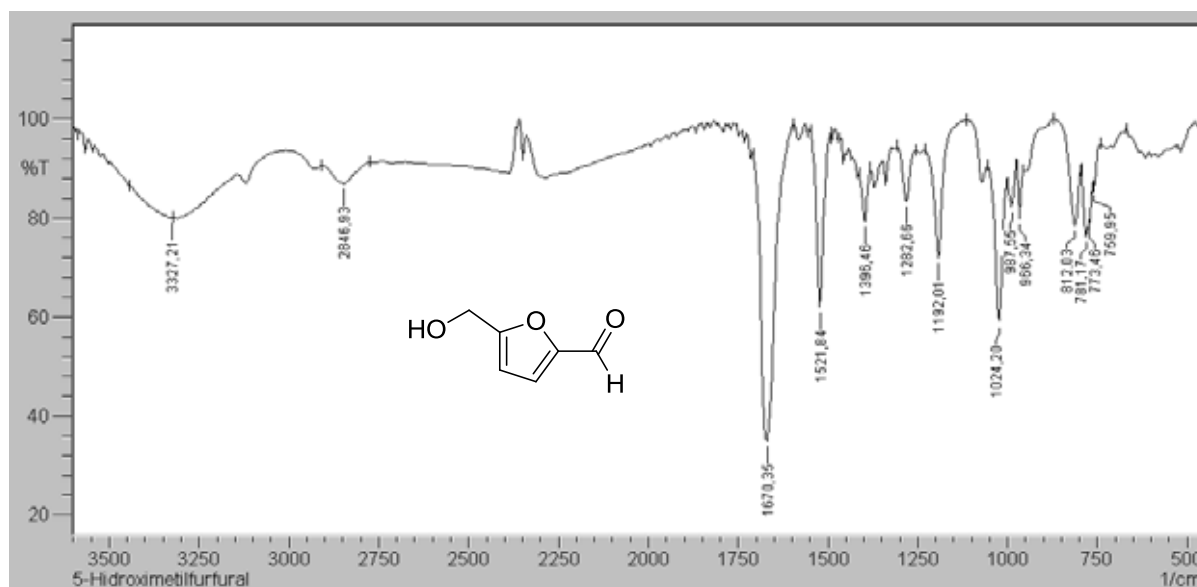


Fonte: dados da pesquisa.

Caracterização estrutural do reagente (10) - 5-hidroximetil-2-furaldeído

Infravermelho (pastilhas KBr): C=O aldeído: 1670,35 cm^{-1} ; C-H aldeído: 2846,93 cm^{-1} , O-H: 3327 cm^{-1} .

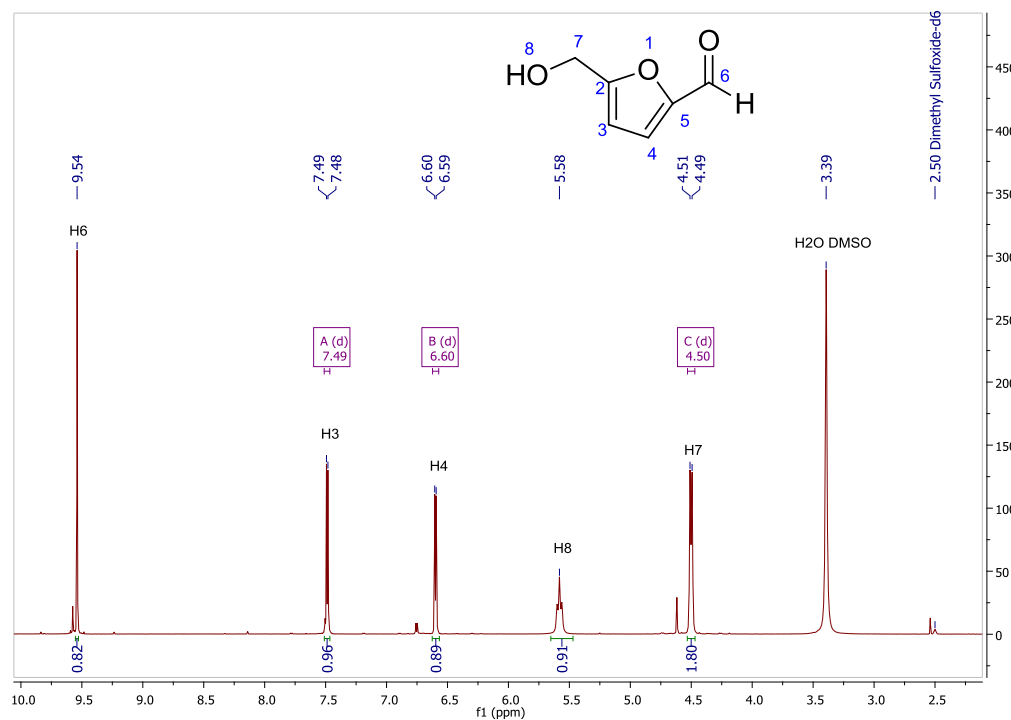
Espectro 50 - Espectro na região de infravermelho do 5-hidroximetil-2-furaldeído (10).



Fonte: dados da pesquisa.

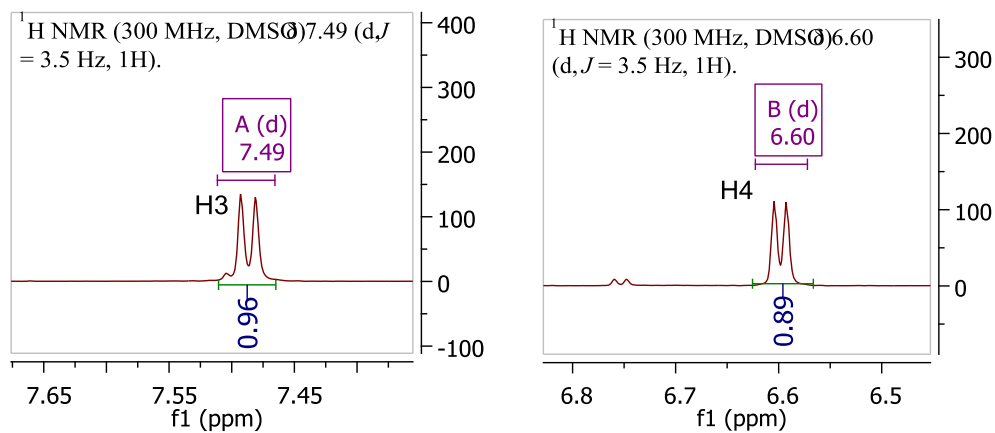
RMN ^1H (300 MHz; DMSO): δ 7,49 (H3, 1H, d, $J=3,5$ Hz); δ 6,60 (H4, 1H, d, $J=3,5$ Hz); δ 9,54 (H6, 1H, s); δ 4,50 (H7, 1H, d, $J=5,1$ Hz); δ 5,58 (H8, 1H, t).

Espectro 51 - Espectro de RMN ^1H do 5-hidroximetil-2-furaldeído (**10**) (DMSO).



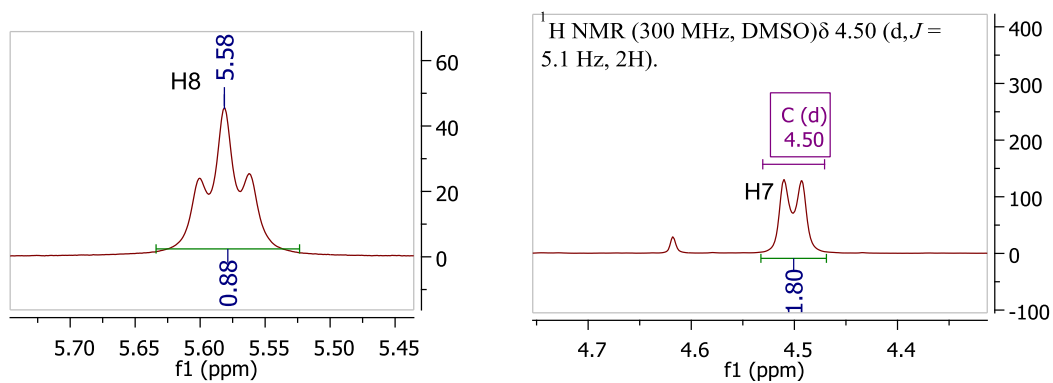
Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 52—Ampliações do espectro de RMN ^1H do 5-hidroximetil-2-furaldeído (**10**) – regiões entre 7,35 e 7,70 ppm e 6,45 e 6,80 ppm (DMSO).

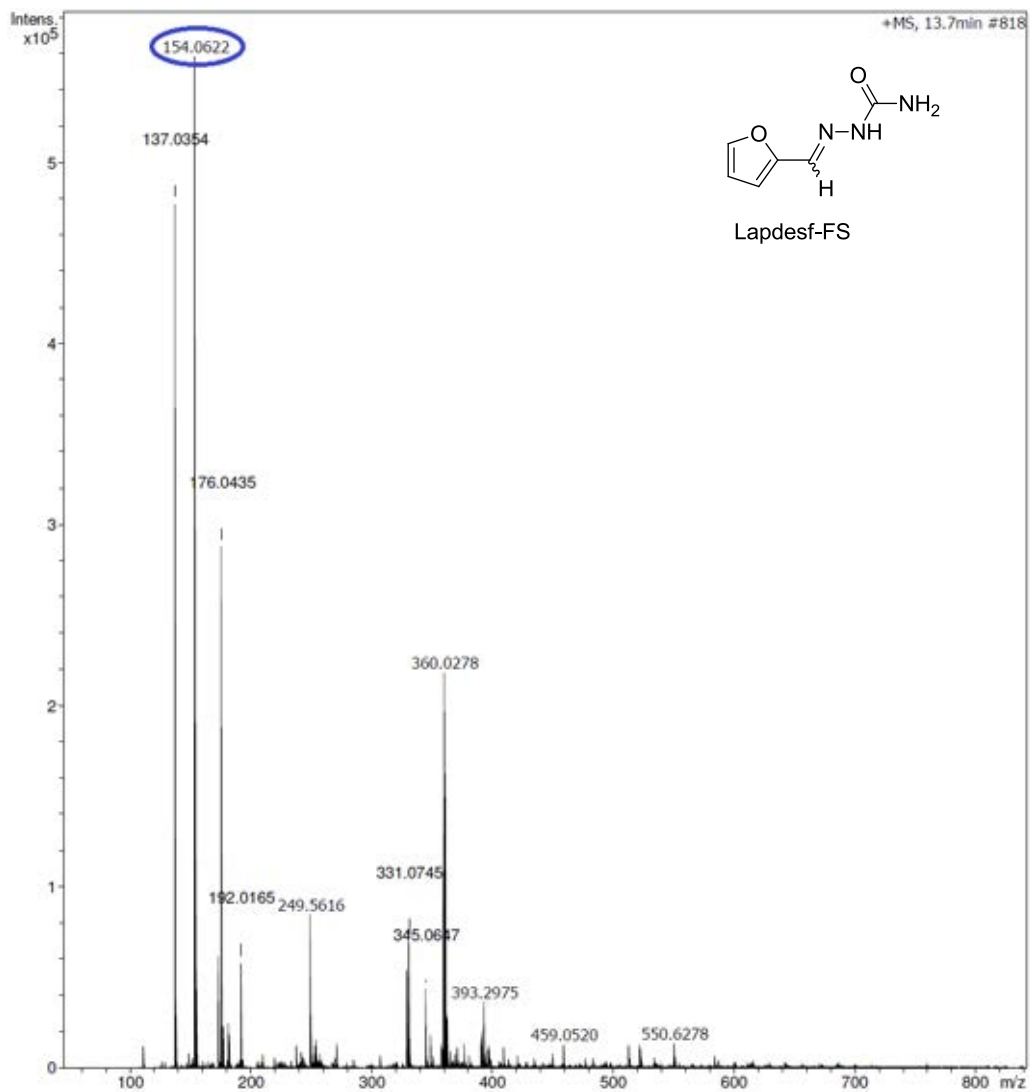


Fonte: dados da pesquisa.

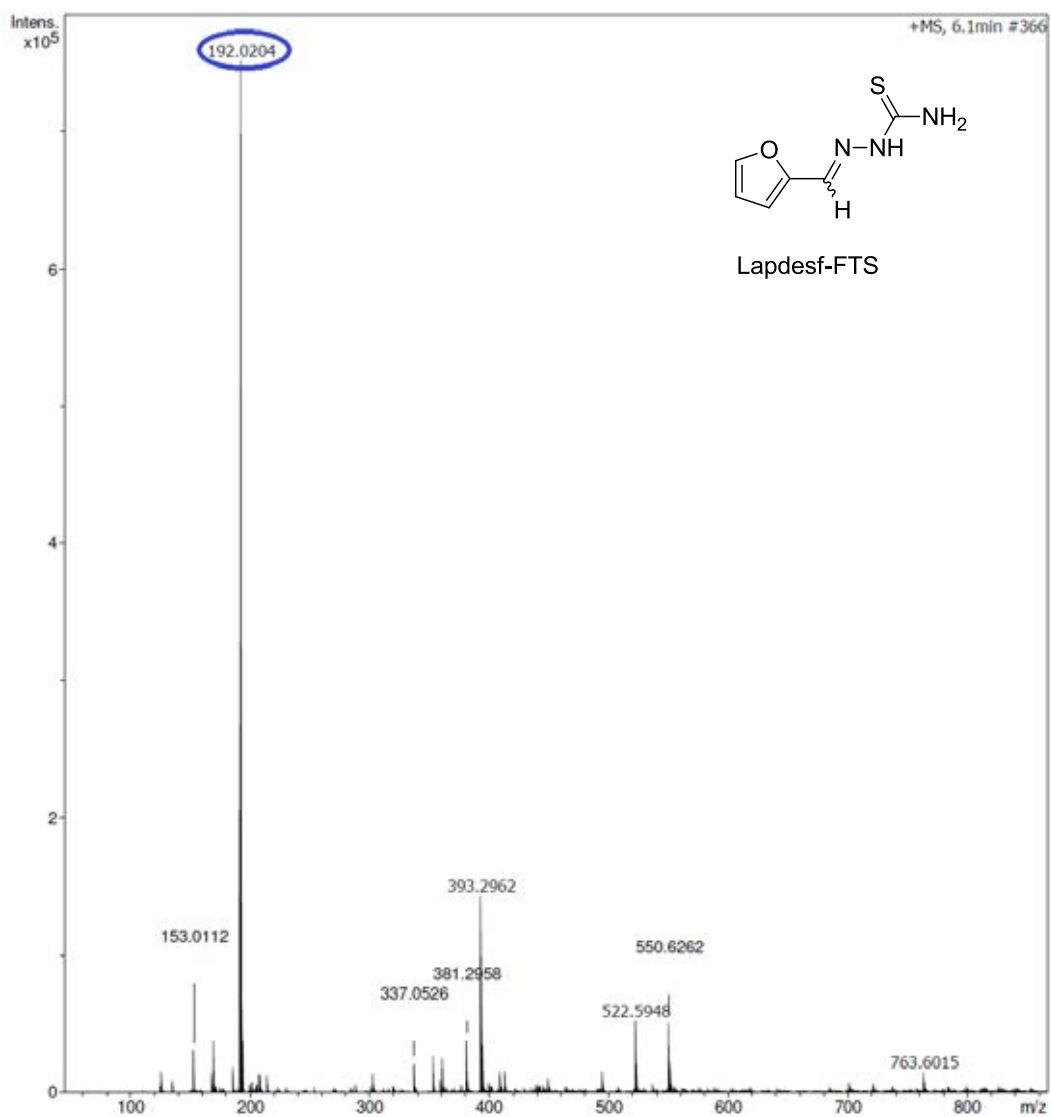
Espectro 53 - Ampliações do espectro de RMN ^1H do 5-hidroximetil-2-furaldeído (**10**) – regiões entre 5,45 e 5,75 ppm e 4,35 e 4,75 ppm (DMSO).



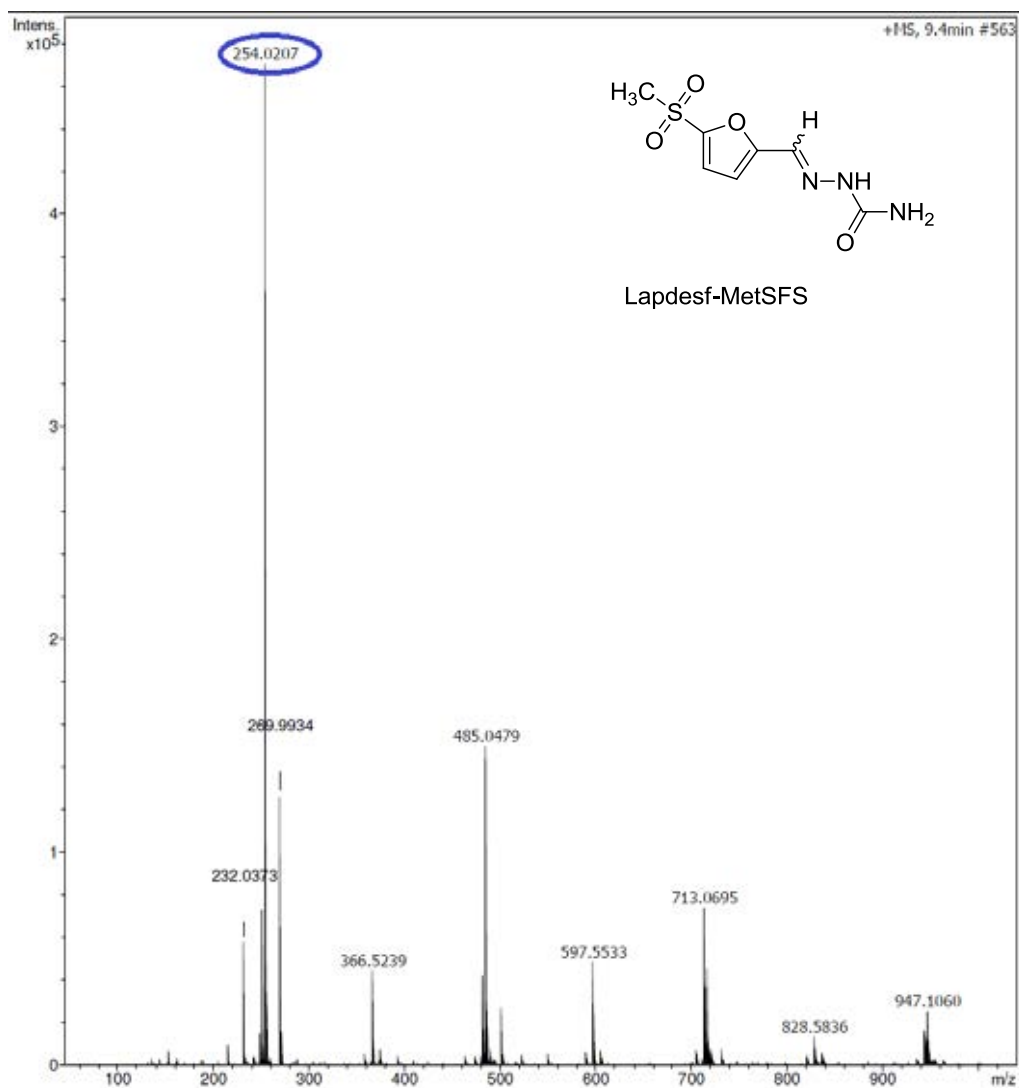
Fonte: dados da pesquisa.

Caracterização estrutural dos bioisósteros através de espectrometria de massas**Espectro 54** - Espectro de massas do composto Lapdesf – FS (3).

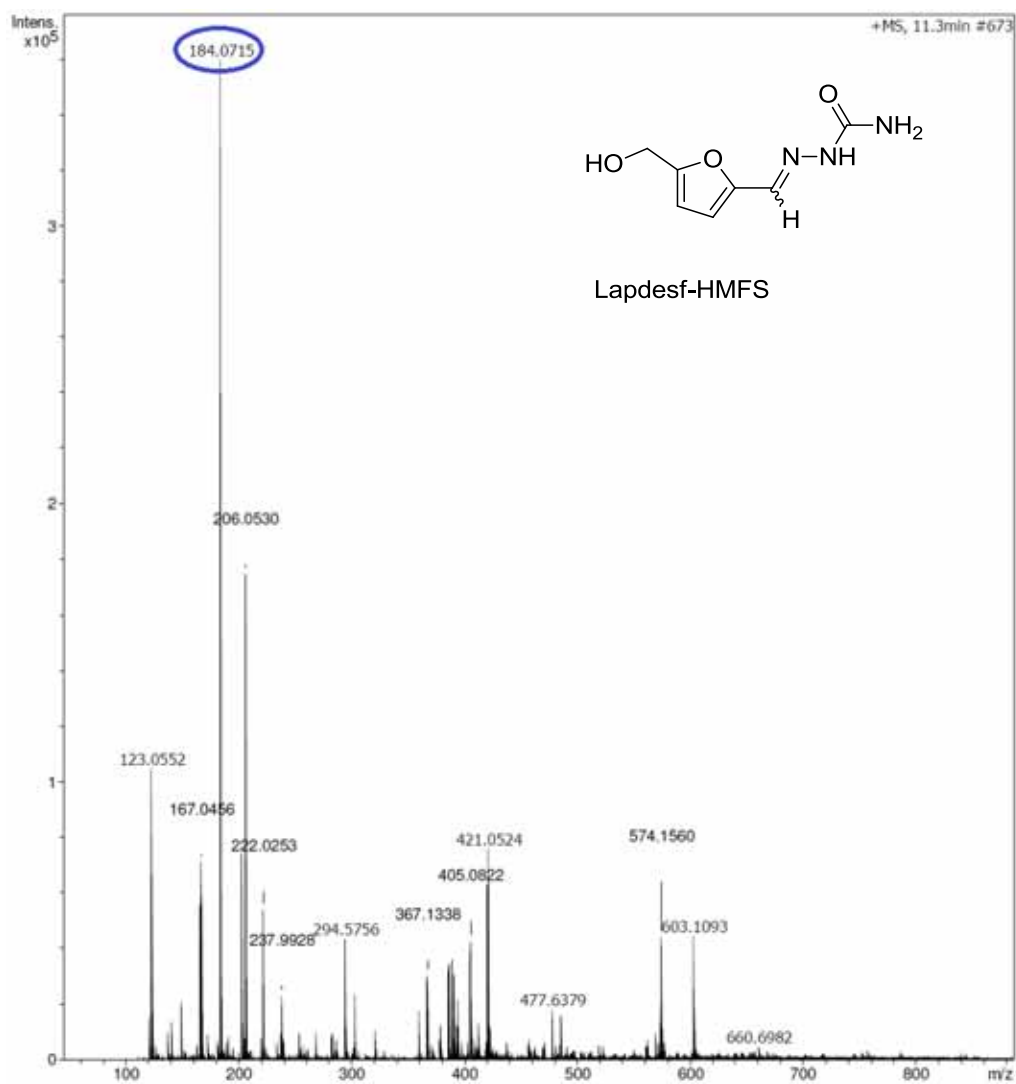
Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 55 - Espectro de massas do Lapdesf-FTS (5)

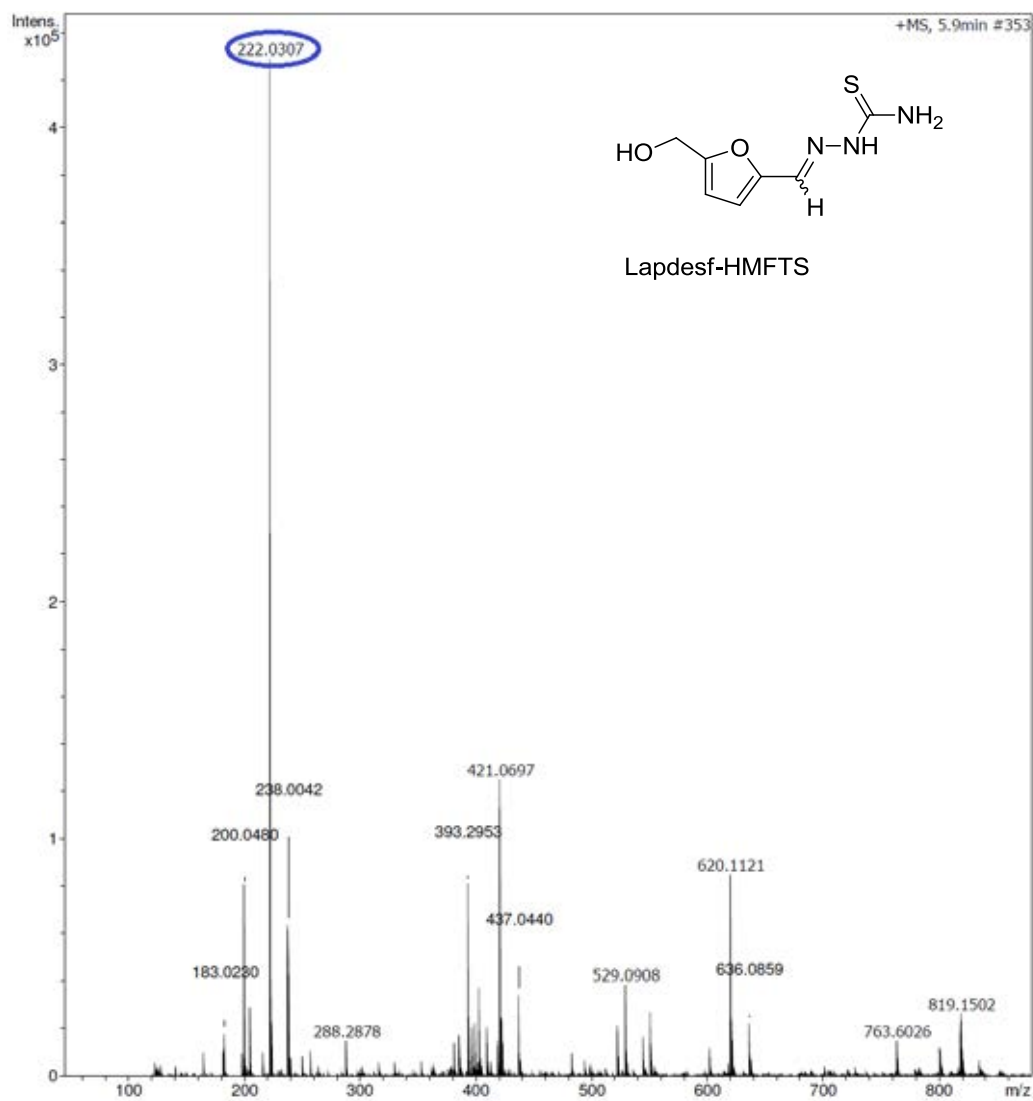
Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 56 - Espectro de massas do Lapdesf – MetSFS (8).

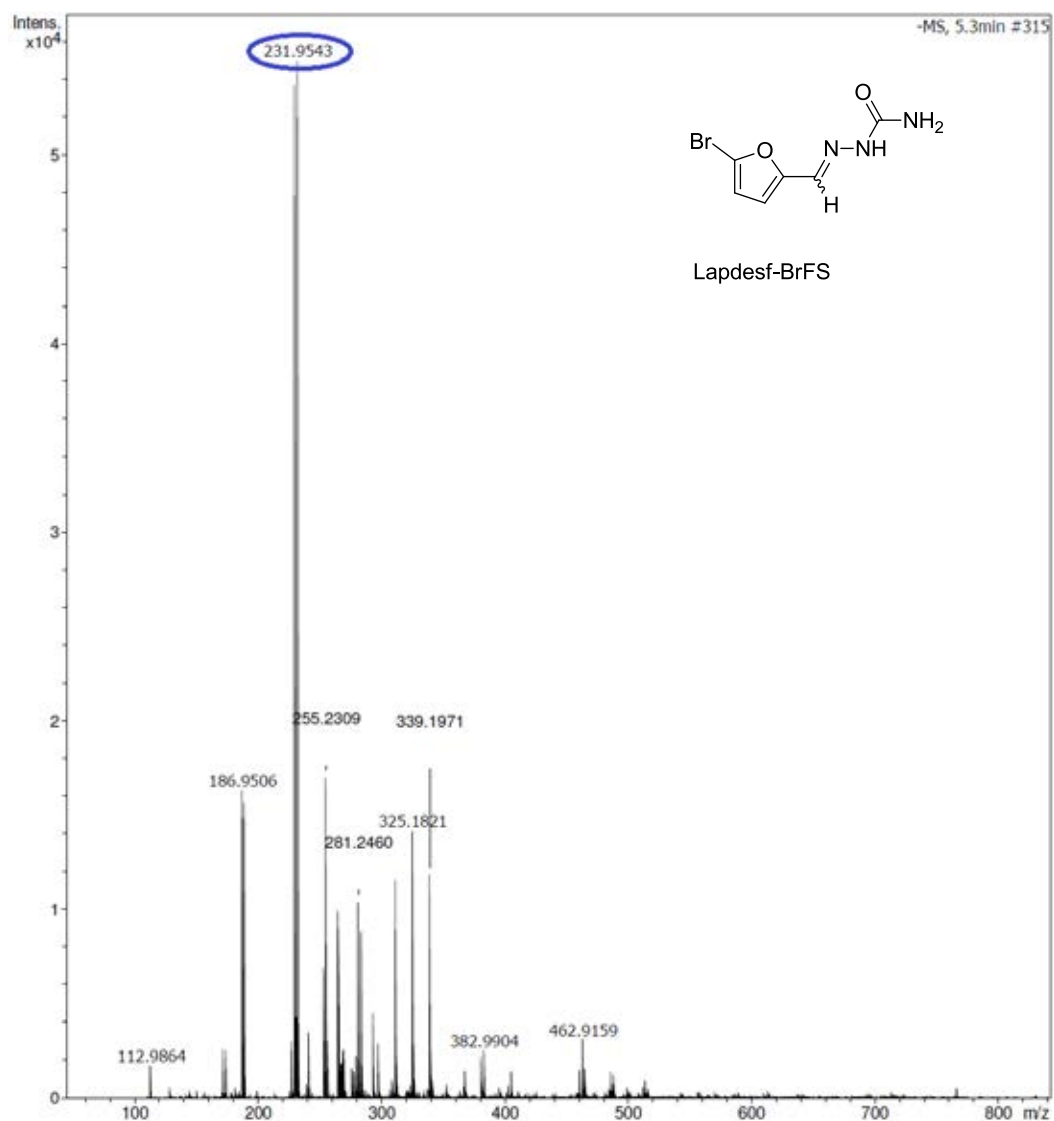
Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 57 - Espectro de massas do Lapdesf-HMFS (11).

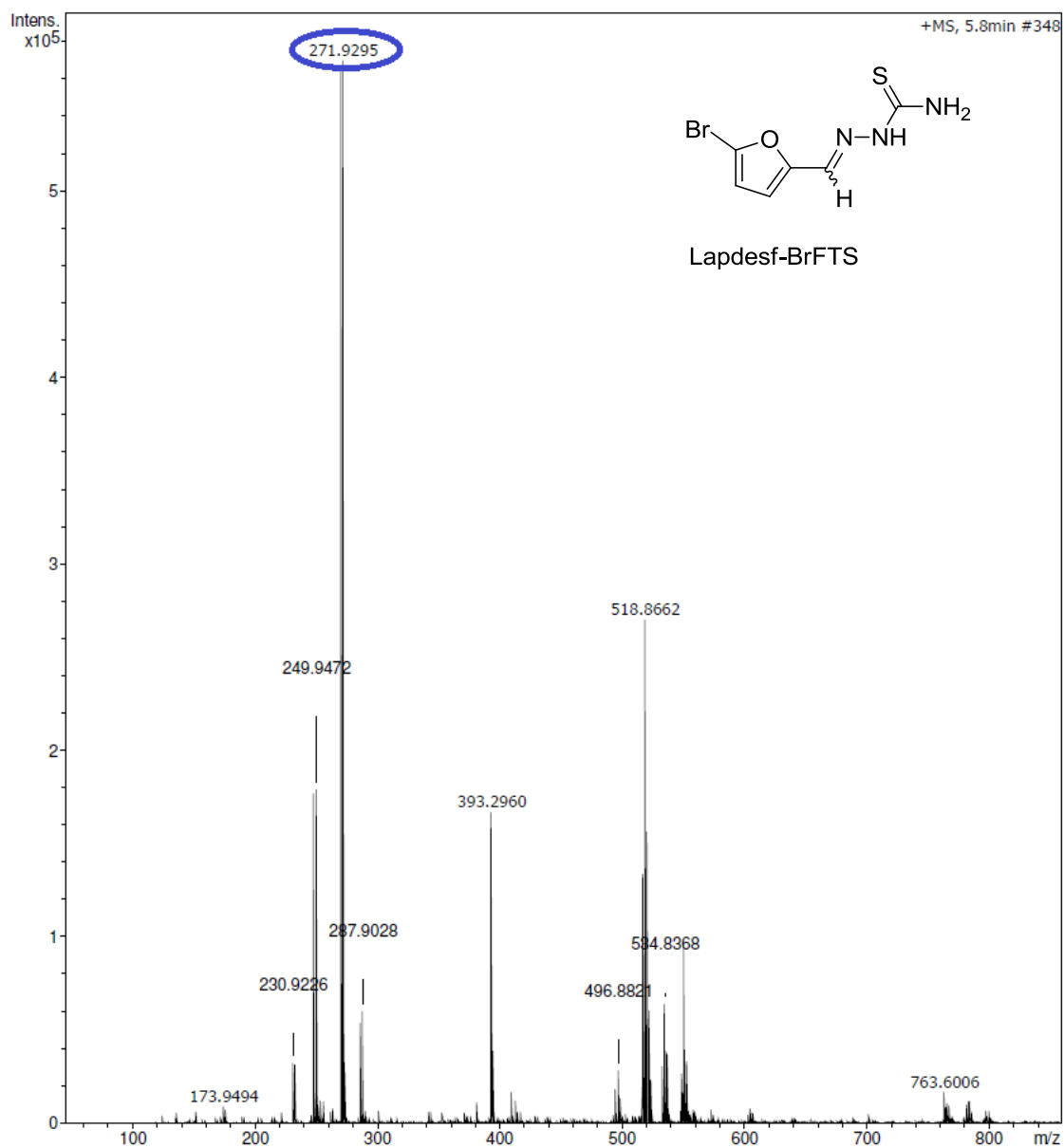
Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 58 - Espectro de massas do Lapdesf-HMFTS (12).

Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 59 - Espectro de massas do Lapdesf –BrFS (13).

Fonte: dados da pesquisa.

Espectro 60 - Espectro de massas do Lapdesf-BrFTS (**14**).

Fonte: dados da pesquisa.