

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

NEREU JUNIO CÂNDIDO OLIVEIRA

**SÍNTESE, ESTUDOS COMPUTACIONAIS E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE NOVOS HETEROCICLOS TIAZÓIS,
TIADIAZÓIS E TIADIAZOLÍNICOS**

BELO HORIZONTE

2021

NEREU JUNIO CÂNDIDO OLIVEIRA

**SÍNTESE, ESTUDOS COMPUTACIONAIS E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE NOVOS HETEROCICLOS TIAZÓIS,
TIADIAZÓIS E TIADIAZOLÍNICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Barbosa de Oliveira – UFMG.

Coorientador: Prof. Dr. Vinícius Gonçalves Maltarollo – UFMG.

BELO HORIZONTE

2021

O38s Oliveira, Nereu Junio Cândido.
Síntese, estudos computacionais e avaliação da atividade antifúngica de novos heterociclos tiazóis, tiadiazóis e tiadiazolínicos / Nereu Junio Cândido Oliveira. – 2021.
222 f. : il.

Orientadora: Dra. Renata Barbosa de Oliveira.
Coorientador: Dr. Vinícius Gonçalves Maltarollo.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Compostos orgânicos – Teses. 2. Fungicidas – Teses. 3. Validação de método – Teses. I. Oliveira, Renata Barbosa de. II. Maltarollo, Vinícius Gonçalves. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 615.4



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

*“SÍNTESE, ESTUDOS COMPUTACIONAIS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE NOVOS
HETEROCICLOS TIAZÓIS, TIADIAZÓIS E TIADIAZOLÍNICOS”*

NEREU JUNIO CANDIDO OLIVEIRA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de concentração CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

Prof. Dr. Celso de Oliveira Rezende Júnior
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Dra. Danielle da Costa Silva
Instituto Federal do Piauí - IFPI

Profa. Dra. Renata Barbosa de Oliveira - Orientadora
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Prof. Dr. Vinícius Gonçalves Maltarollo - Coorientador
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Belo Horizonte, 28 de outubro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Vinicius Goncalves Maltarollo, Professor do Magistério Superior**, em 28/10/2021, às 17:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Celso de Oliveira Rezende Júnior, Usuário Externo**, em 29/10/2021, às 08:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Barbosa de Oliveira, Professora do Magistério Superior**, em 29/10/2021, às 08:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Danielle da Costa Silva, Usuário Externo**, em 29/10/2021, às 22:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1039532** e o código CRC **FE48F915**.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado saúde, força e inteligência para superar as adversidades que surgiram no decorrer da minha jornada.

A minha orientadora Renata Oliveira e ao meu coorientador Vinícius Maltarollo por seus auxílios, correções e incentivos realizados até mesmo nos seus períodos de descanso.

Ao professor Ricardo Alves pelo conhecimento compartilhado e pelas conversas tão abrangentes sobre diversas áreas do conhecimento.

A professora Susana Johann do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG, pela realização dos ensaios microbiológicos. Ao Departamento de Química da UFMG pela disponibilização do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução – Laremar, para obtenção dos espectros de RMN.

Aos professores do PPGCF, pelo conhecimento compartilhado e pela dedicação ao constante aprimoramento do Programa.

Aos meus amigos de laboratório em especial à Raquel, Ângela, Gabriel e Inácio, não só pelo companheirismo e dedicação durante a busca incessante pelo conhecimento técnico-científico, mas pelo vínculo de amizade duradouro desenvolvido durante a caminhada.

Aos meus pais e familiares, em especial ao Gabriel Oliveira, que se foi antes da conclusão desta jornada pelo qual tanto torceu e me incentivou.

Tudo posso naquele que me fortalece!

Filipenses 4:13.

RESUMO

O número crescente de infecções fúngicas oportunistas associadas à comorbidades que comprometem a resposta imunológicas do hospedeiro e o surgimento de espécies fúngicas resistentes a fármacos consolidados na prática ambulatorial, têm contribuído para o aumentando da taxa de mortalidade de pacientes em todo mundo. Deste modo, com o objetivo de encontrar novas opções terapêuticas, derivados tiazolilhidrazonas e tiadiazóis com potencial atividade antifúngica foram planejados e sintetizados no presente trabalho. Além disso, modelos de HQSAR foram construídos com intuito de compreender a relação estrutura-atividade dessa classe de compostos e auxiliar no planejamento de novas substâncias com elevada probabilidade de sucesso terapêutico, sendo os modelos **2q**, **58p** e **87t** identificados com as melhores capacidades preditivas. A síntese dos heterociclos ocorreu mediante reação de condensação entre aldeídos e cetonas com a tiossemicarbazida, seguida de reação de ciclização intermolecular entre a tiossemicarbazona correspondente com um dos seguintes reagentes: α -bromoacetofenonas, 4-cloroacetoacetato de etila, 2-cloroacetoacetato de etila ou anidrido acético. Os heterociclos obtidos foram avaliados *in vitro* contra *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. auris*, *Cryptococcus neoformans* e *C. gatti*. As tiazolilhidrazonas **2a–2d**, **2l–2q** e **3d** se destacaram por apresentarem amplo espectro de ação e alta potência, sendo a substância **3d** mais ativa que o fluconazol contra todas as espécies de fungos testadas.

Palavras-chave: heterociclos; tiazolilhidrazonas; tiadiazol; HQSAR; antifúngicos.

ABSTRACT

The growing number of opportunistic fungal infections associated with comorbidities that compromise the immunological host defenses, and the emergence of resistance to antifungal drug consolidated in clinical practice, have contributed to the increase in the mortality rate of patients worldwide. Thus, with the aim of finding new therapeutic options for the treatment of fungal infections, novel thiazolyldihydrazone and thiadiazole derivatives were designed and synthesized. In addition, HQSAR models were built in order to understand the structure-activity relationship of this class of compounds and to assist in the design of new substances with a high probability of therapeutic success, with the **2q**, **58p** and **87t** models identified with the best predictive capabilities. The synthesis of the heterocycles occurred through a condensation reaction between aldehydes and ketones with thiosemicarbazide, followed by an intermolecular cyclization reaction between the corresponding thiosemicarbazone with one of the following reagents: α -bromo-acetophenones, ethyl-4-chloroacetoacetate, ethyl-2-chloroacetoacetate or acetic anhydride. The obtained heterocycles were evaluated *in vitro* against fungal species of *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. auris*, *Cryptococcus neoformans* and *C. gatti*. The thiazolyldihydrazones **2a–2d**, **2l–2q** and **3d** stood up for having a broad spectrum of action and high potency, being the substance **3d** more active than fluconazole against all fungal species tested.

Keywords: heterocycles; thiazolyldihydrazone; thiadiazole; HQSAR; antifungal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principais alvos dos fármacos antifúngicos	33
Figura 2 – Estrutura da Griseofulvina	34
Figura 3 – Estrutura química da Nistatina e Anfotericina B	36
Figura 4 – Processo de ativação da 5-Flucitosina	37
Figura 5 – Estrutura química das Equinocandinas	39
Figura 6 – Alvos farmacológicos na via biossintética do ergosterol	40
Figura 7 – Estrutura química das alilaminas e benzilamina	41
Figura 8 – Proposta de interação entre o fluconazol e a enzima 14 α -esterol desmetilase	42
Figura 9 – Relação estrutura-atividade do Fluconazol	43
Figura 10 – Estrutura do anel tiazólico	44
Figura 11 – Importantes fármacos que possuem núcleo tiazolínico	45
Figura 12 – Bioconversão do sulfato de isavuconazônio em isavuconazol ...	46
Figura 13 – Relação estrutura-atividade isavuconazol e ravuconazol	47
Figura 14 – Estrutura geral das tiazolilhidrazonas	48
Figura 15 – Estrutura química de algumas das tiazolilhidrazonas sintetizadas por nosso grupo de pesquisa (LINO et al., 2018; SÁ et al., 2015)	50
Figura 16 – Estrutura química da substância XV estudada por Santana e colaboradores (2018)	53
Figura 17 – Tiazolilhidrazonas utilizadas nos estudos de Sá e colaboradores (2019)	54
Figura 18 – Substâncias mais promissoras analisadas por Pricopie e colaboradores (2019)	55
Figura 19 – Representação do <i>fingerprint</i> molecular	58
Figura 20 – Perfil dos modelos linear (a), parabólico (b) e bilinear (a)	60
Figura 21 – Etapas de geração dos hologramas moleculares e modelo HQSAR	64

Figura 22 – Resultados obtidos a partir de estudos de HQSAR	65
Figura 23 – Fármacos planejados com auxílio da quimioinformática	66
Figura 24 – Esquematização do plano de síntese	69
Figura 25 – Métricas empregadas na validação externa	73
Figura 26 – Proposta utilizada no planejamento dos heterociclos tiazolilhidrazonas, tiadiazolínicos e tiadiazol	76
Figura 27 – Dendrograma gerados pelo cluster hierárquico para análise dos parâmetros estruturais do conjunto geral de moléculas	115
Figura 28 – Dendrograma gerado pelo cluster hierárquico para análise dos parâmetros drug-like do conjunto geral de moléculas	115
Figura 29 – Dendrograma gerado pelo cluster hierárquico para análise dos parâmetros biológicos do conjunto geral de moléculas	116
Figura 30 – Conjunto treinamento composto por 41 moléculas testadas contra <i>C. neoformans</i> , <i>C. gatti</i> e 30 avaliadas contra <i>C. albicans</i> , e seus respectivos valores de pMIC	117
Figura 31 – Conjunto teste composto por 11 moléculas testadas contra <i>C.</i> <i>neoformans</i> , <i>C. gatti</i> e 8 avaliadas contra <i>C. albicans</i> , e seus respectivos valores de pMIC	118
Figura 32 – Resultados de validação dos modelos 2q, 58p e 87t pelo método <i>leave-N-out</i>	131
Figura 33 – Resultados de validação dos modelos 2q, 58p e 87t pelo método <i>Y-scrambling</i>	133
Figura 34 – Mapas de contribuição gerados pelo modelo 2q para a espécie de <i>C. albicans</i>	135
Figura 35 – Mapas de contribuição gerados pelo modelo 58p para a espécie de <i>C. neoformans</i>	136
Figura 36 – Mapas de contribuição gerados pelo modelo 87t para a espécie de <i>C. gatti</i>	137

Figura 37 – Rota de síntese e estruturas da tiossemicarbazida e tiossemicarbazonas sintetizadas	139
Figura 38 – Mecanismo proposto para a síntese das tiossemicarbazonas	140
Figura 39 – Reação do revelador 2,4-dinitrofenilhidrazina com aldeídos ou cetonas	141
Figura 40 – Representação das configurações <i>sin</i> e antiperiplanar das tiossemicarbazonas	142
Figura 41 – Rota de síntese e estruturas químicas das tiazolilhidrazonas 2a – 2r sintetizadas	147
Figura 42 – Rota de síntese e estruturas químicas das tiazolilhidrazonas 3a – 3d sintetizadas	148
Figura 43 – Proposta de hidrólise da substância 3c catalisada por enzimas esterases	150
Figura 44 – Rota de síntese e estruturas químicas das tiazolilhidrazonas 4a – 4c sintetizadas	151
Figura 45 – Mecanismo geral proposto para formação das tiazolilhidrazonas	152
Figura 46 – Valores preditos de deslocamento químico para C-4 e C-5 do anel tiazólico dos regioisômeros A e B da substância 2f comparados aos registrados no espectro de RMN de ^{13}C (400MHz, DMSO- d_6) desta substância	156
Figura 47 – Esquema de comparação de nucleofilicidade do oxigênio vs enxofre	157
Figura 48 – Representação dos isômeros Z e E da substância 2g e de seu espectro de RMN ^{13}C (400MHz, CDCl_3)	159
Figura 49 – Proposta de formação dos isômeros Z e E para a substância 2g	160

Figura 50 – Rota de síntese e estruturas químicas dos compostos tiadiazolínicos 5a e 5b	162
Figura 51 – Mecanismo proposto para formação dos heterociclos tiadiazolínicos	163
Figura 52 – Comparação de valores de predição de pKa das substâncias 2b, 2h e 2n pelo programa Marvin sketch	168
Figura B1 – Espectro de RMN de ^1H de 1a (400 MHz, DMSO- d_6)	189
Figura B2 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1a (100 MHz, DMSO- d_6)	189
Figura B3 – Espectro de RMN de ^1H de 1b (400 MHz, DMSO- d_6)	190
Figura B4 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1b (100 MHz, DMSO- d_6)	190
Figura B5 – Espectro de RMN de ^1H de 1c (400 MHz, DMSO- d_6)	191
Figura B6 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1c (100 MHz, DMSO- d_6).....	191
Figura B7 – Espectro de RMN de ^1H de 1d (400 MHz, DMSO- d_6)	192
Figura B8 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1d (100 MHz, DMSO- d_6)	192
Figura B9 – Espectro de RMN de ^1H de 1e (400 MHz, CDCl_3)	193
Figura B10 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1e (100 MHz, CDCl_3)	193
Figura B11 – Espectro de RMN de ^1H de 1f (400 MHz, DMSO- d_6)	194
Figura B12 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1f (100 MHz, DMSO- d_6)	194
Figura B13 – Espectro de RMN de ^1H de 2a (400 MHz, CDCl_3)	195
Figura B14 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2a (100 MHz, CDCl_3)	195
Figura B15 – Espectro de RMN de ^1H de 2b (400 MHz, DMSO- d_6)	196
Figura B16 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2b (100 MHz, DMSO- d_6)	196
Figura B17 – Espectro de RMN de ^1H de 2c (400 MHz, DMSO- d_6)	197

Figura B18 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2c (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	197
Figura B19 – Espectro de RMN de ^1H de 2d (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	198
Figura B20 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2d (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	198
Figura B21 – Espectro de RMN de ^1H de 2e (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	199
Figura B22 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2e (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	199
Figura B23 – Espectro de RMN de ^1H de 2f (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	200
Figura B24 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2f (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	200
Figura B25 – Espectro de RMN de ^1H de 2g (400 MHz, CDCl_3)	201
Figura B26 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2g (100 MHz, CDCl_3)	201
Figura B27 – Espectro de RMN de ^1H de 2h (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	202
Figura B28 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2h (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	202
Figura B29 – Espectro de RMN de ^1H de 2i (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	203
Figura B30 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2i (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	203
Figura B31 – Espectro de RMN de ^1H de 2j (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	204
Figura B32 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2j (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	204
Figura B33 – Espectro de RMN de ^1H de 2k (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	205
Figura B34 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2k (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	205
Figura B35 – Espectro de RMN de ^1H de 2l (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	206
Figura B36 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2l (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	206
Figura B37 – Espectro de RMN de ^1H de 2m (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	207
Figura B38 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2m (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	207
Figura B39 – Espectro de RMN de ^1H de 2n (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	208

Figura B40 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2n (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	208
Figura B41 – Espectro de RMN de ^1H de 2o (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	209
Figura B42 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2o (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	209
Figura B43 – Espectro de RMN de ^1H de 2p (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	210
Figura B44 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2p (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	210
Figura B45 – Espectro de RMN de ^1H de 2q (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	211
Figura B46 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2q (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	211
Figura B47 – Espectro de RMN de ^1H de 2r (400 MHz, acetona – d_6)	212
Figura B48 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2r (100 MHz, acetona – d_6)	212
Figura B49 – Espectro de RMN de ^1H de 3a (400 MHz, acetona – d_6)	213
Figura B50 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 3a (100 MHz, acetona – d_6)	213
Figura B51 – Espectro de RMN de ^1H de 3b (400 MHz, CDCl_3)	214
Figura B52 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 3b (100 MHz, CDCl_3)	214
Figura B53 – Espectro de RMN de ^1H de 3c (400 MHz, acetona – d_6)	215
Figura B54 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 3c (100 MHz, acetona – d_6)	215
Figura B55 – Espectro de RMN de ^1H de 3d (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	216
Figura B56 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 3d (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	216
Figura B57 – Espectro de RMN de ^1H de 4a (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	217
Figura B58 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 4a (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)	217
Figura B59 – Espectro de RMN de ^1H de 4b (400 MHz, CDCl_3)	218
Figura B60 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 4b (100 MHz, CDCl_3)	218
Figura B61 – Espectro de RMN de ^1H de 4c (400 MHz, Acetona– d_6)	219

Figura B62 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 4c (100 MHz, Acetona- d_6)	219
Figura B63 – Espectro de RMN de ^1H de 5a (400 MHz, acetona – d_6)	220
Figura B64 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 5a (100 MHz, acetona – d_6)	220
Figura B65 – Espectro de RMN de ^1H de 5b (400 MHz, DMSO- d_6)	221
Figura B66 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 5b (100 MHz, DMSO- d_6)	221
Figura B67 – Espectro de RMN de ^1H de 6a (400 MHz, CDCl_3)	222
Figura B68 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 6a (100 MHz, CDCl_3)	222

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estruturas e valores de MIC das tiazolilhidrazonas com melhor atividade comparada ao padrão fluconazol e efeitos da modificação do núcleo tiazólico na atividade antifúngica (Łaczkowski et al., 2016)	51
Tabela 2 – Concentração inibitória mínima (MIC) das tiazolilhidrazonas mais ativas comparadas ao fluconazol (OUF et al., 2018)	52
Tabela 3 – Parâmetros de distinção de fragmentos em HQSAR	63
Tabela 4 – Principais resultados de validação interna dos modelos de HQSAR gerados para as espécies de <i>C. albicans</i> com tamanho de fragmento de 4 a 7 átomos	119
Tabela 5 – Principais resultados de validação interna dos modelos de HQSAR gerados para a espécie de <i>C. neoformans</i> com tamanho de fragmento de 4 a 7 átomos	120
Tabela 6 – Principais resultados de validação interna dos modelos de HQSAR gerados para a espécie de <i>C. gatti</i> com tamanho de fragmento de 4 a 7 átomos	121
Tabela 7 – Resultados de validação interna dos melhores modelos de HQSAR identificados para as espécies de <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> e <i>C. gatti</i> com variações no tamanho de fragmento	123
Tabela 8 – Resultados de validação externa dos melhores modelos de HQSAR para as espécies fúngicas de <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformas</i> e <i>C. gatti</i>	125
Tabela 9 – Valores de atividade experimental e preditiva (pMIC) e resíduos calculados para o conjunto teste utilizando o modelo de HQSAR 2q para a espécie de <i>C. albicans</i>	127
Tabela 10 – Valores de atividade experimental e preditiva (pMIC) e resíduos calculados para o conjunto teste utilizando o modelo de HQSAR 58p para a espécie de <i>C. neoformans</i>	128

Tabela 11 – Valores de atividade experimental e preditiva (pMIC) e resíduos calculados para o conjunto teste utilizando o modelo de HQSAR 87t para a espécie de <i>C. gatti</i>	129
Tabela 12 – Deslocamento dos sinais de RMN ¹ H da porção tiossemicarbazona	143
Tabela 13 – Principais valores de deslocamentos químicos dos sinais no espectro de RMN de ¹³ C das tiossemicarbazonas 1a – 1f	145
Tabela 14 – Predição do log P das substâncias 3a – 3d, 2c, 2e, 2i e 2o utilizando o programa ChemDraw Ultra	149
Tabela 15 – Principais dados dos espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C indicativos da formação das tiazolilhidrazonas 2a – 2r, 3a – 3d e 4a – 4c	153
Tabela 16 – Principais sinais no espectro de RMN de ¹ H e de ¹³ C indicativos da formação dos heterociclos tiadiazóis 5a, 5b e 6a	164
Tabela 17 – Resultados de concentração inibitória mínima – MIC (μM) dos heterociclos sintetizados	166
Tabela 18 – Valor de atividade antifúngica experimental vs predita (pMIC) dos heterociclos sintetizados contra as espécies de <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> e <i>C. gatti</i> gerados pelos modelos 2q, 58p e 87t, respectivamente	170
Tabela A1 – Resultados de validação interna dos modelos de HQSAR das espécies de <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> e <i>C. gatti</i> com tamanho de fragmento de 4 a 7 átomos	185
Tabela A2 – Resultados de validação interna dos modelos de HQSAR selecionados para as espécies de <i>C. albicans</i> com variações no tamanho de fragmento	186
Tabela A3 – Resultados de validação interna dos modelos de HQSAR selecionados para as espécies de <i>C. neoformans</i> com variações no tamanho de fragmento	187
Tabela A4 – Resultados de validação interna dos modelos de HQSAR selecionados para as espécies de <i>C. gatti</i> com variações no tamanho de fragmento	188

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

μM	Micromolar
5-FU	5-Fluoruracila
Å	Ângstron
A549	Linhagem de células de carcinoma de pulmão humano
Acetil-CoA	Acetil Coenzima A
AcOH	Ácido acético
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAMD	<i>Computer-Aided Molecular Design</i>
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CYP51	14-α-esterol desmetilase
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
DEPT	<i>Distortionless enhancement by polarization transfer</i>
dTMP	Desoxitimidilato
dUMP	Desoxiuridilato
F.F.	Faixa de fusão
F.M.	Fórmula Molecular
H9C2	Linhagem celular mioblástica de rato
HBA	Aceptores de ligação de hidrogênio
HBD	Doadores de ligação de hidrogênio
HCA	<i>Hierarchical Cluster Analysis</i>

HEK-293	Linhagem de células embrionárias de rim humano
HepG2	Linhagem de células de hepatocarcinoma humano
HIV	<i>Human Immunodeficiency Acquired</i>
HQSAR	<i>Hologram Quantitative Structure-Activity Relationship</i>
HTS	<i>High Throughput Screening</i>
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LAREMAR	Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução
LBDD	<i>Ligand Based Drug Design</i>
lit.	Literatura
LLC-PK1	Linhagem de células renais epiteliais de rim de porco
LNO	<i>Leave-N-out</i>
LOO	<i>Leave-one-out</i>
m	Múltiplo
M.M.	Massa molar
MAE	Média do erro absoluto
Meio RPMI	Meio do Instituto Roswell Park Memorial
MHz	Mega-Hertz
MIC	Concentração Inibitória Mínima
ND	Não determinado
NEURO-2A	Linhagem de células de neuroblastoma murino
nM	Nanomolar
PCA	<i>Principal Components Analysis</i>
pKa	Constante de dissociação ácida

PLS	<i>Partial Least Squares</i>
PPM	Partes por milhão
q^2	Coeficientes de validação cruzada
QSAR	<i>Quantitative Structure-activity Relationship</i>
q	Quarteto
r^2	Coeficiente de regressão sem validação
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMSE	Raiz Quadrada Média do Erro
s	Simpleto
SBDD	<i>Structure Based Drug Design</i>
SDEP	<i>Standard Deviation of Error of Prediction</i>
SEE	Erro padrão de validação não-cruzada
SEP	Erro padrão de predição
t	Tripleto
tt	Tripleto triplo
UDP-glicose	Glicose-uridina-difosfato
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	24
1.1	Criptococose	26
1.2	Candidíase	28
1.3	Mecanismos Fúngicos de Resistência	31
1.4	Fármacos Antifúngicos	32
1.4.1	<i>Inibidor da Mitose dos Fungos</i>	33
1.4.2	<i>Inibidores da estabilidade da membrana dos fungos (Poliênicos).....</i>	35
1.4.3	<i>Inibidor da síntese de ácidos nucleicos dos fungos</i>	36
1.4.4	<i>Inibidores da síntese de parede celular dos fungos</i>	38
1.4.5	<i>Inibidores da via de síntese do ergosterol</i>	40
1.5	Derivados Tiazólicos	44
1.5.1	<i>Tiazolilhidrazonas</i>	48
1.5.2	<i>Investigação do mecanismo de ação das tiazolilhidrazonas</i>	52
1.6	Quimioinformática	55
1.6.1	QSAR	59
1.6.2	HQSAR	62
1.6.3	<i>Influência da quimioinformática no planejamento de fármacos comercializados</i>	65
2	OBJETIVOS	67
2.1	Objetivo geral	67
2.2	Objetivos específicos	67
3	PLANO DE SÍNTESE	68
4	MATERIAIS E MÉTODOS	70
4.1	Estudos Computacionais	70

4.1.1 Modelos de HQSAR	70
4.1.2 Construção e validação dos modelos de HQSAR	71
4.1.3 Validação externa	72
4.1.4 Validação interna	74
4.2 Planejamento dos heterociclos tiazolilhidrazonas, tiadiazolínicos e tiadiazóis	75
4.3 Síntese das substâncias propostas	78
4.4 Metodologia geral para síntese das tiossemicarbazonas 1a – 1f	79
4.4.1 Síntese de 2-(4-hidroxibutan-2-ilideno)hidrazina-1-carbotioamida (1a)	79
4.4.2 Síntese de etil -2- (2-carbamotioilhidrazineilideno) propanoato (1b)	80
4.4.3 Síntese do Ácido 4-(2-carbamotioilhidrazineilideno) pentanóico (1c)	81
4.4.4 Síntese de 2-(tetrahydro-4H-piran-4-ilideno)hidrazina-1-carbotioamida (1d)	81
4.4.5 Síntese de 2-(ciclohexilmetileno) hidrazina-1-carbotioamida (1e)	82
4.4.6 Síntese do cloridrato de 2 - ((1-etilpiperidin-3-il) metileno) hidrazina-1-carbotioamida (1f)	83
4.5 Metodologia geral para síntese das tiazolilhidrazonas 2a – 2r	84
4.5.1 Síntese de 3-(2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)hidrazineilideno)butan-1-ol (2a)	84
4.5.2 Síntese de 3-(2-(4-(4-clorofenil)tiazol-2-il)hidrazineilideno)butan-1-ol (2b)	85
4.5.3 Síntese de 3-(2-(4-(4-bromofenil)tiazol-2-il)hidrazineilideno)butan-1-ol (2c)	86
4.5.4 Síntese de 4-(2-(2-(4-hidroxibutan-2-ilideno)hidrazineil)tiazol-4-il)benzonitrila (2d)	87
4.5.5 Síntese de 4-(4-bromofenil)-2-(2-(ciclohexilmetileno)hidrazinoil) tiazol (2e)	88

4.5.6 Síntese de etil 2- (2- (4-feniltiazol-2-il) hidrazineilideno) propanoato (2f)	89
4.5.7 Síntese de 2-(2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (2g)	90
4.5.8 Síntese de 2-(2-(4-(4-clorofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (2h)	91
4.5.9 Síntese de 2-(2-(4-(4-bromofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (2i)	92
4.5.10 Síntese de 2-(2-(4-(4-metoxifenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (2j)	93
4.5.11 Síntese de 2-(2-(4-(4-cianofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (2k)	94
4.5.12 Síntese do ácido 4-(2-(4-feniltiazol-2-il)hidrazinoilideno) pentanóico (2l)	95
4.5.13 Síntese do ácido 4-(2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il) hidrazinoilideno) pentanóico (2m)	96
4.5.14 Síntese do ácido 4-(2-(4-(4-clorofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) pentanóico (2n)	97
4.5.15 Síntese do ácido 4-(2-(4-(4-bromofenil)tiazol-2-il) hidrazinoilideno) pentanóico (2o)	98
4.5.16 Síntese do ácido 4-(2-(4-(4-metoxifenil)tiazol-2-il) hidrazinoilideno) pentanóico (2p)	99
4.5.17 Síntese do ácido 4- (2-(4-(4-cianofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) pentanóico (2q)	100
4.5.18 Síntese do cloridrato de 4-(4-bromofenil)-2-(2-((1-etilpiperidin-3-il metileno)hidrazinoil)tiazol (2r)	101
4.6 Metodologia geral para síntese das tiazolilhidrazonas 3a – 3d	102
4.6.1 Síntese de 2- (2-(2-(4-hidroxibutan-2-ilideno)hidrazinoil) tiazol-4-il) acetato de etila (3a)	102
4.6.2 Síntese 2-(2-(2-(ciclohexilmetileno)hidrazinoil) tiazol-4-il)acetato de etila (3b)	103

4.6.4	<i>Síntese de 2-(2-(4-(2-etoxi-2-oxoetil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (3c)</i>	104
4.6.4	<i>Síntese do ácido 4-(2-(4-(2-etoxi-2-oxoetil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) pentanóico (3d)</i>	105
4.7	Metodologia geral para síntese das tiazolilhidrazonas 4a – 4c	106
4.7.1	<i>Síntese de 2-(2-(1-etoxi-1-oxopropan-2-ilideno)hidrazinoil)-4-metiltiazol-5-carboxilato de etila (4a)</i>	107
4.7.2	<i>Síntese de 2-(2-(ciclohexilmetileno)hidrazinoil)-4-metiltiazol-5-carboxilato de etila (4b)</i>	107
4.7.3	<i>Síntese de 4-metil-2-(2-(tetrahidro-4H-piran-4-ilideno)hidrazinoil) tiazol-5-carboxilato de etila (4c)</i>	108
4.8	Metodologia geral para síntese dos compostos tiadiazolínicos 5a e 5b	109
4.8.1	<i>Síntese de N-(4-acetil-5-(2-hidroxietil)-5-metil-4,5-di-hidro-1,3,4-tiadiazol-2-il)acetamida (5a)</i>	110
4.8.2	<i>Síntese de N-(4-acetil-5-ciclohexil-4,5-di-hidro-1,3,4-tiadiazol-2-il)acetamida (5b)</i>	111
4.9	Metodologia para síntese de N- (5-ciclohexil-1,3,4-tiadiazol-2-il) acetamida (6a)	112
4.10	Avaliação da atividade antifúngica	113
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	114
5.1	HQSAR	114
5.1.1	<i>Seleção dos conjuntos teste e treinamento</i>	114
5.1.2	<i>Construção e validação dos modelos de HQSAR</i>	119
5.1.3	<i>Validação externa</i>	124

5.1.4 Validação interna	130
5.1.5 Mapas de Contribuição	134
5.2 Síntese e caracterização dos novos heterociclos tiazolilhidrazonas, tiadiazolínicos e tiadiazol	138
5.2.1 Síntese das tiossemicarbazonas 1a – 1f	138
5.2.1.1 Caracterização das tiossemicarbazonas 1a – 1f	141
5.2.2 Síntese das tiazolilhidrazonas 2a – 2r, 3a – 3d e 4a – 4c	145
5.2.2.1 Caracterização das tiazolilhidrazonas 2a – 2r, 3a – 3d e 4a – 4c	152
5.2.3 Síntese dos heterociclos tiadiazolínicos e tiadiazol 5a, 5b e 6a	161
5.2.3.1 Caracterização dos heterociclos tiadiazolínicos e tiadiazol 5a, 5b e 6a	164
5.3 Ensaios biológicos	165
6 CONCLUSÃO	171
7 REFERÊNCIAS	173
8 APÊNDICES	185

1 INTRODUÇÃO

Os fungos são micro-organismos eucariontes, heterotróficos, integrantes do reino *Fungi* e se dividem em seres unicelulares ou pluricelulares. Esses micro-organismos apresentam ampla distribuição geográfica com diversidade de *habitat*, podendo ser encontrados no solo, ambientes aquáticos, troncos apodrecidos e como integrantes da microbiota de animais e plantas (SOUZA, 2018; RORIG *et al.*, 2009).

Algumas espécies de fungos apresentam grande importância para o microbioma auxiliando na decomposição e reciclagem da matéria orgânica. Além disso, os fungos detêm importância comercial na fermentação de alimentos para produção de pães, bebidas alcoólicas e como fonte direta de alimento na forma de cogumelos e trufas. Porém, algumas espécies de fungos possuem potencial patogênico para seres humanos provocando infecções de gravidade variável (SOUZA, 2018).

As infecções fúngicas, também conhecidas como micoses, podem ser classificadas em superficiais, cutâneas, subcutâneas e sistêmicas. As micoses superficiais ocasionadas por dermatófitos são restritas à camada córnea da pele. Enquanto as micoses cutâneas, resultantes de dermatofitoses e onicomicoses, acometem mucosas, camadas mais profundas da epiderme e seus órgãos anexos como unhas e a parte intrafolicular queratinizada dos pelos; sendo ambas observadas com maior frequência em países de clima tropical (quente e úmido), como o Brasil (SOUZA, 2018; CRIADO *et al.*, 2011; ARAUJO *et al.*, 2010; MURRAY *et al.*, 2006).

Por outro lado, as micoses subcutâneas são oriundas de traumas que possibilitam o acesso de fungos patogênicos às camadas profundas da derme, provocando lesões ulcerativas. As micoses sistêmicas apresentam maior gravidade e são, geralmente, originadas pela inalação de esporos que infectam os pulmões, podendo ocorrer a disseminação do fungo para outros tecidos e órgãos, caso, o tratamento apropriado não seja implementado (CAPONE *et al.*, 2010; MURRAY *et al.*, 2006).

Neste contexto, o potencial infectante dos fungos pode variar entre espécies. Fungos que apresentam a capacidade de infectar indivíduos imunocompetentes são denominados patógenos primários e geralmente apresentam maior virulência. Por outro lado, aqueles fungos que aproveitam da debilidade imunológica do hospedeiro

são conhecidos como patógenos oportunistas e apresentam manifestações clínicas associadas a outras comorbidades (UKESSAYS, 2018; DIXON *et al.*, 1996).

Algumas espécies de fungos, como a *Candida*, podem ser encontradas na microbiota humana, colonizando de forma simbiótica, pele e mucosas (RORIG *et al.*, 2009). Os benefícios da relação comensal entre humanos e fungos têm possibilitado o estudo e a introdução de leveduras, do gênero *Saccharomyces*, como probiótico no tratamento de distúrbios intestinais (SANTOS *et al.*, 2015; VILELA, 2005).

Porém, podem ocorrer alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro que ocasionem um desequilíbrio desta relação, resultando em infecções oportunistas comumente observadas em pacientes acometidos por doenças degenerativas, neoplásicas e transplantados submetidos à terapia com corticoides e outros medicamentos imunossupressores. Além disso, a pandemia global do vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV, do inglês, *human immunodeficiency acquired*) e o uso indiscriminado de antibióticos predispõe um maior número de ocorrências de infecções fúngicas dessa natureza (COLOMBO & GUIMARAES, 2003).

As infecções fúngicas oportunistas representam um importante problema de saúde pública pelo seu potencial incapacitante e número de óbitos decorrentes de complicações clínicas, quando não diagnosticada e tratada oportunamente. Aspectos relacionados à prevalência e patogenicidade de algumas cepas fúngicas destacam sua importância epidemiológica como observado na criptococose e candidíase (GULLO *et al.*, 2013; COLOMBO & GUIMARAES, 2003).

A criptococose, doença ocasionada por fungos do gênero *Cryptococcus*, é uma micose sistêmica com relevante importância médica que representa a terceira principal causa de morte entre portadores do HIV (LANJEWAR, 2011; GULLO *et al.*, 2013). Do mesmo modo, a candidíase, infecção provocada por espécies de fungo do gênero *Candida*, é responsável por cerca de 80% das internações hospitalares de pacientes acometidos por infecções fúngicas. Esses números associados a outros fatores abordados a seguir, demonstram a necessidade de acompanhamento da evolução epidemiológica dessas espécies (COLOMBO & GUIMARAES, 2003).

1.1 Criptococose

A criptococose é uma micose sistêmica oriunda da inalação de leveduras encapsuladas do gênero *Cryptococcus*. Atualmente, são conhecidas aproximadamente 75 espécies de *Cryptococcus* com ampla distribuição geográfica. Apesar da elevada variedade de espécies, os principais agentes etiológicos causadores de infecções em humanos são o *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gatti*, representando os principais basidiomicetos com importância clínica do gênero (NEGRONI, 2012; DE SOUZA *et al.*, 2011).

As espécies patogênicas de *Cryptococcus* são classificadas nos sorotipos A, B, C, D e AD, determinada com base em um polissacarídeo capsular exclusivo da espécie - a glucuronoxilomanana, que constitui um importante fator de virulência. As variedades de cepas de *C. neoformans* encontram-se distribuídas entre os sorotipos A, AD e D; enquanto *C. gatti* apresenta os sorotipos B e C (MAZIARZ & PERFECT, 2016; GRUMACH *et al.*, 2008).

O *C. neoformans* possui ampla distribuição mundial, presente em substratos orgânicos, principalmente em locais desprovidos de luz solar e com fontes abundantes de nitrogênio como excretas de aves e cascas de árvores. Essa espécie apresenta característica oportunista, pois se manifesta como agente patogênico em indivíduos com debilidade imunológica, expostos a essa levedura (MAZIARZ & PERFECT, 2016; NEGRONI, 2012; GRUMACH *et al.*, 2008).

Em contrapartida, o *C. gatti* é típico de regiões tropicais e subtropicais e apresenta como *habitat* natural detritos de árvores como folhas, trocos e galhos. Ao contrário do *C. neoformans*, o *C. gatti* é um patógeno primário, pois apresenta a capacidade de infectar indivíduos imunocompetentes (MAZIARZ & PERFECT, 2016; NEGRONI, 2012; GRUMACH *et al.*, 2008).

As infecções ocasionadas por *C. neoformans* e *C. gatti* estão geralmente associadas a inalação de propágulos infecciosos que se depositam nos alvéolos iniciando o processo patológico. A ausência de uma intervenção farmacológica ou resposta imune apropriada tem como resultado a proliferação destas cepas, seguida de disseminação sistêmica. A meningoencefalite é frequentemente observada em

evoluções sistêmicas da criptococose e está presente em mais de 90% dos casos de evolução aguda da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS, do inglês, *Acquired Immunodeficiency Syndrome*), podendo se desenvolver de forma grave ou fatal em pacientes imunocomprometidos. A taxa de mortalidade da criptococose em países desenvolvidos é cerca de 10%, e em países em desenvolvimento pode alcançar 43% (NEGRONI, 2012; GRUMACH *et al.*, 2008).

Os principais fatores que contribuem para a virulência relacionada à criptococose incluem: capacidade de proliferação de *C. neoformans* e *C.gatti* na temperatura de 37°C; presença de cápsula composta por polissacarídeos de alto peso molecular (glucuronoxilomanano e galactoxilomanano), que dificulta o processo de fagocitose, inibe a ligação de anticorpos IgG e interfere na atuação do sistema do complemento sobre a célula fúngica (NEGRONI, 2012; GRUMACH *et al.*, 2008).

Além disso, a capacidade de produção de melanina por *C. neoformans* e *C.gatti* auxilia em sua proteção contra a fagocitose. A produção de melanina por essas cepas é catalisada pela ação de enzimas como a fenoloxidase, que atua sobre difenóis como as catecolaminas (substâncias abundantes no cérebro), o que pode justificar o tropismo de *C. neoformans* e *C.gatti* pelo sistema nervoso nos casos de meningoencefalite. Além do mais, essas espécies produzem enzimas, como: proteases, fosfolipases e superóxido dismutase, que contribuem para o processo de invasão tecidual no hospedeiro (MAZIARZ & PERFECT, 2016; NEGRONI, 2012; GRUMACH *et al.*, 2008).

As espécies de *C. neoformans* e *C. gatti* representam importantes agentes etiológicos a serem monitorados com relação a resistência antifúngica, visto que estudos demonstram o surgimento de cepas resistentes, derivadas de isolados clínicos de pacientes submetidos a tratamento com derivados azólicos (GAST *et al.*, 2013; GULLO, *et al.*, 2013) anfotericina B (JOSEPH-HORNE *et al.*, 1996) e 5-fluorocitosina (BLOCK *et al.*, 1973).

1.2 Candidíase

A candidíase é uma micose oportunista ocasionada por leveduras do gênero *Candida*, que originam infecções cutaneomucosas ou invasivas. Atualmente, são conhecidas cerca de 200 espécies de *Candida*. Esta levedura pode colonizar de forma comensal diversos sítios anatômicos, integrando a microbiota natural do organismo humano. Nos últimos anos, o número de infecções fúngicas oportunistas tem apresentado um significativo aumento, sendo as infecções por *Candida* spp. as mais frequentes (CARVALHO, 2015; GIOLO & SVIDZINSKI, 2010; COLOMBO & GUIMARAES, 2003).

Apesar da grande variedade de espécies, as principais que apresentam interesse clínico são: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* e mais recentemente, a *Candida auris*, decorrente de sua multirresistência a diversas classes de fármacos antifúngicos (GARCÍA *et al.*, 2020; GIOLO & SVIDZINSKI, 2010; COLOMBO & GUIMARAES, 2003).

A relação harmônica existente entre espécies de *Candida* que compõe a microbiota de um indivíduo é desestabilizada por alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro, como o rompimento de barreiras cutâneas, desordens metabólicas e fatores que proporcionem o comprometimento da resposta imunológica (BARBEDO & SGARBI, 2010; GIOLO & SVIDZINSKI, 2010).

Além disso, as diferentes espécies de *Candida* apresentam fatores de virulência que modulam a patogênese da candidíase, como a morfogênese, que envolve o dimorfismo fúngico, que pode ser induzido por mudanças nas condições ambientais como, por exemplo, temperatura e pH. Esta morfologia possibilita adaptações como a formação de hifas que favorecem a transposição de barreiras anatômicas e a forma leveduriforme, que contribui para uma disseminação eficiente do patógeno (CARVALHO, 2015; BARBEDO & SGARBI, 2010; GIOLO & SVIDZINSKI, 2010).

Outros fatores de virulência envolvem a capacidade de adesão às células do hospedeiro por intermédio de adesinas; produção de hemolisinas; resistência à fagocitose; produção de toxinas; resistência a ambiente oxidativo; formação de biofilme; liberação de enzimas fosfolipases e hidrolíticas que degradam

fosfoglicerídeos e ligações peptídicas, respectivamente (BARBEDO & SGARBI, 2010; GIOLO & SVIDZINSKI, 2010).

As diferentes cepas fúngicas, podem utilizar, simultaneamente, distintos fatores de virulência, de modo a promover uma ação sinérgica desses mecanismos de agressão. O conhecimento de grande parte desses mecanismos de virulência está associado a estudos envolvendo a *C. albicans*, visto que a literatura carece de informações mais aprofundadas sobre outras espécies (BARBEDO & SGARBI, 2010; GIOLO & SVIDZINSKI, 2010).

A *C. albicans* é a espécie encontrada com maior frequência em humanos, constituindo 60% dos isolados clínicos em candidíase, responsável por infecções superficiais e sistêmicas. Esta espécie é naturalmente sensível a todos os fármacos de utilização sistêmica, porém casos de resistência adquirida têm sido observados em pacientes submetidos a terapias prolongadas com derivados azólicos (PEIXOTO *et al.*, 2014; BARBEDO & SGARBI, 2010).

A *C. glabrata*, diferente de outras espécies de *Candida*, não é um fungo dimórfico, pois se apresenta no ambiente como agente etiológico na forma de blastoconídio. Apesar de demonstrar baixa virulência em modelos animais, a *C. glabrata* representa o segundo ou terceiro principal agente causador da candidíase. Além disso, apresenta baixa sensibilidade ao fluconazol e anfotericina B, sendo a maior incidência epidemiológica deste patógeno em pacientes idosos (BARBEDO & SGARBI, 2010; CASTRO *et al.*, 2006; FIDEL *et al.*, 1999).

A *C. parapsilosis* é um importante patógeno nasocomial, que promove infecções relacionadas, principalmente, a procedimentos invasivos ou inserção de dispositivos protéticos. Esta espécie está frequentemente relacionada à fungemias sanguíneas em neonatos, pacientes transplantados e sob nutrição parenteral. A patogênese da *C. parapsilosis* está associada à formação de biofilme e produção de enzimas hidrolíticas, cujas manifestações clínicas incluem endocardites, artrites, peritonites e endoftalmites. Estas cepas são sensíveis à ação de derivados azólicos e anfotericina B (BARBEDO & SGARBI, 2010; TROFA *et al.*, 2008).

Entre as espécies de *Candida* não *albicans*, a *C. tropicalis* disputa a segunda colocação com a *C. glabrata* em termos de prevalência em candidíase em adultos. A

C. tropicalis está frequentemente associada à comorbidades como diabetes *mellitus*, linfomas, leucemia e outras complicações hematológicas, porém é pouco comum em neonatos. Em infecções disseminadas e complicações hematológicas malignas a *C. tropicalis* apresenta maior virulência que *C. albicans*, sendo os principais fatores associados a esta virulência a formação de biofilme, atividade hemolítica e produção de enzimas coagulases, fosfolipases e proteinases. A *C. tropicalis* geralmente apresenta resistência à 5-fluorocitosina e sensibilidade a derivados azólicos e poliênicos, porém resistência adquirida aos azóis tem sido reportada (DEORUKHKAR *et al.*, 2014; BARBEDO & SGARBI, 2010; VANDEPUTTE *et al.*, 2005).

Apesar da baixa incidência epidemiológica de fungemias por *C. krusei*, o número de infecções causadas por esta espécie vem crescendo nos últimos anos. Este fator está relacionado à resistência intrínseca ao fluconazol, baixa sensibilidade a anfotericina B e 5-fluorocitosina (BARBEDO & SGARBI, 2010; CASTRO *et al.*, 2006).

A *C. auris* é uma levedura emergente que representa uma séria ameaça à saúde global, por ocasionar graves infecções invasivas multirresistente a diferentes classes de antifúngicos e surtos com alta mortalidade. O combate à disseminação da *C. auris* é dificultado por estratégias inadequadas de desinfecção e carência de métodos rápidos e eficazes para a detecção precoce dessas infecções, o que favorece a transmissão nosocomial da doença. Infecções sanguíneas por *C. auris* são as formas invasivas mais frequentes da espécie, com taxa de mortalidade de 30 a 60% (KORDALEWSKA & PERLIN, 2019; SARMA & UPADHYAY, 2017).

Além do mais, a baixa sensibilidade aos derivados azólicos, poliênicos e equinocandinas pode ser observada, simultaneamente, em algumas cepas de *C. auris* (KORDALEWSKA & PERLIN, 2019; SARMA & UPADHYAY, 2017). Estes fatores impulsionaram a divulgação pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA do comunicado de risco nº 01/2017- GVIM/GGTES/ANVISA que relata os surtos de *C. auris* em serviços de saúde da América Latina (ANVISA, 2017).

1.3 Mecanismos fúngicos de resistência

Os mecanismos de resistência aos antifúngicos de utilização corriqueira em terapias de combate a micoses superficiais e sistêmicas apresentam sérias implicações na morbimortalidade associada às infecções fúngicas. Em geral, as formas de resistência fúngica podem ser atribuídas a características intrínsecas de uma espécie que a torna naturalmente tolerante a um fármaco (resistência primária) ou pelo desenvolvimento de resistência por meio da exposição ao agente antifúngico durante a terapia farmacológica (resistência secundária) (ELIOPOULOS *et al.*, 2002).

Nesta perspectiva, a resistência secundária constitui uma forma adaptativa impulsionada pela utilização indiscriminada de antimicrobianos ou exposição prolongada a estes agentes, que promove a seleção de cepas tolerantes ou a indução de modificações gênicas como forma de sobrevivência. Dentre os mecanismos de resistência aos agentes fungicidas e fungistáticos estão a presença de mutação, recombinação e hiperexpressão de genes que originam alterações estruturais na célula fúngica, contribuindo com o aumento da tolerância aos antifúngicos (COWEN *et al.*, 2015; PONTÓN & QUINDÓS, 2006; VANDEPUTTE *et al.*, 2005).

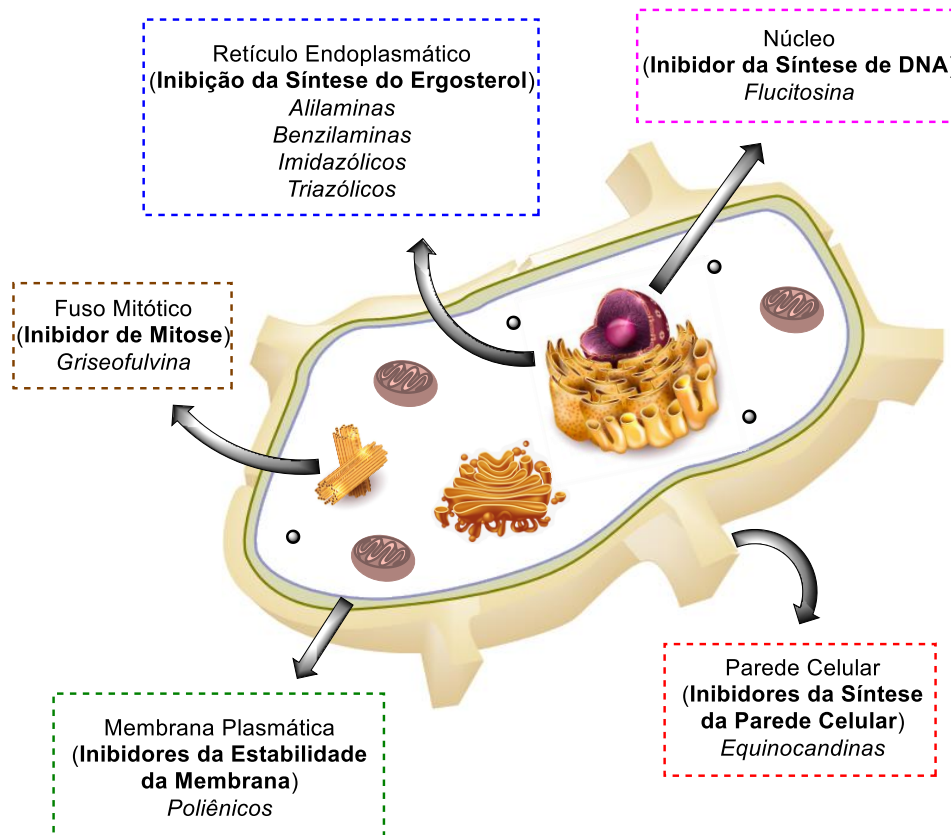
Outros mecanismos de resistência envolvem: a) alterações metabólicas para contornar os efeitos tóxicos promovidos pelos antifúngicos como, por exemplo, o aumento da quantidade de enzimas relacionadas com a síntese do ergosterol; b) modificações no sítio de ação dos fármacos, alterando a afinidade fármaco-receptor, comprometendo sua eficácia terapêutica; c) utilização de mecanismos para redução da concentração efetiva do fármaco em seu local de ação, por meio da ativação de bombas de efluxo, que reconhecem e eliminam substâncias tóxicas à célula; d) formação de biofilme constituído por uma matriz de carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos, compostas por uma densa e organizada rede de leveduras que atua como uma barreira sequestrando fármacos e outras moléculas nocivas às células fúngicas (CAMPOY & ADRIO, 2017; COWEN *et al.*, 2015; VANDEPUTTE *et al.*, 2005).

1.4 Fármacos antifúngicos

O desenvolvimento de fármacos antifúngicos seletivos e seguros representa um grande desafio para obtenção de novas opções terapêuticas eficazes no controle de infecções fúngicas. Este fator está relacionado com a alta similaridade estrutural e bioquímica existente entre células fúngicas e humanas, ambas eucariotas, o que dificulta o direcionamento de fármacos para alvos específicos nas células fúngicas sem comprometer o sistema homeostático do organismo humano (MAZU *et al.*, 2016).

Atualmente, os fármacos disponíveis para tratamento de infecções fúngicas são agrupados conforme seu mecanismo de ação, como: inibidores da síntese de ácidos nucleicos; inibidores da síntese de ergosterol; inibidores de mitose, inibidores da síntese da parede celular e inibidores da estabilidade de membrana. Desse modo, os principais alvos moleculares das células fúngicas afetados por estas terapias são enzimas e estruturas fundamentais aos processos de sobrevivência e replicação celular (**Figura 1**) (GOLAN, 2009).

Figura 1 – Principais alvos dos fármacos antifúngicos

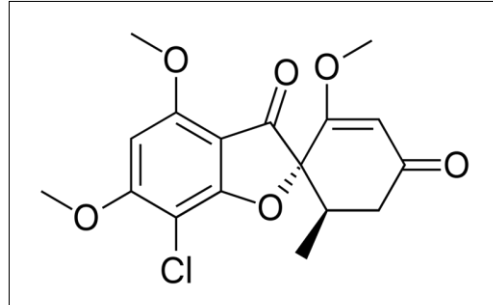


Fonte: Autor, 2021.

1.4.1 Inibidor da mitose dos fungos

A griseofulvina (**Figura 2**) foi o primeiro fármaco utilizado como antifúngico oral no tratamento de infecções por dermatófitos. Este fármaco fungistático, oriundo dos processos metabólicos do *Penicillium griseofulvum*, promove a inibição da mitose fúngica por meio da ligação à tubulina, comprometendo a organização do fuso mitótico. Além disso, a griseofulvina ocasiona a inibição da síntese de ácidos nucleicos que interfere nos processos de replicação celular (GOLAN, 2009; DEVELOUX, 2001).

Figura 2 – Estrutura da Griseofulvina



Fonte: Autor, 2021.

A queratina está entre as principais fontes nutricionais utilizadas por fungos causadores de micoses superficiais. Sendo assim, a eficiência da griseofulvina no tratamento de micoses superficiais está associada à sua forte interação com a queratina, resultando no acúmulo deste fármaco em células produtoras de queratina, o que favorece o crescimento do extrato córneo, cabelo e unhas livres de infecção (GOLAN, 2009; DEVELOUX, 2001).

Atualmente, o uso da griseofulvina é bastante limitado, devido à disponibilidade de antifúngicos de utilização tópica e a opção de medicamentos antifúngicos orais que apresentam menor incidência de efeitos adversos. Além disso, o tratamento longo que pode durar meses ou até mesmo anos, as inúmeras recidivas de infecções e os efeitos adversos como cefaleia, letargia, vertigem e visão embaçada têm contribuído para a diminuição do uso deste fármaco (GOLAN, 2009; DEVELOUX, 2001).

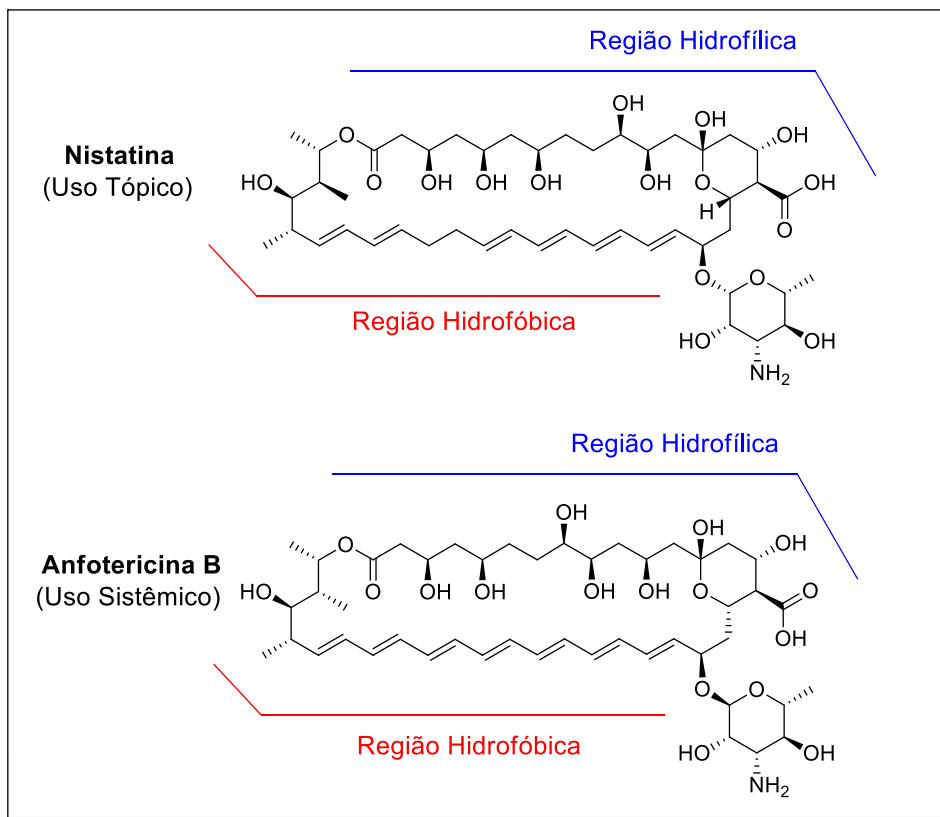
1.4.2 Inibidores da estabilidade da membrana dos fungos (poliênicos)

Os fármacos poliênicos são produtos naturais derivados do metabolismo de espécies de *Streptomyces*, representados pela anfotericina B e nistatina (**Figura 3**). O mecanismo de ação dos poliênicos envolve a ligação destes fármacos ao ergosterol constituinte da membrana do fungo, o que origina a formação de poros na membrana. Essa desestabilização da permeabilidade seletiva da membrana citoplasmática ocasiona o extravasamento do conteúdo intracelular, resultando, com base na quantidade de ergosterol presente na membrana da célula do fungo, em um efeito fungicida ou fungistático para a espécie (GOLAN, 2009).

A estrutura química dos poliênicos é constituída por um anel lactônico macrocíclico, que apresenta uma porção rígida hidrofóbica e uma parte flexível hidrofílica, ambas responsáveis por sua atividade biológica. A anfotericina B, utilizada no tratamento de micoses sistêmicas graves, possui características estruturais que dificultam a absorção deste fármaco no trato gastrointestinal, limitando sua utilização clínica em razão da necessidade de administração por via intravenosa. Além disso, a alta toxicidade deste fármaco, dose dependente, incluem reações sistêmicas imediatas, efeitos hematológicos e nefrotoxicidade que contribuem para uma maior cautela em sua administração (GOLAN, 2009; NOBRE *et al.*, 2002).

A nistatina apresenta elevada toxicidade quando administrada por via parenteral, por isso é empregada no tratamento de micoses superficiais por não sofrer absorção sistêmica quando utilizada topicamente, na pele e mucosas. A resistência aos poliênicos ocorre por meio da redução do conteúdo de ergosterol presente na membrana da célula fúngica ou pela síntese de outros esteróis, que promovem uma redução da afinidade do fármaco por seu alvo celular (VIEIRA & NASCIMENTO, 2017; GOLAN, 2009; NOBRE *et al.*, 2002).

Figura 3 – Estrutura química da nistatina e anfotericina B



Fonte: Autor, 2021.

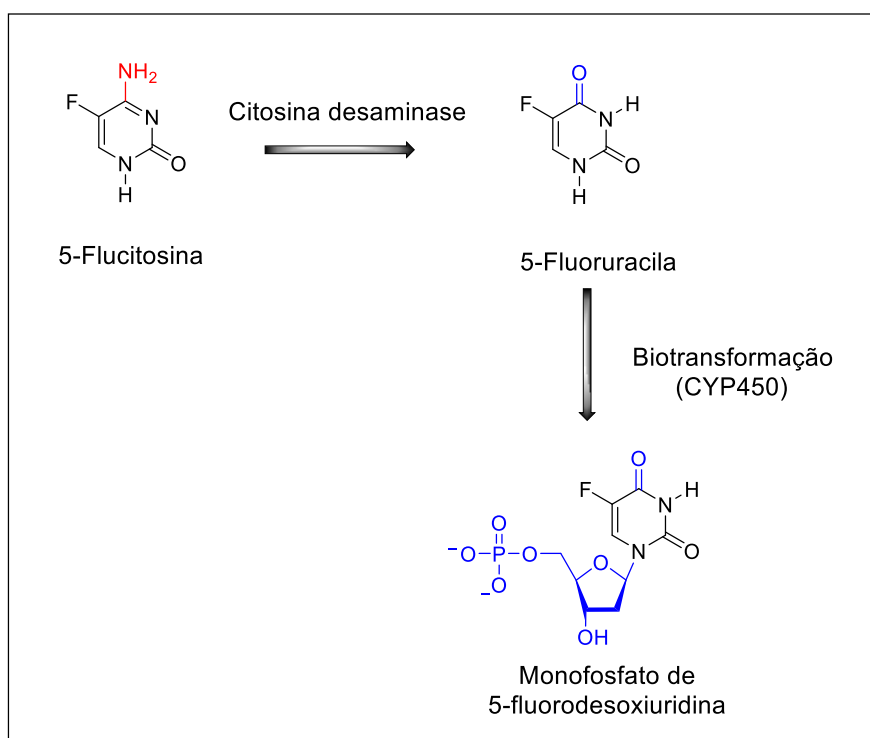
1.4.3 Inibidor da síntese de ácidos nucleicos dos fungos

A flucitosina (**Figura 4**) é um pró-fármaco fungistático utilizado com o objetivo de bloquear a síntese de DNA e a divisão celular, por intermédio da inibição da enzima timidilato sintase. A inibição desta enzima, provoca o bloqueio da conversão do desoxiuridilato (dUMP) em desoxitimidilato (dTMP), essencial para a síntese de DNA do fungo (GOLAN, 2009; BERGOLD & GEORGIADIS, 2004).

Esse processo inibitório inicia-se pela captação seletiva da flucitosina por permeases específicas expressas na membrana citoplasmática dos fungos. A ausência desses transportadores em células humanas reduz os efeitos nocivos desse fármaco sobre os tecidos, quando administrado por via intravenosa. Ao alcançar o interior da célula do fungo, a flucitosina sofre desaminação por ação da enzima citosina desaminase,

sendo convertida no potente antimetabólico 5-fluoruracila (5-FU). Reações metabólicas posteriores catalisam a conversão da 5-fluoruracila em monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina, que atua como inibidor da timidilato sintase (**Figura 4**) (GOLAN, 2009; BERGOLD & GEORGIADIS, 2004; NOBRE *et al.*, 2002).

Figura 4 – Processo de ativação da 5-Flucitosina



Fonte: Autor, 2021.

A flucitosina é rapidamente absorvida no trato gastrointestinal e apresenta ampla distribuição pelo organismo, atingindo altas concentrações no líquido cefalorraquidiano. Os efeitos adversos relacionados à administração oral da flucitosina residem na capacidade de conversão deste pró-fármaco, por fungos e bactérias componentes da microbiota intestinal, em 5-fluoruracila. Ao ser absorvida no trato gastrointestinal, a 5-fluoruracila pode acarretar efeitos tóxicos como a supressão da medula óssea originando quadros de trombocitopenia, leucopenia, diarreia e disfunção hepática em pacientes submetidos a esta terapia (GOLAN, 2009; BERGOLD & GEORGIADIS, 2004; NOBRE *et al.*, 2002).

No tratamento de micoses sistêmicas, a flucitosina geralmente é administrada em associação à anfotericina B. Esta associação tem como objetivo promover o sinergismo de ação desses dois fármacos, resultante da desestabilização da membrana celular provocada pela anfotericina B, que proporciona um aumento na captação da flucitosina pela célula fúngica. Os mecanismos de resistência à flucitosina envolvem alterações em seu transportador de membrana (citosina permease), reduzindo o influxo do fármaco para o meio intracelular. Além disso, modificações estruturais da enzima citosina desaminase compromete o processo de ativação da flucitosina, interferindo em sua eficácia terapêutica (GOLAN, 2009; BERGOLD & GEORGIADIS, 2004).

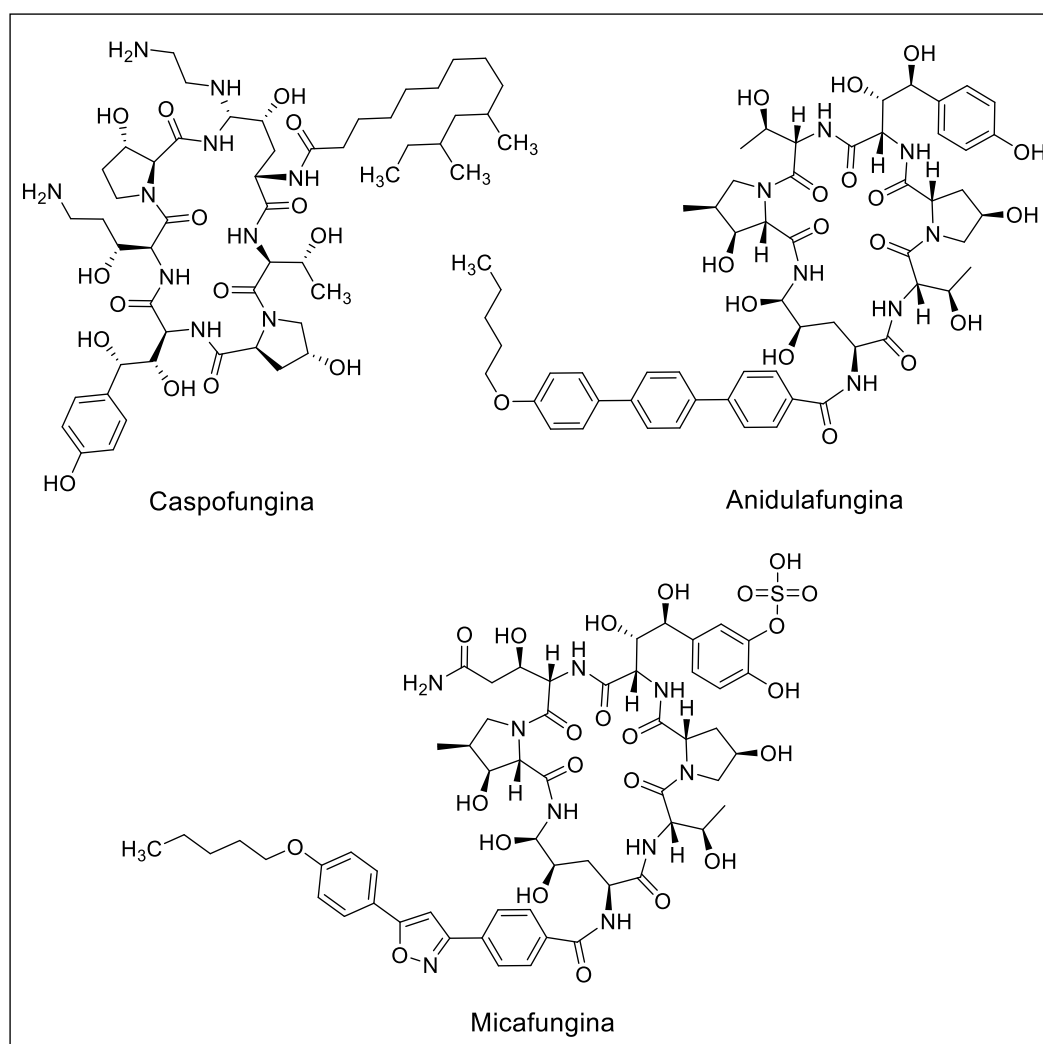
1.4.4 Inibidores da síntese de parede celular dos fungos

A presença de parede celular nos fungos representa uma das principais diferenças estruturais entre células humanas e células fúngicas. A parede celular dos fungos é constituída por quitina, β -(1,3)-D-glicano, β -(1,6)-D-glicano e glicoproteínas que representam alvos exclusivos para a terapia antifúngica. Deste modo, os fármacos da classe das equinocandinas exploram este alvo diferencial por meio da inibição não competitiva da enzima β -1,3-glicano sintase, responsável pela polimerização da glicose-uridina-difosfato (UDP-glicose) em β -(1,3)-D-glicano, o que garante toxicidade seletiva a estes fármacos (GOLAN, 2009; PIGATTO *et al.*, 2009).

Com isso, a inibição da síntese de β -(1,3)-D-glicano compromete a integridade da parede celular fúngica, que em resposta à grande pressão osmótica, resulta na lise celular com extravasamento dos componentes citoplasmáticos. As equinocandinas são lipopeptídeos semissintéticos cíclicos, *N*-acilados com cadeia lateral lipídica modificada (**Figura 5**). Fármacos dessa classe apresentam baixa biodisponibilidade oral e, portanto, são administrados por via parenteral. As equinocandinas possuem baixa incidência de efeitos adversos devido a sua toxicidade seletiva, sendo os mais comuns os relacionados à infusão intravenosa, como: cefaleia, febre e, raramente, hemólise (GOLAN, 2009; PIGATTO *et al.*, 2009).

A classe das equinocandinas é composta por fármacos com aprovação para comercialização relativamente recente, representados pela: caspofungina (2001), micafungina (2005) e anidulafungina (2006) (**Figura 5**). Esses fármacos apresentam atividade fungicida contra espécies de *Candida* e efeito fungistáticos contra espécies de *Aspergillus*. Apesar da excelente atividade, algumas cepas fúngicas, após exposição à equinocandinas, têm demonstrado redução de suscetibilidade, induzida por modificações gênicas que ocasionam a substituição de biopolímeros constituintes da parede celular, por meio da redução de β -(1,3)-D-glicano e aumento compensatório na síntese de quitina (RODRIGUES, 2018; CARRIZOSA, 2015; PIGATTO *et al.*, 2009).

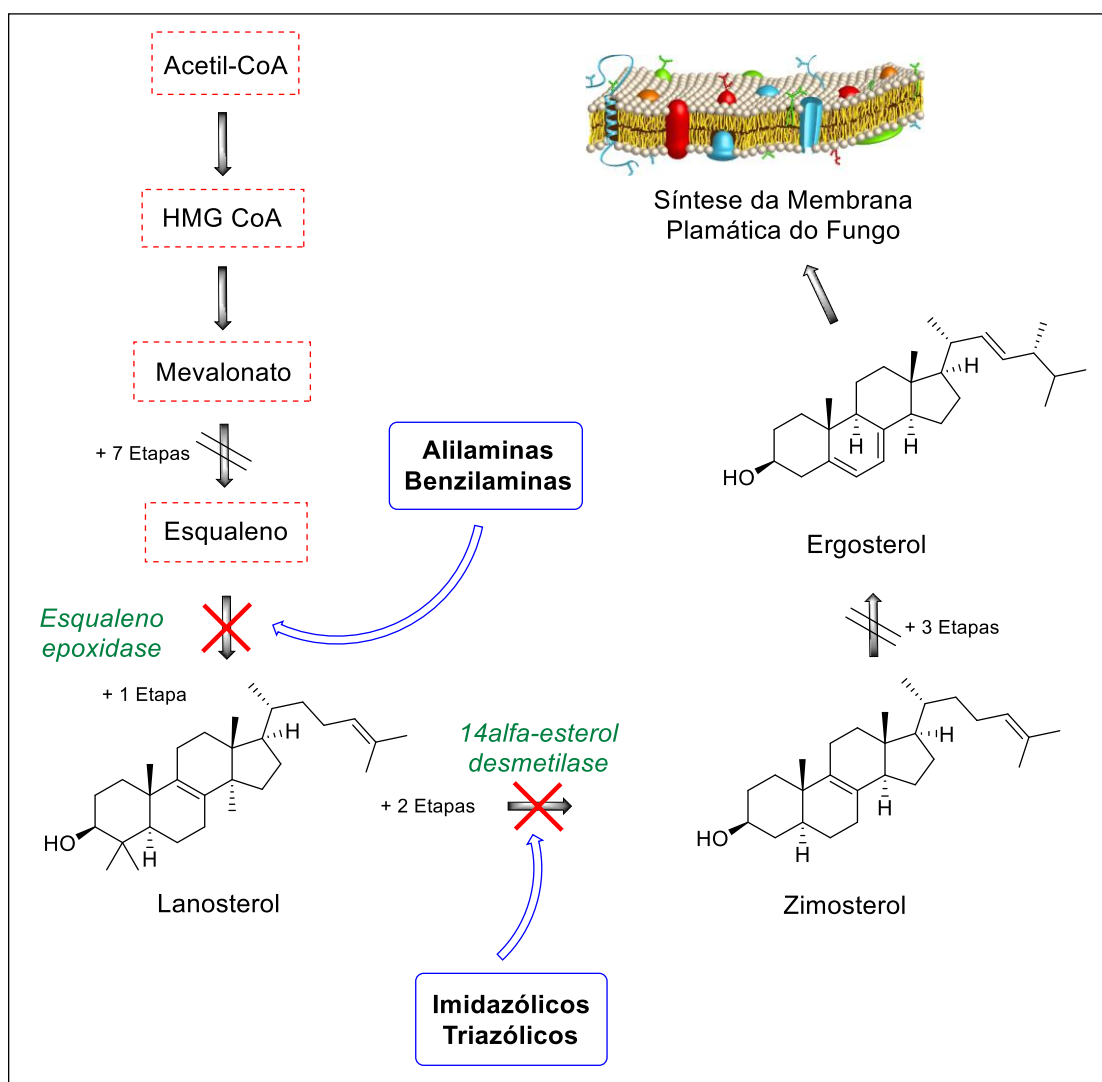
Figura 5 – Estrutura química das Equinocandinas



1.4.5 Inibidores da via de síntese do ergosterol

A biossíntese do ergosterol envolve uma complexa via metabólica estruturada por enzimas que catalisam a síntese do ergosterol a partir de unidades de acetil-CoA. Desse modo, a inibição de enzimas envolvidas nas etapas intermediárias desse processo interrompe a via sintética do ergosterol, comprometendo a manutenção da integridade e da função da membrana plasmática dos fungos (**Figura 6**) (GOLAN, 2009).

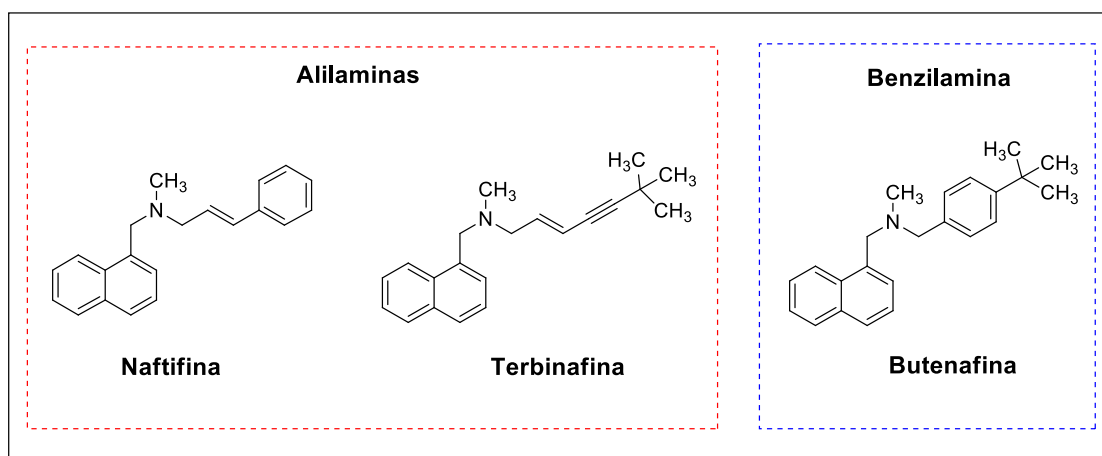
Figura 6 – Alvos farmacológicos na via biossintética do ergosterol



Fonte: Adaptado de GOLAN, 2009.

As alilaminas (terbinafina e naftifina) e benzilamina (butenafina) (**Figura 7**) são fármacos antifúngicos que atuam em etapas intermediárias da biossíntese do ergosterol e apresentam mecanismo de ação baseado na inibição da enzima esqualeno epoxidase (**Figura 6**). Este processo inibitório impede que o esqualeno seja convertido em lanosterol, interrompendo o processo de biossíntese do ergosterol. O acúmulo de metabolitos tóxicos do esqualeno na célula fúngica, promove, geralmente, o efeito fungicida relacionado a estes fármacos (SOUZA, 2018; REZENDE *et al.*, 2017; GOLAN, 2009).

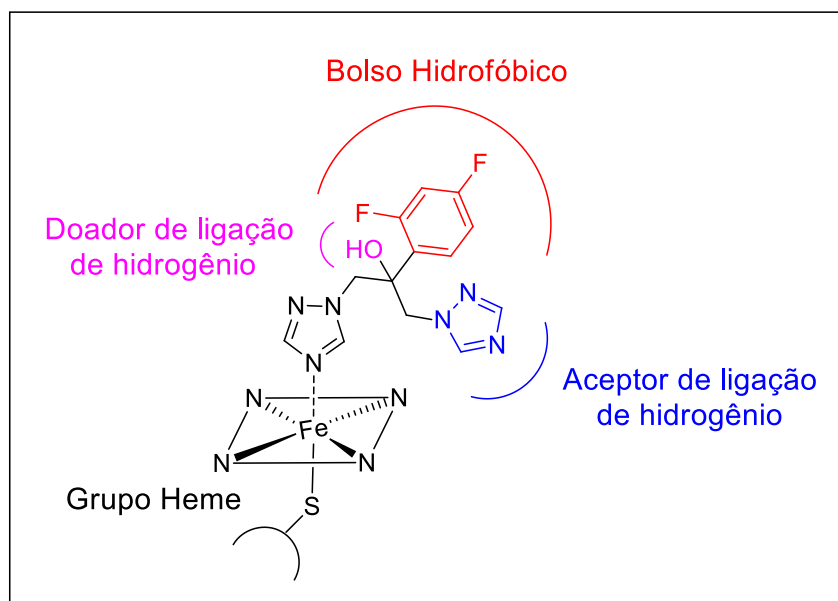
Figura 7 – Estrutura química das alilaminas e benzilamina



Fonte: Autor, 2021.

De modo semelhante, os derivados azólicos apresentam como mecanismo de ação a inibição da enzima 14- α -esterol desmetilase (CYP51), que constitui um importante alvo molecular da rota síntese do ergosterol (**Figura 6**). O processo de inibição da enzima 14- α -esterol desmetilase ocorre pela interação por coordenação de um dos nitrogênios do anel azólico com o átomo de ferro do grupamento heme da enzima, enquanto a porção não ligada da molécula do fármaco realiza interações hidrofóbicas e hidrofílicas com a parte proteica da enzima, resultando na inibição de sua atividade (**Figura 8**) (SOUZA, 2018; FRAÇA *et al.*, 2014).

Figura 8 – Proposta de interação entre o fluconazol e a enzima 14 α -esterol desmetilase

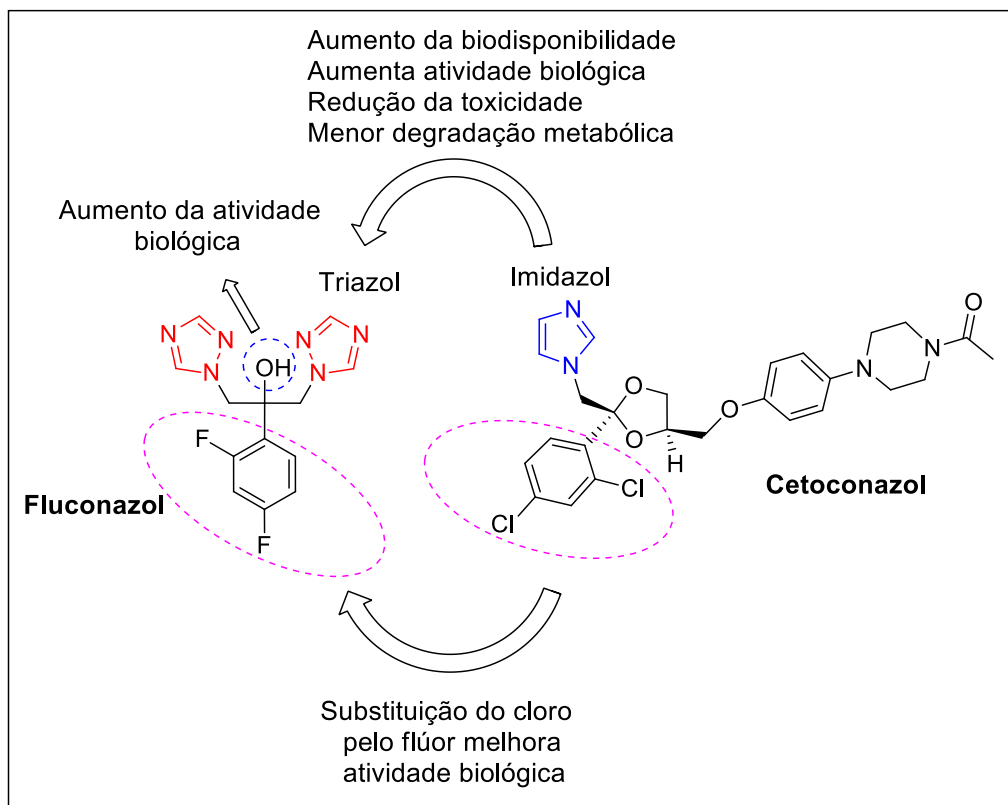


Fonte: Adaptado de Souza, 2018.

Este processo provoca o bloqueio da conversão do lanosterol em zimosterol e resulta no acúmulo de 14- α -metil-esteróis que desestabilizam os grupamentos de fosfolipídeos das membranas fúngicas, comprometendo a permeabilidade seletiva da membrana e a funcionalidade de enzimas associadas à sua estrutura (FRAÇA *et al.*, 2014; GOLAN, 2009).

Os antifúngicos azólicos podem ser divididos em: imidazólicos (exemplos: cetoconazol, miconazol) e triazólicos (exemplos: fluconazol, itraconazol). Modificações na estrutura química destes fármacos modificam o perfil de biotransformação, espectro de ação e toxicidade relacionadas à sua utilização terapêutica (**Figura 9**) (FRAÇA *et al.*, 2014).

Figura 9 – Relação estrutura-atividade do fluconazol



Fonte: Autor, 2021.

Apesar da alta seletividade para enzimas do citocromo P450 de células fúngicas, os derivados azólicos possuem a capacidade de inibir enzimas do sistema microsomal hepático humano, o que contribui para numerosas interações medicamentosas. Atualmente, o fluconazol é o fármaco antifúngico de maior utilização terapêutica, devido à sua alta biodisponibilidade oral, espectro de ação e ampla distribuição no organismo, sendo o fármaco de escolha no tratamento de candidíase sistêmica e meningite criptocócica (SOUZA, 2018; GOLAN, 2009).

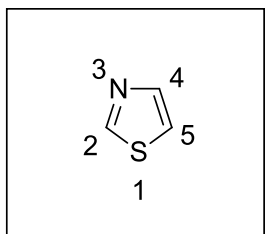
Além disso, o fluconazol apresenta uma menor incidência de efeitos adversos relacionados à sua administração que incluem: náusea, vômitos, dor abdominal e diarreia. As espécies de *Candida* apresentam uma notável capacidade de desenvolver resistência aos derivados azólicos a partir de mutações no alvo de ação desses fármacos e hiperexpressão de bombas de efluxo que reduzem a

concentração efetiva do fármaco no interior da célula fúngica (GOLAN, 2009; VANDEPUTTE *et al.*, 2005).

1.5 Derivados Tiazólicos

O anel tiazólico apresenta características físico-químicas peculiares que o torna um dos mais importantes elementos na química de heterociclos (**Figura 10**). Essas características estruturais proporcionam sua empregabilidade como possível farmacóforo, grupo bioisostérico em estratégias de modificação molecular ou como espaçador entre unidades biologicamente ativas, contribuindo para o desenvolvimento e aperfeiçoamento farmacocinético e farmacodinâmico de novos candidatos a fármacos (AYATI *et al.*, 2015).

Figura 10 – Estrutura do anel tiazólico

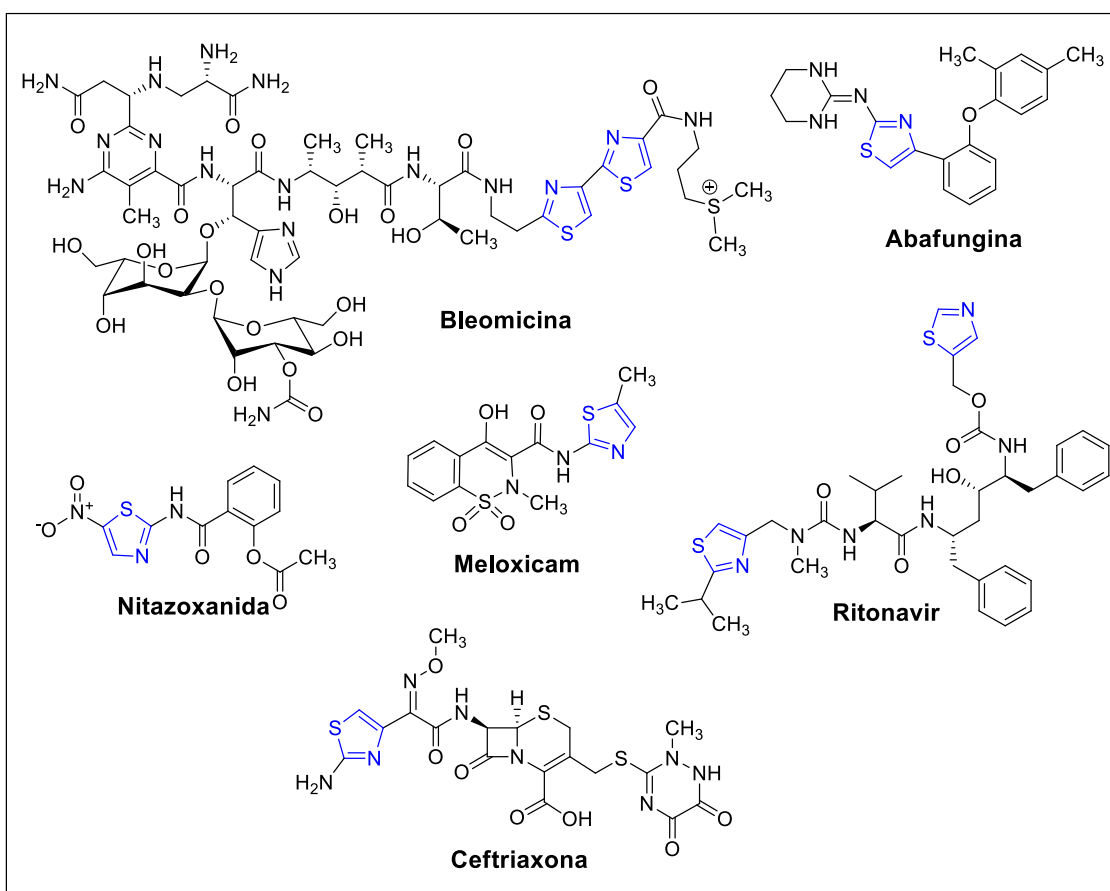


Fonte: Autor, 2021.

Atualmente, com o objetivo de explorar o potencial farmacológico apresentado pelos derivados tiazólicos, diversos grupos de pesquisa têm promovido a investigação das propriedades antifúngicas (LINO *et al.*, 2018), antitumoral (EGITO *et al.*, 2014; SANTANA *et al.*, 2018), antioxidante (KAUR *et al.*, 2016), antiparasitária (COSTA, 2015), imunomoduladora (SANTOS *et al.*, 2016), antibacteriana e anti-inflamatória (HOLLA *et al.*, 2003), associadas a esses compostos. Tais fatores, demonstram que essa classe merece ser melhor explorada e estudada na busca por novas opções terapêuticas para o tratamento de diversas patologias.

Além disso, a ampla diversidade de ação atribuída a esta classe de compostos pode ser ilustrada com base na estrutura de fármacos disponíveis no mercado com utilização clínica consolidada para o tratamento de várias enfermidades. Como exemplos, temos: a bleomicina (antitumoral), abafungina (antifúngico), ritonavir (antiviral), meloxicam (anti-inflamatória), nitazoxanida (antiparasitária), ceftriaxona (antibacteriana) (**Figura 11**).

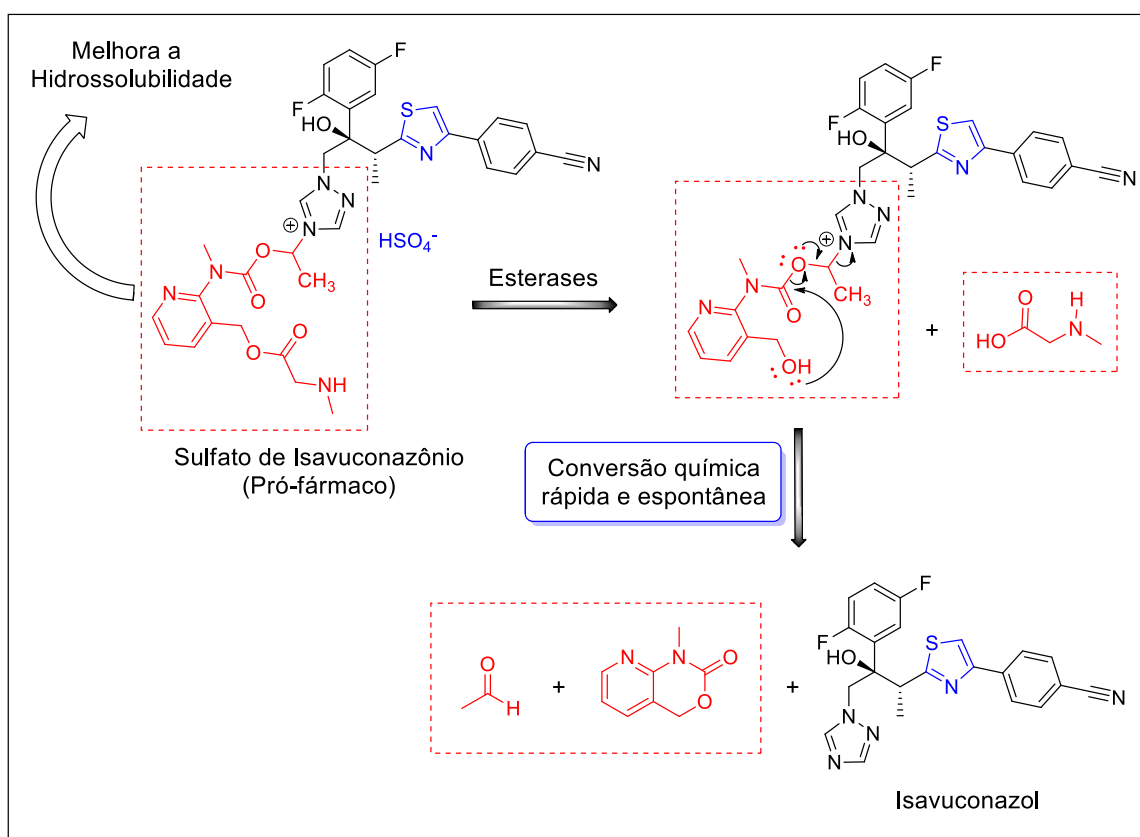
Figura 11 – Importantes fármacos que possuem núcleo tiazolínico



Fonte: Autor, 2021.

Neste contexto, os derivados tiazólicos têm apresentado inovações na área de terapia antifúngica com a aprovação, em 2019 pela ANVISA, do pró-fármaco do isavuconazol, sulfato de isavuconazônio, indicado para o tratamento de aspergilose e mucormicose invasivas em adultos. Modificações na estrutura molecular do isavuconazol para o planejamento de um pró-fármaco aumentou, consideravelmente, sua solubilidade em água, viabilizando sua administração intravenosa e absorção por via oral. No plasma, o pró-fármaco é rapidamente hidrolisado por ação de enzimas esterases, em especial, a butirilcolinesterase, sendo convertido em sua forma ativa (**Figura 12**) (ANVISA, 2019; RAUTIO, J. *et al.*, 2018, PEYTON *et al.*, 2015).

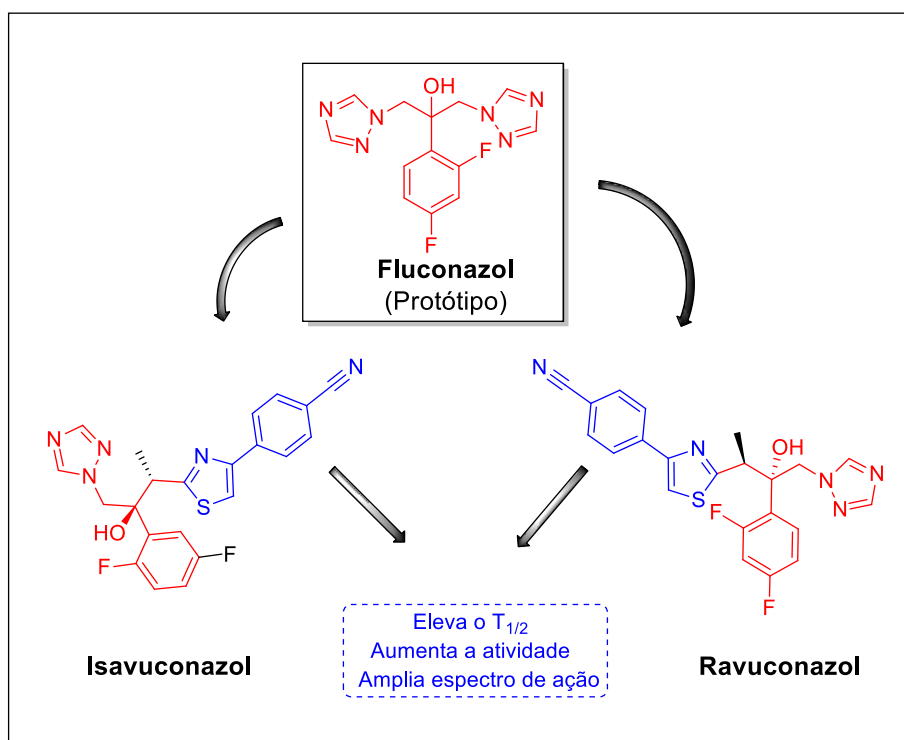
Figura 12 – Bioconversão do sulfato de isavuconazônio em isavuconazol



Fonte: Adaptado de RAUTIO *et al.*, 2018.

A representatividade dos derivados tiazólicos na terapia antifúngica está prestes a ser reforçada pelo pró-fármaco do ravuconazol, o fosravuconazol, que se encontra em fase II de testes clínicos (U. S. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, 2020). O isavuconazol e o ravuconazol foram planejados para aprimorar as características de seu protótipo fluconazol, ampliando o espectro de ação, tempo de meia vida e atividade contra espécies resistentes ao fluconazol, preservando o mesmo mecanismo de ação de seu protótipo (**Figura 13**) (PEYTON *et al.*, 2015; FRANÇA *et al.*, 2014).

Figura 13 – Relação estrutura-atividade isavuconazol e ravuconazol



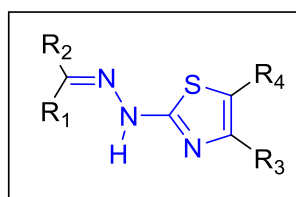
Fonte: Autor, 2021.

1.5.1 Tiazolilhidrazonas

O planejamento e desenvolvimento de novos fármacos como opção terapêutica para o tratamento de doenças provocadas por fungos representam uma emergente necessidade de saúde pública. O surgimento de espécies fúngicas multirresistentes às terapias de uso padrão representa uma ameaça global, principalmente associada a grupos de risco sensíveis a complicações clínicas, induzidas por espécies fúngicas oportunistas que alteram significativamente o perfil de mortalidade associado a essas comorbidades (KORDALEWSKA & PERLIN, 2019; ELIOPOULOS *et al.*, 2002).

Diante disso, derivados das tiazolilhidrazonas vem demonstrando atividade antifúngica promissora e amplo espectro de ação. Estas moléculas apresentam em sua estrutura a união de dois grupos potencialmente farmacofóricos: o anel tiazólico e a porção hidrazona (**Figura 14**). Com a união desses dois grupos é possível potencializar a ação biológica mediante o sinergismo de seus efeitos, o que torna favorável o planejamento e síntese de novos candidatos a fármacos antifúngicos dessa classe (LINO *et al.*, 2018; SÁ *et al.*, 2015; EGITO *et al.*, 2014).

Figura 14 – Estrutura geral das tiazolilhidrazonas



Fonte: Autor, 2021.

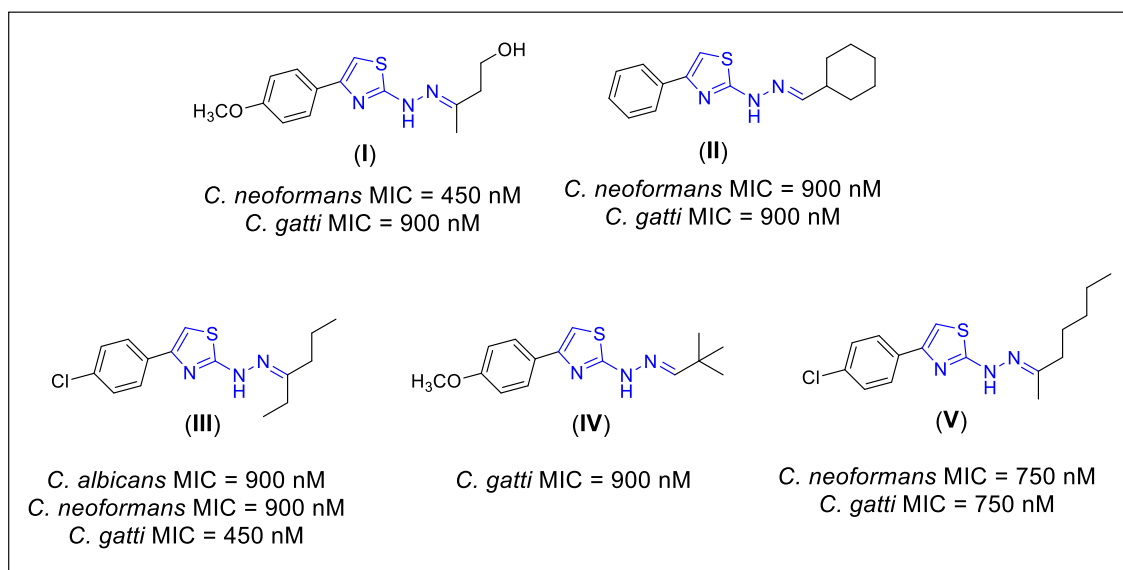
Além disso, as tiazolilhidrazonas apresentam grande versatilidade em síntese orgânica permitindo a introdução de substituintes em R₁, R₂, R₃ e R₄ (**Figura 14**) com potencial atividade biológica, que possam contribuir com o aperfeiçoamento dos efeitos farmacoterapêuticos. Além do mais, alterações desses substituintes possibilitam a modulação dos parâmetros associados à biodisponibilidade

terapêutica do candidato a fármaco (LINO *et al.*, 2018; SÁ *et al.*, 2015; EGITO *et al.*, 2014).

Nesta perspectiva, nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo novos derivados tiazolilhidrazonas com atividade antifúngica bastante promissora (LINO *et al.*, 2018; SÁ *et al.*, 2015). Vale ressaltar que algumas dessas tiazolilhidrazonas apresentaram atividade similar ou superior a dos fármacos utilizados como controle positivo nos experimentos e já bem estabelecido como agentes antifúngicos. Adicionalmente, a citotoxicidade das moléculas foi avaliada *in vitro* em células Vero, macrófagos murino, linhagem de células embrionárias de rim humano (HEK-293), linhagem de células renais epiteliais de rim de porco (LLC-PK1), linhagem de células de hepatocarcinoma humano (HepG2), linhagem de células de carcinoma de pulmão humano (A549), linhagem de células de neuroblastoma murino (NEURO-2A) e linhagem de células mioblásticas de rato (H9C2) e, os resultados demonstraram baixa citotoxicidade em todas as linhagens testadas. Além disso, a substância II (**Figura 15**) foi submetida a testes de toxicidade aguda *in vivo* obtendo resultados promissores (TONHOLO *et al.*, 2020; LINO *et al.*, 2018; SÁ *et al.* 2015).

Com base nesses resultados, pode-se observar a importância da presença do núcleo tiazolilhidrazona para atividade dessas substâncias, uma vez que os derivados testados com a ausência deste grupo foram inativos (LINO *et al.*, 2018; SÁ *et al.*, 2015). A estrutura de algumas das moléculas mais ativas assim como os seus respectivos valores de concentração inibitória mínima (MIC) estão ilustrados na **Figura 15**.

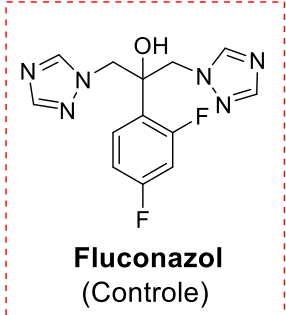
Figura 15 – Estrutura química de algumas das tiazolilhidrazonas sintetizadas por nosso grupo de pesquisa (LINO et al., 2018; SÁ et al., 2015).

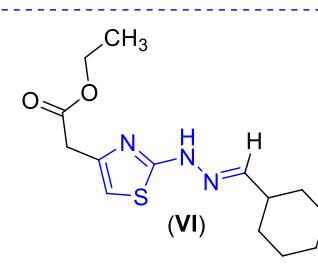


Fonte: Autor, 2021.

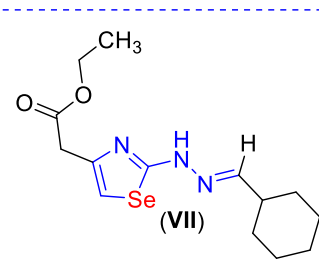
De modo semelhante, Łaczkowski e colaboradores (2016) realizaram a síntese de novos derivados tiazolilhidrazonas e procederam a avaliação da atividade antifúngica desses compostos frente a diversas espécies de *Candida* spp., utilizando o método de microdiluição em caldo, tendo como padrão o fluconazol. Os resultados dos ensaios biológicos demonstraram atividade antifúngica promissora para os derivados tiazolilhidrazonas, pois algumas moléculas apresentaram capacidade de inibir a proliferação fúngica igual ou superior ao fluconazol. Esses autores avaliaram, também, a atividade de análogos das tiazolilhidrazonas em que o átomo de enxofre do anel tiazólico foi substituído por um átomo de selênio, o que repercutiu em uma significativa redução da atividade antifúngica (substância **VI** vs **VII**), reforçando a importância deste anel para manutenção da atividade (**Tabela 1**).

Tabela 1 – Estruturas e valores de MIC das tiazolilhidrazonas com melhor atividade comparada ao padrão fluconazol e efeitos da modificação do núcleo tiazólico na atividade antifúngica (Łaczkowski et al., 2016)

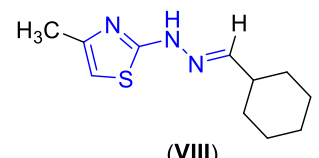
Substâncias	Concentração Inibitória Mínima - MIC (μM)	
	<i>C. albicans</i>	<i>C. krusei</i>
 Fluconazol (Controle)		
VI	0,81	0,81
VII	91,29	22,78
VIII	4,38	1,07
Fluconazol	6,36	102,00



(VI)



(VII)



(VIII)

Fonte: Autor, 2021.

Ouf e colaboradores (2018) buscando avaliar o potencial antifúngico das tiazolilhidrazonas, sintetizaram 14 compostos que foram submetidos à avaliação de atividade contra *C. albicans*, *Microsporium gypseum* e *Trichophyton mentagrophytes*, por meio do método de difusão em ágar. Os pesquisadores explorando a versatilidade do anel tiazólico, efetuaram substituições nas posições 2, 4 e 5 do anel. Como resultado, observou-se que a atividade antifúngica dos compostos era modulada pelos substituintes do núcleo tiazólico, sendo os compostos com substituintes aromáticos nas posições 4 e 5 aqueles com atividade antifúngica comparável ou superior ao fluconazol. Esses autores observaram, também, que os derivados com substituinte CH_3 ou OCH_3 na posição *para* do anel aromático eram mais ativos quando comparados àqueles com NO_2 e Cl na mesma posição (substâncias **XI** e **XIII** vs **X** e **XII**), conforme ilustrado na **Tabela 2**.

Tabela 2 – Concentração inibitória mínima (MIC) das tiazolilhidrazonas mais ativas comparadas ao fluconazol (OUF et al., 2018)

Fluconazol
(Controle)

$R_1 = \text{H}$ (IX)
 $R_1 = \text{Cl}$ (X)
 $R_1 = \text{CH}_3$ (XI)
 $R_1 = \text{NO}_2$ (XII)
 $R_1 = \text{OCH}_3$ (XIII)

(XIV)

Concentração Inibitória Mínima - MIC (µM)			
Substâncias	<i>C. albicans</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>
IX	5,12	10,24	10,24
X	9,41	9,41	18,83
XI	4,94	9,88	9,88
XII	18,37	18,37	36,74
XIII	4,74	9,51	9,51
XIV	48,72	194,86	194,86
Fluconazol	26,12	26,12	52,24

Fonte: Autor, 2021.

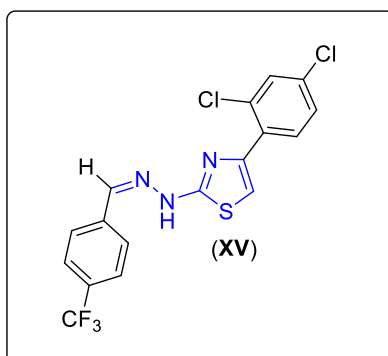
1.5.2 Investigação do mecanismo de ação das tiazolilhidrazonas

Apesar da ampla atividade biológica apresentada pelas tiazolilhidrazonas, o mecanismo de ação dos compostos dessa classe permanece um mistério que tem sido alvo de estudos, visando promover a elucidação desse mecanismo (SÁ et al., 2019; PRICOPIE et al., 2019; SANTANA et al., 2018).

Desta forma, Santana e colaboradores (2018) investigaram os possíveis mecanismos de ação envolvendo o efeito antitumoral apresentado pelas tiazolilhidrazonas. Como resultado do estudo, a atividade antiproliferativa da tiazolilhidrazona **XV** (Figura 16) foi atribuída à indução da despolarização

mitocondrial, fragmentação do DNA e interrupção do ciclo celular na fase G1, fatores que ocasionam a morte celular por apoptose (SANTANA *et al.*, 2018).

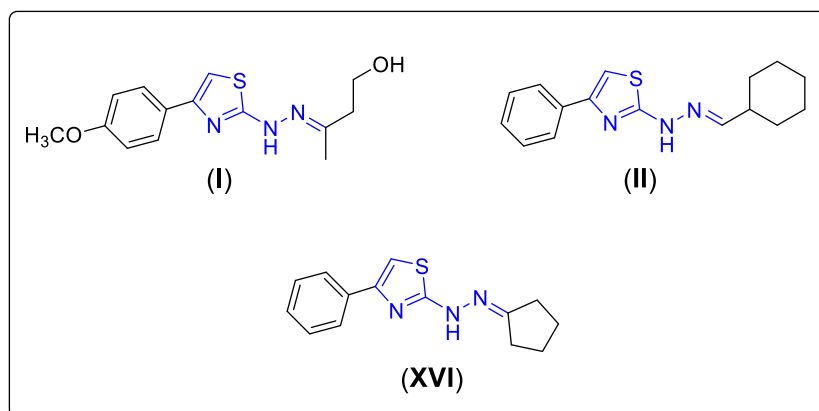
Figura 16 – Estrutura química da substância XV estudada por Santana e colaboradores (2018)



Fonte: Autor, 2021.

Sá e colaboradores (2019) demonstraram o efeito das tiazolilhidrazonas **I**, **II** e **XVI** (**Figura 17**) sobre importantes fatores de virulência relacionados às espécies de *Cryptococcus* spp. Os mecanismos de ação relatados foram decorrentes da redução da atividade metabólica de *C. neoformans* e *C. gatti*, com alteração da produção de biofilme, modificações na espessura da cápsula e no tamanho da célula fúngica, sugerindo interrupção da fase G1 do ciclo celular, o que está de acordo com o verificado por Santana e colaboradores (2018). Além disso, as tiazolilhidrazonas auxiliaram na modulação da resposta imune e no processo de fagocitose de macrófagos frente a espécies de *Cryptococcus* spp. (SÁ *et al.*, 2019). Adicionalmente, também foi demonstrado que esses compostos exibem atividade antifúngica por meio do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio no interior das células do fungo (SÁ *et al.*, 2017).

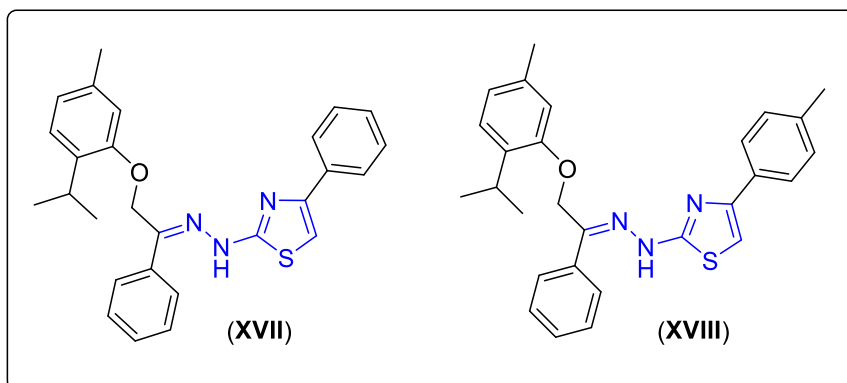
Figura 17 – Tiazolilhidrazonas utilizadas nos estudos de Sá e colaboradores (2019)



Fonte: Autor, 2021.

Neste contexto, Pricopie e colaboradores (2019) investigaram, em um estudo teórico, o mecanismo de ação molecular de tiazolilhidrazonas (**Figura 18**) utilizando a enzima lanosterol-C14 α -desmetilase (CYP51) como alvo molecular. O estudo *in silico* realizado por acoplamento molecular (*docking*) demonstrou afinidade de interação de substâncias desta classe com o referido alvo. Porém, o modo de ligação sugerido não acontece por coordenação covalente com o grupo heme, como observado nos antifúngicos azólicos, mas sim por competição com o substrato fisiológico da enzima CYP51 (PRICOPIE *et al.*, 2019). Além disso, o estudo demonstra que ferramentas de quimioinformática vem adquirindo notoriedade na comunidade científica por auxiliar na compreensão das formas de interação fármaco-receptor, bem como, no planejamento de novos insumos farmacologicamente ativos.

Figura 18 – Substâncias mais promissoras analisadas por Pricopie e colaboradores (2019)



Fonte: Autor, 2021.

1.6 Químioinformática

Apesar das contribuições da Química Combinatória na busca por novos fármacos, por meio da utilização de estratégias como a triagem biológica automatizada em alta escala (HTS – *High throughput screening*), os avanços obtidos na descoberta de novos princípios farmacologicamente ativos, apresentaram como limitação a grande exigência de recursos e materiais empregados por essas técnicas. Essas estratégias, tradicionalmente utilizadas para obtenção de novos fármacos estão, progressivamente, sendo substituídas por técnicas modernas de bio- e químioinformática provenientes da combinação multidisciplinar de conhecimentos advindos de diferentes áreas da Química Medicinal (PICCIRILLO & AMARAL, 2018; GUIDO & ANDRICOPULO, 2008).

A busca virtual de fármacos possibilita a seleção de moléculas com características químicas desejáveis sem o consumo de matéria-prima, uma vez que os ensaios são realizados em plataformas virtuais (*in silico*) não havendo, necessariamente, a obrigatoriedade da existência física do composto analisado. Porém, neste processo é imprescindível o conhecimento das propriedades químicas responsáveis pelas interações entre o composto e o alvo biológico (PICCIRILLO & AMARAL, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2012).

As principais formas de predição virtual da atividade biológica de um composto são realizadas com base na estrutura do ligante (LBDD, do inglês, *Ligand Based Drug Design*) ou baseadas na estrutura do receptor (SBDD, do inglês, *Structure Based Drug Design*). Deste modo, a construção de modelos de busca virtual com capacidade preditiva satisfatória apresenta dificuldades impostas pela alta complexidade das análises de interações a nível molecular, inerente às múltiplas conformações e formas de interações estabelecidas pelo ligante e seu receptor. Sendo assim, a busca virtual por fármacos dificilmente será concluída com êxito utilizando um único método computacional (PICCIRILLO & AMARAL, 2018; GUIDO & ANDRICOPULO, 2008).

Ao analisar bancos de dados com grande número de moléculas, efetua-se o emprego de programas de seleção que utilizam descritores em ordem crescente de complexidade de cálculo. Isso contribui para a condensação das moléculas de interesse em um grupo menor ao qual serão aplicados programas de filtragem mais elaborados e com maior custo de máquina, de modo a selecionar moléculas com elevado potencial de sucesso terapêutico (PICCIRILLO & AMARAL, 2018).

Nesta perspectiva, os descritores moleculares constituem uma representação matemática resultante da codificação de informações químicas e estruturais de uma molécula, que serão utilizados como base de cálculo por um algoritmo (RODRIGUES *et al.*, 2012). Esses descritores podem ser unidimensionais (1D) se baseados nas propriedades físico-químicas e na fórmula molecular do composto, bidimensionais (2D) quando descrevem propriedades relacionadas à conectividade dos átomos ou tridimensionais (3D) baseado no arranjo espacial dos átomos e no volume da molécula. Outros métodos de análise multidimensionais foram desenvolvidos e serão abordados posteriormente (PICCIRILLO & AMARAL, 2018; ALVES *et al.*, 2017).

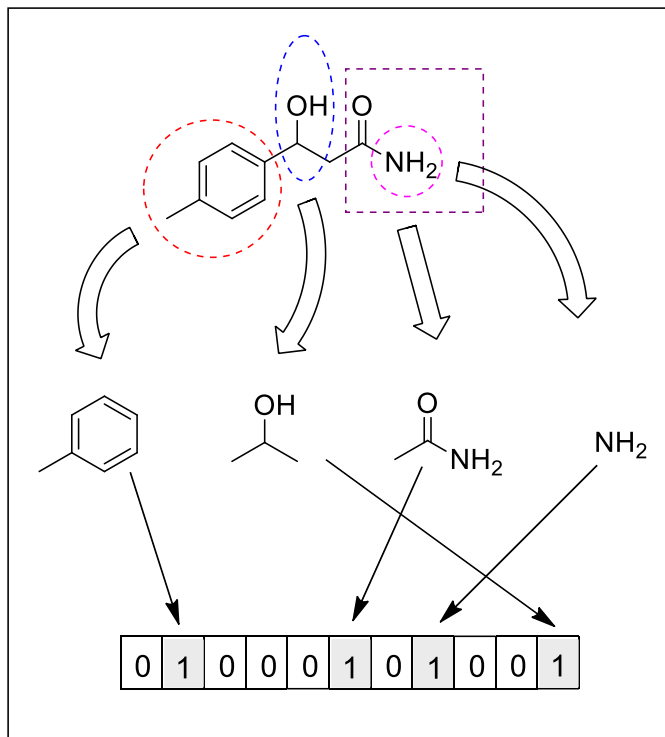
A partir das informações proporcionadas pelos descritores unidimensionais e bidimensionais, a busca por moléculas com propriedades fármaco-similar (do inglês, *drug-like*) e filtros de similaridade 2D puderam ser empregados na busca por compostos com potencial farmacológico. Deste modo, características desejáveis a um candidato a fármaco como solubilidade e outras propriedades físico-químicas relacionadas aos parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e

toxicidade (ADMET) podem ser avaliados em etapas iniciais de seleção, possibilitando priorizar compostos com grandes chances de sucesso na fase clínica e com viabilidade de administração oral (PICCIRILLO & AMARAL, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2012).

Neste contexto, Lipinski e colaboradores (1997) determinaram alguns parâmetros físico-químicos que estão diretamente associados a características que aumentam, consideravelmente, a biodisponibilidade oral de fármacos. Estas características incluem: massa molecular ≤ 500 g/mol; logaritmo do coeficiente de partição *n*-octanol/água (logP) ≤ 5 ; número de átomos doadores de ligação de hidrogênio (HBD) ≤ 5 e número de átomos aceptores de ligação de hidrogênio (HBA) ≤ 10 . Quando dois ou mais desses parâmetros não são respeitados, as chances de absorção oral diminuem significativamente, pois essas características exercem influência na permeabilidade dos compostos através das membranas biológicas.

No caso dos filtros de similaridade 2D são utilizados descritores baseados em fragmentos moleculares, como os *fingerprints*, que criam um tipo de “impressão digital” da molécula por meio de uma construção de um código binário, representado por zero (0) na ausência e por um (1) na presença de determinado fragmento estrutural (**Figura 19**). Os *fingerprints* são bastante utilizados por sua facilidade de interpretação de resultados e aplicabilidade na compreensão da relação estrutura-atividade de determinadas moléculas, uma vez que compostos com estrutura química similar tendem a possuir atividade biológica semelhante. Entretanto, a desvantagem deste método reside na incapacidade de estabelecer uma correlação de similaridade entre diferentes fragmentos moleculares que possuem equivalência química, como observado em bioisósteros, pois esta técnica não avalia o potencial eletrostático nem o volume espacial dos grupamentos moleculares (PICCIRILLO & AMARAL, 2018; GUIDO & ANDRICOPULO, 2008).

Figura 19 – Representação do fingerprint molecular



Fonte: Adaptado de PICCIRILLO & AMARAL, 2018.

Deste modo, como forma de contornar tais limitações, os descritores tridimensionais possibilitaram a elaboração de parâmetros de busca baseados no formato (do inglês, *shape*), como os modelos de busca farmacofórica. Estes modelos podem ser construídos com informações proporcionadas pela estrutura dos ligantes (LBDD) ou por meio da estrutura do complexo ligante-receptor (SBDD), que possibilitem o mapeamento de regiões de interação não covalentes (regiões doadoras e aceptoras de ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, eletrostáticas, cátion- π e π - π) alinhadas no espaço tridimensional, desenhando um modelo farmacofórico dos locais de interações responsáveis por desencadear a resposta biológica (PICCIRILLO & AMARAL, 2018; ALVES *et al.*, 2017).

Como as tiazolilhidrazonas não possuem um mecanismo de ação definido, os estudos da relação estrutura-atividade quantitativo (QSAR do inglês, *Quantitative Structure-activity Relationship*) podem ser desenvolvidos mediante a utilização de estratégias computacionais baseadas na estrutura dos ligantes (TEIXEIRA, 2019; LINO *et al.*, 2018)

1.6.1 QSAR

A análise da relação quantitativa entre a estrutura química e a atividade biológica (QSAR) constitui uma representação matemática que utiliza descritores moleculares, com dimensionalidade variável, com intuito de estabelecer uma relação entre a estrutura química de determinados compostos e sua atividade biológica, construindo um algoritmo capaz de prever a atividade de compostos que carecem de informações experimentais (*in vitro* e *in vivo*) (ALVES *et al.*, 2017).

As bases dos estudos de QSAR foram consolidadas por Hansch & Fujita (1964) realizando a construção de uma equação linear que correlaciona diferentes parâmetros físico-químicos associados à lipofilicidade e efeitos eletrônicos. Este modelo ficou conhecido como Equação de Hansch:

$$(1) \quad \text{Log } 1/C = a \text{ LogP} + b \sigma + c$$

Nesta equação, **Log 1/C** representa a potência biológica; **a** e **b** são coeficientes determinados pela análise de regressão linear aplicada ao conjunto de dados; **LogP** corresponde ao coeficiente de partição; **σ** a influência eletrônica e **c** é atribuído ao erro.

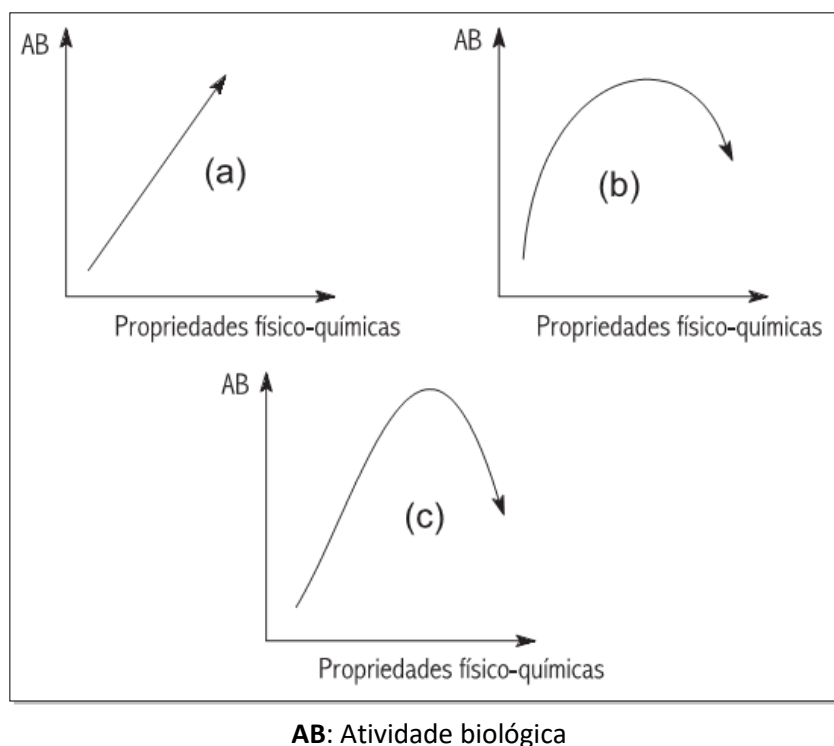
Neste contexto, Hansch propôs, em 1969, adaptações em sua equação linear por meio da introdução de um termo quadrático relacionado à lipofilicidade, construindo um modelo parabólico (**Equação 2**). Esta modificação, expressa o crescimento da atividade biológica até um ponto máximo de lipofilicidade, a partir do qual se inicia uma progressiva redução da atividade, descrevendo um perfil parabólico. Este modelo busca representar os limites de dependência entre atividade biológica e lipofilicidade, expressando mais adequadamente o comportamento destas moléculas na biofase (TEIXEIRA, 2019; TAVARES, 2004).

$$(2) \quad \text{Log } 1/C = a (\text{LogP})^2 + b \text{ LogP} + p\sigma + c$$

Kubinyi, em 1977, desenvolveu o modelo bilinear que possui segmentos ascendente e descendente com características semelhantes ao modelo linear; por outro lado, na porção máxima a curva assume o perfil do modelo parabólico (**Figura 20**). Estas características são atribuídas ao termo bilinear β (**Equação 3**), que estabelece a probabilidade de movimento dos compostos frente a sistemas multicompartimentados, como se observa nos sistemas de barreiras biológicas.

$$(3) \quad \text{Log } 1/C = a \text{ Log} P - b \text{ Log } (\beta P + 1) + c$$

Figura 20 – Perfil dos modelos linear (a), parabólico (b) e bilinear (c)



Fonte: TAVARES, 2004.

Deste modo, a execução de estudos de QSAR pode ser dividida em etapas como: (i) seleção de compostos com similaridade estrutural e atividade biológica definida sob as mesmas condições experimentais, (ii) cálculo dos descritores moleculares, (iii) seleção dos descritores com melhor representatividade por meio da aplicação de métodos de seleção de variáveis, (iv) seleção de compostos para compor os conjuntos de treinamento e teste, para construir e validar externamente os modelos,

respectivamente, (v) construção e validação estatísticas dos modelos, (vi) interpretação dos resultados proporcionados pelos modelos escolhidos (TEIXEIRA, 2019).

A classificação das técnicas de QSAR pode ser estabelecida com base nos descritores utilizados nos processos de análise, como: QSAR-2D que utiliza descritores oriundos de parâmetros físico-químicos e cálculos realizados com base nas informações proporcionadas pela estrutura bidimensional (HANSCH & FUJITA, 1964) e QSAR-3D baseado em descritores que analisam os campos de interações estéricas e eletrostáticas da estrutura tridimensional das moléculas (HOPFINGER *et al.*, 1997).

Com o intuito de contornar limitações inerentes ao QSAR-3D outros métodos multidimensionais foram desenvolvidos, como: o QSAR-4D que permite a consideração da flexibilidade conformacional dos ligantes (VEDANI *et al.*, 2000); o QSAR-5D que inclui diversos modelos de encaixe induzido (flexibilidade do ligante e de seu alvo molecular) (VEDANI *et al.*, 2005) e o QSAR-6D que estabelece a inclusão de modelos de solvatação ao sistema ligante-proteína (VEDANI; DOBLER; LILL, 2005).

Com base nessas informações, o estudo da relação estrutura-atividade para o planejamento de novas tiazolilhidrazonas pode ser executado por intermédio da técnica de HQSAR que utiliza como base os hologramas moleculares. Esta técnica é apropriada, tendo em vista que estratégias de planejamento de fármacos baseadas na estrutura do receptor (SBDD) não são apropriadas, pois esta classe não apresenta mecanismo de ação elucidado, sendo a estrutura do alvo de ação desconhecida. Desta forma, a técnica de HQSAR por explorar propriedades e características da estrutura química de ligantes bioativos possibilita a realização de estudos da relação estrutura-atividade desses compostos, baseado na estrutura dos ligantes (LBDD).

1.6.2 HQSAR

A técnica QSAR por hologramas (HQSAR, do inglês, *Hologram Quantitative Structure-Activity Relationship*) constitui uma análise da relação estrutura-atividade empregando uma forma estendida do *fingerprint*, em que a estrutura molecular é fragmentada para formação de hologramas estruturais. Neste método, o alinhamento molecular e a conformação do ligante não são pré-requisitos, sendo exigido, apenas, a estrutura bidimensional dos compostos e suas respectivas propriedades biológicas. Deste modo, os dados inerentes ao holograma molecular estão associados ao sistema binário de contagem, sendo seu tamanho definido pelo número de *bins* (número de *fingerprints* binários), cujo conteúdo demonstra a presença dos fragmentos moleculares (TEIXEIRA, 2019; NASCIMENTO, 2015).

O modelo de HQSAR pode ser afetado por parâmetros como tamanho do fragmento (definido em número de átomos), comprimento do holograma e distinção de fragmentos. O comprimento do holograma constitui um importante parâmetro por influenciar na ocorrência da colisão de fragmentos, que é contornado por meio da utilização do algoritmo cíclico de verificação de redundância (CRC, do inglês *Cyclic Redundancy Check*) que evita o agrupamento de diferentes fragmentos na mesma posição do holograma. Além disso, a distinção de fragmentos pode ser realizada com base nos tipos de átomos, tipos de ligação química, conectividade, quiralidade e doadores/aceptores de ligação de hidrogênio; conforme descrito na **Tabela 3** (NASCIMENTO, 2015).

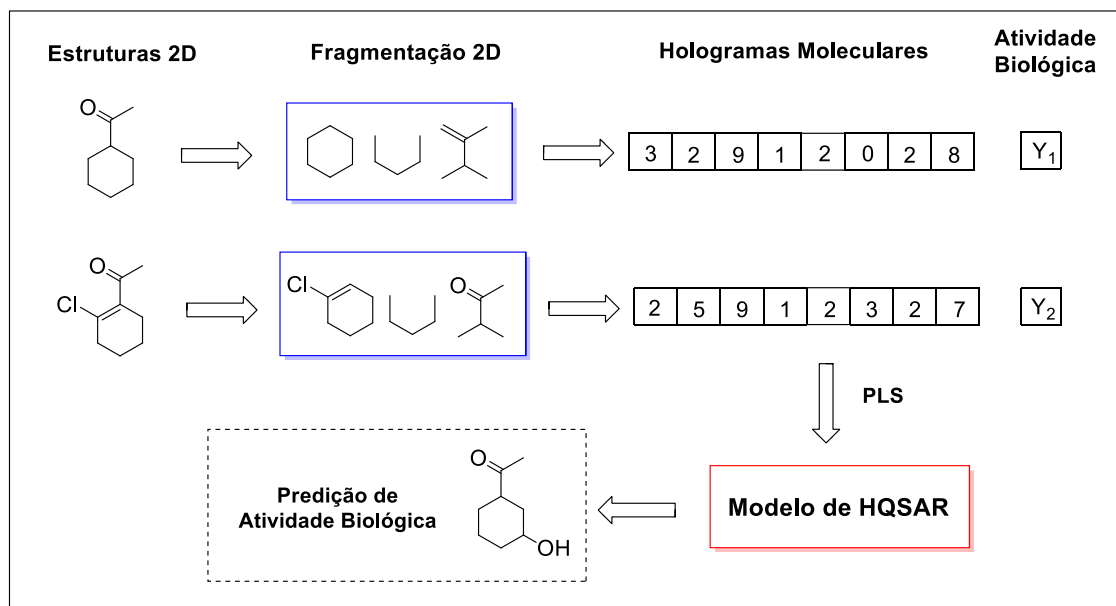
Tabela 3 – Parâmetros de distinção de fragmentos em HQSAR

Parâmetros	Definição
Átomo (A)	Tipos de átomos
Ligante (B)	Tipos de ligação química (simples, dupla, tripla e aromática)
Conectividade (C)	Hibridação dos átomos contidos no fragmento
Hidrogênio (HA)	Presença e número de átomos de hidrogênio
Quiralidade (Ch)	Presença de centros estereogênicos
Doador e Aceptor (DA)	Presença de átomos aceptores e doadores de ligação de hidrogênio

Fonte: Adaptado de TEIXEIRA, 2019.

As variáveis independentes representadas pelos hologramas moleculares efetuam a codificação da estrutura bidimensional, que são relacionadas com as variáveis dependentes, atribuída à atividade biológica dos compostos (pKi, pIC₅₀, pEC₅₀), utilizando o método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês, *Partial Least Squares*). Com isso, os resultados provenientes do conjunto analisado proporcionam a criação do modelo de HQSAR, que pode ser aplicado para prever a atividade biológica de outros compostos (**Figura 21**) ao quantificar variações dentro de seus hologramas (MARTINS, 2018; NASCIMENTO, 2015).

Figura 21 – Etapas de geração dos hologramas moleculares e modelo HQSAR

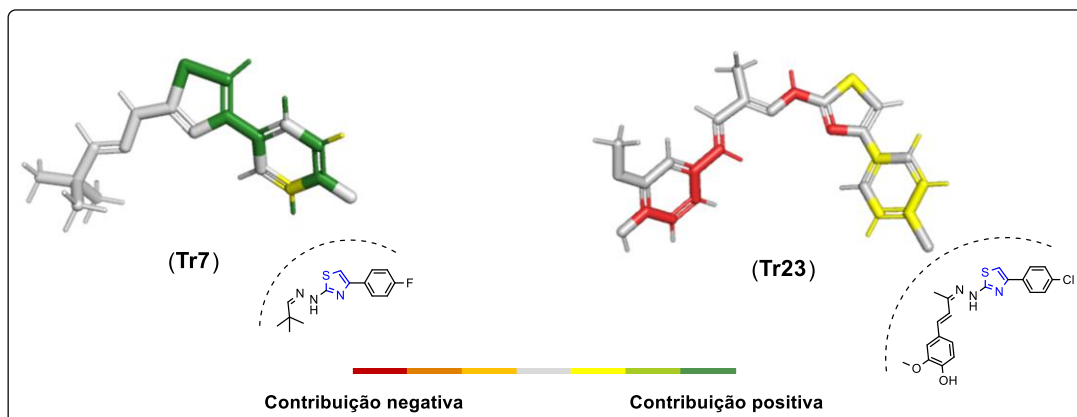


Fonte: Adaptado de NASCIMENTO, 2015.

Sendo assim, após a criação do modelo de HQSAR é realizada a validação interna, em que é analisada a capacidade de correlação para o conjunto de treinamento, sendo um dos métodos aplicados o *leave-one-out* (LOO). Nesta metodologia, os compostos integrantes do conjunto de treinamento são retirados um a um para que sua atividade seja predita individualmente utilizando o modelo gerado. Outra forma é a validação externa, em que os compostos de um conjunto de teste, que não foram utilizados na construção do modelo, têm sua atividade biológica predita posteriormente (MARTINS, 2018).

O modelo de HQSAR proporciona uma avaliação visual dos diferentes grupamentos constituintes de uma molécula, atribuindo padrões de coloração que permitem avaliar a contribuição de cada região para a atividade biológica. Sendo assim, os fragmentos com contribuição favorável são destacados por cores entre o verde e o amarelo, enquanto as porções que contribuem negativamente apresentam-se com coloração entre o vermelho e laranja (**Figura 22**). Com isso, o modelo de HQSAR permite direcionar a seleção de moléculas com as características físico-químicas desejadas em cada região molecular, contribuindo para a otimização e planejamento de novas substâncias bioativas (MARTINS, 2018; NASCIMENTO, 2015).

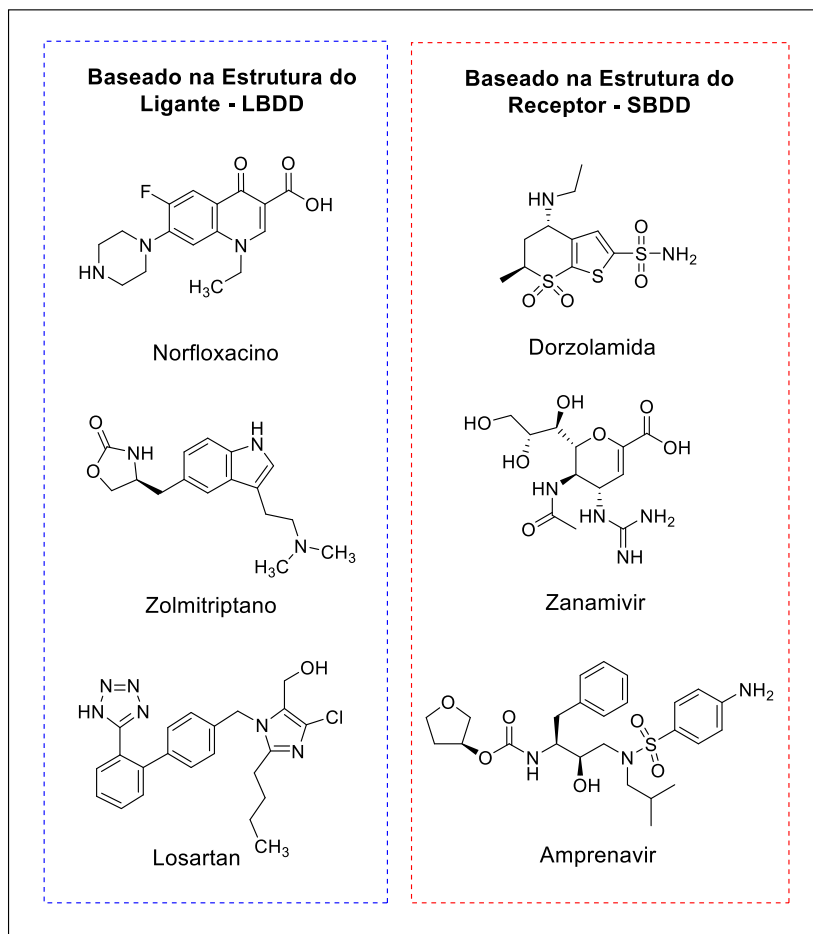
Figura 22 – Resultados obtidos a partir de estudos de HQSAR



Fonte: Autor, 2021.

1.6.3 Influência da quimioinformática no planejamento de fármacos

Os resultados promissores do planejamento de novas moléculas auxiliado por computador (CAMD, do inglês, *Computer-Aided Molecular Design*), podem ser demonstrados por intermédio da disponibilidade comercial dos fármacos norfloxacino (antibiótico), zolmitriptano (antienxaquecoso) e losartan (anti-hipertensivo) desenvolvidos utilizando modelos de QSAR como estratégia LBDD. Além disso, modelos computacionais baseados na estrutura do receptor proporcionaram a descoberta dos fármacos dorzolamida (anti-hipertensivo ocular), zanamivir (antiviral) e amprenavir (antiviral) (CLARK, 2006) (**Figura 23**). Estes resultados demonstram a aplicabilidade e o potencial exercido por estas técnicas no planejamento de novos fármacos.

Figura 23 – Fármacos planejados com auxílio da quimioinformática

Fonte: Autor, 2021.

Com base no exposto, neste trabalho foi planejada a síntese de novos heterocíclicos tiazóis, tiadiazóis e tiadiazolínicos com potencial atividade antifúngica. Deste modo, em continuidade aos estudos realizados pelo nosso grupo, foram propostas modificações estruturais em protótipos com intuito de obter melhores propriedades físico-químicas, visando à modulação da atividade e farmacocinética dessas classes de compostos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Efetuar o planejamento molecular e sintetizar novos derivados tiazólicos, avaliar suas atividades antifúngicas *in vitro* e construir modelos de HQSAR para prever a atividade biológica das substâncias sintetizadas contra as espécies de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti*.

2.2 Objetivos específicos

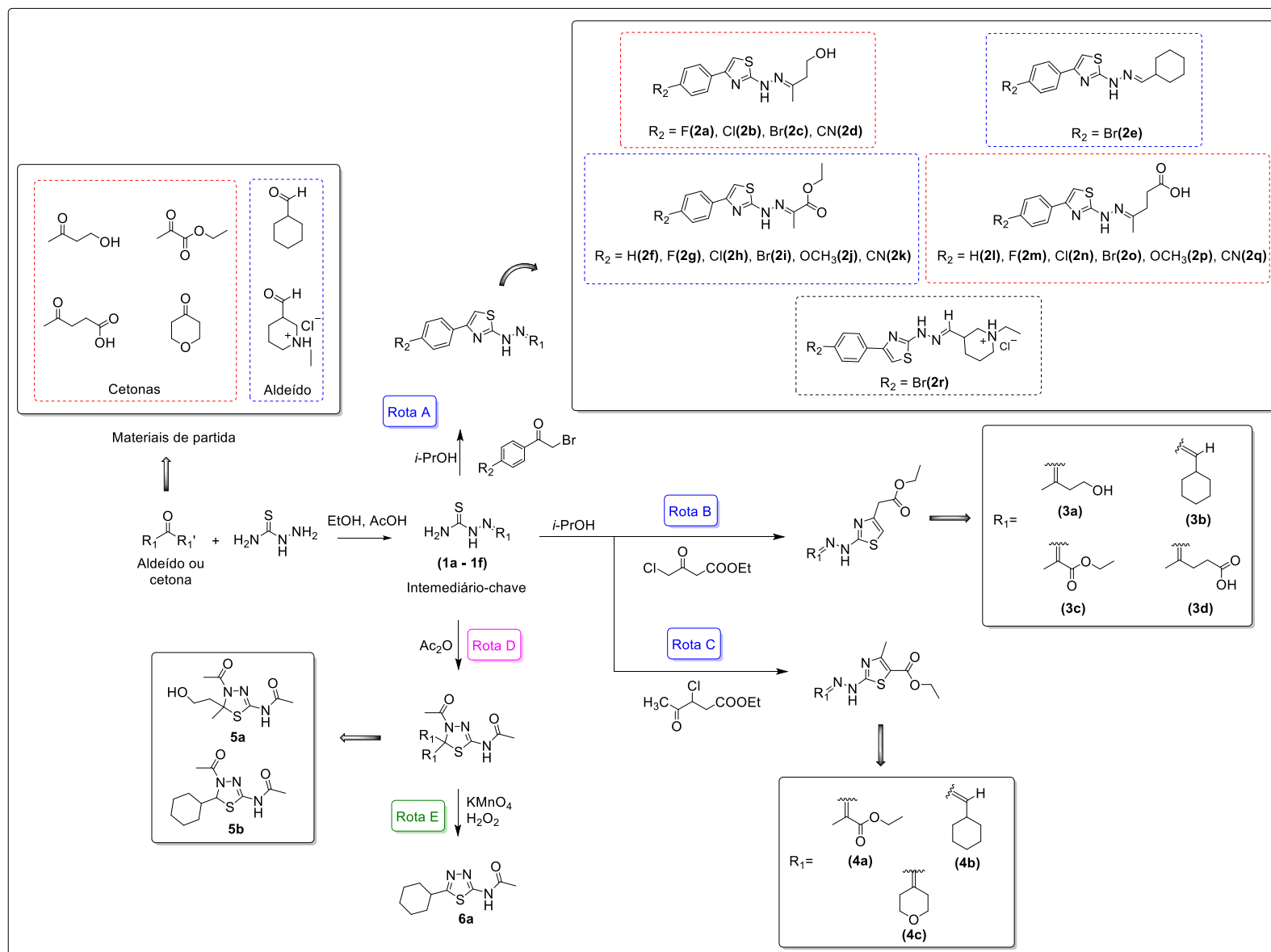
- a) Construir e validar modelos de HQSAR para estabelecer uma correlação entre estrutura química e atividade antifúngica contra espécies de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti*, que possibilitem o planejamento de novos derivados tiazólicos com potencial atividade antifúngica;
- b) Sintetizar novos derivados tiazolilhidrazonas *via* reação de ciclização intermolecular entre tiossemicarbazonas e um dos seguintes reagentes: 2-bromoacetofenonas *para*-substituídas, 2-cloroacetoacetato de etila ou 4-cloroacetoacetato de etila;
- c) Sintetizar heterociclos tiadiazolínicos por meio de reações entre tiossemicarbazonas e anidrido acético;
- d) Obter heterociclos tiadiazóis a partir da reação de oxidação de compostos tiadiazolínicos com permanganato de potássio na presença de peróxido de hidrogênio;
- e) Avaliar *in vitro* a atividade antifúngica dos heterociclos sintetizados.

3. PLANO DE SÍNTESE

O plano de síntese proposto para obtenção dos derivados tiazólicos consistiu em cinco rotas de síntese distintas, tendo, todas elas, um intermediário tiossemicarbazona em comum (**Figura 24**), obtido a partir da reação de condensação entre a tiossemicarbazida e diferentes aldeídos (ciclohexanocarboxialdeído e cloridrato de 1-etilpiperidina-3-carbaldeído) e cetonas (4-hidroxi-2-butanona, piruvato de etila, ácido levulínico e tetrahydro-4H-piran-4-ona).

As tiossemicarbazonas obtidas na primeira etapa serão empregadas em reações de ciclização intermolecular utilizando como reagentes: a) 2-bromoacetofenonas substituídas ou não na posição *para* ($R_2 = \text{H, F, Cl, Br, CN e OCH}_3$) com intuito de obter as tiazolilhidrazonas propostas **2a–2r** (Rota A); b) 4-cloroacetato de etila para a obtenção das tiazolilhidrazonas **3a–3d** contendo um substituinte éster na posição 4 do anel tiazólico (Rota B); c) 2-cloroacetoacetato de etila para a síntese das tiazolilhidrazonas **4a–4c** substituídas nas posições 2, 4 e 5 do anel tiazólico (Rota C); d) anidrido acético para obtenção dos derivados tiadiazolínicos **5a** e **5b** (Rota D) e, por último, e) permanganato de potássio na presença de peróxido de hidrogênio para obtenção do tiadiazol **6a** (Rota E).

Figura 24 – Esquemática do plano de síntese



4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Estudos Computacionais

4.1.1 Modelos de HQSAR

A construção dos modelos para predição da atividade antifúngica dos novos derivados tiazólicos propostos foi efetuada utilizando o método bidimensional de HQSAR. O desenvolvimento destes modelos foi realizado por meio da utilização de um conjunto de moléculas com atividade antifúngica previamente determinada por meio de ensaios biológicos contra as espécies de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti*. Para isso, foram empregadas 52 substâncias (LINO *et al.*, 2018; SÁ *et al.*, 2015), das quais 38 foram avaliadas contra *C. albicans* e as 52 estruturas foram testadas contra *C. neoformans* e *C. gatti*, sendo os valores de atividade expressos em pMIC (logaritmo negativo da concentração inibitória mínima).

O programa BIOVIA Discovery Studio Visualizer (BIOVIA, 2020) foi aplicado para a construção tridimensional das 52 estruturas provenientes de artigos previamente publicados por nosso grupo de pesquisa (LINO *et al.*, 2018; SÁ *et al.*, 2015) ou em fase de elaboração. Essas substâncias foram testadas sob as mesmas condições experimentais, o que favorece a geração de modelos de HQSAR sem que haja interferência de peculiaridades atribuídas a diferentes metodologias experimentais nos resultados, que serão utilizados para a construção dos modelos.

Em seguida, a análise conformacional das moléculas foi realizada com auxílio do programa OMEGA 2.5.1.4 (HAWKINS, *et al.*, 2010; OPENEYE, 2010) a partir dos cálculos de conformação de menor energia das estruturas, empregando o campo de força “Merck Molecular Force Field” (MMFF94). Subsequentemente, os estados de ionização em pH 7,4 foram calculados utilizando o programa QUACPAC (QUACPAC, 2020).

Após as adaptações estruturais necessárias, a plataforma “*KNIME Analytics Platform*” (KNIME SOFTWARE, 2019) foi utilizada para a seleção do conjunto treinamento e conjunto teste. Neste processo de seleção, foi efetuada uma análise dos compostos baseada em descritores estruturais, fármaco-similar (do inglês, *drug-like*) e biológicos (VERÍSSIMO *et al.*, 2019).

Dessa forma, as informações estruturais foram obtidas pelo método de *fingerprints* PubChem e as propriedades *drug-like* calculadas por meio da análise de parâmetros físico-químicos relacionados a grupos doadores e aceptores de ligação de hidrogênio, massa molecular, número de ligações rotacionáveis, fração de carbono sp^3 , logP e topologia de área de superfície polar. Estes parâmetros estruturais e *drug-like* foram determinados pelo programa CDK presente na plataforma KNIME.

Posteriormente, a plataforma aplicou a esses dados a técnica de PCA (do inglês, *Principal Components Analysis*) para redução de dimensionalidade. Por fim, as informações provenientes da análise estrutural, *drug-like* e os valores biológicos de *pMIC* foram organizadas utilizando a técnica de agrupamento hierárquico - HCA (do inglês, *Hierarchical Cluster Analysis*), que determina o distanciamento entre as moléculas por meio de cálculos de distâncias euclidianas. Os resultados dessas análises proporcionaram a distribuição de 80% das estruturas para o conjunto treinamento, e os 20% restantes foram destinadas à composição do conjunto teste.

4.1.2 Construção e validação dos modelos de HQSAR

Após a distribuição das estruturas entre o conjunto treinamento e teste, a plataforma SYBYL®-X 2.1.1 (TRIPOS, 2013) foi empregada para o desenvolvimento dos modelos de HQSAR a partir do conjunto treinamento. A princípio, a construção desses modelos foi estabelecida pela combinação entre os parâmetros físico-químicos: A (átomos), B (ligações), C (conexões), Ch (quiralidade), HA (átomos de hidrogênio), e DA (doador e/ou aceitor de ligação de hidrogênio); associados à invariabilidade do tamanho dos fragmentos, estabelecidos entre 4 a 7 átomos.

Ao analisar os modelos de HQSAR gerados por meio da combinação dos diferentes parâmetros físico-químicos, selecionou-se por validação interna os quatro modelos mais robustos para cada espécie fúngica, empregando como fundamento os valores dos coeficientes de determinação da validação cruzada (q^2), que define a correlação entre a atividade biológica predita pelos modelos e o valor experimental (real), conforme a equação a seguir:

$$q^2 = 1 - \frac{\sum (Y_{\text{exp}(\text{treino})} - Y_{\text{pred}(\text{treino})})^2}{\sum (Y_{\text{exp}(\text{treino})} - \bar{Y}_{\text{exp}(\text{treino})})^2}$$

Dessa forma, os quatro modelos com maiores valores de (q^2) para cada espécie fúngica, foram selecionados e submetidos a novas adaptações no intervalo de tamanho dos fragmentos, que variaram entre: 4 – 7, 1 – 4, 2 – 5, 3 – 6, 5 – 8, 6 – 9, 7 – 10, 1 – 5, 2 – 6, 3 – 7, 4 – 8, 5 – 9, 6 – 10, 1 – 3, 2 – 4, 3 – 5, 4 – 6, 5 – 7, 6 – 8, 7 – 9, 8 – 10 átomos; com intuito de aperfeiçoar a capacidade preditiva dos modelos pré-selecionados.

4.1.3 Validação externa

Os modelos de HQSAR identificados com os quatro maiores valores de (q^2) para cada espécie fúngica provenientes da etapa anterior, foram submetidos ao processo de validação externa. Nesta fase, foi realizada a predição da atividade antifúngica das moléculas pertencentes ao conjunto teste, que não foram empregadas na construção dos modelos. Neste procedimento, as predições foram realizadas utilizando a plataforma SYBYL®-X 2.1.1 (TRIPOS, 2013) e o cálculo das métricas (**Figura 25**) efetuadas pela plataforma KNIME (KNIME SOFTWARE, 2019).

Figura 25 – Métricas empregadas na validação externa

MÉTRICAS	EQUAÇÕES	VALOR ACEITÁVEL
$Q^2_{(F1)}$	$Q^2_{(F1)} = 1 - \frac{\sum (Y_{\text{exp}(\text{teste})} - Y_{\text{pred}(\text{teste})})^2}{\sum (Y_{\text{exp}(\text{teste})} - \bar{Y}_{\text{exp}(\text{treino})})^2}$	$> 0,6$
$Q^2_{(F2)}$	$Q^2_{(F2)} = 1 - \frac{\sum (Y_{\text{exp}(\text{teste})} - Y_{\text{pred}(\text{teste})})^2}{\sum (Y_{\text{exp}(\text{teste})} - \bar{Y}_{\text{exp}(\text{teste})})^2}$	$> 0,6$
$Q^2_{(F3)}$	$Q^2_{(F3)} = 1 - \frac{\left[\sum (Y_{\text{exp}(\text{teste})} - Y_{\text{pred}(\text{teste})})^2 \right] / n_{\text{teste}}}{\left[\sum (Y_{\text{exp}(\text{treino})} - \bar{Y}_{\text{exp}(\text{treino})})^2 \right] / n_{\text{treino}}}$	$> 0,6$
r^2_m	$r^2_m = r^2 \times \left(1 - \sqrt{(r^2 - r_0^2)} \right)$	$> 0,5$
r'^2_m	$r'^2_m = r^2 \times \left(1 - \sqrt{(r^2 - r_0'^2)} \right)$	$> 0,5$
Δr^2_m	$\Delta r^2_m = r^2_m - r'^2_m $	$< 0,2$
AVGr^2	$\overline{r^2}_m = \frac{(r^2_m + r'^2_m)}{2}$	$> 0,5$
RMSE	$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum (y_{\text{exp}(\text{teste})} - y_{\text{pred}(\text{teste})})^2}{n_{\text{teste}}}}$	Menor Possível
MAE	$\text{MAE} = \frac{\sum y_{\text{exp}(\text{teste})} - y_{\text{pred}(\text{teste})} }{n_{\text{teste}}}$	Menor Possível

$Q^2_{(F1)}$: R^2 preditivo; $Q^2_{(F2)}$: q^2 (SCHÜÜRMAN et al., 2008); $Q^2_{(F3)}$: q^2 (CONSONNI et al., 2009); r^2_m : parâmetro para acessar o poder preditivo do modelo (ROY et al., 2015); r'^2_m : poder preditivo calculado com eixos invertidos; Δr^2_m : $r^2_m - r'^2_m$; AVGr^2_m : valor da média entre r^2_m e r'^2_m ; **RMSE**: raiz quadrada média do erro; **MAE**: média do erro absoluto.

4.1.4 Validação interna

O processo de seleção dos modelos de HQSAR com as melhores capacidades preditivas ocorreram, inicialmente, por meio da validação interna pela aplicação do método de validação cruzada *leave-one-out* (LNO). Este método realiza a retirada de uma das moléculas do conjunto treinamento e cria um novo modelo, que é utilizado para prever a atividade biológica da molécula excluída. Este processo se repete até que todas as estruturas do conjunto treinamento tenham sido retiradas e suas, respectivas atividades antifúngicas preditas pelos novos modelos desenvolvidos. Deste modo, os modelos mais robustos de cada etapa, foram selecionados com base nos valores do coeficiente de validação cruzada (q^2), associados aos respectivos erros de predição (SDEP, do inglês, *standard deviation of error of prediction*), que proporcionam, desta forma, uma investigação completa sobre a variação do modelo em relação ao conjunto treinamento.

De forma adicional, a técnica de validação cruzada LNO foi aplicada ao melhor modelo identificado para cada espécie fúngica, selecionado por sua maior capacidade preditiva na etapa de validação externa. Com intuito de avaliar a robustez destes modelos, foi efetuada a fragmentação do conjunto treinamento por meio da retirada aleatória de moléculas para a construção de subgrupos. Desta forma, a cada análise um subgrupo era excluído e os compostos remanescentes no conjunto treinamento utilizados para gerar um novo modelo de HQSAR, empregado para prever a atividade antifúngica das moléculas do subgrupo deixado de fora.

Este procedimento foi realizado por meio da fragmentação do conjunto treinamento em 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 subgrupos, para os modelos de HQSAR de *C. neoformans* e *C. gatti*, sendo construído cindo modelos diferentes para cada um desses subgrupos pela variação de seus componentes. Por outro lado, os modelos desenvolvidos para a espécie de *C. albicans* foram avaliados por meio da divisão do conjunto treinamento em 5, 10, 15, 20, 25 e 30 subgrupos, e, de modo semelhante às análises anteriores, cindo modelos diferentes foram construídos para cada subgrupo pela variação de seus componentes.

Além disso, com intuito de averiguar a estabilidade dos modelos de HQSAR produzidos, foi efetuada uma terceira validação, utilizando o método *Y-scrambling*,

aplicada aos melhores modelos identificados, oriundos da seleção ocorrida na etapa validação externa. Deste modo, a verificação da possibilidade de geração de modelos aleatórios foi averiguada por meio de permutações dos valores de pMIC entre os compostos do conjunto treinamento. Este procedimento foi reproduzido automaticamente de forma que, a cada modelo gerado, uma nova aleatorização entre os dados do conjunto treinamento ocorria para a construção de um novo modelo. Esta estratégia foi repetida vinte vezes para cada um dos três modelos selecionados. Este método de validação se torna útil, uma vez que a presença de compostos com semelhanças estruturais pode gerar informações potencialmente redundantes, comprometendo a eficiência dos modelos.

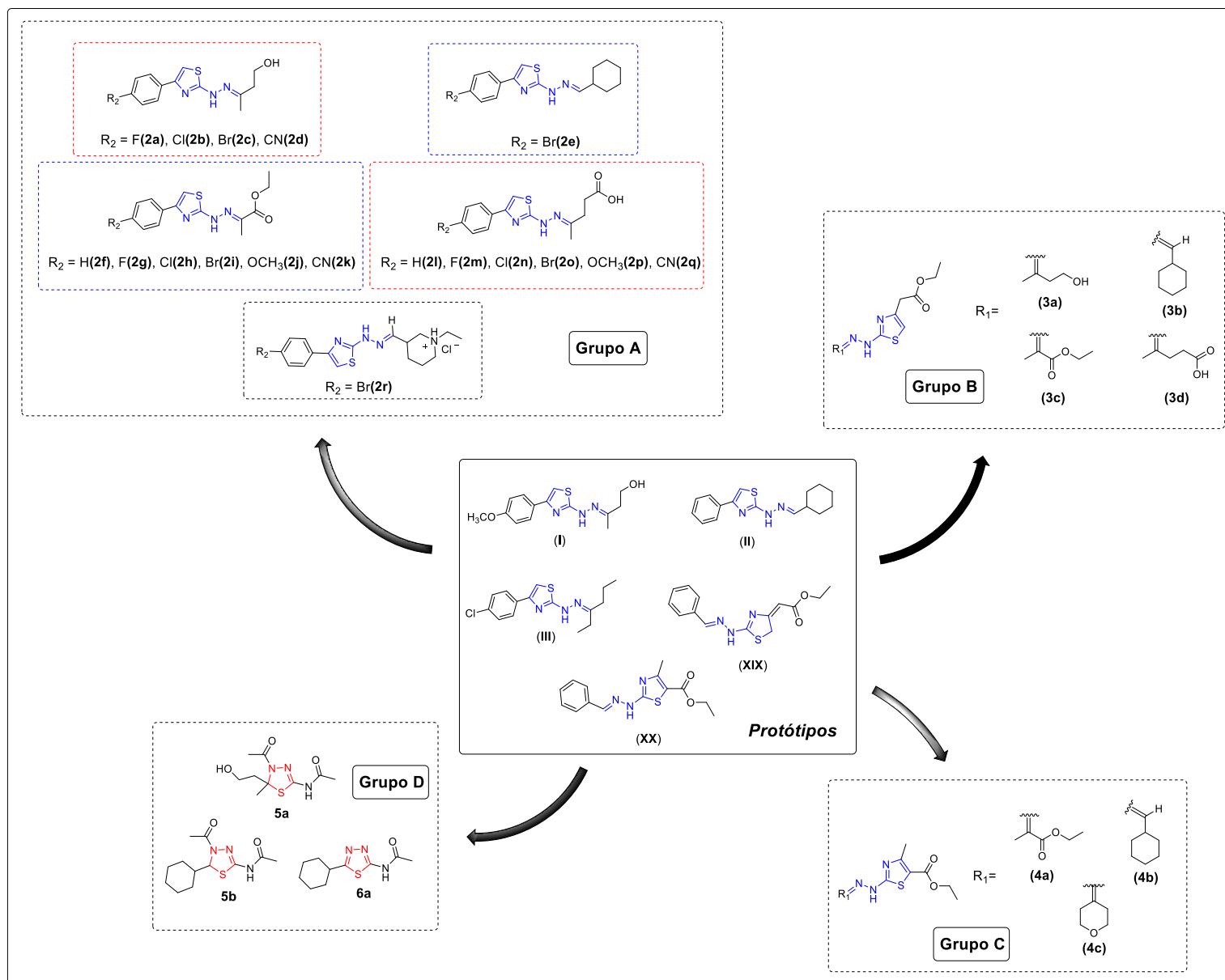
Com o auxílio da plataforma SYBYL®-X 2.1.1 (TRIPOS, 2013) os modelos mais robustos identificados para as espécies de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti* foram empregados na construção de mapas de contribuição e na predição da potencial atividade antifúngica dos novos derivados tiazólicos sintetizados.

4.2 Planejamento dos heterociclos tiazolilhidrazonas, tiadiazolínicos e tiadiazóis

O planejamento dos heterociclos sintetizados neste trabalho foi realizado com base na estrutura dos protótipos previamente sintetizados e testados por nosso grupo de pesquisa (I, II e III), que demonstraram notória atividade antifúngica (LINO *et al.*, 2018; SÁ *et al.*, 2015;) e, também, considerando as estruturas das substâncias sintetizadas por Xiabing e colaboradores XIX e XX (**Figura 26**) (XIABING *et al.*, 2016).

As estruturas dos novos heterociclos foram definidas por meio de modificações moleculares amplamente utilizadas em química medicinal, levando-se em consideração, entre outros parâmetros, a viabilidade sintética e disponibilidade de reagentes. Essas modificações foram planejadas com intuito de obter informações sobre os grupos farmacofóricos, promover melhorias nas características físico-químicas, principalmente aquelas relacionadas à solubilidade, e ampliar a atividade biológica dos compostos sintetizados.

Figura 26 – Proposta utilizada no planejamento dos heterociclos tiazolilhidrazonas, tiadiazolínicos e tiadiazol



As substâncias pertencentes ao Grupo A são provenientes de modificações estruturais dos protótipos **I**, **II** e **III**; realizadas por meio de alterações dos substituintes ligados ao anel aromático e pela introdução de novos grupamentos na porção hidrazona. Os grupamentos contendo a função ácido carboxílico e amino na forma de cloridrato auxiliam na melhoria da hidrossolubilidade desses compostos, com possível aumento da biodisponibilidade, tendo em vista que estudos realizados por Silva e colaboradores (2020) demonstram $\log P = 5,42$ e biodisponibilidade oral de 38,6% para o protótipo **II** (SILVA *et al.*, 2020).

Por outro lado, os heterociclos localizados nos Grupos B e C são originados de alterações nas estruturas dos protótipos **XIX** e **XX**, respectivamente. Deste modo, os compostos do Grupo B foram planejados para averiguar os impactos na atividade biológica dos novos heterociclos ao substituir o anel aromático por um grupo éster alifático. Já no Grupo C foram propostas modificações que permitam avaliar a influência na atividade antifúngica de um derivado tiazolilhidrazona trissubstituído.

De modo semelhante, os compostos tiadiazolínicos e tiadiazol (Grupo D) foram planejados com intuito de substituir o heterociclo tiazol pelo bioisómero tiadiazol, permitindo avaliar as implicações desta alteração sobre a atividade biológica dos compostos. Espera-se que essas estratégias de modificação permitam ampliar o conhecimento sobre a contribuição de cada grupamento para a atividade antifúngica, bem como, fornecer compostos com características físico-químicas mais adequadas para um candidato a fármaco.

4.3 Síntese das substâncias propostas

Para as cromatografias em camada delgada (CCD) utilizou-se sílica gel 60 G Merck em camadas de 0,25 mm de espessura sobre placas de vidro. Os reveladores utilizados foram vapor de iodo e solução de 2,4-dinitrofenilidrazina 1% p/v em etanol contendo 3% de ácido sulfúrico concentrado.

Todos os pontos de fusão foram determinados em aparelho Microquímica MQAPF 301, sendo as análises efetuadas no Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da UFMG.

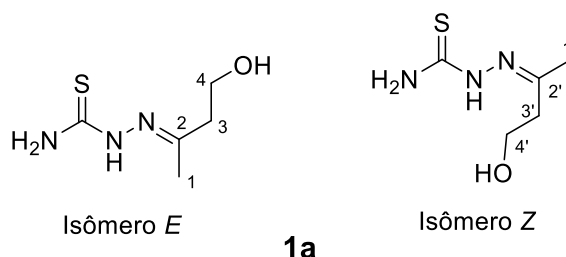
Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C e subespectro DEPT-135 foram realizados no equipamento Bruker AVANCE DRX400 do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução – LAREMAR, no Departamento de Química da UFMG, usando tetrametilsilano (TMS) como o padrão interno. Os desvios químicos são expressos na escala δ (ppm) e os valores J apresentados em Hz, sendo a multiplicidade dos sinais referida como simpleto (s), duplete (d), tripleto (t), quarteto (q), duplete duplo (dd), tripleto triplo (tt) e multiplete (m). Para o processamento dos espectros foi empregado o programa TOPSPIN 3.6.2 – Bruker. Para atribuição dos sinais dos espectros de RMN utilizou-se como base as referências Silverstein e colaboradores e Pavia e colaboradores (SILVERSTEIN *et al.*, 2005; PAVIA *et al.*, 2001).

Os mecanismos de reação e estruturas químicas das moléculas foram desenhados com auxílio do programa *ChemDraw* do pacote *ChemOffice version 19.0*.

4.4 Metodologia geral para síntese das tiossemicarbazonas **1a** – **1f**

Em um balão de fundo redondo de 50mL contendo 1 equivalente do aldeído ou cetona solubilizado em etanol 95%, com pH corrigido entre 4 – 5 pela adição de gotas de ácido acético glacial, foi adicionado 1 equivalente de tiossemicarbazida. O balão de reação foi acoplado a um condensador de refluxo fechado com tubo de cloreto de cálcio e a mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação magnética. A reação foi monitorada por CCD, até constatar o consumo dos reagentes e formação do produto. Após o término da reação, a elaboração foi realizada da seguinte maneira, exceto quando especificado diferente, o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e o resíduo formado foi lavado com éter dietílico e seco a temperatura ambiente.

4.4.1 Síntese de 2-(4-hidroxibutan-2-ilideno)hidrazina-1-carbotioamida (**1a**)



Seguindo a metodologia geral da seção 4.4, solubilizou-se 4,38 mmol de tiossemicarbazida e 4,38 mmol de 4-hidroxi-2-butanona em 10 mL de etanol, após 4 horas de reação foram obtidos 658mg (93% de rendimento) do produto **1a**, na forma de um sólido amarelo. Condições utilizadas na CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), reveladores: vapor de iodo e solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina, seguido de aquecimento.

FM: C₅H₁₁N₃OS

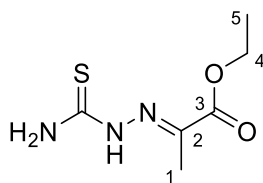
MM: 161,22 g/mol

FF: 102,3–103,7 °C. Lit.: 142 – 145°C (PRESCOTT, 1967)

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,4): 10,07 (0,4H, s, N-H'); 9,88 (1H, s, N-H); 8,00 (1,4H, s, 1x NH_2 e 1x NH_2'); 7,52 (0,4H, s, 1x NH_2'); 7,49 (1H, s, 1x NH_2); 5,18 (0,4H, t, $J_{\text{OH},4} = 6,0$ Hz, O-H'); 4,53 (1H, t, $J_{\text{OH},4} = 6,0$ Hz, O-H); 3,60 (2,8H, q, $J_{4,3} = J_{4,\text{OH}} = 6,0$ Hz, 2x H-4 e 2x H-4'); 2,46 (0,8H, t, $J_{3,4} = 6,0$ Hz, 2x H-3'); 2,35 (2H, t, $J_{3,4} = 6,0$ Hz, 2x H-3); 1,94 (1,2H, s, 3x H-1'); 1,89 (3H, s, 3x H-1).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 178,4 (C=S); 153,8 (C-2'); 152,8 (C-2); 58,0 e 57,8 (C-4 e C-4'); 41,6 (C-3); 34,2 (C-3'); 23,4 (C-1') e 16,6 (C-1).

4.4.2 Síntese de etil-2-(2-carbamotioilhidrazinoilideno)propanoato (**1b**)



1b

Seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.4, solubilizou-se 1,72 mmol de tiossemicarbazona e 1,72 mmol de piruvato de etila em 10 mL de metanol, após 3 horas de reação a temperatura ambiente foram obtidos 290 mg (97% de rendimento) do produto **1b**, na forma de um sólido branco. Condições utilizadas na CCD, eluente: acetato de etila/hexano (7:3), reveladores: vapor de iodo e solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina, seguido de aquecimento.

FM: $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$

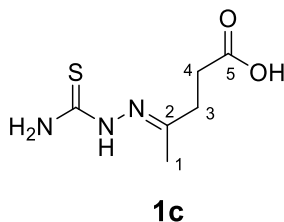
MM: 189,23 g/mol

FF: 139,6-140,6 °C. Lit.: 145°C (CORRÊA *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 10,57 (1H, s, N-H); 8,57 (1H, s, 1x NH_2); 7,58 (1H, s, 1x NH_2); 4,10 (2H, q, $J_{4,5} = 8$ Hz, 2x H-4); 2,01 (3H, s, 3x H-1); 1,16 (3H, t, $J_{5,4} = 8$ Hz, 3x H-5).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 179,9 (C=S); 164,2 (C-3); 139,0 (C-2); 61,1 (C-4); 14,0 (C-1); 13,0 (C-5).

4.4.3 Síntese do Ácido 4-(2-carbamotioilhidrazineilideno)pentanóico (**1c**)



Conforme metodologia geral descrita na seção 4.4, solubilizou-se 4,30 mmol de tiossemicarbazida e 4,30 mmol de ácido levulínico em 10 mL de metanol, após 3 horas de reação a temperatura ambiente foram obtidos 782 mg (96% de rendimento) de **1c**, na forma de um sólido branco. Condições utilizadas na CCD, eluente: acetato de etila, reveladores: vapor de iodo e solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina, seguido de aquecimento.

FM: C₆H₁₁N₃O₂S

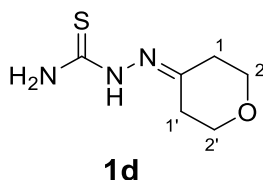
MM: 189,23 g/mol

FF: 182,5-183,4 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 9,98 (1H, s, N-H); 8,04 (1H, s, 1x NH₂); 7,27 (1H, s, 1x NH₂); 2,42-2,35 (4H, m, 2x H-3 e 2x H-4); 1,83 (3H, s, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 178,7 (C=S); 174,5 (C-5); 152,4 (C-2); 33,3 (C-3); 30,1 (C-4); 17,0 (C-1).

4.4.4 Síntese de 2-(tetrahydro-4H-piran-4-ilideno)hidrazina-1-carbotioamida (**1d**)



Conforme metodologia geral descrita na seção 4.4, solubilizou-se 0,99 mmol de tiossemicarbazida e 0,99 mmol de tetrahydro-4H-piran-4-ona em 10 mL de etanol, após 3 horas de reação a temperatura ambiente foram obtidos 155 mg da substância **1d** na forma de um sólido bege (89% de rendimento). Condições

utilizadas na CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), reveladores: vapor de iodo e solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina, seguido de aquecimento.

FM: C₆H₁₁N₃OS

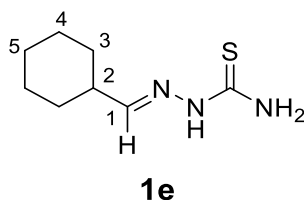
MM: 173,23 g/mol

FF: 162,6–163,3 °C. Lit.: 161–162 °C (HANSCHKE, 1955)

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 10,20 (1H, s, N-H); 7,95 (1H, s, 1x NH₂); 7,51 (1H, s, 1x NH₂); 3,65 (2H, t, J_{2,1} = 4 Hz, 2x H-2 ou 2x H-2'); 3,57 (2H, t, J_{2',1} = 4 Hz, 2x H-2 ou 2x H-2'); 2,47 (2H, t, J_{1,2} = 4 Hz, 2x H-1 ou 2x H-1'); 2,26 (2H, t, J_{1,2} = 4 Hz, 2x H-1 ou 2x H-1').

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 179,1 (C=S); 152,5 (C=N); 68,1 (C-2 ou C-2'); 66,4 (C-2 ou C-2'); 35,5 (C-1); 29,4 (C-1').

4.4.5 Síntese de 2-(ciclohexilmetileno) hidrazina-1-carbotioamida (**1e**)



Conforme metodologia geral descrita na seção 4.4, solubilizou-se 3,29 mmol de tiossemicarbazida e 3,29 mmol de ciclohexanocarboxialdeído em 10 mL de etanol, após 4 horas de reação foi constatado o consumo do material de partida por CCD, eluente: acetato de etila / hexano (8:2), reveladores: vapor de iodo e solução 2,4-dinitrofenilhidrazina, seguido de aquecimento. Ao término da reação o solvente foi eliminado em rotavapor e foram adicionados 15 mL de água destilada ao balão, sendo seu conteúdo transferido para o funil de separação, procedendo extração com acetato de etila (3x 20 mL). Posteriormente, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente eliminado sob pressão reduzida, resultando em um produto oleoso de coloração amarelo-claro. Após esfriamento a temperatura ambiente, o produto foi lavado com hexano, originando 500 mg (82% de rendimento) do produto **1e**, na forma de um sólido branco.

FM: C₈H₁₅N₃S

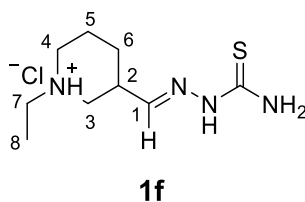
MM: 185,29 g/mol

FF: 80,0–81,5 °C;

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 10,23 (1H, s, N-H); 7,31 (1H, d, J_{1,2} = 4 Hz, H-1); 7,08 (1H, s, 1x NH₂); 6,70 (1H, s, 1x NH₂); 2,27-2,18 (1H, m, H-2); 1,83-1,65 (5H, m, 4x H-3, 1x H-4); 1,36-1,13 (5H, m, 3x H-4, 2x H-5).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 177,7 (C=S); 152,4 (C-1); 40,4 (C-2); 29,7 (C-3); 25,7 (C-4); 25,2 (C-5).

4.4.6 Síntese do cloridrato de 2 - ((1-etilpiperidin-3-il) metileno) hidrazina-1-carbotioamida (**1f**)



O produto foi sintetizado conforme a metodologia geral descrita na seção 4.4, solubilizou-se 1,42 mmol de tiossemicarbazida e 1,42 mmol de 1-etilpiperidina-3-carbaldeído em 10 mL de etanol, após 4 horas de reação foram obtidos 320 mg (90% de rendimento) de **1f**, na forma de um óleo amarelo. Condições utilizadas na CCD, eluente: acetato de etila/metanol (9:1), reveladores: vapor de iodo e solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina, seguido de aquecimento.

FM: C₉H₁₉ClN₄S

MM: 250,79 g/mol

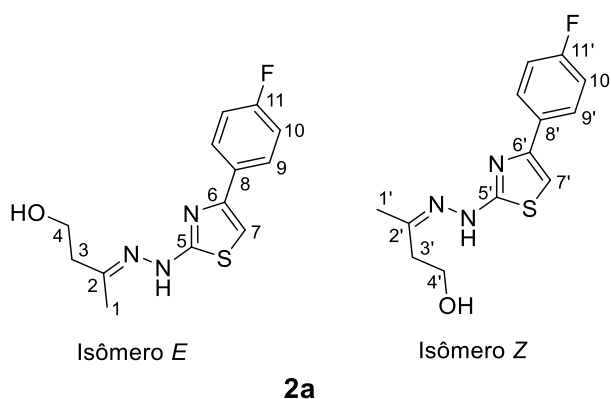
RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 11,17 (1H, s, N-H); 8,09 (1H, s, 1x NH₂); 7,67 (1H, s, 1x NH₂); 7,33 (1H, s, H-1); 3,60-3,55 (1H, m, 1x H-3); 3,40-2,70 (6H, m, 1x H-3, 2x H-4, 2x H-7 e H-2); 1,97-1,80 (3H, m, 1x H-5 e 2x H-6); 1,35-1,21 (4H, m, 1x H-5 e 3x H-8).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 178,3 (C=S); 145,9 (C-1); 52,8 (C-3); 51,8 (C-4); 51,3 (C-7); 36,4 (C-2); 26,5 (C-6); 22,3 (C-5); 9,2 (C-8).

4.5 Metodologia geral para síntese das tiazolilhidrazonas 2a – 2r

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 1 equivalente da tiossemicarbazona correspondente solubilizada em álcool isopropílico, foi adicionado 1 equivalente de α -bromoacetofenona substituída ou não na posição 4. O balão de reação foi acoplado a um condensador de reffluxo fechado com tubo de cloreto de cálcio e a mistura reacional foi mantida sob agitação magnética a temperatura de 80 °C. A reação foi monitorada por CCD, até constatar o consumo dos materiais de partida e formação do produto. Após o término da reação, a elaboração foi realizada da seguinte maneira, exceto quando especificado diferente: o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e foram adicionados 5 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio e a mistura resultante foi filtrada à vacuo, lavada com água destilada gelada e o sólido obtido foi deixado secar em recipiente aberto a temperatura ambiente.

4.5.1 Síntese de 3-(2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)hidrazineilideno)butan-1-ol (2a)



Seguindo a metodologia geral descrita na metodologia geral 4.5, solubilizou-se 0,93 mmol da tiossemicarbazona **1a** e 0,93 mmol de 2-bromo-4-fluoroacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, a duração da reação foi de 2 horas, monitorada por CCD,

eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação o solvente foi eliminado em rotavapor e foram adicionados 5 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio e 10 mL de água destilada ao balão, sendo seu conteúdo transferido para o funil de separação, procedendo extração com acetato de etila (3x 20 mL). Posteriormente, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente eliminado sob pressão reduzida, resultando em 120 mg (77% de rendimento) de **2a** na forma de um sólido com coloração marrom.

FM: C₁₃H₁₄FN₃OS

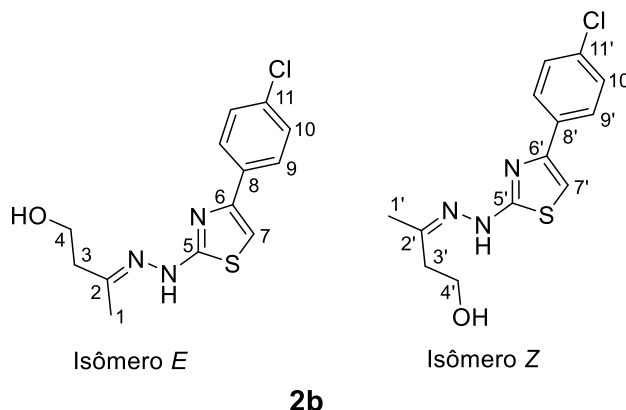
MM: 279,33 g/mol

FF: 110,7–111,5 °C

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,5): 7,73-7,67 (3H, m, 2x H-9 e 2x H-9'); 7,13-7,06 (3H, m, 2x H-10 e 2x H-10'); 6,72 (1H, s, H-7); 6,66 (0,5H, s, H-7'); 3,94-3,90 (3H, m, 2x H-4 e 2x H-4'); 2,70 (1H, t, *J*_{3,4} = 8 Hz, 2x H-3'); 2,57 (2H, t, *J*_{3,4} = 8 Hz, 2x H-3); 2,10 (1,5H, s, 3x H-1'); 2,01 (3H, s, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 169,6 (C-5 e C-5'); 159,1 (C-11 e C-11'); 154,8 (C-2 e C-2'); 145,9 (C-6 e C-6'); 142,3 (C-8 e C-8'); 127,5 (d, *J*_{C-9,F} = 8 Hz, 2x C-9 e 2x C-9'); 115,9 (d, *J*_{C-10,F} = 22 Hz, 2x C-10 e 2x C-10'); 101,9 (C-7 e C-7'); 59,0 (C-4); 58,9 (C-4'); 40,3 (C-3); 36,0 (C-3'); 23,5 (C-1'); 17,4 (C-1).

4.5.2 Síntese de 3-(2-(4-(4-clorofenil)tiazol-2-il)hidrazineilideno)butan-1-ol (**2b**)



Seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,62 mmol da tiossemicarbazona **1a** e 0,62 mmol de 2-bromo-4-cloroacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, após 2 horas de reação foram obtidos 147 mg (80% de rendimento) de **2b**, na forma de um sólido marrom. Condições utilizadas na CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo.

FM: C₁₃H₁₄ClN₃OS

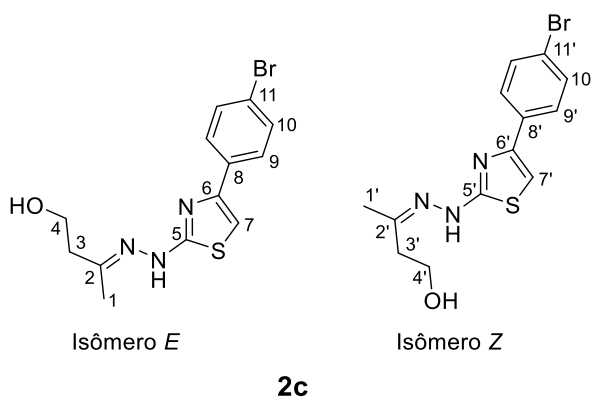
MM: 295,79 g/mol

FF: 130,9–131,8 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: 1:0,3): 7,86 (2,6H, d, *J*_{9,10} = 8 Hz, 2x H-9 e 2x H-9'); 7,48 (2,6H, d, *J*_{10,9} = 8 Hz, 2x H-10 e 2x H-10'); 7,33 (1,3H, s, H-7 e H-7'); 3,71-3,63 (2,6H, m, 2x H-4 e 2x H-4'); 2,57 (0,6H, t, *J*_{3,4} = 8 Hz, 2x H-3'); 2,43 (2H, t, *J*_{3,4} = 8 Hz, 2x H-3); 2,03 (0,9H, s, 3x H-1'); 1,97 (3H, s, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 170,0 (C-5 e C-5'); 152,8 (C-2 e C-2'); 147,6 (C-6 e C-6'); 132,8 (C-11 e C-11'); 132,1 (C-8 e C-8'); 128,6 (2x C-9 e 2x C-9'); 127,3 (2x C-10 e 2x C-10'); 104,4 (C-7 e C-7'); 58,4 (C-4) 57,5 (C-4'); 41,5 (C-3); 34,4 (C-3'); 23,3 (C-1'); 16,8 (C-1).

4.5.3 Síntese de 3-(2-(4-(4-bromofenil)tiazol-2-il)hidrazineilideno)butan-1-ol (**2c**)



Seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,93 mmol da tiossemicarbazona **1a** e 0,93 mmol de 2,4-dibromoacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, após 2 horas de reação foram obtidos 300 mg (95% de rendimento) do produto **2c**, na forma de um sólido marrom. Condições utilizadas na CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo.

FM: C₁₃H₁₄BrN₃OS

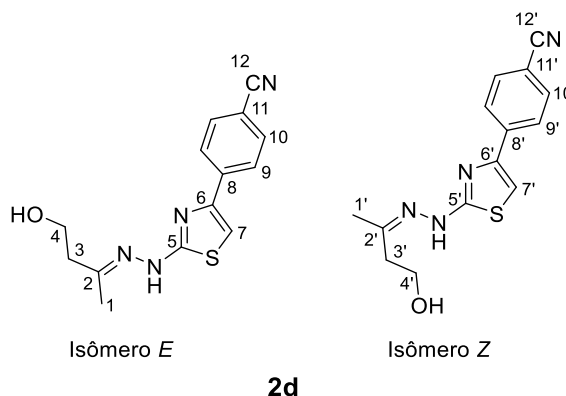
MM: 340,24 g/mol

FF: 60,1–61,0 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,4): 7,80 (2,8H, d, *J*_{9,10} = 8 Hz, 2x H-9 e 2x H-9'); 7,59 (2,8H, d, *J*_{10,9} = 8 Hz, 2x H-10 e 2x H-10'); 7,31 (1,4H, s, H-7 e H-7'); 3,70-3,62 (2,8H, m, 2x H-4 e 2x H-4'); 2,55 (0,8H, t, *J*_{3,4} = 8 Hz, 2x H-3'); 2,41 (2H, t, *J*_{3,4} = 8 Hz, 2x H-3); 2,00 (1,2H, s, 3x H-1'); 1,95 (3,1H, s, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 170,0 (C-5 e C-5'); 151,7 (C-2 e C-2'); 148,6 (C-6 e C-6'); 133,7 (C-8 e C-8'); 131,4 (2x C-9 e 2x C-9'); 127,5 (2x C-10 e 2x C-10'); 120,4 (C-11 e C-11'); 104,2 (C-7 e C-7'); 58,4 (C-4); 57,5 (C-4'); 41,4 (C-3); 34,2 (C-3'); 23,2 (C-1'); 16,6 (C-1).

4.5.4 Síntese de 4-(2-(2-(4-hidroxibutan-2-ilideno)hidrazineil)tiazol-4-il)benzonitrila (**2d**)



Seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,93 mmol da tiossemicarbazona **1a** e 0,93 mmol de 2-bromo-4-cianoacetofenona em 10 mL de

álcool isopropílico, após 2 horas de reação foram obtidos 260 mg (97% de rendimento) do produto **2d**, na forma de um sólido marrom. Condições utilizadas na CCD, eluente: acetato de etila / hexano (8:2), revelador: vapor de iodo.

FM: C₁₄H₁₄N₄OS

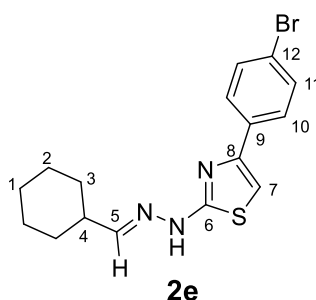
MM: 286,35 g/mol

FF: 126,2–128,2 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,2): 10,80 (1H, s, N-H); 8,01 (2,4H, d, *J*_{10,9} = 8 Hz, 2x H-10 e 2x H-10'); 7,83 (2,4H, d, *J*_{9,10} = 8 Hz, 2x H-9 e 2x H-9'); 7,51 (1,2H, s, H-7 e H-7'); 3,64 (2,4H, t, *J*_{4,3} = 8 Hz, 2x H-4 e 2x H-4'); 2,54 (0,3H, t, *J*_{3,4} = 8 Hz, 2x H-3'); 2,40 (2H, t, *J*_{3,4} = 8 Hz, 2x H-3); 1,97 (0,6H, s, 3x H-1'); 1,93 (2,9H, s, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 170,3 (C-5 e C-5'); 151,5 (C-2 e C-2'); 148,7 (C-6 e C-6'); 139,0 (C-8 e C-8'); 132,7 (2x C-10 e 2x C-10'); 126,1 (2x C-9 e 2x C-9'); 119,0 (C-12 e C-12'); 109,4 (C-11 e C-11') 107,2 (C-7 e C-7'); 58,5 (C-4 e C-4'); 41,5 (C-3 e C-3'); 16,6 (C-1 e C-1').

4.5.5 Síntese de 4-(4-bromofenil)-2-(2-(ciclohexilmetileno)hidrazinoil)tiazol (2e)



A síntese do composto **2e** foi realizada conforme metodologia geral da seção 4.5, em que solubilizou 0,65mmol da tiossemicarbazona **1e** e 0,65mmol de 2,4-dibromoacetofenona em 10mL de álcool isopropílico, a duração do processo reacional foi de 2 horas, obtendo-se como resultado 225mg (95% de rendimento) do produto **2e**, na forma de um sólido marrom. Condições utilizadas na CCD: acetato de etila / hexano (8:2), revelador: vapor de iodo.

FM: C₁₆H₁₈BrN₃S

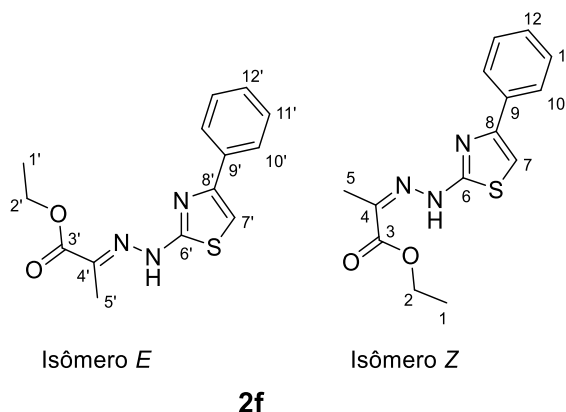
MM: 364,31 g/mol

FF: 168,0–169,2 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 11,55 (1H, s, N-H) 7,76 (2H, d, J_{10,11} = 8 Hz, 2x H-10); 7,56 (2H, d, J_{11,10} = 8 Hz, 2x H-11); 7,28 (1H, s, H-7); 7,26 (1H, d, J_{5,4} = 8 Hz, H-5); 2,25-2,16 (1H, m, H-4); 1,80-1,58 (5H, m, 1x H-2 e 4x H-3); 1,33-1,11 (5H, m, 2x H-1 e 3x H-2).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 168,7 (C-6); 149,6 (C-5); 149,1 (C-8); 134,0 (C-9); 131,4 (2x C-10); 127,4 (2x C-11); 120,3 (C-12); 103,8 (C-7); 39,8 (C-4); 29,8 (2x C-3); 25,5 (C-1); 24,9 (2x C-2).

4.5.6 Síntese de 2-(2-(4-feniltiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (2f)



O produto **2f** foi obtido conforme metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,56 mmol da tiossemicarbazona **1b** e 0,56 mmol de 2-bromoacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, a reação teve duração de 2 horas, sendo monitorada por CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação, o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e foram adicionados 10 mL de água destilada gelada ao balão, sendo a mistura filtrada à vacuo e o sólido obtido deixado secar em recipiente aberto a temperatura ambiente. Como resultado foram obtidos 151 mg (92% de rendimento) de **2f**, na forma de um sólido branco.

FM: C₁₄H₁₅N₃O₂S

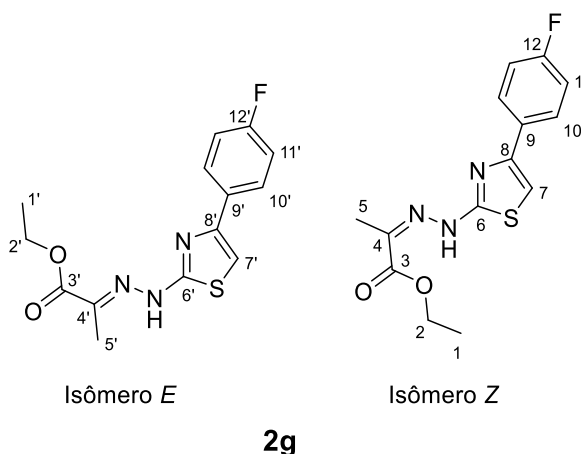
MM: 289,35 g/mol

FF: 158,5–159,6 °C. Lit.: 154 °C (DEHURI *et al.*, 1984)

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,5): 7,86 (2H, d, *J*_{10,11} = 8 Hz, 2x H-10 e 2x H-10'); 7,43-7,37 (3H, m, H-7 e H-7', 2x H-11 e 2x H-11'); 7,30 (1H, t, *J*_{12,11} = 8 Hz, 2x H-12 e 2x H-12'); 4,20 (2,3H, q, *J*_{2,1} = 8 Hz, 2x H-2 e 2x H-2'); 2,11 (3H, s, 3x H-5); 2,07 (1,5H, s, 3x H-5'); 1,26 (3H, t, *J*_{1,2} = 8 Hz, 3x H-1 e 3x H-1').

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 168,5 (C-6 e C-6'); 164,0 (C-3 e C-3'); 150,5 (C-8 e C-8'); 137,7 (C-4 e C-4'); 134,4 (C-9 e C-9'); 128,6 (2x C-10 e 2x C-10'); 127,6 (2x C-12 e 2x C-12'); 125,5 (C-11 e C-11') 105,6 (C-7 e C-7'); 60,8 (C-2 e C-2'); 30,6 (C-5'); 14,1 (C-5); 12,9 (C-1 e C-1').

4.5.7 Síntese de 2-(2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (2g)



A síntese do composto **2g** foi realizada conforme metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,54 mmol da tiossemicarbazona **1b** e 0,54 mmol de 2-bromo-4-fluoroacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, a duração da reação foi de 2 horas, sendo monitorada por CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação, o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e foram adicionados 10 mL de água destilada gelada ao balão, sendo a

mistura filtrada à vacuo e o sólido obtido deixado secar em recipiente aberto a temperatura ambiente. Deste modo, foram obtidos 159 mg (96% de rendimento) de **2g**, na forma de um sólido branco.

FM: C₁₄H₁₄FN₃O₂S

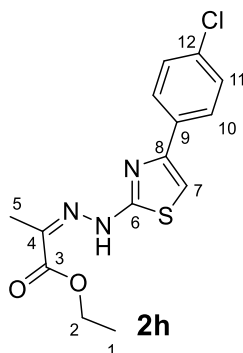
MM: 307,34 g/mol

FF: 160,2–161,3 °C

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,3): 7,80-7,70 (2,6H, m, 2x H-10 e 2x H-10'); 7,07 (2,6H, t, *J*_{11,F} = *J*_{11,10} = 8 Hz, 2x H-11 e 2x H-11'); 6,90 (1,3H, s, H-7 e H-7'); 4,31 (2,6H, q, *J*_{2,1} = 8 Hz, 2x H-2 e 2x H-2'); 2,18 (0,8H, s, 3x H-5'); 1,98 (3H, s, 3x H-5) 1,39-1,33 (3,9H, m, 3x H-1 e 3x H-1').

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 168,0 (C-6 e C-6'); 164,1 (C-3 e C-3'); 162,5 (d, *J*_{C-12,F} = 246 Hz, C-12 e C-12'); 150,5 (C-8 e C-8'); 137,9 (C-4 e C-4'); 130,6 (C-9 e C-9'); 127,5 (d, *J*_{C-10,F} = 8 Hz, 2x C-10 e 2x C-10') 115,6 (d, *J*_{C-11,F} = 22 Hz, 2x C-11 e 2x C-11'); 104,8 (C-7); 103,9 (C-7'); 61,6 (C-2) 61,4 (C-2'); 19,5 (C-5'); 14,1 (C-1); 14,0 (C-1'); 11,4 (C-5).

4.5.8 Síntese de 2-(2-(4-(4-clorofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (**2h**)



Seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,53 mmol da tiossemicarbazona **1b** e 0,53 mmol de 2-bromo-4-cloroacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, após 2 horas de reação, monitorada por CCD, eluente: acetato de etila / hexano (8:2), revelador: vapor de iodo, foi constatado o término da reação.

Em seguida, o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e foram adicionados 10 mL de água destilada gelada ao balão, sendo a mistura filtrada à vacuo e deixada secar em recipiente aberto a temperatura ambiente. Deste modo, foram obtidos 171 mg (98% de rendimento) de **2h**, na forma de um sólido beje.

FM: C₁₄H₁₄ClN₃O₂S

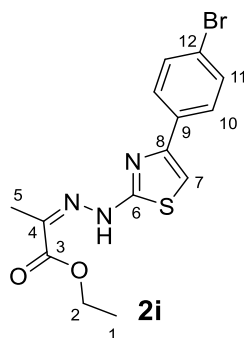
MM: 323,80 g/mol

FF: 142,8–143,7 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 7,87 (2H, d, *J*_{10,11} = 8 Hz, 2x H-10); 7,47-7,43 (3H, m, H-7 e 2x H-11); 4,19 (2H, q, *J*_{2,1} = 8 Hz, 2x H-2); 2,10 (3H, s, 3x H-5); 1,25 (3H, t, *J*_{1,2} = 8 Hz, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 168,7 (C-6); 164,0 (C-3); 149,4 (C-8); 137,9 (C-4); 133,3 (C-12); 132,1 (C-9); 128,7 (2x C-10); 127,3 (2x C-11); 106,5 (C-7); 60,9 (C-2); 14,1 (C-5); 13,0 (C-1).

4.5.9 Síntese de 2-(2-(4-(4-bromofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (**2i**)



A síntese da substância **2i** foi realizada seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,52 mmol da tiossemicarbazona **1b** e 0,52 mmol de 2-dibromoacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, o tempo de reação foi de 2 horas, sendo monitorada por CCD, eluente: acetato de etila / hexano (8:2), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação, o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e foram adicionados 10 mL de água destilada gelada ao balão, sendo a mistura filtrada à vacuo e deixada secar em recipiente aberto a temperatura

ambiente. Deste modo, foram obtidos 190 mg (98% de rendimento) de **2i**, na forma de um sólido beje.

FM: C₁₄H₁₄BrN₃O₂S

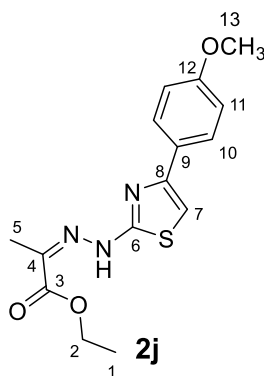
MM: 368,25 g/mol

FF: 145,0–146,1 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 7,82 (2H, d, *J*_{10,11} = 8 Hz, 2x H-10); 7,60 (2H, d, *J*_{11,10} = 8 Hz, 2x H-11); 7,49 (1H, s, H-7); 4,20 (2H, q, *J*_{2,1} = 8 Hz, 2x H-2); 2,11 (3H, s, 3x H-5); 1,26 (3H, t, *J*_{1,2} = 8 Hz, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 168,6 (C-6); 163,9 (C-3); 137,8 (C-4); 133,6 (C-8); 131,5 (2x C-10); 129,6 (C-9); 127,5 (2x C-11); 120,6 (C-12); 106,5 (C-7); 60,7 (C-2); 14,0 (C-5); 12,9 (C-1).

4.5.10 Síntese de 2-(2-(4-(4-metoxifenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (**2j**)



O produto **2j** foi obtido conforme metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,53 mmol da tiossemicarbazona **1b** e 0,53 mmol de 2-bromo-4-metoxiacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, o tempo de reação foi de 2 horas, sendo a reação monitorada por CCD, eluente: acetato de etila / hexano (8:2), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação, o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e foram adicionados 10 mL de água destilada gelada ao balão, sendo a mistura filtrada à vacuo e deixado secar em recipiente aberto a temperatura

ambiente. Como resultado foram obtidos 168mg (99% de rendimento) do produto, na forma de um sólido marrom.

FM: C₁₅H₁₇N₃O₃S

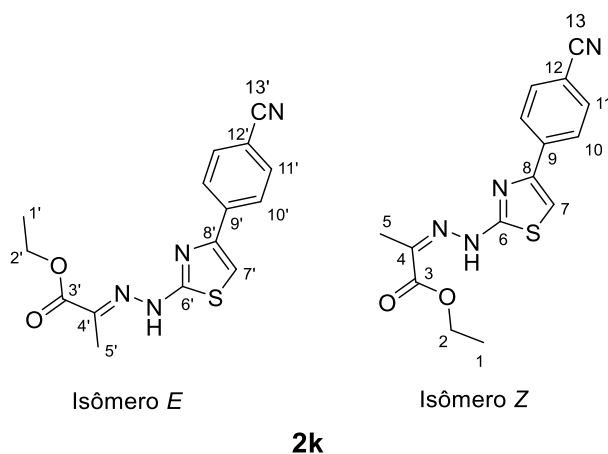
MM: 319,38 g/mol

FF: 96,0–97,1 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 7,79 (2H, d, *J*_{10,11} = 8 Hz, 2x H-10); 7,22 (1H, s, H-7); 6,96 (2H, d, *J*_{11,10} = 8 Hz, 2x H-11); 4,19 (2H, q, *J*_{2,1} = 8 Hz, 2x H-2); 3,77 (3H, s, 3x H-13); 2,10 (3H, s, 3x H-5); 1,25 (3H, t, *J*_{1,2} = 8 Hz, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 168,4 (C-6); 164,0 (C-3); 158,9 (C-12); 150,3 (C-8); 137,7 (C-4); 127,2 (C-9); 126,9 (2x C-10); 114,0 (2x C-11); 103,5 (C-7) 60,8 (C-2); 55,1 (C-13); 14,1 (C-5); 12,9 (C-1).

4.5.11 Síntese de 2-(2-(4-(4-cianofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) propanoato de etila (2k)



A síntese da substância **2k** foi realizada conforme metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,56 mmol da tiossemicarbazona **1b** e 0,56 mmol de 2-bromo-4-cianoacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, o tempo de reação foi de 2 horas, sendo a reação monitorada por CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação, o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e adicionados 10 mL de água destilada gelada ao balão, sendo a mistura filtrada à vacuo e deixada secar em recipiente aberto a temperatura

ambiente. Deste modo, foram obtidos 126 mg (71% de rendimento) do produto, na forma de um sólido amarelo claro.

FM: C₁₅H₁₄N₄O₂S

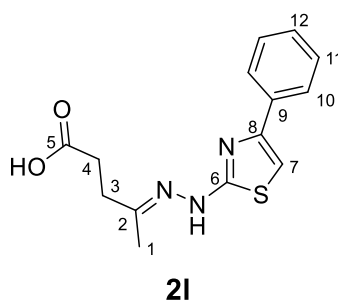
MM: 314,36 g/mol

FF: 155,0–156,7 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,25): 8,03 (2,5H, d, *J*_{11,10} = 8 Hz, 2x H-11 e 2x H-11'); 7,85 (2,5H, d, *J*_{10,11} = 8 Hz, 2x H-10 e 2x H-10'); 7,75 (0,25H, s, H-7'); 7,72 (1H, s, H-7); 4,26 (0,5H, q, *J*_{2,1} = 8 Hz, 2x H-2'); 4,19 (2H, q, *J*_{2,1} = 8 Hz, 2x H-2); 2,11 e 2,09 (3,75H, s, 3x H-5 e 3x H-5'); 1,31-1,23 (3,75H, m, 3x H-1 e 3x H-1').

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 168,8 (C-6 e C-6'); 167,2 (C-3 e C-3'); 163,9 (C-8 e C-8'); 148,9 (C-9 e C-9'); 138,5 (C-4 e C-4'); 132,7 (2x C-11 e 2x C-11'); 128,4 (C-13 e C-13'); 126,1 (2x C-10 e 2x C-10'); 118,9 (C-12 e C-12'); 109,4 (C-7 e C-7'); 61,6 (C-2'); 60,8 (C-2); 19,5 (C-5'); 14,1 (C-5); 13,8 (C-1'); 13,0 (C-1).

4.5.12 Síntese do ácido 4-(2-(4-feniltiazol-2-il)hidrazinoilideno) pentanóico (**2l**)



Seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,55 mmol da tiossemicarbazona **1c** e 0,55 mmol de 2-bromoacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, a reação teve duração de 2 horas, sendo monitorada por CCD, eluente: acetato de etila/hexano (9:1), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação houve a precipitação do produto que foi filtrado à vacuo, lavado com álcool isopropílico e mantido em recipiente aberto a temperatura ambiente para secagem. Deste modo,

foram obtidos 150 mg (94% de rendimento) do produto **2l**, na forma de um sólido branco.

FM: C₁₄H₁₅N₃O₂S

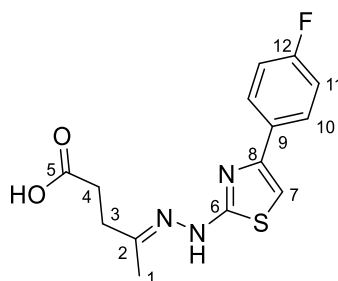
MM: 289,35 g/mol

FF: 170,2–171,1 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 7,85 (2H, d, *J*_{10,11} = 8 Hz, 2x H-10); 7,39 (2,1H, t, *J*_{11,10} = *J*_{11,12} = 8 Hz, 2x H-11); 7,28 (1H, t, *J*_{12,11} = 8 Hz, H-12); 7,24 (0,8H, s, H-7); 2,51 (4H, s, 2x H-3, 2x H-4); 1,95 (3H, s, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 173,8 (C-5); 170,3 (C-6); 150,7 (C-2); 150,2 (C-8); 134,9 (C-9); 128,5 (2x C-11); 127,3 (C-12); 125,4 (2x C-10); 103,4 (C-7); 32,7 (C-4); 29,8 (C-3); 17,0 (C-1).

4.5.13 Síntese do ácido 4-(2-(4-(4-fluorofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno)pentanóico (**2m**)



2m

A síntese do produto **2m** procedeu-se conforme a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,51 mmol da tiossemicarbazona **1c** e 0,51 mmol de 2-bromo-4-fluoroacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, após 2 horas foi constatado o fim da reação monitorada por CCD, eluente: acetato de etila/hexano (9:1), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação, houve a precipitação do produto que foi filtrado à vacuo, lavado com álcool isopropílico e mantido em recipiente aberto a temperatura ambiente para secagem. Deste modo, foram obtidos 140 mg (89% de rendimento) do produto, na forma de um sólido branco.

FM: C₁₄H₁₄FN₃O₂S

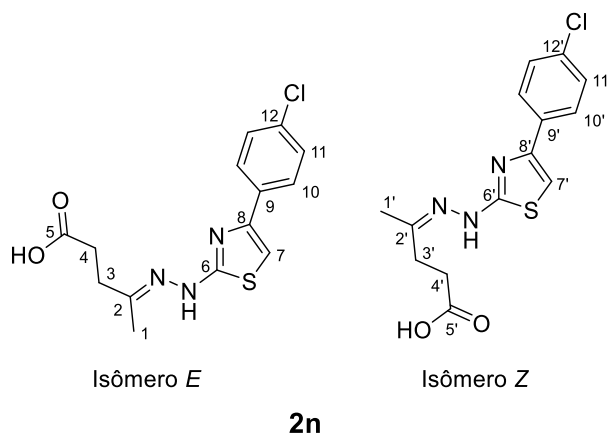
MM: 307,34 g/mol

FF: 205,0–205,7 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 7,88 (2H, dd, $J_{10,11} = 8$ Hz, $J_{10,F} = 4$ Hz, 2x H-10); 7,25-7,19 (3H, m, H-7 e 2x H-11); 2,51 (4H, s, 2x H-3, 2x H-4); 1,94 (3H, s, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 173,8 (C-5); 170,4 (C-6); 162,7 (d, $J_{C-12,F} = 233$ Hz, C-12); 150,6 (C-2); 149,3 (C-8); 131,6 (C-9); 127,4 (d, $J_{C-10,F} = 8$ Hz, 2x C-10); 115,3 (d, $J_{C-11,F} = 22$ Hz, 2x C-11); 103,2 (C-7); 32,7 (C-4); 29,8 (C-3); 17,0 (C-1).

4.5.14 Síntese do ácido 4-(2-(4-(4-clorofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno)pentanóico (2n)



O produto **2n** foi sintetizado seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,53 mmol da tiossemicarbazona **1c** e 0,53 mmol de 2-bromo-4-cloroacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, a reação teve duração de 2 horas, sendo monitorada por CCD, eluente: acetato de etila/hexano (9:1), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação houve a precipitação do produto que foi filtrado à vacuo, lavado com álcool isopropílico e mantido em recipiente aberto a temperatura ambiente para secagem. Deste modo, foram obtidos 165 mg (95% de rendimento) do produto, na forma de um sólido branco.

FM: C₁₄H₁₄ClN₃O₂S

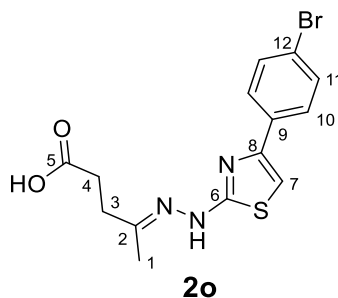
MM: 323,80 g/mol

FF: 191,6–192,5 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,5): 8,47 (1,2H, s, H-7); 8,07 (2H, d, *J*_{10,11} = 8 Hz, 2x H-10); 7,85 (1H, d, *J*_{10,11} = 8 Hz, 2x H-10'); 7,56 (2H, d, *J*_{11,10} = 8 Hz, 2x H-11); 7,50 (1H, d, *J*_{11,10} = 8 Hz, 2x H-11'); 2,70-2,40 (6H, m, 2x H-4, 2x H-4', 2x H-3 e 2x H-3'); 1,99 (1,5H, s, 3x H-1'); 1,78 (3H, s, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 175,8 (C-5 e C-5'); 173,7 (C-6 e C-6'); 153,4 (C-2 e C-2'); 133,3 (C-8 e C-8'); 132,1 (C-12 e C-12'); 129,0 (2x C-10 e 2x C-10'); 127,7 (2x C-11 e 2x C-11'); 118,7 (C-7 e C-7'); 104,5 (C-9 e C-9'); 32,7 (C-4'); 31,6 (C-4); 29,8 (C-3'); 27,5 (C-3); 23,1 (C-1); 17,4 (C-1').

4.5.15 Síntese do ácido 4-(2-(4-(4-bromofenil)tiazol-2-il) hidrazinoilideno) pentanóico (**2o**)



O produto **2o** foi sintetizado seguindo metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,50 mmol da tiossemicarbazona **1c** e 0,50 mmol de 2,4-dibromoacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, a reação teve duração de 2 horas e foi monitorada por CCD, eluente: acetato de etila / hexano (9:1), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação houve a precipitação do produto que foi filtrado à vácuo, lavado com álcool isopropílico e mantido em recipiente aberto a temperatura ambiente para secagem. Deste modo, foram obtidos 180 mg (98% de rendimento) do produto **2o**, na forma de um sólido branco.

FM: C₁₄H₁₄BrN₃O₂S

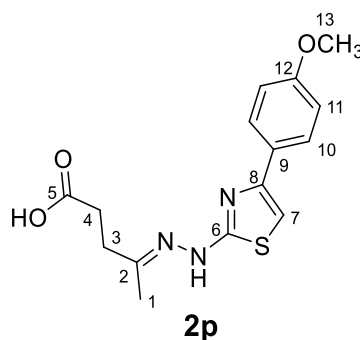
MM: 368,25 g/mol

FF: 201,2–202,1 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 7,80 (2H, d, *J*_{10,11} = 8 Hz, 2x H-10); 7,58 (2H, d, *J*_{11,10} = 8 Hz, 2x H-11); 7,32 (1H, s, H-7); 2,50 (4H, s, 2x H-3 e 2x H-4); 1,94 (3H, s, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 173,8 (C-5); 170,4 (C-6); 150,7 (C-2); 149,1 (C-8); 134,1 (C-9); 131,4 (2x C-10); 127,4 (2x C-11); 120,2 (C-12); 104,3 (C-7); 32,7 (C-4); 29,8 (C-3); 17,0 (C-1).

4.5.16 Síntese do ácido 4-(2-(4-(4-metoxifenil)tiazol-2-il) hidrazinoilideno) pentanóico (**2p**)



A síntese do produto **2p** procedeu-se conforme a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,53 mmol da tiossemicarbazona **1c** e 0,53 mmol de 2-bromo-4-metoxiacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, após 2 horas de reação foi constatado o consumo dos materiais de partida por meio de CCD, eluente: acetato de etila/hexano (9:1), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação houve a precipitação do produto que foi filtrado à vacuo, lavado com álcool isopropílico e mantido em recipiente aberto a temperatura ambiente para secagem. Deste modo, foram obtidos 155 mg (92% de rendimento) do produto, na forma de um sólido branco.

FM: C₁₅H₁₇N₃O₃S

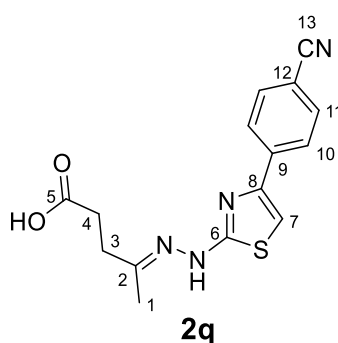
MM: 319,38 g/mol

FF: 169,3–170,9 °C

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 7,77 (2H, d, $J_{10,11} = 8$ Hz, 2x H-10); 7,08 (1H, s, H-7); 6,96 (2H, d, $J_{11,10} = 8$ Hz, 2x H-11); 3,78 (3H, s, 3x H-13); 2,51 (4H, m, 2x H-3 e 2x H-4); 1,94 (3H, s, 3x H-1).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 173,9 (C-5); 170,1 (C-6); 158,8 (C-12); 151,3 (C-2); 149,3 (C-8); 127,3 (C-9); 126,9 (2x C-10); 113,9 (2x C-11); 101,4 (C-7); 55,1 (C-13); 32,7 (C-4); 29,8 (C-3); 17,1 (C-1).

4.5.17 Síntese do ácido 4- (2-(4-(4-cianofenil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno) pentanóico (**2q**)



O produto **2q** foi sintetizado seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,54 mmol da tiossemicarbazona **1c** e 0,54 mmol de 2-bromo-4-cianoacetofenona em 10 mL de álcool isopropílico, a reação teve duração de 2 horas e foi monitorada por CCD, eluente: acetato de etila/hexano (9:1), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação houve a precipitação do produto que foi filtrado à vacuo, lavado com álcool isopropílico e mantido em recipiente aberto a temperatura ambiente para secagem. Deste modo, foram obtidos 159 mg (94% de rendimento) do produto, na forma de um sólido branco.

FM: $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$

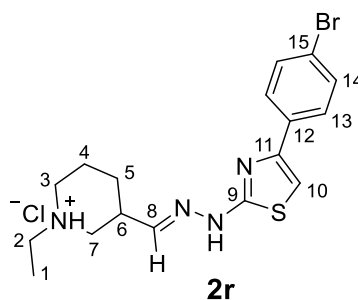
MM: 319,38 g/mol

FF: 217,6–218,3°C

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 8,03 (2H, d, $J_{11,10} = 8$ Hz, 2x H-11); 7,87 (2H, d, $J_{10,11} = 8$ Hz, 2x H-10); 7,58 (1H, s, H-7); 2,52 (4H, s, 2x H-3 e 2x H-4); 1,96 (3H, s, 3x H-1).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 174,2 (C-5); 171,0 (C-6); 152,2 (C-2); 148,5 (C-8); 139,1 (C-9); 133,1 (2x C-11); 126,5 (2x C-10); 119,4 (C-13); 109,9 (C-12); 107,9 (C-7); 33,1 (C-4); 30,2 (C-3); 17,6 (C-1).

4.5.18 Síntese do cloridrato de 4-(4-bromofenil)-2-((1-etilpiperidin-3-il metileno)hidrazinoil)tiazol (2r)



O produto **2r** foi sintetizado seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.5, solubilizou-se 0,43 mmol da tiossemicarbazona **1f** e 0,43 mmol de 2,4-dibromoacetofenona em 10 mL de etanol, após 2 horas de reação foram obtidos 110 mg (60% de rendimento) do produto, na forma de um sólido preto. Condições utilizadas para CCD, eluente: acetato de etila, revelador: vapor de iodo.

FM: $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{BrClN}_4\text{S}$

MM: 429,81 g/mol

FF: 82,5–83,9°C

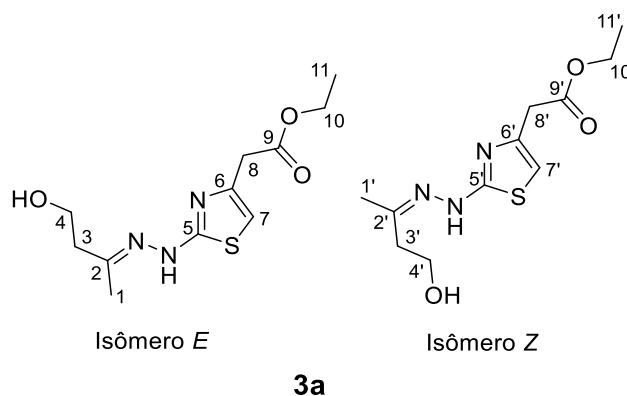
RMN de ^1H (400 MHz, acetona- d_6), δ /ppm: 7,81-7,78 (2H, m, 2x H-13); 7,56-7,51 (2H, m, 2x H-14); 7,38 (1H, m, H-8); 7,17 (1H, s, H-10); 3,62-3,55 (1H, m, 1x H-7); 2,92 (1H, d, $J_{7,6} = 12$ Hz, 1x H-7); 2,56-2,47 (1H, m, 1x H-3 ou 1x H-2); 2,43-2,36 (2H, m, 1x H-2 ou 1x H-3 e 1x H-3); 2,07-2,01 (2H, m, H-6 e 1x H-2); 1,87-1,50 (3H, m, 2x H-4 e 1x H-5); 1,16-1,09 (1H, m, 1x H-5); 1,08-1,02 (3H, m, 3x H-1).

RMN de ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6), δ/ppm : 169,6 (C-9); 150,5 (C-11); 148,0 (C-8); 135,1 (C-12); 132,1 (2x C-13); 128,2 (2x C-14); 121,3 (C-15); 104,2 (C-10); 57,1 (C-2); 53,8 (C-3 ou C-7); 53,0 (C-3 ou C-7); 39,8 (C-6); 25,0 (C-4); 18,6 (C-5); 12,2 (C-1).

4.6 Metodologia geral para síntese das tiazolilhidrazonas 3a – 3d

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 1 equivalente da tiossemicarbazona correspondente solubilizada em álcool isopropílico, foi adicionado 1 equivalente de 4-cloroacetoacetato de etila. O balão de reação foi acoplado a um condensador de refluxo fechado com tubo de cloreto de cálcio e a mistura reacional foi mantida sob agitação magnética a temperatura de 80°C. A reação foi monitorada por CCD, até constatar o consumo dos reagentes e formação do produto. Após o término da reação, a elaboração foi realizada da seguinte maneira, exceto quando especificado diferente: o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e adicionado 5 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio, seguido do acréscimo de 10 mL de água destilada à mistura obtida, que foi extraída com acetato de etila (3x 30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida.

4.6.1 Síntese de 2- (2-(2-(4-hidroxibutan-2-ilideno)hidrazinoil) tiazol-4-il) acetato de etila (3a)



Seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.6, solubilizou-se 0,62 mmol da tiossemicarbazona **1a** e 0,62 mmol de 4-cloroacetoacetato de etila em 10 mL de álcool isopropílico, após 2 horas de reação foram obtidos 152 mg (90% de rendimento) do produto **3a**, na forma de um óleo amarelo escuro. Condições utilizadas na CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo.

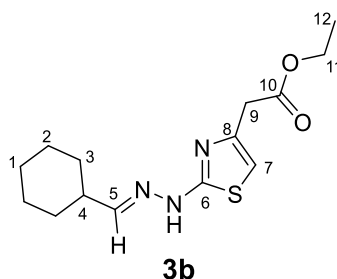
FM: C₁₁H₁₇N₃O₃S

MM: 271,34 g/mol

RMN de ¹H (400 MHz, acetona-d₆), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,4): 6,54 (1H, s, H-7 e H-7'); 4,17-4,08 (3,6H, m, 2x H-10, 2x H-10', 1x OH, 1x OH'); 3,91-3,78 (2,4H, m, 2x H-4 e 2x H-4'); 3,56 (2,4H, s, 2x H-8 e 2x H-8'); 2,09-1,99 (4,2H, m, 3x H-1 e 3x H-1'); 1,26-1,20 (4,2H, m, 3x H-11 e 3x H-11').

RMN de ¹³C (100 MHz, acetona-d₆), δ/ppm: 170,4 (C-5 e C-5'); 170,0 (C-9 e C-9'); 150,9 (C-2 e C-2'); 145,5 (C-6 e C-6'); 105,6 (C-7 e C-7'); 60,6 (C-4 e C-4' ou C-10 e C-10'); 59,6 (C-10 e C-10' ou C-4 e C-4'); 48,8 (C-3'); 41,8 (C-3); 37,5 (C-8 e C-8'); 24,6 (C-1'); 16,2 (C-1); 14,1 (C-11 e C-11').

4.6.2 Síntese 2-(2-(2-(ciclohexilmetileno)hidrazinoil) tiazol-4-il)acetato de etila (**3b**)



A síntese do produto **3b** ocorreu conforme a metodologia geral descrita na seção 4.6, solubilizou-se 0,53 mmol da tiossemicarbazona **1e** e 0,53 mmol de 4-cloroacetoacetato de etila em 10 mL de álcool isopropílico, a reação teve duração de 2 horas, sendo obtidos 144 mg (91% de rendimento) do produto **3b**, na forma de um sólido amarelo. Condições utilizadas para CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo.

FM: C₁₄H₂₁N₃O₂S

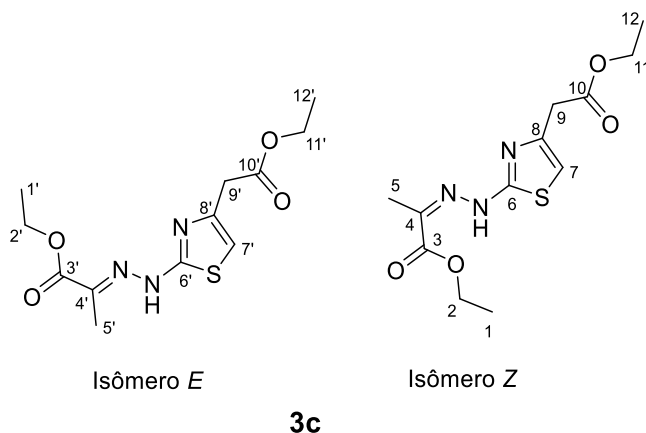
MM: 295,40 g/mol

FF: 110,5 – 111,6 °C

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 7,24 (1H, d, J_{5,4} = 8 Hz, H-5); 6,43 (1H, s, H-7); 4,17 (2H, q, J_{11,12} = 8 Hz, 2x H-11); 3,60 (2H, s, 2x H-9); 2,32-2,23 (1H, m, H-4); 1,86-1,65 (6H, m, 2x H-2 e 4x H-3); 1,30-1,23 (7H, m, 2x H-1, 2x H-2, 3x H-12).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 169,9 (C-6); 169,2 (C-10); 151,8 (C-5); 142,1 (C-8); 105,3 (C-7); 61,1 (C-11); 40,5 (C-4); 36,6 (C-9); 30,0 (2x C-3); 25,8 (C-1); 25,3 (2x C-2); 14,0 (C-12).

4.6.3 Síntese de 2-(2-(4-(2-etoxi-2-oxoetil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno)propanoato de etila (3c)



O produto **3c** foi sintetizado seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.6, solubilizou-se 0,52 mmol da tiossemicarbazona **1b** e 0,52 mmol de 4-cloroacetoacetato de etila em 10 mL de álcool isopropílico, a reação teve duração de 2 horas, sendo obtidos 110 mg (70% de rendimento) do produto, na forma de um óleo amarelo. Condições utilizadas para CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo.

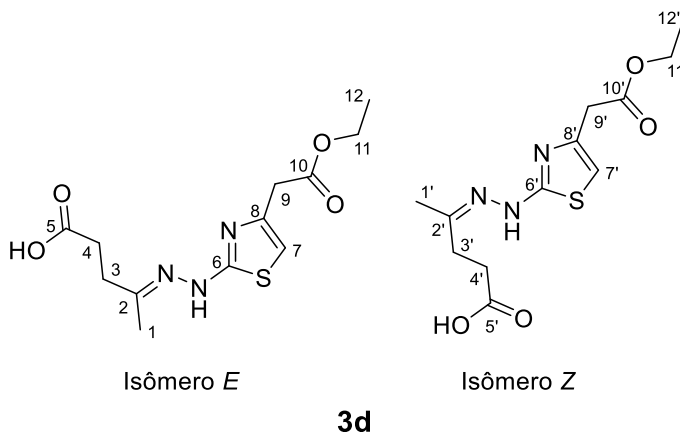
FM: C₁₂H₁₇N₃O₄S

MM: 299,35 g/mol

RMN de ^1H (400 MHz, acetona- d_6), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,15): 6,85 (1H, s, H-7); 6,80 (0,15H, s, H-7'); 4,27 (2,3H, q, $J_{2,1}$ ou $11,12$ = 8 Hz, 2x H-2 e 2x H-2' ou 2x H-11 e 2x H-11'); 4,15 (2,3H, q, $J_{2,1}$ ou $11,12$ = 8 Hz, 2x H-2 e 2x H-2' ou 2x H-11 e 2x H-11'); 3,71 (2H, s, 2x H-9); 3,65 (0,3H, s, 2x H-9'); 2,26 (3H, s, 3x H-5); 2,16 (0,5H, s, 3x H-5'); 1,32 (3,5H, t, $J_{1,2}$ ou $12,11$ = 8 Hz, 3x H-1 e 3x H-1' ou 3x H-12 e 3x H-12'); 1,24 (3,5H, t, $J_{1,2}$ ou $12,11$ = 8 Hz, 3x H-1 e 3x H-1' ou 3x H-12 e 3x H-12').

RMN de ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6), δ/ppm : 169,7 (C-6 e C-6'); 164,3 (C-10 e C-10' ou C-3 e C-3'); 164,4 (C-3 e C-3' ou C-10 e C-10'); 143,0 (C-8 e C-8'); 140,7 (C-4 e C-4'); 108,3 (C-7 e C-7'); 61,4 (C-2 e C-2' ou C-11 e C-11'); 60,9 (C-2 e C-2' ou C-11 e C-11'); 36,3 (C-9 e C-9'); 19,4 (C-5'); 14,0 (C-1 e C-1', C-12 e C-12'); 12,7 (C-5).

4.6.4 Síntese do ácido 4-(2-(4-(2-etoxi-2-oxoetil)tiazol-2-il)hidrazinoilideno)pentanóico (**3d**)



Seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.6, solubilizou-se 0,52 mmol da tiossemicarbazona **1c** e 0,52 mmol de 4-cloroacetoacetato de etila em 10 mL de álcool isopropílico, a reação teve duração de 2 horas, sendo monitorada por CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo. Durante a elaboração da reação não houve adição da solução saturada de bicarbonato de sódio, sendo mantido os demais procedimetos. Deste modo, foram obtidos 130 mg (82% de rendimento) do produto **3d**, na forma de um sólido amarelo claro.

FM: $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$

MM: 299,35 g/mol

FF: 119,8 – 120,9 °C

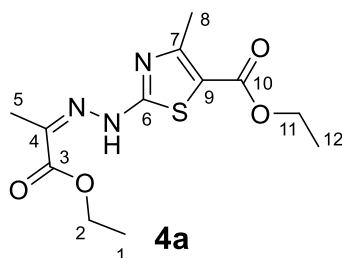
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm (mistura de isômeros *E/Z*: ~1:0,25): 6,61 (1H, s, H-7 e H-7'); 4,12-4,04 (2,5H, m, 2x H-11 e 2x H-11'); 3,60 (2,5H, s, H-9 e H-9'); 2,48 (5H, s, 2x H-3, 2x H-3', 2x H-4, 2x H-4'); 2,10 (0,8H, s, 3x H-1'); 1,92 (3H, s, 3x H-1); 1,22-1,15 (3,8H, m, 3x H-12 e 3x H-12').

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 173,8 (C-5 e C-5'); 173,7 (C-10 e C-10'); 169,8 (C-6 e C-6'); 105,6 (C-7 e C-7'); 60,3 (C-11 e C-11'); 37,5 (C-9 e C-9'); 32,7 (C-3 ou C-4 e C-4'); 29,8 (C-3 ou C-4 e C-4'); 27,7 (C-3'); 17,1 (C-1 e C-1'); 14,1 (C-12 e C-12').

4.7 Metodologia geral para síntese das tiazolilhidrazonas 4a – 4c

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 1 equivalente da tiossemicarbazona correspondente solubilizada em álcool isopropílico, foi adicionado 1 equivalente de 2-cloroacetoacetato de etila. O balão de reação foi acoplado a um condensador de refluxo fechado com tubo de cloreto de cálcio e a mistura reacional foi mantida sob agitação magnética a temperatura de 80°C. A reação foi monitorada por CCD, até constatar o consumo dos reagentes e formação do produto. Após o término da reação, a elaboração foi realizada da seguinte maneira, exceto quando especificado diferente: o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e adicionado 5 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio e 10 mL de água destilada à mistura obtida, sendo a mistura filtrada à vacuo, lavada com água destilada gelada e o resíduo obtido mantido em recipiente aberto a temperatura ambiente para secagem.

4.7.1 Síntese de 2-(2-(1-etoxi-1-oxopropan-2-ilideno)hidrazinoil)-4-metiltiazol-5-carboxilato de etila (**4a**)



Seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.7, solubilizou-se 0,52 mmol da tiossemicarbazona **1b** e 0,52 mmol de 2-cloroacetoacetato de etila em 10 mL de álcool isopropílico, após 2 horas de reação foram obtidos 95 mg (60% de rendimento) do produto **4a**, na forma de um sólido verde. Condições utilizadas pra CCD, eluente: acetato de etila / hexano (8:2), revelador: vapor de iodo.

FM: C₁₂H₁₇N₃O₄S

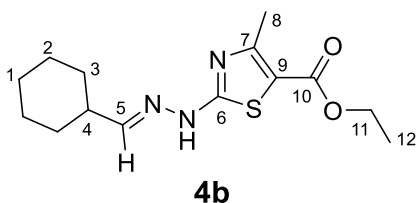
MM: 299,35 g/mol

FF: 126,3–127,6 °C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 4,17-4,07 (4H, m, 2x H-2 e 2x H-11); 2,37 (3H, s, 3x H-8); 1,99 (3H, s, 3x H-5); 1,26-1,18 (6H, m, 3x H-1 e 3x H-12).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 178,8 (C-6); 165,9 (C-3); 162,5 (C-10); 159,2 (C-7); 137,0 (C-4); 106,1 (C-9); 59,9 (C-2 ou C-11); 59,3 (C-2 ou C-11); 17,5 (C-5); 14,4 (C-8); 13,2 (C-1 e C-12).

4.7.2 Síntese de 2-(2-(ciclohexilmetileno)hidrazinoil)-4-metiltiazol-5-carboxilato de etila (**4b**)



A síntese da substância **4b** ocorreu conforme a metodologia geral descrita na seção 4.7, solubilizou-se 0,51 mmol da tiossemicarbazona **1e** e 0,51 mmol de 2-cloroacetoacetato de etila em 10 mL de álcool isopropílico, após 2 horas de reação foram obtidos 130 mg (85% de rendimento) do produto, na forma de um sólido branco. Condições utilizadas para CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo.

FM: C₁₄H₂₁N₃O₂S

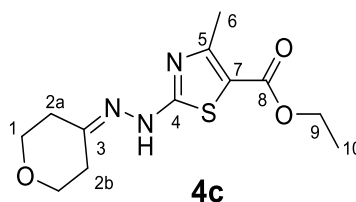
MM: 295,40 g/mol

FF: 159,1–160,6 °C

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 7,21 (1H, d, J_{5,4} = 4 Hz, H-5); 4,28 (2H, q, J_{11,12} = 8 Hz, 2x H-11); 2,54 (3H, s, 3x H-8); 2,33-2,24 (1H, m, H-4); 1,89-1,66 (5H, m, 1x H-1 e 4x H-3); 1,37-1,23 (8H, m, 1x H-1, 4x H-2, e 3x H-12).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 170,9 (C-6); 162,7 (C-10); 157,5 (C-7); 152,5 (C-5); 110,5 (C-9); 60,4 (C-11); 40,6 (C-4); 30,1 (2x C-3); 25,8 (C-1); 25,3 (2x C-2); 17,3 (C-8); 14,3 (C-12).

4.7.3 Síntese de 4-metil-2-(2-(tetrahydro-4H-piran-4-ilideno)hidrazinoil)tiazol-5-carboxilato de etila (**4c**)



O produto **4c** foi sintetizado seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.7, solubilizou-se 0,57 mmol da tiossemicarbazona **1d** e 0,57 mmol de 2-cloroacetoacetato de etila em 10 mL de álcool isopropílico, a duração da reação foi de 2 horas, sendo por CCD, eluente: acetato de etila/hexano (8:2), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação, o solvente foi eliminado em rotavapor e foram adicionados 5 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio e 10 mL de água destilada ao balão, sendo seu conteúdo transferido para o funil de separação,

procedendo extração com acetato de etila (3x 20 mL). Posteriormente, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente eliminado sob pressão reduzida, resultando em 138 mg (85% de rendimento) do produto na forma de um sólido com coloração alaranjada.

FM: $C_{12}H_{17}N_3O_3S$

MM: 283,35 g/mol

FF: 97,0 – 98,7 °C

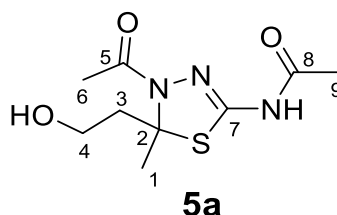
RMN de 1H (400 MHz, acetona- d_6), δ /ppm: 4,26 (2H, q, $J_{9,10} = 8$ Hz, 2x H-9); 3,82 (1H, t, $J_{1,2} = 8$ Hz, 2x H-1); 3,78 (1H, t, $J_{1,2} = 8$ Hz, 2x H-1); 2,71 (1H, t, $J_{2,1} = 8$ Hz, 2x H-2); 2,52-2,45 (4H, m, 2x H-2 e 3x H-6); 1,32 (3H, t, $J_{10,9} = 8$ Hz, 3x H-10).

RMN de ^{13}C (100 MHz, acetona- d_6), δ /ppm: 170,1 (C-4); 162,3 (C-8); 156,1 (C-5); 155,2 (C-3); 110,2 (C-7); 68,5 (C-1); 66,8 (C-1); 60,9 (C-9); 35,7 (C-2); 29,9 (C-2); 16,1 (C-6); 14,4 (C-10).

4.8 Metodologia geral para síntese dos compostos tiadiazolínicos 5a e 5b

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 1 equivalente da tiossemicarbazona correspondente, foram adicionados 5 equivalentes de anidrido acético. O balão de reação foi acoplado a um condensador de refluxo fechado com tubo de cloreto de cálcio e a mistura reacional foi mantida sob agitação magnética a temperatura de 90°C. A reação foi monitorada por CCD, até constatar o consumo dos reagentes e formação do produto. Após o término da reação, a elaboração foi realizada da seguinte maneira, exceto quando especificado diferente: foram adicionados 15 mL de água destilada à mistura reacional ocorrendo a precipitação do produto que foi filtrado à vacuo e lavado com éter de petróleo.

4.8.1 Síntese de *N*-(4-acetil-5-(2-hidroxietil)-5-metil-4,5-di-hidro-1,3,4-tiadiazol-2-il)acetamida (**5a**)



Seguindo a metodologia geral descrita na seção 4.8, solubilizou-se 1,24 mmol da tiossemicarbazona **1a** em 6,20 mmol de anidrido acético, o tempo da reação para síntese do produto **5a** foi de 1 hora e 30 minutos, sendo a reação monitorada por CCD, eluente: acetato de etila/hexano (9:1), revelador: vapor de iodo. Ao término da reação, foram adicionados 5 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio e 10mL de água destilada ao balão, sendo seu conteúdo transferido para um funil de separação, procedendo extração com acetato de etila (3x 20 mL). Posteriormente, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente eliminado sob pressão reduzida, resultando em 183 mg (60% de rendimento) do produto na forma de um óleo amarelo. Resquícios de anidrido acético pode ser observado no espectro de RMN do produto.

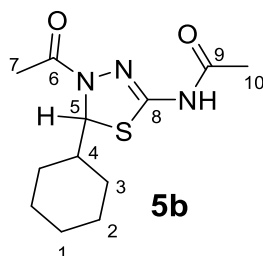
FM: C₉H₁₅N₃O₃S

MM: 245,30 g/mol

RMN de ¹H (400 MHz, acetone-d₆), δ/ppm: 10,44 (1H, s, N-H); 4,34 (1H, s, 1x H-4); 4,13 (1H, s, 1x H-4); 2,93-2,90 (1H, m, 1x H-3); 2,31-2,25 (1H, m, 1x H-3), 2,22-2,09 (6H, m, 3x H-6 e 3x H-9), 2,01-1,94 (3H, m, 3x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, acetone-d₆), δ/ppm: 170,5 (C-5 ou C-8); 169,3 (C-5 ou C-8); 142,9 (C-7); 78,6 (C-2); 61,3 (C-4); 37,8 (C-3); 28,4 (C-1); 23,7 (C-6 ou C-9); 20,4 (C-6 ou C-9).

4.8.2 Síntese de *N*- (4-acetil-5-ciclohexil-4,5-di-hidro-1,3,4-tiadiazol-2-il) acetamida (**5b**)



A substância **5b** foi sintetizada conforme a metodologia geral descrita na seção 4.8, solubilizou-se 1,07 mmol da tiossemicarbazona **1e** em 5,39 mmol de anidrido acético, após 2 horas de reação foram obtidos 250 mg (86% de rendimento) do produto, na forma de um sólido branco. Condições utilizadas para CCD, eluente: acetato de etila / hexano (9:1), revelador: vapor de iodo.

FM: C₁₂H₁₉N₃O₂S

MM: 269,36 g/mol

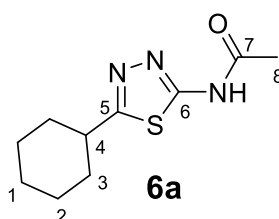
FF: 227,3 – 228,2°C

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 11,56 (1H, s, N-H); 5,75 (1H, d, J_{5,4} = 4 Hz, H-5); 2,12 (3H, s, 3x H-7); 2,03 (3H, s, 3x H-10); 1,88-1,78 (1H, m, 1x H-4); 1,73-1,50 (4H, m, 4x H-3); 1,48-1,40 (1H, m, 1x H-1); 1,20-1,02 (4H, m, 4x H-2), 0,99-0,88 (1H, m, 1x H-1).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 169,2 (C-6 ou C-9); 167,7 (C-6 ou C-9); 147,1 (C-8); 69,7 (C-5); 41,9 (C-4); 27,3 e 25,7 (2x C-3); 25,3 e 25,2 (2x C-2); 24,9 (C-1); 22,6 (C-7); 21,8 (C-10).

4.9 Metodologia para síntese de *N*- (5-ciclohexil-1,3,4-tiadiazol-2-il) acetamida (**6a**)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 1,51 mmol da substância **5b** solubilizada em 9,10 mmol de ácido acético, foram adicionados em porções, 3,02 mmol de permanganato de potássio (KMnO₄). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética, em banho de gelo, a temperatura de 0 °C por 1 hora. Em seguida, foi acrescentado à mistura reacional 1,66 mmol de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e 10 mL de água destilada, sendo a reação mantida sob agitação em temperatura ambiente por 16 horas. A reação foi monitorada por CCD, eluente: acetato de etila, revelador: vapor de iodo, até constatar o consumo dos reagentes e formação do produto. Ao término da reação, houve a precipitação do produto que foi filtrado à vacuo e lavado com água destilada gelada, sendo o produto mantido em recipiente aberto para secagem a temperatura ambiente. Desta forma, foram obtidos 120 mg de um sólido branco com 35% de rendimento.



FM: C₁₀H₁₅N₃OS

MM: 225,31 g/mol

FF: 202,1–202,9 °C

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 13,42 (1H, s, N-H); 3,08 (1H, tt, *J*_{4,3axial} = 12 Hz, *J*_{4,3equatorial} = 4 Hz, H-4); 2,48 (3H, s, 3x H-8); 2,16-2,11 (2H, m, 2x H-3); 1,89-1,72 (2H, m, 2x H-3); 1,79-1,73 (1H, m, H-1); 1,63-1,25 (5H, m, H-1 e 4x H-2).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 170,3 (C-6); 168,8 (C-7); 160,0 (C-5); 39,6 (C-4); 33,5 (2x C-3); 25,8 (2x C-2); 25,6 (C-1); 23,1 (C-8).

4.10 Avaliação da atividade antifúngica

A atividade antifúngica dos compostos sintetizados foi avaliada por meio da determinação da concentração inibitória mínima (MIC), realizada sob coordenação da Professora Susana Johann do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG.

A realização dos ensaios *in vitro* foram baseados nas diretrizes preconizadas pelo CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) – M27 A3 (WAYNE, 2008). Para a realização do experimento que ocorreu em duplicata, as espécies fúngicas de *C. albicans* ATCC18804, *C. parapsilosis* ATCC22019, *C. krusei* ATCC20298, *C. tropicalis* ATCC750, *C. glabrata* ATCC2001, *C. auris* (CBS 10913), *C. neoformans* ATCC24067 e *C. gatti* ATCC24065; foram utilizadas na avaliação do potencial antifúngico dos novos derivados azólicos sintetizados. Neste processo, as leveduras foram previamente crescidas em ágar Sabourad e ressuspensas em solução salina (0,9%), sendo a concentração fúngica ajustada em 5×10^3 ufc/mL com auxílio de um espectrofotômetro.

Em seguida, as substâncias a serem testadas foram solubilizadas em *N,N*-dimetilsulfoxido (DMSO) ocorrendo sucessivas diluições no intervalo de concentração de 125 - 0,12 μ M. Este procedimento foi realizado em placas de 96 poços acrescidas com 100 μ L de meio RPMI (Meio do Instituto Roswell Park Memorial). As diluições seriadas ocorreram de modo que, a cada etapa, as concentrações iniciais eram reduzidas pela metade até atingir a concentração mínima de 0,12 μ M. Na sequência, foram acrescentados 100 μ L da suspensão fúngica em cada um dos poços. Por fim, as placas foram encubadas em estufa a 37°C por 24 horas e os resultados avaliados por leitura visual, sendo o MIC determinado como a menor concentração da substância em que não houve crescimento fúngico.

Além disso, com o objetivo de atestar a esterilidade do meio, as placas foram preenchidas apenas com o meio RPMI, no controle negativo do teste. Por outro lado, no controle positivo utilizou-se o meio RPMI acrescido do fungo, sem os compostos. Além do mais, o fluconazol foi utilizado como fármaco padrão, por ser um princípio ativo bem estabelecido na terapêutica antifúngica, permitindo instituir critérios comparativos de potência com os compostos sintetizados.

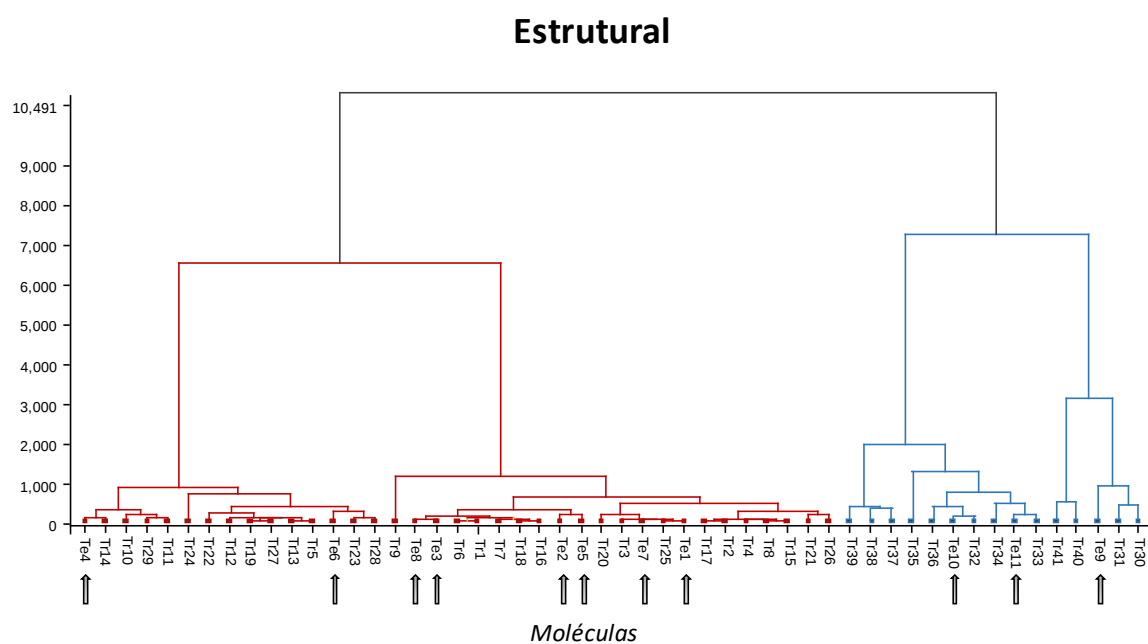
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 HQSAR

5.1.1 Seleção dos conjuntos teste e treinamento

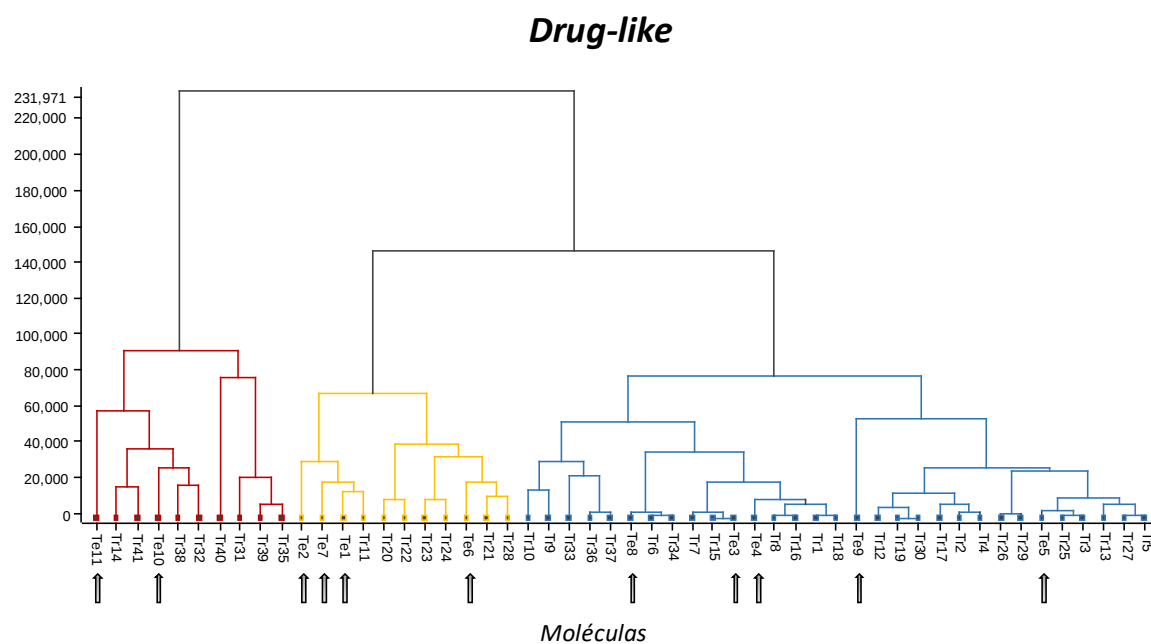
O processo de seleção do conjunto teste e treinamento ocorreram com base nos resultados provenientes das análises correlacionadas aos parâmetros estruturais, *drug-like* e biológicos do conjunto inicial de moléculas oriundas de publicações do nosso grupo de pesquisa. As informações provenientes dessa análise foram organizadas pela técnica de *cluster* hierárquico (HCA) mediante a construção de dendrogramas. Deste modo, o programa reuniu as estruturas em grupos, cuja disposição das moléculas reflete a similaridade hierárquica das estruturas por proximidade, de modo que a distinção de cada composto aumenta com o distanciamento, como mostrado nas **Figuras 27, 28 e 29**.

Figura 27 – Dendrograma gerados pelo cluster hierárquico para análise dos parâmetros estruturais do conjunto geral de moléculas



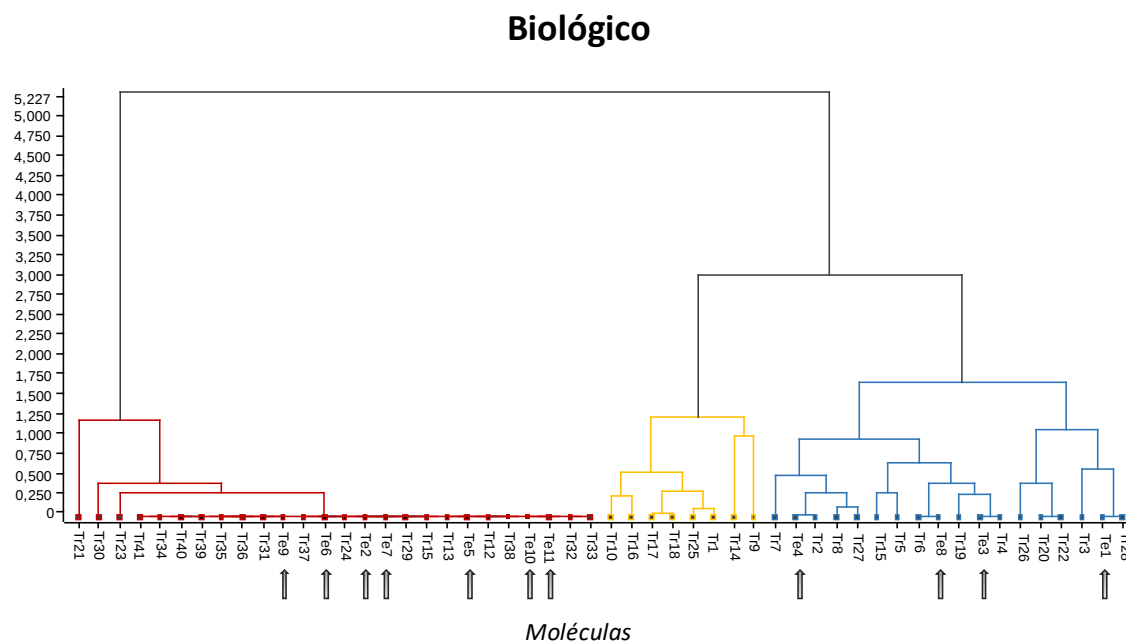
Fonte: Autor, 2021.

Figura 28 – Dendrograma gerado pelo cluster hierárquico para análise dos parâmetros drug-like do conjunto geral de moléculas



Fonte: Autor, 2021.

Figura 29 – Dendrograma gerado pelo cluster hierárquico para análise dos parâmetros biológicos do conjunto geral de moléculas



Fonte: Autor, 2021.

Com base nas informações proporcionadas pelo *cluster* hierárquico, foram selecionadas, utilizando a plataforma “*KNIME Analytics Platform*” (KNIME SOFTWARE, 2019), amostras de cada um dos agrupamentos, para obter 20% das estruturas que possuam uma melhor representatividade do conjunto de dados, para compor o conjunto teste. Deste modo, os 80% das estruturas restantes foram destinados à formação do conjunto treinamento, conforme mostrado nas **Figuras 30 e 31**.

Figura 30 – Conjunto treinamento composto por 41 moléculas testadas contra *C. neoformans*, *C. gatti* e 30 avaliadas contra *C. albicans*, e seus respectivos valores de pMIC

pMIC (-Log da Concentração Inibitória Mínima)

Moléculas *C. neoformans* *C. gatti* *C. albicans*

Tr1	6,046	6,046	ND
Tr2	5,710	6,013	5,409
Tr3	4,806	5,409	5,409
Tr4	5,409	6,013	5,409
Tr5	5,721	5,409	ND
Tr6	5,721	5,721	5,409
Tr7	5,409	6,319	5,710
Tr8	5,721	6,046	5,721
Tr9	6,921	6,921	5,710
Tr10	6,347	6,046	ND
Tr11	3,602	3,602	ND
Tr12	3,602	3,602	ND
Tr13	3,602	3,602	ND
Tr14	6,620	6,620	6,620
Tr15	5,409	5,409	5,409
Tr16	6,319	6,319	6,319
Tr17	6,046	6,347	6,046
Tr18	6,013	6,319	6,013
Tr19	5,409	5,721	5,409
Tr20	5,108	5,108	ND
Tr21	4,693	4,090	3,602
Tr22	5,108	5,108	ND
Tr23	3,602	3,903	3,602
Tr24	3,602	3,602	3,602
Tr25	6,125	6,125	5,824
Tr26	5,409	5,409	4,506
Tr27	5,824	6,119	ND
Tr28	4,807	4,807	ND
Tr29	3,602	3,602	ND
Tr30	3,903	3,602	3,602
Tr31	3,602	3,602	3,602
Tr32	3,602	3,602	3,602
Tr33	3,602	3,602	3,602
Tr34	3,602	3,602	3,602
Tr35	3,602	3,602	3,602
Tr36	3,602	3,602	3,602
Tr37	3,602	3,602	3,602
Tr38	3,602	3,602	3,602
Tr39	3,602	3,602	3,602
Tr40	3,602	3,602	3,602
Tr41	3,602	3,602	3,602

ND: Não determinado

Tr1: R₁ = H R₂ =

Tr2: R₁ = F R₂ =

Tr3: R₁ = Cl R₂ =

Tr4: R₁ = CH₃ R₂ =

Tr5: R₁ = OCH₃ R₂ =

Tr6: R₁ = H R₂ =

Tr7: R₁ = F R₂ =

Tr8: R₁ = Cl R₂ =

Tr9: R₁ = CN R₂ =

Tr10: R₁ = OCH₃ R₂ =

Tr11: R₁ = OCH₃ R₂ =

Tr12: R₁ = OCH₃ R₂ =

Tr13: R₁ = OCH₃ R₂ =

Tr14: R₁ = OCH₃ R₂ = H₂

Tr15: R₁ = H R₂ =

Tr16: R₁ = F R₂ =

Tr17: R₁ = Cl R₂ =

Tr18: R₁ = CH₃ R₂ =

Tr19: R₁ = OCH₃ R₂ =

Tr20: R₁ = Cl R₂ =

Tr21: R₁ = CN R₂ =

Tr22: R₁ = OCH₃ R₂ =

Tr23: R₁ = Cl R₂ =

Tr24: R₁ = OCH₃ R₂ =

Tr25: R₁ = Cl R₂ =

Tr26: R₁ = CN R₂ =

Tr27: R₁ = OCH₃ R₂ =

Tr28: R₁ = Cl R₂ =

Tr29: R₁ = OCH₃ R₂ =

Tr30: R₁ = Cl R₂ =

Tr31: R₁ = Cl R₂ =

Tr32: R₁ = CH₃ R₂ =

Tr33: R₁ = NO₂ R₂ =

Tr34: R₁ = CH₃ R₂ =

Tr35: R₁ = CH₃ R₂ =

Tr36: R₁ = NO₂ R₂ =

Tr37: R₁ = H R₂ =

Tr38: R₁ =

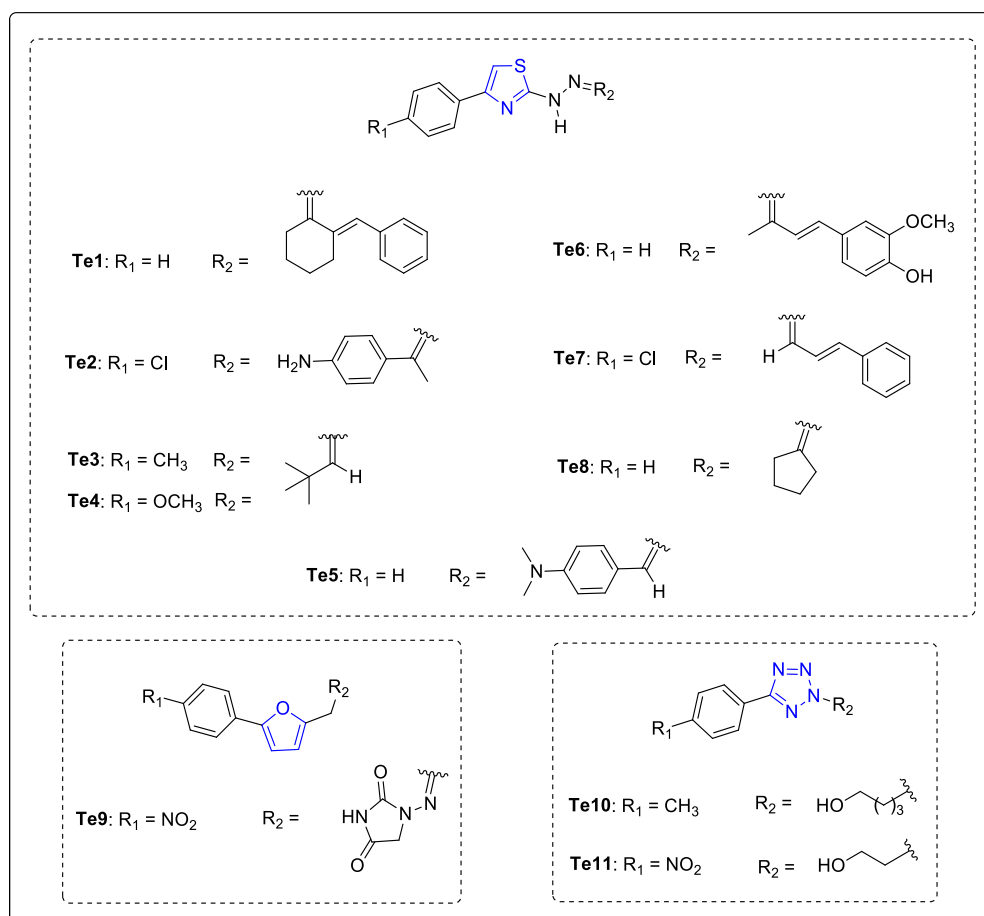
Tr39: R₁ =

Tr40: R₁ = CH₃

Tr41: R₁ = NO₂

Fonte: Autor, 2021.

Figura 31 – Conjunto teste composto por 11 moléculas testadas contra *C. neoformans*, *C. gatti* e 8 avaliadas contra *C. albicans*, e seus respectivos valores de pMIC



<i>pMIC</i> (-Log da Concentração Inibitória Mínima)			
Moléculas	<i>C. neoformans</i>	<i>C. gatti</i>	<i>C. albicans</i>
Te1	4,807	4,807	ND
Te2	3,602	3,602	3,602
Te3	5,409	6,013	5,409
Te4	5,721	6,046	5,409
Te5	3,602	3,602	ND
Te6	3,602	3,602	3,602
Te7	3,602	3,602	3,602
Te8	5,721	5,721	ND
Te9	3,602	3,602	3,602
Te10	3,602	3,602	3,602
Te11	3,602	3,602	3,602

ND: Não determinado

Fonte: Autor, 2021.

5.1.2 Construção e validação dos modelos de HQSAR

A partir do conjunto treinamento foram construídos 32 modelos de HQSAR para cada espécie fúngica (Apêndice A1), por meio da combinação dos parâmetros físico-químicos A, B, C, Ch, HA e DA, associados à manutenção do comprimento dos fragmentos estabelecido entre 4 a 7 átomos. Deste modo, os melhores modelos foram identificados com base nos valores mais elevados de (q^2) e estão dispostos nas **Tabela 4 – 6**.

Tabela 4 – Principais resultados de validação interna dos modelos de HQSAR gerados para a espécie de *C. albicans* com tamanho de fragmento de 4 a 7 átomos

Modelos HQSAR (<i>C. albicans</i>)								
Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP
1	A	4 a 7	0,828	0,512	0,929	0,329	59	6
2	A, B	4 a 7	0,816	0,498	0,908	0,353	199	3
7	A,B,C	4 a 7	0,819	0,495	0,909	0,351	151	3
9	A,B,Ch	4 a 7	0,831	0,478	0,904	0,360	61	3
16	A,Ch,DA	4 a 7	0,780	0,580	0,965	0,230	151	6
18	A,B,HA,Ch	4 a 7	0,670	0,695	0,881	0,418	61	5
22	A,HA,Ch,DA	4 a 7	0,545	0,834	0,954	0,266	307	6

Dfrag: distinção dos fragmentos – átomos (A), ligações (B), conectividade (C), quiralidade (Ch), átomos de hidrogênio (HA), doador e/ou aceptor de ligação de hidrogênio (DA); **Tfrag:** tamanho dos fragmentos (números de átomos); **q^2 :** coeficiente de determinação da validação cruzada; **SEP:** erro padrão de predição; **r^2 :** coeficiente de calibração; **SEE:** erro padrão estimado; **HL:** comprimento do holograma molecular (*bins*); **CP:** número de variáveis latentes ou componentes principais da PLS.

Fonte: Autor, 2021.

Tabela 5 – Principais resultados de validação interna dos modelos de HQSAR gerados para a espécie de *C. neoformans* com tamanho de fragmento de 4 a 7 átomos

Modelos HQSAR (<i>C. neoformans</i>)								
Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP
38	A, DA	4 a 7	0,626	0,746	0,867	0,444	61	6
39	A,B,C	4 a 7	0,695	0,694	0,937	0,315	59	8
47	A,HA,DA	4 a 7	0,541	0,803	0,775	0,562	199	4
55	A,B,C,Ch	4 a 7	0,690	0,699	0,936	0,318	59	8
58	A,B,C,DA	4 a 7	0,724	0,650	0,946	0,287	59	7
61	A,B,C,Ch,DA	4 a 7	0,715	0,670	0,952	0,274	71	8
62	A,B,C,HA,DA	4 a 7	0,647	0,746	0,956	0,264	97	8

Dfrag: distinção dos fragmentos – átomos (A), ligações (B), conectividade (C), quiralidade (Ch), átomos de hidrogênio (HA), doador e/ou acceptor de ligação de hidrogênio (DA); **Tfrag:** tamanho dos fragmentos (números de átomos); **q^2 :** coeficiente de determinação da validação cruzada; **SEP:** erro padrão de predição; **r^2 :** coeficiente de calibração; **SEE:** erro padrão estimado; **HL:** comprimento do holograma molecular (*bins*); **CP:** número de variáveis latentes ou componentes principais da PLS.

Fonte: Autor, 2021.

Tabela 6 – Principais resultados de validação interna dos modelos de HQSAR gerados para a espécie de *C. gatti* com tamanho de fragmento de 4 a 7 átomos

Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP
70	A, DA	4 a 7	0,658	0,727	0,787	0,574	59	3
71	A,B,C	4 a 7	0,754	0,626	0,876	0,445	59	4
79	A,HA,DA	4 a 7	0,586	0,811	0,801	0,562	199	4
87	A,B,C,Ch	4 a 7	0,751	0,667	0,949	0,302	59	8
90	A,B,C,DA	4 a 7	0,751	0,657	0,954	0,282	59	7
93	A,B,C,Ch,DA	4 a 7	0,780	0,627	0,970	0,231	71	8
96	A,B,C,HA,Ch,DA	4 a 7	0,653	0,787	0,963	0,259	401	8

Dfrag: distinção dos fragmentos – átomos (A), ligações (B), conectividade (C), quiralidade (Ch), átomos de hidrogênio (HA), doador e/ou acceptor de ligação de hidrogênio (DA); **Tfrag:** tamanho dos fragmentos (números de átomos); **q^2 :** coeficiente de determinação da validação cruzada; **SEP:** erro padrão de predição; **r^2 :** coeficiente de calibração; **SEE:** erro padrão estimado; **HL:** comprimento do holograma molecular (*bins*); **CP:** número de variáveis latentes ou componentes principais da PLS.

Fonte: Autor, 2021.

Com base nos resultados mostrados nas **Tabelas 4-6**, os modelos **1, 2, 7 e 9** apresentaram os maiores valores de (q^2) para a espécie de *C. albicans*, enquanto os modelos **39, 55, 58 e 61** demonstraram valores de (q^2) mais elevados para *C. neoformans*. De modo semelhante, os melhores modelos de HQSAR para *C. gatti* **71, 87, 90 e 93** apresentaram os mesmos padrões de descritores dos modelos selecionados para *C. neoformans*, com distinção apenas nos valores de (q^2). Estes dados demonstram que os átomos, os tipos de ligação (simples, dupla e tripla), conectividade (estado de hibridização), quiralidade e a presença de grupos doadores e/ou aceptores de ligações de hidrogênio exercem influência sobre a atividade antifúngica desses compostos.

Neste contexto, a exclusão do parâmetro (HA) dos modelos **22, 47 e 79** com pior desempenho para as espécies de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti*,

respectivamente, foi capaz de fornecer melhores modelos (modelo **22** vs **16**, modelo **47** vs **38** e modelo **79** vs **70**). Além disso, a eliminação de (HA) das combinações do modelo **18** (A, B, HA, Ch); **62** (A, B, C, HA, DA) e **96** (A, B, C, HA, Ch, DA), resultou nos modelos **9** (A, B, Ch), **58** (A, B, C, DA) e **93** (A, B, C, Ch, DA), que demonstraram os mais altos valores de (q^2) para as cepas de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti*, nesta sequência. Estes resultados indicam que o descritor (HA) contribuiu para uma perda de eficiências dos modelos que utilizaram este parâmetro.

Com o intuito de explorar as possibilidades de aperfeiçoamento da capacidade preditiva dos quatro melhores modelos identificados para cada espécie fúngica, novos modelos de HQSAR foram construídos a partir da variação do comprimento dos fragmentos desses modelos selecionados, dando origem a 240 modelos (Apêndices A2, A3 e A4). Nesta etapa, os treze modelos apontados com a maior capacidade preditiva, selecionados com base nos valores mais altos de coeficiente de validação cruzada, estão destacados na **Tabela 7**.

Tabela 7 – Resultados de validação interna dos melhores modelos de HQSAR identificados para as espécies de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti* com variações no tamanho de fragmento

Modelos HQSAR - *C. albicans*

Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP
2q	A, B	5 a 7	0,833	0,476	0,912	0,345	199	3
2r	A, B	6 a 8	0,842	0,471	0,926	0,323	71	4
9k	A,B,Ch	5 a 9	0,832	0,486	0,917	0,342	59	4
9r	A,B,Ch	6 a 8	0,840	0,474	0,927	0,321	71	4

Modelos HQSAR - *C. neoformans*

Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP
39i	A,B,C	3 a 7	0,758	0,618	0,946	0,292	61	8
55i	A,B,C,Ch	3 a 7	0,748	0,630	0,946	0,293	61	8
58j	A,B,C,DA	4 a 8	0,754	0,623	0,959	0,254	71	8
58p	A,B,C,DA	4 a 6	0,753	0,624	0,954	0,271	59	8

Modelos HQSAR - *C. gatti*

Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP
71t	A,B,C	8 a 10	0,781	0,626	0,953	0,289	71	8
87t	A,B,C,Ch	8 a 10	0,780	0,627	0,960	0,267	401	8
93	A,B,C,Ch,DA	4 a 7	0,780	0,627	0,970	0,231	71	8
93p	A,B,C,Ch,DA	4 a 6	0,783	0,623	0,969	0,237	59	8
93q	A,B,C,Ch,DA	5 a 7	0,780	0,627	0,969	0,237	71	8

Dfrag: distinção dos fragmentos – átomos (A), ligações (B), conectividade (C), quiralidade (Ch), átomos de hidrogênio (HA), doador e/ou aceptor de ligação de hidrogênio (DA); **Tfrag:** tamanho dos fragmentos (números de átomos); **q^2 :** coeficiente de determinação da validação cruzada; **SEP:** erro padrão de predição; **r^2 :** coeficiente de calibração; **SEE:** erro padrão estimado; **HL:** comprimento do holograma molecular (*bins*); **CP:** número de variáveis latentes ou componentes principais da PLS.

Fonte: Autor, 2021.

A variação no comprimento dos fragmentos ocasionou o aperfeiçoamento da capacidade preditiva de alguns modelos em comparação com o fragmento padrão de 4 a 7 átomos. Neste contexto, ao ser selecionado os modelos mais robustos para cada espécie fúngica, destacados na **Tabela 7**, observam-se que as variações no tamanho dos fragmentos maximizaram a eficiência dos modelos **2q**, **2r**, **9k** e **9r** para a espécie de *C. albicans* e dos modelos **39i**, **55i**, **58j** e **58p** para *C. neoformans*. Por outro lado, estas modificações proporcionaram melhorias aos modelos **71t**, **87t** e **93p** para *C. gatti*, sendo que o modelo **93q** reportou a mesma capacidade preditiva que o modelo **93**, que possui o tamanho de fragmento padrão. Com base nesses resultados, os treze modelos mais robustos identificados foram submetidos ao processo de validação externa.

5.1.3 Validação externa

O processo de validação externa dos treze modelos mais robustos identificados (**Tabela 7**) foi realizado utilizando o conjunto teste, contendo moléculas que não foram empregadas na geração dos modelos de HQSAR. Esta estratégia permite confrontar os resultados de predição com os valores experimentais de atividade biológica do conjunto teste, que proporciona dados importantes para analisar a capacidade preditiva dos modelos diante de compostos externos. Os resultados do processo de validação externa estão expressos na **Tabela 8**.

Tabela 8 – Resultados de validação externa dos melhores modelos de HQSAR para as espécies fúngicas de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti*

Modelos HQSAR - <i>C. albicans</i>									
Modelos	Q²_(F1)	Q²_(F2)	Q²_(F3)	r²_m	r²_{m'}	Δr²_m	AVGr²_m	RMSE	MAE
2q	0,712	0,555	0,819	0,639	0,644	0,005	0,641	0,522	0,401
2r	0,455	0,158	0,658	0,346	0,343	0,003	0,345	0,718	0,462
9k	0,627	0,424	0,766	0,650	0,489	0,162	0,569	0,594	0,432
9r	0,592	0,369	0,744	0,438	0,429	0,009	0,433	0,621	0,389

Modelos HQSAR - <i>C. neoformans</i>									
Modelos	Q²_(F1)	Q²_(F2)	Q²_(F3)	r²_m	r²_{m'}	Δr²_m	AVGr²_m	RMSE	MAE
39i	0,910	0,881	0,935	0,887	0,797	0,090	0,842	0,311	0,192
55i	0,909	0,879	0,934	0,890	0,790	0,100	0,840	0,314	0,171
58j	0,913	0,885	0,937	0,788	0,865	0,077	0,826	0,306	0,242
58p	0,958	0,944	0,970	0,874	0,921	0,048	0,898	0,213	0,171

Modelos HQSAR - <i>C. gatti</i>									
Modelos	Q²_(F1)	Q²_(F2)	Q²_(F3)	r²_m	r²_{m'}	Δr²_m	AVGr²_m	RMSE	MAE
71t	0,706	0,637	0,766	0,513	0,623	0,111	0,568	0,620	0,371
87t	0,860	0,827	0,888	0,718	0,832	0,114	0,775	0,428	0,287
93	0,862	0,830	0,890	0,683	0,830	0,147	0,757	0,424	0,307
93p	0,804	0,759	0,844	0,571	0,759	0,188	0,665	0,506	0,370
93q	0,869	0,838	0,896	0,687	0,830	0,143	0,759	0,414	0,301

Q²_(F1): R² preditivo; Q²_(F2): q² (SCHÜÜRMAN et al., 2008); Q²_(F3): q² (CONSONNI et al., 2009); r²_m: parâmetro para acessar o poder preditivo do modelo (ROY et al., 2015); r²_{m'}: poder preditivo calculado com eixos invertidos; Δr²_m: r²_m - r²_{m'}; AVGr²_m: valor da média entre r²_m e r²_{m'}; RMSE: raiz quadrada média do erro; MAE: média do erro absoluto.

Fonte: Autor, 2021.

A definição do melhor modelo de HQSAR em quesito de predição de atividade contra cada espécie fúngica foi atribuída com base nas métricas de validação externa da **Figura 25 (pág. 70)**. Deste modo, o modelo **2q**, oriundo da combinação dos parâmetros físico-químicos A, B (átomos e ligação) com comprimento de fragmento de 5 a 7 átomos, apresentou os melhores resultados para *C. albicans*. Para esta espécie, o modelo **2q** demonstrou valor

de $Q^2_{(F2)}$ igual a 0,555, não atendendo ao valor mínimo para esta métrica que é de 0,6. Apesar disso, para as demais métricas analisadas, o modelo reportou resultados satisfatórios com valor de 0,712 para $Q^2_{(F1)}$ e 0,819 para $Q^2_{(F3)}$, sendo estes superiores a 0,6. Além disso, as métricas r^2_m , $r^2_{m'}$ e $AVGr^2_m$ foram maiores que 0,5 e Δr^2_m menor que 0,2; associados a baixos valores de RMSE e MAE. Os demais modelos avaliados para *C. albicans* apresentaram pelo menos duas métricas com valores insatisfatórios, destacados em vermelho na **Tabela 8**.

Por outro lado, todos os modelos analisados para *C. neoformans* exibiram valores de métricas dentro dos padrões estabelecidos. Contudo, o modelo **58p** constituído pela combinação dos descritores A, B, C, DA (átomos, ligações, conectividade e doador e/ou aceitor de ligação de hidrogênio) e tamanho de fragmento de 4 a 6 átomos demonstrou resultado superior aos demais. Este modelo reportou os maiores valores de coeficiente de correlação entre os modelos HQSAR, com $Q^2_{(F1)}$, $Q^2_{(F2)}$ e $Q^2_{(F3)}$ iguais 0,958; 0,944 e 0,970, respectivamente. Neste contexto, o modelo apresentou valores de r^2_m , $r^2_{m'}$ e $AVGr^2_m$ superior a 0,5 e Δr^2_m menor que 0,2 (0,874; 0,921; 0,898 e 0,048, nesta sequência). Além disso, o modelo exibiu os menores valores de RMSE (0,213) e MAE (0,171).

De modo semelhante, todos os modelos avaliados para *C. gatti* apresentaram valores de métricas que atendem aos requisitos propostos. Para esta espécie, o modelo **87t** foi o mais robusto, formado pela combinação dos descritores A,B,C,Ch (átomos, ligação, conectividade e quiralidade) com comprimento de fragmento de 8 a 10 átomos. Apesar de este modelo apresentar os valores dos coeficientes de correlação $Q^2_{(F1)}$, $Q^2_{(F2)}$ e $Q^2_{(F3)}$ levemente inferiores aos dos modelos **93** e **93q**, uma maior quantidade de métricas do modelo **87t** (r^2_m , $r^2_{m'}$, $AVGr^2_m$, Δr^2_m e MAE) exibiram números mais satisfatórios.

Ao analisar os modelos com a melhor capacidade preditiva para cada espécie fúngica destacados na cor azul na **Tabela 8**. De modo geral, observa-se que o modelo **58p** de *C. neoformans* e o modelo **87t** para *C. gatti*, demonstraram valores estatísticos superiores ao modelo **2q** para a espécie de *C. albicans*. Esta diferença nos parâmetros estatísticos pode estar associada a maior quantidade de informações estruturais proporcionadas pelo conjunto

treinamento das espécies de *Cryptococcus*, que contavam com uma quantidade superior de moléculas quando comparado ao conjunto treinamento utilizado para a construção dos modelos de HQSAR de *C. albicans*. Apesar disso, os baixos valores residuais fornecidos ao confrontar os resultados de predição desses modelos com os valores experimentais de atividade biológica (resultado experimental – valor predito), indicam que todos os modelos selecionados são bastante assertivos, conforme mostrado nas **Tabelas 9 – 11**.

Tabela 9 – Valores de atividade experimental e preditiva (pMIC) e resíduos calculados para o conjunto teste utilizando o modelo de HQSAR 2q para a espécie de *C. albicans*

Modelo 2q - <i>C. albicans</i> (pMIC)			
Compostos	Experimental	Predito	Resíduo
Te1	ND	ND	ND
Te2	3,602	4,435	-0,833
Te3	5,409	5,467	-0,058
Te4	5,409	5,733	-0,324
Te5	ND	ND	ND
Te6	3,602	3,957	-0,355
Te7	3,602	4,634	-1,032
Te8	ND	ND	ND
Te9	3,602	3,189	0,413
Te10	3,602	3,697	-0,095
Te11	3,602	3,696	-0,094

Resíduo: pMIC experimental - pMIC predito; **ND:** não determinado

Fonte: Autor, 2021.

Tabela 10 – Valores de atividade experimental e preditiva (pMIC) e resíduos calculados para o conjunto teste utilizando o modelo de HQSAR 58p para a espécie de *C. neoformans*

<i>Modelo 58p - C. neoformans (pMIC)</i>			
Compostos	Experimental	Predito	Resíduo
Te1	4,807	4,872	-0,065
Te2	3,602	3,967	-0,365
Te3	5,409	5,682	-0,273
Te4	5,721	5,630	0,091
Te5	3,602	3,488	0,114
Te6	3,602	3,550	0,052
Te7	3,602	3,980	-0,378
Te8	5,721	5,568	0,153
Te9	3,602	3,903	-0,301
Te10	3,602	3,533	0,069
Te11	3,602	3,621	-0,019

Resíduo: pMIC experimental - pMIC predito; **ND:** não determinado

Fonte: Autor, 2021.

Tabela 11 – Valores de atividade experimental e preditiva (pMIC) e resíduos calculados para o conjunto teste utilizando o modelo de HQSAR 87t para a espécie de *C. gatti*

Modelo 87t - <i>C. gatti</i> (pMIC)			
Compostos	Experimental	Predito	Resíduo
Te1	4,807	4,701	0,106
Te2	3,602	4,371	-0,769
Te3	6,013	6,184	-0,171
Te4	6,046	5,704	0,342
Te5	3,602	3,535	0,067
Te6	3,602	3,682	-0,080
Te7	3,602	4,686	-1,084
Te8	5,721	5,825	-0,104
Te9	3,602	3,379	0,223
Te10	3,602	3,465	0,137
Te11	3,602	3,672	-0,070

Resíduo: pMIC experimental - pMIC predito; **ND:** não determinado

Fonte: Autor, 2021.

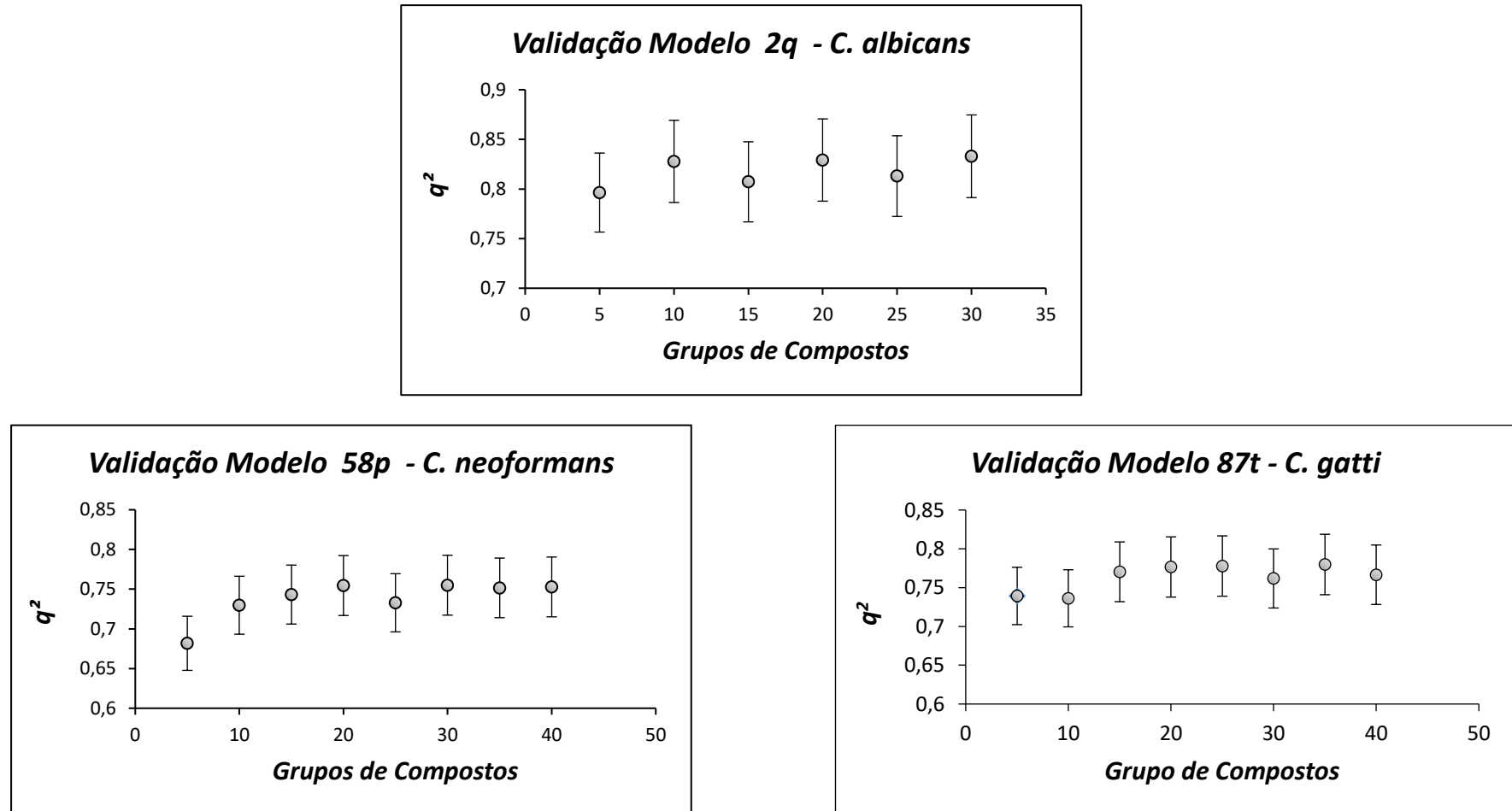
As informações descritas nas **Tabelas 9 – 11**, demonstram a proximidade dos valores de pMIC previstos em relação aos obtidos a partir dos resultados dos ensaios biológicos. O desvio padrão dos resíduos é de 0,33 unidades logarítmicas para as espécies de *Cryptococcus* e 0,35 para a cepa de *C. albicans*, sendo que 5 desses compostos apresentaram valores preditivos inferiores ao desvio padrão calculado para *C. albicans*; 9 para *C. neoformans* e 8 para *C. gatti*, indicando uma baixa dispersão dos resultados em torno da média de predição.

5.1.4 Validação interna

O processo de validação interna dos modelos de HQSAR ocorreu em três etapas. Inicialmente, os modelos construídos por intermédio da combinação dos descritores físico-químicos A, B, C, Ch, HA e DA (**Tabelas 4 – 6**) e os modelos oriundos da etapa subsequente obtidos pela variação do comprimento dos fragmentos dos modelos mais robustos identificados na etapa anterior (**Tabela 7**), foram validados pelo método *leave-one-out*.

A segunda forma de validação interna foi efetuada mediante a aplicação da técnica de validação cruzada *leave-N-out* (LNO) aos modelos **2q**, **58p** e **87t**, selecionados por sua maior capacidade preditiva na etapa de validação externa. Desta forma, a criação de novos modelos de HQSAR a partir dos parâmetros de distinção de fragmentos utilizados pelos modelos originais permitiu avaliar a robustez dos modelos selecionados, como ilustrado na **Figura 32**.

Figura 32 – Resultados de validação dos modelos 2q, 58p e 87t pelo método *leave-N-out*

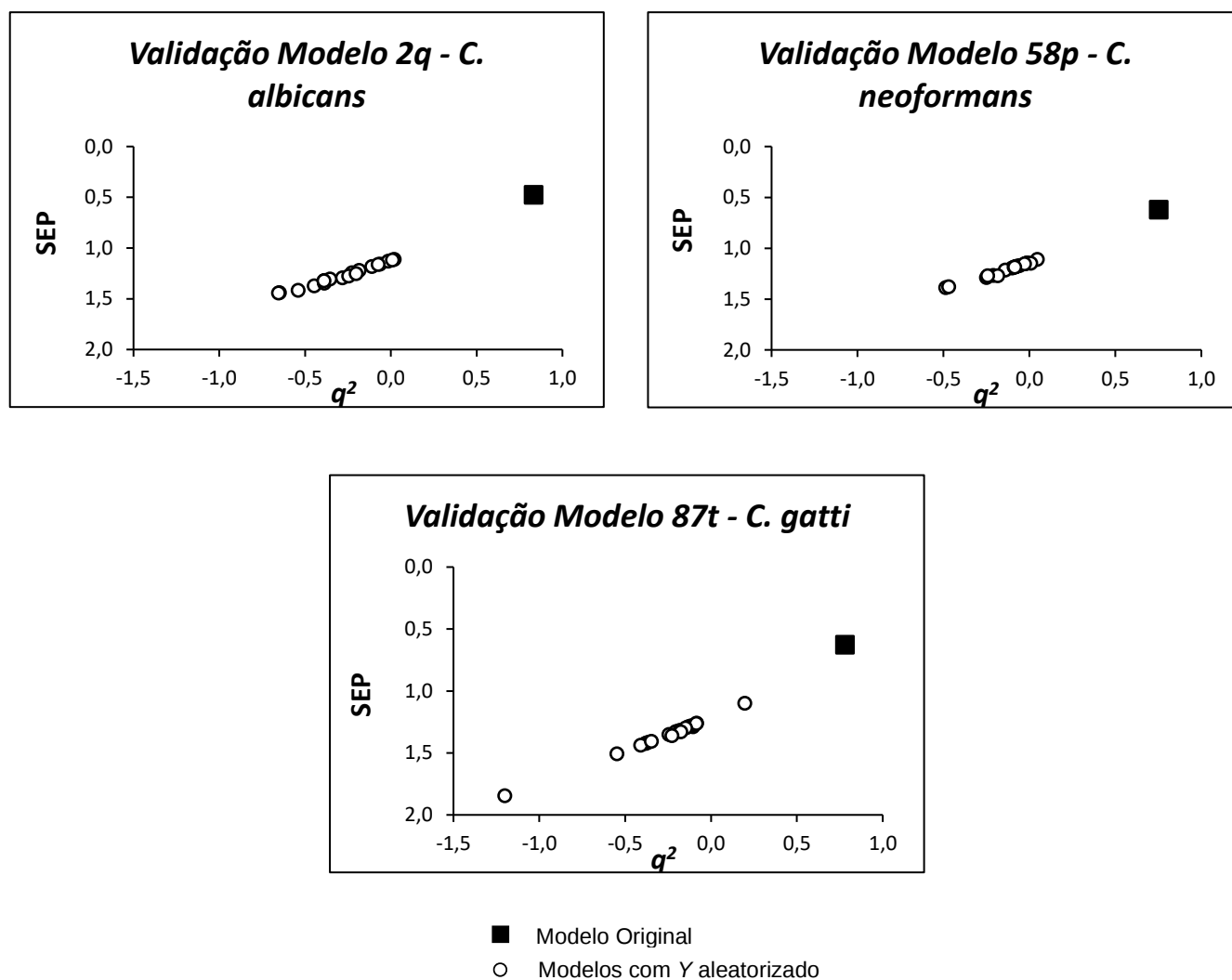


Fonte: Autor, 2021.

Portanto, os resultados gráficos da **Figura 32** apontam que os novos modelos construídos a partir dos descritores utilizados pelos modelos originais são consistentes, preservando todos os coeficientes de validação cruzada superiores a 0,6. Além disso, a diferença entre os valores de (q^2) dos melhores modelos de HQSAR e de seus respectivos modelos de validação foram inferiores a 0,1 unidade logarítmica.

Com o objetivo de averiguar a estabilidade dos modelos **2q**, **58p** e **87t**, oriundos da seleção ocorrida na etapa de validação externa, uma terceira validação empregando o método *Y-scrambling* foi executada. Neste método, 20 novos modelos foram construídos por meio da aleatorização dos valores de pMIC do conjunto treinamento, empregando os mesmos parâmetros de distinção de fragmentos dos modelos originais o que permitiu determinar se os modelos não foram construídos ao acaso, como ilustrado na **Figura 33**.

Figura 33 – Resultados de validação dos modelos 2q, 58p e 87t pelo método Y-scrambling



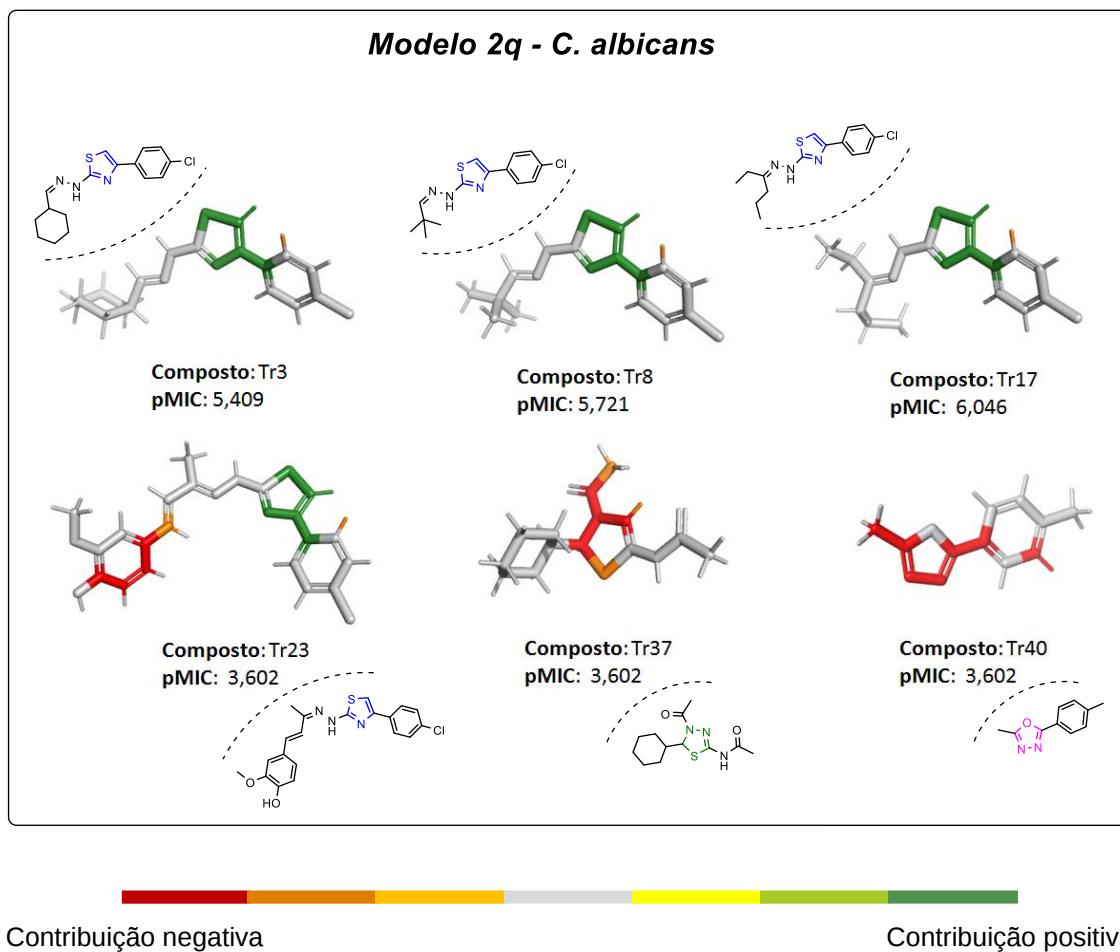
Fonte: Autor, 2021.

Por conseguinte, as informações expostas nos gráficos (**Figura 33**) apontam que os modelos **2q**, **58p** e **87t** não foram construídos de forma aleatória, pois os resultados de (q^2) apresentados pelos modelos de validação foram bastante inferiores aos demonstrados pelos modelos originais. Além disso, o erro padrão de predição dos modelos com Y aleatorizado foram muito superiores quando comparados aos modelos originais.

5.1.5 Mapas de Contribuição

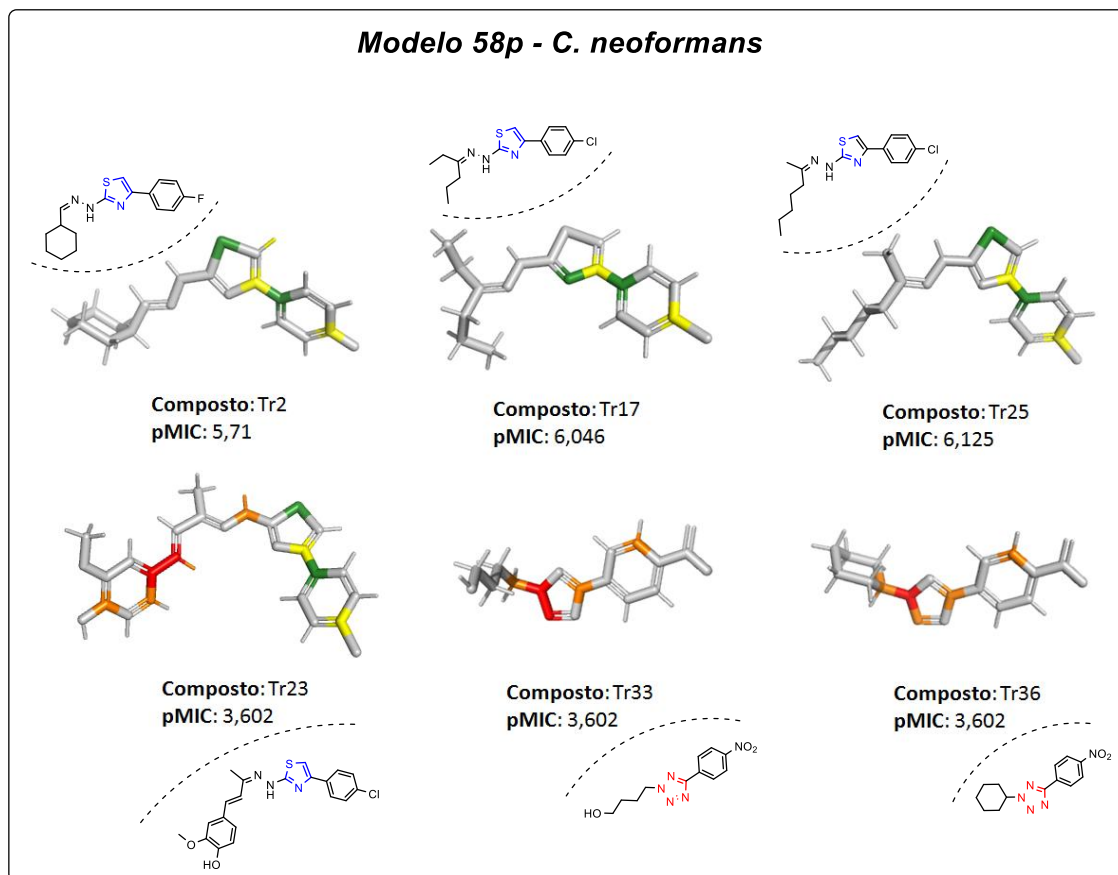
A seleção dos melhores modelos de HQSAR **2q**, **58p** e **87t** proporcionada pelos processos de validação interna e externa permitiram a criação de mapas de contribuição, que oferecem um panorama geral para a interpretação dos resultados da relação estrutura-atividade identificados por estes modelos. Para a elaboração dos mapas de contribuição foram selecionadas três moléculas que apresentaram boa atividade antifúngica e três estruturas com baixos valores de pMIC para cada espécie fúngica analisada (**Figura 34 – 36**). Desta forma, os mapas de contribuição destacaram com diferentes cores, grupos ou regiões moleculares que exercem influência sobre a atividade antifúngica dessas moléculas. Deste modo, as informações proporcionadas por estes mapas podem ser utilizadas para a identificação de grupamentos que contribuem de forma negativa ou positiva para a atividade biológica, auxiliando no planejamento de novos candidatos a fármacos.

Figura 34 – Mapas de contribuição gerados pelo modelo 2q para a espécie de *C. albicans*



Fonte: Autor, 2021.

Figura 35 – Mapas de contribuição gerados pelo modelo 58p para a espécie de *C. neoformans*

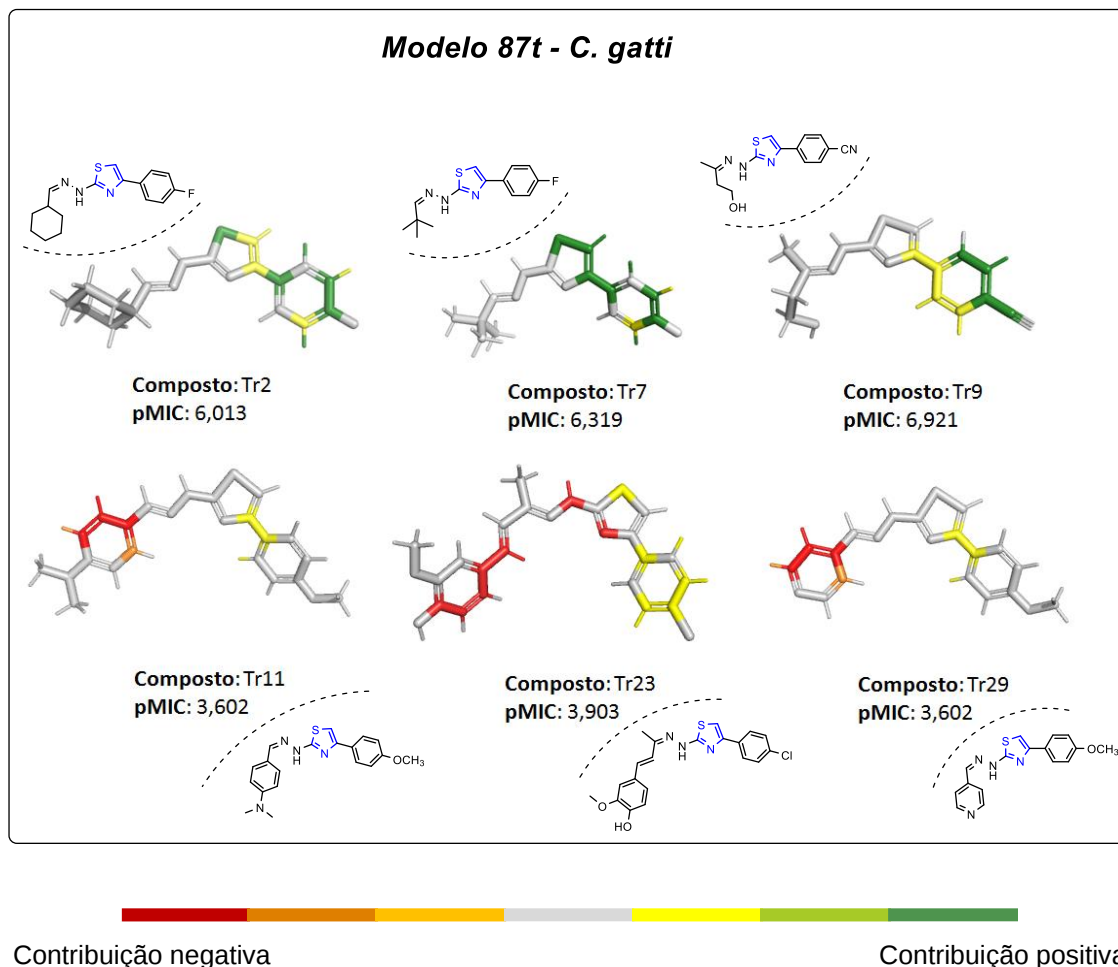


Contribuição negativa

Contribuição positiva

Fonte: Autor, 2021.

Figura 36. Mapas de contribuição gerados pelo modelo 87t para a espécie de *C. gatti*



Fonte: Autor, 2021.

Em vista disso, os mapas de contribuição gerados pelo modelo **2q**, **58p** e **87t** para a espécies fúngicas de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti* (**Figuras 34 – 36**); demonstram a importância da manutenção do heterociclo tiazólico para a atividade antifúngica desses compostos, visto que a substituição bioisostérica deste grupamento pelos heterociclos tiadiazol (**Tr37**), tetrazol (**Tr33** e **Tr36**) e oxadiazol (**Tr40**) resultaram em expressiva perda de atividade para estas moléculas.

Outro fator importante evidenciado pelos mapas de contribuição é a contribuição estérica positiva do anel aromático presente como substituinte na posição 4 do anel tiazólico (**Tr2**, **Tr7** e **Tr9**). Esta vantagem pode ser resultante

de uma interação deste grupamento com um bolso hidrofóbico, que confere uma maior interação destas moléculas com o possível sítio de ligação. Além disso, a ampliação do sistema de conjugação na porção hidrazona, ocasionada pela inserção de grupamentos aromáticos, resultou em impactos negativos para a atividade antifúngica desses compostos (**Tr11**, **Tr23** e **Tr29**). Algo interessante a ser investigado seria a introdução de um substituinte mais volumoso na posição 5 do anel tiazólico como sugerem os modelos para os compostos **Tr2**, **Tr3**, **Tr7**, **Tr8** e **Tr17**.

5.2 Síntese e caracterização dos novos heterociclos tiazolilhidrazonas, tiadiazolínicos e tiadiazol

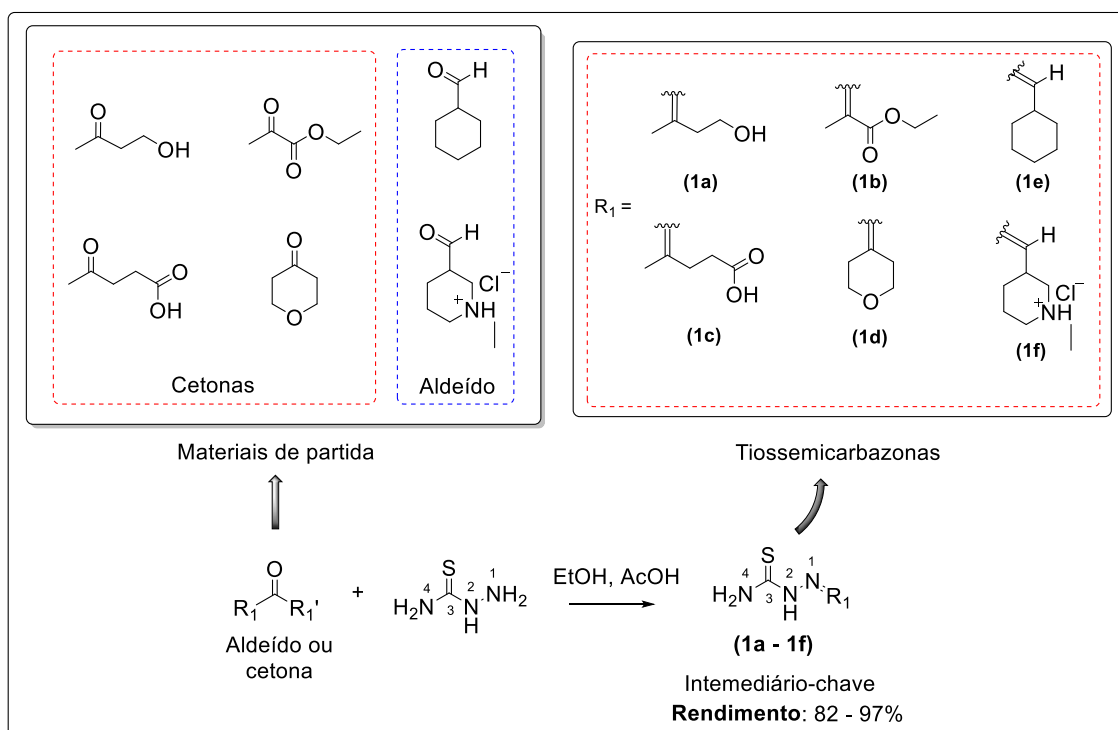
Para obtenção dos novos heterociclos tiazólicos, a rota de síntese foi proposta em duas etapas. Inicialmente, foram obtidas tiossemicarbazonas empregadas como intermediário-chave para a síntese dos derivados tiazólicos. Na segunda etapa, submeteu-se as tiossemicarbazonas a reações de ciclização intermolecular com bromoacetofenonas substituídas, 2-cloroacetoacetato de etila e 4-cloroacetoacetato de etila para formação das tiazolilhidrazonas correspondentes. Por outro lado, os heterociclos tiadiazolínicos foram sintetizados a partir de reações entre tiossemicarbazonas correspondentes e anidrido acético.

5.2.1 Síntese das tiossemicarbazonas 1a – 1f

Na primeira etapa de síntese, aldeídos e cetonas foram submetidos à reação de condensação com a tiossemicarbazida para obtenção de suas correspondentes tiossemicarbazonas, utilizando etanol como solvente. Nesta fase, as condições de pH do meio exercem influência sobre a velocidade da reação. Deste modo, o ácido acético, empregado como catalisador, contribuiu para obtenção de uma faixa de pH compreendida entre 4 – 5, favorecendo a

ocorrência da reação. Essa faixa de pH torna-se ideal, pois, em condições de pH superior não ocorreria a ativação da carbonila do aldeído ou da cetona por meio de sua protonação. Por outro lado, intervalos de pH inferiores resultariam na protonação do nitrogênio N-1 (**Figura 37**) da tiossemicarbazida impossibilitando sua atuação como nucleófilo (LINO, 2015; SOLOMONS e FRYHLE, 2006).

Figura 37 – Rota de síntese e estruturas da tiossemicarbazida e tiossemicarbazonas sintetizadas

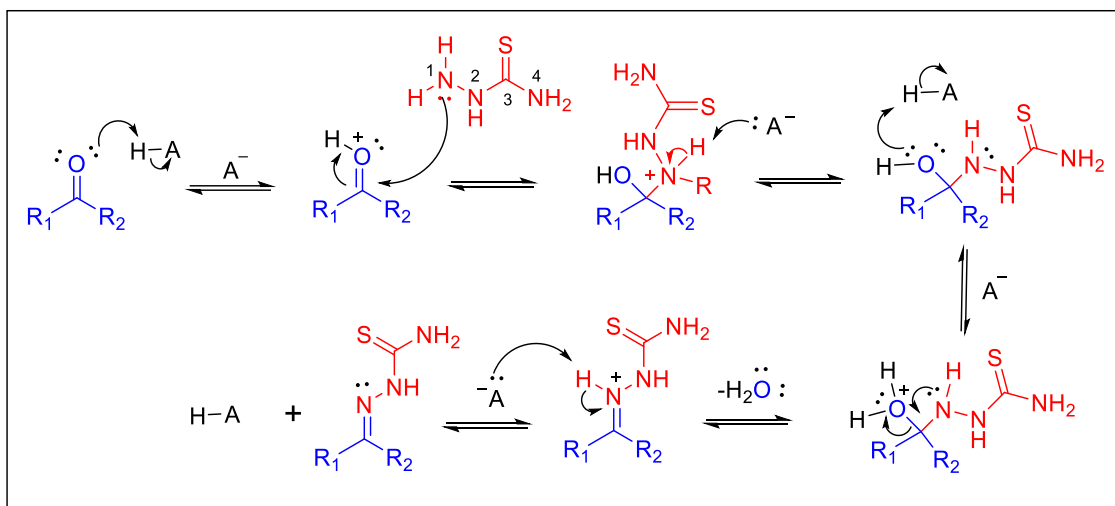


Fonte: Autor, 2021.

O mecanismo da reação de formação das tiossemicarbazonas tem início com a protonação da carbonila do aldeído ou da cetona, conferida pelo catalisador ácido, o que a torna mais suscetível ao ataque nucleofílico pelo nitrogênio N-1 da tiossemicarbazida. Em seguida, a formação de uma ligação covalente entre o nitrogênio e o carbono da carbonila é estabelecida, originando um intermediário hemiaminal. Posteriormente, a hidroxila é protonada tornando-se

um bom grupo abandonador, que resulta em um processo de desidratação com formação da tiossemicarbazona e consequente regeneração do catalisador (LINO, 2015; SOLOMONS & FRYHLE, 2006), conforme mecanismo proposto na **Figura 38**.

Figura 38 – Mecanismo proposto para a síntese das tiossemicarbazonas



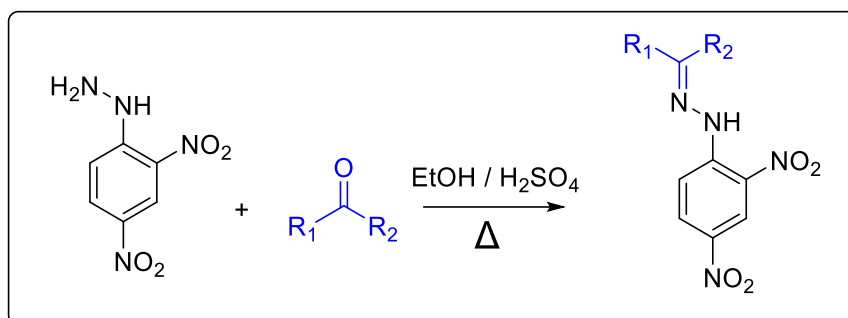
Fonte: Autor, 2021.

As tiossemicarbazonas sintetizadas **1a** – **1f** foram obtidas com rendimentos que variaram de 82 – 97%.

O acompanhamento do processo reacional foi monitorado por CCD, utilizando como reveladores o vapor de iodo e solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina. Dessa forma, o consumo do material de partida pôde ser detectado de forma qualitativa ao empregar a solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina, pois este composto é capaz de reagir com a carbonila de aldeídos e cetonas obtendo como produto uma hidrazona, que resulta na formação de uma mancha na CCD de coloração variando entre amarelo e o vermelho. Tonalidades mais intensas são esperadas em compostos carbonílicos que apresentem um sistema aromático capaz de ampliar o sistema de conjugação da 2,4-dinitrofenilhidrazina, que atuam como cromóforos absorvendo energia na região do visível. O mecanismo desta reação é bastante semelhante ao

descrito para obtenção das tiossemicarbazonas e um esquema simplificado desta reação está representado na **Figura 39**.

Figura 39 – Reação do revelador 2,4-dinitrofenilhidrazina com aldeídos ou cetonas

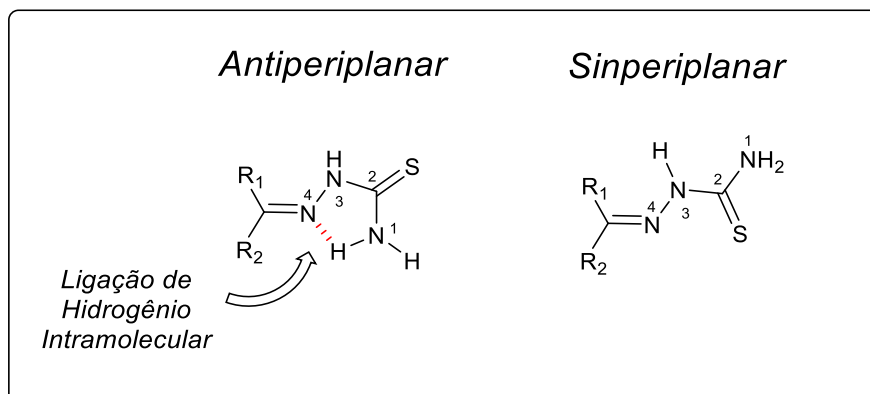


Fonte: Autor, 2021.

5.2.1.1 Caracterização das tiossemicarbazonas **1a – 1f**

As tiossemicarbazonas são compostos que apresentam uma intensa deslocalização eletrônica ocasionada pela formação de um sistema de conjugação. Deste modo, o arranjo estrutural destas moléculas é influenciado por fatores eletrônicos e estéricos, que contribuem para uma maior prevalência do átomo de enxofre na posição *antiperiplanar* em relação ao átomo de nitrogênio (N-4) da função hidrazona (**Figura 40**). Este arranjo proporciona uma maior estabilidade à estrutura pela formação de ligação de hidrogênio intramolecular envolvendo o nitrogênio da porção hidrazona e os hidrogênios do grupo NH₂ da tiossemicarbazona (TENÓRIO, 2005).

Figura 40 – Representação das configurações *sin* e antiperiplanar das tiossemicarbazonas

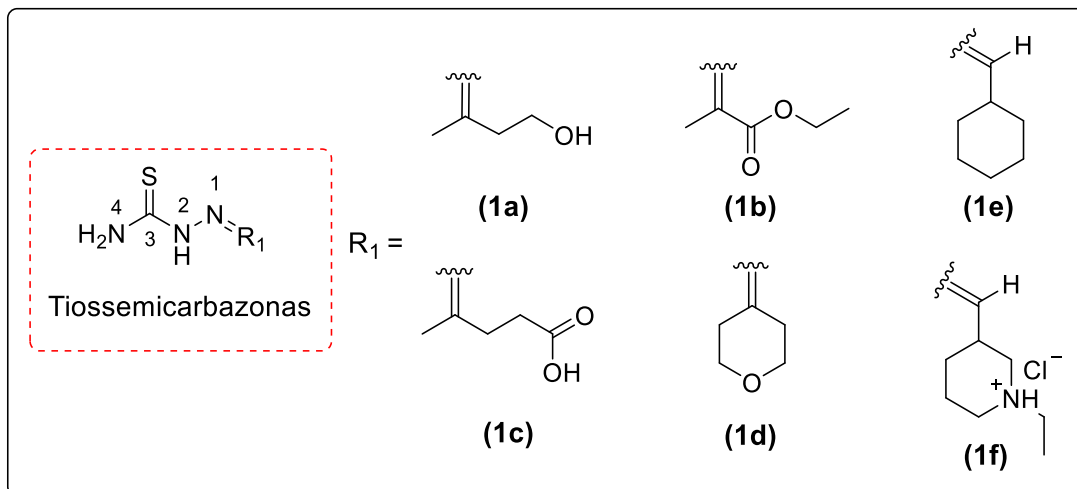


Fonte: Adaptado de TENÓRIO, 2005.

Para elucidação estrutural das tiossemicarbazonas **1a** – **1f** contou-se com o auxílio da espectrometria de RMN de ^1H e ^{13}C .

Os sinais de RMN referentes aos hidrogênios $-\text{NH}_2$ da porção tiossemicarbazona são diasterotópicos, uma vez que aparecem como sinais não equivalentes. Esta condição se manifesta em decorrência do caráter parcialmente duplo da ligação $\text{C}-\text{NH}_2$, resultante do processo de ressonância com a tiocarbonila ($\text{C}=\text{S}$) que restringe a rotação desta ligação (TENÓRIO *et al.*, 2005). Esta condição pode ser evidenciada nos valores de deslocamento químico referentes aos sinais dos hidrogênios de NH e $-\text{NH}_2$ das tiossemicarbazonas sintetizadas, que estão expressos na **Tabela 12** a seguir.

Tabela 12 – Deslocamento dos sinais de RMN ^1H da porção tiossemicarbazona



Substâncias	NH	- NH ₂
1a	10,07 e 9,88	8,00 - 7,52 e 7,49
1b	10,57	8,57 - 7,58
1c	9,98	8,04 - 7,27
1d	10,20	7,95 - 7,51
1e	10,23	7,08 - 6,70
1f	11,17	8,09 - 7,67

Fonte: Autor, 2021.

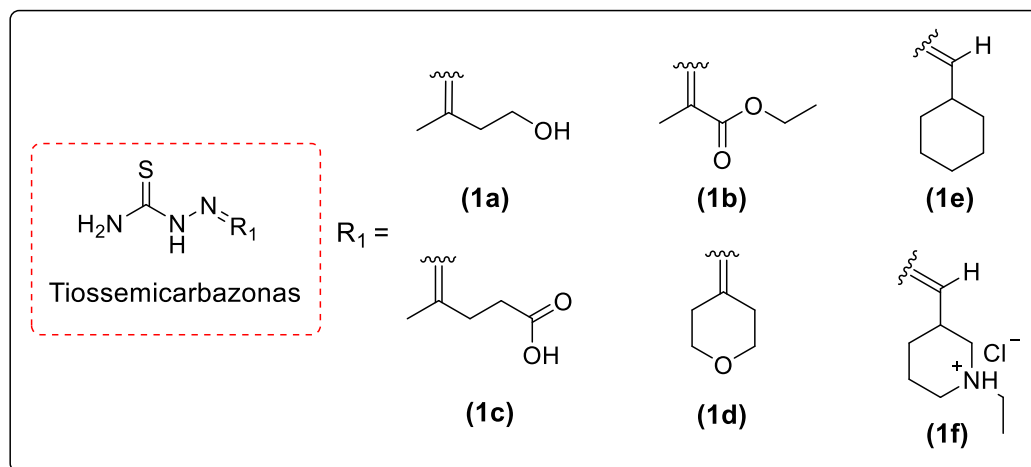
Além disso, o espectro de RMN ^1H da substância **1a** demonstra a presença de uma mistura de isômeros *Z* e *E* em uma proporção aproximada de (3:7). Neste contexto, Tenório e colaboradores (2005) afirmam que tiossemicarbazonas derivadas de cetonas assimétricas podem ser obtidas em diferentes proporções isoméricas influenciadas pelos grupos substituintes da porção carbazona ($\text{C}=\text{N}$). Por outro lado, os autores demonstram que tiossemicarbazonas derivadas de aldeídos tendem a formar

predominantemente o isômero *E* por sua maior estabilidade termodinâmica, o que pode ser observado nos espectros de RMN das substâncias **1e** e **1f** com uma única forma isomérica.

De acordo com Tenchiu *et al.* (2009), o sinal atribuído ao NH aparece no intervalo de 9 a 12 ppm para o isômero *E* e de 14 a 15 ppm para o isômero *Z*. Com base nessas informações, observa-se uma predominância da forma isomérica *E* para as tiossemicarbazonas **1a** – **1f**, conforme evidenciado pelos dados de RMN de ^1H (TENCHIU *et al.*, 2009).

Ao analisar os deslocamentos químicos dos sinais de carbono no espectro de RMN de ^{13}C das tiossemicarbazonas **1a** – **1f**, observa-se que os sinais referentes ao grupo $\text{C}=\text{S}$ estão compreendidos entre 178,3 – 179,9 ppm. O sinal referente ao carbono da ligação $\text{C}=\text{N}$ das tiossemicarbazonas **1a** – **1f** é observado na região de 139,0–153,8 ppm e são importantes indicadores da formação das tiossemicarbazonas a partir da condensação dos reagentes. As tiossemicarbazonas **1b** e **1c** apresentaram sinais de carbono carbonílico de éster e ácido carboxílico em 164,2 e 174,5 ppm, respectivamente. Além disso, sinais de deslocamento químico característicos de ligações $\text{C}-\text{O}$ podem ser observados no intervalo de 57,8–68,1 ppm para as substâncias **1a**, **1b** e **1d**. De forma aproximada, os sinais relativos ao carbono $\text{C}-\text{N}$ do composto **1f** estão compreendidos entre 51,3–52,8 ppm. Os sinais alusivos aos carbonos $\text{C}=\text{N}$ e $\text{C}-\text{O}$ da substância **1a** estão duplicados decorrente da formação de isômeros *Z* e *E*, conforme dados expressos na **Tabela 13**.

Tabela 13 – Principais valores de deslocamentos químicos dos sinais no espectro de RMN de ^{13}C das tiossemicarbazonas 1a – 1f



Substâncias	C=S	C=O	C=N	C-O	C-N
1a	178,4	-	153,8; 152,8	58,0; 57,8	-
1b	179,9	164,2	139,0	61,1	-
1c	178,7	174,5	152,4	-	-
1d	179,1	-	152,5	68,1; 66,4	-
1e	177,7	-	152,4	-	-
1f	178,3	-	145,9	-	51,3; 51,8; 52,8

Fonte: Autor, 2021.

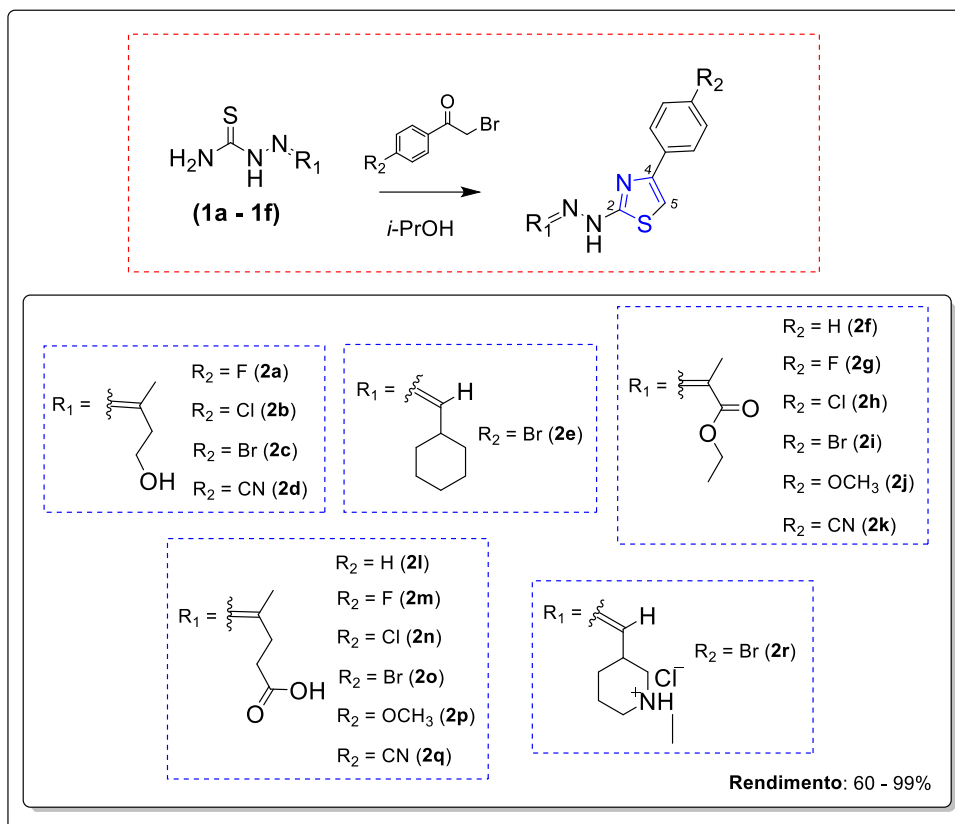
5.2.2 Síntese das tiazolilhidrazonas 2a – 2r, 3a – 3d e 4a – 4c

Com a obtenção das tiossemicarbazonas de interesse para serem empregadas como intermediário-chave, foi dado início a síntese das tiazolilhidrazonas. Neste processo, as tiossemicarbazonas foram submetidas à reação de ciclização intermolecular com haletos orgânicos carbonilados (α -bromoacetofenonas substituídas, 2-cloroacetoacetato de etila e 4-cloroacetoacetato de etila) a temperatura de 80 °C, utilizando álcool isopropílico

como solvente. Desta forma, os heterociclos foram obtidos com rendimentos que variaram entre 60 – 99%.

As tiazolilhidrazonas **2a–2r** provenientes de reações envolvendo tiossemicarbazonas e α -bromoacetofenonas substituídas ou não na posição *para* (H, F, Cl, Br, CN e OCH₃), possibilitaram a síntese de heterociclos tiazólicos contendo um anel aromático como substituinte na posição 4 (**Figura 41**). O volume e as características físico-químicas deste grupo podem permitir interações com bolsos hidrofóbicos existentes no possível sítio de ligação, e os diferentes substituintes do anel aromático podem introduzir pontos de interações adicionais que contribuam para o aumento do número de ligações e da força de interação com o possível alvo molecular, por meio de ligações de Van der Waals e da atuação como aceptores de ligações de hidrogênio. Além disso, substituintes como o cloro e o flúor auxiliam na modulação de parâmetros farmacocinéticos, podendo bloquear possíveis reações metabólicas no anel aromático contribuindo para o aumento do tempo de meia e consequente elevação do tempo de ação destes compostos (LINO, 2015; CLAYDEN *et al.*, 2012).

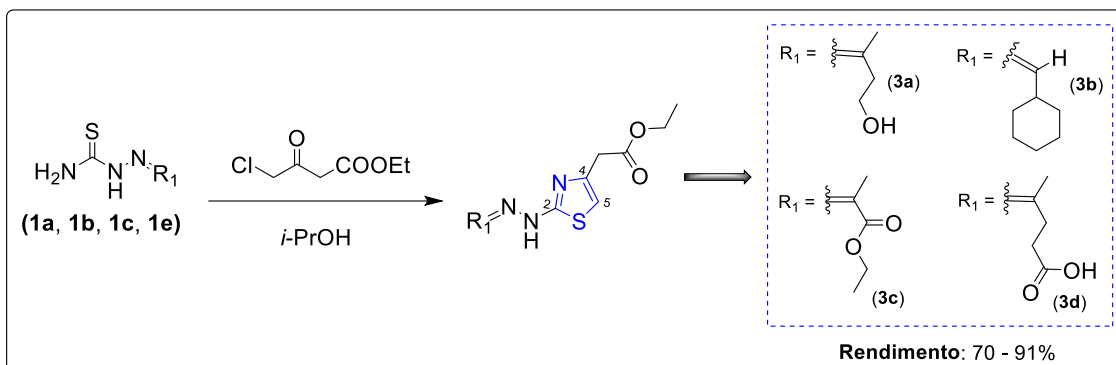
Figura 41 – Rota de síntese e estruturas químicas das tiazolilhidrazonas 2a – 2r sintetizadas



Fonte: Autor, 2021.

Por outro lado, as tiazolilhidrazonas **3a–3d**, obtidas a partir da reação das tiossemicarbazonas correspondentes com o 4-cloroacetoacetato de etila, apresentam um substituinte acetato éster alifático na posição 4 do anel tiazólico (**Figura 42**).

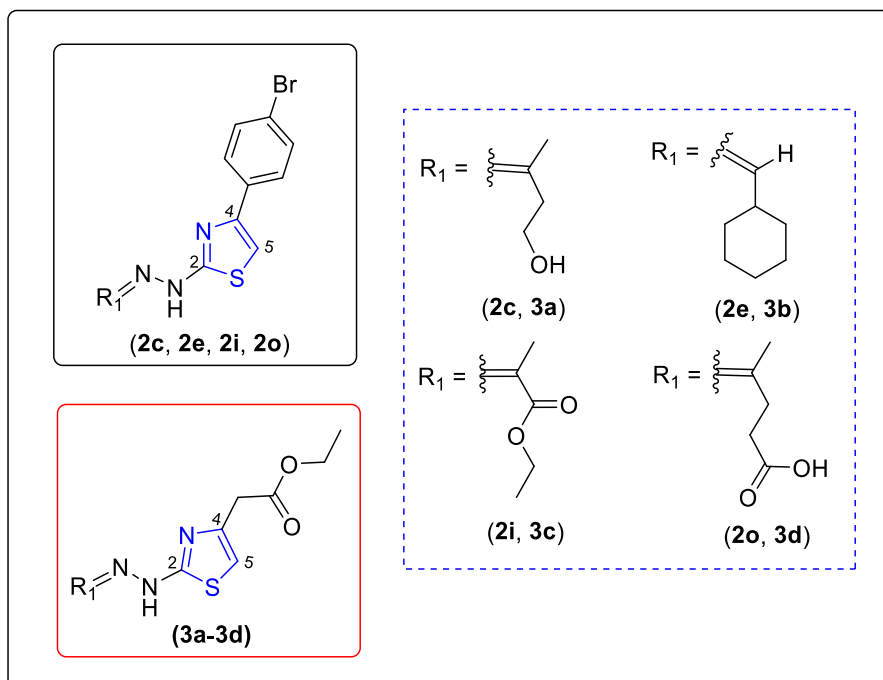
Figura 42 – Rota de síntese e estruturas químicas das tiazolilhidrazonas 3a – 3d sintetizadas



Fonte: Autor, 2021.

Acredita-se que as características físico-químicas destas tiazolilhidrazonas sejam mais adequadas a um candidato a fármaco, em razão da menor hidrofobicidade destas moléculas em comparação às tiazolilhidrazonas sintetizadas previamente, conforme aponta a predição de log P (**Tabela 14**) realizado pelo programa ChemDraw Ultra (comparar **3a** vs **2c**, **3b** vs **2e**, **3c** vs **2i**, **3d** vs **2o**).

Tabela 14 – Pedição do log P das substâncias 3a – 3d, 2c, 2e, 2i e 2o utilizando o programa ChemDraw Ultra



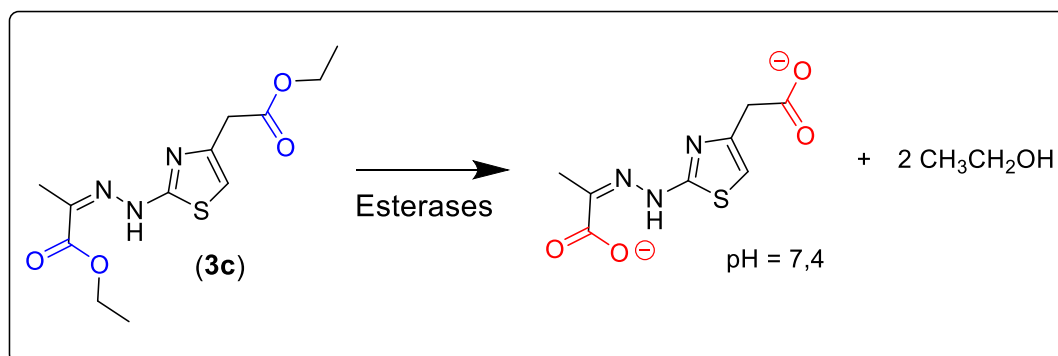
Substâncias	Log P	Substâncias	Log P
2c	4,08	3a	1,68
2e	5,69	3b	3,28
2i	4,21	3c	1,81
2o	4,15	3d	1,75

Fonte: Autor, 2021.

Além disso, a presença de grupos ésteres na estrutura das tiazolilhidrazonas **3a – 3d** torna possível que essas substâncias atuem como pró-fármacos, tendo em vista que grupos ésteres são facilmente hidrolisados *in vivo* por ação de esterases (**Figura 43**). Porém, para a confirmação dessa hipótese seria necessário sintetizar os ácidos carboxílicos correspondentes para avaliação da sua possível atividade antifúngica, além da necessidade de realização de

estudos de farmacocinética para confirmar se esses produtos de hidrólise serão realmente formados *in vivo*.

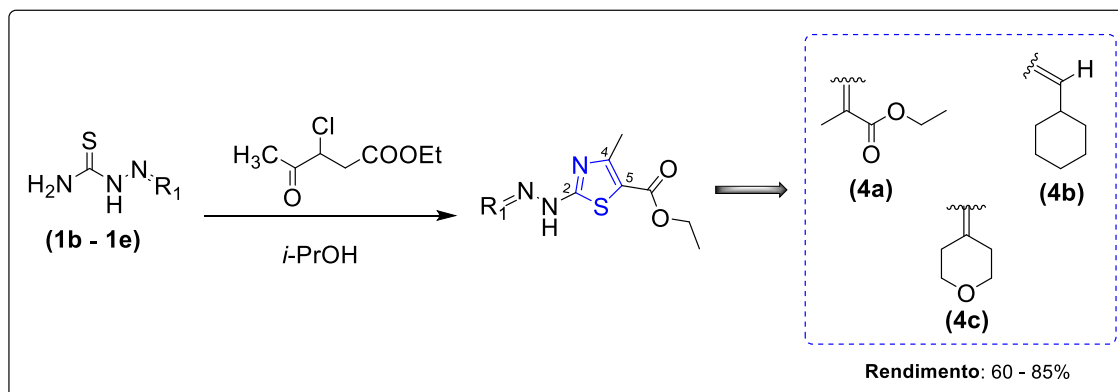
Figura 43 – Proposta de hidrólise da substância 3c catalisada por enzimas esterases



Fonte: Autor, 2021.

Reações de ciclização envolvendo o 2-cloroacetoacetato de etila e as tiossemicarbazonas sintetizadas resultaram na obtenção dos heterociclos tiazólicos 2,4,5-trissubstituídos **4a – 4c** (**Figura 44**). A finalidade da introdução desses novos substituintes no anel tiazólico é obter informações que auxiliem na compreensão da relação estrutura-atividade destes compostos ao se utilizar diferentes grupamentos, com tamanho e características físico-químicas distintas, que exploram novas possibilidades de interações intermoleculares com o possível alvo biológico, alterando a potência e afinidade dessas substâncias com o local de ligação. Além disso, a variação de substituintes da porção hidrazona contribui para a modulação da atividade antifúngica e de parâmetros farmacocinéticos relativos à absorção e biodisponibilidade das tiazolilhidrazonas.

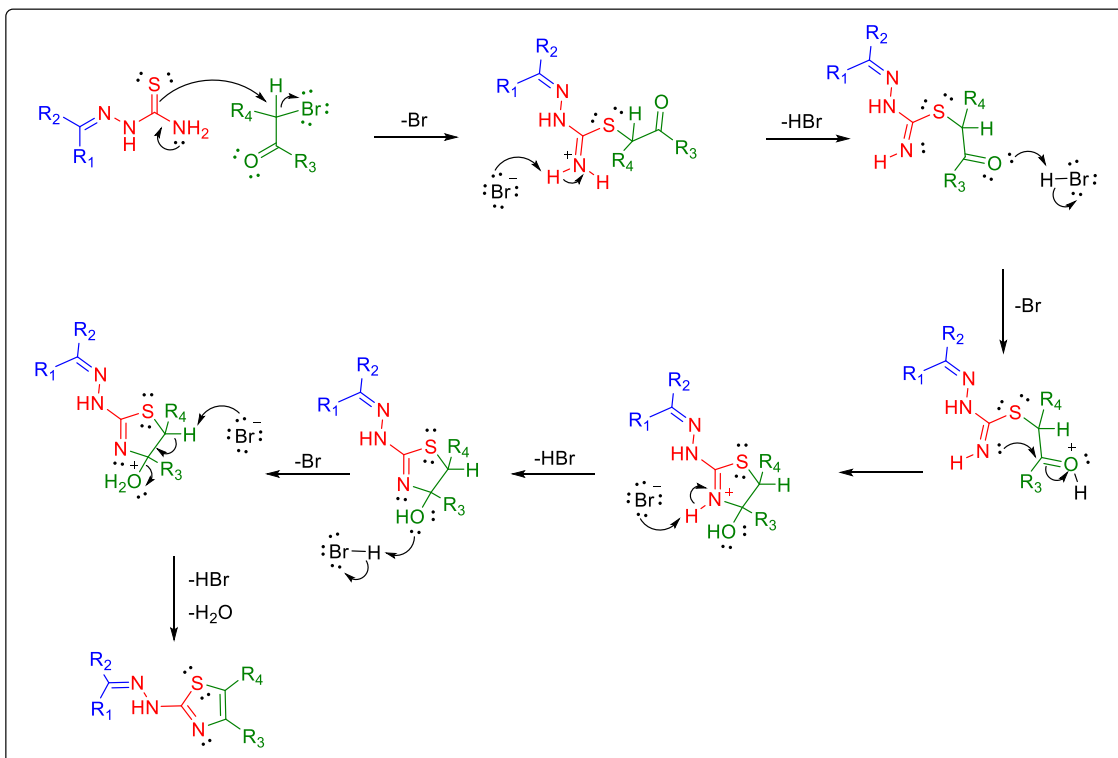
Figura 44 – Rota de síntese e estruturas químicas das tiazolilhidrazonas 4a – 4c sintetizadas



Fonte: Autor, 2021.

O mecanismo proposto para a reação de formação das tiazolilhidrazonas (**Figura 45**) tem início com o ataque nucleofílico do enxofre ao carbono halogenado de um dos seguintes reagentes: α -bromoacetofenona, 2-cloroacetoacetato de etila ou 4-cloroacetoacetato de etila, dando origem a um intermediário catiônico, que é desprotonado por uma base conjugada presente no meio reacional. Simultaneamente, acontece a protonação da carbonila, adjacente ao carbono ligado ao átomo de enxofre, o que a torna suscetível ao ataque nucleofílico intramolecular do nitrogênio N-4 terminal, resultando na formação de um intermediário cíclico hemiaminal protonado. Em sequência, o hidrogênio, ligado ao nitrogênio endocíclico protonado, é abstraído por uma base conjugada. Na etapa final do processo, a hidroxila ligada ao anel de cinco membros captura um próton do meio, tornando-se um bom grupo abandonador, o que favorece a etapa de desidratação, com consequente formação de um sistema de aromático, levando a formação da tiazolilhidrazona de interesse (LINO, 2015; HATZSCH & WEBER, 1887).

Figura 45 – Mecanismo geral proposto para formação das tiazolilhidrazonas



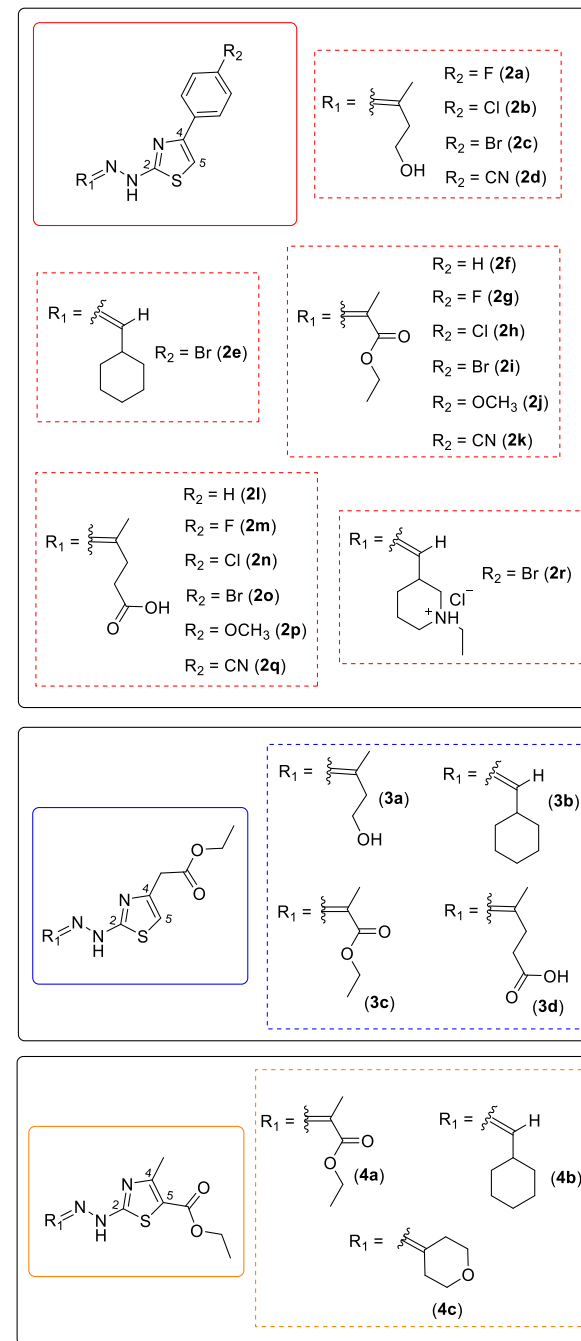
Fonte: Autor, 2021.

5.2.2.1 Caracterização das tiazolilhidrazonas **2a – 2r**, **3a – 3d** e **4a – 4c**

As tiazolilhidrazonas sintetizadas foram caracterizadas pela determinação de sua faixa de fusão e por meio da análise de seus espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . As principais informações referentes aos espectros de RMN que comprovam a formação dos heterociclos tiazolilhidrazonas **2a–2r**, **3a–3d** e **4a–4c**, estão mostradas na **Tabela 15**.

Tabela 15 – Principais dados dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C indicativos da formação das tiazolilhidrazonas 2a–2r, 3a–3d e 4a–4c

Substâncias	H-5	C-2	C-4	C-5	C=N	C=O	C-N	C-O
2a	6,72	169,6	145,9	101,9	154,4	-	-	59,0 e 58,9
2b	7,33	170,0	147,6	104,4	152,8	-	-	58,4 e 57,5
2c	7,31	170,0	148,6	104,2	151,7	-	-	58,4 e 57,5
2d	7,51	170,3	148,7	107,2	151,5	-	-	58,5
2e	7,29 - 7,24	168,7	149,1	103,8	149,6	-	-	-
2f	7,43 - 7,33	168,5	150,5	105,6	137,7	164,0	-	60,8
2g	6,90	168,0	150,5	104,8	137,9	164,1	-	61,6 e 61,4
2h	7,47 - 7,43	168,7	149,4	106,5	137,9	164,0	-	60,9
2i	7,49	168,6	133,6	106,5	137,8	163,9	-	60,7
2j	7,22	168,4	150,3	103,5	137,7	164,0	-	60,8
2k	7,75 e 7,72	168,8	163,9	109,4	138,5	167,2	-	61,6 e 60,8
2l	7,24	170,3	150,2	103,4	150,7	173,8	-	-
2m	7,25 - 7,19	170,4	149,3	103,2	150,6	173,8	-	-
2n	8,47	173,7	133,3	118,7	153,4	175,8	-	-
2o	7,32	170,4	149,1	104,3	150,7	173,8	-	-
2p	7,08	170,1	149,3	101,4	151,3	173,9	-	-
2q	7,58	171,0	148,5	107,9	152,2	174,2	-	-
2r	7,17	169,6	148,0	104,2	150,5	-	57,1; 53,8 e 53,0	-
3a	6,54	170,4	145,5	105,6	150,9	170,0	-	60,6 e 59,6
3b	6,43	169,9	142,1	105,3	151,8	169,2	-	61,1
3c	6,85 e 6,80	169,7	143,0	108,3	140,7	164,3 e 164,4	-	61,4 e 60,9
3d	6,61	169,8	-	105,6	-	173,8 e 173,7	-	60,3
4a	-	178,8	159,2	106,1	137,0	165,9 e 162,5	-	59,9 e 59,3
4b	-	170,9	157,5	110,5	152,5	162,7	-	60,4
4c	-	170,1	156,1	110,2	155,2	162,3	-	68,5; 66,8 e 60,9



Um dos dados indicativos da formação do anel tiazólico é a presença do sinal do hidrogênio H-5 ($\text{CH}=\text{C}$) no espectro de RMN de ^1H das tiazolilhidrazonas sintetizadas, registrado como simpleto. No espectro de RMN das substâncias **2e**, **2f**, **2h** e **2m**, o sinal referente a H-5 foi registrado sobreposto aos sinais dos hidrogênios aromáticos. Por outro lado, as substâncias **2k** e **3c**, devido à formação de isômeros, possuem 2 sinais relativos a H-5 referentes a cada um dos isômeros. No caso dos espectros das tiazolilhidrazonas **4a–4c** não há registro dos sinais referentes à H-5, o que confirma a presença de um substituinte na posição 5 do anel tiazólico.

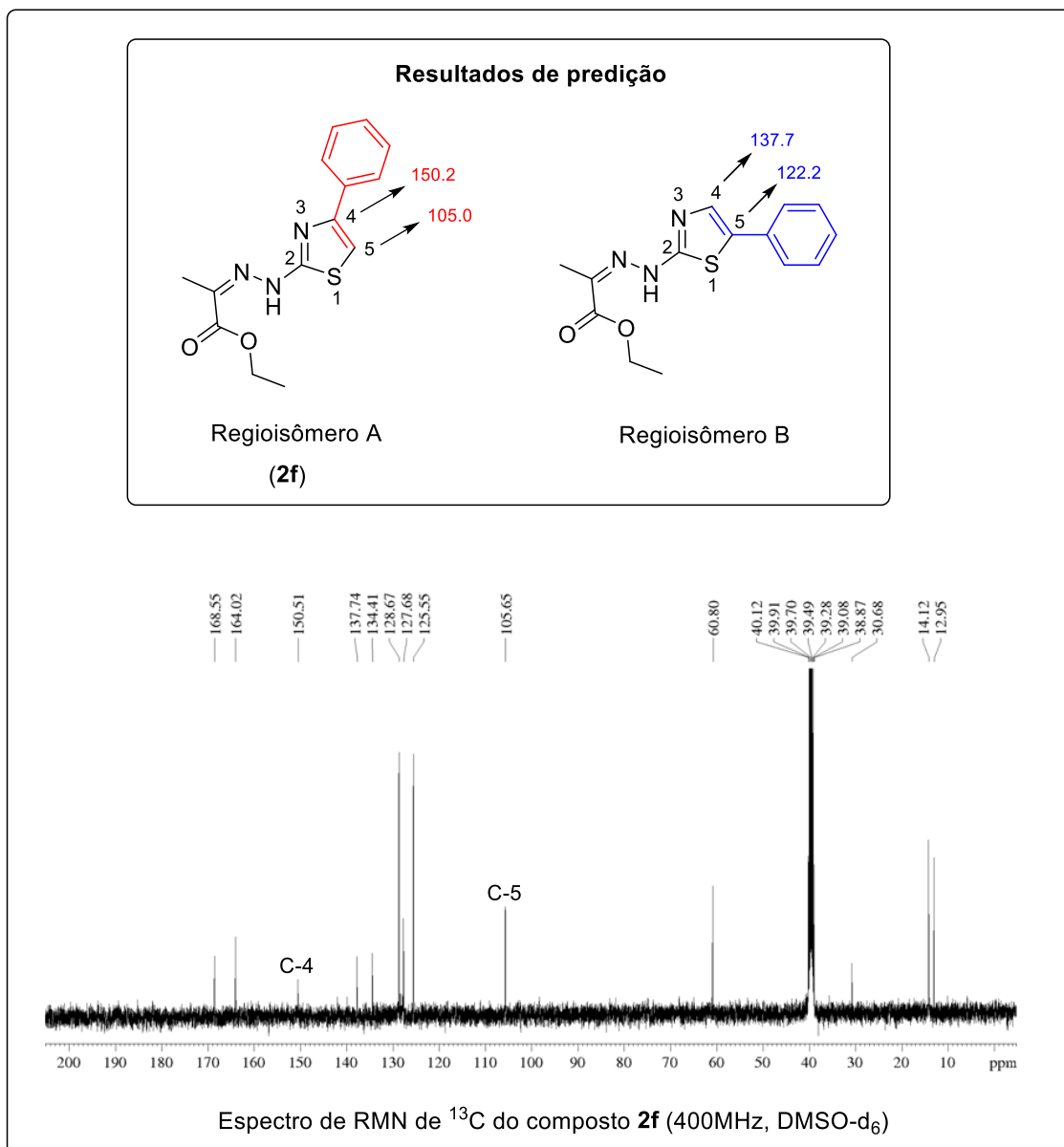
No espectro de RMN de ^{13}C das tiazolilhidrazonas **2a–2r**, **3a–3d** e **4a–4c** observa-se a presença de sinais referentes aos carbonos C-2, C-4 e C-5 do anel tiazólico como um dos principais indicadores da formação deste heterociclo. Ao analisar os deslocamentos químicos (**Tabela 15**) referentes aos sinais dos carbonos C-2 (168,0–178,8 ppm) e C-5 (101,4–110,5 ppm) é possível observar que estão localizados num valor próximo nos espectros de todos os derivados tiazolilhidrazonas. Por outro lado, os sinais relativos ao carbono C-4 apresentaram grande variação de deslocamento químico (133,3 – 163,9 ppm), o que pode ser atribuído aos diferentes grupos substituintes ligados a este carbono, que podem exercer um efeito doador ou retirador de densidade eletrônica alterando os padrões de blindagem de C-4.

Os sinais alusivos à ligação $\text{C}=\text{N}$ da porção carbazona também apresentaram um intervalo mais amplo de deslocamento químico compreendido entre 137,0–155,2 ppm. Porém, um padrão de atribuição para esses sinais pode ser identificado ao comparar as tiazolilhidrazonas derivadas da mesma tiossemicarbazona, por apresentarem o mesmo substituinte nessa região como, por exemplo: **2a – 2d** e **3a** (150,9 – 154,4 ppm); **2e**, **3b** e **4b** (149,6 – 152,5 ppm); **2f – 2k**, **3c** e **4a** (137,0 – 140,7 ppm); **2l – 2q** (150,6 – 153,4 ppm). Deste modo, observa-se que as tiazolilhidrazonas **2f – 2k**, **3c** e **4a** que apresentam um substituinte aromático em $\text{C}=\text{N}$ da porção carbazona, possuem o sinal desse carbono mais blindado e, portanto, mais próximo do TMS quando comparado aos demais com substituinte alifático.

Nos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos **2f** – **2k**, **3a** – **3d** e **4a** – **4c**, apresentando substituintes ésteres ou ácidos carboxílicos, pode-se observar sinais compatíveis com os de carbono carbonílico (C=O) de éster (164,0 – 167,2 ppm) ou de ácido carboxílico (173,8 – 174,2 ppm). Os sinais de carbono ligado a oxigênio (C-O) referentes à função álcool são observados nos espectros das substâncias **2a** – **2d** e **3a** (57,5 – 59,6 ppm), havendo duplicação desses sinais para os compostos **2a** – **2c** pela formação de isômeros. De modo semelhante, nos intervalos de 59,3 – 61,6 ppm observa-se os sinais relativos a C-O da função éster das substâncias **2f** – **2k**, **3a** – **3d** e **4a** – **4c**, com duplicação desses sinais para os compostos **2g** e **2k** oriundos da formação de isômeros. Além disso, nos espectros de RMN de ^{13}C do composto **4c** estão presentes em 68,5 e 66,8 ppm os sinais de C-O referentes a função éter do heterociclo tetrahydro-2H-pirano. Além do mais, o composto **2r** apresentou 3 sinais (60,9; 66,8 e 68,5 ppm) que podem ser atribuídos aos carbonos ligados ao nitrogênio (C-N), estes sinais estão mais desblindados que o esperado, pelo efeito retirador de elétrons exercido pelo nitrogênio protonado na forma de sal.

Com base nos dados proporcionados pela análise dos espectros de RMN das tiazolilhidrazonas sintetizadas é possível observar uma regioseletividade na formação do anel tiazólico 2,4-dissubstituído (regioisômero A) em detrimento ao isômero 2,5-dissubstituído (regioisômero B), que pode ser constatado por meio da simulação de deslocamento químico dos sinais referentes aos carbonos do anel tiazólico, empregando o programa ChemDraw Ultra (**Figura 46**). Deste modo, ao comparar, por exemplo, os resultados de predição com os deslocamentos químicos reais presentes no espectro de RMN de ^{13}C da substância **2f** é possível confirmar a regioseletividade de formação do regioisômero A. Tendo em vista que a ligação de um átomo de hidrogênio a C-4 acarretaria em uma maior blindagem deste carbono (~137,7 ppm), ao contrário de um átomo mais eletronegativo como um carbono sp^2 , que resultaria em um deslocamento aproximado em 150,2 ppm, compatível com o sinal presente no espectro de RMN de **2f** para C-4 (150,5 ppm).

Figura 46 – Valores preditos de deslocamento químico para C-4 e C-5 do anel tiazólico dos regioisômeros A e B da substância 2f comparados aos registrados no espectro de RMN de ^{13}C (400MHz, DMSO- d_6) desta substância

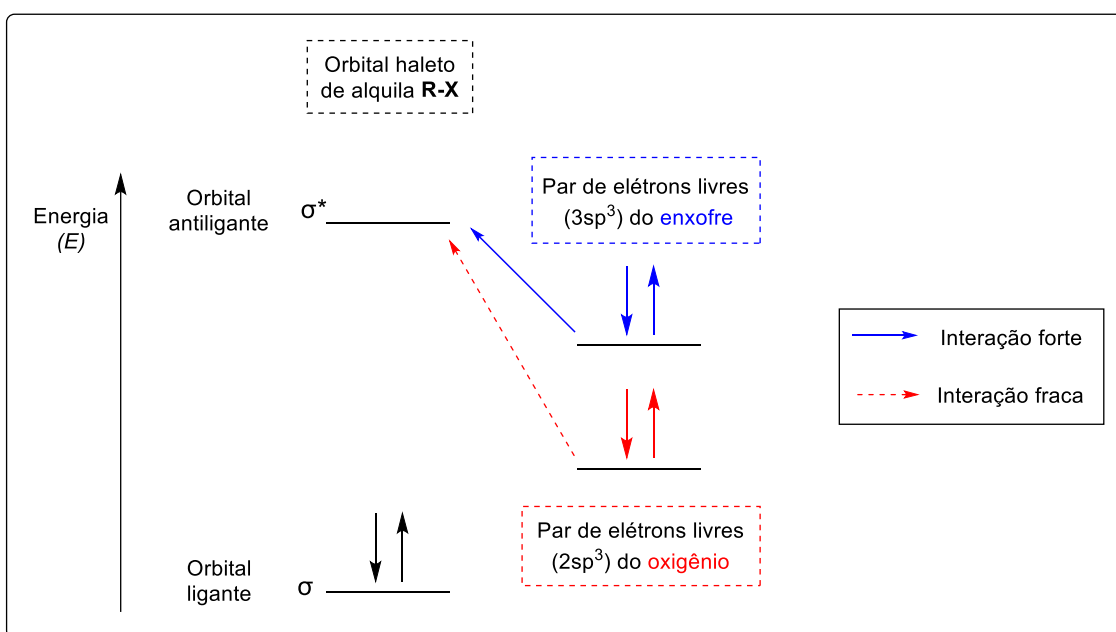


Fonte: Autor, 2021.

Esta regioseletividade pode ser atribuída ao caráter mais nucleofílico do enxofre em comparação com o nitrogênio, considerando o mecanismo mostrado na **Figura 45**. Além disso, apesar da maior eletronegatividade do oxigênio do álcool utilizado como solvente, em reações de substituição

nucleofílica em carbono sp^3 , o enxofre, também, atua melhor como nucleófilo que o oxigênio devido a maior facilidade de interação dos elétrons de valência do enxofre com o orbital antiligante do carbono saturado, exigindo uma menor energia de ativação para que a reação ocorra (CLAYDEN *et al.*, 2012), conforme ilustrado na **Figura 47**.

Figura 47– Esquema de comparação de nucleofilicidade do oxigênio vs enxofre



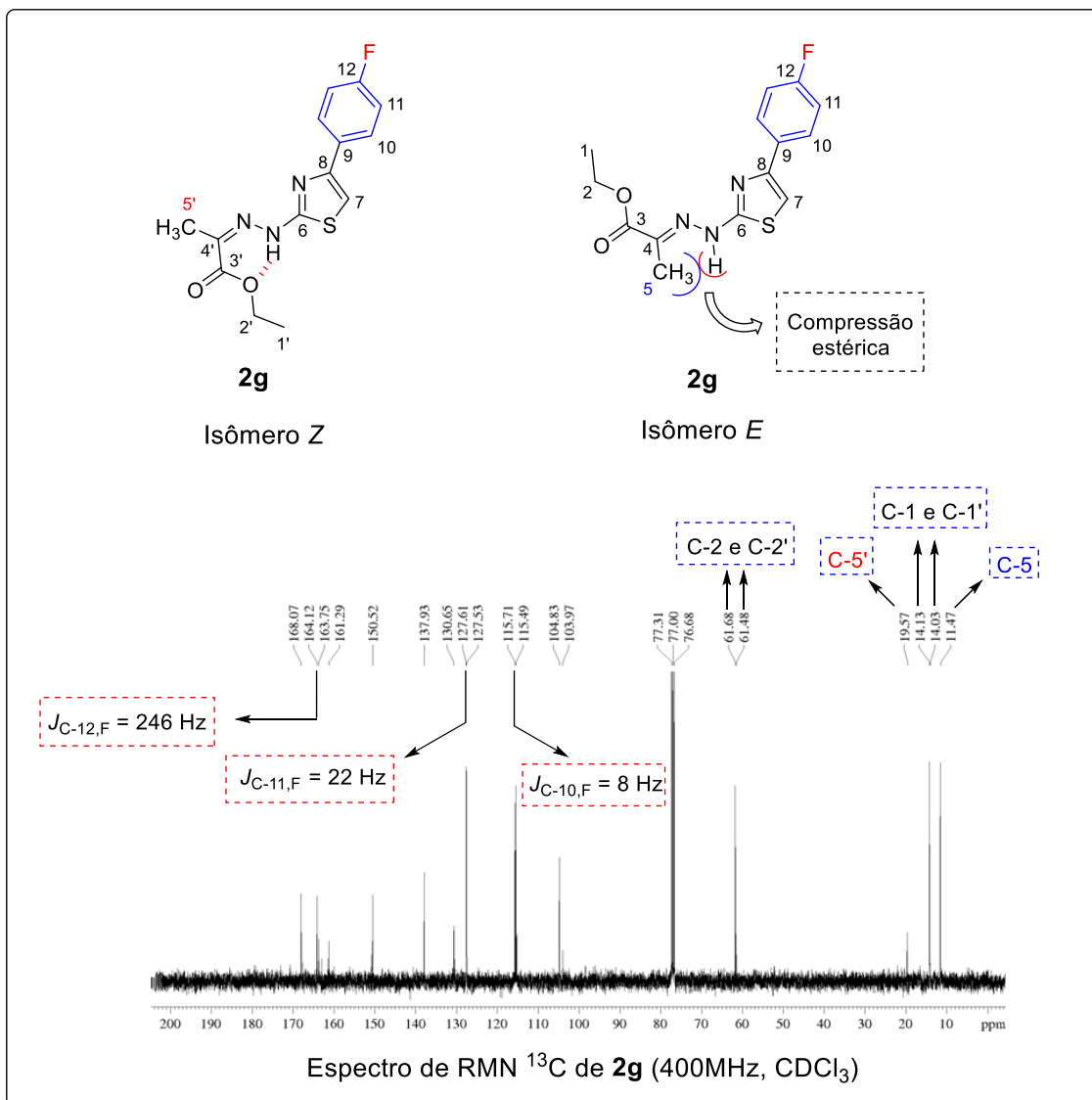
Fonte: Adaptado de CLAYDEN *et al.*, 2012.

Durante a síntese das tiossemicarbazonas foi observada a formação de isômeros geométricos *Z* e *E*. Essa mistura isomérica, quando em solução, há uma tendência de conversão do isômero *Z* para *E*, buscando alcançar uma maior estabilidade termodinâmica para o composto (TENÓRIO *et al.*, 2005). Deste modo, a formação de uma mistura de isômeros *Z* e *E*, também foi observada nos espectros de RMN de 1H e ^{13}C dos derivados tiazolilhidrazonas **2a – 2d**, **2f**, **2g**, **2k**, **2n**, **3a – 3d**, evidenciados pela presença de sinais duplicados. Porém, não houve separação destes isômeros devido à baixa estabilidade destes compostos em cromatografia em coluna de sílica e pela

possibilidade da interconversão entre as formas isoméricas *Z* e *E* (LINO, 2015; TENÓRIO *et al.*, 2005).

Utilizando como exemplo a substância **2g** (**Figura 48**), quanto maior a proximidade da ligação C=N da porção carbazona, maior o desdobramento do sinal dos carbonos adjacentes a esta ligação, como é possível perceber nos sinais dos carbonos C-5 e C-5' com aproximadamente 10 ppm de diferença entre eles. Essa discrepância acentuada no deslocamento químico do sinal desses carbonos nos dois isômeros pode estar associada ao efeito de compressão estérica dos hidrogênios metílicos e o nitrogênio (N-H) da porção hidrazona, que resulta na desblindagem dos hidrogênios, com consequente blindagem do carbono C-5 do isômero *E*. Este efeito é amenizado com o distanciamento da ligação C=N, em que o desdobramento se torna menos pronunciado (C-1 vs C-1' e C-2 vs C-2') (SILVERSTEIN *et al.*, 2005; PAVIA *et al.*, 2001).

Figura 48 – Representação dos isômeros Z e E da substância 2g e de seu espectro de RMN ^{13}C (400MHz, CDCl_3)

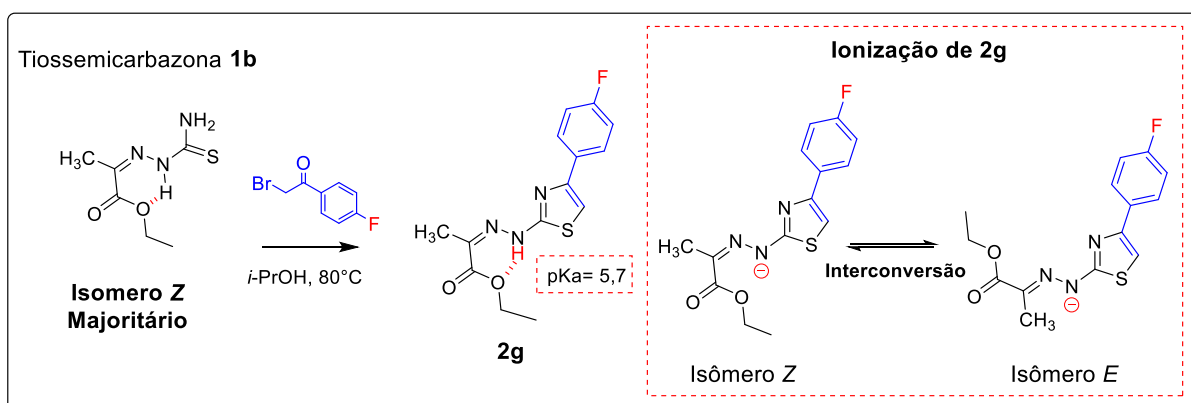


Fonte: Autor, 2021.

Além disso, ao analisar os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C da tiossemicarbazona **1b** precursora do composto **2g**, observa-se a predominância de uma única forma isomérica. Em contrapartida, o espectro de RMN de ^{13}C da substância **2g** (Figura 48) demonstra a presença das formas isoméricas Z e E. Uma hipótese para tal circunstância seria a formação predominante do isômero Z da tiossemicarbazona **1b**, que origina um anel de seis membros estabilizado por ligação de hidrogênio, entre o oxigênio do grupo

éster e o hidrogênio ligado ao nitrogênio da porção hidrazona. Após a síntese do heterociclo **2g** a estabilização da forma isomérica Z, por ligação de hidrogênio, pode ser comprometida pela ionização do hidrogênio (N-H) da porção hidrazona, tendo em vista que a simulação de pKa utilizando o programa Marvin sketch 16.10.3 (CHEMAXON, 2021) apresentou valor de pKa = 5,7 para este hidrogênio. Deste modo, esse processo de ionização possibilita a ocorrência das duas formas isoméricas, por interconversão, para o composto **2g**, conforme demonstrado na **Figura 49**.

Figura 49 – Proposta de formação dos isômeros Z e E para a substância **2g**



Fonte: Autor, 2021.

As tiazolilhidrazonas **2a**, **2g** e **2m** apresentam um acoplamento heteronuclear ^{13}C - ^{19}F , por conterem um átomo de flúor ligado a um átomo de carbono-13. Este tipo de ligação tem como resultado o desdobramento do sinal na forma de duplete, pois o flúor possui o mesmo *spin* nuclear de um próton. Além disso, podem ocorrer acoplamentos a longa distância (*orto* e *meta*) entre carbono e flúor, como observado nos espectros de RMN de ^{13}C desses compostos (TEIXEIRA, 2019; SILVERSTEIN *et al.*, 2005; PAVIA *et al.*, 2001). Utilizando-se como exemplo o composto **2g** (**Figura 48**), percebe-se o acoplamento heteronuclear ^{13}C - ^{19}F , associado a uma redução nos valores das constantes

de acoplamento, à medida que ocorre o distanciamento dos carbonos com relação ao átomo de flúor do sistema aromático.

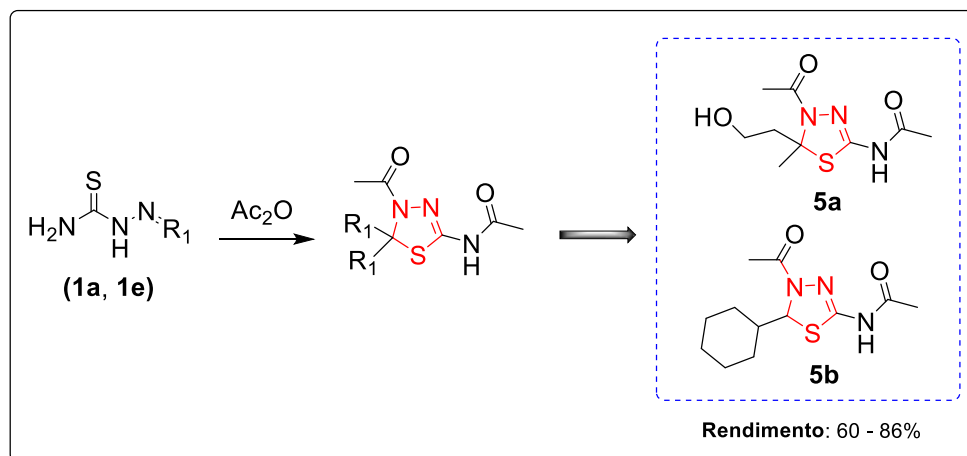
Além disso, a tiazolilhidrazona **2r** apresenta um centro quiral que ocasiona o desdobramento dos sinais de hidrogênios diasterotópicos adjacentes (CH₂) ao carbono assimétrico, aumentando significativamente a complexidade de seu espectro de RMN de ¹H. De modo semelhante, esse efeito pode ser observado no espectro de RMN de ¹H da tiossemicarbazona **1f**, precursora dessa substância.

5.2.3 Síntese dos heterociclos tiadiazolínicos e tiadiazol **5a**, **5b** e **6a**

Os heterociclos tiadiazóis foram propostos com objetivo de averiguar a influência da porção tiazolilhidrazona sobre a atividade antifúngica das substâncias sintetizadas, além de possibilitar a análise da potencial atuação deste grupo como farmacóforo. Deste modo, ao substituir o grupamento tiazolilhidrazona pelo heterociclo tiadiazol é possível atestar as implicações desta modificação sobre a atividade biológica, além de permitir a eventual identificação de bioisósteros capazes de aperfeiçoar as características *drug-like* dessa classe de compostos.

Neste contexto, a obtenção dos novos derivados tiadiazolínicos (**Figura 50**) ocorreu *via* reação de acetilação das tiossemicarbazonas empregando o anidrido acético como reagente. Neste processo, a ciclização intramolecular é impulsionada com consequente formação do heterociclo tiadiazolínico, a temperatura de 90° C.

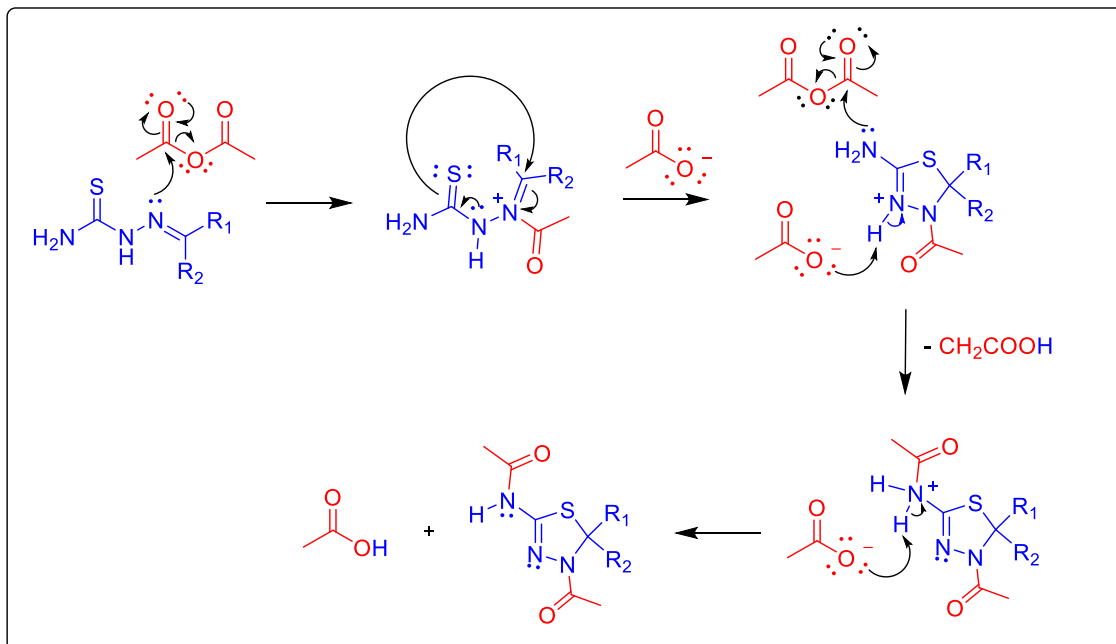
Figura 50 – Rota de síntese e estruturas químicas dos compostos tiadiazolínicos 5a e 5b



Fonte: Autor, 2021.

O mecanismo de formação dos derivados tiadiazóis tem início com o ataque nucleofílico do nitrogênio N-1 da tiossemicarbazona à carbonila do anidrido acético. Em seguida, com a protonação do nitrogênio N-1 desencadeia-se um processo de ciclização intramolecular, impulsionado pelo aumento da polarização da ligação C=N que torna este carbono mais suscetível ao ataque nucleofílico do enxofre. Posteriormente, o nitrogênio endocíclico protonado tem seu hidrogênio abstraído pela base conjugada do ácido acético, ocorrendo simultaneamente uma nova acetilação da amina primária exocíclica, que após desprotonada origina o novo derivado tiadiazol de interesse (**Figura 51**) (SHIH & WU, 2005).

Figura 51 – Mecanismo proposto para formação dos heterociclos tiadiazolínicos



Fonte: Autor, 2021.

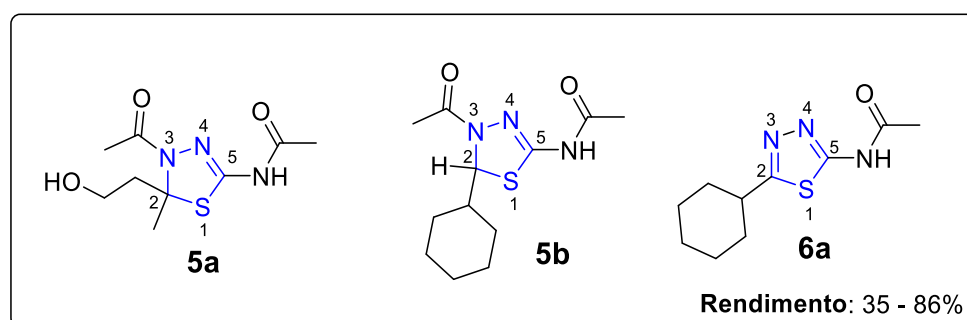
O rendimento proporcionado por esta reação foi de 60% para a substância **5a** e 86% para **5b**.

Com intuito de explorar as características estruturais da substância **5b**, esta molécula foi submetida a uma nova reação na presença de agentes oxidantes KMnO₄ e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) com o objetivo de promover a desacetilação do nitrogênio endocíclico estabelecendo um sistema aromático no heterociclo tiadiazol. A partir dessas modificações, as potenciais implicações para a atividade biológica deste composto foram averiguadas. Como resultado desse procedimento foi obtido a substância **6a** com 35% de rendimento.

5.2.3.1 Caracterização dos heterociclos tiadiazolínicos e tiadiazol **5a**, **5b** e **6a**

A caracterização dos compostos tiadiazolínicos foi realizada por determinação de sua faixa de fusão, bem como, a interpretação dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Os principais dados dos espectros de RMN que comprovam a formação dos heterociclos tiadiazóis estão representados na **Tabela 16**.

Tabela 16 – Principais sinais no espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C indicativos da formação dos heterociclos tiadiazóis **5a, **5b** e **6a****



Substâncias	N-H	C-2	C-5	C=O	CH ₂ -OH
5^a	10,44	78,6	142,9	170,5 e 169,3	61,3
5b	11,56	69,7	147,1	169,2 e 167,7	-
6^a	13,42	160,0	170,3	168,8	-

Fonte: Autor, 2021.

Os sinais referentes aos carbonos C-2 e C-5 são os principais indicadores da formação dos heterociclos tiadiazolínicos e tiadiazol. Ao analisar os sinais dos carbonos C-2 das substâncias **5a** (78,6 ppm) e **5b** (69,7 ppm), percebe-se uma acentuada diferença no deslocamento químico destes carbonos, decorrente da influência exercida pelos substituintes do carbono *ipso* da substância **5a**. Além disso, a formação do centro quiral em C-2 nos compostos **5a** e **5b** ocasionam o

desdobramento dos sinais dos hidrogênios diastereotópicos adjacentes formando multipletos. Por outro lado, os sinais do carbono C-5 dos compostos **5a** e **5b** apresentaram valores de deslocamento químico de 142,9 e 147,1 ppm, respectivamente. Neste contexto, um sinal com deslocamento químico compatível com carbono oxigenado de grupo álcool (61,3 ppm) foi observado no espectro de RMN de ^{13}C de **5a** e sinais referentes a carbonila de amida ($\text{C}=\text{O}$) (167,7 – 170,5 ppm) foram identificados nos espectros dos três derivados tiadiazóis. Além disso, nos espectros de RMN de ^1H é possível visualizar o sinal de N-H pertencentes ao grupo amida com deslocamentos superiores a 10 ppm.

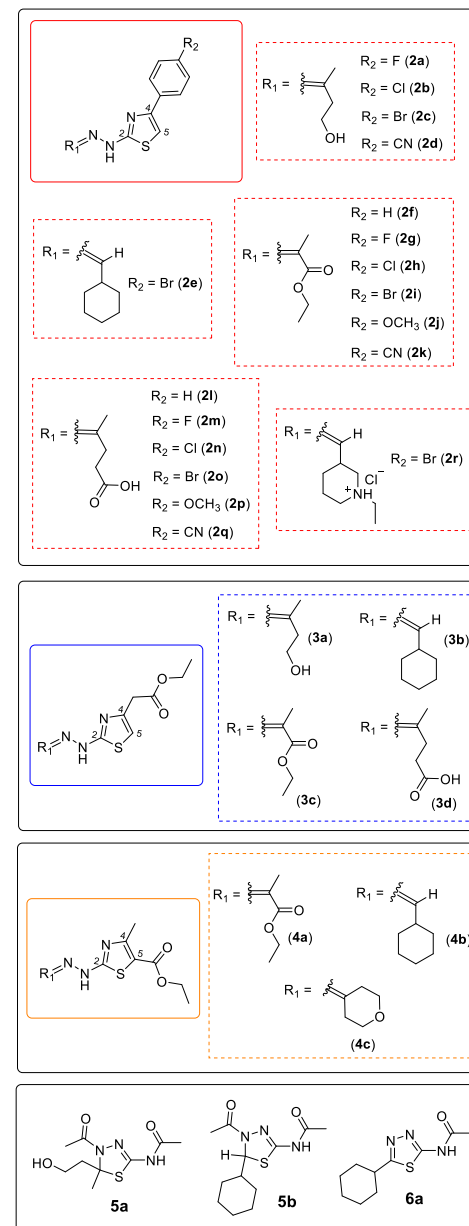
Com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C da substância **6a**, observa-se a formação de um sistema aromático no anel tiadiazólico com base no deslocamento químico dos sinais na região de aromáticos atribuído ao carbono C-2 (160,0 ppm) e desacetilação do nitrogênio endocíclico pela ausência do sinal referente a uma das carbonilas e aos grupos metílicos, quando comparado com os espectros da substância precursora **5b**.

5.3 Ensaios biológicos

A atividade antifúngica das substâncias sintetizadas foi avaliada pela equipe da Profa. Susana Johan do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG. As substâncias foram testadas contra oito espécies de fungos patogênicos de relevância clínica. As moléculas que apresentaram MIC superior a 125 μM foram consideradas inativas, sendo os resultados expressos na **Tabela 17**.

Tabela 17 – Resultados de concentração inibitória mínima – MIC (μM) dos heterociclos sintetizados

Substâncias	Concentração Inibitória Mínima - MIC (μM)							
	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. auris</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>C. gatii</i>
2a	1,72	6,98	3,47	6,98	1,72	0,21	3,47	3,47
2b	3,28	6,59	1,62	3,28	0,41	0,81	6,59	6,59
2c	0,71	1,41	1,41	2,85	1,41	0,18	2,85	2,85
2d	6,81	3,39	6,81	13,62	1,68	0,42	0,42	0,42
2e	>343,12	>343,12	>343,12	>343,12	>343,12	>343,12	>343,12	>343,12
2f	>432,00	>432,00	>432,00	>432,00	>432,00	>432,00	>432,00	>432,00
2g	>406,71	>406,71	>406,71	>406,71	101,68	25,41	>406,71	>406,71
2h	>386,04	>386,04	>386,04	>386,04	193,02	>386,04	>386,04	>386,04
2i	42,42	42,42	10,59	10,59	5,30	10,59	42,42	42,42
2j	>391,38	>391,38	>391,38	>391,38	>391,38	>391,38	>391,38	>391,38
2k	24,84	12,41	49,69	99,41	49,69	12,41	24,84	12,41
2l	1,66	6,74	1,66	1,66	6,74	1,66	3,35	3,35
2m	1,56	0,78	1,56	3,16	0,78	0,20	1,56	1,56
2n	0,74	0,19	0,74	3,00	0,74	0,19	1,48	0,74
2o	0,16	0,65	0,16	1,30	0,65	0,16	1,30	0,65
2p	0,19	0,75	0,75	3,04	0,19	0,19	0,75	0,19
2q	1,53	3,09	3,09	3,09	0,76	0,19	1,53	1,53
2r	18,21	145,76	2,26	4,55	1,12	9,10	72,88	72,88
3a	57,57	57,57	7,19	28,78	1,77	57,57	115,17	115,17
3b	26,44	26,44	0,81	3,28	0,41	26,44	52,88	52,88
3c	52,18	52,18	52,18	52,18	6,51	52,18	104,39	104,39
3d	0,20	0,20	0,40	0,40	0,40	0,20	1,60	1,60
4a	>417,57	>417,57	>417,57	52,18	>417,57	208,79	>417,57	104,39
4b	>423,15	>423,15	>423,15	>423,15	>423,15	>423,15	>423,15	>423,15
4c	>441,15	>441,15	220,58	>441,15	110,29	>441,15	>441,15	>441,15
5a	>509,58	>509,58	>509,58	>509,58	>509,58	>509,58	>509,58	>509,58
5b	>464,06	>464,06	>464,06	>464,06	>464,06	>464,06	>464,06	>464,06
6a	>509,58	>509,58	>509,58	>509,58	>509,58	>509,58	>509,58	>509,58
Fluconazol	1,63	3,27	13,06	0,82	104,48	208,97	26,12	52,24



Com intuito de comparar o potencial farmacológico dos novos heterociclos sintetizados, utilizou-se o fluconazol como controle positivo por este ser um fármaco bem estabelecido na terapêutica antifúngica. Deste modo, os heterociclos sintetizados que apresentaram potência superior ao fluconazol, frente a determinadas espécies fúngicas, estão destacados na cor azul na **Tabela 17**, sendo a substância mais ativa para cada espécie destacada na cor vermelha.

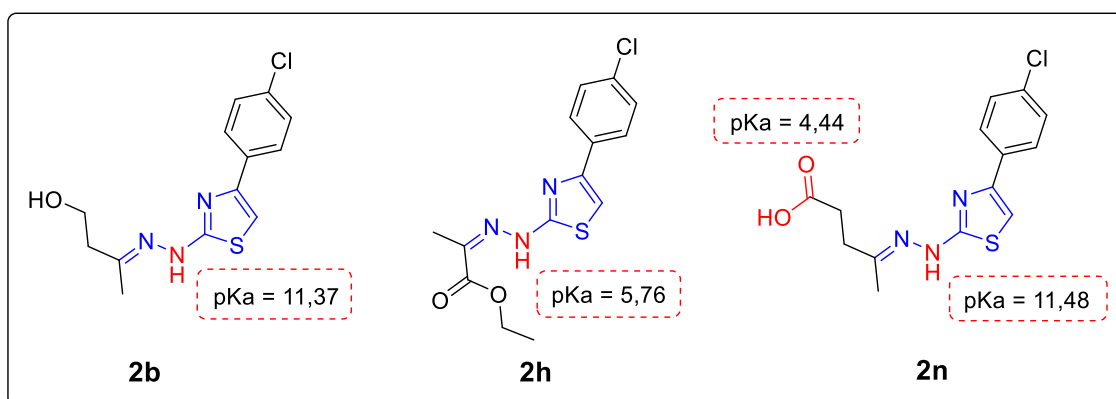
No grupo dos compostos **2a – 2r**, observa-se que as substâncias **2a – 2d** e **2l – 2q**, que possuem na porção hidrazona um grupo alifático com extremidade polar apresentaram amplo espectro de ação contra as espécies fúngicas testadas associado a alta potência. Desse grupo, ao comparar os heterociclos com porção hidrazona similar, observa-se que os compostos **2c** e **2o**, apresentando um substituinte bromo na posição *para* do anel aromático, exibiram atividade antifúngica superior contra a maioria das cepas fúngicas.

Para a substância **2e** era esperado uma alta atividade biológica, tendo em vista o notório desempenho antifúngico de seus análogos estruturais anteriormente sintetizados por nosso grupo de pesquisa. Em detrimento disso, novas análises foram efetuadas para compreender os motivos dessa perda de atividade, ficando constatado por meio de espectrometria de RMN a degradação da substância anteriormente caracterizada. Posteriormente, quantidades adicionais da substância **2e** será sintetizada para repetição dos ensaios.

Os compostos **2f – 2k** que possuem um grupo éster na porção hidrazona, resultando em um sistema conjugado nessa região, ocasionou, de modo geral, uma significativa perda de atividade, quando comparado às substâncias **2a – 2d** e **2l – 2q**. Especula-se que este fato possa estar relacionado ao aumento da acidez do hidrogênio ligado ao nitrogênio da porção hidrazona, que se torna ionizável em pH fisiológico (~ 7,4) favorecido pela estabilização da base conjugada formada. Deste modo, ao comparar as substâncias **2b**, **2h** e **2n** que se diferem apenas pelo substituinte da porção hidrazona, observa-se que a redução da acidez desse hidrogênio repercutiu em um aumento da atividade dos compostos **2b** e **2n** quando comparados a **2h**, conforme indicado pela

simulação de pKa realizada utilizando o programa Marvin sketch 16.10.3 (CHEMAXON, 2021) (**Figura 52**).

Figura 52 – Comparação de valores de predição de pKa das substâncias 2b, 2h e 2n pelo programa Marvin sketch



Fonte: Autor, 2021.

A substituição do anel aromático dos compostos **2a – 2r** na posição 4 do anel tiazólico pelo grupo éster nos compostos **3a – 3d**, demonstrou uma ótima influência no espectro de ação e potência para a substância **3d**. Entretanto, tais modificações restringiram a potência das substâncias **3a**, **3b** e **3c**, principalmente contra as espécies de *Cryptococcus*.

A introdução do substituinte metílico na posição 4 e do grupo éster na posição 5 do anel tiazólico das substâncias **4a–4c** ocasionou uma completa perda de atividade. De modo semelhante, a substituição do grupo tiazolilhidrazona pelo heterociclo tiadiazol nas substâncias **5a**, **5b** e **6a** resultou na perda da atividade, demonstrando a importância da porção tiazolilhidrazona como farmacóforo.

Ao analisar a atividade antifúngica dos heterociclos sintetizados frente à espécie fúngica de *C. auris*, temida pela multirresistência a várias classes de antifúngicos, destacam-se os compostos **2a – 2d**, **2m – 2q** e **3d** com alta capacidade de inibição do crescimento e proliferação desta espécie. A

concentração inibitória mínima alcançada para essas substâncias esta compreendida na faixa de nanomolar, muito superior ao padrão fluconazol que se demonstrou, pelos critérios adotados, inativo contra *C. auris*, evidenciando o potencial terapêutico desta classe de compostos.

Ao empregar os modelos de HQSAR **2q**, **58p** e **87t** para predizer a atividade antifúngica dos novos heterociclos sintetizados contra as espécies de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti*, respectivamente; foram obtidos os resultados expressos na **Tabela 18**.

Tabela 18 – Valor de atividade antifúngica experimental vs predita (pMIC) dos heterociclos sintetizados contra as espécies de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti* gerados pelos modelos 2q, 58p e 87t, respectivamente

Substâncias	Concentração Inibitória Mínima - p MIC								
	<i>C. albicans</i> (2q)			<i>C. neoformans</i> (58p)			<i>C. gatti</i> (87t)		
	Experimental	Predito	Resíduo	Experimental	Predito	Resíduo	Experimental	Predito	Resíduo
2a	6,32	5,92	0,40	6,01	6,84	-0,83	6,01	6,69	-0,67
2b	6,01	5,69	0,32	5,71	6,74	-1,03	5,71	6,37	-0,66
2c	6,62	5,73	0,89	6,01	6,82	-0,80	6,01	6,13	-0,11
2d	5,71	5,29	0,42	6,92	6,67	0,25	6,92	6,13	0,79
2e	3,90	5,56	-1,66	3,90	5,61	-1,70	3,90	5,52	-1,62
2f	3,90	5,54	-1,64	3,90	5,23	-1,32	3,90	5,31	-1,41
2g	3,90	5,65	-1,75	3,90	5,49	-1,59	3,90	5,87	-1,96
2h	3,90	5,43	-1,52	3,90	5,39	-1,49	3,90	5,54	-1,64
2i	4,81	5,47	-0,66	4,81	5,47	-0,66	4,81	5,31	-0,50
2k	3,90	5,02	-1,12	3,90	5,32	-1,41	3,90	5,31	-1,41
2j	5,11	5,42	-0,32	5,11	5,27	-0,16	5,41	5,31	0,10
2m	6,32	5,90	0,42	6,01	6,03	-0,02	6,01	6,59	-0,57
2l	6,32	5,79	0,53	6,32	5,77	0,55	6,32	6,03	0,29
2n	6,62	5,68	0,94	6,32	5,93	0,39	6,62	6,26	0,36
2o	7,22	5,72	1,51	6,32	6,01	0,31	6,62	6,03	0,59
2p	7,22	5,27	1,95	6,62	5,86	0,76	7,22	6,03	1,19
2q	6,32	5,67	0,64	6,32	5,81	0,51	6,32	6,03	0,29
3a	5,11	5,30	-0,20	4,51	5,97	-1,46	4,51	4,96	-0,46
2r	4,81	5,26	-0,45	4,51	5,59	-1,08	4,51	5,27	-0,76
3b	5,11	5,14	-0,03	4,81	4,78	0,03	4,81	4,53	0,28
3c	4,81	5,04	-0,23	4,51	4,61	-0,11	4,51	4,41	0,10
4a	7,22	4,89	2,33	6,32	4,16	2,16	6,32	4,23	2,09
3d	3,90	5,29	-1,39	3,90	5,16	-1,25	4,51	4,88	-0,37
4b	3,90	4,99	-1,09	3,90	4,32	-0,42	3,90	4,32	-0,41
4c	3,90	5,05	-1,15	3,90	5,76	-1,85	3,90	4,90	-1,00
5a	3,90	3,84	0,06	3,90	4,02	-0,12	3,90	3,77	0,13
5b	3,90	3,62	0,28	3,90	3,67	0,24	3,90	4,43	-0,53
6a	3,90	4,68	-0,78	3,90	4,08	-0,18	3,90	4,57	-0,66

Fonte: Autor, 2021.

Com base nos valores residuais de cada modelo, calculados pela diferença entre |resultado experimental – valor predito| é possível estabelecer o erro de predição dos modelos para cada molécula. Ao analisar esses resultados, observa-se que o valor residual médio foi inferior a uma unidade logarítmica para os três modelos, sendo de 0,88 (desvio padrão 0,63) para o modelo **2q**, 0,81 (desvio padrão 0,63) para **58p** e 0,75 (desvio padrão 0,57) de média para o modelo **87t**. Esses resultados indicam que os modelos apresentaram capacidade preditiva satisfatória e os valores de desvio padrão demonstram uma baixa dispersão dos resultados em torno da média de predição.

Deste modo, valores residuais de predição muito superiores a uma unidade logarítmica, atribuídos a determinados heterociclos sintetizados, pode ser justificado pela ausência de grupamentos similares nas moléculas utilizadas no conjunto treinamento para construção dos modelos. Como exemplo, os grupos ácido carboxílico e éster não estavam presentes nas estruturas utilizadas para treinar os modelos de HQSAR, sendo formulado, nesses casos, uma estimativa de valores pelo modelo para esses grupos; o que pode explicar o valor residual de predição superior a 1,5 para as substâncias **2f – 2h, 2o, 2p, 4a e 4c** que apresentam um ou ambos os grupos em sua estrutura.

6 CONCLUSÃO

Para compreensão da relação estrutura-atividade e auxílio no planejamento de novos derivados tiazólicos, foram construídos um total de 336 modelos de HQSAR distribuídos em 3 grupos de 112 modelos; sendo cada grupo destinado a prever a atividade dos compostos sintetizados frente às espécies de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti*. Com base nos resultados proporcionados pela validação interna e externa, foram selecionados os modelos **2q** para *C. albicans*, **58p** para *C. neoformans* e **87t** para *C. gatti*, por se destacarem com as melhores capacidades preditivas frente a essas espécies.

O processo de síntese proporcionou a obtenção de 34 substâncias (6 intermediários e 28 produtos finais), sendo 20 inéditas: **1f, 2a, 2b, 2c, 2d, 2g,**

2l, 2m, 2n, 2o, 2p, 2q, 2r, 3a, 3c, 3d, 4a, 4c, 5a e 5b. As substâncias foram sintetizadas com rendimentos igual ou superior a 60%, com exceção do composto **6a** que foi obtido com 35% de rendimento.

Os heterociclos sintetizados foram avaliados *in vitro* contra as espécies fúngicas de *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. auris*; além das espécies de *Cryptococcus neoformans* e *C. gatti*. As substâncias **2a – 2d, 2l – 2q e 3d** apresentaram amplo espectro de ação e potência superior ao fluconazol contra, pelo menos, cinco das oito as espécies fúngicas testadas. Vale ressaltar, que o composto **3d** apresentou atividade superior ao fluconazol contra todas as cepas fúngicas avaliadas. Além do mais, apesar da alta resistência atribuída a espécie de *C. auris*, as substâncias **2a – 2d, 2m – 2q e 3d** se destacaram pela potência em inibir essa espécie, com valores de MIC na faixa de nM.

Além disso, observou-se que a porção hidrazona contendo um grupo alifático com extremidade polar contribuiu para ampliar o espectro de ação e a potência contra as espécies fúngicas analisadas. Em contrapartida, a presença de grupos, que ampliem o sistema de conjugação na porção hidrazona, ocasionou uma perda de atividade biológica. De modo semelhante, a substituição da porção tiazolilhidrazona por um heterociclo tiadiazol acarretou na completa perda de atividade antifúngica.

Os resultados de predição gerados pelos modelos **2q, 58p e 87t** para os heterociclos sintetizados demonstraram satisfatória capacidade preditiva, com média de valores residuais inferiores a uma unidade logarítmica.

Os resultados dessa pesquisa indicam um potencial antifúngico promissor para as tiazolilhidrazonas, e abrem novos horizontes por meio da exploração da versatilidade sintética dessa classe de compostos, permitindo a modulação de parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos, que ao serem associados ao emprego de tecnologias na área de quimioinformática, maximizam as chances de obtenção de produtos com elevada probabilidade de sucesso terapêutico.

7 REFERÊNCIAS

ALVES, V. *et al.* Quimioinformática: uma introdução. **Quím. Nova**, v. 41, p. 1-11, 2017.

ANVISA. **Registro ANVISA nº 125760031 – Cresemba**. 2019. Disponível em: <<https://www.smerp.com.br/anvisa/?ac=prodDetail&anvisald=125760031>>. Acesso em: 06 mai. 2020.

ANVISA. **Relato de surtos de *Candida auris* em serviços de saúde da América Latina**. Comunicado de risco nº 01/2017- GVIM/GGTES/ANVISA. Brasília, 2017. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/alertas/item/comunicado-de-risco-01-2017-candida-auris>>. Acesso em: 15 jun. 2020.

ARAUJO, G. M. L. *et al.* Micoses superficiais na Paraíba: análise comparativa e revisão literária. **An. Bras. Dermatol.**, v. 85, n. 6, p. 943-946, 2010.

AYATI, A. *et al.* Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 97, p. 699-718, 2015.

BARBEDO, L. S. & SGARBI, D. B. G. Candidíase. **J. Bras. Doenças. Sex. Transm.**, v. 22, n. 1, p. 22-38, 2010.

BERGOLD, A. M. & GEORGIADIS, S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. **Visão acadêmica**, v. 5, n. 2, p. 159-172, 2004.

BIOVIA, Dassault Systèmes. Discovery studio visualizer. **San Diego, CA, USA**, v. 92121, 2020.

BLOCK, E. R.; JENNINGS, A. E.; BENNETT, J. E. 5-Fluorocytosine resistance in *Cryptococcus neoformans*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 3, n. 6, p. 649-656, 1973.

CAMPOY, S.; ADRIO, J. L. Antifungals. **Biochem. Pharmacol.**, v. 133, p. 86-96, 2017.

CAPONE, D. *et al.* Micoses pulmonares. **Revista HUPE.**, v. 9, n. 2, p. 72-80, 2010.

CARRIZOSA, M. M. **Candida parapsilosis, C. orthopsilosis y C. metapsilosis: epidemiología de las candidemias, patrones de sensibilidad y mecanismos de resistencia a las equinocandinas.** 2015. Tese (Doutorado em Genética e Microbiologia) - Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, 2015.

CARVALHO, S. S. **Análise da frequência de cepas de *Candida sp.* isoladas nos laboratórios da rede pública e privada do Distrito Federal.** 2015. Monografia (Conclusão de Curso) - Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

CASTRO, T. L. *et al.* Mecanismos de resistência da *Candida sp.* Wwa antifúngicos. **Infarma.**, v. 18, n. 9, p. 30-35, 2006.

CHEMAXON. Marvin Sketch. *Version 16.10.3*, 2021.

CLARK, D. E. What has computer-aided molecular design ever done for drug discovery?. **Expert. Opin. Drug. Dis.**, v. 1, n. 2, p. 103-110, 2006.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; Warren, S. **Organic chemistry.** 2 ed. USA: Oxford University Press, 2012.

COLOMBO, A. L. & GUIMARAES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida spp.* **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, n. 5, p. 599-607, 2003.

CONSONNI, V.; BALLABIO, D.; TODESCHINI, R. Comments on the definition of the Q2 parameter for QSAR validation. **J. Chem. Inf. Model.**, v. 49, n. 7, p. 1669-1678, 2009.

CORRÊA, C. C. *et al.* Ethyl 2-[(carbamothioylamino) imino] propanoate. **Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Rep. Online**, v. 67, n. 8, p. o1967-o1968, 2011.

COSTA, L. B. **Avaliação Farmacológica de Novas Hidrazonas, Candidatas a Fármacos Leishmanicida e Tripanocida**. 2015. Tese (Doutorado em Inovação Terapêutica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

COWEN, L.E. *et al.* Mechanisms of Antifungal Drug Resistance. **Cold. Spring. Harb. Perspect. Med.**, v. 5, n. 7, p. 1-22, 2015.

CRIADO, P. R. *et al.* Micoses superficiais e os elementos da resposta imune. **An. Bras. Dermatol.**, v. 86, n. 4, p. 726-731, 2011.

DE SOUZA, P. W. G. *et al.* *Cryptococcus neoformans* isolados de periplaneta americana recolhidas de ambientes públicos e sua relevância para saúde humana e animal. **Rev. Patol. Trop.**, v. 40, n. 3, p. 239-246, 2011.

DEHURI, S. N.; PRADHAN, P. C.; NAYAK, A. Studies on heterocyclic compounds. Part-vi: synthesis of bridgehead nitrogen triazine and pyrimidine heterocycles. **Chem. Inform.**, v. 15, n. 4, p. no-no, 1984.

DEORUKHKAR, S. C.; SAINI, S.; MATHEW, S. Virulence factors contributing to pathogenicity of *Candida tropicalis* and its antifungal susceptibility profile. **Int. J. Microbiol.**, v. 2014, p. 1-6, 2014.

DEVELOUX, M. Griseofulvin. **An. Dermatol. Venereol.**, v. 128, n.12, p. 1317-1325, 2001.

DIXON, D. M. *et al.* Fungal infections: a growing threat. **Public. Health. Rep.**, v.111, n. 3, p. 226-235, 1996.

EGITO, M.S *et al.* Síntese de nova tiazolhidrazona e avaliação de sua atividade citotóxica frente a células de Leucemia Promielocítica humana (HL-60). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 54., 2014. Natal. **Anais Eletrônicos...** Natal: CBQ, 2014. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2014/trabalhos/1/4916-14729.html>>. Acesso em: 17 jun. 2020.

ELIOPOULOS, G. M.; PEREA, S.; PATTERSON, T. F. Antifungal resistance in pathogenic fungi. **Clin. Infect. Dis.**, v.35, n. 9, p. 1073-1080, 2002.

FIDEL, P. L.; VAZQUEZ, J. A.; SOBEL, J. D. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.12, n. 1, p. 80-96, 1999.

FRANÇA, R. R. F. *et al.* Inibidores Potentes da Enzima Esterol 14alfa-desmetilase Contra *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Virtual Quim.**, v. 6, n. 5, p. 1483-1516, 2014.

GARCÍA, C. S. *et al.* *Candida auris*: descripción de un brote. **Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.**, v. 38, p. 39-44, 2020.

GAST, C. E. *et al.* Azole resistance in *Cryptococcus gattii* from the Pacific Northwest: investigation of the role of ERG11. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 57, n. 11, p. 5478-5485, 2013.

GIOLO, M. P.; SVIDZINSKI, T. I. E. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 46, n. 3, p. 225-234, 2010.

GRUMACH, A. S. *et al.* Consenso em criptococose – 2008. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 41, n. 5, p. 524-544, 2008.

GOLAN, D. E. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

GUIDO, R. V.; ANDRICOPULO, A. D. Modelagem molecular de fármacos. **Rev. Proc. Quím.**, v. 2, n. 4, p. 24-36, 2008.

GULLO, F. P. *et al.* Cryptococcosis: epidemiology, fungal resistance, and new alternatives for treatment. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 32, n. 11, p.1377-1391, 2013.

HANSCH, C. & FUJITA, T. ρ - σ - π Analysis. A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 86, n. 8, p. 1616–1626, 1964.

HANSCHKE, Ernst. The Prins reaction. III. The reaction of allylcarbinol with aldehydes and ketones. **Chem. Ber.**, v. 88, p. 1053-61, 1955.

HATZSCH, A.; WEBER, J. H. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 20, n. 2, p. 3118–3132, 1887.

HAWKINS, P. C. D. *et al.* Conformer generation with OMEGA: algorithm and validation using high quality structures from the Protein Databank and Cambridge Structural Database. **J. Chem. Inf. Model.**, v. 50, n. 4, p. 572-584, 2010.

HOLLA, B. S. *et al.* Synthesis of some new 2,4-disubstituted thiazoles as possible antibacterial and anti-inflammatory agents. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 38, n. 3, p. 313-318, 2003.

HOPFINGER, A. J. *et al.* Construction of 3D-QSAR Models Using the 4D-QSAR Analysis Formalism. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 119, n. 43, p. 10509–10524, 1997.

JOSEPH-HORNE, T. *et al.* Amphotericin B resistant isolates of *Cryptococcus neoformans* without alteration in sterol biosynthesis. **J. Med. Vet. Mycol.**, v. 34, n. 3, p. 223-225, 1996.

KORDALEWSKA, M.; PERLIN, D. S. Identification of drug resistant *Candida auris*. **Front. Microbiol.**, v.10, n. 1918, p. 1-13, 2019.

KAUR, K. *et al.* Synthesis of some novel oxazolidinone-thiazole hybrids as potential antimicrobial, antioxidant and UV mediated DNA damage protecting agents. **Med. Chem. Res.**, v. 25, n.10, p. 2237-2249, 2016.

KNIME SOFTWARE. *KNIME Analytics Platform. Version 4.0.1 (2019).*

KUBINYI, H. Quantitative structure-activity relations. 7. The bilinear model, a new model for nonlinear dependence of biological activity on hydrophobic character. **J. Med. Chem.**, v. 20, n. 5, p. 625-629, 1977.

ŁĄCZKOWSKI, K. *et al.* Synthesis, antimicrobial evaluation and theoretical prediction of NMR chemical shifts of thiazole and selenazole derivatives with high antifungal activity against *Candida* spp. **J. Mol. Struct.**, v. 1108, p. 427-437, 2016.

LANJEWAR, D. N. The spectrum of clinical and pathological manifestations of AIDS in a consecutive series of 236 autopsied cases in Mumbai, India. **Patholog. Res. Int.** v. 2011, p. 1-12, 2011.

LINO, C. I. **Síntese e avaliação das atividades antioxidante e citotóxica de análogos da curcumina e heterociclos tiazólicos.** 2015. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG, 2015.

LINO, C.I. *et al.* Synthesis, molecular modeling studies and evaluation of antifungal activity of a novel series of thiazole derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, v.151, p. 248-260, 2018.

LIPINSKI, C. A. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 23, n. 1-3, p. 3-25, 1997.

MARTINS, M. C. M. R. **Estudo de HQSAR, acoplamento molecular e cálculos de propriedades eletrônicas de compostos com atividade biológicas frente aos alvos DPP-IV e FAP α .** 2018. Dissertação (Pós Graduação em Ciências e Tecnologia Química) – Centro de Ciências e Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, 2018.

MAZIARZ, E. K. & PERFECT, J. R. Cryptococcosis. **Infect. Dis. Clin. North. Am.**, v. 30, n. 1, p. 179-206, 2016.

MAZU, T. K. *et al.* The Mechanistic Targets of Antifungal Agents: An Overview. **Mini. Rev. Med. Chem.**, v. 16, n. 7, p. 555–578, 2016.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

NASCIMENTO, M. N. **Desenvolvimento de modelos de QSAR e planejamento de novos inibidores da enzima dUTPase de Plasmodium falciparum**. 2015. Dissertação (Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

NEGRONI, R. Cryptococcosis. **Clin. Dermatol.**, v. 30, n. 6, p. 599-609, 2012.

NOBRE, M. O. *et al.* Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. **Cienc. Rural.**, v. 32, n. 1, p. 175-184, 2002.

OPENEYE, Scientific Software. OMEGA 2.5.1.4. Santa Fe, NM. 2010.

OUF, S. A. *et al.* Efficiency of newly prepared thiazole derivatives against some cutaneous fungi. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 26, n. 12, p. 3287-3295, 2018.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. Introduction to spectroscopy. 3 ed. Toronto: Nelson Thomson Learning, 2001.

PEIXOTO, J.V. *et al.* Candidíase – uma revisão de literatura. **Braz. J. Surg. Clin. Res.**, v. 8, n. 2, p.75-82, 2014.

PEYTON, L. R.; GALLAGHER, S.; HASHEMZADEH, M. Triazole antifungals: a review. **Drugs Today**, v. 51, n. 12, p. 705-718, 2015.

PICCIRILLO, E.; AMARAL, A. T. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Quím. Nova**, v. 41, n. 6, p. 662-677, 2018.

PIGATTO, M. C.; UCHOA, F. T.; COSTA, T. D. Farmacocinética dos novos antifúngicos de uso sistêmico utilizados em pacientes imunocomprometidos. **Rev. Bras. Farm.**, v. 90, p. 86-94, 2009.

PONTÓN, J. & QUINDÓS, G. Mecanismos de resistencia a la terapéutica antifúngica. **Med Clin.**, v. 126, p. 56-60, 2006.

PRESCOTT, B. 4-Hydroxy-2-butanone Thiosemicarbazone, a Potential Anticancer Agent. **J. Med. Chem.**, v. 10, n. 3, p. 484-485, 1967.

PRICOPIE, A. L. *et al.* Design and Synthesis of Novel 1, 3-Thiazole and 2-Hydrazinyl-1, 3-Thiazole Derivatives as Anti-Candida Agents: In Vitro Antifungal Screening, Molecular Docking Study, and Spectroscopic Investigation of their Binding Interaction with Bovine Serum Albumin. **Molecules**, v. 24, n. 3435, p. 1-21, 2019.

QUACPAC 1.7.0.2: OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM 2020.

RAUTIO, J. *et al.* The expanding role of prodrugs in contemporary drug design and development. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 17, n. 8, p. 559, 2018.

REZENDE, C. *et al.* Mecanismos de ação dos antifúngicos. **Rev. Unifev. Ciência Tecnol.**, v. 2, p. 222-236, 2017.

RODRIGUES, C. F. ***Candida glabrata* biofilms: mechanisms of antifungal resistance and matrix role**. 2018. Tese (Doutorado) – Universidade do Minho, Braga, 2018.

RODRIGUES, R. P. *et al.* Estratégias de triagem virtual no planejamento de fármacos. **Rev. Virtual Quím.**, v. 4, n. 6, p. 739-776, 2012.

RORIG, K. C. O.; COLACITE, J.; ABEGG, M. A. Produção de fatores de virulência in vitro por espécies patogênicas do gênero *Candida*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 42, n. 2, p. 225-227, 2009.

ROY, K.; SUPRATIK, K.; DAS, R. N. Statistical methods in QSAR/QSPR. In: **A Primer on QSAR/QSPR Modeling – Fundamental Concepts**. 1. ed. New York: Springer International Publishing, p. 37-59, 2015.

SÁ, N. P. *et al.* Thiazole compounds with activity against *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* in vitro. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 102, p. 233-242, 2015.

SÁ, N. P. *et al.* Heterocycle thiazole compounds exhibit antifungal activity through increase in the production of reactive oxygen species in the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 61, n. 8, p. 1-8, 2017.

SÁ, N. P. *et al.* Thiazole derivatives act on virulence factors of *Cryptococcus* spp. **Med. Mycol.**, v. 57, n. 1, p. 84-91, 2019.

SANTANA, T. I. *et al.* Synthesis, anticancer activity and mechanism of action of new thiazole derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 144, p. 874-886, 2018.

SANTOS, S. S. *et al.* **Efeitos da administração oral de *Saccharomyces cerevisiae* linhagem UFMG A-905 em um modelo murino de Doença de Crohn induzida por TNBS.** 2015. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

SANTOS, T. A. R. *et al.* Antitumor and immunomodulatory activities of thiosemicarbazones and 1,3-Thiazoles in Jurkat and HT-29 cells. **Biomed. Pharmacother.**, v. 82, p. 555-560, 2016.

SARMA, S. & UPADHYAY, S. Current perspective on emergence, diagnosis and drug resistance in *Candida auris*. **Infect. Drug Resist.**, v.10, p. 155-165, 2017.

SCHÜÜRMAN, G. *et al.* External validation and prediction employing the predictive squared correlation coefficients test set activity mean vs training set activity mean. **J. Chem. Inf. Model.**, v. 48, n. 11, p. 2140-2145, 2008.

SHIH, M.; WU, C.. Efficient syntheses of thiadiazoline and thiadiazole derivatives by the cyclization of 3-aryl-4-formylsydnone thiosemicarbazones with acetic anhydride and ferric chloride. **Tetrahedron**, v. 61, n. 46, p. 10917-10925, 2005.

SILVA, I. R. *et al.* Preclinical pharmacokinetic study of a new thiazolyl hydrazone derivative with antifungal activity in mice plasma by LC-MS/MS. **J. Chromatogr. B.**, v. 1149, p. 122180, 2020.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7 ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005.

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. **Química orgânica**. 8 ed. Rio de Janeiro : LTC – Livros técnicos científicos, v. 2, 2006.

SOUZA, Z. A. **Síntese e avaliação da atividade anti-Trypanosoma cruzi e antifúngica de novos derivados triazólicos**. 2018. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

TAVARES, L. C. QSAR: a abordagem de Hansch. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 27, n. 4, p. 631-639, 2004.

TEIXEIRA, I. N. S. **Modelagem molecular, síntese e avaliação da atividade antifúngica de compostos heterociclos**. 2019. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

TENCHIU, A. C. *et al.* Synthesis and characterization of new aromatic aldehyde/ketone 4-(beta-D-glucopyranosyl) thiosemicarbazones. **Carbohydr. Res.**, v. 344, n. 11, p. 1352-1364, 2009.

TENÓRIO, R. P. *et al.* Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Quím. Nova**, v. 28, n. 6, p. 1030-1037, 2005.

TONHOLO, D. R. *et al.* Preclinical toxicity of innovative molecules: *In vitro*, *in vivo* and metabolism prediction. **Chem-biol. Interact.**, v. 315, p. 1-10, 2020.

TRIPOS. SYBYL-X 2.1.1. Discovery Software for Computational Chemistry and Molecular Modelling, 2013.

TROFA, D.; GÁCSE, A.; NOSANCHUK, J. D. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 21, n. 4, p. 606-625, 2008.

UKESSAYS. **Primary fungal pathogens**. 2018. Disponível em: <<https://www.ukessays.com/essays/biology/primary-fungal-pathogens.php?vref=1>>. Acesso em: 03 abr. 2020.

U. S. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **Proof-of-Concept Superiority Trial of Fosravuconazole Versus Itraconazole for Eumycetoma in Sudan**. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03086226?term=ravuconazole&draw=2&rank=5>>. Acesso em: 12 jun 2020.

VANDEPUTTE, P. *et al.* Mechanisms of azole resistance in a clinical isolate of *Candida tropicalis*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 49, n. 11, p. 4608-4615, 2005.

VIEIRA, F.; NASCIMENTO, T. Resistência a Fármacos Antifúngicos por *Candida* e Abordagem Terapêutica. **Rev. Port. Farmacoter.**, v. 9, n. 3, p. 29-36, 2017.

VILELA, E. G. **A influência do *Saccharomyces boulardii* na permeabilidade intestinal de pacientes com doença de Crohn em fase de remissão**. 2015. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2005.

VEDANI, A. *et al.* Multiple-Conformation and Protonation-State Representation in 4D-QSAR: The Neurokinin-1 Receptor System. **J. Med. Chem.**, v. 43, n. 23, p. 4416–4427, 2000.

VEDANI, A. *et al.* Novel ligands for the chemokine receptor-3 (CCR3): a receptor-modeling study based on 5D-QSAR. **J. Med. Chem.**, v. 48, n. 5, p. 1515–1527, 2005.

VEDANI, A.; DOBLER, M.; LILL, M. A. Combining protein modeling and 6D-QSAR. Simulating the binding of structurally diverse ligands to the estrogen receptor. **J. Med. Chem.**, v. 48, n. 11, p. 3700–3703, 2005.

VERÍSSIMO, Gabriel Corrêa et al. HQSAR and random forest-based QSAR models for anti-*T. vaginalis* activities of nitroimidazoles derivatives. **J. Mol. Graph. Model.**, v. 90, p. 180-191, 2019.

WAYNE, P. A. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi**. 2. ed. Illinois: Allured Publishing Corporation: Carol Stream, 2008.

XIABING, Ma *et al.* Facial one-pot, three-component synthesis of thiazole compounds by the reactions of aldehyde/ketone, thiosemicarbazide and chlorinated carboxylic ester derivatives. **Tetrahedron**, v. 72, n. 18, p. 2349-2353, 2016.

APÊNDICE A – RESULTADOS DE VALIDAÇÃO DOS MODELOS DE HQSAR

Tabela A1 – Resultados de validação interna dos modelos de HQSAR das espécies de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. gatti* com tamanho de fragmento de 4 a 7 átomos

Modelos HQSAR (<i>C. albicans</i>)									Modelos HQSAR (<i>C. neoformans</i>)									Modelos HQSAR (<i>C. gatti</i>)								
Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP	Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP	Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP
1	A	4 a 7	0,828	0,512	0,929	0,329	59	6	33	A	4 a 7	0,621	0,739	0,808	0,527	59	5	65	A	4 a 7	0,692	0,709	0,838	0,515	59	5
2	A, B	4 a 7	0,816	0,498	0,908	0,353	199	3	34	A, B	4 a 7	0,661	0,681	0,806	0,514	151	3	66	A, B	4 a 7	0,731	0,645	0,849	0,483	151	3
3	A, C	4 a 7	0,784	0,541	0,900	0,368	97	3	35	A, C	4 a 7	0,673	0,668	0,823	0,491	97	3	67	A, C	4 a 7	0,746	0,626	0,864	0,459	97	3
4	A, HA	4 a 7	0,628	0,723	0,844	0,469	71	4	36	A, HA	4 a 7	0,568	0,826	0,898	0,402	199	8	68	A, HA	4 a 7	0,633	0,764	0,803	0,560	257	4
5	A, Ch	4 a 7	0,789	0,568	0,952	0,270	151	6	37	A, Ch	4 a 7	0,594	0,800	0,865	0,462	59	8	69	A, Ch	4 a 7	0,654	0,763	0,852	0,499	59	6
6	A, DA	4 a 7	0,731	0,641	0,965	0,230	151	6	38	A, DA	4 a 7	0,626	0,746	0,867	0,444	61	6	70	A, DA	4 a 7	0,658	0,727	0,787	0,574	59	3
7	A,B,C	4 a 7	0,819	0,495	0,909	0,351	151	3	39	A,B,C	4 a 7	0,695	0,694	0,937	0,315	59	8	71	A,B,C	4 a 7	0,754	0,626	0,876	0,445	59	4
8	A,B,HA	4 a 7	0,646	0,692	0,789	0,535	151	3	40	A,B,HA	4 a 7	0,665	0,727	0,923	0,348	151	8	72	A,B,HA	4 a 7	0,676	0,761	0,933	0,347	151	8
9	A,B,Ch	4 a 7	0,831	0,478	0,904	0,360	61	3	41	A,B,Ch	4 a 7	0,652	0,690	0,812	0,506	257	3	73	A,B,Ch	4 a 7	0,717	0,671	0,873	0,450	257	4
10	A,B,DA	4 a 7	0,757	0,597	0,961	0,238	401	5	42	A,B,DA	4 a 7	0,667	0,674	0,805	0,516	53	3	74	A,B,DA	4 a 7	0,737	0,646	0,881	0,435	53	4
11	A,C,HA	4 a 7	0,625	0,727	0,825	0,496	151	4	43	A,C,HA	4 a 7	0,612	0,782	0,916	0,363	257	8	75	A,C,HA	4 a 7	0,649	0,747	0,801	0,563	61	4
12	A,C,Ch	4 a 7	0,786	0,538	0,900	0,368	53	3	44	A,C,Ch	4 a 7	0,667	0,725	0,929	0,334	53	8	76	A,C,Ch	4 a 7	0,724	0,662	0,875	0,446	53	4
13	A,C,DA	4 a 7	0,705	0,644	0,945	0,277	151	4	45	A,C,DA	4 a 7	0,665	0,667	0,771	0,552	401	2	77	A,C,DA	4 a 7	0,723	0,646	0,815	0,528	401	2
14	A,HA,Ch	4 a 7	0,631	0,736	0,870	0,436	83	5	46	A,HA,Ch	4 a 7	0,588	0,760	0,765	0,574	83	4	78	A,HA,Ch	4 a 7	0,643	0,753	0,799	0,565	83	4
15	A,HA,DA	4 a 7	0,577	0,804	0,939	0,305	199	6	47	A,HA,DA	4 a 7	0,541	0,803	0,775	0,562	199	4	79	A,HA,DA	4 a 7	0,586	0,811	0,801	0,562	199	4
16	A,Ch,DA	4 a 7	0,780	0,580	0,965	0,230	151	6	48	A,Ch,DA	4 a 7	0,593	0,801	0,875	0,445	59	8	80	A,Ch,DA	4 a 7	0,642	0,755	0,824	0,529	59	4
17	A,B,C,HA	4 a 7	0,600	0,751	0,823	0,500	257	4	49	A,B,C,HA	4 a 7	0,633	0,761	0,914	0,368	307	8	81	A,B,C,HA	4 a 7	0,659	0,736	0,816	0,540	257	4
18	A,B,HA,Ch	4 a 7	0,670	0,695	0,881	0,418	61	5	50	A,B,HA,Ch	4 a 7	0,649	0,744	0,921	0,353	61	8	82	A,B,HA,Ch	4 a 7	0,684	0,752	0,930	0,355	61	8
19	A,B,Ch,DA	4 a 7	0,784	0,563	0,937	0,304	53	5	51	A,B,Ch,DA	4 a 7	0,678	0,672	0,850	0,459	53	4	83	A,B,Ch,DA	4 a 7	0,737	0,647	0,878	0,441	53	4
20	A,C,HA,Ch	4 a 7	0,617	0,734	0,823	0,499	151	4	52	A,C,HA,Ch	4 a 7	0,624	0,716	0,754	0,580	83	3	84	A,C,HA,Ch	4 a 7	0,660	0,735	0,803	0,560	61	4
21	A,C,Ch,DA	4 a 7	0,717	0,631	0,942	0,287	151	4	53	A,C,Ch,DA	4 a 7	0,667	0,713	0,957	0,257	97	7	85	A,C,Ch,DA	4 a 7	0,692	0,691	0,870	0,449	61	3
22	A,HA,Ch,DA	4 a 7	0,545	0,834	0,954	0,266	307	6	54	A,HA,Ch,DA	4 a 7	0,542	0,802	0,764	0,575	199	4	86	A,HA,Ch,DA	4 a 7	0,601	0,796	0,806	0,555	199	4
23	A,B,C,Ch	4 a 7	0,815	0,500	0,910	0,350	151	3	55	A,B,C,Ch	4 a 7	0,690	0,699	0,936	0,318	59	8	87	A,B,C,Ch	4 a 7	0,751	0,667	0,949	0,302	59	8
24	A,B,HA,DA	4 a 7	0,597	0,785	0,928	0,332	61	6	56	A,B,HA,DA	4 a 7	0,630	0,765	0,946	0,292	307	8	88	A,B,HA,DA	4 a 7	0,656	0,760	0,886	0,437	61	6
25	A,C,HA,DA	4 a 7	0,609	0,714	0,786	0,529	353	2	57	A,C,HA,DA	4 a 7	0,645	0,749	0,950	0,282	151	8	89	A,C,HA,DA	4 a 7	0,660	0,780	0,958	0,276	151	8
26	A,B,C,DA	4 a 7	0,760	0,594	0,961	0,240	71	5	58	A,B,C,DA	4 a 7	0,724	0,650	0,946	0,287	59	7	90	A,B,C,DA	4 a 7	0,751	0,657	0,954	0,282	59	7
27	A,B,C,HA,Ch	4 a 7	0,604	0,747	0,823	0,499	257	4	59	A,B,C,HA,Ch	4 a 7	0,633	0,761	0,915	0,365	307	8	91	A,B,C,HA,Ch	4 a 7	0,661	0,734	0,818	0,538	257	4
28	A,B,HA,Ch,DA	4 a 7	0,606	0,744	0,814	0,512	71	4	60	A,B,HA,Ch,DA	4 a 7	0,638	0,381	0,908	0,381	61	8	92	A,B,HA,Ch,DA	4 a 7	0,666	0,761	0,906	0,403	61	7
29	A,B,C,Ch,DA	4 a 7	0,771	0,579	0,965	0,227	71	5	61	A,B,C,Ch,DA	4 a 7	0,715	0,670	0,952	0,274	71	8	93	A,B,C,Ch,DA	4 a 7	0,780	0,627	0,970	0,231	71	8
30	A,B,C,HA,DA	4 a 7	0,618	0,764	0,960	0,246	97	6	62	A,B,C,HA,DA	4 a 7	0,647	0,746	0,956	0,264	97	8	94	A,B,C,HA,DA	4 a 7	0,673	0,742	0,917	0,374	97	6
31	A,C,HA,Ch,DA	4 a 7	0,632	0,693	0,796	0,515	353	2	63	A,C,HA,Ch,DA	4 a 7	0,640	0,754	0,952	0,274	307	8	95	A,C,HA,Ch,DA	4 a 7	0,658	0,782	0,959	0,272	151	8
32	A,B,C,HA,Ch,DA	4 a 7	0,614	0,769	0,948	0,282	151	6	64	A,B,C,HA,Ch,DA	4 a 7	0,637	0,757	0,952	0,275	401	8	96	A,B,C,HA,Ch,DA	4 a 7	0,653	0,787	0,963	0,259	401	8

Dfrag: distinção dos fragmentos – átomos (A), ligações (B), conectividade (C), quiralidade (Ch), átomos de hidrogênio (HA), doador e/ou aceptor de ligação de hidrogênio (DA); **Tfrag:** tamanho dos fragmentos (números de átomos); **q^2 :** coeficiente de determinação da validação cruzada; **SEP:** erro padrão de predição; **r^2 :** coeficiente de calibração; **SEE:** erro padrão estimado; **HL:** comprimento do holograma molecular (*bins*); **CP:** número de variáveis latentes ou componentes principais da PLS.

Tabela A2 – Resultados de validação interna dos modelos de HQSAR selecionados para as espécies de *C. albicans* com variações no tamanho de fragmento

Modelos HQSAR (*C. albicans*)

Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP	Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP
1	A	4 a 7	0,828	0,512	0,929	0,329	59	6	7	A,B,C	4 a 7	0,819	0,495	0,909	0,351	151	3
1a	A	1 a 4	0,613	0,710	0,756	0,564	59	2	7a	A,B,C	1 a 4	0,746	0,623	0,958	0,255	257	6
1b	A	2 a 5	0,682	0,656	0,820	0,493	61	3	7b	A,B,C	2 a 5	0,760	0,570	0,882	0,399	83	3
1c	A	3 a 6	0,752	0,580	0,867	0,424	71	3	7c	A,B,C	3 a 6	0,792	0,520	0,866	0,418	53	2
1d	A	5 a 8	0,806	0,544	0,957	0,257	151	6	7d	A,B,C	5 a 8	0,799	0,522	0,920	0,328	401	3
1e	A	6 a 9	0,807	0,521	0,926	0,323	53	4	7e	A,B,C	6 a 9	0,782	0,543	0,903	0,362	199	3
1f	A	7 a 10	0,767	0,584	0,951	0,267	257	5	7f	A,B,C	7 a 10	0,772	0,567	0,918	0,340	71	4
1g	A	1 a 5	0,694	0,685	0,946	0,287	59	6	7g	A,B,C	1 a 5	0,768	0,560	0,886	0,393	83	3
1h	A	2 a 6	0,756	0,586	0,905	0,365	71	4	7h	A,B,C	2 a 6	0,790	0,533	0,887	0,392	53	3
1i	A	3 a 7	0,775	0,575	0,902	0,378	59	5	7i	A,B,C	3 a 7	0,804	0,536	0,940	0,297	71	5
1j	A	4 a 8	0,804	0,536	0,924	0,334	71	5	7j	A,B,C	4 a 8	0,792	0,531	0,914	0,342	353	3
1k	A	5 a 9	0,794	0,561	0,948	0,283	53	6	7k	A,B,C	5 a 9	0,783	0,542	0,912	0,345	401	3
1l	A	6 a 10	0,788	0,557	0,952	0,265	257	5	7l	A,B,C	6 a 10	0,770	0,558	0,913	0,344	307	3
1m	A	1 a 3	0,656	0,670	0,764	0,554	59	2	7m	A,B,C	1 a 3	0,740	0,605	0,925	0,326	61	4
1n	A	2 a 4	0,598	0,724	0,783	0,532	257	2	7n	A,B,C	2 a 4	0,711	0,665	0,959	0,250	257	6
1o	A	3 a 5	0,687	0,677	0,935	0,310	151	5	7o	A,B,C	3 a 5	0,759	0,571	0,890	0,385	83	3
1p	A	4 a 6	0,786	0,573	0,934	0,317	59	6	7p	A,B,C	4 a 6	0,805	0,523	0,928	0,319	71	4
1q	A	5 a 7	0,828	0,512	0,932	0,323	59	6	7q	A,B,C	5 a 7	0,818	0,497	0,902	0,364	83	3
1r	A	6 a 8	0,803	0,549	0,957	0,256	307	6	7r	A,B,C	6 a 8	0,802	0,551	0,957	0,255	53	6
1s	A	7 a 9	0,786	0,572	0,958	0,254	83	6	7s	A,B,C	7 a 9	0,785	0,574	0,963	0,237	53	6
1t	A	8 a 10	0,777	0,572	0,933	0,313	97	5	7t	A,B,C	8 a 10	0,764	0,566	0,921	0,327	401	3
2	A, B	4 a 7	0,816	0,498	0,908	0,353	199	3	9	A,B,Ch	4 a 7	0,831	0,478	0,904	0,360	61	3
2a	A, B	1 a 4	0,777	0,584	0,934	0,317	59	6	9a	A,B,Ch	1 a 4	0,765	0,600	0,940	0,304	59	6
2b	A, B	2 a 5	0,768	0,584	0,938	0,302	71	5	9b	A,B,Ch	2 a 5	0,811	0,538	0,952	0,270	71	6
2c	A, B	3 a 6	0,807	0,531	0,928	0,325	83	5	9c	A,B,Ch	3 a 6	0,795	0,537	0,914	0,349	83	4
2d	A, B	5 a 8	0,827	0,484	0,917	0,336	353	3	9d	A,B,Ch	5 a 8	0,823	0,489	0,917	0,336	353	3
2e	A, B	6 a 9	0,809	0,519	0,916	0,343	59	4	9e	A,B,Ch	6 a 9	0,830	0,499	0,936	0,306	59	5
2f	A, B	7 a 10	0,776	0,573	0,929	0,322	71	5	9f	A,B,Ch	7 a 10	0,782	0,565	0,931	0,318	71	5
2g	A, B	1 a 5	0,769	0,559	0,889	0,387	53	3	9g	A,B,Ch	1 a 5	0,785	0,573	0,951	0,275	199	6
2h	A, B	2 a 6	0,795	0,560	0,946	0,287	83	6	9h	A,B,Ch	2 a 6	0,782	0,578	0,931	0,325	59	6
2i	A, B	3 a 7	0,812	0,505	0,913	0,344	199	3	9i	A,B,Ch	3 a 7	0,823	0,490	0,903	0,362	61	3
2j	A, B	4 a 8	0,820	0,494	0,913	0,343	353	3	9j	A,B,Ch	4 a 8	0,817	0,497	0,914	0,342	353	3
2k	A, B	5 a 9	0,804	0,514	0,909	0,352	401	3	9k	A,B,Ch	5 a 9	0,832	0,486	0,917	0,342	59	4
2l	A, B	6 a 10	0,794	0,549	0,932	0,316	71	5	9l	A,B,Ch	6 a 10	0,805	0,524	0,919	0,337	71	4
2m	A, B	1 a 3	0,736	0,636	0,943	0,295	199	6	9m	A,B,Ch	1 a 3	0,734	0,637	0,943	0,296	199	6
2n	A, B	2 a 4	0,771	0,592	0,933	0,321	59	6	9n	A,B,Ch	2 a 4	0,772	0,591	0,939	0,306	59	6
2o	A, B	3 a 5	0,767	0,561	0,876	0,410	53	3	9o	A,B,Ch	3 a 5	0,800	0,554	0,943	0,295	71	6
2p	A, B	4 a 6	0,813	0,534	0,943	0,296	83	6	9p	A,B,Ch	4 a 6	0,792	0,530	0,885	0,394	61	3
2q	A, B	5 a 7	0,833	0,476	0,912	0,345	199	3	9q	A,B,Ch	5 a 7	0,829	0,481	0,900	0,369	61	3
2r	A, B	6 a 8	0,842	0,471	0,926	0,323	71	4	9r	A,B,Ch	6 a 8	0,840	0,474	0,927	0,321	71	4
2s	A, B	7 a 9	0,798	0,544	0,929	0,322	59	5	9s	A,B,Ch	7 a 9	0,814	0,522	0,935	0,309	59	5
2t	A, B	8 a 10	0,756	0,586	0,912	0,352	257	4	9t	A,B,Ch	8 a 10	0,759	0,594	0,935	0,309	71	5

Dfrag: distinção dos fragmentos – átomos (A), ligações (B), conectividade (C), quiralidade (Ch), átomos de hidrogênio (HA), doador e/ou aceptor de ligação de hidrogênio (DA); **Tfrag:** tamanho dos fragmentos (números de átomos); **q²:** coeficiente de determinação da validação cruzada; **SEP:** erro padrão de predição; **r²:** coeficiente de calibração; **SEE:** erro padrão estimado; **HL:** comprimento do holograma molecular (*bins*); **CP:** número de variáveis latentes ou componentes principais da PLS.

Tabela A3 – Resultados de validação interna dos modelos de HQSAR selecionados para as espécies de *C. neoformans* com variações no tamanho de fragmento

Modelos HQSAR (*C. neoformans*)

Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP	Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP
39	A,B,C	4 a 7	0,695	0,694	0,937	0,315	59	8	58	A,B,C,DA	4 a 7	0,724	0,650	0,946	0,287	59	7
39a	A,B,C	1 a 4	0,651	0,700	0,836	0,480	83	4	58a	A,B,C,DA	1 a 4	0,669	0,672	0,833	0,478	71	3
39b	A,B,C	2 a 5	0,701	0,687	0,944	0,297	83	8	58b	A,B,C,DA	2 a 5	0,674	0,706	0,939	0,306	257	7
39c	A,B,C	3 a 6	0,691	0,641	0,794	0,523	53	2	58c	A,B,C,DA	3 a 6	0,732	0,651	0,956	0,265	59	8
39d	A,B,C	5 a 8	0,676	0,704	0,924	0,341	61	7	58d	A,B,C,DA	5 a 8	0,713	0,673	0,959	0,254	71	8
39e	A,B,C	6 a 9	0,659	0,692	0,855	0,452	61	4	58e	A,B,C,DA	6 a 9	0,677	0,703	0,959	0,250	97	7
39f	A,B,C	7 a 10	0,677	0,714	0,943	0,299	71	8	58f	A,B,C,DA	7 a 10	0,703	0,684	0,969	0,223	353	8
39g	A,B,C	1 a 5	0,704	0,684	0,943	0,300	83	8	58g	A,B,C,DA	1 a 5	0,661	0,732	0,944	0,297	59	8
39h	A,B,C	2 a 6	0,697	0,635	0,809	0,504	53	2	58h	A,B,C,DA	2 a 6	0,740	0,630	0,950	0,276	59	7
39i	A,B,C	3 a 7	0,758	0,618	0,946	0,292	61	8	58i	A,B,C,DA	3 a 7	0,680	0,700	0,943	0,295	59	7
39j	A,B,C	4 a 8	0,670	0,671	0,829	0,483	353	3	58j	A,B,C,DA	4 a 8	0,754	0,623	0,959	0,254	71	8
39k	A,B,C	5 a 9	0,666	0,685	0,862	0,440	61	4	58k	A,B,C,DA	5 a 9	0,677	0,714	0,962	0,245	61	8
39l	A,B,C	6 a 10	0,667	0,675	0,810	0,509	307	3	58l	A,B,C,DA	6 a 10	0,706	0,681	0,968	0,224	353	8
39m	A,B,C	1 a 3	0,646	0,695	0,796	0,528	53	3	58m	A,B,C,DA	1 a 3	0,671	0,670	0,828	0,485	53	3
39n	A,B,C	2 a 4	0,654	0,696	0,837	0,477	83	4	58n	A,B,C,DA	2 a 4	0,661	0,709	0,927	0,329	401	6
39o	A,B,C	3 a 5	0,714	0,672	0,942	0,302	83	8	58o	A,B,C,DA	3 a 5	0,692	0,686	0,936	0,313	59	7
39p	A,B,C	4 a 6	0,702	0,638	0,831	0,480	59	3	58p	A,B,C,DA	4 a 6	0,753	0,624	0,954	0,271	59	8
39q	A,B,C	5 a 7	0,695	0,693	0,937	0,315	61	8	58q	A,B,C,DA	5 a 7	0,687	0,653	0,836	0,473	71	3
39r	A,B,C	6 a 8	0,719	0,666	0,936	0,318	61	8	58r	A,B,C,DA	6 a 8	0,731	0,641	0,956	0,260	71	7
39s	A,B,C	7 a 9	0,656	0,685	0,804	0,518	71	3	58s	A,B,C,DA	7 a 9	0,722	0,662	0,964	0,238	97	8
39t	A,B,C	8 a 10	0,719	0,666	0,938	0,312	71	8	58t	A,B,C,DA	8 a 10	0,720	0,654	0,956	0,258	97	7
55	A,B,C,Ch	4 a 7	0,690	0,699	0,936	0,318	59	8	61	A,B,C,Ch,DA	4 a 7	0,715	0,670	0,952	0,274	71	8
55a	A,B,C,Ch	1 a 4	0,647	0,704	0,836	0,479	83	4	61a	A,B,C,Ch,DA	1 a 4	0,644	0,716	0,900	0,380	71	5
55b	A,B,C,Ch	2 a 5	0,698	0,690	0,942	0,302	83	8	61b	A,B,C,Ch,DA	2 a 5	0,668	0,724	0,945	0,295	71	8
55c	A,B,C,Ch	3 a 6	0,692	0,648	0,825	0,489	59	3	61c	A,B,C,Ch,DA	3 a 6	0,726	0,657	0,957	0,262	59	8
55d	A,B,C,Ch	5 a 8	0,660	0,672	0,773	0,549	71	2	61d	A,B,C,Ch,DA	5 a 8	0,662	0,731	0,966	0,232	401	8
55e	A,B,C,Ch	6 a 9	0,651	0,690	0,802	0,520	307	3	61e	A,B,C,Ch,DA	6 a 9	0,691	0,688	0,960	0,247	97	7
55f	A,B,C,Ch	7 a 10	0,682	0,708	0,941	0,306	71	8	61f	A,B,C,Ch,DA	7 a 10	0,719	0,666	0,962	0,244	97	8
55g	A,B,C,Ch	1 a 5	0,694	0,695	0,940	0,307	83	8	61g	A,B,C,Ch,DA	1 a 5	0,650	0,732	0,939	0,306	71	7
55h	A,B,C,Ch	2 a 6	0,700	0,632	0,807	0,506	53	2	61h	A,B,C,Ch,DA	2 a 6	0,744	0,635	0,957	0,261	59	8
55i	A,B,C,Ch	3 a 7	0,748	0,630	0,946	0,293	61	8	61i	A,B,C,Ch,DA	3 a 7	0,675	0,716	0,952	0,274	71	8
55j	A,B,C,Ch	4 a 8	0,670	0,671	0,803	0,519	151	3	61j	A,B,C,Ch,DA	4 a 8	0,624	0,770	0,966	0,232	401	8
55k	A,B,C,Ch	5 a 9	0,657	0,684	0,787	0,539	151	3	61k	A,B,C,Ch,DA	5 a 9	0,663	0,718	0,962	0,242	97	7
55l	A,B,C,Ch	6 a 10	0,667	0,674	0,811	0,508	307	3	61l	A,B,C,Ch,DA	6 a 10	0,709	0,667	0,965	0,231	199	7
55m	A,B,C,Ch	1 a 3	0,646	0,695	0,796	0,528	53	3	61m	A,B,C,Ch,DA	1 a 3	0,659	0,682	0,821	0,495	53	3
55n	A,B,C,Ch	2 a 4	0,652	0,699	0,838	0,476	83	4	61n	A,B,C,Ch,DA	2 a 4	0,652	0,680	0,778	0,544	53	2
55o	A,B,C,Ch	3 a 5	0,715	0,671	0,940	0,308	83	8	61o	A,B,C,Ch,DA	3 a 5	0,673	0,697	0,936	0,309	257	6
55p	A,B,C,Ch	4 a 6	0,707	0,633	0,831	0,481	59	3	61p	A,B,C,Ch,DA	4 a 6	0,737	0,644	0,954	0,270	59	8
55q	A,B,C,Ch	5 a 7	0,674	0,717	0,938	0,314	61	8	61q	A,B,C,Ch,DA	5 a 7	0,704	0,683	0,950	0,281	71	8
55r	A,B,C,Ch	6 a 8	0,707	0,681	0,936	0,318	61	8	61r	A,B,C,Ch,DA	6 a 8	0,650	0,692	0,837	0,471	71	3
55s	A,B,C,Ch	7 a 9	0,669	0,663	0,794	0,523	97	2	61s	A,B,C,Ch,DA	7 a 9	0,736	0,646	0,967	0,230	97	8
55t	A,B,C,Ch	8 a 10	0,715	0,671	0,939	0,311	71	8	61t	A,B,C,Ch,DA	8 a 10	0,731	0,652	0,964	0,237	97	8

Dfrag: distinção dos fragmentos – átomos (A), ligações (B), conectividade (C), quiralidade (Ch), átomos de hidrogênio (HA), doador e/ou aceptor de ligação de hidrogênio (DA); **Tfrag:** tamanho dos fragmentos (números de átomos); **q²:** coeficiente de determinação da validação cruzada; **SEP:** erro padrão de predição; **r²:** coeficiente de calibração; **SEE:** erro padrão estimado; **HL:** comprimento do holograma molecular (*bins*); **CP:** número de variáveis latentes ou componentes principais da PLS.

Tabela A4 – Resultados de validação interna dos modelos de HQSAR selecionados para as espécies de *C. gatti* com variações no tamanho de fragmento

Modelos HQSAR (*C. gatti*)

Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP	Modelo	Dfrag	Tfrag	q^2	SEP	r^2	SEE	HL	CP
71	A,B,C	4 a 7	0,754	0,626	0,876	0,445	59	4	90	A,B,C,DA	4 a 7	0,751	0,657	0,954	0,282	59	7
71a	A,B,C	1 a 4	0,710	0,679	0,866	0,462	83	4	90a	A,B,C,DA	1 a 4	0,743	0,648	0,925	0,351	71	5
71b	A,B,C	2 a 5	0,740	0,681	0,954	0,288	83	8	90b	A,B,C,DA	2 a 5	0,717	0,700	0,944	0,311	97	7
71c	A,B,C	3 a 6	0,746	0,627	0,868	0,452	59	3	90c	A,B,C,DA	3 a 6	0,747	0,663	0,958	0,271	59	7
71d	A,B,C	5 a 8	0,741	0,671	0,942	0,316	61	7	90d	A,B,C,DA	5 a 8	0,751	0,621	0,870	0,448	71	3
71e	A,B,C	6 a 9	0,708	0,723	0,948	0,304	61	8	90e	A,B,C,DA	6 a 9	0,699	0,712	0,959	0,262	401	6
71f	A,B,C	7 a 10	0,753	0,664	0,961	0,263	307	8	90f	A,B,C,DA	7 a 10	0,716	0,701	0,966	0,244	353	7
71g	A,B,C	1 a 5	0,742	0,679	0,952	0,293	83	8	90g	A,B,C,DA	1 a 5	0,711	0,660	0,807	0,540	257	2
71h	A,B,C	2 a 6	0,743	0,622	0,827	0,511	53	2	90h	A,B,C,DA	2 a 6	0,762	0,643	0,957	0,271	59	7
71i	A,B,C	3 a 7	0,764	0,649	0,956	0,281	61	8	90i	A,B,C,DA	3 a 7	0,730	0,646	0,864	0,459	71	3
71j	A,B,C	4 a 8	0,732	0,644	0,842	0,495	151	3	90j	A,B,C,DA	4 a 8	0,756	0,640	0,947	0,297	71	6
71k	A,B,C	5 a 9	0,731	0,694	0,948	0,306	61	8	90k	A,B,C,DA	5 a 9	0,709	0,700	0,958	0,265	401	6
71l	A,B,C	6 a 10	0,736	0,687	0,960	0,267	401	8	90l	A,B,C,DA	6 a 10	0,717	0,700	0,965	0,245	353	7
71m	A,B,C	1 a 3	0,708	0,681	0,869	0,457	401	4	90m	A,B,C,DA	1 a 3	0,728	0,641	0,850	0,475	59	2
71n	A,B,C	2 a 4	0,713	0,675	0,866	0,461	83	4	90n	A,B,C,DA	2 a 4	0,734	0,659	0,926	0,348	71	5
71o	A,B,C	3 a 5	0,751	0,667	0,952	0,294	83	8	90o	A,B,C,DA	3 a 5	0,721	0,706	0,951	0,296	97	8
71p	A,B,C	4 a 6	0,760	0,601	0,845	0,483	59	2	90p	A,B,C,DA	4 a 6	0,776	0,624	0,956	0,275	59	7
71q	A,B,C	5 a 7	0,738	0,684	0,952	0,293	61	8	90q	A,B,C,DA	5 a 7	0,744	0,629	0,867	0,454	71	3
71r	A,B,C	6 a 8	0,775	0,635	0,953	0,291	61	8	90r	A,B,C,DA	6 a 8	0,765	0,639	0,960	0,265	59	7
71s	A,B,C	7 a 9	0,710	0,720	0,962	0,261	307	8	90s	A,B,C,DA	7 a 9	0,710	0,709	0,961	0,260	97	7
71t	A,B,C	8 a 10	0,781	0,626	0,953	0,289	71	8	90t	A,B,C,DA	8 a 10	0,724	0,692	0,966	0,243	353	7
87	A,B,C,Ch	4 a 7	0,751	0,667	0,949	0,302	59	8	93	A,B,C,Ch,DA	4 a 7	0,780	0,627	0,970	0,231	71	8
87a	A,B,C,Ch	1 a 4	0,705	0,685	0,866	0,461	83	4	93a	A,B,C,Ch,DA	1 a 4	0,728	0,667	0,929	0,342	71	5
87b	A,B,C,Ch	2 a 5	0,739	0,684	0,954	0,288	83	8	93b	A,B,C,Ch,DA	2 a 5	0,728	0,698	0,962	0,261	71	8
87c	A,B,C,Ch	3 a 6	0,759	0,603	0,834	0,500	59	2	93c	A,B,C,Ch,DA	3 a 6	0,732	0,693	0,969	0,237	59	8
87d	A,B,C,Ch	5 a 8	0,735	0,689	0,949	0,301	61	8	93d	A,B,C,Ch,DA	5 a 8	0,716	0,702	0,960	0,263	83	7
87e	A,B,C,Ch	6 a 9	0,708	0,722	0,963	0,257	307	8	93e	A,B,C,Ch,DA	6 a 9	0,721	0,706	0,976	0,206	307	8
87f	A,B,C,Ch	7 a 10	0,759	0,657	0,955	0,283	71	8	93f	A,B,C,Ch,DA	7 a 10	0,729	0,666	0,951	0,283	97	5
87g	A,B,C,Ch	1 a 5	0,737	0,686	0,951	0,295	83	8	93g	A,B,C,Ch,DA	1 a 5	0,720	0,676	0,941	0,310	71	5
87h	A,B,C,Ch	2 a 6	0,745	0,619	0,820	0,521	59	2	93h	A,B,C,Ch,DA	2 a 6	0,767	0,645	0,969	0,236	59	8
87i	A,B,C,Ch	3 a 7	0,757	0,660	0,955	0,283	61	8	93i	A,B,C,Ch,DA	3 a 7	0,751	0,667	0,971	0,229	71	8
87j	A,B,C,Ch	4 a 8	0,734	0,641	0,843	0,492	151	3	93j	A,B,C,Ch,DA	4 a 8	0,690	0,723	0,950	0,289	83	6
87k	A,B,C,Ch	5 a 9	0,724	0,703	0,947	0,307	61	8	93k	A,B,C,Ch,DA	5 a 9	0,727	0,699	0,977	0,205	307	8
87l	A,B,C,Ch	6 a 10	0,741	0,681	0,961	0,263	307	8	93l	A,B,C,Ch,DA	6 a 10	0,712	0,718	0,977	0,204	353	8
87m	A,B,C,Ch	1 a 3	0,708	0,681	0,869	0,457	401	4	93m	A,B,C,Ch,DA	1 a 3	0,715	0,673	0,891	0,416	53	4
87n	A,B,C,Ch	2 a 4	0,709	0,680	0,867	0,460	83	4	93n	A,B,C,Ch,DA	2 a 4	0,700	0,701	0,930	0,338	71	5
87o	A,B,C,Ch	3 a 5	0,752	0,667	0,951	0,296	83	8	93o	A,B,C,Ch,DA	3 a 5	0,728	0,698	0,962	0,259	71	8
87p	A,B,C,Ch	4 a 6	0,763	0,597	0,852	0,473	59	2	93p	A,B,C,Ch,DA	4 a 6	0,783	0,623	0,969	0,237	59	8
87q	A,B,C,Ch	5 a 7	0,722	0,656	0,844	0,491	83	3	93q	A,B,C,Ch,DA	5 a 7	0,780	0,627	0,969	0,237	71	8
87r	A,B,C,Ch	6 a 8	0,766	0,646	0,952	0,292	61	8	93r	A,B,C,Ch,DA	6 a 8	0,694	0,688	0,862	0,462	71	3
87s	A,B,C,Ch	7 a 9	0,721	0,707	0,962	0,260	307	8	93s	A,B,C,Ch,DA	7 a 9	0,734	0,689	0,971	0,228	97	8
87t	A,B,C,Ch	8 a 10	0,780	0,627	0,960	0,267	401	8	93t	A,B,C,Ch,DA	8 a 10	0,723	0,673	0,952	0,281	97	5

Dfrag: distinção dos fragmentos – átomos (A), ligações (B), conectividade (C), quiralidade (Ch), átomos de hidrogênio (HA), doador e/ou aceptor de ligação de hidrogênio (DA); **Tfrag:** tamanho dos fragmentos (números de átomos); **q^2 :** coeficiente de determinação da validação cruzada; **SEP:** erro padrão de predição; **r^2 :** coeficiente de calibração; **SEE:** erro padrão estimado; **HL:** comprimento do holograma molecular (*bins*); **CP:** número de variáveis latentes ou componentes principais da PLS.

APÊNDICE B – ESPECTROS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E DEPT

Figura B1 – Espectro de RMN de ^1H de 1a (400 MHz, DMSO – d_6)

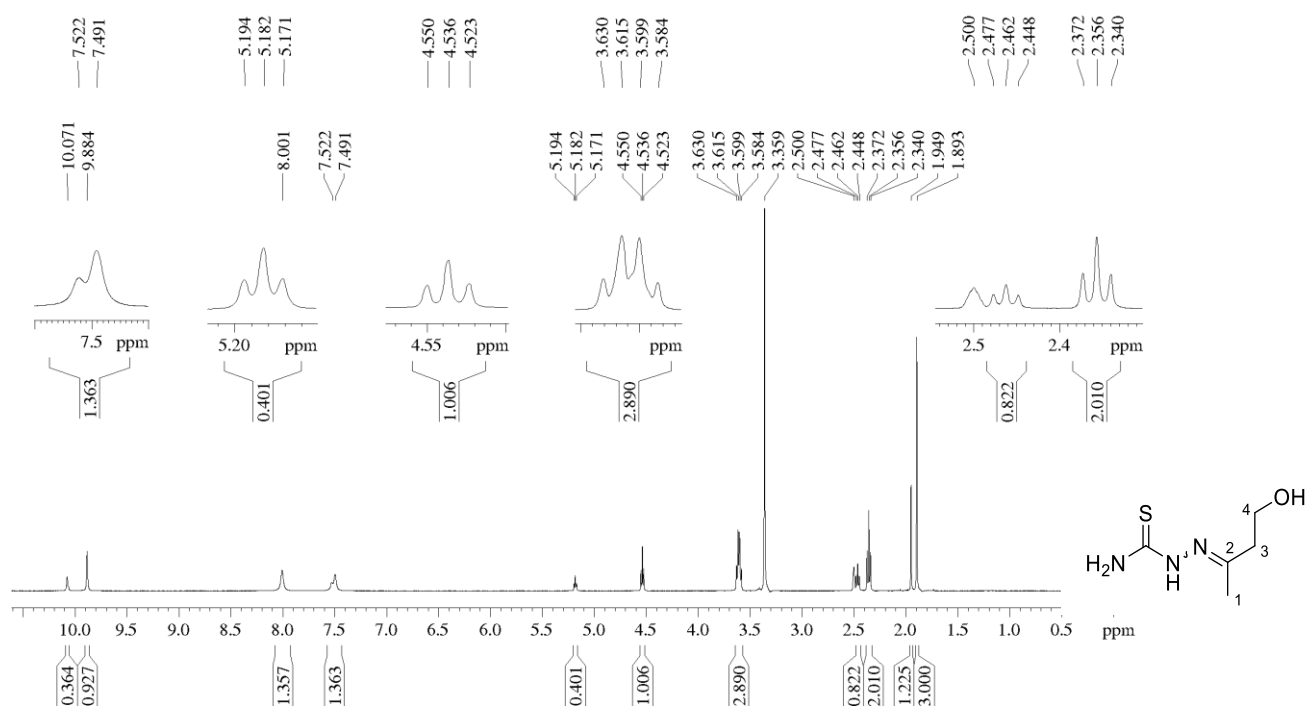


Figura B2 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1a (100 MHz, DMSO – d_6)

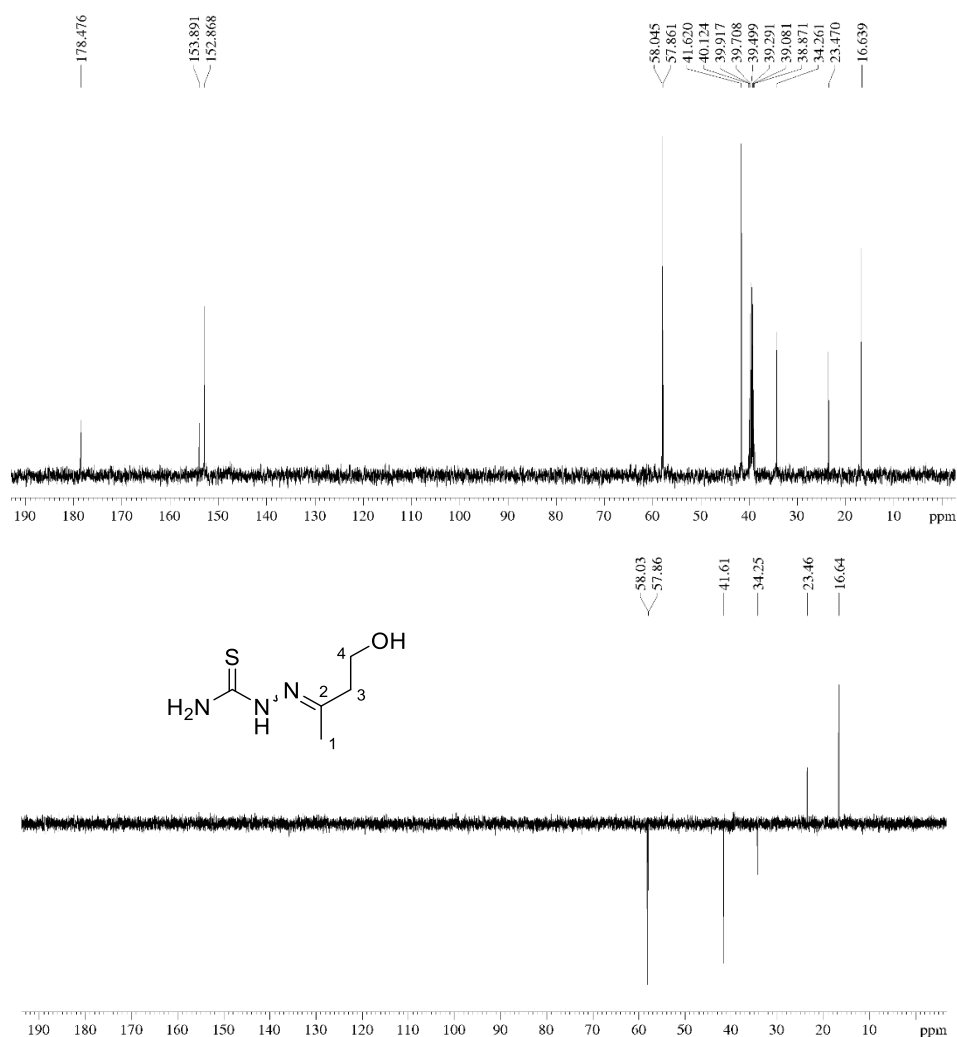


Figura B3 – Espectro de RMN de ^1H de 1b (400 MHz, DMSO – d_6)

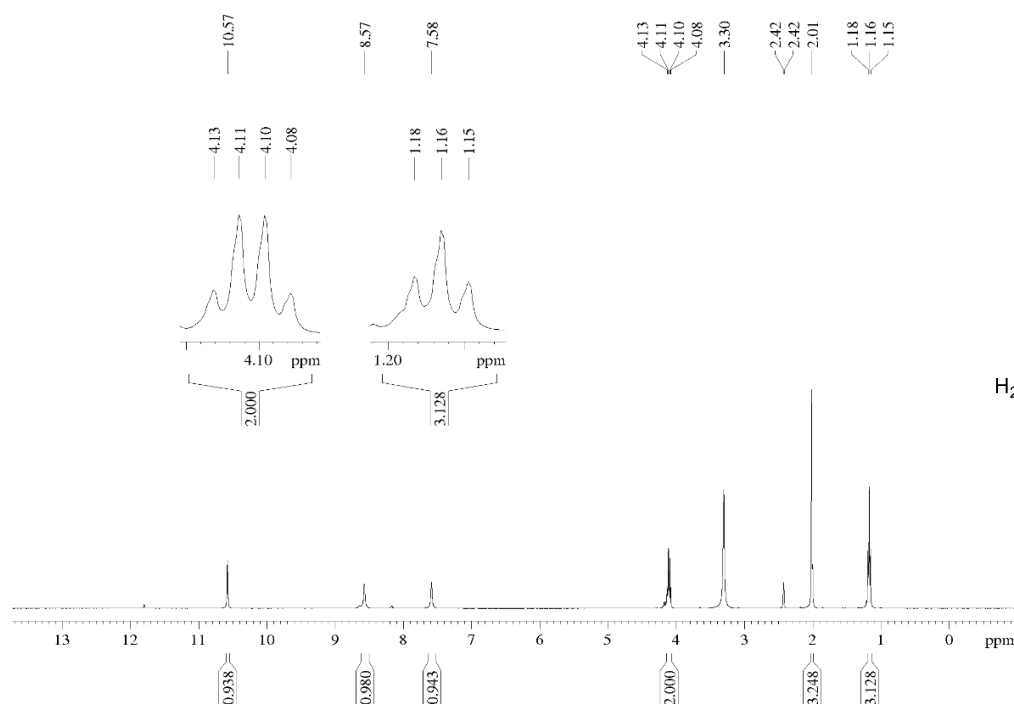


Figura B4 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1b (100 MHz, DMSO – d_6)

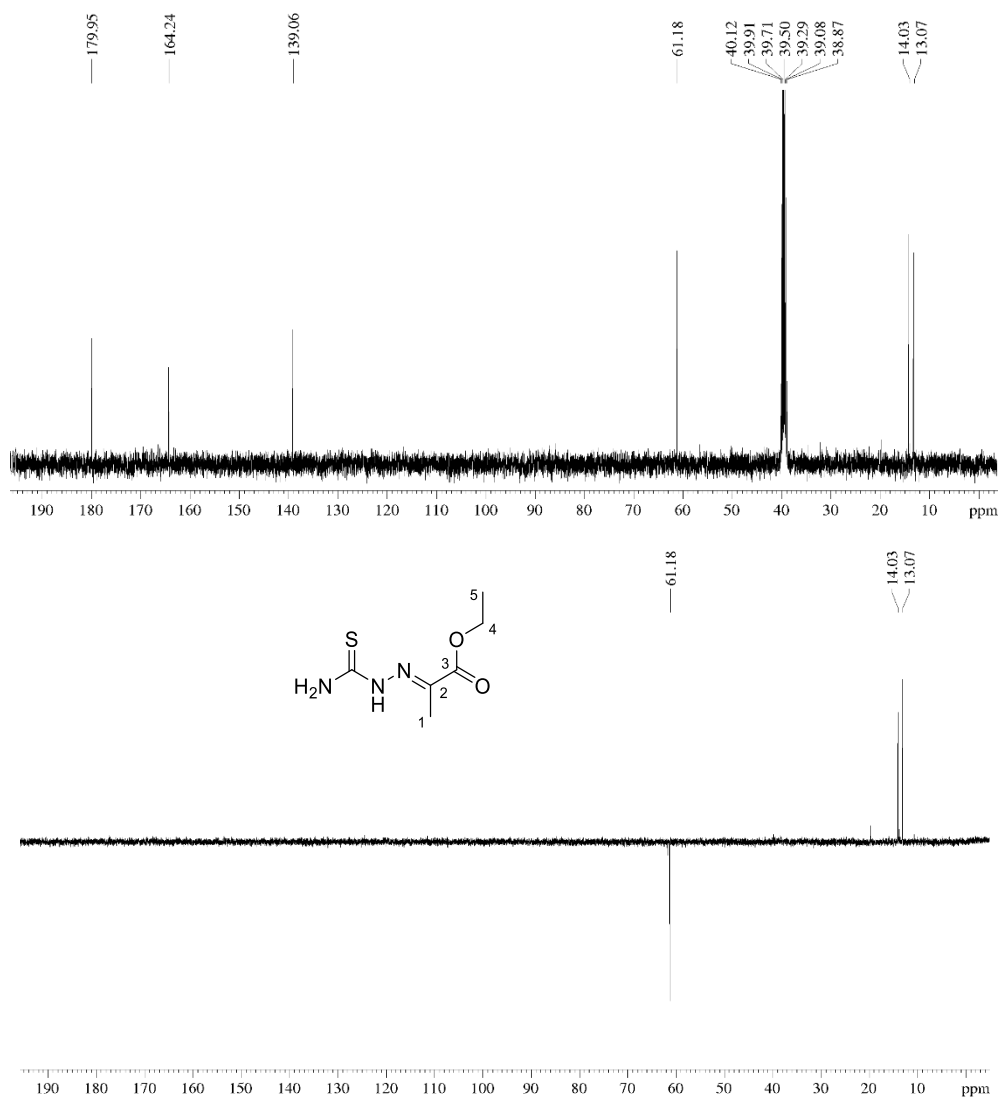


Figura B5 – Espectro de RMN de ^1H de 1c (400 MHz, DMSO – d_6)

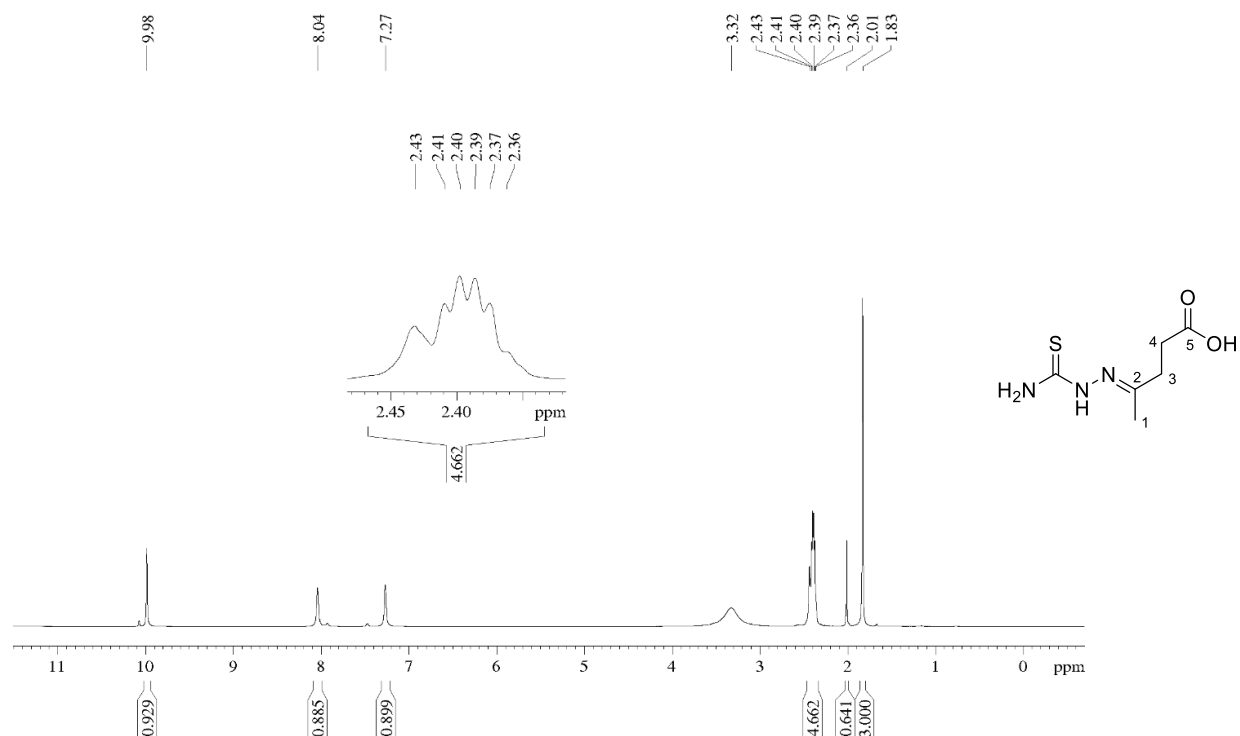


Figura B6 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1c (100 MHz, DMSO – d_6)

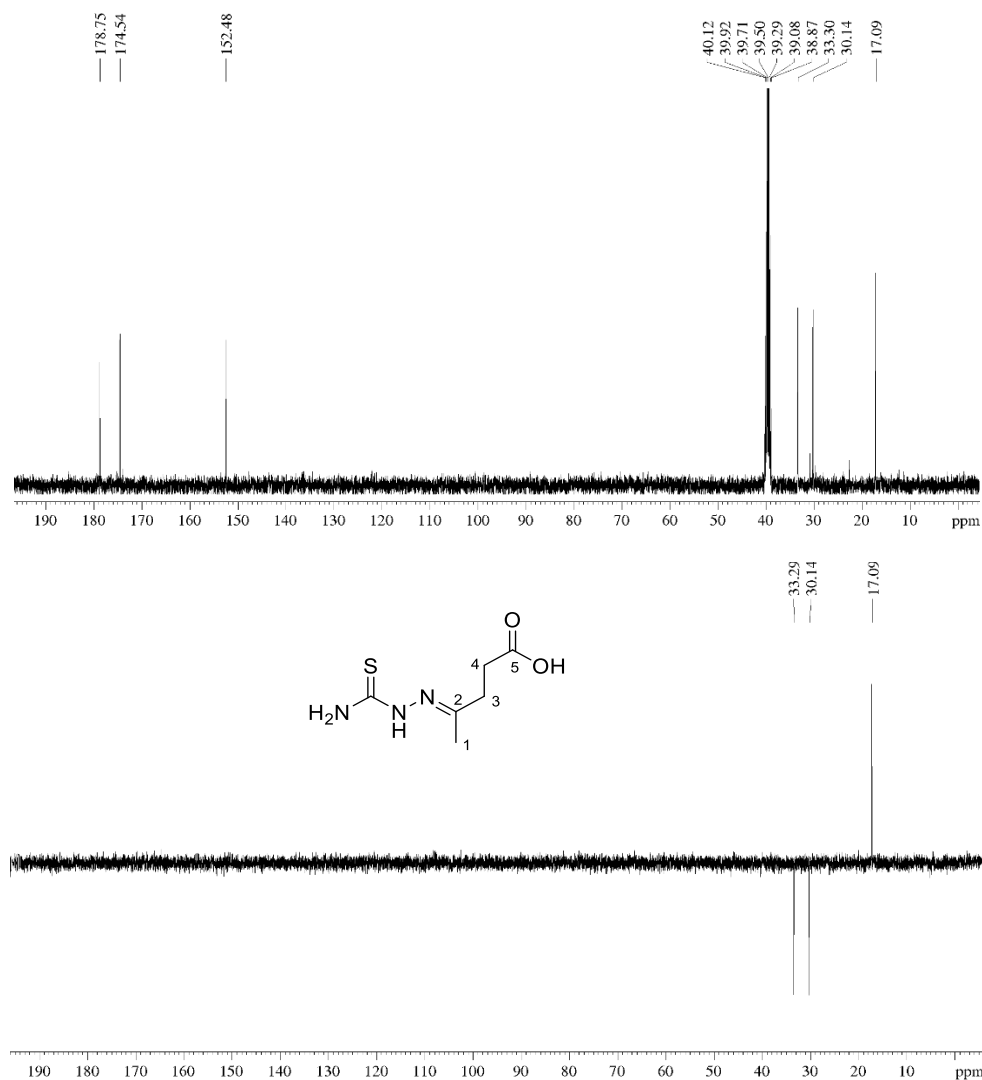


Figura B7 – Espectro de RMN de ^1H de 1d (400 MHz, DMSO – d_6)

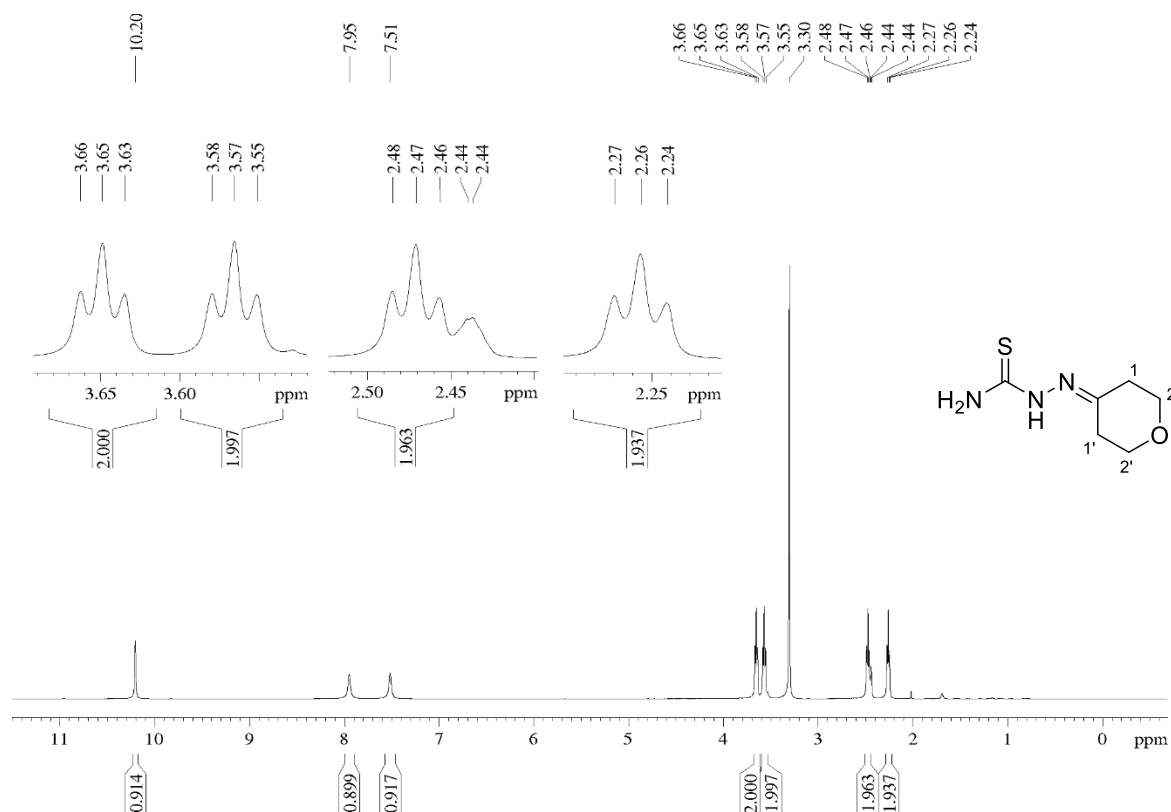


Figura B8 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1d (100 MHz, DMSO – d_6)

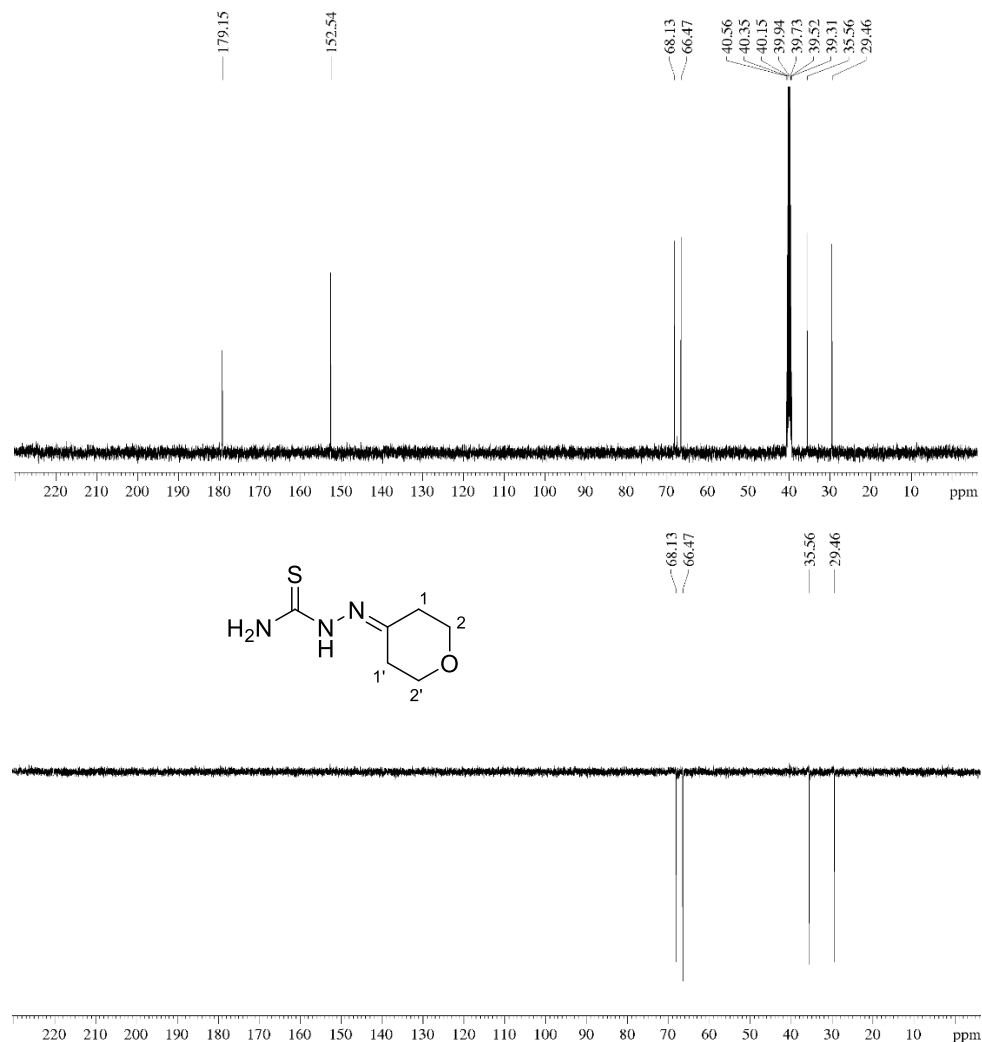


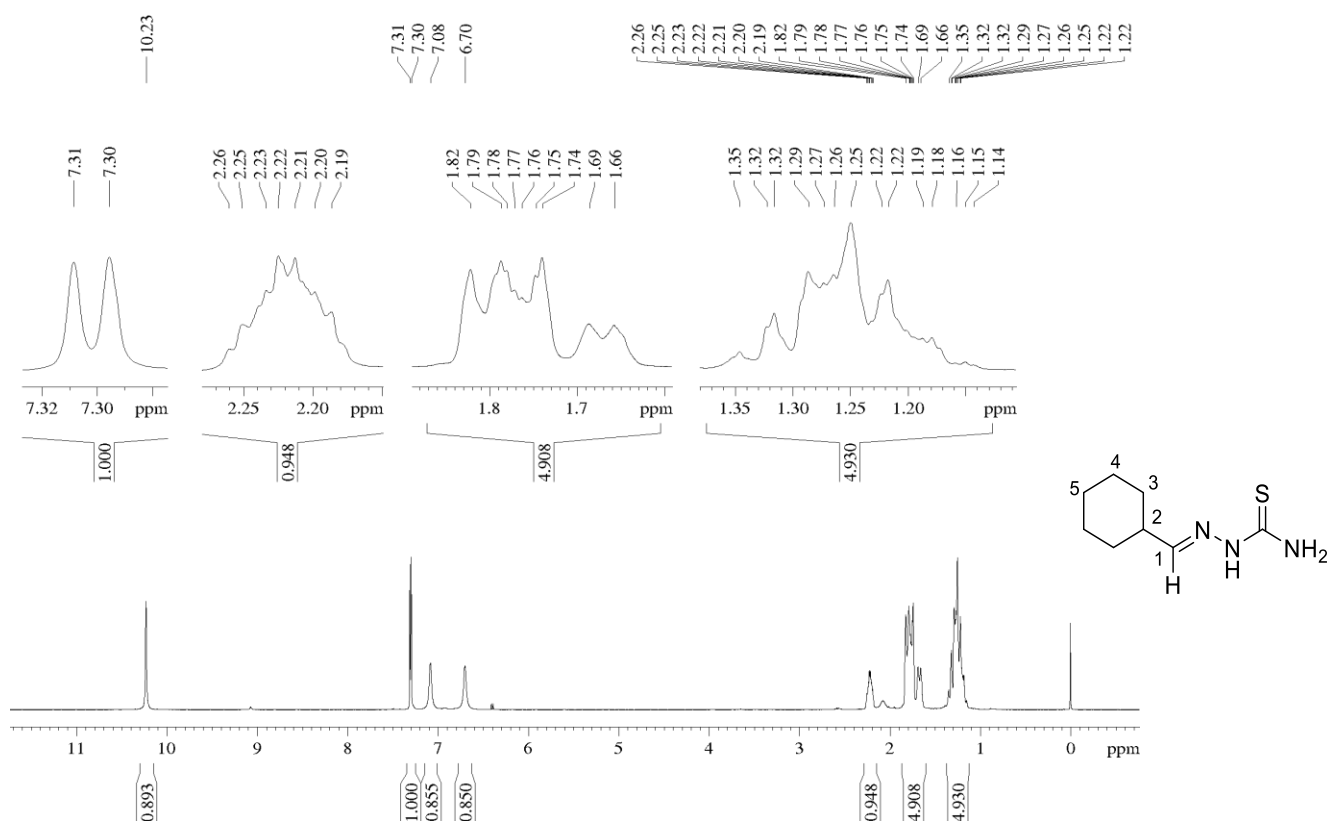
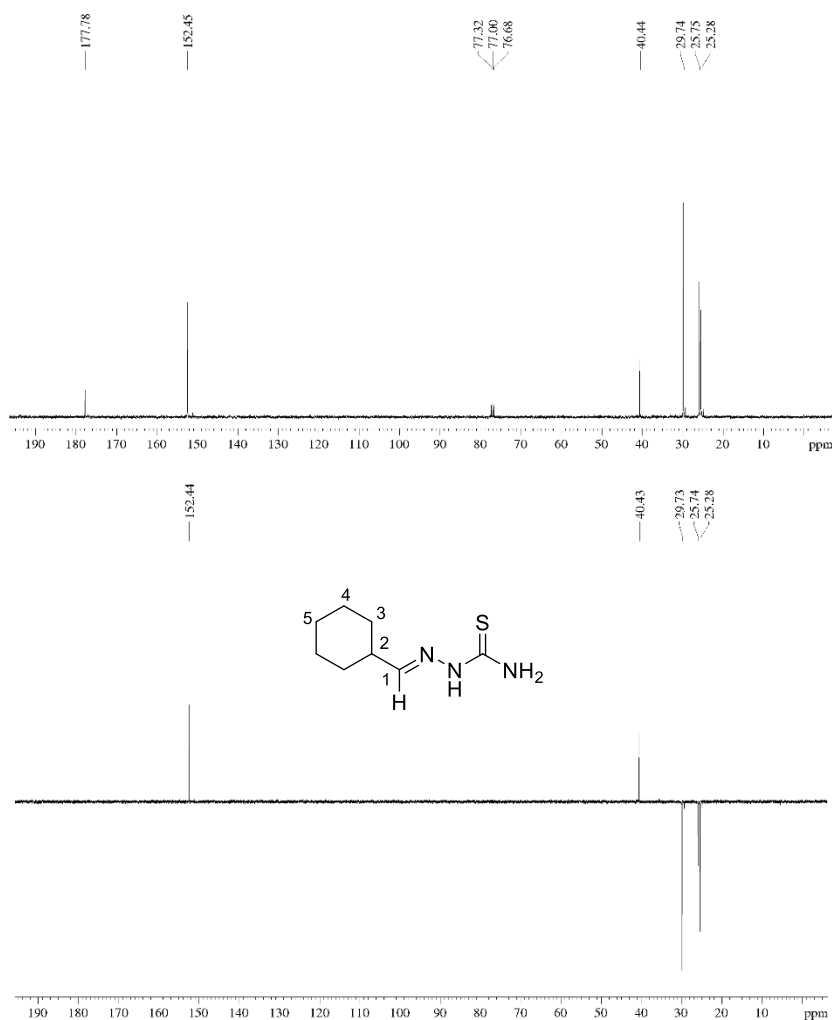
Figura B9 – Espectro de RMN de ^1H de 1e (400 MHz, CDCl_3)Figura B10 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1e (100 MHz, CDCl_3)

Figura B11 – Espectro de RMN de ^1H de 1f (400 MHz, DMSO – d_6)

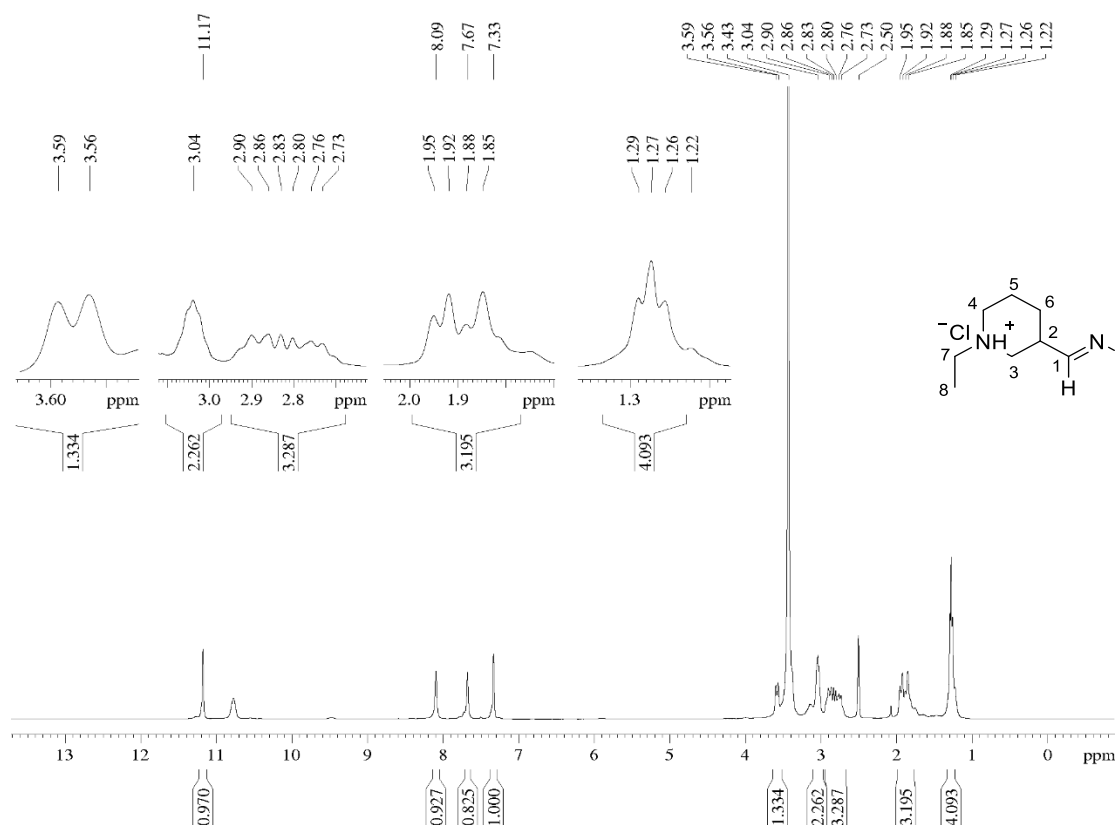


Figura B12 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 1f (100 MHz, DMSO – d_6)

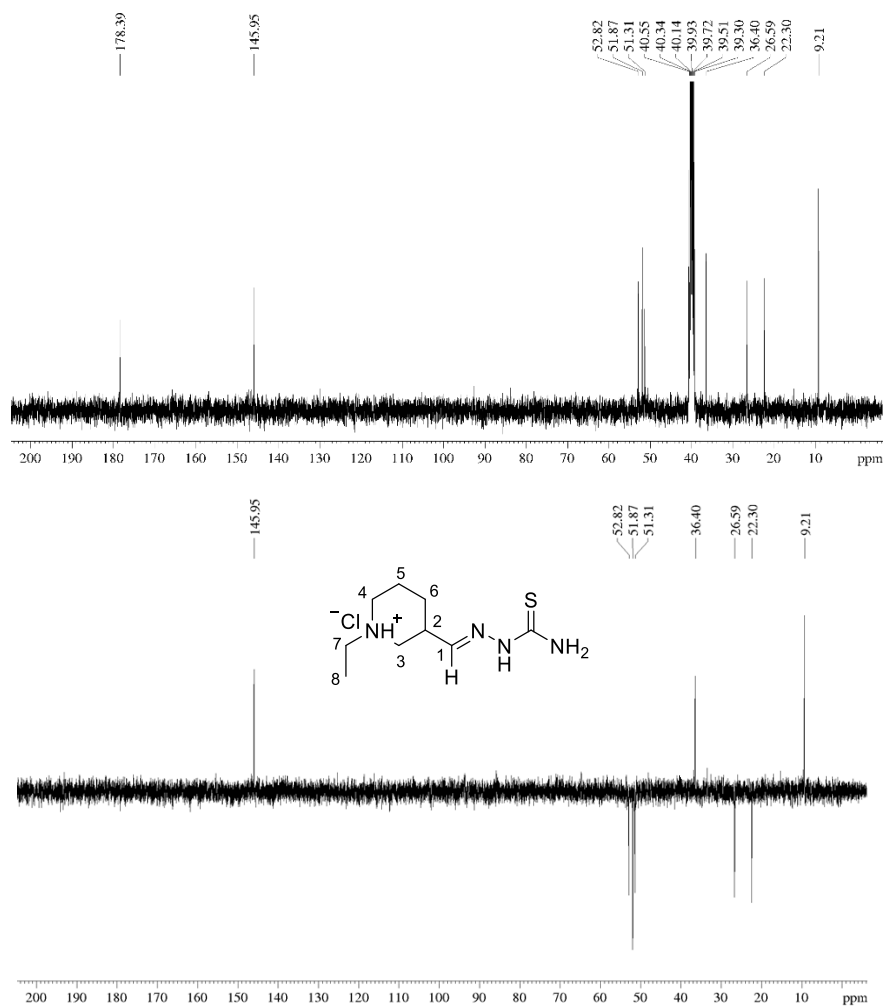


Figura B13 – Espectro de RMN de ^1H de 2a (400 MHz, CDCl_3)

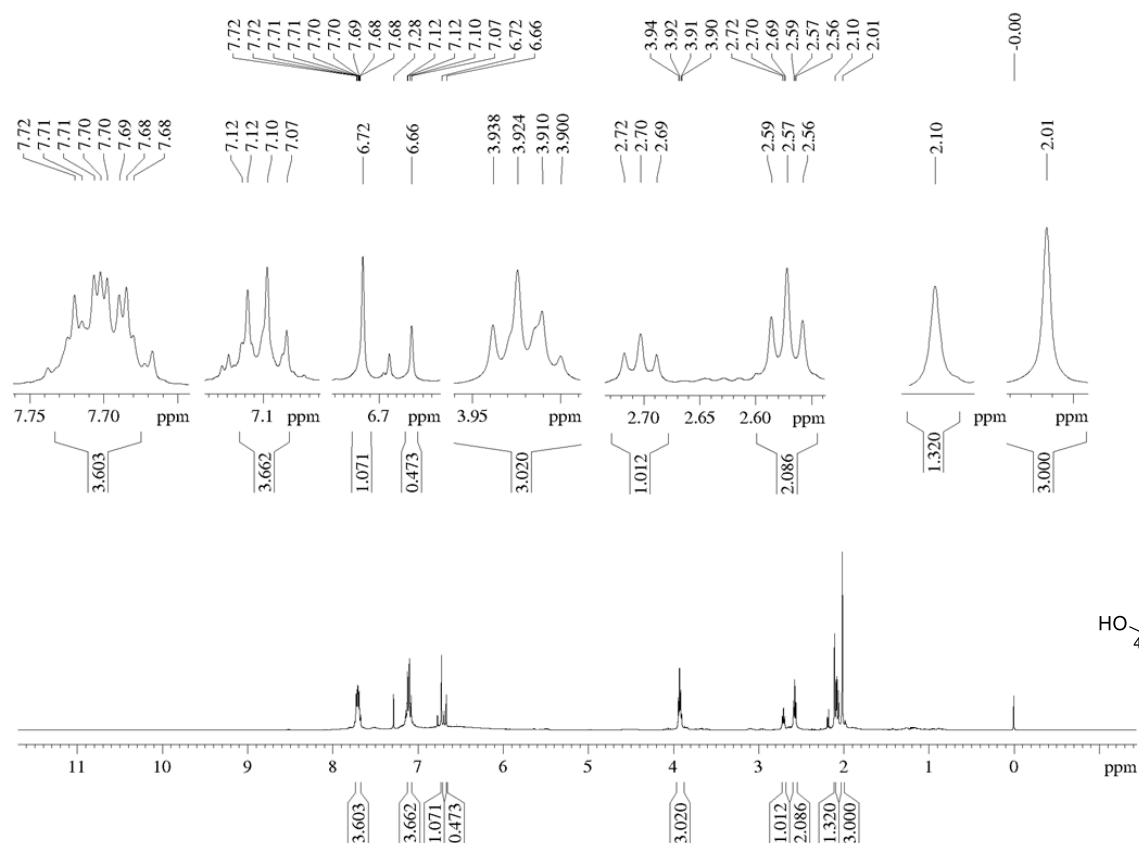


Figura B14 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2a (100 MHz, CDCl_3)

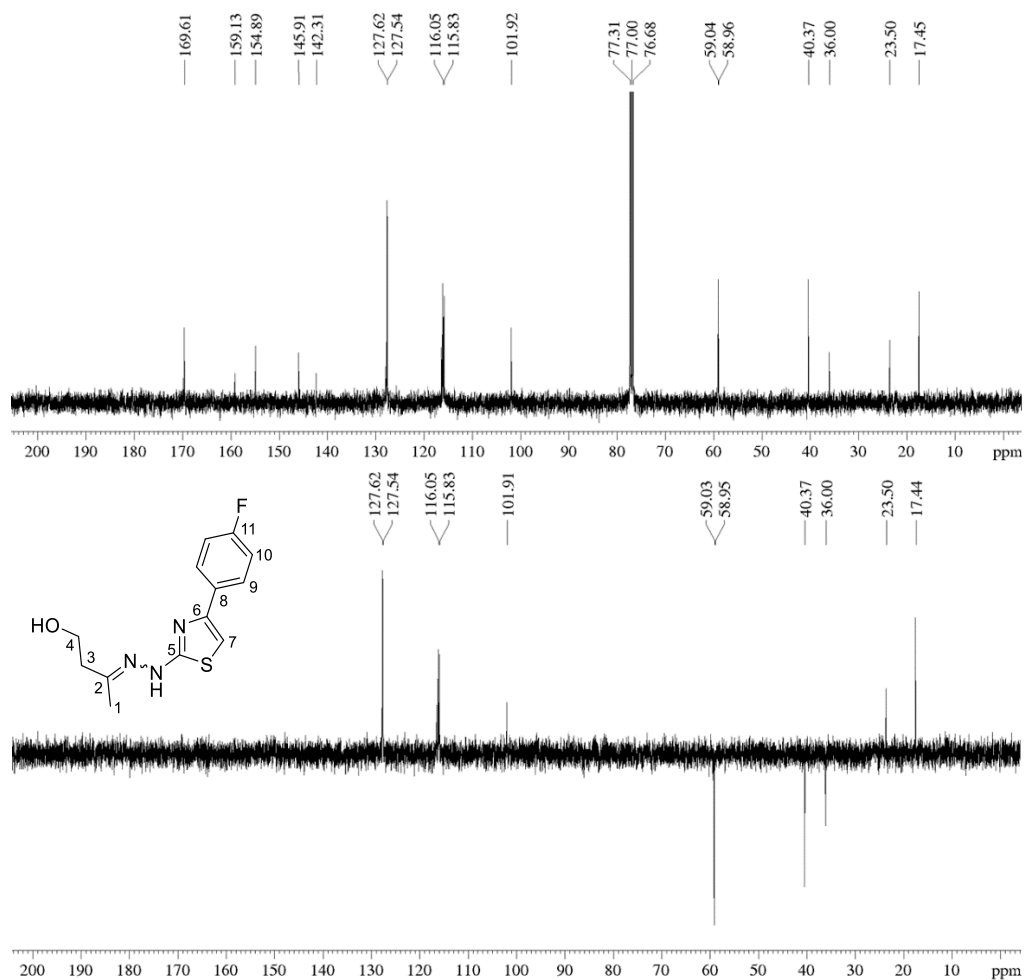


Figura B15 – Espectro de RMN de ^1H de 2b (400 MHz, DMSO – d_6)

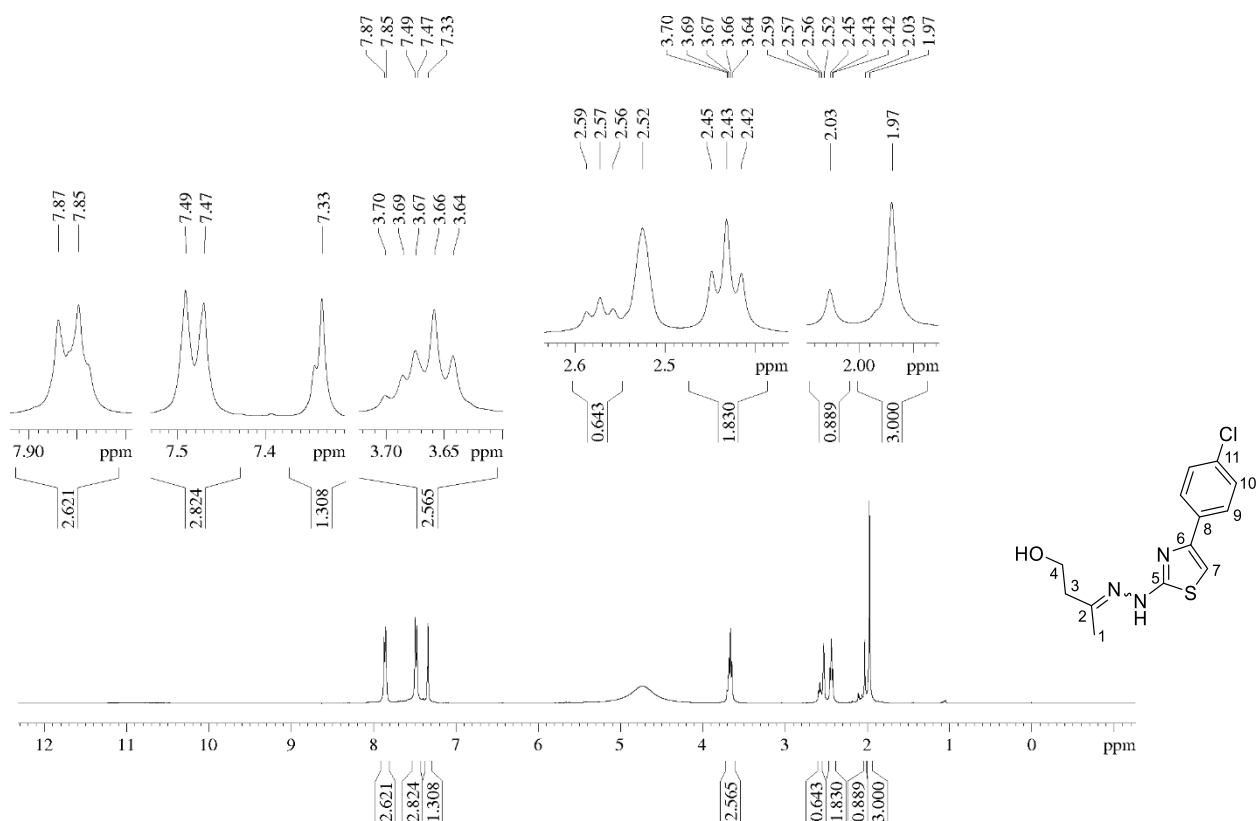


Figura B16 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2b (100 MHz, DMSO – d_6)

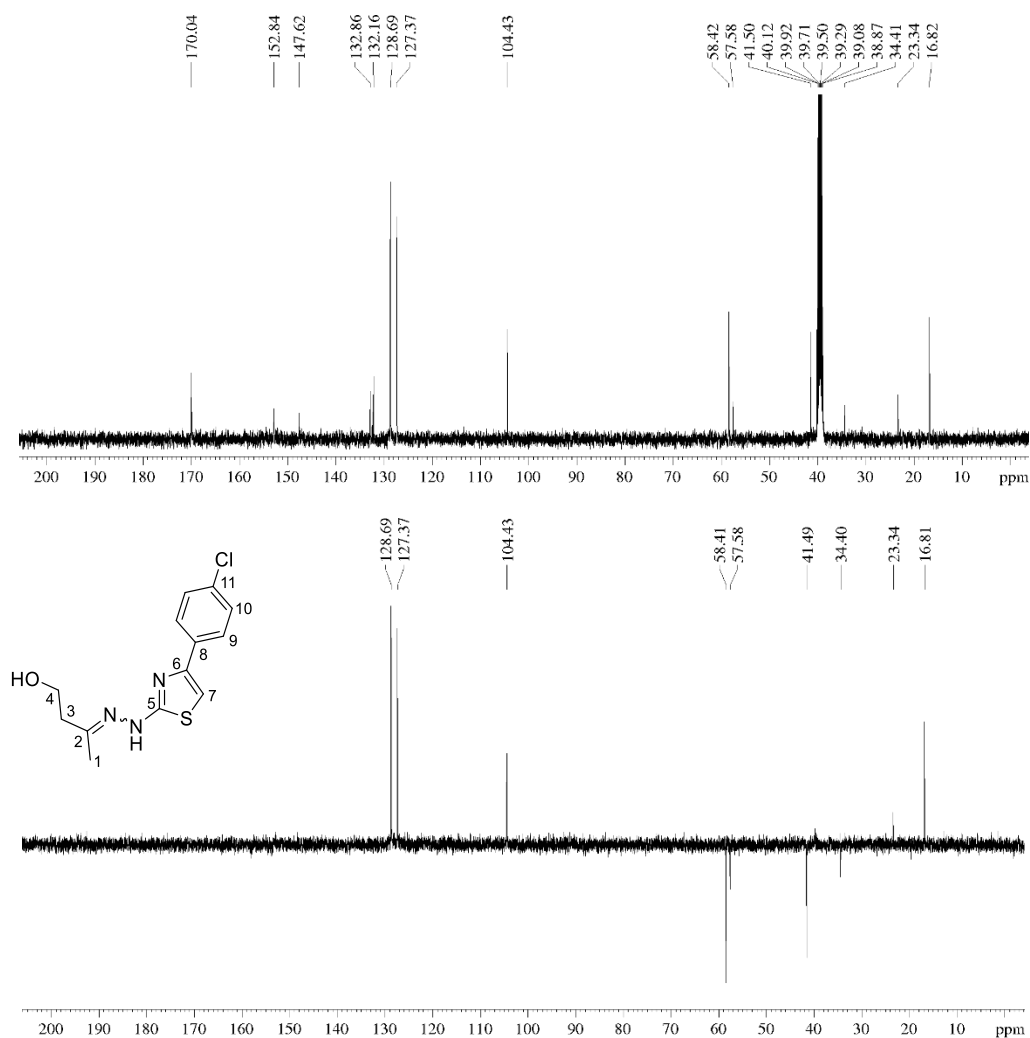


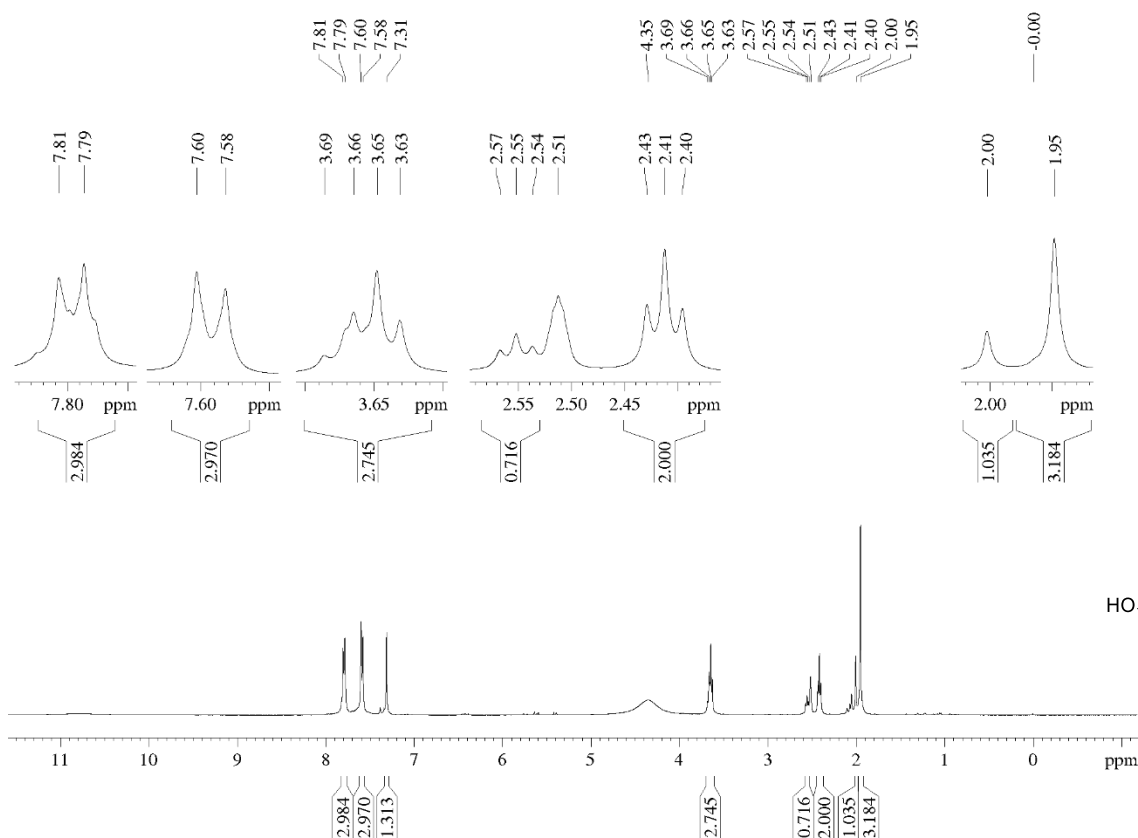
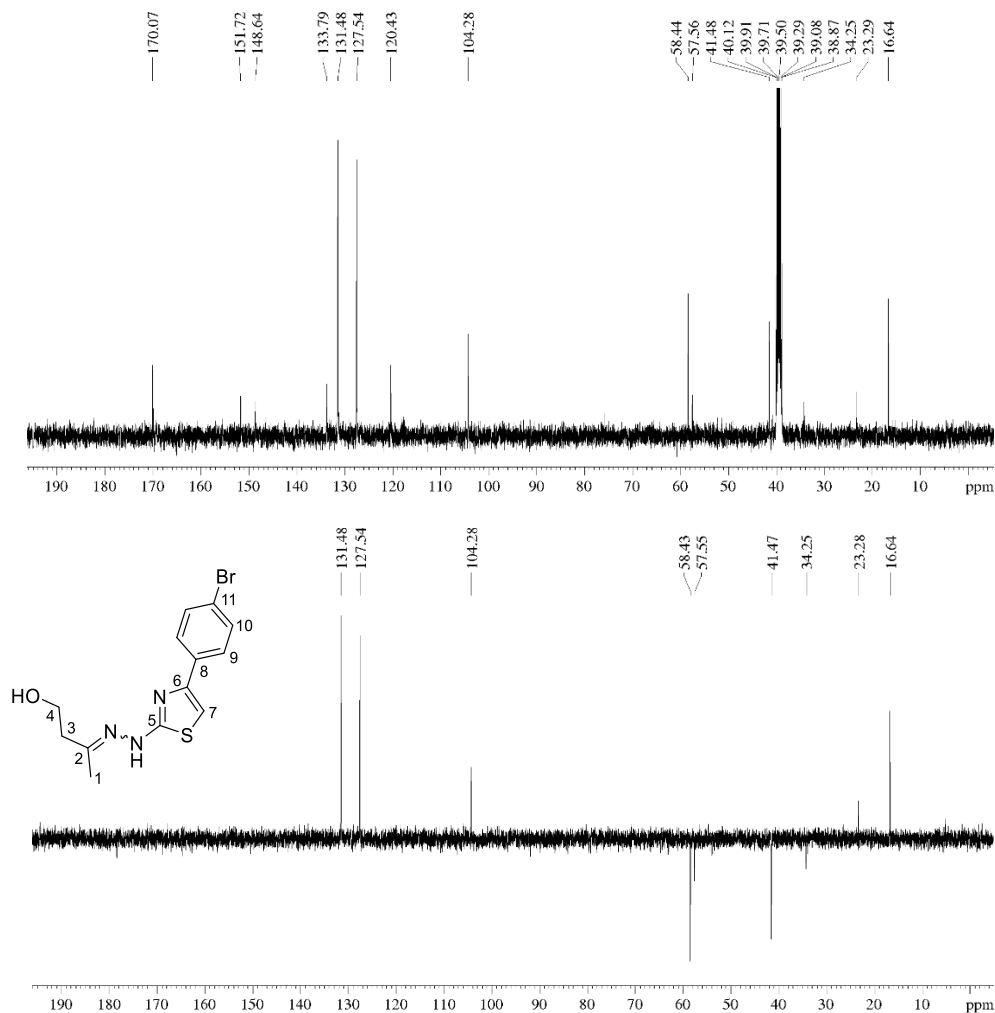
Figura B17 – Espectro de RMN de ^1H de 2c (400 MHz, DMSO – d_6)Figura B18 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2c (100 MHz, DMSO – d_6)

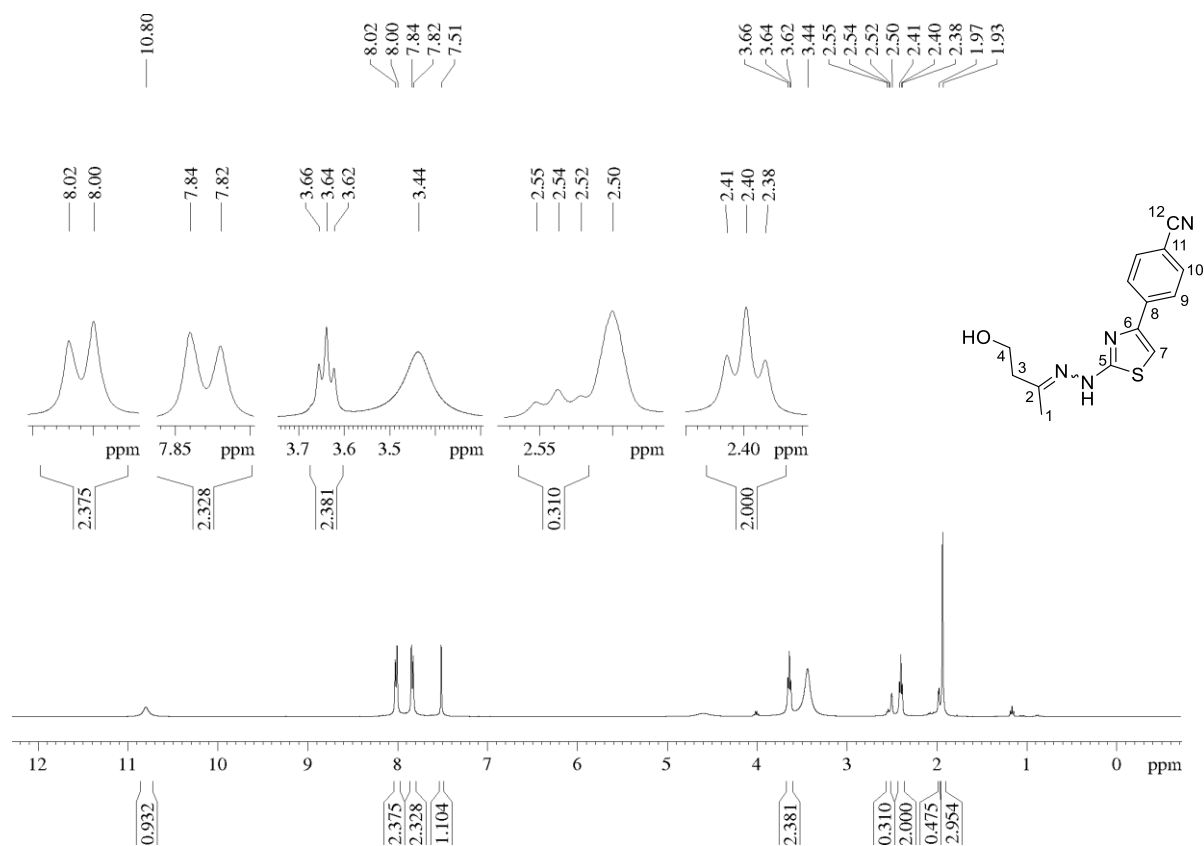
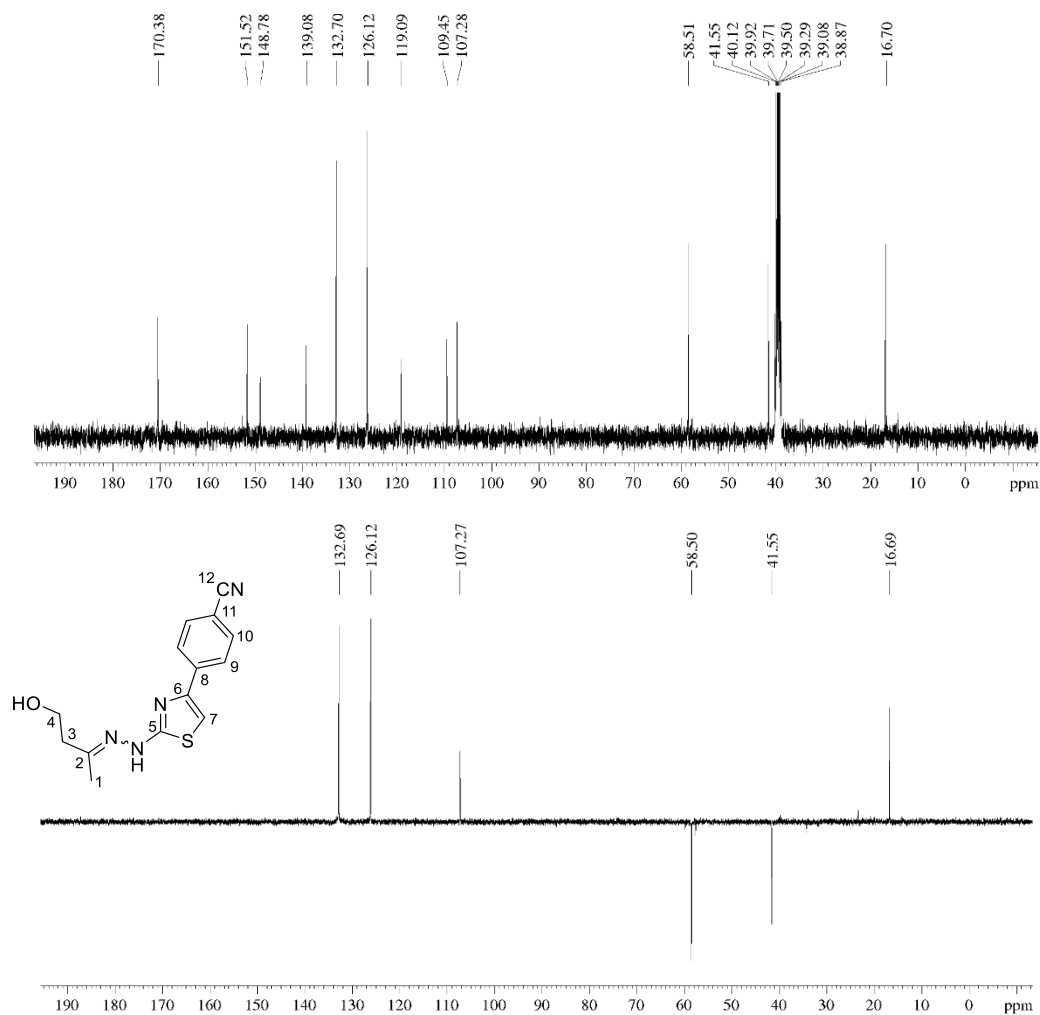
Figura B19 – Espectro de RMN de ^1H de 2d (400 MHz, DMSO – d_6)Figura B20 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2d (100 MHz, DMSO – d_6)

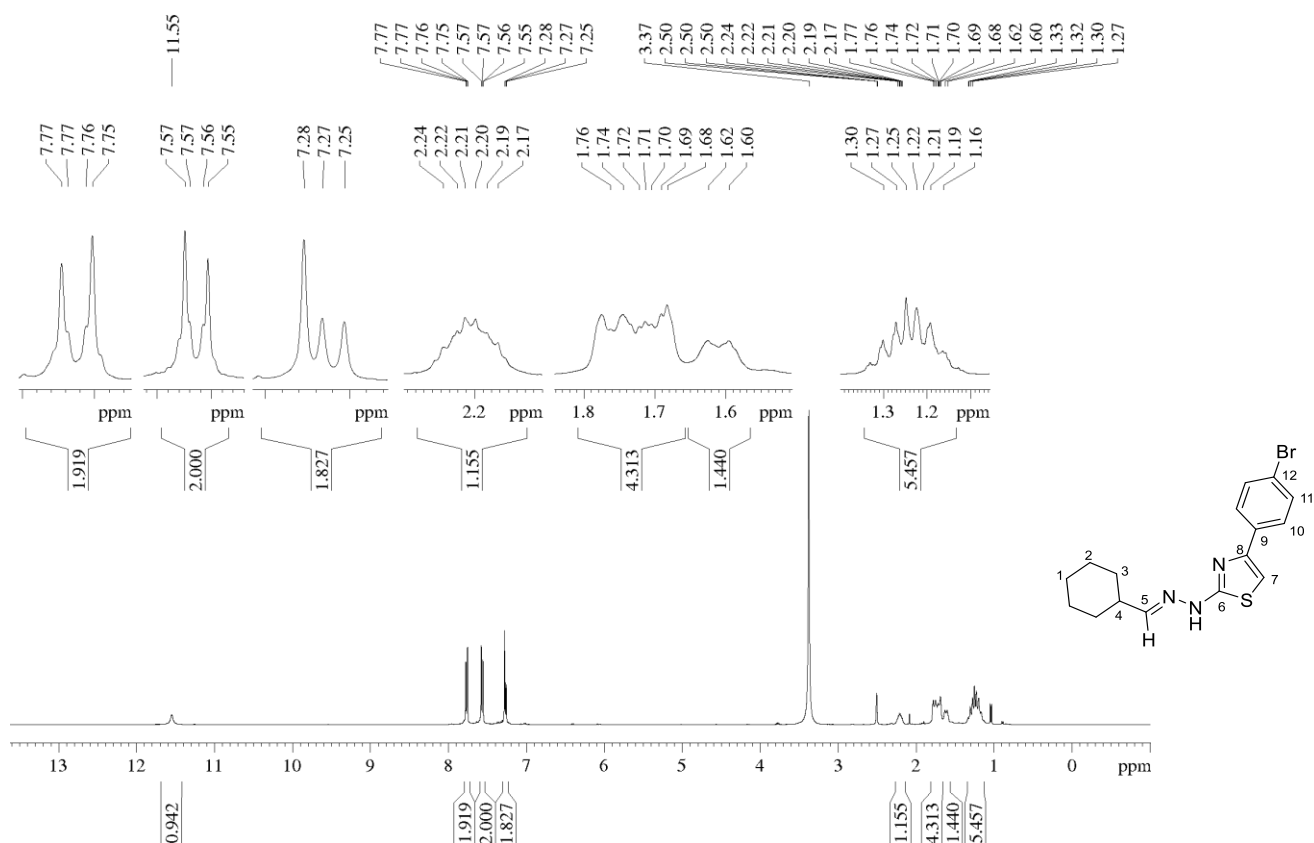
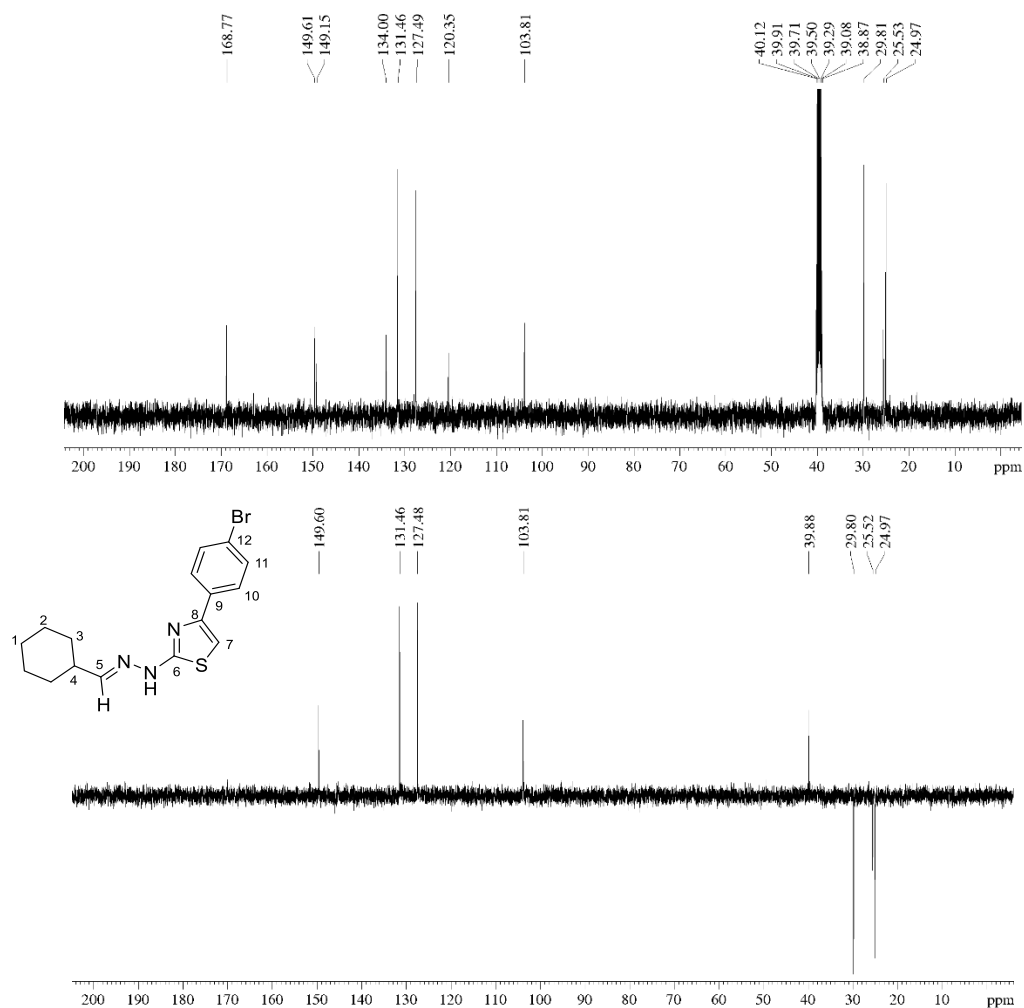
Figura B21 – Espectro de RMN de ^1H de 2e (400 MHz, DMSO – d_6)Figura B22 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2e (100 MHz, DMSO – d_6)

Figura B23 – Espectro de RMN de ^1H de 2f (400 MHz, DMSO – d_6)

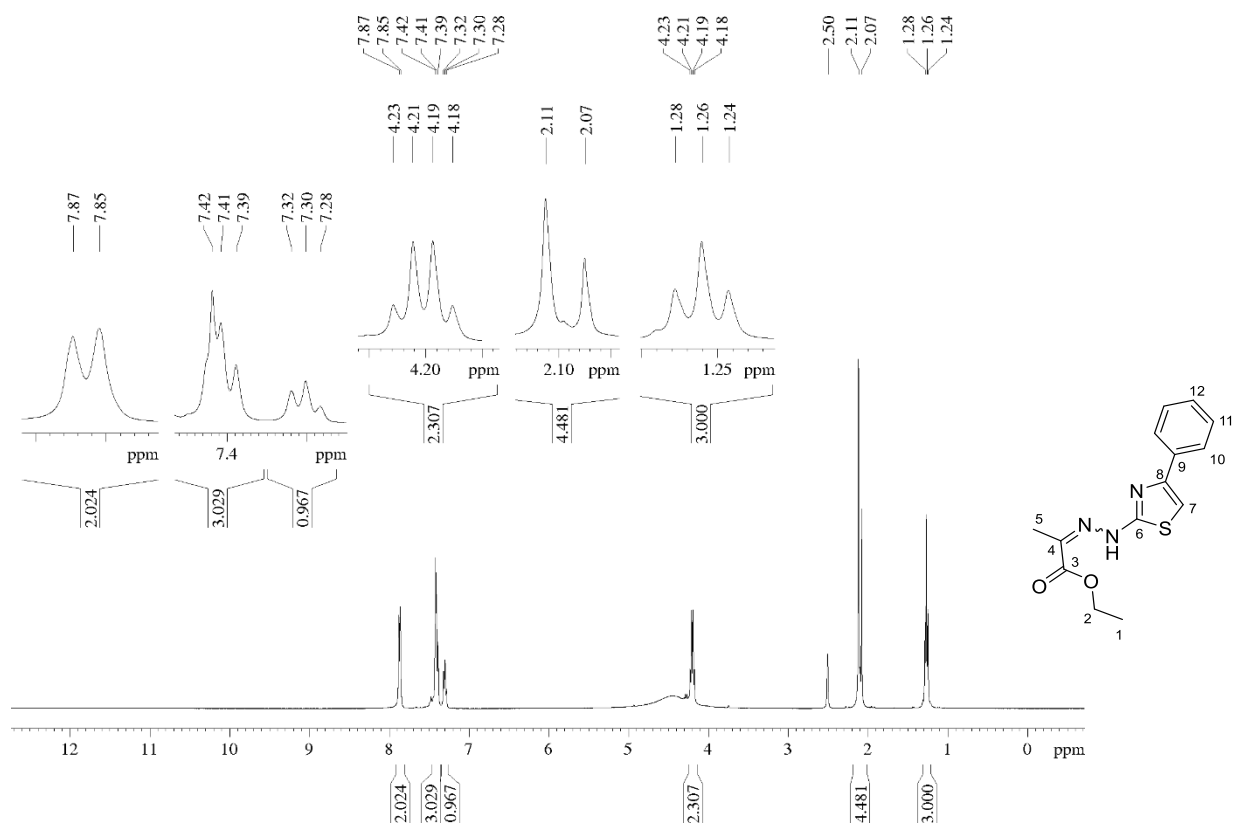


Figura B24 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2f (100 MHz, DMSO – d_6)

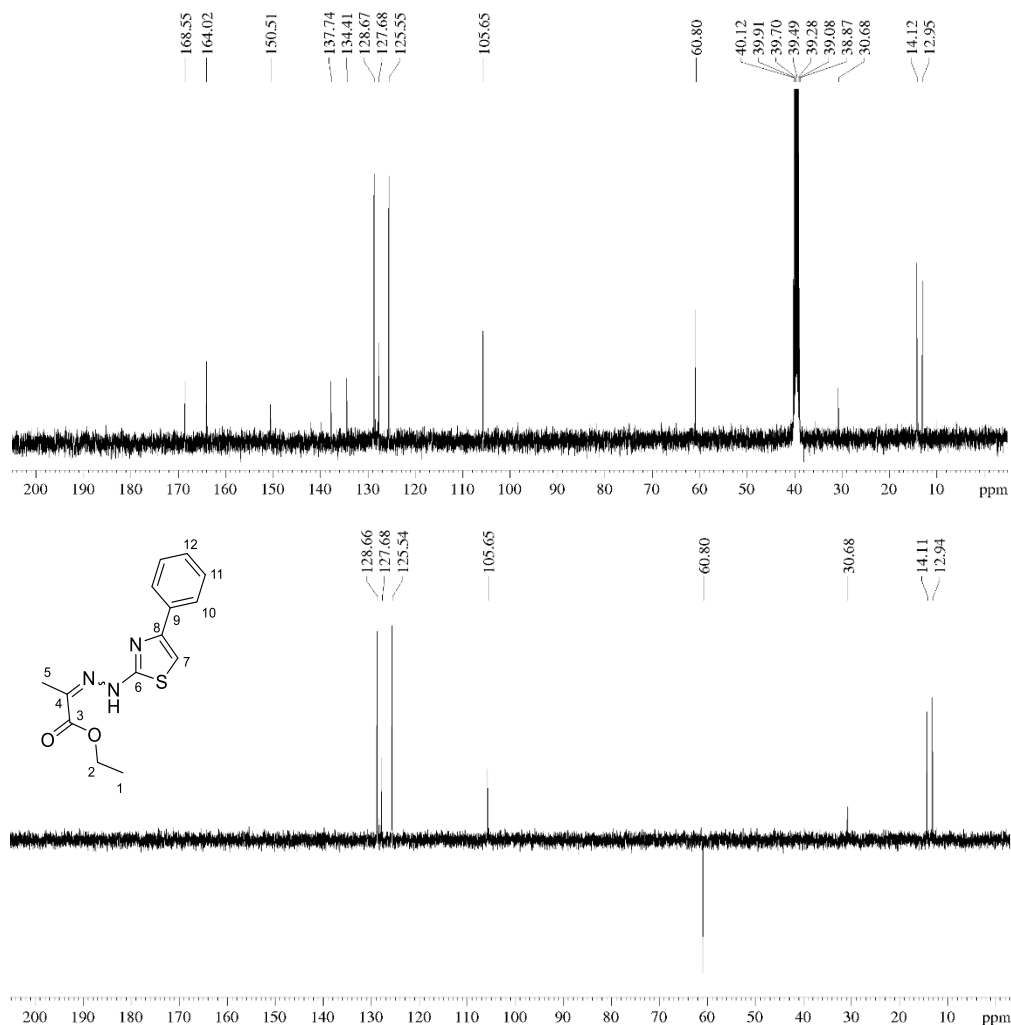


Figura B25 – Espectro de RMN de ^1H de 2g (400 MHz, CDCl_3)

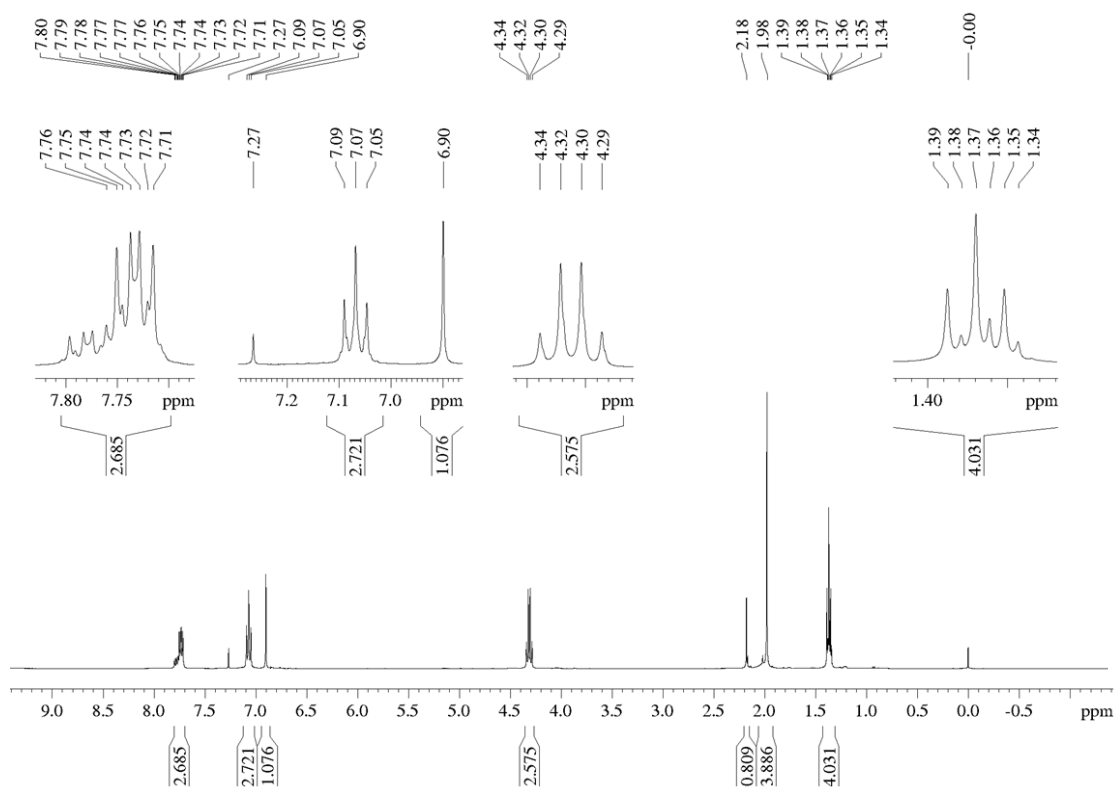


Figura B26 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2g (100 MHz, CDCl_3)

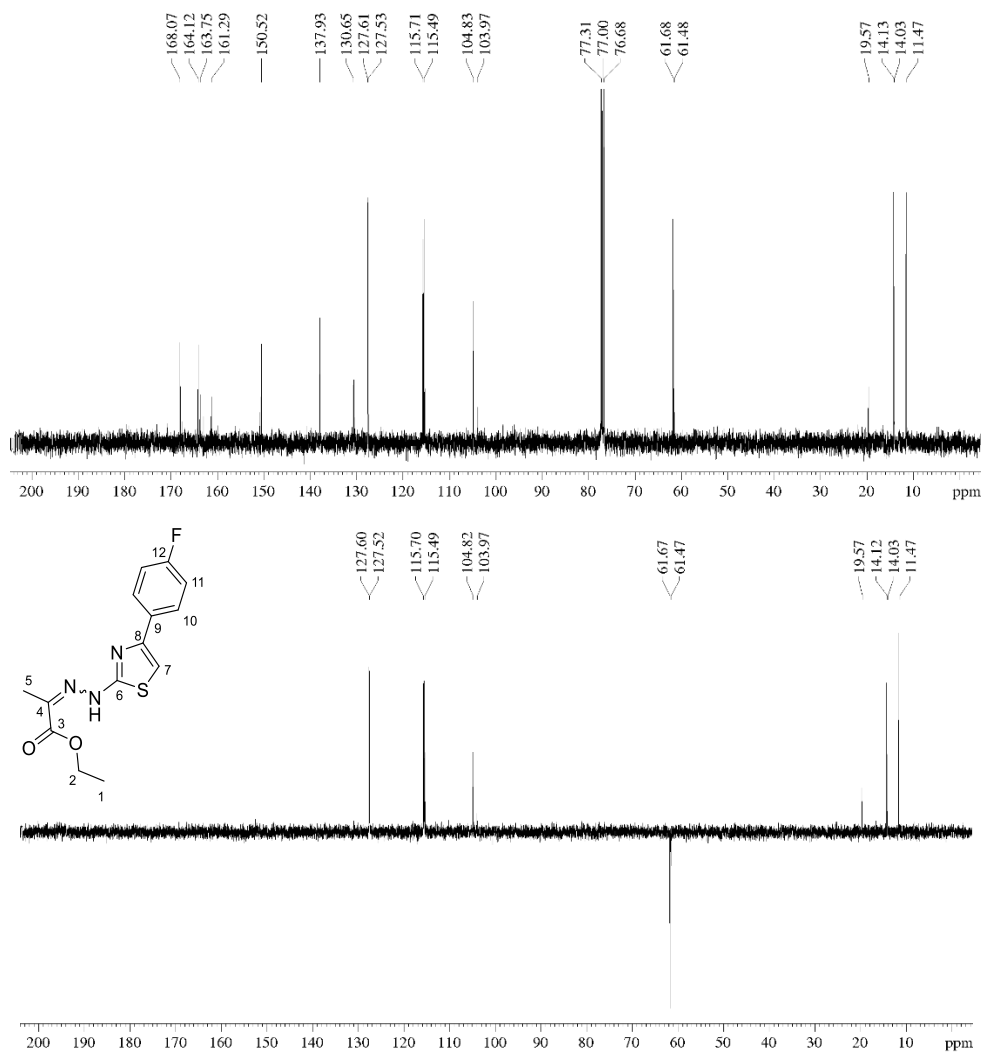


Figura B27 – Espectro de RMN de ^1H de 2h (400 MHz, DMSO – d_6)

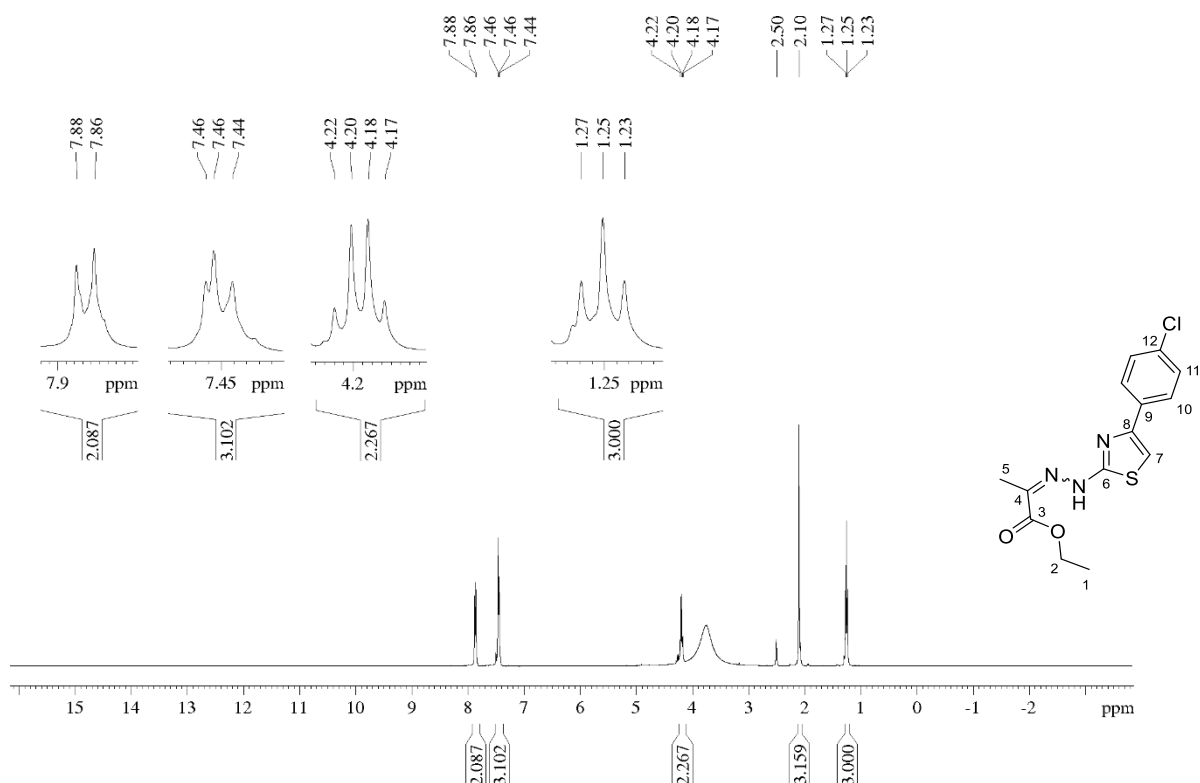


Figura B28 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2h (100 MHz, DMSO – d_6)

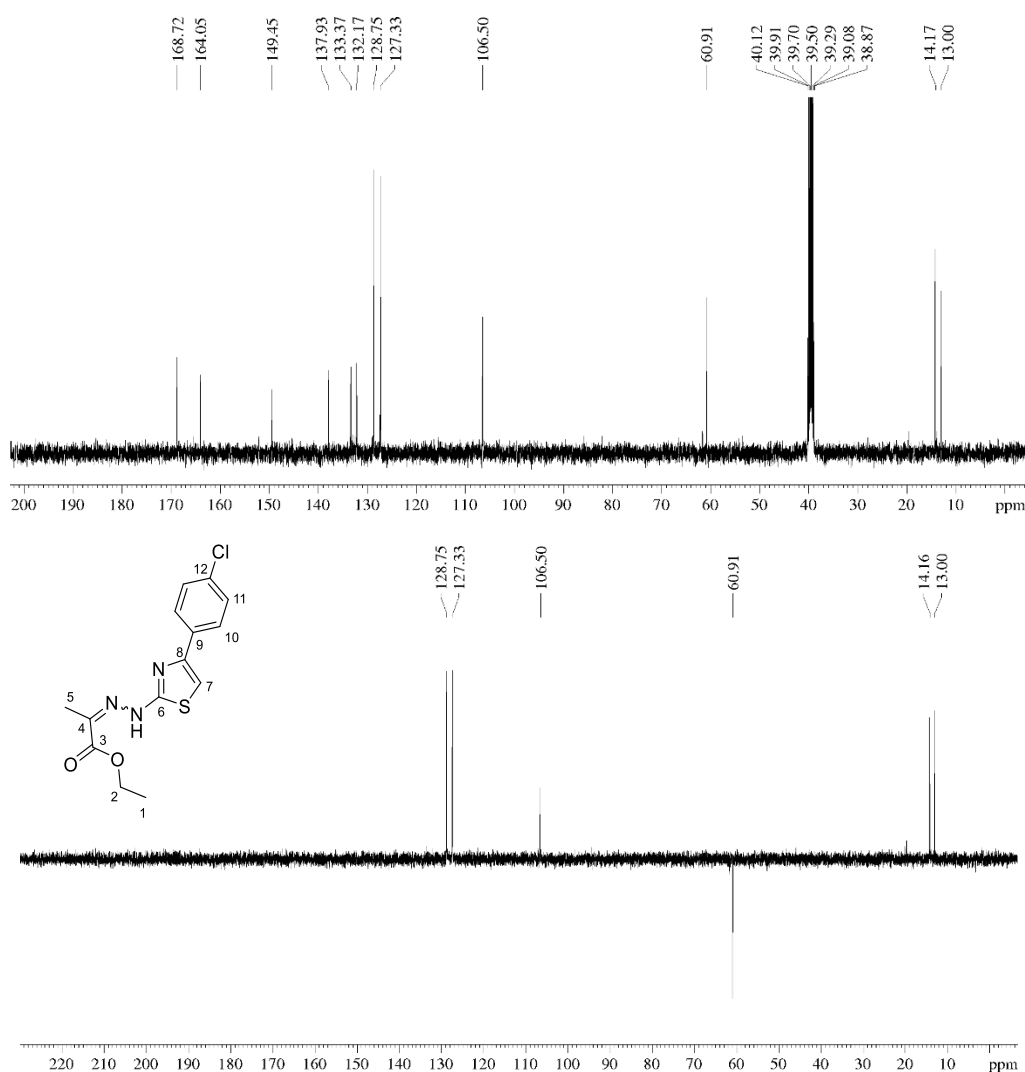


Figura B29 – Espectro de RMN de ^1H de 2i (400 MHz, DMSO – d_6)

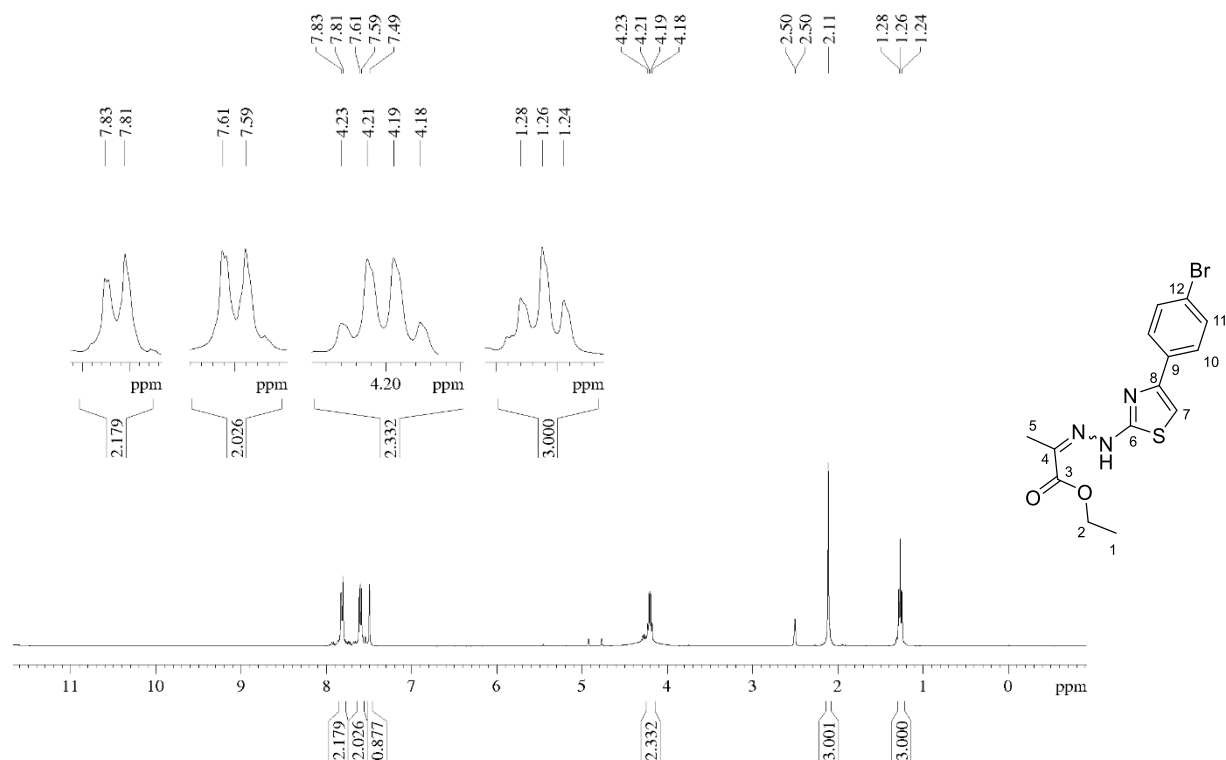


Figura 30 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2i (100 MHz, DMSO – d_6)

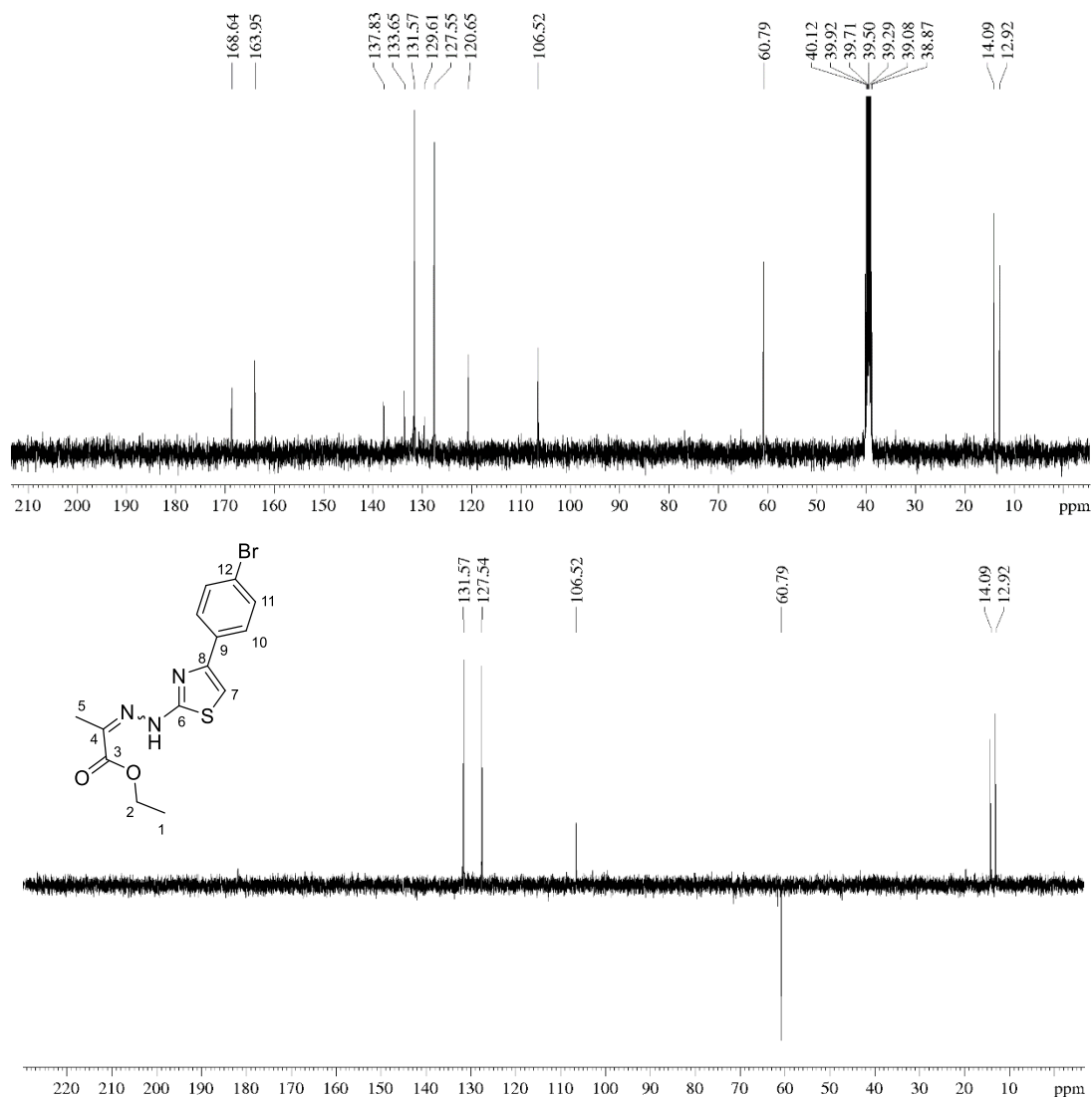


Figura B31 – Espectro de RMN de ^1H de 2j (400 MHz, DMSO – d_6)

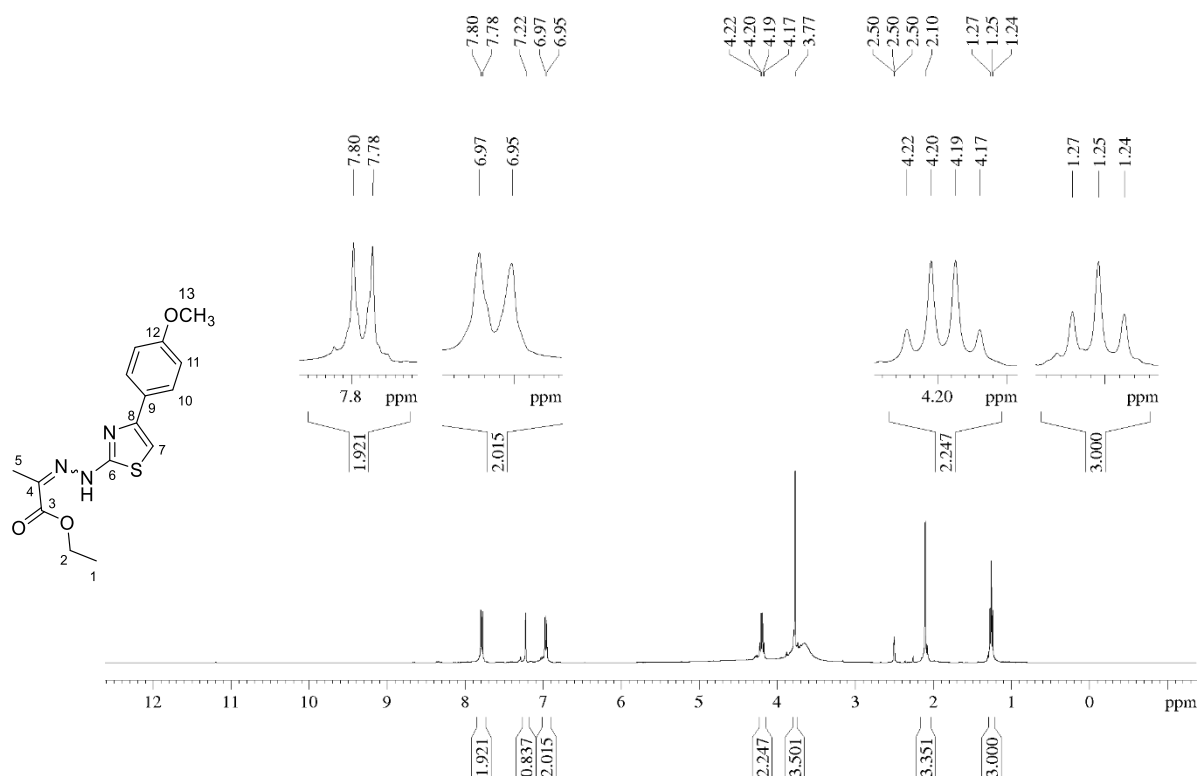


Figura B32 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2j (100 MHz, DMSO – d_6)

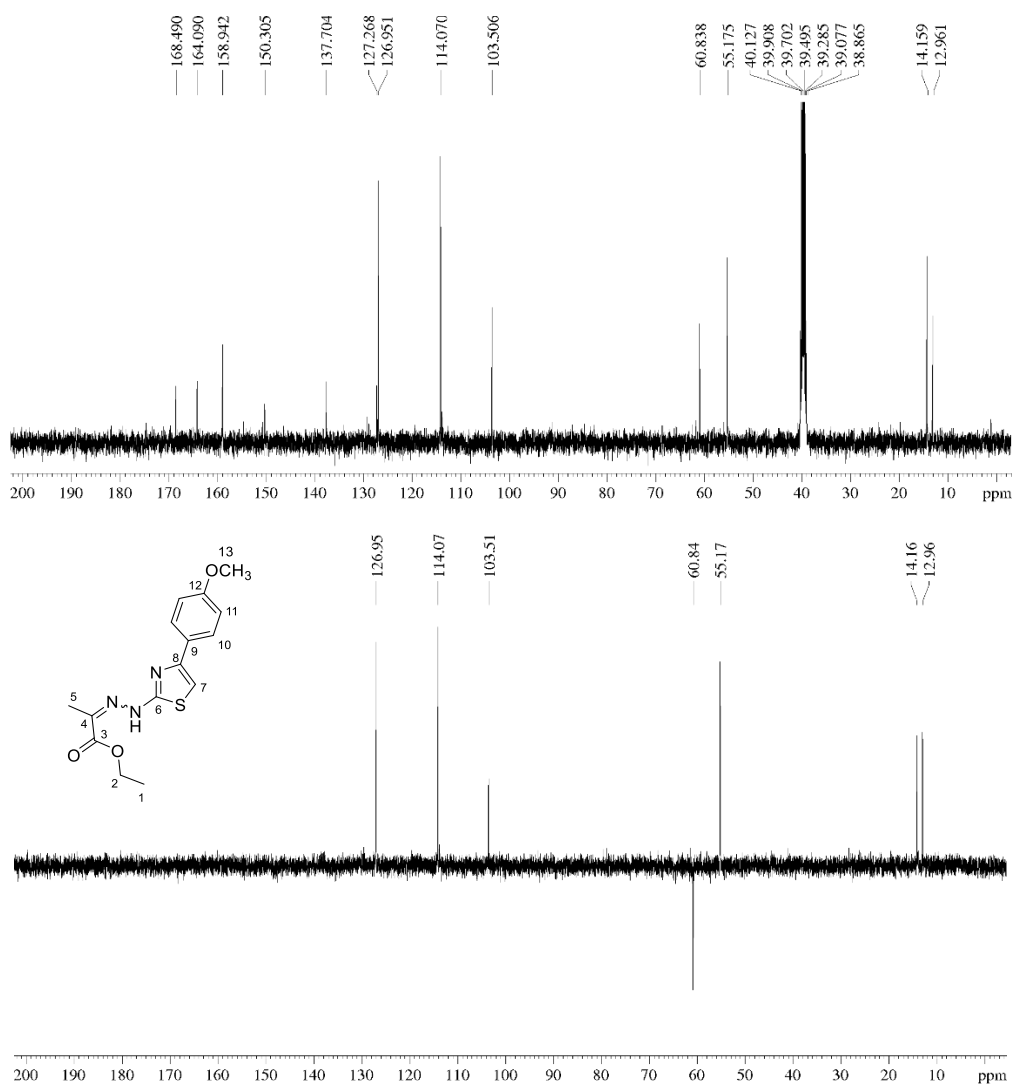


Figura B33 – Espectro de RMN de ^1H de 2k (400 MHz, DMSO – d_6)

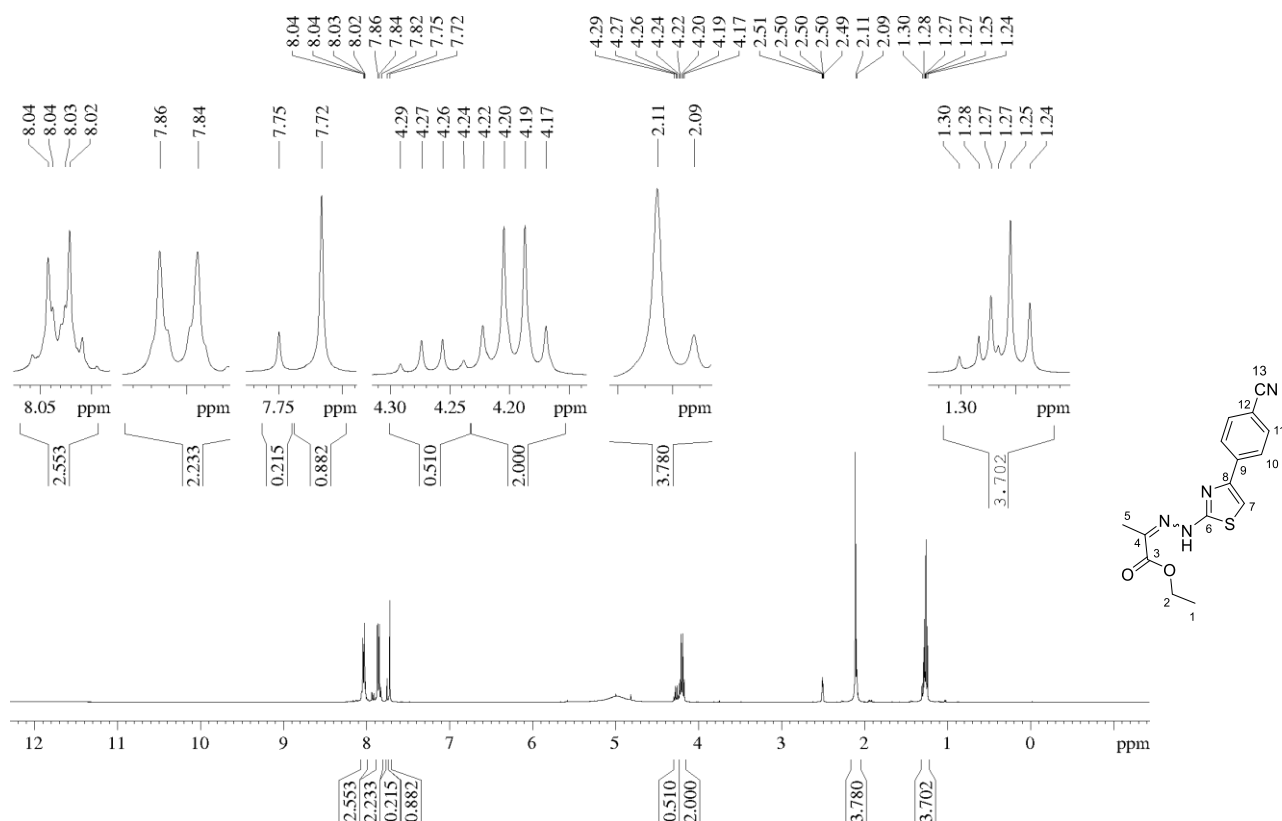


Figura B34 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2k (100 MHz, DMSO – d_6)

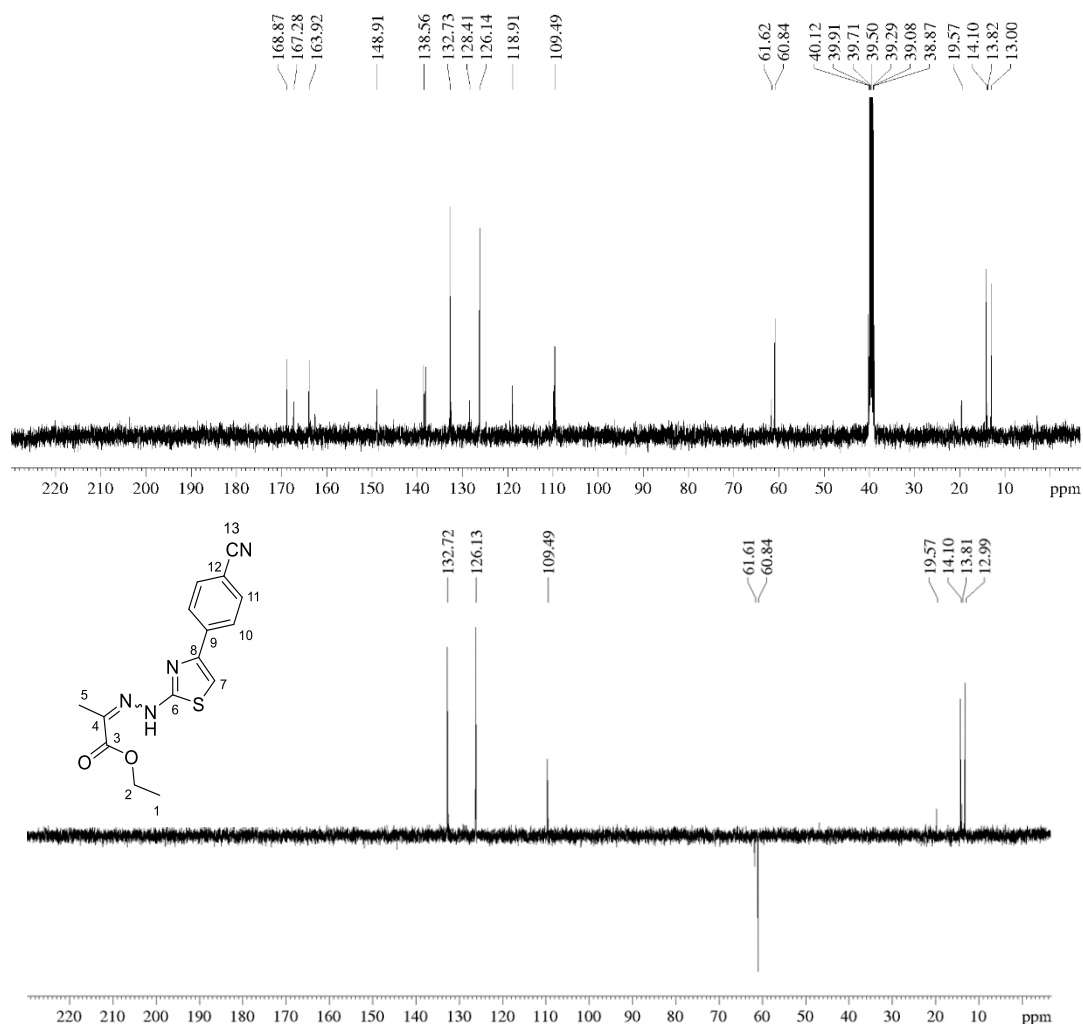


Figura B35 – Espectro de RMN de ^1H de 2I (400 MHz, DMSO – d_6)

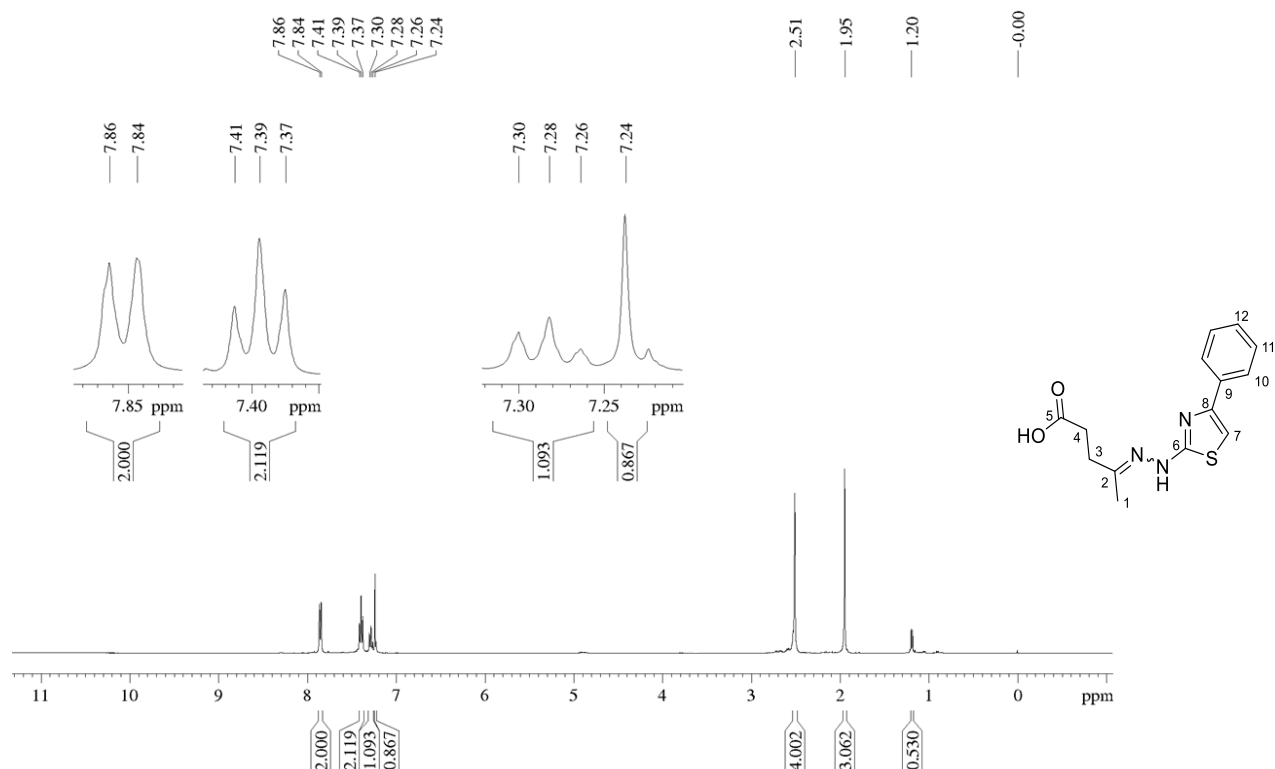


Figura 36 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2I (100 MHz, DMSO – d_6)

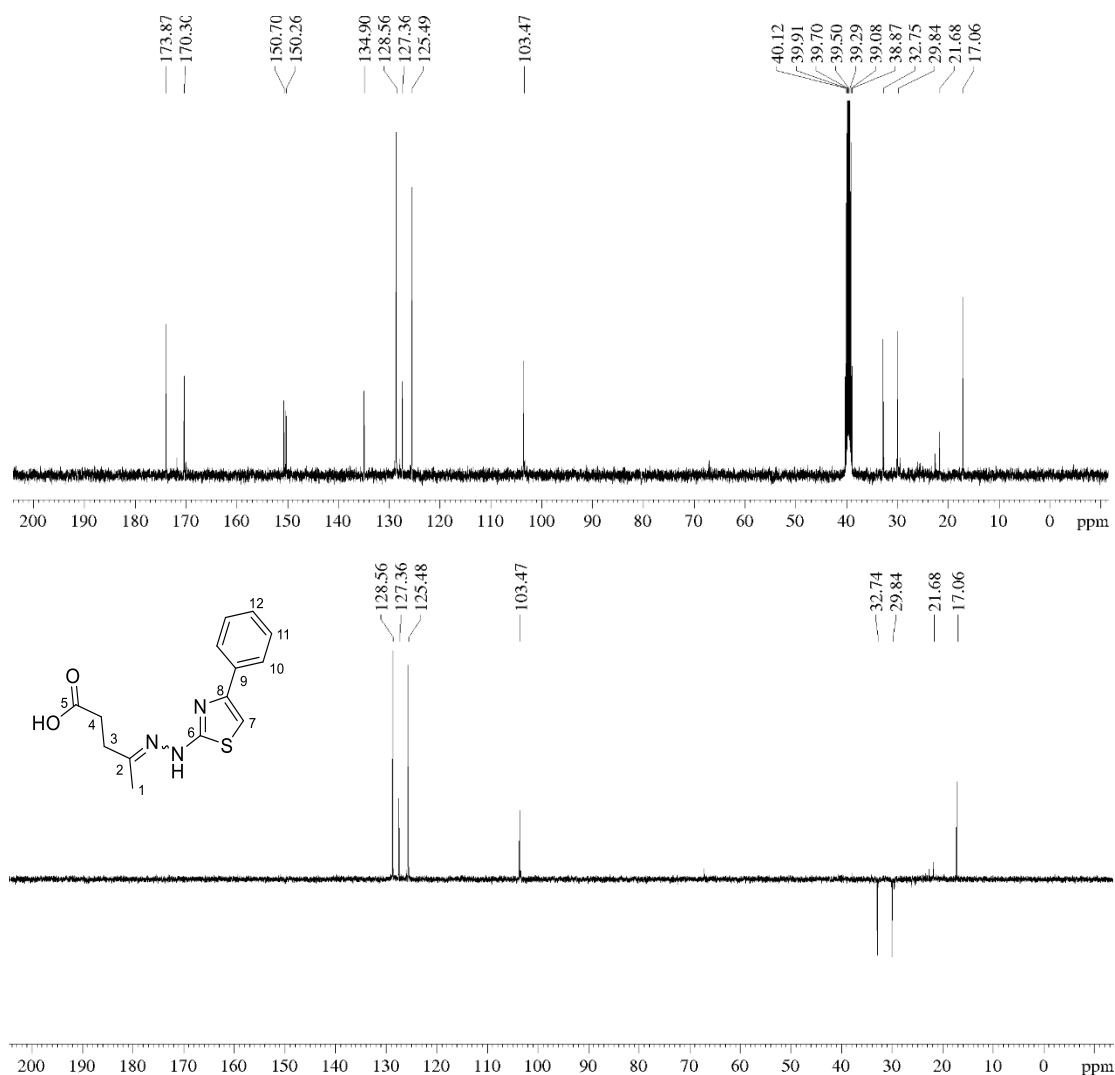


Figura B37 – Espectro de RMN de ^1H de 2m (400 MHz, DMSO – d_6)

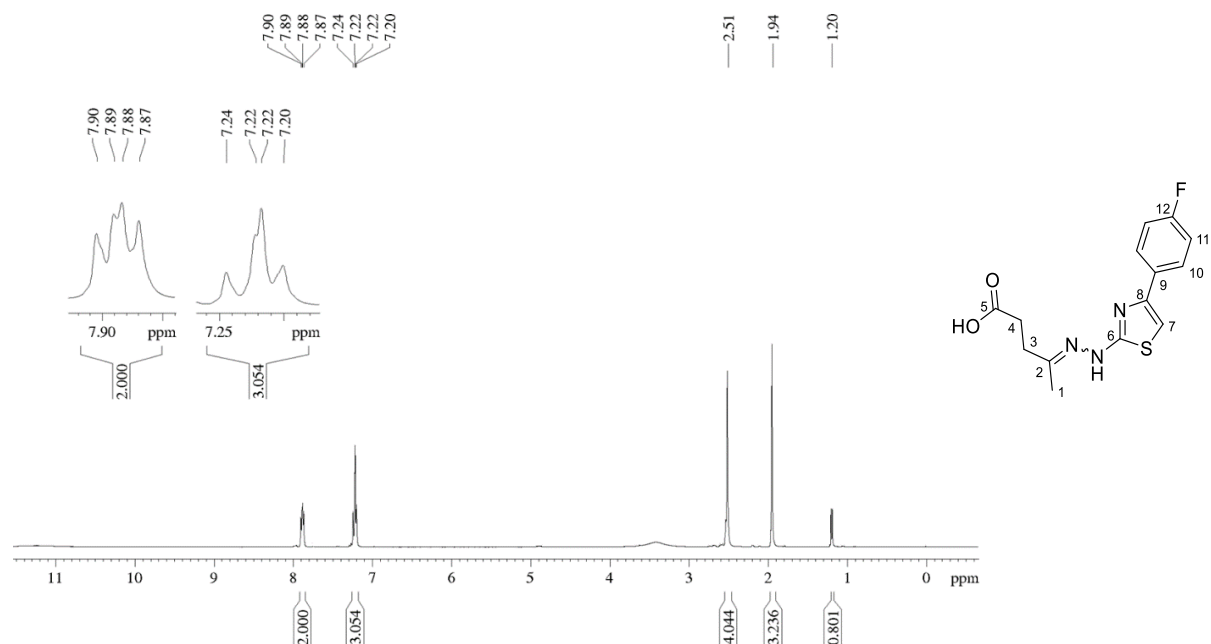


Figura B38 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2m (100 MHz, DMSO – d_6)

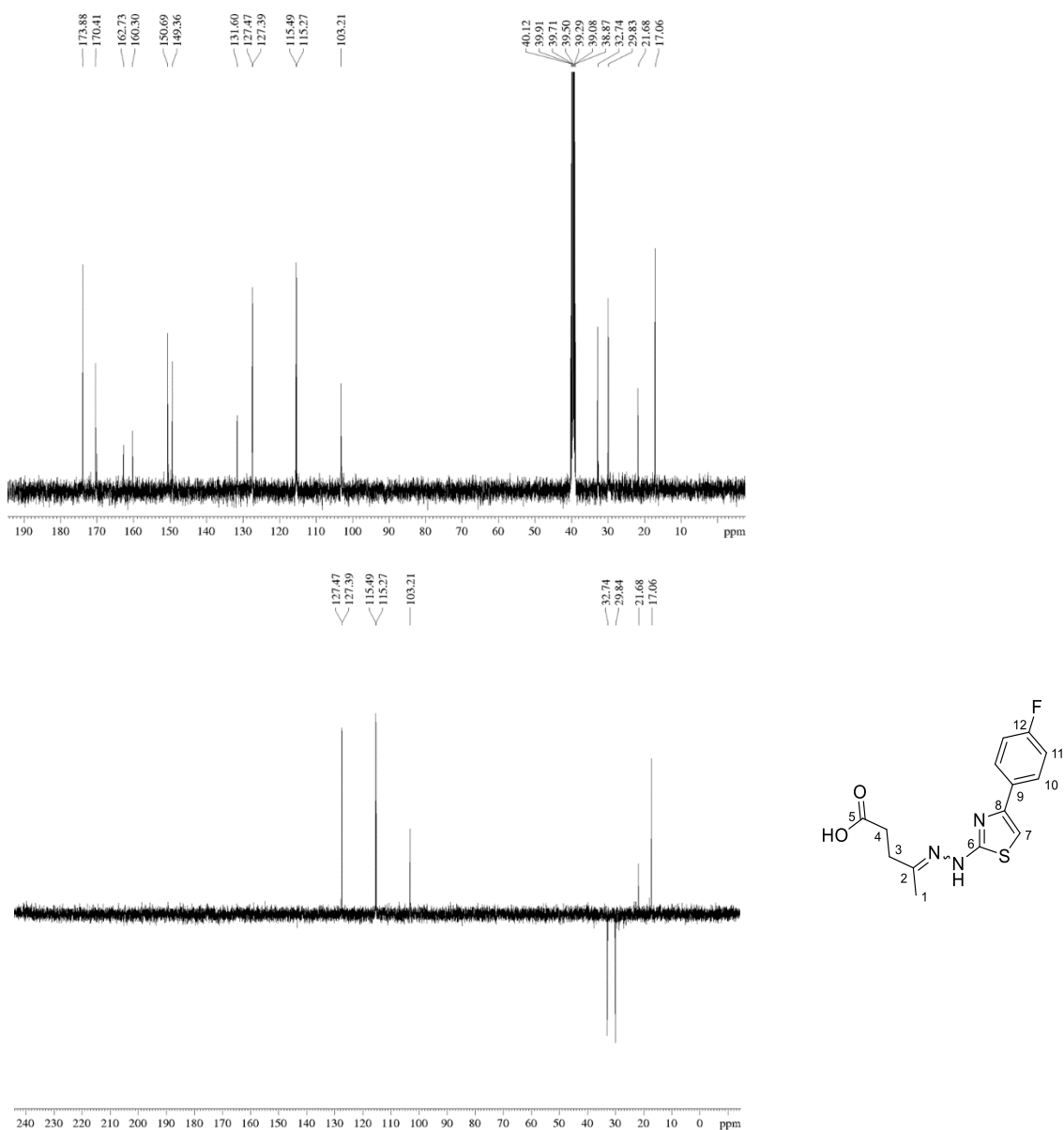


Figura B39 – Espectro de RMN de ^1H de 2n (400 MHz, DMSO – d_6)

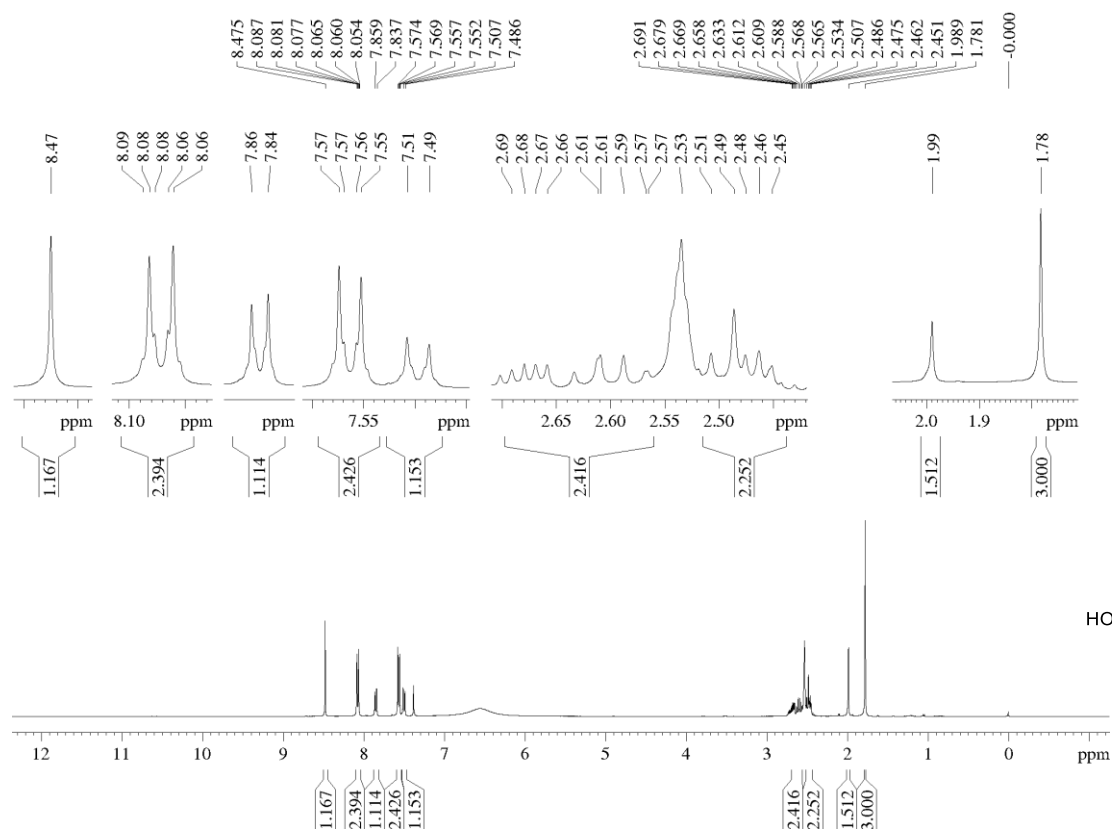


Figura B40 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2n (100 MHz, DMSO – d_6)

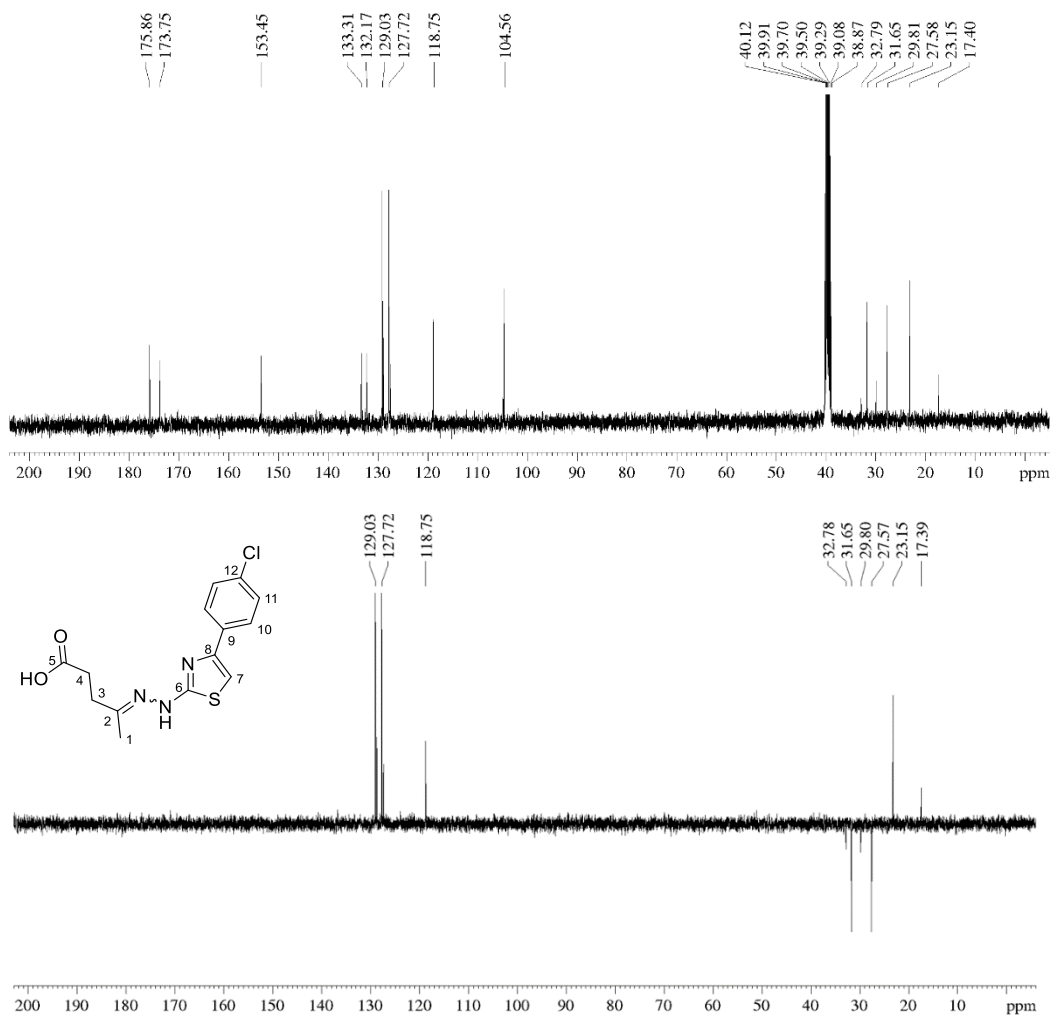


Figura B41 – Espectro de RMN de ^1H de 2o (400 MHz, DMSO – d_6)

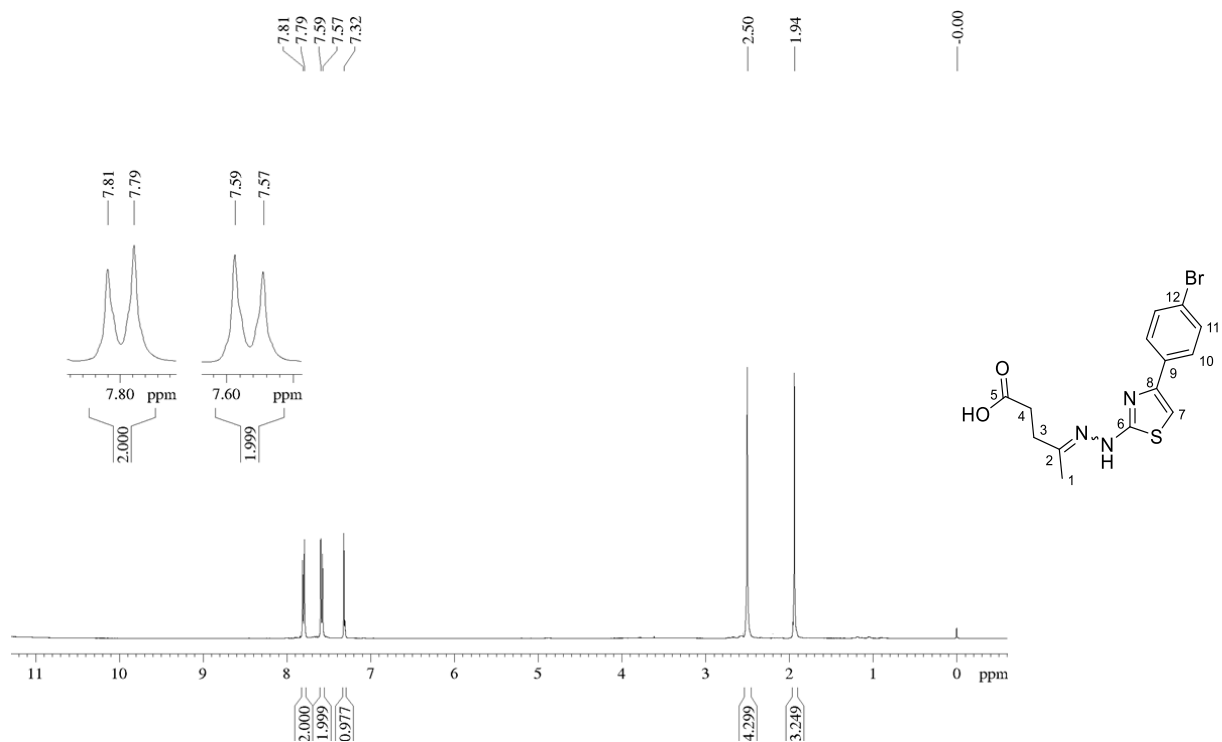


Figura B42 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2o (100 MHz, DMSO – d_6)

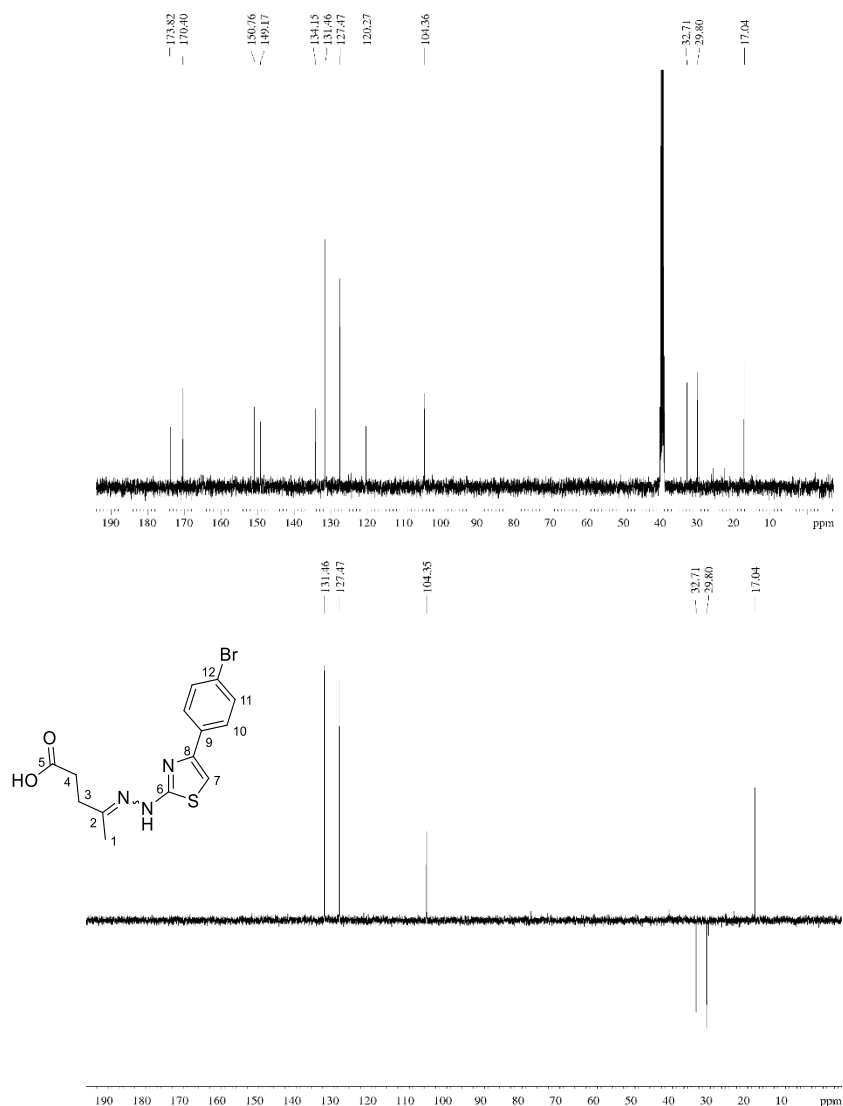


Figura B43 – Espectro de RMN de ^1H de 2p (400 MHz, DMSO – d_6)

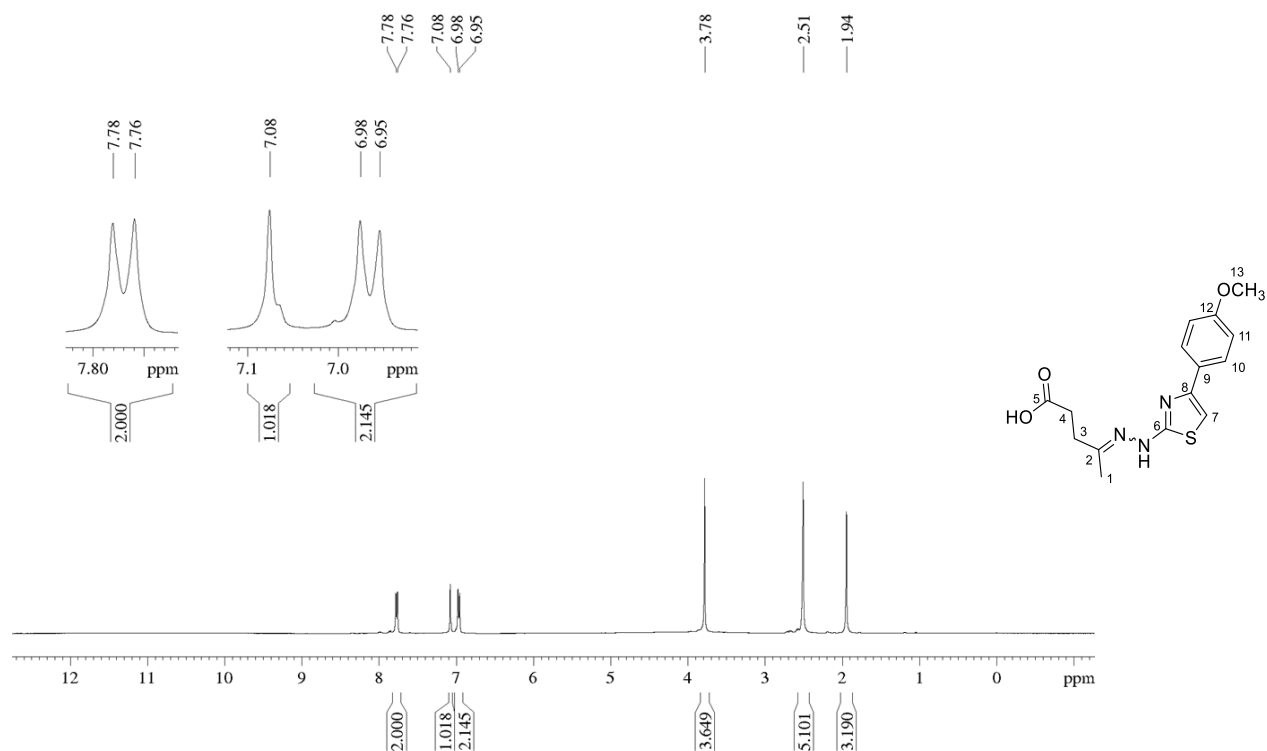


Figura B44 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2p (100 MHz, DMSO – d_6)

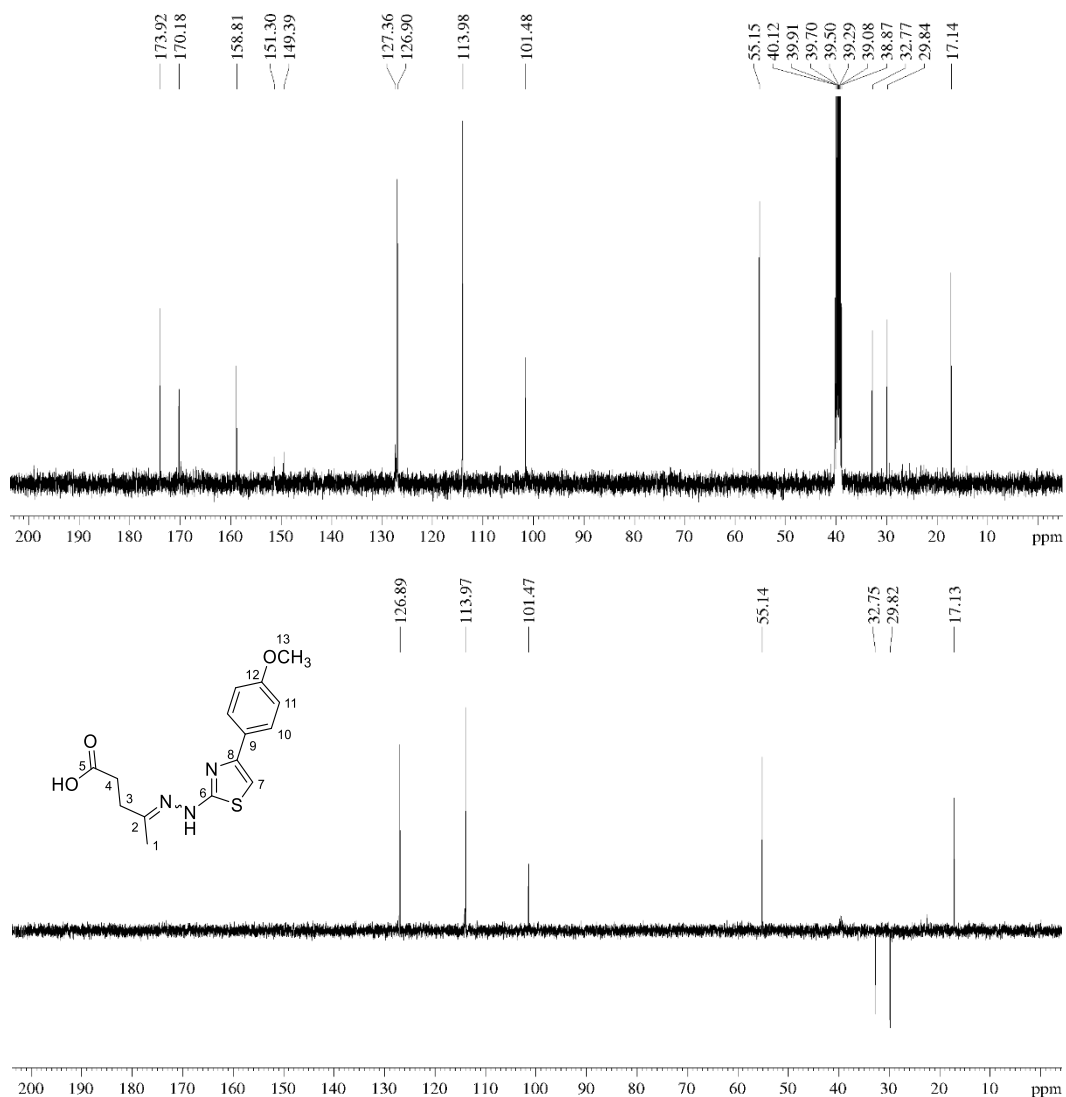


Figura B45 – Espectro de RMN de ^1H de 2q (400 MHz, DMSO – d_6)

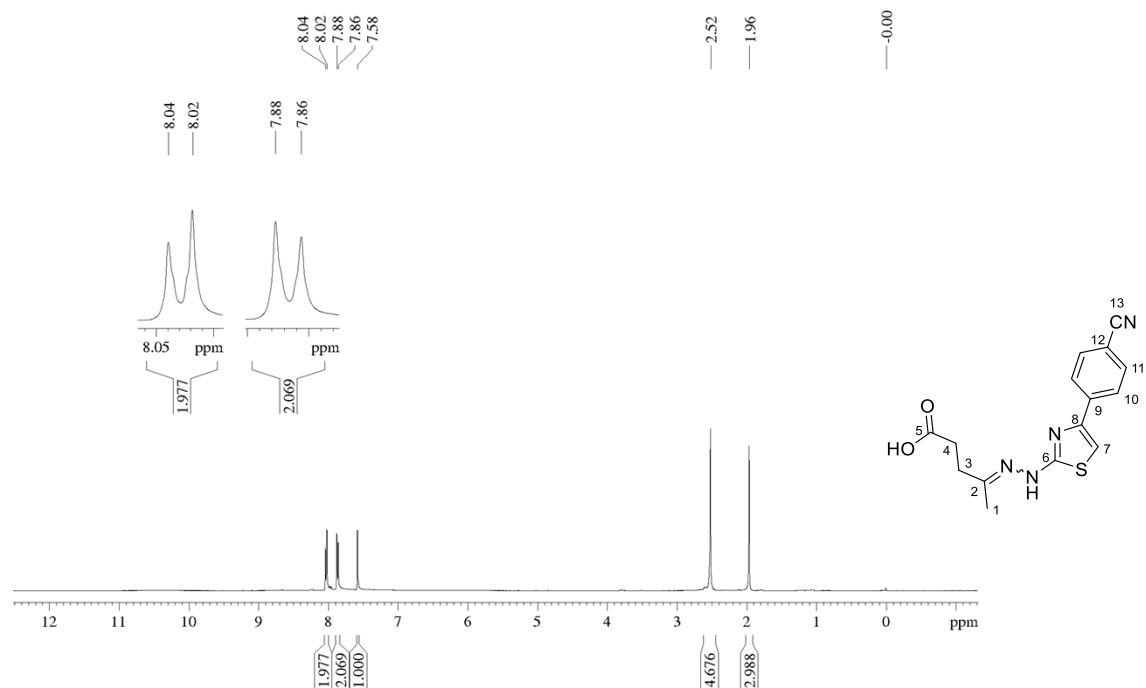


Figura B46 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2q (100 MHz, DMSO – d_6)

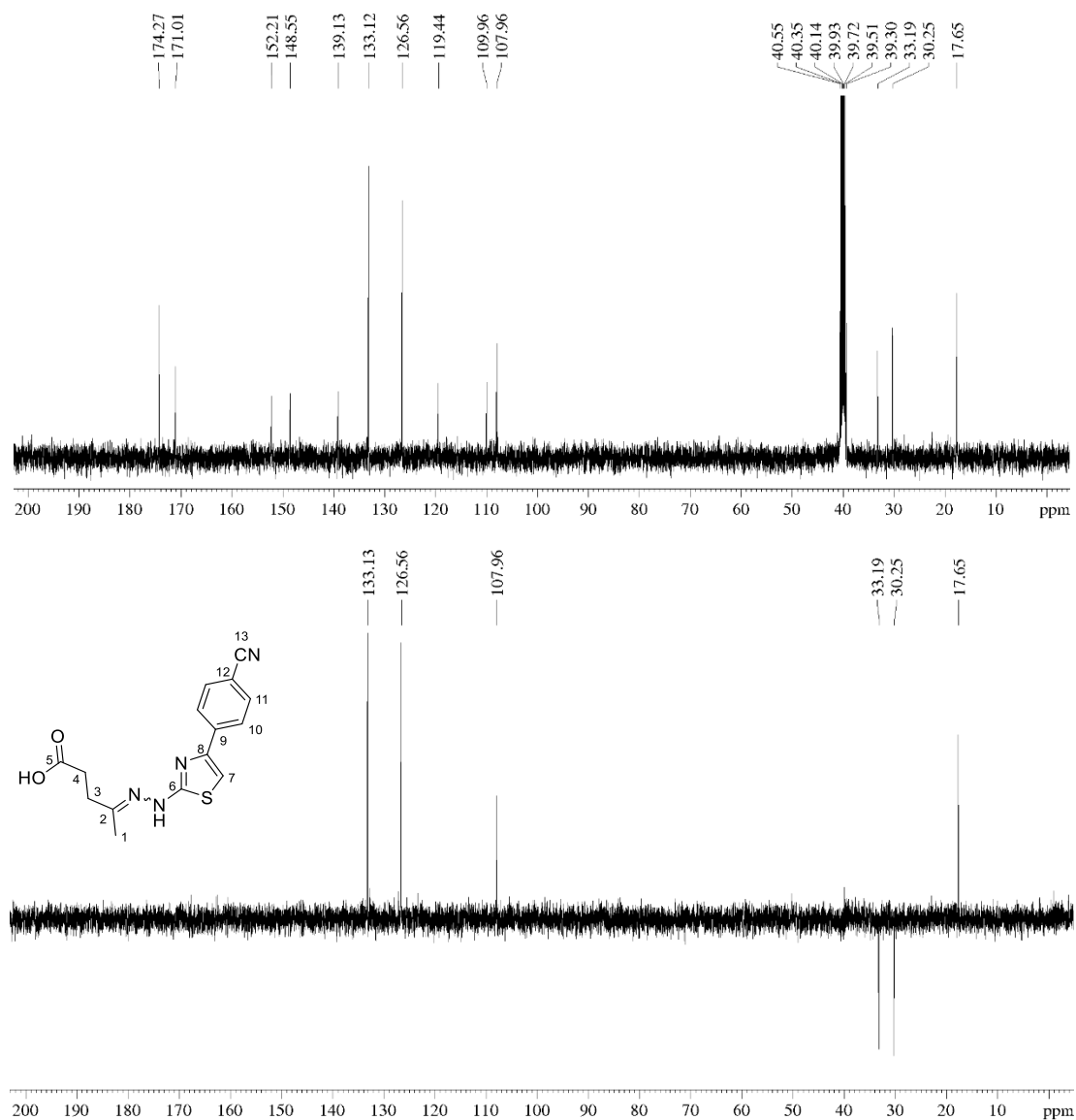


Figura B47 – Espectro de RMN de ^1H de 2r (400 MHz, acetona – d_6)

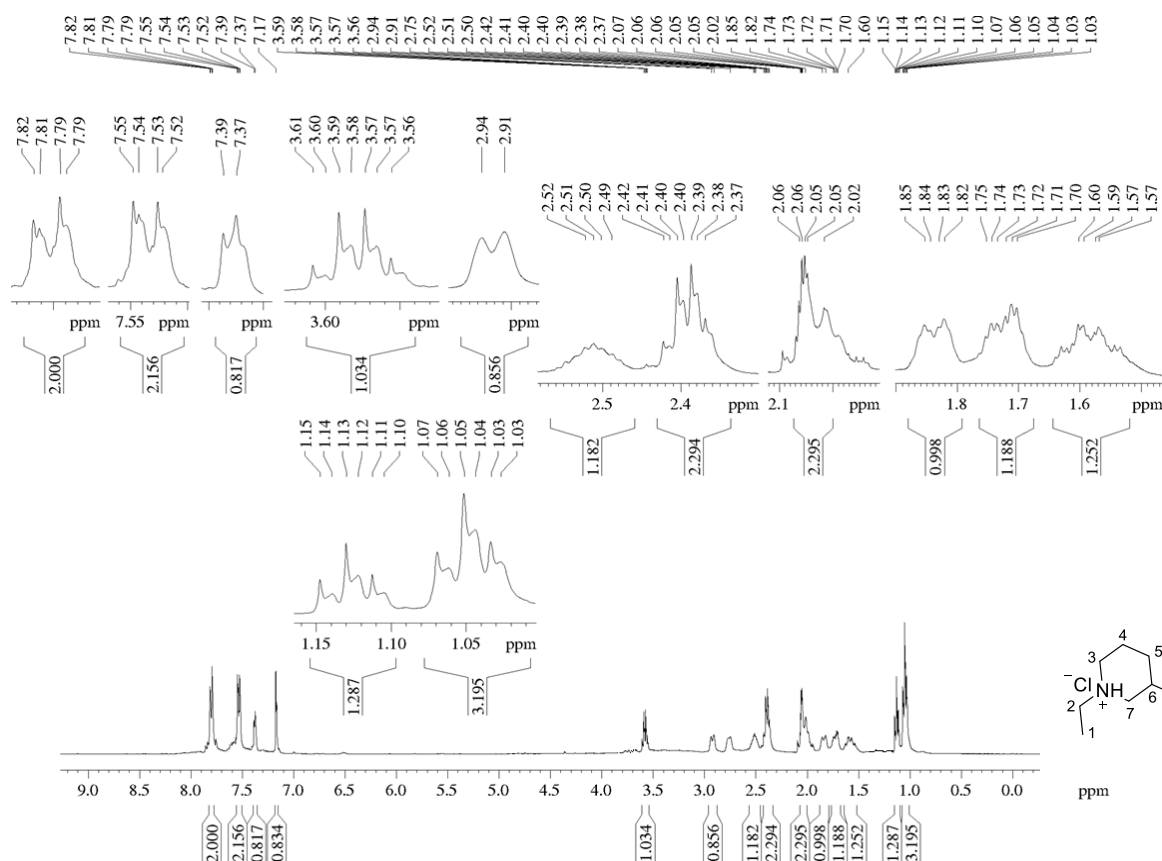


Figura B48 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 2r (100 MHz, acetona – d_6)

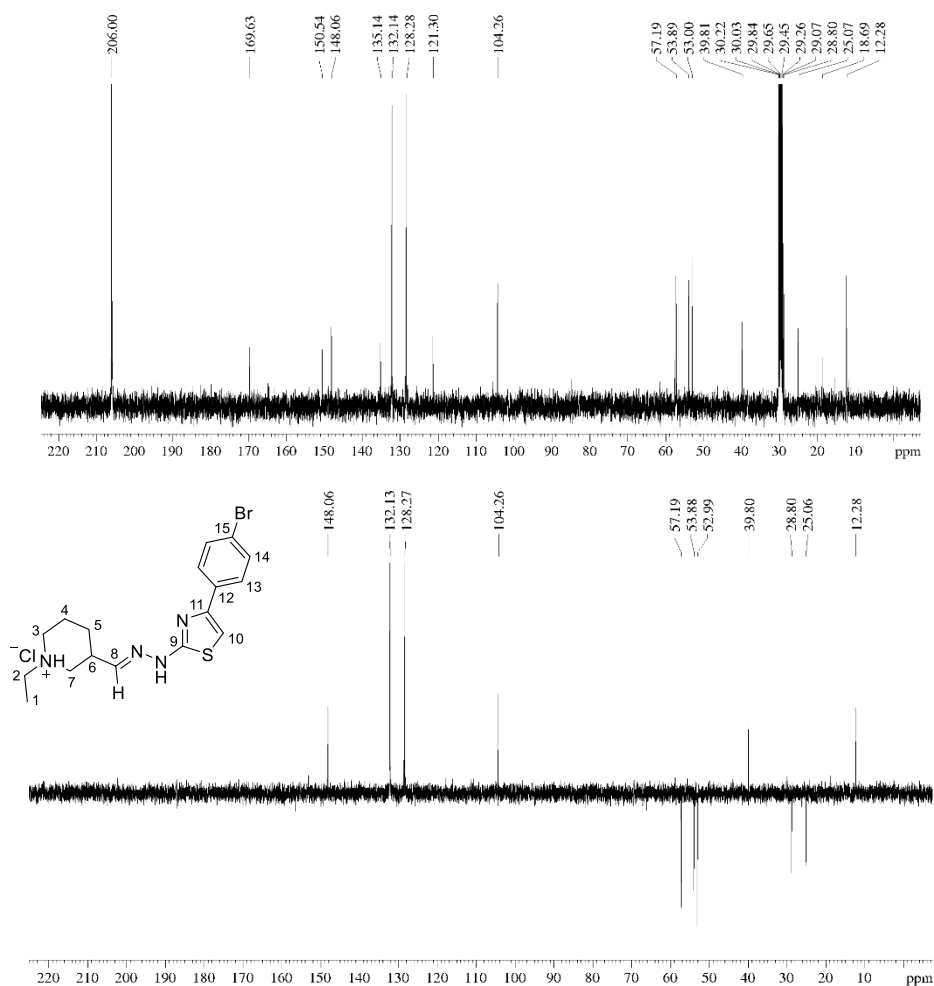


Figura B49 – Espectro de RMN de ^1H de 3a (400 MHz, acetona – d_6)

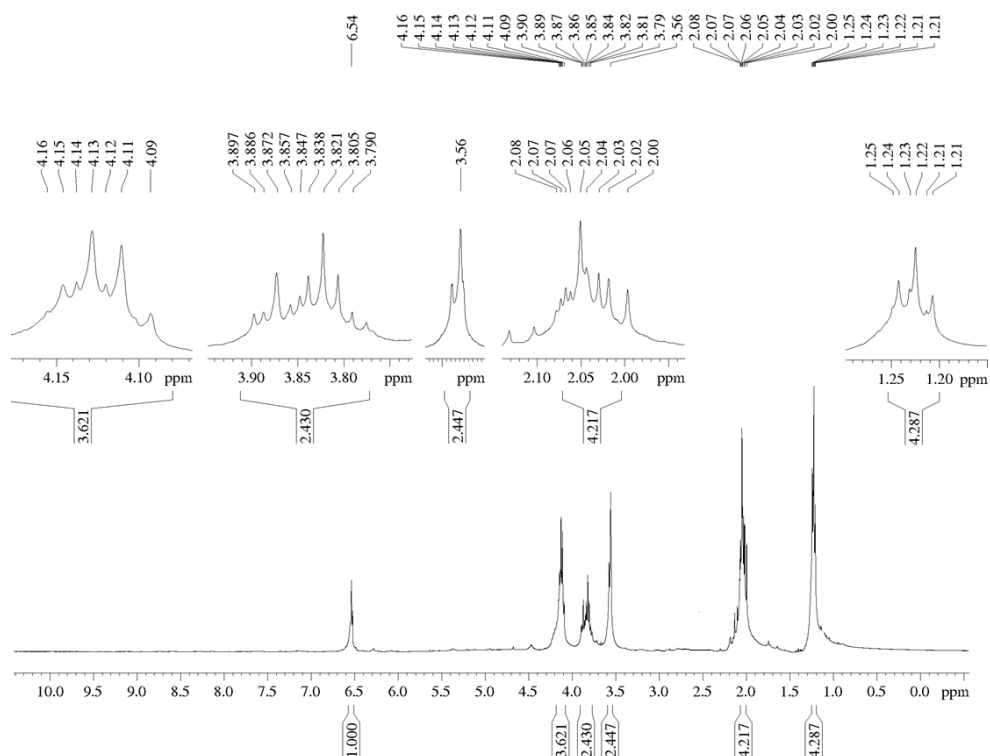


Figura B50 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 3a (100 MHz, acetona – d_6)

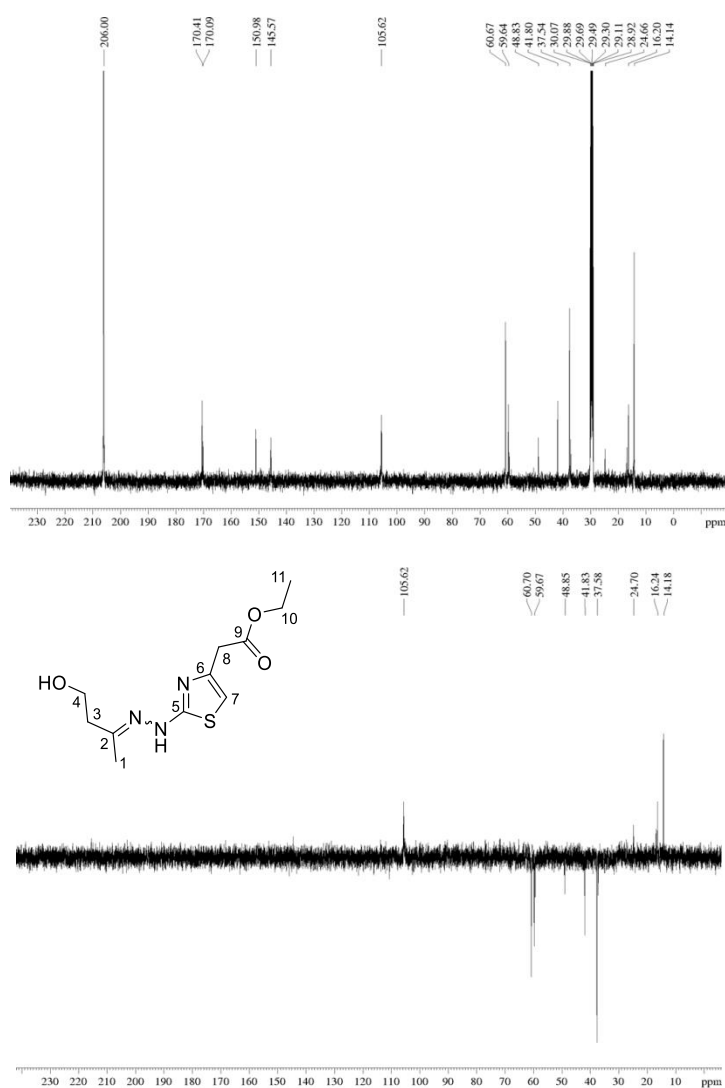


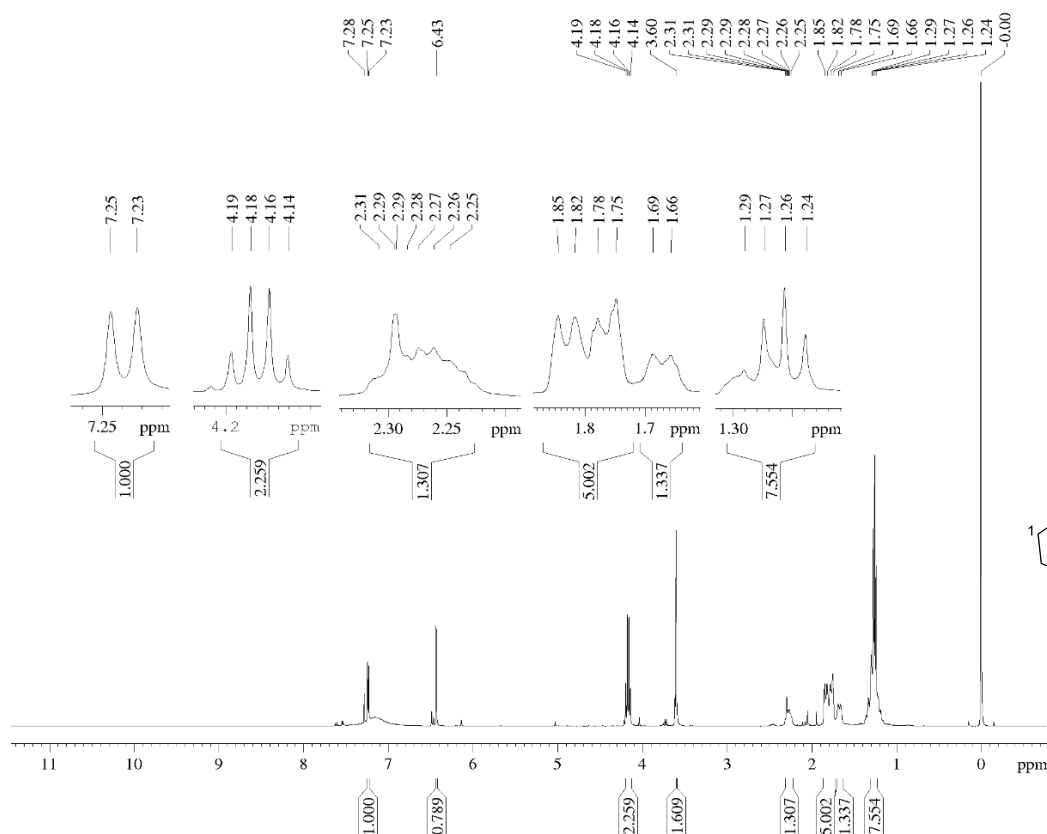
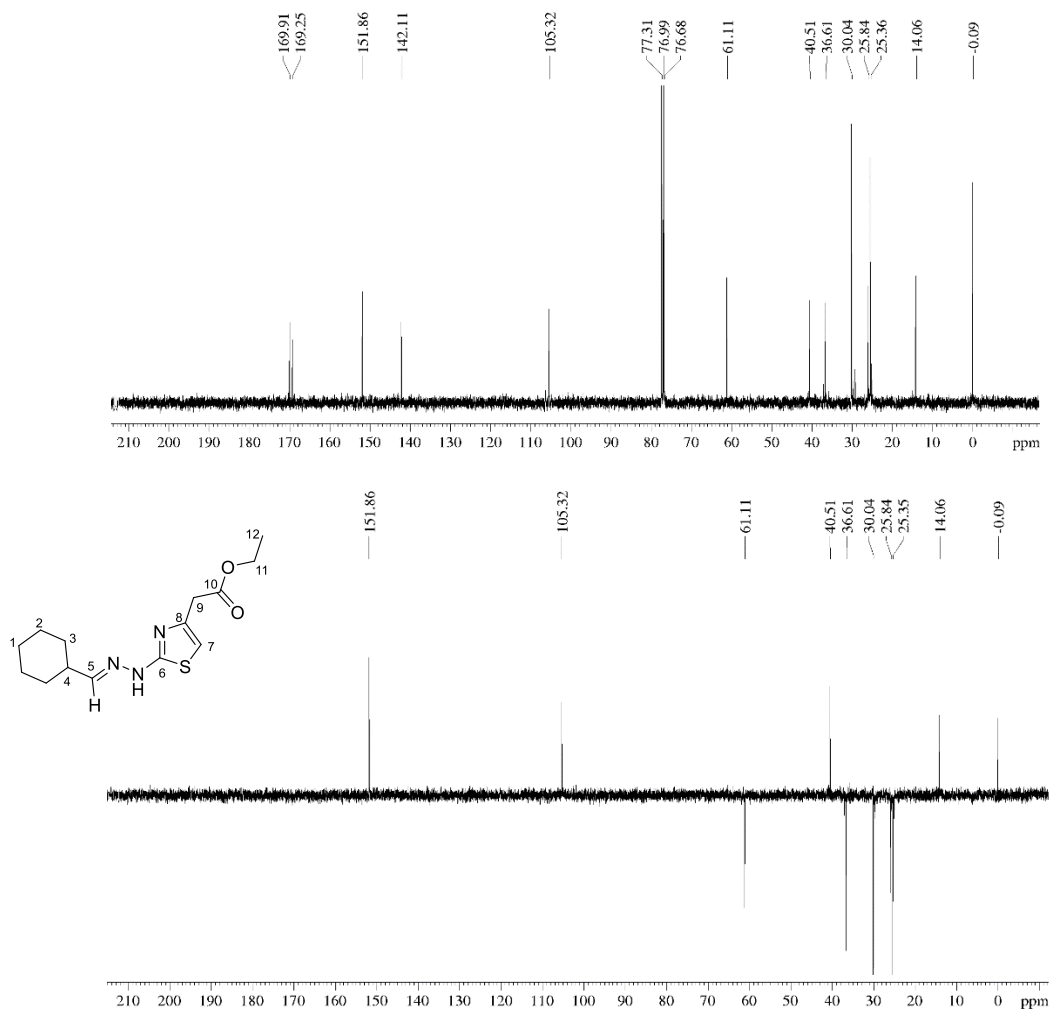
Figura B51 – Espectro de RMN de ^1H de 3b (400 MHz, CDCl_3)Figura B52 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 3b (100 MHz, CDCl_3)

Figura B53 – Espectro de RMN de ^1H de 3c (400 MHz, acetona – d_6)

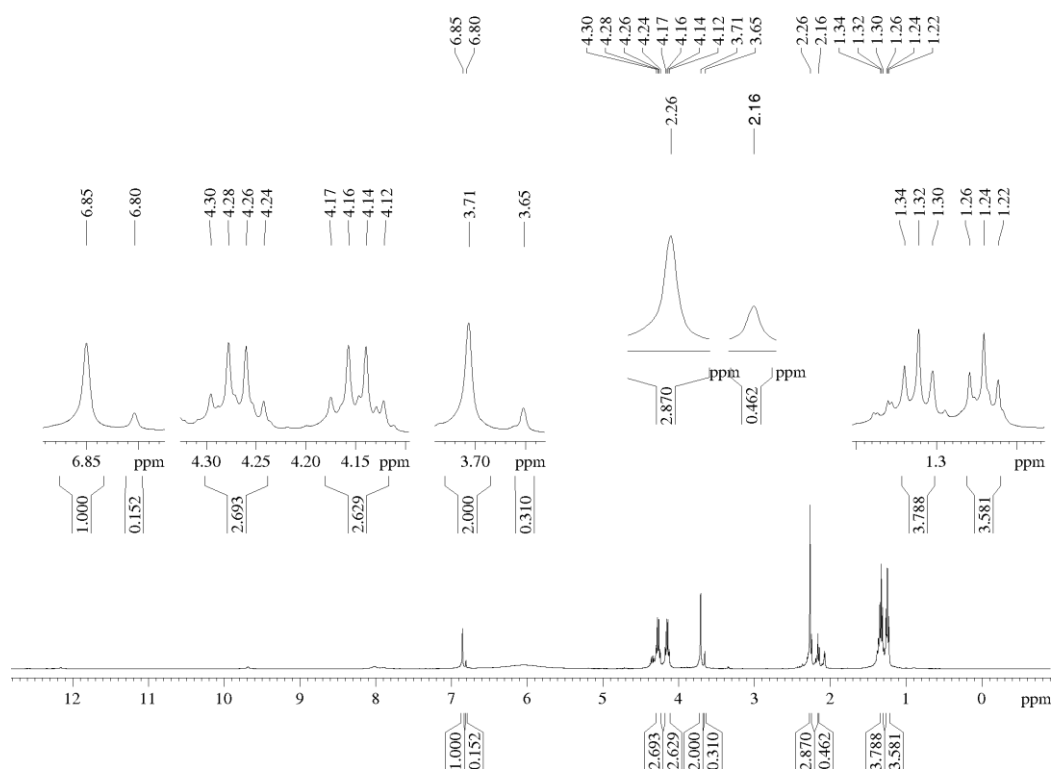


Figura B54 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 3c (100 MHz, acetona – d_6)

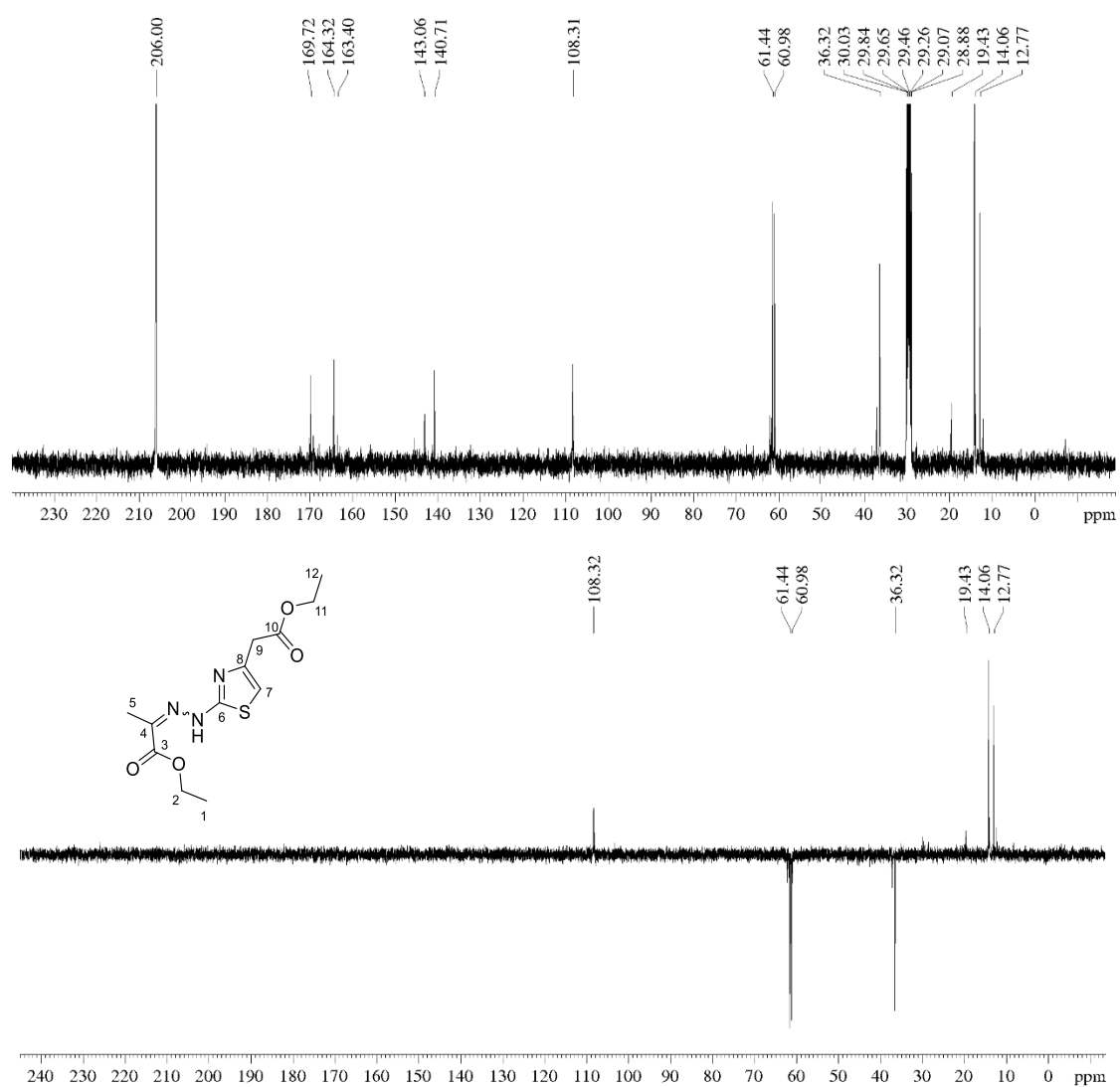


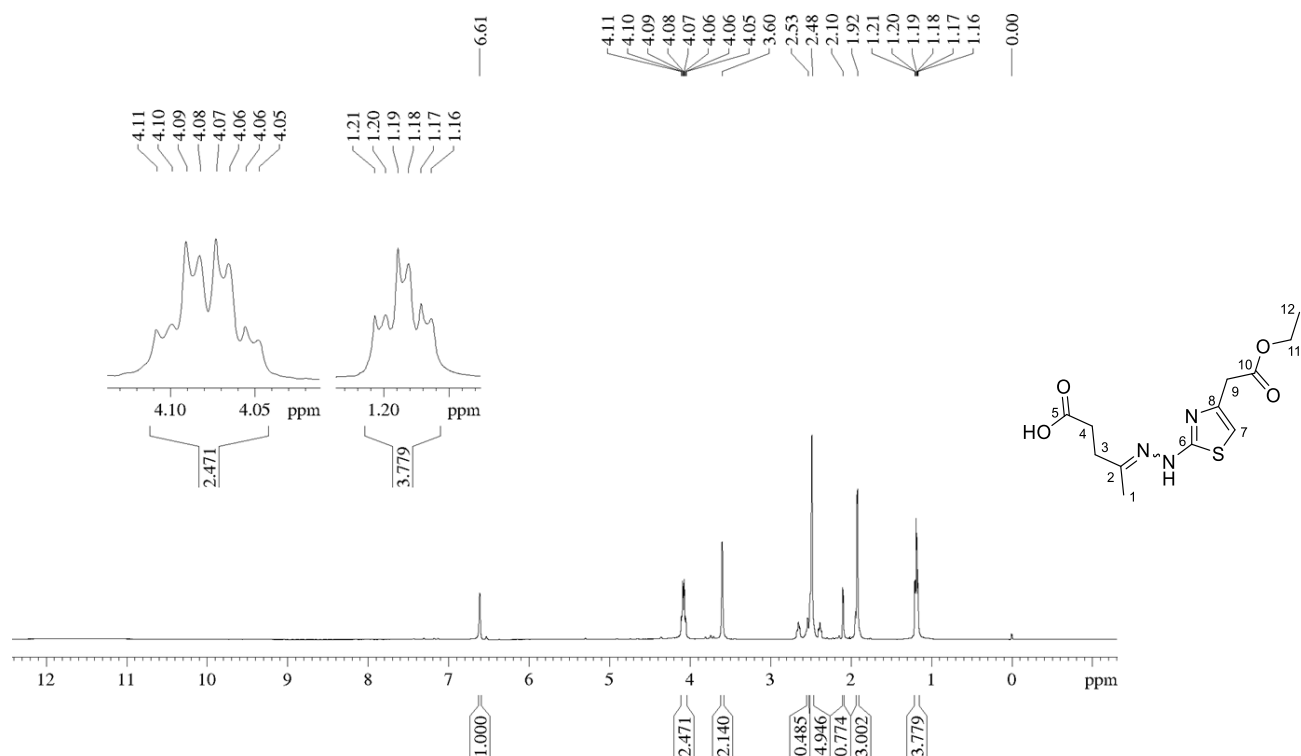
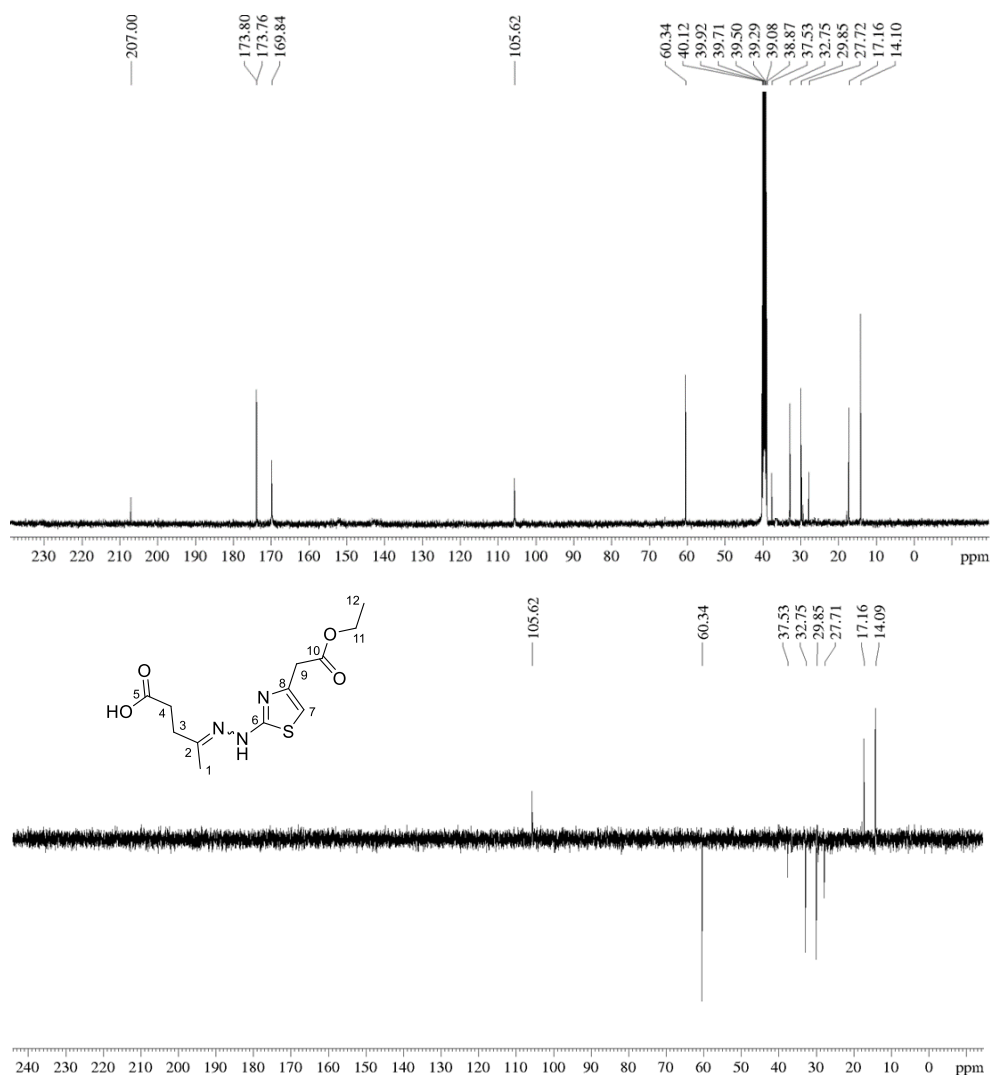
Figura B55 – Espectro de RMN de ^1H de 3d (400 MHz, DMSO – d_6)Figura B56 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 3d (100 MHz, DMSO – d_6)

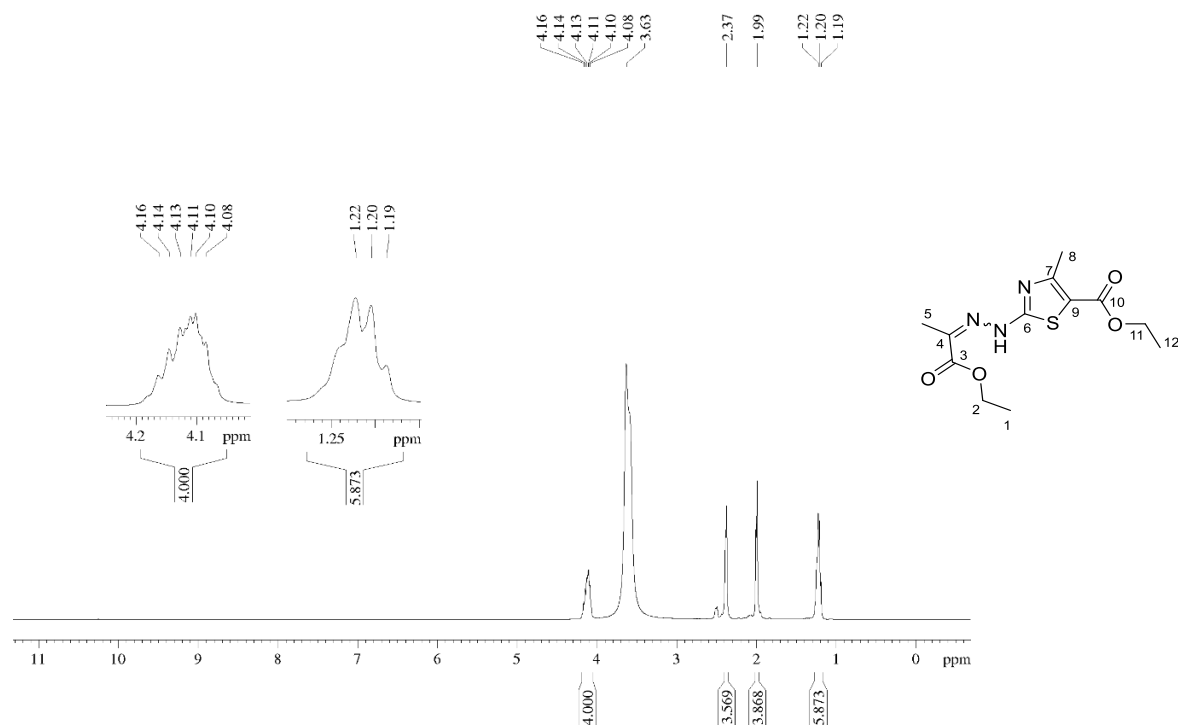
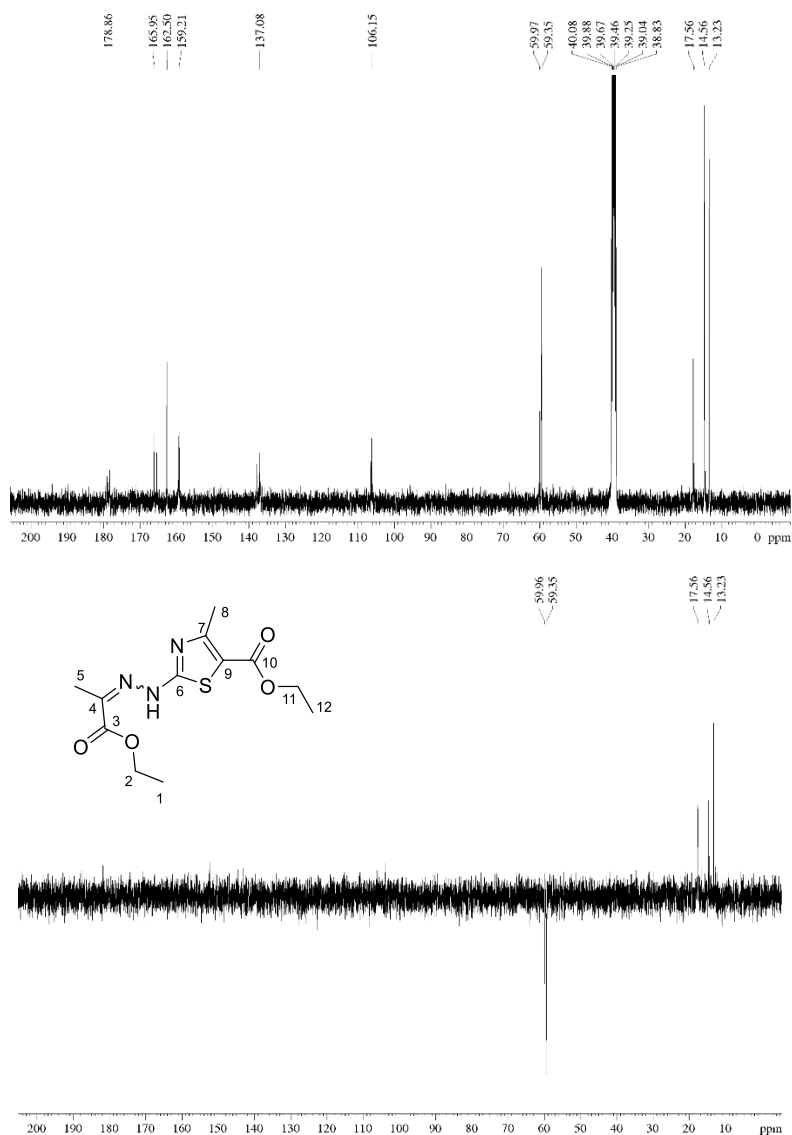
Figura B57 – Espectro de RMN de ^1H de 4a (400 MHz, DMSO – d_6)Figura B58 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 4a (100 MHz, DMSO – d_6)

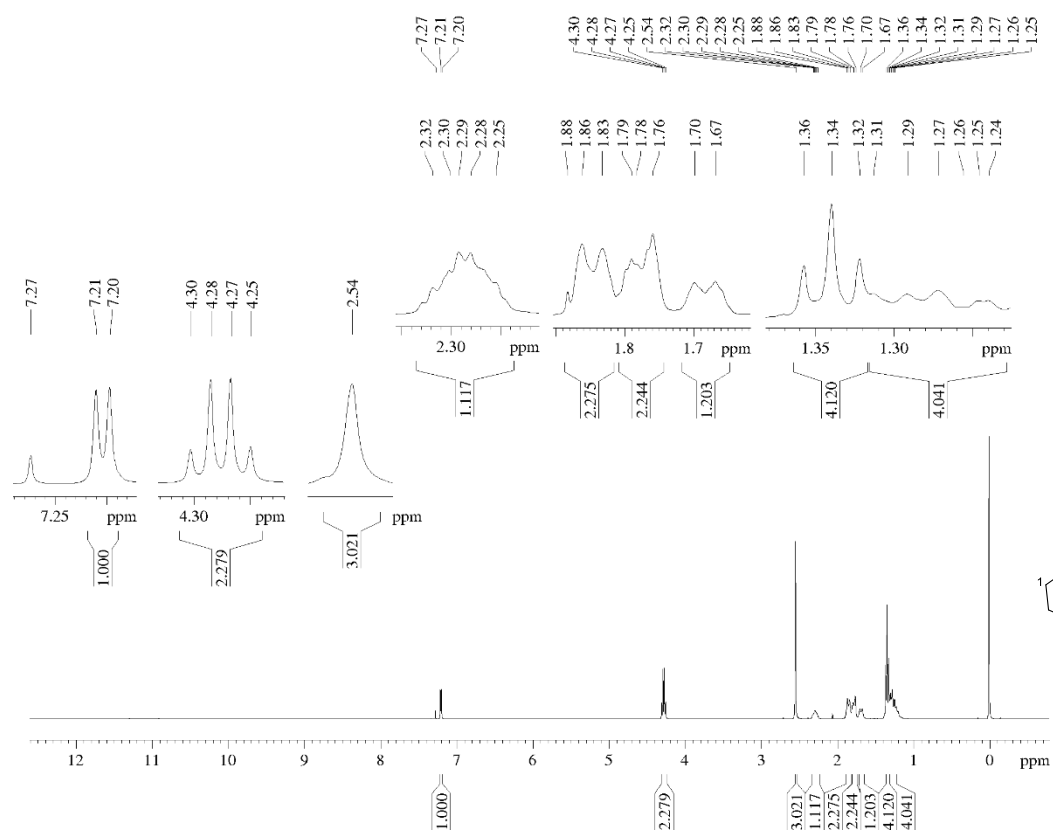
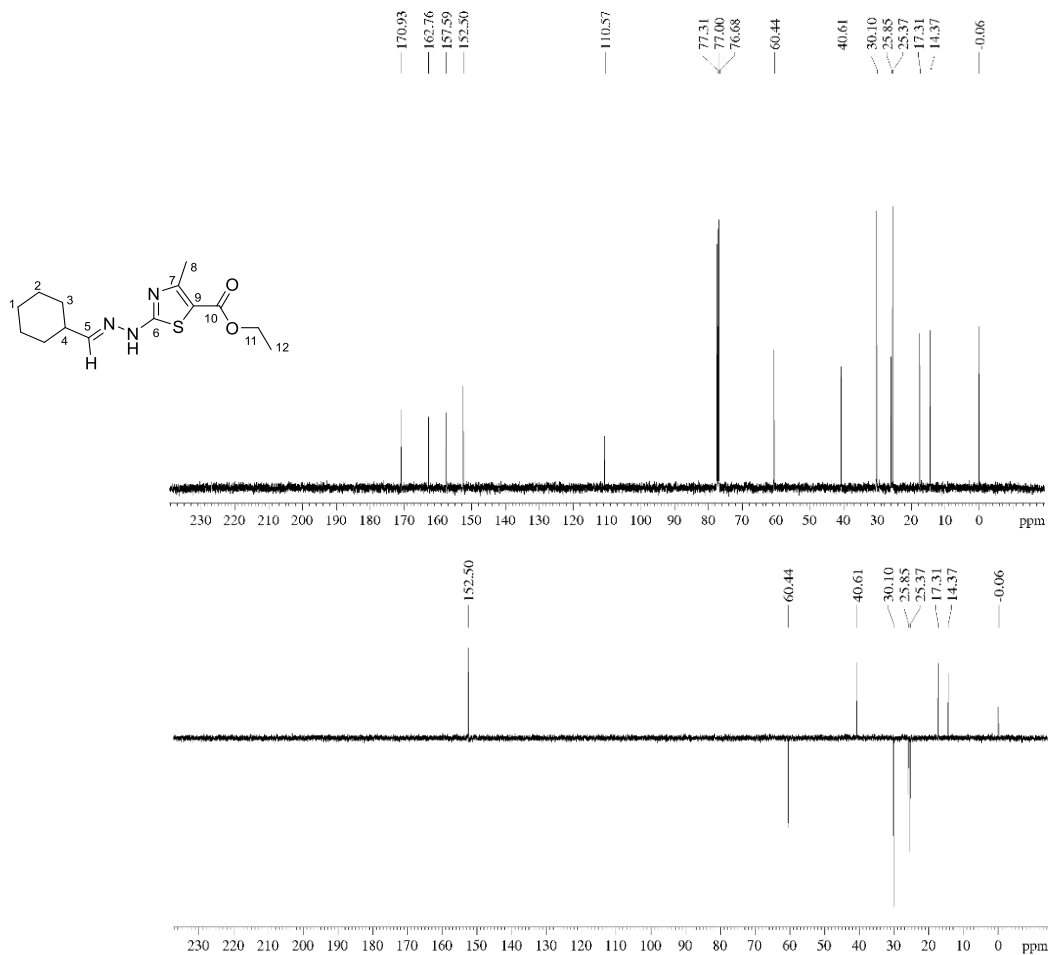
Figura B59 – Espectro de RMN de ^1H de 4b (400 MHz, CDCl_3)Figura B60 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 4b (100 MHz, CDCl_3)

Figura B61 – Espectro de RMN de ^1H de 4c (400 MHz, acetona – d_6)

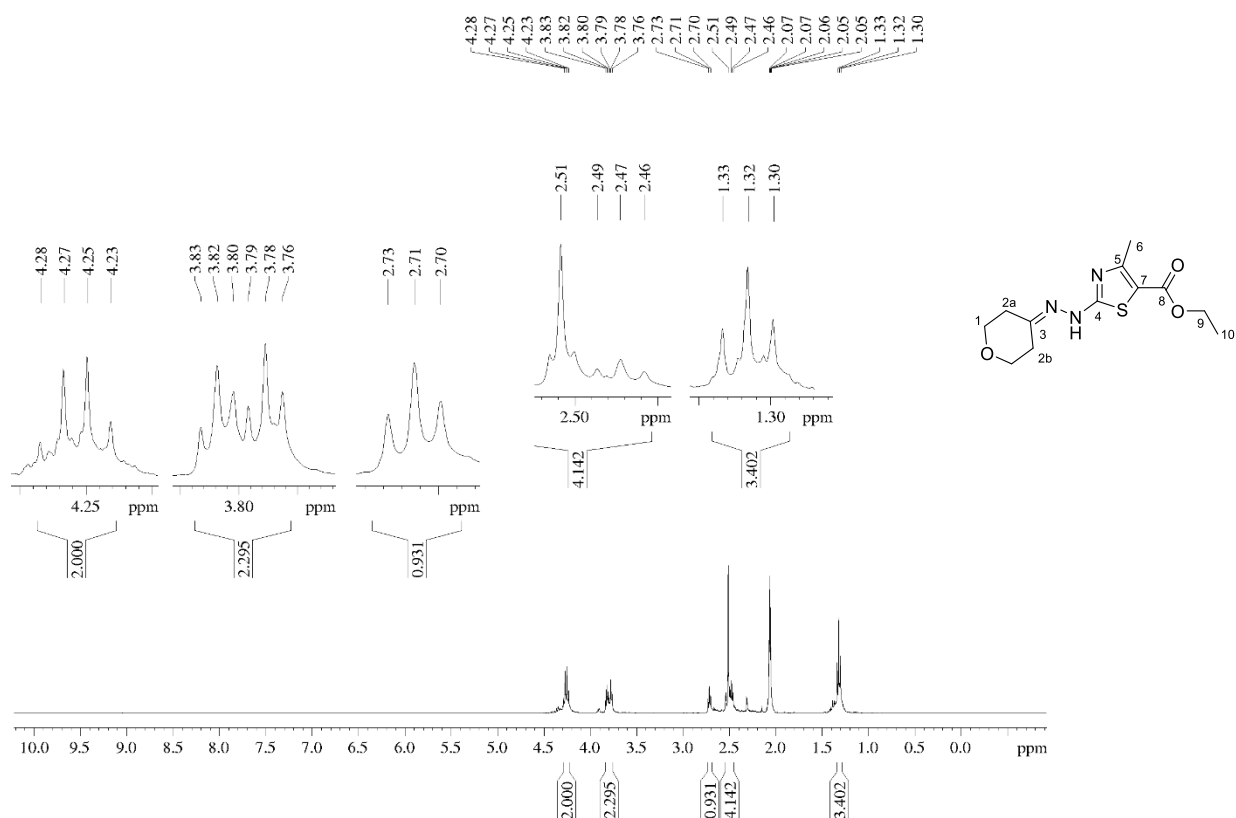


Figura B62 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 4c (100 MHz, acetona – d_6)

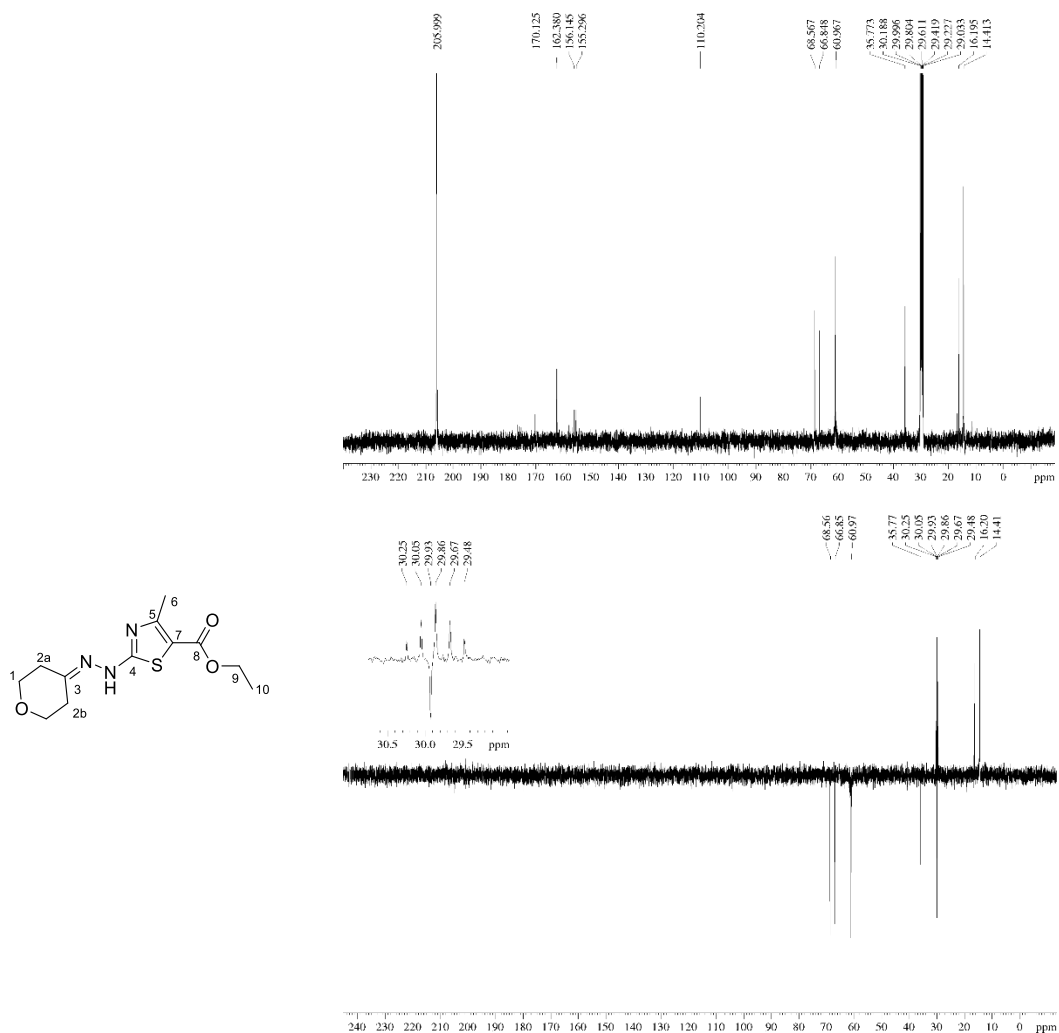


Figura B63 – Espectro de RMN de ^1H de 5a (400 MHz, acetona – d_6)

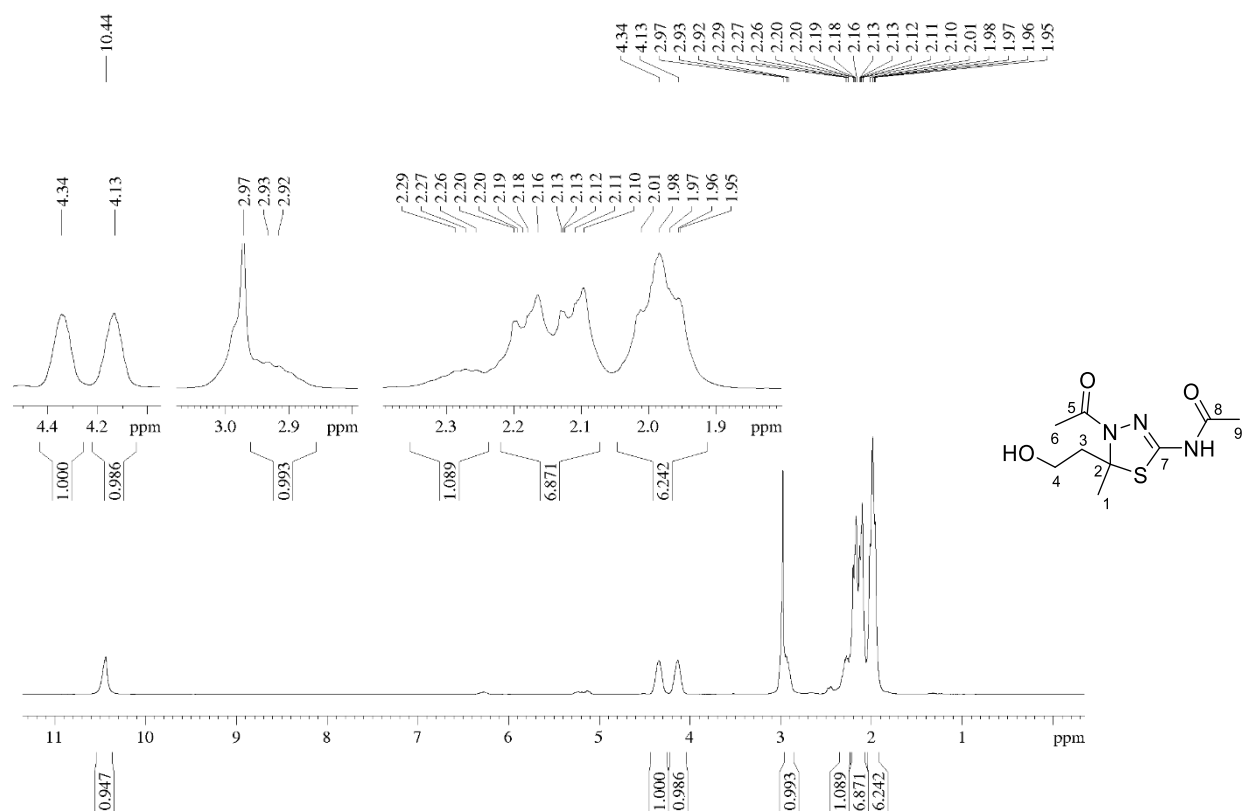


Figura B64 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 5a (100 MHz, acetona – d_6)

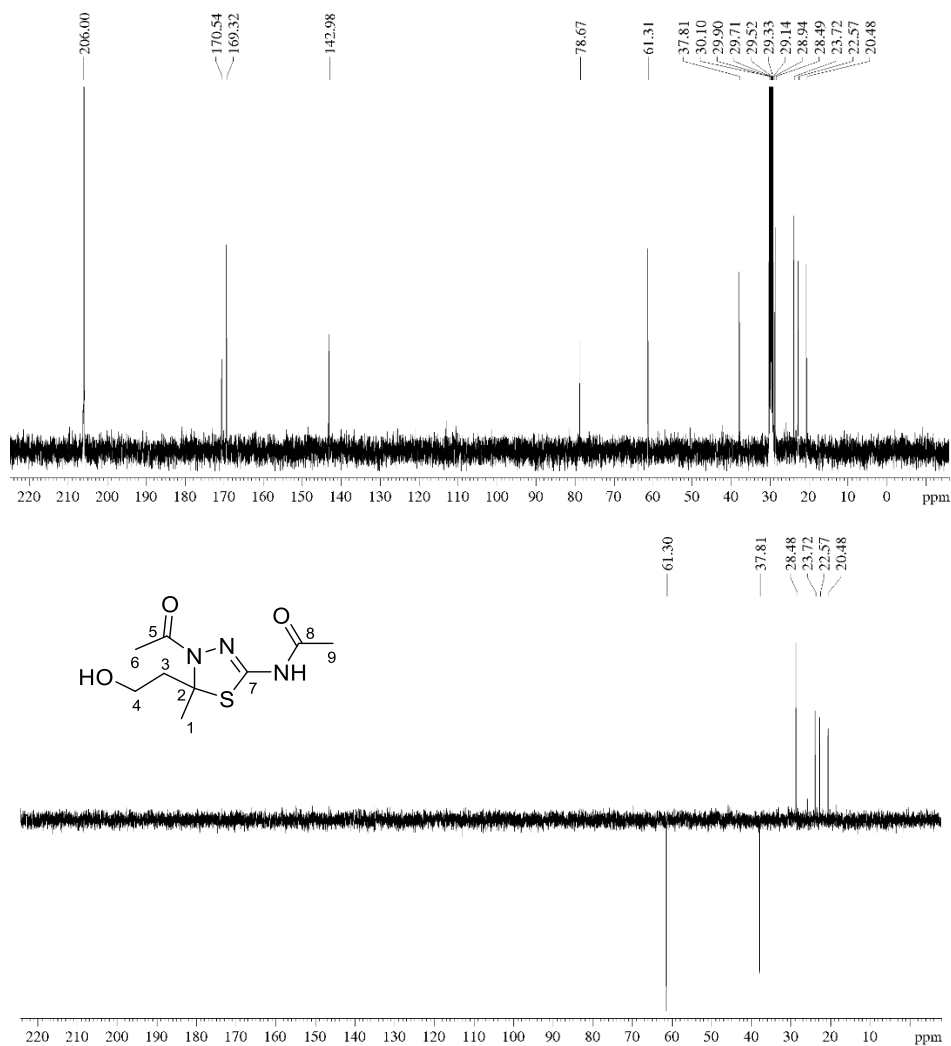


Figura B65 – Espectro de RMN de ^1H de 5b (400 MHz, DMSO – d_6)

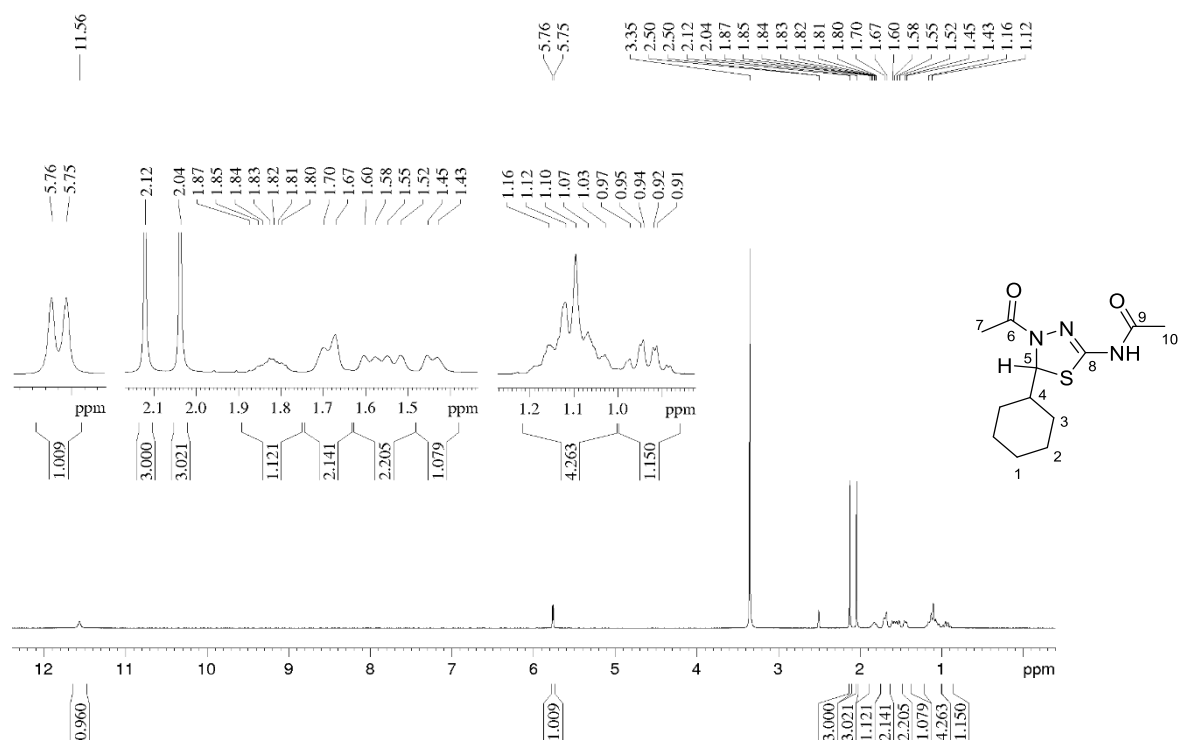


Figura B66 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 5b (100 MHz, DMSO – d_6)

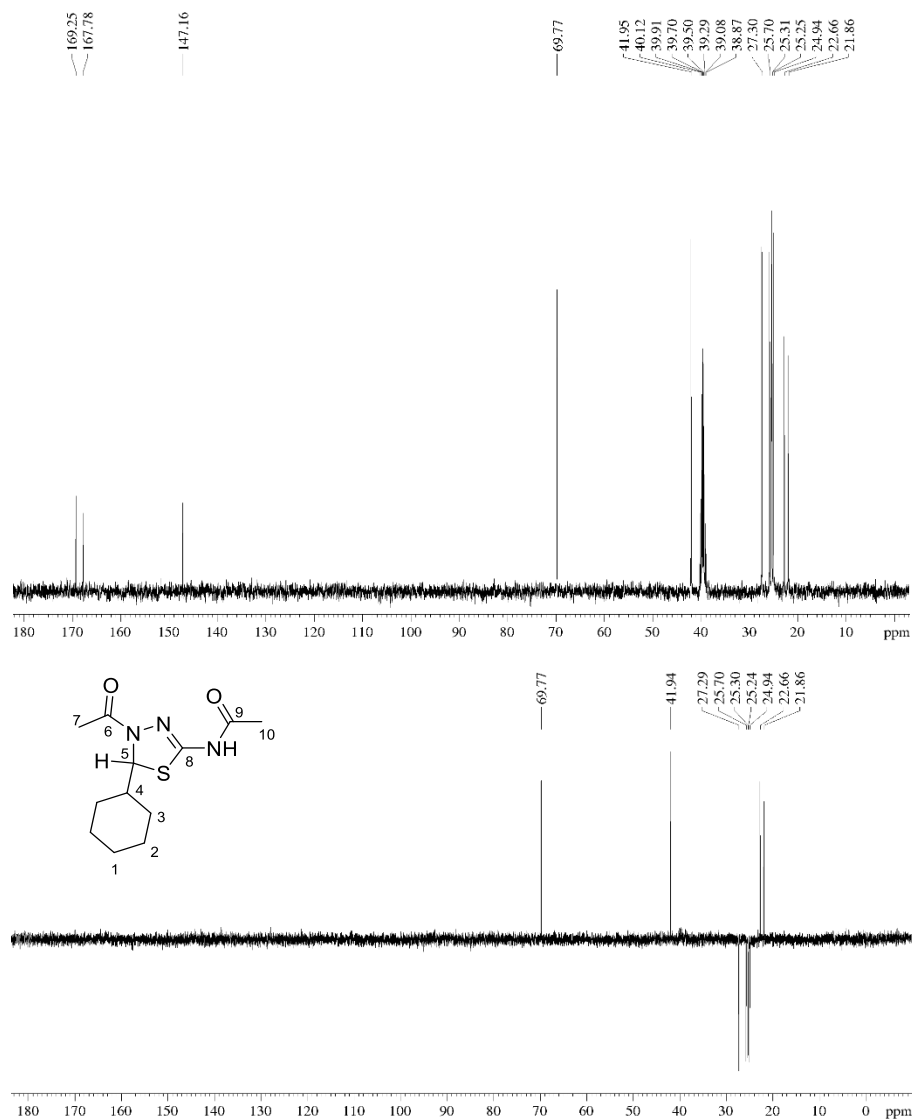


Figura B67 – Espectro de RMN de ^1H de 6a (400 MHz, CDCl_3)

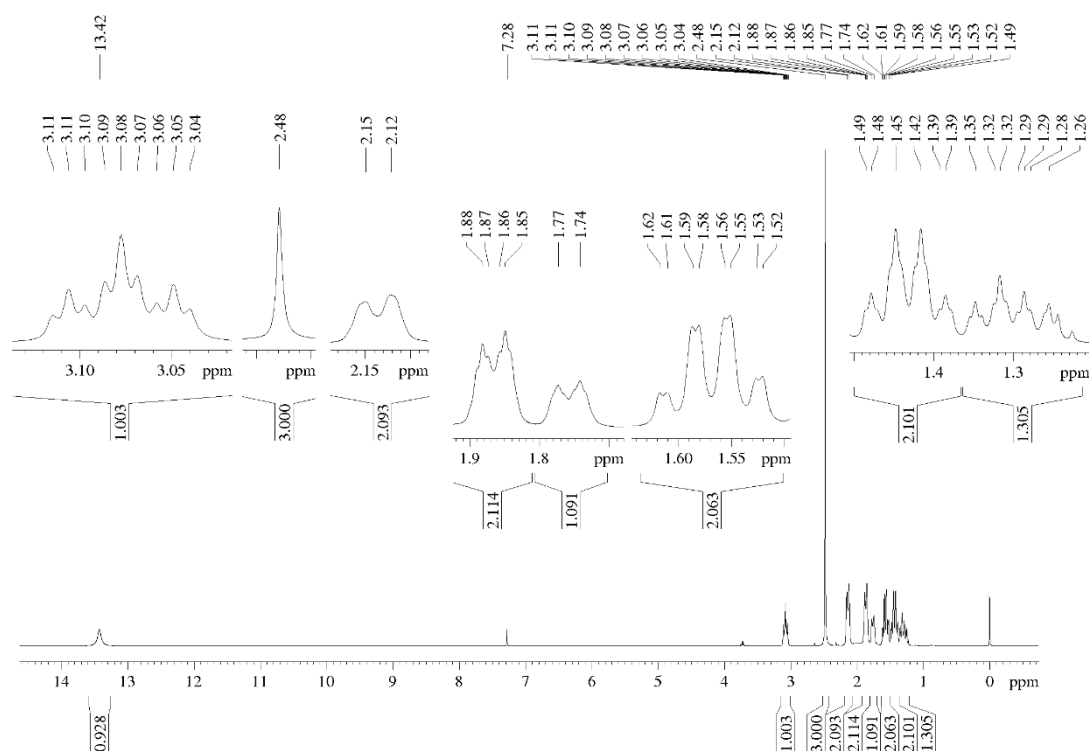


Figura B68 – Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT de 6a (100 MHz, CDCl_3)

