

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FARMACOQUÍMICA

MIRLA MIRELY DANTAS FERREIRA

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTILEISHMANIA DE NOVOS 2-AMINOTIOFENO-3-CARBOXAMIDAS
OBTIDAS POR MODIFICAÇÃO MOLECULAR**

JOÃO PESSOA – PB

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FARMACOQUÍMICA

MIRLA MIRELY DANTAS FERREIRA

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTILEISHMANIA DE NOVOS 2-AMINOTIOFENO-3-CARBOXAMIDAS
OBTIDAS POR MODIFICAÇÃO MOLECULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, com área de concentração em Farmacoquímica

Orientador: Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra
Mendonça Junior

João Pessoa – PB
2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e

F383p Ferreira, Mirla Mirely Dantas.

Planejamento, síntese e avaliação do potencial antileishmania de novos 2-aminotiofeno-3-carboxamidas obtidas por modificação molecular / Mirla Mirely Dantas Ferreira. - João Pessoa, 2022.

115 f. : il.

Orientação: Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior. Dissertação (Mestrado)- UFPB/CCS.

1. Produtos naturais. 2. Leishmaniose. 3.

2-aminotiofeno-3-carboxamida. 4. Reação de Gewald. 5. Leishmania (spp.). I. Mendonça Junior, Francisco Jaime Bezerra. II. Título.

UFPB/BC

CDU 547.9(043)

Classificação

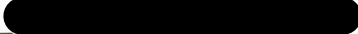


PgPNSB

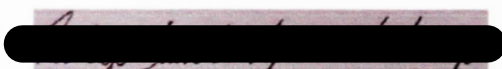
Pós Graduação em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos

Ata da 460ª (quadringentésima sexagésima) Dissertação de Mestrado da aluna do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Mirla Mirely Dantas Ferreira**, candidata ao título de "Mestre" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica.

Às quatorze horas (14h00) do dia vinte e oito de março do ano de dois mil e vinte e dois (28/03/2022), em ambiente virtual de videoconferência através do aplicativo Google Meet, Link: meet.google.com/oph-fzxw-ozv, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar a aluna **Mirla Mirely Dantas Ferreira**, candidata ao Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica. Foram componentes da Comissão Examinadora os pesquisadores Rodrigo Santos Aquino de Araújo, Ph.D em Farmacoquímica, Tatjana Keesen de Souza Lima Clemente, Ph.D em Bioquímica e Imunologia e Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior, Ph.D em Ciências Biológicas. Sendo o primeiro, integrante do corpo docente da Faculdade Aggeu Magalhães, o terceiro, integrante do corpo docente da Universidade Estadual da Paraíba e a segunda, integrante do corpo docente da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o presidente da comissão, professor Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata **Mirla Mirely Dantas Ferreira**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Planejamento, síntese e avaliação do potencial leishmanicida de novos 2-aminotiofeno-3-carboxamidas obtidas por modificação molecular". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de quarenta minutos, a candidata foi arguida pelos examinadores na forma regimental. Em seguida, passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADA**. Em face da aprovação, declarou o Presidente achar-se a examinada **Mirla Mirely Dantas Ferreira** legalmente habilitada a receber o Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na área de concentração Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que a mesma faz jus. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da Comissão e pelo(a) discente.


Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior (Orientador)


Prof.ª Dr.ª Tatjana Keesen de Souza Lima Clemente (Examinadora)


Prof. Dr. Rodrigo Santos Aquino de Araújo (Examinador)


Mirla Mirely Dantas Ferreira (Discente)

Dedico a minha querida amiga Bruna, que hoje mora no reino dos céus,
aos meus pais, irmãos e sobrinhos,
meu namorado, e demais familiares e amigos,
pela força e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado força e perseverança de lutar por tudo que conquistei até hoje, por não ter permitido a minha desistência em tantos momentos de aflição, por ter me mostrado que não há um mal que não resulte em um bem, pelas bênçãos derramadas durante todo este trajeto, pelos anjos que Ele pôs em minha vida, sou grata a ti Senhor, por absolutamente tudo.

Ao meus pais, Gorete e Francisco. Obrigada por nunca terem desistido de mim, por acreditarem tanto que eu posso a ponto de me fazer acreditar nisto. Eu sei de todas as dificuldades passadas para que eu pudesse estar onde estou hoje, e não cabe em mim a gratidão por tudo que fizeram e batalharam. Vocês me permitiram tudo que nunca foram permitidos, e me incentivaram todos os dias para ser melhor naquilo que estava a fazer, sem me pressionarem vocês me tornaram um ser humano de bem, os seus ensinamentos me levarão muito adiante ainda. Vocês me deram coragem mesmo de longe. Foi e é por vocês, e graças a vocês. Essa vitória é nossa. Obrigada por terem tornado meu sonho real, e por continuarem comigo.

Aos meus queridos irmãos, Magda e Muriel. À Magda (“mainha”), obrigada por ter feito jus ao apelido, ele não é em vão, você é uma mãe em todos os sentidos, tenho orgulho por ser sua primeira filha, sou grata por sempre ter me ensinado a importância dos estudos, por ter tentado me colocar no melhor caminho e me ajudado neste, pelos conselhos, por sempre ter acreditado tanto que eu era capaz, por ser meu espelho de perseverança. À Muriel, por ter feito tudo que pôde para que eu chegasse até aqui, por me encorajar, pelas palavras de carinho e amor que me faziam sempre buscar melhorias. Vocês, meus irmãos, foram essenciais no meu crescimento, foram pais quando precisei e quando não precisei, foram minha inspiração, tenho orgulho de fazer parte de vocês. Tudo é por vocês e por nossos pais, obrigada por sempre estarem aqui, meus anjos.

Aos meus sobrinhos, Alice, Letícia e Heitor, vocês são minha vida, minha alegria, minha esperança de dias melhores, vocês vieram como um feixe imenso de luz para nossa família, arrancando sorrisos e bons sentimentos, e me mostrando o amor mais puro do mundo. Espero que essa tia aqui ainda dê muito orgulho a vocês, e que eu possa conquistar muito mais, para dar as melhores e maiores oportunidades, assim como vovó e vovô me permitiram. É por vocês, cada esforço e tanta garra para vencer.

Ao meu namorado, Guilherme. Obrigada, por sempre ter estado ao meu lado, por me ouvir e me acalmar, pelo apoio durante todo esse tempo, por acreditar que eu sou capaz de chegar longe e de conseguir aquilo que almejo, por me fazer acreditar que no fim tudo dará certo, pela força nos dias difíceis e por intensificar minha felicidade nos dias bons. Sou grata por te ter, você foi e é indispensável, te amo.

A minha amiga que hoje está morando no céu, Bruna. Que brilho, que coração, que generosidade. Lembro-me do dia que você falou que queria ser professora, e de como sonhamos juntas com isso, quanta força você me deu, e continua dando, pois sempre que lembro de você, lembro da mulher forte e guerreira que sempre foi, nosso

orgulho. Não tem como finalizar esta etapa e não lembra de ti amiga, dedico este momento a você.

A minha melhor amiga, Yanne. Sou grata a Deus por você, uma irmã que Cuité me permitiu ter, e que Deus não permitiu que nos afastássemos, trazendo as duas para este mestrado. Você não só foi, você é mais que importantes em cada dia, em cada momento, em cada lembrança e em toda a minha trajetória acadêmica, sinto em você o cuidado que meus irmãos demonstram, você que sempre torceu para o meu bem, que ficou feliz por minhas vitórias, que me ajuda dia após dia, que se esforça para me explicar aquele conteúdo difícil, que virava noites comigo, que compartilhou sentimentos do desespero à glória, que não me deixou desistir e voltar para casa, que foi sempre paciente com meu jeito, você é única do início ao fim, quero levar você para o resto da minha vida, obrigada por tanto.

Ao meu orientador professor Drº Francisco, por todo o aprendizado compartilhado, por ter sido sempre tão paciente e compreensível, por todas as dicas e ensinamentos não só para este trabalho, mas para a vida. Sou muito grata ao senhor, tenho orgulho de ser sua orientanda.

Enfim, obrigada a todos que me ajudaram e contribuíram direto e indiretamente, por mínimo que seja, para que isso se tornasse real.

“Deus conhece tua estrutura, sabe o que está fazendo
mesmo que seja difícil,
não pares, Ele está vendo.”

RESUMO

As leishmanioses pertencem ao grupo das doenças tropicais negligenciadas, sendo consideradas um problema de saúde pública, sobretudo em países emergentes e em populações de baixa renda. A falta de priorização, associado aos baixos investimentos de pesquisa por parte das empresas farmacêuticas, resultou na existência de poucas opções de tratamento, as quais tem se tornado obsoletas, com elevados efeitos adversos, e até certo ponto pouco efetivas. Por essas razões, a pesquisa por novos fármacos eficazes e menos tóxicos é essencial, e pode ser iniciada através do uso de ferramentas da Química Medicinal, planejando, sintetizando e testando novos compostos bioativos. Os derivados 2-amino-tiofenos são uma classe versátil de heterociclos que tem apresentado destaque devido aos seus potenciais antileishmanias. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi sintetizar novos derivados 2-aminotiofeno-3-carboxamidas candidatos a fármacos antileishmanias, através da realização da modificação molecular de protótipos 2-aminotiofenos-3-carbonitrila substituídos, a fim de verificar a importância do padrão de substituição da posição C-3 do anel tiofênico. Dessa forma, foram sintetizados 13 novos compostos, em rendimentos de 20 a 98%, utilizando a Reação de Gewald como etapa chave para obtenção dos 2-aminotiofeno-3-carboxamidas. Os compostos tiveram suas estruturas confirmadas por RMN¹H e ¹³C, suas atividades antileishmania avaliada frente às formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. infantum* e *L. major*, e suas toxicidades avaliadas frente à macrófagos RAW 264.7. O composto 6BOC2 foi o que apresentou maior atividade inibitória com valores de IC₅₀ inferior a 8µM para todas as espécies testadas, e índice de seletividade (IS) superior a 37,6. A comparação dos valores de inibição e IS dos derivados 3-carboxamidas em relação aos derivados 3-carbonitrila permite afirmar que a presença do radical 3-carbonitrila não é essencial para atividade antileishmania. Apesar da substituição pelo grupo 3-carboxamida não ter resultado em compostos com atividade superior aos derivados 3-carbonitrila, a obtenção de novos compostos com esse padrão de substituição deve ser levado em consideração no planejamento de novos candidatos a fármacos antileishmania para essa classe de compostos.

Palavras-Chave: Leishmaniose; 2-aminotiofeno-3-carboxamida; Reação de Gewald, *Leishmania* (spp.).

ABSTRACT

Leishmaniasis is considered a public health problem, most of the cases are registered in emerging countries and in low-income populations, being still neglected tropical diseases which are not prioritized in research investments by large pharmaceutical companies, which results in few treatment options, in which they have several adverse effects, and long periods of treatment. In view of this, it became necessary to search for new effective and less toxic drugs, which is initiated by the understanding of Medicinal Chemistry, which allows the synthesis or isolation of better compounds. In addition, among the compounds with activity described in the literature, the 2-amino-thiophene derivatives are a versatile class of sulfur-containing compounds and an immense capacity to offer ligands for different molecular targets, with anti-leishmania potential. replacement of carbonitrile, which showed low solubility, by carboxamide at position-3, which showed activity against *L. amazonenses* in other studies. Thus, the objective of this work was to synthesize new 2-aminothiophene-3 carboxamide derivatives that are candidates for antileishmanial drugs, by carrying out the molecular modification of substituted 3-carbonitrile prototypes, in order to verify the importance of the substitution pattern of the C-3 position of the thiophene ring. Fifteen compounds were synthesized, with color varying between yellow and orange, yields from 20 to 98%, with the same synthetic route for all molecules. The compounds had their structures confirmed by NMR¹H and ¹³C, their antileishmanial activities evaluated against the promastigote forms of *Leishmania amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. infantum* and *L. major*, and their toxicities evaluated against RAW 264.7 macrophages. The 6BOC2 compound showed the highest inhibitory activity with IC₅₀ values lower than 8 μM for all species tested, and a selectivity index (SI) higher than 37.6. The comparison of the inhibition values and SI of the 3-carboxamide derivatives in relation to the 3-carbonitrile derivatives allows us to affirm that the presence of the 3-carbonitrile radical is not essential for antileishmanial activity. Although the substitution by the 3-carboxamide group did not result in compounds with activity superior to the 3-carbonitrile derivatives, obtaining new compounds with this substitution pattern should be taken into account when planning new antileishmanial drug candidates for this class of compounds.

Palavras-Chave: Leishmaniasis; 2-aminothiophene-3carboxamide, Gewald Reaction; *Leishmania* (spp.).

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Reação para obtenção de adultos de <i>Gewald</i>	13
Esquema 2 - Reação de <i>Gewald</i>	14

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Mapa de endemicidade da leishmaniose Cutânea pelo globo em 2015....	4
Figura 2	–	Mapa de endemicidade da leishmaniose Visceral pelo globo em 2015....	5
Figura 3	–	Ciclo biológico da leishmaniose.....	7
Figura 4	–	Estruturas químicas das principais drogas utilizadas no tratamento das Lishmanioses.....	8
Figura 5	–	Estrutura do tiofeno.....	10
Figura 6	–	Estrutura do composto SB-83.....	11
Figura 7	–	Estrutura do composto TN8-7.....	12
Figura 8	-	Espectro do RMN ^1H do composto 6AMDBOC.....	20
Figura 9	-	Espectro do RMN ^{13}C do composto 6AMDBOC.....	20
Figura 10	-	Espectro do RMN ^1H do composto 6BOC4.....	21
Figura 11	–	Expansão do espectro do RMN ^1H do composto 6BOC4.....	22
Figura 12	-	Espectro do RMN ^{13}C do composto 6BOC4.....	24
Figura 13	-	Espectro do RMN ^1H do composto 6AMD2.....	25
Figura 14	-	Expansão do espectro do RMN ^1H do composto 6AMD2.....	26
Figura 15	-	Espectro do RMN ^{13}C do composto 6AMD2.....	27
Figura 16	-	Espectro do RMN ^1H do composto 7AMD3.....	28
Figura 17	-	Expansão do espectro do RMN ^1H do composto 7AMD3.....	29
Figura 18	-	Espectro do RMN ^{13}C do composto 7AMD3.....	30
Figura 19	-	Espectro do RMN ^1H do composto 8AMD5.....	31

Figura 20	–	Espectro do RMN ¹³ C do composto 8AMD5.....	32
Figura 21	–	Estrutura do composto 42.....	34
Figura 22	–	Estrutura do composto 19.....	35
Figura 23	–	Estrutura do composto TN6-2.....	35
Figura 24	–	Estruturas das séries com carboxamida, carbonitrila e éster na posição 3 (valores de IC ₅₀ em µM).....	37
Figura 25	–	Estrutura do composto 6AMD3.....	39
Figura 26	–	Estrutura do composto TN6.....	39
Figura 27	–	Estrutura do composto 7AMD3.....	39
Figura 28	–	Estrutura do composto SB44.....	39
Figura 29	–	Estrutura do composto SB83.....	39
Figura 30	–	Estrutura do composto 6AMD2.....	39
Figura 31	–	Estrutura do composto 6AMD4.....	40
Figura 32	–	Estrutura do composto 7AMD4.....	40
Figura 33	–	Estrutura do composto TN7-2.....	40

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** - Estruturas química, rendimentos e características físico-químicas dos aductos de Gewald sintetizados 17
- Quadro 2** - Estruturas química, rendimentos e características físico-químicas dos 2-aminotiofenos-3 carboxamidas obtidos 18
- Quadro 3** - Atividade antileishmania frente a formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. major* e *L. infantum*, efeitos citotóxicos contra macrófagos e índices de seletividade (IS) dos derivados 2-aminotiofênicos-3-carboxamidas e fármacos de referência (valores de IC₅₀ e CC₅₀ em µM) 33
- Quadro 4** – Atividade antileishmania frente a formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, efeitos citotóxicos contra macrófagos e índices de seletividade (IS) dos derivados 2-aminotiofeno-3-carboxamidas, 2-aminotiofeno-3-carbonitrila, e 2-aminotiofeno-3-éster substituídos (valores de IC₅₀ em µM) 36

LISTA DE ABREVIATURAS

CCD -	Cromatografia em Camada Delgada
LC-	Leishmaniose Cutânea
LV-	Leishmaniose Visceral
L.-	<i>Leishmania</i>
DL ₅₀ -	Dose Letal de 50%
CI ₅₀ -	Concentração inibitória de 50%
IUPAC-	International Union of Pure and Applied Chemistry
RMN ¹³ C -	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
DMSO -	Dimetilsufóxido
RMN ¹ H -	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
LLM -	<i>Leishmania (Leishmania) major</i>
LLI -	<i>Leishmania (Leishmania) infantum</i>

LLA -	<i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i>
LVB -	<i>Leishmania (Viannia) braziliensis</i>
QSAR -	Quantitative Structure Actitivity Relashionship
Rf -	Fator de Retenção
Sb ⁵⁺ -	Antimoniato de Meglumina
Sb ^{III} -	Antimonial trivalente
WHO -	World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1. Leishmanioses.....	3
2.2 Derivados tiofênicos como novas alternativas terapêuticas.....	10
2.3 Reação de gewald.....	14
3.OBJETIVOS.....	15
3.1 Objetivo geral.....	15
3.2. Objetivos específicos.....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
4.1. Síntese dos compostos.....	16
4.2. Comprovação estrutural.....	19
4.3. Atividade Antileishmania.....	32
5. CONCLUSÃO.....	41
6. PARTE EXPERIMENTAL.....	43
6.1 Procedimento geral.....	43
6.1.1 Local de trabalho.....	43
6.1.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	43
6.1.3 Faixa de fusão.....	43
6.1.4 Nomenclatura das moléculas.....	43
6.2 Procedimentos Gerais para síntese dos derivados 2-amino-tiofeno-3-carboxamidas	43
6.3 Manutenção de parasitos e macrófagos.....	47
6.4 Preparo de drogas.....	48
6.5 Atividade antipromastigota.....	48
6.6 Citotoxicidade em macrófagos.....	48
6.7 Análise estatística.....	49
REFERÊNCIAS.....	50
ANEXOS.....	58

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças parasitárias transmitidas por vetores, causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, apresentando mais de 20 espécies diferentes, sendo consideradas problema de saúde pública em mais de 98 países, em sua maioria em desenvolvimento e com população de baixa renda, estimando um número de 0,9-1,7 milhões de pessoas infectadas por ano e 20.000-30.000 mortes por ano (VARELA et al., 2012; WHO, 2016; STEVERDING, 2017).

Apesar de sua carga parasitária ser generalizada em várias regiões do mundo, há poucas opções de tratamento, pois os investimentos em pesquisas para os mesmos não são priorizados. As atuais terapias que tratam as leishmanioses têm muitos efeitos adversos e longos períodos de tratamento, além de desconfortáveis e de alto custo, o que dificulta seu uso em países emergentes (MAROLI et al., 2013; AKBARI, ORYAN, HATAM, 2017).

Dado o exposto, o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de leishmaniose tornou-se ainda mais relevante e necessário, tendo em vista a busca e necessidade de medicamentos seguros, mais baratos e disponíveis em vias mais confortáveis, como a via oral, sendo assim os tiofenos ganham o interesse das indústrias farmacêuticas por serem compostos heterocíclicos com amplo espectro de atividades farmacológicas, inclusive antileishmania (TAKAHASHI et al., 2011; GRAMEC, MAIS, DOLENC, 2014).

Os derivados do tiofeno são metabólitos secundários encontrados em vários organismos como fungos e plantas. Eles são compostos contendo enxofre de estrutura molecular simples que podem fornecer ligantes para vários alvos moleculares. O que permite que eles possuam diversas propriedades farmacológicas como anti-inflamatórias, antitumorais, anticonvulsivantes, antiarrítmicas, antibacterianas, antifúngicas e antiprotozoárias. Dentre as atividades antiprotozoárias eles apresentam atividade contra as formas promastigotas de *L. donovani*, *L. infantum*, *L. braziliensis* e *L. amazonensis* (LIMA et al., 2009; AMR et al., 2010; SOUZA et al., 2012; GRAMEC, MASI, DOLENC, 2014).

Nesse sentido, heterociclos tiofênicos têm sido o cerne de pesquisas de síntese e avaliação biológica de muitos grupos de pesquisa. Os quais têm desenvolvido e aprimorado rotas de obtenção de 2-aminotiofenos, especialmente a partir dos trabalhos do químico Karl Gewald (1961), o qual desenvolveu um método simples, barato, de fácil aplicação e capaz de fornecer altos rendimentos dos mesmos (GEWALD, 1961; GEWALD 1976).

Nosso grupo de pesquisa tem trabalhado, por algum tempo, com a obtenção de derivados 2-aminotiofenos e suas avaliações antileishmania, obtendo resultados efetivos e seletivos contra formas promastigotas e amastigotas (aqui destacar as espécies), além de apresentarem baixos níveis de citotoxicidade (RODRIGUES et al., 2015).

Os resultados obtidos e publicados por nosso grupo de pesquisa permitiram a identificação de regiões farmacofóricas importantes para a potencialidade antileishmania de derivados 2-aminotiofenos, direcionando o planejamento de síntese de nossos novos derivados, sendo esta a discussão deste trabalho. Esse planejamento incluiu a estratégia de modificação molecular pela substituição de grupos em regiões específicas de nosso esqueleto tiofênico, a fim de melhorar algumas de suas propriedades físico-químicas, como solubilidade, e seus parâmetros farmacocinéticos e farmacológicos. O desenvolvimento das vias sintéticas responsáveis pela obtenção desses derivados permitiu a síntese de novos candidatos, que poderão representar em uma alternativa terapêutica como fármacos leishmanicidas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Leishmanioses

As leishmanioses são doenças tropicais negligenciadas as quais possuem a maior parte dos casos registrados em países emergentes e em populações de baixa renda, elas são conhecidas com essa denominação por não serem priorizadas nos investimentos de pesquisa pelas grandes empresas farmacêuticas, contendo assim poucas opções de tratamento.

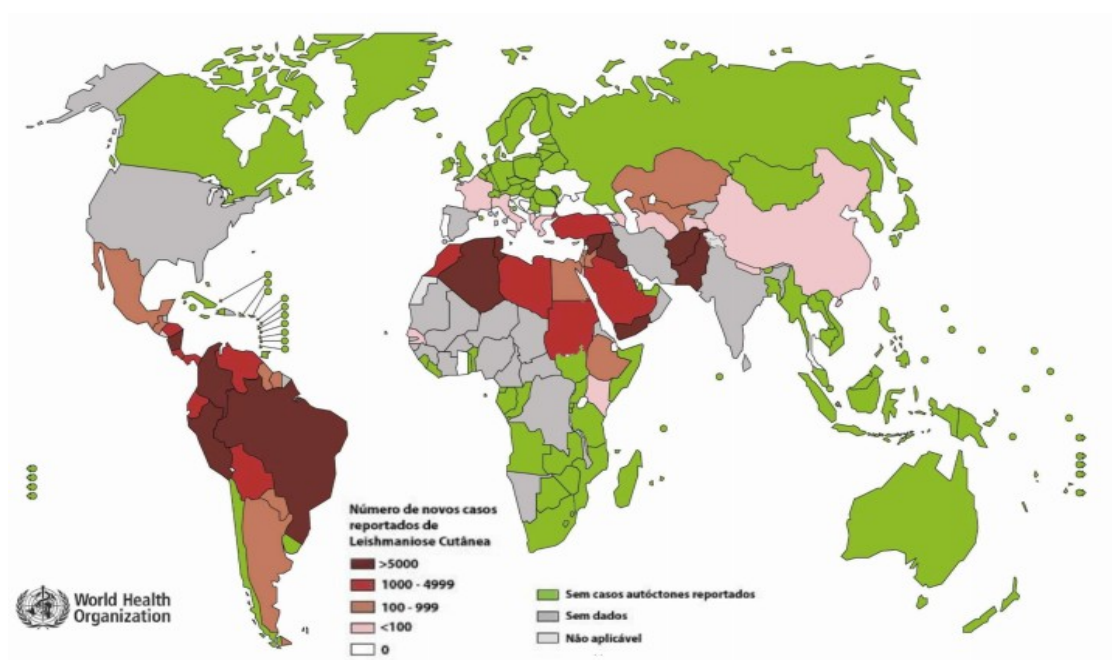
Essas doenças parasitárias são consideradas problema de saúde pública, com diversas manifestações clínicas, que são transmitidas entre hospedeiros mamíferos pela picada de flebotomíneos fêmeas no qual a principal espécie responsável pela transmissão da doença no Brasil é a *Lutzomyia longipalpis*, vetores estes que transportam cerca de vinte espécies do gênero *Leishmania*, que fazem parte da família *Trypanosomatidae* (BLANCO, NASCIMENTO, 2017; GUERRERO, CEDILLO, ESMENJAUD et al., 2017; SOUZA, LIMA, 2018).

Essas diferentes espécies são endêmicas em mais de 98 países, com carga generalizada em várias regiões do mundo. Elas possuem apresentações clínicas variadas, que podem ser confundidas com outras condições patológicas e sua complexidade depende da espécie e da resposta imunológica do hospedeiro frente à infecção do determinado tipo de protozoário. As principais formas da doença são a Leishmaniose Cutânea (LC) que é a mais comum, e caracteriza-se por causar lesões na pele que podem se tornar crônicas ou cicatrizes desfigurantes, e a Leishmaniose Visceral (LV) que afeta órgãos internos como baço, fígado, medula óssea e gânglios linfáticos, sendo a forma mais grave e fatal se não tratada (GONÇALVES et al., 2018; SOUZA, LIMA, 2018; RUIZ, GROUT, SAURABH, 2020; WONG, 2021).

As leishmanioses acometem grande parte da população mundial, principalmente as que estão em vulnerabilidade social, apresentando uma prevalência de 12 milhões de casos e de incidência anual de 2 a 2,5 milhões, estando presente em aproximadamente 98 países, a maioria em desenvolvimento ou subdesenvolvidos. Em países de alta carga de leishmaniose, aproximadamente 556 milhões de pessoas estão em risco de LV, e cerca de 339 milhões de pessoas para LC. Para a LC existem mais de 431 milhões de pessoas em áreas endêmicas, com 1 milhão de notificações nos últimos 5 anos,

apresentando mais de 90% dos casos em Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Peru, República Islâmica do Irã e Arábia Saudita (Fig. 1). Quanto a LV tem mortalidade global de aproximadamente 59.000 óbitos por ano, com 90% dos casos nos seguintes países: Brasil, Bangladesh, Etiópia, Índia, Sudão e Sudão do Sul (Fig. 2) (VRIES, REEDIJK, SCHALLIG, 2015; WHO, 2015; OMS, 2015; WHO, 2016; NERY, 2019; OMS, 2019).

Figura 1: Mapa da endemicidade da Leishmaniose Cutânea pelo globo em 2015

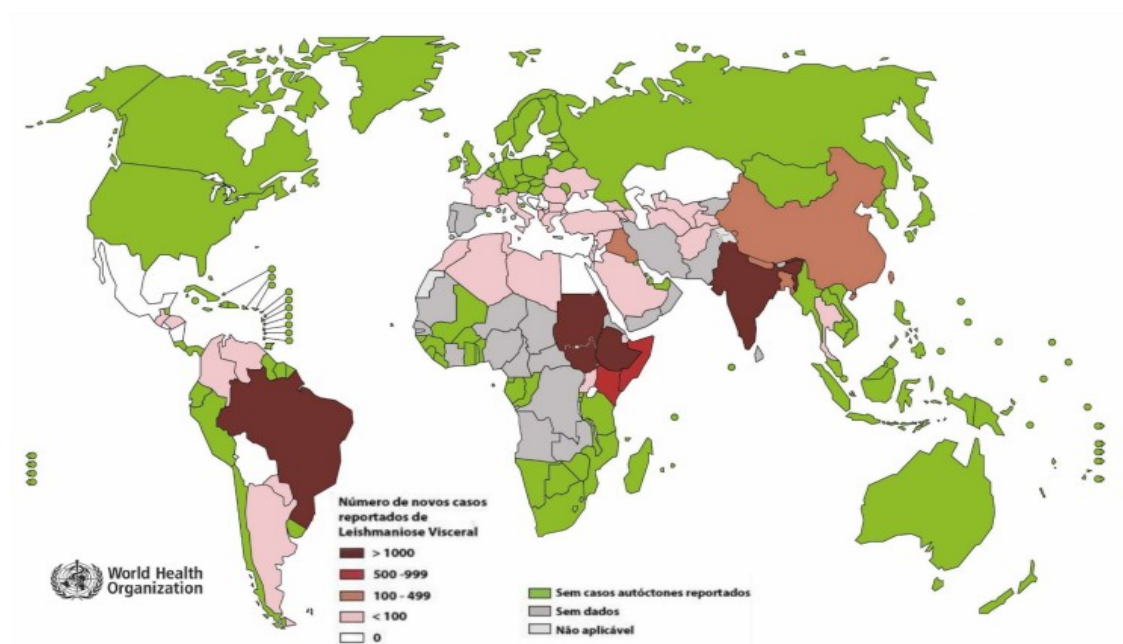


Fonte: WHO, 2016.

Entre os anos de 2001 a 2017 foram notificados 59.769 casos de LV na América, assim com uma média de 3.516 casos por ano, dentre os países deste continente, o Brasil é o país com o maior percentual de casos, com mais de 96% dos registros. Além disso, o Brasil está entre os 6 países que somaram 90% dos casos globais, assim como entre os principais países com maior número de casos por LC e LV. Portanto, a leishmaniose é considerada um problema para a saúde pública brasileira, decorrente ao elevado número de casos registrados por ano, pela distribuição geográfica e pela dificuldade em seu controle. *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Leishmania (Viannia) lainsoni*, *Leishmania (Viannia) shawi* e *Leishmania (Viannia) naiffi* são as principais

espécies que causam leishmaniose no Brasil (BRASIL, 2015; BRASIL, 2017; OPS, 2019; BRASIL, 2020).

Figura 2: Mapa da endemicidade da Leishmaniose Visceral pelo globo em 2015



Fonte: WHO, 2016.

As principais espécies causadoras da LC são: *Leishmania (L.) major*, *L. tropica*, *L. braziliensis*, *L. mexicana* e *L. amazonensis*, sendo a mesma considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma doença de categoria 1, gravemente negligenciada, emergente e não controlada. Quanto a sua sintomatologia, é recorrente o surgimento de nódulos e pápulas, podendo evoluir para úlceras, com variadas formas e aspectos, localizadas na face, nariz, orelhas, membros, nádegas, podendo ocorrer em mais de uma área. Além disso, essas lesões podem causar incapacidades críticas e cicatrizes definitivas que trazem estigmatização e muitas vezes exclusão social (BLANCO, NASCIMENTO, 2017; MEIRELES, MAIA, SOARES et al., 2017; BAHRAMI, HARANDI, RAFATI, 2018; AMARU, CHAVEZ, 2021).

A LV é causada principalmente pelas seguintes espécies: *L. donovani*, infectando humanos, e *L. infantum* que infecta humanos e cães, apresentando como principal vetor transmissor o flebótomo *Lutzomia longipalpis*, resultando em uma doença caracterizada

por suprimir a resposta imunológica e considerada a forma clínica mais grave da leishmaniose. Sua sintomatologia pode não acontecer, no caso de infecções silenciosas, e para aquelas evidentes os principais sintomas são febre, perda de peso, baço e fígado edemaciados, e anormalidade nos exames sanguíneos que culminam em anemia, leucopenia e trombocitopenia (WHO, 2016; ABEIJON et al., 2019; COSTA, 2020; MALEK et al., 2019).

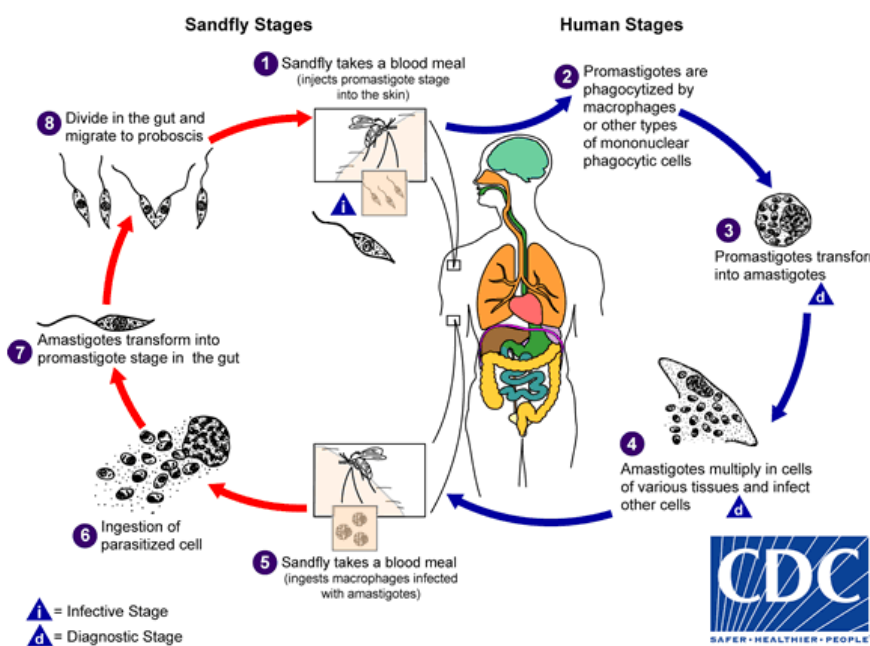
Nos últimos anos as pesquisas no Brasil têm evidenciado o crescimento geográfico da LV e a expansão das notificações por LC, em sua maioria associados aos fatores de desnutrição, migração, condições ambientais, condições socioeconômicas e mudanças climáticas. No ano de 2018 o país confirmou 3.466 de LV, com destaque para região Nordeste com maior concentração do número de casos (50,1%), e para LC foram registrados 16.432 casos em todo o estado brasileiro, com destaque para região Norte com maior número de casos (45,8%). Quanto a letalidade da LV, em 2018 chegou a porcentagem de 8,9%, considerada a maior da última década. (OMS, 2019; GALVIS, ALBUQUERQUE, SILVA et al., 2020; BRASIL, 2020).

A transmissão da leishmaniose ocorre quando os flebotomíneos fêmeas infectados, por meio da picada, inoculam promastigotas nos mamíferos, no ato da alimentação do sangue do hospedeiro. Essas promastigotas são fagocitadas por células fagocíticas, como os macrófagos, sendo agora transformadas em amastigotas, as quais irão se multiplicar por divisão binária, rompendo a célula hospedeira, infectando outras células fagocitárias mononucleares. Os flebotomínios durante o repasto sanguíneo irão ingerir as células fagocitárias infectadas, as quais se rompem no estômago do inseto, liberam as amastigotas que se transformam em promastigotas, migrando para o intestino iniciando o desenvolvimento, multiplicação e diferenciação em formas promastigotas metacíclicas, as formas infectantes para os vertebrados. Então, finalmente, seguem para a faringe do inseto, onde podem infectar novos hospedeiros a partir de um novo repasto (FIG. 3) (FERREIRA, 2017; COURA, 2018; FAVARO, QUEIROZ, NUNES, 2018; VIEIRA, 2019).

O tratamento das leishmanioses, irá depender da região geográfica, da espécie infectante, da sintomatologia, e das respostas às drogas disponíveis naquela região. Para casos de LC com lesões que estão em processo de cicatrização espontânea, a espera sem medicação é a primeira escolha. A quimioterapia é eficaz, resultando na cura, porém devido a severidade dos efeitos adversos, o longo tempo de duração de tratamento, o

desconforto para o paciente e toda a despesa hospitalar, torna-se um tratamento de baixa adesão e pouco satisfatório (AKBARI, ORYAN, HATAM, 2017; CHAKRAVARTY, SUNDAR, 2019).

Figura 3: Ciclo biológico da leishmaniose



Fonte: Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (CDC); Disponível em:

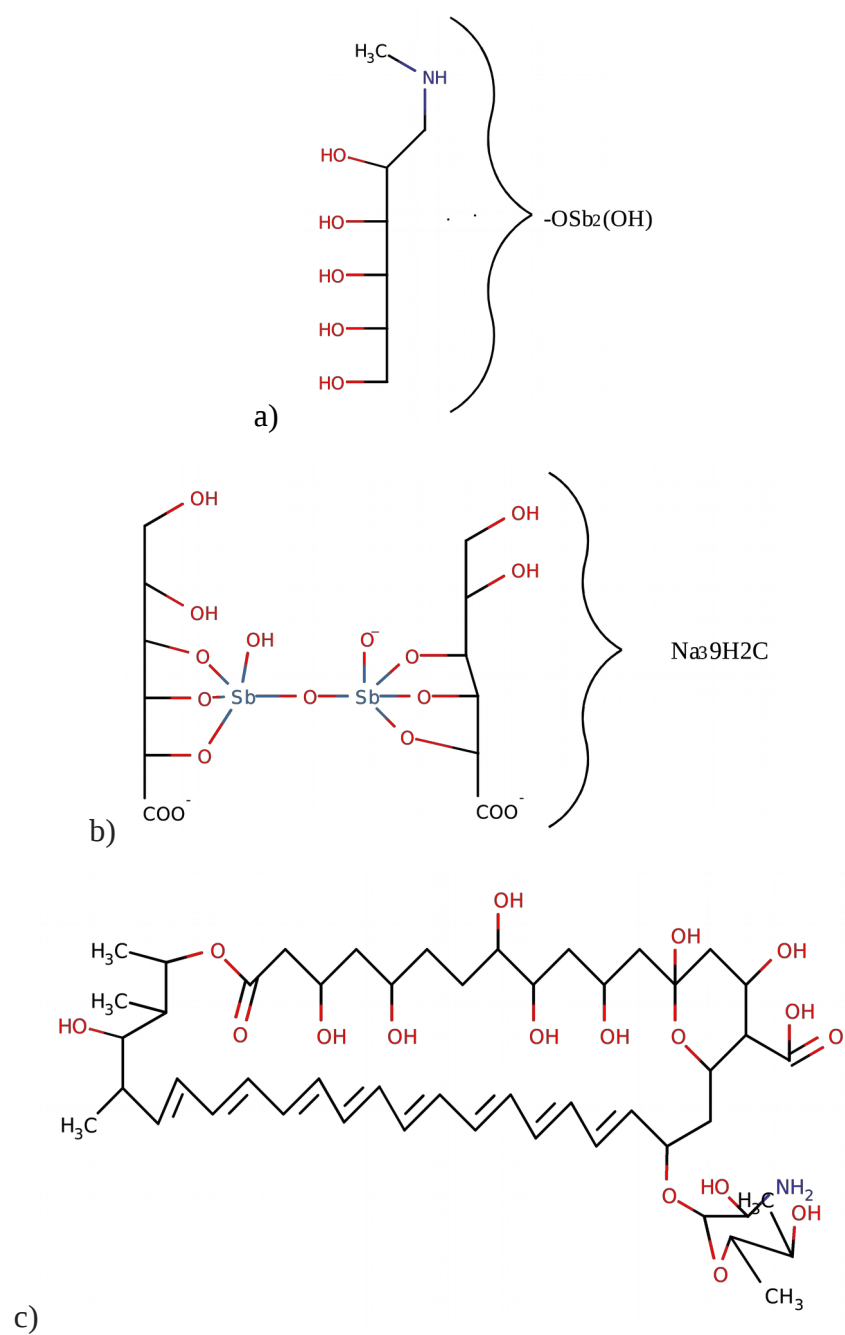
<https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>

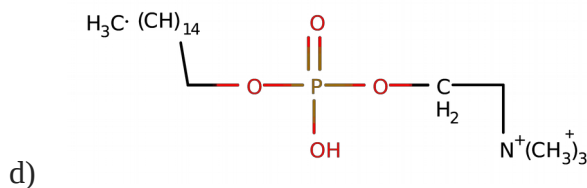
Os antimoniais pentavalentes (Sb^V) são utilizados desde a década de 1940 como tratamento padrão e de primeira escolha para LV, há comercialmente o N-metilglucamina (Glucantime) e o estibogluconato de sódio (Pentostam), porém estes necessitam de uma frequência em seu uso de 30 dias, e embora seja eficaz apresenta alta toxicidade, principalmente cardíaca. A droga de segunda escolha é a anfotericina B, antifúngico utilizado de 15 a 20 infusões intravenosas principalmente para LV, que apesar da eficácia também apresenta efeitos adversos, principalmente renais e hematológicos. A Miltefosina foi desenvolvida para o tratamento de câncer, e o primeiro medicamento oral para leishmaniose, apesar na vantagem da forma farmacêutica, após uma década de uso a sua eficácia diminuiu, além dos vários efeitos colaterais como hepatite tóxica, insuficiência renal, anorexia, náusea, diarreia (Figura 4)

(GONÇALVES, COSTA, 2018; CHAKRAVARTY, SUNDAR, 2019; MOKNI, 2019; GALVIS et al., 2020).

Figura 4. Estruturas químicas das principais drogas utilizadas no tratamento das leishmanioses

a) Glucantime; b) Pentostam; c) Anfotericina B; d) Miltefosina.





Fonte: próprio autor.

Dado o exposto, fica evidente que as atuais drogas utilizadas para o tratamento de leishmaniose além de estarem sendo utilizadas há muitos anos, favorecendo o aparecimento de linhagens resistentes, apresentam considerável toxicidade, graves efeitos colaterais que limitam seus usos em diversos casos, são mal toleradas, a maioria é de administração parenteral, dificultando a adesão ao tratamento, apresentam custo elevado, sendo de difícil acesso, principalmente em países em desenvolvimento, os quais são os principais afetados epidemiologicamente pela leishmaniose (GONÇALVES, COSTA, 2018; CHAKRAVARTY, SUNDAR, 2019; MOKNI, 2019; GALVIS et al., 2020).

Dessa forma, fica evidente a necessidade de descoberta de novas drogas eficazes, menos tóxicas, de uso convencional e mais barato contra estas doenças. Para isso, é necessário compreender a Química Medicinal e suas ferramentas, a qual baseia-se na síntese ou isolamento de compostos com atividade biológica, visando melhor afinidade pelos alvos, maior eficácia farmacológica, menos efeitos colaterais indesejáveis, solução para resistências aos medicamentos disponíveis no mercado, e menor custo (PEDROSA, CRUZ, MARQUES et al., 2017; MIKOVSKI, BASSO, SILVA et al., 2018).

Buscando métodos racionais dentro dessa área, que resolva ou minimize tais problemáticas, é indispensável realizar estudos de modelagem molecular para propor estruturas químicas com maiores chances de serem fármacos específicos, eficazes e seguros, reduzindo assim o tempo e investimentos em ensaios (TYZACK, KIRCHMAIR, 2019).

A exemplo do estudo de Coelho (2017) o qual utilizou a modelagem molecular para avaliar os perfis de afinidade de uma série de derivados do eugenol a alvos moleculares relacionados à leishmaniose, onde foi obtida uma série de ésteres de base de Mannich do eugenol, onde 7 compostos apresentaram atividade antileishmania antipromastigota.

Assim como para Araújo (2021) que em seu estudo realizou testes de docking molecular de um complexo metálico de rutênio com epiisopiloturina e óxido nítrico

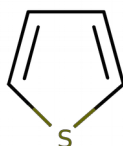
(Epiruno2) e avaliou sua atividade antileishmania *in vitro*, obtendo resultados promissores na modelagem molecular de boa atividade e afinidade, os quais foram comprovados nos ensaios *in vitro* com inibição do crescimento de promastigotas de espécies *L. major*. Sendo assim, pode-se comprovar a importância da Química Medicinal e sua área de modelagem para os estudos de novos fármacos.

2.2 Derivados tiofênicos como novas alternativas terapêuticas

Novos estudos de planejamento molecular e síntese demonstram que os derivados tiofênicos são compostos químicos com grande potencial antileishmania.

Os tiofenos (Figura 1) são moléculas pertencentes ao grupo de compostos heterocíclicos aromáticos, que despertaram o interesse da indústria farmacêutica por apresentar um amplo espectro de atividades farmacológicas como: antitumoral, anticonvulsivante, antinociceptiva, antiarrítmica, anti-inflamatória ou antileishmania (CROFT, COOMBS, 2003; WERMUTH, 2004; BROWN, 2007; AMR et al., 2010; RODRIGUES, DIAS, NÉRIS et al., 2015).

Figura 5 – Estrutura do tiofeno



Fonte: Autor próprio.

Auxílio do programa ChemDraw Ultra 12.0.

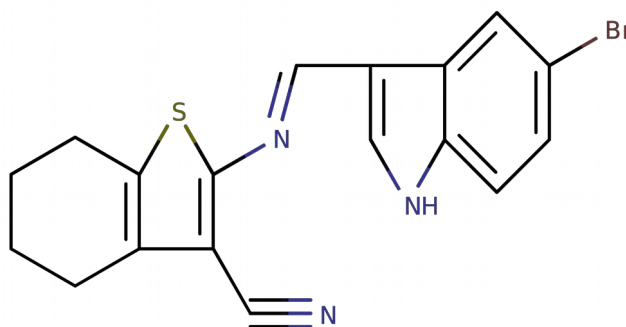
Dessa forma, o planejamento e a síntese para a obtenção de derivados do tiofeno é interessante para finalidade terapêutica, tendo em vista que é uma classe versátil de compostos que contem enxofre e uma capacidade enorme de oferecer ligantes para diversos alvos moleculares. Tais moléculas apresentaram atividades relevantes contra microorganismos, incluindo ação antiprotozoária, a exemplo de ações contra formas promastigotas da *L. donovani*, *L. infantum*, *L. braziliensis* e *L. amazonensis*, evidenciando seu potencial para o tratamento das leishmanioses (LIMA et al., 2009; MARGL et al., 2011; MENDONÇA JUNIOR et al., 2011; TAKAHASHI et al., 2011; SOUZA et al., 2012; GRAMEC, 2014; RODRIGUES, 2015).

Dentre os derivados do tiofeno, destacam-se os 2-aminotiofenos com atividade efetiva e seletiva para às formas promastigotas e amastigotas dos parasitas, além de demonstrar menor toxicidade em células humanas (macrófagos) do que ao parasito, sendo assim considerado uma opção terapêutica segura (RODRIGUES et al., 2015). Tendo em vista que estes derivados podem estar condensados ao grupo indol, com subunidade aromática rica em elétrons, isto permite ampla distribuição nos sistemas biológicos, e importante interação com os receptores pela presença do grupo NH (SETTIMO, 1996; ALVES et al., 2009)

Sendo de suma importância enfatizar os resultados de estudos no nosso grupo de pesquisa (Laboratório de Quimioinformática da UFPB, em parceria com os laboratórios de Síntese e Vetorização de Moléculas da UEPB e Laboratório de Leishmaniose da UFPB) os quais identificaram atividade anti-leishmania *in vitro* promissora destes derivados 2- amino-tiofenos, com ausência de toxicidade frente a células mamíferas, os quais apresentavam anel indólico terminal apresentaram-se mais efetivos, concluindo relevante potencialidade com antileishmania (RODRIGUES et al., 2015, 2018).

Tal estudo foi caracterizado pela atividade anti-leishmania *in-vitro* promissora do derivado tiofênico SB-83 (Figura 6) contra a espécie *L. amazonensis*, com CI_{50} de 3,37 $\mu\text{g/ml}$, DL_{50} de 2500 mg/kg por via oral, com poucas alterações comportamentais em camundongos e com atividade igual entre as diferentes cepas resistentes e sensíveis, indicando potencial antileishmania.

Figura 6 – Estrutura do composto SB-83

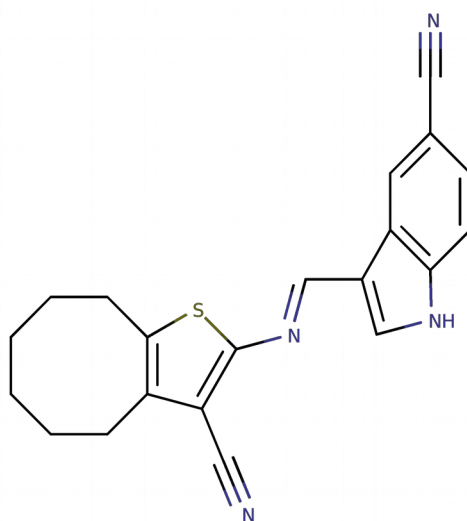


Fonte: Rodrigues et al. (2015; 2018).

Outro estudo em nosso grupo que comprovou a potencialidade dos derivados 2-amino-tiofênicos foi o de Félix et al. (2016), o qual afirmou atividade antileishmania *in*

vitro frente à *L. amazonensis*, com CI_{50} de até 2,07 $\mu\text{g/ml}$ para o composto TN8-7 (Figura 7).

Figura 7 – Estrutura do composto TN8-7



Fonte: Felix et al. (2016).

Ashok et al. (2017) sintetizaram e avaliaram a ação biológica de quinze derivados 1-(tiofen-2-il)-9*H*-pirido[3,4-*b*] contra as formas promastigotas e amastigotas das espécies *Leishmania donovani* e *Leishmania amazonensis* e apresentaram resultados de atividade potentes contra *L. donovani* (15,55, 7,70, 7,00, 3,80, 14,10, 9,25, 3,10, 4,85 μM) e resultado significativo *in-vitro* de dois compostos frente a formas amastigotas com atividade de 8,80 μM e 7,50 μM .

Silva et al. (2020) afirmaram em seu estudo a eficácia de derivados indol-3-il-tiosemicarbazonas frente às espécies *Leishmania infantum* (CI_{50} 4.36 e 23.35 μM) e *Leishmania amazonensis* (CI_{50} 12.31 e > 481.52 μM), apresentando baixa citotoxicidade frente a macrófagos.

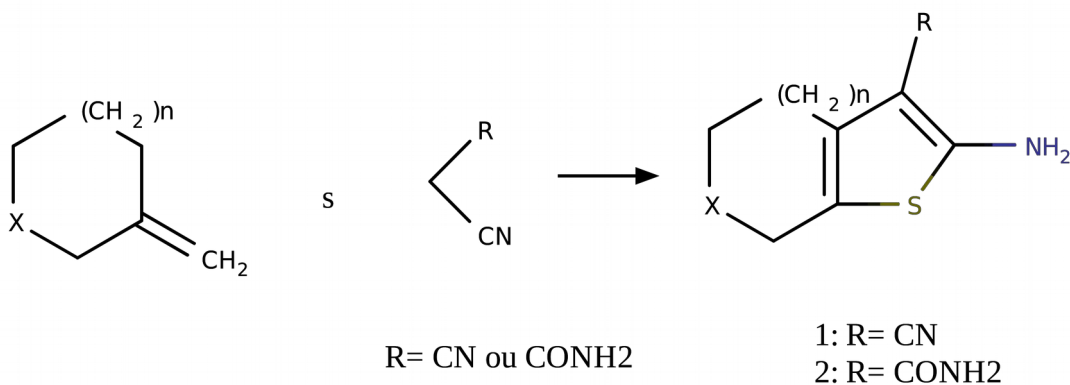
Dado o exposto, avaliando os resultados promissores de todos os estudos citados, destaca-se a importância e relevância da síntese destes compostos, avaliando-os como potenciais candidatos para a síntese e avaliação de novos fármacos anti-leishmania.

No entanto, para desenvolver novos fármacos é necessário antes um planejamento racional que depende de informações sobre o alvo molecular, seu efeito biológico e todas as suas intervenções, havendo a necessidade de estudos anteriores ao desenvolvimento. Sendo assim é de suma importância entender a estrutura química para utilizar técnicas experimentais de modificações moleculares (BARRETO, 2009).

Dentre as técnicas de modificação molecular existe o bioisosterismo, simplificação, hibridação molecular, entre outras. Podendo alterar substituintes da molécula para identificar e quantificar suas propriedades físico-químicas, as quais poderão influenciar na atividade farmacológicas destes candidatos a novos fármacos (BARRETO et al., 2001; THOMAS, 2003; WERMUTH, 2003; CHUNG et al., 2005).

Uma substituição nos derivados dos tiofenos, com a carbonitrila (Composto 1 do Esquema 1), apesar de apresentar boa atividade antifúngica, foi identificada uma baixa solubilidade. Sendo estudada uma melhor opção quimicamente para esta substituição o uso do grupo funcional amida (Composto 2 do Esquema 1), o qual desempenha um papel fundamental na composição de biomoléculas, incluindo muitos medicamentos aprovados clinicamente, e apresenta maior solubilidade. Tendo em vista que se busca fármacos antileishmanias que sejam administrados por via oral, a carboxamida é mais interessante (SILVA, 2017).

Esquema 1. Reação para obtenção de adultos de Gewald



Fonte: Próprio autor

Compostos derivados β -carbolínicos contendo carboxamida na posição-3 apresentaram compostos com potente atividade para células tumorais humanas, com valores de IC₅₀ na faixa de 0,45-2,93 μ M, e compostos ativos frente a *L. amazonensis* com valores de IC₅₀ de 4,45, 19,23 e 5,50, o que afirma a promissora atividade das carboxamidas farmacologicamente, assim como especificamente com atividade antileishmania.

Assim como o estudo de Zimmwemnn (2018) no qual o 4-amino-*N*-(2-((5-bromo-2-((2-fluorobenzil)oxi)benzil)amino)etil-1,2,5-oxadiazol-3-carboxamida (S21) apresentou atividade tripanocida e antileishmania *in vitro*, com CI₅₀ 42,3 μ M, e doze dos seus análogos apresentaram algum grau de inibição parasitária para ambos os parasitos, além disso, foi o que apresentou um índice de seletividade de 5,3, indicando a menor citotoxicidade dentre os compostos.

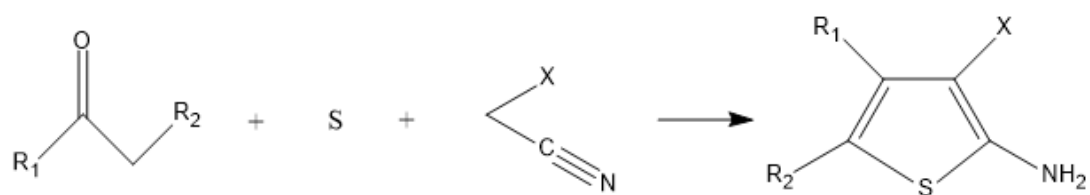
Os 2-aminotiofenos são sujeitos a mudanças químicas em sua estrutura para síntese de corantes, agroquímicos e compostos ativos farmacologicamente, sendo assim, foram descritos na literatura diversos métodos para a sua preparação. Dentre as abordagens para a síntese dessas estruturas químicas, a mais clássica, bem estabelecida, simples e de baixo custo é a reação de Gewald (GEWALD et al., 1976; LUTJENS et al., 2003; PILLAI et al., 2005; NIKOLAKOPOULOS et al., 2006).

2.3 Reação de gewald

Gewald, em 1961, desenvolveu uma rota sintéticas de uma reação universal, promissora e simples de sintetizar os derivados dos 2-amino-tiofênicos, com bons rendimentos. Esta reação é considerada versátil tendo em vista a vasta disponibilidade de reagentes, as brandas condições reacionais, a simplicidade para a realização dos procedimentos e os rendimentos satisfatórios (GEWALD, 1961; GOUDA et al., 2011).

A reação de Gewald (Esquema 2) ocorre entre uma cetona ou aldeído, uma nitrila ativada e enxofre, na presença de uma base, sejam aminas secundárias ou terciárias como dietilamina, morfolina, trietilamina e piridina, assim como bases inorgânicas, e com solventes polares como DMF e álcoois (GEWALD, 1961; GOUDA et al., 2011).

Esquema 2. Reação de Gewald



Fonte: Próprio autor

3.OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Obter sinteticamente novos derivados 2-aminotiofeno-3-carboxamidas candidatos a fármacos antileishmanias, através da realização da modificação molecular de protótipos 3-carbonitrila substituídos, a fim de verificar a importância do padrão de substituição da posição C-3 do anel tiofênico.

3.2. Objetivos específicos

- Sintetizar novos 2-aminotiofeno-3-carboxamidas através de técnicas de modificação molecular;
- Determinar as principais características físico químicas e o cálculo dos rendimentos dos compostos sintetizados;
- Comprovar as estruturas dos novos compostos através de técnicas espectroscópicas;
- Avaliar o potencial antileishmania dos candidatos a fármacos sintetizados *in vitro* frente a formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, *L. major*, *L. brasiliensis* e *L. infantum*;
- Avaliar a citotoxicidade dos candidatos a fármacos em macrófagos;
- Realizar estudos de relação estrutura química x atividade biológica (SAR).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Síntese dos compostos

Os derivados 2-amino-tiofênicos propostos nesse estudo foram obtidos através de uma rota sintética linear composta por duas etapas reacionais. Na primeira etapa foram obtidos os adutos de Gewald, derivados 2-amino-tiofeno-3-carboxamidas (6AMD, 7AMD, 8AMD e 6AMDBOC), conforme apresentado no Quadro 1. Em seguida, cada um desses 2-amino-tiofenos foram reagidos com quantidades equimolares de diferentes aldeídos indólicos, gerando os compostos finais desejados (Quadro 2).

Dos 4 adutos de Gewald sintetizados, apenas o 6AMDBOC trata-se de um composto inédito. Os demais já foram obtidos e descritos na literatura.

Os adutos de Gewald (compostos 6AMD, 7AMD, 8AMD e 6AMDBOC) foram obtidos em rendimentos variando de 22% (para o 7AMD) a 83% (para o 6AMDBOC).

Analisando os dados de outros trabalhos, observamos que Arya, 1972, e Gewald, Schinke and Bottcher, 1966 obtiveram o composto 6AMD em rendimento variando entre 61 e 71%, sendo obtido portanto, em rendimento comparável ao rendimento obtido nessa dissertação (65%). Gewald, Schinke and Bottcher, 1966 também descreveram o ponto de fusão do composto 6AMD como sendo entre 189-190°C, sendo portanto, compatível com o resultado obtido (180 – 184°C).

Os compostos 7AMD e 8AMD foram obtidos por Aurelio et al., 2011, respectivamente, com rendimento de 31% e 43%, sendo esses valores comparáveis aos obtidos nesse trabalho (22% e 30%). Nesse mesmo trabalho, os autores apresentaram o valor do ponto de fusão do composto 7AMD como sendo 163°C, portanto apresentando valor equivalente ao observado nessa dissertação (165 – 166°C).

Quadro 1. Estruturas química, rendimentos e características físico-químicas dos aductos de Gewald sintetizados.

CÓD IGO	X	n	PM (g/mol)	Aparência Cristal	Faixa Fusão (°C)	R f	Ren d. (%)	Siste ma de eluição
6AM D	CH ₂	1	196	Amarel o	180 – 184	0, 23	65	Hex/ AcOEt (7:3)
7AM D	CH ₂	2	210	Vermel ho	165 – 166	0, 45	22	Hex/ AcOEt (7:3)
8AM D	CH ₂	3	224	Vermel ho	265,4 – 268,1	0, 51	30	Hex/ AcOEt (7:3)
6AM DBOC	N-Boc	1	297	Beje	126 – 127	0, 57	83	Hex/ AcOEt

								(7:3)
--	--	--	--	--	--	--	--	-------

Quadro 2. Estruturas química, rendimentos e características físico-químicas dos 2-aminotiofenos-3 carboxamidas obtidos.

CÓDIGO	X	n	R ₁	R ₂	PM (g/mol)	Aparência Cristalina	Faixa Fusão (°C)	R _f	Rend. (%)	R	Si de eluição [#]
MD2 6A	C H ₂	1	B r	H	402	Amarelo claro	279 – 282	0 ,57	4 6		H ex/AcOEt
MD3 6A	C H ₂	1	H	H	323	Amarelo escuro	263 – 265	0 ,57	5 4		H ex/AcOEt
MD4 6A	C H ₂	1	O CH ₃	H	353	Amarelo	265 – 268	0 ,52	5 4		H ex/AcOEt
MD5 6A	C H ₂	1	B r	B r	481	Amarelo	295 -298	0 ,64	9 8		H ex/AcOEt
MD2 7A	C H ₂	2	B r	H	416	Amarelo escuro	231,0 – 240,0	0 ,54	9 8		H ex/AcOEt
MD3 7A	C H ₂	2	H	H	337	Beje	204,1 – 206,5	0 ,47	2 0		H ex/AcOEt
MD4 7A	C H ₂	2	O CH ₃	H	366	Laranja escuro	206,1 – 212,9	0 ,59	4 5		H ex/AcOEt
MD2 8A	C H ₂	3	B r	H	430	Amarelo	238,3 – 244,5	0 ,48	8 0		H ex/AcOEt
8A	C	3	O	H	381	Amarelo	190,1 –	0	6		H

MD4	H ₂		CH ₃			mostarda	192,8	,55	3	ex/AcOEt
8A	C	3	B	B	509	Amarelo	264 -	0	9	^H ex/AcOEt
MD5	H ₂		r	r			265	,23	2	
6BO	N	1	B	H	503	Amarelo	245 –	0	8	^H ex/AcOEt
C2	-Boc		r				246	,57	0	
6BO	N	1	H	H	424	Amarelo	214 –	0	8	^H ex/AcOEt
C3	-Boc						218	,52	0	
6BO	N	1	O	H	454	Amarelo	254 -	0	9	^H ex/AcOEt
C4	-Boc		CH ₃				255	,64	8	

Hex/AcOEt (7:3)

Os maiores rendimentos obtidos foram de 98% (6AMD5; 7AMD2; 6AMDBOC4), 92% (8AMD5), 83% (6AMDBOC) E 80% (8AMD2; 6AMDBOC2; 6AMDBOC3). E os menores rendimentos obtidos foram de 20% (7AMD3), 22% (7AMD) e 30% (8AMD) (**Quadro 2**).

4.2. Comprovação estrutural

A molécula codificada como 6AMDBOC foi comprovada estruturalmente como sendo um adulto de Gewald de nome 2-amino-3-carbamoyl-4,7-diidroteno[2,3-c]piridina-6(5H)-carboxilato de *tert*-butila pelos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C , demonstrados nas figuras 8 e 9.

No espectro de RMN ^1H (**Figura 8**) foi possível observar um simpleto com integral para 9H em 1,42 ppm indicando as 3 metilas homotópicas da porção *tert*-butila. Além de um duplo triplete em 3,52 ppm e um triplete em 2,72 ppm, referente aos hidrogênios H-5 e H-4, respectivamente. Como também um sinal em 4,28 ppm, em singleto, para o hidrogênio H-7, confirmando o anel piridina. Além de 2 simpletos largos, com integral para 2H, em 6,59 e 6,97 ppm referente aos hidrogênios (NH_2) da amina e da carboxamida, respectivamente.

No espectro de RMN ^{13}C (**Figura 9**) do composto 6AMDBOC é possível observar 10 sinais para carbono, que devido a presença de 3 carbonos homotópicos é compatível com a molécula que apresenta 13 carbonos em sua estrutura química. Sendo 7 sinais de C (carbono não hydrogenado), 3 sinais de CH_2 (carbono metilênico) e 1 sinal de CH_3 (carbono metílico). É possível observar ainda os sinais característicos da molécula em 79,73 ppm, 27,04 ppm, referente, respectivamente, ao carbono vizinho ao oxigênio (C-O) e das 3 metilas homotópicas da porção *tert*-butila. Além do sinal das duas carbonilas da porção N-Boc em 168,00 ppm devido a presença dos dois heteroátomos (O e N) e o sinal da carbonila da porção carboxamida em 160,14 ppm, corroborando com a estrutura.

Figura 8. Espectro de RMN ^1H do composto 6AMDBOC

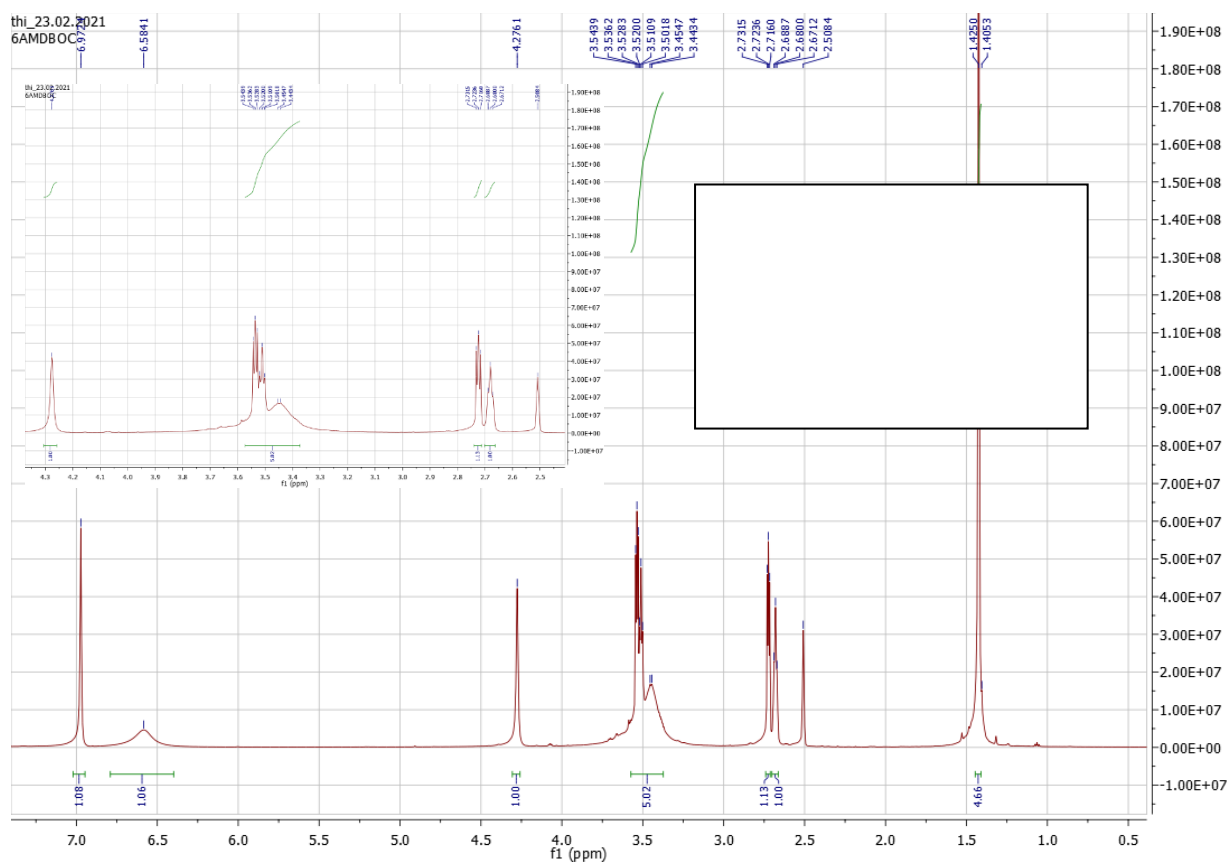
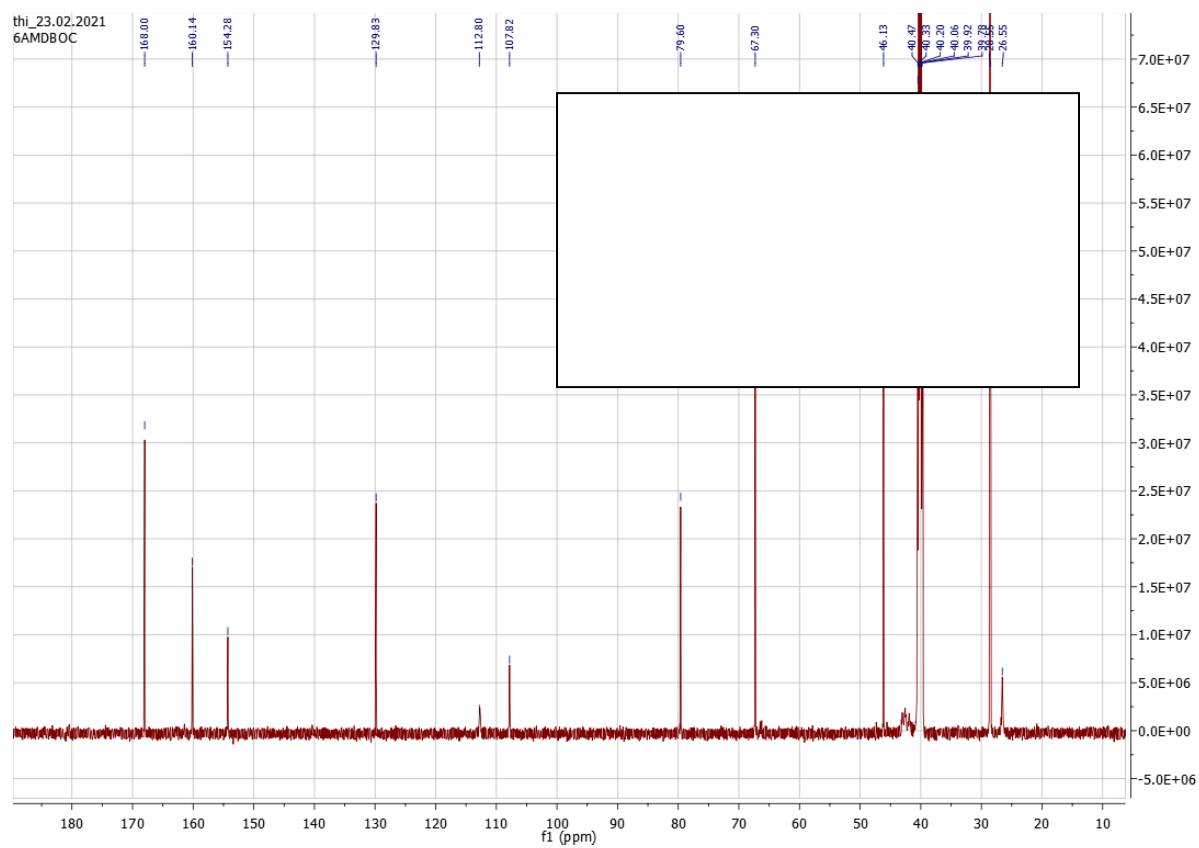


Figura 9. Espectro de RMN ^{13}C do composto 6AMDBOC



A substância codificada como 6BOC4 foi comprovada estruturalmente como sendo o derivado tiofeno 2-(((5-metoxi-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-3-carbamoil-4,7-diidrotieno[2,3-*c*]piridina-6(5*H*)-carboxilato de *terc*-butila pelos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C , demonstrados nas figuras 10 e 11.

No espectro de RMN ^1H (**Figura 10**) foi possível observar um simpleto com integral para 9H em 1,44 ppm indicando as 3 metilas homotópicas da porção *terc*-butila. Além de um tripleto em 3,57 ppm e um mutipletto em 2,89 ppm, referente aos hidrogênios H-5 e H-4, respectivamente. Como também um sinal em 4,49 ppm, em simpleto, para o hidrogênio H-7, confirmando o anel piridina. Além de 2 simpletos largos, com integral para 1 H, em 8,50 e 7,67 ppm referente aos hidrogênios (NH₂) da carboxamida. Também foi observado um simpleto largo em 12,35 ppm com integral para 1H, referente ao hidrogênio (NH) do anel indol que associado aos sinais em 7,62 ppm como um simpleto com integral para 1H corresponde ao H-4' e 6,91 ppm, representado por um duplo dubleto, com integral para 1H referente ao H-6', junto do sinal em 7,44 ppm como um dubleto com integral para 1H confirmam a presença do anel indol. Ainda é possível observar um simpleto em 8,66 ppm com integral para 1H referente ao hidrogênio da imina.

Figura 10. Espectro de RMN ^1H do composto 6BOC4

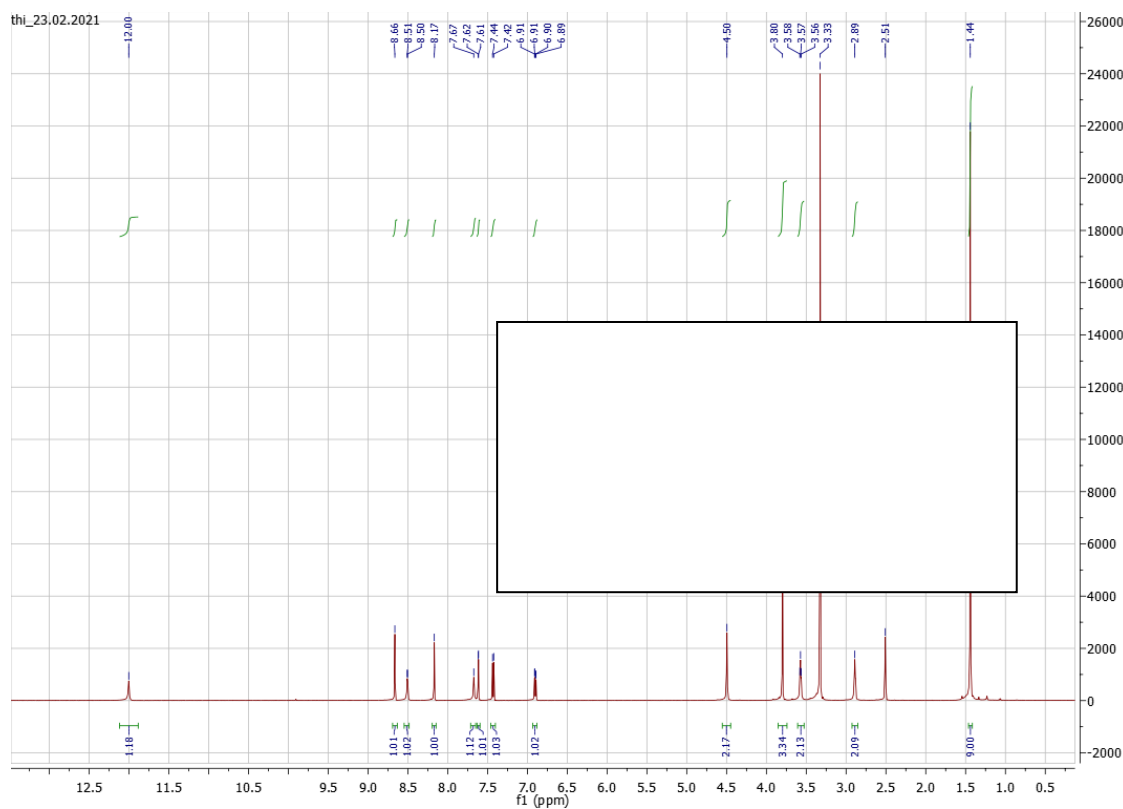
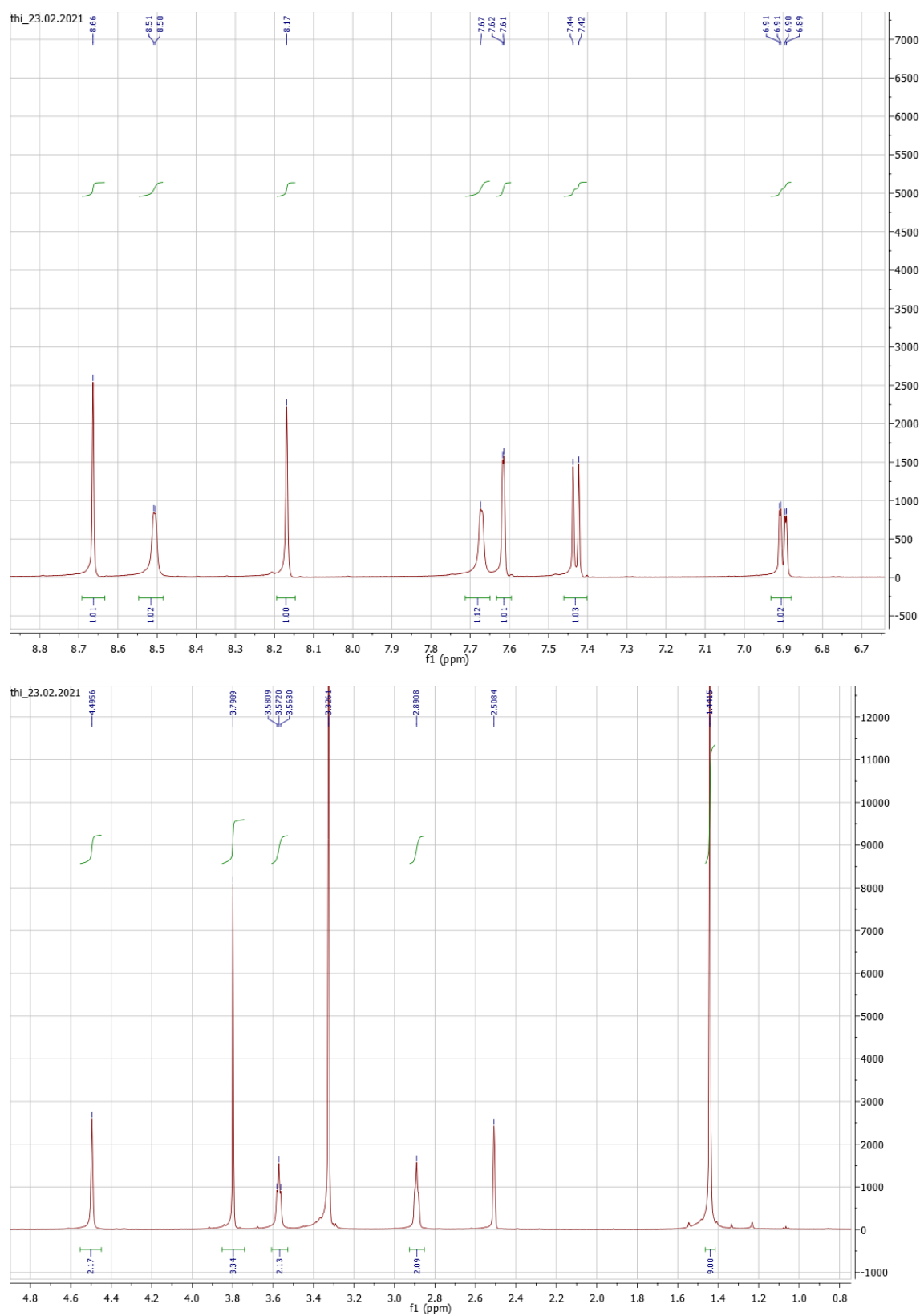


Figura 11. Expansões do espectro de RMN ^1H do composto 6BOC4



No espectro de RMN ^{13}C (**Figura 12**) do composto 6BOC4 é possível observar 17 sinais para carbono, que devido a presença de carbonos homotópicos justifica a molécula possuir 22 carbonos. Sendo 11 sinais de C (carbono não hidrogenado), 5 sinais de CH (carbono metínico), 3 sinais de CH_2 (carbono metilênico) e 4 sinais de CH_3 (carbono metílico). Com sinais característicos da molécula, como os sinais em 79,73 ppm, 55,87 ppm, 27,04 ppm, referente, respectivamente, ao carbono vizinho ao oxigênio (C-O) da porção *terc*-butila, da metoxila na posição 5 do anel indol e das 3 metilas homotópicas da porção *terc*-butila. É possível observar ainda o sinal da carbonila da porção N-Boc em 154,78 ppm mostrando uma blindagem devido a presença dos heteroátomos O e N e o sinal da carbonila da porção carboxamida em 165,51 ppm, corroborando com a estrutura.

A substância codificada como 6AMD2 foi comprovada estruturalmente como sendo o derivado tiofeno 2-(((5-bromo-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-4,5,6,7-tetraidrobenzo[*b*]tiofeno-3-carboxamida pelos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C , demonstrados nas figuras 13, 14 e 15.

No espectro de RMN ^1H (**Figura 13**) foi possível observar 4 multipletos na região de 1,71 a 2,74 ppm, cada um, com integral para 2H indicando os hidrogênios, H-4, H-5, H-6 e H-7, do anel tetraidrobenzo. Além de 2 simpletos largos, com integral para 1 H, em 8,07 e 7,51 ppm referente aos hidrogênios (NH_2) da carboxamida. Também foi observado um simpleto largo em 12,17 ppm com integral para 1H, referente ao hidrogênio (NH) do anel indol que associado aos sinais em 7,39 ppm como duplo duplete com integral para 1H e constante de acoplamento $J = 5,72$ e $1,28$ Hz corresponde ao H-6' que acopla com o H-7', representado por, um dubleto em 7,49 ppm com integral para 1H e constante de acoplamento $J = 5.72$ Hz, que junto dos sinais em 8,32 e 8,21 ppm, como dubletos com integral para 1H e constante de acoplamento $J = 1,16$ e $1,8$ Hz, respectivamente, comprovam a presença do anel indol. Ainda é possível observar um simpleto largo em 8,63 ppm com integral para 1H referente ao grupo imina.

Figura 12. Espectro de RMN ^{13}C do composto 6BOC4

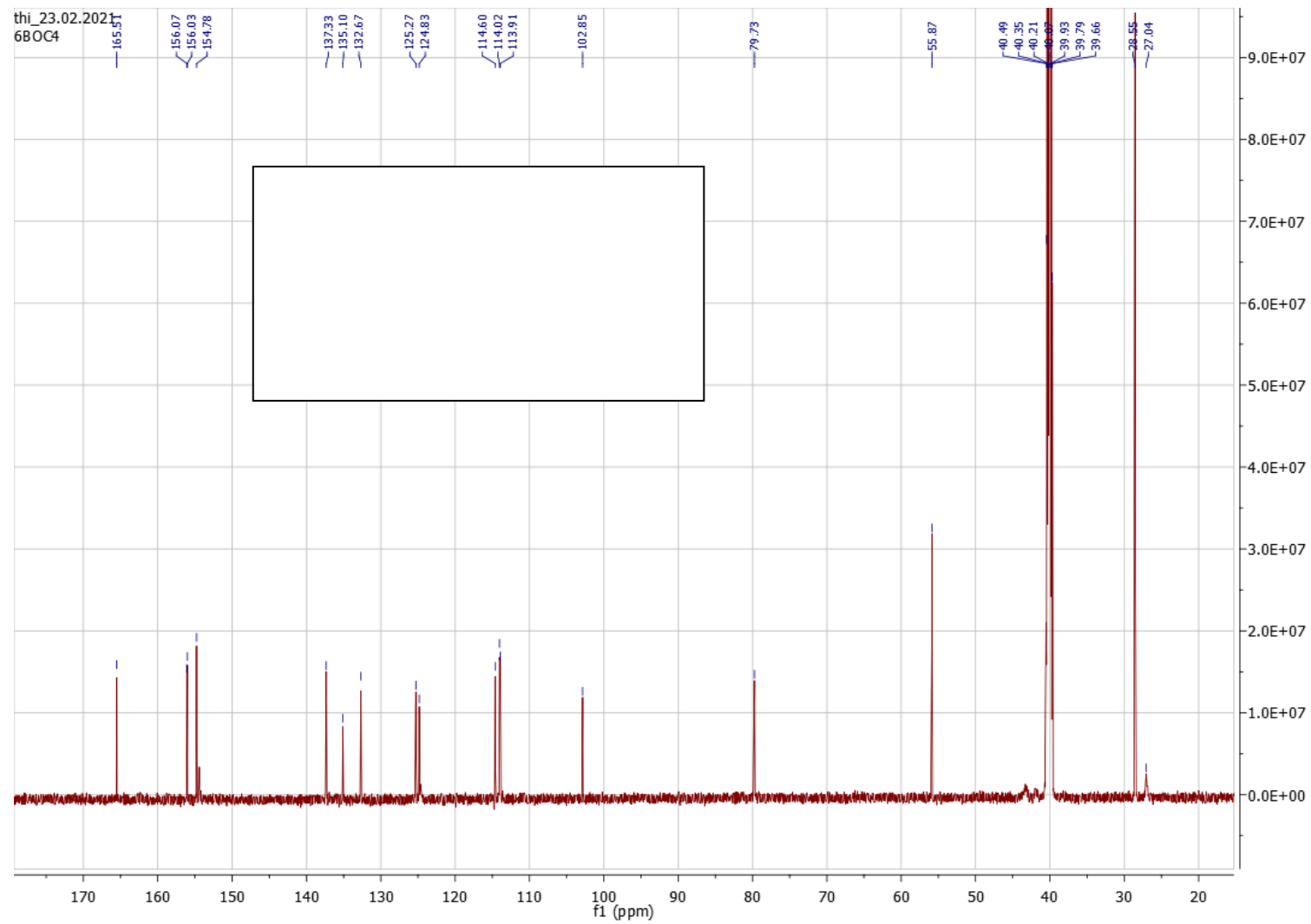


Figura 13. Espectro de RMN ^1H do composto 6AMD2

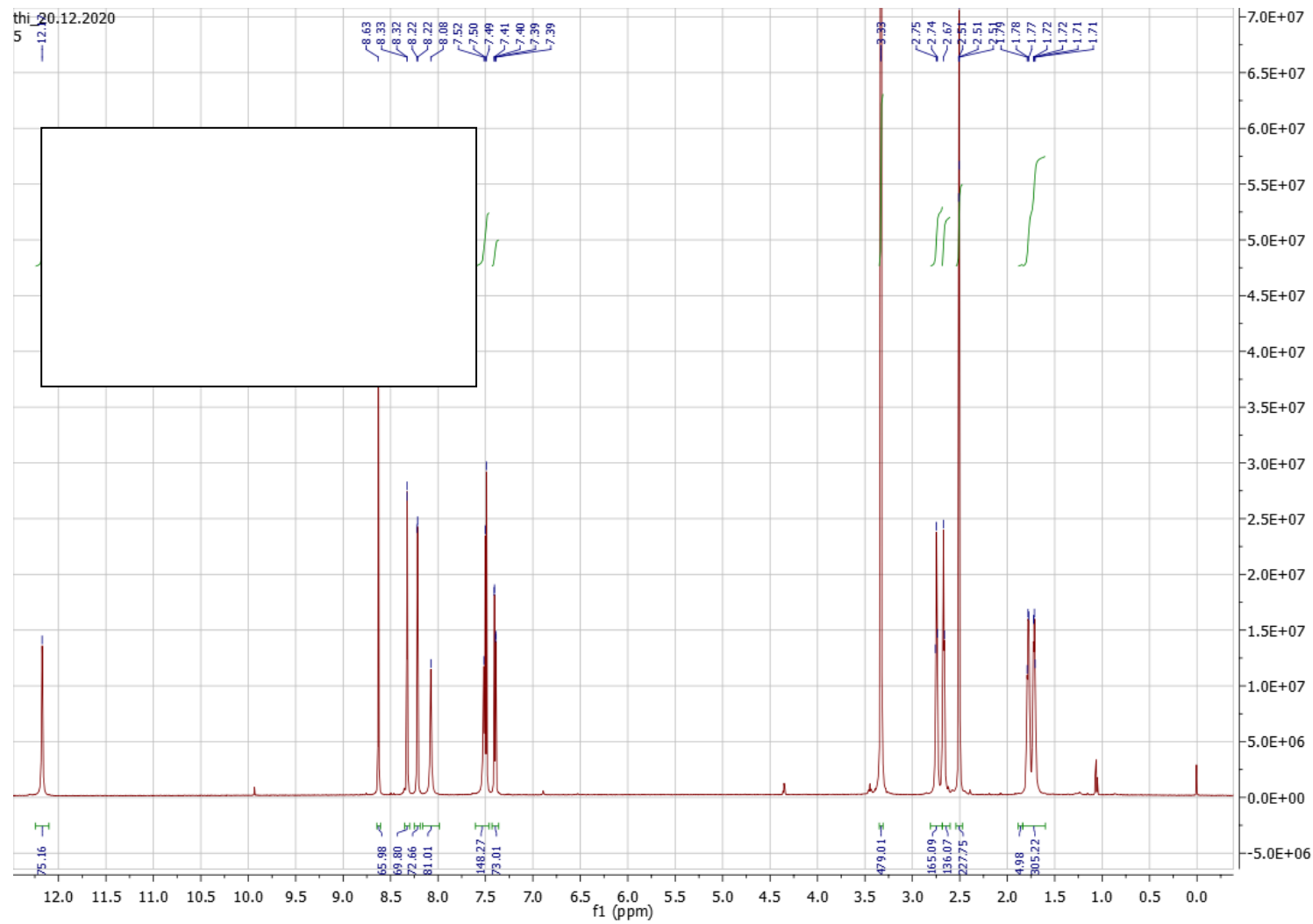
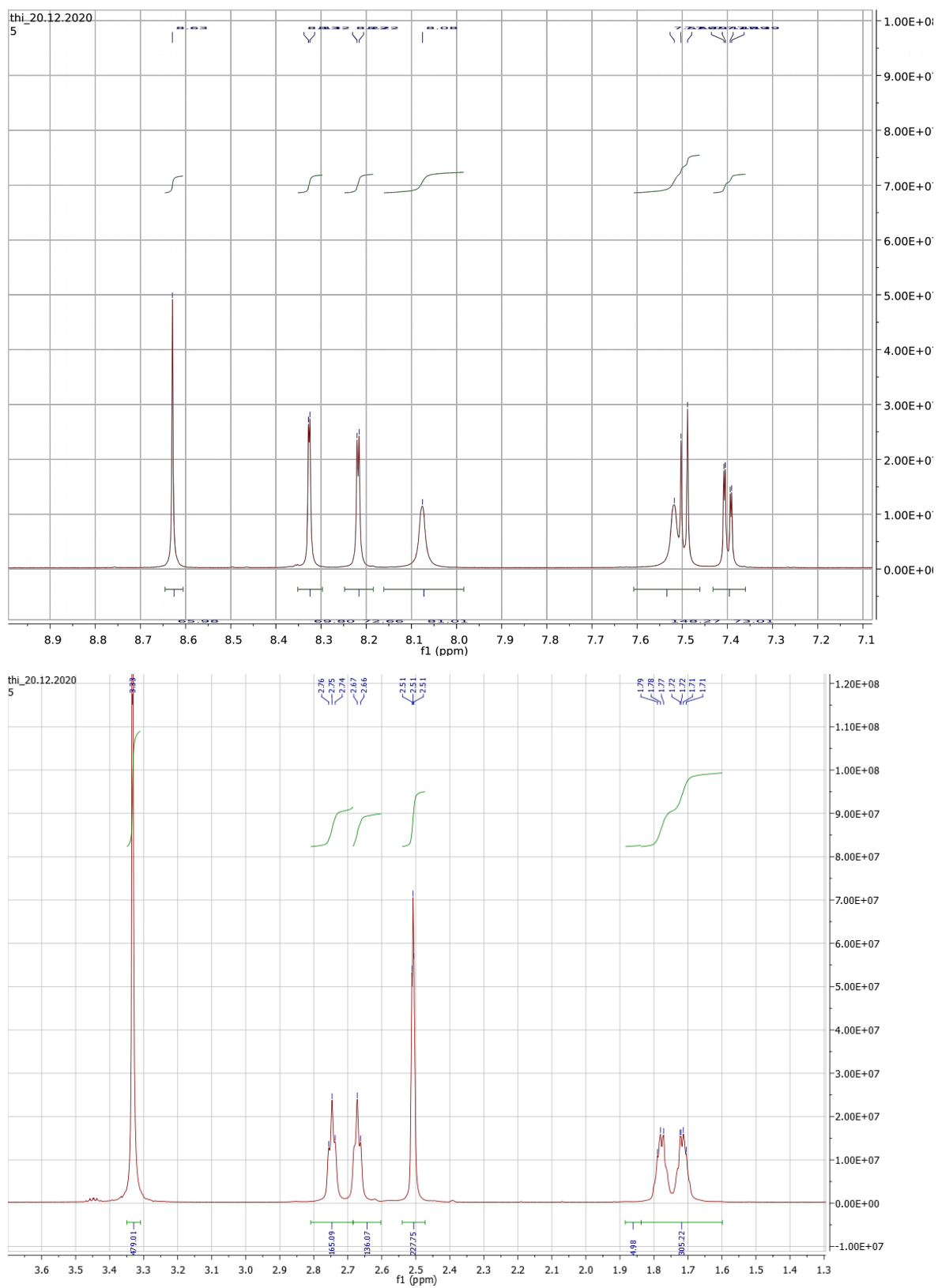
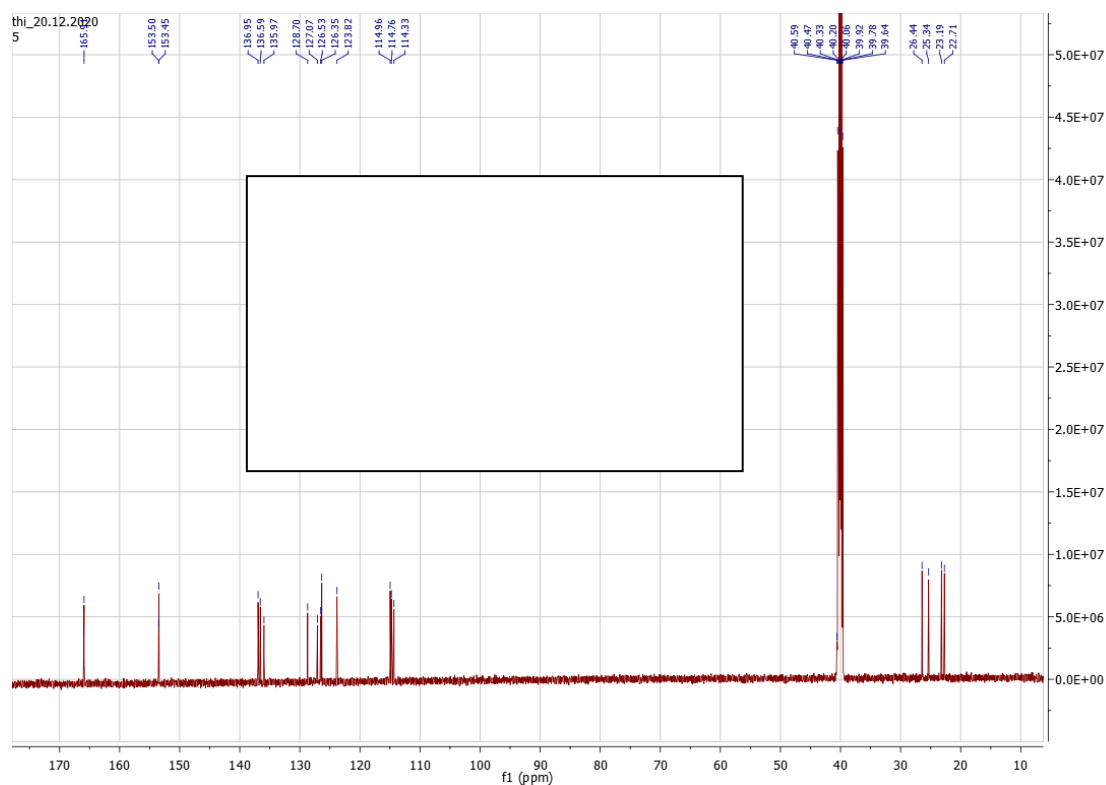


Figura 14. Expansões do espectro de RMN ^1H do composto 6AMD2



No espectro de RMN ^{13}C (**Figura 15**) do composto 6AMD2 é possível observar 18 sinais para carbono, que corrobora a estrutura da molécula. Sendo 8 sinais de C (carbono não hidrogenado) com deslocamento de 165,91 a 114,33 ppm, 5 sinais de CH (carbono metínico) com deslocamento químico na região de 114,76 a 135,91 ppm e 4 sinais de CH_2 (carbono metilênico) com deslocamento químico na região de 22,71 a 26,44 ppm. Confirmando os sinais característicos do grupamento carbonila, da carboxamida, em 165,91 ppm e para o grupo imina em 153,50 ppm. Além da ligação carbono-bromo que protege o sinal de carbono quaternário C-5 para uma região aproximada de 114,76 ppm.

Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C do composto 6AMD2



A molécula codificada como 7AMD3 foi comprovada estruturalmente como sendo o derivado tiofeno 2-(((1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-ciclohepta[*b*]tiofeno-3-carboxamida pelos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C , demonstrados nas figuras 16, 17 e 18.

No espectro de RMN ^1H (**Figura 16**) foi possível observar 5 multipletos na região de 1,55 a 2,92 ppm com integral para 2H cada, indicando os hidrogênios, H-4, H-5, H-6, H-7 e H-8 do anel cicloheptano. Além de 2 simpletos largos, com integral para 1 H, em 8,02 e 7,54 ppm referente aos hidrogênios (NH_2) da carboxamida. Também foi

observado um simpleto largo em 11,93 ppm com integral para 1H, referente ao hidrogênio (NH) do anel indol que associado aos sinais em 7,24 ppm como um tripleto com integral para 1H e constante de acoplamento $J = 5,36$ Hz corresponde ao H-6' que acopla com o H-7', representado por, um dubleto em 7,50 ppm com integral para 1H e constante de acoplamento $J = 5,36$ Hz, confirmam junto dos sinais em 7,18 ppm como um tripleto com integral para 1H e constante de acoplamento $J = 5,36$ Hz, e do sinal em 8,11 ppm como dubleto com integral para 1H e constante de acoplamento $J = 1,92$ Hz, os hidrogênios aromáticos e a presença do anel indol. Ainda é possível observar um simpleto largo em 8,62 ppm com integral para 1H referente ao hidrogênio da imina.

Figura 16. Espectro de RMN ^1H do composto 7AMD3

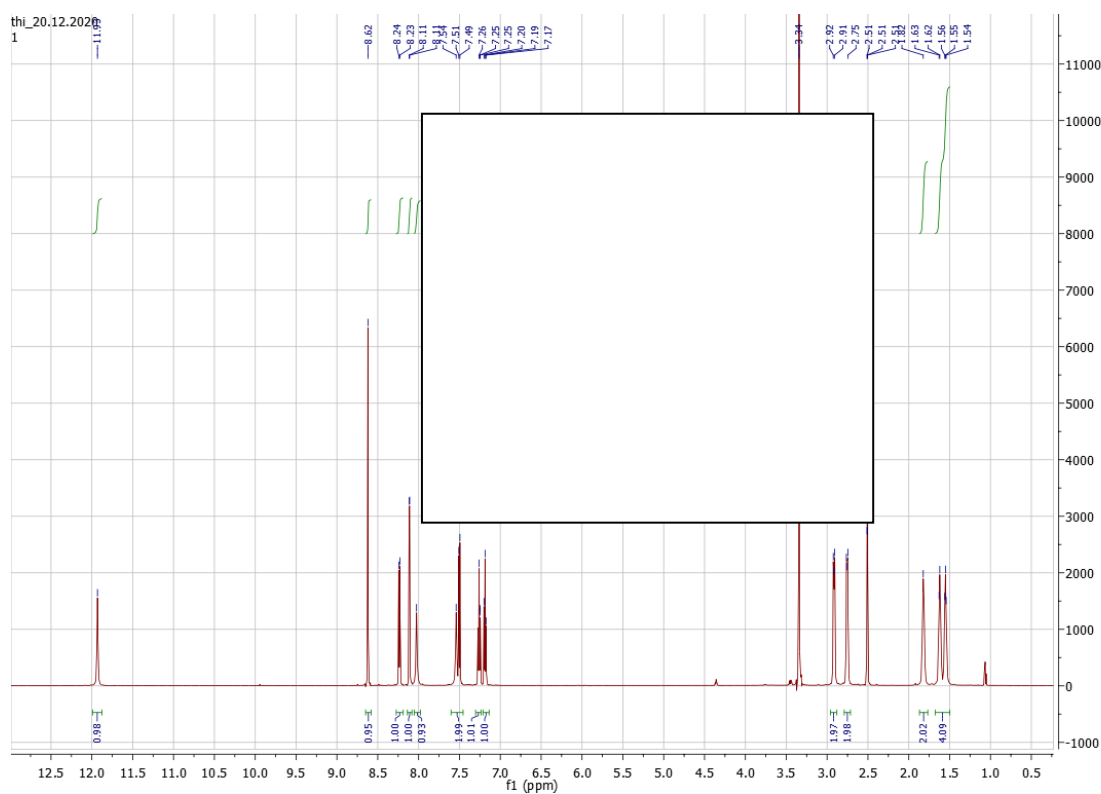
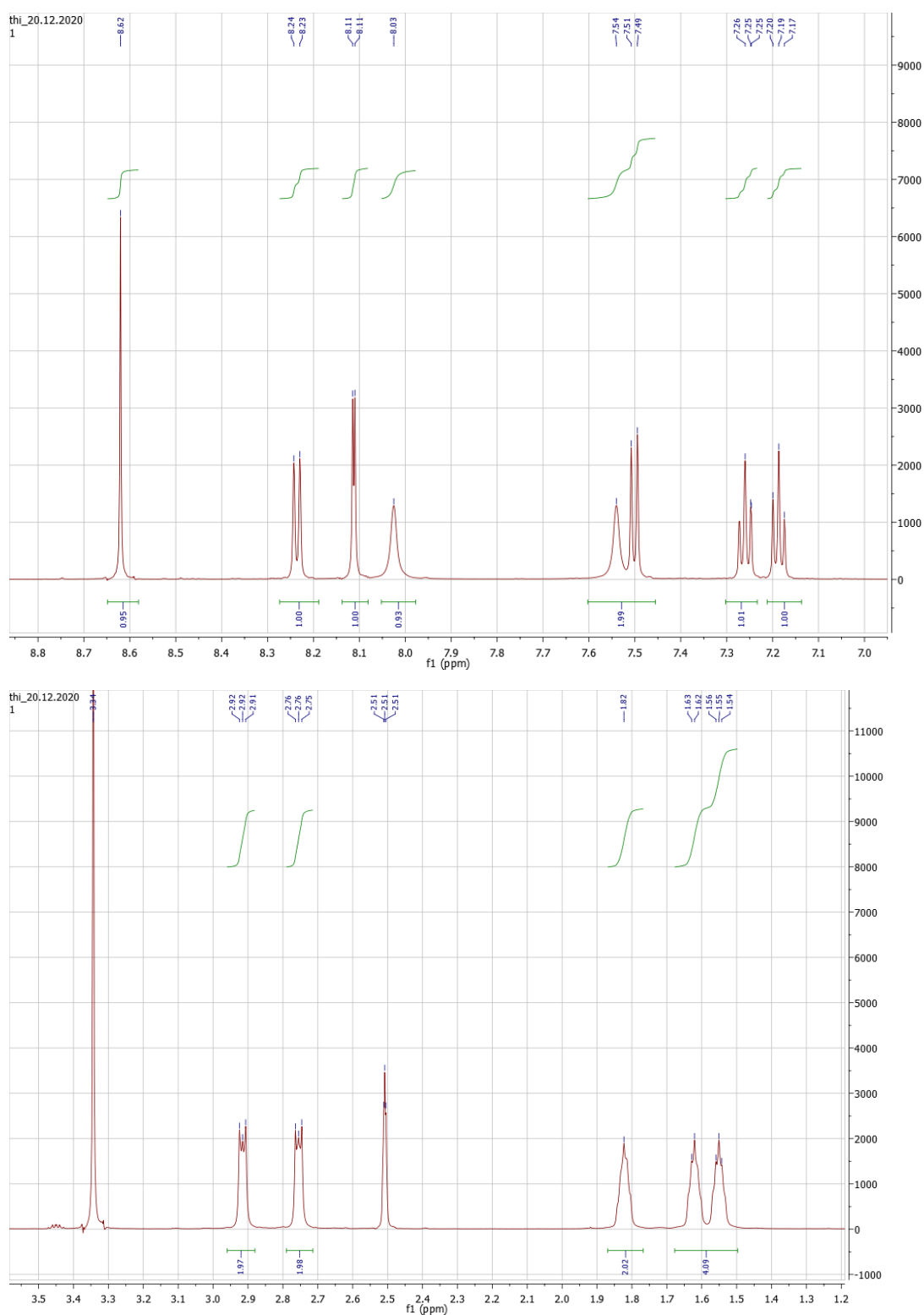


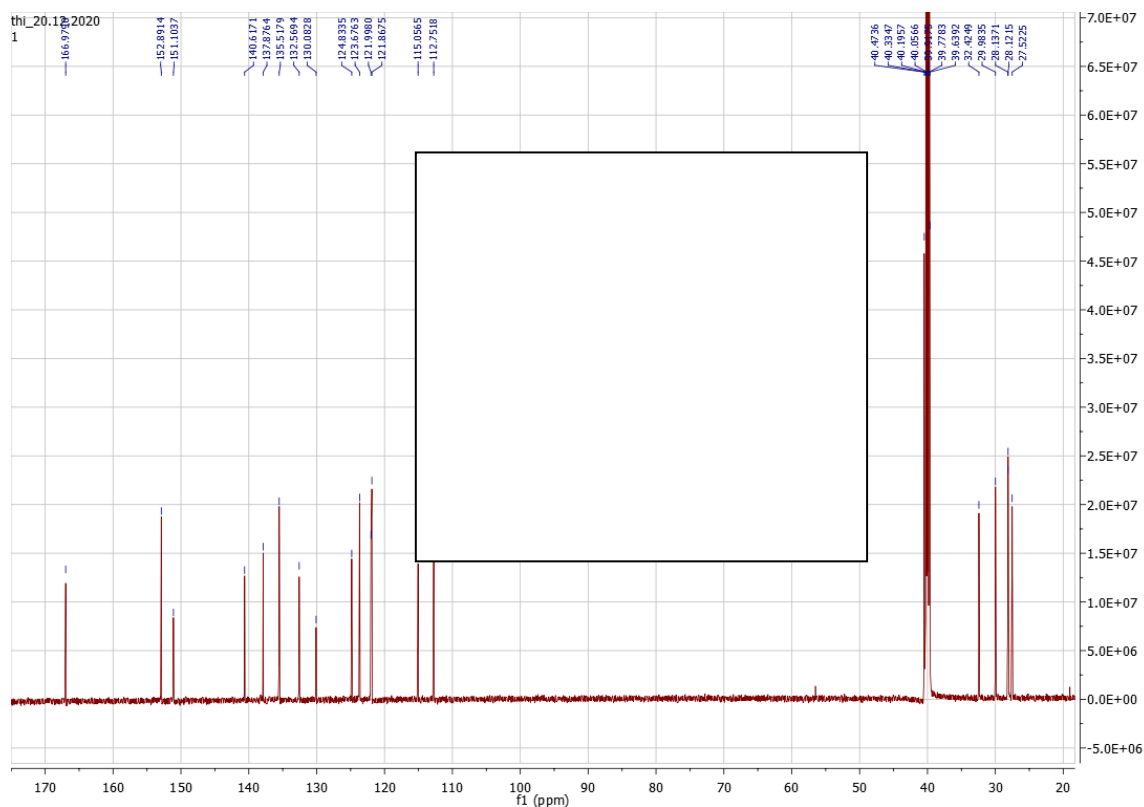
Figura 17. Expansões do espectro de RMN ^1H do composto 7AMD3



No espectro de RMN ^{13}C (**Figura 18**) do composto 7AMD3 é possível observar 19 sinais para carbono, que corrobora a estrutura da molécula. Sendo 8 sinais de C (carbono não hidrogenado) com deslocamento de 166,97 a 112,75 ppm, 6 sinais de CH (carbono metínico) com deslocamento químico na região de 115,01 a 135,51 ppm e 4

sinais de CH₂ (carbono metilênico) com deslocamento químico na região de 27,52 a 32,42 ppm. Podendo confirmar os sinais característicos do grupamento carbonila, da carboxamida, em 166,97 ppm e para o grupo imina em 152,89 ppm.

Figura 18. Espectro de RMN ¹³C do composto 7AMD3

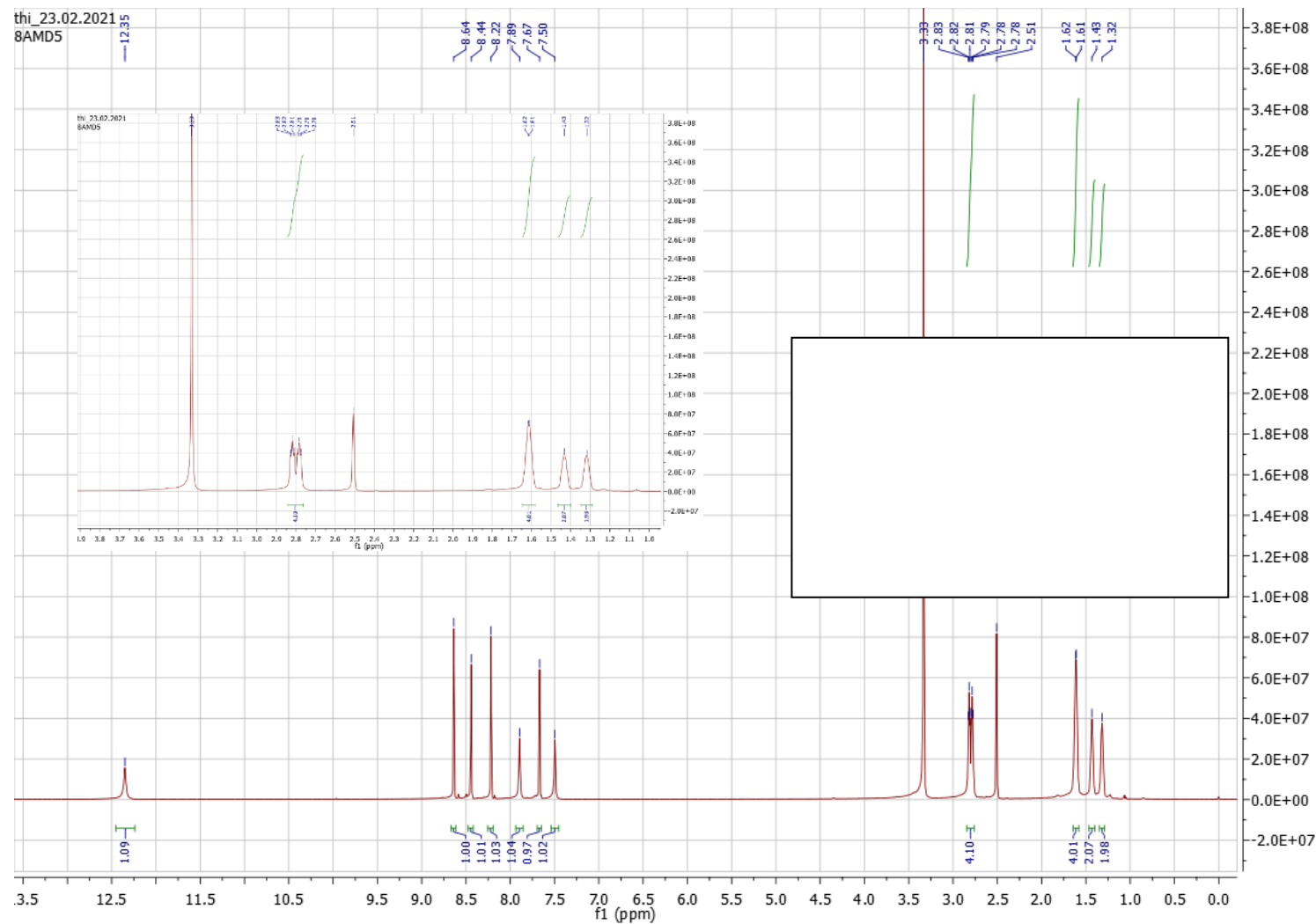


A substância codificada como 8AMD5 foi comprovada estruturalmente como sendo o derivado tiofeno 2-(((5,7-dibromo-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-4,5,6,7,8,9-hexaidrocicloocta[*b*]tiofeno-3-carboxamida pelos dados espectrais de RMN ¹H e ¹³C, demonstrados nas figuras 19 e 20.

No espectro de RMN ¹H (**Figura 19**) foi possível observar 6 multipletos na região de 1,32 a 2,82 ppm com integral para 2H cada indicando os hidrogênios, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8 e H-9 do anel hexaidrocicloocta. Além de 2 simpletos largos, com integral para 1 H, em 8,44 e 7,67 ppm referente aos hidrogênios (NH₂) da carboxamida. Também foi observado um simpleto largo em 12,35 ppm com integral para 1H, referente ao hidrogênio (NH) do anel indol que associado aos sinais em 7,50 ppm como um simpleto com integral para 1H corresponde ao H-4', e 7,89 ppm, representado por um simpleto com integral para 1H refere-se ao H-6', confirmam a presença do anel indol e que junto a ausência de sinais para os H-5' e 7' confirma a substituição na

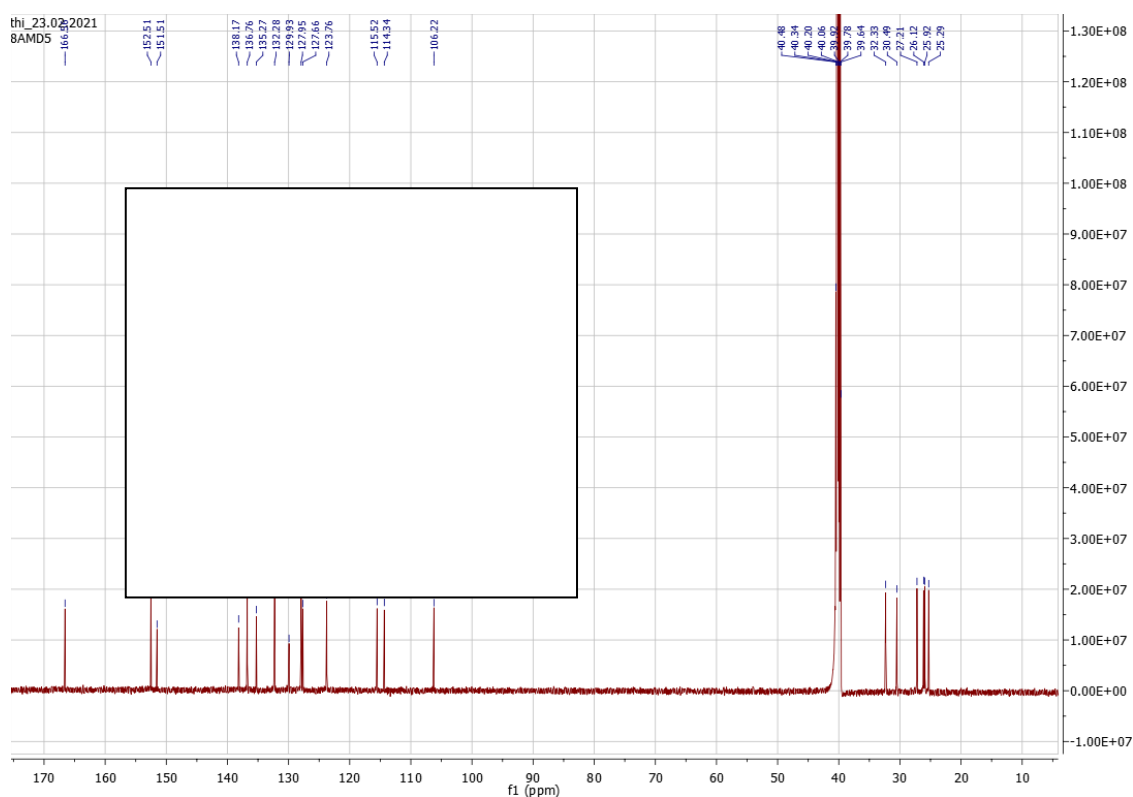
porção indol. Ainda é possível observar um simpleto em 8,64 ppm com integral para 1H referente hidrogênio da imina.

Figura 19. Espectro de RMN ^1H do composto 8AMD5



No espectro de RMN ^{13}C (**Figura 20**) do composto 8AMD5 é possível observar 20 sinais para carbono, que corrobora a estrutura da molécula. Sendo 10 sinais de C (carbono não hidrogenado) com deslocamento de 165,56 a 106,22 ppm, 4 sinais de CH (carbono metínico) com deslocamento químico na região de 114,34 a 136,76 ppm e 6 sinais de CH_2 (carbono metilênico) com deslocamento químico na região de 25,29 a 32,33 ppm. Podendo confirmar os sinais característicos do grupamento carbonila, da carboxamida, em 165,56 ppm e para o grupo imina em 152,51 ppm.

Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C do composto 8AMD5



4.3. Atividade Antileishmania

A atividade antileishmania foi avaliada a partir dos ensaios biológicos realizados em parceria com o prof. Dr. Klinger Antonio da Franca Rodrigues, na Universidade Federal do Delta do Parnaíba.

No Quadro 3, estão apresentados os resultados da avaliação da atividade antileishmania dos derivados 2-aminotiofenos-3-carboxamidas e das drogas referência anfotericina B e pentamidina frente as formas promastigotas de *Leishmania*

amazonensis, *L. braziliensis*, *L. major* e *L. infantum*, juntamente com os dados da citotoxicidade frente à macrófagos RAW 264.7, e os índices de seletividade (IS).

Quadro 3. Atividade antileishmaniana frente a formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. major* e *L. infantum*, efeitos citotóxicos contra macrófagos e índices de seletividade (IS) dos derivados 2-aminotiofênicos-3-carboxamidas e fármacos de referência (valores de IC₅₀ e CC₅₀ em µM).

Compostos	Composto	IC ₅₀ e IS								C ₅₀	M _{IC}
		LA	LS	VB	VS	LI	LS	LM	VS		
	6AMD	10	> 31,4	> 10	> 31,4	,24	7 3,4	4 10	> 31,4	> 3 14,36	
	6AMD2	2,49	1 4,1	2 10	> 30,0	> 10	> 30,0	,11 9	3 3,01	3 00,74	
	6AMD3	0,53	1 5,2	2 ,95	9 6,7	2 ,05	5 2,6	5 ,72	8 0,5	3 65,83	
	6AMD4	,02	9 6,3	3 ,3	9 5,2	3 10	> 32,8	> ,82	7 1,9	4 27,5	
	6AMD5	10	> 28,3	> 10	> 28,3	,8	7 6,3	3 ,65	9 9,3	2 83,21	
	7AMD2	,4	9 3,1	3 10	> 31,1	> 10	> 31,1	> 10	> 31,1	> 3 10,9	
	7AMD3	,71	9 1,2	3 10	> 30,3	,51	7 0,4	4 ,5	8 5,7	3 03,17	
	7AMD4	,4	8 1,5	3 10	> 26,4	,59	7 4,8	3 ,69	8 0,4	3 64,26	
	8AMD	10	> -	- 10	> -	- 10	> -	- 10	> -	- -	
	8AMD2	10	> -	- 10	> -	- 10	> -	- 10	> -	- -	
	8AMD5	10	> 29,8	> 10	> 29,8	,25	5 6,8	5 ,2	9 2,4	3 98,4	
BOC	6AMD	,35	9 3,1	3 10	> 30,1	> 10	> 30,1	> ,2	9 3,7	3 09,7	
	6BOC2	,67	7 7,6	3 ,71	6 3,0	4 ,6	5 1,5	5 ,3	5 4,4	5 88,4	
	6BOC3	,99	5 9,6	5 10	> 35,7	> 10	> 35,7	> 10	> 35,7	> 3 56,9	
	6BOC4	,11	8 0,4	3 2,4	1 9,9	1 ,06	6 0,7	4 ,13	8 0,3	3 46,35	
icina B	Anfoterina B	,36	0 ,1	1 ,25	0 ,5	1 ,3	0 ,3	1 ,59	0 ,7	0 ,38	
idina	Pentamidina	2,32	4 ,9	6 7,84	3 ,8	7 8,2	3 ,7	7 0,13	4 ,3	7 93,79	

LLA – *Leishmania (Leishmania) amazonensis*

LVB – *Leishmania (Viannia) braziliensis*

LLI – *Leishmania (Leishmania) infantum*

LLM – *Leishmania (Leishmania) major*

MΦ – Macrófagos RAW 264.7
IS = CC₅₀ / IC₅₀

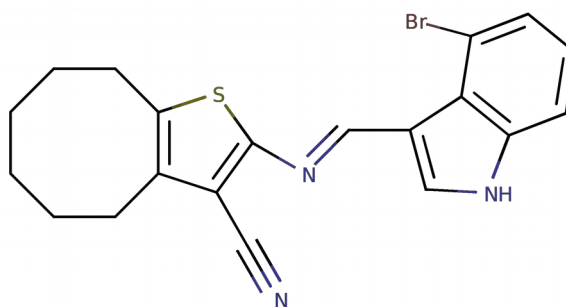
Os compostos que apresentaram melhor atividade inibitória sobre o crescimento da cepa LLA foram o 6BOC3 com IC₅₀ de 5,99μM e o 6BOC 2 com 7,67μM, assim como para a LVB o 6BOC2 também apresentou a melhor atividade com IC₅₀ de 6,71μM considerada. Tais resultados reforçam os estudos de Rodrigues et al. (2015) os quais apresentaram em seus derivados tiofênicos com porção indólica, atividade *in vitro* para com a espécie *L. amazonensis*, corroborando assim a importância destes derivados para atividade antileishmania.

A *L. infantum* (LLI) foi a espécie que se mostrou mais sensível aos compostos, apresentando 8 compostos com valores de IC₅₀ inferior a 8 μM. Para a LLI destacaram-se os compostos 6AMD3 (IC₅₀ = 5,05μM), 8AMD5 (IC₅₀ = 5,25μM), 6BOC2 (IC₅₀ = 5,6μM) e 6BOC4 (IC₅₀ = 6,06μM).

Para a LLM o 6BOC2 também apresentou a maior inibição com IC₅₀ de 5,3μM, seguido pelo 6AMD4 (IC₅₀. = 7,82 μM).

A série mais promissora foi a caracterizada quimicamente pela presença do grupo piridina carboxilato de *terc*-butila ligado ao anel tiofênico (6AMDBOC). Nessa série foi observado que a inserção do radical indol provocou um incremento na atividade antileishmania, o que pode ser observado pela maior atividade dos derivados 6BOC2, 6BOC3 e 6BOC4, quando comparado com seu precursor 6AMDBOC. Com destaque para molécula 6BOC2 que apresentou IC₅₀ inferior a 8μM frente as 4 espécies de Leishmania avaliadas, e com IS superior a 37,6. O derivado 6BOC2 apresenta em sua estrutura química a presença do halogênio bromo na posição C-5', o que corrobora o estudo de Felix (2020) que verificou que seu segundo composto mais ativo (42)(Fig. 21) também apresentava o bromo na posição 5 do indol.

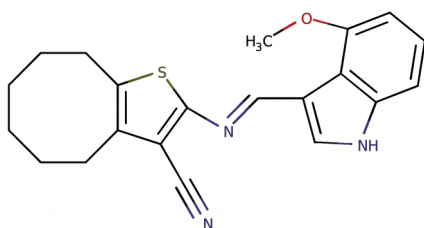
Figura 21 – Estrutura do composto 42



Fonte: Felix et al. (2020).

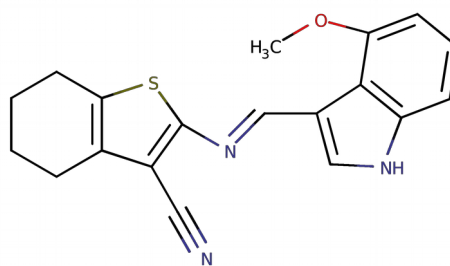
Destacando-se também a inserção da metoxila (6BOC4) no anel indol no qual apresentou uma atividade inibitória significativa em todas as linhagens, obtendo um resultado promissor assim como Felix (2020) que teve o seu composto 19 (Fig. 22), como o mais ativo, e este também apresentava a metoxila como radical do indol, e assim como Felix (2016) que tem em seu composto TN6-2 (Fig. 23) apresentou um IC_{50} de 5,99 μ M.

Fig. 22 – Estrutura do composto 19



Fonte: Felix et al. (2020).

Fig. 23 – Estrutura do composto TN6-2



Fonte: Felix et al. (2016)

Sendo assim, pode-se concordar que a adição de um bromo promove um caráter hidrofóbico, em decorrência da sua eletronegatividade, o que permite maior lipossolubilidade. Porém em relação ao radical metoxila é observada um caráter hidrofílico, em consequência a maior tendência de formar ligações de hidrogênio (FELIX, 2020).

Já a série menos promissora foi a do 8AMD, em que apenas o composto 8AMD5 apresentou atividade (IC_{50} = 5,25 μ M – LLI e 9,2 μ M – LLM), o qual foi caracterizado quimicamente pela inserção de dois radicais bromo.

Outra série que mostrou resultados promissores foi do 6AMD, de forma que a presença de um ciclo com 6 carbonos pode ser importante para a atividade biológica, o que corrobora a pesquisa de Felix (2016) na qual os compostos TN6 apresentaram atividade inibitória em praticamente todos os compostos.

No que diz respeito aos valores de CC_{50} , foi observado que todos os derivados 2-aminotiofeno-3-carboxamidas avaliados apresentaram menor toxicidade aos macrófagos do que às diferentes formas do parasito, revelando tratar-se de compostos que apresentam margem de segurança para a utilização.

Em relação a atividade dos fármacos de referência, para a Anfotericina B, pode-se observar que ela efetivamente apresenta os menores valores de IC_{50} (0,3 – 0,59 μM) sendo muito efetiva em inibir o crescimento de todas espécies de leishmania avaliadas. Porém, é importante destacar que ela apresenta também os menores índices de seletividade (0,3 – 1,5), sinalizando o grande potencial citotóxico já relatado por esse fármaco.

Quando comparamos nossos resultados com o outro fármaco de referência, a Pentamidina, observamos que os derivados 2-aminotiofênicos em sua grande maioria apresentaram atividade superior a esse fármaco, assim como apresentaram melhores índices de seletividade.

De forma a avaliar e verificar a importância do padrão de substituição da posição C-3 do anel tiofênico, que era um dos objetivos principais dessa dissertação, iremos apresentar a comparação dos resultados da atividade antileishmania frente a *L. amazonensis*, e do índice de seletividade (IS) dos derivados substituídos na posição 3 com o grupo carboxamida obtidos nesse trabalho, com os dados de análogos nos quais a única alteração estrutural, é a presença de grupos carbonitrila e grupo éster na posição C-3. Esses dados encontram-se sumarizados no Quadro 4, a seguir.

Quadro 4. Atividade antileishmania frente a formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, efeitos citotóxicos contra macrófagos e índices de seletividade (IS) dos derivados 2-aminotiofeno-3-carboxamidas, 2-aminotiofeno-3-carbonitrila, e 2-aminotiofeno-3-éster substituídos (valores de IC_{50} em μM)

2-aminotiofeno-3-carboxamidas			2-aminotiofenos-3-carbonitrila / 3-éster		
Composto	I C_{50}	IS	Composto	IC_{50}	IS
6AMD	>10	N T	6CN	20,8	5,2
			6EST	>400	NT
8AMD	>	N	8CN	1,2	36,

	10	T			58
OC	6AMDB	9,33 35,1		6CNP	22,56 3.8
				RMD59	3,1 71,23
				RMD37	6,5 29,84
	6AMD3	1,25 0,53		TN6	14,8 88,
	7AMD3	9,31 ,71		SB44	7,3 6,65
	6AMD2	1,24 2,49		SB83	3,3 33,6
	7AMD2	9,33 ,4		SB200	3,6 8,77
	6AMD4	9,36 ,02		TN6-2	17,8 66,
	7AMD4	8,31 ,4		TN7-2	29,>3 1,9,1

Nosso grupo de pesquisa já realizou a síntese de diversos derivados 2-amino-tiofeno (adutos de Gewald) com a presença de nitrila e ésteres na posição C-3, os quais já foram anteriormente avaliados quando seu potencial Antileishmania.

Para fins de avaliação do efeito da substituição na posição C-3 iremos comparar inicialmente os adutos de Gewald análogos (linhas 3-5 do quadro 4), cujas estruturas químicas estão representadas na Figura 24.

Figura 24 – Estruturas das séries com carboxamida, carbonitrila e éster na posição 3 (valores de IC₅₀ em µM).

Considerando os análogos que possuem o anel 4,7-diidrotieno[2,3-*c*]piridina-6(5*H*)-Boc, e conforme pode ser visto no Quadro 4 e Fig. 24, as moléculas RMD59 e RMD37, apresentando respectivamente éster etílico e éster *terc*-butílico na posição C-3 apresentaram os menores valores de IC₅₀ do que seus respectivos análogos com nitrila (6CNP) e carboxamida (6AMDBOC) em C-3. Sendo o derivado com 3-carboxamida cerca de 2,5 vezes mais ativo do que o derivado 3-carbonitrila, que foi o menos ativo desse conjunto de moléculas. As moléculas contendo o grupo 3-éster, especialmente o RMD59 apresentou o maior IS, enquanto que o 6CNP com nitrila em C-3 foi o com menor IS.

Em contrapartida, para os análogos de benzotiofenos o composto com o grupo éster etílico em C-3 (6EST) foi o menos ativo, (IC₅₀ maior que 400μM), o derivado com nitrila em C-3 (6CN) teve atividade intermediária (IC₅₀ = 22,56μM) e comparável a seu análogo 6CNP, enquanto o composto com carboxamida em C-3 não teve seu IC₅₀ observado abaixo de 10μM.

Com base nesses resultados, e considerando análogos com anéis de 6 membros não se é possível estabelecer um padrão de substituição em C-3 que resulte em compostos mais ativos e mais seguros. Porém a presença do anel 4,7-diidrotieno[2,3-*c*]piridina-6(5*H*)-Boc resultou em compostos mais ativos que os respectivos

benzo[*b*]tiofenos, indicando que a presença dessa porção é favorável à atividade antileishmania.

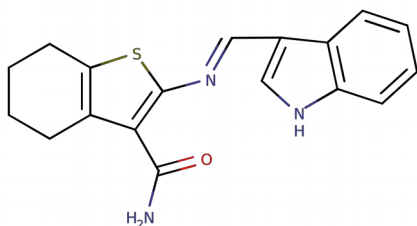
Em relação aos compostos anel hexaidrocicloocta[*b*]tiofeno (anéis de 8 membros), o derivado 8CN, com nitrila na posição C-3 demonstrou uma excelente atividade antileishmania ($IC_{50} = 1,2\mu M$), enquanto que o análogo com carbonitrila em C-3 (8AMD) não teve atividade observada até a concentração de $10\mu M$.

Por fim, foi realizada a avaliação do efeito da substituição na posição C-3 de nitrila por carboxamidas, em compostos contendo radicais indólicos não substituídos, e substituídos em C-5' com radicais bromo e metoxila (linhas 6-11 do quadro 4).

Nos análogos contendo indol não substituído (6AMD3 (Figura 25), 7AMD3 (Figura 27), TN6 (Figura 26) e SB44 (Figura 28)) também observamos resultados inconclusivos sobre o efeito da substituição em C-3 para a atividade antileishmania e para a segurança (IS). A molécula 6AMD3 (contendo amida em C-3) apresentou uma atividade inibitória de $10,53\mu M$ sendo quase 50% mais ativo que seu respectivo análogo substituído em C-3 com nitrila (molécula TN6 com $IC_{50} 14,7\mu M$). Apesar da menor atividade da molécula TN6, ela apresentou um IS 3,5x maior que seu análogo 6AMD3.

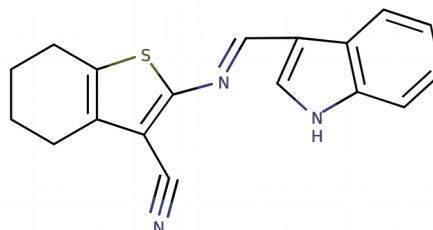
Para os análogos contendo o anel ciclohepta[*b*]tiofeno e sem substituição no anel indólico, observamos comportamento inverso. A molécula contendo o radical 3-nitrila (SB44) foi mais ativo e mais citotóxico ($IC_{50} = 7,37$, $IS = 6,65 \mu M$), enquanto que o respectivo análogo 3-carboxamida (7AMD3) foi menos ativo e mais seguro ($IC_{50} = 9,17$, $IS = 31,2 \mu M$).

Fig. 25 – Estrutura do composto 6AMD3



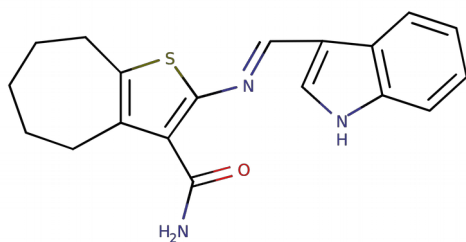
Fonte: Autor próprio.

Fig. 26 – Estrutura do composto TN6



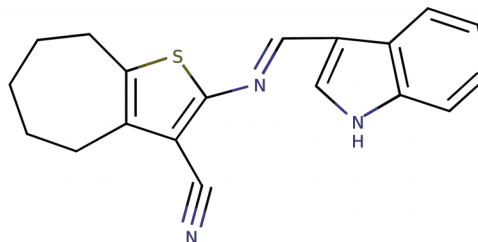
Fonte: Felix et al. (2016)

Fig. 27 – Estrutura do composto 7AMD3



Fonte: Autor próprio.

Fig. 28 – Estrutura do composto SB44

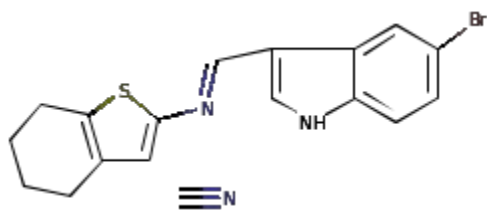


Fonte: Rodrigues et al. (2015)

Para análogos contendo indol 5-substituídos com átomo de bromo (SB83 (Fig. 29), SB200, 6AMD2 (Fig. 30) e 7AMD2) utilizamos o estudo de Rodrigues et al. (2015) para fins de comparação.

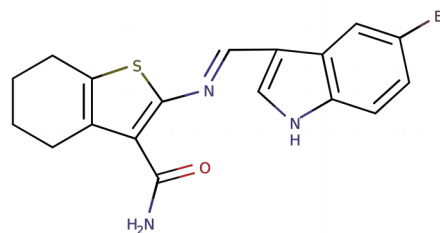
Observa-se que os derivados SB83 e SB200 contendo substituinte 3-carbonitrila apresentaram valores de $IC_{50} = 3,37$ e $3,65 \mu M$, respectivamente, sendo 3 a 4 vezes mais ativos que os respectivos compostos apresentando substituinte 3-carboxamida (6AMD2 e 7AMD2). Portanto para os derivados substituídos com 5-bromo-indol a substituição do radical 3-nitrila por 3-carboxamida foi desfavorável para a atividade antileishmania.

Fig. 29 – Estrutura do composto SB83



Fonte: Rodrigues et al. (2015).

Fig. 30 – Estrutura do composto 6AMD-2



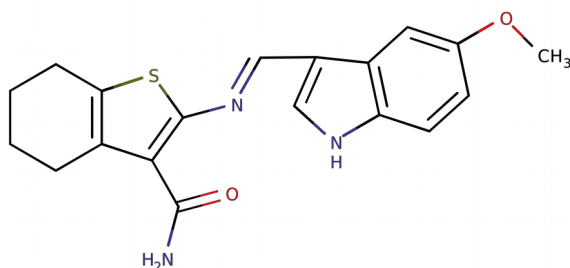
Fonte: Autor próprio.

Para análogos contendo indol 5-substituídos com radical metoxila (TN6-2 (Fig. 23), TN7-2 (Fig. 33), 6AMD4 (Fig. 31) e 7AMD4 (Fig. 32)) utilizamos o estudo de Felix et al. (2016) para fins de comparação.

Diferentemente do observado para as moléculas substituídas com bromo em C-5, os derivados 3-carboxamidas (6AMD4 e 7AMD4) contendo 5-metoxi-indol apresentaram atividade antileishmania superior aos seus análogos 3-carbonitrila. Os compostos 6AMD4 e 7AMD4, respectivamente com valores de $IC_{50} = 9,02$ e $8,4 \mu M$

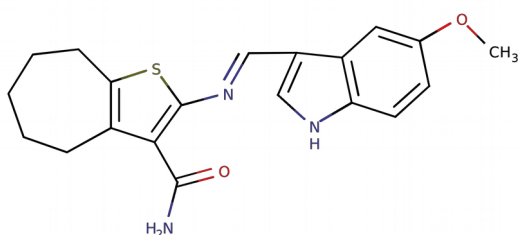
foram de 2 a 3 vezes mais ativos que TN6-2 e TN7-2. Portanto para os derivados substituídos com 5-metoxi-indol a substituição do radical 3-nitrila por 3-carboxamida foi favorável par a atividade antileishmania.

Fig. 31 – Estrutura do composto 6AMD-4



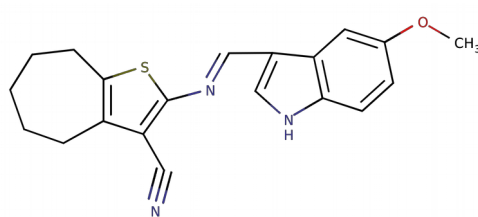
Fonte: Fonte própria.

Fig. 32 – Estrutura do composto 7AMD4



Fonte: Autor próprio.

Fig. 33 – Estrutura do composto TN7-2



Fonte: Felix et al. (2016)

Dessa forma, e diante dos resultados que temos até o momento é possível afirmar que para a atividade antileishmania frente a *L. amazonensis* a posição C-3 dos derivados 2-amino-tiofenos é passível de modificação, não sendo essencial a presença do radical 3- carbonitrila (-CN) para manutenção da atividade. Porém a substituição da carbonitrila pela carboxamida não demonstrou claramente que a modificação molecular no carbono C-3 causa um incremento significativo na atividade, sendo portanto necessário, no planejamento de novas moléculas, avaliar as duas possibilidades de substituição.

5. CONCLUSÃO

Foi realizada a síntese de 13 compostos derivados 2-amino tiofeno-3-carboxamidas sob forma de pó com coloração que variou entre amarelo claro a escuro e laranja, sendo utilizada a mesma rota sintética para todos as moléculas. Sendo assim, foram nomeadas quatro séries de compostos 6AMD, 7AMD, 8AMD e 6AMDBOC, com substituições químicas alterando o tamanho do anel ligado às posições C-4, e C-5 do heterociclo tiofeno.

Todos os compostos tiveram suas características físico-químicas determinadas, e todas estruturas químicas foram confirmadas através da interpretação dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C .

Vários compostos avaliados frente às formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, *L. major*, *L. brasiliensis* e *L. infantum* apresentam significativa atividade antileishmania, apresentando valores de IC_{50} inferior a 10 μM . Todos os compostos mostraram-se mais ativos que o fármaco referência Pentamidina, e menos ativos que a Anfotericina B.

A cepa de *L. infantum* mostrou ser a cepa mais sensível, apresentando 8 compostos com valores de IC_{50} inferior a 8 μM , assim como tendo os compostos 6AMD3 e 8AMD5 com os menores valores de IC_{50} observados, sendo respectivamente 5,05 e 5,25 μM .

A série 6AMDBOC, contendo o anel N-Boc-piridina, ligado ao anel tiofênico foi a série que apresentou o melhor perfil de atividade antileishmania, tendo o composto 6BOC2 ativo frente as 4 espécies de *Leishmania* avaliadas com valores de IC_{50} inferior a 8 μM .

Todos os compostos testados apresentaram bons índices de seletividade, sendo, portanto, menos tóxicos para as células de mamíferos (macrófagos), do que para *Leishmania spp.* E quando comparado com os fármacos de referência, todos compostos mostraram-se mais seguros, sendo a Anfotericina B, o composto mais ativo, porém mais tóxico.

Portanto, é conclusivo que a maior parte dos derivados 2-amino tiofenos sintetizados neste estudo onde houve a substituição na posição C-3 de uma nitrila pela

carboxamida demonstraram mínima ou quase nenhuma melhoria na atividade inibitória contra a *L. amazonensis* quando comparada com as que foram substituídas pela nitrila. Apesar de não ter sido observado que a modificação proposta pudesse levar a compostos mais ativos, esse estudo permitiu identificar que a posição C-3 é passível de modificação molecular sem perda significativa da atividade, permitindo assim planejar novas séries de moléculas contendo ambas substituições.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Procedimento geral

6.1.1 Local de trabalho

Todos os procedimentos experimentais visando a síntese dos compostos foram realizados no Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas (UEPB) sob supervisão do Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior; A caracterização dos compostos por Ressonância Magnética Nuclear foi realizado no Núcleo de Análise e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear (NAPRMN) do Instituto de Química e Biotecnologia da UFAL, sob coordenação do prof. Dr. Thiago Mendonça de Aquino, Laboratório de doenças Infecciosas da UFDPAr, sob coordenação do prof. Dr. Klinger Antônio da Franca Rodrigues .

6.1.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Para o acompanhamento monitorado das reações foi utilizada a cromatografia de camada delgada de placas Fluka sílica gel 60 sobre folha de alumínio, com espessura de 0,20 mm. Para revelar o resultado obtido nas mesmas foram feitas revelações sob luz ultravioleta (254 ou 365 nm).

6.1.3 Faixa de fusão

Foram efetuados em aparelho AM 381, Marconi Equipamentos para Laboratórios, sendo indicados sem correções os pontos de fusão.

6.1.4 Nomenclatura das moléculas

Os nomes das moléculas foram gerados pelo programa ChemDraw Ultra 13 de CambridgeSoft, levando em consideração as regras IUPAC (em inglês: *International Union of Pure and Applied Chemistry*)

6.2 Procedimentos Gerais para síntese dos derivados 2-amino-tiofeno-3-carboxamidas

Reação de Gewald:

Em um balão de fundo redondo foram adicionados uma mistura de quantidades equimolares de: uma cetona cíclica (ciclohexanona, cicloheptanona, ciclooctanona, ou Boc-4-piperidona) (0,5 eq.; 0,250g; 0,0016 mmol), enxofre elementar (S₈) (1,28 g) e 2-cianoacetamida (3,36 g). Os reagentes foram dissolvidos em 30 ml de etanol absoluto e 2,92 mL de morfolina foram adicionadas gota a gota. A solução foi agitada a 400 rpm a 50 °C e monitorada por CCD por 22 hs. Após as 22 hs, a mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente, e o resíduo sólido formado foi filtrado em funil sinterizado,

lavado com etanol gelado até obtenção de resíduo sólido cromatograficamente puro. O sólido resultante foi recrystalizado em etanol absoluto, e os cristais obtidos forneceram:

2-Amino-4,5,6,7-tetraidrobenzo[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**6AMD**) sob forma de cristais amarelos, Faixa de fusão 180-184 °C; Rf = 0,23 (1:1 hexano/acetato de etila), rendimento 65%;

2-Amino-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-ciclohepta[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**7AMD**) sob forma de cristais vermelhos, Faixa de fusão 165-166 °C; Rf = 0,45 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 22%;

2-Amino-4,5,6,7,8,9-hexaidrocicloocta[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**8AMD**) sob forma de cristais vermelhos, Faixa de fusão 265,4-268,1 °C; Rf = 0,51 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 30%;

2-amino-3-carbamoyl-4,7-diidroteno[2,3-*c*]piridina-6(5*H*)-carboxilato de *terc*-butila (**6AMDBOC**) sob forma de cristais beje, Faixa de fusão 126-127 °C; Rf = 0,57 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 83%; **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO *d*-6) δ 6,97 (s, 2H, NH₂); 6,59 (sl, 2H, NH₂); 4,28 (s, 2H); 3,52 (dt, 2H, *J* = 10,12, 3,08 Hz); 2,72 (t, 1H, *J* = 3,16Hz); 2,68 (t, 1H, *J* = 3,52Hz); 1,42 (s, 9H); **RMN ¹³C** (400 MHz, DMSO *d*-6) δ 168,00; 160,14; 154,28; 129,83 112,80; 107,82; 79,60; 67,30; 28,55; 26,55;

Segunda etapa:

Em um balão de fundo redondo foram dissolvidos em 5 ml de etanol absoluto quantidades equimolares de um aducto de Gewald (**6AMD**, **7AMD**, **8AMD** ou **6AMDBOC**) (0,5 eq.; 0,250g; 0,0016 mmol), e 1*H*-indol-3-carbaldeído (5-*H*, 5-bromo, 5-metoxi, 5-7-dibromo e) (3,36 g, 0,0016 mmol). 10 gotas de ácido acético foram adicionadas ao meio reacional, e a solução foi agitada a 400 rpm a 50 °C e monitorada por CCD por 18 hs. Após constatado término da reação, a solução foi resfriada à temperatura ambiente, e os cristais obtidos foram filtrados e lavados com etanol gelado, fornecendo:

2-(((5-Bromo-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-4,5,6,7-tetraidrobenzo[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**6AMD2**) sob forma de cristais amarelo claro, Faixa de fusão 279 – 282°C; Rf = 0,57 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 46%. **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO *d*-6) δ 12,17 (sl, 1H, NH); 8,63 (s, 1H); 8,32 (d, 1H, *J* = 1,16 Hz); 8,21 (d, 1H, *J* = 1,8Hz); 8,07 (sl, 1H, NH); 7,51 (sl, 1H, NH); 7,49 (d, 1H, *J* = 5,72 Hz); 7,39 (dd, 1H, *J* = 5,72 , 1,28 Hz); 2,74 (m, 2H); 2,66 (m, 2H); 1,78 (m, 2H); 1,71 (m, 2H); **RMN ¹³C** (400 MHz, DMSO *d*-6) δ 165,91; 153,50; 153,45; 136,95; 136,59; 135,97; 128,70; 127,07; 126,53; 126,35; 123,82; 114,96; 114,76; 114,33; 26,44; 25,34; 23,19; 22,71.

2-(((5-Bromo-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-ciclohepta[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**7AMD2**) sob forma de cristais amarelos escuro, Faixa de fusão 231,0 – 240,0°C; Rf = 0,54 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 98%. **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO *d*-6) δ 12,04 (sl, 1H, NH); 8,58 (s, 1H); 8,43 (d, 1H, *J* = 1,16 Hz); 8,12 (d, 1H, *J* = 1,92 Hz); 7,78 (sl, 1H, NH); 7,53

(sl, 1H, NH); 7,46 (d, 1H, $J = 5,68$ Hz); 7,37 (dd, 1H, $J = 5,72, 1,32$ Hz); 2,82 (m, 2H); 2,75 (m, 2H); 1,82 (m, 2H); 1,62 (m, 2H); 1,55 (m, 2H); **RMN** ^{13}C (400 MHz, DMSO d-6) δ 167,09; 156,16; 152,50; 149,94; 140,17; 136,48; 135,89; 132,88; 126,67; 126,17; 124,41; 114,68; 114,58; 114,46; 32,38; 30,01; 28,24; 28,16; 27,54.

2-(((5-Bromo-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-4,5,6,7,8,9-hexaidrocicloocta[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**8AMD2**) sob forma de cristais amarelo, Faixa de fusão 238,3 – 244,5°C; Rf = 0,48 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 80%. **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO d-6) δ 12,11 (sl, 1H, NH); 8,64 (s, 1H); 8,37 (s, 1H); 8,17 (d, 1H, $J = 1,72$ Hz); 8,02 (sl, 1H, NH); 7,49 (sl, 1H, NH); 7,48 (s, 1H); 7,39 (dd, 1H, $J = 5,68, 1,00$ Hz); 2,86 (m, 2H); 2,78 (m, 2H); 1,61 (m, 4H); 1,44 (m, 2H); 1,31 (m, 2H); **RMN** ^{13}C (400 MHz, DMSO d-6) δ 166,45; 157,37; 153,15; 152,60; 138,39; 136,55; 135,50; 131,69; 126,59; 126,27; 124,02; 114,85; 114,65; 114,44; 32,35; 30,46; 27,22; 26,20; 25,91; 25,30.

2-(((5-Bromo-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-3-carbamoi-4,7-diidroteno[2,3-*c*]piridina-6(5*H*)-carboxilato de *terc*-butila (**6BOC2**) sob forma de cristais amarelo, Faixa de fusão 245,0 – 246,0°C; Rf = 0,57 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 80%. **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO d-6) δ 12,23 (sl, 1H, NH); 8,66 (s, 1H); 8,30 (s, 1H); 8,26 (s, 1H); 8,13 (sl, 1H, NH); 7,6 (sl, 1H, NH); 7,50 (d, 1H, $J = 5,80$ Hz); 7,43 (d, 1H, $J = 5,68$ Hz); 4,50 (s, 2H); 3,57 (m, 2H); 2,49 (m, 2H); 1,44 (s, 9H); **RMN** ^{13}C (400 MHz, DMSO d-6) δ 165,41; 155,05; 154,40; 137,56; 136,65; 134,91; 126,52; 126,47; 125,93; 123,72; 115,07; 114,93; 114,23; 79,75; 56,51; 28,55; 19,10;

2-(((1*H*-Indol-3-il)metileno)amino)-4,5,6,7-tetraidrobenzo[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**6AMD3**) sob forma de cristais amarelo escuro, Faixa de fusão 263,0 – 265,0°C; Rf = 0,57 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 54%. **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO d-6) δ 12,06 (sl, 1H, NH); 8,65 (s, 1H); 8,44 (sl, 1H, NH); 8,20 (s, 1H); 8,12 (d, 1H, $J = 5,24$ Hz); 7,53 (d, 1H, $J = 5,36$ Hz); 7,45 (sl, 1H, NH); 7,28 (t, 1H, $J = 5,20$ Hz); 7,21 (t, 1H, $J = 5,00$ Hz); 2,78 (m, 2H); 2,66 (m, 2H); 1,77 (m, 2H); 1,71 (m, 2H); **RMN** ^{13}C (400 MHz, DMSO d-6) δ 165,84; 154,42; 153,82; 138,00; 136,68; 136,22; 128,35; 126,11; 124,62; 123,85; 122,20; 121,38; 114,83; 113,04; 26,69; 25,37; 23,18; 22,75.

2-(((1*H*-Indol-3-il)metileno)amino)-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-ciclohepta[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**7AMD3**) sob forma de cristais beje, Faixa de fusão 204,1 – 206,5°C; Rf = 0,47 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 20%. **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO d-6) δ 11,93 (sl, 1H, NH); 8,62 (s, 1H); 8,23 (d, 1H, $J = 5,24$ Hz); 8,11 (d, 1H, $J = 1,92$ Hz); 8,02 (sl, 1H, NH); 7,54 (sl, 1H, NH); 7,50 (d, 1H, $J = 5,36$ Hz); 7,24 (t, 1H, $J = 5,36$ Hz); 7,18 (t, 1H, $J = 5,16$ Hz); 2,92 (m, 2H); 2,76

(m, 2H); 1,82 (m, 2H); 1,62 (m, 2H); 1,55 (m, 2H); **RMN** ^{13}C (400 MHz, DMSO d-6) δ 166,97; 152,89; 151,10; 140,61; 137,87; 135,51; 132,56; 130,08; 124,83; 12,67; 121,99; 121,86; 115,05; 112,75; 32,42; 29,98; 28,13; 28,12; 27,52.

2-(((1*H*-Indol-3-il)metileno)amino)-3-carbamoil-4,7-diidrotieno[2,3-*c*]piridina-6(5*H*)-carboxilato de *terc*-butila (**6BOC3**) sob forma de cristais amarelos, Faixa de fusão 214,0 – 218,0°C; Rf = 0,52 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 80%. **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO d-6) δ 12,12 (sl, 1H, NH); 8,69 (s, 1H); 8,48 (s, 1H); 8,24 (s, 1H); 8,10 (d, 1H, $J=5,2\text{Hz}$); 7,55 (s, 1H); 7,54 (s, 1H); 7,30 (t, 1H, $J=5,00\text{Hz}$); 7,23 (t, 1H, $J=5,24\text{Hz}$); 4,50 (s, 2H); 3,57 (t, 2H, $J=3,6\text{Hz}$); 2,89 (s, 2H); 1,44 (s, 9H); **RMN** ^{13}C (400 MHz, DMSO d-6) δ 165,36; 155,84; 154,68; 138,05; 137,33; 135,08; 125,11; 124,59; 123,97; 122,36; 121,29; 114,75; 113,15; 79,74; 28,55; 26,93;

2-(((5-Metoxi-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-4,5,6,7-tetraidrobenzo[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**6AMD4**) sob forma de cristais amarelos, Faixa de fusão 265,0 – 268,0°C; Rf = 0,52 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 54%. **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO d-6) δ 11,95 (sl, 1H, NH); 8,63 (s, 1H); 8,48 (d, 1H, $J=2,00\text{ Hz}$, NH2); 8,12 (s, 1H); 7,63 (d, 1H, $J=1,64\text{ Hz}$); 7,59 (d, 1H, $J=2,00\text{ Hz}$, NH2); 7,41 (d, 1H, $J=5,84\text{ Hz}$); 6,89 (dd, 1H, $J=5,84, 1,64\text{ Hz}$); 3,79 (s, 3H, OCH3); 2,79 (m, 2H); 2,66 (m, 2H); 1,77 (m, 2H); 1,70 (m, 2H); **RMN** ^{13}C (400 MHz, DMSO d-6) δ 165,97; 155,90; 154,64; 153,95; 136,74; 136,25; 132,62; 128,11; 125,81; 125,26; 114,67; 113,94; 113,81; 102,85; 55,86; 26,78; 25,37; 23,18; 22,76.

2-(((5-Metoxi-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-5,6,7,8-tetraidro-4*H*-ciclohepta[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**7AMD4**) sob forma de cristais laranja escuro, Faixa de fusão 206,1 – 212,9°C; Rf = 0,59 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 45%. **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO d-6) δ 11,80 (sl, 1H, NH); 8,59 (s, 1H); 8,09 (sl, 1H, NH); 8,03 (d, 1H, $J=1,96\text{ Hz}$); 7,77 (d, 1H, $J=1,64\text{ Hz}$); 7,58 (sl, 1H, NH); 7,38 (d, 1H, $J=5,80\text{ Hz}$); 6,86 (dd, 1H, $J=5,84, 1,68\text{ Hz}$); 3,79 (s, 3H, OCH3); 2,93 (m, 2H); 2,75 (m, 2H); 1,82 (m, 2H); 1,62 (m, 2H); 1,55 (m, 2H); **RMN** ^{13}C (400 MHz, DMSO d-6) δ 167,04; 155,67; 152,98; 151,26; 140,67; 135,56; 132,53; 132,34; 129,79; 125,49; 114,87; 113,75; 113,46; 103,51; 55,88; 32,43; 29,98; 28,14; 28,15; 27,52.

2-(((5-Metoxi-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-3-carbamoil-4,7-diidrotieno[2,3-*c*]piridina-6(5*H*)-carboxilato de *terc*-butila (**6BOC4**) sob forma de cristais amarelos, Faixa de fusão 254,0 – 255,0°C; Rf = 0,64 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 98%. **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO d-6) δ 12,35 (sl, 1H, NH); 8,66 (s, 1H); 8,50 (d, 1H, $J=1,72\text{ Hz}$); 8,16 (s, 1H); 7,67 (s, 1H); 7,61 (d, 1H, $J=1,28\text{ Hz}$); 7,43 (d, 1H, $J=5,84\text{Hz}$); 4,49 (s, 2H); 3,79 (s, 3H);

3,57 (t, 2H, J = 3,6Hz); 2,89 (m, 2H); 1,44 (s, 9H); **RMN** ¹³C (400 MHz, DMSO d-6) δ 165,51; 156,07; 156,03; 154,78; 137,33; 135,10; 132,67; 125,27; 124,83; 114,60; 114,02; 113,91; 102,85; 79,73; 55,87; 28,55; 27,04;

2-(((5,7-Dibromo-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-4,5,6,7-tetraidrobenzo[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**6AMD5**) sob forma de cristais amarelos, Faixa de fusão 295,0 – 298,0°C; Rf = 0,64 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 98%. **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO d-6) δ 12,35 (sl, 1H, NH); 8,63 (s, 1H); 8,39 (s, 1H); 8,26 (s, 1H); 7,92 (s, 1H); 7,68 (s, 1H); 7,49 (s, 1H); 2,72 (m, 2H); 2,68 (m, 2H); 1,78 (m, 2H); 1,75 (m, 2H); **RMN** ¹³C (400 MHz, DMSO d-6) δ 165,95; 152,88; 152,57; 137,21; 135,76; 135,34; 129,30; 128,28; 128,04; 127,62; 123,54; 115,40; 114,45; 106,33; 26,18; 25,34; 23,19; 22,66;

2-(((5,7-Dibromo-1*H*-indol-3-il)metileno)amino)-4,5,6,7,8,9-hexaidrocicloocta[*b*]tiofeno-3-carboxamida (**8AMD5**) sob forma de cristais amarelo, Faixa de fusão 264,0 – 265,0°C; Rf = 0,23 (9:1 de clorofórmio/metanol), rendimento 92%. **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO d-6) δ 12,35 (sl, 1H, NH); 8,64 (s, 1H); 8,44 (s, 1H); 8,22 (s, 1H); 7,89 (s, 1H); 7,67 (s, 1H); 7,50 (s, 1H); 2,82 (m, 2H); 2,78 (m, 2H); 1,62 (m, 4H); 1,43 (m, 2H); 1,32 (m, 2H); **RMN** ¹³C (400 MHz, DMSO d-6) δ 165,56; 152,51; 151,51; 138,17; 136,76; 135,27; 132,28; 129,93; 127,95; 127,66; 123,76; 115,52; 114,34; 106,22; 32,33; 30,49; 27,21; 26,12; 25,92; 25,29;

6.3 Manutenção de parasitos e macrófagos

Parasitos das espécies *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8), *Leishmania* (*Leishmania*) *major* (MHOM/BR/1976/JOF), *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* (MHOM/BR/1974/PP75) e *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* (MHOM/BR/1975/M2903) foram mantidos *in vitro* na sua forma promastigota em meio Schneider suplementado [20% de soro fetal bovino (SFB) (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina] (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), pH 7, a 26 ± 1 °C em incubadora *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) (Eletrolab EL202, São Paulo, Brasil) e repicadas semanalmente.

A linhagem celular de macrófagos murinos RAW 264.7 foi conservada em frascos de cultura celular de 750 cm² (Corning Glass Workers – New York – USA) em meio DMEM suplementado (10 % de SFB, 1% de antibiótico - 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL estreptomicina) (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), pH 7, a 37 °C, 5 % de CO₂ com 80 % de umidade. Os repiques foram realizados após as células atingirem a

confluência, caracterizada pela formação de uma monocamada de células em torno de 48 h a 72 h após o acondicionamento.

6.4 Preparo de drogas

Para os testes *in vitro*, foram preparadas soluções-estoque das substâncias nas concentrações de 40 mg/mL em dimetilsulfóxido – (DMSO) (Mallinckrodt Chemicals, St. Louis, EUA). Para cada teste a solução-estoque foi diluída nos meios de cultura apropriados até atingir as concentrações finais desejadas.

6.5 Atividade antipromastigota

A inibição do crescimento de formas promastigotas foi avaliada com base em Nunes et al. (2021). Formas promastigotas em fase logarítmica de crescimento foram cultivadas em placas de 96 poços (1×10^6 parasitos/poço) contendo 100 µL de meio Schneider suplementado, em triplicata, contendo concentrações seriadas das substâncias-teste (50 a 1,56 µM) e controle positivo (miltefosina 200 a 1,56 µM). As placas foram incubadas em BOD a 26 °C por 72 h. Após o período de tratamento, 10 µL de MTT (5 mg/mL) foram aplicados em cada poço para estabelecer a avaliação colorimétrica da inibição de crescimento. Em seguida a placa foi novamente incubada por mais 4 h, seguidamente recebendo a adição de 50 µL de solução de dodecil sulfato de sódio (DSS) a 10 % (p/v em água destilada) para a solubilização dos cristais de formazan. A leitura foi realizada em espectrofotômetro de microplacas a 540 nm (modelo Biosystems ELx800, Curitiba, PR, Brasil). O controle negativo foi realizado com meio Schneider suplementado e contendo 0,2 % de DMSO, considerado como 100 % de viabilidade das leishmanias.

6.6 Citotoxicidade em macrófagos

Em uma placa de 96 poços foram colocados 100 µL de meio DMEM suplementado e 1×10^5 macrófagos RAW 264.7 por poço. Após 4 h de incubação a 37 °C e 5 % de CO₂ para adesão celular foram realizadas três lavagens com PBS estéril. Em seguida, foram adicionados 100 µL de meio DMEM suplementado contendo diferentes concentrações das substâncias (400 a 1,56 µM) e incubados por um período de 72 h. No final do período foi aplicado 10 µL de MTT (5 mg/mL) e incubado por mais de 4 h. Em seguida, o sobrenadante foi retirado e adicionado 100 µL de DMSO em todos os poços. Após 30 min de agitação, a leitura foi realizada a 540 nm em uma leitora de placa. Meio DMEM suplementado e contendo 0,5 % de DMSO foi usado

como controle negativo e considerado como 100 % de viabilidade de macrófagos (NUNES et al., 2021).

6.7 Análise estatística

As diferentes concentrações médias sobre formas promastigotas (CI_{50}) e macrófagos (CC_{50}) foram calculadas por regressão não linear. Para comparações entre grupos foram realizadas as análises de variância ANOVA seguida pelo teste de Tukey através de um programa estatístico, tomando-se o valor de $p < 0,05$ como nível máximo de significância estatística.

REFERÊNCIAS

ABEIJON, C. A. F., ALVES, F., MONNERAT, S. C. et al. Desenvolvimento de um ensaio multiplexado para detecção de biomarcadores de proteínas de *Leishmania donovani* e *Leishmania infantum* em amostras de urina de pacientes com leishmaniose visceral. **Jornal de microbiologia clínica**, v. 57, n. 5, p. e02076-18, 2019.

ADRIANO, A.L., LEAL, P.A., BRECKENFELD, M.P. et al. American tegumentar leishmaniasis: na uncommon clinical and histopathological presentation. **Anais Brasileiros de Dermatologia** v. 88, p. 260-262, 2013.

AKBARI, M., ORYAN, A., HATAM, G. Application of nanotechnology in treatment of leishmaniasis: a review. **Acta tropica**, v. 172, p. 86-90, 2017.

AMARU, V. N., CHAVEZ, F. M. G. Revisão da literatura: a heterogeneidade clínica e epidemiológica em pacientes com leishmaniose tegumentar americana no brasil. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 2, n. 1, p. 52-52, 2021.

AMR, A.E.G.E., SHERIF, M.H., ASSY M.A. et al. Antiarrhythmic, serotonin antagonist and antianxiety activities of novel substituted thiophene derivatives synthesized from 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-N- phenylbenzo[b]thiophene-3-carboxamide, **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 45, p. 5935–5942, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.09.059>. Acesso em: 27/01/2021.

ARAÚJO, J. L. Docking molecular e avaliação da atividade antileishmania in vitro de um complexo metálico de rutênio com epiisopiloturina e óxido nítrico. 2021. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Grajaú) – Universidade Federal do Maranhão, Maranhão, 2021.

AURELIO, L.; CHRISTOPOULOS, A.; FLYNN, B. et al. [Celine Valant](#). The synthesis and biological evaluation of 2-amino-4,5,6,7,8,9-hexahydrocycloocta[b]thiophenes as allosteric modulators of the A₁ adenosine receptor. [Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters](#). [Volume 21, n. 12](#), p. 3704-3707, 2011.

BAHRAMI, F., HARANDI, A.M.; RAFATI, S. Biomarkers of cutaneous leishmaniasis. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 8, p. 222, 2018.

BLANCO, V.R., NASCIMENTO, J.N.M. Leishmaniose: Aspectos gerais relacionados com a doença, o ciclo do parasita, fármacos disponíveis, novos protótipos e vacinas. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 861-876, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância da leishmaniose

tegumentar/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Datasus. Informações de Saúde. Informações epidemiológicas e morbidade. **Ministério da Saúde**, 2015. Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203>, acesso em 26/11/2020.

BROWN, D. Negócios inacabados: descoberta de medicamentos baseada em alvos. **Descoberta de drogas hoje**, v. 12, n. 23-24, p. 1007-1012, 2007.

CENTRO DE CONTROLE DE DOENÇAS (CDC). Parasites Leishmaniasis. 17 jul. 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/treatment.html>. Acesso em: 27/11/2020.

CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS, 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/>. Acesso em: 19/11/2020.

CHAKRAVARTY, J., SUNDAR, S. Current and emerging medications for the treatment of leishmaniasis. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 20, n. 10, p. 1251-1265, 2019.

COELHO, C. M. Desenvolvimento de protótipos antileishmanias: estudos computacionais por modelagem molecular, síntese química e avaliação farmacológica de novos derivados do eugenol. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2017.

COURA, J. R. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. 2 ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p. 1175-2045, 2018.

CROFT, S. L., COOMBS, G.H. Leishmaniose - quimioterapia atual e avanços recentes na busca por novos medicamentos. **Tendências em parasitologia**, v. 19, n. 11, p. 502-508, 2003.

FAVARO, A.B.B.B.C., QUEIROZ, L.H., NUNES, C.M. Conhecimento de diferentes populações sobre as Leishmanioses: uma revisão sistemática. **Archives of health investigation**, v. 6, 2018.

FÉLIX, M.B., SOUZA, E.R., LIMA, M.D.C.A et al. Atividade antileishmania de novos híbridos tiofeno-indol: Projeto, síntese, avaliação biológica e citotóxica e estudos quimiométricos. **Química bioorgânica e medicinal**, v. 24, n. 18, p. 3972-3977, 2016.

FERREIRA, M. U. Parasitologia contemporânea. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

FIOCRUZ, 2013. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/leishmaniose>. Acesso em: 18/11/2020.

FRAGA, V. F. Derivatização da pentamidina. 2007. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

FRASER, C. M. Manual Merck de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para veterinária. 9 ed., **Roca**, São Paulo, p. 543-544, 2008.

FREITAS, V.C. O processo de interação de Leishmania (Leishmania) chagasi com Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis e a importância do lipofosfoglicano (LPG). 2010. 210 f. Tese (Doutorado em Ciências na área de concentração Doenças Infecciosas e Parasitárias)-Centro de Pesquisas René Rachou. Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2010.

GALVIS, F. O., ALBUQUERQUE, R., SILVA, V. G. D. S. et al. Leishmanioses no Brasil: aspectos epidemiológicos, desafios e perspectivas. **Stricto Sensu Editora**, v. 13, 2020.

GEWALD, K. Zur Reaktion von α -oxo-mercaptanen mit Nitrilen. **Angewandte Chemie**, v. 73, n. 114, 1961.

GEWALD, K. Heterocyclen aus CH-aciden Nitrilen, VIII. 2-Amino-thiophene aus methylenaktiven Nitrilen, Carbonylverbindungen und Schwefel. **Chemische Berichte**, 94, p. 94-99, 1966.

GOUDA, M. A., BERGHOT, M. A., ABD EL-GHANI, G. E. et al. Chemistry of 2-aminothiophene-3-carboxamide and related compounds. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 35, n. 6, p. 815-837, 2011.

GRAMEC, D., MASI, L.P., DOLENC, M.S. Bioactivation potential of thiophene containing drugs bioactivation potential of thiophene containing drugs, **Chemical Research. Toxicology**. v. 27, p. 1344 - 1348, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/tx500134g>. Acesso em: 27/01/21.

GONÇALVES, F., MAZZINI, T. E. F., DUTRA, C. M. S. et al. SITUAÇÃO ATUAL DA LEISHMANIOSE NO MUNICÍPIO DE URUGUAIANA-RS. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 10, n. 3, 2018.

GONÇALVES, S.V.C.B. & COSTA, C.H.N. Treatment of cutaneous leishmaniasis with thermotherapy in Brazil: an efficacy and safety study. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 93, n. 3, p. 347-355, 2018.

GUERRERO, E.T., CEDILLO, M.R.Q., ESMENJAUD, J.R. et al. Leishmaniasis: a review. **F1000 Research**, v. 6, n. 75, 2017.

JACOBS, B., BROWN, D.L. Cutaneous furuncular myiasis: Human infestation by the botfly. **The Canadian Journal of Plastic Surgery**, v. 14, n. 1, p. 31-32, 2006.

KEVRIC, I., CAPPEL, M. A., KEELING, J. H. New World and Old World Leishmania Infections a Practical Review. **Dermatologic Clinics**, v. 33, n. 3, p. 579-593, 2015.

LABONY, S.S., BEGUM, N., RIMA, U.K., et al. Apply traditional and molecular protocols for the detection of carrier state of visceral leishmaniasis in black Bengal goat. **Journal of Agriculture and Veterinary Science**, v. 7, p. 13-18, 2014.

LIMA, B., AGÜERO, M.B., ZYGADLO, J., et al. Antimicrobial activity of extracts, essential oil and metabolites obtained from *Tagetes mendocina*, **Journal of the Chilean Chemical Society**. v. 54, p. 68 - 72, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072009000100016>. Acesso em: 27/01/21.

LUTJENS, H.; ZICKGRAF, A.; FIGLER, H. et al. 2-Amino-3-benzoylthiophene allosteric enhancers of A1 adenosine agonist binding: new 3, 4-, and 5-modifications. **Journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 10, p. 1870-1877, 2003.

MACHADO, P.R., AMPUERO, J., GUIMARAES, L.V. Miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in Brazil: a randomized and controlled trial. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.4, p. 912, 2010.

MAHESHWARI, A., SETH, A., KAUR, S. et al. Cumulative cardiac toxicity of sodium stibogluconate and amphotericin B in treatment of kala-azar. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 30, n. 2, p. 180-181, 2011.

MALEK, M. S., ROBI, I. H., ISLAM, M. S. et al. Clinical and Hematological Features of Visceral Leishmaniasis at Mymensingh Medical College Hospital. **Mymensingh Medical Journal: MMJ**, v. 29, n. 4, p. 879-886, 2020.

MARCILI, A., SPERANÇA, M. A., COSTA, A. P. et al. Phylogenetic relationships of *Leishmania* species based on trypanosomatid barcode (SSU rDNA) and gGAPDH genes: Taxonomic revision of *Leishmania* (L.) *infantum* *chagasi* in South America. **Infection, Genetics and Evolution**, n. 25, p. 44–51, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24747606>. Acesso em: 08 jan. 2021.

MARGL, L., EISENREICH, W., ADAM, P. et al. Biosynthesis of thiophenes in *Tagetes patula*, **Phytochemistry** v. 58, p. 875 - 881, 2001. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00360-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00360-0). Acesso em: 27/01/21.

MAROLI, M., FELICIANGELI, M. D., BICHAUD, L. et al. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Medical and veterinary entomology**, v. 27, n. 2, p. 123-147, 2013.

MEIRELES, C. B., MAIA, L.C., SOARES, G.C et al. Atypical presentations of cutaneous leishmaniasis: a systematic review. **Acta Tropical**, v. 172, p. 240-254, 2017.

MENDONÇA JUNIOR, F.J.B., LIMA-NETO, R.G., OLIVEIRA, T.B. et al. Synthesis and evaluation of the antifungal activity of 2- (substituted-amino)-4,5-dialkylthiophene-3-carbonitrile derivatives, **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 30, p. 1492 – 1499, 2011. Acesso em: 27/01/21.

MENEZES, J.P.B., ALMEIDA, T.F.D, PETERSEN, A.L.D.O.A, et al. Proteomic analysis reveals differentially expressed proteins in macrophages infected with *Leishmania amazonensis* or *Leishmania major*. **Microbes and Infection**, v. 15, n. 8-9, p. 579-591, 2013.

MIKOVSKI, D., BASSO, J., SILVA, P. et al. Química Medicinal E A Sua Importância No Desenvolvimento De Novos Fármacos. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 12, n. 13, p. 29-43, 2018.

MOKNI, M. Leishmanioses cutanées. In: **Annales de Dermatologie et de Vénéréologie**. Elsevier Masson, v. 146, n. 3, p. 232-246, 2019.

NERY, T.S. Ação de novos complexos de rutênio (II): efeitos citotóxicos em *Leishmania (Viannia) braziliensis*. 2019.35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Gestão em Saúde Ambiental)- Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

NEVES, D.P., MELO, A.L., LINARDI, P.M. et al. Parasitologia humana. **Editores Atheneu**, São Paulo, v. 11, p. 494, 2011.

NIKOLAKOPOULOS, G.; FIGLER, H.; LINDEN, J. et al. 2-Aminothiophene-3-carboxylates and carboxamides as adenosine A1 receptor allosteric enhancers. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 14, n. 7, p. 2358-2365, 2006.

NUNES, L. T. A., SANTOS, M. M., OLIVEIRA, M. S. et al. Curzerene antileishmania activity: Effects on *Leishmania amazonensis* and possible action mechanisms. **International immunopharmacology**, v. 100, p. 108130, 2021.

OMS. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases: third WHO report on neglected tropical diseases 2015. **World Health Organization**, v. 3, 2015.

OMS, Organisation et al. Leishmaniasis in high-burden countries: an epidemiological update based on data reported in 2014. **Weekly Epidemiological Record= Relevé épidémiologique hebdomadaire**, v. 91, n. 22, p. 286-296, 2016.

OMS, Leishmaniasis. 14 mar. 2019. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>. Acesso em: 01/12/2020.

OPS. Organización Panamericana de La Salud. Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas. Washington, D.C.: OPS, 2019.

PEDROSA, O. M. D., CRUZ, D., MARQUES, R. et al., Hybrid compounds as direct multitarget ligands: a review. *Current topics in medicinal chemistry*, v. 17, n. 9, p. 1044-1079, 2017.

PANICE, M. R. Síntese e avaliação da atividade antitumoral e antiprotozoária de derivados 1-substituído- β -carbolínicos contendo grupos imido-carboxamida na posição-3. 2012. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012.

PILLAI, A. D.; RANI, S.; RATHOD, P. D. et al. Estudos QSAR sobre alguns análogos de tiofeno como agentes antiinflamatórios: aumento da atividade por parâmetros eletrônicos e sua utilização para otimização química de chumbo. **Química bioorgânica e medicinal**, v. 13, n. 4, p. 1275-1283, 2005.

PUTEROVÁ, Z.; KRUTOSÍKIVÁ, A.; VÉGH, D. Gewald Reaction: Synthesis, Properties and Applications of Substituted 2Aminothiophenes. *Arkivoc: Journal Online de Química Orgânica*, v. 1, p. 209-46, 2010.

ROBBINS, K., KHACHEMOUNE, A. Cutaneous myiasis: a review of the common types of myiasis. **International Journal Dermatology**. v.49, p. 1092-1098, 2010.

RODRIGUES, K.A.F., DIAS, C.N.S., NÉRIS, P.L.N. et al. 2-Amino-thiophene derivatives present antileishmanial activity mediated by apoptosis and immunomodulation in vitro. **European journal of medicinal chemistry**, v. 106, p. 1-14, 2015.

SILVA, Marilya Palmeira Galdino. Estudos eletroquímicos de interação do nitroderivado 2-[(4-nitrofenil)-amino]-4, 5, 6, 7-tetraidro-4h-benzo [β] tiofeno-3-carbonitrila com β -ciclodextrina e PAMAM 3ª geração. 2017. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, Univerdade Federal de Alagoas, Maceió, 2017.

SILVA, F. M. D. F., SANTOS, E. M. D. S., TORRES, S.M. et al. Parasite load in intact and ulcerative skin of dogs with leishmaniasis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 1, p. 127-130, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-29612016000100127. Acesso em: 05 jan. 2021.

SILVA, W. A. V., RODRIGUES, D. C., OLIVEIRA, R. G. et al. Synthesis and activity of novel homodimers of Morita–Baylis–Hillman adducts against *Leishmania donovani*: A twin drug approach. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 26, n. 18, p. 4523-4526, 2016.

SOUZA, B.C.C., OLIVEIRA, T.B., AQUINO, T.M. et al. Preliminary antifungal and cytotoxic evaluation of synthetic cycloalkyl[b]thiophene derivatives with PLS-DA

analysis, **Acta Pharmaceutica**, v. 62, p. 221 - 236, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2478/v10007-012-0017-y>. Acesso em: 27/01/21.

SOUZA, G., LIMA, G.H.M.A. Eutanásia canina como medida profilática para o controle da leishmaniose humana: uma abordagem bioética. **Evidência**, v. 18, n. 1, p. 21-40, 2018.

RUIZ-POSTIGO, J.A., GROUT, L., SAURABH, J. Global leishmaniasis surveillance, 2017-2018, and first report on 5 additional indicators/Surveillance mondiale de la leishmaniose, 2017-2018, et premier rapport sur 5 indicateurs supplémentaires. **Weekly Epidemiological Record**, v. 95, n. 25, p. 265-280, 2020.

SIAH, T. W., LAVENDER, T., CHARLTON, F. et al. An unusual erysipelas like presentation. **Dermatology Online Journal**, v.20, n.1, 2014.

SOTO, J., REA, J., VALDERRAMA, M. et al. Efficacy of extended (six weeks) treatment with miltefosine for mucosal leishmaniasis in Bolivia. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 81, n. 3, p. 387-389, 2009.

SOUZA, B. C., OLIVEIRA, T. B, AQUINO, T. M. et al. Preliminary antifungal and cytotoxic evaluation of synthetic cycloalkyl [b] thiophene derivatives with PLS-DA analysis. **Acta Pharmaceutica**, v. 62, n. 2, p. 221-236, 2012.

STEVERDING, D. The history of leishmaniasis. **Parasites & vectors**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2017.

TAKAHASHI, H.T., NOVELLO, C.R., NAKAMURA, T. U. et al. Thiophene derivatives with antileishmanial activity isolated from aerial parts of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass, **Molecules** v.21, p. 3469 - 3478, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules16053469>. Acesso em: 27/01/21.

TALMI, F. D., KEDEM, N.V., KING, R. et al. Leishmania tropica infection in golden jackals and red foxes, Israel. **Emerging infectious diseases**, v. 16, n. 12, p. 1973, 2010.

TYZACK, J. D.; KIRCHMAIR, J. Métodos computacionais e ferramentas para prever o metabolismo do citocromo P450 para descoberta de drogas. **Biologia Química e Desenho de Drogas**, v. 93, n. 4, p. 377-386, 2019.

VARELA-M, R. E., VILLA-PULGARIN, J. A., YEPES, E. et al. In vitro and in vivo efficacy of ether lipid edelfosine against *Leishmania* spp. and SbV-resistant parasites. **PLOS Doenças Tropicais Negligenciadas**, v. 6, n. 4, p. e1612, 2012.

VRIES, H.J.C., REEDIJK, S.H., SCHALLIG, H.D.F.H. Cutaneous leishmaniasis: recent developments in diagnosis and management. **American journal of clinical dermatology**, v. 16, n. 2, p. 99-109, 2015.

V.P. Arya. *Indian J. Chem*, 10, 1141, 1972.

WERMUTH, C.G. Selective optimization of side activities: another way for drug discovery, **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 47, n. 6, p. 1303-1314, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/jm030480f>, acesso em 30/11/2020.

WHO. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases: third WHO report on neglected tropical diseases 2015. **World Health Organization**, 2015. Disponível em <[http:// www.who.int/leishmaniasis/en/](http://www.who.int/leishmaniasis/en/)> Acesso em 23/11/2020.

WHO, MALVAC. Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire. **The Weekly Epidemiological Record**, v. 91, p. 285-296, 2016.

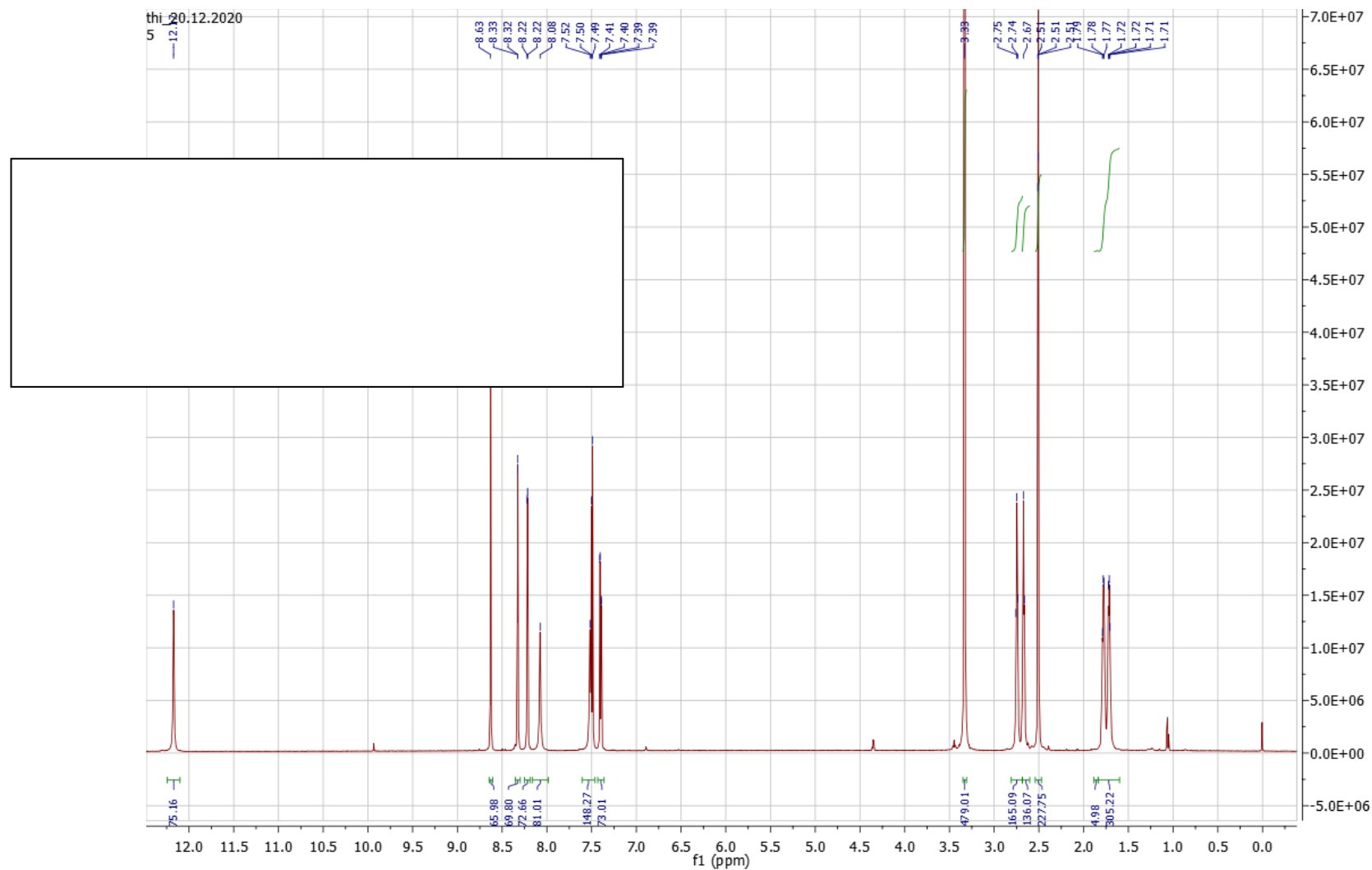
WHO. Leishmaniasis. **World Health Organization**, 2017. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>. Acesso em 06/01/2021.

WONG, C. L. A leishmaniose visceral em Foz do Iguaçu-PR na visão "one health". 2021. 51f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Saúde Coletiva) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana, For do Iguaçu, 2021.

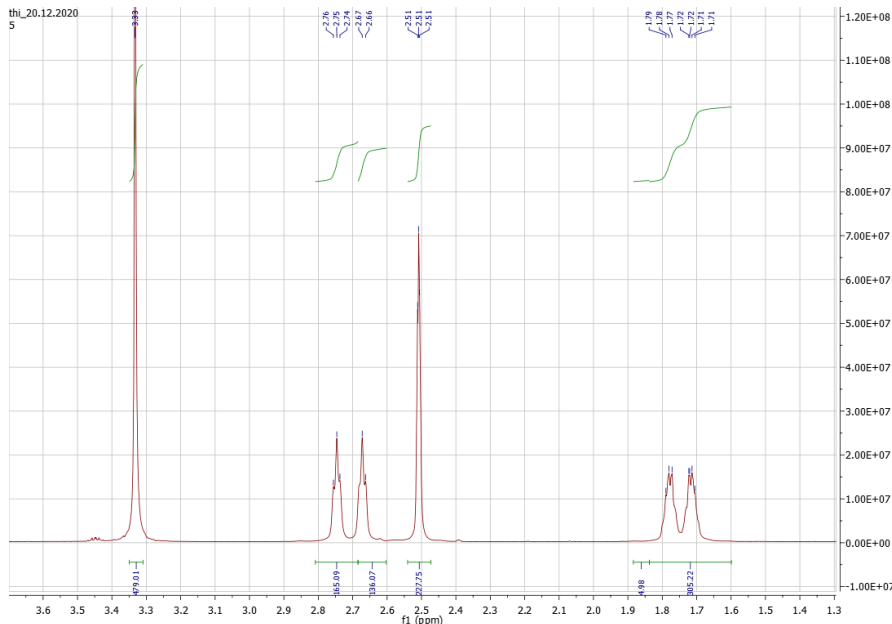
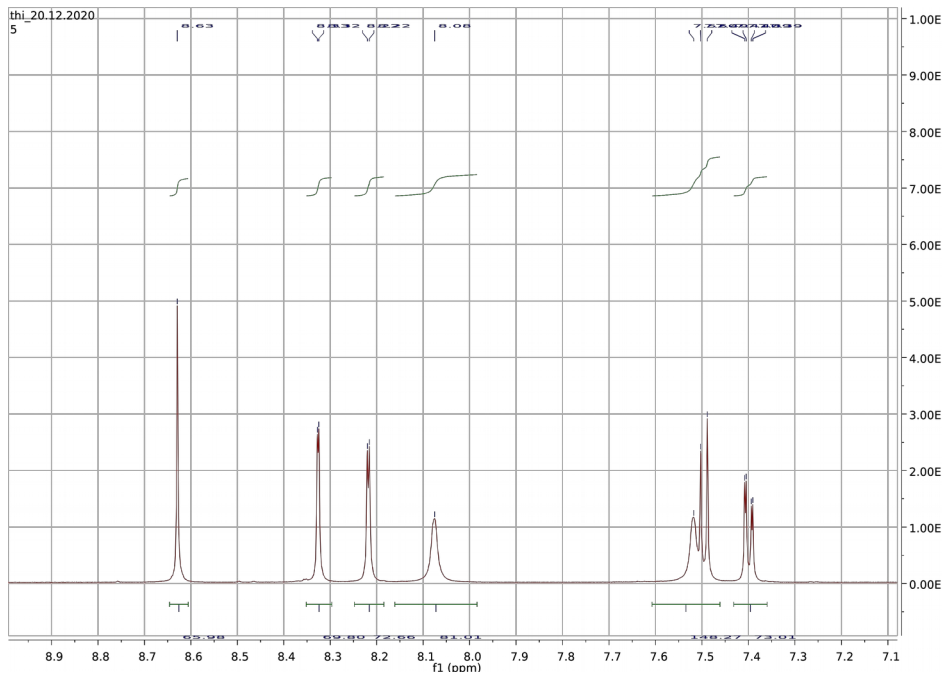
WORTMANN, G., ZAPOR, M., RESSNER R. et al. Liposomal amphotericin B for treatment of cutaneous leishmaniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 83, n. 5, p. 1028-1033, 2010.

ANEXOS

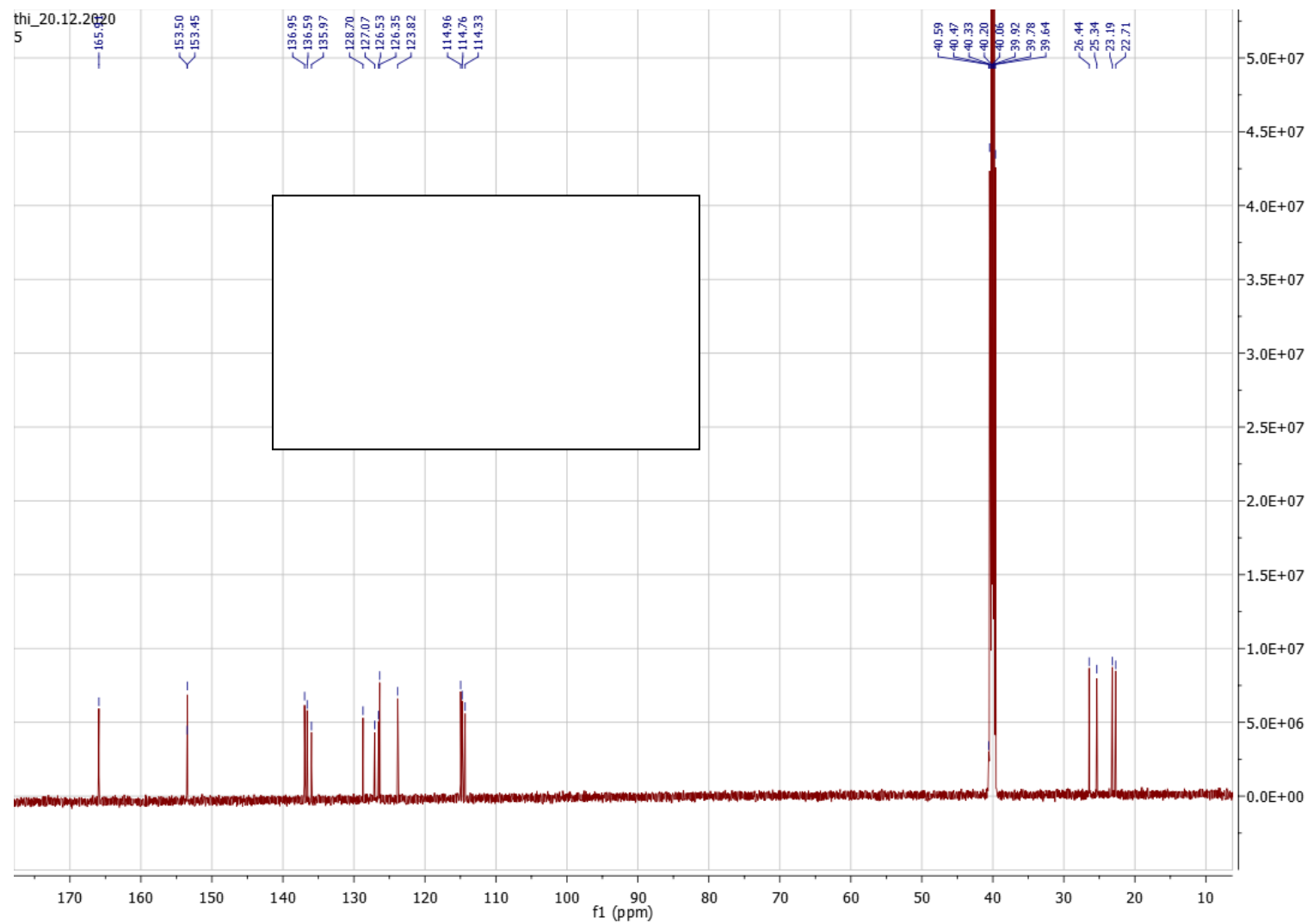
Espectro de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d6) do composto 6AMD2



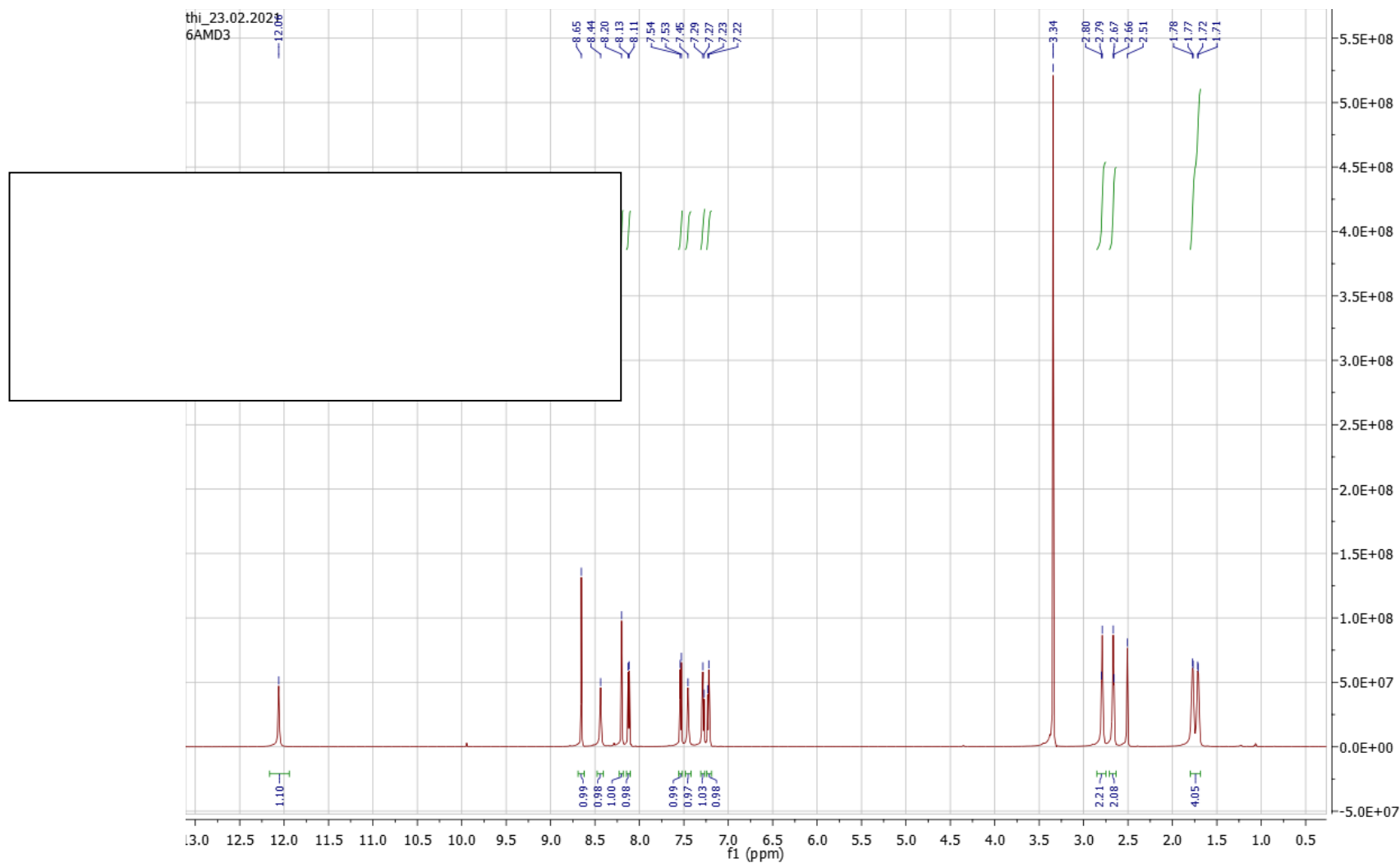
Expansões do Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6AMD2



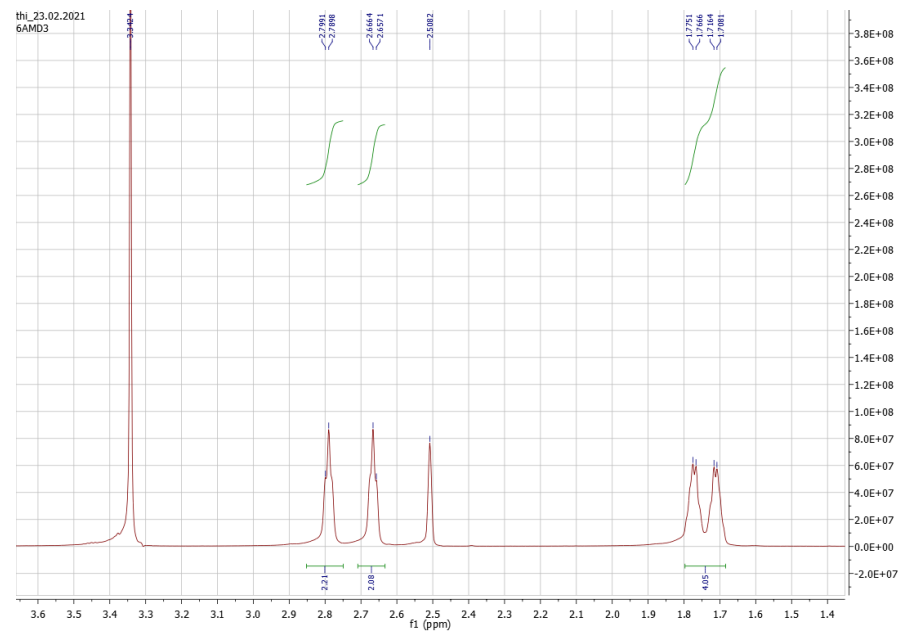
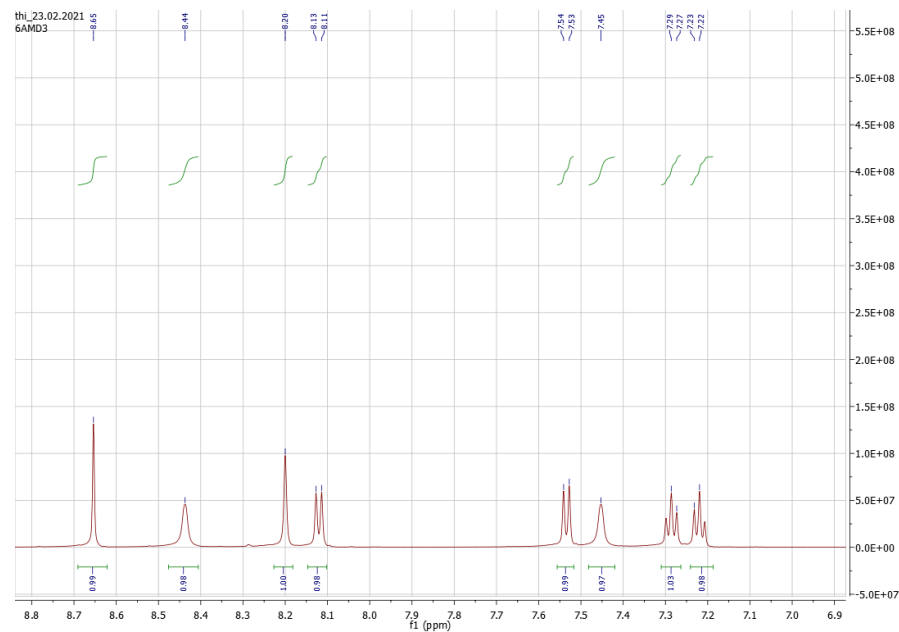
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO-d₆) do composto 6AMD2



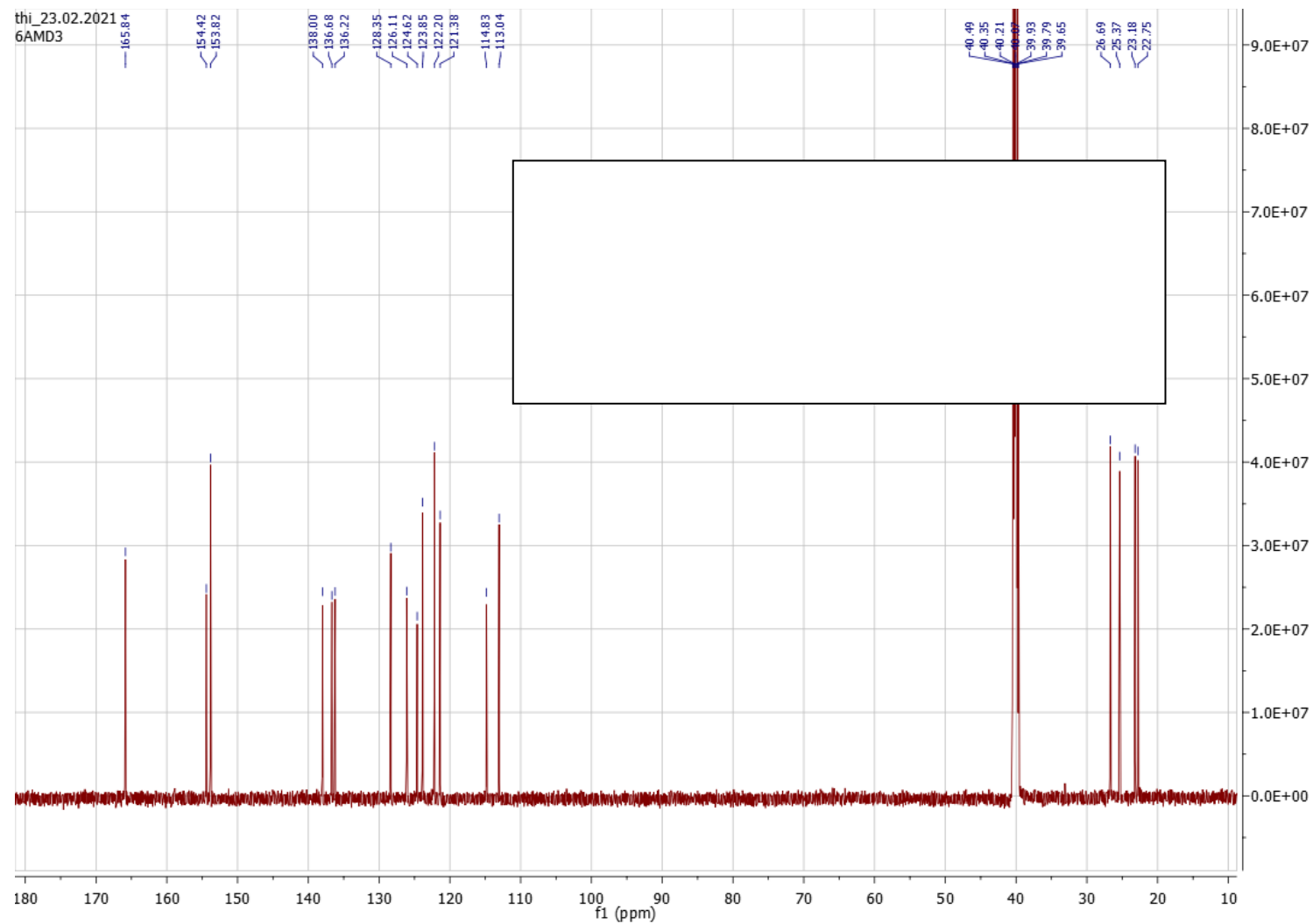
Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6AMD3



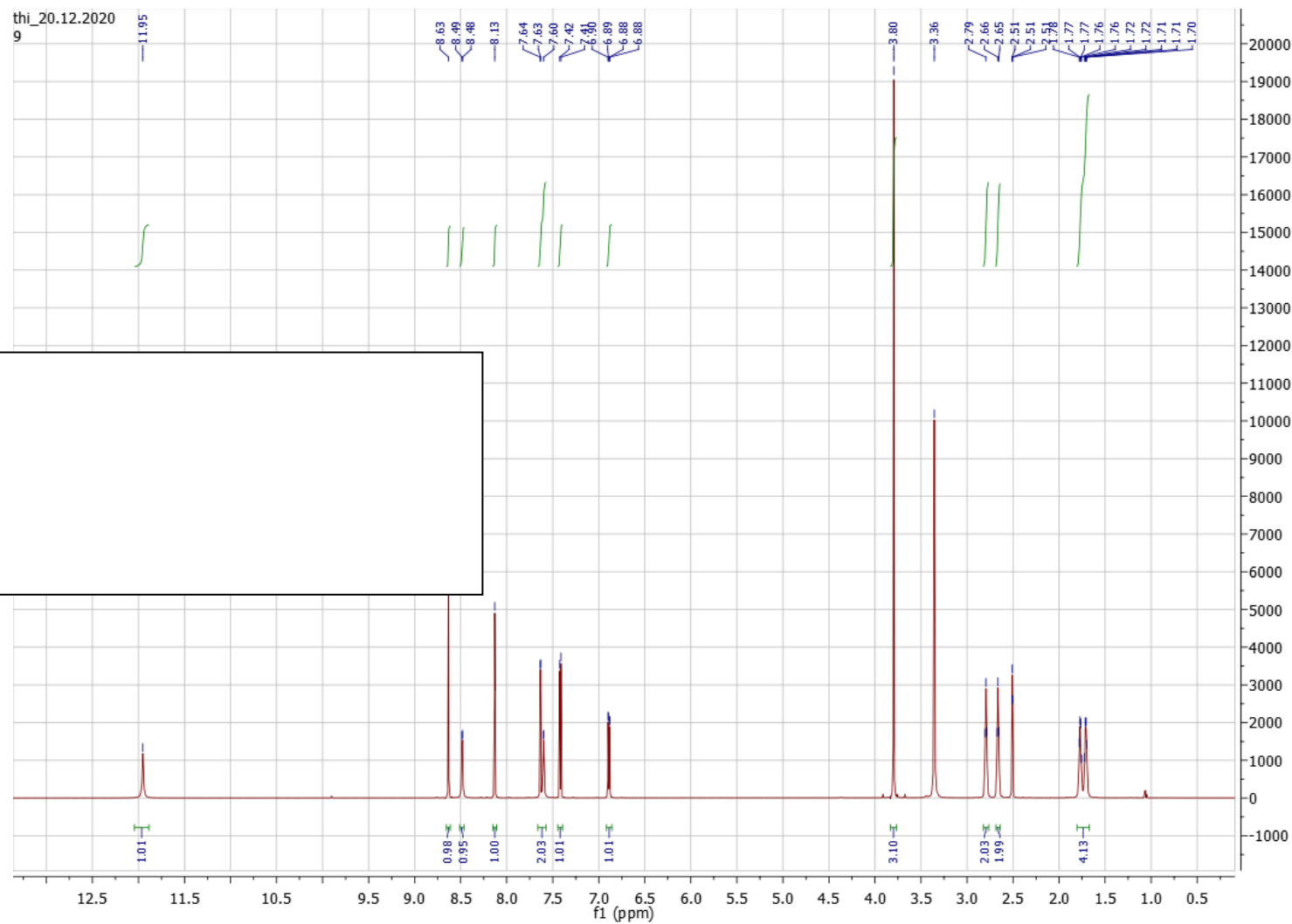
Expansões do Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6AMD3



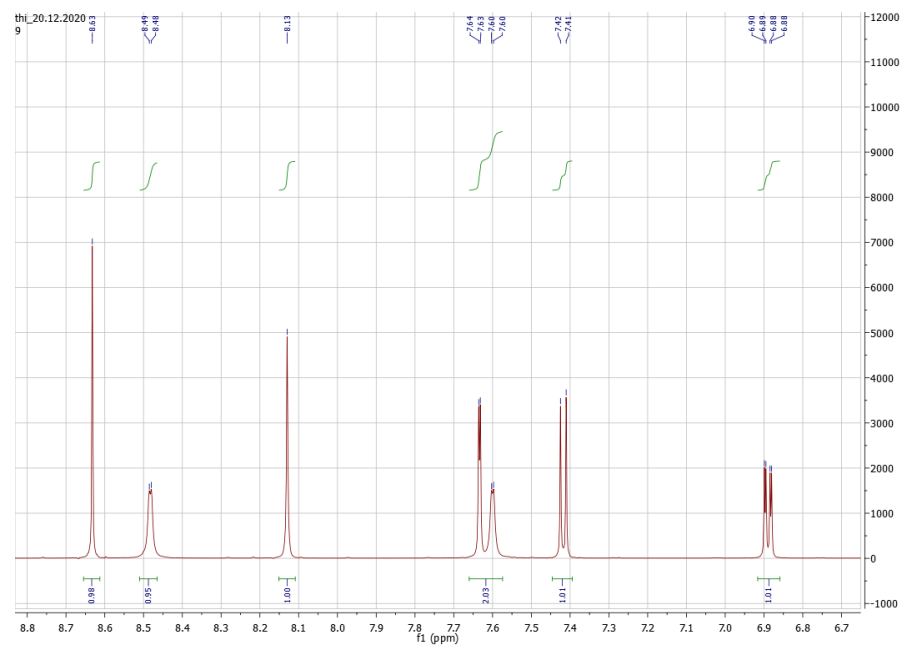
Espectro de RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-d6) do composto 6AMD3

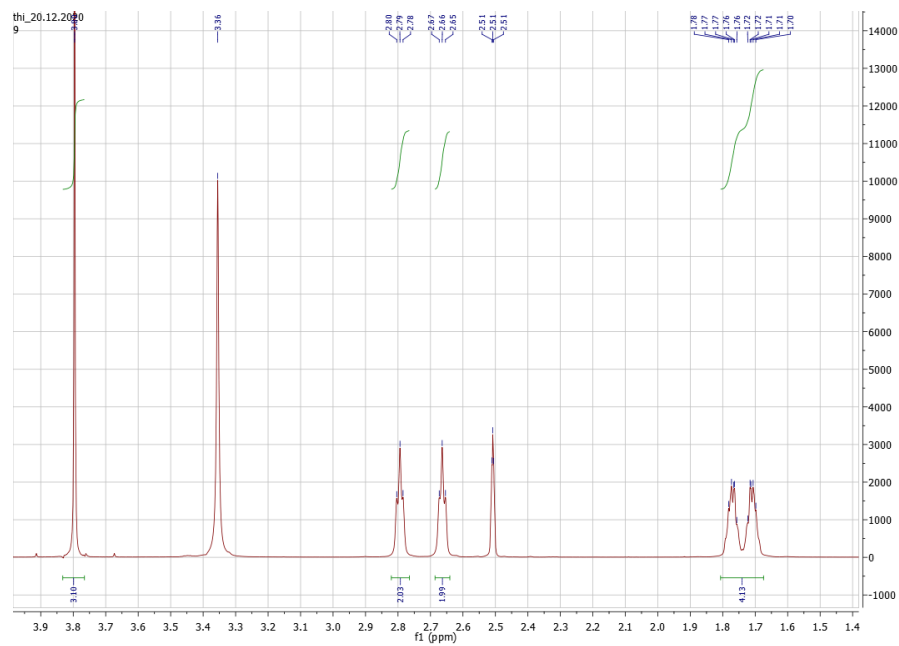


Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6AMD4

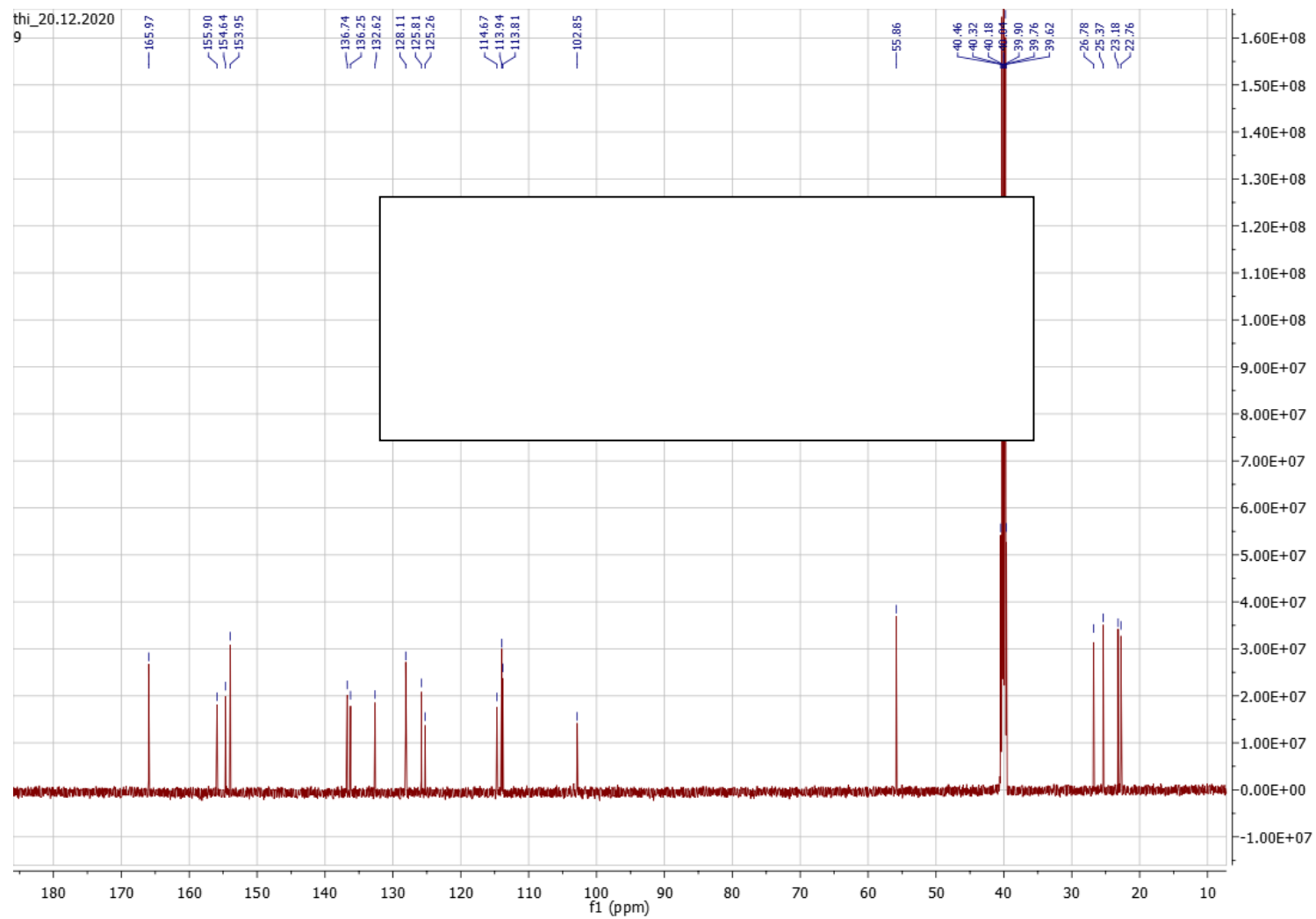


Expansões do Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6AMD4

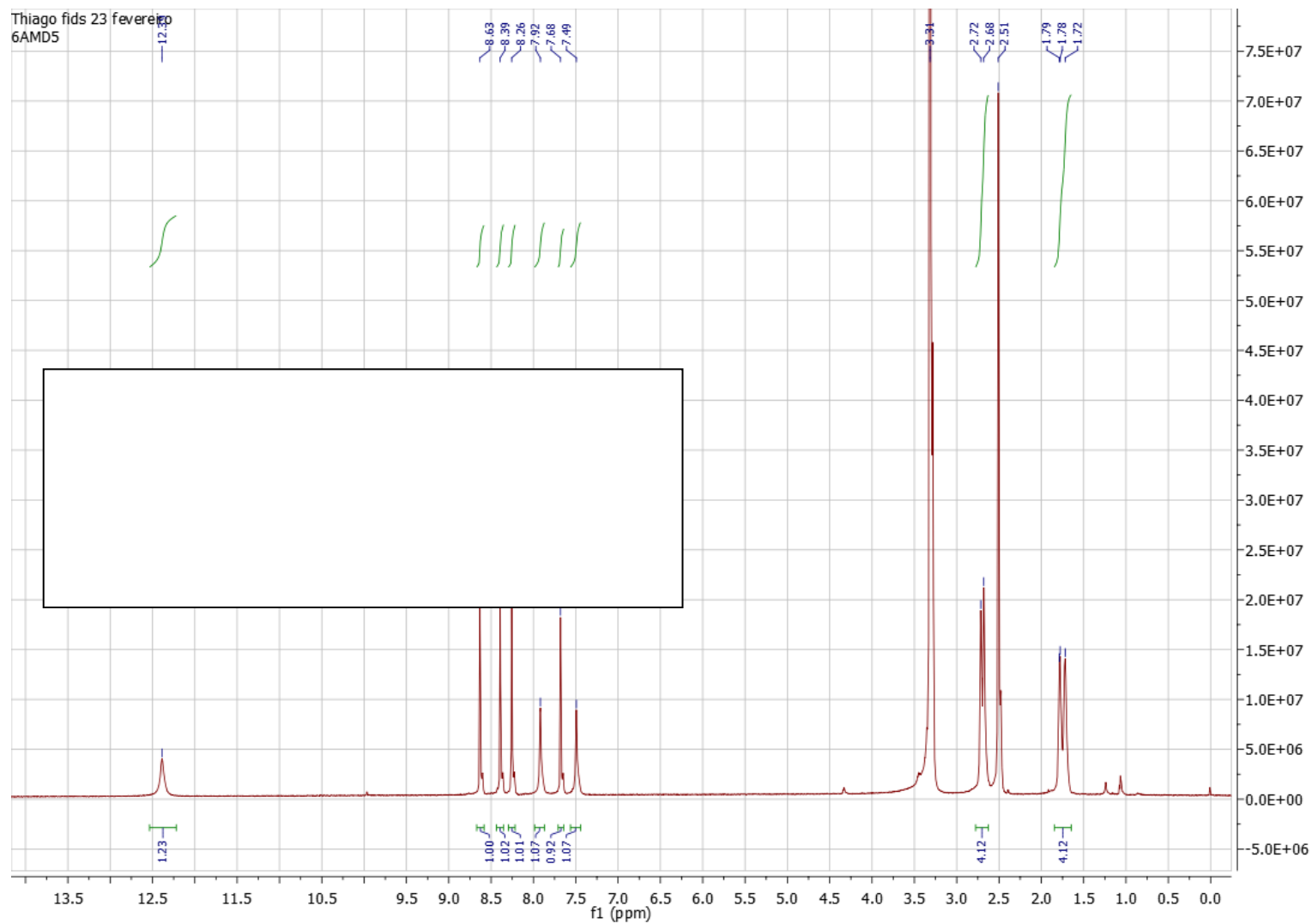




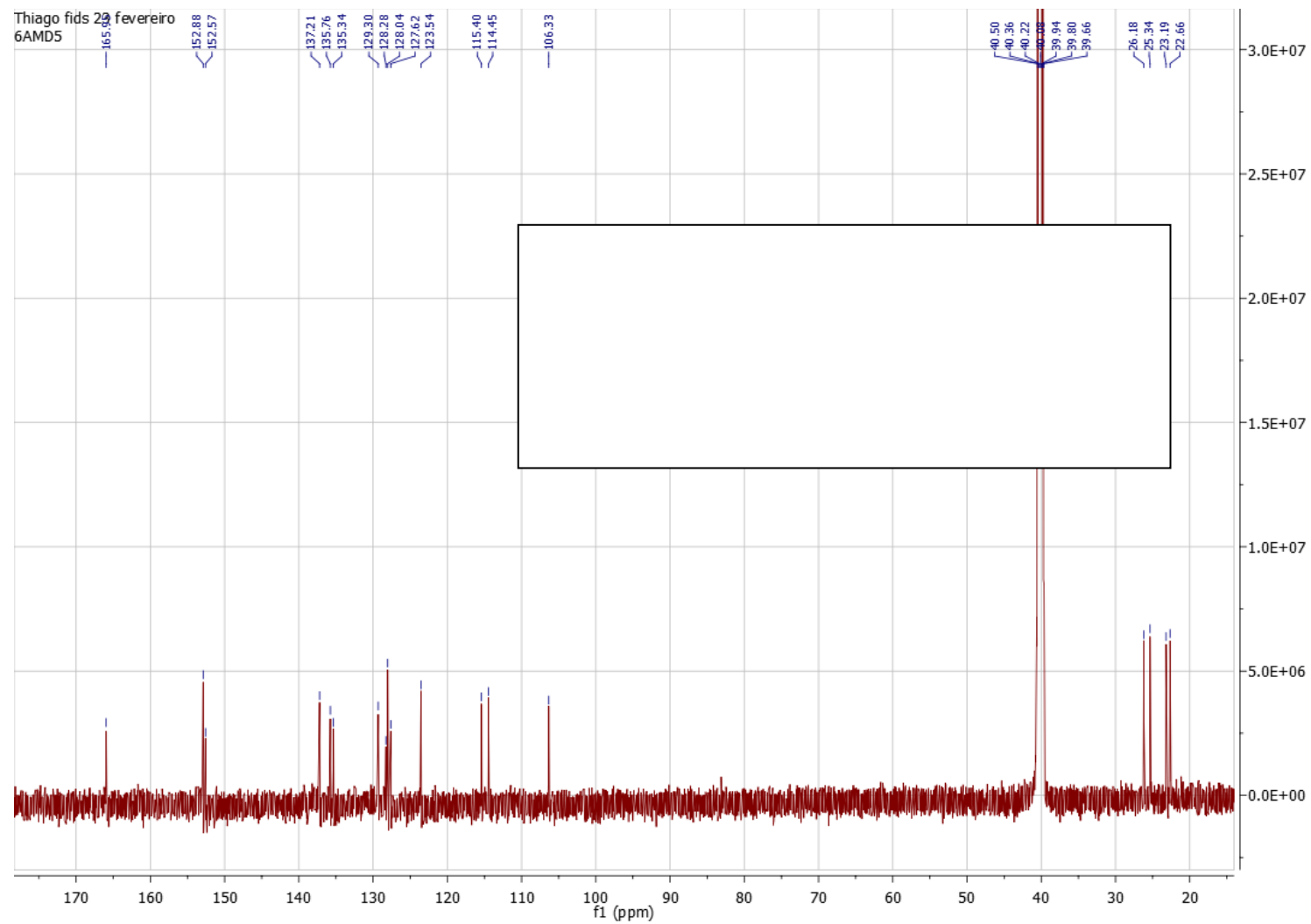
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6AMD4



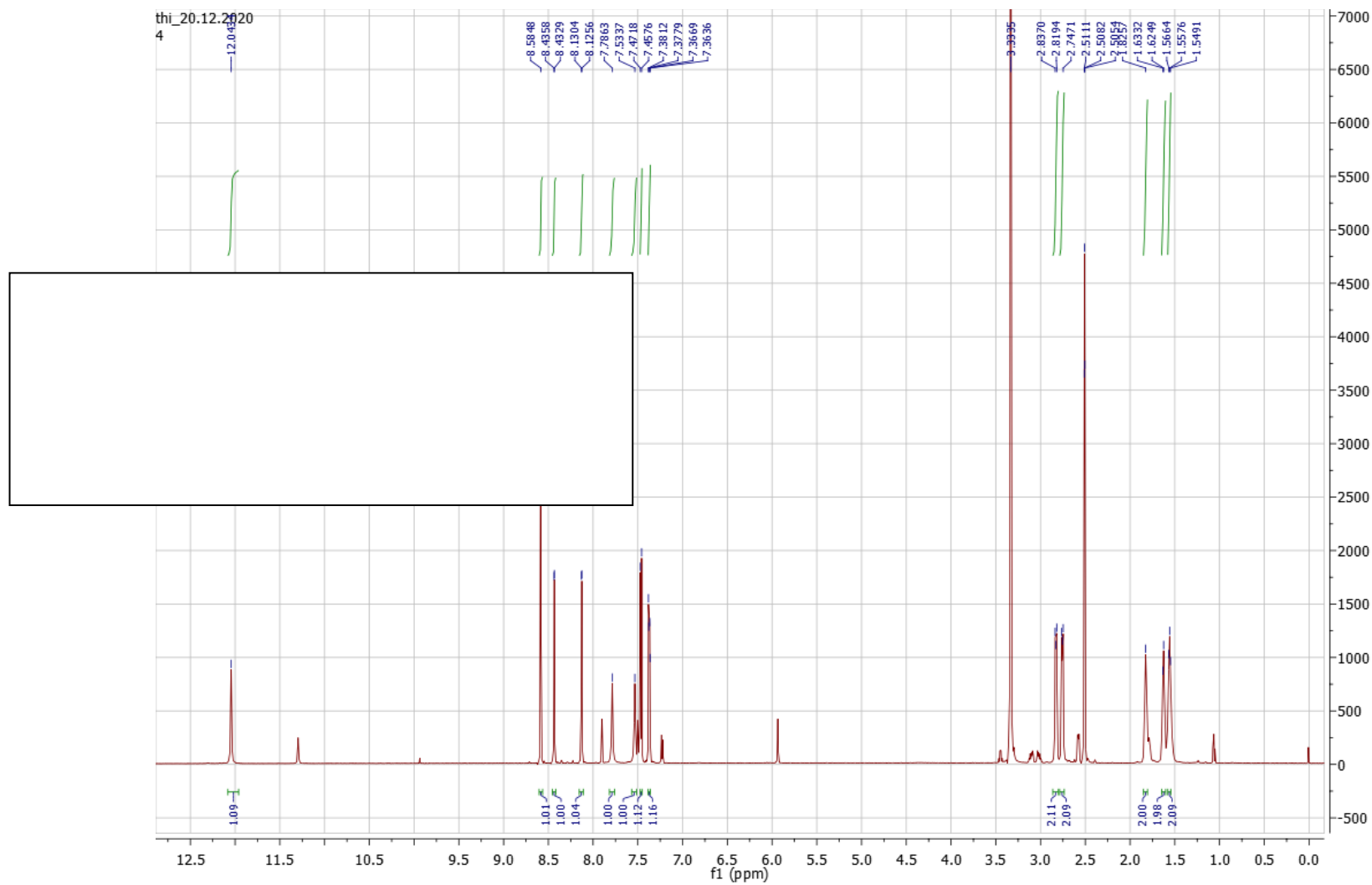
Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6AMD5



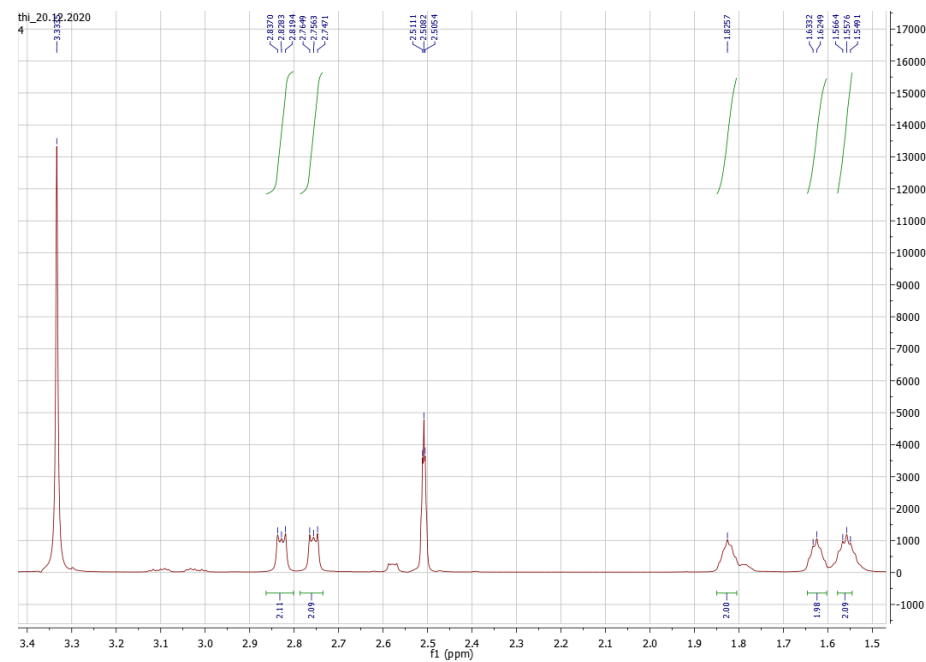
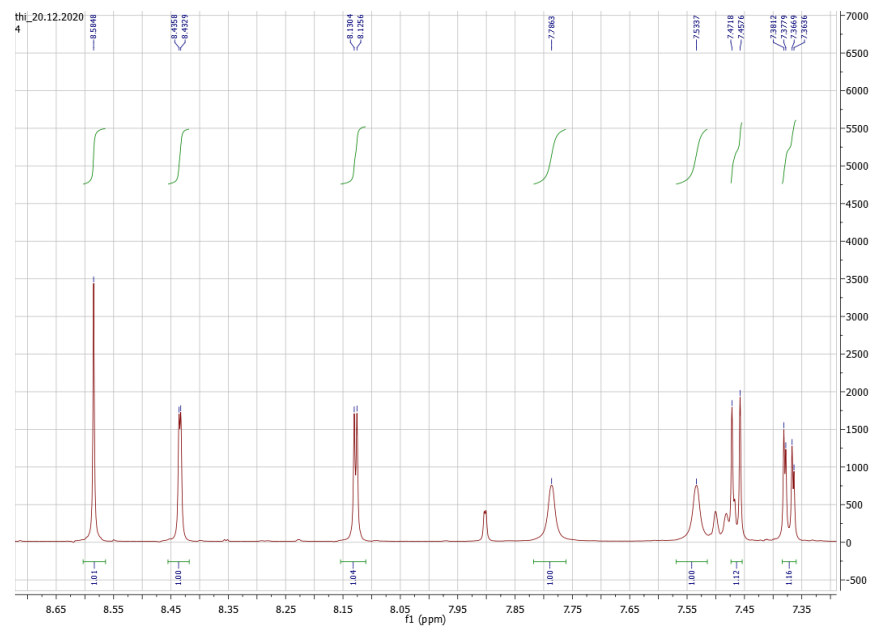
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6AMD5



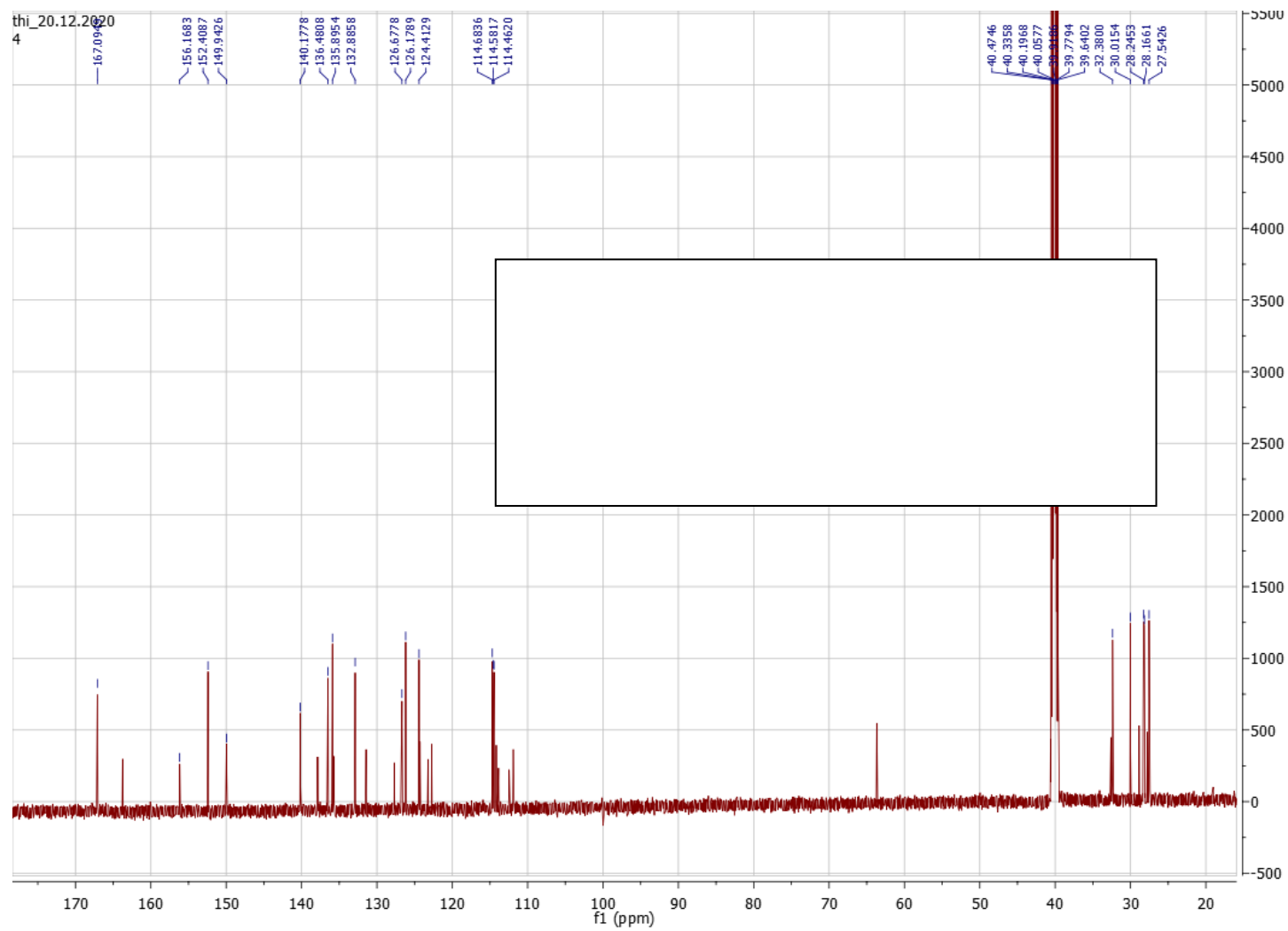
Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 7AMD2



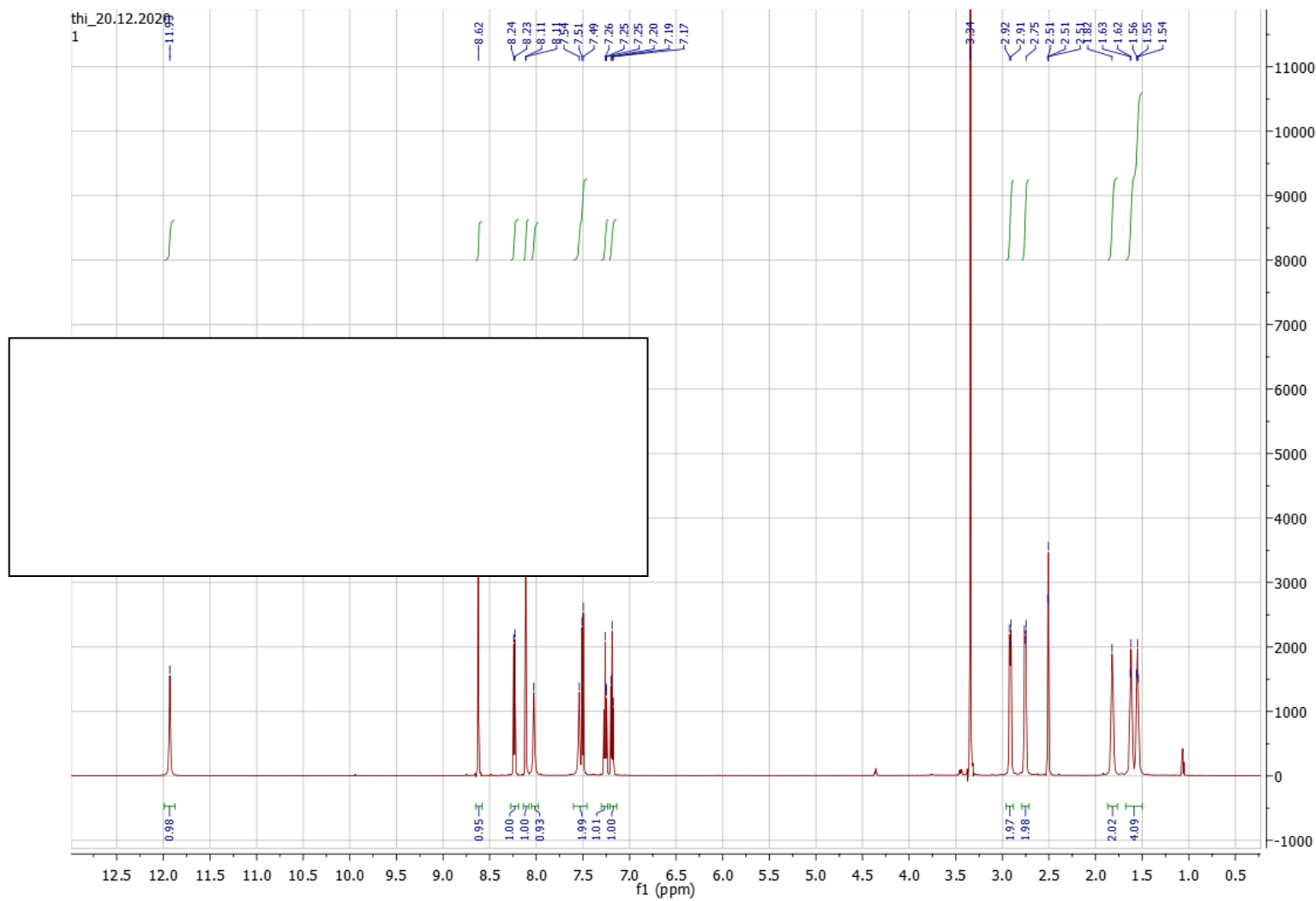
Expansões do Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 7AMD2



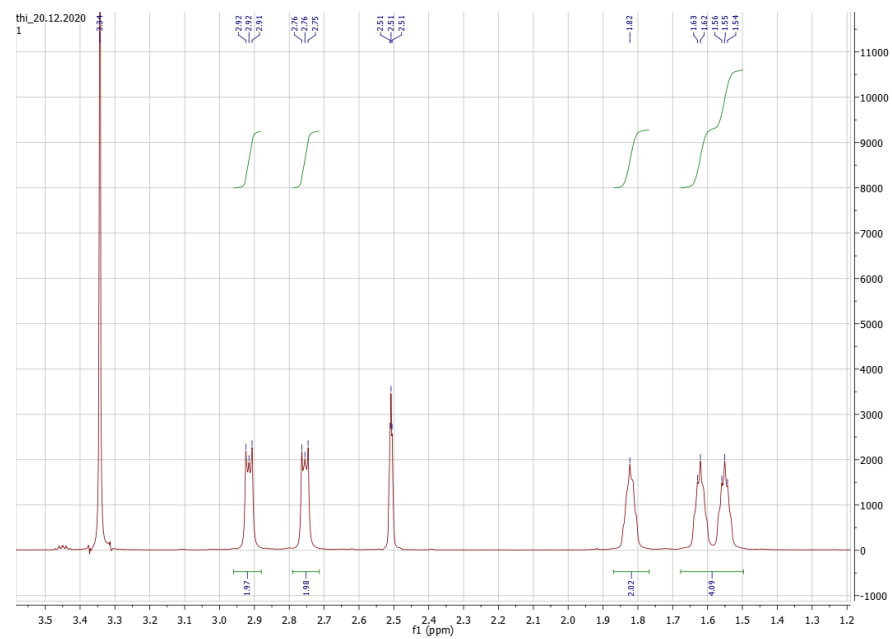
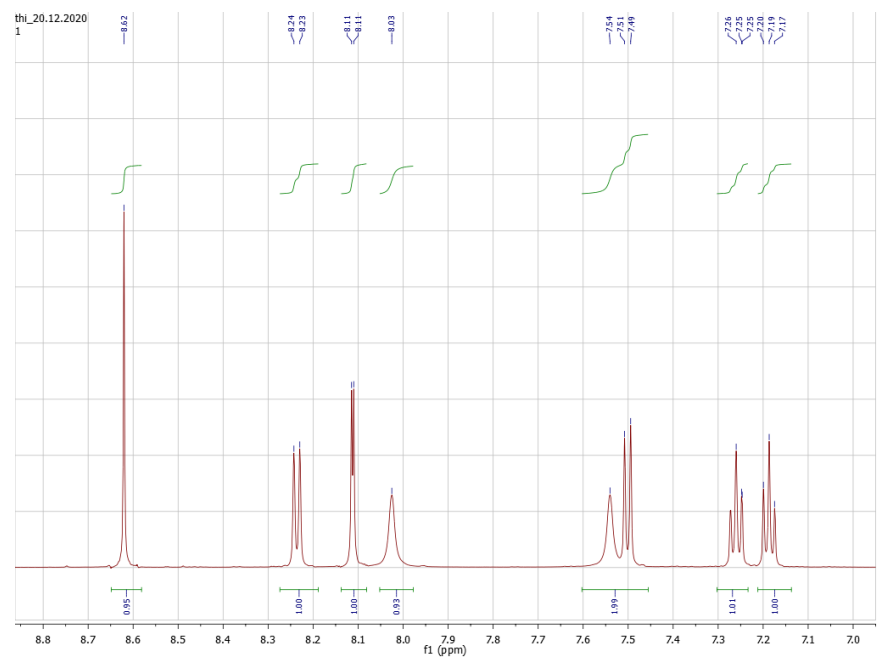
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 7AMD2



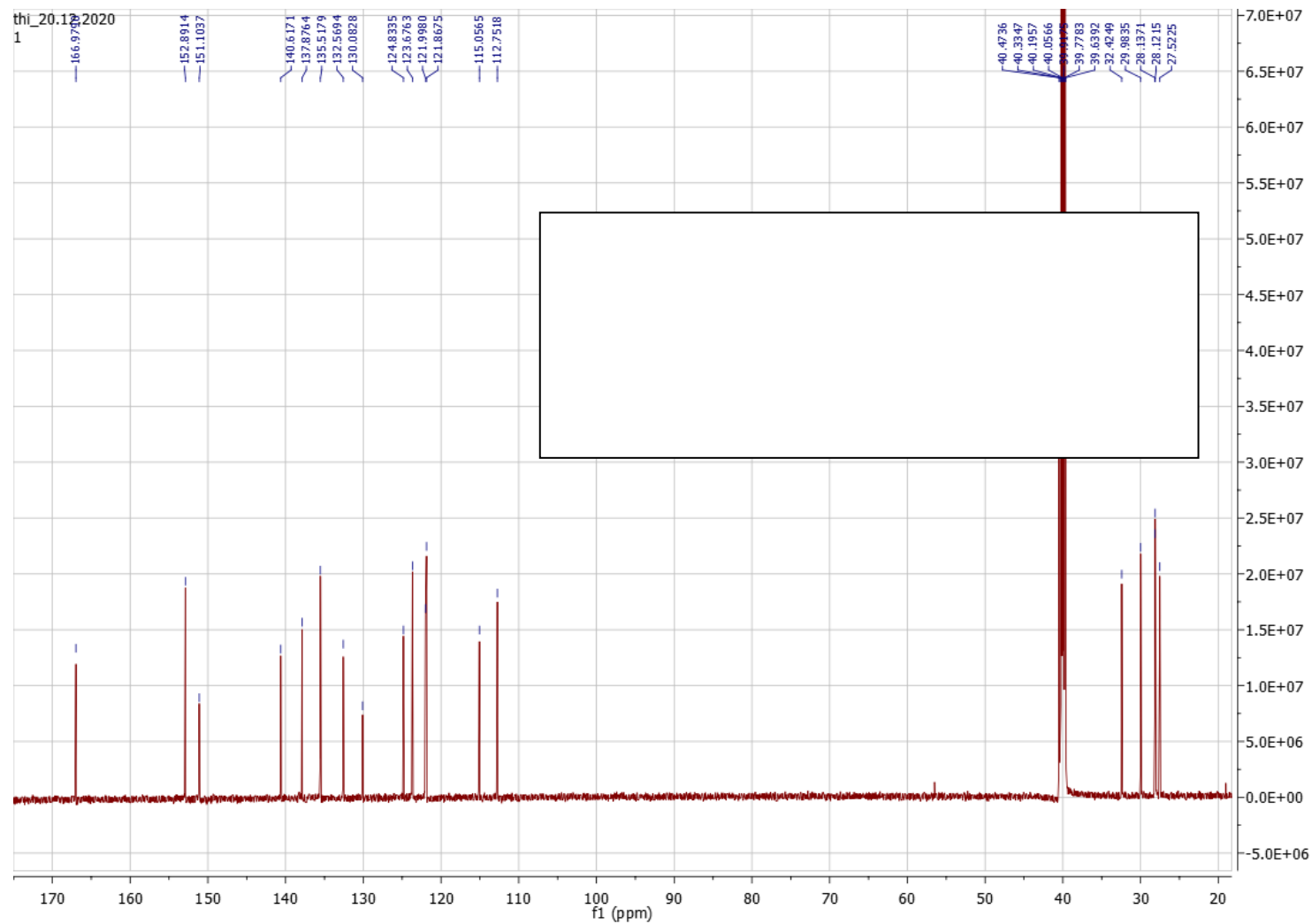
Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 7AMD3



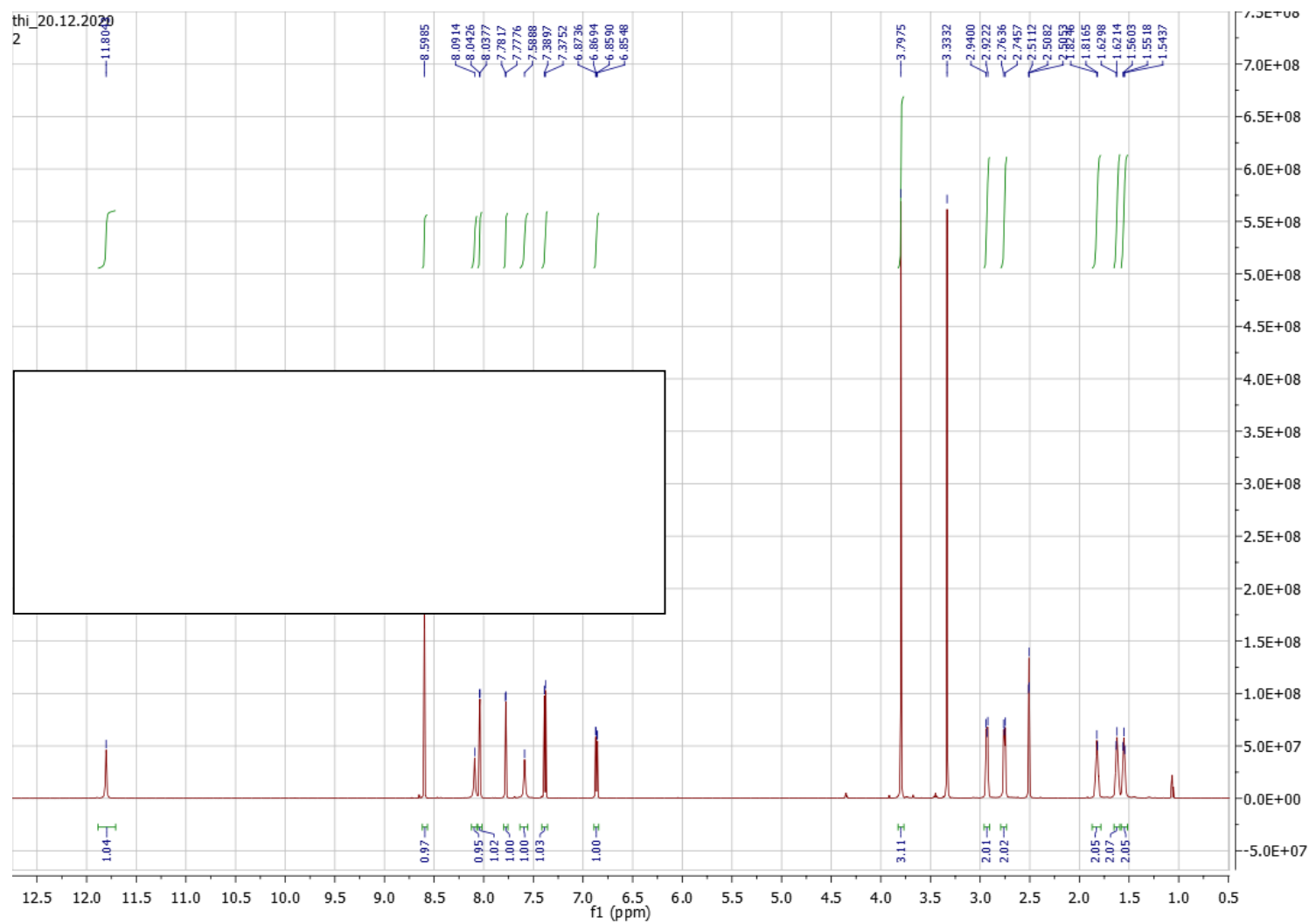
Expansões do Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 7AMD3



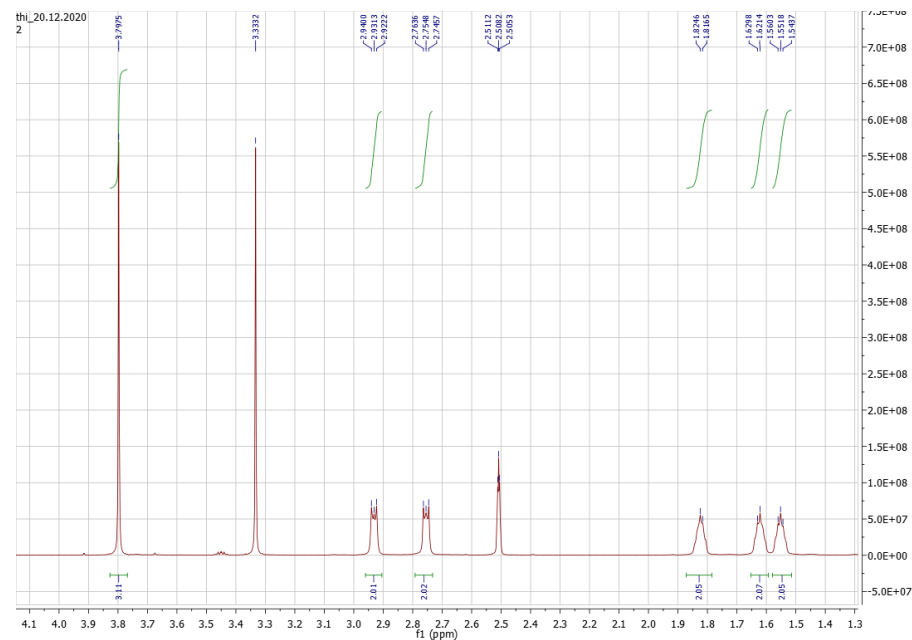
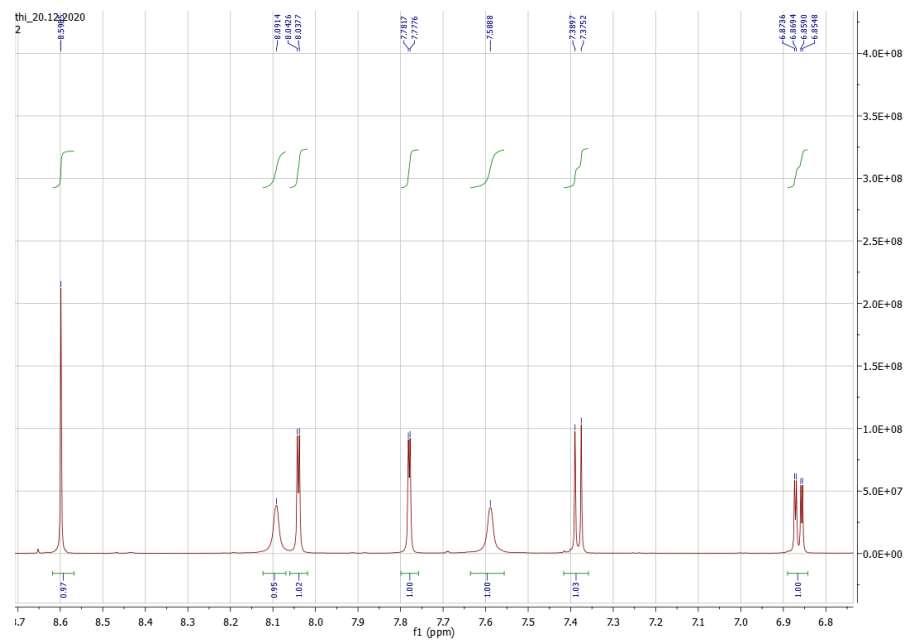
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 7AMD3



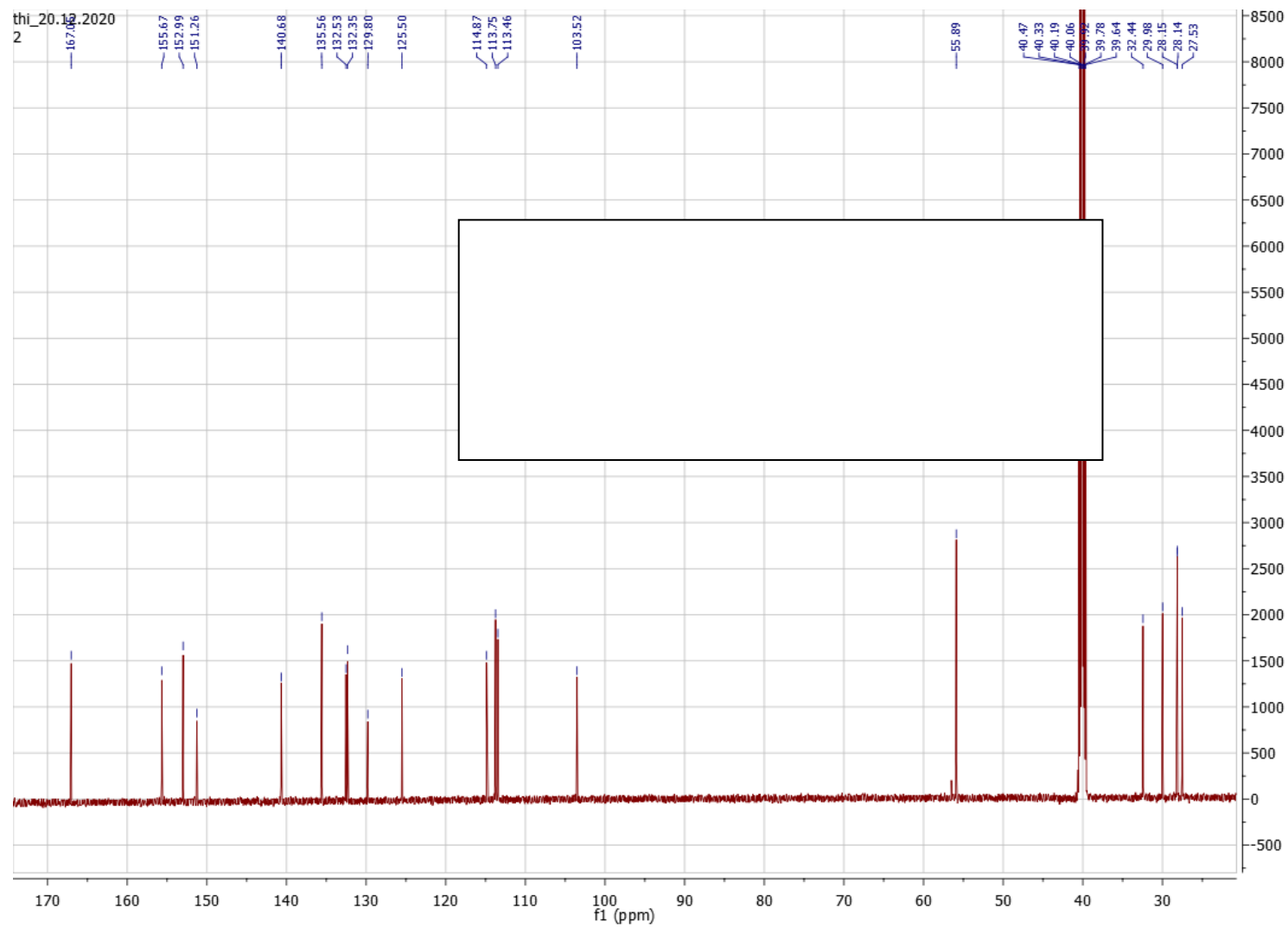
Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 7AMD4



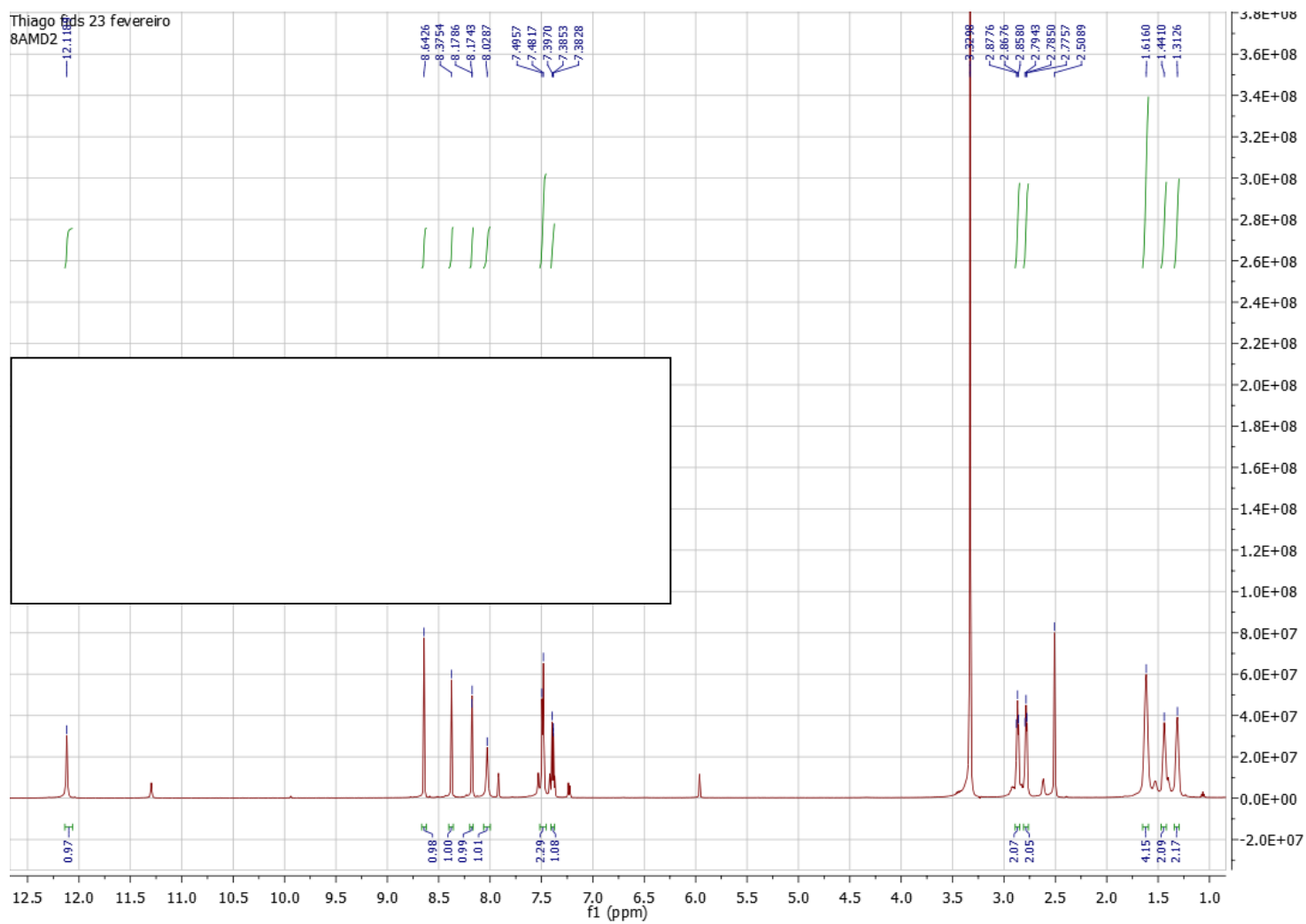
Expansões do Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 7AMD4



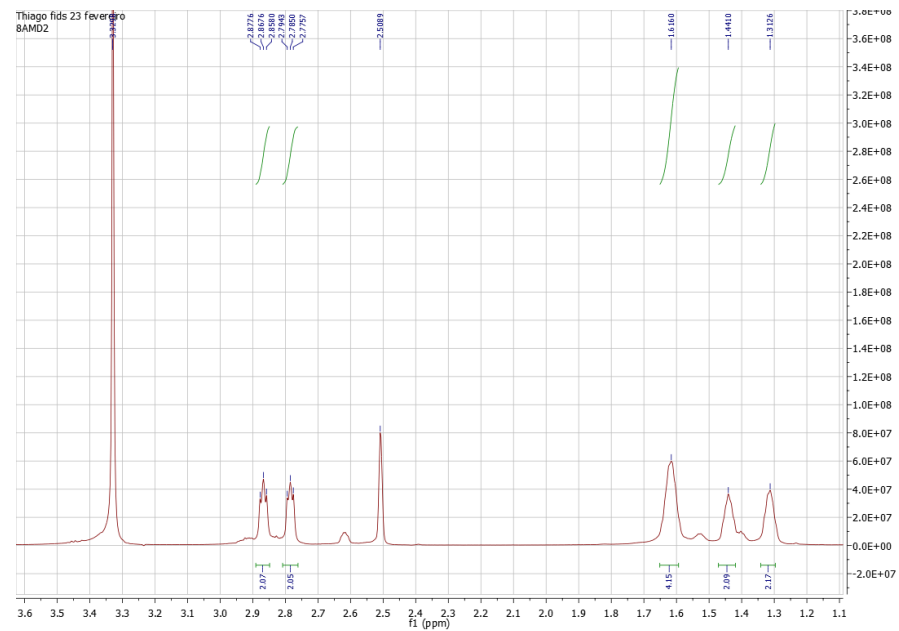
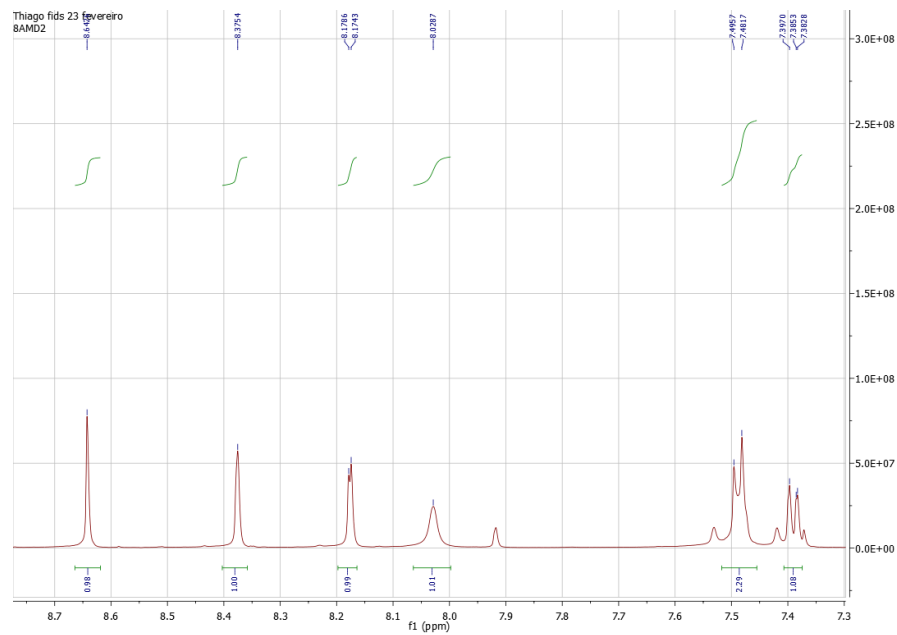
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO-d₆) do composto 7AMD4



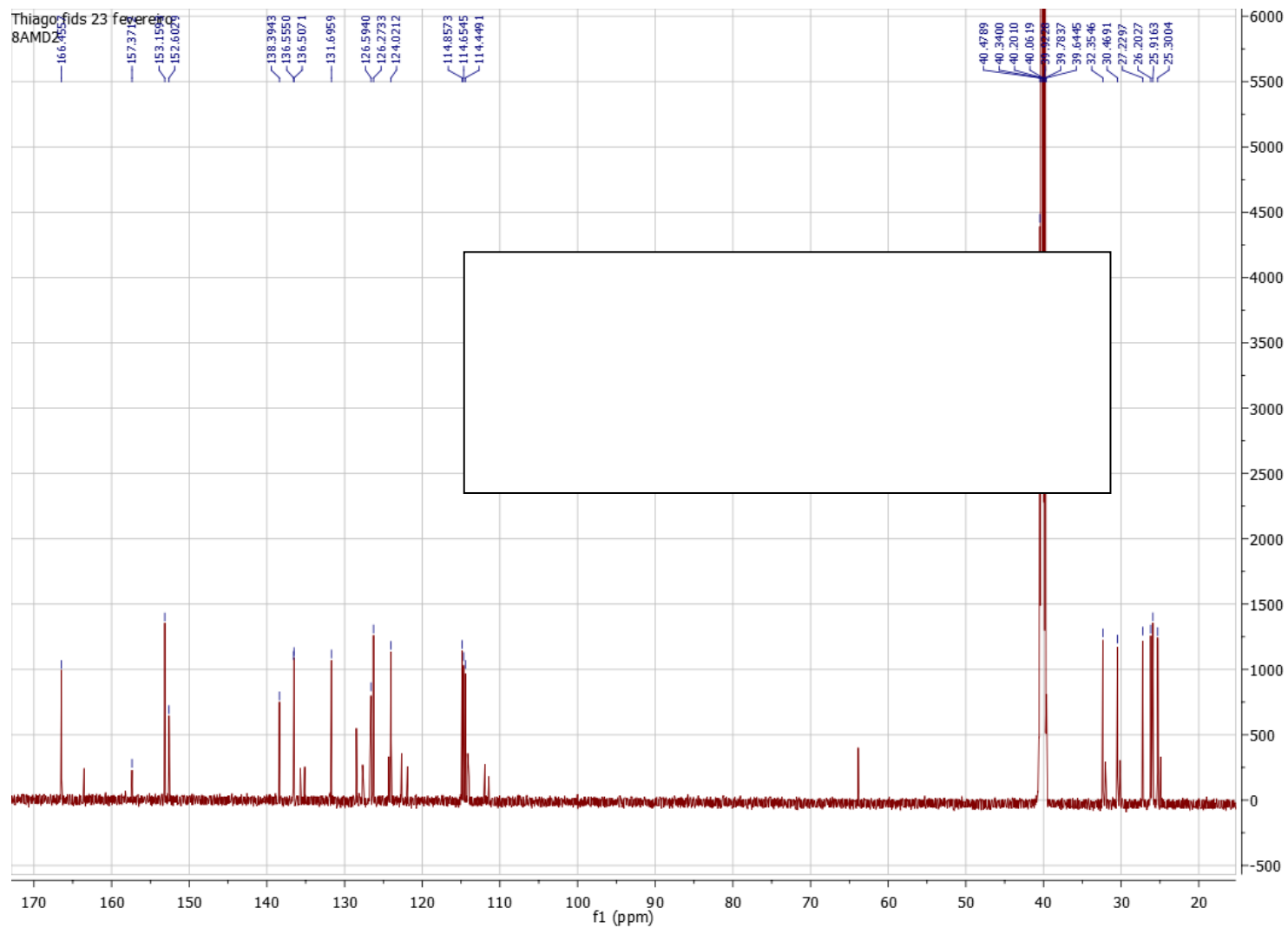
Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 8AMD2



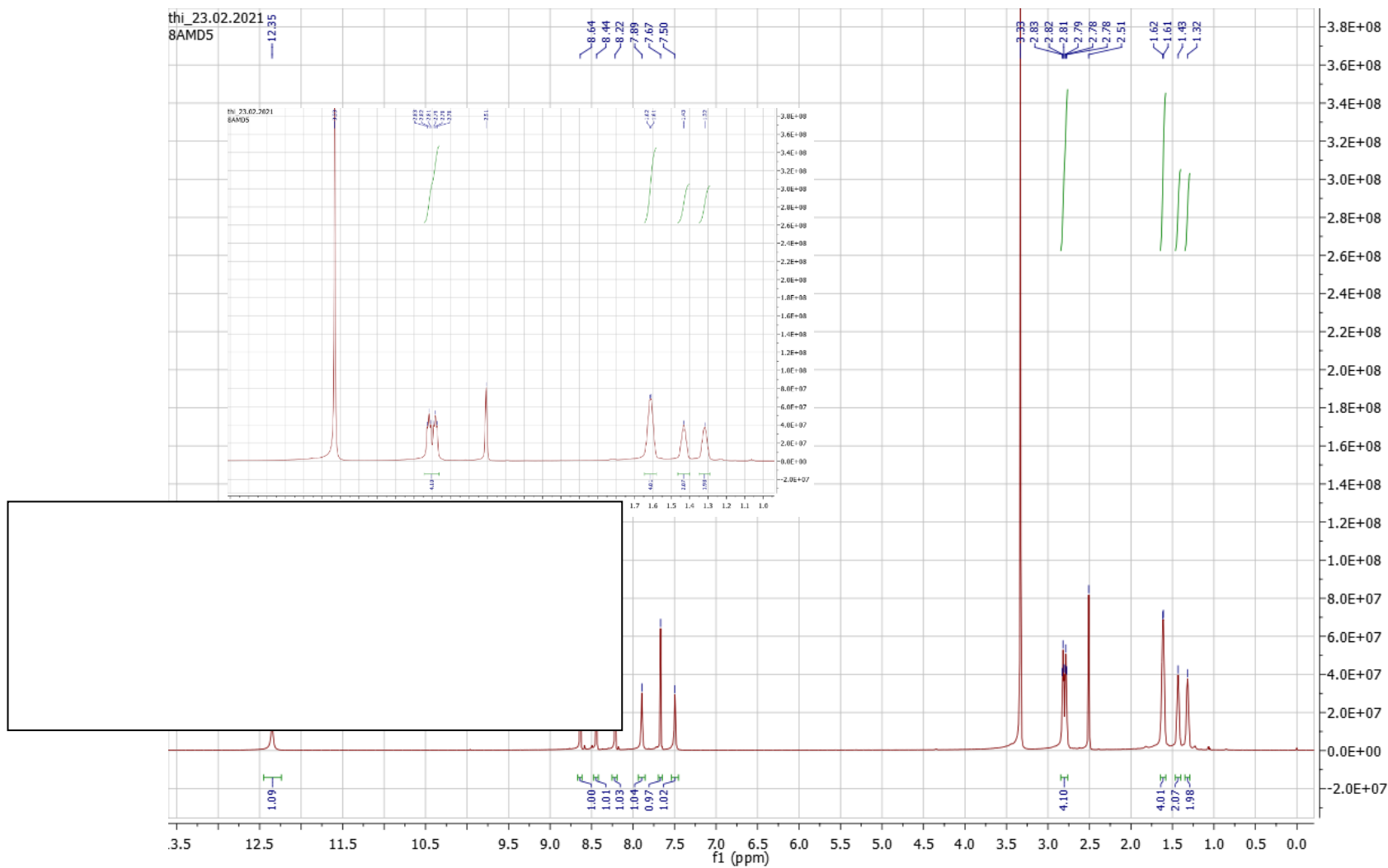
Expansões do Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 8AMD2



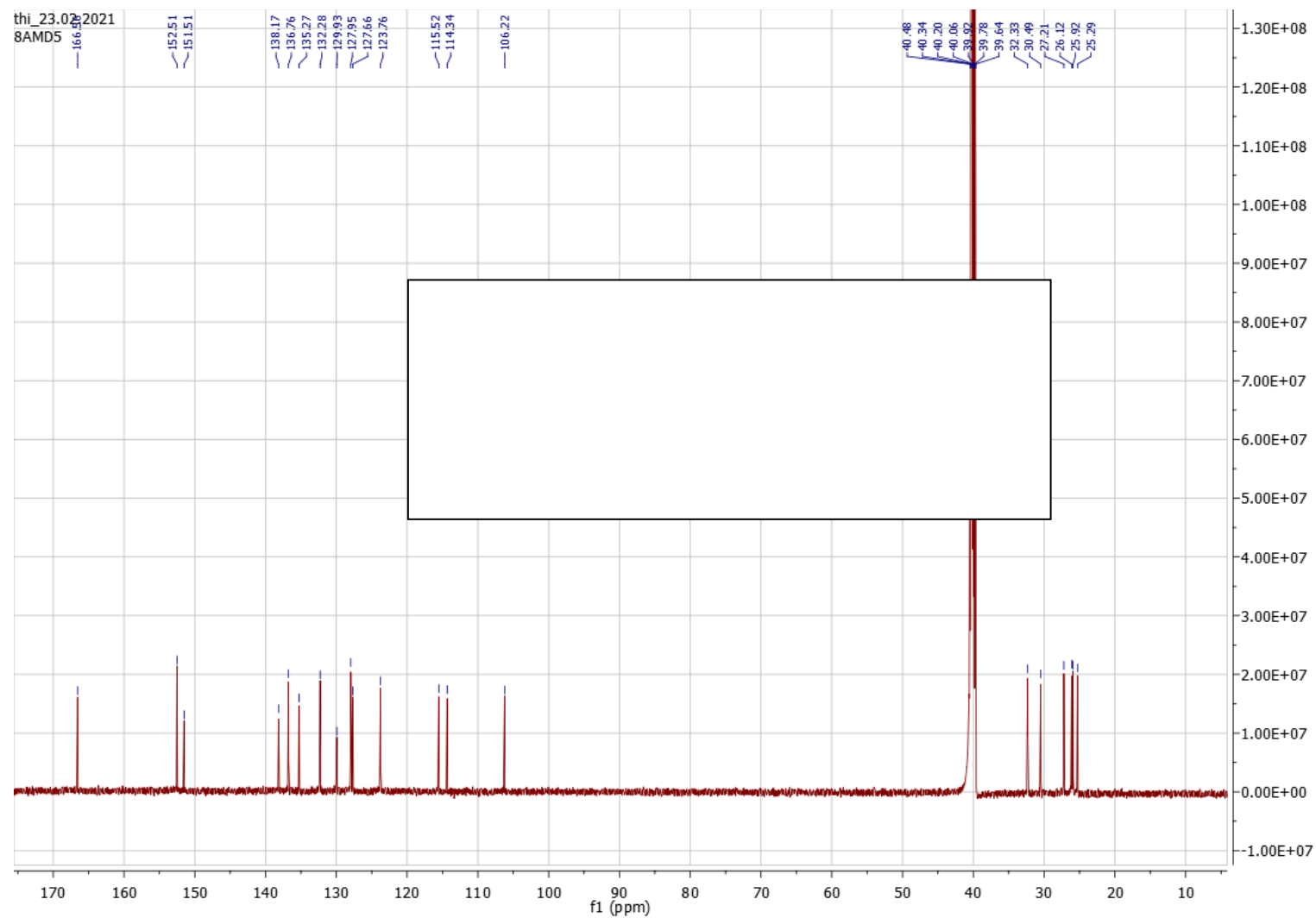
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 8AMD2



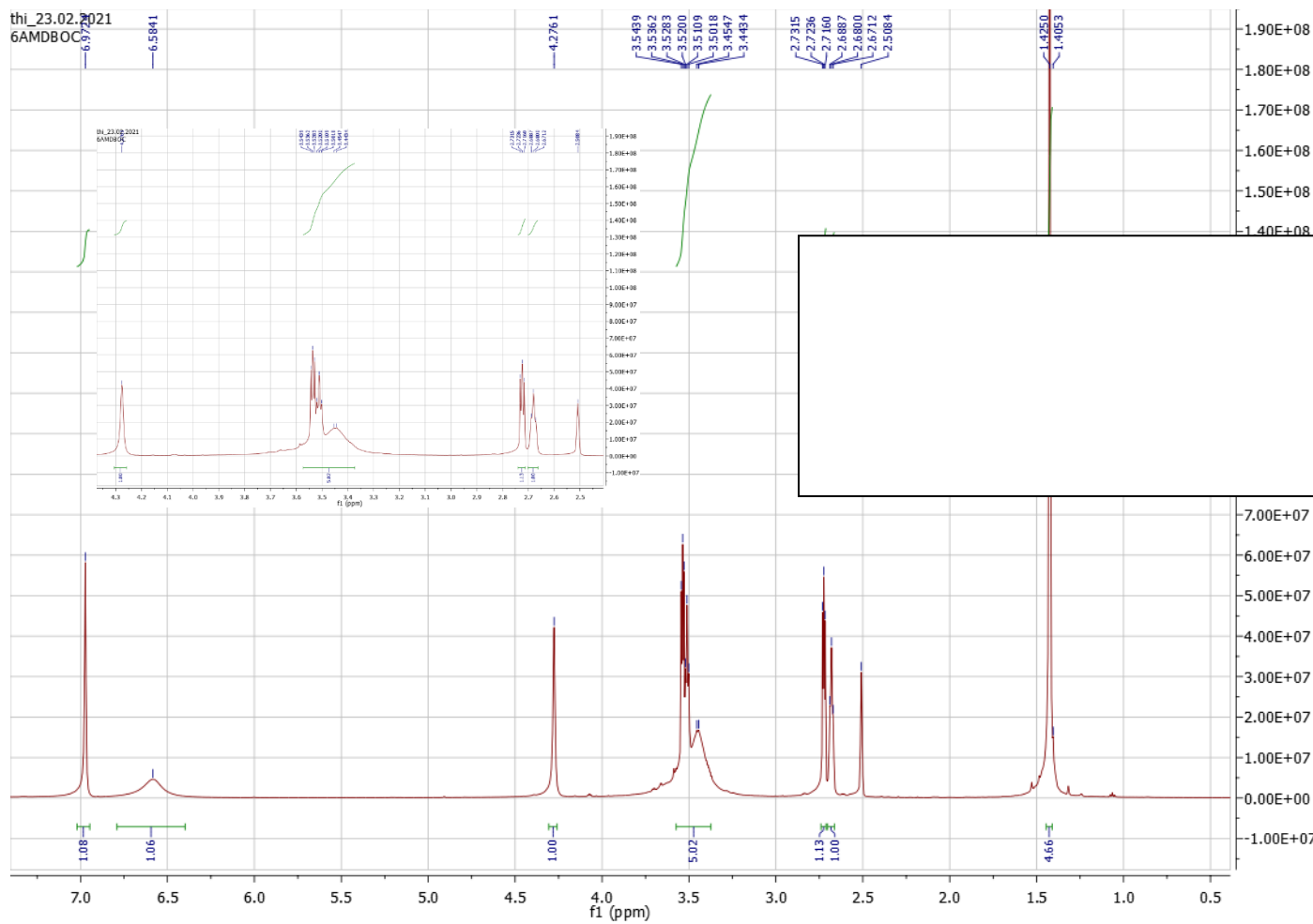
Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 8AMD5



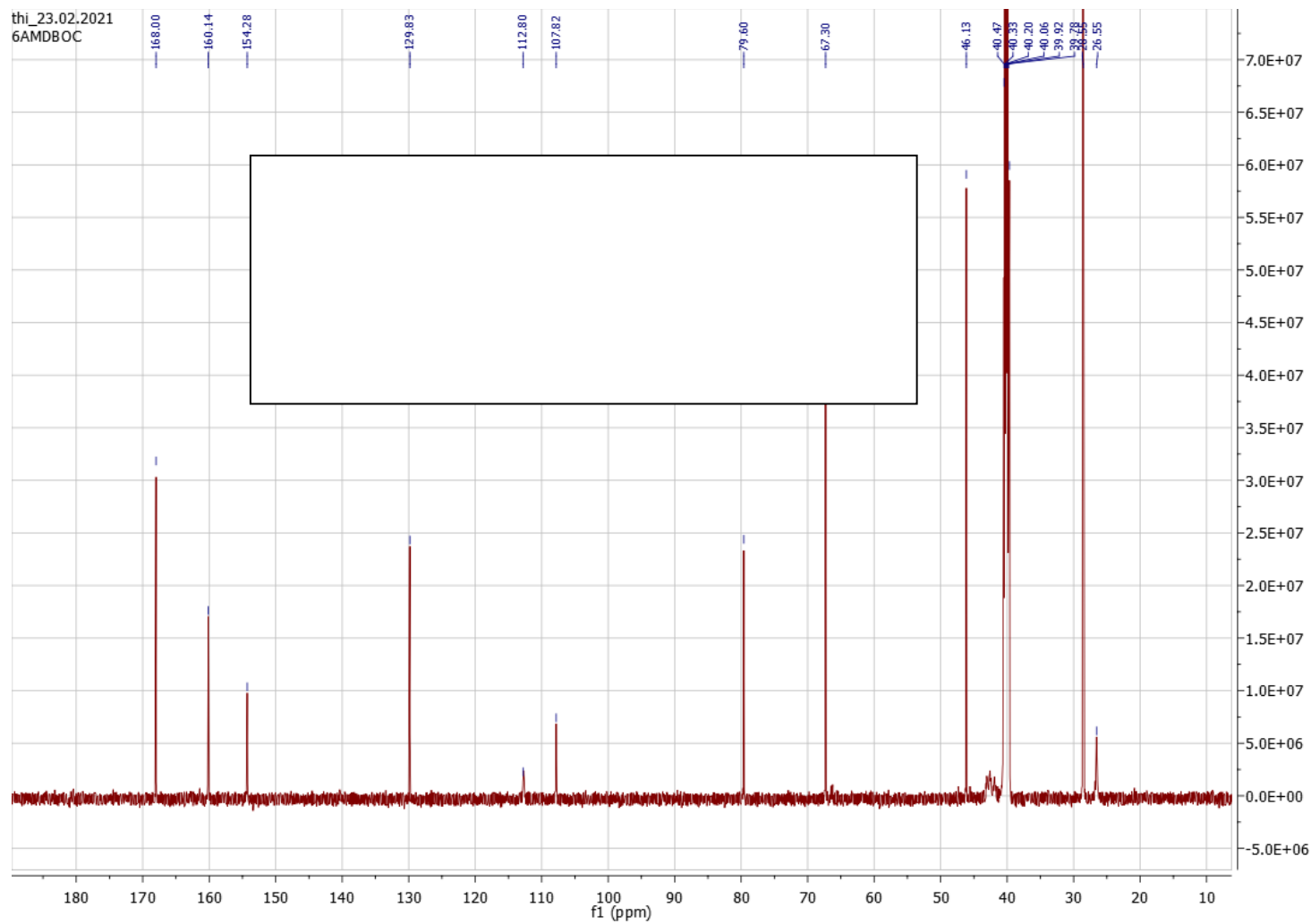
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 8AMD5



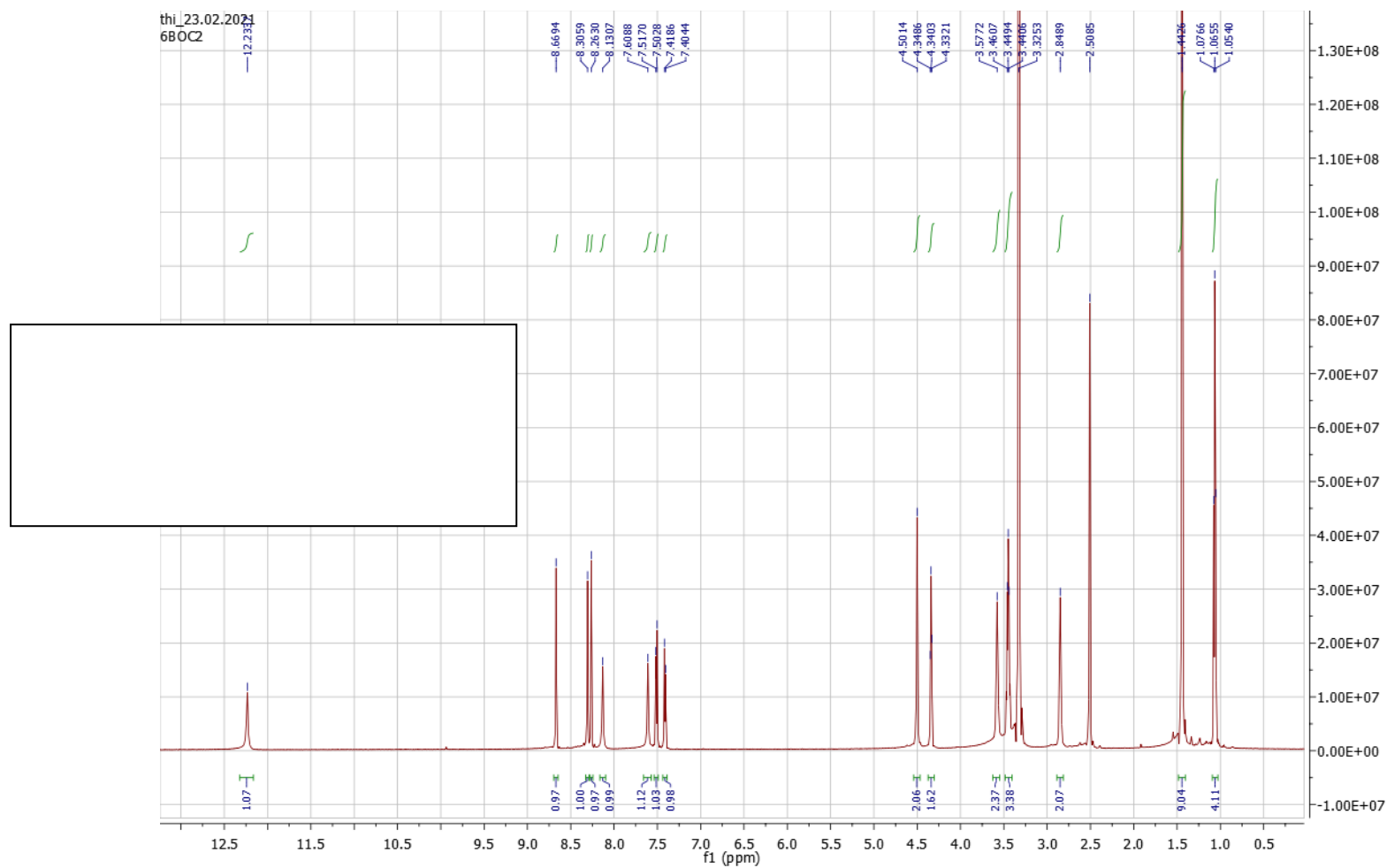
Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6AMDBOC



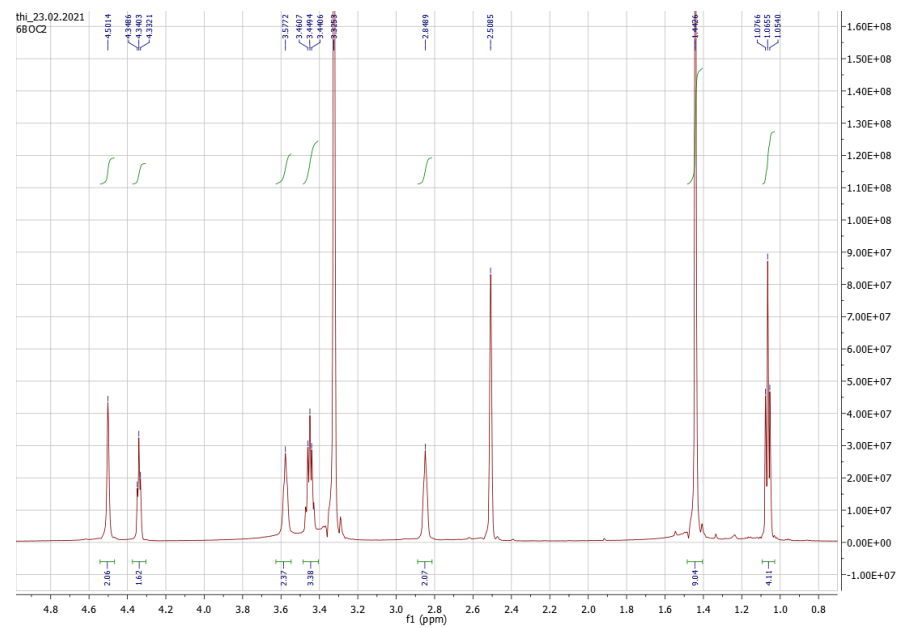
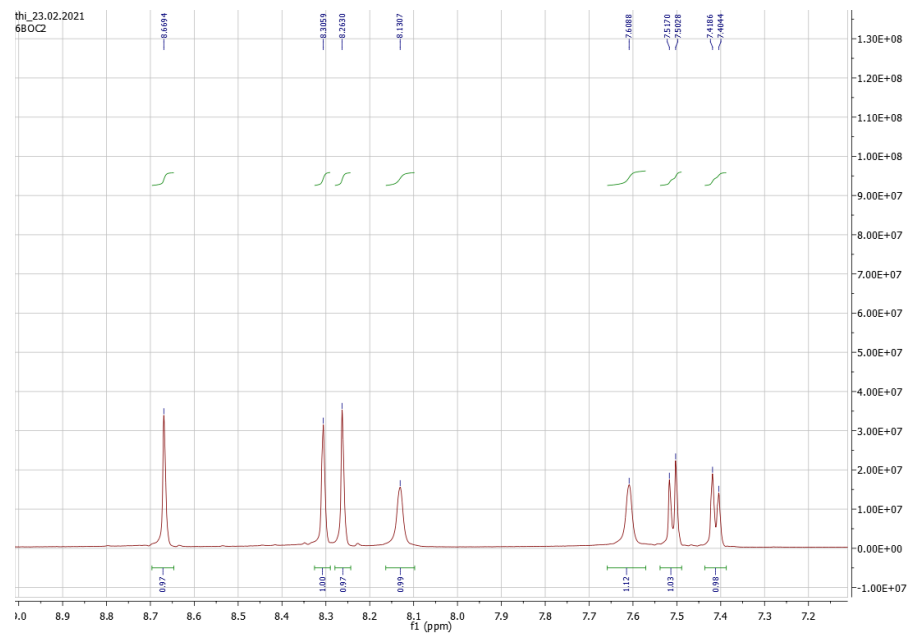
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO-d₆) do composto 6AMDBOC



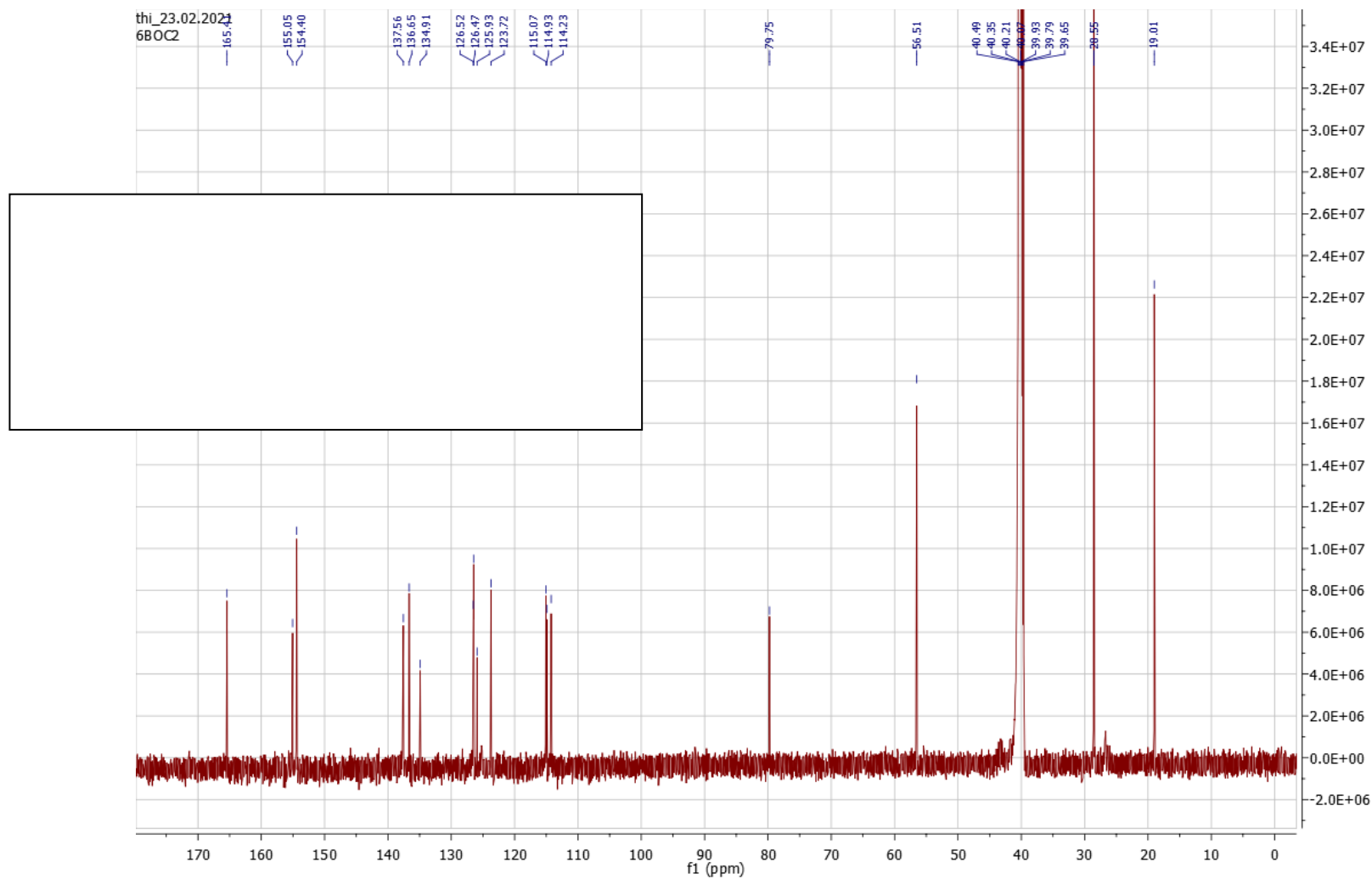
Espectro de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto 6BOC2



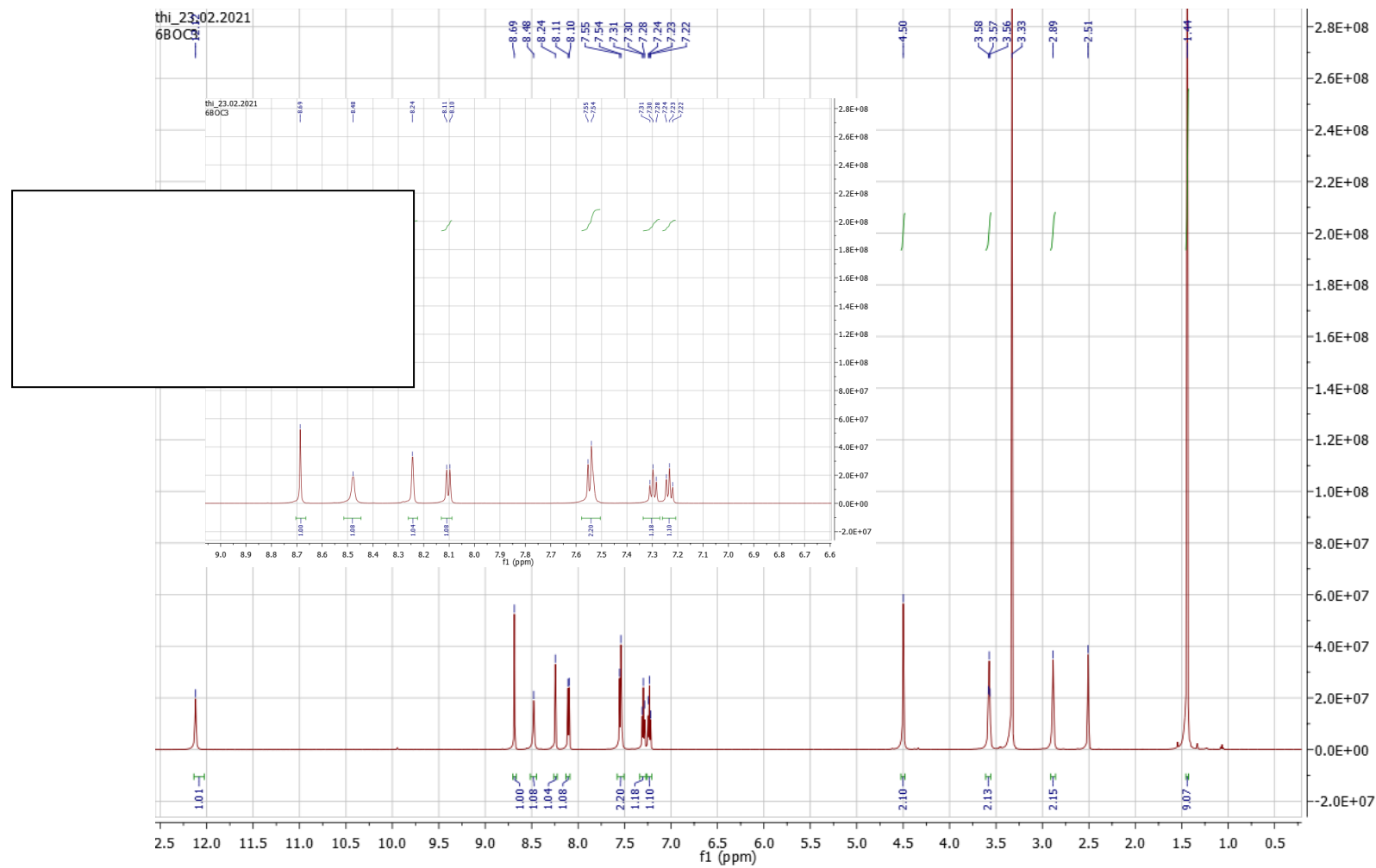
Expansões do Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6BOC2



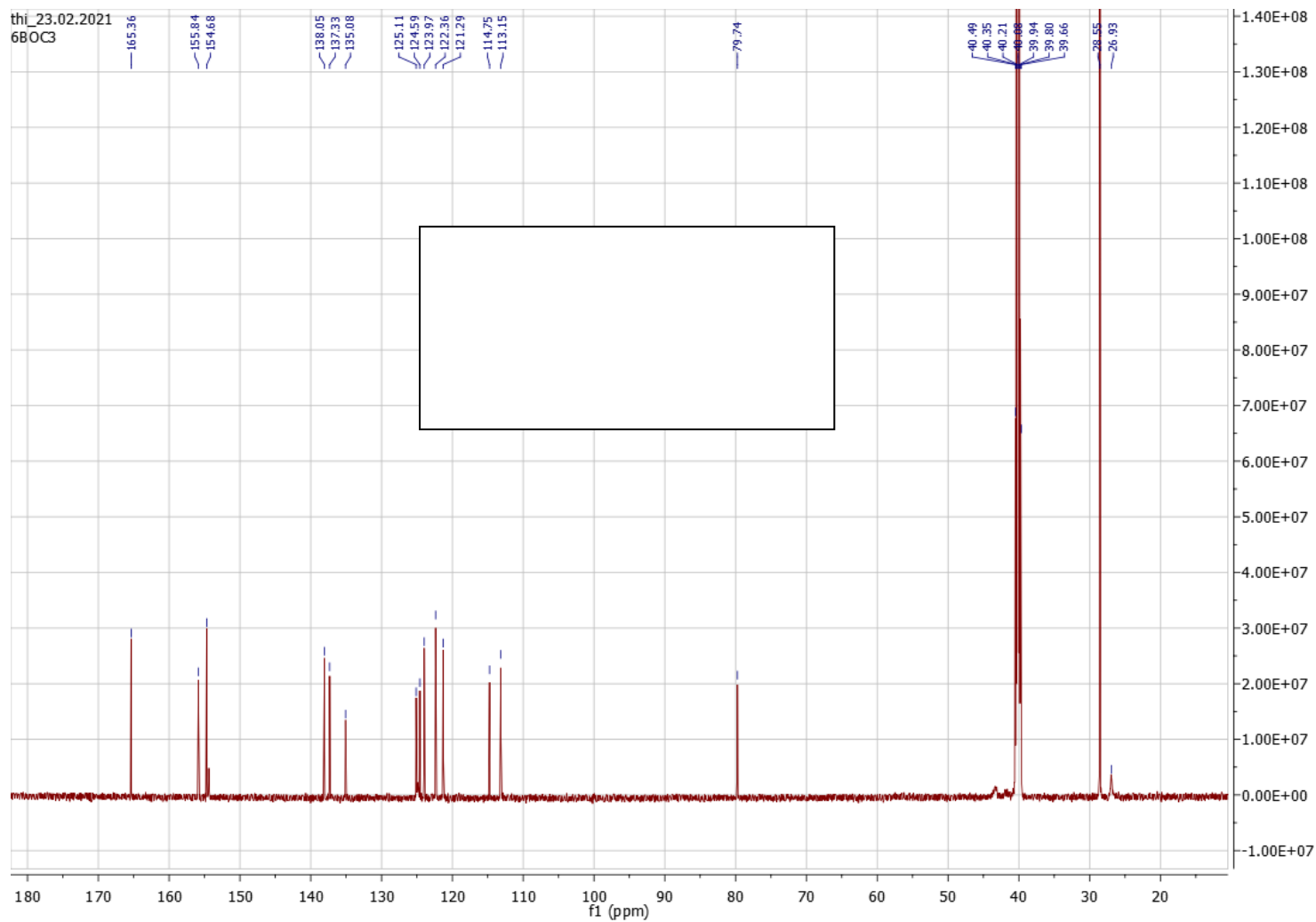
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6BOC2



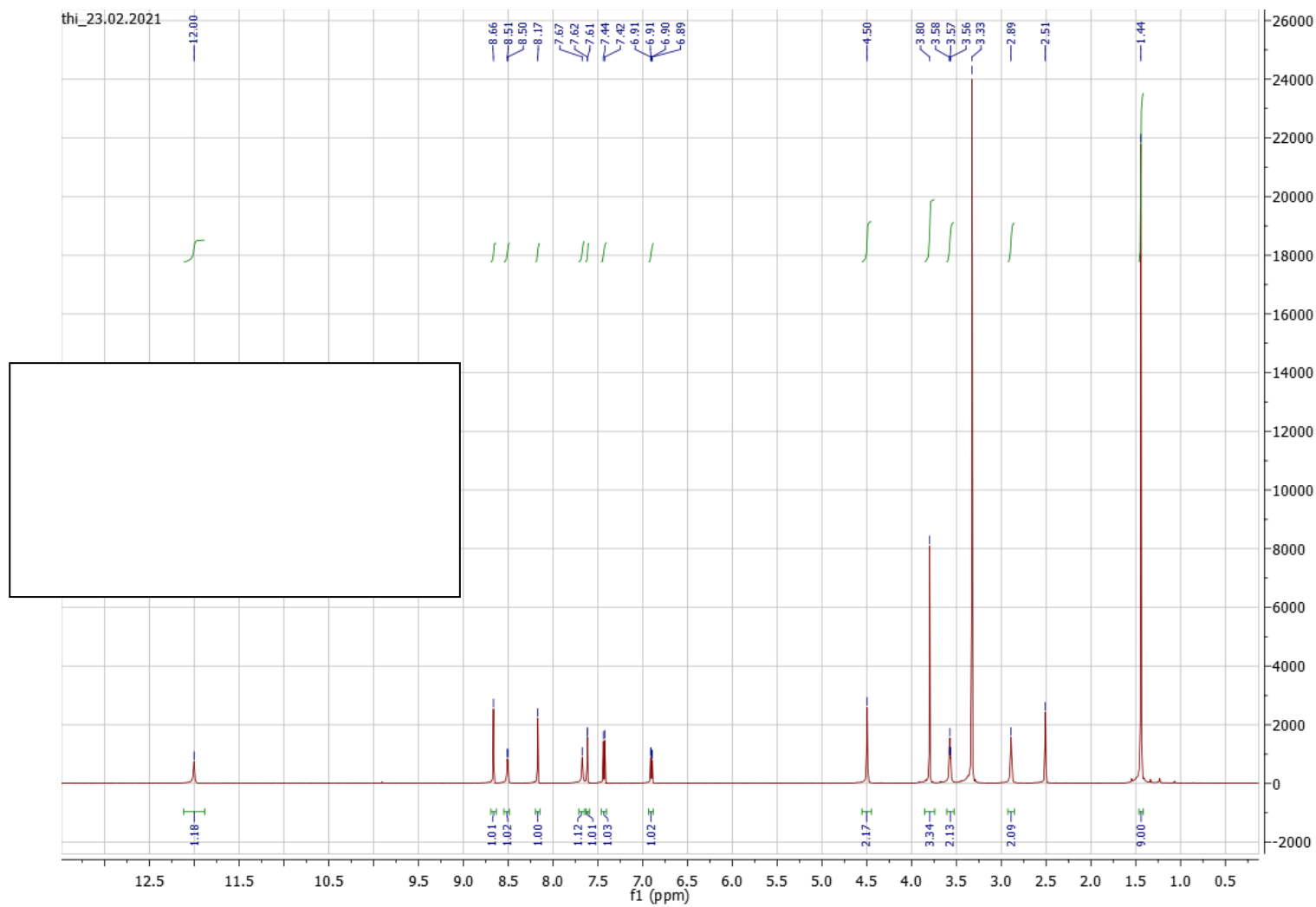
Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6BOC3



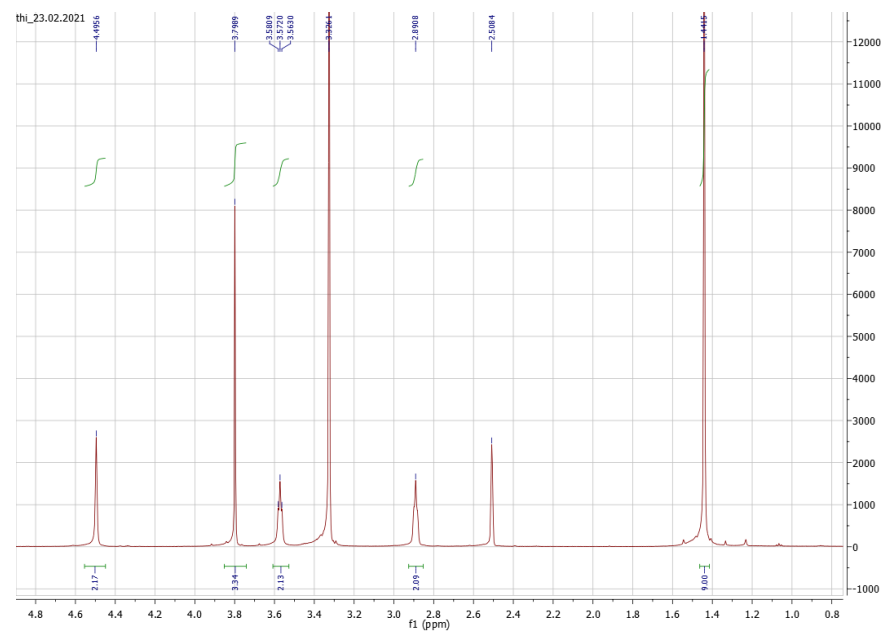
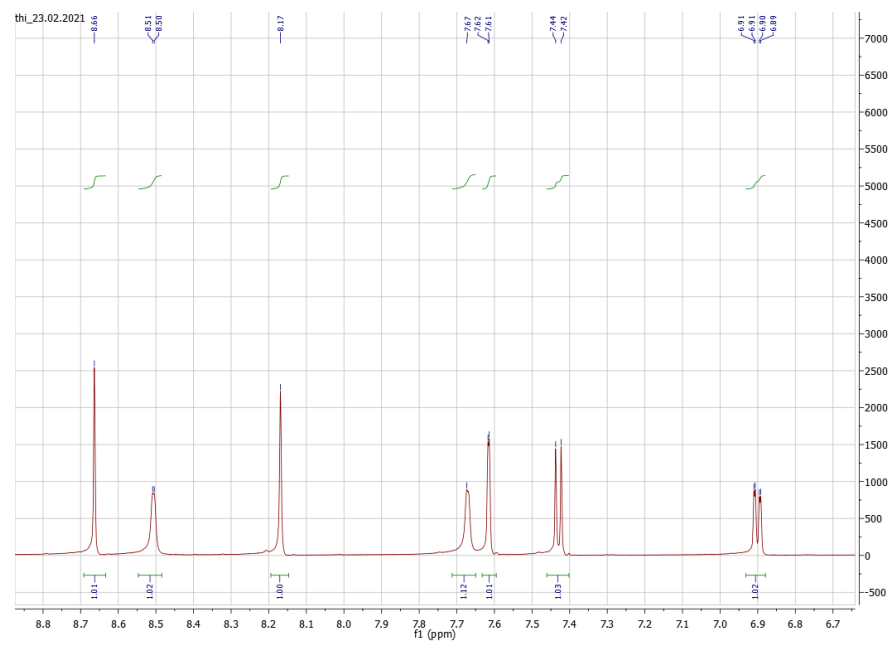
Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6BOC3



Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6BOC4



Expansões do Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 6BOC4



Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO-d₆) do composto 6BOC4

