



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA *IN VITRO* DE DERIVADOS TRIPTAMÍNICOS E β -CARBOLÍNICOS CONTENDO O ANEL 4-TIAZOLIDINONA FRENTE ÀS CÉLULAS TUMORAIS HUMANAS E AO HERPES SIMPLEX TIPO 1, E DE DERIVADOS TRIAZINOS-INDÓLICOS FRENTE À INIBIÇÃO DA DYRK1A RELACIONADA À DOENÇA DE ALZHEIMER.

Tese apresentada por **Valéria Aquilino Barbosa** ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química.



MARINGÁ, Julho de 2013.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SÍNTESE E ATIVIDADE BIOLÓGICA *IN VITRO* DE DERIVADOS TRIPTAMÍNICOS E β -
CARBOLÍNICOS CONTENDO O ANEL 4-TIAZOLIDINONA FRENTE ÀS CÉLULAS
TUMORAIS HUMANAS E AO *HERPES SIMPLEX* TIPO 1, E DE DERIVADOS
TRIAZINOS-INDÓLICOS FRENTE À INIBIÇÃO DA DYRK1A RELACIONADA À
DOENÇA DE ALZHEIMER.

Valéria Aquilino Barbosa

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Helena Sarragiotto

Orientador Estrangeiro: Prof. Dr. Boris Schmidt

Maringá, Julho de 2013.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

B238s Barbosa, Valeria Aquilino
Síntese e atividade biológica *in vitro* de derivados triptamínicos e β -carbolínicos contendo o anel 4-tiazolidinona frente às células tumorais humanas e ao *Herpes simplex* tipo 1, e de derivados triazinos-indólicos frente a inibição da DYRK1A relacionada a doença de Alzheimer / Valeria Aquilino Barbosa. -- Maringá, 2013.
xii, 230 f. : il., figs., tabs.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Maria Helena Sarragiotto.
Coorientador: Prof. Dr. Boris Schmidt.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.

1. β -carbolinas. 2. Triptaminas. 3. Tiazolidinona. 4. Triazino-indol. 5. Atividade antitumoral. 6. Atividade antiviral. 7. DYRK1A. 8. Doença de Alzheimer. I. Sarragiotto, Maria Helena, orient. II. Schmidt, Boris, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDD 21.ed. 547.2

GVS-002643



Universidade Estadual de Maringá

Centro de Ciências Exatas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Este é o exemplar definitivo da Tese apresentada por **Valéria Aquilino Barbosa**, perante a Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química em 26 de julho de 2013.


COMISSÃO JULGADORA:


.....
Profa. Dra. Maria Helena Sarragiotto
PRESIDENTE - UEM/DQI


.....
Prof. Dr. Ernani Abicht Basso
MEMBRO - UEM/DQI


.....
Profa. Dra. Fernanda Andreia Rosa
MEMBRO - UEM/DQI


.....
Profa. Dra. Mary Ann Foglio
MEMBRO - UNICAMP


.....
Prof. Dr. Lucas Pizzuti
MEMBRO - UFGD

Dedico esta tese aos meus pais Izabel e Osmauro
e aos meus irmãos Alex e Thaís
pelo amor, incentivo e ensinamentos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Izabel e Osmauro e aos meus irmãos Alexsandro e Thaís pelo amor, apoio e incentivo.

À minha orientadora e amiga profa. Dra. Maria Helena Sarragiotto pelos ensinamentos, amizade e dedicação.

Às minhas amigas-irmãs Valquíria M. Silva, Patrícia S. Santos, Elise Save, pela sincera amizade, companheirismo por fazerem parte da minha vida.

Ao meu melhor e eterno amigo George Brand pela amizade, carinho e companheirismo durante todos esses anos.

Um agradecimento especial as minhas amigas e companheiras Manuela Panice e Camila Kisukuri pela amizade e por contribuir pela concretização desse trabalho.

Aos meus companheiros queridos de laboratório Franciele, Letycia, Maria Augusta, Marcos, Juliana, Ivânia pela amizade e discussões científicas.

Aos meus amigos Lucas Gelain, Thais Garcia, Raquel Suda, Ricardo Consorte, Rafael Leite e Milton Sasaki, pelo companheirismo e amizade.

Aos profs e funcionários do Programa de Química da Universidade Estadual de Maringá.

Ao prof. Boris Schmidt, pela colaboração, experiência e ensinamentos durante o doutorado sanduíche na Alemanha.

Aos colegas Eva, Stefan, Binia, Cristhoph, Parul, Upendra, Azadhe, pela amizade e disposição em sempre ajudar durante o desenvolvimento da pesquisa na Alemanha.

A CAPES pela bolsa de estudo. Ao CNPq/DAAD pela oportunidade de realização do curso de alemão e das atividades científicas na Alemanha.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	iii
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE QUADROS	viii
LISTA DE ESQUEMAS	ix
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS	xii
ENFOQUE GERAL	1
Capítulo I.....	4
<i>Síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral e antiviral de derivados β-carbolínicos e triptamínicos contendo a unidade 4-tiazolidinona.....</i>	<i>4</i>
I 1. INTRODUÇÃO.....	5
I 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
I 2.1. Compostos β -carbolínicos e suas atividades biológicas.....	8
I 2.2. Compostos triptamínicos.....	15
I 2.3. Tiazolidinonas: atividade biológica e métodos de preparação	17
I 3. OBJETIVOS.....	25
I 3.1. Geral.....	25
I 3.2. Específicos.....	25
I 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
I 4.1. Preparação e caracterização dos compostos.....	26
I 4.1.1. Síntese e caracterização dos derivados N ³ -(2-aril-4-tiazolidinona)-triptamínicos (51 a-h).....	26
I 5. ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	46
I 5.1. Avaliação da atividade antitumoral.....	46
I 5.1.1. Atividade antitumoral das N ³ -(2-aril-4-tiazolidinona)-triptamínicos (51 a-h).....	47
I 5.1.2 Atividade antitumoral dos derivados β -carbolínicos com os grupos 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) 60 (a-g), 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) 61 (a-g, i-k), 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) 62 (b-e, g, i, k) e 3-(carbonilidrazono-3-acetoacetóxi de etila-4-tiazolidinona) 64 (a, b, f, g, i).....	52
I 5.1.3 Atividade antitumoral dos derivados 1-fenil-3-[amido-N ³ -(2-arilsubstituído-4-tiazolidinona) β -carbolinas (73 - 77, 80).	62
I 5.2. Avaliação da atividade antiviral.....	65
I 5.2.1. Avaliação da atividade antiviral dos derivados N ³ -(2-aril-4-tiazolidinona)-triptamínicos (51 a-h).....	65
I 5.2.2 Avaliação da atividade antiviral para os derivados β -carbolínicos com os grupos 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) (60a-g) 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) (61a-g, k) e 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) (62 b-e, g, k).....	67

I 5.2.3. Avaliação da atividade antiviral para os derivados da série 1-fenil-3-[amido-N ³ -(2- arilssubstituído-4-tiazolidinona) β-carbolinas (73-75 e 80)	69
I 6. PARTE EXPERIMENTAL	73
I 6.1. Instrumentação	73
I 6.2. Materiais e Métodos	73
I 6.3. Síntese dos compostos	74
I 6.3.1. Síntese das N ³ -(2'-aril-4-tiazolidinona)-triptaminas 51 (a - h).....	74
I 6.3.2. Síntese do triptofano metil-éster 53	75
I 6.3.3. Síntese das cis + trans 1-(aril-substituído)-3-carbometóxi-tetraidro-β-carbolinas 54 (a-g, i-k)	76
I 6.3.4. Síntese das 1-(aril-substituído)-3-carbometóxi-β-carbolinas 55 (a-g, i-k).....	77
I 6.3.6. Síntese das 1-fenilssubstituídos-β-carbolina-3-tiossemicarbazidas 57 (a - g).....	78
I 6.3.7. Síntese das 1-aril-β-carbolina-3-tiossemicarbazidas 58 (a-g, i-k) e 59 (b - e, g, i, k)	79
I 6.3.8. Síntese das β-carbolinas com os grupos 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) (60 a-g) 3- (carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) (61 a-g, i-k) e 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) (62 b - e, g, i k)	80
I 6.3.9. Síntese de 1-(p-hidróxifenil)-3-(2-N'-fenil-1,3,4-oxadiazolil)-β-carbolinas (63)	81
I 6.3.10 Síntese das 1-fenilssubstituídas-3-(carbonilidrazono-3'-acetoacetóxi de etila-4'- tiazolidinona)-β-carbolinas 64 (a, b, f, g, i).....	82
I 6.3.11. Síntese das N'-arilideno-(1-fenilssubstituído)-β-carbolinas-3-carboidrazidas 65 – 72.	83
I 6.3.12. Síntese das 1-fenilssubstituído-3-carboidrazida-N'-(2-arilssubstituído-4-tiazolidinona)-β- carbolinas (73 – 80).....	83
I 6.4. PROCEDIMENTOS GERAIS PARA OS ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	84
I 6.4.1. Atividade Antitumoral	84
I 6.4.2. Atividade Antiviral.....	86
I 7. CONCLUSÕES.....	87
Capítulo II	89
<i>Síntese e avaliação da atividade anti-Alzheimer de derivados triazino-indólicos</i>	89
II 1. INTRODUÇÃO.....	90
II 1.1. Doença de Alzheimer	90
.....	90
.....	90
II 1.2. Gênese e o tratamento da Doença de Alzheimer	91
.....	94
.....	94
.....	97
II 2. OBJETIVOS.....	100
II 3. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	101
II 3.1. Síntese e caracterização dos derivados 8-metóxi-5-alquil/benzil-[1,2,4]-triazino-indol-3- tiossubstituídos 96 (a – d) e 100 (a, b)	101
II 3.1.1. Síntese e caracterização dos derivados 7-metóxi-[1, 2, 4]-triazino-indol-3-tiossubstituídos 108 (a, b) e 112 (a, b).....	102

II 4. DOCKING MOLECULAR.....	105
II 4.1. <i>Docking</i> Molecular dos derivados sintetizados.....	105
II 5. ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	109
II 5.1. Atividade frente à inibição da quinase Dyrk1A.....	109
II 6. PARTE EXPERIMENTAL.....	111
II 6.1. Sínteses dos compostos.....	111
II 6.1.1. Síntese dos intermediários metóxi-(2-oxoindolin-3-ilideno)-tiossemicarbazona, 94, 98 (a,b), 106 e 110 (a,b).....	111
II 6.1.2. Síntese dos intermediários metóxi-triazino-indol-3-tiossubstituídos 95, 99 (a, b), 107 e 111 (a, b).....	111
II 6.1.3 Síntese dos derivados metóxi-triazino-indol-3-tiolssubstituídos 96 (a-d), 100 (a, b), 108 (a, b) e 112 (a, b).....	112
II 6.1.4. Síntese dos derivados metóxi-isatina N-alkilado 97 (a, b) e 109 (a, b).....	113
II 7. CONCLUSÕES.....	115

RESUMO

Síntese e atividade biológica *in vitro* de derivados triptamínicos e β -carbolínicos contendo o anel 4-tiazolidinona frente às células tumorais humanas e ao Herpes simplex tipo 1 e, de derivados triazino-indólicos frente à inibição da DYRK1A relacionada à Doença de Alzheimer

Palavras chaves: β -carbolinas, triptamínas, tiazolidinona, triazino-indol, atividade antitumoral, atividade antiviral, DYRK1A, Doença de Alzheimer

Apesar dos avanços no tratamento do câncer, muitos dos medicamentos disponíveis têm-se mostrado incapazes de erradicar as células cancerosas sem afetar tecidos normais. Em paralelo, a incidência de viroses tem aumentado em todo o mundo, sendo que antibióticos e outros agentes antimicrobianos são pouco eficazes, uma vez que as viroses mimetizam as funções biológicas das células hospedeiras. Da mesma forma, os medicamentos utilizados atualmente no tratamento da Doença de Alzheimer (DA) causam diversos efeitos colaterais, além de ter o efeito minimizado, em pouco tempo de uso, em muitos pacientes. Na busca de novos medicamentos para estas doenças, compostos com diferentes núcleos têm sido explorados, dentre eles, derivados triptamínicos, β -carbolínicos e triazino-indólicos. A importância da descoberta de novos agentes antitumorais e antivirais mais eficazes, com baixa citotoxicidade e maior especificidade, bem como, de novos compostos que possam retardar e/ou minimizar os sintomas causados pela Doença de Alzheimer, associado à potencialidade de compostos triptamínicos, β -carbolínicos e triazino-indólicos, nos levou o desenvolvimento do presente trabalho. Na primeira parte do trabalho, realizamos a síntese e avaliação da atividade *in vitro*, frente às linhagens de células tumorais humanas e ao vírus *Herpes simplex* tipo 1, de uma série de derivados triptamínicos e β -carbolínicos, tendo acoplado à suas estruturas o anel 4-tiazolidinona. Os derivados 4-tiazolidinona-triptamínicos (**51a-h**) foram sintetizados a partir da condensação 'one pot' da triptamina, ácido mercaptoacético e diferentes aldeídos aromáticos, empregando-se DCC em THF (Metodologia A) ou DMF, sob irradiação de microondas (Metodologia B). As séries de derivados betacarbolínicos **60-62**, **64** e **73-80** foram obtidas a partir das 1-fenilsubstituído- β -carbolina-3-carboidrazidas (**56**), intermediários estes comuns a todas as séries. Os intermediários **54**, por sua vez, foram preparados pela condensação de Pictet Spengler, catalisada por ácido, do L-triptofano esterificado com aldeídos aromáticos contendo

substituintes doadores ou retiradores de elétrons, seguido pela oxidação das tetraido- β -carbolinas (**54**) com enxofre, em xileno, resultando nas β -carbolinas (**55**). A reação de **55** com hidrazina hidratada forneceu os intermediários desejados **56**. As séries de derivados 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona)- β -carbolínicos **60**, **61** e **62** foram obtidas através da reação de **56** com tiocianato de potássio, etilisotiocianato e fenilisotiocianato, respectivamente, seguido da reação das tiossemicarbazidas correspondentes obtidas com bromoacetato de etila, na presença de acetato de sódio e hidróxido de potássio. Com excesso de bromoacetato de etila, na etapa de condensação das tiossemicarbazidas **57** obteve-se os derivados da série **64**, contendo o grupo acetoacetóxi de etila ligado ao nitrogênio do anel 4-tiazolidinona. Os derivados β -carbolínicos da série 3-[amido-(2-*aril*substituído-4-tiazolidinona)] **73** – **80** foram preparados pela reação dos intermediários imínicos (**65-72**) com ácido mercaptoacético, na presença de ácido *p*-toluenossulfônico, em tolueno. Todos os compostos obtidos foram caracterizados através da análise de seus dados espectroscópicos de RMN de ^1H de ^{13}C , COSY e HMQC. Os resultados dos ensaios de atividade biológica *in vitro* mostraram que vários dos derivados triptamínicos e β -carbolínicos sintetizados apresentaram potente atividade frente ao vírus *Herpes simplex* tipo 1 e frente a diversas linhagens de células tumorais humanas testadas. A segunda parte desse trabalho, desenvolvida na Technische Universität Darmstadt, na Alemanha, como parte do doutorado sanduíche, visou a síntese e avaliação da atividade inibitória da enzima DYRK1A, que constitui um alvo terapêutico para a Doença de Alzheimer, de séries de derivados [1,2,4]-triazino-indol-3-tiossubstituídos, contendo um grupo metoxila no anel benzênico da unidade indólica. As séries de derivados 7- e 8-metóxi-triazino-indol-3-tiossubstituídos (**96** e **108**) foram obtidos a partir da reação da 5- e 6-metóxi-isatina (**93** e **105**) com tiossemicarbazida, seguido da reação das tiossemicarbazidas correspondentes com carbonato de potássio, em água, para a formação do anel triazino-indolo-3-tiol. Posterior reação dos triazino-indolo-3-tióis **95**, **99**, **107** e **111** obtidos, com brometos ou iodetos de alquila ou benzila em DMF forneceu os derivados 7- e 8-metóxi-triazino-indol-3-tiossubstituídos. Para a obtenção das séries de derivados 7- e 8-metóxi-triazino-indólicos contendo o S- e N-alkilados (**100**, **108** e **112**), primeiramente fez-se a alquilação no nitrogênio indólico de **93** e/ou **105** e seguiu-se a mesma rota sintética empregada para a obtenção de **96** e **108**. Os compostos sintetizados foram submetidos a estudos de Docking molecular e aqueles que apresentaram uma boa interação com a proteína DYRK1A foram avaliados quanto a atividade de inibição desta proteína. Dentre os compostos avaliados, os que possuem o grupo metoxila na posição-7 do anel benzênico do núcleo indólico, apresentaram mais de 50% de inibição proteína DYRK1A.

ABSTRACT

Synthesis and biological in vitro activity of tryptamines and β -carbolines derivatives containing the 4-thiazolidinone ring against human tumor cells and the Herpes simplex type 1 virus and, triazinos-indole for inhibition of DYRK1A related to Alzheimer's disease

Keywords: β -carbolines, tryptamines, thiazolidinone, triazino-indole, anti-tumoractivity, anti-viral activity, DYRK1A, Alzheimer's disease

Despite the advances in the treatment of the cancer, many of available medicines are not capable to eradicate the cancerous cells without affecting normal tissues. Also, no vaccine or effective antiviral drugs are currently available for prevention/treatment of many viral infections. In the same way, the medicines currently used in the treatment of the Alzheimer's disease (AD) cause several collateral effects, and have their effects minimized, in little time of use, in many patients. In the search for novel agents to treat these diseases, compounds with different skeleton have been explored, among them, triptamine, β -carboline and triazine-indole derivatives. The importance of the discovery of new antitumor and antiviral agents with more efficacy, low cytotoxicity and greater specificity, as well as, of new compounds that can retard and/or minimize the symptoms of the Alzheimer's disease, associated to the potentiality of triptamine, β -carboline and triazine-indole derivatives, led us to the development of the present work. . In the first part of the work, we carried out the synthesis and evaluation of the activity *in vitro*, towards human cancer cells lines and to the virus *Herpes simplex* type 1, of a series of tryptamine and β -carboline derivatives, having a 4-thiazolidinone ring coupled to its structures. The synthesis of N³-(2-phenylsubstituted-4-thiazolidinone)-tryptamine derivatives (**51 a-h**) was carried out *via* one-pot three-component condensation involving tryptamine, α -mercaptoacetic acid and appropriate aromatic aldehydes, by employing *N,N*-dicyclohexyl carbodiimide (DCC), in THF, as coupling agent (Methodology A) or a microwave-assisted condensation, using DMF as solvent (Methodology B). The synthetic routes for the β -carboline derivatives **60-62**, **64**, and **73-80** involved the preparation of the 1-(substituted phenyl)- β -carboline-3-carbohydrazides (**56**), which are the synthetic intermediate for all series of desired derivatives. For this, the methyl tetrahydro- β -carboline-3-carboxylates **54** were prepared through Pictet-Spengler condensation of L-tryptophan methyl ester with appropriate aromatic aldehydes in acid media, and subsequent oxidized with sulfur, under xylene reflux, to furnish the methyl β -carboline-3-carboxylates

(55). Conversion of **55** to 1-(substituted phenyl)- β -carboline-3-carbohydrazides **56** was carried out by reaction with hydrazine hydrate in ethanol. The series of 3-(carbonilhidrazono-4-thiazolidinone)- β -carboline derivatives **60**, **61** and **62** were obtained through the reaction of **56** with potassium thiocyanate, ethyl isothiocyanate and phenyl isothiocyanate, respectively, followed by the reaction of corresponding thiosemicarbazides with ethyl bromoacetate, in presence of sodium acetate and potassium hydroxide. With excess of ethyl bromoacetate in the condensation step of the thiosemicarbazides **57**, a new series of derivatives (**64**), containing an ethyl acetoacetoxy group on the nitrogen of 4-thiazolidinone ring, was obtained. The derivatives of the 3-[amide-(2-substituted phenyl-4-thiazolidinone)] series (**73 – 80**) were prepared by the reaction of the imine intermediates **65-72** with mercaptoacetic acid, in the presence of *p*-toluenesulfonic acid, under reflux in toluene. All the synthesized compounds were characterized through the analysis of its spectroscopic data of RMN ^1H , ^{13}C , COSY and HSQC. The results of the biological assays *in vitro* showed that various of the synthesized tryptamine and β -carboline derivatives presented potent activity towards the virus *Herpes simplex* type 1 and against diverse human cancer cells lines tested. The second part of this work, developed in the Technische Universität Darmstadt, in Germany, as part of the doctoral sandwich, aimed the synthesis and evaluation of the inhibitory activity of DYRK1A of a series of 3-thiosubstituted -[1,2,4]-triazino-indole derivatives containing a methoxyl group in the benzenic ring of the indole unit. The series of 7- and 8-methoxy-3-thiosubstituted-triazino-indole derivatives (**96** and **108**) were obtained from the reaction of 5- and 6-methoxyisatin (**93** and **105**) with thiosemicarbazide, followed by the reaction of thiosemicarbazones corresponding with potassium carbonate, in water, for the formation of the triazino-3-thiol ring. Further reaction of the triazino-indolo-3-thiols **95**, **99**, **107** and **111** with alkyl or benzyl bromides in DMF afforded the 7- and 8-methoxy-3-thiosubstituted-triazino-indole **96**, **100**, **108** and **112**. For the preparation of derivatives 7- and 8-methoxy-triazino-indole S- and N-alkylated (**100**, **108** and **112**), firstly was necessary the alkylation of the indole nitrogen of **93** and **105**, and the synthetic route used was the same that those for the preparation of **96** and **108**. The synthesized compounds were submitted to the Molecular *Docking* studies and those that presented a good interaction with protein DYRK1A were evaluated for the inhibitory activity of this protein. Among the evaluated compounds, those possessing the methoxy group at position-7 of the benzene ring presented more than 50% of inhibition of the protein DYRK1A.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura I 1. Estruturas químicas de derivados triptamínicos e do aminoácido triptofano.....	6
Figura I 2. Estrutura química do anel 4-tiazolidinona	7
Figura I 3. Estruturas químicas dos alcaloides β -carbolínicos.	9
Figura I 4. Numeração dos átomos do anel β -carbolínico (3).	10
Figura I 5. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de 51a em CDCl_3	27
Figura I 6. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ (75,5 MHz) de 51a em CDCl_3	28
Figura I 7. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de 60b em DMSO.	32
Figura I 8. Espectro de RMN de ^{13}C (75,5 MHz) de 60b em DMSO.	33
Figura I 9. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de 61a em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$	34
Figura I 10. Espectro de RMN de ^{13}C DEPT (75,5MHz) de 61a em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$	34
Figura I 11. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de 62b em DMSO.	35
Figura I 12. Espectro de RMN de ^{13}C DEPT (75,5MHz) de 62b em DMSO.	35
Figura I 13. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de 63 em DMSO.	37
Figura I 14. Espectro de RMN de ^{13}C DEPT (75,5MHz) de 63 em DMSO.	37
Figura I 15. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de 64b em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$	39
Figura I 16. Espectro de RMN de ^{13}C (75,5 MHz) de 64b em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$	39
Figura I 17. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de 79 em $\text{DMSO-}d_6$	39
Figura I 18. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ (75,5 MHz) de 79 em $\text{DMSO-}d_6$	44
Figura I 19. Gráfico de concentração <i>versus</i> porcentagem de crescimento celular para o controle positivo – doxorrubicina - no ensaio de atividade antitumoral.	45
Figura I 20. Gráfico de concentração <i>versus</i> porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado 51f	46
Figura I 21. Gráfico de concentração <i>versus</i> porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado 51a	46
Figura I 22. Gráfico de concentração <i>versus</i> porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado 51c	47

Figura I 23. Gráfico de concentração <i>versus</i> porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado 51g .	49
Figura I 24. Gráfico de concentração <i>versus</i> porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado 51d .	49
Figura I 25. Gráfico de concentração <i>versus</i> porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado 51e .	49
Figura I 26. Gráfico de concentração <i>versus</i> porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado 60f .	50
Figura I 27. Gráfico de concentração <i>versus</i> porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado 60d .	51
Figura I 28. Gráfico de concentração <i>versus</i> porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado 60a .	51
Figura I 29. Gráfico da concentração <i>versus</i> porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado 61a .	53
Figura I 30. Gráfico da concentração <i>versus</i> porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado 61f .	54
Figura I 31. Gráfico da concentração <i>versus</i> porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado 61b .	54
Figura I 32. Gráfico da concentração <i>versus</i> porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado 62c .	56
Figura I 33. Gráfico da concentração <i>versus</i> porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado 64g .	58
Figura I 34. Gráfico da concentração <i>versus</i> a porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado 73 .	61
Figura I 35. Gráfico da concentração <i>versus</i> a porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado 75 .	61

Capítulo II

Figura II 1. As placas e emaranhados, em azul, tendem a se espalhar pelo cérebro, conforme o avanço da doença.	87
---	-----------

Figura II 2. Exemplos de células nervosas com placas e emaranhados neurofibrilares (figura maior) e células nervosas normais (figura menor).	89
Figura II 3. Estrutura da acetilcolina.	90
Figura II 4. Estudo de <i>Docking</i> para os compostos 86 e 87	94
Figura II 5. Derivado 96b no sítio da proteína DYRK1A.	104
Figura II 6. Derivado 96b (em amarelo) sobreposto com a harmina 2 (verde).	104
Figura II 7. Harmina 2 (em amarelo) no sítio da proteína DYRK1A.	105

LISTA DE QUADROS

Capítulo I

- Quadro I 1.** Exemplos de compostos β -carbolínicos com heterociclo na posição-3 e seus respectivos valores de GI_{50} frente às células tumorais humanas. **04**
- Quadro I 2.** Estruturas químicas dos compostos conhecidos como “Triptans” **23**
- Quadro I 3.** Exemplos de reações que ocorrem no anel 4-tiazolidinona..... **23**

Capítulo II

- Quadro II 1.** Inibidores de AChE utilizados no tratamento da DA. **91**
- Quadro II 2.** Inibidores conhecidos da DYRK1A. **93**

LISTA DE ESQUEMAS

Capítulo 1

Esquema I 1. Formação dos regioisômeros de 4-tiazolidinona.	20
Esquema I 2. Rota sintética para a obtenção de 4-tiazolidinonas e 1, 3,4-oxadiazóis.	20
Esquema I 3. Métodos de obtenção de 4-Tiazolidinona	21
Esquema I 4. Rota Sintética para obtenção dos derivados N ³ -(2-aryl-4-tiazolidinona)-triptamínicos (51 a-h).	25
Esquema I 5. Mecanismo proposto para obtenção dos derivados 51 (a-h) com emprego de DCC via metodologia A.	26
Esquema I 6. Rota sintética para obtenção dos derivados 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona)- β -carbolínicos (60 61 e 62).	29
Esquema I 7. Mecanismo para a condensação de Pictet Spengler.	30
Esquema I 8. Mecanismo para a formação do anel 4-tiazolidinona.	31
Esquema I 9. Obtenção do derivado 1,3,4-oxadiazol (63).	36
Esquema I 10. Mecanismos para a formação do anel 1,3,4-oxadiazol substituído.	36
Esquema I 11. Rota sintética para obtenção dos derivados β -carbolínicos 4-tiazolidinonas N-alkilados (64a, b, f, g, i).	38
Esquema I 12. Reação “one pot” para obtenção das 4-tiazolidinonas β -carbolinas 73-80	40
Esquema I 13. Rota sintética para obtenção dos derivados β -carbolínicos 3-[amido-(2-fenilssubstituído-4-tiazolidinona)] 73 – 80	42

Capítulo 2

Esquema II 1. Rota sintética para preparação dos derivados 8-metóxi-5-alkil/benzil-[1,2,4]-triazino-indol-3-tiossubstituídos 96 e 100	98
Esquema II 2. Reação de Sandmeyer para obtenção do núcleo isatina 101	99
Esquema II 3. Obtenção 5-metóxi-isatina 105	100
Esquema II 4. Rota sintética de obtenção dos derivados triazinos alkilados ou benzilados 108 e 1012	101

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela I 1. Reagentes e condições para obtenção do núcleo tiazolidinona.	41
Tabela I 2. Valores de GI ₅₀ (μM) obtidos nos ensaios de avaliação da atividade antitumoral dos compostos (51a-h).	49
Tabela I 3. Valores de GI ₅₀ (μM) obtidos nos ensaios da atividade antitumoral para os derivados β-carbolínicos com o grupo 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) 60(a-g)	52
Tabela I 4. Valores de GI ₅₀ (μM) obtidos nos ensaios da atividade antitumoral para os derivados β-carbolínicos com o grupo 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) 61(a-g, i-k)	55
Tabela I 5. Valores de GI ₅₀ (μM) obtidos nos ensaios da atividade antitumoral para os derivados β-carbolínicos com o grupo 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) 62(b-e, g, i, k)	57
Tabela I 6. Valores de GI ₅₀ (μM) obtidos nos ensaios da atividade antitumoral para os derivados β-carbolínicos com o grupo3-(carbonilidrazono-3-acetoacetóxi de etila-4-tiazolidinona) 64 (a, b, g, i)	59
Tabela I 7. Valores de GI ₅₀ (μM) obtidos nos ensaios de avaliação da atividade antitumoral dos derivados 73 – 77, 80	62
Tabela I 8. Atividade HSV-1 (EC ₅₀), citotoxicidade (CC ₅₀) e do índice de seletividade (IS) dos compostos que apresentaram resultados significativos da série N ³ -(2-aril-4-tiazolidinona)-triptamínicos (51 a-h).	64
Tabela I 9. Atividade HSV-1 (EC ₅₀), citotoxicidade (CC ₅₀) e do índice de seletividade (IS) dos compostos que apresentaram resultados significativos dos derivados da série 60, 61 – 644	66
Tabela I 10. Atividade HSV-1 (EC ₅₀), citotoxicidade (CC ₅₀) e índice de seletividade (IS) dos compostos 73-77 e 80	69
Tabela I 11. Dados e rendimentos dos derivados 51 (a-k)	71
Tabela I 12. Dados e rendimentos dos derivados 54 (a-g, i-k)	73
Tabela I 13. Dados e rendimentos dos derivados 55 (a-g, i-k)	74
Tabela I 14. Dados e rendimentos dos derivados 56 (a-g, i-k)	75
Tabela I 15. Dados e rendimentos de 57 (a - g)	76
Tabela I 16. Dados dos derivados 58 e 59	77

Tabela I 17. Rendimentos dos derivados 60, 61 e 62.	78
Tabela I 18. Dados e rendimento do composto 63.	79
Tabela I 19. Dados e rendimento dos derivados 64 (a, b, f, g, i).	79
Tabela I 20. Dados e rendimento dos derivados 65 – 72.	80
Tabela I 21. Dados e rendimento dos derivados 73-80.	81

Capítulo II

Tabela II 1. Resultados com base nos estudos de Docking Molecular dos derivados sintetizados. 103	
Tabela II 2. Avaliação da atividade inibitória da quinase DYRK1A (%).	109
Tabela II 3. Rendimentos obtidos para os compostos 94, 98(a,b), 100 e 110(a,b).	111
Tabela II 4. Rendimentos obtidos dos compostos 95, 99(a, b), 107 e 111(a, b).	112
Tabela II 5. Rendimentos obtidos para os compostos 96(a-d), 100(a, b), 108(a, b) e 112(a, b).	113
Tabela II 6. Rendimentos obtidos dos compostos 97(a, b) e 109(a, b).	114

LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS

Ach	Acetilcolina
CPQBA	Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CC₅₀	Concentração da droga que amta 50% das células (citotóxica)
COSY	H-H correlation spectroscopy
DA	Doença de Alzheimer
D	Dupleto
Dd	Duplo Dupleto
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetilsulfóxido
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IV	Infravermelho
IC₅₀	Concentração do fármaco que causa a inibição de 50% do crescimento celular
J	Constante de acoplamento
M	Multiplete
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
SFB	Soro fetal bovino
SRB	Sulforodamina B
SD	Síndrome de Down
S	Simpleto
SI	Simpleto Largo
T	Triplete
TFA	Ácido Trifluoroacético
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
Δ	Deslocamento Químico
δ_H	Deslocamento Químico de Hidrogênio
δ_C	Deslocamento Químico de Carbono-13

ENFOQUE GERAL

O câncer continua sendo uma das principais causas de morte em todo o mundo. Um relatório (World Câncer Report - Relatório Mundial sobre Câncer 2008) divulgado em dezembro de 2008 pela Organização Mundial da Saúde cita que sete milhões de pessoas no mundo morrem a cada ano e 12 milhões se tornam portadoras da doença. Os especialistas na área também prevêem um acréscimo na incidência de câncer no Brasil para os próximos anos. Apesar dos avanços no tratamento, muitos dos medicamentos disponíveis têm-se mostrado incapazes de erradicar as células cancerosas sem afetar tecidos normais. Além disto, alguns tumores são resistentes aos medicamentos existentes. Devido a isto há a necessidade do desenvolvimento de novos compostos que possam ser usados como agentes quimioterápicos mais eficazes e específicos, com menor toxicidade e melhor tolerabilidade ^{1, 2}.

Em paralelo, as viroses também têm apresentado dados alarmantes no Brasil. Vírus são agentes infecciosos bastante diminutos e como são destituídos de células só tem metabolismo quando estão no interior de células hospedeiras específicas. Na espécie humana há uma grande variedade de doenças causadas por vírus que estão dentre as mais simples como, catapora, rubéola, sarampo, varíola, poliomielite e raiva, as quais se encontram erradicadas ou em metas de erradicação, como também herpes, dengue, febre amarela, gripe, caxumba, hepatites e AIDS. Antibióticos e outros agentes antimicrobianos são pouco eficazes, uma vez que as viroses mimetizam as funções biológicas das células hospedeiras. Certos compostos orgânicos sintéticos como aciclovir e azidotimidina (AZT), por exemplo, inibem seletivamente o crescimento de células infectadas. Nesse sentido a química tem sido de imenso valor no combate às viroses que necessitam de novos fármacos específicos para o tratamento dessas doenças ^{3, 4, 5}.

¹ Pérez-Herrero, E.; Fernández-Medarde, A.; *Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 93, p. 52, **2015**.

² Instituto Nacional de Câncer (Brasil). *ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer* / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: Inca, **2011**.

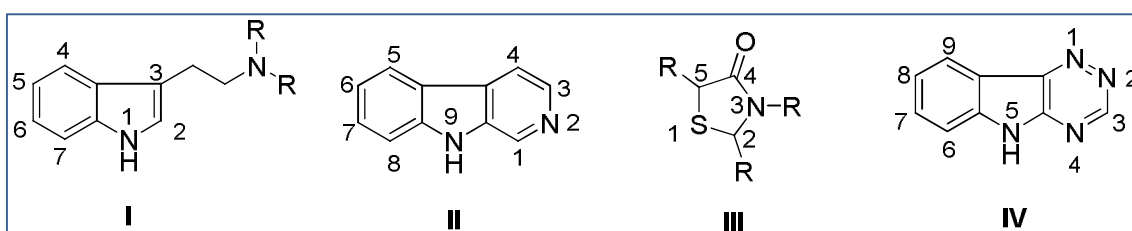
³ Klumpp, K. and Crépin, T.; *Capsid proteins of enveloped viruses as antiviral drug targets*. Current Opinion in Virology, 5, p. 63, **2014**.

⁴ Laxminarayan, R.; Duse, A.; Wattal, C.; Zaidi, A. K. M.; Wertheim, H. F. L.; Sumpradi, N.; Vlieghe, E.; Hara, G. L.; Gould, I.; Goossens, H.; Greko, C.; So, A. D.; Bigdeli, M.; Tomson, G.; Woodhouse, W.; Ombaka, E.; Peralta, A. Q.; Qamar, F. N.; Mir, F.; Kariuki, S.; Bhutta, Z. A.; Coates, A.; Bergstrom, R.; Wright, G. D.; Brown, E. D.; Cars, O.; *Antibiotics resistance – the need for global solutions*. The Lancet Infectious Diseases Commission, 13, p. 1057, **2014**.

⁵ Brito, M. A.; Cordeiro, B. C.; *Necessidade de novos antibióticos*. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 48, n. 4, p. 247, **2012**.

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença degenerativa progressiva e irreversível sendo um dos maiores problemas de demência. A DA é a principal causadora de distúrbios cognitivos afetando principalmente os idosos. Os medicamentos utilizados atualmente causam diversos efeitos colaterais, além de ter o efeito minimizado em pouco tempo de uso por muitos pacientes ⁶.

Na busca de novos agentes potenciais para estas doenças, derivados com diferentes núcleos têm sido explorados, dentre eles, derivados contendo o esqueleto triptamínico (I) e β -carbolínicos (II) contendo o anel 4-tiazolidinona (III) acoplado a esses esqueletos, e triazino-indóis (IV).



Trabalhos descritos na literatura tem demonstrado que compostos contendo o esqueleto β -carbolínico, os quais constituem uma ampla classe de produtos naturais e sintéticos, apresentam uma vasta gama de atividades farmacológicas, incluindo atividade antitumoral e antiviral ^{7, 8}. Alcalóides triptamínicos constituem outra classe de compostos com importantes propriedades biológicas, dentre elas, atividade antiviral ⁹.

A obtenção de compostos constituídos do núcleo triazino-indól tem instigado grande interesse de muitos pesquisadores visto que estruturas contendo esse anel têm apresentado

⁶ Anumala, H. R.; Gu, J.; Monte, F. L.; Kramer, T.; Haußen, R. H.; Hölzer, J.; Goetschy-Meyer, V.; Schön, C.; Mall, G.; Hilger, I.; Czech, C.; Schmidt, B.; *Fluorescent rhodanine-3-acetic acids visualize neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease brains*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 21, p. 5139, **2013**.

⁷ Formagio, A. S. N.; Tonin, L. T. D.; Foglio, M. A.; Madjarof, C.; Carvalho, J. E.; Costa, W. F.; Cardoso, F. P.; Sarragiotto, M. H.; *Synthesis and antitumoral activity of novel 3-(2-substituted-1,3,4-oxadiazol-5-yl) and 3-(5-substituted-1,2,4-triazol-3-yl) beta-carboline derivatives*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, n. 22, p. 4695, **2008**.

⁸ Formagio, A. S. N.; Santos, P. R.; Zanolli, K.; Ueda-Nakamura, T.; Tonin, L. T. D.; Nakamura, C. V.; Sarragiotto, M. H.; *Synthesis and antiviral activity of beta-carboline derivatives bearing a substituted carbonylhydrazide at C-3 against poliovirus and herpes simplex (HSV-1)*, *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 44, n. 11, p. 4695, **2009**.

⁹ Qu, S.; Wang, G.; Duan, W.; Yao, S.; Zuo, J.; Tan, C.; Zhu, D.; *Tryptamine derivatives as novel non-nucleosidic inhibitors against hepatitis B virus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19, p. 3120, **2011**.

uma gama de propriedades biológicas tais como antiviral¹⁰, anti-inflamatória¹¹, antimalária¹², antimicrobiana¹³, antitumoral¹⁴ e hepatoprotetora¹⁵.

A importância da descoberta de novos agentes antitumorais e antivirais mais eficazes, com baixa citotoxicidade e maior especificidade, bem como agentes ativos frente a DA, visando retardar e/ou minimizar os sintomas causados por esta doença, associados à potencialidade de compostos triptamínicos, β -carbolínicos e triazino-indólicos, nos levou o desenvolvimento do presente trabalho, o qual se encontra apresentado em dois capítulos.

No Capítulo I estão descritos os estudos relativos à síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral em linhagens de células tumorais humanas, e da atividade antiviral, frente ao vírus *Herpes simplex I*, de derivados triptamínicos e β -carbolínicos contendo a unidade 4-tiazolidinona acoplada a esses esqueletos.

O Capítulo II refere-se a uma parte do trabalho de doutorado sanduíche desenvolvido na Alemanha com objetivo de sintetizar compostos ativos contra a Doença de Alzheimer. Nessa parte do trabalho foram sintetizados triazino-indóis, com intuito de avaliar a atividade destes frente à enzima DYRK1A, que constitui um alvo terapêutico para a Doença de Alzheimer. Para os compostos triazino-indólicos sintetizados foi realizado também um estudo de *Docking Molecular* com intuito de se verificar a interação destes com a enzima DYRK1A.

¹⁰ Gladych, J. M. Z.; Homby, R.; Hunt, J. H.; Jack, D.; *Antiviral Agents. 5H-as-Triazino[5,6-b] indoles*. Journal of Medicinal Chemistry, v. 15, n. 3, **1972**.

¹¹ Tomchin, A. B.; Uryupov, O. Yu.; Smirnov, A. V.; *Transformations, and Pharmacological Activity. Part III. Antihypoxo and Antiinflammatory Activity of 1,2,4-Triazino[6,5-b]Indole derivatives*. Pharmaceutical Chemistry Journal, v. 31, n. 12, **1997**.

¹² Kgotong, J. L.; Smith, P. P.; Matsabisa, G. M.; *1,2,4-Triazino-[5,6-b]indole derivatives: effects of the trifluoromethyl group on in vitro antimalarial activity*, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 13, p. 2935, **2005**.

¹³ Holla, B. S.; Udupa, K. V.; *Synthesis of Novel 5-Mercapto-s-triazolo[3,4-c]-as-triazino[5,6-b]indoles and Their Manich Bases*, Heterocycles, v. 32, n. 6, p. 1081, **1991**.

¹⁴ Eshba, N. H.; Salama, H. M.; Labouta, I. M.; Omar, A. M.; *Synthesis of some substituted-1,2,4-triazino[5,6-b]indole derivatives as potencial antiviral and anticancer agents*, Pharmazie, 42, p. 664, **1987**.

¹⁵ Tomchin, A. B.; Okovityi, S. V.; Velezheva, V. S.; Smirnov, A. V.; *Thiourea and thiosemicarbazide derivatives: structure, transformations, and pharmacological activity. Hepatoprotective effect of triazino and imidazoindoles*, Pharmaceutical Chemistry Journal, v. 32, n. 7, **1998**.

Capítulo I

Síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral e antiviral de derivados β -carbolínicos e triptamínicos contendo a unidade 4-tiazolidinona

I 1. INTRODUÇÃO

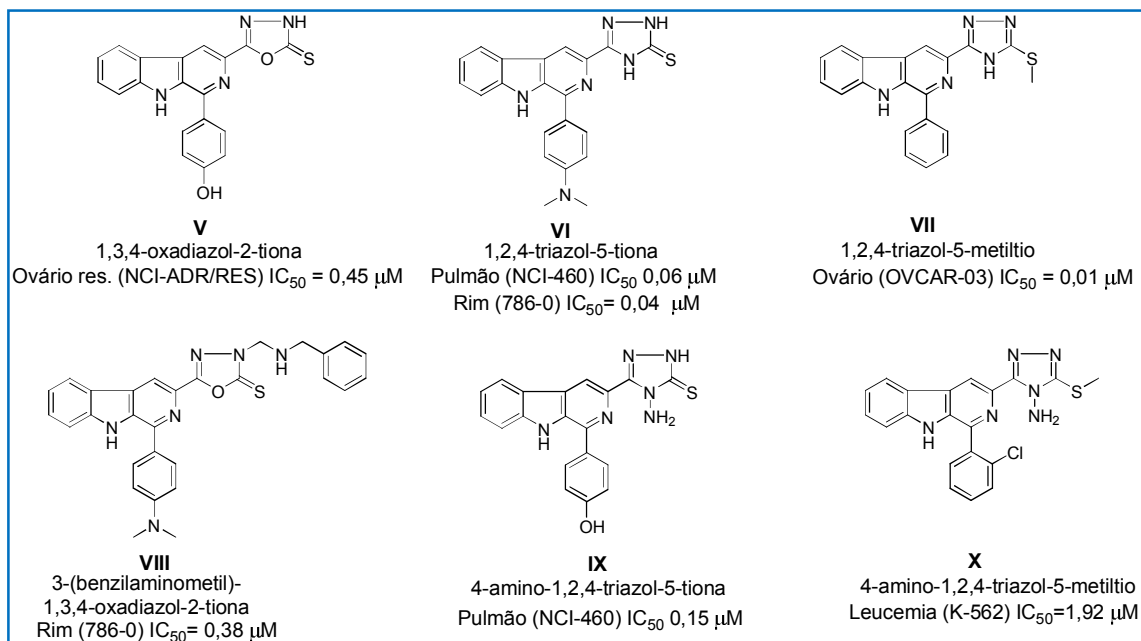
Os alcaloides tetraidro- β -carbolínicos e β -carbolínicos são de suma importância, visto que apresentam uma ampla variedade de propriedades biológicas podendo ser encontrados em diversas famílias de plantas e até em mamíferos. Além disso, esta classe de alcaloides pode ser encontrada em alimentos ¹⁶[LD]

Nosso grupo de pesquisa vem trabalhando, desde o ano de 2003, com a síntese de compostos β -carbolínicos com diferentes substituintes, principalmente nas posições-1, -3 e -9 desse núcleo, visto que pesquisas indicam que a substituição nestas posições, por grupos apropriados, pode potencializar a atividade biológica. Compostos heterocíclicos e seus derivados na posição-3 têm sido sintetizados por nosso grupo, visto que relatos da literatura mostram a potente atividade exercida por heterociclos frente a uma gama de propriedades biológicas principalmente a antitumoral ^{7,17}. O **Quadro I 1** mostra alguns derivados β -carbolínicos, contendo heterociclos na posição-3, sintetizados por nosso grupo de pesquisa que apresentaram potente atividade antitumoral.

¹⁶ DÜSMAN, L. T. *Síntese, estudos conformacionais e avaliação da atividade biológica frente trypanosoma cruzi e artemia salina de tetraidro- β -carbolinas-3-carbometóxi e 3-amido-1-benzossubstituídas*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Estadual de Maringá, Maringá. **2005**.

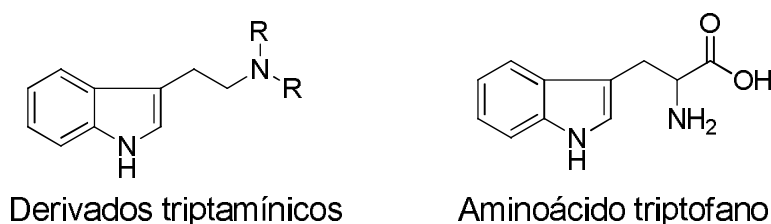
¹⁷ Savariz, F. C.; Formagio, A. S. N.; Barbosa, V. A.; Foglio, M. A.; Carvalho, J. E.; Duarte, M. C. T.; Dias Filho, B. P.; Sarragiotto, M. H.; *Synthesis, Antitumoral and Antimicrobial Activity of Novel 1-Substituted Phenyl-3-[3-alkylamino(methyl)-2-thioxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl] β -Carboline Derivatives*, Journal of The Brazilian Chemical Society, v. 21, n. 2, p. 288, **2010**.

Quadro 1. Exemplos de compostos β -carbolínicos com heterociclo na posição-3 e seus respectivos valores de GI_{50} frente às células tumorais humanas [FORMAGIO, A. S. N. et al. *Bioorg. Med. Chem.* 9660, 2008; SAVARIZ, F. C. et al. *J. Braz. Chem. Soc.* 288, 2010].



Paralelamente aos alcaloides β -carbolínicos, derivados contendo o esqueleto triptamínico, o qual é quimicamente relacionado ao aminoácido triptofano **Figura 1**, também podem ser encontrados na natureza em diversas plantas e animais, e em quantidades traços no cérebro humano. Esse alcalóide monoamínico e seus derivados têm levantado grande interesse pelas suas propriedades biológicas, mas são mais conhecidos pelos seus efeitos psicoativos¹⁸,¹⁹.

Figura 1. Estrutura química de derivados triptamínicos e do aminoácido triptofano

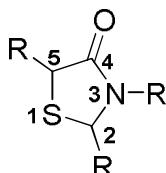


¹⁸ Kikura-Hanajiri, R.; Hayashi, M.; Saisho, K.; Goda, Y.; *Simultaneous determination of nineteen hallucinogenic tryptamines β -carbolines and phenethylamines using gas chromatography – mass spectrometry and liquid chromatography – electrospray ionisation-mass spectrometry*, *Journal of Chromatography B*, v. 825, p. 29, **2005**.

¹⁹ Cunningham, N. *Hallucinogenic plants of abuse*, *Emergency Medicine Australasia* p.167, **2008**.

Compostos com o anel 4-tiazolidinona (**Figura 1 2**) constituem uma classe de grande interesse químico por apresentar uma vasta gama de importantes propriedades biológicas como as atividades antiviral e antitumoral ^{20, 21}.

Figura 1 2. Estrutura química do anel 4-tiazolidinona



Além disso, os diferentes sítios ativos presentes no anel tiazolidínico possibilitam a obtenção de derivados via diferentes reações químicas, como por exemplo, reação de tionação na carbonila ²², oxidação do enxofre ²³, reação de condensação no C-5 ²⁴, alquilação ou base de Mannich no nitrogênio ²⁵.

Em continuidade às pesquisas de nosso grupo, as quais estão relacionadas ao desenvolvimento de novos agentes antitumorais e antivirais, nesta parte do trabalho descrevemos a síntese de novos compostos β -carbolínicos e triptamínicos, contendo a unidade 4-tiazolidinona acoplada a esses esqueletos, com intuito de obter derivados mais ativos frente à atividade antitumoral e antiviral e menos tóxicos.

²⁰ Balzarini, J.; Orzeszko-Krzsinska, B.; Maurin, J. K.; Orzeszko, A.; *Synthesis and anti-HIV studies of 2- and 3-adamantyl-substituted thiazolidin-4-ones*, European Journal of Medicinal Chemistry, v. 44, p. 303, **2009**.

²¹ Gududuru, V.; Hurh, E.; Dalton, J. T.; Miller, D. D.; *Synthesis and antiproliferative activity of 2-aryl-4-oxo-thiazolidin-3-yl-amides for prostate cancer*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. v. 14, p. 5293, **2004**.

²² Andrade, A. M.; Lima, W. T.; Rocha, M. P.; Lima, M. C.; Galdino, S. L.; Barbosa Filho, J. M.; Góes, A. J.; Pitta, I. R., *Synthesis and structural study of substituted thioxothiazolidinones and thioxoimidazolidinones*, Bollettino Chimico Farmaceutico, v.141, p.428. **2002**.

²³ Johnson, M. R.; Fazio, M. J.; Ward, D. L.; Sousa, L. R., *Synthesis of .beta.-lactams by the photochemical extrusion of sulfur dioxide from 1,1-dioxo-4-thiazolidinones*, The Journal of Organic Chemistry, v. 48 (4), p. 494, **1983**

²⁴ Singh, S. P.; Pamar, S. S.; Raman, K.; Stenberg, V. I., *Chemistry and biological activity of thiazolidinones* Chemical Reviews. v. 81(2), p. 175, **1981**.

²⁵ Hrib, N. J.; Jurcak, J. G.; Bregna, D. E.; Dun, R.W.; Geyer, H. M. 3rd.; Hartman, H. B.; Roehr, J. E.; Rogers, K. IL.; Rush, D. K.; Szczepanik, A. M.; *3[4-[1-(6-Fluorobenzene[b]thiophen-3-yl)-4-piperazinyl] butyl]-2,5,5-trimethyl-4-thiazolidinone: a new atypical antipsychotic agent for the treatment of schizophrenia*, Journal of Medicinal Chemistry. v. 35 (14), p. 2712, **1992**.

I 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I 2.1. Compostos β -carbolínicos e suas atividades biológicas

Devido à potencialidade terapêutica de alcalóides β -carbolínicos e tetraidro- β -carbolínicos várias pesquisas têm sido desenvolvidas para a obtenção destes, seja pela síntese ou pelo isolamento a partir de produtos naturais. O grande interesse pelo estudo desta classe de compostos deve-se as propriedades farmacológicas apresentadas pelos mesmos, tais como antibacteriana ²⁶, antisséptica ²⁷, antiprotozoária ²⁸, alucinógena, sedativa, anti-inflamatória ²⁹, antimicrobiana ^{26, 27} antitrombótica ³⁰, anti-Alzheimer ^{31, 32}, além de atuarem como antivirais ^{33, 8}.

Além disso, esses alcalóides têm despertado grande interesse principalmente por apresentarem potente atividade antitumoral ^{7, 34, 17}.

Os primeiros trabalhos relativos à atividade antitumoral desta classe de compostos foram realizados com a norharmana **(1)** e harmina **(2)** (**Figura I 3**), alcalóides estes isolados da planta

²⁶ Wu, S.; Fu, Y.; Yan, R.; Wu, Y.; Lei, X.; Ye, X.; *Synthesis of neamine-carboline conjugates for RNA binding and their antibacterial activities*. Tetrahedron, v. 66, n. 19, p. 3433, **2010**.

²⁷ Nenaah, G. *Antibacterial and antifungal activities of β -carboline alkaloids of Peganumharmala (L) seeds and their combination effects*. Fitoterapia, v. 81, n. 7, p. 779, **2010**.

²⁸ Tonin, L. T. D. Panice, M. R.; Nakamura, C. V.; Rocha, K. J. P.; Santos, A. O.; Ueda-Nakamura, T.; Costa, W. F.;; Sarragiotto, M. H.; *Antitrypanosomal and antileishmanial activities of novel N-alkyl-(1-phenylsubstituted- β -carboline)-3-carboxamides*, Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 64, n. 6, p. 386, **2010**.

²⁹ Martins, C. P. B.; Freeman, S.; Alder, J. F.; Passie, T.; Brandt, S. D.; *Profiling psychoactive tryptamine-drug synthesis by focusing on detection using mass spectrometry*. Trends in Analytical Chemistry, v. 29, n. 4, p. 285, **2010**.

³⁰ Lin, N.; Zhao, M.; Wang, C.; Peng, S., *Synthesis and antithrombotic activity of carbolinecarboxyl RGD sequence*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 12, n. 4, p. 585, **2002**.

³¹ Rook, Y.; Schmidtke, K.; Gaube, F.; Scherpmann, D.; Wünsch, B.; Heilmann, J.; Winckler, T., *Bivalent beta-carbolines as potential multitarget anti-Alzheimer agents*, Journal of Medicinal Chemistry, v. 53, n. 9, p. 3611, **2010**.

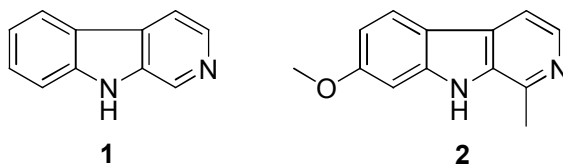
³² Wang, M.; Zheng, D. X.; Gao, M.; Hutchins, G. D.; Zheng, Q., *Synthesis of carbon-11-labeled bivalent β -carbolines as new PET agents for imaging of cholinesterase in Alzheimer's disease*. Applied Radiation and Isotopes, v. 69, n. 4, p. 678, **2011**.

³³ Wang, Y.; Tang, J.; Wang, R.; Yang, L.; Dong, Z.; Du, L.; Shen, X.; liu, J.; Zheng, Y.; *et al. Flazinamide, a novel β -carboline compound with anti-HIV actions*. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 355, n. 4, p. 1091, **2007**.

³⁴ Mansoor, T. A.; Ramalho, R. M.; Mulhovo, S.; Rodrigues, C. M. P.; Ferreira, M. J. U., *Induction of apoptosis in HuH-7 cancer cells by monoterpene and β -carbolines indole alkaloids isolated from the leaves of Tabernaemontana elegans*. Bioorganic & Medicinal Chemistry v 19, p. 4255, **2009**.

Peganum harmala (Zygophillaceae), e que exibiram propriedades mutagênicas e atividade anticancer, pela inibição da topoisomerase I ^{35, 36}.

Figura 1 3. Estruturas químicas dos alcalóides β -carbolínicos norhamana (1) e harmina (2)



A harmina (**2**) tem sido tradicionalmente usada em rituais e preparações medicinais no Oriente Médio, Ásia Central e Sul da América, e está amplamente distribuída na natureza podendo ser encontrado em diversas plantas, animais marinhos, insetos, mamíferos e em tecido e fluidos corporais humanos.

Este alcalóide (**2**) apresenta uma gama de propriedades biológica tais como antimicrobiana, antiplasmódica, antifúngica, antioxidante, antitumoral, antimutagênica, citotóxica e alucinógena ^{37 – 43}.

³⁵ Cao, R.; Peng, W.; Wang, Z.; Xu, A.; *β -Carboline Alkaloids: Biochemical and Pharmacological Functions* Current Medicinal Chemistry, v. 14, p. 479, **2007**.

³⁶ Frison, G.; Favretto, D.; Zancanaro, F.; Fazzin, G.; Ferrara, D.; *A case of β -carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganumharmala* seed extract*, Forensic Science International, v. 179, n. 2-3, p. e37, **2008**.

³⁷ Egusa, H.; Doi, M.; Saeki, M.; Fukuyasu, S.; Akashi, Y.; Yokota, Y.; Yatani, H.; Kamisaki, Y.; *The small molecule harmine regulates NFATc1 and Id2 expression in osteoclast progenitor cells*. Bone, v. 49, n. 2, p. 264, **2011**.

³⁸ Réus, G. Z.; Stringari, R. B.; Goncalves, C. L.; Scaini, G.; Carvalho-Silva, M.; Jeremias, G. C.; Jeremias, G. C.; Jeremias, I. C.; Ferreira, G. K.; Streck, E. L.; Hallak, J. E.; Zuardi, A. W.; Crippa, J. A.; Quevedo, J.; *Administration of Harmine and Imipramine Alters Creatine Kinase and Mitochondrial Respiratory Chain Activities in the Rat Brain*. Depression Research and Treatment, p.1, **2012**.

³⁹ Yonezawa, T.; Hasegawa, S.; Asai, M.; Ninomiya, T.; Sasaki, T.; Cha, B.; teruya, T.; Ozawa, H.; Yagasaki, K.; Nagai, K.; Woo, J.; *Harmine, a β -carboline alkaloid, inhibits osteoclast differentiation and bone resorption in vitro and in vivo*, European Journal of Pharmacology, v. 650, n. 2-3, p. 511, **2011**.

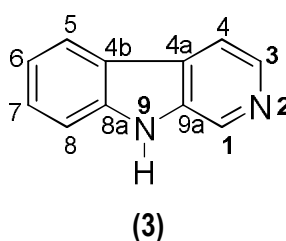
⁴⁰ Onishi, Y.; oishi, K.; Kawano, Y.; Yamazaki, Y.; *Theharmala alkaloid harmine is a modulator of circadian Bmal1 transcription*. Bioscience Reports, v. 32, p. 45, **2012**.

⁴¹ Hamsa, T. P.; Kuttan, G.; *Harmine activates intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis in B-16F10 melanoma*. Chinese Medicine, 6:11, **2011**

⁴² Frost, D.; Meechoovet, B.; Wang, T.; Gately, S.; Giogetti, M.; Shcherbakova, I.; Dunckley, T., *β -Carboline Compounds, Including Harmine, Inhibit DYRK1A and Tau Phosphorylation at Multiple Alzheimer's Disease-Related Sites*. PLoS One v. 6, n. 5, p. 1, **2011**.

Estudos de atividade biológica e mecanismos de ação mostraram que β -carbolinas apresentam ações inteiramente opostas às das benzodiazepinas ansiolíticas e podem potencializar as vias monoaminérgicas através da inibição de (MAO) A ou B ⁴⁴. Nessa direção, vários estudos foram realizados pela introdução de diferentes substituintes no esqueleto β -carbolínico, demonstrando que tais grupos influenciavam a atividade farmacológica. Assim, os trabalhos posteriores foram direcionados para a síntese e avaliação da atividade de derivados contendo substituintes no anel β -carbolínico (3), envolvendo as posições C-1, N-2, C-3 e N-9 **Figura 1 4** Nesta revisão abordaremos alguns trabalhos com o intuito de mostrar os principais grupos utilizados como substituintes.

Figura 1 4. Anel β -carbolínico (3) numerado com as principais posições



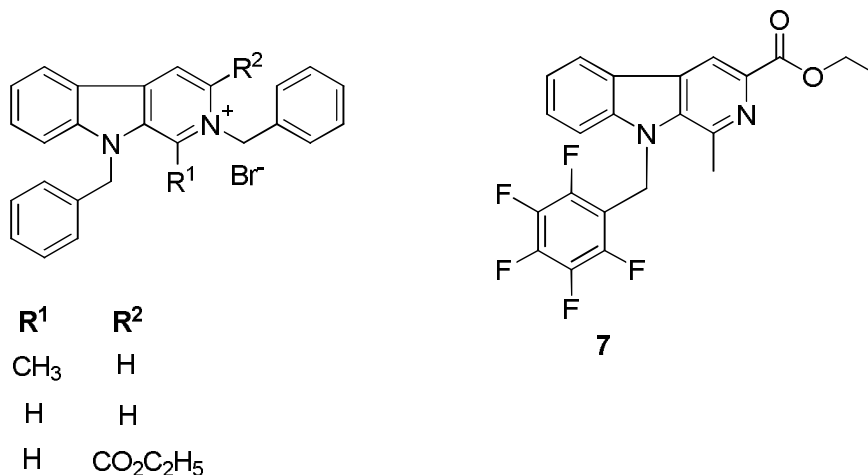
Algumas β -carbolinas com diferentes substituintes foram sintetizadas por Cao e col ^{45, 46} e avaliadas quanto às suas atividades antitumorais e citotóxicas *in vitro*. Os compostos (4), (5) e (6), tendo o grupo benzila como substituinte nas posições-2 e -9 foram os mais potentes com valores de IC₅₀, cuja definição se baseia na concentração necessária para inibir o crescimento celular em 50%, menores que 50 μ M frente às células tumorais humanas testadas. O composto (7) contendo um grupo metila na posição-1, o grupo etoxicarbonila na posição-3 e um grupo pentafluorobenzila na posição-9 foi o mais ativo com uma alta atividade citotóxica com valor de IC₅₀ = 4 μ M contra as células de carcinoma gástrico.

⁴³ Zaker, F.; Oody, A.; Arjmand, A.; *A study on the antitumoral and differentiation effects of peganumharmala derivatives in combination with ATRA on leukaemic cells*. Archives of Pharmacal Research. 30 (7) p. 844, **2007**.

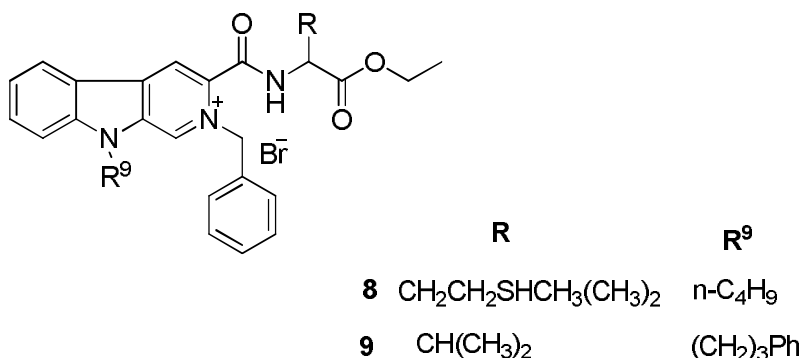
⁴⁴ Farzin, D.; Haghparast, A.; Motaman, S.; Baryari, F.; Mansouri, N.; *Effects of harmane and other β -carbolines on apomorphine induced licking behavior in rat*, Pharmacology Biochemistry and Behavior, (98) 2, p. 215, **2011**.

⁴⁵ Cao, R.; Peng, W.; Chen, H.; Hou, X.; Guan, H.; Chen, Q.; Ma, Y.; Xu, A., *Synthesis and in vitro cytotoxic evaluation of 1,3-bisubstituted and 1,3,9-trisubstituted beta-carboline derivatives*, European Journal of Medicinal Chemistry, v. 40, n. 3, p. 249, **2005**.

⁴⁶ Cao, R.; Chen, H.; Peng, W.; Ma, Y.; Hiu, X.; Guan, H.; Liu, X.; Xu, A.; *Design, synthesis and in vitro and in vivo antitumor activities of novel beta-carboline derivatives*, European Journal of Medicinal Chemistry, v. 40, n. 10, p. 991, **2005**.



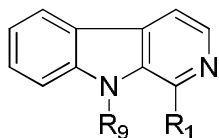
Ma e col⁴⁷ testaram a atividade citotóxica *in vitro* de β -carbólinas contra células tumorais humanas. Os compostos (**8**) e (**9**) exibiram significativa atividade citotóxica para células de carcinoma renal com valores de IC₅₀ de 1,7 e 4,0 μ M, respectivamente. O composto (**8**) apresentou valor de IC₅₀ de 8,2 μ M para a célula de melanoma. Esses compostos mostraram potente atividade em relação ao controle, a cisplatina (IC₅₀ = 4,9 μ M para carcinoma renal e 9,4 μ M para melanoma).



A síntese de compostos com grupos carboxamida ou amina, na posição-1, e estudos de relação estrutura-atividade sugeriram que o grupo amina nessa posição e o grupo alquilaril na posição-9 potencializam o efeito citotóxico, destacando-se o potencial antiproliferativo do composto **10e** com IC₅₀ = 2,2 μ M (células renais-769-P), IC₅₀ = 2,9 μ M (células de próstata-

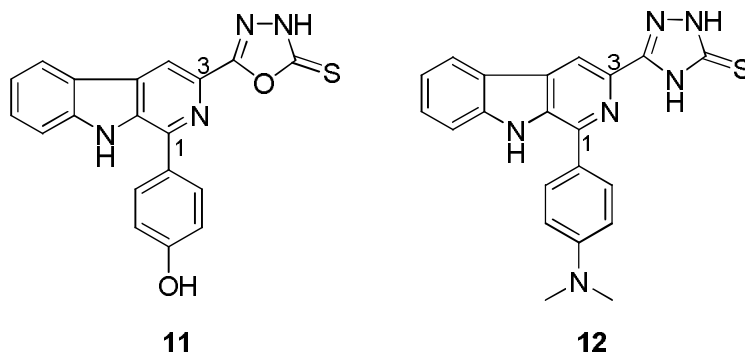
⁴⁷ Ma, C.; Cao, R.; Shi, B.; Li, S.; Chen, Z.; Yi, W.; Peng, W.; Ren, Z.; Song, H., *Synthesis and cytotoxic evaluation of N²-benzylated quaternary beta-carboline amino acid ester conjugates*. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 45, n. 4, p. 1515, **2010**.

22Rv-1) e para células de câncer hepático (HepG2) com $IC_{50} = 4,0 \mu M$, valores comparáveis aos da cisplatina (droga de referência)⁴⁸.



- 10a** $R_1 = NH(CH_2)_2NH_2$ $R_9 = n-C_4H_9$
10b $R_1 = NH(CH_2)_2NH_2$ $R_9 = CH_2C_6H_4(p-F)$
10c $R_1 = NH(CH_2)_2NH_2$ $R_9 = CH_2C_6F_5$
10d $R_1 = NH(CH_2)_2NH_2$ $R_9 = (CH_2)_3C_6H_5$
10e $R_1 = NH(CH_2)_4NH_2$ $R_9 = (CH_2)_3C_6H_5$
10f $R_1 = NH(CH_2)_6NH_2$ $R_9 = (CH_2)_3C_6H_5$

Trabalhos realizados por nosso grupo de pesquisa mostraram que derivados β -carbolínicos contendo um grupo fenil-substituído na posição-1 e heterociclos como 1, 3,4-oxadiazol (**11**) e 1, 2,4-triazol (**12**) na posição-3 apresentaram atividade antitumoral significativa⁷.



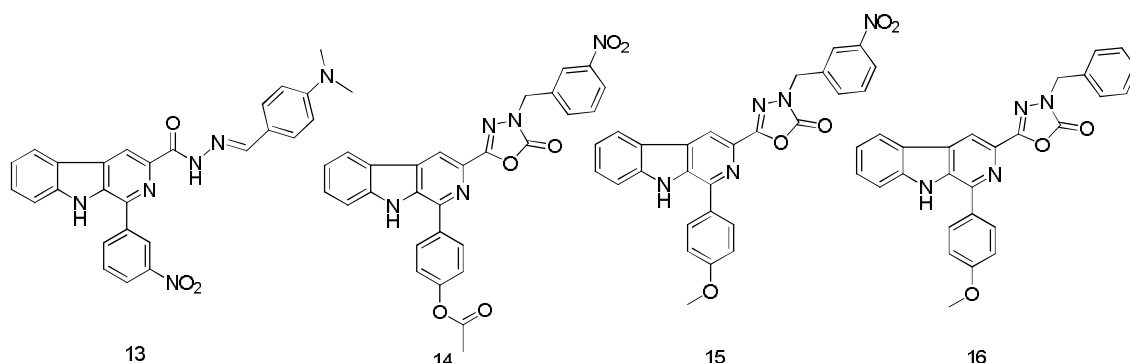
Em trabalhos recentes ^{49, 50} demonstramos que compostos β -carbolínicos contendo o grupo carboidrazida (**13**), e aqueles com o grupo 2-tioxo-1, 3,4-oxadiazol (**14-16**), na posição-3, apresentaram excelente atividade com valores de IC_{50} menores que $10 \mu M$ para a maioria das células tumorais testadas. O derivado **13** foi o mais ativo da série, com valor de $IC_{50} = 0,04 \mu M$ para as células tumorais de rim. Esse derivado também foi avaliado quanto à atividade

⁴⁸ Ma, C.; Cao, R.; Shi, B.; Zhou, X.; Ma, Q.; Sun, J.; Guo, L.; Yi, W.; Chen, Z.; Song, H., *Synthesis and cytotoxic evaluation of 1-carboxamide and 1-amino side chain substituted β -carboline*, European Journal of Medicinal Chemistry, v. 45, n. 11, p. 5513, **2010**.

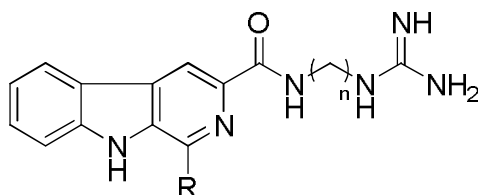
⁴⁹ Barbosa, V. A.; Formagio, A. S. N.; Savariz, F. C.; Foglio, M. A.; Spindola, H. M.; Carvalho, J. E.; Meyer, E.; Sarragiotto, M. H., *Synthesis and antitumor activity of β -carboline 3-(substituted-carbohydrazide) derivatives*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 19, n. 21, p. 6400, **2011**

⁵⁰ Savariz, F. C.; Foglio, M. A.; Carvalho, J. E.; Ruiz, A. L. T. G.; Duarte, M. C. T.; Rosa, M. F.; Meyer, E.; Sarragiotto, M. H., *Synthesis and evaluation of new β -carboline-3-(4-benzylidene)-4H-oxazol-5-one derivatives as antitumor agents*, Molecules, v. 17, n. 5, p. 6100, **2012**.

antineoplásica *in vivo*, no ensaio de carcinoma sólido de Erlich, mostrando uma inibição no crescimento desse tumor. O derivado **16** foi o mais ativo com valor de IC_{50} de $0,48 \mu\text{M}$ para a célula tumoral de glioma.



Com relação à atividade antiviral, alguns estudos mostraram que compostos β -carbolínicos apresentam atividade anti-HIV (*Human immunodeficiency virus*) e que os mesmos podem interagir com os ácidos nucleicos virais, que são essenciais para a replicação do vírus. Isto foi demonstrado a partir da síntese e avaliação da atividade biológica de derivados β -carbolínicos contendo o grupo guanidínico na posição-3 (**17a-f**), os quais apresentaram potente atividade anti-HIV ⁵¹.



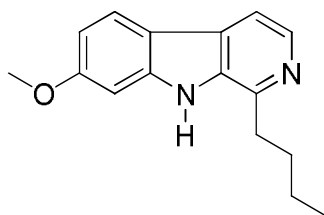
17a R = H n = 2 **17c** R = H n = 3 **17e** R = H n = 6

17b R = Me n = 2 **17d** R = Me n = 3 **17f** R = Me n = 6

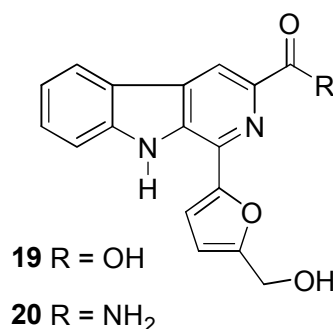
Devido à atividade anti-HIV apresentada pela harmina (**2**), vários derivados com diferentes substituintes nas posições -1, -3, -6, -7 e -9 foram preparados e avaliados. Neste estudo, alguns compostos apresentaram atividade anti-HIV, sendo a N-butil-harmina (**18**) o mais potente com concentração efetiva, (EC_{50}), capaz de proteger 50% das células contra a infecção do vírus na concentração de $0,037 \mu\text{M}$ ⁵².

⁵¹ Yu, X.; Lin, W.; Li, J.; Yang, M., *Synthesis and biological evaluation of novel β -carboline derivatives as Tat – TAR interaction inhibitors*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 14, p. 3127, **2004**.

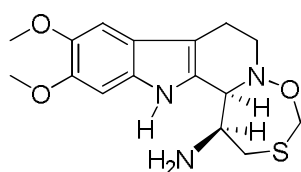
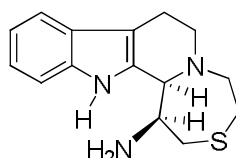
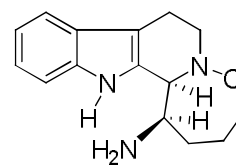
⁵² Ishida, J.; Wang, H.; Oyama, M.; Cosentino, M. L.; Hu, C.; Lee, K., *Anti-AIDS agents. 46.1 Anti-HIV Activity of Harman, an anti-HIV Principle from *Symplocos setchuensis*, and Its Derivatives*, *Journal of Natural Products*, 64(7) p. 958, **2001**.

**18**

O composto flazina (**19**) isolado de *Suillus granulatus* apresentou boa atividade anti-HIV e a modificação estrutural desse composto forneceu o derivado flazinamida (**20**). A conversão do grupo carboxila na posição-3 de flazina pelo grupo formamida melhorou a atividade antiviral, inibindo a replicação de HIV-1 e HIV-2⁵³.



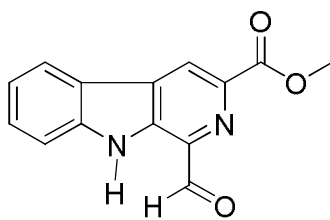
As eudistominas constituem uma classe de compostos com significativa atividade antiviral. A eudistomina K (**21a**) apresentou uma potente atividade antiviral contra *Herpes simplex* (HSV-1). Os derivados **21b** e **21c** também foram ativos contra o vírus da estomatite vesicular⁵³.

**21a****21b****21c**

Uma série de β -carbolinas foi sintetizada e avaliada para atividade anti-HIV humano. O derivado 1-formil-3-carbometóxi- β -carbolina (**22**) mostrou inibição do vírus de imunodeficiência humana com IC₅₀ = 2,9 μ M⁵⁴.

⁵³ Maarseveen, J. H.; Scheeren, H. W.; De Clercq, E.; Balzarini, J.; Kruse, C. G., *EAntiviral and Tumor Cell Antiproliferative SAR Studies on Tetracyclic Eudistomins-II*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 5, n. 5, p. 955, 1997.

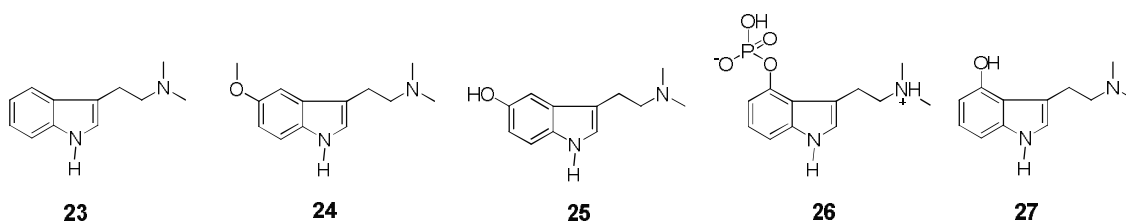
⁵⁴ Brahmhatt, K. G.; Ahmed, N.; Sabde, S.; Mitra, D.; Singh, I. P.; Bhutani, K. K., *Synthesis and evaluation of β -carboline derivatives as inhibitors of human immunodeficiency virus*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 20, n. 15, p. 4416, 2010.



22

I 2.2. Compostos triptamínicos

Alcaloides triptamínicos e seus derivados estão presentes em numerosos compostos naturais e sintéticos, muitos dos quais exibem importante atividade farmacológica. Triptaminas e seus derivados são conhecidos principalmente pelas suas propriedades psicoativas. A N,N-dimetil-triptamina (DMT) (**23**) é um composto tipicamente psicoativo (agonista serotoninérgico) derivado da triptamina que existe em várias espécies de plantas. Existem compostos estruturalmente relacionados, como 5-MeO-DMT (**24**), bufotenina (**25**), psilocibina (**26**) e psilocina (**27**), os quais também são produtos naturais e que possuem propriedades psicoativas^{18, 19}.

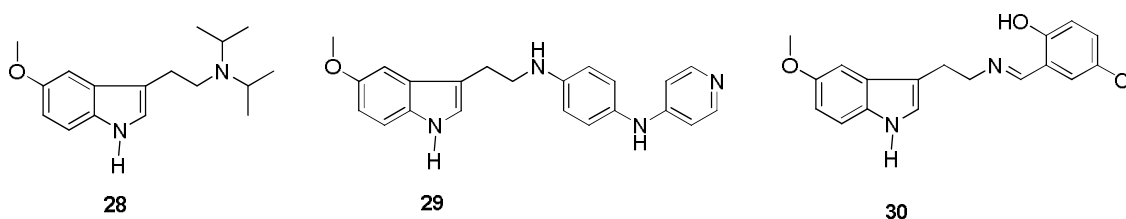


Ayahuasca é uma bebida preparada a partir de uma mistura de duas plantas da região amazônica, ambas as espécies vegetais contêm alcalóides de núcleo harmano (da *Banisteriopsis caapi*) e o núcleo triptamínico DMT (da *Psychotria viridis*)⁵⁵. Esta combinação é importante porque a DMT presente na Ayahuasca é metabolizada rapidamente no organismo pela monoamina oxidase (MAO) e, por isso, não é psicoativa quando usada oralmente a menos que combinada com algum inibidor da MAO¹⁸, como os alcaloides harmina e harmalina, que contem o núcleo triptamina.

⁵⁵ Riba, J.; Rodríguez-Fornells, A.; Urbano, G.; Morte, A.; Antonijoan, R.; Montero, M.; Callaway, J. C.; Barbanoj, M. J., *Subjective effects and tolerability of the South American psychoactive beverage Ayahuasca in healthy volunteers*. *Psychopharmacology*, 154, p. 85, 2001

A 5-MeO-DIPT (**28**) também produz efeitos farmacológicos semelhantes aos da DMT, porém é um alucinógeno por via oral ⁵⁶.

Dados recentes indicaram que o Serdemetran (**29**), um derivado triptamínico, pode ser usado como radissensibilizador no tratamento com radioterapia. No caso de neoplasia, por exemplo, esses agentes químicos aumentam a sensibilidade das células hipóxicas (baixo teor de oxigenação) à radiação ⁵⁷. Derivados de bases de Schiff e seus complexos de níquel e cobre, obtidos a partir da reação de condensação da triptamina com 5-clorosalisaldeído apresentaram atividade anti-ulcerogênica (**30**) ⁵⁸.



Compostos conhecidos como 'Triptans' (**31 – 38**) **Quadro 2** são recomendados para o tratamento em pacientes com ataques de moderada a severas enxaquecas e em pacientes de leves a moderadas dores de cabeça que não são controladas adequadamente por outros agentes ^{59 – 63}.

⁵⁶ Meatherall, R.; Sharma, P., *Foxy, a Designer Tryptamine Hallucinogen*, Journal of Analytical Toxicology, v. 27, p. 313, **2003**.

⁵⁷ Chargari, C.; Leteur, C.; Angevin, E.; Bashir, T.; Schoentjes, B.; Arts, J.; Janicot, M.; Bourhis, J.; Deustsch, E.; *Preclinical assessment of JNJ-26854165 (Serdemetan¹), a novel tryptamine compound with radiosensitizing activity in vitro and in tumor xenograft*, Cancer Letters, v. 312, n. 2, p. 209, **2011**.

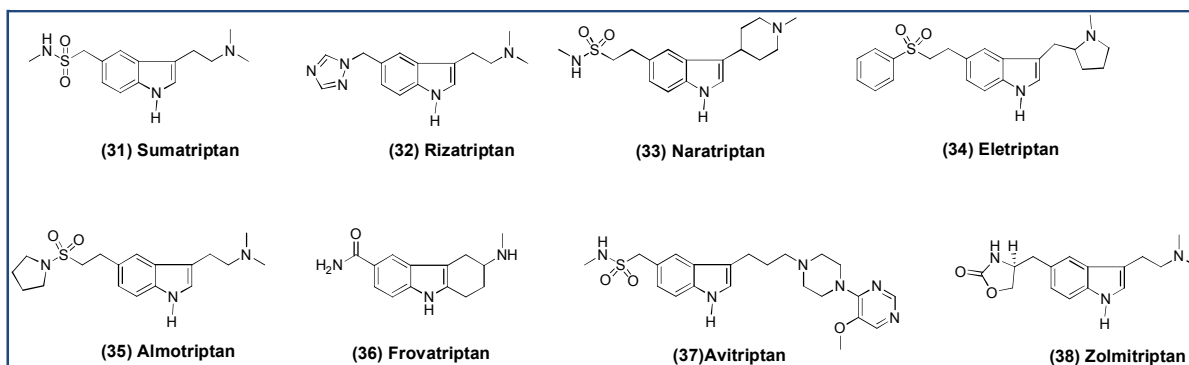
⁵⁸ Mustafa, I. M.; Hapipah, M. A.; Abdulla, M. A.; Ward, T. R., *Synthesis , structural characterization , and anti-ulcerogenic activity of schiff base ligands derived from tryptamine and 5-chloro , 5-nitro , 3 , 5-ditertiarybutyl salicylaldehyde and their nickel (II), copper (II), and zinc (II) complexes*, Polyhedron, v. 28, n. 18, p. 3993, **2009**

⁵⁹ Terrazzino, S.; Viana, M.; Floriddia, E.; Monaco, F.; Mittino, D.; Sances, G.; Tassorelli, C.; Nappi, G.; Rinaldi, M., *The serotonin transporter gene polymorphism STin2 VNTR confers an increased risk of inconsistent response to triptans in migraine patients*, European Journal of Pharmacology, v. 641, n. 2-3, p. 82, **2010**.

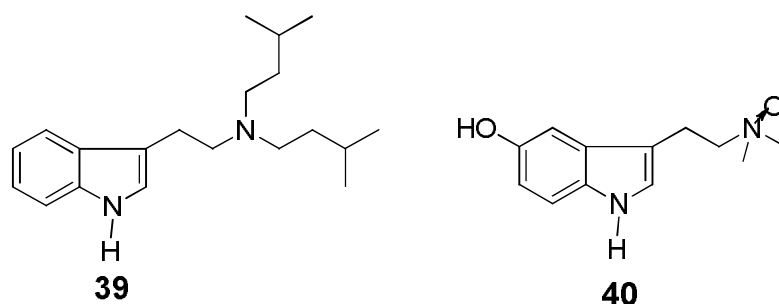
⁶⁰ Muñoz-Islas, E.; Lozano-Cuenca, J.; González-Hernández, A.; Ramírez-Rosas, M. B.; Sánchez-López, A.; Centurión, D.; MaassenVanDenBrink, A.; Villalón, C. M.; *Spinal sumatriptan inhibits capsaicin-induced canine external carotid vasodilatation via 5-HT1B rather than 5-HT1D receptors*, European Journal of Pharmacology, 615, p. 133, **2009**.

⁶¹ Williamson, D. J.; Shephard, S. L.; Hill, R. G.; Hargreaves, R. J.; *The novel anti-migraine agent rizatriptan inhibits neurogenic dural vasodilation and extravasation*, European Journal of Pharmacology 328, p. 61, **1997**.

⁶² Vries, P. D.; Villalón, C. M.; Saxena, P. R.; *Pharmacological aspects of experimental headache models in relation to acute antimigraine therapy*, European Journal of Pharmacology 375, p. 61, **1999**.

Quadro I 2. Estruturas químicas dos compostos conhecidos como 'Triptans'

Uma série de derivados triptamínicos foi sintetizada e avaliada frente ao vírus da hepatite B (HBV). Os compostos **(39)** e **(40)** apresentaram uma potente atividade antiviral com valor de $IC_{50} = 0,4$ e $< 1,0 \mu M$, respectivamente e baixa citotoxicidade ($CC_{50} = 40,6$ e $> 25,0 \mu M$, respectivamente) ⁶⁴.

**I 2.3. Tiazolidinonas: atividade biológica e métodos de preparação**

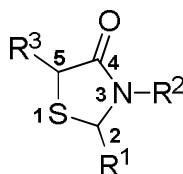
Em um levantamento bibliográfico verificou-se que derivados tiazolidínicos têm sido usados extensivamente no desenvolvimento de novos fármacos ^{65, 66}. Relatos indicaram que compostos contendo o núcleo tiazolidinona **(41)**, possuem uma gama de atividades farmacológicas.

⁶³ Bhalla, P.; Sharma, H. S.; Sharma, T.; Pauwels, P. J.; Saxena, P. R.; *Molecular cloning and expression of the porcine trigeminal ganglion cDNA encoding a 5-HT_{1F} receptor*, European Journal of Pharmacology 436, p. 23, **2002**.

⁶⁴ Qu, S.; Wang, G.; Duan, W.; Yao, S.; Zuo, J.; Tan, C.; Zhu, D., *Tryptamine derivatives as novel non-nucleosidic inhibitors against hepatitis B virus* Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 19, n. 10, p. 3120-3127, **2011**.

⁶⁵ According to a November **2004** SciFinder (<http://www.cas.org/SCIFINDER/>) search.

⁶⁶ Pulici, M.; Quartieri, F.; *Traceless solid-phase synthesis of 2-amino-5-alkylidene-thiazol-4-ones*, Tetrahedron Letters 46, p. 2387, **2005**.



41 Anel 4-Tiazolidinona

Dentre as quais estão atividade anti-inflamatória ^{67, 68}, antimicrobiana ⁶⁹, anticonvulsante ⁷⁰, antituberculose ⁷¹, anti-HIV ^{20, 72} e antitumoral ²¹.

Compostos contendo grupos fenila substituídos por halogênios (cloro ou flúor) ligados ao grupo 4-tiazolidinona (**42**) mostraram uma potente inibição da enzima transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência humana tipo (RT-HV-1) ^{73, 74}.

⁶⁷ Kumar, A.; Rajput, C. S.; *Synthesis and anti-inflammatory activity of newer quinazolin-4-one derivatives*, European Journal of Medicinal Chemistry, v. 44, n. 1, p. 83, **2009**.

⁶⁸ Kumar, A.; Rajput, C. S.; Bhati, S. K., *Synthesis of 3-[4'-(p-chlorophenyl)-thiazol-2'-yl]-2-[(substitutedazetidione/thiazolidinone)-aminomethyl]-6-bromoquinazolin-4-ones as anti-inflammatory agent*, Bioorganic Medicinal Chemistry.v.15, p. 3089, **2007**.

⁶⁹ Vicini, P.; Geronikaki, A.; Incerti, M.; Zani, F.; Dearden, J.; Hewitt, M.; *2-Heteroaryl-imino-5-benzylidene-4-thiazolidinones analogues of 2-thiazolylimino-5-benzylidene-4-thiazolidinones with antimicrobial activity: Synthesis and structure – activity relationship*, Bioorganic Medicinal Chemistry, v. 16, p. 3714, **2008**.

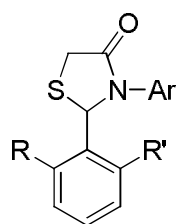
⁷⁰ Archana, V. K.; Srivastava, Kumar, A., *Synthesis of newer thiadiazolyl and thiazolidinonyl quinazolin-4(3H) - ones as potential anticonvulsant agents*, European Journal Medicinal Chemistry. v. 37, p. 873, **2002**.

⁷¹ Babaoglu, K.; Page, M. A.; Jones, V. C.; McNeil, M. R.; Dong, C.; Naismith, J. H.; Lee, R. E.; *Novel Inhibitors of an Emerging Target in Mycobacterium tuberculosis; Substituted Thiazolidinones as Inhibitors of dTDP-rhamnose Synthesis*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 13, p. 3227, **2003**.

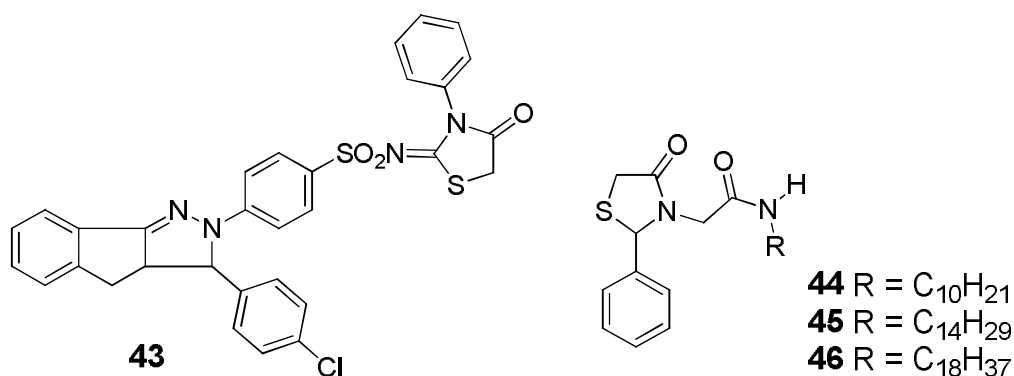
⁷² Rawal, R. K.; Tripathi, R.; Katti, S. B.; Pannecouque, C.; De Clercq, E., *Design and synthesis of 2-(2,6-dibromophenyl)-3-heteroaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as anti-HIV agents* 3-thiazolidin-4-ones as anti-HIV agents. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 43, n. 12, p. 2800, **2008**.

⁷³ Barreca, M. L.; Chimirri, A.; De Luca, L.; Monforte, A.; Monforte, P.; Rao, A.; Zappala, M.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Pannecouque, C.; Witvrouw, M., *Discovery of 2,3-Diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as Potent Anti-HIV-1 Agents*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 11, p. 1793, **2001**.

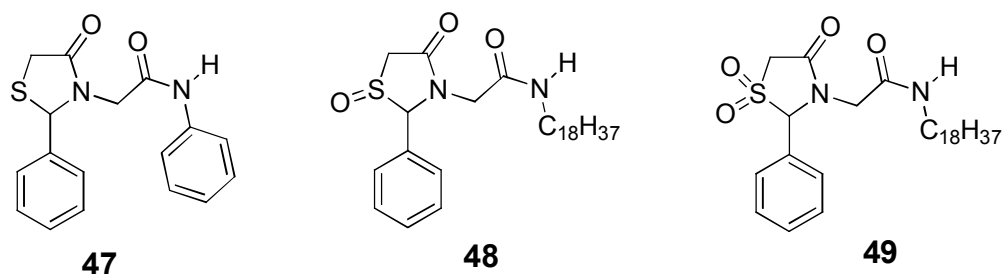
⁷⁴ Barreca, M. L.; Chimirri, A.; De Clercq, E.; De Luca, L.; Monforte, A.; Monforte, P.; Rao, A.; Zappala, M., *Anti-HIV agents: design and discovery of new potent RT inhibitors*, IL Farmaco, v. 58, p. 259, **2003**.

**(42)** R = R' = F ou Cl

Estudos com esta classe de compostos mostraram que o derivado **(43)** apresentou uma boa atividade antitumoral ⁷⁵, principalmente para a linhagem de célula de câncer de colo, com um IC₅₀ de 1,73 μM, e os derivados **(44 - 46)** mostraram importante atividade frente a diversas linhagens de células de câncer de próstata ²¹.



Gududuru e colaboradores ²¹, em trabalhos recentes sintetizaram e avaliaram uma série de tiazolidinonas e seus derivados em cinco tipos de células de câncer de próstata humana. Os compostos sintetizados **(47)**, **(48)** e **(49)** inibiram o crescimento de todas as células avaliadas.



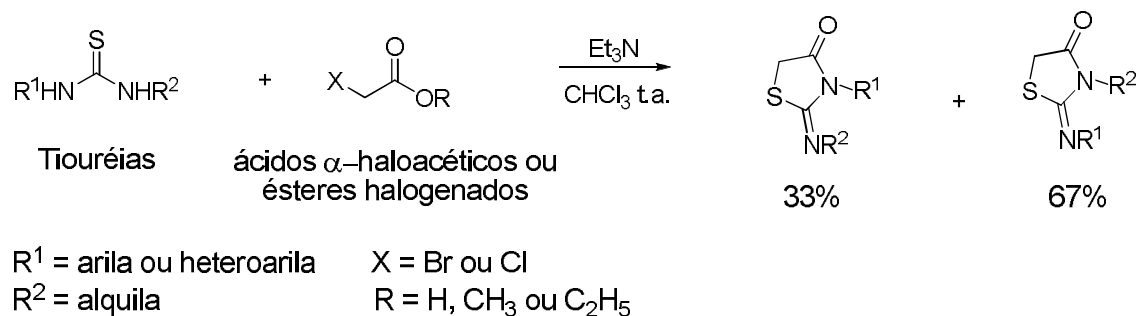
⁷⁵ Rostom, S. A. F. *Synthesis and in vitro antitumor evaluation of some indeno [1,2-c] – pyrazo(in)es substituted with sulfonamide, sulfonylurea(-thiourea) pharmacophores, and some derived thiazole ring systems*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* v. 14, p. 6475, **2006**.

A introdução de grupamentos adequados em posições apropriadas no anel tiazolidinona tem apresentado grande potencial para obtenção de novos compostos antitumorais e com uma citotoxicidade relativamente baixa, como é o caso dos derivados 5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidin-2,4-dionas que foram ativos frente a todas as linhagens de células tumorais de carcinoma avaliadas ⁷⁶.

Numerosas rotas sintéticas têm sido desenvolvidas para obter este núcleo heterocíclico e seus derivados, por ser uma classe importante de compostos na química orgânica medicinal. 4-tiazolidinonas representam uma classe de grande interesse científico devido às suas propriedades químicas e atividades biológicas ⁷⁷.

O anel 4-tiazolidinona possui vários sítios de substituição, o que leva a um grande número de análogos estruturais. Em geral esse núcleo é produzido com bons rendimentos através de reações de ciclização envolvendo ácido α -aceto halogenados como descrito por Brown ⁷⁸ e Singh ²⁴.

As reações de tiouréias substituídas com ácidos α -haloacéticos, ou derivados destes, produzem 2-imino-4-tiazolidinonas e reações com tiouréias assimétricas (1,3 dissubstituídas, onde R¹ é diferente de R²) podem formar dois regioisômeros ⁷⁹, conforme **Esquema I 1**.



Esquema I 1. Formação dos regioisômeros de 4-tiazolidinona

⁷⁶ Chandrappa, S.; Prasad, S. B. B.; Vinaya, K.; Kumar, C. S. A.; Thimmegowda, N. R.; Rangappa, K. S.; *Synthesis and in vitro antiproliferative activity against human cancer cell lines of novel 5-(4-methyl-benzylidene)-thiazolidine-2,4-diones*, Invest New Drugs p. 437, **2008**.

⁷⁷ Küçükgülzel, G.; Kocatepe, A.; De Clercq, E.; Sahin, F.; Güllüce, M., *Synthesis and biological activity of 4-thiazolidinones, thiosemicarbazides derived from diflunisalhydrazide*, European Journal of Medicinal Chemistry. v. 41, p. 353, **2006**

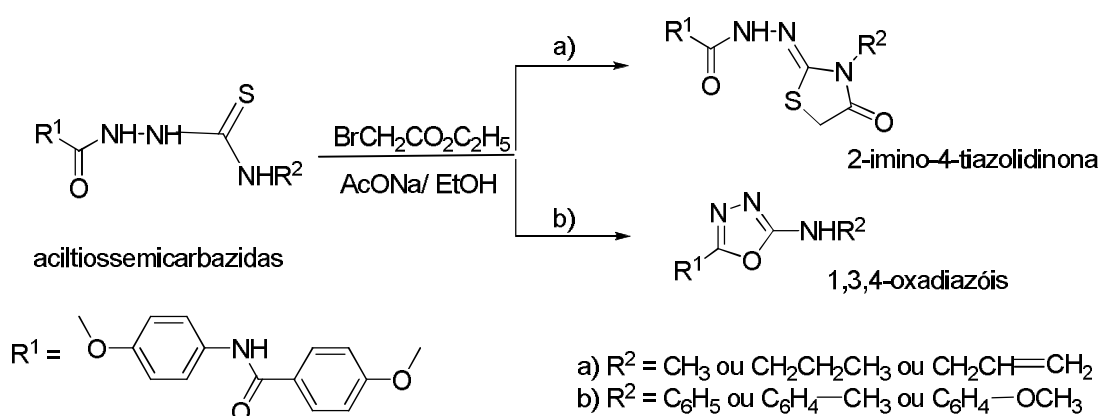
⁷⁸ Brown, F. C., *4-Thiazolidinones*, Chemical Reviews, v. 61(5), p. 463, **1961**

⁷⁹ Ottanà, R.; Maccari, R.; Barreca, M. L.; Bruno, G.; Rotondo, A.; Rossi, A.; Chiricosta, G.; Di Paola, R.; Sautebin, L.; Cuzzocrea, S.; Vigorita, G., *5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: Design and synthesis of novel anti-inflammatory agents*, Bioorganic & Medicinal Chemistry. v. 13, p. 4243, **2005**.

No entanto a proporção dos regioisômeros formados depende do solvente utilizado e do tempo de reação. Utilizando o clorofórmio como solvente a temperatura ambiente, observou-se a formação na proporção de 1:2 dos regioisômeros (**Esquema I 1**), já em meio metanólico sob refluxo, obteve-se somente um regioisômero aquele indicado no **Esquema I 1** de menor quantidade. A explicação para esse fato baseia-se na existência de um rearranjo intramolecular o qual converte um regioisômero no outro ⁷⁹.

Trabalhos desenvolvidos por Küçüküzül e colaboradores ^{77, 80}, apresentaram metodologia semelhante para obtenção de 2-imino-4-tiazolidinonas a partir de reações envolvendo aciltiossemicarbazidas e α -bromoacetato de etila, conforme **Esquema I 2**.

Contudo, com o emprego de aciltiossemicarbazidas substituídas com grupos volumosos em NH (R^2), como por exemplo, os grupos fenila e *p*-metóxi-fenila, foram obtidos 1,3,4-oxadiazóis ao invés dos derivados 4-tiazolidinonas esperados **Esquema I 2**.



Esquema I 2. Rota sintética para a obtenção de 4-tiazolidinonas e 1,3,4-oxadiazóis

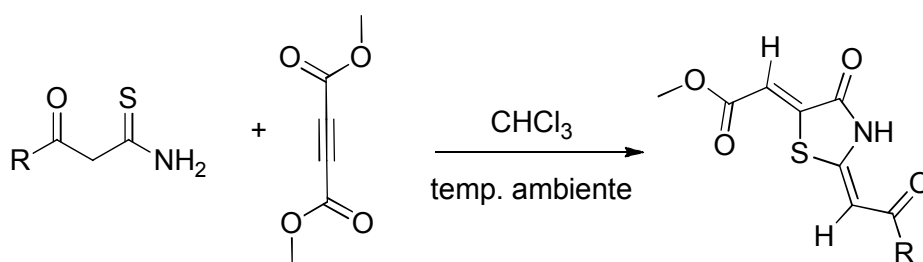
Kavitha e colaboradores ⁸¹ demonstraram que reações de ácido α -mercaptoacético com aminas primárias e aldeídos ou cetonas podem ser realizadas quando assistidas por microondas. Um estudo comparativo mostrou que, além de se obter um maior rendimento dos compostos, as reações em microondas ocorrem em intervalo de tempo muito menor do que

⁸⁰ Küçüküzül, S. G.; Oruç, E. E.; Rollas, S.; Sahin, F.; Özbek, A., *Synthesis, characterization and biological activity of novel 4-thiazolidinones, 1,3,4-oxadiazoles and some related compounds* European Journal of Medicinal Chemistry. v. 37, p. 197, **2002**.

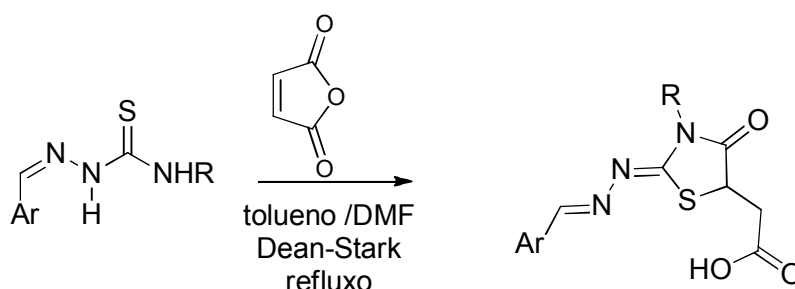
⁸¹ Kavitha, C. V.; Basappa, S.; Swamy, N.; Mantelingu, K.; Doreswamy, S.; Sridhar, M. A.; Prasad, J. S.; Rangappa, K. S., *Synthesis of new bioactive venlafaxine analogs: Novel thiazolidin-4-ones as antimicrobials*, Bioorganic & Medicinal Chemistry v. 14, p. 2290, **2006**.

quando empregada metodologia convencional. Além disto, a utilização mínima de solvente contribui com a *química verde*.

Outro método de preparação de 4-tiazolidinonas é através da reação de compostos que apresentam a função tioamida, como as tiossemicarbazonas, com compostos carbonilados α , β -insaturados, como acetilenodicarboxilato de dimetila (DMAD)⁸² ou anidrido maléico⁸³ (**Esquema I 3**).



R = Et, NMe₂, NHC₆H₃Cl₂, NHC₆H₄OMe, 1-piperidinil ou 4-morfolinil



R = alquila ou arila

Esquema I 3. Métodos de obtenção de 4-tiazolidinona

⁸² Berseneva, V. S.; Tkachev, A. V.; Morzherin, Y. Y.; Dehaen, W.; Luyten, I.; Toppet, S.; Bakulev, V. A.; *Synthesis of novel thiazolidin-4-ones by reaction of malonothioamide derivatives with dimethyl acetylenedicarboxylate*, Journal of the Chemical Society Perkin Transactions 1, p.2133, **1998**.

⁸³ Tenório, R. P.; Carvalho, C. S.; Pessanha, C. S.; Lima, J. G.; Faria, A. R.; Alves, A. J.; Melo, E. J. T.; Góes, A. J. S.; *Synthesis of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives and their in vitro anti-Toxoplasma gondii activity*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters . v. 15, p. 2575, **2005**.

Além dos diversos métodos empregados para a síntese do anel 4-tiazolidinona, há diversas reações envolvendo os sítios ativos desse núcleo. As reações quimiosseletivas possíveis podem ocorrer: **a)** nas posições-1 (enxofre) em reações de oxidação ^{23, 84}; **b)** na posição-3 (nitrogênio) em reações de *N*-alquilação e em reações de Mannich ^{25, 85, 24}; **c)** na posição-4 (carbonila) em reações de tionação via reagente de Lawesson ^{22, 86, 87, 88} e, **d)** na posição-5 (carbono metilênico) em reações de condensação com aldeídos, cetonas ou com sais de diazônio ^{24, 89, 90} o **Quadro I 3** mostra alguns exemplos dessas reações.

⁸⁴ Fuchigami, T.; Narizuka, S.; Konno, A., *Electrolytic partial fluorination of organic compounds. 4. Regioselective anodic monofluorination of 4-thiazolidinones and its application to the synthesis of monofluoro .beta.-lactams*, The Journal of Organic Chemistry, v. 57 (14), p. 3755, **1992**.

⁸⁵ Graciet, J. C.; Niddam, V.; Gamberoni, M.; Trabaud, C.; Dessolin, J.; Medou, M.; Mourier, N.; Zoulim, F.; Borel, C.; Hantz, O.; Camplo, M.; Chermann, J. C.; Kraus, J. L., *Modelisation, synthesis and antiviral evaluation of new 2,3-dissubstituted thiazolidinone nucleoside analogues*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. v. 6 n. 15 p. 1775, **1996**

⁸⁶ Clausen, K.; Thorsen, M.; Lawesson, S. O., *Synthesis of N-Benzoyloxycarbonylendo-Thiodipeptide Esters* Tetrahedron v. 37, p.3635, **1981**

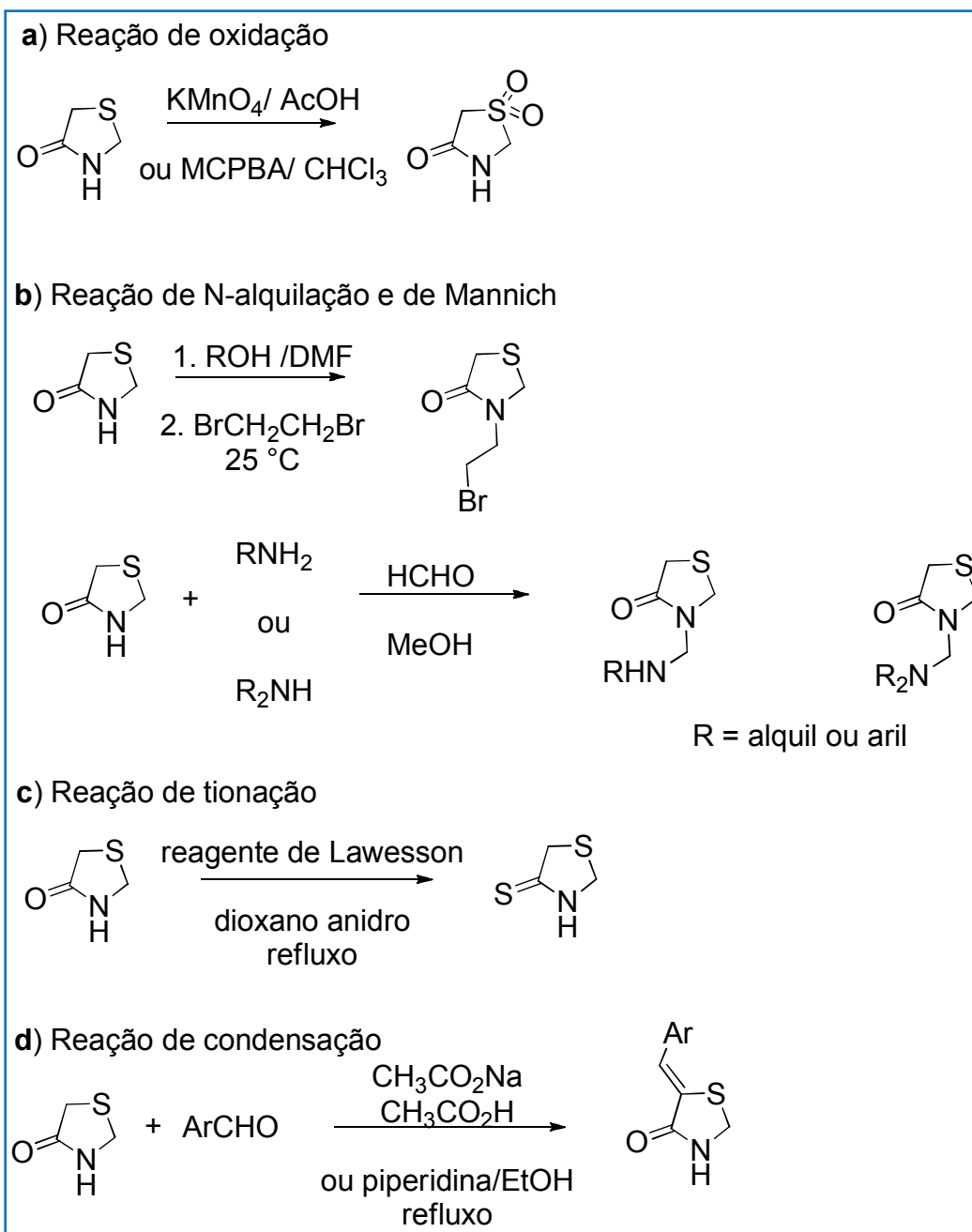
⁸⁷ Cava, M. P.; Levinson, M. I., *Thionation Reations of Lawesson's Reagents*, Tetrahedron, v. 41, p. 5061, **1985**

⁸⁸ Souza, M. V. N.; Ferreira, S. B.; Mendonça, J. S.; Costa, M.; Rebello, F. R., *Métodos de Obtenção e Aplicação sintética de Tiazóis, uma Importante Classe de Compostos Heterocíclicos*, Química Nova v. 28, p. 77, **2005**

⁸⁹ Subba Rao, Y. V.; Choudary, B. M., *Knoevenagel Condensation Catalysed by New Montmorillonitesilypropylethylenediamine*, Synthetic Communications, v.21, p.1163, **1991**

⁹⁰ Vicini, P.; Geronikaki, A.; Anastasia, K.; Incerti, M.; Zani, F., *Synthesis and antimicrobial activity of novel 2-thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones*, Bioorganic Medicinal Chemistry v. 14, p.3859, **2006**

Quadro I 3. Exemplos de reações que ocorrem no anel 4-tiazolidinona



I 3. OBJETIVOS

I 3.1. Geral

Realizar estudos de relação estrutura/atividade de compostos triptamínicos e β -carbolínicos, contendo o núcleo 4-tiazolidinona acoplado a essas estruturas frente às atividades antitumoral e antiviral.

I 3.2. Específicos

Preparação e caracterização de:

- ✓ Uma série de derivados N³-(2-aril-4-tiazolidinona)-triptamínicos
- ✓ Uma série de derivados β -carbolínicos-1-fenilssubstituídos-3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona)
- ✓ Uma série de derivados β -carbolínicos-1-aril-3-carbonilidrazono contendo um grupo etila na unidade 4-tiazolidinona
- ✓ Uma série de derivados β -carbolínicos-1-aril-3-carbonilidrazono contendo um grupo fenila na unidade 4-tiazolidinona
- ✓ Uma série de derivados β -carbolínicos-1-fenil-subssubstituídos-3-carbonilidrazono contendo o grupo acetoacetóxi de etila no anel 4-tiazolidinona
- ✓ Uma série de β -carbolínico-1-fenil-3[amido-N³-(2-arilssubstituído)-4-tiazolidinona]

Avaliação dos ensaios biológicos *in vitro*

- ✓ Frente à atividade antitumoral de dez linhagens de células tumorais humanas e duas células normais
- ✓ Frente à atividade antiviral do vírus *Herpes simplex* tipo 1.

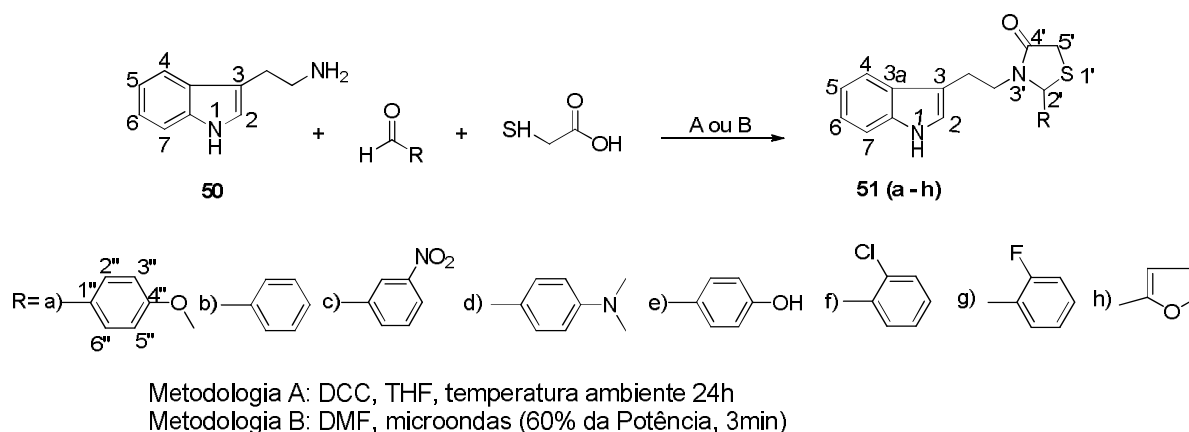
I 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

I 4.1. Preparação e caracterização dos compostos

I 4.1.1. Síntese e caracterização dos derivados N³-(2-aryl-4-tiazolidinona)-triptamínicos (51 a-h)

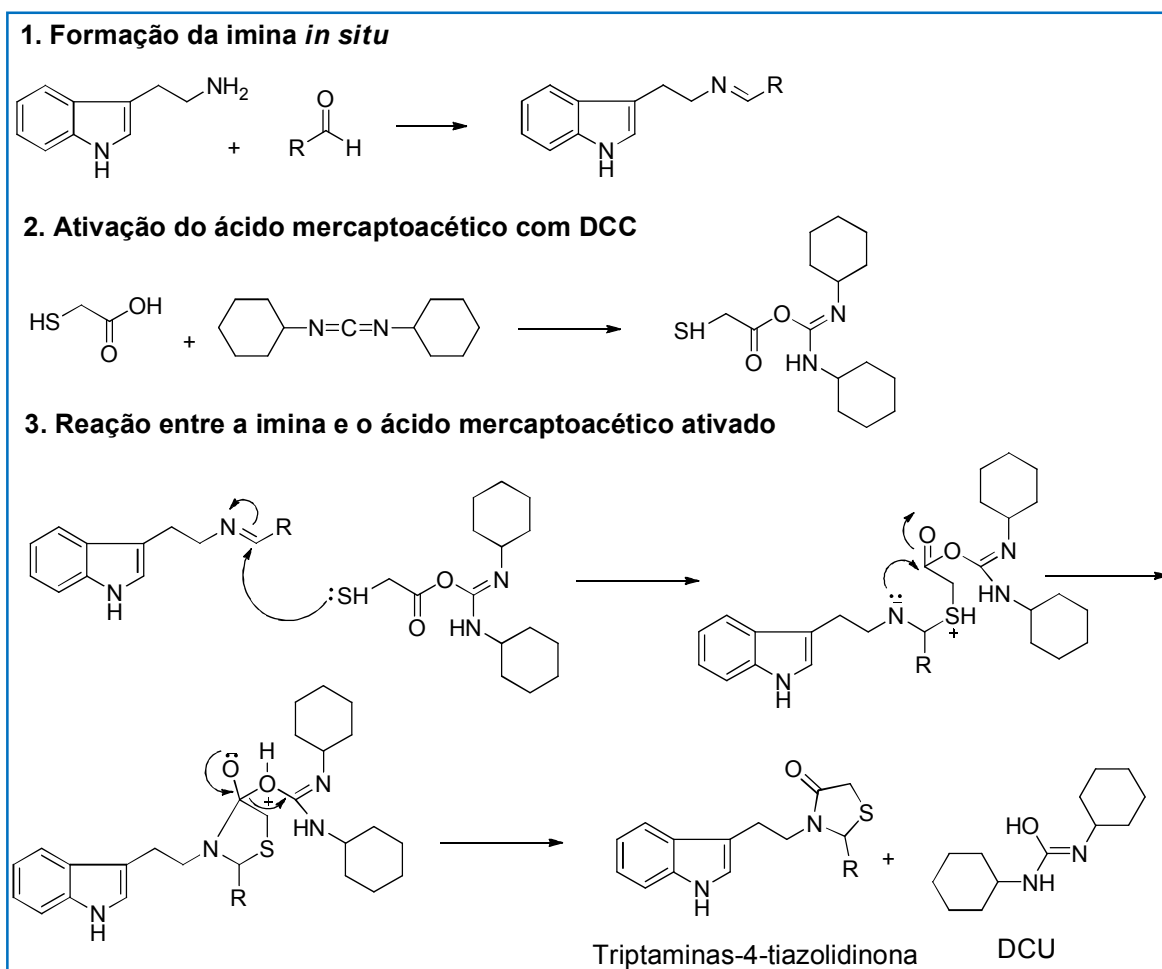
Reações envolvendo ácido α -mercaptopoacético com aminas primárias e/ou secundárias e aldeídos, para a síntese do núcleo tiazolidinona, são denominadas reações de condensação de três componentes “one pot”. Recentemente, Kavitha e colaboradores ⁸¹ demonstraram que esse tipo de reação pode ser otimizado através do uso de microondas. Estudos comparando os procedimentos indicam uma gama de vantagens para o emprego de microondas. Essa é uma forma eficaz de conduzir reações orgânicas, uma vez que a energia é transferida diretamente para os reagentes e/ou solventes, não havendo contato físico com a fonte de aquecimento, possibilitando a melhoria nos rendimentos, maior seletividade e menor decomposição térmica, além da redução do tempo reacional, utilização de uma quantidade menor de solventes orgânicos ou, até mesmo, a realização de reações sem solventes.

Para a preparação das N³-(2'-arilssubstituído-4'-tiazolidinona)-triptaminas (51 a-h) utilizou-se a triptamina (50) como material de partida e foram empregadas duas metodologias (A e/ou B) conforme **Esquema I 4**.



Esquema I 4. Rota Sintética para obtenção dos derivados N³-(2-aryl-4-tiazolidinona)-triptamínicos (51 a-h)

Na Metodologia **A** utilizou-se dicitloexilcarbodiimida (DCC), ácido mercaptoacético, diferentes aldeídos aromáticos e THF como solvente. O mecanismo de ciclização, empregando-se essa metodologia, envolve a ativação do ácido mercaptoacético pelo DCC para produzir o-aciureia, a qual reage com amina para fornecer a amida desejada e a DCU como subproduto. Uma proposta mecanística está ilustrada no **Esquema I 5**⁹¹.



Esquema I 5. Mecanismo proposto para obtenção dos derivados **51 (a-h)** com emprego de DCC via metodologia A

Na metodologia **B**, utilizou-se ácido mercaptoacético, diferentes aldeídos aromáticos em DMF e um forno de microondas doméstico foi empregado para a síntese dos derivados desejados.

Ambas as metodologias empregadas forneceram os produtos (**51 a-h**) em rendimentos similares (na faixa de 61 – 75%), mas com o emprego do forno de microondas foi possível obter

⁹¹ Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V.; *Amide bond formation and peptide coupling*, Tetrahedron 61, p. 10827, 2005.

os compostos com um tempo de reação de 1 a 3 minutos, enquanto que com a utilização da metodologia **A**, levou um tempo de aproximadamente 24 h. Além disso, com o emprego de microondas (metodologia **B**), a maioria dos compostos foi obtida de forma pura, ao contrário da metodologia **A**, na qual os derivados tiveram que ser purificados por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando solventes combinados em diferentes polaridades, e mesmo assim, parte do subproduto da reação, dicicloexiluréia (DCU), manteve-se nos produtos finais.

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados com base nos dados espectroscópicos de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ e IV além dos dados espectroscópicos bidimensionais HSQC e COSY.

A formação do anel 2'-arilssubstituído-tiazolidinona foi confirmada com base nos dados de RMN de ^1H , pelo sinal do hidrogênio metínico H-2' em δ_{H} 5,23 – 5,93 (sl ou d, $J = 1,5 - 1,8$ Hz); sinais dos hidrogênios metilênicos Ha -5' e Hb -5' em δ_{H} 3,60 – 3,84 (dd, $J = 15,3 - 15,6$ Hz e $J = 1,8 - 2,1$ Hz) e 3,53 – 3,72 (d, $J = 15,3 - 15,6$ Hz e um dd, $J = 15,6; 1,0$ Hz, respectivamente, além dos sinais adicionais na região de hidrogênios aromáticos dos grupos arilssubstituídos ligados ao C-2'. Para a maioria dos compostos dessa série foi possível observar o acoplamento 4J , também conhecido como acoplamento W, entre o Ha-5' e o H-2' (**ANEXO 01 a 08 RMN de ^1H**). Também foram observados sinais em δ_{C} 32,2 – 33,5 referentes aos carbonos metilênicos C-5'; em δ_{C} 57,1 – 64,5 atribuídos ao carbono C-2' e sinais na faixa de δ_{C} 170,0 – 170,9, atribuídos à carbonila da unidade tiazolidinona. Os sinais adicionais de carbonos aromáticos do grupo arilssubstituído ligados a C-2' também foram observados (**ANEXO 01 a 08 RMN de ^{13}C**). Nos espectros de IV foram observadas bandas na faixa de 1656 a 1670 cm^{-1} referentes à carbonila do anel tiazolidinona (**ANEXO 01 a 08 IV**). A título de ilustração estão apresentados abaixo os espectros de RMN de ^1H (**Figura I 5.**) e de ^{13}C (**Figura I 6.**) do derivado **43a**, indicando a formação do anel desejado.

Figura I 5. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de **51a** em CDCl_3

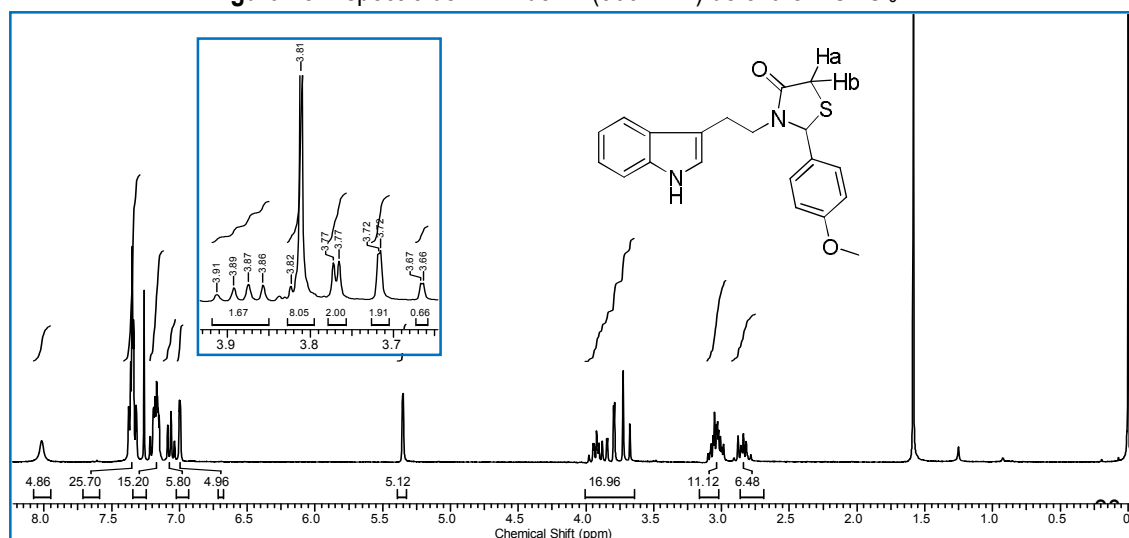
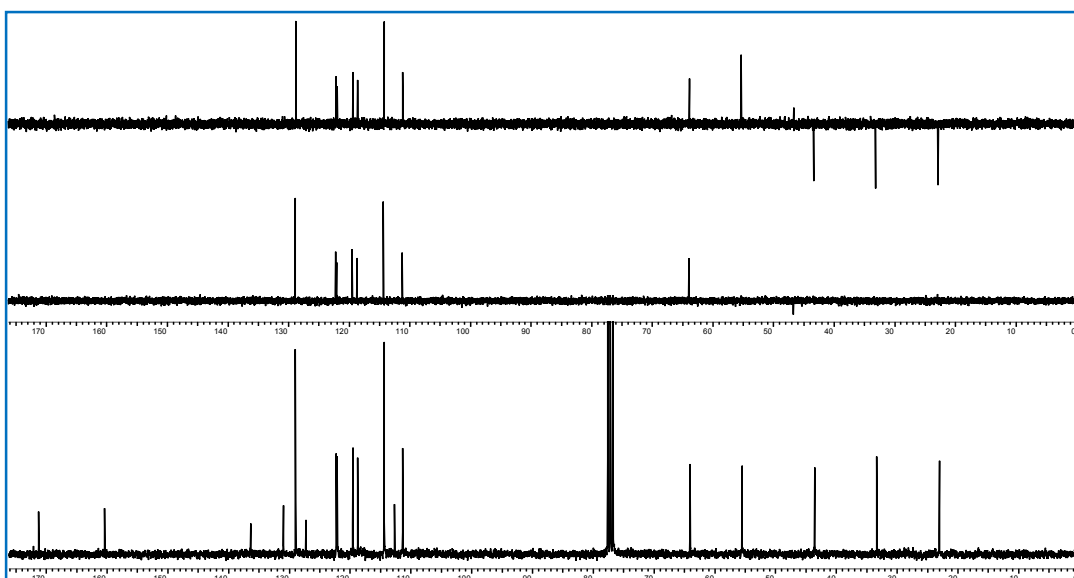
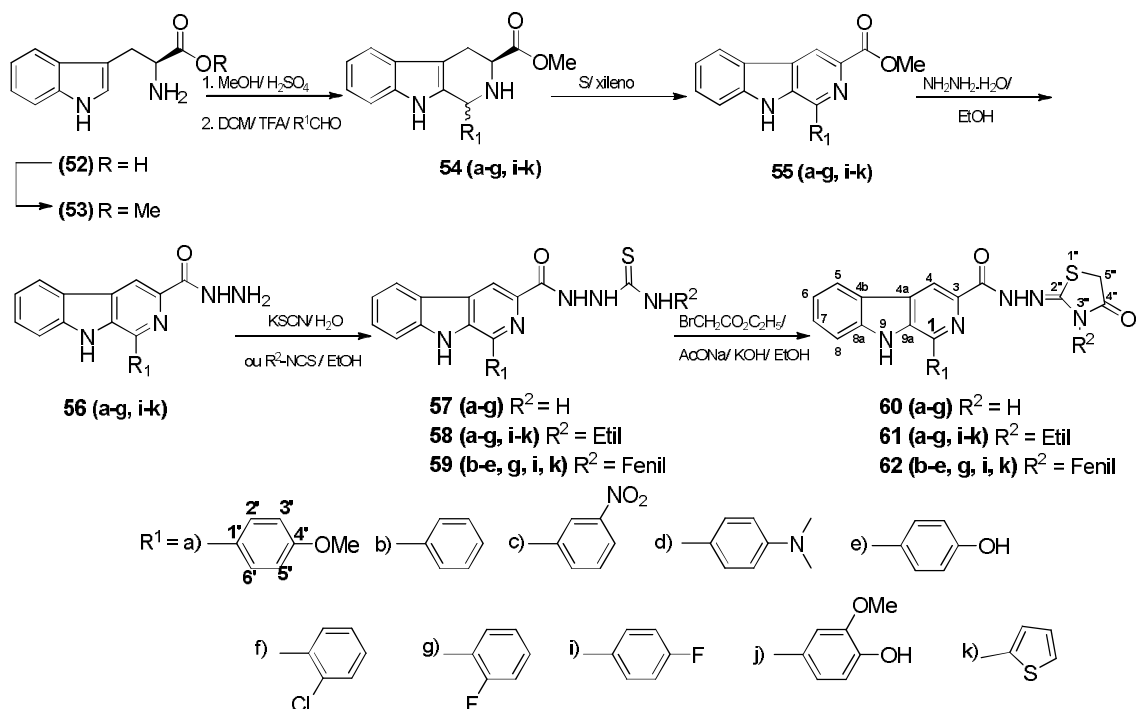


Figura I 6 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ (75,5 MHz) de **51a** em CDCl_3 

I. 4.1.2. Síntese e caracterização dos derivados β -carbolínicos com os grupos 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) (60**), 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) (**61**) e 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) (**62**)**

A rota sintética proposta inicialmente para a preparação dos novos derivados β -carbolínicos contendo o grupo carbonilidrazono-(4-tiazolidinona) (**60**), grupo carbonilidrazono-(4-etiltiazolidinona) (**61**) e carbonilidrazono-(4-feniltiazolidinona) (**62**) na posição-3 está ilustrada de forma geral no **Esquema I 6**.



Esquema I 6. Rota sintética para obtenção dos derivados 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona)-β-carbolínicos (**60**, **61** e **62**)

Para síntese desses novos compostos β-carbolínicos substituídos na posição-3 empregou-se como reagente de partida o L-triptofano comercial (**52**) o qual foi esterificado na presença de metanol, em meio ácido, para fornecer o L-triptofano esterificado (**53**). O triptofano metil éster (**53**) foi condensado via reação *Pictet Spengler*^{92, 93, 94, 95} com diferentes aldeídos aromáticos, (**a-g, i-k**), contendo grupos doadores de elétrons por ressonância (**a, d, e, j**) ou retiradores de elétrons por efeito indutivo (**c, f, g, i**), na presença de ácido trifluoroacético em diclorometano, para obtenção dos derivados tetraidro-β-carbolínicos como uma mistura de diastereoisômeros (*cis*; 1S, 3S) e (*trans*; 1R, 3S) (**54 a-g, i-k**).

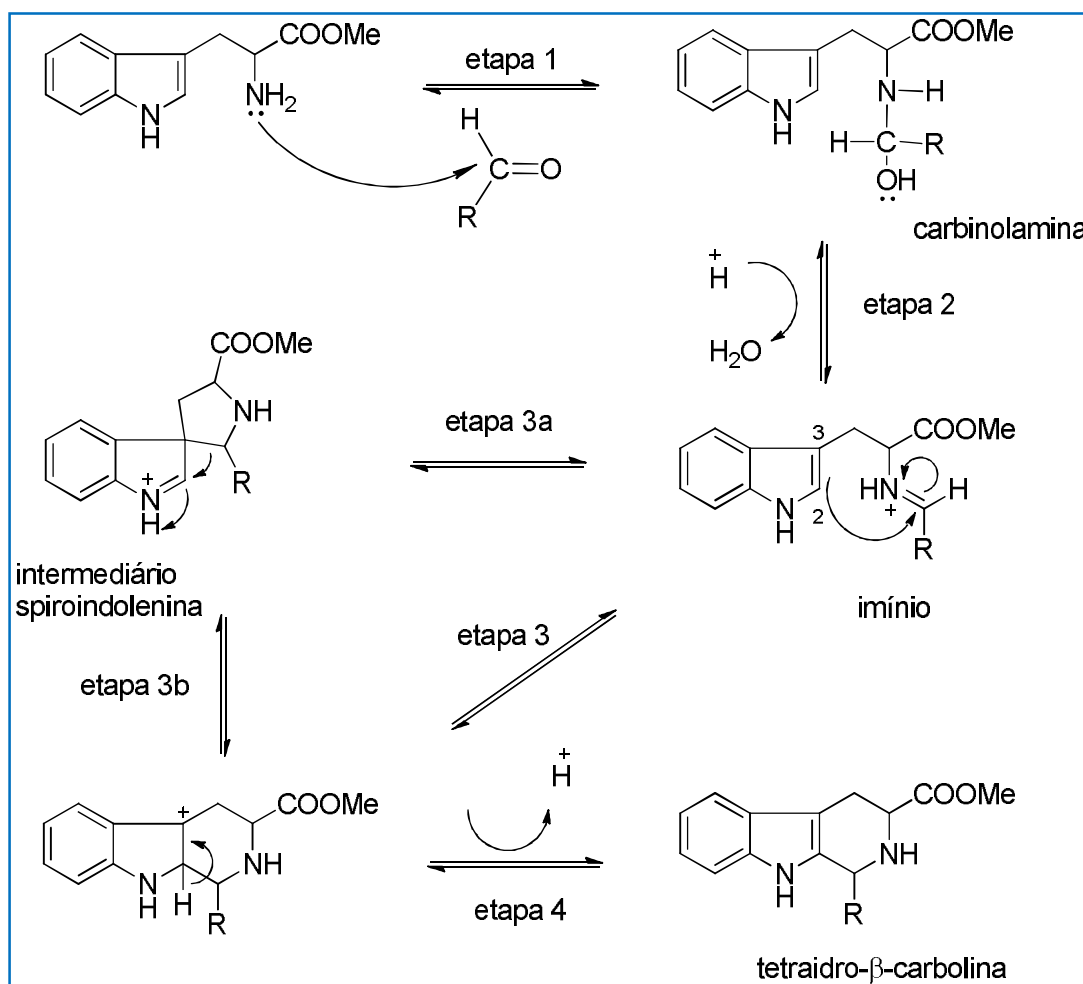
⁹² Bailey, P. D.; Hollinshead, S. P.; McLay, N. R., *Exceptional Stereochemical Control in The Pictet-Spengler Reaction*, Tetrahedron Letters v. 28, p. 5177, **1987**.

⁹³ Bailey, P. D.; Cochrane, J.; Förster, A. H.; Morgan, K. M.; Pearson, D. P. J.; *Synthesis of Polycyclic Indolic Structures*, Tetrahedron Letters, v.40, p. 4597, **1999**.

⁹⁴ Kusurkar, R. S.; Alkobati, N. A. H.; Gokule, A. S.; Puranik, V. G.; *Use of the Pictet - Spengler reaction for the synthesis of 1,4-disubstituted-1,2,3,4-tetrahydro-β-carbolines and 1,4-disubstituted-β-carbolines: formation of γ-carbolines*, Tetrahedron, v. 64, p. 1654, **2008**.

⁹⁵ Maresh, J. J.; Giddings, L. A.; Friedrich, A.; Loris, E. A.; Panikar, S.; Trout, B. L.; Söckigt, J.; Peters, B.; O'Connor, S. E.; *Strictosidine Synthase: Mechanism of a Pictet-Spengler Catalyzing Enzyme*, Journal American Chemical Society, v. 16, p. 710, **2008**.

O mecanismo da reação de condensação de *Pictet-Spengler* é essencialmente uma reação em duas partes ^{92 - 94}. Segundo Kusurkar ⁹⁴ o mecanismo envolve um intermediário do tipo espiroindolenina **Esquema I 7. (etapa 3a)**. Contudo, Casnati ⁹⁶ e Maresh ⁹⁵ mostraram que a ciclização pode ocorrer por ataque direto do C-2 do indol ao carbono imínico (**etapa 3**). Ambos os caminhos propõem a formação de um íon imínio como intermediário.



Esquema I 7. Mecanismo para a condensação de Pictet Spengler

Em seguida os derivados (**54 a-g, i-k**) foram oxidados na presença de enxofre em xileno para obtenção das β -carbolinas (**55 a-g, i-k**).

Após obter os derivados 1-arylsubstituídos- β -carbolínicos (**55 a-g, i-k**), os mesmos foram tratados com hidrazina hidratada em etanol, para fornecer as carboidrazidas (**56 a-g, i-k**),

⁹⁶ Casnati, G.; Dosena, A.; Pochini, A., *Electrophilic Substitution in Indoles: Direct Attack at the 2-Position of 3-Alkylindoles*, *Tetrahedron Lett. eters* v.13, p. 5277, 1972.

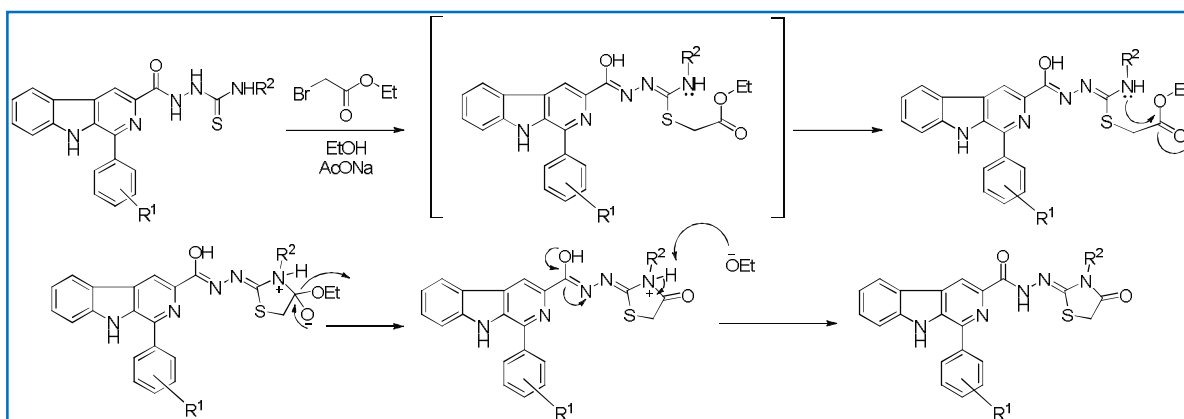
que são os intermediários-chave para a preparação das β -carbolinas 3-substituídas propostas **60**, **61** e **62**.

Para a síntese das β -carbolinas **57** (a-g), **58** (a-g, i-k) e **59** (b, e, g, i e k), as carboidrazidas (**56** a-g, i-k) foram submetidas à reação com tiocianato de potássio, na presença de ácido clorídrico, em água, para fornecer as tiossemicarbazidas **57** (a-g). As tiossemicarbazidas N-substituídas (**58**) e (**59**) foram obtidas pela reação das carboidrazidas **56** (a-g, i-k) com etilistiotiocianato e fenilistiotiocianato, respectivamente, em etanol. Os compostos **57**, **58** e **59** foram condensados com bromoacetato etila, na presença de acetato de sódio e hidróxido de potássio, para fornecer as β -carbolinas contendo o grupo carbonilidrazono-(4-tiazolidinona) (**60** a-g), carbonilidrazono-(4-etiltiazolidinona) (**61** a-g, i-k) e carbonilidrazono-(4-feniltiazolidinona) (**62** b, e, g, i e k) na posição-3 do anel β -carbolínico.

A síntese dos derivados β -carbolínicos-tiazolidinonas **60j**, **62a** e **62j**, os quais possuem o grupo 3-metoxi, 4-hidroxifenila (j) e metóxfenila (a) na posição-1 do anel β -carbolínico, não foi possível devido à baixa solubilidade dos respectivos intermediários β -carbolínicos-tiossemicarbazidas **57j** e **59a**, **59j** em etanol que foi o solvente utilizado para a síntese dessas reações.

Os intermediários **57** (i e k), **59** (c, d e f) foram sintetizados, porém foi observado através de CCD como mistura de compostos o que dificultou a purificação dos mesmos.

O mecanismo para a formação do anel 4-tiazolidinona está ilustrado no **Esquema I 8**⁹⁷.



Esquema I 8. Mecanismo para a formação do anel 4-tiazolidinona

⁹⁷ Liesen, A. P.; de Aquino, T. M.; Góes, A. J. S.; *Métodos de Obtenção, Reatividade e Importância Biológica de 4-Tiazolidinonas*, Química Nova, v. 31, n. 2, p. 369, 2008.

Todos os compostos sintetizados, **60(a-g)**, **61(a-g, i-k)** e **62(b-e, g, i, k)**, foram obtidos em bons rendimentos (62-81%) e caracterizados com base em seus dados espectroscópicos de IV e RMN de ^1H , de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ e espectros bidimensionais de HSQC e COSY.

A formação das 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona)- β -carbolinas (**60**) foi evidenciada, principalmente, pelos sinais em δ_{H} 3,52 – 4,05 (s, 2H) referentes aos hidrogênios da unidade metilênica do anel tiazolidinona, no espectro de RMN de ^1H . Nos espectros de RMN de ^{13}C , a formação do anel tiazolidinona foi caracterizada, principalmente, pelos sinais em δ_{C} 34,2 – 38,0 referentes ao carbono da unidade metilênica desse anel, além dos sinais na região de δ_{C} 172,1 – 182,4 e δ_{C} 162,7 – 167,3 referentes ao carbono carbonílico do anel 4-oxo-tiazolidinona e ao carbono carbonílico da unidade carboidrazida, respectivamente. Os sinais na região de δ_{C} 150,8 – 162,7 foram atribuídos ao carbono imínico. Para a maioria dos derivados dessa série não foi observado sinal de carbonilas tanto referente à carbonila da unidade carboidrazida como para a unidade tiazolidinona. Os demais sinais de hidrogênios bem como de carbono do esqueleto β -carbolínico foram evidenciados e mostraram-se concordantes com os dos produtos formados. Nas **Figuras I 7 e I 8** estão mostrados os espectros de RMN de ^1H e de RMN de ^{13}C de **60b**, como exemplo de elucidação dessa série. (**ANEXO 09 a 15 RMN de $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ e HSQC**).

Figura I 7. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de **60b** em $\text{DMSO-}d_6$

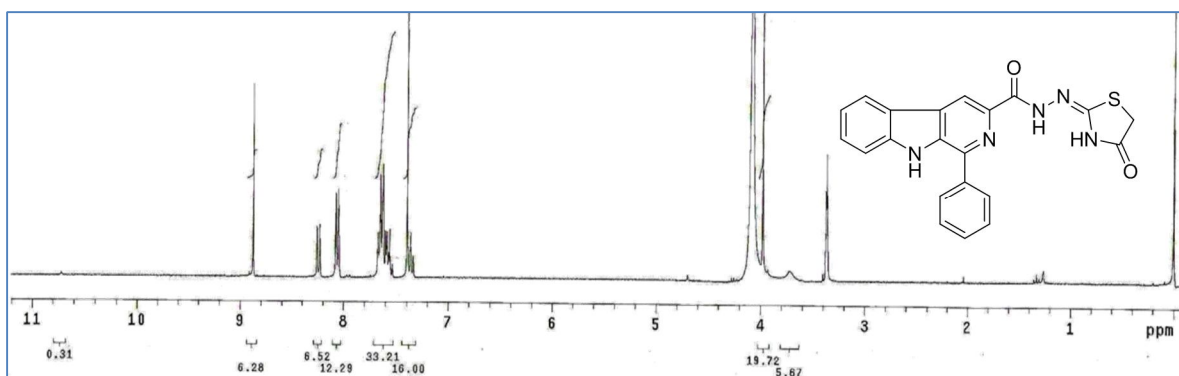
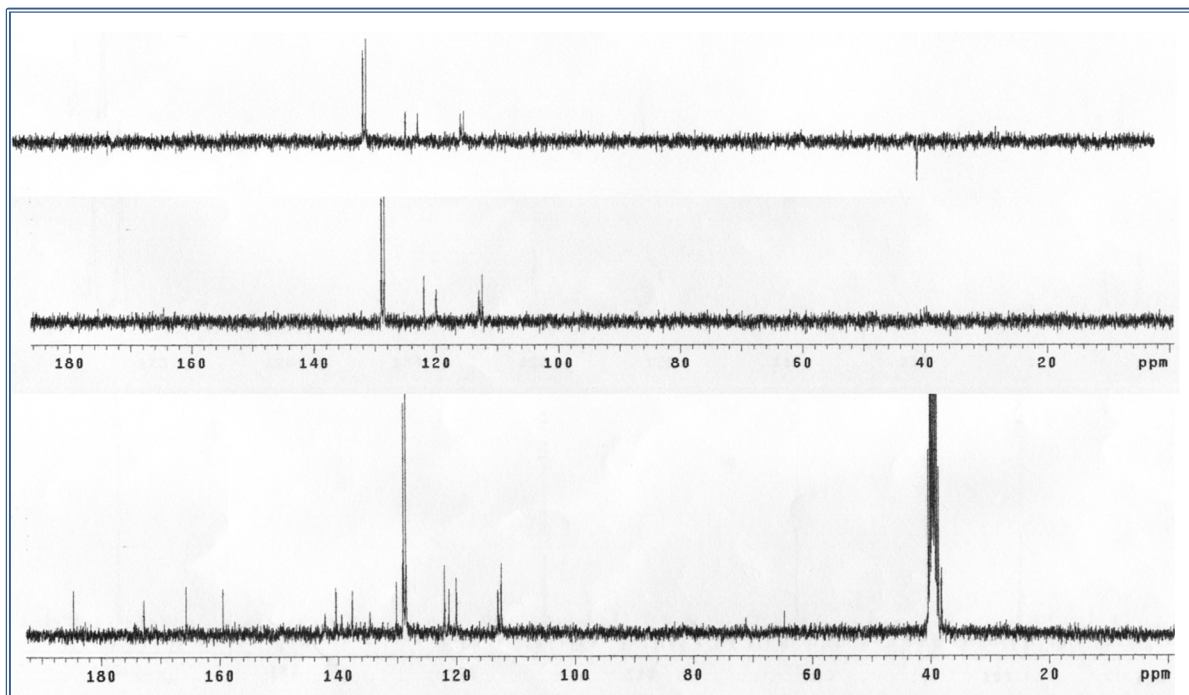
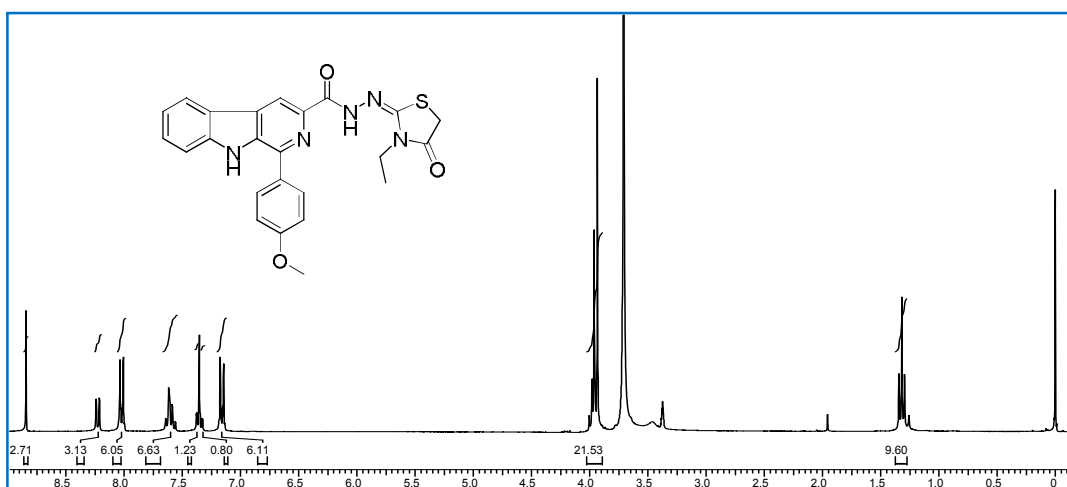
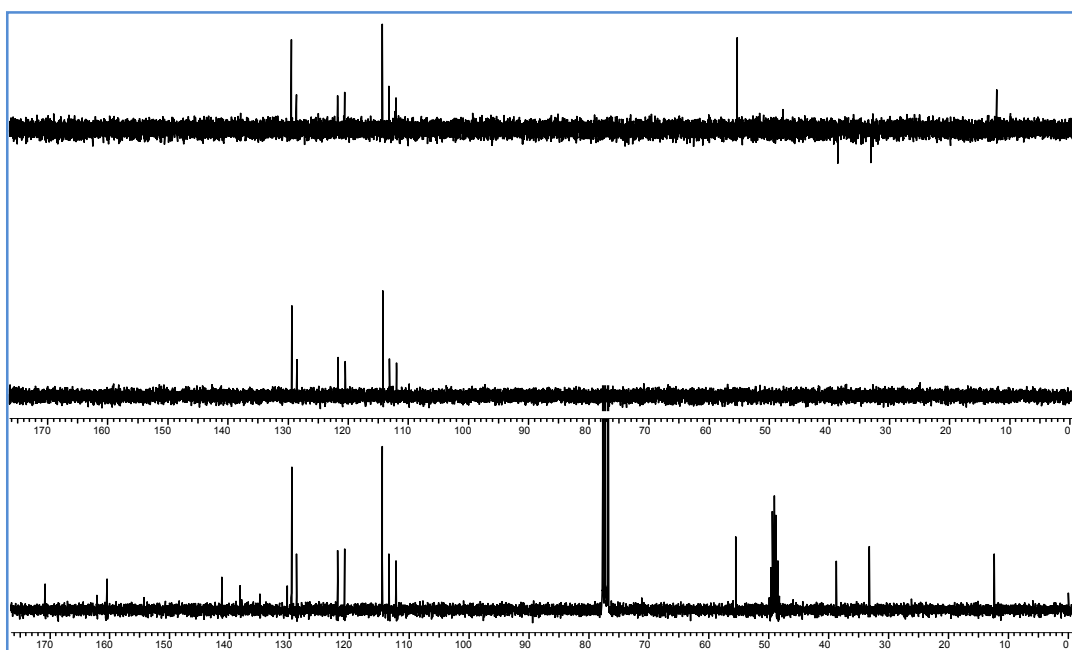


Figura I 8. Espectro de RMN de ^{13}C (75,5 MHz) de **60b** em $\text{DMSO-}d_6$ 

Os derivados 3-(2''-carbonilidrazono-3''-etil-4''-tiazolidinona)- β -carbolina (**61**), apresentaram sinais na região de δ_{H} 3,86 – 4,19 (s ou *m*, 2H) referentes aos hidrogênios metilênicos (H-5'') da unidade tiazolidinona; sinais em δ_{H} 3,76 – 4,00 (*m* ou quart. $J = 6,1 - 7,0$ Hz; 2H), e valores na faixa de δ_{H} 1,20 – 1,33 (t, $J = 6,3 - 7,2$ Hz; 3H) referentes aos hidrogênios metilênicos e metílicos da unidade etila, respectivamente, nos espectros de RMN de ^1H , os quais confirmaram a formação do anel 3''-etil-4''-tiazolidinona. Este foi confirmado também pelos sinais na faixa de δ_{C} 29,6 – 38,7, referentes ao carbono metilênico da unidade tiazolidinona; δ_{C} 32,9 – 38,9 e de δ_{C} 12,1 – 14,5 referentes aos carbonos metilênicos e metílicos do grupo etila ligado ao átomo de nitrogênio do anel formado, nos espectros de RMN de ^{13}C . Sinais de dois carbonos carbonílicos, das unidades 4-tiazolidinona e carbonilidrazono, e sinal do carbono imínico (C=N), foram observados na faixa de δ_{C} 170,7 – 171,5; δ_{C} 159,6 – 162,7 e em δ_{C} 151,1 – 161,9, respectivamente. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C do derivado **61a** estão mostrados nas Figuras I 9 e I 10, respectivamente. (ANEXOS 16 a 24 RMN de ^1H / ^{13}C e HSQC).

Figura I 9. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de **61a** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ Figura I 10. Espectro de RMN de ^{13}C DEPT (75,5MHz) de **61a** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 

A formação do anel tiazolidinona nos derivados, 3-(2''-carbonilidrazono-3''-fenil-4-tiazolidinona)- β -carbolina (**62**), foi caracterizada pelos sinais na faixa de δ_{H} 3,04 - 4,33 (s, 2H), referentes aos hidrogênios metilênicos da unidade tiazolidinona; hidrogênios aromáticos do anel fenila ligado ao átomo de nitrogênio também foram evidenciados, bem como a presença dos demais hidrogênios do esqueleto β -carbólico, nos espectros de RMN de ^1H . Nos espectros de ^{13}C foram observados sinais na faixa δ_{C} 33,0 - 33,2, referentes aos carbonos metilênicos do anel tiazolidinona (C-5''), além da presença de sinais adicionais de carbonos aromáticos do grupo N-fenila. Os sinais em δ_{C} 170,5 - 171,2 e δ_{C} 158,3 - 160,5, referentes às carbonilas das unidades 4-

tiazolidinona e carbonilidrazona, respectivamente. Sinais em δ_c 159,1 – 160,3 referentes aos carbonos imínicos (C=N), e para os demais carbonos aromáticos também foram observados. As **Figuras I 11 e I 12** correspondem aos respectivos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C para o derivado **62b** (ANEXOS 25 a 31 RMN de $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ e HSQC).

Figura I 11. . Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de **62b** em $\text{DMSO-}d_6$

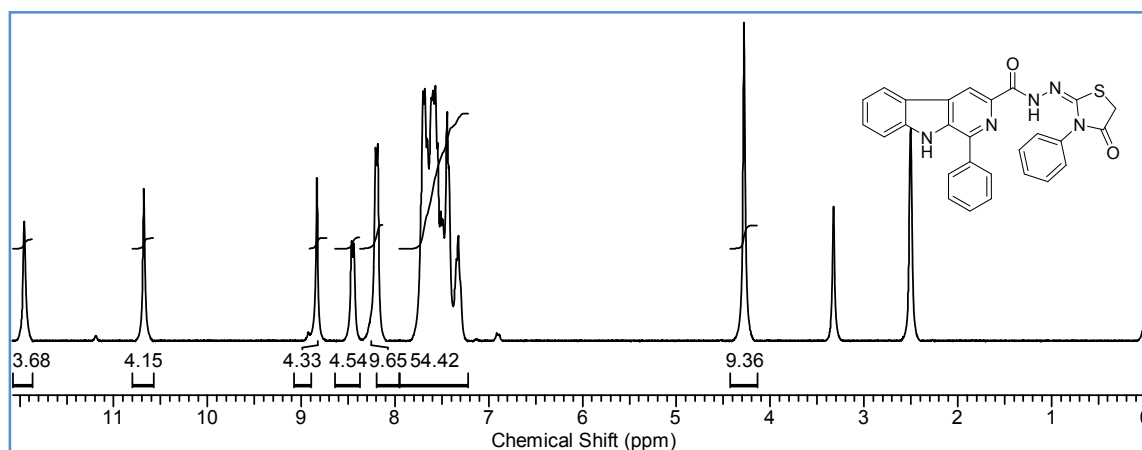
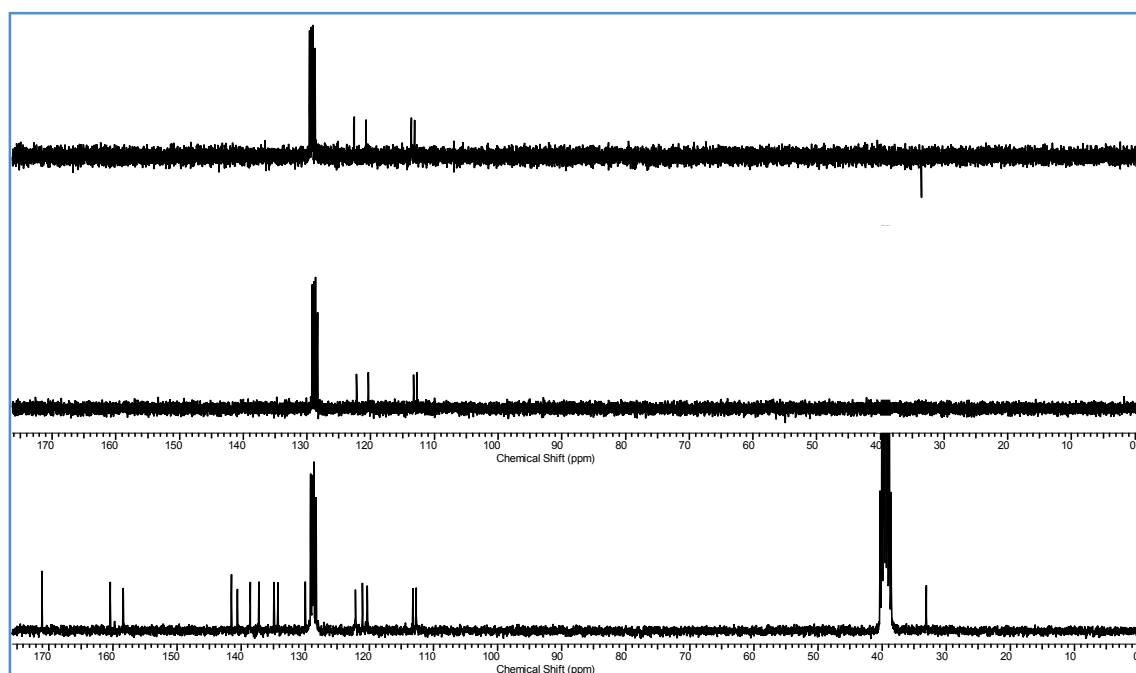
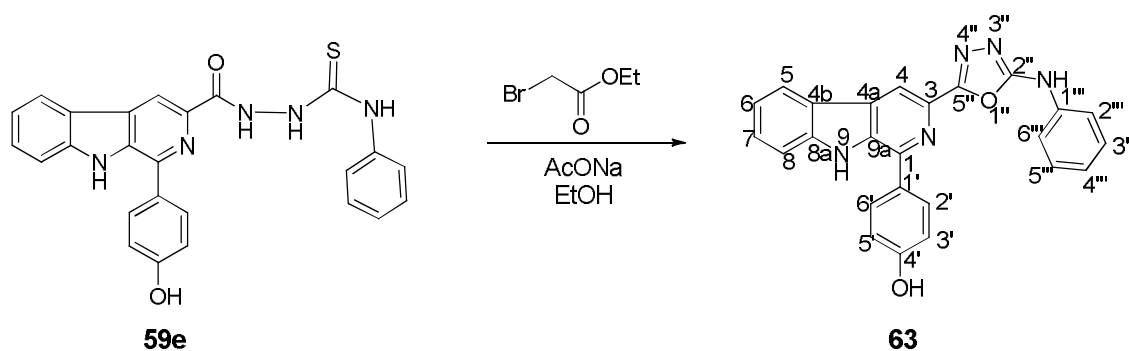


Figura I 12. Espectro de RMN de ^{13}C DEPT (75,5 MHz) de **62b** em $\text{DMSO-}d_6$



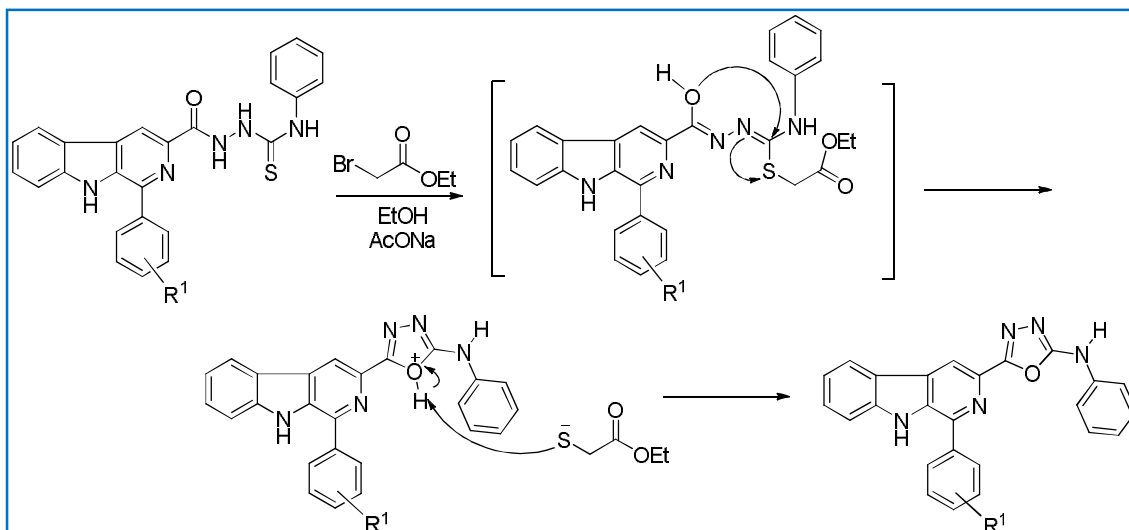
Curiosamente, ao repetirmos a reação para a obtenção de maior quantidade do derivado **62e**, obteve-se um produto diferente daquele anteriormente obtido, cujos dados espectroscópicos não foram compatíveis com a presença da unidade 4-tiazolidinona. O espectro de RMN de ^1H indicou ausência do singlete na região δ_H 4,13 – 4,33 referentes aos hidrogênios

metilênicos presente no anel 4-tiazolidinona, e a presença de sinais adicionais na região de hidrogênios aromáticos referentes ao grupo fenila (NH-fenil). No espectro de RMN de ^{13}C observou-se a ausência dos sinais das carbonilas e a presença de carbonos quartenários em δ_{C} 160,0 e δ_{C} 158,8 (**ANEXO 32 $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ e HSQC**). Com estas informações, constatou-se que não houve a formação do anel 4-tiazolidinona desejado, mas sim a formação do anel 1,3,4-oxadiazol substituído **63**, conforme mostrado no **Esquema I 9**.



Esquema I 9. Obtenção do derivado 1,3,4-oxadiazol (**63**)

A formação de 1,3,4-oxadiazol, ao invés de 4-tiazolidinonas, a partir de reações de tiossemicarbazidas contendo grupos volumosos ligados ao nitrogênio da unidade tiossemicarbazida (como grupos fenila, por exemplo), já encontra-se descrita na literatura ⁷⁷. O mecanismo para a formação do derivado 1,3,4-oxadiazol **63** consiste na S-alkilação da forma tiol da tiossemicarbazida, seguido da ciclização intramolecular, com perda de mercaptoacetato de etila e formação do heterociclo. O mecanismo para a formação do anel 1,3,4 oxadiazol substituído está ilustrado no **Esquema I 10**.



Esquema I 10. Mecanismos para a formação do anel 1,3,4-oxadiazol substituído

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C do derivado **63** estão apresentados nas Figuras I 13 e I 14, respectivamente.

Figura I 13. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de **63** em $\text{DMSO-}d_6$

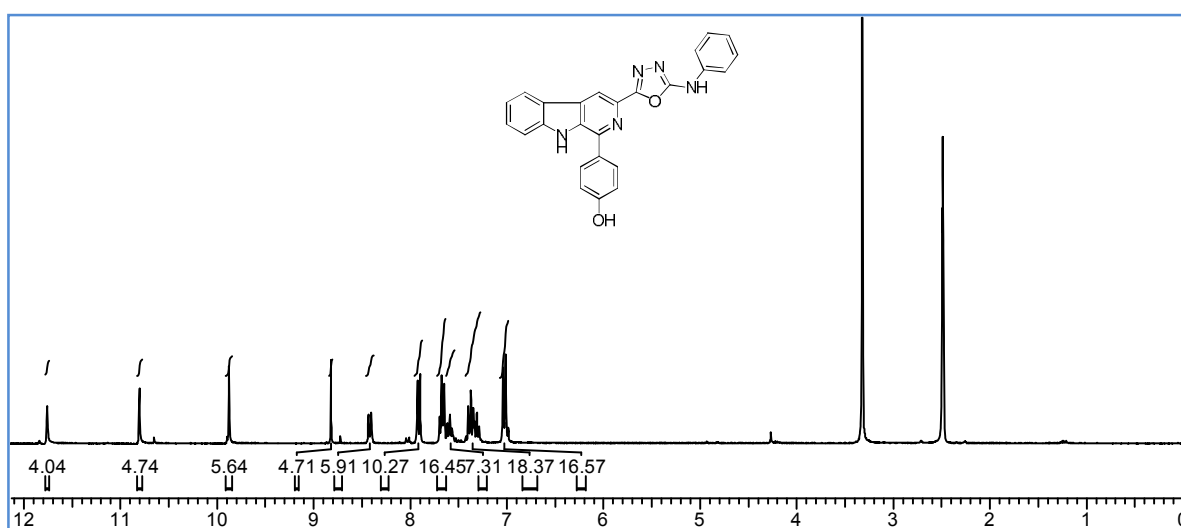
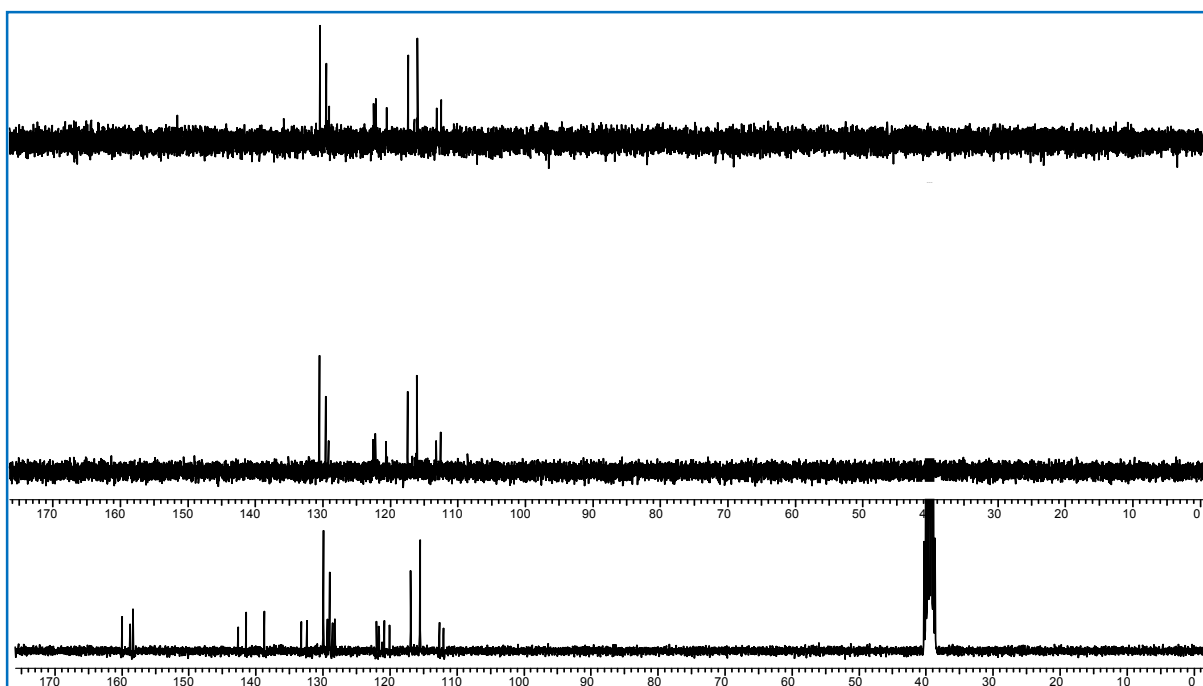
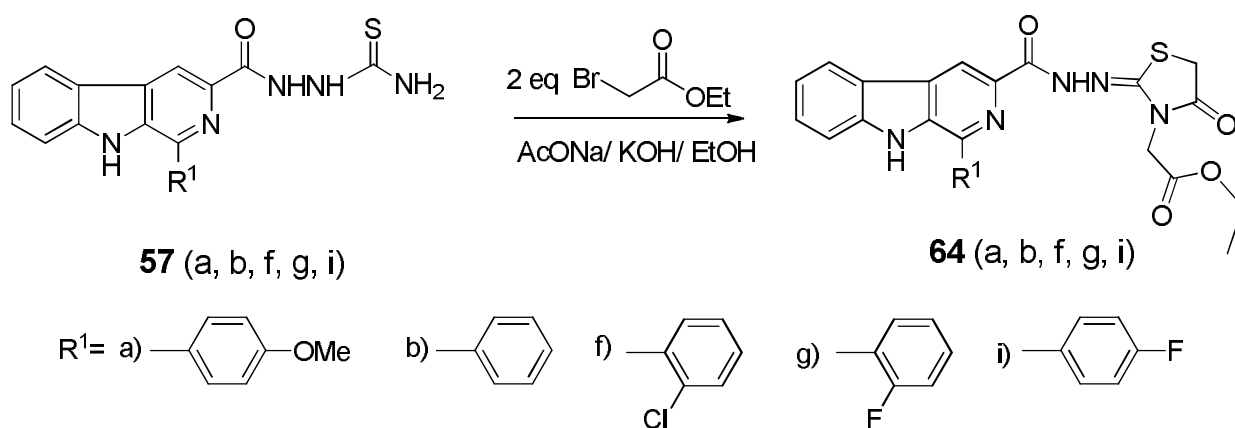


Figura I 14. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ (75,5 MHz) de **63** em $\text{DMSO}-d_6$ 

Durante a otimização das condições reacionais para a preparação dos compostos (**60 a-g**) foram testadas diferentes quantidades de bromoacetato de etila. Com o emprego de um pequeno excesso de bromoacetato de etila (1,2 eq.), na etapa de ciclização do anel do derivado **57a**, ocorreu também a alquilação do nitrogênio do anel tiazolidinona, com a formação do derivado **64a** (Esquema I 11.). Com a obtenção desse derivado foi possível sintetizar outros derivados para essa série **64 (b, f, g, i)**, empregando-se apenas um excesso de bromoacetato de etila. Os novos compostos foram obtidos com bons rendimentos na faixa de 78 a 86%. Todos os derivados sintetizados foram caracterizados com base nos dados espectroscópicos de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$.



Esquema I 11. Rota sintética para obtenção dos derivados β -carbólicos 4-tiazolidinonas N-alquilados (**64 a, b, f, g, i**)

A introdução do grupo acetoacetóxi de etila no anel tiazolidinona foi caracterizada, principalmente, pela presença de sinais adicionais na faixa δ_{H} 4,53 – 4,68 (s, 2H) referentes aos sinais de hidrogênios metilênicos ligados ao nitrogênio do anel tiazolidinona (N-CH₂), além dos sinais em δ_{H} 4,19 – 4,25 (quarteto, $J = 7,0 - 7,1$ Hz, 2H) e em δ_{H} 1,25 – 1,38 (triplete, $J = 7.0$ Hz, 3H) referentes aos hidrogênios metilênicos e metílicos da unidade etoxila (O-CH₂-CH₃). Nos espectros de RMN de ¹³C foram observados sinais em δ_{C} 43,3 – 43,8 referentes aos carbonos metilênicos (N-CH₂); em δ_{C} 61,4 – 62,3 e δ_{C} 14,0 – 14,2 referentes aos carbonos metilênicos e metílicos, respectivamente, do grupo etoxila. Sinais na faixa de δ_{C} 160,6 – 161,9, referentes à carbonila de éster, também foram observados (**ANEXOS 33 a 37 RMN de ¹H/ ¹³C e HSQC**).

As **Figuras I 15 e I 16** ilustram os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C do derivado **64b**, respectivamente.

Figura I 15. Espectro de RMN de ¹H (300 MHz) de **64b** em CDCl₃/CD₃OD

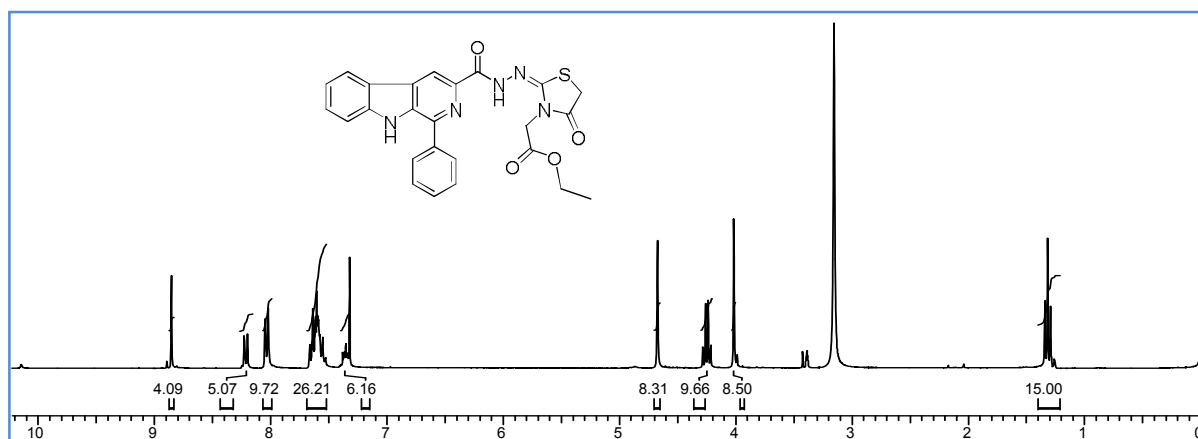
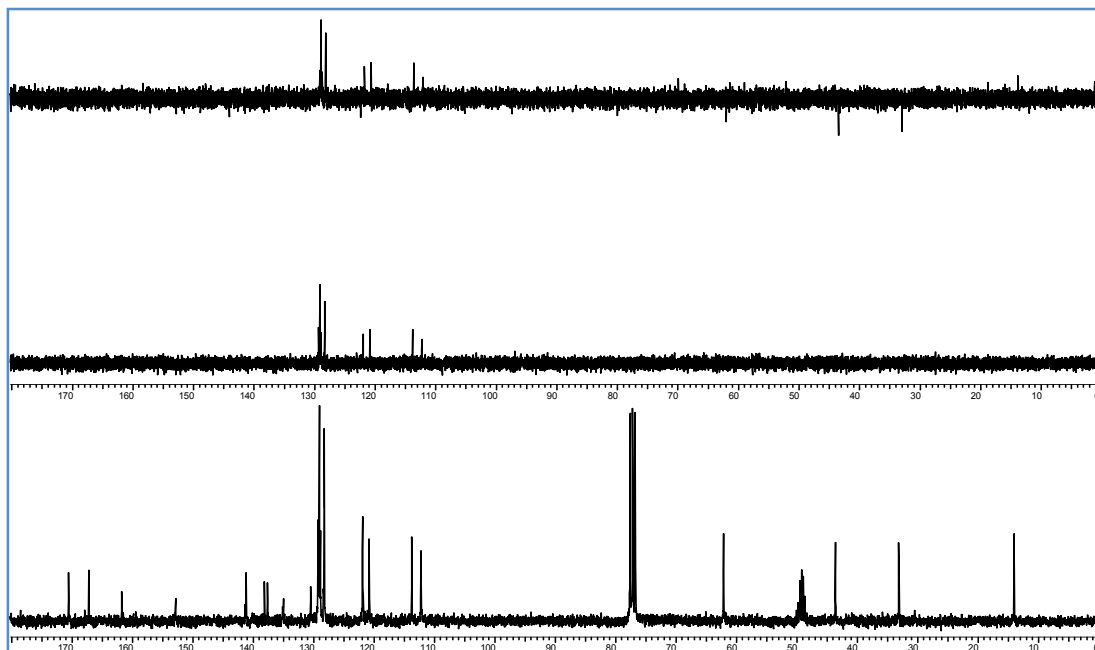
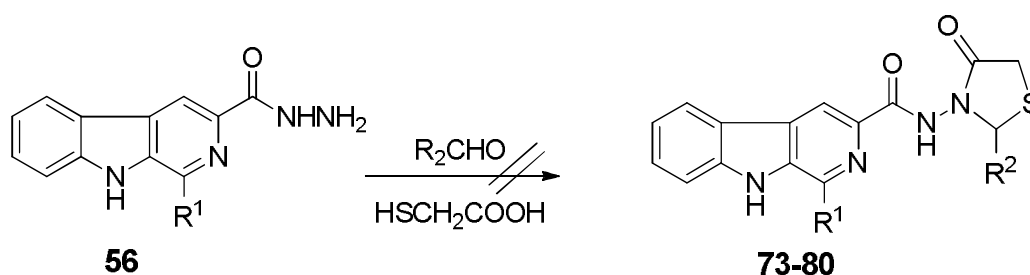


Figura I 16. Espectro de RMN de ^{13}C (75,5 MHz) de **64b** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 

I 4.1.2. Síntese e caracterização das 1-fenilsubstituído-3-[amido- N^3 -(2-arylsubstituído-4-tiazolidinona) β -carbolinas (**73 - 80**)

A síntese dos derivados N^3 -(2-arylsubstituído-4-tiazolidinona) β -carbolinas (**73 - 80**) foi inicialmente visualizada pela reação “one pot” direta das carboidrazidas **56**, com aldeído, ácido mercaptoacético, conforme procedimento mostrado no **Esquema I 12** semelhante ao utilizado para a obtenção das 4-tiazolidinona-triptaminas.



Esquema I 12. Reação “one pot” para obtenção das 4-tiazolidinonas β -carbolinas **73 - 80**

Diferentes condições foram testadas para a preparação dos compostos desejados conforme ilustrado na **Tabela I 1**.

Tabela I 1. Reagentes e condições para obtenção do núcleo 4-tiazolidinona

Material Partida	Reagentes	Solvente	Condições		Referências
54 (a-d, f, g, k)	SHCH ₂ COOH R ₂ CHO	DMF	MW	P=30W t=60, 120 e 180s	98
				P=60W t=60, 120 e 180s	
		EtOH	MW	P=60W t=60, 120 e 180s	99
		THF		T ~ 0 °C / DCC ~36h	98
		MeOH		T ~ 0 °C / DCC e DMAP ~24h	96
		Tolueno		Refluxo ~30h /remoção de água	100
		EtOH		ZnCl ₂ /tamb → refluxo 12h	101
		DMF		ZnCl ₂ /tamb → refluxo 12h	82
		MeOH		ZnCl ₂ refluxo ~24h	20
		Tolueno		Refluxo ~30h	70
		Tolueno		ZnCl ₂ /tamb → refluxo 12h	68

⁹⁸ Bondock, S.; khalifa, W.; Fadda, A. A.; *Synthesis and antimicrobial evaluation of some new thiazole, thiazolidinone and thiazoline derivatives starting from 1-chloro-3,4-dihydronaphthalene-2-carboxaldehyde*, European Journal of Medicinal Chemistry, v. 42, p. 948, **2007**.

⁹⁹ Ottanà, R.; Maccari, R.; Ciurleo, R.; Paoli, P.; Jacomelli, M.; Manao, G.; Camici, G.; Laggner, C.; Langer, T.; *5-Arylidene-2-phenylimino-4-thiazolidinones as PTP1B and LMW-PTB inhibitors*, Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 17 p. 1928, **2009**.

¹⁰⁰ Dandia, A.; Singh, R.; Khaturia, S.; Mérienne, C.; Morgant, G.; Loupy, A.; *Efficient microwave enhanced regioselective synthesis of a series of benzimidazolyl/triazolyl spiro [indole-thiazolidinones] as potent antifungal agents and crystal structure of spiro[3H-indole-3,2'-thiazolidine]-3'(1,2,4-triazol-3-yl)-2,4'(1H)-dione*, Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 14, p. 2409, **2006**.

¹⁰¹ Chen, H.; Jiao, L.; Guo, Z.; Ba, C.; Zhang, J.; *Synthesis and biological activity of novel thiazolidin-4-ones with a carbohydrate moiety*, Carbohydrate Research, v. 343, p. 3015, **2008**.

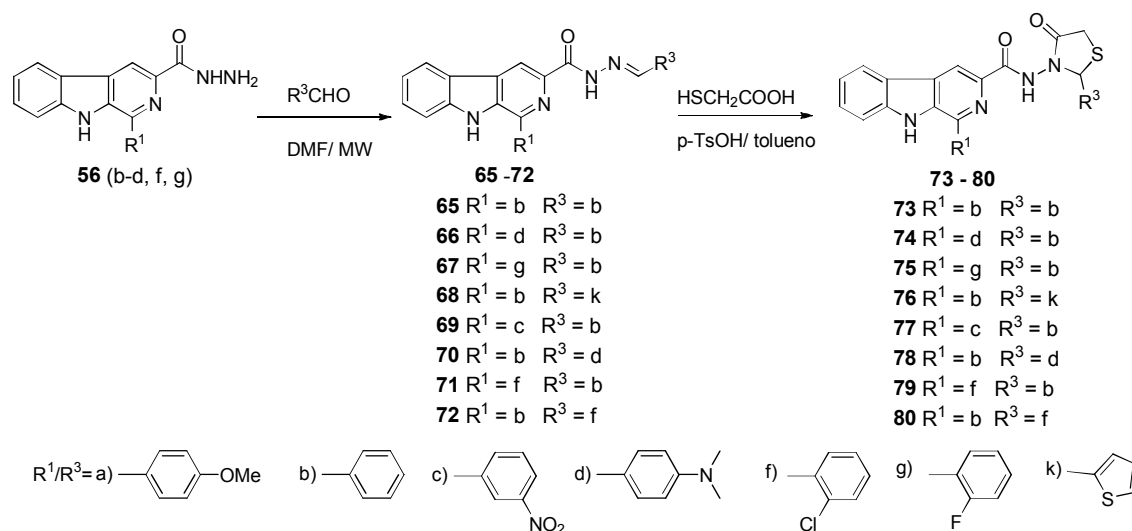
No entanto, o emprego das metodologias descritas acima para a formação do anel tiazolidinona, utilizando os derivados **56** (a-d, f, g, k) como material de partida, não forneceu os produtos desejados. Com essas rotas sintéticas foi possível apenas obter os intermediários imínicos (**65 - 72**).

Conforme relatos da literatura ²³, o uso dessa estratégia conduz à formação de iminas *in situ*, a partir de reações entre aminas e aldeídos, e posterior condensação destas com ácido mercaptoacético, formando o anel 4-tiazolidinona.

Diante da obtenção somente dos intermediários imínicos com o emprego das metodologias descritas, a nova tentativa para a obtenção dos derivados desejados foi utilizar o intermediário imínico para a síntese dos compostos propostos. Para isso, utilizaram-se metodologias descritas na literatura ⁸⁴, além das condições citadas anteriormente que também foram empregadas. Todas as reações foram acompanhadas por CCD, sendo também realizada análise espectroscópica de RMN de ¹H ¹³C/DEPT do material obtido após as reações.

No entanto somente o material de partida, nesse caso o intermediário imínico, permanecia no meio reacional. A rota sintética que visa a obtenção dos compostos desejados a partir das iminas não foi eficiente nesse caso.

A obtenção dos compostos 3-[amido-N³-(2'-arilsubstituído-4'-tiazolidinona)] β-carbolínicos **73 - 80** somente foi possível com a adição de ácido *p*-toluenossulfônico (catalítico) à reação dos compostos imínicos (**65 - 72**) com ácido mercaptoacético (**Esquema I 13**).



Esquema I 13. Rota sintética para obtenção dos derivados β-carbolínicos 3-[amido-(2-arilsubstituído-4-tiazolidinona)] **73 - 80**

A protonação do nitrogênio imínico, na presença desse ácido, facilita o ataque do átomo de enxofre ao carbono imínico e, em seguida, contribui com a etapa de eliminação de molécula de água. Os intermediários imínicos (**65 – 72**) foram preparados pela reação das β -carbolina-3-carboidrazidas (**56 b-d, f, g**) com diferentes aldeídos aromáticos em DMF em microondas doméstico conforme mostrado no **Esquema I 13**. Todos os produtos, (**73 – 80**), foram obtidos com rendimentos na faixa de 67 – 83%.

Os novos compostos **73 - 80** foram caracterizados com base nos dados espectroscópicos de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$. A formação do anel foi evidenciada pelos sinais em δ_{H} 3,78 – 3,84 (dd, $J = 1,5 - 1,8$ e 15,0 Hz, 1H) do hidrogênio Hb (H-5''), acoplado em W com o H-2''. Também foram observados sinais em δ_{H} 3,92 – 4,00 (d, $J = 15,0 - 15,9$, 1H) para a maioria dos compostos, referente ao hidrogênio Ha (H-5'') da unidade metilênica do anel tiazolidinona. Para dois compostos foi ainda observado o acoplamento de Ha com H-2'', com valores de δ_{H} 3,93 (dd, $J = 1,5, 15,0$ Hz, 1H) e δ_{H} 3,95 (dd, $J = 1,3, 15,0$ Hz, 1H). Sinais em δ_{H} 6,01 – 6,57 (s, 1H, H-2'') foram atribuídos ao hidrogênio metínico H-2'' nos espectros de RMN de ^1H (**ANEXOS-38 a 45 RMN de ^1H**). Nos espectros de RMN de ^{13}C foram observados sinais em δ_{C} 29,5 – 30,5 (C-5''), δ_{C} 60,2 – 63,7 (C-2''), além dos sinais em δ_{C} 169,2 – 170,9 e em δ_{C} 162,9 – 165,1 referentes as carbonilas do anel tiazolidinona e da unidade carboidrazida, respectivamente (**ANEXOS-38 a 45 RMN de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ e HSQC**). Os sinais para os demais hidrogênios e carbonos aromáticos do núcleo β -carbólico também foram observados nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C , e apresentaram-se coerentes com as estruturas dos produtos formados. As **Figuras I 17. e I 18.** correspondem aos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C , respectivamente, do derivado **79**, apresentado como exemplo de caracterização e elucidação para os derivados dessa série.

Figura I 17. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de **79** em $\text{DMSO}-d_6$

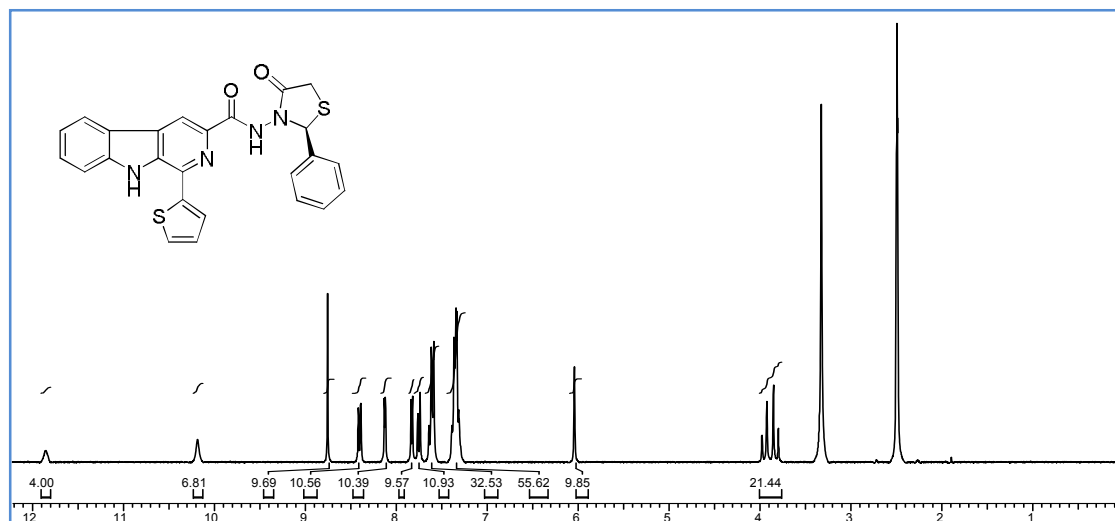
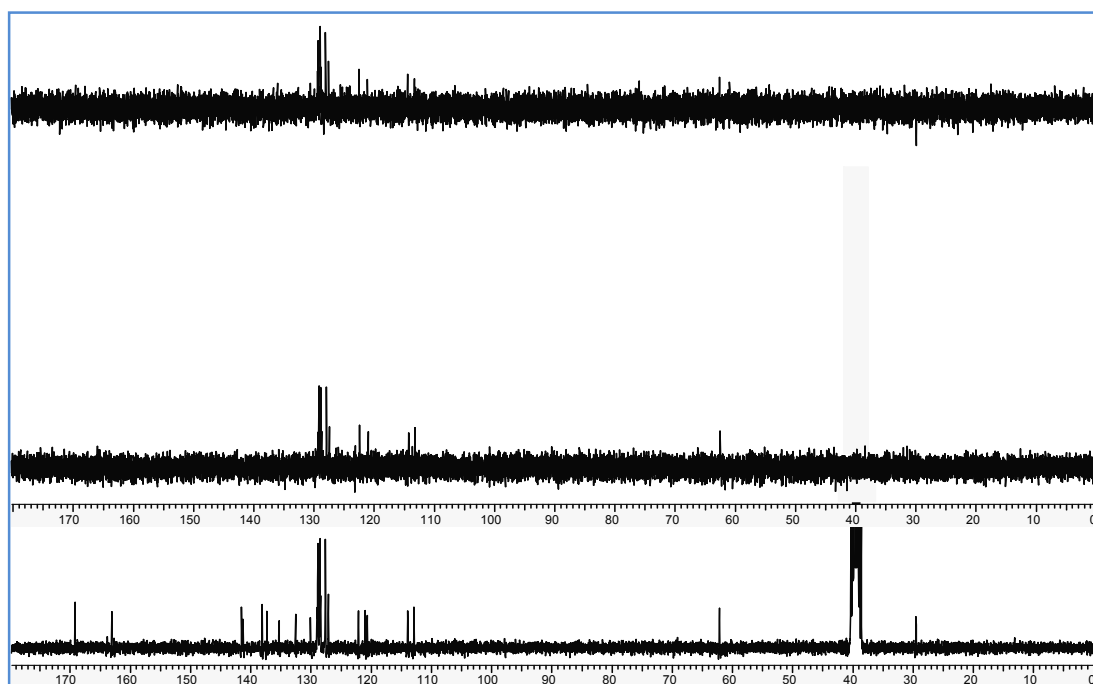


Figura I 18 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ (75,5 MHz) de **79** em $\text{DMSO-}d_6$ 

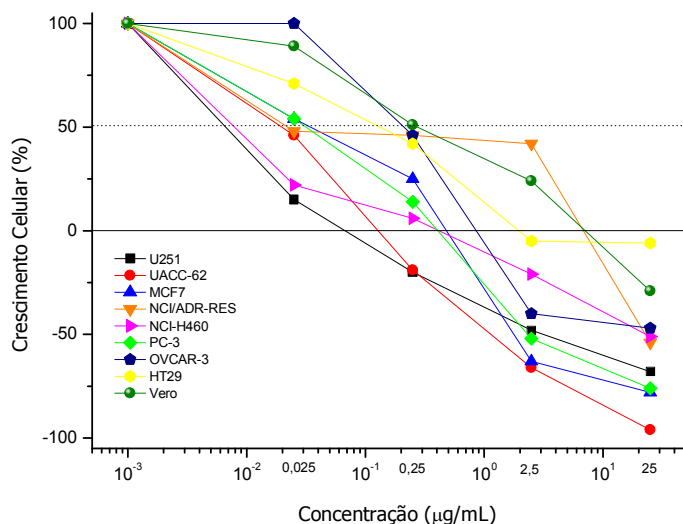
I 5. ENSAIOS BIOLÓGICOS

I 5.1. Avaliação da atividade antitumoral

Os ensaios para a avaliação *in vitro* da atividade antitumoral foram realizados no CPQBA (Unicamp), sob responsabilidade do professor Dr. João Ernesto de Carvalho e Dra. Mary Ann Foglio. Os ensaios foram realizados pelo método colorimétrico com sulforrodamina B e a doxorrubicina foi utilizada como controle positivo.

Os compostos sintetizados foram avaliados frente a dez linhagens de células tumorais humanas de glioma (U251), melanoma (UACC-62), mama (MCF7), ovário resistente (NCI/ADR), rim (786-0), pulmão (NCI-460), próstata (PCO-3), ovário (OVCAR), colo (HT29), leucemia (K-562), e frente às linhagens de células normais de rim de macaco verde (VERO) ou células normais humanas – queratinócitos (HaCaT). Os valores de GI_{50} , que é a concentração da droga que inibe 50% do crescimento celular, foi calculado a partir da curva de concentração *versus* porcentagem de crescimento. Compostos com valor de $GI_{50} \geq 100 \mu\text{M}$ foram considerados não ativos. O gráfico do controle positivo, doxorrubicina, pode ser visualizado na **Figura I 19**.

Figura I 19 Gráfico de concentração *versus* porcentagem de crescimento celular para o controle positivo (doxorrubicina) no ensaio de atividade antitumoral



I 5.1.1. Atividade antitumoral das N³-(2-aryl-4-tiazolidinona)-triptamínas (51 a-h)

Os valores de GI₅₀ obtidos nos ensaios da atividade antitumoral para os derivados da série das 4-tiazolidinona-triptaminas (**51 a-h**) estão apresentados na **Tabela I 2**. Os derivados **51a**, **51c**, **51f** e **51g**, foram os mais ativos com valores de GI₅₀ menores que 20 µM. O derivado **51f** foi o mais ativo frente à todas as linhagens de células tumorais testadas com GI₅₀ na faixa de 0,50 a 13,15 µM, apresentando potente atividade para glioma, ovário resistente, próstata e ovário com valores de GI₅₀ variando de 0,46 a 0,53 µM para essas linhagens de células tumorais humana. As **Figuras I 20** e **I 21** Mostram os gráficos de concentração *versus* porcentagem de inibição celular para os derivados **51f** e **51a**.

Figura I 20. Gráfico de concentração *versus* porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado **51f**

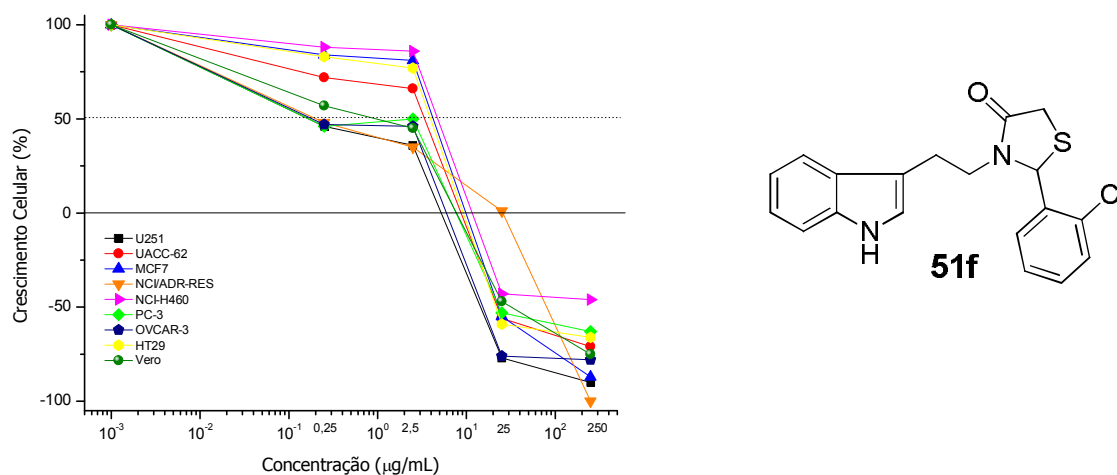
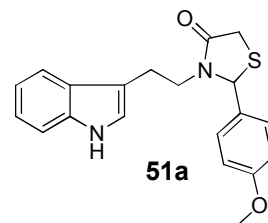
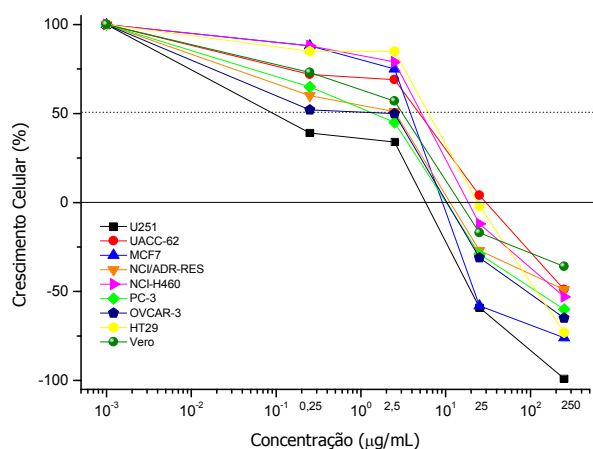
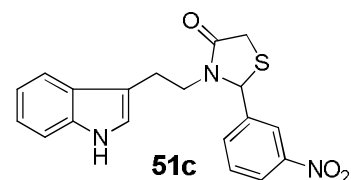
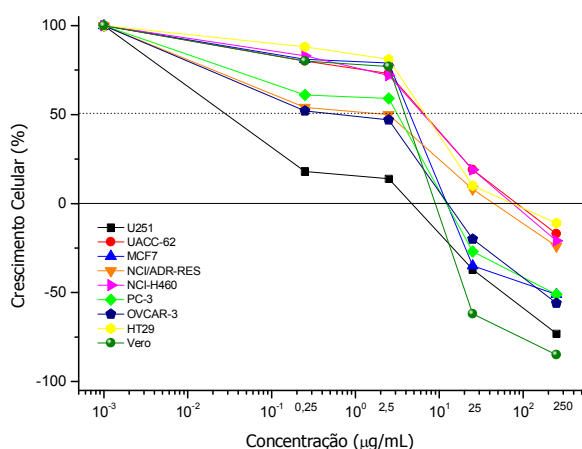


Figura I 21. Gráfico de concentração *versus* porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado **51a**



Com exceção do derivado **51b**, todos os derivados triptamínicos sintetizados foram ativos para glioma com GI_{50} na faixa de 0,08 a 6,12 μM . O composto **51c** foi o mais ativo para glioma com valor de GI_{50} igual a 0,08 μM . Além disso, esse derivado também apresentou baixa citotoxicidade, sendo mais de cem vezes mais tóxico para células tumorais de glioma do que para as células normais VERO (GI_{50} 10,46 μM). Na **Figura I 22** está apresentado o gráfico da concentração *versus* a porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado **51c**.

Figura I 22. Gráfico de concentração *versus* porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado **51c**.



A presença do grupo 4-dimetilaminofenil, *p*-hidroxifenil e *o*-furil nos compostos **51d**, **51e**, e **51h**, respectivamente, levou a um decréscimo da atividade antitumoral em relação aos derivados com os grupos *p*-metóxfenil **51a** e *m*-nitrofenil **51c**, mostrando que aqueles substituintes não contribuem para atividade. No entanto, foram observadas atividade e seletividade frente a células tumorais de ovário para **51d**, com valor de GI_{50} 0,45 μ M. Além disso, esse derivado apresentou baixa toxicidade, com GI_{50} maior que 100 μ M para as células normais VERO. O derivado **51e** também apresentou seletividade frente às células de glioma, com valor de GI_{50} de 0,87 μ M. Seletividade para as células de glioma também foi observada para os derivados **51a** e **51g** com valores de GI_{50} de 0,26 e 0,31 μ M, respectivamente. Os gráficos referentes ao resultado do ensaio da atividade antitumoral dos derivados **51g**, **51d** e **51e** estão mostrados nas Figuras I 23 a I 25. A falta de atividade observada para o derivado **51b** (GI_{50} >100 μ M para todas as linhagens testadas) indica que a presença de um substituinte doador ou retirador de elétrons, no anel fenila ligado ao grupo tiazolidinona, é importante para a atividade antitumoral.

Figura I 23. Gráfico de concentração *versus* porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado **51g**

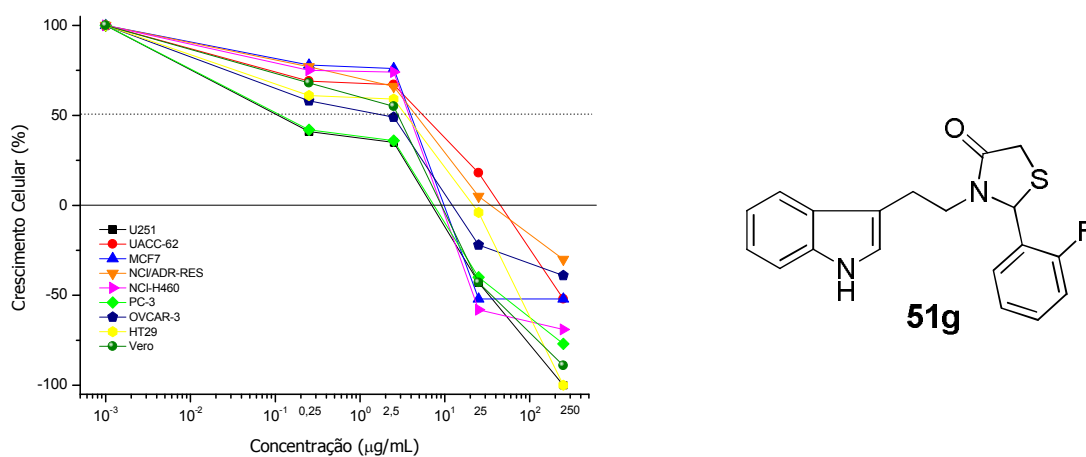


Figura I 24. Gráfico de concentração *versus* porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado **51d**

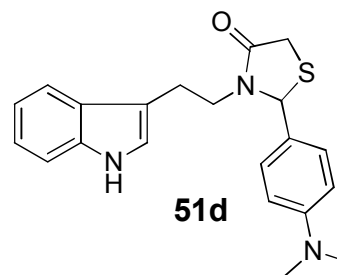
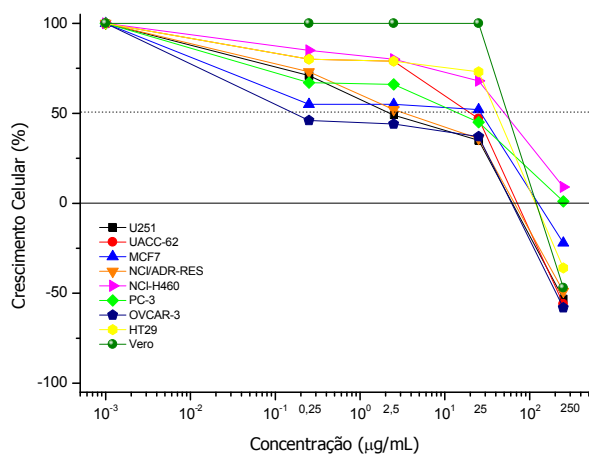


Figura I 25. Gráfico de concentração *versus* porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado **51e**

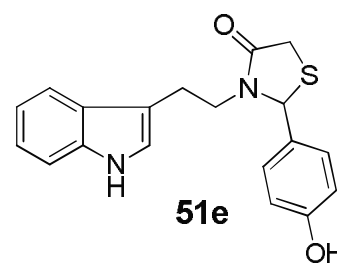
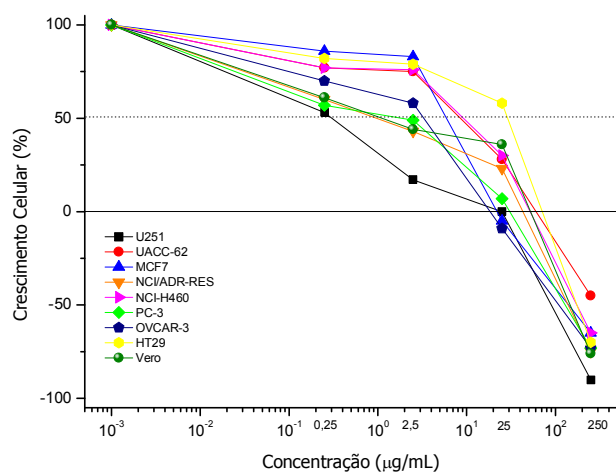
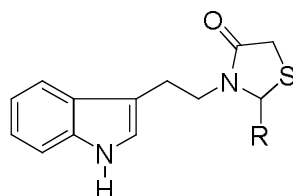


Tabela 12. Valores de GI₅₀ (μM) obtidos nos ensaios de avaliação da atividade antitumoral dos compostos (51 a-h)

composto	R	U251 Glioma	UACC-62 Melanoma	MCF7 Mama	NCI/ADR Ovário res.	NCI-460 Pulmão	PCO-3 Próstata	OVCAR Ovário	HT29 Colo	Células não tumorais ^a
51a	<i>p</i> -OCH ₃ -C ₆ H ₅	<u>0,26</u>	13.80	10.93	7.41	14.92	3.83	3.68	18.12	8.66
51b	C ₆ H ₅	100	100	100	100	100	100	100	100	100
51c	<i>m</i> -NO ₂ - C ₆ H ₅	<u>0.08</u>	18.02	12.22	4.62	17.33	8.61	1.23	18.73	10.46
51d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ - C ₆ H ₅	6.12	53.92	73.58	9.03	>100	39.52	<u>0.45</u>	>100	>100
51e	<i>p</i> -OH-C ₆ H ₅	<u>0.87</u>	24.77	17.46	2.81	26.77	5.44	9.75	85.89	3,28
51f	<i>o</i> -Cl- C ₆ H ₅	<u>0.50</u>	9.27	11.71	<u>0.53</u>	13.15	<u>0.46</u>	<u>0.50</u>	10.83	2,67
51g	<i>o</i> -F- C ₆ H ₅	<u>0.31</u>	16.55	11.66	13.63	11.22	<u>0.33</u>	4.77	9.98	8,22
51h	C ₄ H ₃ O	2.52	80.21	19.80	4.70	83.38	13.96	11.05	48.40	97,40

^a = VERO – células normais de rim de macaco verde

I 5.1.2 Atividade antitumoral dos derivados β -carbólicos com os grupos 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) **60** (a-g), 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) **61** (a-g, i-k), 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) **62** (b-e, g, i, k) e 3-(carbonilidrazono-3-acetoacetóxi de etila-4-tiazolidinona) **64** (a, b, f, g, i).

Os valores de GI_{50} para os derivados da série **60** (a-g) estão apresentados na Tabela I 3. A análise dos resultados para esta série mostrou que, com exceção de **60c** e **60e**, os demais compostos apresentaram significativa atividade para pelo menos cinco das oito células tumorais testadas, com GI_{50} menores que 20 μ M. Dentre os derivados desta série, o **60f** apresentou uma potente atividade antitumoral para seis das oito linhagens testadas, com valores de GI_{50} na faixa de 0,01 a 10,81 μ M. O gráfico referente ao ensaio da atividade antitumoral, concentração *versus* crescimento celular, para o derivado **60f** está apresentado na Figura I 26. O composto **60d** também apresentou potente atividade antitumoral, sendo ativo para cinco linhagens de células tumorais avaliadas, com valores de GI_{50} na faixa de 0,22 a 14,59 μ M sendo seletivo para células de mama resistente com valor de GI_{50} de 0,22 μ M (Figura I 27). Todos os derivados mostraram-se ativos e seletivos frente a linhagens de células tumorais específicas. O **60a** foi seletivo para células tumorais de mama com valor de GI_{50} de 0,49 μ M (Figura I 28); **60b** e **60g** foram seletivos para leucemia com valores de GI_{50} de 0,31 e 0,15 μ M, respectivamente. Os derivados **60c** e **60e** foram ativos e seletivos para células tumorais de ovário resistente com valores de GI_{50} 0,62 e 0,05 μ M, respectivamente.

Figura I 26. Gráfico de concentração *versus* percentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado **60f**

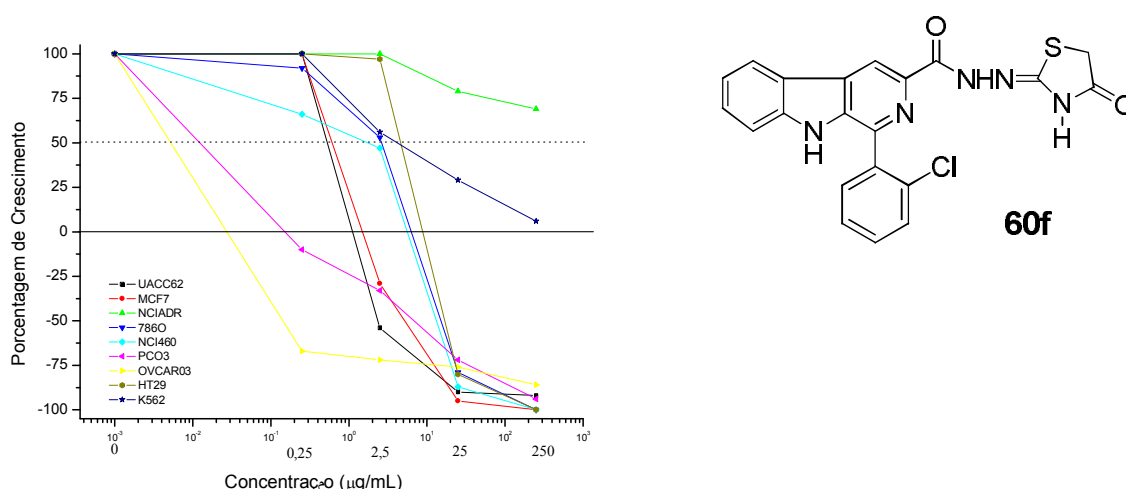


Figura I 27. Gráfico de concentração *versus* porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado **60d**.

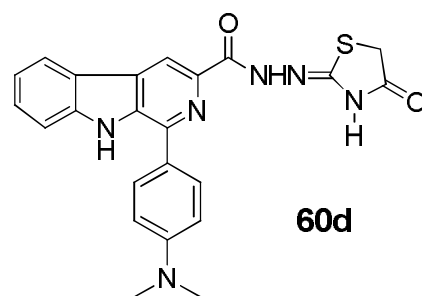
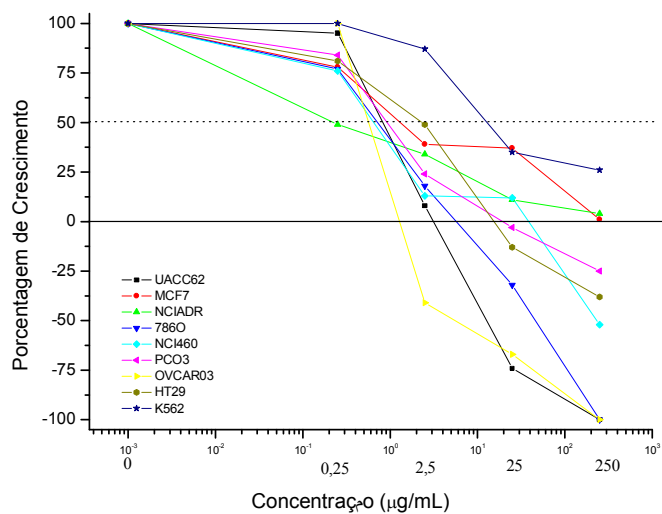


Figura I 28. Gráfico de concentração *versus* porcentagem de crescimento celular para o ensaio de avaliação da atividade antitumoral do derivado **60a**.

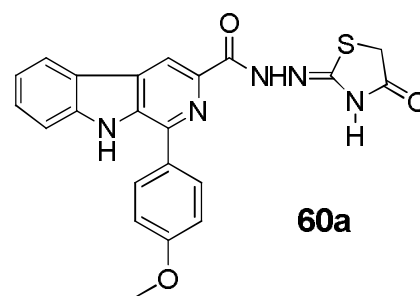
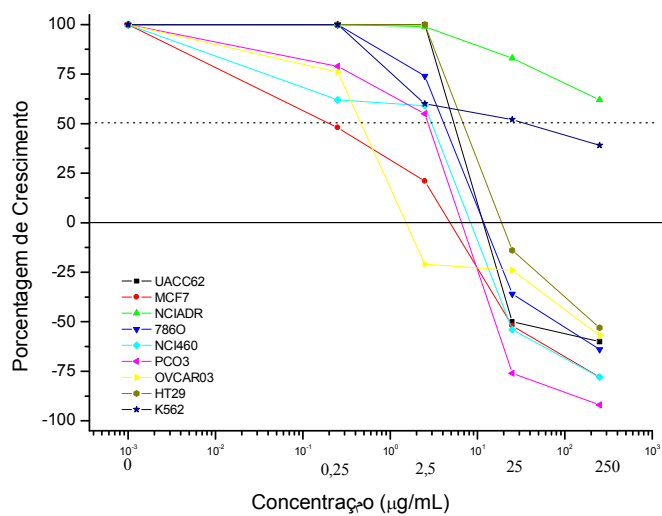
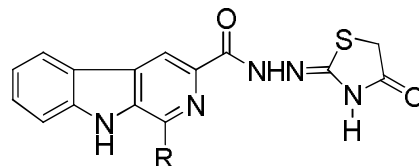


Tabela I 3. Valores de GI₅₀ (μM) obtidos nos ensaios da atividade antitumoral para os derivados β-carbolínicos com o grupo 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) **60 (a-g)**

composto	R	U251 Glioma	MCF7 Mama	NCI/ADR Ovario res.	786-0 Rim	NCI-460 Pulmão	OVCAR Ovário	HT29 Colo	K-562 Leucemia	Células não tumorais
60a	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	nt	0,49	100	9,98	7,15	1,12	16,52	84,09	nt
60b	C ₆ H ₅	15,75	11,40	28,12	16,33	18,18	9,88	19,54	0,31	20,25 ^a
60c	<i>m</i> -NO ₂ --C ₆ H ₄	nt	40,07	0,62	16,11	100	100	100	100	nt
60d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ --C ₆ H ₄	nt	8,80	0,22	nt	14,03	0,44	14,59	nt	nt
60e	<i>p</i> -OH-C ₆ H ₄	nt	68,63	0,05	8,30	100	22,60	91,91	100	nt
60f	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₄	nt	1,42	100	6,10	3,85	0,01	10,81	9,26	nt
60g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	9,57	11,87	66,42	20,33	21,07	12,30	32,41	0,15	12,30 ^a

nt = não testado

^a = VERO – células normais de rim de macaco verde

Dentre a série dos compostos contendo o grupo 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) **61** (a-g, i-k), o composto **61a** foi o mais ativo, apresentando valores de GI_{50} na faixa de 1,95 a 12,16 μM , frente a todas as linhagens de células tumorais avaliadas. Os valores de GI_{50} para os derivados da série **61** estão apresentados na **Tabela I 4**. O gráfico de concentração *versus* porcentagem de inibição de crescimento celular para o derivado **61a** está mostrado na **Figura I 29**. O derivado **61f** também se mostrou ativo frente à maioria das células tumorais, com valores de GI_{50} na faixa de 0,25 – 6,84, exceto para células tumorais de colo, cujo GI_{50} foi de 88,87 μM (**Figura I 30**). O **61j** foi ativo para as células tumorais de glioma, mama e ovário com valores de GI_{50} de 0,70, 1,66 e 3,76 μM , respectivamente.

Embora a introdução do grupo etil no átomo de nitrogênio do núcleo tiazolidinona tenha fornecido compostos menos ativos, estes derivados foram seletivos frente à algumas linhagens de células, como no caso do derivado **61b**, que apresentou valor de GI_{50} para células de glioma de 0,46 μM (**Figuras I 31**). Os derivados **61c**, **61d**, **61g** e **61i**, foram seletivos para células de leucemia com valores de GI_{50} na faixa de 0,34 a 5,52 μM . O derivado com o grupo 2-tiofeno posição-1 do anel β -carbólico (**61k**) apresentou potente atividade frente a linhagem de células de ovário resistente com valor de GI_{50} de 0,41 μM .

Figura I 29. Gráfico da concentração *versus* porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado **61a**.

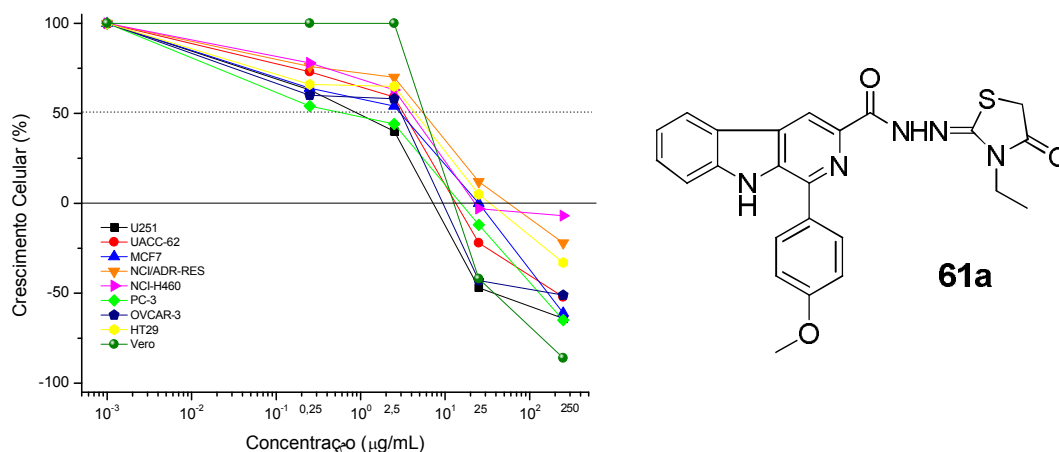


Figura I 30. Gráfico da concentração *versus* porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado **61f**

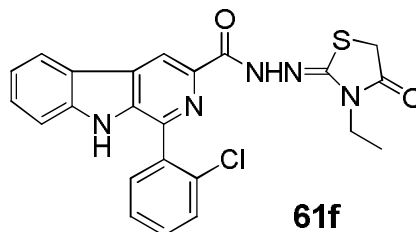
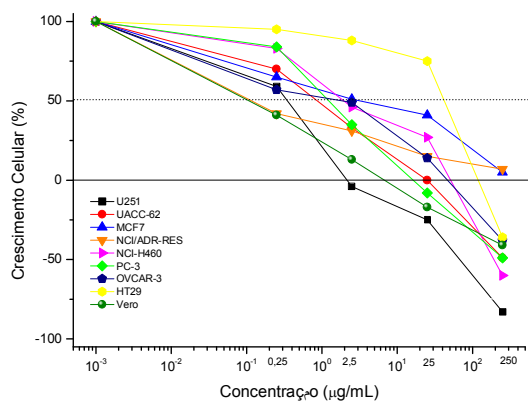


Figura I 31. Gráfico da concentração *versus* porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado **61b**

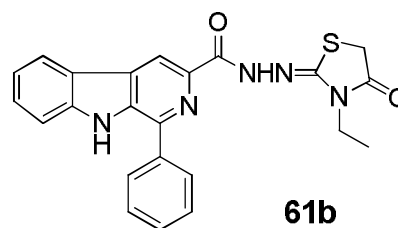
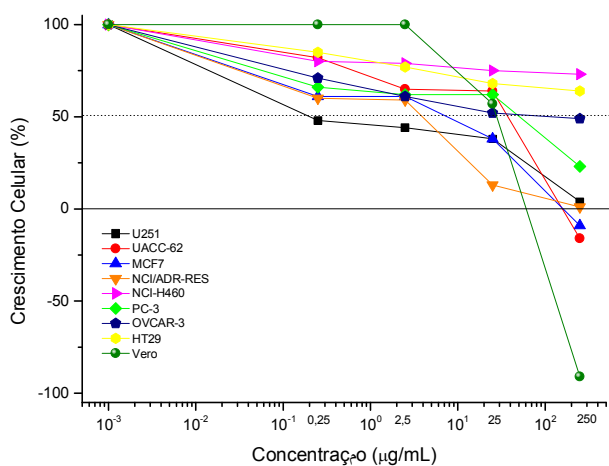
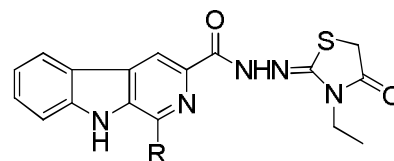


Tabela I 4. Valores de GI₅₀ (μM) obtidos nos ensaios da atividade antitumoral para os derivados β-carbolínicos com o grupo 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) **61(a-g, i-k)**



composto	R	U251 Glioma	MCF7 Mama	NCI/ADR Ovário res.	786-0 Rim	NCI-460 Pulmão	OVCAR Ovário	HT29 Colo	K-562 Leucemia	Células não tumorais
61a	<i>p</i> -OCH ₃ -C ₆ H ₄	1,95	6,52	12,16	nt	8,56	6,52	9,62	nt	12,19 ^a
61b	C ₆ H ₅	0,46	17,21	8,89	nt	100	100	100	nt	64,51 ^a
61c	<i>m</i> -NO ₂ --C ₆ H ₄	100	100	3,27	100	100	100	100	2,02	100 ^a
61d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ --C ₆ H ₄	63,33	54,87	2,60	6,61	58,95	2,42	65,65	0,34	4,96 ^a
61e	Nt	nt	nt	Nt	nt	Nt	nt	nt	nt	nt
61f	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₄	0,74	6,84	0,25	nt	4,12	3,97	88,87	nt	0,23 ^a
61g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	100	100	100	100	100	100	100	0,97	100 ^a
61i	<i>p</i> -F-C ₆ H ₄	100	97,47	100	100	100	84,45	100	5,52	100 ^a
61j	<i>m</i> -OCH ₃ - <i>p</i> -OH-C ₆ H ₃	0,70	1,66	100	nt	72,04	3,76	100	nt	0,70 ^a
61k	2-S-C ₄ H ₃	67,90	97,20	0,41	5,31	84,21	58,83	100	4,60	72,96 ^a

nt = Não testado

^a = VERO – células normais de rim de macaco verde

Os valores de GI_{50} para os compostos da série 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) **62** (b-e, g, i, k) estão apresentados a Tabela I 5. O derivado **62c**, que possui o grupo *m*-NO₂-fenil na posição-1 do anel β -carbólico foi o mais ativo frente a todas as linhagens de células tumorais avaliadas, com valores de GI_{50} na faixa de 0,19 a 2,36 μ M. Na Figura I 32 está mostrado o gráfico da concentração *versus* porcentagem de inibição do crescimento celular do derivado **62c**.

A introdução de um anel aromático ao núcleo tiazolidinona forneceu compostos seletivos com bons valores de GI_{50} , como por exemplo, os derivados **62b**, **62e** que foram ativos para células de leucemia com valores de GI_{50} de 0,20 e 0,12 μ M, respectivamente. O composto **62k**, cujo grupo na posição-1 do esqueleto β -carbólico é o 2-tiofeno, foi inativo para todas as células tumorais humanas testadas, exceto para leucemia (GI_{50} de 0,40 μ M), o que lhe conferiu seletividade frente a essa linhagem celular.

Figura I 32. Gráfico da concentração *versus* porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado **62c**

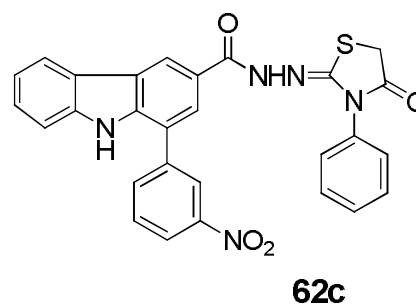
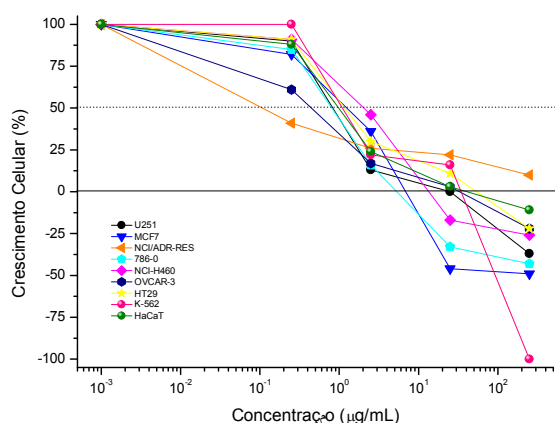
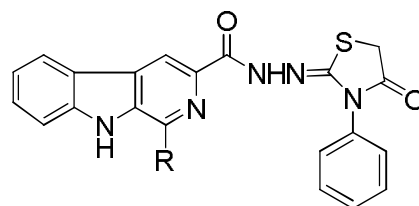


Tabela I 5. Valores de GI₅₀ (μM) obtidos nos ensaios da atividade antitumoral para os derivados β-carbolínicos com o grupo 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) **62** (b-e, g, i, k)



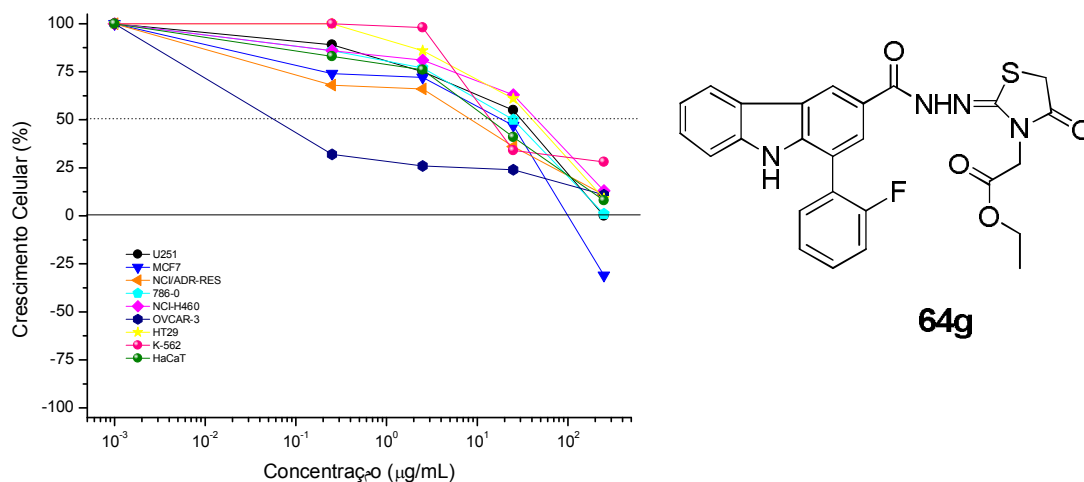
composto	R	U251 Glioma	MCF7 Mama	NCI/ADR Ovário res.	786-0 Rim	NCI-460 Pulmão	OVCAR Ovário	HT29 Colo	K-562 Leucemia	Células não tumerais
62b	C ₆ H ₅	17,54	27,96	3,13	13,64	37,25	17,54	100	0,20	25,11 ^b
62c	<i>m</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	1,59	2,36	0,19	1,61	3,91	0,83	2,28	2,12	1,90 ^b
62d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₄	12,51	14,97	35,42	3,97	17,92	100	38,06	19,95	7,30 ^b
62e	<i>p</i> -OH-C ₆ H ₄	12,14	13,04	70,42	12,14	97,25	15,61	39,67	0,12	20,80 ^b
62g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	100	100	100	100	100	100	100	100	100 ^b
62i	Nt	Nt	nt	Nt	nt	Nt	nt	Nt	nt	nt ^b
62k	2-S-C ₄ H ₃	100	100	100	100	100	100	100	0,40	100 ^b

nt = Não testado

^b = HaCat – células humanas normais (queratinócitos)

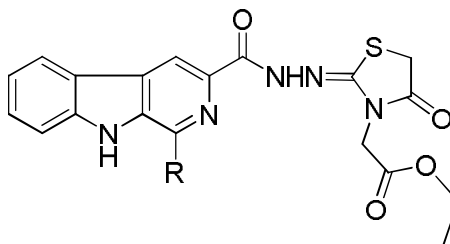
Dentre a série dos derivados 3-(carbonilidrazono-3-acetoacetóxi de etila-4-tiazolidinona) **64** (a, b, g, i), todos os compostos sintetizados e avaliados, mostraram uma potente atividade e seletividade frente às linhagens de células cancerígenas de ovário. Os derivados apresentaram valores de GI_{50} na faixa de 0,11 a 6,44 μM . Na **Tabela I 6** observa-se os valores de GI_{50} (μM) para os derivados dessa série e, como exemplo, a **Figura I 33** mostra o gráfico da concentração *versus* porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado **64g**. Pode-se concluir que a introdução do grupo acetoacetóxi de etila no núcleo tiazolidinona contribuiu significativamente para fornecer compostos ativos e seletivos, especificamente para essa linhagem de células tumorais humanas.

Figura I 33. Gráfico da concentração *versus* porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado **64g**



Com relação à citotoxicidade para células normais os derivados **64b**, **61b**, **61k**, mostraram-se muito pouco tóxicos, apresentando GI_{50} de 49,80, 64,51 e 72,96 μM , respectivamente e valores de GI_{50} maior que 100 μM para os compostos **61c**, **61g**, **61i**, **62k** e **64a**.

Tabela I 6. Valores de GI₅₀ (μM) obtidos nos ensaios da atividade antitumoral para os derivados β-carbolínicos com o grupo 3-(carbonilidrazono-3-acetoacetóxi de etila-4-tiazolidinona) **64** (a, b, g, i)



composto	R	U251 Glioma	MCF7 Mama	NCI/ADR Ovário res.	786-0 Rim	NCI-460 Pulmão	OVCAR Ovário	HT29 Colo	K-562 Leucemia	Células não tumorais
64a	<i>p</i> -OCH ₃ -C ₆ H ₄	100	100	92,74	100	100	<u>0,12</u>	100	100	100 ^b
64b	C ₆ H ₅	37,37	30,14	41,62	19,59	98,45	<u>6,44</u>	85,29	0,05	49,80 ^b
64g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	60,27	36,48	16,57	48,60	89,43	<u>0,11</u>	80,31	27,38	27,38 ^b
64i	<i>p</i> -F-C ₆ H ₄	8,28	11,03	13,20	5,58	10,64	<u>0,11</u>	100	100	6,67 ^b

nt = Não testado

^b = HaCat – células humanas normais (queratinócitos)

I 5.1.3 Atividade antitumoral dos derivados 1-fenil-3-[amido-N³-(2-arilssubstituído-4-tiazolidinona) β-carbolinas (73 - 77, 80).

Os dados para o ensaio de atividade de 73 - 77, 80 estão apresentados na **Tabela I 7**. Os derivados β-carbolínicos da série 3-amido-(2-arilssubstituído-4-tiazolidinona) perderam a atividade com a mudança do anel da tiazolidinona em comparação aos derivados das séries das β-carbonilas carbonilidrazono-4-tiazolidinona **60 - 62**, e os derivados β-carbolínicos carbonilidrazono-3-acetoacetóxi de etila-4-tiazolidinona **64**. No entanto, foi observada uma significativa atividade e especificidade para determinadas células, como as células cancerígenas de glioma (U251), ovário (OVCAR) e leucemia (K-562). O derivado **73**, o qual contém o anel fenila ligado tanto ao grupo tiazolidinona como na posição-1 do anel β-carbolínico, mostrou potente atividade e seletividade para a linhagem de células tumorais de glioma, com valor de GI₅₀ de 0,25 μM. Esse derivado também foi ativo para a linhagem de células de ovário com valor de GI₅₀ de 1,58 μM. O gráfico da atividade antitumoral de concentração *versus* porcentagem de inibição do crescimento celular está apresentado na **Figura I 34**. O derivado **75**, com o anel fenil no grupo tiazolidínico e o *o*-fluorofenil na β-carbolina, apresentou uma potente atividade e seletividade para as linhagens de células tumorais de ovário e leucemia com valores de GI₅₀ de 0,73 e 0,66 μM, respectivamente (**Figura I 35**). O derivado **77** com o anel fenil acoplado a unidade tiazolidinona e o grupo *m*-nitro fenila ligado à posição-1 do anel β-carbolínico apresentou excelente atividade/seletividade frente à linhagem de célula de leucemia com valor de GI₅₀ de 0,11 μM.

Outro dado interessante para esses derivados foi o resultado da avaliação da toxicidade frente à linhagem de células normais, ou de rim de macaco verde (VERO), ou frente à linhagem de células normais humanas queratinócitos (HaCaT). Todos os derivados avaliados apresentaram um valor de GI₅₀ maior que 100 μM o que significa que esses derivados não são tóxicos frente a células normais. Além disso, há uma relação com os grupos ligados à posição-5 do anel tiazolidinona e a atividade antitumoral. Os derivados cujo grupo substituinte na posição-5 do anel tiazolidinona é diferente do grupo fenila, apresentaram valores maiores que 100 μM, frente a todas as linhagens de células tumorais humanas testadas. Isso pode indicar que a natureza dos substituintes ligados ao anel 4-tiazolidinona exerce influência sobre a atividade antitumoral.

Figura I 34. Gráfico da concentração *versus* porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado **73**

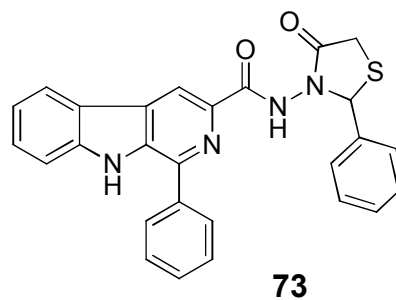
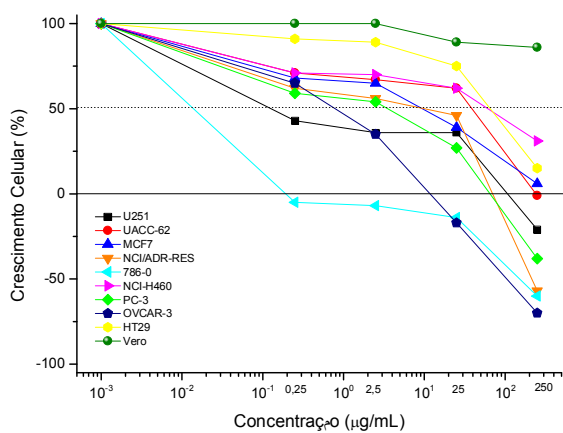


Figura I 35. Gráfico da concentração *versus* porcentagem de inibição do crescimento celular para o derivado **75**

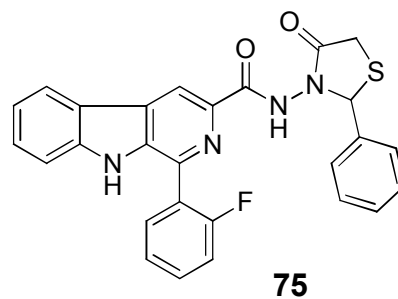
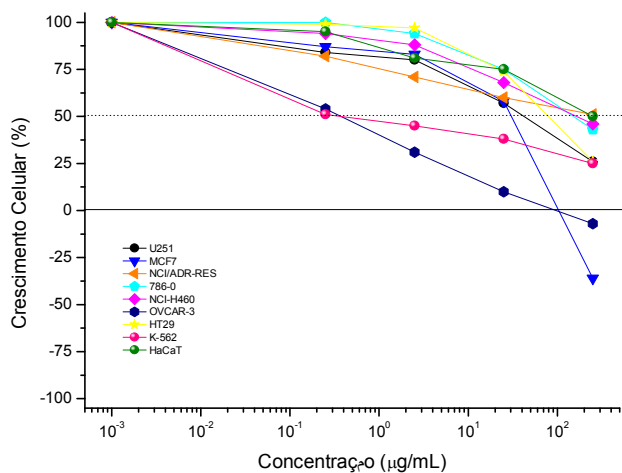
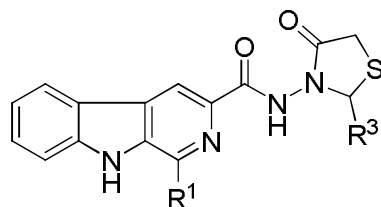


Tabela I 7. Valores de GI₅₀ (μM) obtidos nos ensaios de avaliação da atividade antitumoral dos derivados **73 – 77, 80**

Composto	R ¹	R ³	U251 Glioma	UACC-62 Melanoma	MCF7 Mama	NCI/ADR Ovário res.	786-0 Rim	NCI-460 Pulmão	PC-3 Próstata	OVCAR Ovário	HT29 Colo	K-562 Leucemia	Células não Tumorais
73	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	0,25	80,42	19,10	18,37	100	100	7,23	1,58	100	nt	100 ^b
74	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	64,49	nt	100	64,49	100	100	nt	100	100	25,37	100 ^a
75	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	84,13	nt	63,15	100	100	100	nt	0,73	100	0,66	100 ^a
76	C ₆ H ₅	<i>o</i> -S-C ₄ H ₃	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100 ^a
77	<i>m</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	100	nt	100	100	100	100	nt	1,25	100	0,11	100 ^b
80	C ₆ H ₅	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₅	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100 ^b

nt = Não testado

^a = VERO – células normais de rim de macaco verde^b = HaCaT – células normais humana queratinócitos

I 5.2. Avaliação da atividade antiviral

A avaliação da atividade antiviral foi realizada no Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, sob a supervisão da professora doutora Tania Ueda Nakamura. O ensaio biológico foi realizado frente ao *Herpes simplex* tipo I (HSV-1). O vírus *Herpes simplex* (HSV) pertence a família Herpesviridae e subfamília Laphaherpesvirinae, é um vírus envelopado cujo genoma é formado por DNA de fita dupla. O HSV-1 é conhecido como *Herpes virus hominize* e é responsável por infecções como gengivo-estomatite, encefalite e lesões na face, lábios e olhos ¹⁰².

Os resultados dos ensaios foram dados em termos de CC_{50} (concentração em que 50% de citotoxicidade é observada); EC_{50} (concentração em que 50% da eficácia no ensaio antiviral é observada); IS que corresponde ao índice de seletividade (CC_{50}/EC_{50}). Os compostos que apresentaram valores de EC_{50} maiores que 100 μ M foram considerados não ativos.

I 5.2.1. Avaliação da atividade antiviral dos derivados N³-(2-aryl-4-tiazolidinona)-triptamínas (51 a-h)

Com exceção apenas dos derivados **51d** e **51g**, os demais derivados triptamínicos-4-tiazolidinona avaliados foram ativos contra o vírus *Herpes simplex* tipo 1 (HSV-1). Os dados resultantes desse ensaio estão apresentados na **Tabela I 8**.

Os derivados com os grupos fenila (**51b**) e furil (**51h**) ligados ao anel 4-tiazolidinona foram os mais ativos dessa série, com valores de EC_{50} de 0,03 e 0,06 μ M, respectivamente. Os derivados **51a**, **51e** e **51f**, apresentando grupos doadores ou retiradores de elétrons no anel benzênico, também apresentaram potente atividade antiviral. No entanto, como indicado pelos valores de EC_{50} na faixa de 0,36 a 0,50 μ M, estes derivados foram cerca de dez vezes menos ativos que **51b** e **51h**.

Além disso, o índice de seletividade (IS) para a maioria dos derivados dessa série foi >1000, o que pode indicar que compostos contendo o anel 4-tiazolidinona acoplado ao esqueleto triptamínico podem ser indicados como candidatos a agentes antivirais.

¹⁰² Silvano, G.; Lazzari, G.; Resta, F.; Buccoliero, G.; Pezzella, G.; Pisconti, S.; *A Herpes simplex virus-1 fatal encephalitis following chemo-radiotherapy, steroids and prophylactic cranial irradiation in a small cell lung cancer patient*, Lung Cancer, v. 57, p. 243, **2007**.

Tabela I 8. Atividade HSV-1 (EC_{50}), citotoxicidade (CC_{50}) e do índice de seletividade (IS) dos compostos que apresentaram resultados significativos da série N^3 -(2-aryl-4-tiazolidinona)-triptamínicos (**51 a-h**)

Composto	R	$CC_{50}^a \pm DP$ (μM)	$EC_{50}^b \pm DP$ (μM)	cIS
51^a	<i>p</i> -OCH ₃ -C ₆ H ₄	880 ± 96,090	0,36 ± 0,005	>1000
51^b	C ₆ H ₅	791 ± 15,490	0,03 ± 0,00025	>1000
51^c	<i>m</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	1103 ± 114,273	0,33 ± 0,006	>1000
51^d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₄	1903 ± 7,071	>1903 ± 7,071	<1
51^e	<i>p</i> -OH-C ₆ H ₄	1494 ± 3,615	0,50 ± 0,090	>1000
51^f	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₄	618 ± 9,610	0,36 ± 0,004	>1000
51^g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	1205 ± 84,852	>1205 ± 84,852	<1
51^h	2-O-C ₄ H ₃	801 ± 81,317	0,06 ± 0,002	>1000

^aConcentração em que 50% de citotoxicidade é observada;

^bConcentração em que 50% da eficácia do ensaio antiviral é observada;

^cÍndice de seletividade (CC_{50}/EC_{50})

DP = desvio padrão

I 5.2.2 Avaliação da atividade antiviral para os derivados β -carbólicos com os grupos 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) (60a-g) 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) (61a-g, k) e 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) (62 b-e, g, k).

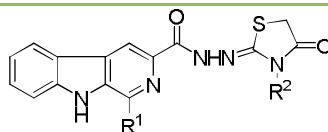
Os dados do ensaio da atividade antiviral para os derivados das séries **60**, **61** e **62** podem ser visualizados na **Tabela I 9**. Dentre os derivados β -carbólicos com o grupo 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) (**60 a-g**) o derivado **60g** com o *p*-fluorofenil na posição-1, foi o mais ativo dessa série, apresentando valor de EC_{50} de 19,57 μ M.

No caso dos derivados com o grupo 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) (**61 a-g,k**) o derivado **61d**, o qual possui o grupo *p*-dimetilaminofenil na posição-1 do esqueleto β -carbólico, foi o mais ativo, mostrando valor de EC_{50} de 6,78 μ M. O derivado **61a**, que possui o grupo *p*-metóxfenil na posição-1 do esqueleto β -carbólico, também apresentou atividade antiviral significativa, com valor EC_{50} de 26,57 μ M.

Para os derivados da série (**62 b-e, g, k**) com o anel fenil ligado ao nitrogênio do grupo tiazolidinona, apenas o derivado **62c** com o grupo *m*-nitrofenil ligado à posição-1 do anel β -carbólico, apresentou atividade antiviral significativa, com valor de EC_{50} de 17,24 μ M.

A introdução de um grupo etila ou grupo fenila ao anel tiazolidinona, não forneceu, de forma geral, derivados mais ativos, mas o grupo etila foi diferencial para os derivados com o grupo *p*-dimetilaminofenil na posição-1 do anel β -carbólico, uma vez que o derivado **61d**, contendo ambos os grupos, apresentou potente atividade antiviral.

Tabela 19. Atividade HSV-1 (EC_{50}), citotoxicidade (CC_{50}) e índice de seletividade (IS) dos compostos que apresentaram resultados significativos da série **60**, **61** e **62**



Composto	R ¹	R ²	CC ₅₀ ^a ± DP (μM)	EC ₅₀ ^b ± DP (μM)	IS ^c
60b	C ₆ H ₅	H	2493 ± 70,71	102,22±1,732	24,390
60d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	H	1744 ± 23,54	96,82±2,0	18,023
60f	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₄	H	766 ± 6,35	>100	n d
60g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	H	1073 ± 61,03	19,57±1,170	54,878
61^a	<i>p</i> -OCH ₃ -C ₆ H ₄	C ₂ H ₅	1731 ± 5,77	26,57± ,600	65,2
61c	<i>m</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	C ₂ H ₅	1792 ± 47,16	86,48 ±1,040	20,732
61d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₄	C ₂ H ₅	1649 ± 11,015	6,78 ± 0,517	243,4
61f	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₄	C ₂ H ₅	1404 ± 88,0	>100	n d
61g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	C ₂ H ₅	2980 ±17,678	>100	n d
61j	<i>m</i> -OCH ₃ <i>p</i> -OH-C ₆ H ₃	C ₂ H ₅	399 ±14,849	84,12 ±4,242	4,75
61k	<i>o</i> -S-C ₄ H ₃	C ₂ H ₅	414 ±14,142	82,74 ±657	5
62b	C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	1478 ± 14,14	78,87 ±1,607	18,75
62c	<i>m</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	1168± 56,568	17,24 ±0,985	67,778
62d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	817 ± 14,142	49,98 ±0,913	16,346
62g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	339 ±17678	155,52 ±12,728	2,182
62k	<i>o</i> -S-C ₄ H ₃	C ₆ H ₅	297 ±7,071	>100	n d

nd = não determinado;

^a Concentração em que 50% de citotoxicidade é observada;

^b Concentração em que 50% da eficácia do ensaio antiviral é observada;

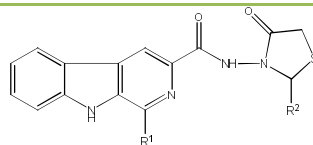
^c Índice de seletividade (CC₅₀/EC₅₀)

DP = Desvio Padrão

I 5.2.3. Avaliação da atividade antiviral para os derivados da série 1-fenil-3-[amido-N³-(2-arylsubstituído-4-tiazolidinona) β-carbolinas (73-75 e 80)

Os dados dos derivados da série β-carbolínicos-4-tiazolidinona (73-75 e 80) avaliados estão apresentados na **Tabela I 10**.

A maioria dos derivados da série 1-fenil-3-[amido-N³-(2-arylsubstituído-4-tiazolidinona) β-carbolinas avaliados apresentou potente atividade antiviral contra o vírus HSV-1. Os derivados avaliados contêm o grupo fenila ligado ao C-2 da unidade 4-tiazolidinona e diferentes grupos aromáticos na posição-1 do anel β-carbolínico. O derivado **74**, cujo grupo na posição-1 é o *p*-dimetilaminofenil, foi o derivado mais ativo dessa série, mostrando valor de EC₅₀ de 0,80 μM. Os derivados **73** e **80** também foram ativos apresentando valor de EC₅₀ de 2,15 e 2,02 μM, respectivamente. O derivado **75**, o qual possui o grupo *o*-fluorofenil na posição-1 apresentou moderada atividade com valor de EC₅₀ de 30,28 μM. Diante dessas informações, é possível observar que grupos apropriados tanto na posição-1 como na posição-3 do anel β-carbolínico influenciam na atividade. Mantendo o mesmo grupo acoplado na unidade 4-tiazolidinona, verificou-se que o derivado com um grupo doador de elétrons no anel fenila ligado ao C-1 foi o mais ativo dentre os derivados desta série.

Tabela I 10. Atividade HSV-1 (EC_{50}), citotoxicidade (CC_{50}) e índice de seletividade (IS) dos compostos **73-75 e 80**

Composto	R ¹	R ²	CC ₅₀ ^a ± DP (μM)	EC ₅₀ ^b ± DP (μM)	IS
73	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	506 ± 6,429	2,15 ± 0,424	235,0
74	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	467 ± 14,142	0,80 ± 0,117	592,5
75	<i>o</i> -F C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	637 ± 26,501	30,28 ± 1,628	21,0
80	<i>m</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	1080 ± 37,859	2,02 ± 0,494	613,9

nd = não determinado;

^a Concentração em que 50% de citotoxicidade é observada;

^b Concentração em que 50% da eficácia da atividade antiviral é observada;

^c Índice de seletividade (CC₅₀/ EC₅₀)

DP = desvio padrão

I 6. PARTE EXPERIMENTAL

I 6.1. Instrumentação

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetro VARIAN modelo Mercury PlusBB, operando a 300,0 MHz para ^1H e 75,5 MHz para ^{13}C tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos foram obtidos em ppm e os solventes utilizados foram CDCl_3 mistura de $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ e $\text{DMSO}-d_6$. A interpretação dos dados foi realizada com ajuda da técnica de DEPT, em $\text{CH}_3/\text{CH} =$ sinal positivo (+), $\text{CH}_2 =$ sinal negativo (-) e técnicas bidimensionais de COSY e HSQC.

Os espectros de absorção na região do IV foram registrados em um espectrofotômetro BOMEN, modelo MB-100, em pastilha de KBr, na região de 400 a 4000cm^{-1} . Utilizou-se absorção em 1601cm^{-1} de um filme de poliestireno como referência.

I 6.2. Materiais e Métodos

As cromatografias em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas em lâminas de vidro, utilizando-se sílica gel 60 (GF 254) (0,063 – 0,200mm) da Merck. As eluições foram feitas em solventes orgânicos puros ou combinados. As revelações das placas foram obtidas por irradiação com lâmpada ultravioleta em 254/366nm, iodo ressublimado e reagente de Dragendorff.

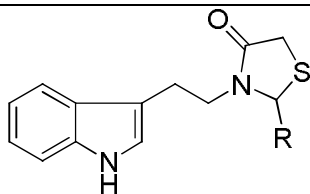
As cromatografias em coluna (CC) foram realizadas em coluna de vidro, utilizando-se sílica gel 60 (0,063 – 0,200mm) da Merck. O diâmetro interno e a altura das colunas variaram de acordo com a quantidade de material a ser cromatografado. As eluições foram feitas em solventes orgânicos puros ou combinados em ordem crescente de polaridade e as frações coletadas foram evaporadas, à pressão reduzida, em evaporador rotativo.

I 6.3. Síntese dos compostos

I 6.3.1. Síntese das *N*³-(2'-*aril*-4-tiazolidinona)-triptaminas 51 (a - h)

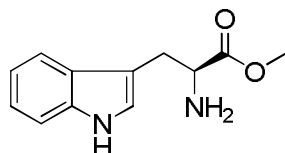
Metodologia A: A uma solução de triptamina (1 mmol) (**50**) em THF (10 mL), foi adicionado o aldeído aromático (2 mmol) e ácido mercapto acético (3 mmol). A mistura reacional foi resfriada a temperatura de 0^o a 4^oC, seguindo-se a adição de DCC (1,2 mmol) e agitação, a temperatura ambiente por um período de 24h. O sólido formado (DCU) foi filtrado e a fase orgânica concentrada sob vácuo. Em seguida, adicionou-se acetato de etila (30 mL) e lavou-se essa fase orgânica com uma solução 5% de ácido cítrico (2x20 mL), água (2x20 mL), solução 5% de carbonato de sódio e por último (1 x 20 mL), solução saturada de cloreto de sódio (1x10 mL). A fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. Os produtos purificados em CC de sílica gel, utilizando-se como eluentes hexano/acetato de etila, combinados em diferentes polaridades. Os rendimentos obtidos estão apresentados na **Tabela I 11**.

Metodologia B: A uma solução de triptamina (**50**) (1 mmol) em DMF (3,0 mL), foram adicionados os aldeídos (1,2 mmol): a) *p*-metóxi-benzaldeído, b) benzaldeído, c) *m*-nitrobenzaldeído, d) *p*-dimetilaminobenzaldeído, e) *p*-hidróxi-benzaldeído, f) *o*-cloro-benzaldeído, g) *o*-fluoro-benzaldeído e h) 2-furaldeído e ácido mercaptoacético (2,0 mmol). A reação foi feita em frasco aberto no forno de microondas doméstico Consul empregando 60% da potencia com intervalos de tempo de 1,0 a 3,0 minutos, as reações foram acompanhadas por CCD. Após resfriada a reação foi tratada com uma solução de carbonato de sódio 5% até pH 7. O precipitado formado foi filtrado em funil de vidro sinterizado e lavado abundantemente com água destilada. Os produtos foram obtidos na faixa de 65 - 75%. Os dados dos derivados da série **51 (a-h)** sintetizados estão apresentados na **Tabela I 11**.

Tabela I 11. Dados e rendimentos dos derivados **51** (a-h)

Derivados	R	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rendimento metodologia	
				A	B
51a	<i>p</i> -OCH ₃ C ₆ H ₄	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₂ S	352,45	60%	68%
51b	C ₆ H ₅	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ OS	322,11	65%	65%
51c	<i>m</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₃ S	367,42	63%	65%
51d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	C ₂₁ H ₂₃ N ₃ OS	365,16	62%	68%
51e	<i>p</i> -OH-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ O ₂ S	332,48	57%	61%
51f	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ OS	356,87	71%	73%
51g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₇ FN ₂ OS	340,41	55%	68%
51h	2-OC ₄ H ₉	C ₁₇ H ₁₆ N ₂ O ₂ S	312,39	61%	61%

I 6.3.2. Síntese do triptofano metil-éster **53**



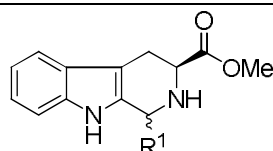
Formula Molecular	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂
Massa Molecular (g/mol)	218,25 g/mol
Rendimento	95%

A uma suspensão de 2,04 g (10 mmol) de L-triptofano comercial **52** em 30 mL de MeOH foi adicionado, gota a gota, ácido sulfúrico concentrado até completa solubilização. A mistura foi mantida sob refluxo e agitação por 48 horas e a seguir, resfriada, neutralizada com uma solução de carbonato de sódio a 5% e extraída com acetato de etila (3 x 35 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e após filtração, o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi obtido puro em 95% de rendimento.

I 6.3.3. Síntese das *cis* + *trans* 1-(*aril*-substituído)-3-carbometóxi-tetraidro- β -carbolinas **54** (a-g, i-k)

A uma solução de 1,09 g (5 mmol) de triptofano metil éster **53**, em CH₂Cl₂ (25 mL), foram adicionados 5 mmol do aldeído apropriado e 2 equivalentes de ácido trifluoroacético. A mistura reacional foi mantida a temperatura ambiente por 48 horas e após evaporação do solvente e do ácido trifluoroacético remanescente, o produto bruto foi neutralizado com uma solução de carbonato de sódio 5% e posteriormente extraído com acetato de etila (3 x 35 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e após filtração o solvente foi removido em evaporador rotatório. O sólido obtido foi lavado exaustivamente com metanol, fornecendo a mistura dos isômeros *cis* e *trans* 1-(*fenil*-substituídos)-3-carbometóxi-tetraidro- β -carbolina, com rendimentos na faixa de 80% **Tabela I 12**.

Tabela I 12. Dados e rendimentos dos derivados **54** (a-g, i-k)

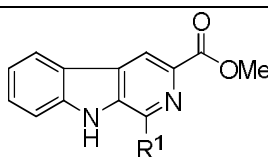


Reagente (aldeído)	Derivados	R ¹	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rendimento
<i>p</i> -anisaldeído	54a	<i>p</i> -OCH ₃ -C ₆ H ₄	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₃	336,38	91%
Benzaldeído	54b	C ₆ H ₅	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ O ₂	306,36	80%
<i>m</i> -nitrobenzaldeído	54c	<i>m</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₄	351,35	85%
<i>p</i> -dimetilaminobenzaldeído	54d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₄	C ₂₁ H ₂₃ N ₃ O ₂	349,43	83%
<i>p</i> -hidróxibenzaldeído	54e	<i>p</i> -OH-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ O ₃	322,35	80%
<i>o</i> -clorobenzaldeído	54f	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ O ₂	340,80	87%
<i>o</i> -fluorobenzaldeído	54g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₇ FN ₂ O ₂	324,35	78%
<i>p</i> -fluorobenzaldeído	54i	<i>p</i> -F-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₇ FN ₂ O ₂	324,35	72%
Vanilina	54j	<i>m</i> -OCH ₃ <i>p</i> -OHC ₆ H ₃	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₄	352,38	85%
2-tiofenocarboxaldeído	54k	2-SC ₄ H ₃	C ₁₇ H ₁₆ N ₂ O ₂ S	312,39	90%

I 6.3.4. Síntese das 1-(aril-substituído)-3-carbometóxi-β-carbolinas 55 (a-g, i-k)

Uma suspensão da correspondente mistura *cis* + *trans* 1-(fenil-susbtituídos)-3-carbometóxi-tetraidro-β-carbolinas **54 (a-g, i-k)** (5 mmol) e enxofre (15 mmol), em xileno (50 mL), foi mantida sob refluxo por 48 horas e posteriormente a 0 °C por 3 horas. O precipitado formado foi então filtrado e lavado com éter de petróleo fornecendo as β-carbolinas **55 (a-g, i-k)**. Os dados dos produtos obtidos constam na **Tabela I 13**.

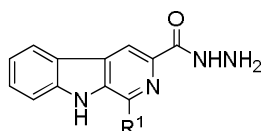
Tabela I 13. Dados e rendimentos dos derivados **55 (a-g, i-k)**



Produto	R ¹	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rendimento
55^a	<i>p</i> -OCH ₃ -C ₆ H ₄	C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₃	332,35	85%
55^b	C ₆ H ₅	C ₁₉ H ₁₄ N ₂ O ₂	302,32	81%
55^c	<i>m</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₃ N ₃ O ₄	347,32	70%
55^d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₄	C ₂₁ H ₁₉ N ₃ O ₂	345,39	90%
55^e	<i>p</i> -OH-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₄ N ₂ O ₃	318,32	80%
55^f	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₃ ClN ₂ O ₂	336,77	87%
55^g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₃ FN ₂ O ₂	320,32	78%
55ⁱ	<i>p</i> -F-C ₆ H ₄	C ₁₉ H ₁₃ FN ₂ O ₂	320,32	87%
55^j	<i>m</i> -OCH ₃ <i>p</i> -OHC ₆ H ₃	C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₄	348,35	83%
55^k	2-SC ₄ H ₃	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₂ S	308,35	90%

I 6.3.5 Síntese das 1-(arilssubstituído)-3-carboidrazidas-β-carbolina 56 (a-g, i-k)

A uma suspensão de 4,0 mmol das β-carbolinas **55 (a-g, i-k)** em etanol (30 mL) foram adicionados 61 mmol de hidrazina hidratada 51%. Esta mistura foi mantida sob refluxo por 72 horas e a 0 °C por 3 horas, para a completa precipitação. O precipitado formado foi filtrado e lavado com etanol, o que forneceu os correspondentes produtos puros **56 (a-g, i-k)**. Os dados dos produtos obtidos constam na **Tabela I 14**.

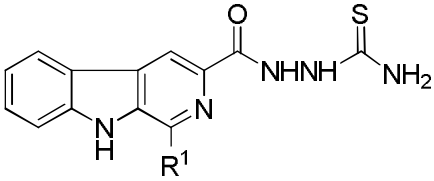
Tabela I 14. Dados e rendimentos dos derivados **56** (a-g, i-k)

Produto	R ¹	Formula Molecular	Massa Molecular	Rendimento
			(g/mol)	
56^a	<i>p</i> -OCH ₃ -C ₆ H ₄	C ₂₀ H ₁₆ N ₄ O ₂	332,35	90%
56b	C ₆ H ₅	C ₁₈ H ₁₄ N ₄ O	302,33	77%
56c	<i>m</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	C ₁₈ H ₁₃ N ₅ O ₃	347,32	72%
56d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₄	C ₂₀ H ₁₉ N ₅ O	345,39	90%
56e	<i>p</i> -OH-C ₆ H ₄	C ₁₈ H ₁₄ N ₄ O ₂	318,32	80%
56f	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₄	C ₁₈ H ₁₃ ClN ₄ O	336,77	82%
56g	<i>o</i> -F-C ₆ H ₄	C ₁₈ H ₁₃ FN ₄ O	320,32	68%
56i	<i>p</i> -F-C ₆ H ₄	C ₁₈ H ₁₃ FN ₄ O	320,32	72%
56j	<i>m</i> -OCH ₃ <i>p</i> -OHC ₆ H ₃	C ₁₉ H ₁₆ N ₄ O ₃	348,35	83%
56k	2-SC ₄ H ₃	C ₁₆ H ₁₂ N ₄ OS	308,36	91%

I 6.3.6. Síntese das 1-fenilsubstituídos-β-carbolina-3-tiossemicarbazidas **57** (a - g)

A uma suspensão das 1-fenilsubstituídos-β-carbolina-3-carboidrazidas (1 mmol) (**56 a - g**) em água destilada (30 mL), foi adicionado tiocianato de potássio (4 mmol) e gotas de ácido clorídrico concentrado. A reação foi mantida sob agitação e refluxo pelo período de 48h. O precipitado formado foi filtrado em funil de vidro sinterizado e lavado com água destilada. Os rendimentos obtidos estão apresentados na **Tabela I 15**.

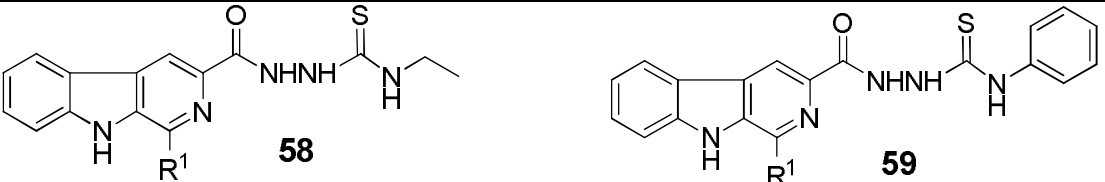
Tabela I 15. Dados e rendimentos dos derivados 57 (a - g)



Derivados	R ¹	Massa Molecular (g/mol)	Formula Molecular	Rendimento
57a	<i>p</i> -OCH ₃ C ₆ H ₄	391,42	C ₂₀ H ₁₇ N ₅ O ₂ S	70%
57b	C ₆ H ₅	361,42	C ₁₉ H ₁₅ N ₅ OS	75%
57c	<i>m</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	406,42	C ₁₉ H ₁₄ N ₆ O ₃ S	78%
57d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	404,14	C ₂₁ H ₂₀ N ₆ OS	80%
57e	<i>p</i> -OHC ₆ H ₄	377,09	C ₁₉ H ₁₅ N ₅ O ₂ S	65%
57f	<i>o</i> -Cl C ₆ H ₄	395,06	C ₁₉ H ₁₄ ClN ₅ OS	85%
57g	<i>o</i> -F C ₆ H ₄	379,41	C ₁₉ H ₁₄ FN ₅ O ₃ S	62%

I 6.3.7. Síntese das 1-aryl-β-carboline-3-tiossemicarbazidas 58 (a-g, i-k) e 59 (b - e, g, i, k).

A uma solução das 1-(arilssubstituído)-3-carboidrazidas-β-carbolinas **56 (a-g, i-k)** (1 mmol) em etanol (20 mL) foram adicionados etiltiosocianato e/ou feniltiosocianato (1 mmol). A reação foi mantida sob agitação e refluxo por um período de 48h. O precipitado formado foi filtrado e lavado com etanol. Os rendimentos obtidos estão apresentados na **Tabela I 16**.

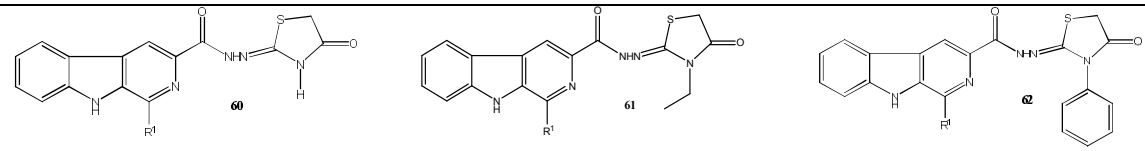
Tabela I 16. Dados e rendimentos dos derivados **58** e **59**


Derivados	R ¹	Massa Molecular (g/mol)	Formula Molecular	Rendimento
58a	<i>p</i> -OCH ₃ C ₆ H ₄	419,14	C ₂₂ H ₂₁ N ₅ OS	71%
58b	C ₆ H ₅	389,13	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ OS	85%
58c	<i>m</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	434,47	C ₂₁ H ₁₈ N ₆ O ₃ S	88%
58d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	432,17	C ₂₃ H ₂₆ N ₆ OS	85%
58e	<i>p</i> -OHC ₆ H ₄	405,47	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O ₂ S	70%
58f	<i>o</i> -Cl C ₆ H ₄	423,92	C ₂₁ H ₁₈ ClN ₅ OS	88%
58g	<i>o</i> -F C ₆ H ₄	407,46	C ₂₁ H ₁₈ FN ₅ OS	75%
58i	<i>p</i> -F C ₆ H ₄	407,46	C ₂₁ H ₁₈ FN ₅ OS	71%
58j	<i>m</i> -OCH ₃ <i>p</i> -OHC ₆ H ₃	435,50	C ₂₂ H ₂₁ N ₅ O ₃ S	72%
58k	2-SC ₄ H ₃	395,50	C ₁₉ H ₁₇ N ₅ OS ₂	71%
59b	C ₆ H ₅	437,52	C ₂₅ H ₁₉ N ₅ OS	68%
59c	<i>m</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	482,51	C ₂₅ H ₁₈ N ₆ O ₃ S	71%
59d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	480,58	C ₂₇ H ₂₄ N ₆ OS	70%
59e	<i>p</i> -OHC ₆ H ₄	461,52	C ₂₅ H ₁₉ N ₅ O ₂ S	62%
59g	<i>o</i> -F C ₆ H ₄	455,51	C ₂₅ H ₁₈ FN ₅ OS	68%
59i	<i>p</i> -F C ₆ H ₄	455,51	C ₂₅ H ₁₈ FN ₅ OS	65%
59k	2-SC ₄ H ₃	443,54	C ₂₃ H ₁₇ N ₅ OS ₂	68%

I 6.3.8. Síntese das β-carbolinas com os grupos 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) (60 a-g) 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) (61 a-g, i-k) e 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) (62 b - e, g, i k)

A uma solução das β-carbolina-3-tiossemicarbazidas (**57**, **58**, **59**) (1 mmol) em etanol (5 mL) foram adicionados bromoacetato de etila (1,0 mmol), acetato de sódio (4,0 mmol) e hidróxido de potássio (1,0 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação e refluxo por 48h. O precipitado formado foi filtrado e lavado com etanol. Os rendimentos obtidos estão apresentados na **Tabela I 17**.

Tabela I 17. Dados e rendimentos dos derivados 60, 61 e 62

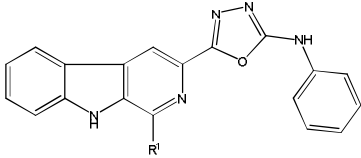


Derivados	R ¹	Massa Molecular (g/mol)	Formula Molecular	Rendimento (%)
60a	<i>p</i> -OCH ₃ C ₆ H ₄	431,47	C ₂₂ H ₁₇ N ₅ O ₃ S	62
60b	C ₆ H ₅	401,44	C ₂₁ H ₁₅ N ₅ O ₂ S	70
60c	<i>m</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	446,44	C ₂₁ H ₁₄ N ₆ O ₃ S	81
60d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	444,14	C ₂₃ H ₂₀ N ₆ O ₂ S	75
60e	<i>p</i> -OHC ₆ H ₄	417,09	C ₂₁ H ₁₅ N ₅ O ₃ S	69
60f	<i>o</i> -Cl C ₆ H ₄	435,89	C ₂₁ H ₁₄ ClN ₅ O ₃ S	72
60g	<i>o</i> -F C ₆ H ₄	419,09	C ₂₁ H ₁₄ N ₅ O ₂ S	65
61a	<i>p</i> -OCH ₃ C ₆ H ₄	459,52	C ₂₄ H ₂₁ N ₅ O ₃ S	62
61b	C ₆ H ₅	429,49	C ₂₃ H ₁₉ N ₅ O ₂ S	72
61c	<i>m</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	474,49	C ₂₃ H ₁₈ N ₆ O ₄ S	71
61d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	472,56	C ₂₅ H ₂₄ N ₆ O ₂ S	73
61e	<i>p</i> -OHC ₆ H ₄	445,49	C ₂₁ H ₁₄ N ₅ O ₂ S	75
61f	<i>o</i> -Cl C ₆ H ₄	463,94	C ₂₃ H ₁₈ N ₅ O ₂ S	82
61g	<i>o</i> -F C ₆ H ₄	447,48	C ₂₃ H ₁₈ FN ₅ O ₂ S	67
61i	<i>p</i> -F C ₆ H ₄	447,48	C ₂₃ H ₁₈ FN ₅ O ₂ S	68
61j	<i>m</i> -OCH ₃ <i>p</i> -OHC ₆ H ₃	475,52	C ₂₄ H ₂₁ N ₅ O ₄ S	68
61k	2-SC ₄ H ₃	435,52	C ₂₁ H ₁₇ N ₅ O ₂ S ₂	73
62b	C ₆ H ₅	477,13	C ₂₇ H ₁₉ N ₅ O ₂ S	65
62c	<i>m</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	522,61	C ₂₇ H ₁₈ N ₆ O ₄ S	75
62d	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	520,17	C ₂₉ H ₂₄ N ₆ O ₂ S	68
62e	<i>p</i> -OHC ₆ H ₄	493,54	C ₂₇ H ₁₉ N ₅ O ₃ S	74
62g	<i>o</i> -F C ₆ H ₄	495,12	C ₂₇ H ₁₈ FN ₅ O ₂ S	63
62i	<i>p</i> -F C ₆ H ₄	495,12	C ₂₇ H ₁₈ FN ₅ O ₂ S	65
62k	2-SC ₄ H ₃	483,56	C ₂₅ H ₁₇ N ₅ O ₂ S ₂	78

I 6.3.9. Síntese de 1-(*p*-hidróxifenil)-3-(2-*N'*-fenil-1,3,4-oxadiazolil)-β-carbolinas (63)

A uma solução da β-carbolina-3-tiossemicarbazida (**57e**) (1 mmol) em etanol (5 mL) foram adicionados bromoacetato de etila (1 mmol), acetato de sódio (4 mmol) e hidróxido de potássio (1 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação e refluxo por 48h. O precipitado formado foi filtrado e lavado com etanol. Na **Tabela I 18** estão apresentados dados e rendimento do produto.

Tabela I 18. Dados e rendimento do composto 63

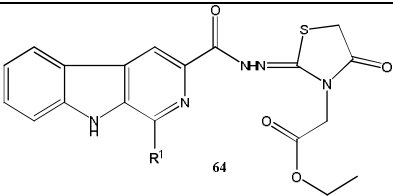


Derivado	R ¹	Massa Molecular (g/mol)	Formula Molecular	Rendimento (%)
63	<i>p</i> -OHC ₆ H ₄	419,43	C ₂₅ H ₁₇ N ₅ O ₂	75

I 6.3.10 Síntese das 1-fenilsubstituídas-3-(carbonilidrazono-3'-acetoacetóxi de etila-4'-tiazolidinona)-β-carbolinas 64 (a, b, f, g, i).

A uma solução das 1-fenilsubstituídas-β-carbolina-3-tiossemicarbazidas (**57 a, b, f, g, i**) (1 mmol), foram adicionados bromoacetato de etila (2 mmol), acetato de sódio (4 mmol) e hidróxido de potássio (1 mmol). A reação foi mantida sob agitação e refluxo por 48h. O precipitado formado foi filtrado e lavado com etanol. Os rendimentos obtidos estão apresentados na **Tabela I 19**.

Tabela I 19. Dados e rendimentos dos derivados 64 (a, b, f, g, i).

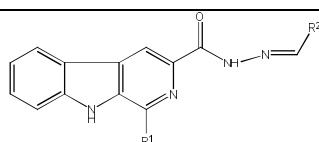


Derivado	R ¹	Massa Molecular (g/mol)	Formula Molecular	Rendimento
64 ^a	<i>p</i> -OCH ₃ C ₆ H ₄	517,14	C ₂₆ H ₂₃ N ₅ O ₅ S	80%
64b	C ₆ H ₅	487,13	C ₂₅ H ₂₁ N ₅ O ₄ S	86%
64f	<i>o</i> -Cl C ₆ H ₄	521,98	C ₂₅ H ₂₀ ClN ₅ O ₄ S	85%
64g	<i>o</i> -F C ₆ H ₄	505,52	C ₂₅ H ₂₀ FN ₅ O ₄ S	83%
64i	<i>p</i> -F C ₆ H ₄	505,52	C ₂₅ H ₂₀ FN ₅ O ₄ S	78%

I 6.11. Síntese das N'-arilideno-(1-fenilssubstituído)-β-carbolinas-3-carboidrazidas 65 – 72.

A uma solução das carboidrazidas **56** (**b-d, f, g e k**) (1 mmol) em DMF (3,0 mL) foram adicionados os respectivos aldeídos aromáticos, benzaldeído, *m*-nitrobenzaldeído, *p*-dimetilaminobenzaldeído, *o*-clorobenzaldeído, *o*-fluorobenzaldeído e tiofeno-2-carboxaldeído (1,2 mmol). A mistura reacional foi levada ao forno de microondas doméstico utilizando 60% da potencia com intervalo de tempo de 1,0 a 3,0 minutos. As reações foram acompanhadas por CCD até o consumo total do material de partida. Após resfriada, a mistura reacional foi vertida em água gelada. O precipitado formado foi filtrado em funil de vidro sinterizado e lavado com água. Os rendimentos obtidos estão apresentados na **Tabela I 20**.

Tabela I 20. Dados e rendimentos dos derivados **65 – 72**



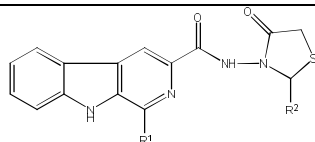
Derivados	R ¹	R ²	Massa Molecular (g/mol)	Formula Molecular	Rendimento (%)
65	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	390,44	C ₂₅ H ₁₈ N ₄ O	68
66	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	433,19	C ₂₇ H ₂₃ N ₅ O	70
67	<i>o</i> -F-C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	408,43	C ₂₅ H ₁₇ FN ₄ O	67
68	C ₆ H ₅	<i>o</i> -SC ₄ H ₃	396,46	C ₂₃ H ₁₆ N ₄ OS	82
69	<i>m</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	435,43	C ₂₅ H ₁₇ N ₅ O ₃	80
70	C ₆ H ₅	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	433,19	C ₂₇ H ₂₃ N ₅ O	83
71	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	424,11	C ₂₅ H ₁₇ ClN ₄ O	71
72	C ₆ H ₅	<i>o</i> -Cl C ₆ H ₅	424,88	C ₂₅ H ₁₇ ClN ₄ O	83

I 6.3.12. Síntese das 1-fenilssubstituído-3-carboidrazida-N'-(2-arilssubstituído-4-tiazolidinona)-β-carbolinas (73 – 80)

A uma suspensão das benzilideno-carboidrazidas (**65 – 72**) (1 mmol) em tolueno (10,0 mL) foi adicionado, lentamente, ácido mercaptoacético (2 mmol) e ácido *p*-toluenossulfônico catalítico. O meio reacional foi mantido sob agitação e refluxo e o desenvolvimento das reações foi monitorado por CCD. Após o consumo do material de partida (12h à 48h), a reação foi tratada com uma solução 5% de carbonato de sódio até pH 8. O precipitado formado foi filtrado em funil de vidro sinterizado e lavado com água. Para os derivados **78** e **79** não houve a formação de precipitado após o tratamento com a base.

Nestes casos, a mistura reacional foi extraída com acetato de etila (3x20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente evaporado a vácuo em evaporador rotativo. Os rendimentos obtidos estão apresentados na **Tabela I 21**.

Tabela I 21. Dados e rendimentos dos derivados **73-80**



Derivados	R ₁	R ₂	Massa Molecular (g/mol)	Formular Molecular	Rendimento (%)
73	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	464,13	C ₂₇ H ₂₀ N ₄ O ₂ S	67
74	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	494,14	C ₂₈ H ₂₂ N ₄ O ₃ S	78
75	<i>o</i> -F C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	482,12	C ₂₇ H ₁₉ FN ₄ O ₂ S	71
76	C ₆ H ₅	2-SC ₄ H ₃	470,09	C ₂₅ H ₁₈ N ₄ O ₂ S ₂	70
77	<i>m</i> -NO ₂ C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	509,54	C ₂₇ H ₁₉ N ₅ O ₄ S	83
78	C ₆ H ₅	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂ -C ₆ H ₄	507,17	C ₂₉ H ₂₅ N ₅ O ₂ S	69
79	<i>o</i> -Cl C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	498,09	C ₂₇ H ₁₉ ClN ₄ O ₂ S	80
80	C ₆ H ₅	<i>o</i> -Cl-C ₆ H ₅	498,09	C ₂₇ H ₁₉ ClN ₄ O ₂ S	78

I 6.4. PROCEDIMENTOS GERAIS PARA OS ENSAIOS BIOLÓGICOS

I 6.4.1. Atividade Antitumoral

As linhagens de células foram cedidas pelo National Câncer Institute (NCI) dos EUA, e utilizadas na triagem da atividade antitumoral. Estas foram cultivadas em meio de cultura denominada RPMI-1640 suplementando com 5% de soro fetal bovino inativo (SFB). Todos os procedimentos foram realizados sob condições estéreis, segundo metodologia descrita por Monks e col.¹⁰³ Os compostos foram avaliados em culturas de células tumorais humanas de glioma (U251), melanoma (UACC-62), mama (MCF7), ovário resistente (NCI/ADR), rim (786-0), pulmão (NCI-460), próstata (PCO-3), ovário (OVCAR), colo (HT29), leucemia (K-562), e frente às linhagens de células normais de rim de macaco verde (VERO) ou normais humanas – queratinócitos (HaCaT).

Foram plaqueados em 100 µM de células, em meio de cultura denominada RPMI-1640 suplementando com 5% de soro fetal bovino inativo (SFB) e gentamicina (meio RPMI/SFB/gentamicina),

¹⁰³ Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; Gray-Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, J.; Boyd, M.; *Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines*, Journal of The National Cancer Institute, v. 83, p. 757, 1991.

nas suas respectivas densidades de inoculação em placas de 96 compartimentos. Estas foram incubadas por 24 horas a 37 °C em atmosfera de 5% de CO₂ e 100% de umidade. Para cada linhagem foi utilizado um número estipulado de placas, além da placa T₀ (placa controle), dependendo da quantidade de células obtidas na contagem.

As amostras foram diluídas em DMSO na concentração de 1 g/mL resultando em soluções estoques. Estas soluções foram diluídas 40 vezes em RPMI/SFB/gentamicina. Foram adicionadas 100 µM do composto a ser testado nas placas de 96 compartimentos, exceto na T₀, nas doses de 0,25; 2,5; 25; 250 mg/mL, sendo realizada no mesmo momento, a fixação e posterior leitura da placa T₀, determinando assim a quantidade de células presentes no momento em que os compostos foram colocados. As demais placas foram incubadas por 48 horas. Após este período, foram realizadas as leituras pelo ensaio da sulforodamina B (SRB).

Para o ensaio da SRB, as placas de 96 compartimentos foram centrifugadas por 3 minutos a 2000 rpm, e foram fixadas com 50 µL de ácido tricloroacético a 50% para as células aderidas. Para completar a fixação celular, as placas foram incubadas por 1 hora a 40 °C. Após esse tempo, foram submetidas a quatro lavagens consecutivas com água destilada para a remoção dos resíduos de TCA, meio, SFB e metabólitos secundários. Estas placas foram mantidas a temperatura ambiente até a secagem completa. Em seguida, as placas foram coradas pela adição de 50 µL de SRB a 0,4% (massa/volume) dissolvido em ácido acético a 1%. Estas foram incubadas a 40 °C, durante 30 minutos. Após esse período, as placas foram lavadas por 4 vezes consecutivas com uma solução de ácido acético 1%. O resíduo da solução de lavagem foi removido e as placas foram novamente secas à temperatura ambiente. O corante ligado às proteínas celulares foi solubilizado com uma solução de TrizmaBase na concentração de 10 µL e pH 10,5 por 5 minutos em ultra-som. A leitura espectrofotométrica da absorbância foi realizada em 560 nm em um leitor de microplacas.

Para obtenção dos resultados foram calculadas as médias das absorbâncias descontadas de seus respectivos brancos e através da fórmula abaixo, foi determinada a inibição de crescimento (IC) de cada amostra testada.

Se $T > C$ a substância estimulou o crescimento, não apresenta IC.

Se $T \geq T_0$ mas $< C$, a substância foi citostática e a fórmula utilizada é $100 * [(T - T_0) / (C - T_0)]$.

Se $T < T_0$ a substância foi citotóxica, a fórmula utilizada é $100 * [(T - T_0) / (C - T_0)]$.

Sendo que T é a média da absorbância da célula tratada; C é o controle de célula; T₀ é o controle das células no dia da adição das substâncias. O resultado obtido foi subtraído de 100% obtendo-se então a porcentagem de inibição de crescimento. As amostras foram consideradas ativas quando apresentaram inibição de crescimento maior que 50% e ainda de forma dose dependente.

I 6.4.2. Atividade Antiviral

Os compostos sintéticos foram avaliados quanto ao potencial citotóxico *in vitro* segundo a técnica colorimétrica da sulforrodamina B descrita por Skehan e colaboradores ¹⁰⁴ Células VERO foram tratadas com várias concentrações dos compostos (1000 µg/ml, 500 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml e 0,1 µg/ml) em triplicata. Como controle utilizou-se células sem a droga e o aciclovir foi utilizado como padrão HSV-1. Através do resultado do ensaio da atividade antiviral é possível analisar a concentração efetiva – EC₅₀ que é a concentração necessária para proteger 50% das células contra infecção pelo HSV-1; a concentração citotóxica – CC₅₀ que é referente a dose tóxica para 50% das células; e o índice de seletividade – IS valor que se refere a quantas vezes o composto analisado é mais ativo para infecção. Sendo assim, são ativos os compostos que apresentarem IS>1

A citotoxicidade foi determinada frente a linhagem celular VERO - células de rim de macaco verde africano (ATCC CCL81). Essas células foram cultivadas em DMEM - Dulbecco's Modified Eagle Medium (Gibco®) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Gibco®) e gentamicina e mantidas em estufa a 37°C com tensão de 5% de CO₂. Para a obtenção das suspensões virais as monocamadas de células VERO foram cultivadas e infectadas com *Herpes simplex tipo I* cepa KOS.

¹⁰⁴ Skehan, P.; Storeng, R.; Scudiero, D.; Monks, A.; McMahon, J.; Vistica, D.; Warren, J. T.; Bokesch, H.; Kenney, S.; Boyd, M. R.; *New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening*, Journal of the National Cancer Institute, 82, p. 1107, **1990**.

17. CONCLUSÕES

Esta parte do trabalho consistiu na síntese, caracterização de derivados triptamínicos e β -carbolínicos inéditos contendo o anel 4-tiazolidinona acoplado a essas estruturas. Posteriormente foi realizadas atividades *in vitro* das atividades, atitumoral, frente a dez linhagens de células cancerígenas humanas e atividade citotóxica frente às células normais VERO e HaCaT e, antiviral frente ao vírus *Herpes simplex* tipo 1.

O emprego de um forno de microondas foi a metodologia mais eficiente e prática para a preparação dos derivados N^3 -(2'-arilssubstituídos-4-tiazolidinona)-triptamínicos **51(a-h)**, os quais foram obtidos em bons rendimentos (61 – 73%) com um tempo reacional de aproximadamente 3 minutos.

No ensaio da atividade antitumoral para os derivados triptamínicos-4-tiazolidinona, o derivado **51f** foi o mais ativo da série frente a todas as linhagens avaliadas com valor de GI_{50} na faixa de 0,50 a 13,15 μ M. O composto **51c** foi o composto mais ativo para glioma com valor de GI_{50} igual a 0,08 μ M, e sendo mais de dez vezes mais tóxico para as células tumorais de glioma do que para as células normais.

No ensaio da atividade antiviral a maioria dos derivados triptamínicos-4-tiazolidinona avaliados apresentaram potente atividade, porém os derivados com os grupos fenila (**51b**) e furila (**51h**) ligados ao anel 4-tiazolidinona foram os mais ativos dessa série, com valores de EC_{50} de 0,03 e 0,06 μ M, respectivamente.

A maioria dos compostos dessa série apresentou o índice de seletividade (IS) >1000, o que pode indicar que compostos contendo o anel-tiazolidinona acoplados ao esqueleto triptamínico podem ser indicados como candidatos a agentes antivirais.

As β -carbolínicas 3-carboidrazida (**56**), intermediários para a síntese dos derivados β -carbolínicos com o núcleo 4-tiazolidinona foram obtidas a partir da reação de Pictet Spengler do L-triptofano esterificado com uma série de aldeídos aromáticos, seguido da oxidação das tetraido β -carbolinas e posterior tratamento com hidrazina hidratada. Foram obtidas as seguintes séries:

A reação das β -carbolinas-3-carboidrazidas (**56**) com isocianatos apropriados forneceu:

- ✓ 1-(fenilssubstituídos)-3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona)- β -carbolínicos **60 (a-g)**;
- ✓ 1-(arilssubstituídos)-3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona)- β -carbolínicos **61 (a-g, i-k)**;
- ✓ 1-(arilssubstituídos)-3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona)- β -carbolínicos **62 (b - e, g, i k)**;

A reação de **57e** com bromoacetato de etila forneceu o derivado

- ✓ 1-(*p*-hidróxifenil)-3-(2- N^1 -fenil-1,3,4-oxadiazol-5il)- β -carbolínico **63**;

A reação dos derivados **57 (a, b, f, g, e i)** com excesso de bromoacetato de etila forneceu:

- ✓ 1-(fenilssubstituídos)-3-(carbonilidrazono-3'-acetoacetóxi de etila-4'-tiazolidinona)- β -carbolinas **64 (a, b, f, g, i)**;

Somente com o emprego catalítico de ácido *p*-toluenossulfônico à reação dos intermediários imínicos (**65 - 72**) com ácido mercaptoacético forneceu:

- ✓ 1-(fenilssubstituídos)-3-carboidrazida-(N'-2-arylssubstituído-4-tiazolidinona)- β -carbolinas (**73 – 80**).

Os resultados dos ensaios de atividade antitumoral mostraram que:

Para a série dos β -carbólicos com o grupo 3-(carbonilidrazono-4-tiazolidinona) (**60 a-g**) o derivado **60f** e **60d**, os quais possuem o grupo *o*-clorofenil e *p*-dimetilaminofenil, respectivamente na posição-1 do esqueleto β -carbólico apresentaram uma potente atividade antitumoral, com valores de GI₅₀ na faixa de 0,01 a 14,59 μ M.

Os derivados **60a**, **60b**, **60g**, **60c** e **60e** apresentaram potente seletividade frente a linhagens de células tumorais de mama, leucemia e ovário resistente.

A introdução de um grupo etila e/ou fenila ao átomo de nitrogênio do anel tiazolidínico não contribuiu para aumentar a atividade antitumoral dos derivados da série de 3-(carbonilidrazono-3-etil-4-tiazolidinona) **61(a-g, i-k)** e 3-(carbonilidrazono-3-fenil-4-tiazolidinona) e **62 (b-e, g, i, k)**, mas forneceu derivados com seletividade específica. Os derivados com os grupos fenil (**61b**), *m*-nitrofenil (**61c**), *p*-dimetilaminofenil (**61d**) e *o*-fluorofenil (**61g**) na posição-1 do anel β -carbólico foram seletivos frente as linhagens celulares de glioma e leucemia com valor de GI₅₀ inferior a 1,00 μ M. O derivado com o heteroátomo na posição-1 do anel β -carbólico (**61k**) apresentou potente atividade frente a linhagem de células de mama resistente com valor de GI₅₀ de 0,41 μ M.

Os derivados com os grupos fenil (**62b**), *p*-hidróxifenil (**62e**) e 2-tiofeno (**62k**) na posição-1 do esqueleto β -carbólico foram ativos para células de leucemia.

A introdução do grupo acetoacetóxi de etila no núcleo tiazolidinona dos derivados 3-(carbonilidrazono-3-acetoacetóxi de etila-4-tiazolidinona) **64 (a, b, f, g, i)**, contribuiu significativamente para fornecer compostos ativos e seletivos, especificamente para a linhagem de células tumorais de ovário.

Dentre a série 1-fenil-3-[amido-N³-(2-arylssubstituído-4-tiazolidinona) β -carbolinas (**73-80**) os derivados **73**, **75** e **77** apresentaram atividade específica frente às linhagens celulares de glioma, ovário e leucemia e todos os derivados dessa série apresentaram não tóxicos frente às células normais.

Os compostos β -carbólicos-4-tiazolidinona **60g**, **61d** e **62c** apresentaram atividade significativa frente ao vírus *Herpes simplex* tipo 1.

Os derivados da série 1-fenil-3-[amido-N³-2-(*o*-arylssubstituído-4-tiazolidinona)]- β -carbolinas (**73-75 e 80**) apresentaram boa atividade antiviral, mas o derivado **74** foi o mais ativo dessa série com valor de EC₅₀ de 0,80 μ M.

Com isso, é perceptível que a presença de grupos apropriados nas posições-1 e -3 do anel β -carbólico exerce grande influencia nas atividades biológicas.

Capítulo II

Síntese e avaliação da atividade anti-Alzheimer de derivados triazino-indólicos

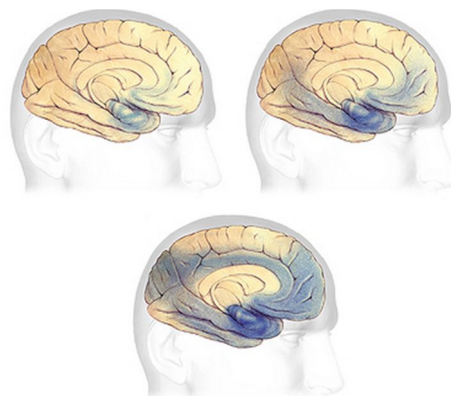
II 1. INTRODUÇÃO

II 1.1. Doença de Alzheimer

A Doença de Alzheimer (DA) também conhecida como Mal de Alzheimer ou simplesmente Alzheimer é um dos maiores problemas de demência em todo mundo. Descoberta em 1907, pelo neuropatologista Alois Alzheimer, é uma doença neuro-degenerativa, progressiva, irreversível, aumenta exponencialmente com o passar dos anos e atinge, principalmente, as pessoas com mais de 60 anos de idade. A DA causa grandes transtornos às suas vítimas e entre os sintomas mais conhecidos estão a perda de memória recente, irritabilidade, agressividade, alterações de humor, problemas na fala e com o passar do tempo também pode apresentar sintomas como depressão. No estágio terminal, o idoso perde parte ou totalmente os movimentos físicos tornando-se totalmente dependente de outra pessoa; infecções, como pneumonia também é comum nessa fase.

No Brasil cerca de 6% das pessoas com mais de 60 anos sofrem com a DA, segundo dados da Associação Brasileira de Alzheimer (Abraz). A **Figura II 1.** ilustra a progressão da DA no cérebro ¹⁰⁵.

Figura II 1. As placas e emaranhados, em azul, tendem a se espalhar pelo cérebro, conforme o avanço da doença.



¹⁰⁵ <http://www.alz.org/brain> acessado em 18/06/2003

II 1.2. Gênese e o tratamento da Doença de Alzheimer

Embora a causa da doença de Alzheimer ainda seja essencialmente desconhecida, há várias hipóteses sendo estudadas com intuito de explicar o gênese desse mal.

Sabe-se que DA é uma doença neurodegenerativa e estudos apontam que essa doença pode ser caracterizada pelos depósitos chamados de amilóides juntamente com a presença de emaranhados neurofibrilares (NFT, do inglês *neurofibrillary tangles*) e/ou placas senis (SP) ¹⁰⁶ NFT são agregações intra-neuronais, compostas principalmente de proteína Tau fosforilada anormal. SP são extracelulares e o principal componente destas lesões é o peptídeo β -amilóide ($A\beta$). Os mecanismos moleculares e celulares responsáveis pela formação destas lesões ainda são obscuros.

Uma das maiores evidências da ocorrência da doença é a deposição do peptídeo β -amilóide em placas que causam a destruição de neurônios por criar um processo inflamatório crônico nas regiões afetadas, alterando a regulação de cálcio, o qual é essencial para a condução dos estímulos nervosos, e aumento da produção de radicais livres, os quais são tóxicos para as células nervosas ^{107, 108, 109}. Em outras palavras, os peptídeos β -amilóides insolúveis juntam-se, inicialmente para formar filamentos longos, e então, se unem a resíduos de neurônios que estão morrendo para formar as placas observadas na DA.

A fosforilação da proteína Tau, a qual é um componente particular dos emaranhados neurofibrilares, em um paciente com Alzheimer, é diferente da fosforilação da proteína tau em cérebro normal. Essa pode ser a causa da disfunção celular que daria início à doença de Alzheimer ^{110, 111}. Eventualmente, formam-se emaranhados neurofibrilares dentro de corpos de células nervosas ¹¹². Quando

¹⁰⁶ Kidd, M.; *Paired Helical Filaments in Electron Microscopy of Alzheimer's Disease*, Nature, v. 197, p. 192, **1963**.

¹⁰⁷ Demarian, V.; Zavoreo, I.; Kes, V. B.; Simudic, A. M.; *Biomarkers in Alzheimer's disease*, Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, v. 49, p. 773, **2011**.

¹⁰⁸ Viegas Jr., C.; Bolzani, V. S.; Furlan, M.; *Produtos Naturais como Candidatos a Fármacos Úteis no Tratamento do Mal de Alzheimer*, Química Nova, v. 27, p. 655, **2004**.

¹⁰⁹ Good, P. F.; Werner, P.; Hsu, A.; Warren Olanow, C.; Perl, D. P.; *Evidence for Neuronal Oxidative Damage in Alzheimer's Disease*, American Journal of Pathology, v. 149, p. 21, **1996**.

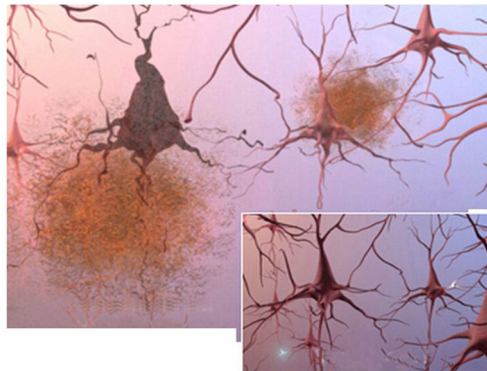
¹¹⁰ Hardy, J.; Allsop, D.; *Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer*, Trends in Pharmacological Sciences, v. 12, p. 383, **1991**.

¹¹¹ Mudher, A.; Lovestone, S.; *Alzheimer's disease-do taoists and Baptists finally shake hands?*, Trends in Neurosciences, v. 25, p. 22, **2002**.

¹¹² Nikolaev, A.; McLaughlin, T.; O'Leary, D. M.; Tessier-Lavigne, M.; *APP binds DR6 to trigger axon pruning and neuron death via distinct caspases*, Nature, v. 457, p. 981, **2009**.

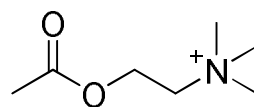
isso ocorre, os microtúbulos, que são uma associação da proteína tau ^{113, 114, 115} se desintegram e ocorre um colapso do sistema de transporte dos neurônios ¹¹⁶. Isso pode resultar, em primeiro lugar, em mau funcionamento da comunicação bioquímica entre os neurônios e, posteriormente, na morte das células. Dessa forma, compreender os modos de regulação da fosforilação da proteína Tau é de grande interesse para a determinação das possíveis causas da origem da formação de agregados dessa proteína e assim, elaborar estratégias de proteção para combater ou amenizar as lesões causadas pela Doença de Alzheimer. A **Figura II 2.** ilustra neurônios saudáveis e neurônios com indícios da DA, ou seja, presença de emaranhados neurofibrilares e placas de amiloide.

Figura II 2. Exemplos de células nervosas com placas e emaranhados neurofibrilares (figura maior) e células nervosas normais (figura menor)¹⁰⁵.



Uma das mais antigas hipóteses, e na qual a maioria das terapias atuais está envolvida, baseia-se na hipótese colinérgica ⁹¹, que propõe que a DA é causada pela redução na síntese do neurotransmissor acetilcolina, visto que os pacientes com DA apresentam níveis reduzidos deste neurotransmissor. Existem três classes de neurotransmissores: colinérgicos, adrenérgicos e os neuropeptídeos. O principal neurotransmissor colinérgico é a acetilcolina (**Figura II 3**).

Figura II 3. Estrutura da acetilcolina



¹¹³ Francis, T. P.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease*, Journal Neurol Neurosurg Psychiatry, v. 66, p. 137, **1999**.

¹¹⁴ Michaelis, M. L.; *Drugs targeting Alzheimer's disease: some things old some things new*, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 304, p. 897, **2003**.

¹¹⁵ Gooch, M. D.; Stennett, D. J.; *Molecular basis of Alzheimer's disease*, American Journal of Health-System Pharmacy, v. 53, p. 1545, **1996**.

¹¹⁶ Goedert, M.; Spillani, M. G.; Crowther, R. A., *Tau Proteins and Neurofibrillary Degeneration*, Brain Pathology, v.1, p.279, **1991**

Os agentes colinérgicos são fármacos que direta ou indiretamente produzem efeitos similares aos causados pela acetilcolina. Segundo seu mecanismo de ação, estas substâncias se dividem em duas classes principais: colinérgicos diretos e colinérgicos indiretos ^{117, 118}. Os de ação direta são fármacos que devido a sua semelhança com acetilcolina, tanto no ponto de vista estrutural, quanto na distribuição de cargas, exercem ação análoga à deste transmissor químico. Os agentes colinérgicos de ação indireta ou simplesmente anticolinesterásicos, são drogas que inibem a ação da acetilcolinesterase; deste modo, impedem a enzima de hidrolisar a acetilcolina, tendo como consequência, o acúmulo deste transmissor químico nos sítios de transmissão colinérgica. A acetilcolina participa de vários processos fisiológicos e mentais, tais como sono, motricidade, aprendizagem e memória. Em algumas doenças degenerativas neurológicas como a disautonomia familiar, doença de Huntigton, mal de Alzheimer e síndrome de Parkinson, existem alterações da função colinérgica ¹¹⁹.

Logo, uma maneira de diminuir os sintomas e/ou retardar a doença é aumentar a disponibilidade sináptica de acetilcolina. Esse processo é possível pela inibição das principais enzimas responsáveis pela sua catálise: a acetil e a butirilcolinesterase. A butirilcolinesterase também está envolvida na manutenção das placas neuríticas e sua inibição pode representar benefícios adicionais ao tratamento ¹²⁰. O tratamento baseia-se no uso de fármacos inibidores da AChE (anticolinesterásicos) para evitar a degradação da ACh, embora os medicamentos destinados a tratar essa deficiência sejam ainda pouco eficazes.

Atualmente existe uma série de fármacos anticolinesterásicos comerciais que têm sido bastante usados por pacientes com DA. Como é o caso da substância Fisostigmina (**81**), Donepezil (Aracet®) (**82**), Galantamina (Reminyl®) (**83**), Rivastigmina (Exceton®) (**84**) e Tacrina (THA, Cognex®) (**85**). As estruturas dessas substâncias estão apresentadas no **Quadro II 1**.

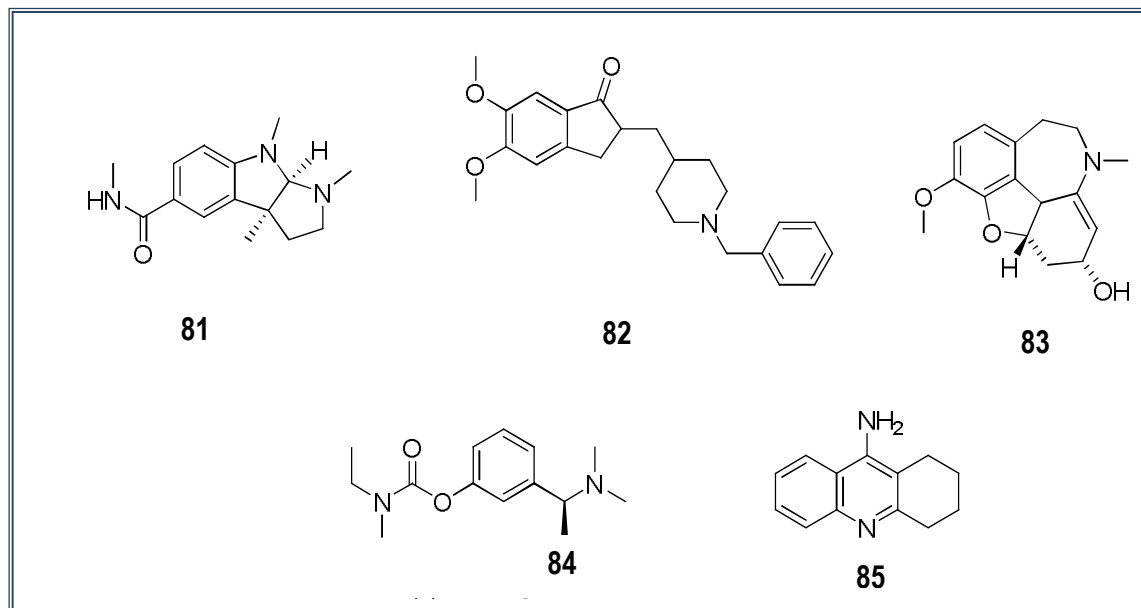
¹¹⁷ Korokovas, A.; Burckhatter, J. H.; *Química Farmacêutica*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Cap. 13, 14, 15 e 16, p. 280-317. **1988**.

¹¹⁸ Gualtieri, F.; *Cholinergic receptors and neurodegenerative diseases*, Pharmaceutica Acta Helvetiae, v. 74 p. 85, **2000**.

¹¹⁹ Zanini, A. C.; Olga, S.; *Farmacologia Aplicada*, Ateneu, São Paulo, 167, 84 **1994**.

¹²⁰ Mesulam, M.; Geula, C.; *Butyrylcholinesterase reactivity differentiates the amyloid plaques of aging from those of dementia*, Annals of Neurology, v.36, p.722, **1994**.

Quadro II 1. Inibidores de AChE utilizados no tratamento da DA



Mais recentemente, outros alvos terapêuticos têm sido objeto de novas pesquisas contra a doença de Alzheimer. Uma hipótese para causa da DA está relacionada com a *dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A* (DYRK1A).

DYRK1A em mamíferos é homólogo ao gene conhecido como “mini-cérebro”(mnb) de *Drosófila* responsável pelos defeitos de aprendizagem das moscas, e é essencial para a neurogênese pós-embrionário normal. A quinase DYRK1A é expressa em toda parte de tecidos fetais e adultos, com uma forte expressão no cérebro e no coração ¹²¹.

Pesquisas recentes têm sugerido que DYRK1A também pode estar relacionada com os mecanismos patológicos de APP - proteína precursora de amilóide e Tau, podendo acelerar a formação de placas de amilóide e NFTs, proporcionando assim o início precoce da DA em pacientes com Síndrome de Down (SD) ¹²². A proteína DYRK1A é uma serina / treonina-quinase conhecida por desempenhar um papel crítico no desenvolvimento neural, e é ativada por autofosforilação do resíduo Tyr-321 ¹²³. Isso foi observado porque pacientes portadores de SD apresentavam os sintomas da DA aos 40 anos. Sabe-se

¹²¹ Liu, F.; Liang, Z.; Wegiel, J.; Hwang, Y.; Iqbal, K.; Grundke-Iqbal, I.; Ramakrishna, N.; Gong, C., *Overexpression of DYRK1A contributes to neurofibrillary degeneration in Down syndrome*, The FASEB Journal, v. 22, p. 3224, **2008**.

¹²² Ryoo, S.; Jeong, H. K.; Radnaabazar, C.; Yoo, J.; Cho, H.; Lee, H.; Kim, I.; Cheon, Y.; Ahn, Y. S.; Chung, S.; Song, W.; *DYRK1A-mediated Hyperphosphorylation of Tau: A Functional Link Between Down Syndrome and Alzheimer Disease*, The Journal of Biological Chemistry, v. 282, p. 34850, **2007**.

¹²³ Altafaj, X.; Dierssen, M.; Baamonde, C.; Martí, E.; Visa, J.; Guimera, J.; Oset, M.; González, J. F.; Fillat, C.; Estivill, X.; *Neurodevelopmental delay, motor abnormalities and cognitive deficits in transgenic mice overexpressing DYRK1A (minibrain), a murine model of Down's syndrome*, Human Molecular Genetics, v. 10 p. 1915, **2001**.

que a Síndrome de Down é uma anomalia genética situada no cromossomo humano 21¹²⁴ e durante as investigações das causas da DA associada com a SD, a proteína DYRK1A foi isolada do cromossomo humano 21¹²⁵.

Assim, o desenvolvimento de agentes terapêuticos com atividade inibitória da DYRK1A poderá beneficiar indivíduos com SD, focando no tratamento de atraso mental relacionado à doença de Alzheimer. Nesse âmbito, muitas pesquisas têm se direcionado para a descoberta de novos inibidores potentes da DYRK1A, tendo como exemplo os compostos apresentados no Quadro II 2^{126, 127, 128, 129, 130}, que apresentaram atividade inibitória significativa.

¹²⁴ Lejeune, J.; Gautier, M.; Turpin, R.; *Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children*, Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences, v. 248, p. 1721, **1959**.

¹²⁵ Guimerá, J.; Casas, C.; Pucharcòs, C.; Solans, A.; Domènech, A.; Planas, A.; Ashley, J.; Lovett, M.; Estivill, X.; Pritchard, M. A.; *A human homologue of Drosophila minibran (MNB) is expressed in the neuronal regions affected in Down syndrome and maps to the critical region*, Human Molecular Genetics, v. 5, p. 1305, **1996**.

¹²⁶ Bain, J.; Plater, L.; Elliott, M.; Shpiro, N.; Hastie, C. J.; McLauchlan, H.; Klevernc, I.; Arthur, J. S. C.; Alessi, D. R.; Cohen, P.; *The selectivity of protein kinase inhibitors: a further update*, Biochemical Journal, v. 408, p. 297, **2007**.

¹⁰⁶Bain, J.; McLauchlan, H.; Elliott, M.; Cohen, P.; *The specificities of protein kinase inhibitors: an update*, Biochemical Journal, v. 371, p. 199, **2003**.

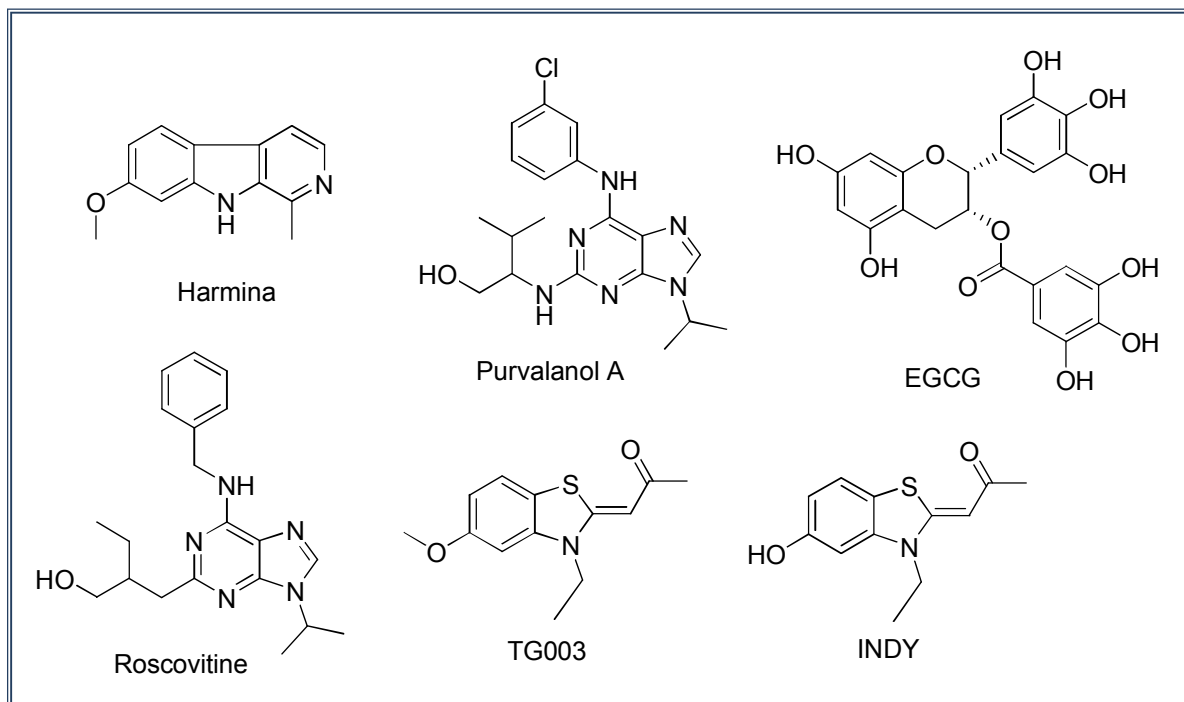
¹²⁷ Bain, J.; McLauchlan, H.; Elliott, M.; Cohen, P.; *The specificities of protein kinase inhibitors: an update*, Biochemical Journal, v. 371, p. 199, **2003**.

¹²⁸ Kim, N. D.; Yoon, J.; Kim, J. H.; Lee, J. T.; Chon, Y. S.; Hwang, M.; Ha, I.; Song, W.; *Putative therapeutic agents for the learning and memory deficits of people with Down syndrome*, Bioorganic & Chemistry Letters, v.16, p.3772, **2006**.

¹²⁹ Ogawa, Y.; Nonaka, Y.; Goto, T.; Ohnishi, E.; Hiramatsu, T.; Kii, I.; Yoshida, M.; Ikura, T.; Onogi, H.; Shibuya, H.; Hosoya, T.; Ito, N.; Hagiwara, M.; *Development of a novel selective inhibitor of the Down syndrome-related kinase DYRK1A*, Nature Communications, v. 1, p. 86, **2010**.

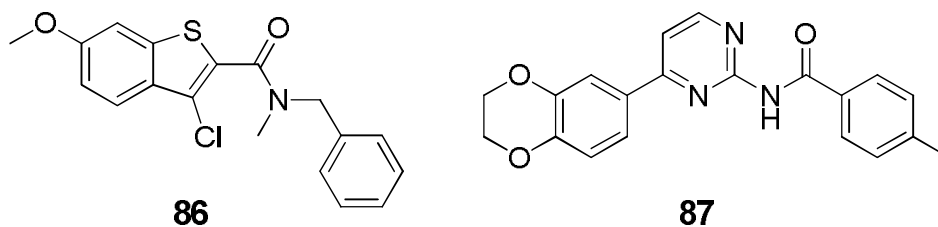
¹³⁰ Adayev, T.; Wegiel, J.; Hwang, Y. W.; *Harmine is an ATP-competitive inhibitor for dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A (Dyrk1A)*, Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 507, p. 212, **2011**.

Quadro II 2 Inibidores conhecidos da DYRK1A



No entanto, mesmo apresentando atividade inibitória significativa frente a DYRK1A, esses compostos não são usados como agentes terapêuticos principalmente pela falta de seletividade e de potencia apresentada pelos mesmos, dados que ainda faltam para esses compostos agirem como inibidores DYRK1A.

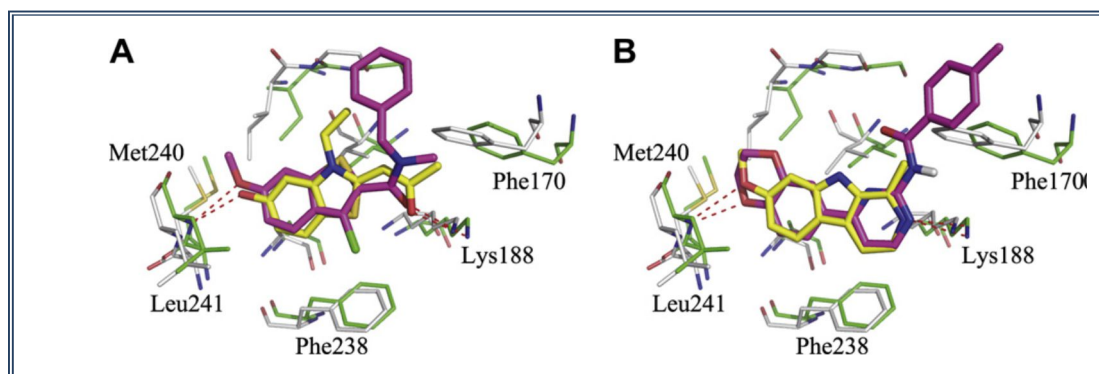
Os trabalhos de Wang Di ¹³¹ e colaboradores relataram a descoberta de seis inibidores DYRK1A via *screening* virtual, em combinação com bioensaios. Dentre os seis compostos avaliados *in vitro*, os derivados **86** e **87** ¹³¹ foram os mais ativos com valor de IC₅₀ de 6,391 μM e 1,51 μM frente à inibição DYRK1A, mais potentes que o controle positivo epigalocatequina-3-galato (EGCG), cujo valor de IC₅₀ foi de 13,44 μM.



¹³¹ Wang, D.; Wang, F.; Tan, Y.; Dong, L.; Chen, L.; Zhu, W.; Wang, H., *Discovery of potent small molecule inhibitors of DYRK1A by structure-based virtual screening and bioassay*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v.22, p.168, **2012**

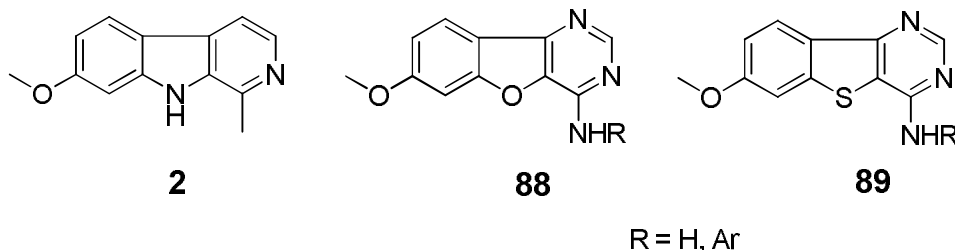
Um estudo de *Docking* dos compostos **86** e **87** na estrutura cristalina DYRK1A foi também realizados pelos autores. A **Figura II 4** mostra o alinhamento de modelagem por homologia da estrutura dessa quinase e das estruturas cristalinas de **86** e **87**.

Figura II 4 Estudo de *Docking* para os compostos **86** e **87**¹³¹



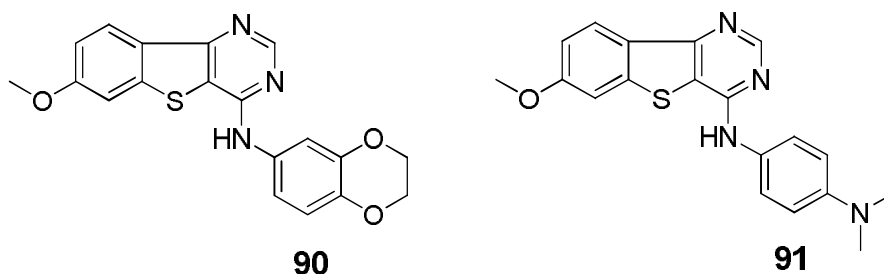
Através desses estudos de *Docking*, observou-se que há duas ligações de hidrogênios formadas entre DYRK1A e os compostos **86** e **87**, localizada no aminoácido Lys 188 and Leu 241, respectivamente. Com a análise dos ligantes já conhecidos nas estruturas cristalinas de DYRK1A, observou-se que o composto **86** possui o esqueleto semelhante e mesmo modo de ligação como o do potente inibidor (1Z)-1-(3-etil-5-hidróxi-2(3H)-benzotiazolideno)-2-propanona codificado como INDY (inibidor de DYRK1A), (**Figura II 5A**), o composto **87** possui semelhança e mesmo modo de ligação do inibidor mais potente, a harmina (**Figura II 5B**), o que pode justificar as potentes atividades exibidas para ambos os compostos.

Vários relatos da literatura têm mostrado a potente atividade exercida pelo composto harmina **2**, um alcalóide β -carbolínico natural que mostrou atividade inibitória da quinase. Com inspiração na fusão-6,5,6 do esqueleto tricíclicoda harmina, Loidreau e col.¹³² sintetizaram uma série de derivados benzofurano-pirimidinas **88** e benzotieno-pirimidinas **89** e avaliaram a atividade inibitória destes frente a cinco quinases protéicas.

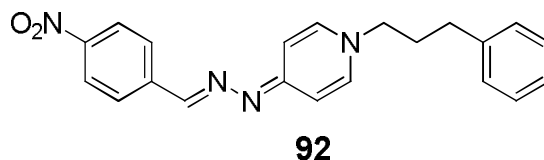


¹³² Loidreau, Y.; Marchand, P.; Dubouilh-Benard, C.; Nourrisson, M.; Duflos, M.; Loaec, N.; Meijer, L.; Besson, T.; *Synthesis and biological evaluation of N-aryl-7-methoxybenzo[b]thieno[3,2-d]pyrimidin-4-amine analogues as dual inhibitors of CLK1 and DYRK1A kinases*, European Journal of Medicinal Chemistry, v. 59, p. 283, 2013.

Dentre os compostos sintetizados e avaliados, foi observado que derivados de metoxi-benzotienopirimidina foram os mais promissores frente à inibição, tanto da família de quinase CLK1, como da família de quinase DYRK1A. Os derivados **90** e **91** foram os mais ativos, apresentando valores de IC₅₀ de 0,68 e 0,5 μM (para **90**) e de 0,79 e 0,66 μM (para **91**), para CLK1 e DYRK1A, respectivamente. Ambos os derivados também foram seletivos para ambas as quinases.



Seguindo a hipótese colinérgica, e com o objetivo de desenvolver compostos anti-DA direcionados para a inibição de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE), bem como, para a inibição da formação de emaranhados β-amilóides, derivados com o esqueleto 1,4-substituído 4-(1H)-piridileno-hidrazona foram avaliados nesse contexto. A maioria dos compostos inibiram a AChE em baixas concentrações, na ordem de micromolar para nanomolar. O derivado **92** foi o mais potente, com valor de IC₅₀ (AChE) de 90 nM e valor de IC₅₀ (fibrilas) de 1,6 μM¹³³.



Segundo Prinz e colaboradores¹³³ a combinação de um substituinte retirador de densidade eletrônica anexado à unidade hidrazona, nesse caso o grupo *p*-nitrobenzil, e um grupo propilfenila acoplado ao anel piridínico, parece ser vantajosa para a inibição da AChE e para a destruição de emaranhados fibrilares pré-formados.

Embora não exista cura para DA, o tratamento atualmente mais empregado está diretamente relacionado com a inibição dos efeitos colinésterásicos, visando melhorar a saúde, retardar o declínio cognitivo, tratar os sintomas e controlar as alterações de comportamento do idoso. No entanto as substâncias anticolinesterásicas empregadas atualmente para diminuir os sintomas ou retardar o progresso

¹³³ Prinz, M.; Parlar, S.; Bayraktar, G.; Alptüzün, V.; Erciyas, E.; Fallarero, A.; Karlsson, D.; Vuorela, P.; Burek, M.; Förster, C.; Turunc, E.; Armagan, G.; Yalcin, A.; Schiller, C.; Leuner, K.; Krug, M.; Sotriffer, C. A.; Holzgrabe, U; *1,4-Substituted 4-(1H)-pyridylidene-hydrazone-type inhibitors of AChE, BuChE, and amyloid-β aggregation crossing the blood-brain barrier*, European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 49, p. 603, 2013.

causado pela DA, apresentam uma gama de efeitos colaterais, além de ter o efeito minimizado em curto prazo de uso.

Diante disso, estudos com foco em outras possíveis hipóteses para o tratamento da DA têm despertado grande interesse, como é o caso da atividade inibitória DYRK1A. Por isso a necessidade de busca por novos e eficazes candidatos a essa atividade podem contribuir, principalmente, para a diminuição dos casos de pacientes com síndrome de Down que desenvolvem DA precocemente.

II 2. OBJETIVOS

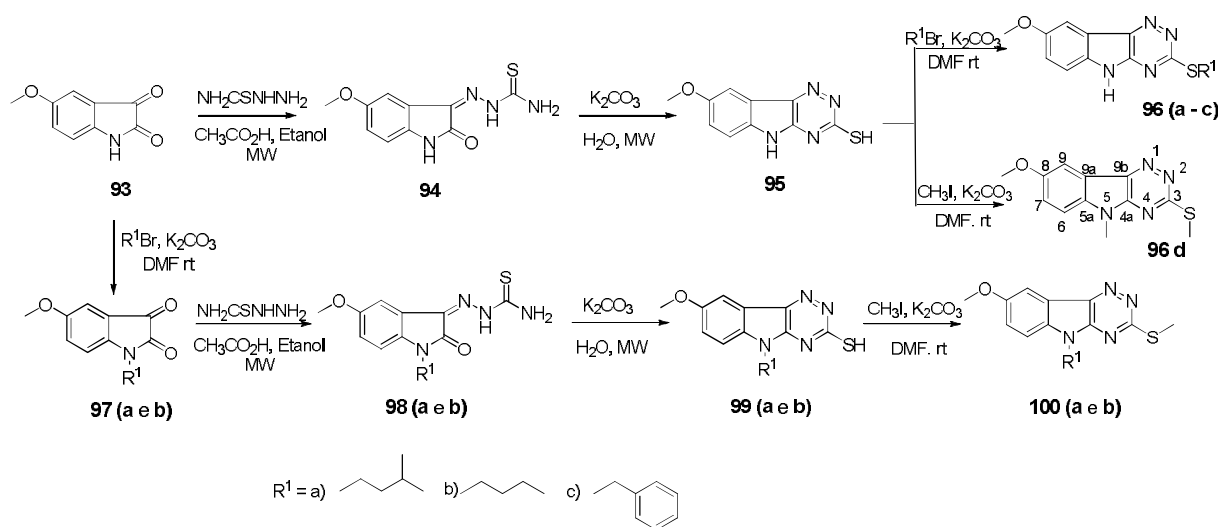
Essa parte do trabalho de doutorado sanduíche desenvolvido na *Technische Universität Darmstadt* (TU-Darmstadt) na Alemanha teve como objetivos:

- ✓ Sintetizar derivados de 1, 2, 4-triazino-indol-3-tiol, mais especificamente:
 - 8-metóxi-5-alkuil/benzil-[1, 2, 4]-triazino-indol-3-tiossubstituído
 - 7-metóxy-5-alkuil/benzil-[1, 2, 4]-triazino-indol-3-tiossubstituído
- ✓ Realizar estudos de *Docking* molecular dos derivados sintetizados com o objetivo de avaliar a interação destes com a proteína DYRK1A
- ✓ Avaliar a atividade anti-Alzheimer dos derivados que forem mais promissores nos estudos de *Docking* molecular, com relação à inibição da proteína DYRK1A.

II 3. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

II 3.1. Síntese e caracterização dos derivados 8-metóxi-5-alkuil/benzil-[1,2,4]-triazino-indol-3-tiossubstituídos **96** (a – d) e **100** (a, b)

A rota sintética para a preparação dos derivados [1,2,4]-triazino-indólicos desejados está mostrada no **Esquema II 1**. Para a obtenção dos derivados 8-metóxi-triazino-indólicos **96** (a – d) empregou-se como material de partida a 5-metóxi-isatina (**93**). A reação desta com tiossemicarbazida, na presença de ácido acético (cat.), em etanol, forneceu a tiossemicarbazona **94**.



Esquema II 1 Rota sintética para preparação dos derivados 8-metóxi-5-alkuil/benzil-[1,2,4]-triazino-indol-3-tiossubstituídos **96** e **100**

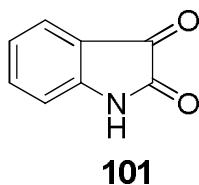
O mecanismo para obtenção do intermediário **94** é semelhante ao de formação de iminas. Primeiro ocorre a protonação da carbonila da isatina para formar o intermediário íon oxônio; em seguida o ataque do par de elétrons do N da tiossemicarbazida para formar o intermediário hemiaminal protonado. Com a perda de uma molécula de água e após a neutralização forma-se a tiossemicarbazona **94**.

O intermediário **94**, sem purificação, foi tratado com base em meio aquoso, sob irradiação de microondas, para a formação do triazino-indol **95**, o qual na presença de brometos de alquila ou benzila forneceu os derivados **96** (a – c). Quando se fez uso de iodeto de metila, ambos os grupos, indol e tiol, foram metilados fornecendo o derivado **96d**. Como era de interesse obter derivados com diferentes grupos alquila no nitrogênio indólico e grupo metila ligado ao enxofre **100** (a e b), foi necessário, primeiramente, alquilar o N-indólico no núcleo da isatina e, em seguida, continuar com a rota sintética como descrito anteriormente.

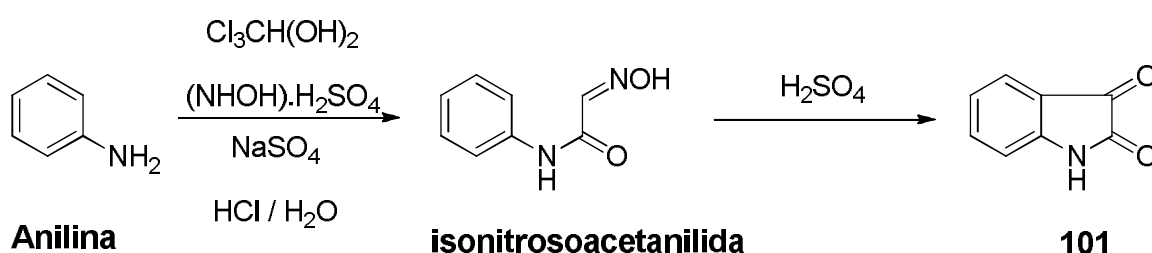
II 3.1.1. Síntese e caracterização dos derivados 7-metóxi-[1, 2, 4]-triazino-indol-3-tiossubstituídos 108 (a, b) e 112 (a, b)

Para obtenção dos derivados 7-metóxi-triazino-indol **108**, **112** alquilados, primeiramente, sintetizou-se a isatina com um grupo metoxila na posição-5, devidos ao alto custo desse reagente e a facilidade de sua obtenção via síntese.

A isatina (1*H*-indol-2,3-diona) **101** é um heterociclo que possui duas carbonilas com reatividades diferentes, uma cetônica e outra amídica, um grupo NH suscetível às reações de alquilação e acilação e um anel aromático que pode sofrer reações de substituição eletrofílica. A isatina também é encontrada na natureza, como por exemplo, em plantas do gênero *Isatis*; nas espécies *Calanthe discolor* Lindl. e *coroupita guianenses* Aubl. ¹³⁴, e ainda distribuída em diferentes regiões do cérebro e em fluidos corporais de seres humanos ¹³⁵.



O método mais comum de obtenção da isatina **101** é pelo processo de Sandmeyer ¹³⁶ (**Esquema II 2.**)



Esquema II 2 Reação de Sandmeyer para obtenção do núcleo isatina **101**.

¹³⁴ Silva, J. F. M.; Garden, S. J.; Pinto, A. C.; *The Chemistry of Isatins: a Review from 1975 to 1999*, Journal of The Brazilian Chemical Society, v. 12, p. 273, **2001**.

¹³⁵ Watkins, P.; Clow, A.; Glover, V.; Halket, J.; Przyborowska, A.; Sandler, M.; *Isatin, Regional Distribution in rat brain and tissues*, Neurochemistry International, v. 17, p. 321, **1990**.

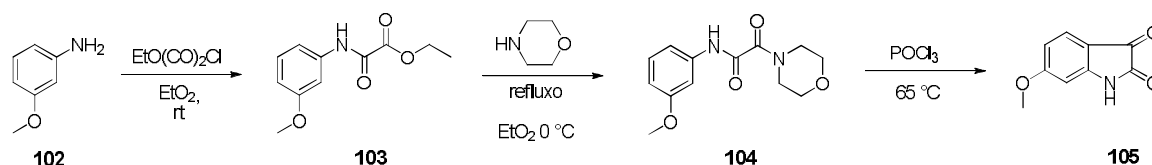
¹³⁶ Taylor, A. Journal of Chemical Research, Miniprint, 10, 4154, **1980**.

Nessa metodologia, a isatina é obtida a partir da anilina com hidrato de cloral e sulfato de hidroxilamina (ou outro sal de hidroxilamina), na presença de uma solução saturada de sulfato de sódio, para formar isonitrosoacetanilida, a qual na presença de ácido sulfúrico sofre ciclização para formar a isatina.

Mas, sabe-se que a síntese de metóxi-isatinas, especialmente as dimetóxi-isatinas, segundo Sandmeyer, conduz a baixos rendimentos devido à baixa reatividade ou a formação de subprodutos dificultando a purificação^{137, 134}.

Mason, e colaboradores¹³⁸ exploraram outras vias sintéticas com o objetivo de sintetizar metóxi-isatinas com melhores rendimentos e com intuito de encontrar um procedimento que suprisse o uso de hidrato de cloral, o qual é um componente essencial na reação de Sandmeyer.

Dessa forma, seguindo o procedimento utilizado por Mason¹³⁸ a *m*-anisidina **102** foi utilizada como material de partida, obtendo-se o intermediário etil (metóxi-fenila) amino-oxoacetato **103**, a partir da reação de substituição nucleofílica na presença de cloreto de etil-oxalila, em dietiléter. Em seguida, o composto **103** foi convertido nas correspondentes morfolina-oxoacetamidas **96** pelo aquecimento em morfolina. Finalmente a metóxi-isatina **105** foi preparada pelo aquecimento dos intermediários **104** em cloreto de fosforila **Esquema II 3**.

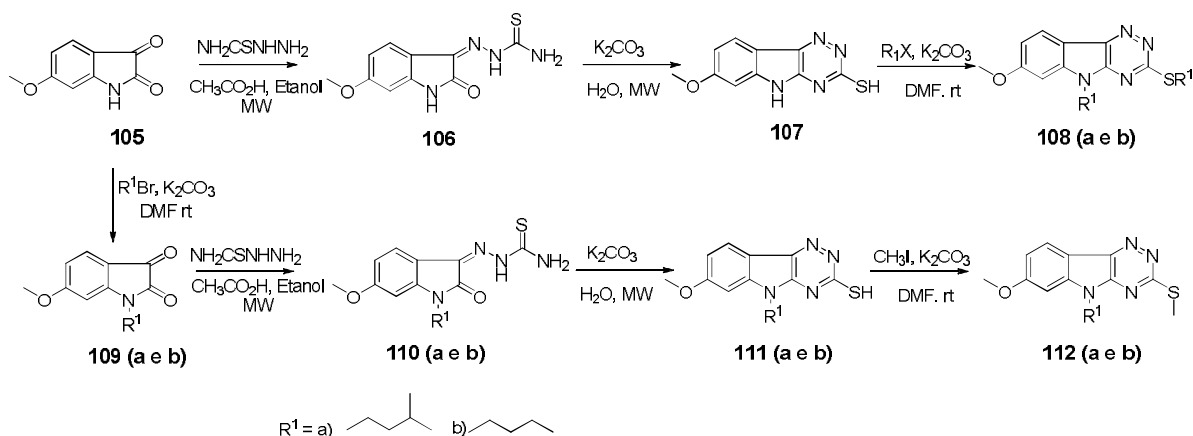


Esquema II 3. Obtenção 5-metóxi-isatina **105**

A rota sintética para obtenção dos derivados **108 (a, b)** e **112 (a e b)** (**Esquema II 4**) é similar à utilizada na preparação dos derivados **96** e **100**. Os triazino-indóis metoxilados na posição-7 foram preparados inicialmente a partir da reação da 6-metóxi-isatina **105**, previamente sintetizada, com tiossemicarbazida, em etanol e sob catálise ácida, em forno de microondas fornecendo os intermediários tiossemicarbazonas **106** e **110 (a e b)**. Estes foram ciclizados na presença de K_2CO_3 aquoso, sob radiação de microondas. Os derivados alquilados **109 (a – c)**, **108 (a e b)** e **112 (a e b)** foram obtidos pelo tratamento de **105**, **107** e **111 (a, b)** com brometos ou iodetos de alquila, em dimetilformamida.

¹³⁷ Popp, F. D.; *The Chemistry of Isatin*, Advances in Heterocyclic Chemistry, v. 18, p. 1, **1975**.

¹³⁸ Mason, J. J.; Janosik, T.; Bergman, J.; *A New Approach Methoxyisatin Leading tot he Total Synthesis of Ophiuroidine and other Hydroxytryptathrins*, Synthesis, p. 3642, **2009**.



Esquema II 4 Rota sintética de obtenção dos derivados triazinolones alquilados ou benzilados **108** e **112**

Todos os derivados sintetizados foram caracterizados com bases nos dados espectroscópicos de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$. Foram observados sinais em δ_{H} 2,77 (s; 3H) referentes aos hidrogênios metílicos dos compostos que contêm o grupo S-metil; sinais em δ_{H} 3,82 – 3,99 (s; 3H) foram atribuídos aos hidrogênios metílicos referentes à metoxila no anel benzênico do indol; hidrogênios aromáticos em δ_{H} 6,92 – 8,31 também foram observados com as correspondentes multiplicidades e as constantes de acoplamento; sinais dos grupos alquila ligados aos átomos de nitrogênio e/ou enxofre, foram observados em δ_{H} 4,31 – 4,36 (t; J = 7,1 – 7,4 Hz; N-CH₂); os compostos com substituintes 3-metilbutila apresentaram sinais em δ_{H} 1,40 – 1,77 (quart; J = 6,9 Hz; CH₂), 1,62 – 1,64 (non.; J = 6,3 Hz; CH), δ_{H} 1,03 – 1,05 (d; J = 6,6 Hz, (CH₃)₂). Os compostos com o grupo N-butila ou S-butilsubstituído apresentaram sinais em δ_{H} 1,89 (quint.; J = 7,3 Hz; CH₂); δ_{H} 1,38 – 1,40 (sext.; J = 7,3 Hz; CH₂) e sinais em δ_{H} 1,00 (t.; J = 7,4 Hz; CH₃) atribuídos aos hidrogênios metilênicos nos espectros de RMN de ^1H .

Nos espectros de RMN de ^{13}C foram observados sinais em δ_{C} 166,99 – 168,40 referentes ao C-3 δ_{C} 155,86 – 156,27 atribuídos ao C-8 e δ_{C} 162,67 – 162,73 atribuídos ao C-7. Os sinais dos carbonos dos grupos S-3-metilbutil e N-3-metilbutil foram observados em δ_{C} 39,71 - 39,84 para carbono metilênico, δ_{C} 25,83 atribuídos aos carbonos metínicos (CH), δ_{C} 22,39 – 22,40 aos carbonos metílicos CH₃ referentes. Para os compostos com S-butila e N-metila foram observados sinais em δ_{C} 39,71 – 41,14 (N-CH₂), δ_{C} 30,42 – 36,86 (CH₂), δ_{C} 20,13 – 25,83 para carbonos metilênicos e δ_{C} 13,62 – 22,40 atribuídos aos carbonos metílicos.

II 4. DOCKING MOLECULAR

II 4.1. Docking Molecular dos derivados sintetizados

Atualmente o uso de *Docking* molecular tem sido uma ferramenta muito importante principalmente na área de Química Medicinal. Essa técnica de modelagem molecular baseia-se na compreensão de dados computacionais e teóricos que tem como objetivo entender e prever o comportamento de sistemas reais, em outras palavras, é uma simulação de interação substrato e macromolécula, nesse caso, ligante e proteína.

Os estudos de *Docking* receptor-ligante são métodos computacionais que podem identificar o melhor modo de interação de substâncias candidatos a fármacos. Esses estudos de modelagem fornecem valores de energias geradas no sítio ativo de proteínas, as quais são consideradas como alvo para o tratamento de doenças, e essa energia está relacionado com as interações, eletrostáticas, de ligações de hidrogênios, estéricas, e hidrofóbicas sendo então possível avaliar a melhor orientação e conformação entre receptor e ligante.

O valor de energia obtido por meio de estudos de modelagem é uma combinação entre a orientação/conformação e uma função de pontuação que nada mais é que a afinidade atômica e as diversas possibilidades de variação do substrato na presença da proteína ¹³⁹.

Atualmente existe uma gama de programas utilizados para modelagem molecular - *Docking*, comerciais e gratuitos, como por exemplo, GOLD, FlexX, AutoDock, Glide, ICM, *Molegro Virtual Docker*, entre outros ¹⁴⁰.

Nesse trabalho foi utilizado o *Molegro virtual Docker* como programa para realizar os estudos de *Docking* molecular dos compostos sintetizados. A estrutura tridimensional da proteína DYRK1A em complexo com a harmina foi obtida no banco de dados *Protein Data Bank* (PDB) do *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RSCB, <http://www.rcsb.org/>) ¹⁴¹. Os resultados foram avaliados segundo a orientação e/ou conformação (pose) da interação dos ligantes com os aminoácidos da proteína

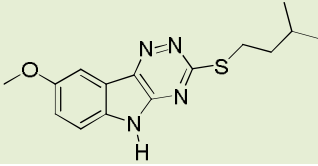
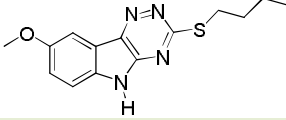
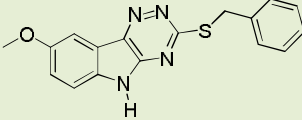
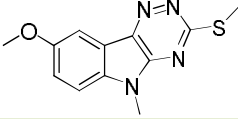
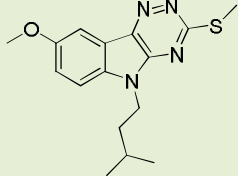
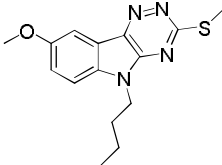
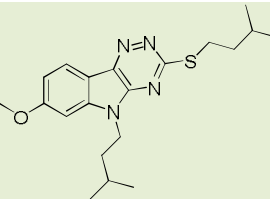
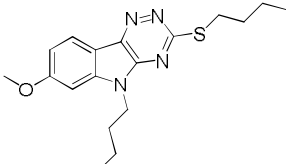
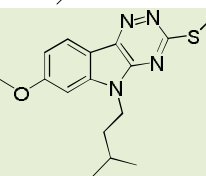
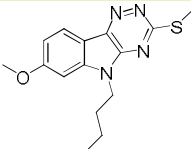
Os valores de energia com bases nos dados de *Docking* dos derivados sintetizados estão ilustrados na **Tabela II 1**.

¹³⁹ Verdonk, M. L.; Cole, J. C.; Hartshorn, M. J.; Murray, C. W.; Taylor, R. D. Improved protein-ligand docking using GOLD. *Proteins-Structure Function and Genetics*, **2003**, 52, 609

¹⁴⁰ Klebe, G. Virtual ligand screening: strategies, perspectives and limitations. *Drug Discovery Today*, **2006**, 11, 580.

¹⁴¹ Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N.; Bourne, P. E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28, 235, **2000**

Tabela II 1. Resultados com base nos estudos de *Docking* Molecular dos derivados sintetizados

Derivados	Energia
96a 	-113.428*
96b 	-99.6083
96c 	-113.265
96d 	-100.499
100a 	-119.64
100b 	-111.224
108a 	-136.013*
108b 	-120.611*
112a 	-115.910
112b 	-115.29

* Sem interação com a proteína

Os derivados, segundo os estudos de modelagem molecular, apresentaram de maneira geral, ótimos valores de energia. No entanto, mesmo com esses resultados, alguns compostos não apresentaram

boa interação com a proteína quando comparados à interação da harmina (**2**) com a proteína, já que esta foi usada como parâmetro devido à sua potente atividade de inibição da DYRK1A.

Durante o processo de modelagem, 10 poses de cada derivado analisado são geradas com seus respectivos valor de energia. Os melhores valores juntamente com a melhor interação (ligante/proteína) foram selecionados, conforme observado na **Tabela II 1**. A título de ilustrar melhor esses dados, o derivado **96b** foi usado como exemplo. A **Figura II 5** mostra o derivado **96b** com a proteína, ou seja, a melhor relação de energia/interação das 10 conformações geradas durante a modelagem. A **Figura II 6** mostra essa pose, juntamente com o esqueleto da harmina, e a **Figura II 7** mostra o alcaloide harmina (**2**) com a proteína.

Figura II 5 Derivado 96b no sítio da proteína DYRK1A

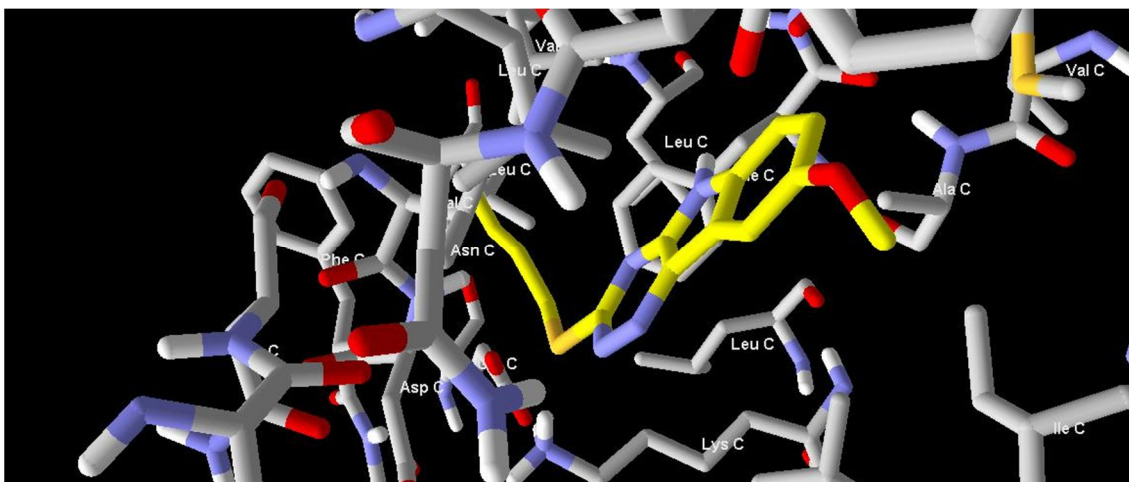


Figura II 6 Derivado 96b (em amarelo) sobreposto com a harmina 2 (verde)

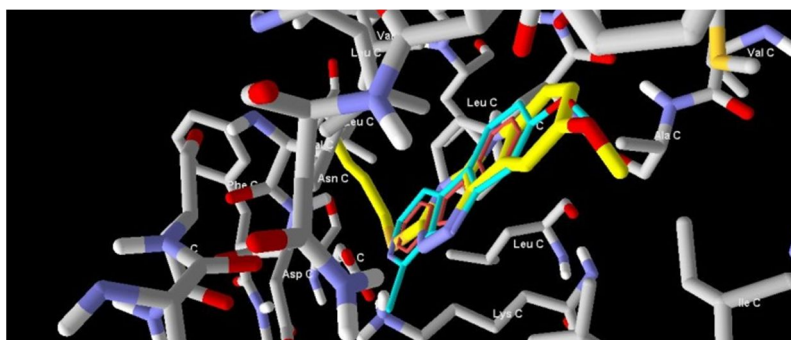
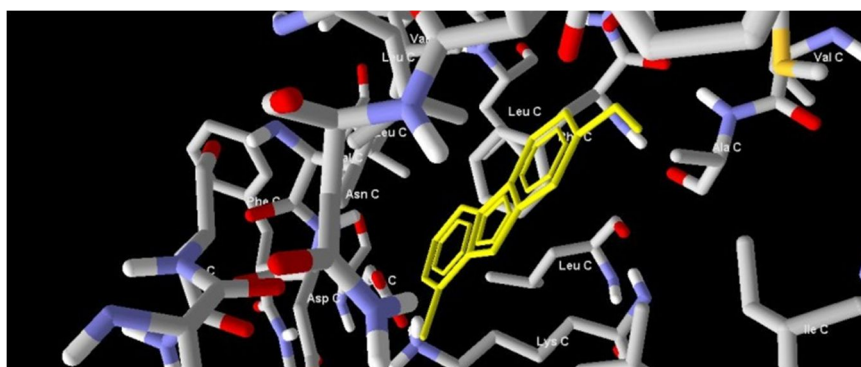


Figura II 7 Harmina 2 (em amarelo) no sítio da proteína DYRK1A



Com base nos resultados da modelagem molecular, somente os derivados que apresentaram bons valores de energia e boa interação com a proteína DYRK1A foram avaliados quanto à atividade inibitória dessa quinase. Os compostos selecionados foram 96 (a-d), 100 (a, b) e 112 (a, b).

II 5. ATIVIDADE BIOLÓGICA

II 5.1. Atividade frente à inibição da quinase Dyrk1A

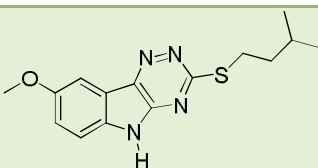
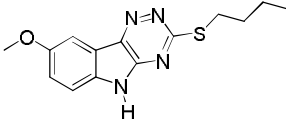
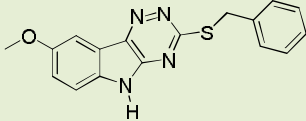
O ensaio *in vitro* da atividade biológica inibitória da quinase DYRK1A foi realizada no Cerep, na França, sob a supervisão do Ph.D Thierry JOLAS. Foram considerados resultados significativa inibição da quinase em um valor \geq a 50%; compostos que apresentaram valores de inibição inferiores a 50% foram considerados inativos.

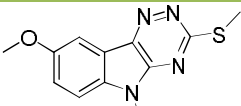
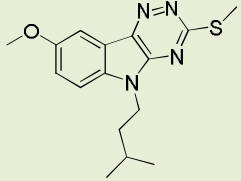
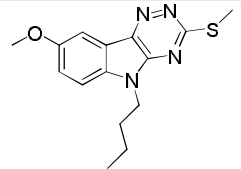
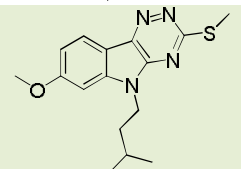
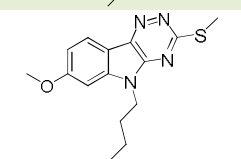
Os valores da inibição da atividade quinase DYRK1A (em %) pelos derivados avaliados estão apresentados na **Tabela II 2**.

De forma geral, os derivados avaliados mostraram-se inativos, com valores inferiores a 50% de inibição da quinase DYRK1A. O derivado **96a**, mesmo não apresentando boa interação com a proteína nos estudos de modelagem, foi avaliado frente ao ensaio da inibição da atividade DYRK1A, porém o derivado **96a** não apresentou atividade. Com isso pôde-se concluir a importância de se realizar previamente um estudo de modelagem molecular, o qual pode indicar qual ou quais melhores estruturas químicas podem apresentar atividade biológica.

Dentre os compostos avaliados, apenas os derivados **112b** e **112a**, foram ativos, ou seja, inibiram a a atividade da quinase em 57,1% e 67,4%, respectivamente. A atividade inibitória pode estar relacionada, principalmente, com a presença do grupo metoxila na posição-7 do anel triazino-indólico, já que os únicos derivados ativos possuem o grupo metoxila nessa posição. Um dado interessante é que o grupo metoxila também é presente na posição-7 da harmina, composto este usado como referência devido à sua potente atividade de inibição dessa quinase ($IC_{50} = 80$ nM *in vitro*).

Tabela II 2. Avaliação da atividade inibitória da quinase DYRK1A (%)

Derivados	Inibição da quinase DYRK1A (%)
96^a 	Na
96^b 	Na
96^c 	Na

96d		Na
100^a		Na
100b		Na
112^a		67,4
112b		57,1

Na = não ativo

II 6. PARTE EXPERIMENTAL

II 6.1. Sínteses dos compostos

II 6.1.1. Síntese dos intermediários metóxi-(2-oxoindolin-3-ilideno)-tiossemicarbazona, **94**, **98 (a,b)**, **106** e **110 (a,b)**

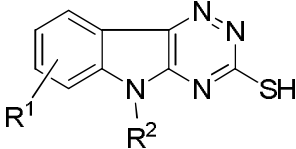
A uma solução de metóxi-isatina **93**, **105** e/ou metóxi-isatina N-alkilada **97 (a, b)**, **109 (a, b)** (1,2 mmol) em etanol (10 mL) foram adicionados tiossemicarbazida (2,4 mmol) e uma gota de ácido acético. A mistura reacional foi agitada em forno de microondas a uma temperatura de 80°C por 2h. O solvente foi removido em evaporador rotativo e o intermediário obtido foi utilizado na próxima etapa sem prévia purificação. Os rendimentos obtidos estão mostrados na **Tabela II 3**.

Tabela II 3. Rendimentos obtidos para os compostos **94**, **98 (a,b)**, **106** e **110 (a,b)**

Compostos	R ¹	R ²	Rendimento (%)
94	5-OMe	H	77
98a	5-OMe	C ₄ H ₈ -3CH ₃	90
98b	5-OMe	C ₄ H ₉	81
106	6-OMe	H	89
110a	6-Ome	C ₄ H ₈ -3CH ₃	90
110b	6-OMe	C ₄ H ₉	82

II 6.1.2. Síntese dos intermediários metóxi-triazino-indol-3-tiossubstituídos **95**, **99 (a, b)**, **107** e **111 (a, b)**

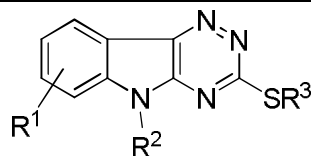
A uma suspensão dos derivados **94**, **98 (a, b)**, **106** e **110 (a, b)** em água (10 mL), foi adicionado K₂CO₃ (2,0 mmol). A mistura reacional foi agitada em forno de microondas a 100 °C por 2,5h. Após resfriar, a reação foi neutralizada com ácido acético a pH 2 e o precipitado formado foi filtrado e lavado com água e secos à vácuo. Os derivados foram utilizados na próxima etapa sem prévia purificação. Os rendimentos obtidos estão mostrados na **Tabela II 4**.

Tabela II 4. Rendimentos obtidos dos compostos **95**, **99 (a, b)**, **107** e **111 (a, b)**


Compostos	R ¹	R ²	Rendimento (%)
95	8-OMe	H	88
99a	8-OMe	C ₄ H ₈ -3CH ₃	93
99b	8-OMe	C ₄ H ₉	71
107	7-OMe	H	90
111a	7-Ome	C ₄ H ₈ -3CH ₃	97
111b	7-OMe	C ₄ H ₉	68

II 6.1.3 Síntese dos derivados metóxi-triazino-indol-3-tiolssubstituídos **96 (a-d)**, **100 (a, b)**, **108 (a, b)** e **112 (a, b)**

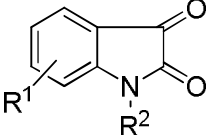
A uma solução dos intermediários **95**, **99 (a,b)**, **107** e **111 (a, b)** (0,13 mmol) em DMF (15 mL) foi adicionado, brometo de 3-metilbutila, brometo de butila, brometo de benzila e/ou iodeto de metila (0,16 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por um período de 3h a 12h. As reações foram acompanhadas por CCD e HPLC e após a observação da formação dos produtos foi adicionado água ao meio reacional. O precipitado de coloração amarelo-alaranjada formados foi coletado por filtração e lavados com água. Os rendimentos obtidos estão mostrados na **Tabela II 5**.

Tabela II 5. Rendimentos obtidos para os compostos **96 (a-d)**, **100 (a, b)**, **108 (a, b)** e **112 (a, b)**

Compostos	R ¹	R ²	R ³	Rendimento (%)
96a	7-OMe	H	C ₄ H ₈ -3CH ₃	75
96b	7-OMe	H	C ₄ H ₉	62
96c	7-OMe	H	CH ₂ C ₆ H ₅	71
96d	7-OMe	CH ₃	CH ₃	92
100a	7-OMe	C ₄ H ₈ -3CH ₃	CH ₃	60
100b	7-OMe	C ₄ H ₉	CH ₃	61
108a	8-OMe	C ₄ H ₈ -3CH ₃	C ₄ H ₈ -3CH ₃	77
108b	8-OMe	C ₄ H ₉	C ₄ H ₉	65
112a	8-OMe	C ₄ H ₈ -3CH ₃	CH ₃	72
112b	8-OMe	C ₄ H ₉	CH ₃	70

II 6.1.4. Síntese dos derivados metóxi-isatina N-alquilado **97 (a, b)** e **109 (a, b)**

A uma solução das metóxi-isatinas, **93** e/ou **105** (1,0 mmol) em DMF (15 mL) foi adicionado K₂CO₃ (2,0 mmol) e os respectivos haletos de alquilas, brometo de 3-metilbutila e brometo de butila (1,5 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 24 h. A mistura reacional foi neutralizada com ácido acético e extraída com acetato de etila (3x20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e após a filtração, o solvente foi removido em evaporador rotativo. Os produtos com aspecto oleoso foram obtidos em bons rendimentos e foram utilizados nas próximas etapas sem prévia purificação. Os rendimentos obtidos estão mostrados na **Tabela II 6**.

Tabela II 6. Rendimentos obtidos dos compostos **97 (a, b)** e **109 (a, b)**

derivados	R ¹	R ²	Rendimento (%)
97a	5-OMe	C ₄ H ₈ -3CH ₃	90
97b	5-OMe	C ₄ H ₉	93
109a	6-OMe	C ₄ H ₈ -3CH ₃	88
109b	6-OMe	C ₄ H ₉	90

II 7. CONCLUSÕES

Essa parte do trabalho de doutorado sanduíche consistiu na síntese das séries de derivados:

- ✓ 8-metóxi-5-alkil/benzil-[1, 2, 4]-triazino-indol-3-tiossubstituído **96 (a-d)**, **100 (a, b)**
- ✓ 7-metóxi-5-alkil/benzil-[1, 2, 4]-triazino-indol-3-tiossubstituído **108 (a, b)** e **112 (a, b)**.

Os compostos **96 (a-d)**, **100 (a, b)** e **112 (a, b)** foram os mais promissores nos estudos de *Docking* molecular e foram escolhidos para serem testados frente à atividade de inibição da enzima DYRK1A.

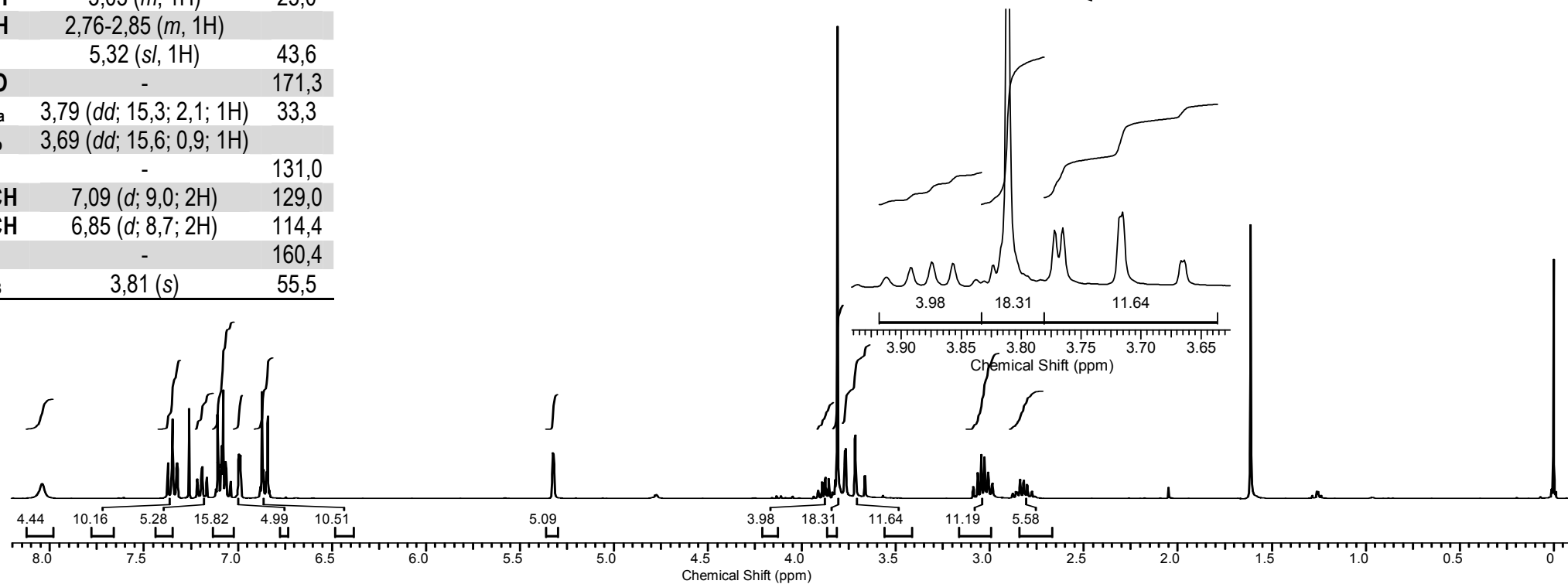
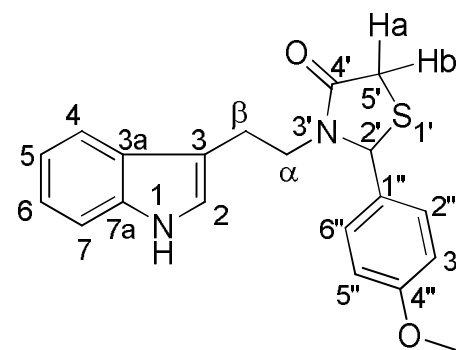
Apenas os derivados 7-metoxilados-S-metilados **112a** possuindo um grupo 3-metilbutila no nitrogênio indólico e **112b**, com o grupo butila no nitrogênio indólico, foram ativos apresentando inibição da quinase DYRK1A em 67,4% e 57,1%.

A potente atividade anti-Alzheimer de **112a** e **112b** pode estar diretamente ligada à presença da metoxila na posição-7 do anel triazino-indólico. As características estruturais desses derivados podem ser úteis para estudos de agentes anti-Alzheimer que sejam mais eficazes e menos tóxicos.

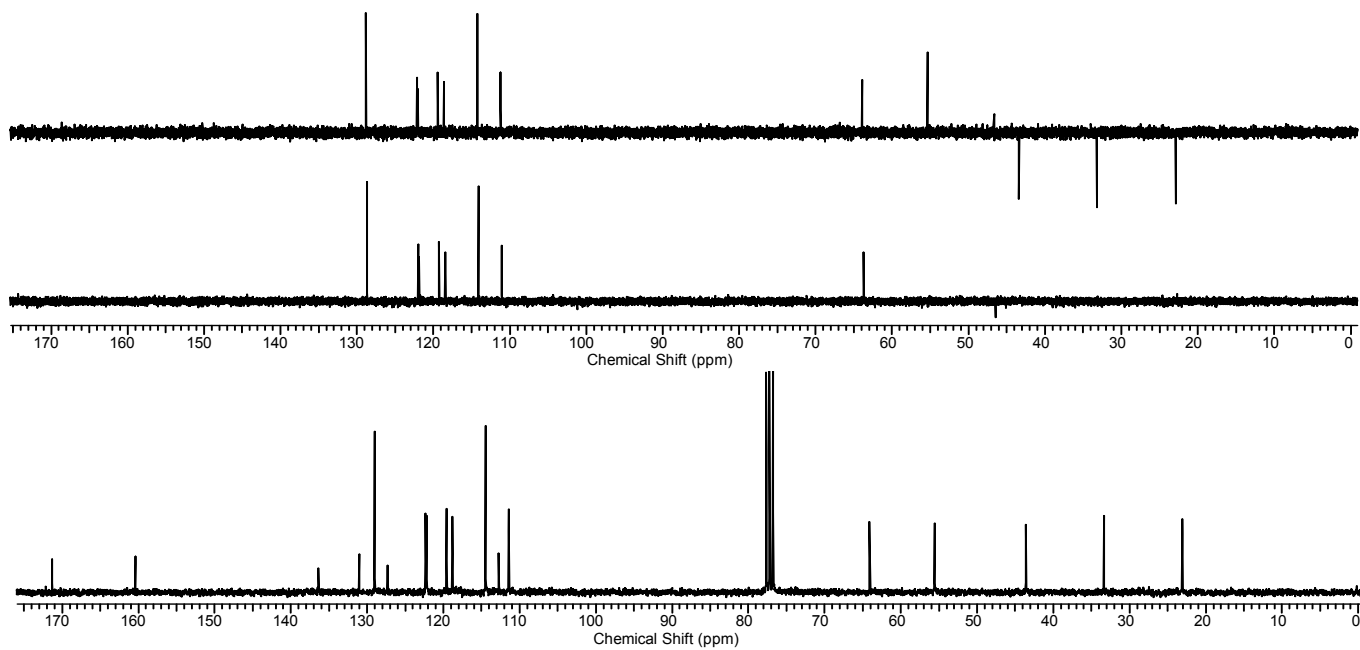
ANEXOS

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 NH	8,04 (s)	-
2 CH	6,99 (d; 2,4; 1H)	122,2
3 C ₀	-	112,7
3a C ₀	-	127,3
4 CH	7,35 (d; 7,5; 1H)	118,8
5 CH	7,19 (td; 8,2; 1,2; 1H)	122,3
6 CH	7,07 (d; 6,9; 1H)	119,6
7 CH	7,33 (d; 6,9; 1H)	111,4
7a C ₀	-	136,4
1 α_a CH	3,85-3,91 (m, 1H)	64,1
1 α_b CH	3,03 (m, 1H)	
1 β_a CH	3,03 (m, 1H)	23,0
1 β_b CH	2,76-2,85 (m, 1H)	
2' CH	5,32 (sl, 1H)	43,6
4' C=O	-	171,3
5' CH _a	3,79 (dd; 15,3; 2,1; 1H)	33,3
5' CH _b	3,69 (dd; 15,6; 0,9; 1H)	
1'' C ₀	-	131,0
2''/6'' CH	7,09 (d; 9,0; 2H)	129,0
3''/5'' CH	6,85 (d; 8,7; 2H)	114,4
4'' C ₀	-	160,4
OCH ₃	3,81 (s)	55,5

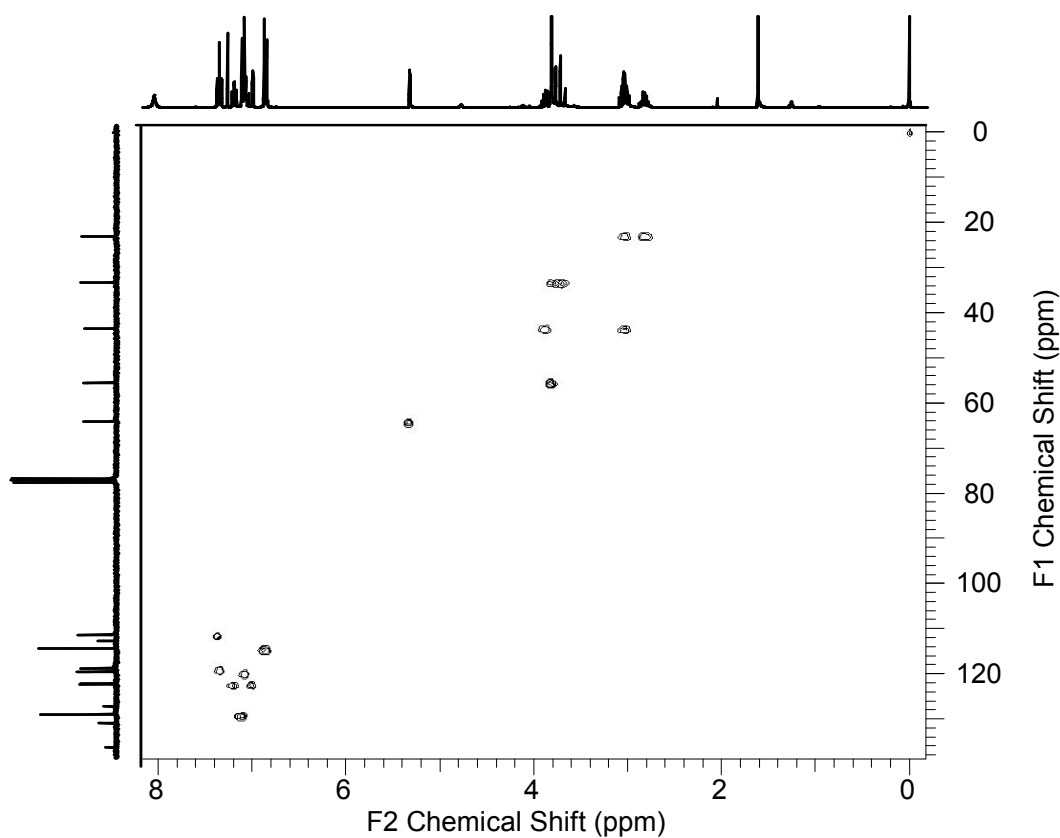
Anexo 1: 3-etil-indol-2'-(p-metóxfenil)tiazolidin-4-ona (**51a**)



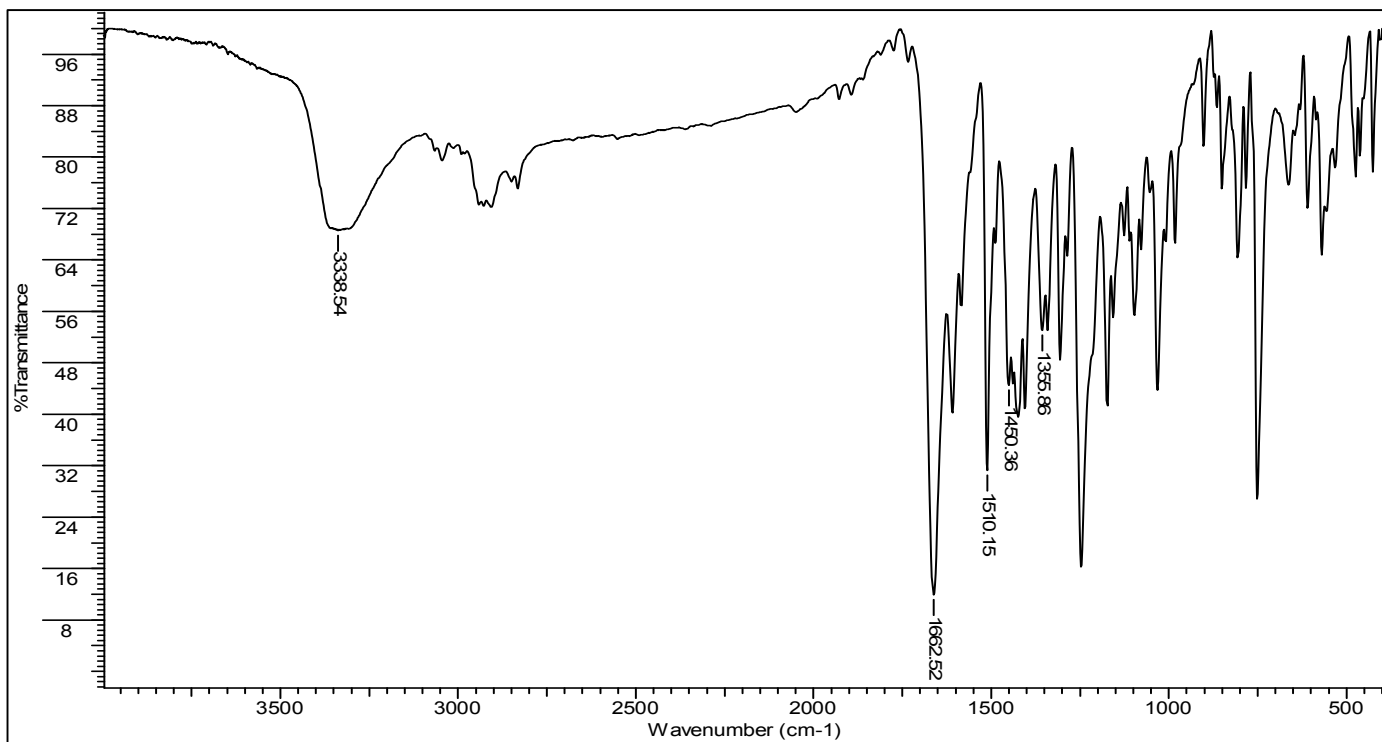
ERMN ¹H - 1: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz) de **51a** em CDCl₃.



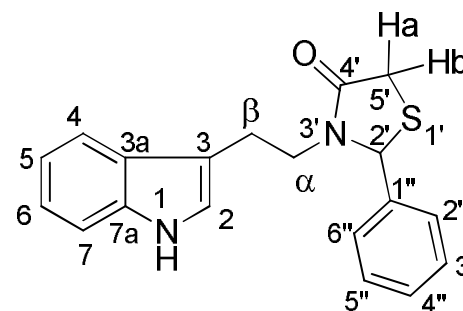
ERMN ^{13}C - 1: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **51a** em CDCl_3 .



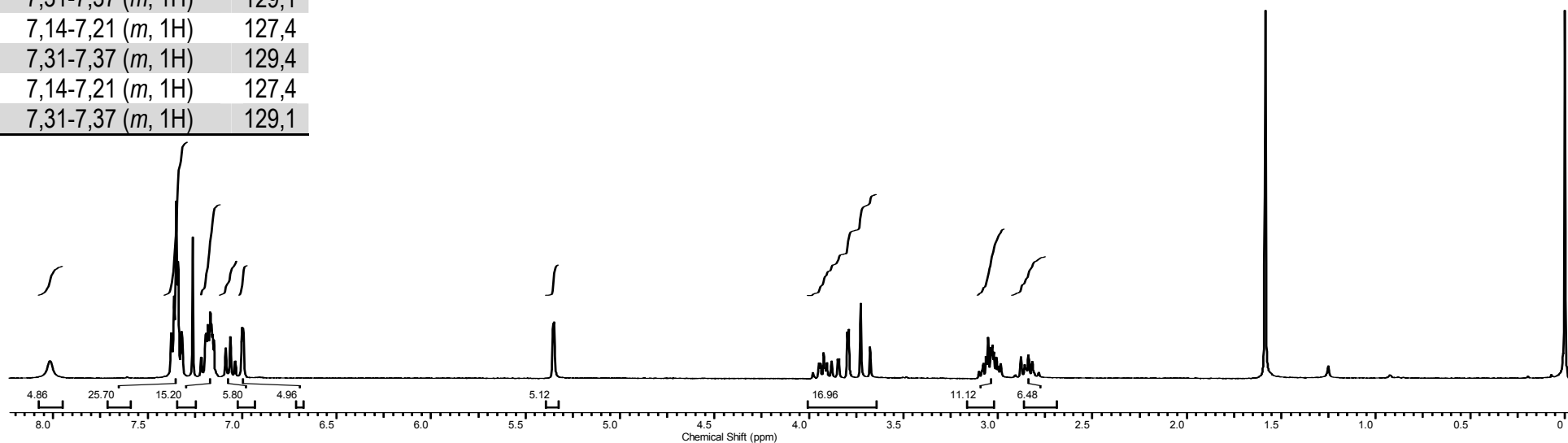
EHSQC -1: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **51a** em CDCl_3 .

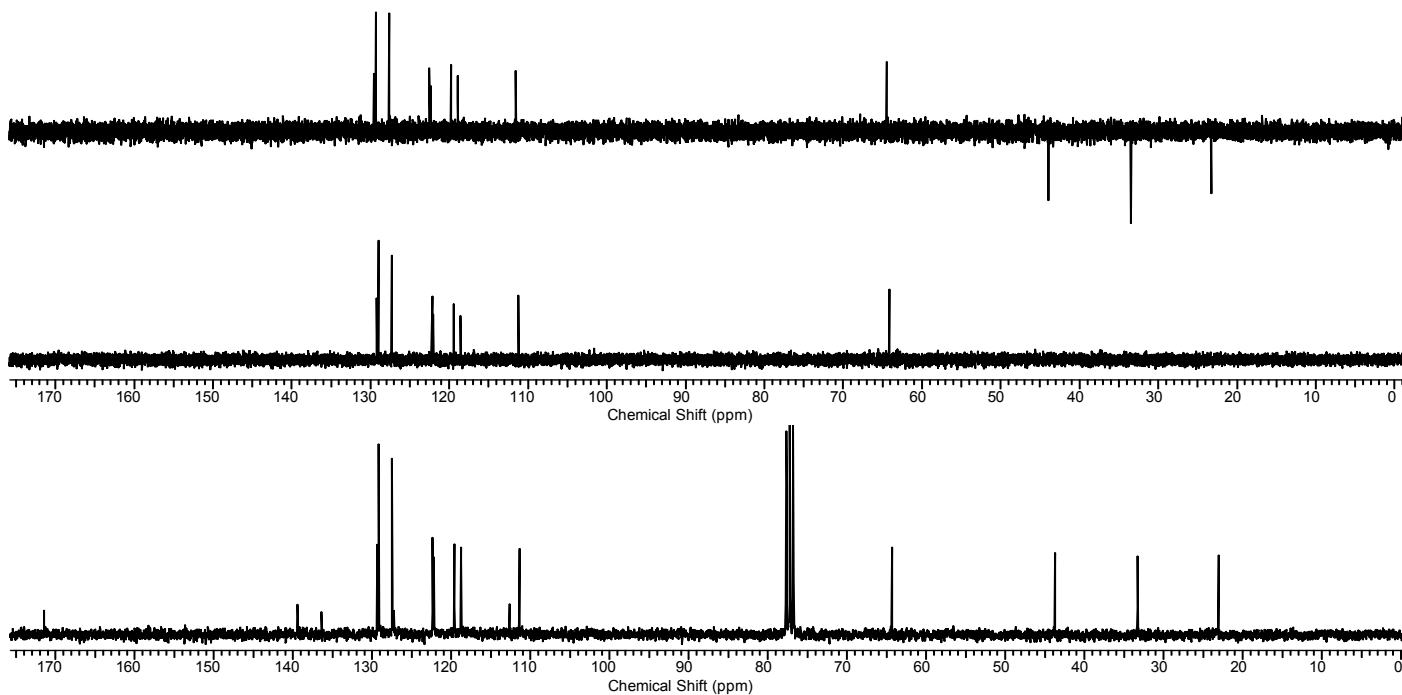


EIV - 1: Espectro no infravermelho (KBr) de **51a**.

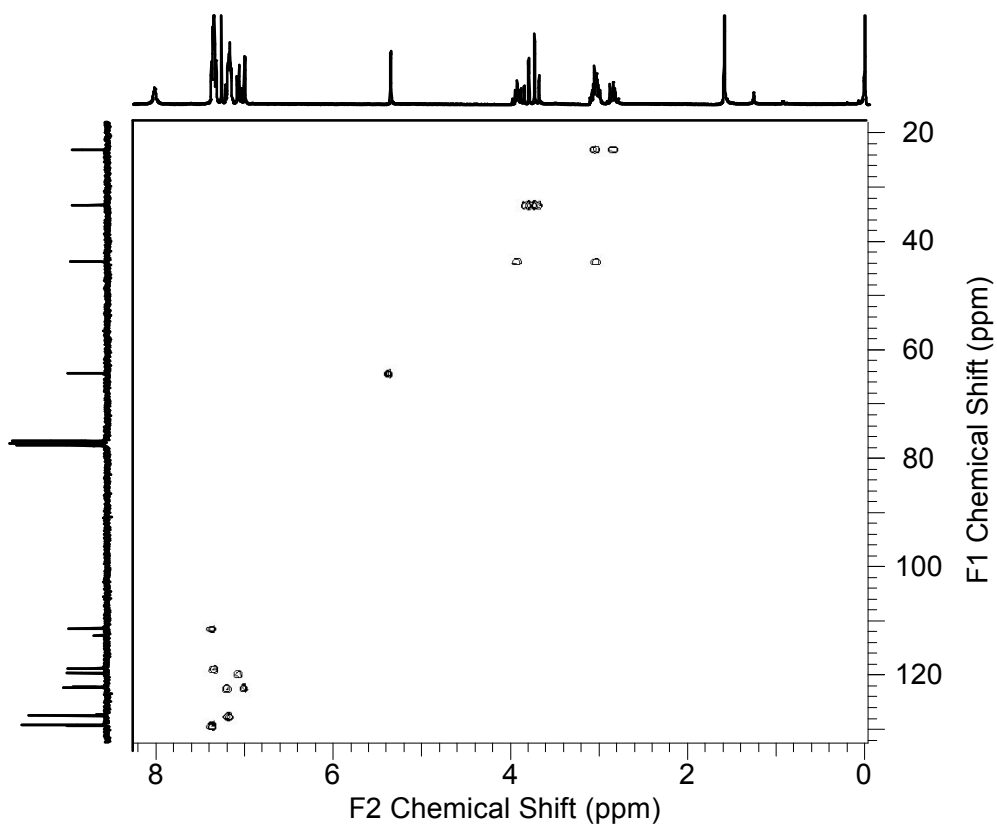
Anexo 2: 3-etil-indol-2'-(fenil)tiiazolidin-4-ona (51b)

H/C	δ_H (multipl., J=Hz)	δ_C
1 NH	8,01 (s)	-
2 CH	6,99 (d; 2,4; 1H)	122,2
3 C ₀	-	112,6
3a C ₀	-	127,3
4 CH	7,31-7,37 (m, 1H)	111,4
5 CH	7,06 (t; 7,5; 1H)	119,6
6 CH	7,14-7,21 (m, 1H)	122,3
7 CH	7,31-7,37 (m, 1H)	118,7
7a C ₀	-	136,4
1 α_a CH	3,88-3,97 (m, 1H)	64,3
1 α_b CH	2,98-3,10 (m, 1H)	
1 β_a CH	2,98-3,10 (m, 1H)	23,0
1 β_b CH	2,78-2,90 (m, 1H)	
2' CH	5,34 (d; 1,5; 1H)	43,7
4' C=O	-	171,4
5' CH _a	3,81 (dd; 15,6; 2,1; 1H)	33,3
5' CH _b	3,70 (d; 15,3; 1H)	
1'' C ₀	-	139,4
2'' CH	7,31-7,37 (m, 1H)	129,1
3'' CH	7,14-7,21 (m, 1H)	127,4
4'' CH	7,31-7,37 (m, 1H)	129,4
5'' CH	7,14-7,21 (m, 1H)	127,4
6'' CH	7,31-7,37 (m, 1H)	129,1

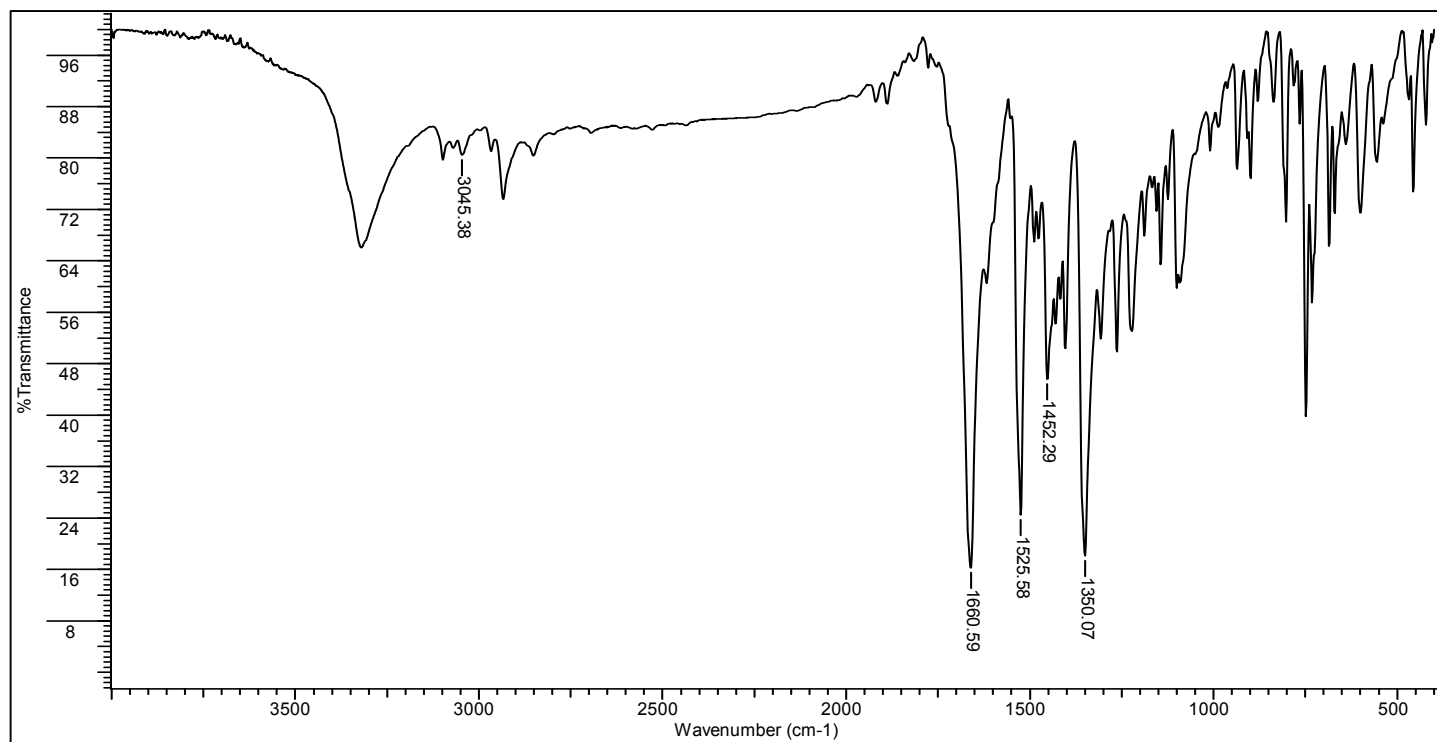
ERMN ¹H - 2: Espectro de RMN ¹H (300 MHz) de **51b** em CDCl₃.



ERMN ^{13}C - 2- Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **51b** em CDCl_3 .



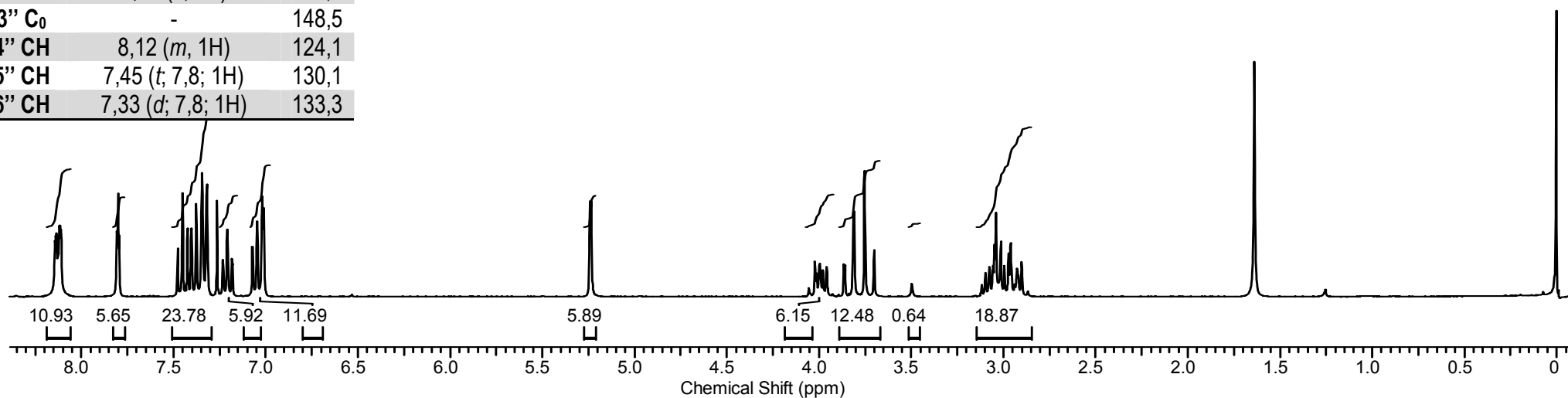
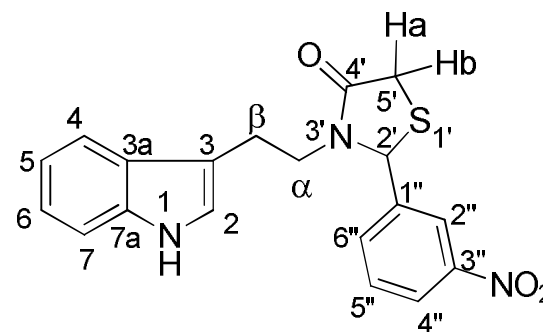
EHSQC - 2: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **51b** em CDCl_3 .



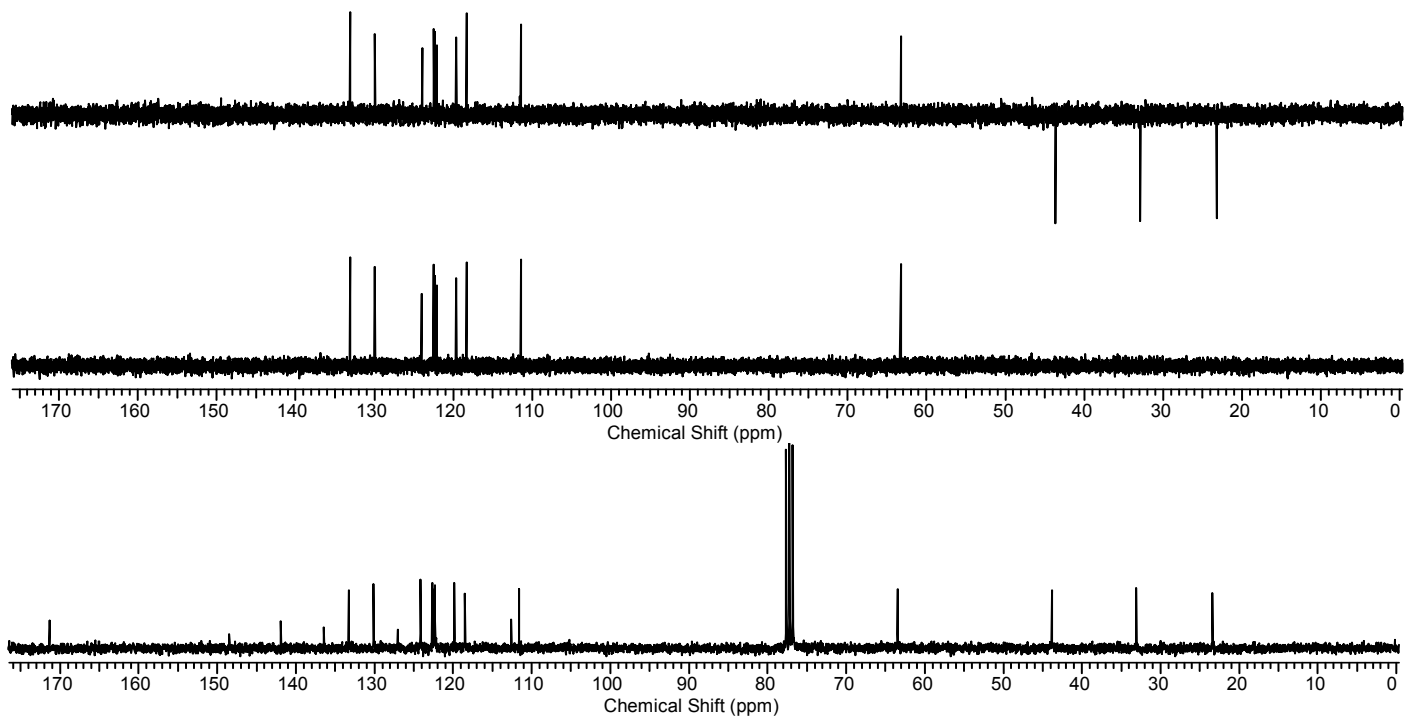
EIV - 2: Espectro no infravermelho (KBr) de **51b**.

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 NH	não obs.	-
2 CH	7,01 (d; 2,4; 1H)	122,3
3 C ₀	-	112,6
3a C ₀	-	127,0
4 CH	7,41 (d; 6,3; 1H)	111,6
5 CH	7,04-7,07 (m, 1H)	119,8
6 CH	7,20 (td; 7,0; 0,9; 1H)	122,6
7 CH	7,79-7,80 (m, 1H)	122,5
7a C ₀	-	136,4
1 α_a CH	3,95-4,05 (m; 1H)	63,4
1 α_b CH	2,90-3,11 (m; 1H)	
1 β_a CH	2,90-3,11 (m; 1H)	23,4
1 β_b CH	2,90-3,11 (m; 1H)	
2' CH	5,23 (d; 1,5; 1H)	43,8
4' C=O	-	171,3
5' CH _a	3,83 (dd; 15,6; 2,1)	33,0
5' CH _b	3,72 (d; 15,6)	
1'' C ₀	-	141,9
2'' CH	7,37 (s; 1H)	118,5
3'' C ₀	-	148,5
4'' CH	8,12 (m, 1H)	124,1
5'' CH	7,45 (t; 7,8; 1H)	130,1
6'' CH	7,33 (d; 7,8; 1H)	133,3

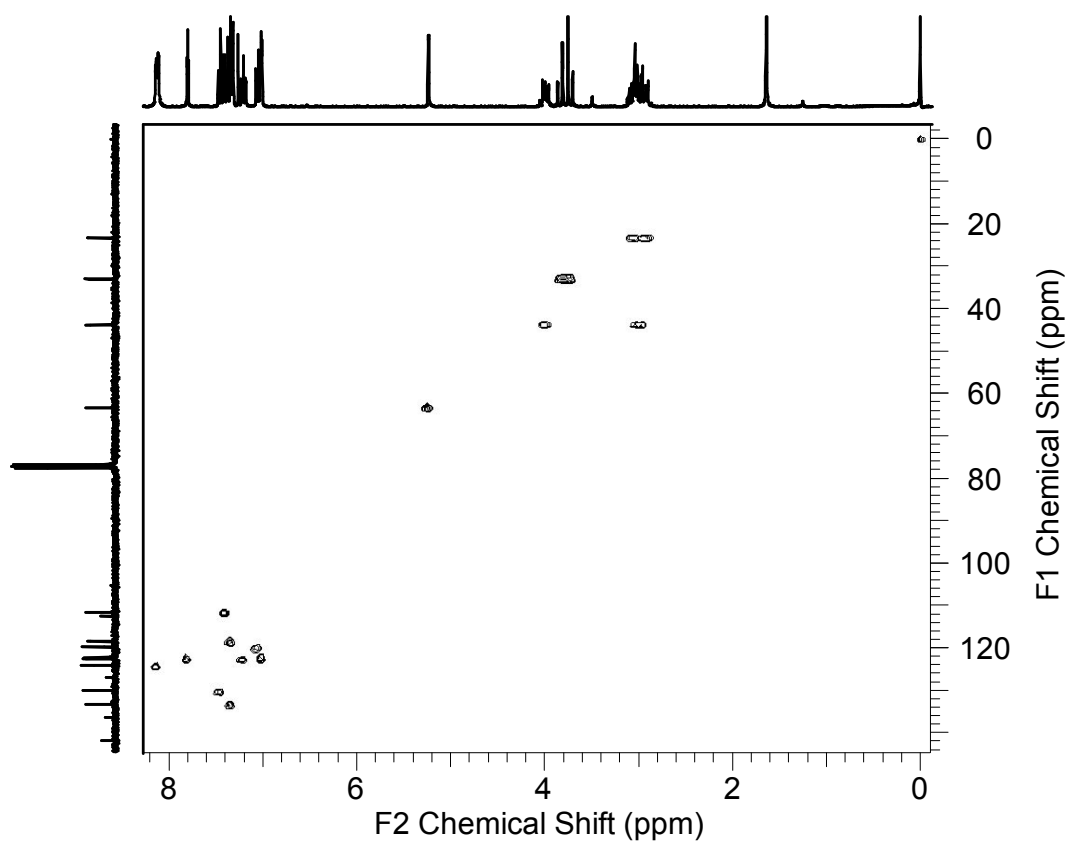
Anexo 3: 3-etil-indol-2'-(*m*-nitrofenil)tiiazolidin-4-ona (**51c**)



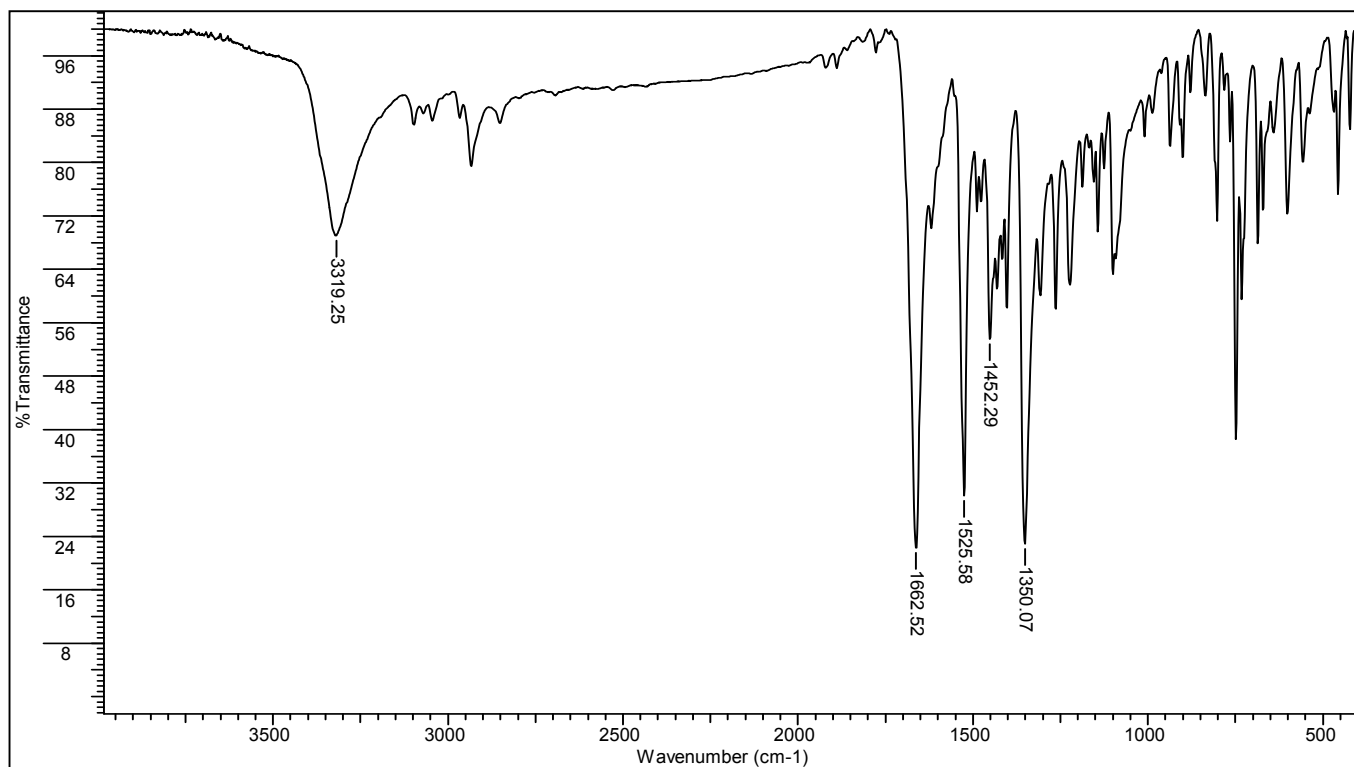
ERMN 1H-3: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **51c** em CDCl₃.



ERMN ^{13}C -3: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **51c** em CDCl_3 .



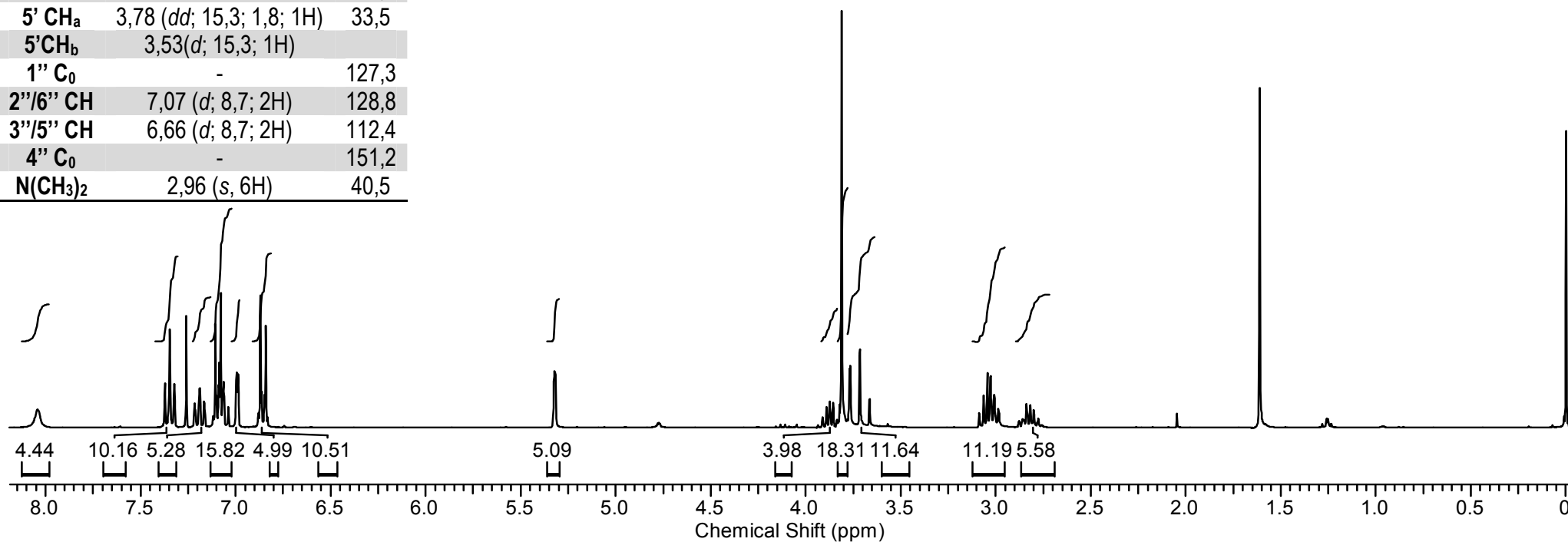
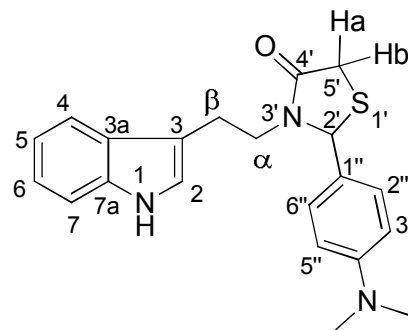
EHSQC - 3: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **51c** em CDCl_3



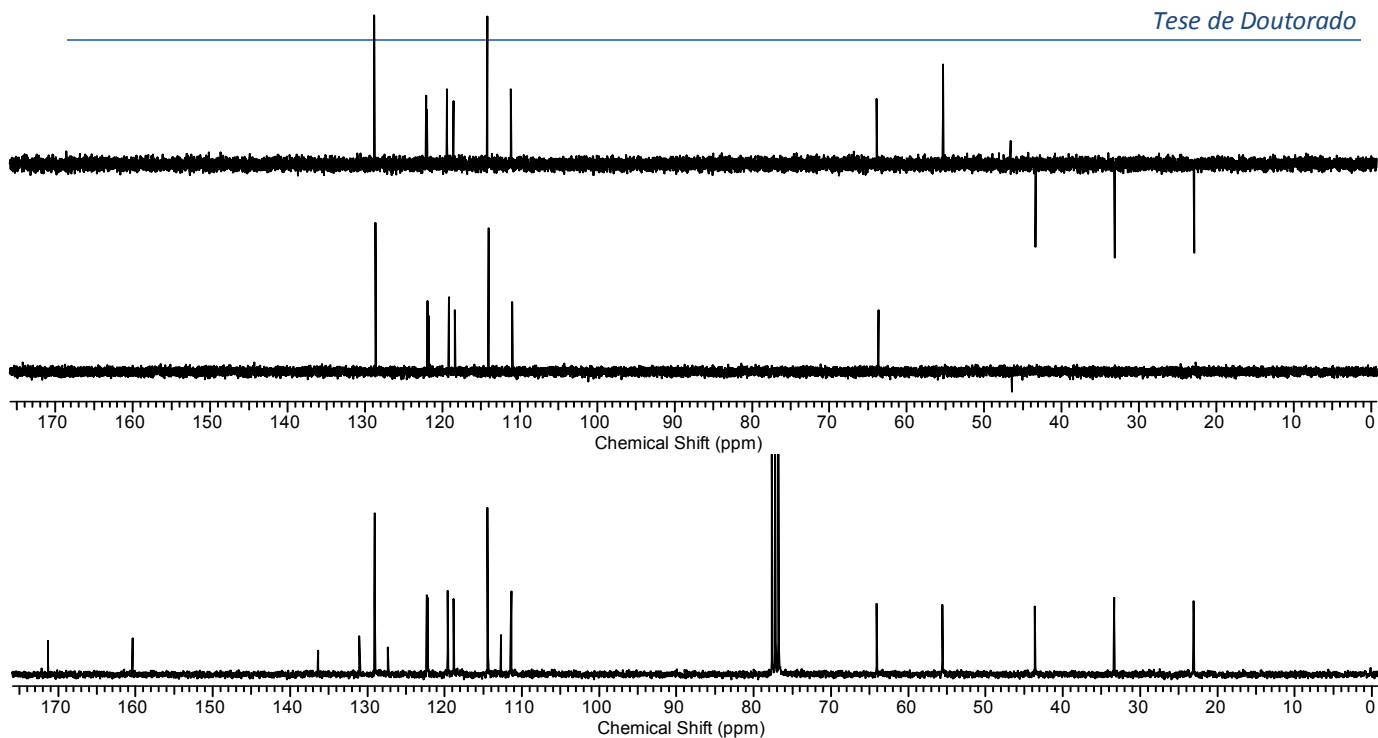
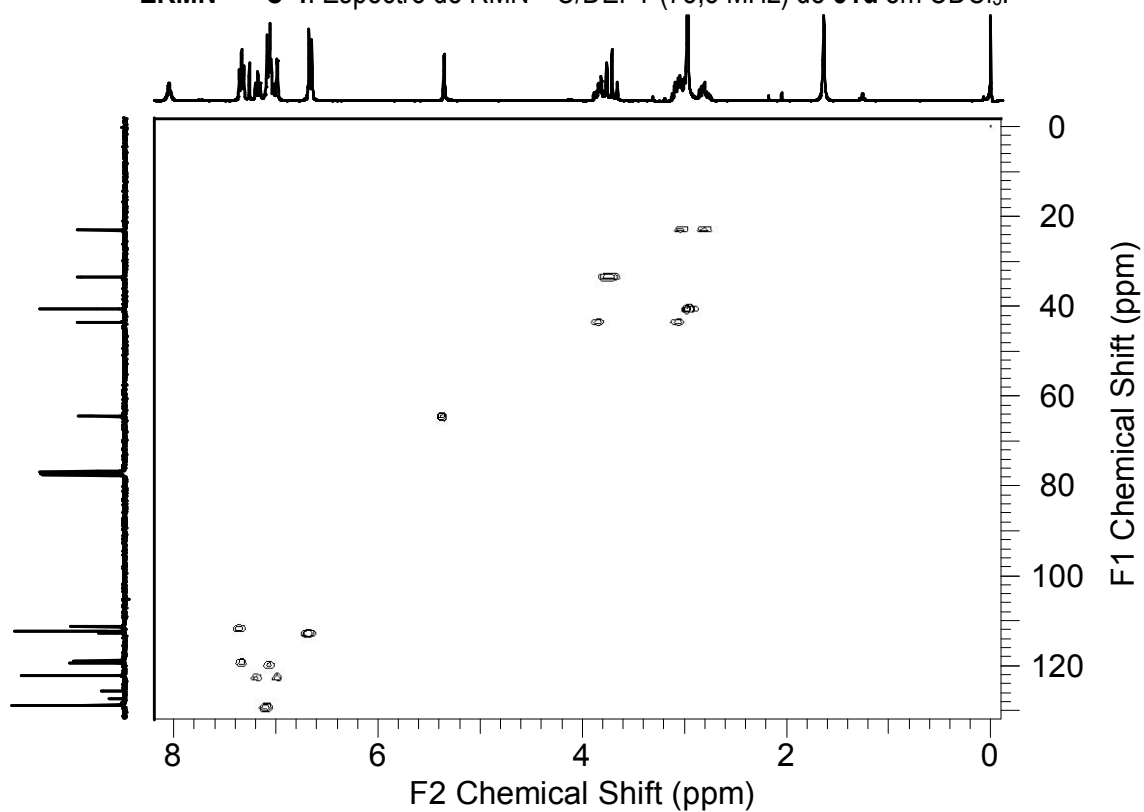
EIV-3: Espectro no infravermelho (KBr) de **51c**.

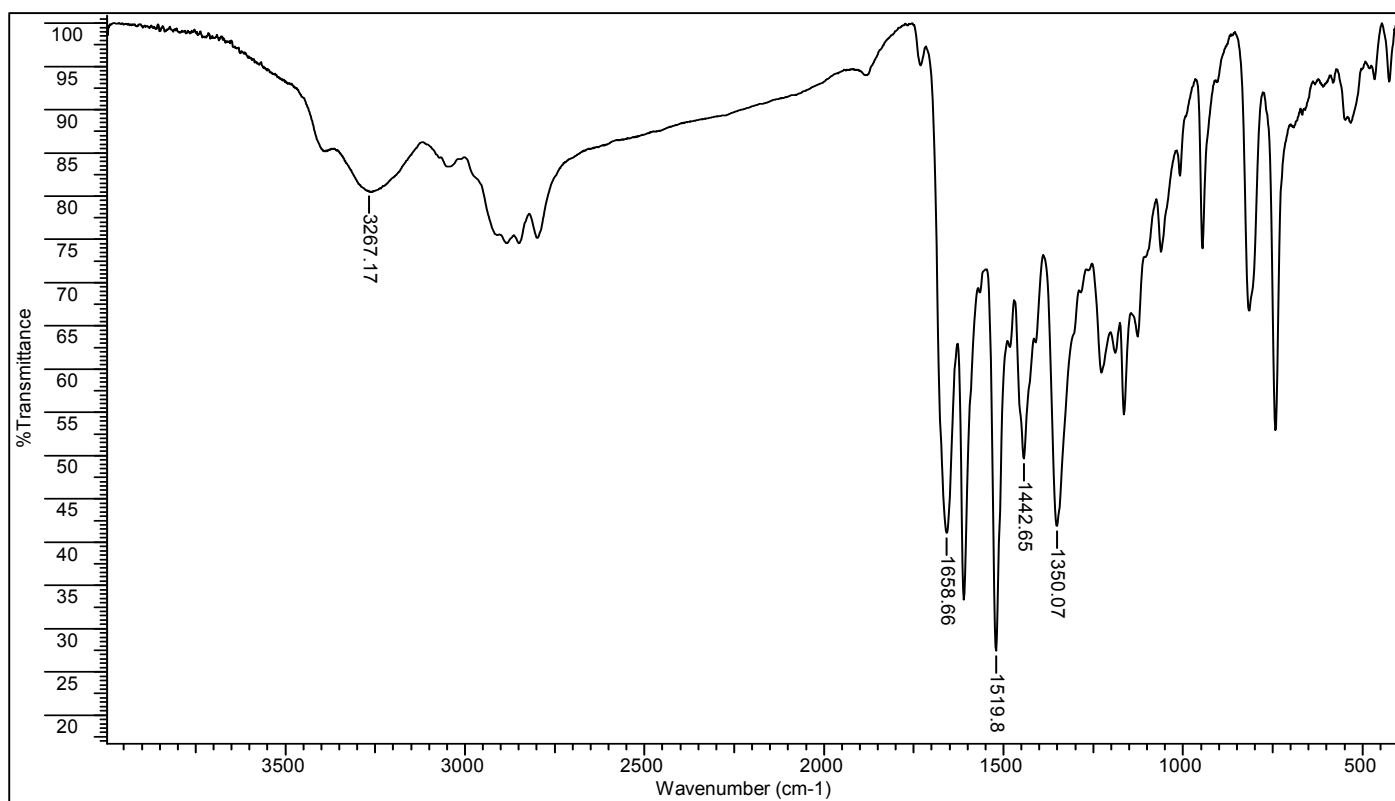
H/C	δ_H (multipl.; J= z)	δ_C
1 NH	8,05 (sl)	-
2 CH	6,98 (d; 2,1; 1H)	122,2
3 C ₀	-	112,7
3a C ₀	-	125,7
4 CH	7,34 (d; 7,5; 1H)	118,9
5 CH	7,17 (t; 7,5; 1H)	122,2
6 CH	7,05 (t; 6,3; 1H)	119,4
7 CH	7,32 (d; 6,3; 1H)	111,3
7a C ₀	-	136,3
1 α_a CH	3,82-3,88 (m; 1H)	64,5
1 α_b CH	3,00-3,12 (m; 1H)	
1 β_a CH	3,00-3,12 (m; 1H)	23,0
1 β_b CH	2,75-2,85 (m; 1H)	
2' CH	5,35 (sl, 1H)	43,5
4' C=O	-	171,3
5' CH _a	3,78 (dd; 15,3; 1,8; 1H)	33,5
5' CH _b	3,53 (d; 15,3; 1H)	
1'' C ₀	-	127,3
2''/6'' CH	7,07 (d; 8,7; 2H)	128,8
3''/5'' CH	6,66 (d; 8,7; 2H)	112,4
4'' C ₀	-	151,2
N(CH ₃) ₂	2,96 (s, 6H)	40,5

Anexo 4: 3-etil-indol-2'-(p-dimetilaminofenil)tiiazolidin-4-ona (**51d**)



ERMN ¹H - 4: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **51d** em CDCl₃.

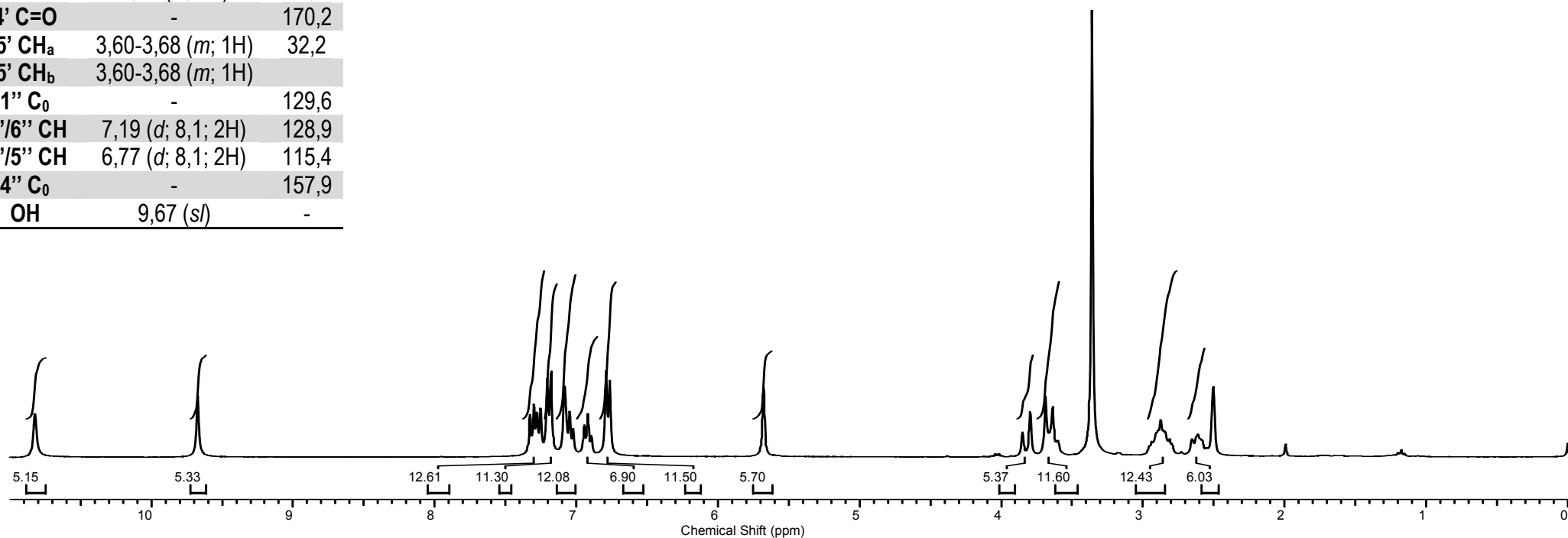
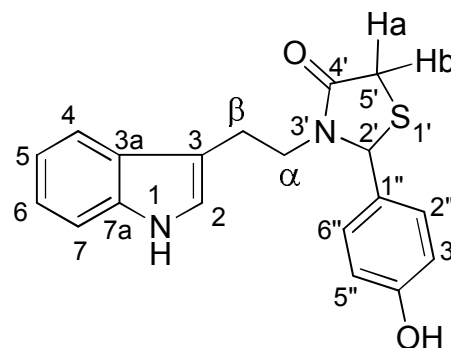
ERMN - ^{13}C -4: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **51d** em CDCl_3 .EHSQC - 4: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **51d** em CDCl_3 .



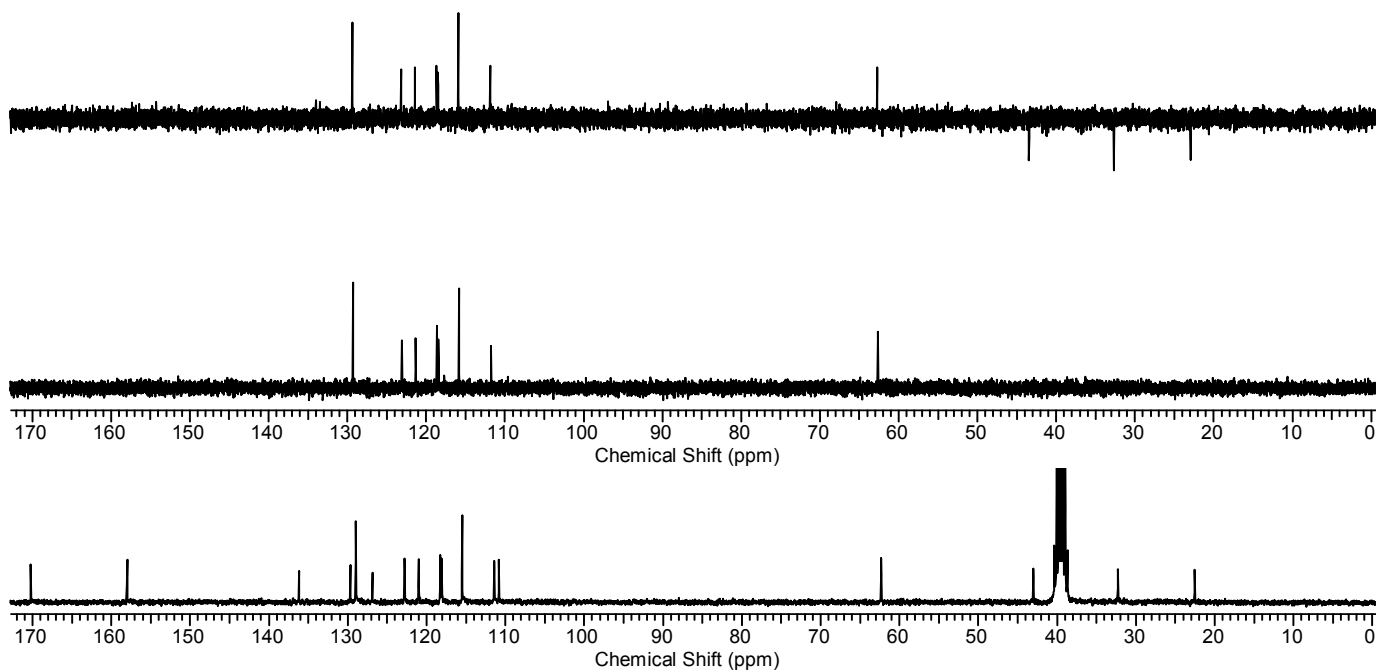
EIV-4: Espectro no infravermelho (KBr) de **51d**.

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 NH	10,8 (sl)	-
2 CH	7,02 - 7,08 (m; 1H)	121,0
3 C ₀	-	110,8
3a C ₀	-	126,8
4 CH	7,31 (d; 7,8; 1H)	111,4
5 CH	6,91 (t; 7,3; 1H)	118,2
6 CH	7,02-7,08 (m, 1H)	122,7
7 CH	7,26 (d; 8,1; 1H)	118,0
7a C ₀	-	136,2
1 α_a CH	3,79-3,84 (m; 1H)	62,3
1 α_b CH	2,79-2,95 (m; 1H)	
1 β_a CH	2,79-2,95 (m; 1H)	22,5
1 β_b CH	2,55-2,65 (m; 1H)	
2' CH	5,67 (sl, 1H)	43,0
4' C=O	-	170,2
5' CH _a	3,60-3,68 (m; 1H)	32,2
5' CH _b	3,60-3,68 (m; 1H)	
1'' C ₀	-	129,6
2''/6'' CH	7,19 (d; 8,1; 2H)	128,9
3''/5'' CH	6,77 (d; 8,1; 2H)	115,4
4'' C ₀	-	157,9
OH	9,67 (sl)	-

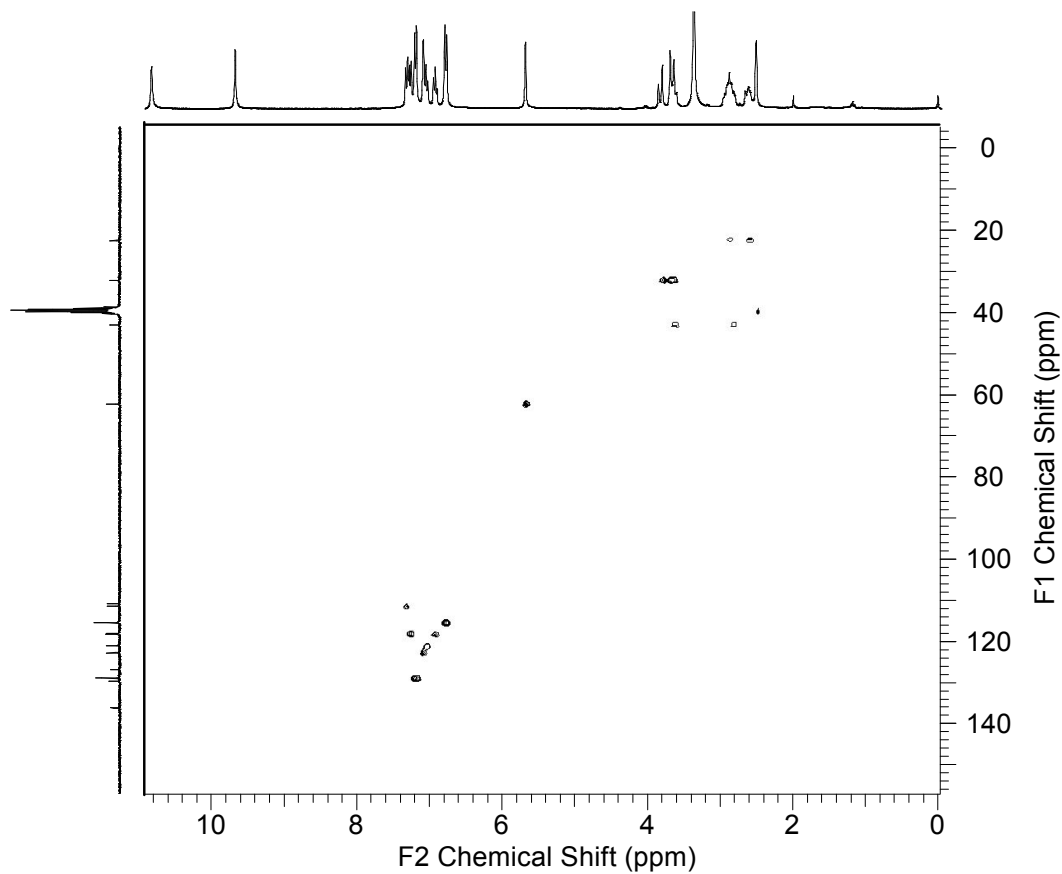
Anexo 5: 3-etil-indol-2'-(*p*-hidróxifenil)tiazolidin-4-ona (**51e**)



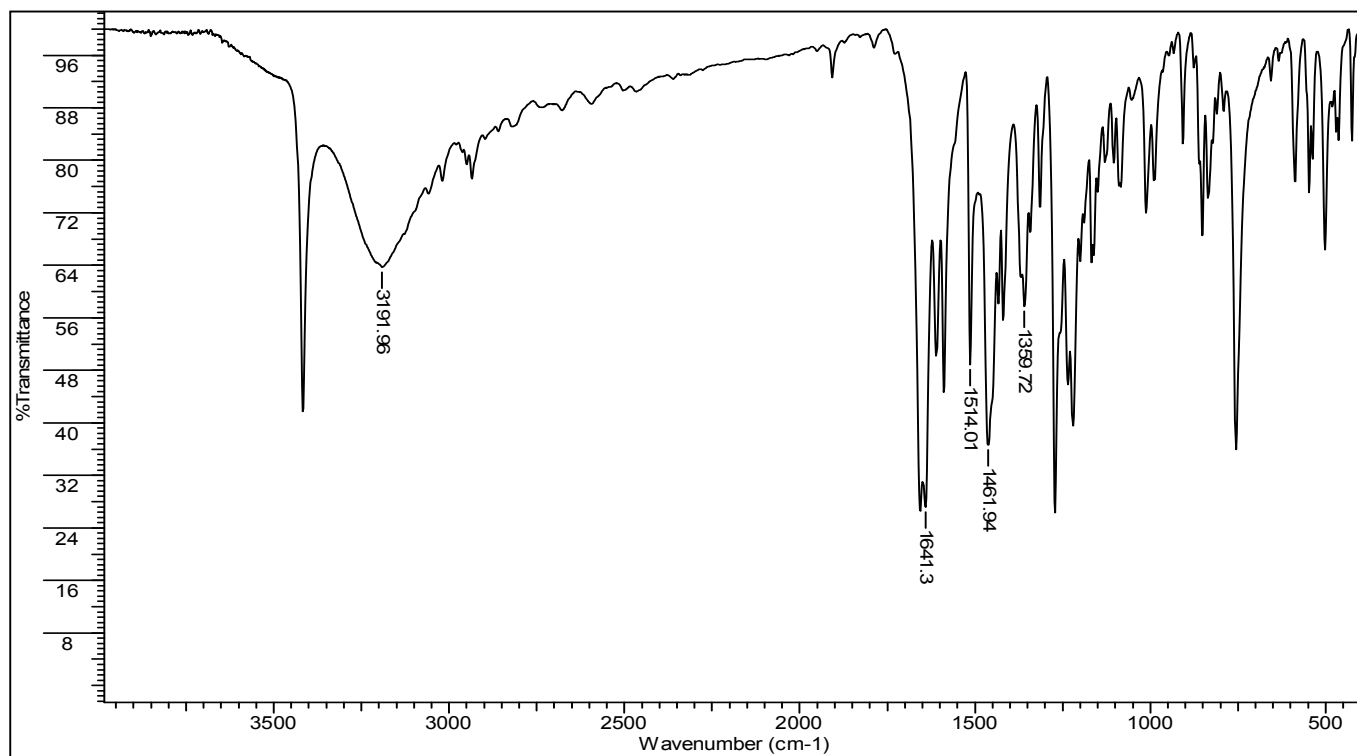
ERMN ¹H-5: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **51e** em DMSO-*d*₆.



ERMN ^{13}C -5: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **51e** em $\text{DMSO-}d_6$.



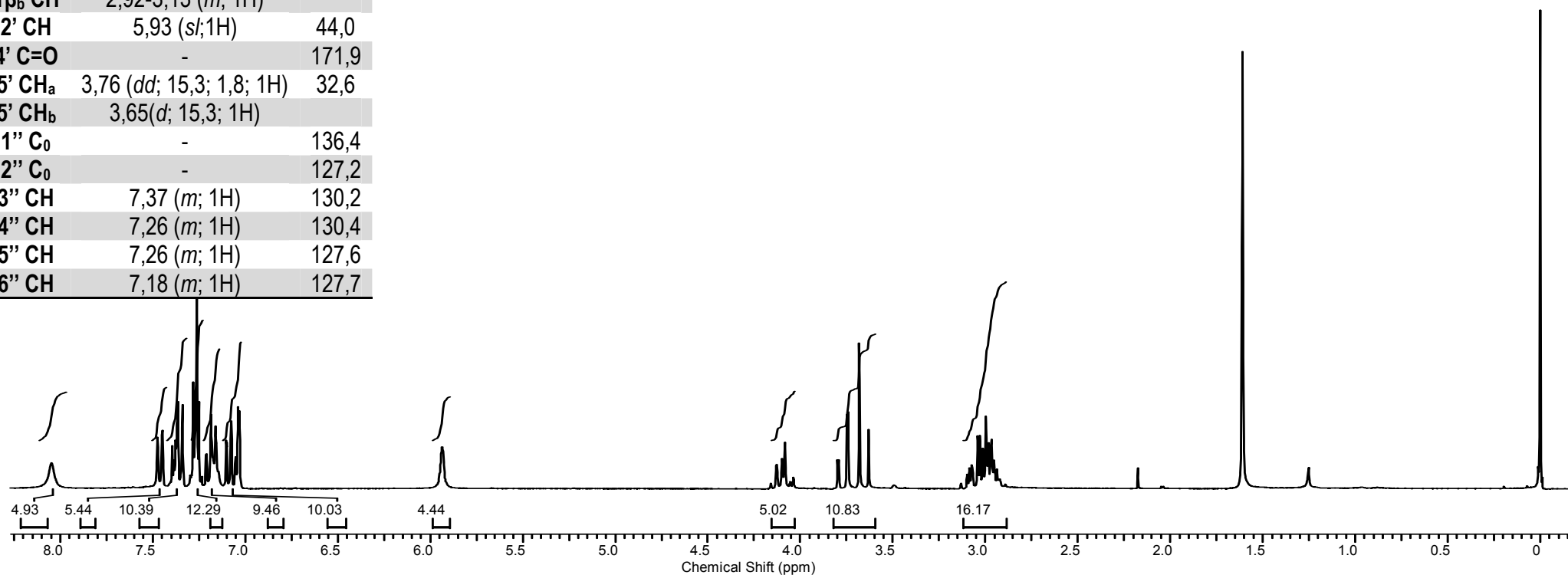
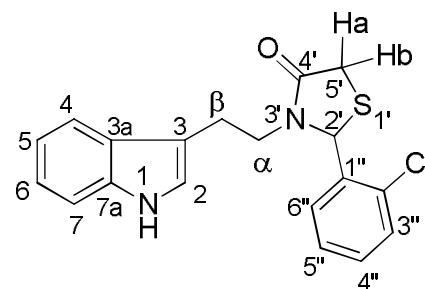
EHSQC-5: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **51e** em $\text{DMSO-}d_6$.



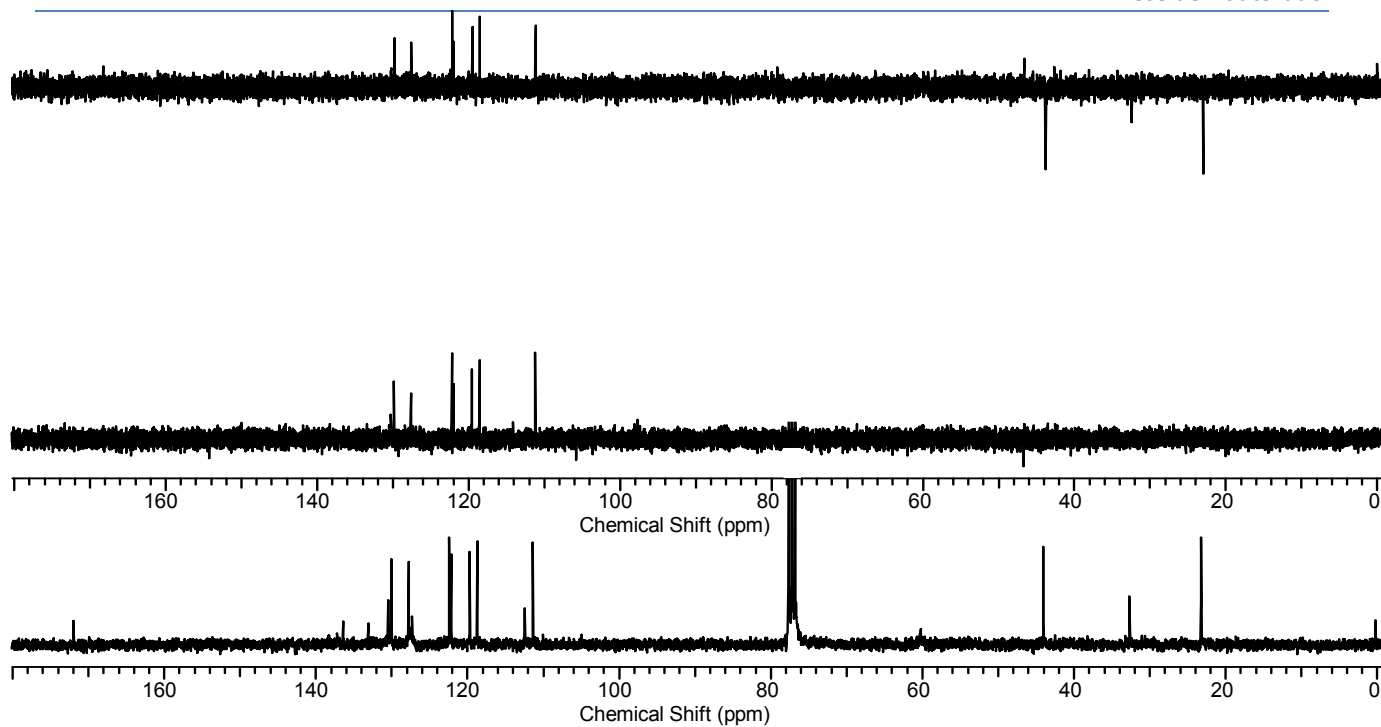
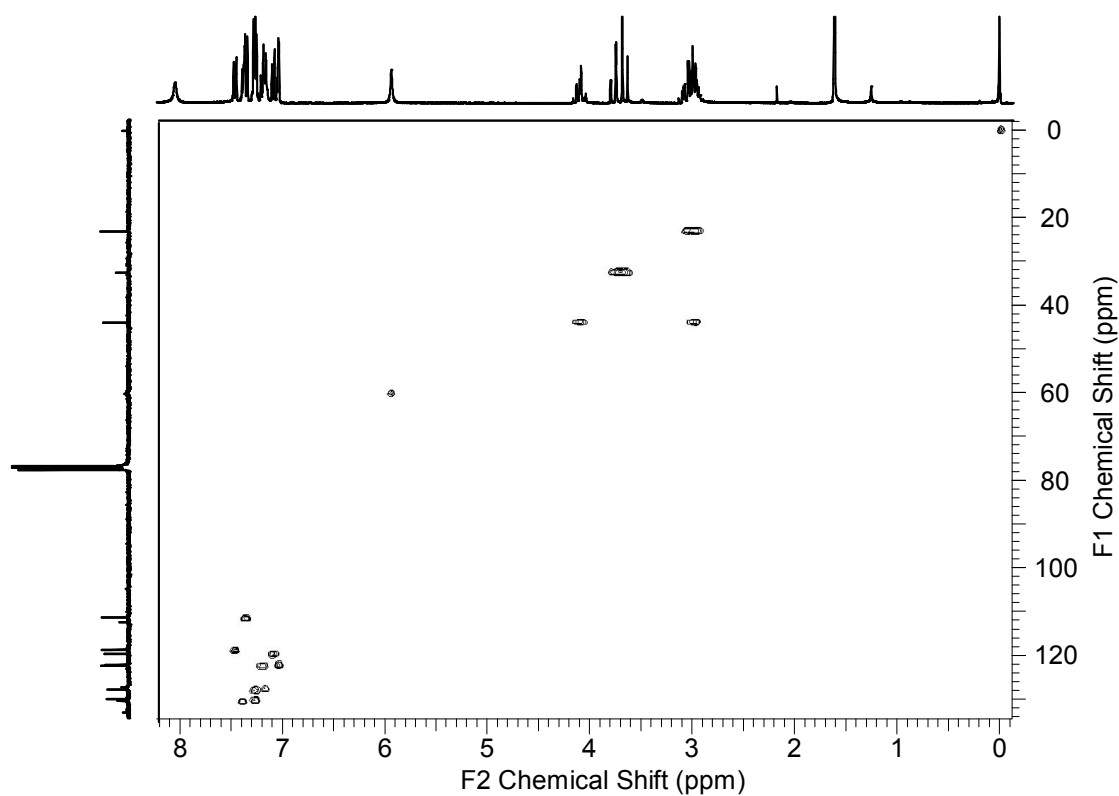
EIV-5: Espectro no infravermelho (KBr) de **51e**.

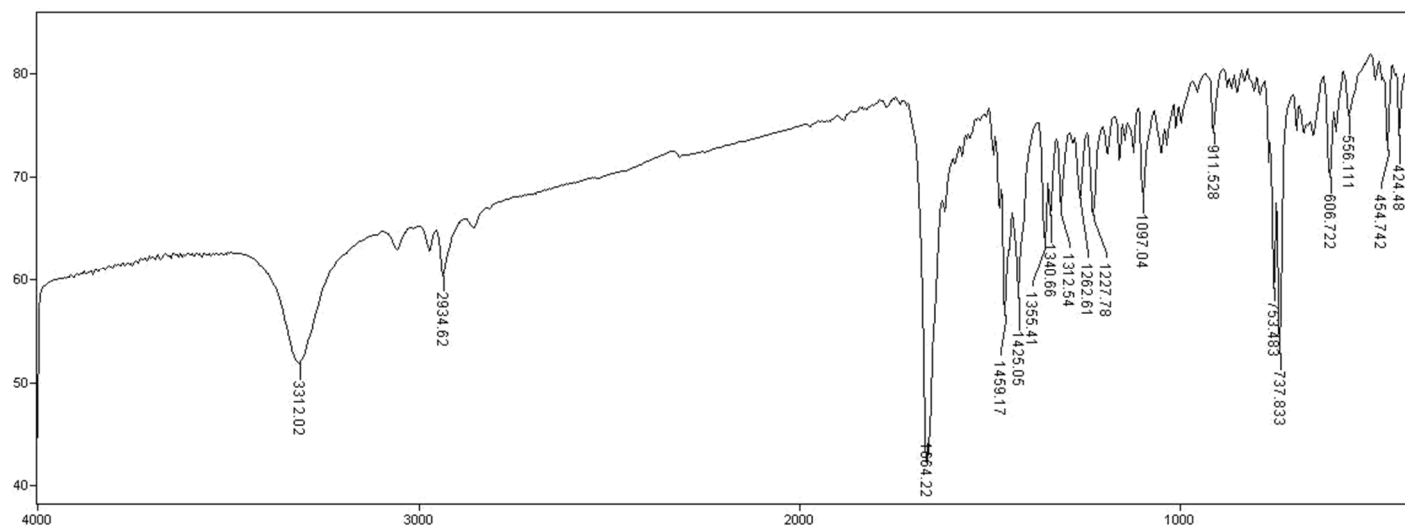
H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 NH	8,04 (s)	-
2 CH	7,03 (d; 2,1; 1H)	122,1
3 C ₀	-	112,4
3a C ₀	-	127,2
4 CH	7,46 (d; 7,5; 1H)	118,4
5 CH	7,07 (td; 7,6; 0,9; 1H)	119,7
6 CH	7,18 (m; 1H)	122,4
7 CH	7,37 (m; 1H)	111,3
7a C ₀	-	133,0
1 α_a CH	4,03-4,16 (m; 1H)	62,3
1 α_b CH	2,92-3,13 (m; 1H)	
1 β_a CH	2,92-3,13 (m; 1H)	23,2
1 β_b CH	2,92-3,13 (m; 1H)	
2' CH	5,93 (s; 1H)	44,0
4' C=O	-	171,9
5' CH _a	3,76 (dd; 15,3; 1,8; 1H)	32,6
5' CH _b	3,65 (d; 15,3; 1H)	
1'' C ₀	-	136,4
2'' C ₀	-	127,2
3'' CH	7,37 (m; 1H)	130,2
4'' CH	7,26 (m; 1H)	130,4
5'' CH	7,26 (m; 1H)	127,6
6'' CH	7,18 (m; 1H)	127,7

Anexo 6: 3-etil-indol-2'-(o-clorofenil)tiazolidin-4-ona (**51f**)



ERMN ¹H-6: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **51f** em CDCl₃.

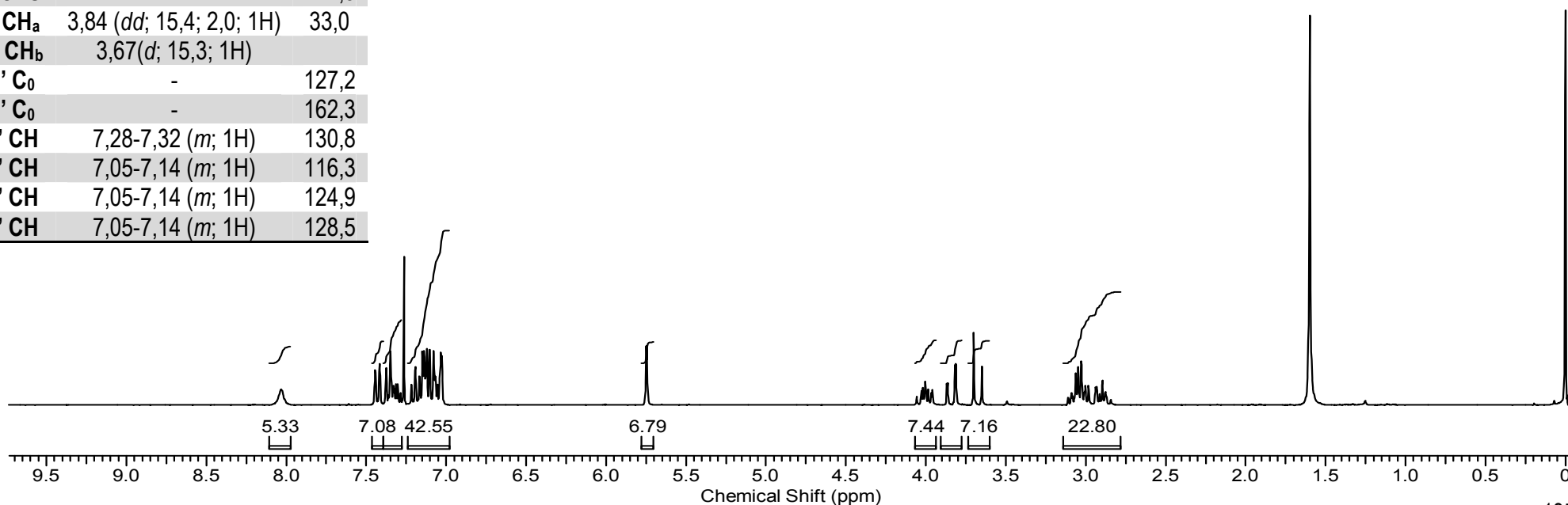
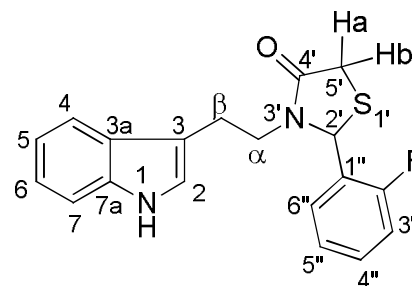
ERMN ¹³C-6: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) de **51f** em CDCl₃.EHSQC-6: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **51f** em CDCl₃.

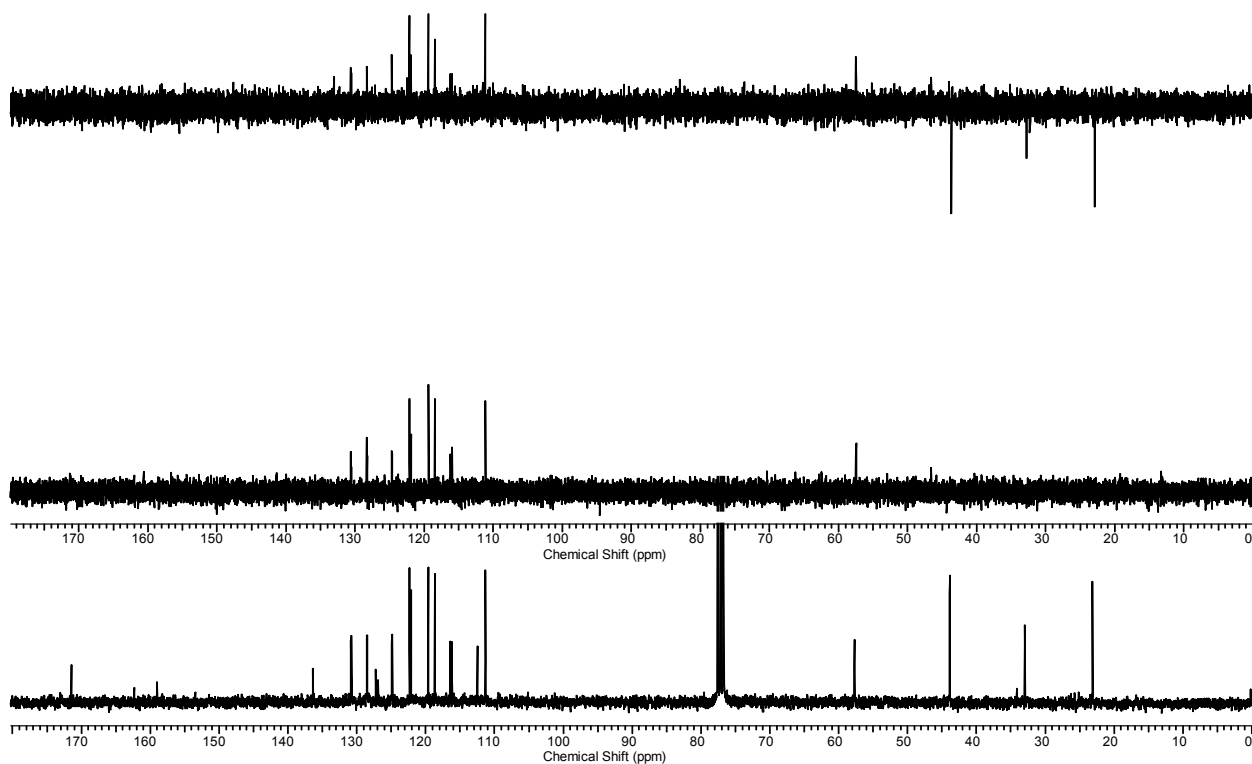
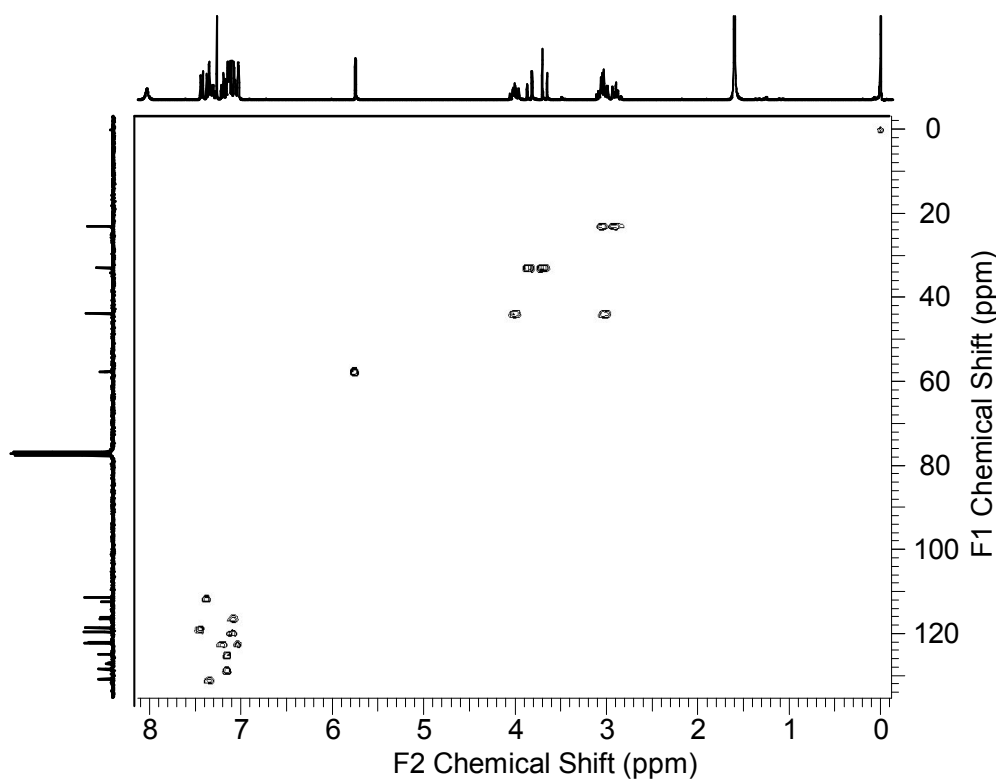


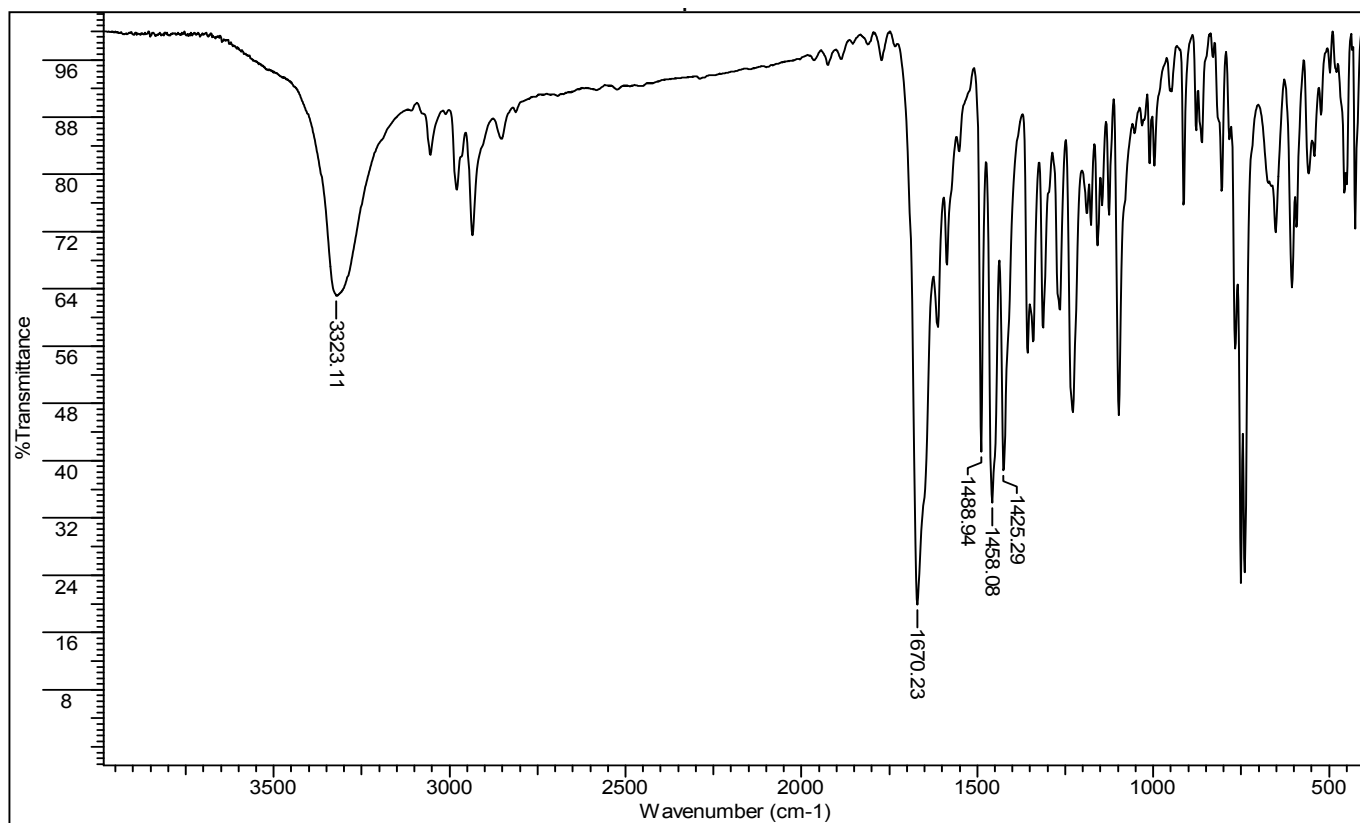
EIV-6: Espectro no infravermelho (KBr) de **51f**.

Anexo 7: 3-etil-indol-2'-(o-fluorofenil)tiiazolidin-4-ona (51g)

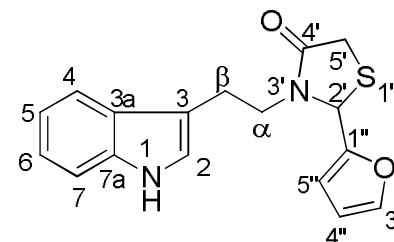
H/C	δ_H (<i>multipl.</i> ; J=Hz)	δ_C
1 NH	8,03 (<i>s</i>)	-
2 CH	7,02 (<i>d</i> ; 2,4; 1H)	122,3
3 C ₀	-	112,5
3a C ₀	-	127,0
4 CH	7,42 (<i>d</i> ; 7,8; 1H)	118,7
5 CH	7,05-7,14 (<i>m</i> , 1H)	119,6
6 CH	7,19 (<i>t</i> ; 7,6; 1H)	122,1
7 CH	7,35 (<i>d</i> ; 8,0; 1H)	111,3
7a C ₀	-	136,4
1 α_a CH	3,95-4,05 (<i>m</i> ; 1H)	57,7
1 α_b CH	2,98-3,11 (<i>m</i> ; 1H)	
1 β_a CH	2,98-3,11 (<i>m</i> ; 1H)	23,1
1 β_b CH	2,84-2,93 (<i>m</i> ; 1H)	
2' CH	5,74 (<i>d</i> ; 1,8; 1H)	43,9
4' C=O	-	171,5
5' CH _a	3,84 (<i>dd</i> ; 15,4; 2,0; 1H)	33,0
5' CH _b	3,67 (<i>d</i> ; 15,3; 1H)	
1'' C ₀	-	127,2
2'' C ₀	-	162,3
3'' CH	7,28-7,32 (<i>m</i> ; 1H)	130,8
4'' CH	7,05-7,14 (<i>m</i> ; 1H)	116,3
5'' CH	7,05-7,14 (<i>m</i> ; 1H)	124,9
6'' CH	7,05-7,14 (<i>m</i> ; 1H)	128,5

ERMN ¹H-7: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **51g** em CDCl₃.

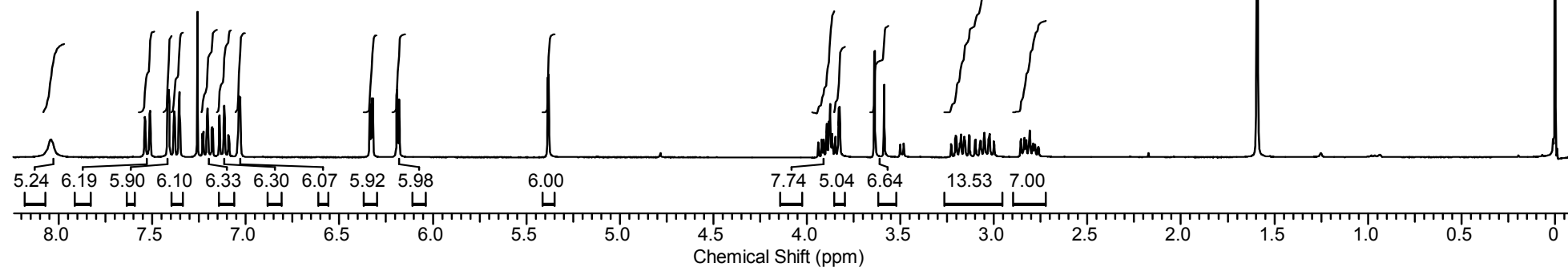
ERMN ^{13}C -7: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **51g** em CDCl_3 .EHSQC-7: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **51g** em CDCl_3

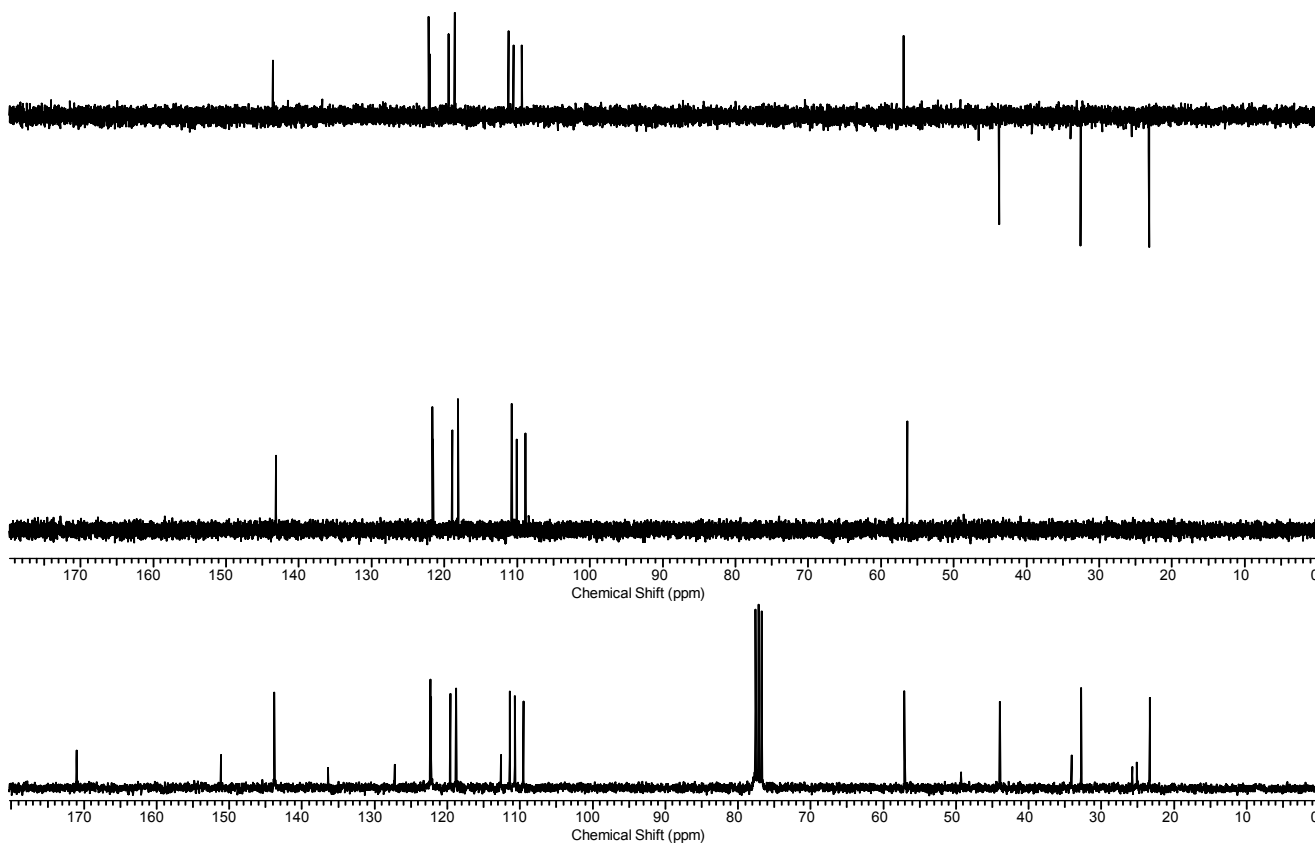


EIV-7: Espectro no infravermelho (KBr) de **51g**.

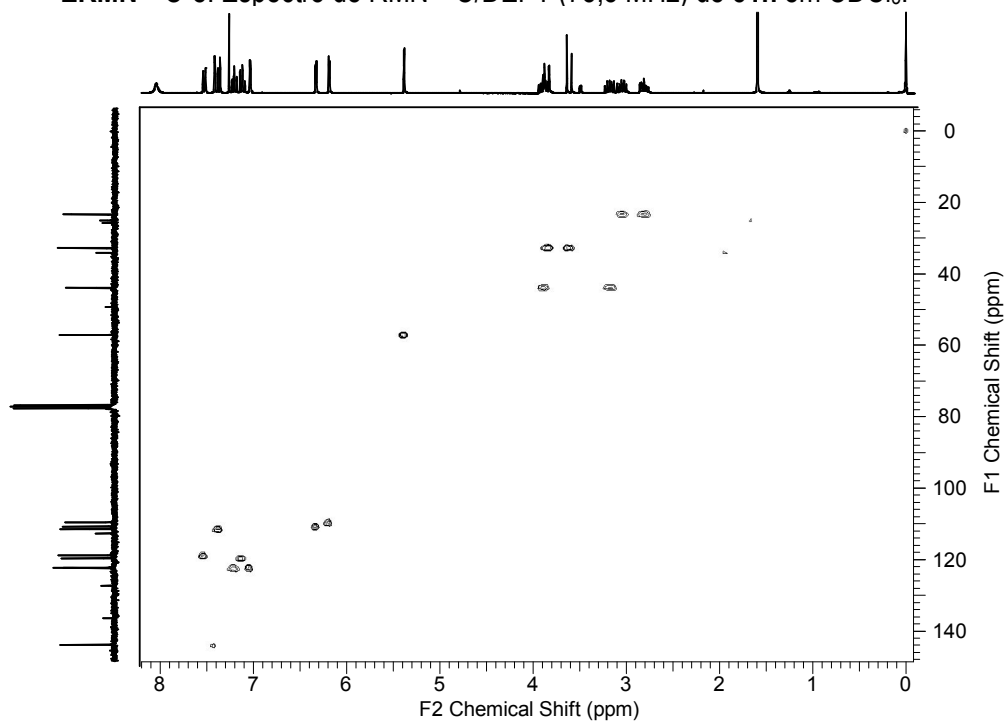
Anexo 8: 3-etil-indol-2'-(2-furil)tiazolidin-4-ona (**51h**)

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 NH	8,04 (s)	-
2 CH	7,03 (d; 2,1; 1H)	122,2
3 C ₀	-	112,3
3a C ₀	-	127,2
4 CH	7,36 (d; 8,1; 1H)	111,4
5 CH	7,11 (td; 7,3; 1,2; 1H)	119,6
6 CH	7,20 (td; 7,5; 1,2; 1H)	122,3
7 CH	7,52 (d; 8,1; 1H)	118,8
7a C ₀	-	136,4
1 α_a CH	3,84-3,94 (m; 1H)	57,1
1 α_b CH	3,13-3,22 (m; 1H)	
1 β_a CH	2,99-3,09 (m; 1H)	23,3
1 β_b CH	2,76-2,85 (m; 1H)	
2' CH	5,38 (d; 1,8; 1H)	43,9
4' C=O	-	171,0
5' CH _a	3,84 (dd; 15,0; 1,5; 1H)	32,8
5' CH _b	3,60 (d; 15,3; 1H)	
1'' C ₀	-	151,1
2''	-	-
3'' CH	7,41 (m; 1H)	143,8
4'' CH	4,62 (dd; 3,3; 3,3; 1H)	110,7
5'' CH	6,18 (m; 3,0; 0,9; 1H)	109,5

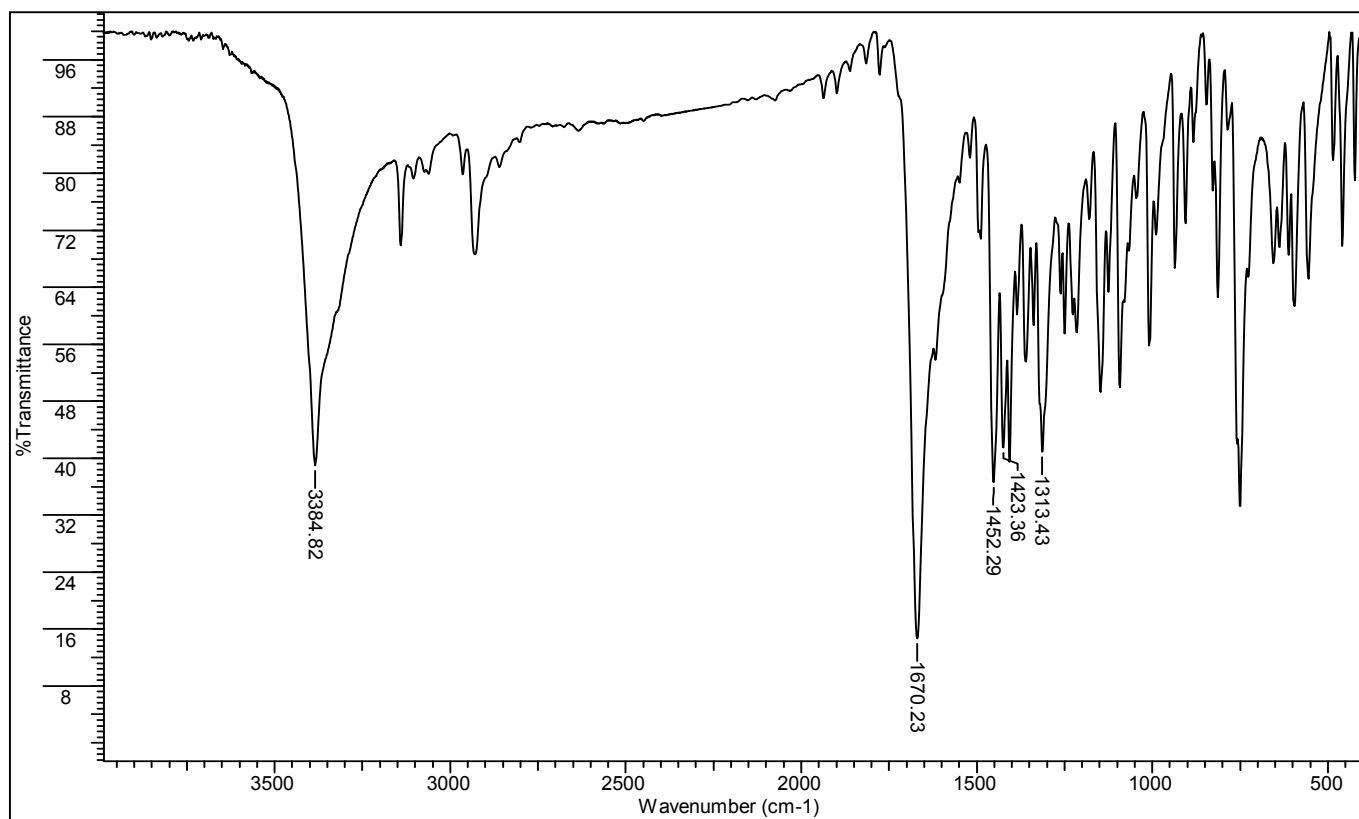
ERMN ¹H-8: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **51h** em CDCl₃.



ERMN ^{13}C -8: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **51h** em CDCl_3 .



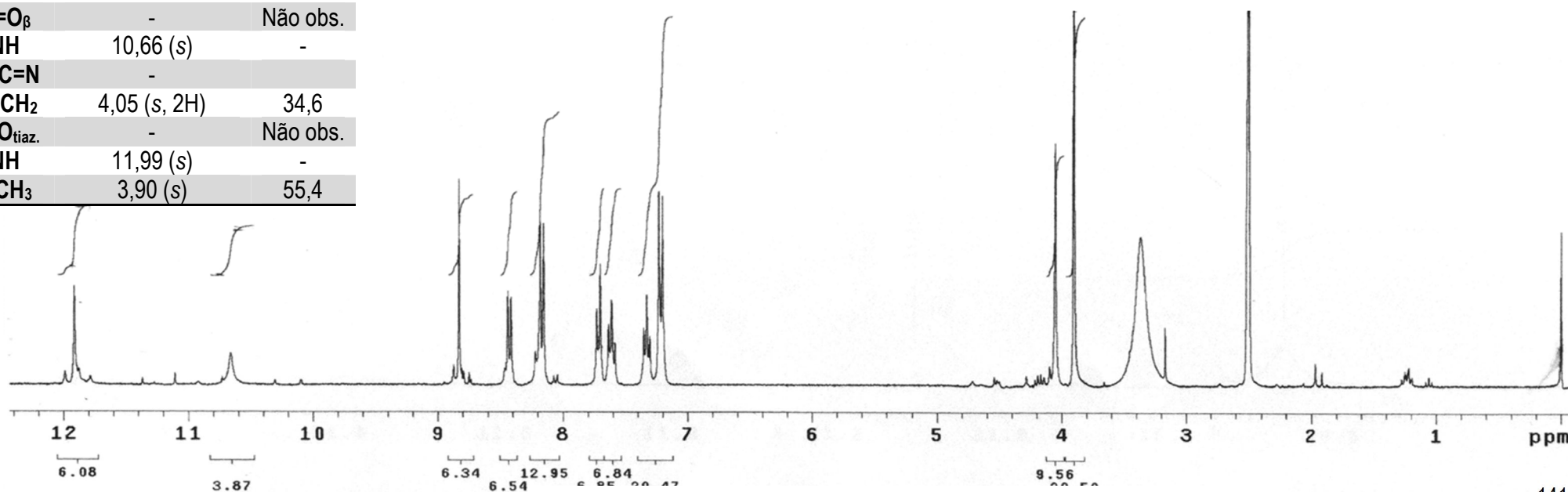
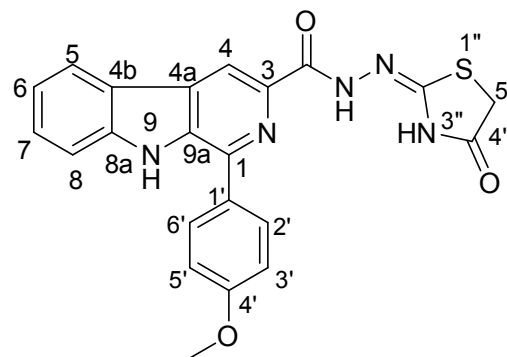
EHSQC-8: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **51h** em CDCl_3 .

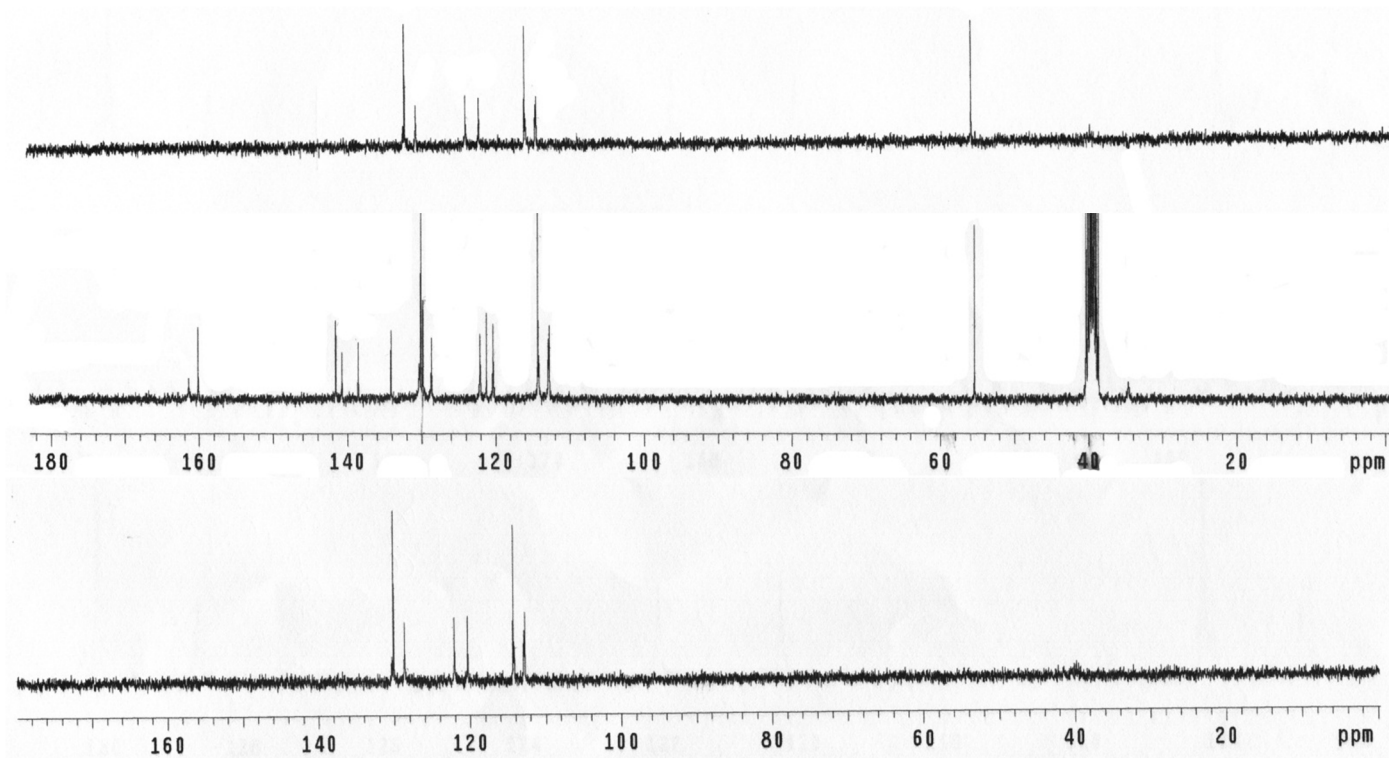


EIV-8: Espectro no infravermelho (KBr) de **51h**.

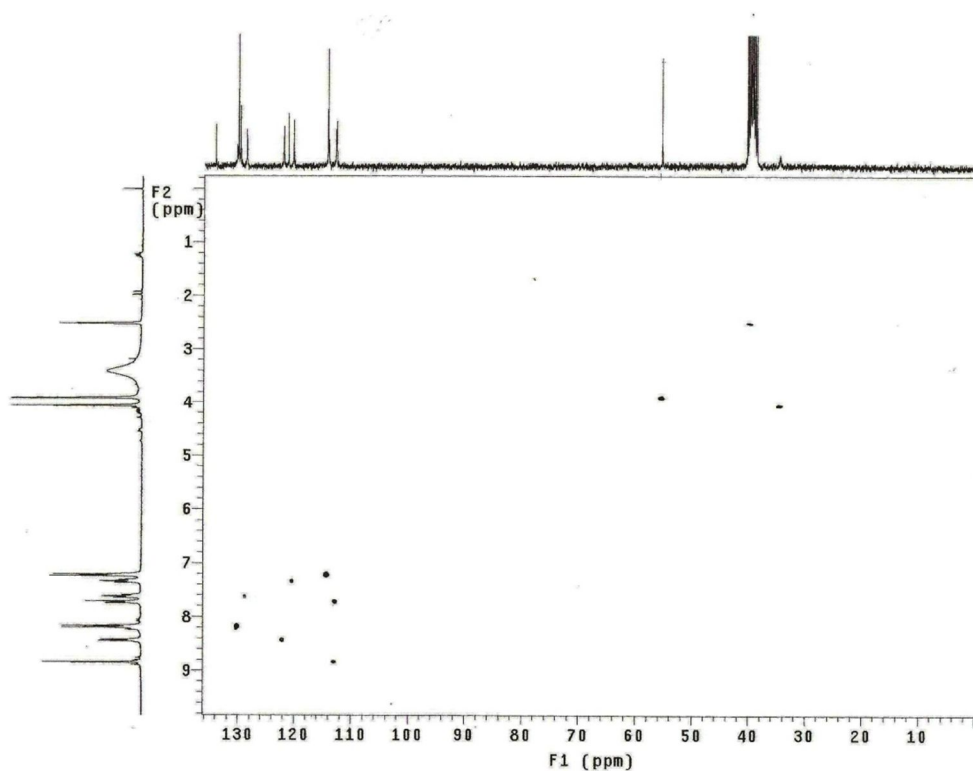
Anexo 9: 1-(*p*-metoxifenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-4-tiazolidinona (**60a**)

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	141,5
3 C ₀	-	138,5
4 CH	8,83 (s, 1H)	112,9
4a C ₀	-	128,6
4b C ₀	-	121,2
5 CH	8,43 (d; 8,1; 1H)	122,1
6 CH	7,32 (t; 7,3; 1H)	120,3
7 CH	7,51 (t; 7,6; 1H)	129,7
8 CH	7,71 (d; 1H)	112,7
8a C ₀	-	140,7
9 (NH)	11,91 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	134,1
1' C ₀	-	129,9
2'/6' CH	8,16 (d, 8,7)	130,1
3'/5' CH	7,21 (d, 8,7)	114,3
4' C ₀	-	160,1
C=O _{β}	-	Não obs.
NH	10,66 (s)	-
2'' C=N	-	-
5'' CH ₂	4,05 (s, 2H)	34,6
C=O _{tiaz.}	-	Não obs.
NH	11,99 (s)	-
OCH ₃	3,90 (s)	55,4

ERMN 1H-9: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **60a** em DMSO-d₆.



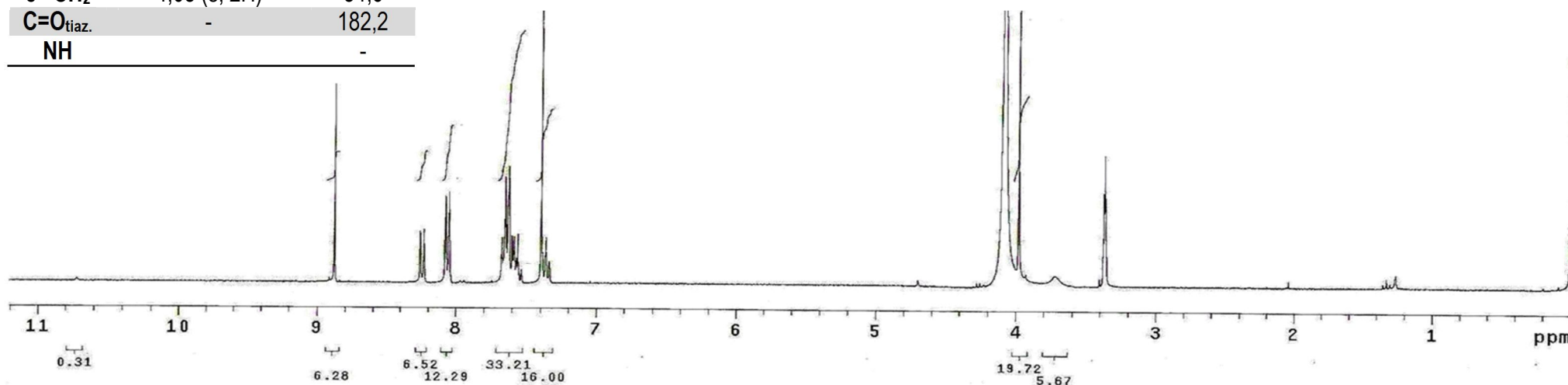
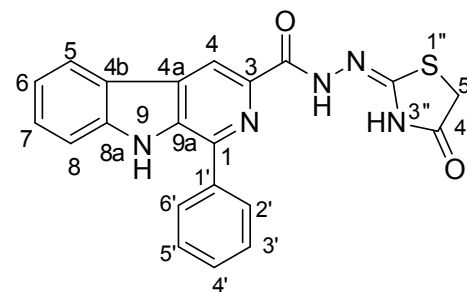
ERMN ^{13}C -9: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **60a** em $\text{DMSO-}d_6$.



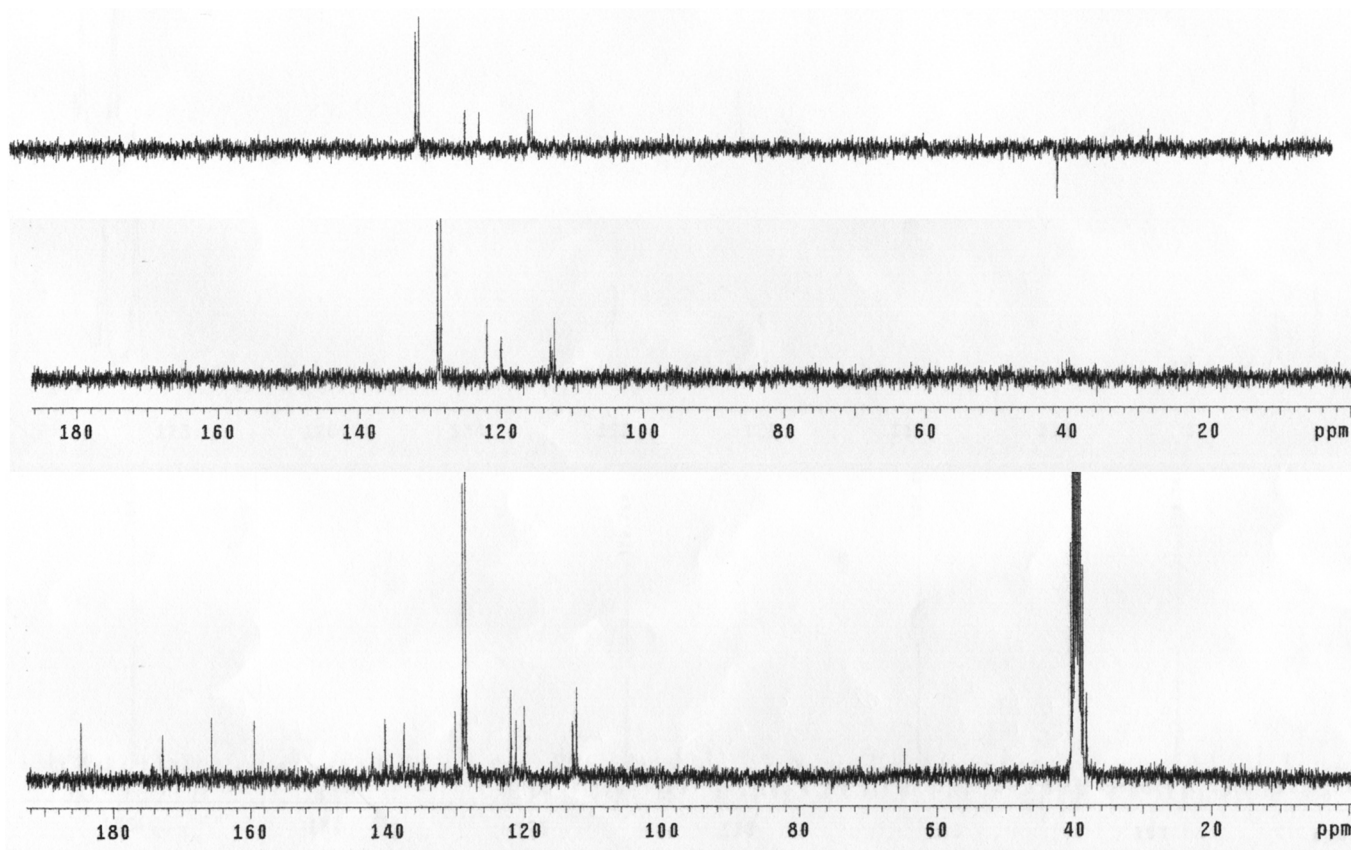
EHSQC 9 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **60a** em $\text{DMSO-}d_6$.

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	141,5
3 C ₀	-	138,5
4 CH	8,83 (s, 1H)	112,9
4a C ₀	-	128,6
4b C ₀	-	121,2
5 CH	8,43 (d; 8,1; 1H)	122,1
6 CH	7,32 (t; 7,3; 1H)	120,3
7 CH	7,51 (t; 7,6; 1H)	129,7
8 CH	7,52 – 7,60 (m; 1H)	112,7
8a C ₀	-	140,7
9 NH	-	-
9a C ₀	-	134,1
1' C ₀	-	129,9
2'/6' CH	8,16 (d, 8,7; 2H)	130,1
3'/5' CH	7,21 (d, 8,7; 2H)	114,3
4' CH	7,52 – 7,60 (m; 1H)-	129,0
C=O _{β}	-	Não obs.
NH	-	-
2'' C=N	-	162,7
5'' CH ₂	4,05 (s, 2H)	34,6
C=O _{tiaz.}	-	182,2
NH	-	-

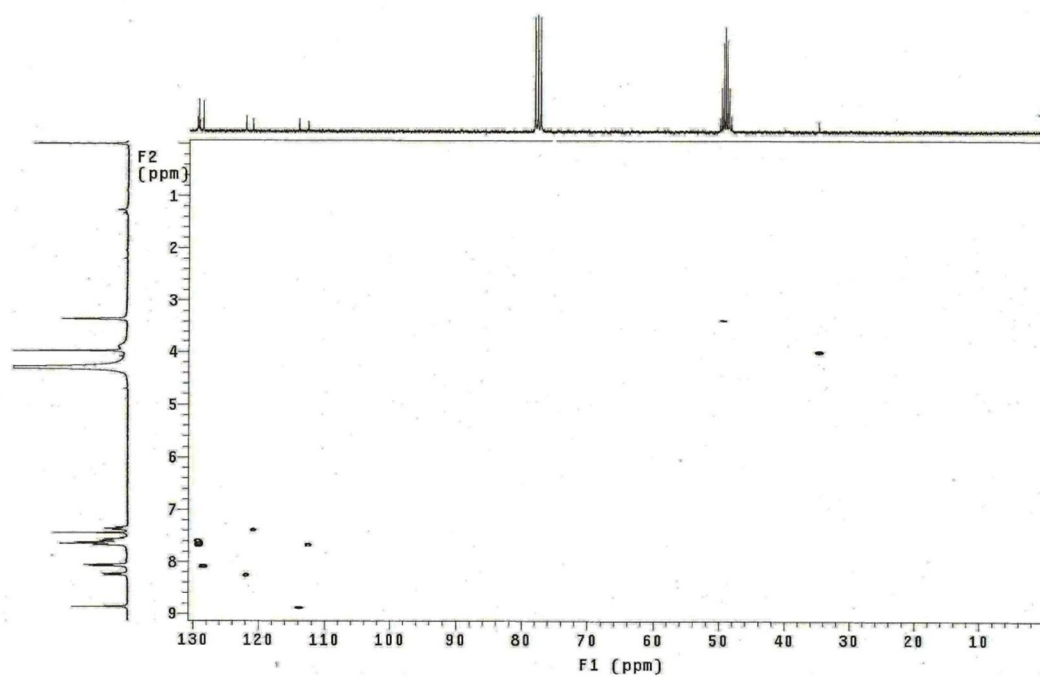
Anexo 10: 1-(fenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-4-tiazolidinona (**60b**)



ERMN 1H-10: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **60b** em DMSO-*d*₆.



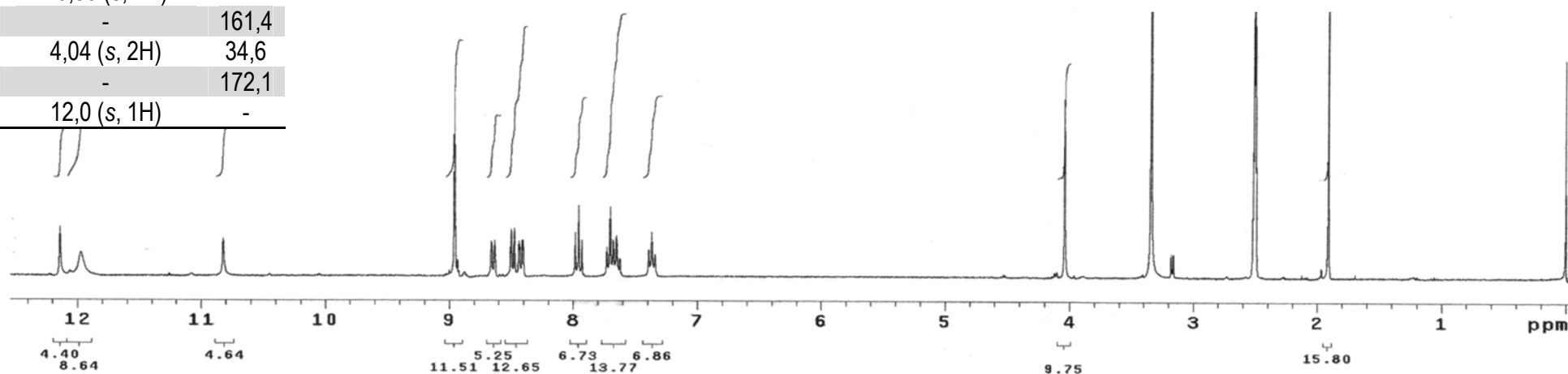
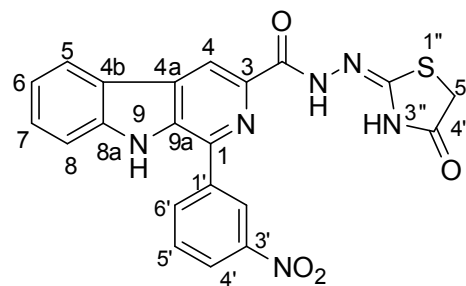
ERMN ^{13}C -10: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **60b** em $\text{DMSO-}d_6$.



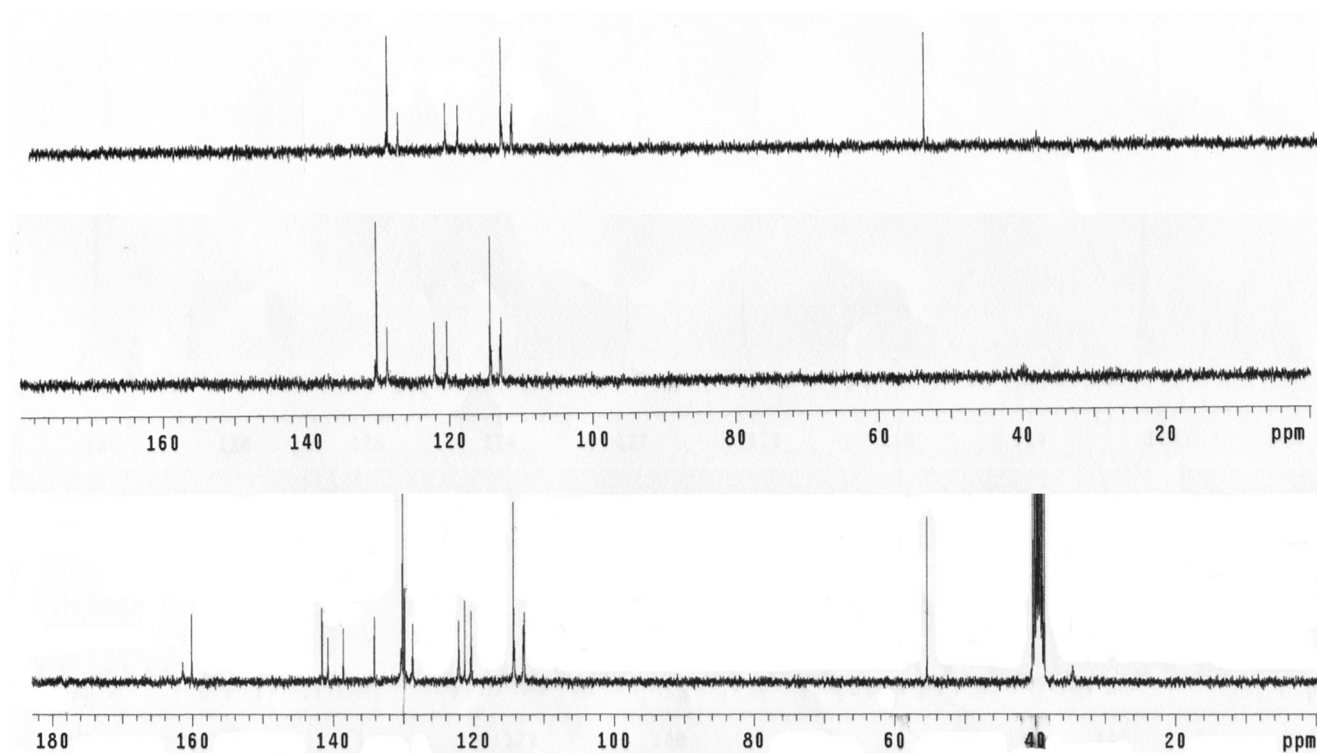
EHSQC 10 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) **60b** em $\text{DMSO-}d_6$.

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	141,7
3 C ₀	-	138,8
4 CH	9,0 (s, 1H)	114,4
4a C ₀	-	130,5
4b C ₀	-	121,2
5 CH	8,49 (d; 7,8; 1H)	122,3
6 CH	7,36 (t; 7,5; 1H)	120,6
7 CH	7,65 (t; 7,5; 1H)	129,1
8 CH	7,71 (d; 8,1; 1H)	112,7
8a C ₀	-	139,0
9 NH	12,10 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	138,3
1' C ₀	-	134,5
2' CH	8,59 (s, 1H)	123,7
3' C ₀	-	148,3
4' CH	8,64 (d; 7,8; 1H)	135,3
5' CH	7,95 (t; 7,8; 1H)	130,4
6' CH	8,42 (d; 7,8 1H)	123,6
C=O _{β}	-	-
NH	10,80 (s, 1H)	-
2'' C=N	-	161,4
5'' CH ₂	4,04 (s, 2H)	34,6
C=O _{tiaz.}	-	172,1
NH	12,0 (s, 1H)	-

Anexo 11: 1-(*m*-nitrofenil)- β -carbolina-3-carbonilhidrazono-4-tiazolidinona (**60c**)



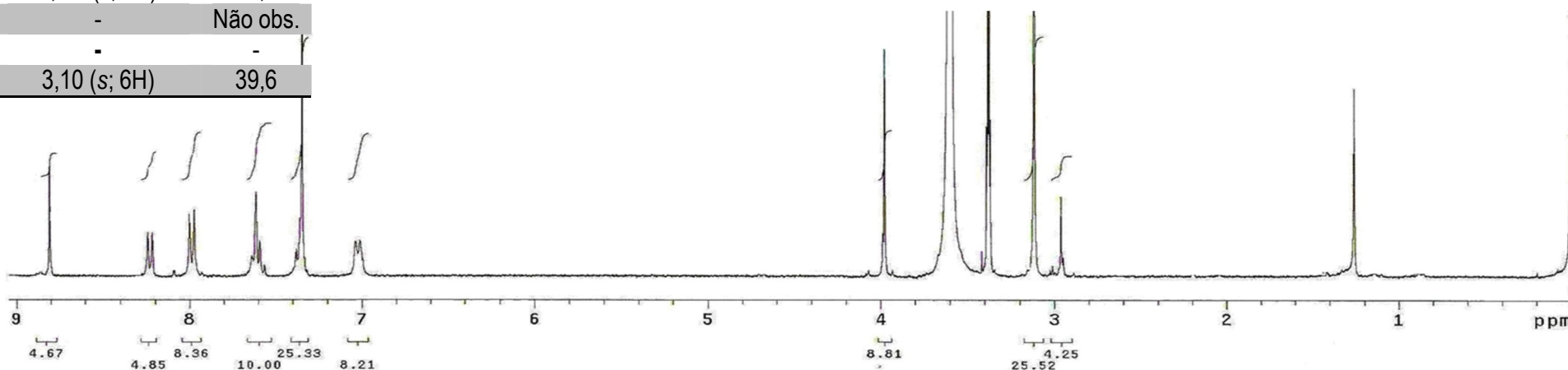
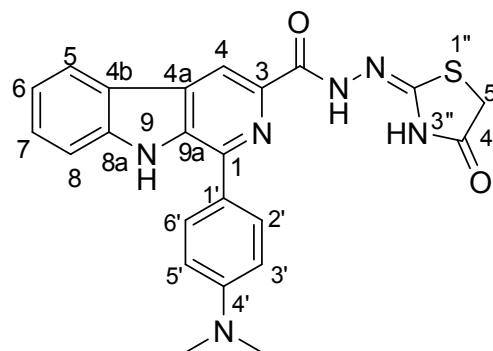
ERMN ¹H-11: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **60c** em DMSO-*d*₆.

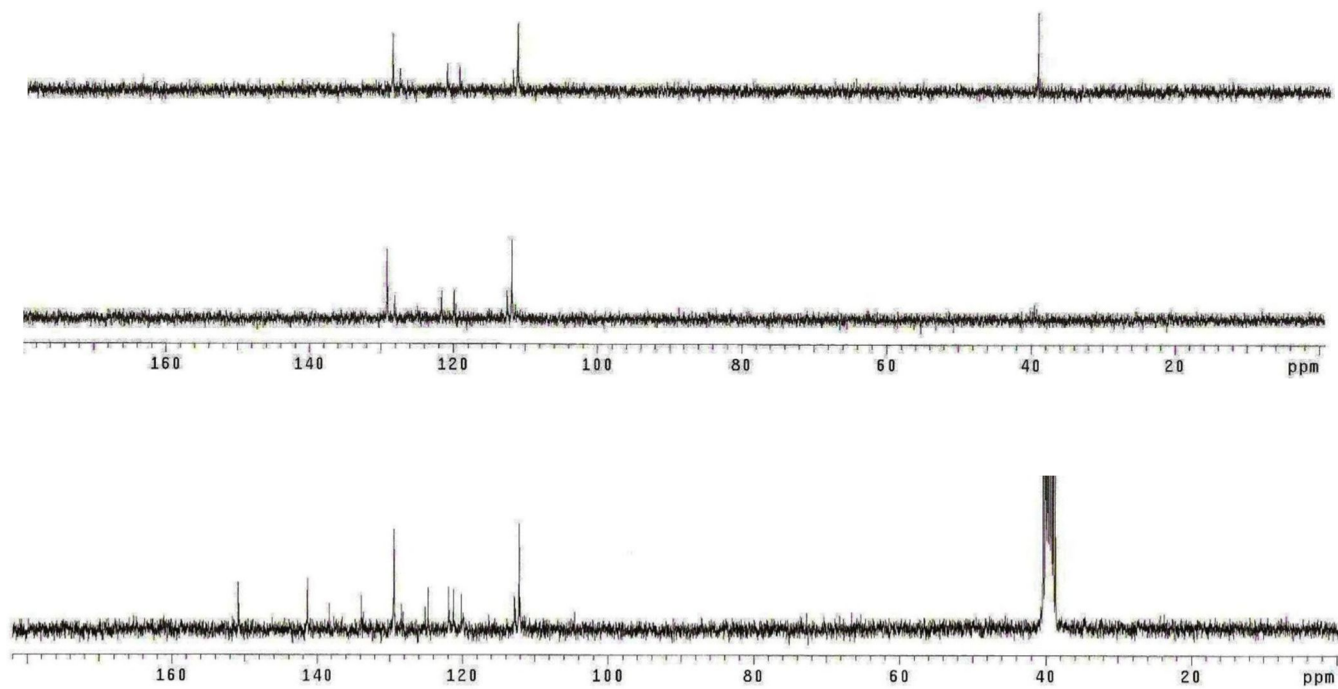


ERMN ^{13}C -11: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **60c** em DMSO- d_6 .

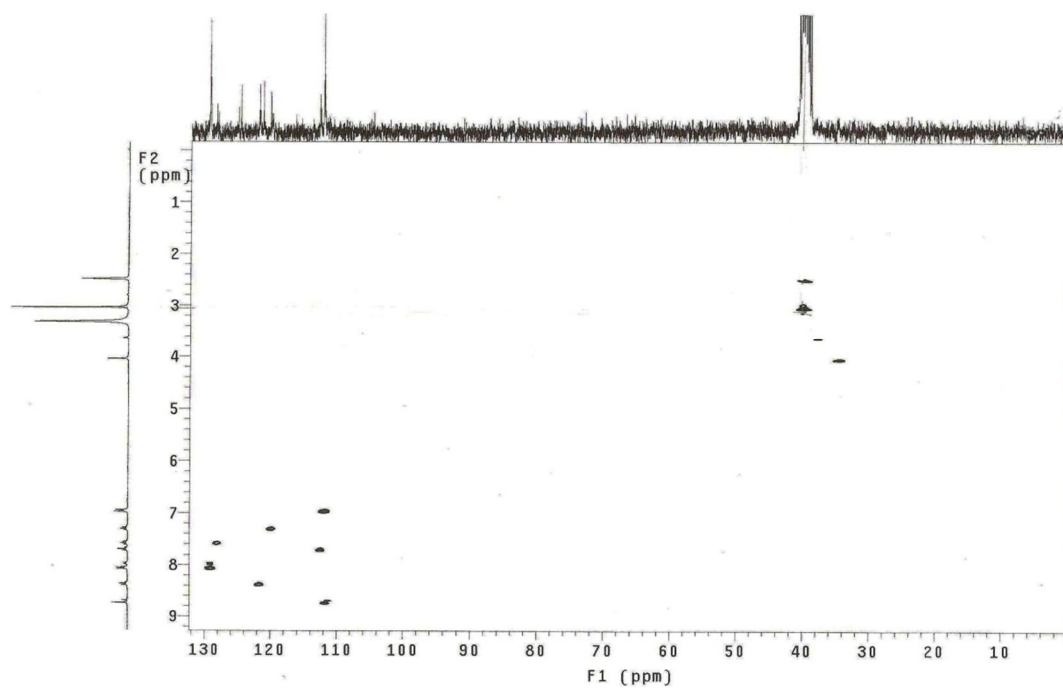
Anexo 12: 1-(*p*-dimetilaminofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-4-tiazolidinona (**60d**)

C/H	δ_H (multipl. J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	138,3
3 C ₀	-	141,3
4 CH	8,76 (s; 1H)	112,1
4a C ₀	-	119,8
4b C ₀	-	129,3
5 CH	8,22 (d; 8,1; 1H)	121,8
6 CH	7,32-7,34 (m; 1H)	120,6
7 CH	7,55-7,64 (m; 2H)	128,3
8 CH	7,55-7,64 (m; 2H)	112,7
8a C ₀	-	141,3
9 NH	Não obs.	-
9a C ₀	-	133,8
1' C ₀	-	133,5
2'/6'CH	7,98(d; 9,0; 2H)	129,3
3'/5'CH	6,96 (d; 9,0; 2H)	112,1
4' C ₀	-	150,7
C=O _{β}	-	Não obs.
NH	--	-
2'' C=N	-	150,8
5'' CH ₂	3,97 (s; 2H)	34,2
C=O _{tiaz.}	-	Não obs.
NH	-	-
N(CH ₃) ₂	3,10 (s; 6H)	39,6

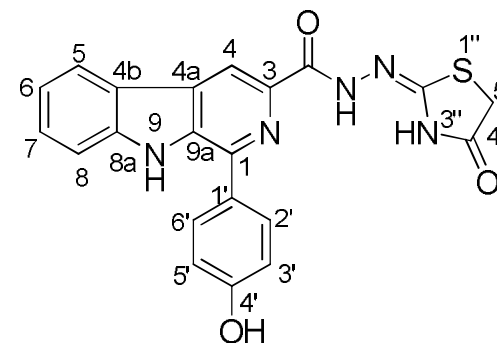
ERMN ¹H-12: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **60d** em DMSO-*d*₆.



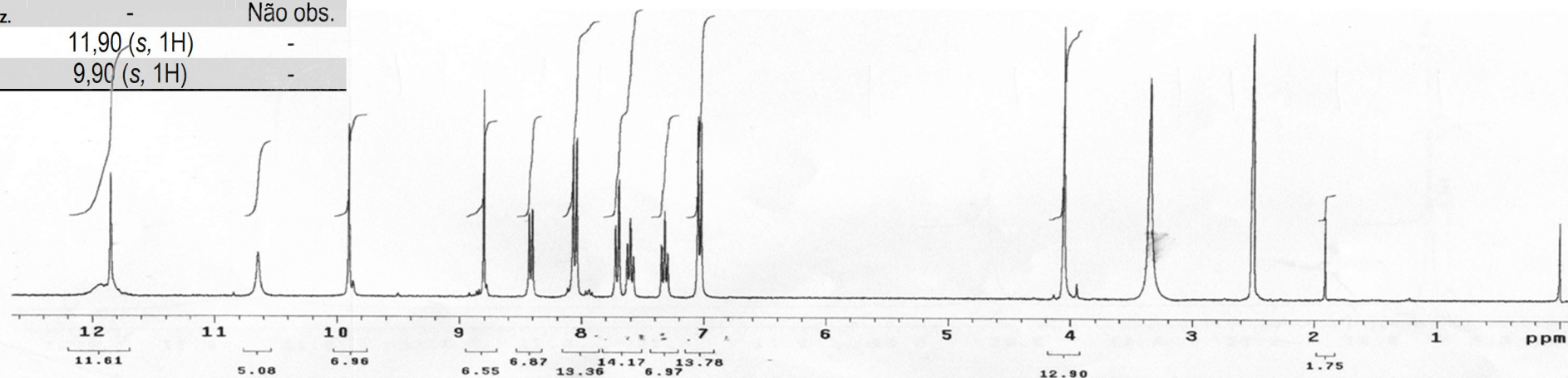
ERMN ^{13}C -12: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **60d** em $\text{DMSO-}d_6$.

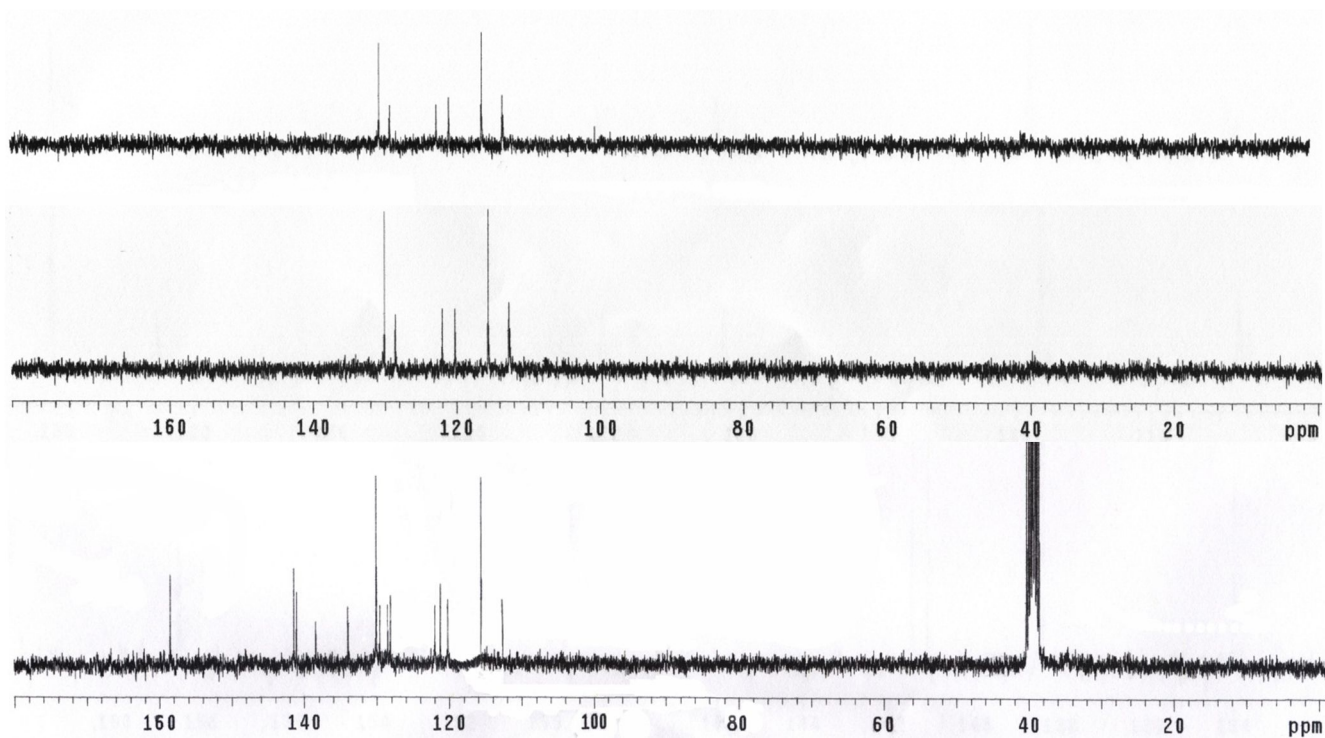


EHSQC 12 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) **60d** em $\text{DMSO-}d_6$.

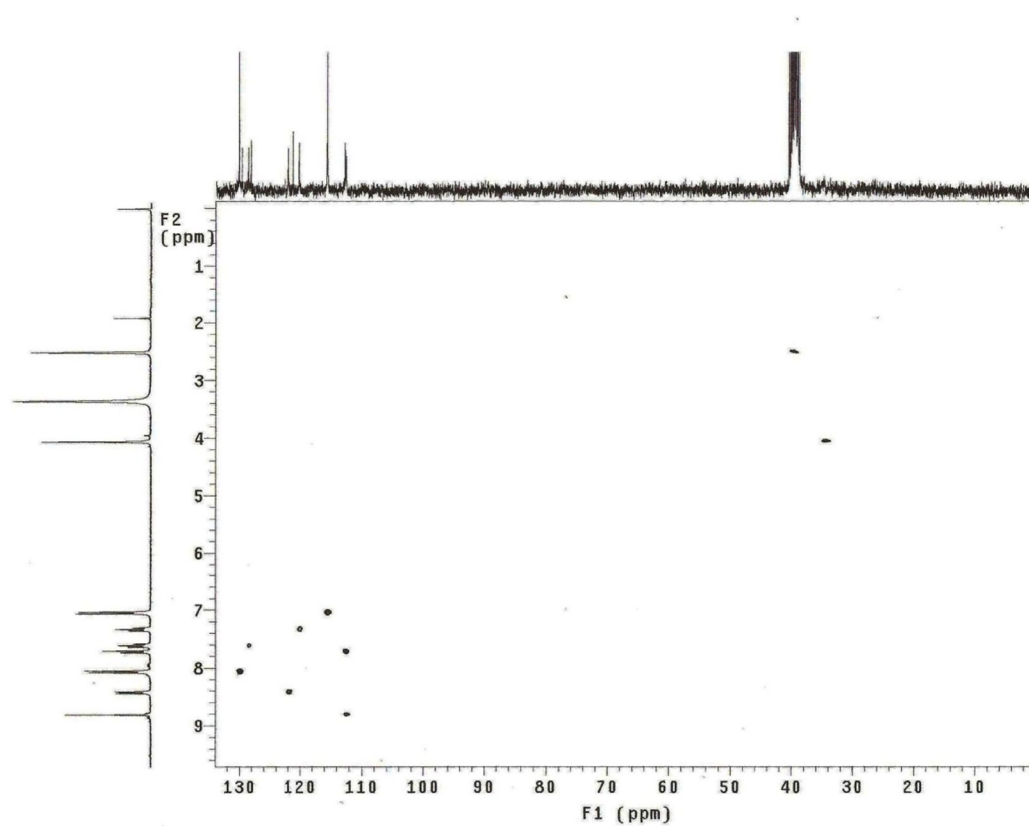
Anexo 13: 1-(*p*-hidroxifenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-4-tiazolidinona (**60e**)

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	141,5
3 C ₀	-	138,4
4 CH	8,88 (s, 1H)	112,7
4a C ₀	-	128,1
4b C ₀	-	121,2
5 CH	8,42 (d; 7,8; 1H)	122,0
6 CH	7,32 (t; 7,5; 1H)	120,2
7 CH	7,60 (t; 7,5; 1H)	128,6
8 CH	7,71 (d; 8,4; 1H)	112,6
8a C ₀	-	141,1
9 NH	11,99 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	134,0
1' C ₀	-	129,6
2'/6' CH	8,05 (d; 8,4; 2H)	130,1
3'/5' CH	7,04 (d; 8,4 2H)	115,6
4' C ₀	-	158,5
C=O	-	Não obs.
NH	10,60 (s, 1H)	-
2'' C=N	-	-
5'' CH ₂	4,05 (s, 2H)	34,7
C=O _{tiaz.}	-	Não obs.
NH	11,90 (s, 1H)	-
OH	9,90 (s, 1H)	-

ERMN 1H-13: Espectro de RMN 1H (300,00 MHz) de **60e** em DMSO-d₆.



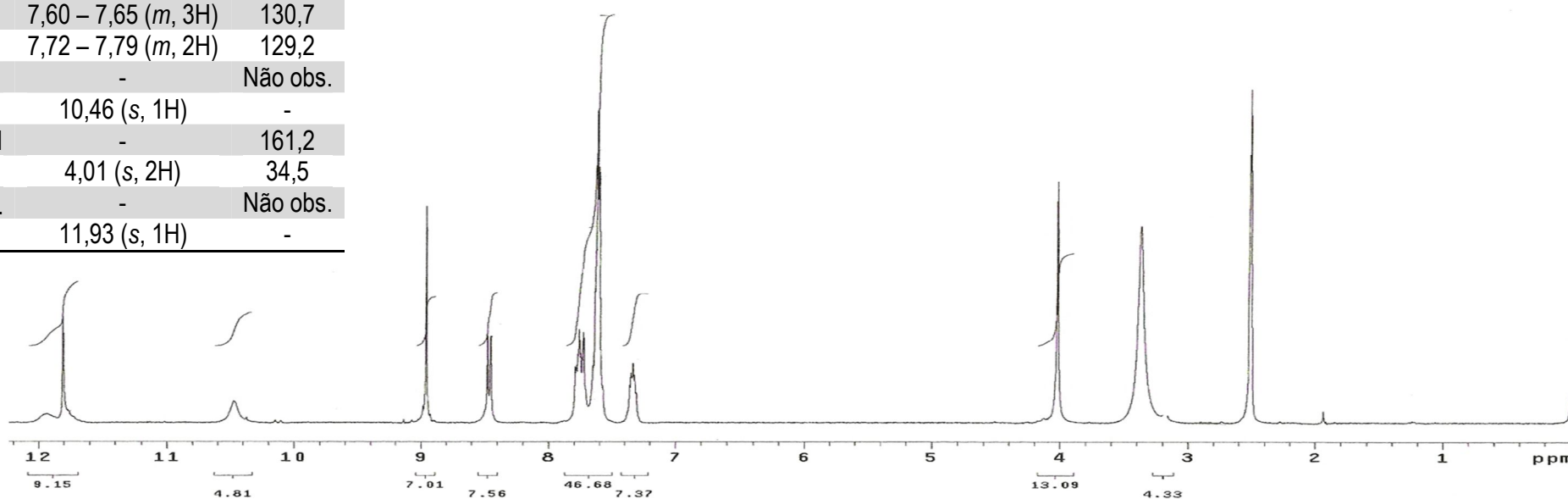
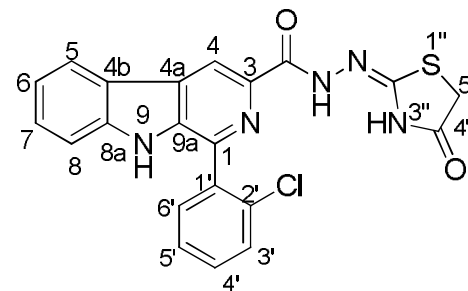
ERMN ^{13}C -13: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **60e** em $\text{DMSO-}d_6$.



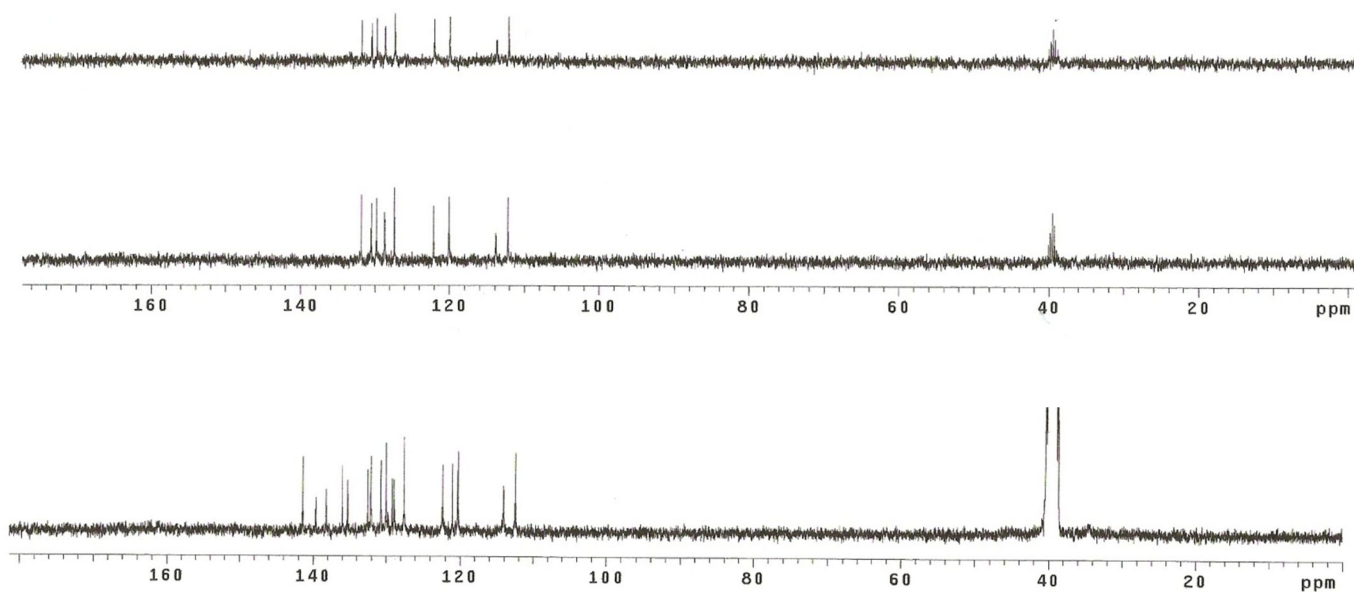
EHSQ-13 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **60e** em $\text{DMSO-}d_6$.

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	141,3
3 C ₀	-	138,2
4 CH	8,95 (s, 1H)	114,1
4a C ₀	-	130,0
4b C ₀	-	121,0
5 CH	8,46 (d; 7,8; 1H)	122,3
6 CH	7,34 (t; 7,3; 1H)	120,3
7 CH	7,77 (t; 7,7; 1H)	128,9
8 CH	7,72 – 7,79 (m, 2H)	112,4
8a C ₀	-	141,4
9 NH	11,93 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	139,7
1' C ₀	-	132,1
2' C ₀	-	135,3
3' CH	7,60 – 7,65 (m, 3H)	132,5
4' CH	7,60 – 7,65 (m, 3H)	130,0
5' CH	7,60 – 7,65 (m, 3H)	130,7
6' CH	7,72 – 7,79 (m, 2H)	129,2
C=O _{β}	-	Não obs.
NH	10,46 (s, 1H)	-
2'' C=N	-	161,2
5''CH ₂	4,01 (s, 2H)	34,5
C=O _{tiaz.}	-	Não obs.
NH	11,93 (s, 1H)	-

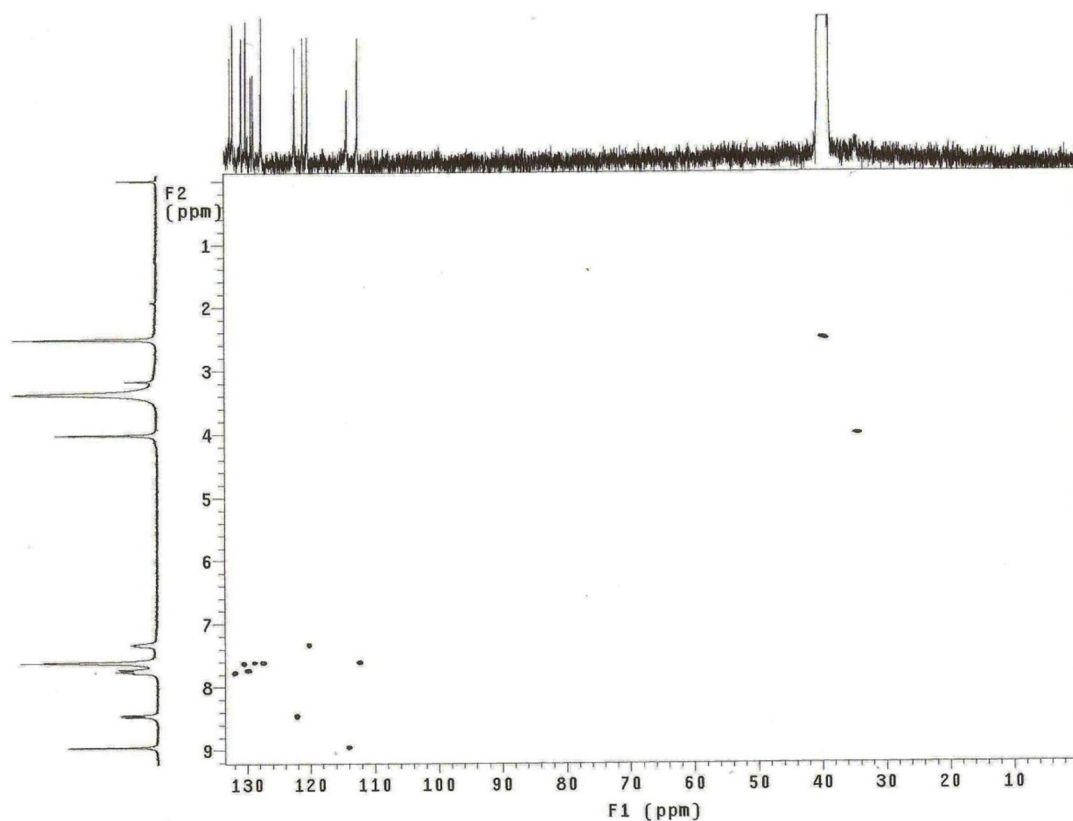
Anexo 14: 1-(*o*-clorofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-4-tiazolidinona (**60f**)



ERMN **1H-14:** Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **60f** em DMSO-*d*₆.



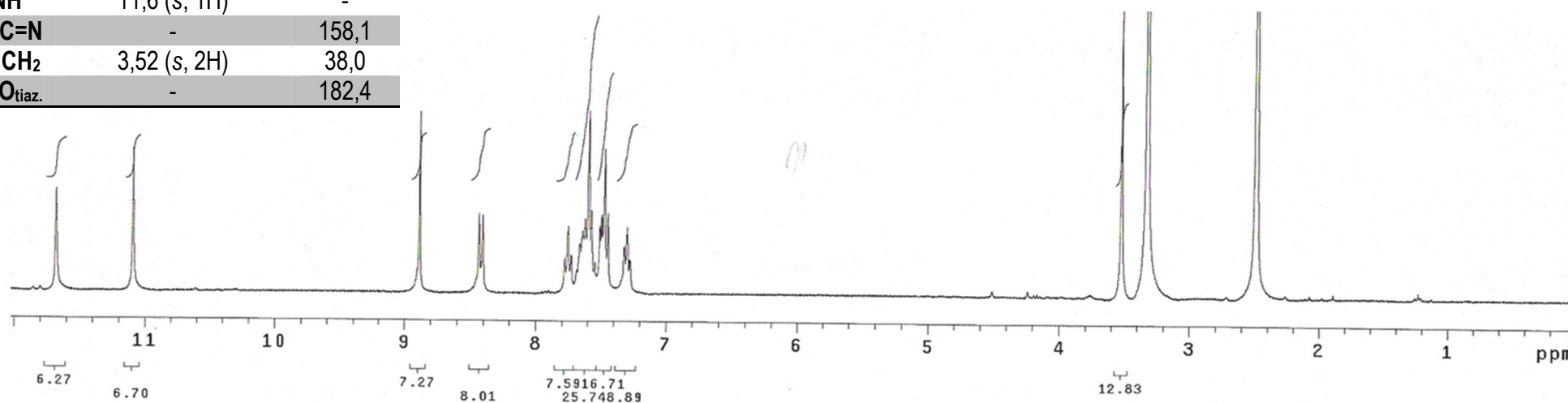
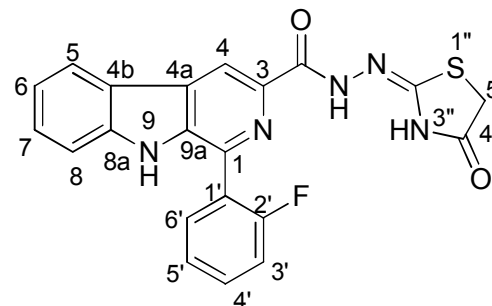
ERMN ^{13}C -14: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **60f** em $\text{DMSO-}d_6$.



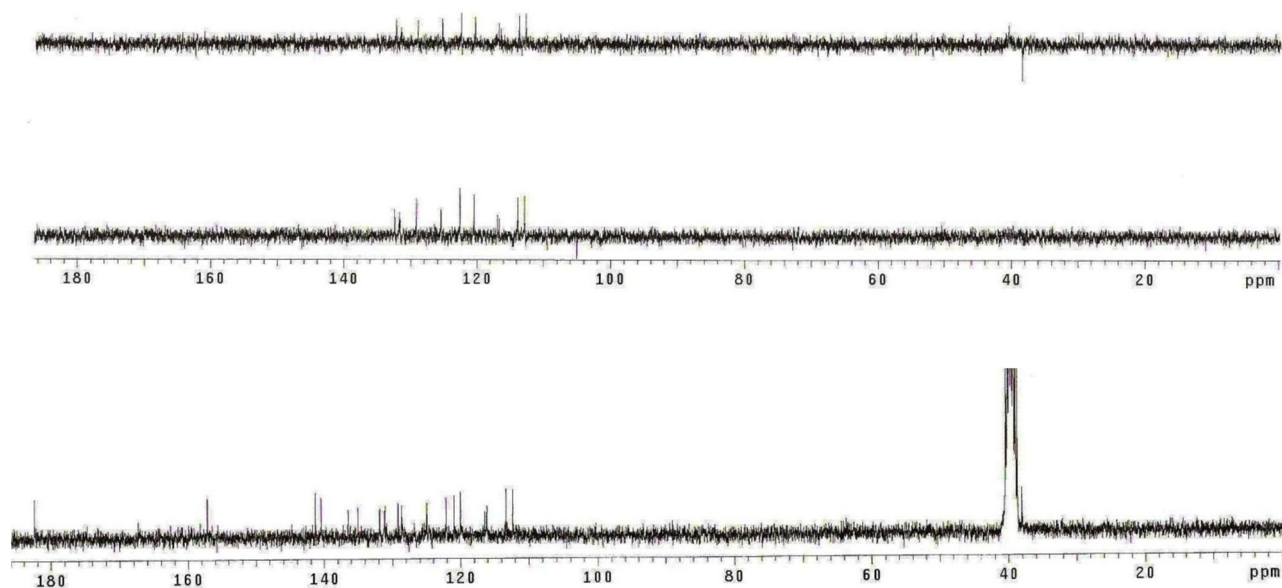
EHSQC - 14 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **60f** em $\text{DMSO-}d_6$.

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	135,0
3 C ₀	-	136,4
4 CH	8,88 (s, 1H)	113,3
4a C ₀	-	120,9
4b C ₀	-	128,6
5 CH	8,45 (d; 7,8; 1H)	122,1
6 CH	7,29 (td; 7,05; 1,8; 1H)	119,9
7 CH	7,44 – 7,50 (m, 2H)	124,9
8 CH	7,44 – 7,50 (m, 2H)	116,3
8a C ₀	-	140,4
9 NH	11,0 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	141,2
1' C ₀	-	Não obs.
2' C ₀	-	157,1
3' CH	7,54 – 7,68 (m, 3H)	131,1
4' CH	7,54 – 7,68 (m, 3H)	129,1
5' CH	7,75 (t; 6,9; 1H)	131,8
6' CH	7,54 – 7,68 (m, 3H)	112,3
C=O _{β}	-	167,3
NH	11,6 (s, 1H)	-
2'' C=N	-	158,1
5'' CH ₂	3,52 (s, 2H)	38,0
C=O _{tiaz.}	-	182,4

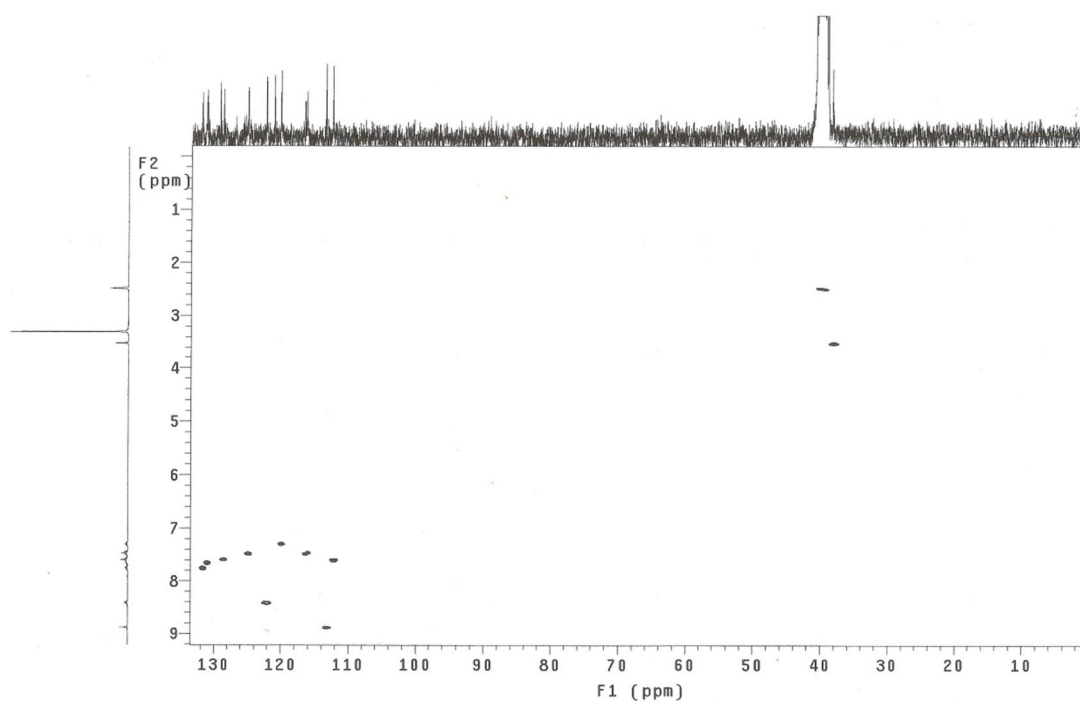
Anexo 15: 1-(o-fluorofenil)- β -carbolina-3-carbonilhidrazono-4-tiazolidinona (60g)



ERMN 1H-15: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de 60g em DMSO-*d*₆.



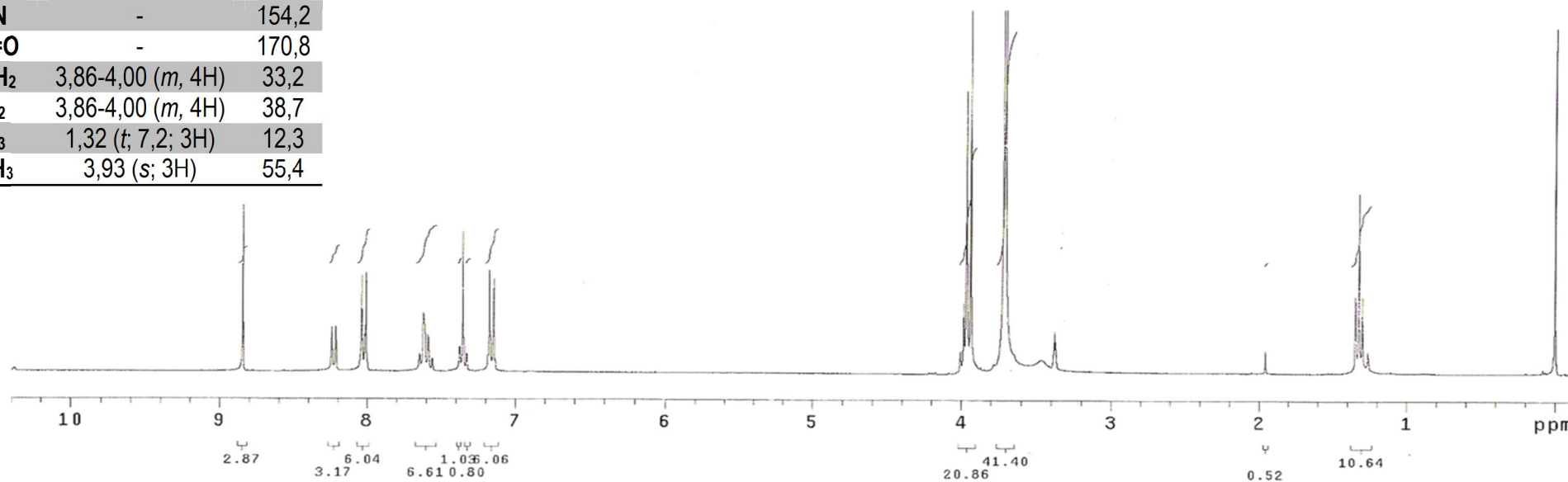
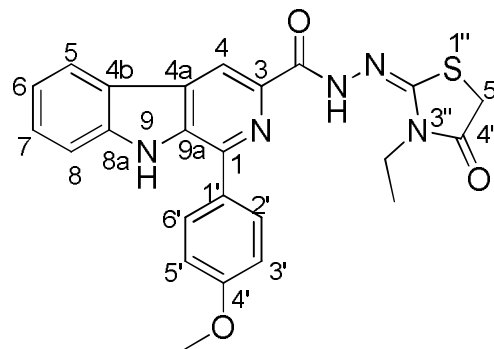
ERMN ^{13}C -15: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **60g** em DMSO- d_6 .

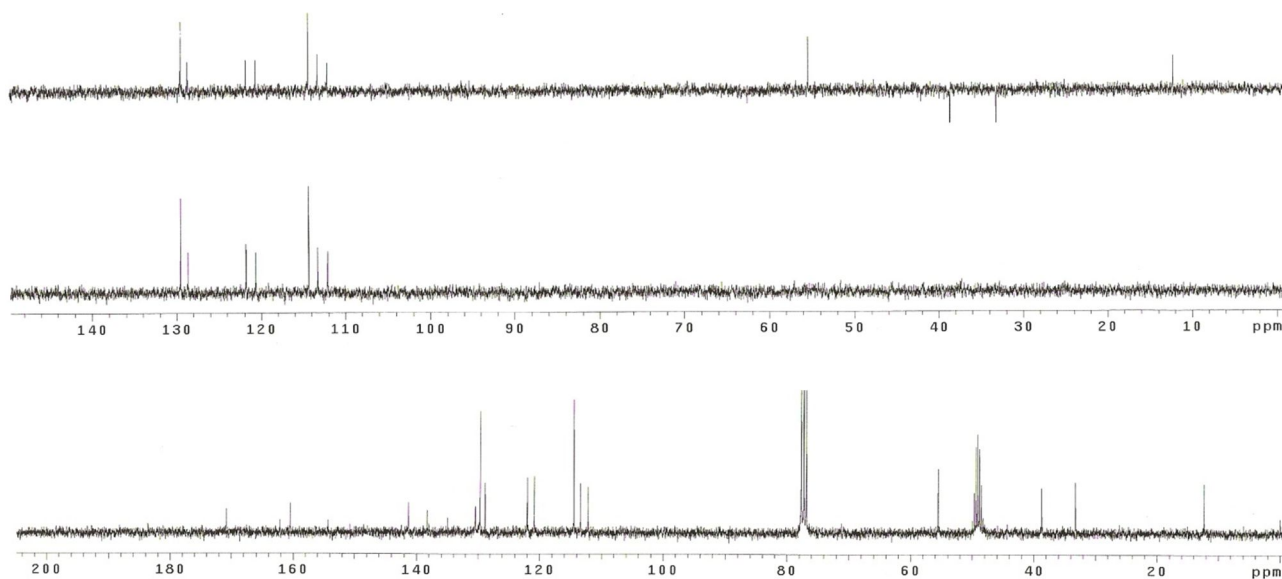


EHSQC - 15 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **60g** em DMSO- d_6 .

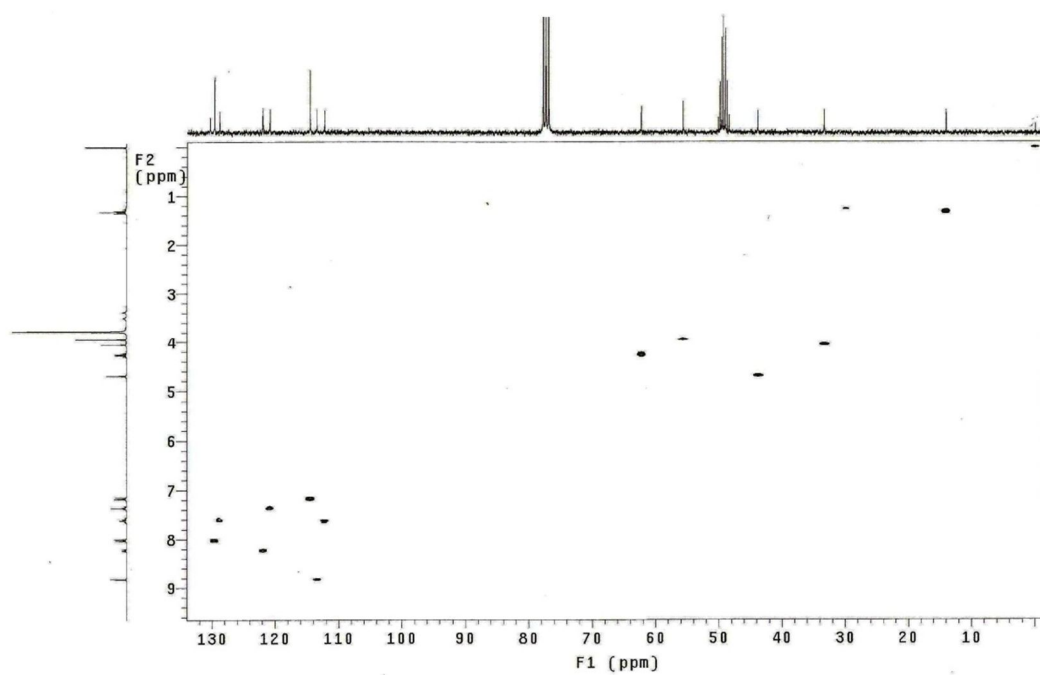
Anexo 16: 1-(*p*-metoxifenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-etil)4-tiazolidinona (**61a**)

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	134,9
3 C ₀	-	138,2
4 CH	8,84 (s, 1H)	113,3
4a C ₀	-	-
4b C ₀	-	-
5 CH	8,22 (<i>d</i> ; 8,1; 1H)	121,9
6 CH	7,35	120,7
7 CH	7,56-7,64 (<i>m</i> , 1H)	128,8
8 CH	7,56-7,64 (<i>m</i> , 1H)	112,2
8a C ₀	-	141,2
9 NH	-	-
9a C ₀	-	130,4
1' C ₀	-	130,3
2'/6' CH	7,16 (<i>d</i> ; 9,0; 2H)	114,4
3'/5' CH	8,02 (<i>d</i> ; 8,7; 2H)	129,6
4' C ₀	-	160,4
C=O _{β}	-	162,1
NH	-	-
C=N	-	154,2
4''C=O	-	170,8
5''CH ₂	3,86-4,00 (<i>m</i> , 4H)	33,2
CH ₂	3,86-4,00 (<i>m</i> , 4H)	38,7
CH ₃	1,32 (<i>t</i> ; 7,2; 3H)	12,3
OCH ₃	3,93 (<i>s</i> ; 3H)	55,4

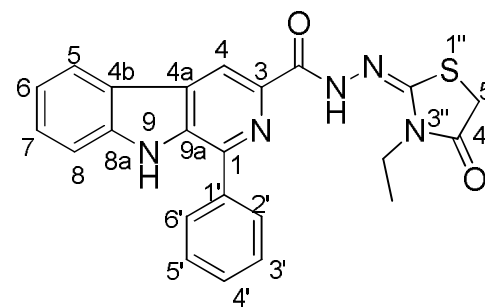
ERMN **1H-16**: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **61a** em CDCl₃/CD₃OD.



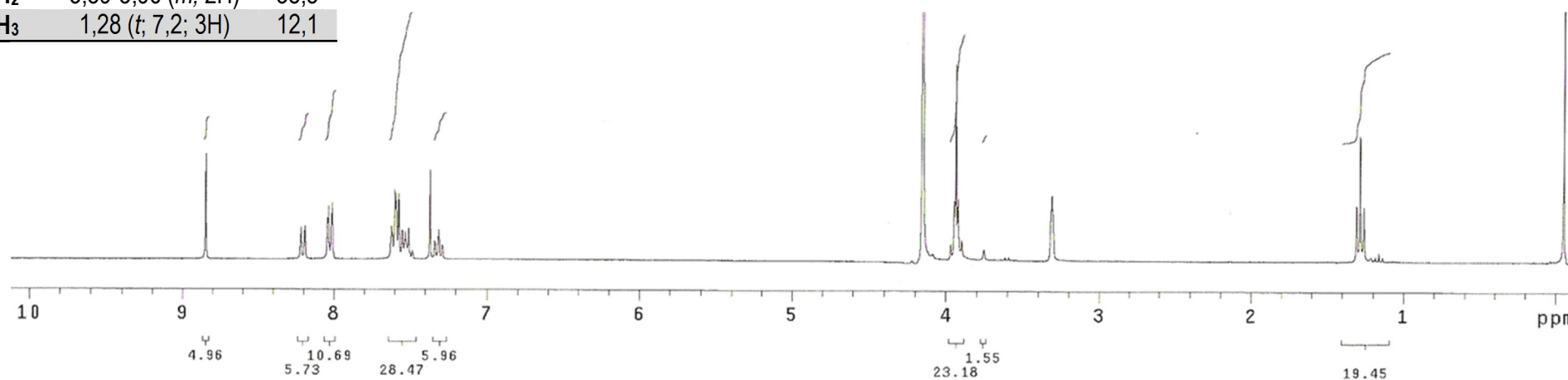
ERMN ^{13}C -16: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **61a** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.

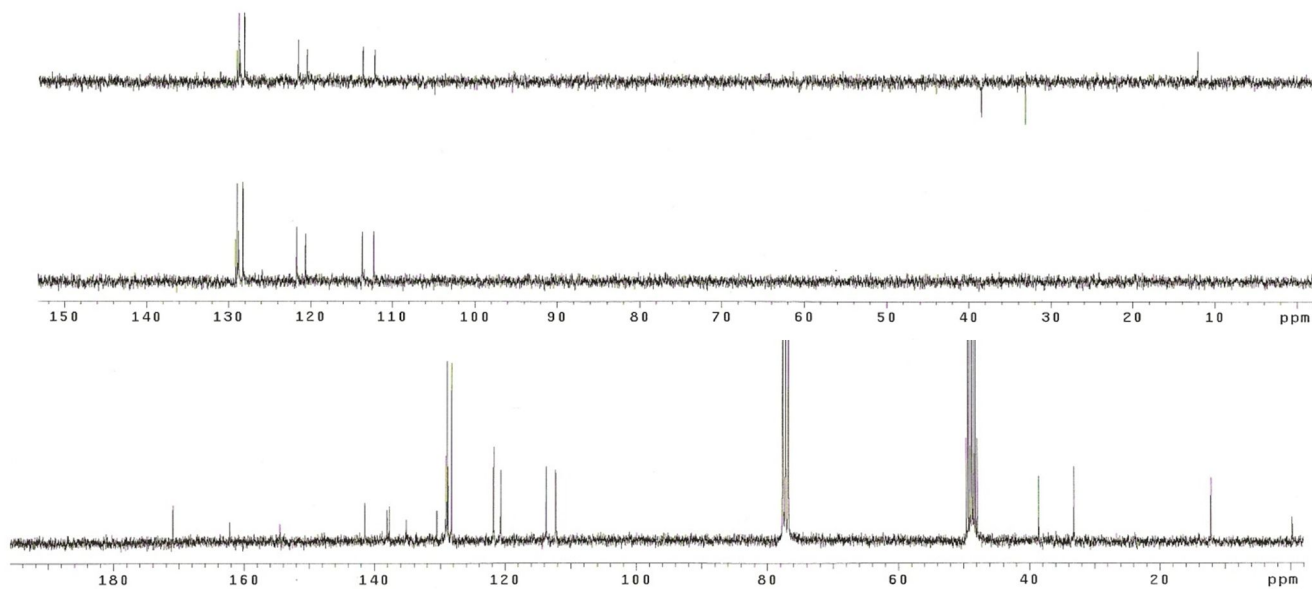


EHSQC 16 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) **61a** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$

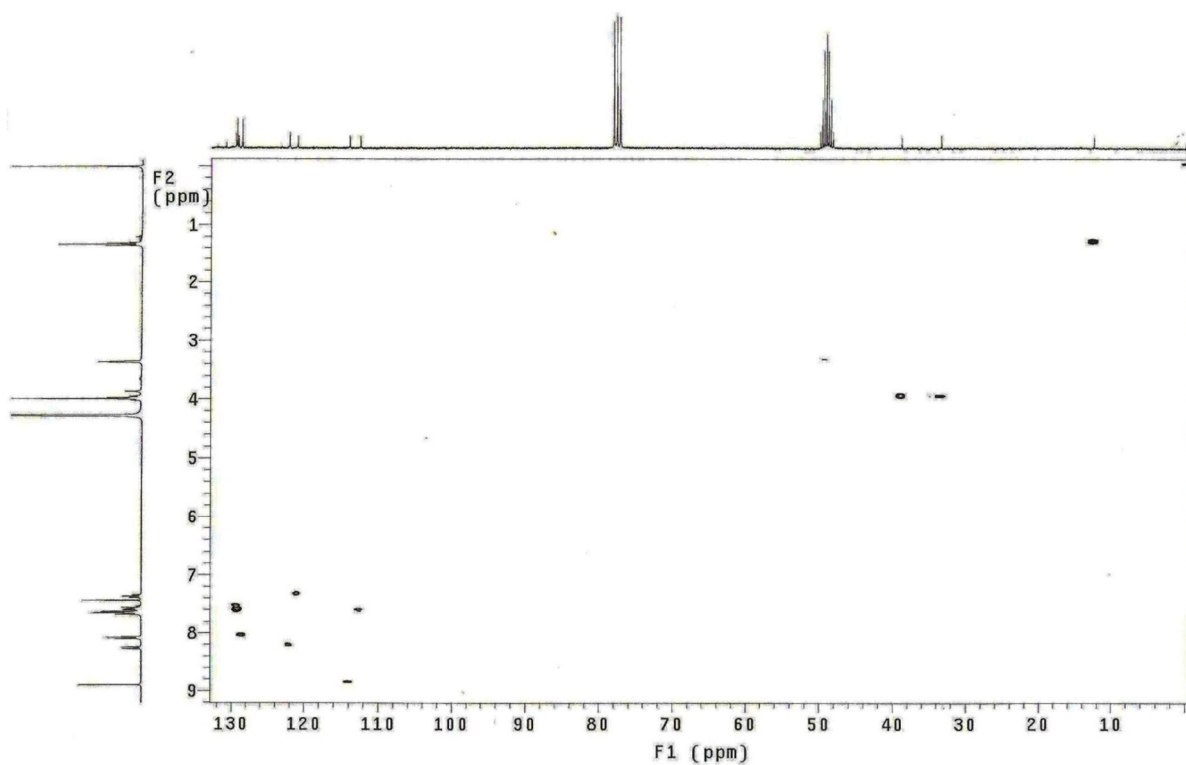
Anexo 17: 1-(fenil)- β -carbolina-3-carbonilhidrazono-(3-etil)4-tiazolidinona (**61b**)

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	137,6
3 C ₀	-	138,0
4 CH	8,84 (s, 1H)	113,6
4a C ₀	-	-
4b C ₀	-	-
5 CH	8,20 (d; 8,1; 1H)	121,7
6 CH	7,31 (t; 7,3; 1H)	120,6
7 CH	7,48-7,54 (m, 1H)	128,7
8 CH	7,48-7,54 (m, 1H)	112,2
8a C ₀	-	141,4
9 NH	-	-
9a C ₀	-	137,6
1' C ₀	-	130,4
2'/6' CH	8,02 (d; 7,9; 1H)	128,2
3'/5' CH	7,57-7,61 (m, 2H)	128,9
4' CH	7,57-7,61 (m, 1H)	129,1
C=O _{β}	-	162,1
NH	-	-
C=N	-	154,3
4''C=O	-	170,8
5''CH ₂	3,89-3,96 (m, 2H)	33,1
CH ₂	3,89-3,96 (m, 2H)	38,5
CH ₃	1,28 (t; 7,2; 3H)	12,1

ERMN **1H-17**: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **61b** em CDCl₃/CD₃OD.



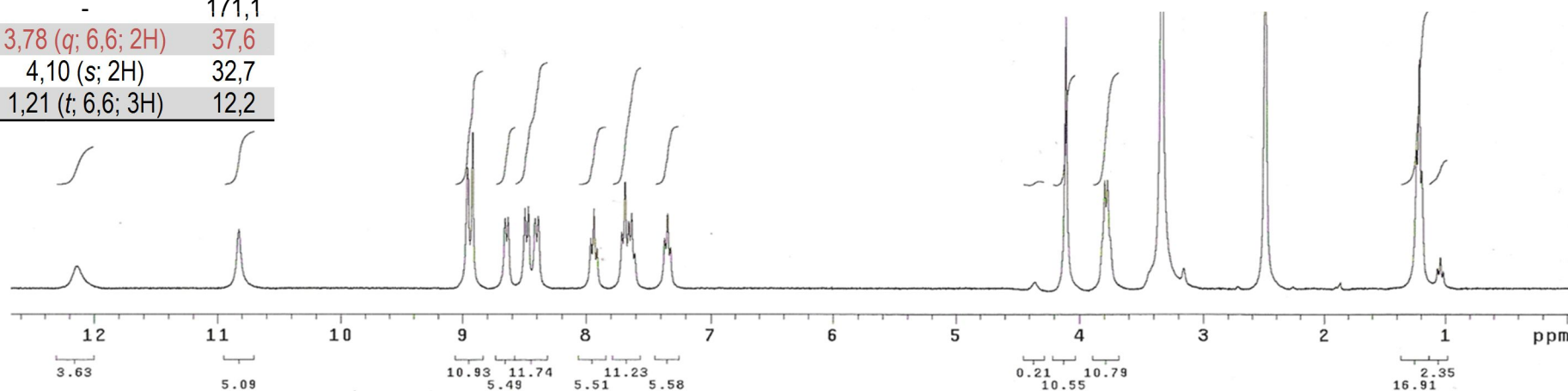
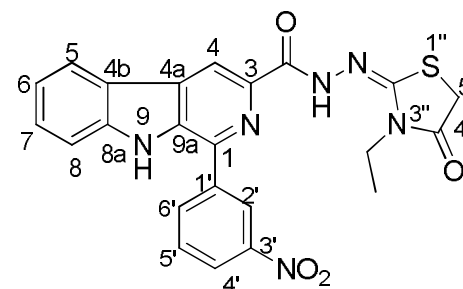
ERMN ¹³C-17: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) de **61b** em CDCl₃/CD₃OD.



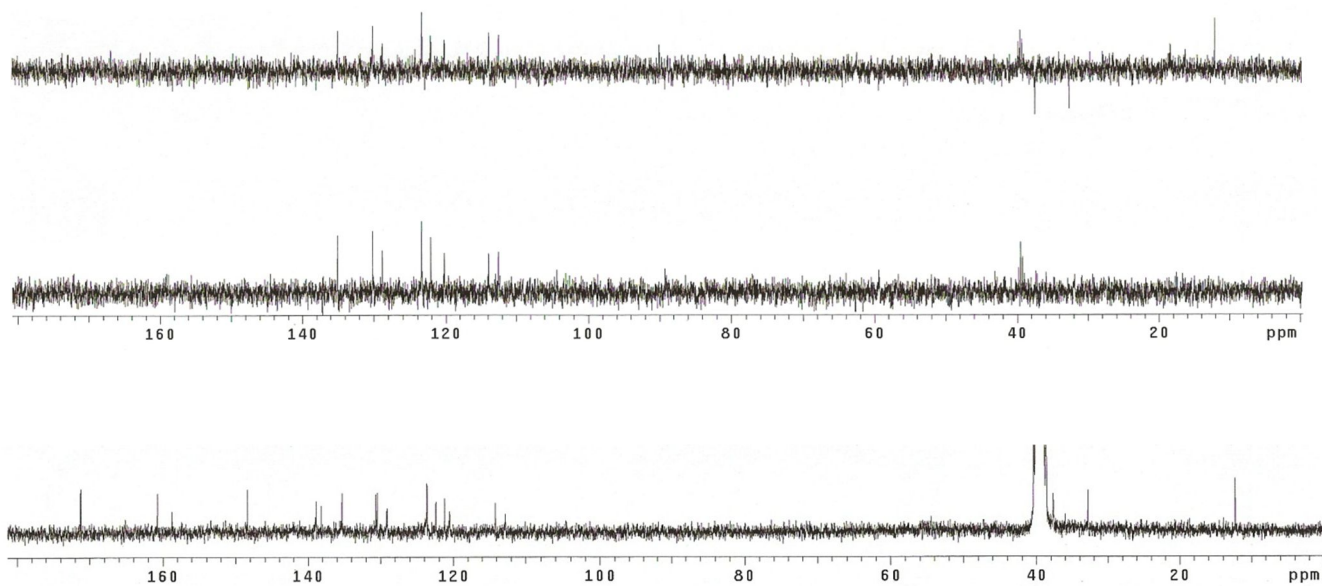
EHSQC 17 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **61b** em CDCl₃/CD₃OD

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	138,8
3 C ₀	-	138,1
4 CH	8,92 (s, 1H)	114,1
4a C ₀	-	-
4b C ₀	-	-
5 CH	8,64 (d; 6,9; 1H)	135,2
6 CH	7,34 (t; 7,0; 1H)	120,4
7 CH	7,60-7,71 (m, 1H)	129,0
8 CH	7,60-7,71 (m, 1H)	112,7
8a C ₀	-	141,1
9 NH	12,13 (s)	145,9
9a C ₀	-	141,1
1' C ₀	-	130,3
2' CH	8,96 (s)	123,6
3' C ₀	-	148,3
4' CH	8,48 (d; 7,5; 1H)	121,1
5' CH	7,93 (t; 7,6; 1H)	130,5
6' CH	8,40 (d; 7,5; 1H)	122,3
C=O _{β}	-	160,0
NH	10,82 (s)	-
C=N	-	158,7
4''C=O	-	171,1
5''CH ₂	3,78 (q; 6,6; 2H)	37,6
CH ₂	4,10 (s; 2H)	32,7
CH ₃	1,21 (t; 6,6; 3H)	12,2

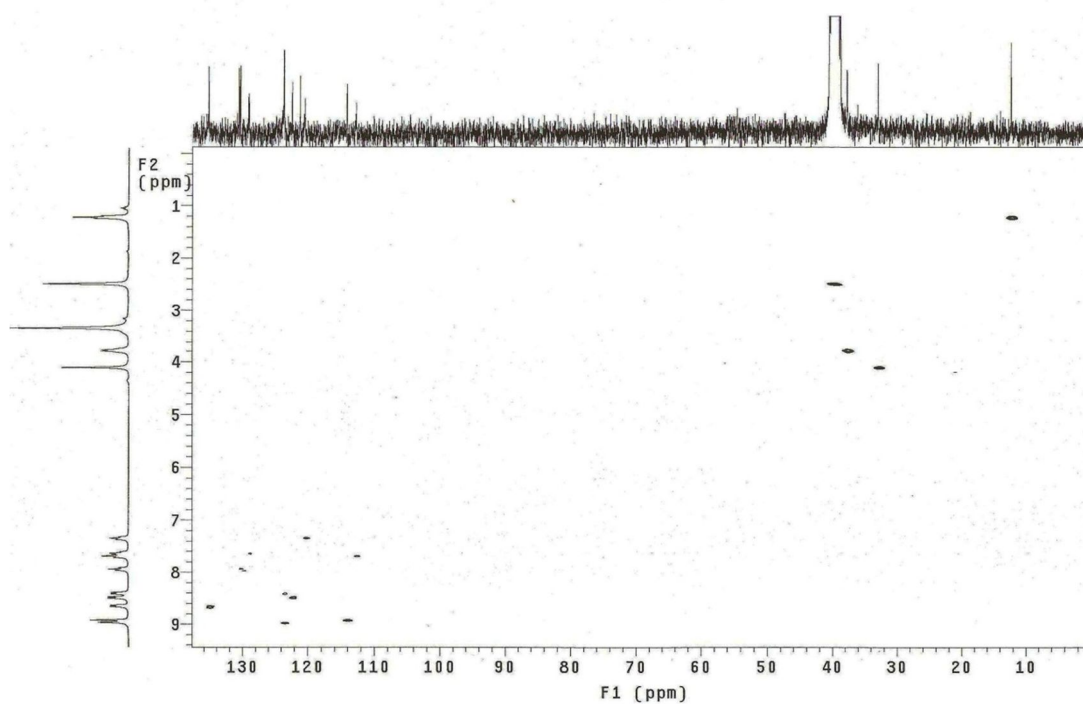
Anexo 18: 1-(*m*-nitrofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-etil)4-tiazolidinona (**61c**)



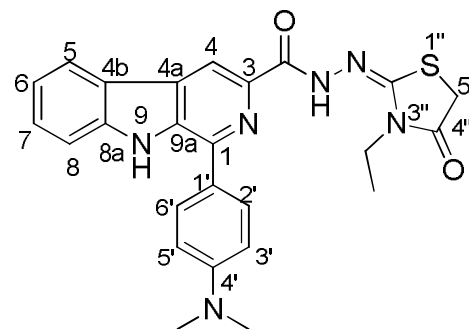
ERMN ¹H-18: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **61c** em DMSO-*d*₆.



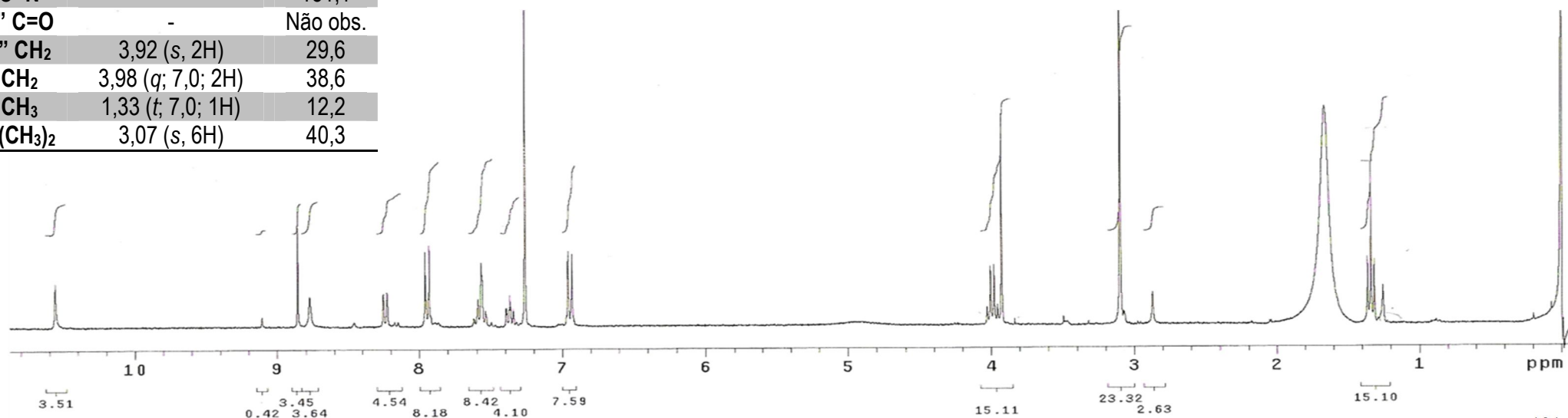
ERMN ¹³C-18: Espectro de RMN de ¹³C/DEPT (75,5 MHz) de **61c** em DMSO-d₆.

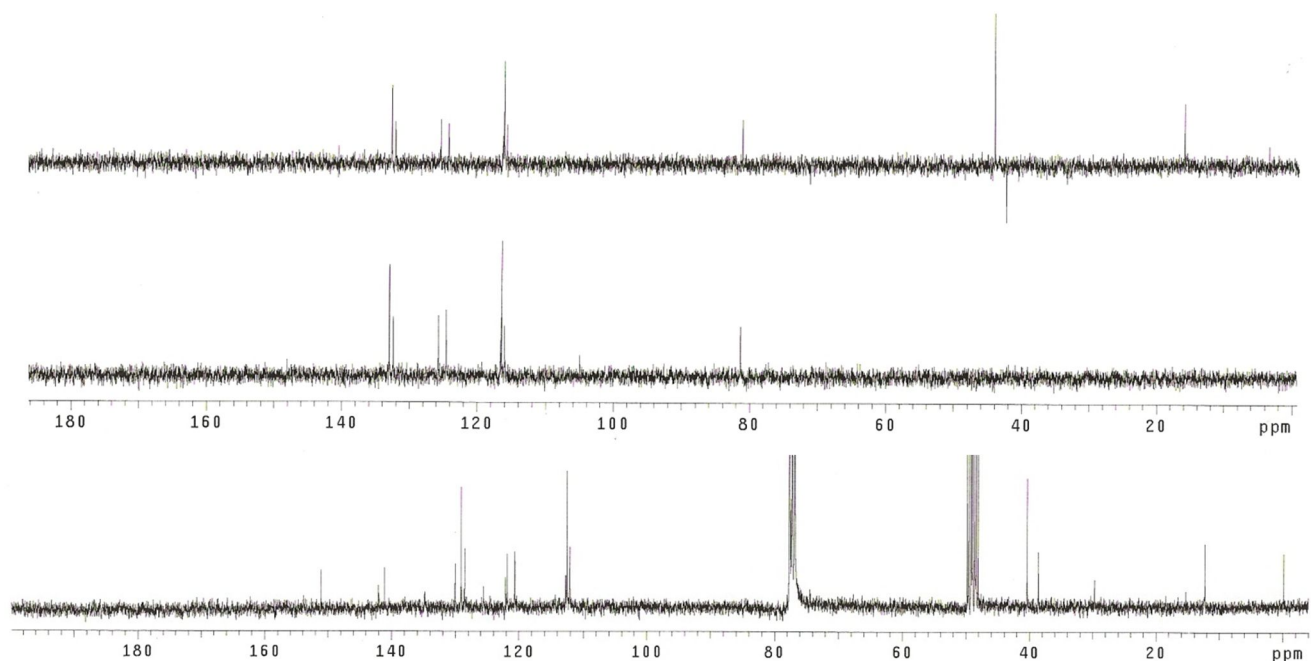


EHSQC 18 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **61c** em DMSO-d₆.

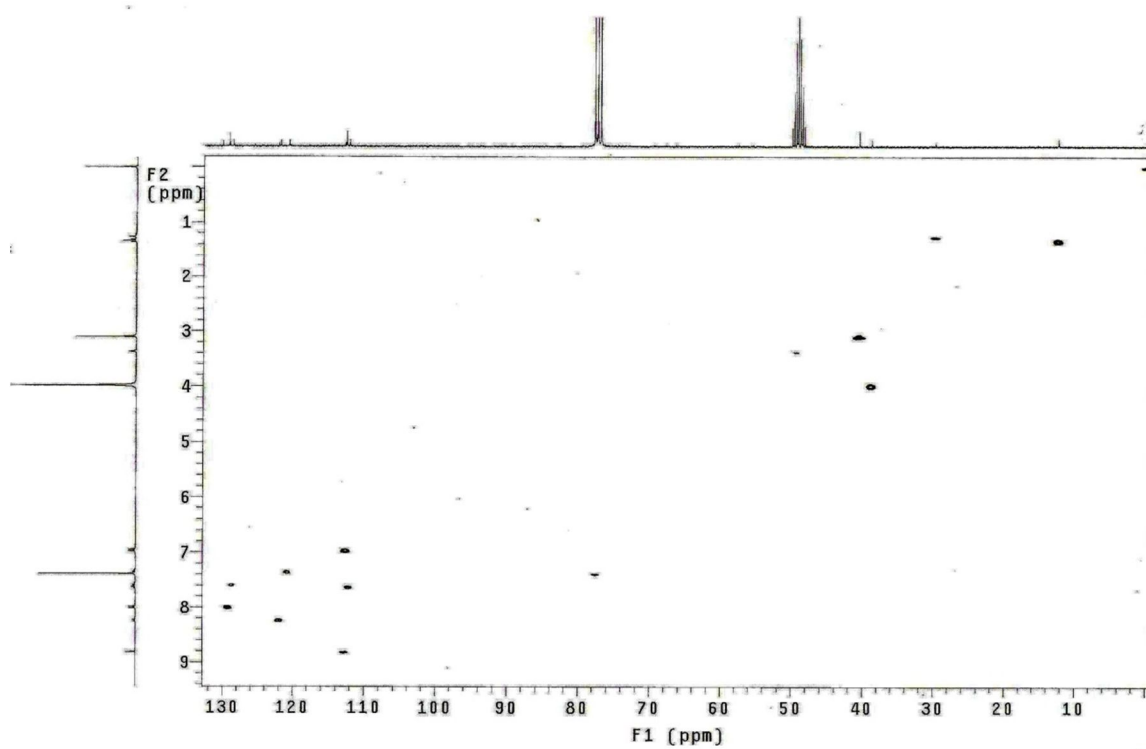
Anexo 19: 1-(*p*-dimetilaminofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-etil)4-tiazolidinona (**61d**)

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	130,0
3 C ₀	-	141,1
4 CH	8,85 (s, 1H)	112,7
4a C ₀	-	-
4b C ₀	-	125,5
5 CH	8,23 (d; 7,8; 1H)	120,8
6 CH	7,36 (dt; 15, 7,0; 1H)	120,6
7 CH	7,53-7,61 (m, 1H)	128,5
8 CH	7,53-7,61 (m, 1H)	112,1
8a C ₀	-	142,0
9 NH	10,50 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	134,9
1' C ₀	-	122,0
2'/6' CH	7,94 (d; 9,0; 2H)	129,1
3'/5' CH	6,94 (d; 9,0; 2H)	112,5
4' C ₀	-	-
C=O _{β}	-	Não obs.
NH	-	-
C=N	-	151,1
4'' C=O	-	Não obs.
5'' CH ₂	3,92 (s, 2H)	29,6
CH ₂	3,98 (q; 7,0; 2H)	38,6
CH ₃	1,33 (t; 7,0; 1H)	12,2
N(CH ₃) ₂	3,07 (s, 6H)	40,3

ERMN ¹H-19: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **61d** em CDCl₃/CD₃OD.



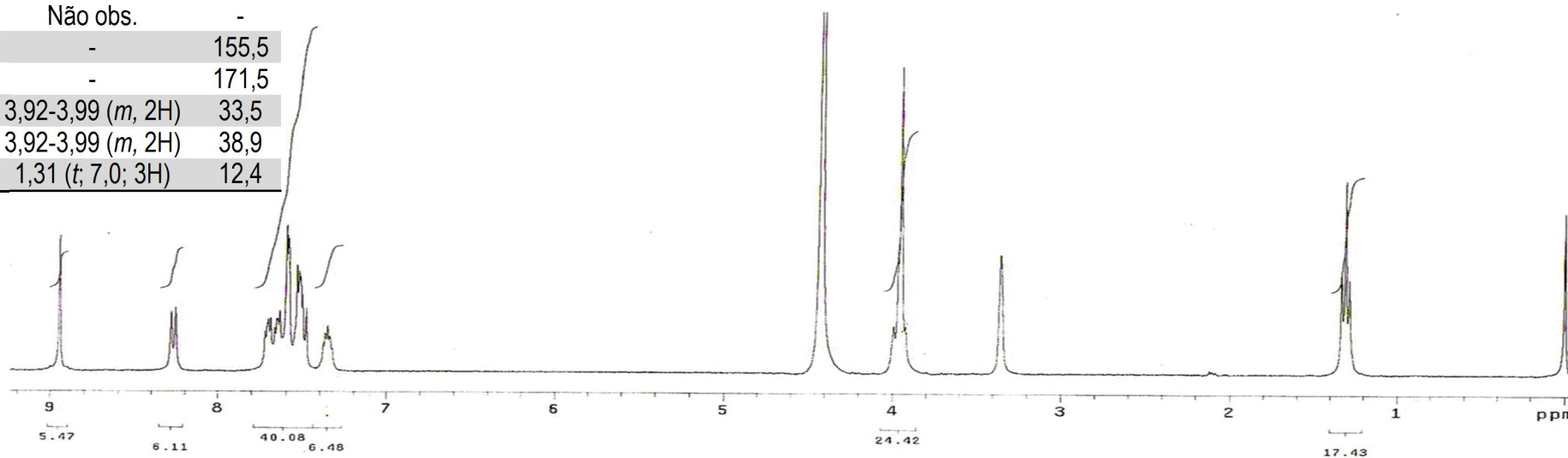
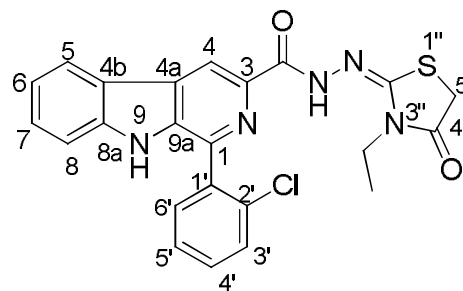
ERMN ^{13}C -19: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **61d** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.



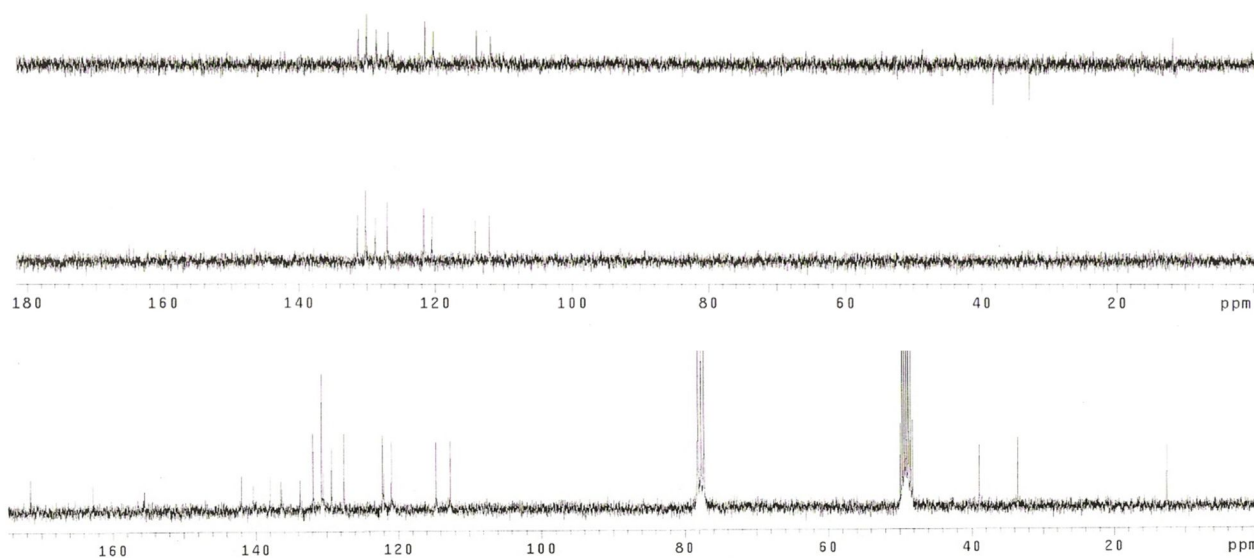
EHQC 19 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **61d** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	140,3
3 C ₀	-	136,5
4 CH	8,94 (s, 1H)	114,6
4a C ₀	-	130,4
4b C ₀	-	122,0
5 CH	8,27 (d; 8,1; 1H)	122,1
6 CH	7,35	120,9
7 CH	7,48-7,53 (m, 1H)	127,5
8 CH	7,48-7,53 (m, 1H)	112,6
8a C ₀	-	141,9
9 NH	8,95 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	137,9
1' C ₀	-	133,7
2' C ₀	-	136,3
3' CH	7,58-7,72 (m, 1H)	131,8
4' CH	7,58-7,72 (m, 1H)	130,7
5' CH	7,58-7,72 (m, 1H)	130,7
6' CH	7,58-7,72 (m, 1H)	129,2
C=O _{β}	-	162,7
NH	Não obs.	-
C=N	-	155,5
4'' C=O	-	171,5
5'' CH ₂	3,92-3,99 (m, 2H)	33,5
CH ₂	3,92-3,99 (m, 2H)	38,9
CH ₃	1,31 (t; 7,0; 3H)	12,4

Anexo 20: 1-(*o*-clorofenil)- β -carbolina-3-carbonilhidrazono-(3-etil)4-tiazolidinona (**61f**)



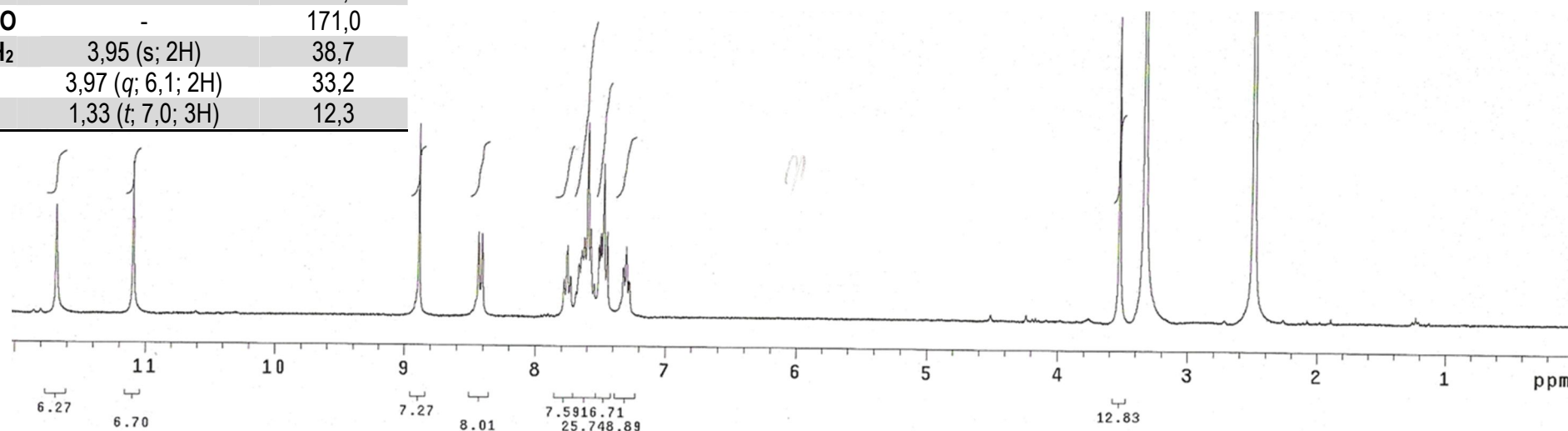
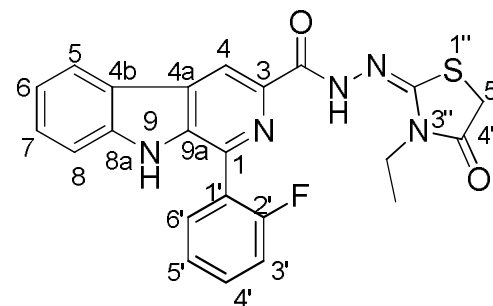
ERMN ¹H-20: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **61f** em CDCl₃/CD₃OD.



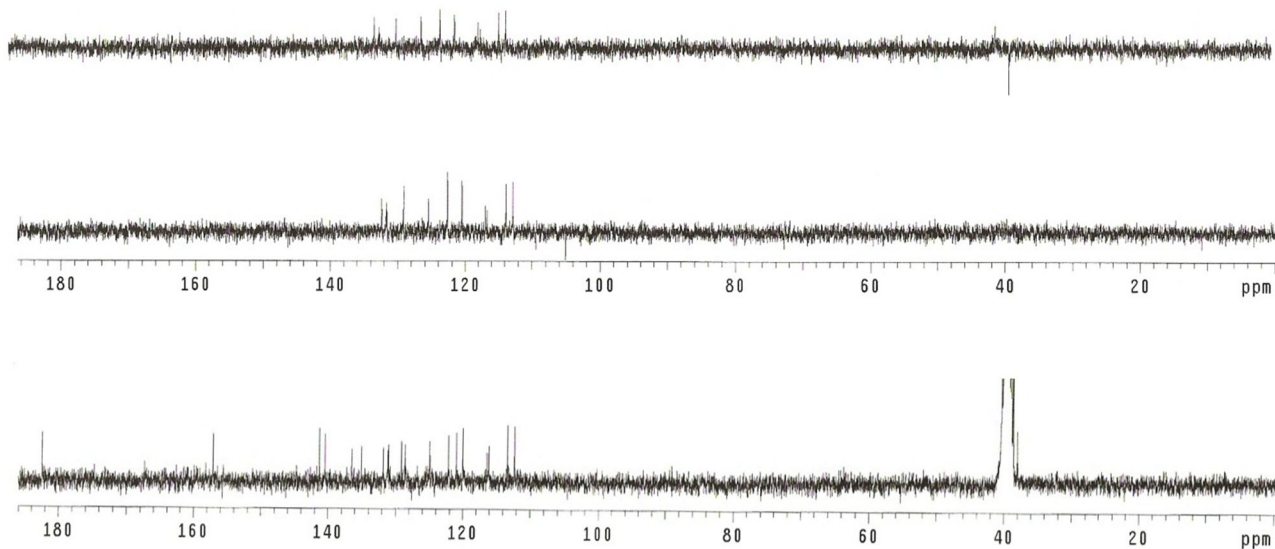
ERMN ^{13}C -20: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **61f** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C (J=Hz)
1C ₀	-	136,0
3 C ₀	-	136,9
4	8,95 (s, 1H)	114,3
4a C ₀	-	121,6
4b C ₀	-	130,3
5CH	8,26 (d; 7,8; 1H)	121,9
6CH	7,31-7,36 (m; 3H)	120,8
7CH	7,53-7,61(m; 2H)	129,1
8CH	7,53-7,61 (m; 2H)	112,6
8a C ₀	-	138,2
9 NH	11,02 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	141,3
1' C ₀	-	125,4 (14,8)
2' C ₀	-	156,8(283,0)
3'CH	7,31-7,36 (m; 3H)	116,3(21,9)
4'CH	7,41 (td; 7,6; 1,2; 1H)	131,1(8,2)
5'CH	7,88 (td; 7,5; 1,8; 1H)	131,8(3,9)
6'CH	7,31-7,36 (m; 3H)	124,9(3,3)
C=O _{β}	-	162,1
NH	11,65 (s, 1H)	-
C=N	-	161,9
4'' C=O	-	171,0
5'' CH ₂	3,95 (s; 2H)	38,7
CH ₂	3,97 (q; 6,1; 2H)	33,2
CH ₃	1,33 (t; 7,0; 3H)	12,3

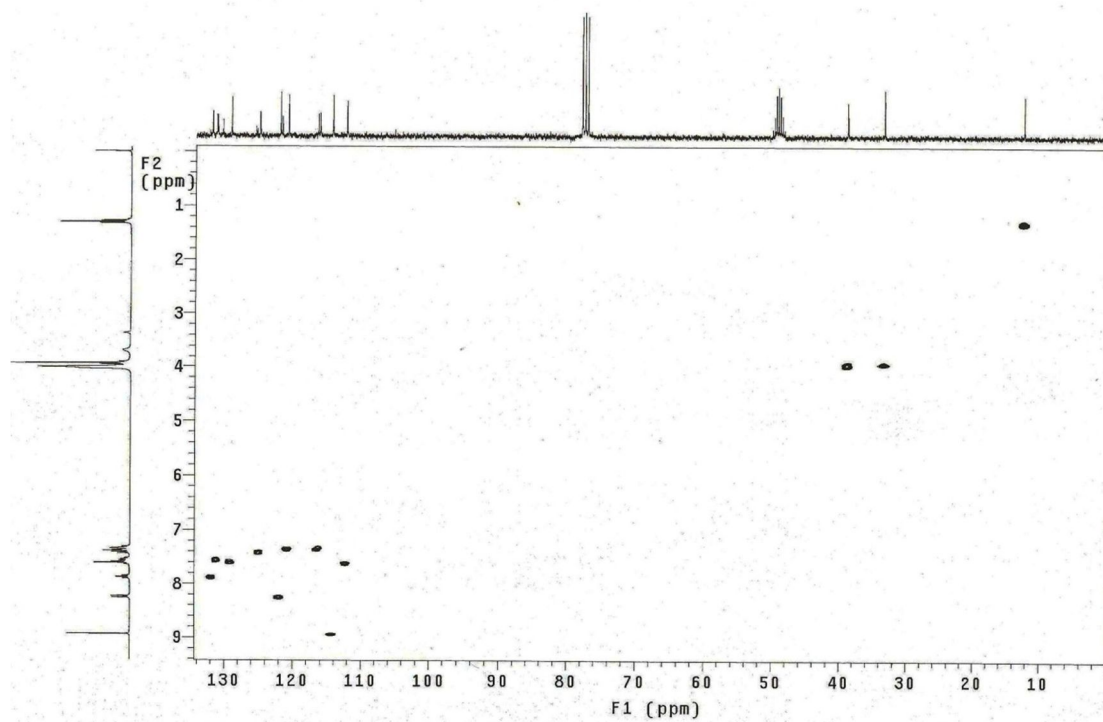
Anexo 21: 1-(*o*-fluorofenil)- β -carbolina-3-carbonilhidrazono-(3-etil)4-tiazolidinona (**61g**)



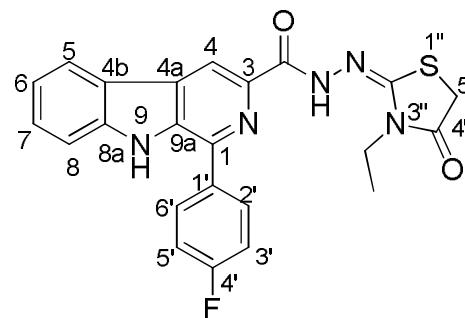
ERMN ¹H-21: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **61g** em DMSO-*d*₆.



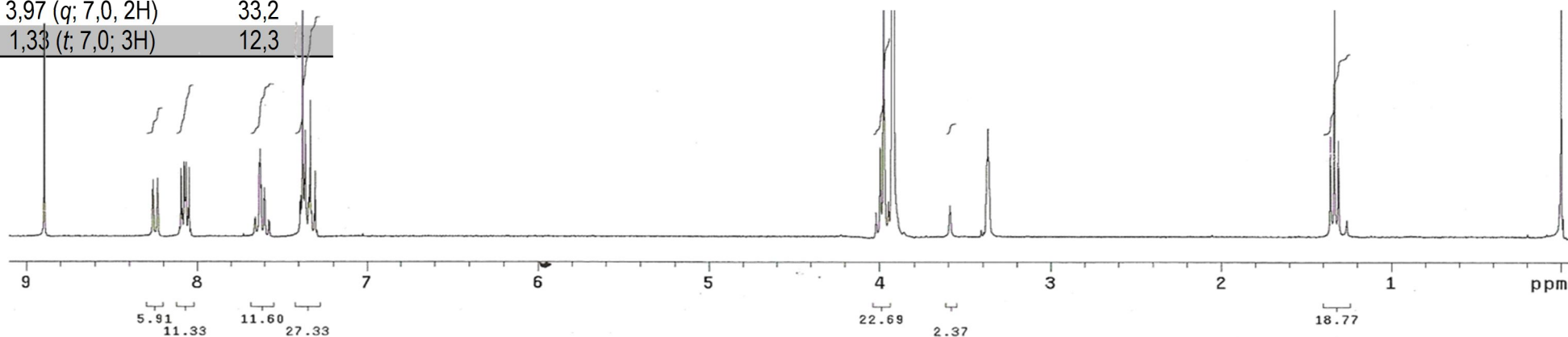
ERMN ^{13}C -21: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **61g** em $\text{DMSO-}d_6$.

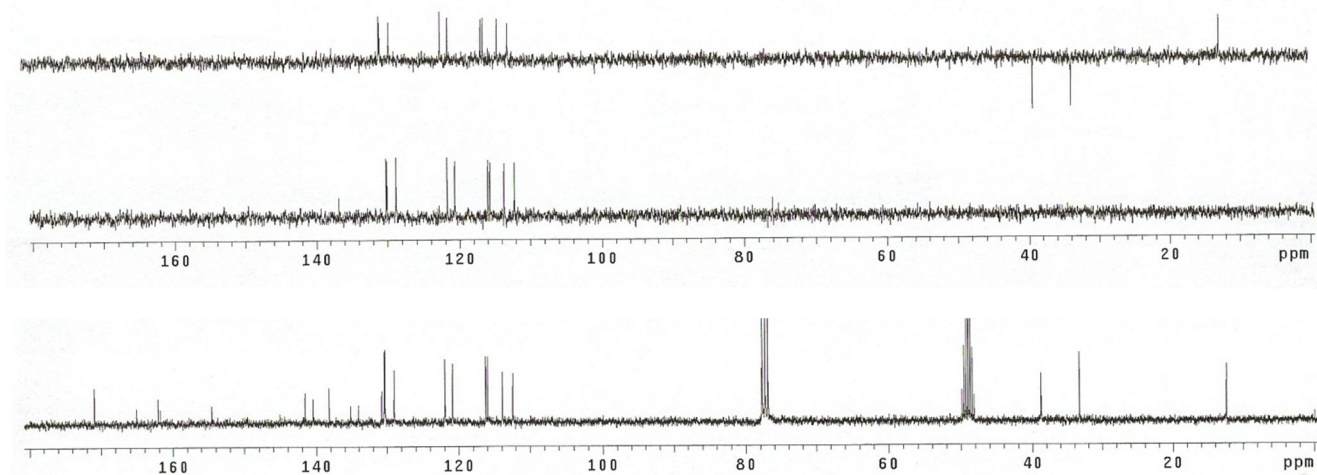


EHSQC 21 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **61g** em $\text{DMSO-}d_6$.

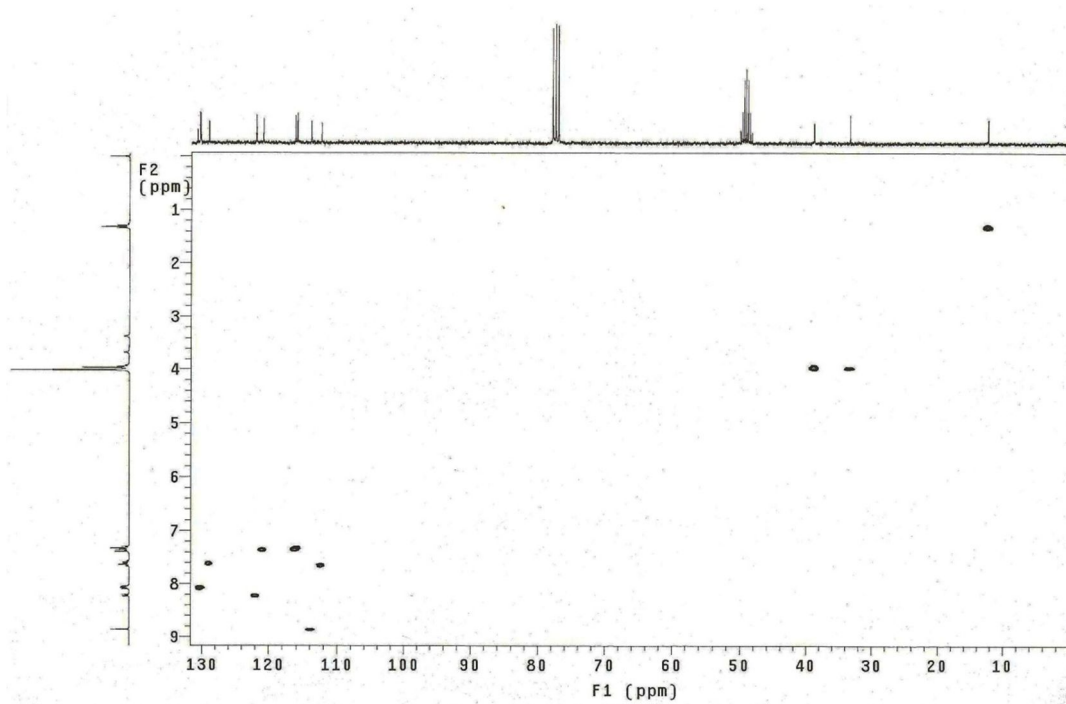
Anexo 22: 1-(*p*-fluorofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-etil)4-tiazolidinona (**61i**)

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C (J=Hz)
1C ₀	-	140,4
3 C ₀	-	141,0
4 CH	8,89 (s, 1H)	113,8
4a C ₀	-	Não obs.
4b C ₀	-	135,1
5 CH	8,24 (d; 7,8; 1H)	121,9
6 CH	7,29-7,39 (m, 1H)	120,8
7 CH	7,57-7,69 (m, 1H)	129,0
8 CH	7,57-7,69 (m, 1H)	112,3
8a C ₀	-	145,0
9 NH	Não obs.	-
9a C ₀	-	138,1
1' C ₀	-	132,1
2'/6' CH	-	130,3 (8,2)
3'/5' CH	7,29-7,39 (m, 1H)	116,0 (21,4)
4' C ₀	-	163,5 (247,5)
C=O _{β}	-	161,7
NH	Não obs.	-
C=N	-	154,5
4'' C=O	-	170,9
5'' CH ₂	3,97 (s, 2H)	38,7
CH ₂	3,97 (q; 7,0, 2H)	33,2
CH ₃	1,33 (t; 7,0; 3H)	12,3

ERMN ¹H-22: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **61i** em CDCl₃/CD₃OD.

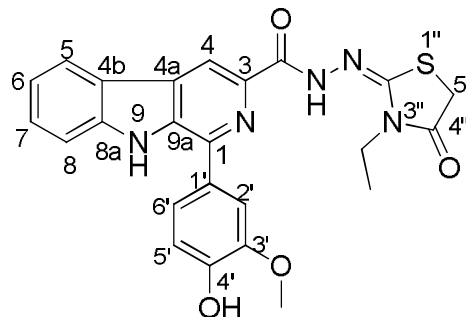


ERMN ^{13}C -22: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **61i** em

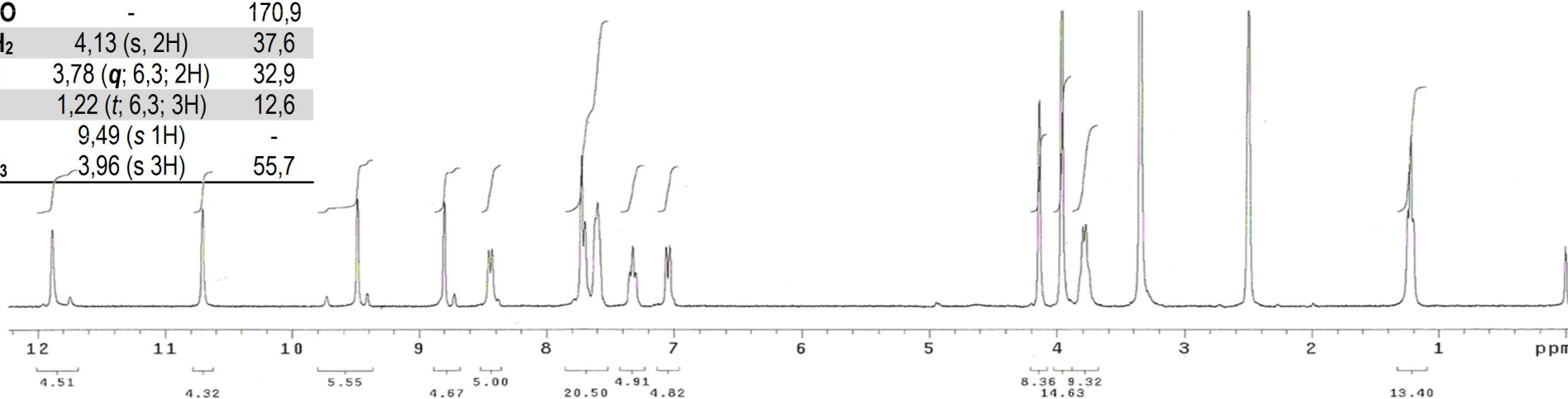


EHSQC 22 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) **61i** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.

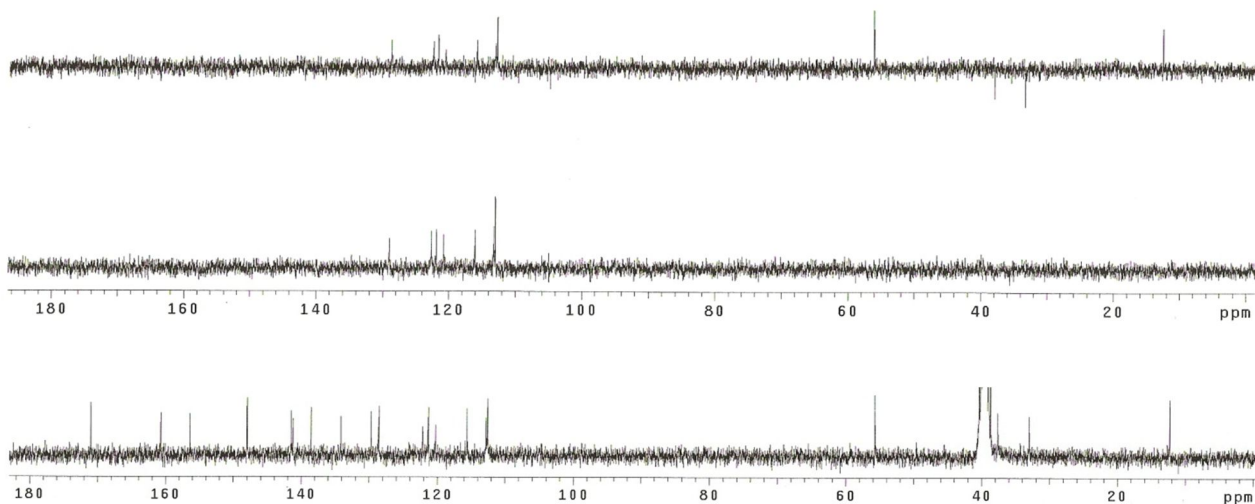
Anexo 23: 1-(*p*-hidroxi,*m*-metoxifenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-etil)
4-tiazolidinona (**61j**)



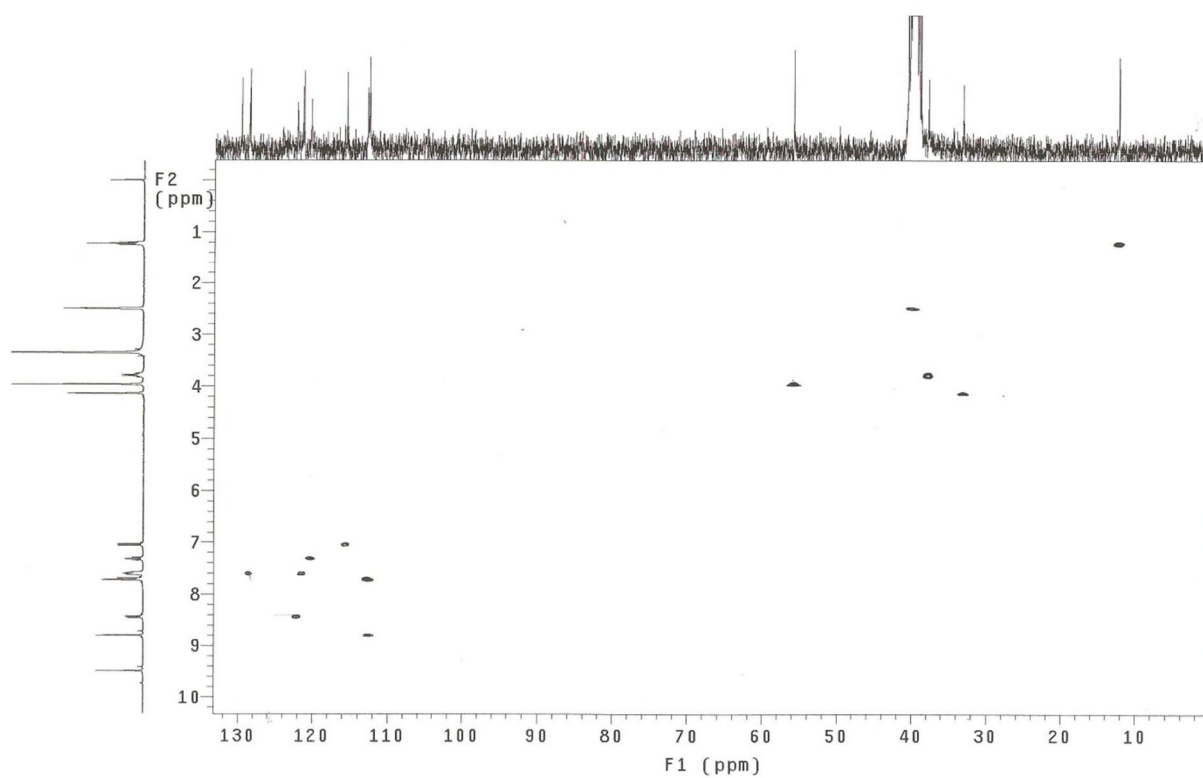
C/H	δ_H (<i>multipl.</i> ; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	138,5
3 C ₀	-	141,2
4 CH	8,80 (s, 1H)	112,5
4a C ₀	-	121,4
4b C ₀	-	128,5
5 CH	8,44 (<i>d</i> ; 8,4; 1H)	122,1
6 CH	7,31 (<i>t</i> ; 6,7; 1H)	120,2
7 CH	7,59-7,64 (<i>m</i> , 1H)	128,5
8 CH	7,70 (<i>d</i> ; 8,4; 1H)	112,7
8a C ₀	-	141,4
9 NH	11,88 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	-
1' C ₀	-	134,1
2' CH	7,59-7,64 (<i>m</i> , 1H)	121,2
3' C ₀	-	147,8
4' C ₀	-	147,9
5' CH	7,04 (<i>d</i> ; 8,1; 1H)	115,5
6' CH	7,59-7,64 (<i>m</i> , 1H)	121,2
C=O _{β}	-	160,6
NH	10,70 (s, 1H)	-
C=N	-	156,3
4'' C=O	-	170,9
5'' CH ₂	4,13 (s, 2H)	37,6
CH ₂	3,78 (<i>q</i> ; 6,3; 2H)	32,9
CH ₃	1,22 (<i>t</i> ; 6,3; 3H)	12,6
OH	9,49 (s 1H)	-
OCH ₃	3,96 (s 3H)	55,7



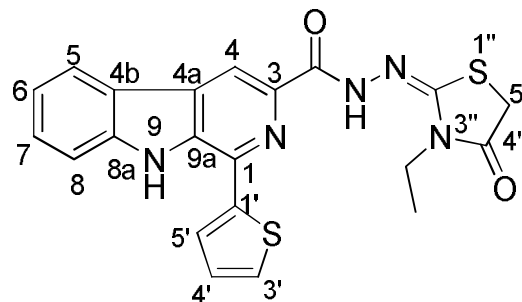
ERMN ¹H-23: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **61j** em DMSO-*d*₆.



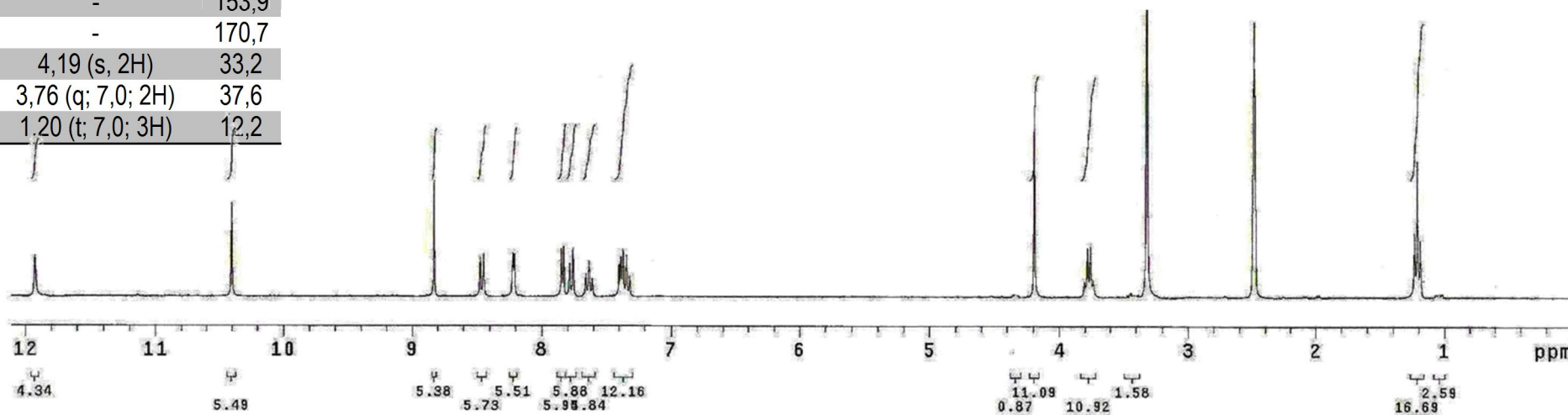
ERMN ^{13}C -23 Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **61j** em DMSO- d_6 .

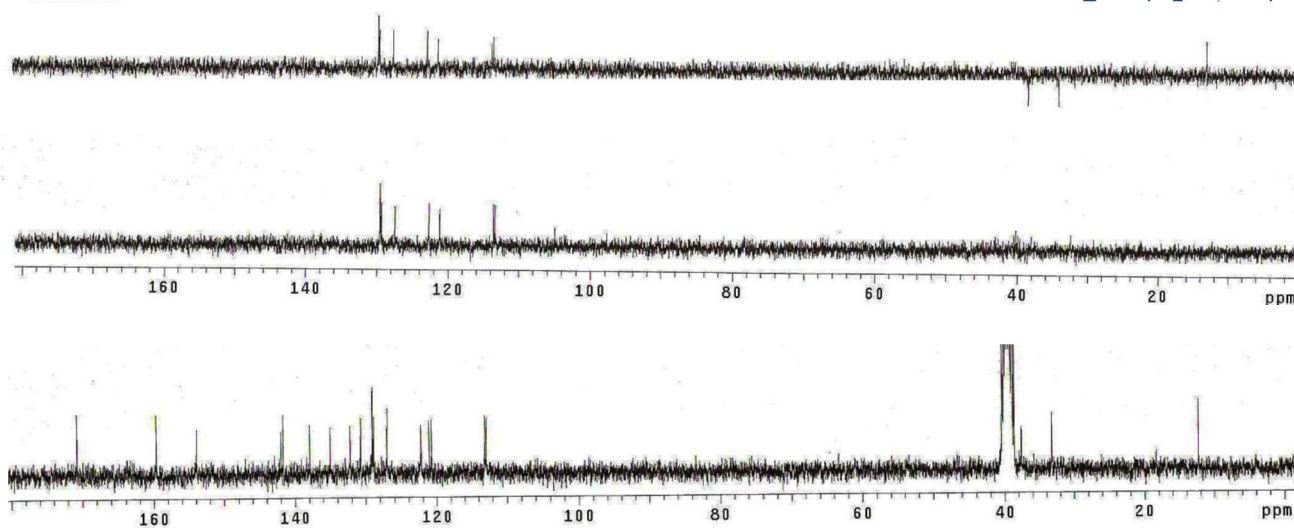


EHSQC 23 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) **61j** em DMSO- d_6 .

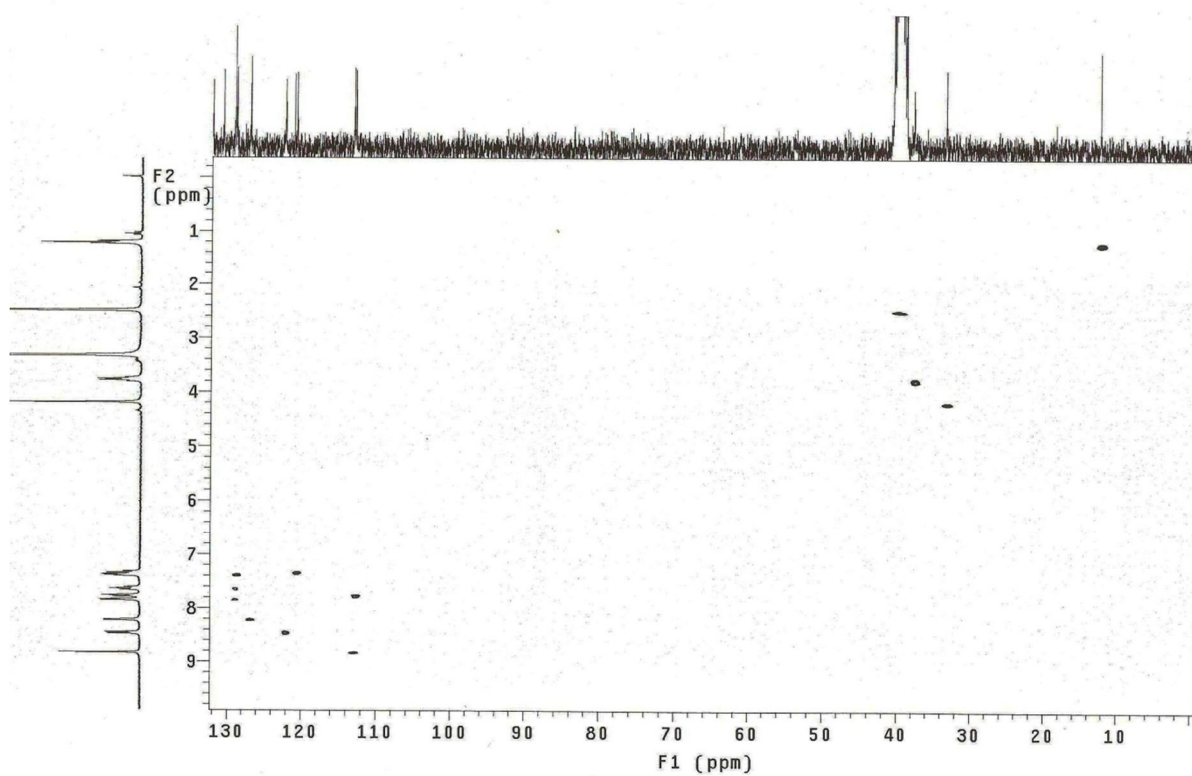
Anexo 24: 1-(2-tiofenila)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-etil)4-tiazolidinona (**61k**)

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	141,6
3 C ₀	-	134,9
4 CH	8,82 (s, 1H)	113,1
4a C ₀	-	130,7
4b C ₀	-	121,0
5 CH	8,45 (d; 7,8; 1H)	122,2
6 CH	7,31-7,40 (m, 1H)	120,7
7 CH	7,63 (t; 7,5; 1H)	129,0
8 CH	7,70 (d; 8,1; 1H)	112,8
8a C ₀	-	141,9
9 NH	12,92 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	137,9
1' C ₀	-	132,1
3' CH	8,21 (d; 3,6; 1H)	127,0
4' CH	7,84 (d; 5,1; 1H)	129,6
5' CH	7,31-7,40 (m, 1H)	128,8
C=O _{β}	-	159,6
NH	10,40 (s, 1H)	-
C=N	-	153,9
4'' C=O	-	170,7
5'' CH ₂	4,19 (s, 2H)	33,2
CH ₂	3,76 (q; 7,0; 2H)	37,6
CH ₃	1,20 (t; 7,0; 3H)	12,2

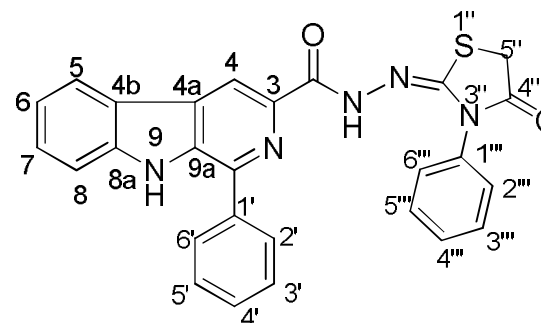
ERMN 1H-24: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **61k** em DMSO-*d*₆.



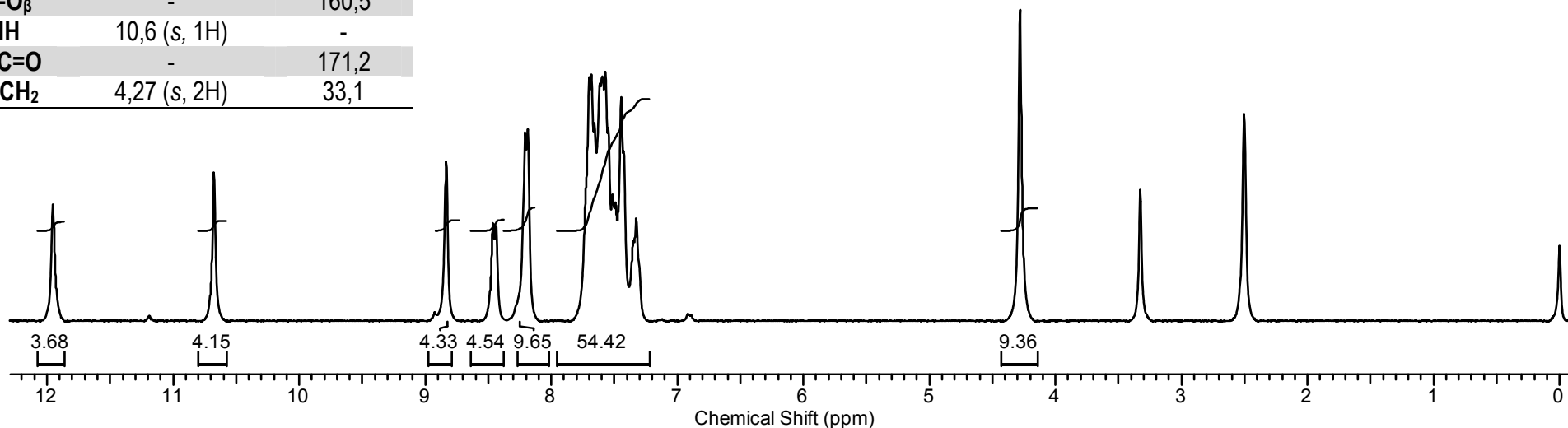
ERMN ¹³C-24: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) de **61k** em DMSO-*d*₆.

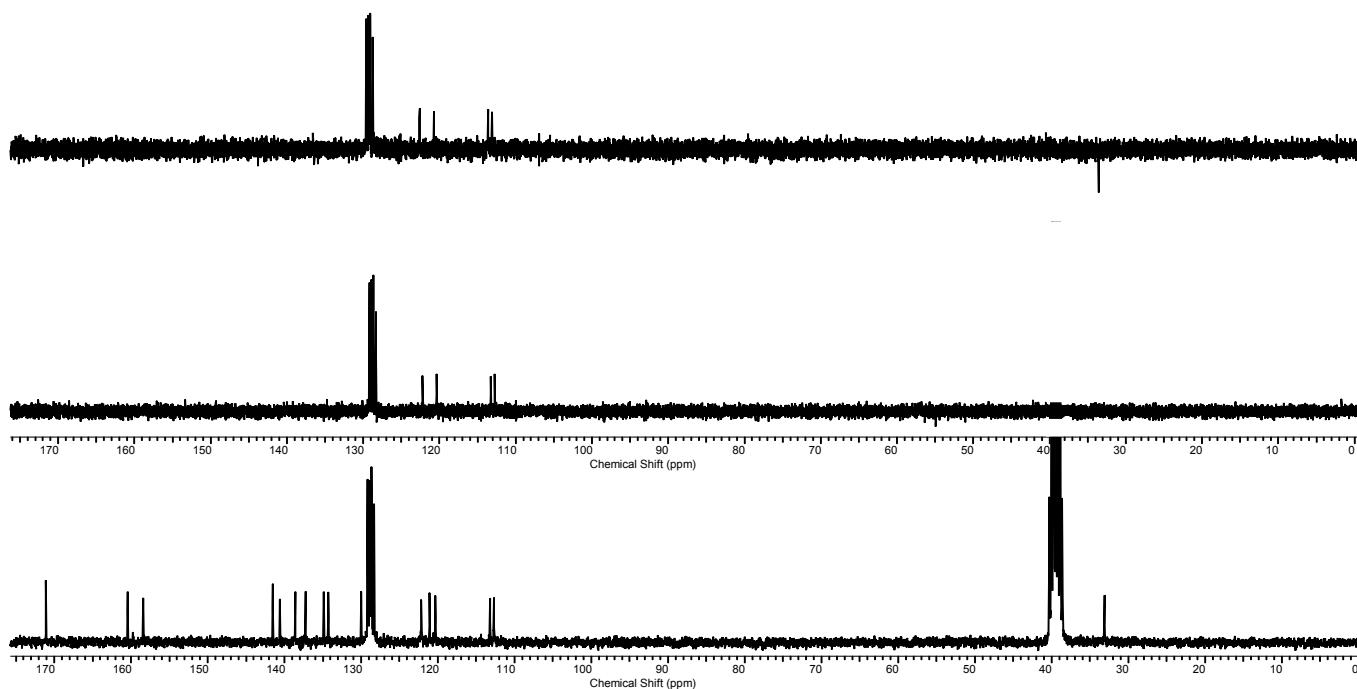
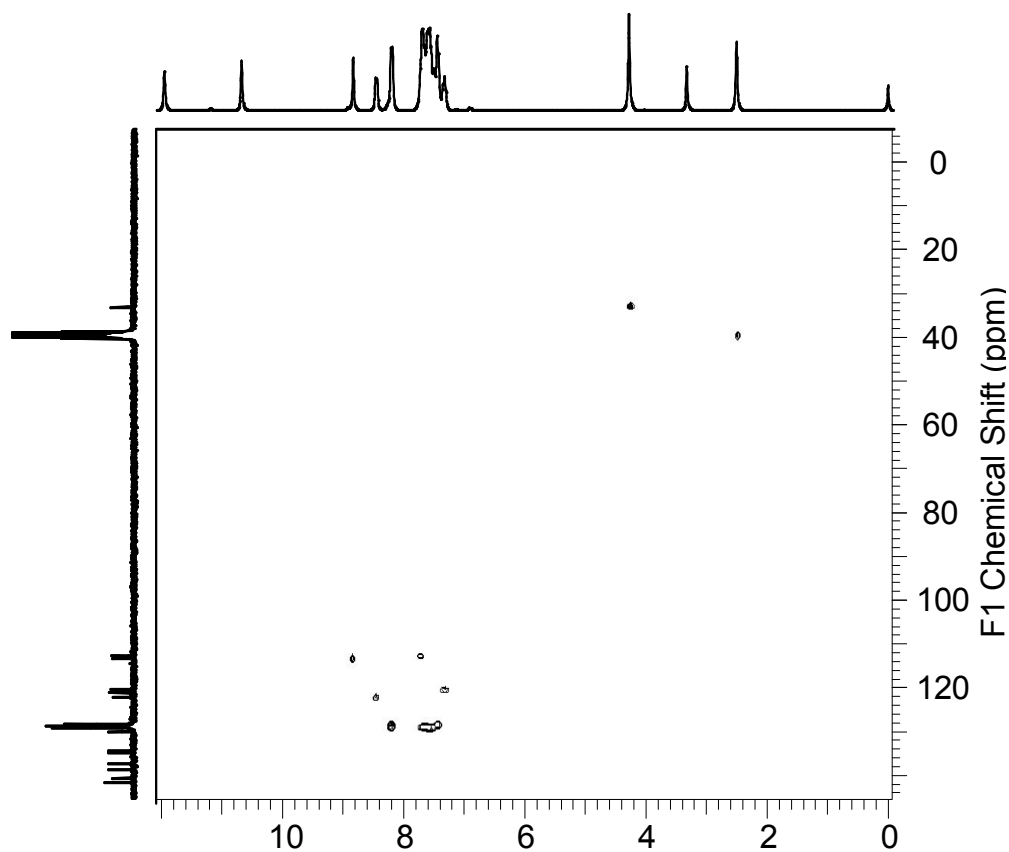


EHSQC 24 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **61k** em DMSO-*d*₆.

Anexo 25: 1-(fenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-fenil)4-tiazolidinona (**62b**)

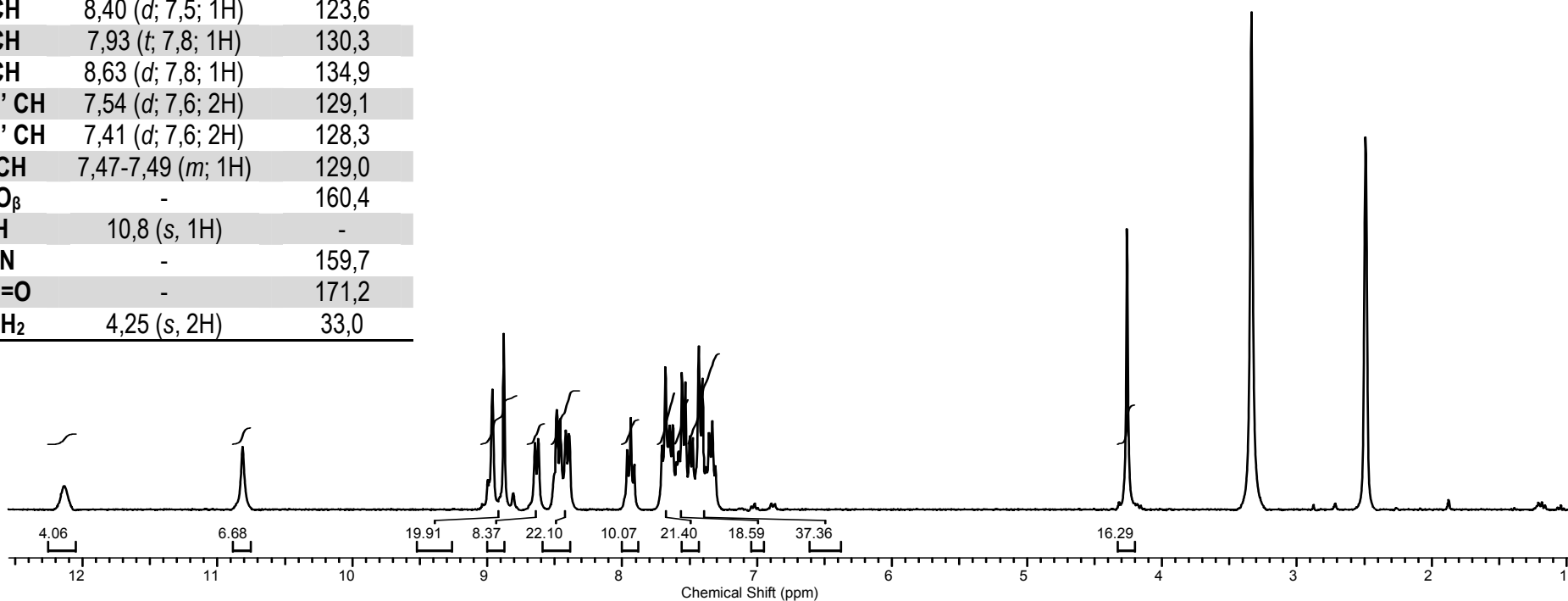
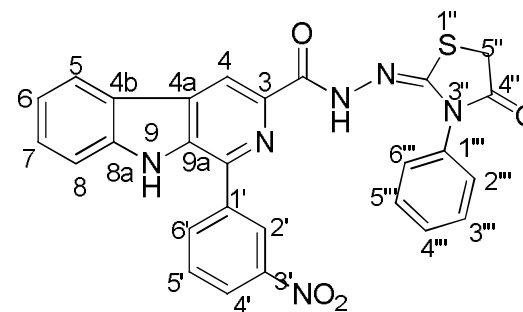
H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	140,6
3 C ₀	-	138,6
4 CH	8,83 (s; 1H)	113,2
4a C ₀	-	121,1
4b C ₀	-	130,0
5 CH	8,44 (d; 7,2; 1H)	122,2
6 CH	7,32 (t, 1H)	120,3
7 CH	7,57-7,61 (m, 1H)	128,7
8 CH	7,65-7,69 (m, 1H)	112,7
8a C ₀	-	141,5
9 NH	12,9 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	137,3
1'/1''' C ₀	-	134,3/134,9
2'/6' CH	8,19 (d, 6,3; 2H)	129,1
3'/5' CH	7,30-7,54 (m, 1H)	128,6
4'/4''' CH	7,30-7,54 (m, 1H)	Não obs.
2'''/6''' CH	7,30-7,54 (m, 1H)	128,9
3'''/5''' CH	7,30-7,54 (m, 1H)	128,3
C=O _{β}	-	160,5
NH	10,6 (s, 1H)	-
4'' C=O	-	171,2
5'' CH ₂	4,27 (s, 2H)	33,1

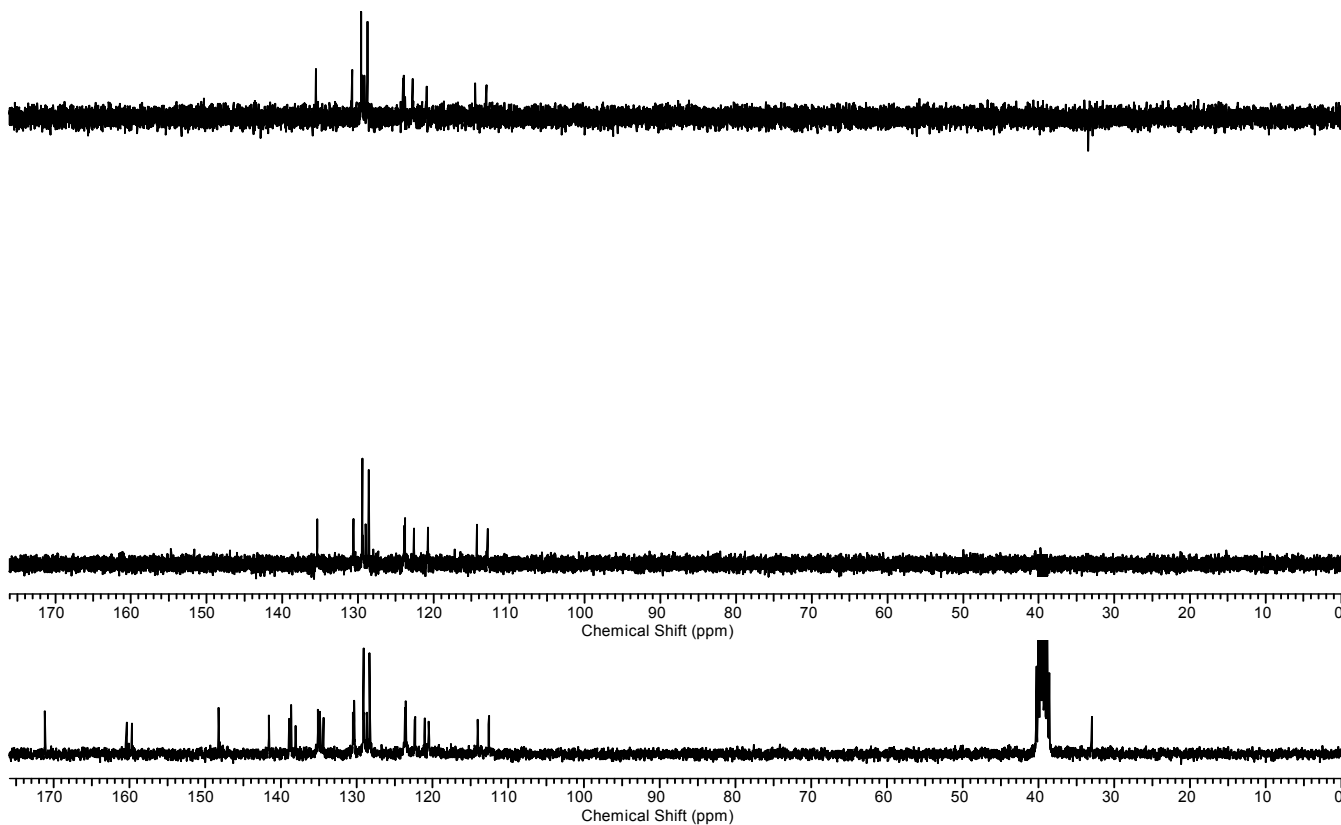
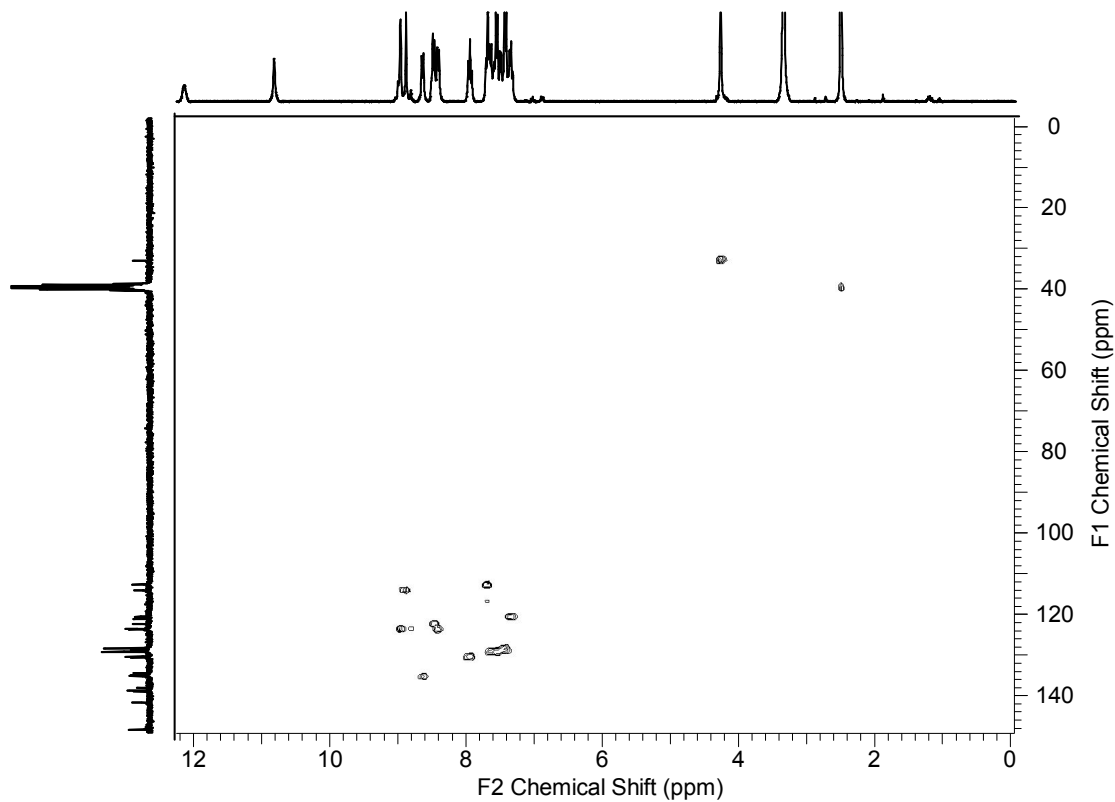
ERMN **1H-25**: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **62b** em DMSO-d₆.

ERMN ^{13}C -25: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **62b** em $\text{DMSO}-d_6$.EHSQC-25: Espectro de RMN HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **62b** em $\text{DMSO}-d_6$.

Anexo 26: 1-(*m*-nitrofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-fenil)4-tiazolidinona (**62c**)

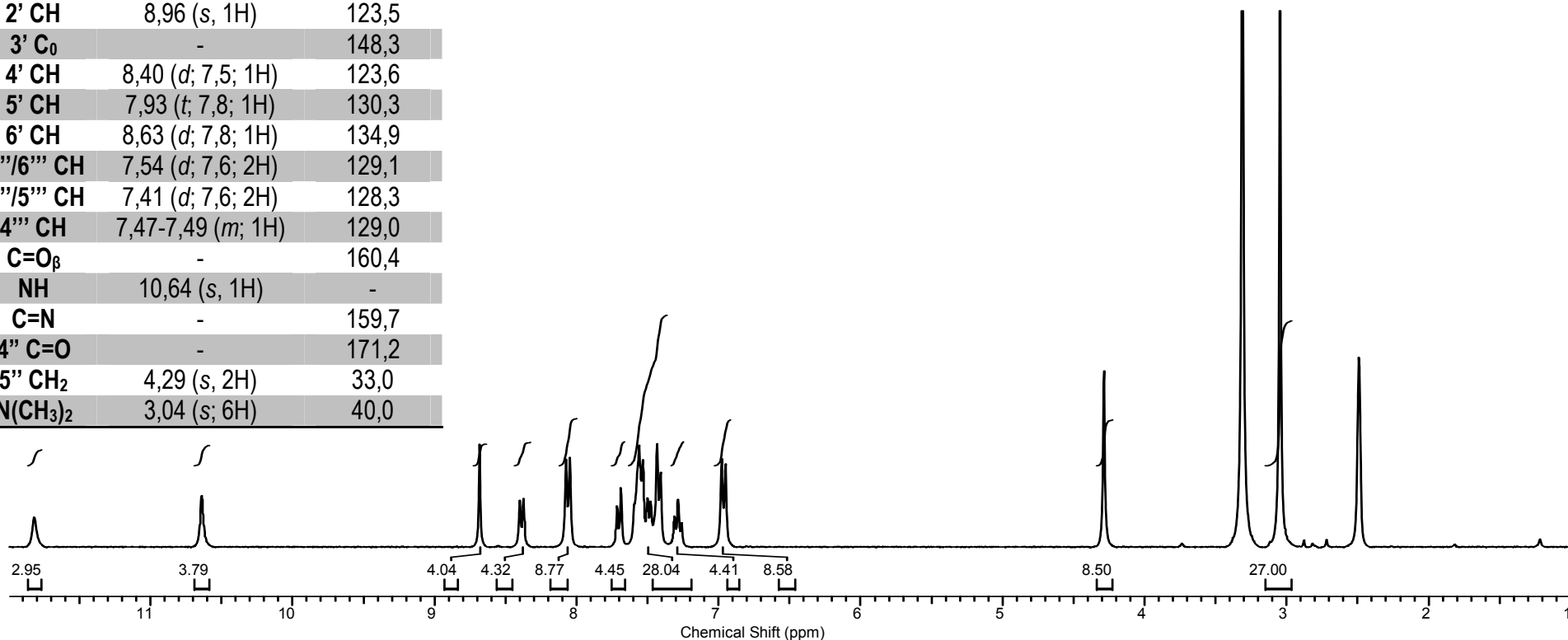
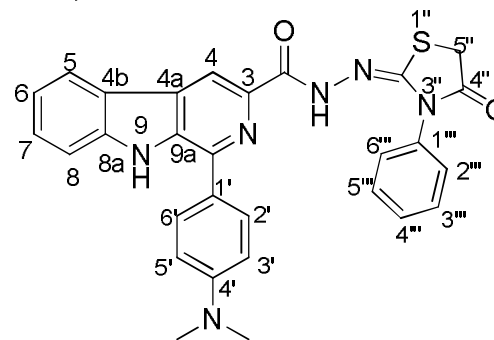
H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	138,1
3 C ₀	-	139,0
4 CH	8,87 (s; 1H)	114,1
4a C ₀	-	120,5
4b C ₀	-	134,4
5 CH	8,47 (d; 7,5; 1H)	122,3
6 CH	7,30-7,37 (m, 1H)	120,1
7 CH	7,62-7,70 (m, 1H)	128,7
8 CH	7,62-7,70 (m, 1H)	112,6
8a C ₀	-	141,6
9 NH	12,1 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	138,7
1'/1''' C ₀	-	130,5/135,2
2' CH	8,96 (s, 1H)	123,5
3' C ₀	-	148,3
4' CH	8,40 (d; 7,5; 1H)	123,6
5' CH	7,93 (t; 7,8; 1H)	130,3
6' CH	8,63 (d; 7,8; 1H)	134,9
2'''/6''' CH	7,54 (d; 7,6; 2H)	129,1
3'''/5''' CH	7,41 (d; 7,6; 2H)	128,3
4''' CH	7,47-7,49 (m; 1H)	129,0
C=O _{β}	-	160,4
NH	10,8 (s, 1H)	-
C=N	-	159,7
4'' C=O	-	171,2
5''CH ₂	4,25 (s, 2H)	33,0

ERMN ¹H-26: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **62c** em DMSO-*d*₆.

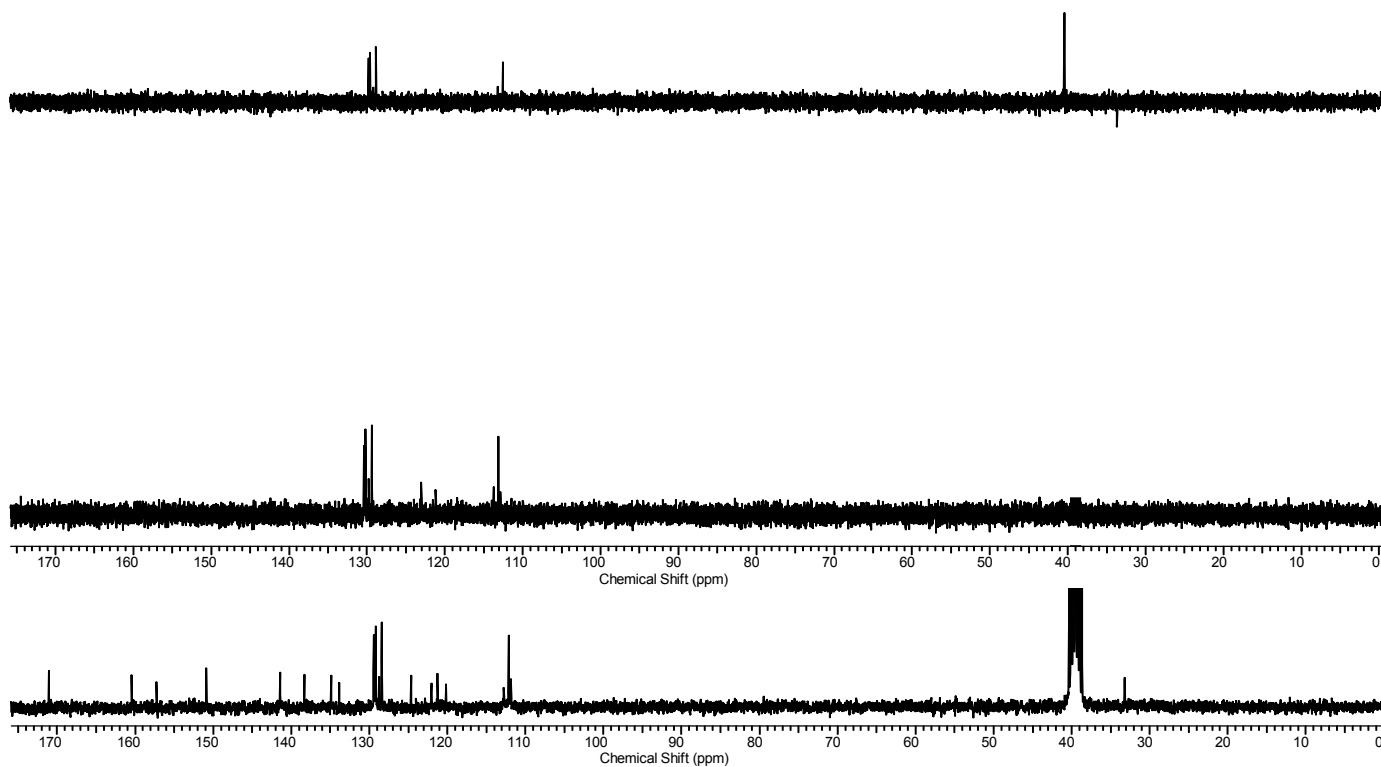
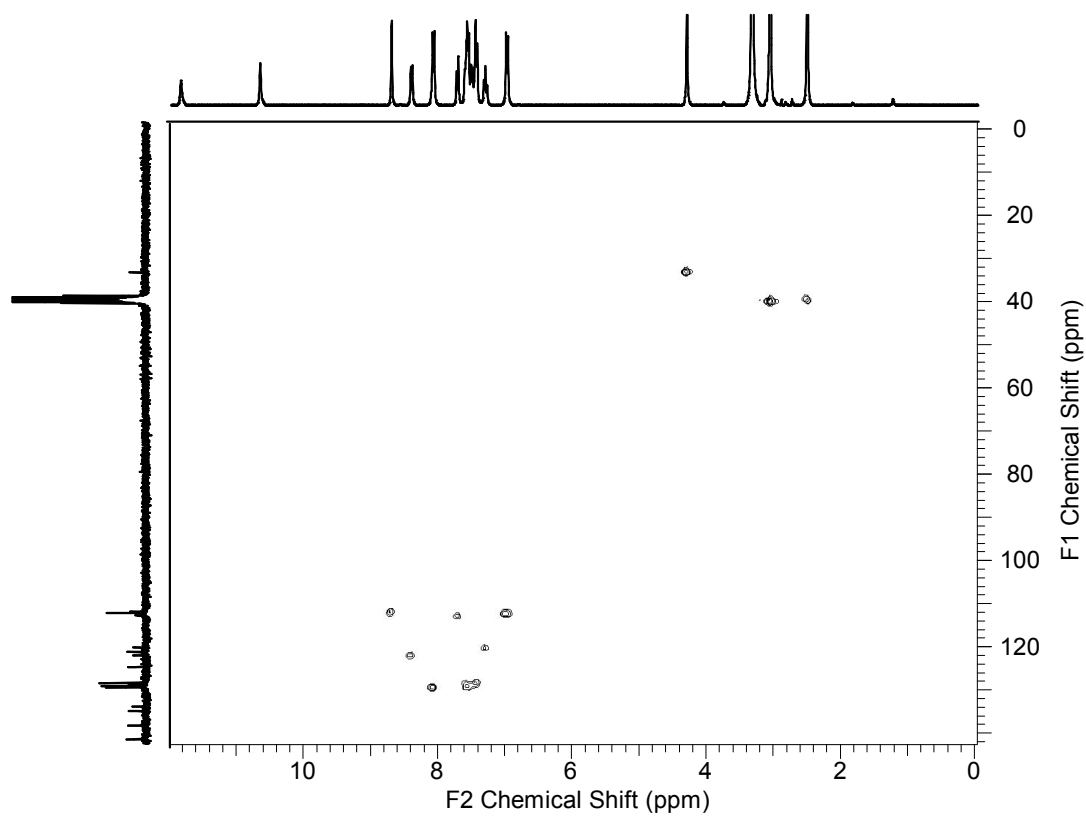
ERMN ^{13}C -26: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **62c** em $\text{DMSO-}d_6$.EHSQC-26: Espectro de RMN HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **62c** em $\text{DMSO-}d_6$.

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	138,1
3 C ₀	-	139,0
4 CH	8,87 (s; 1H)	114,1
4a C ₀	-	120,5
4b C ₀	-	134,3
5 CH	8,47 (d; 7,5; 1H)	122,3
6 CH	7,30-7,37 (m, 1H)	120,1
7 CH	7,62-7,70 (m, 1H)	128,7
8 CH	7,62-7,70 (m, 1H)	112,6
8a C ₀	-	141,6
9 NH	12,80 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	138,7
1'/1''' C ₀	-	130,5/135,2
2' CH	8,96 (s, 1H)	123,5
3' C ₀	-	148,3
4' CH	8,40 (d; 7,5; 1H)	123,6
5' CH	7,93 (t; 7,8; 1H)	130,3
6' CH	8,63 (d; 7,8; 1H)	134,9
2'''/6''' CH	7,54 (d; 7,6; 2H)	129,1
3'''/5''' CH	7,41 (d; 7,6; 2H)	128,3
4''' CH	7,47-7,49 (m, 1H)	129,0
C=O _{β}	-	160,4
NH	10,64 (s, 1H)	-
C=N	-	159,7
4'' C=O	-	171,2
5'' CH ₂	4,29 (s, 2H)	33,0
N(CH ₃) ₂	3,04 (s; 6H)	40,0

Anexo 27: 1-(*p*-dimetilaminofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-fenil)4-tiazolidinona (**62d**)

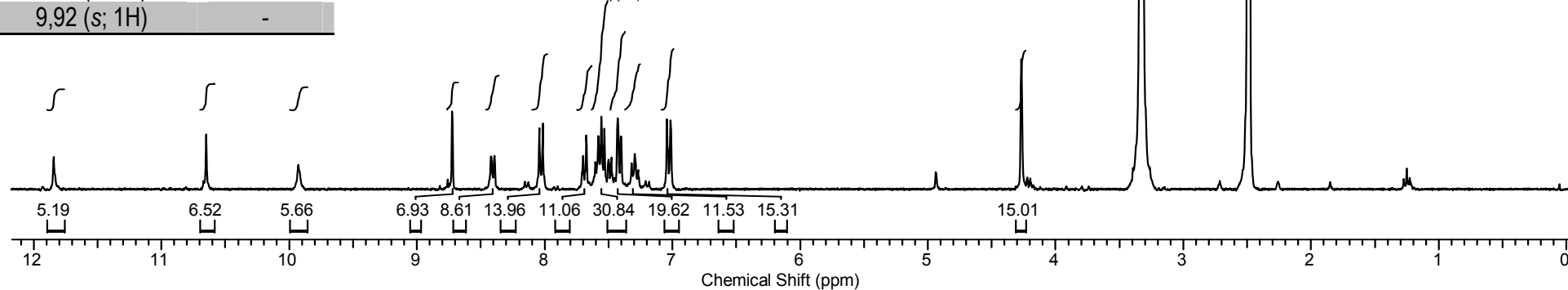
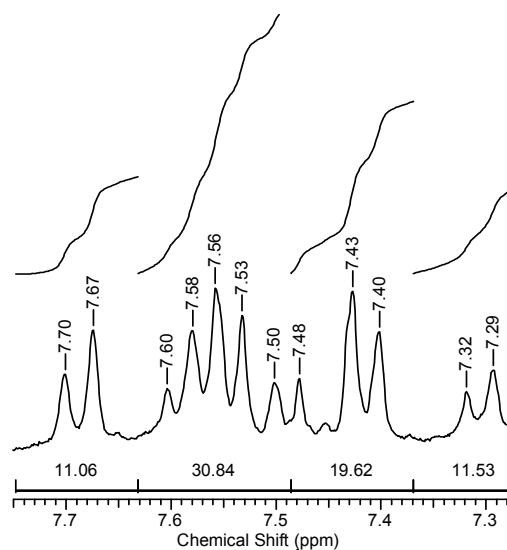
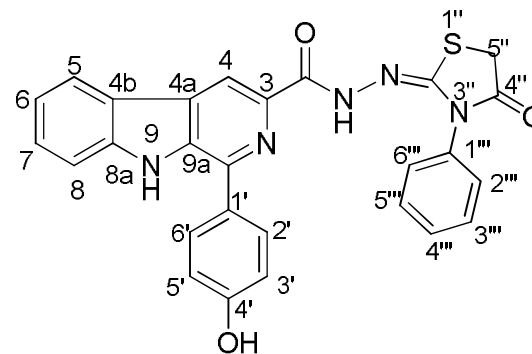


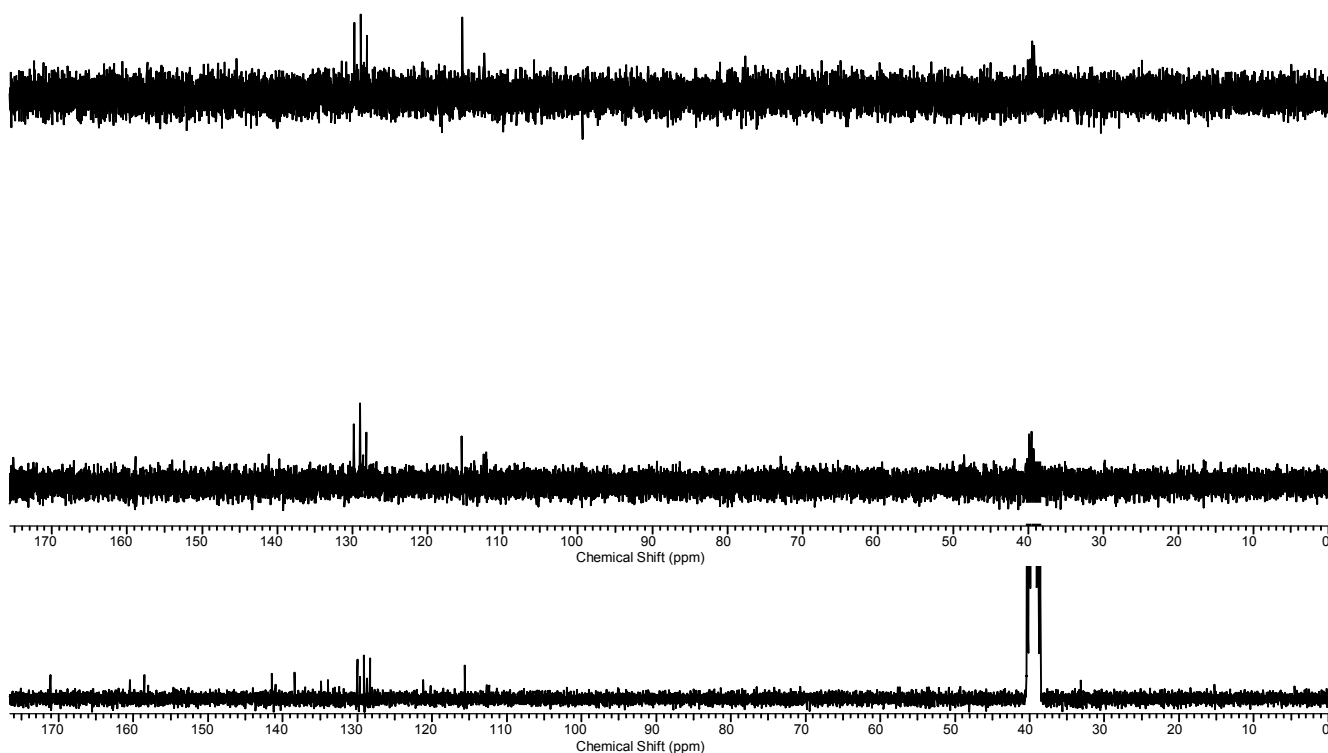
ERMN ¹H-27: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **62d** em DMSO-d₆.

ERMN ^{13}C -27: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **62d** em DMSO- d_6 .EHSQC-27: Espectro de RMN HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz) de **62d** em DMSO- d_6 .

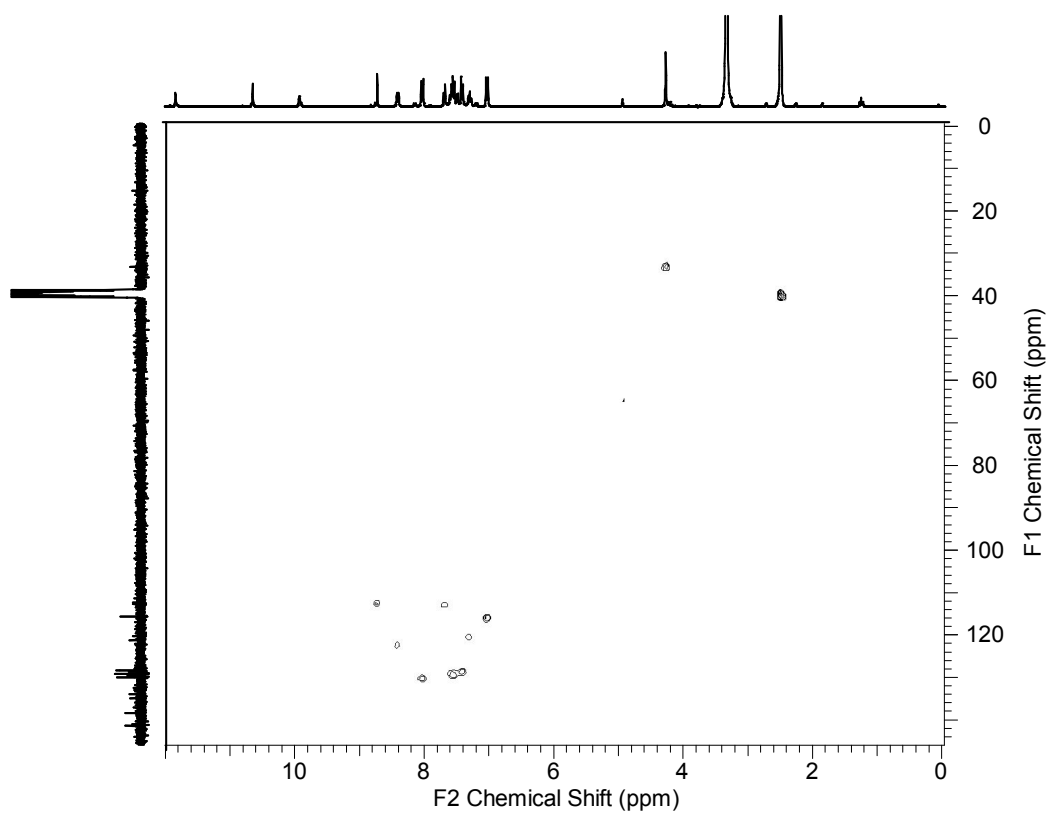
Anexo 28: 1-(*p*-hidroxifenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-fenil)4-tiazolidinona (**62e**)

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	138,4
3 C ₀	-	141,0
4 CH	8,72 (s; 1H)	112,3
4a C ₀	-	120,2
4b C ₀	-	133,9
5 CH	8,40 (d; 7,5; 1H)	122,0
6 CH	7,29 (t; 7,6; 1H)	121,2
7 CH	7,47 (t; 7,3; 1H)	128,7
8 CH	7,68 (d; 7,8; 1H)	112,7
8a C ₀	-	158,0
9 NH	11,80 (s; 1H)	-
9a C ₀	-	138,7
1'/1''' C ₀	-	134,9/141,4
2'/6' CH	8,00 (d; 8,4; 2H)	130,0
3'/5' CH	7,02 (d; 8,4; 2H)	115,6
4' C ₀	-	158,5
2'''/6''' CH	7,41 (d; 7,2; 2H)	128,3
3'''/5''' CH	7,53-7,60 (m; 3H)	129,1
4'''	7,53-7,60 (m; 3H)	129,6
C=O _{β}	-	160,4
NH	10,6 (s; 1H)	-
C=N	-	Não obs.
4'' C=O	-	171,1
5'' CH ₂	4,26 (s; 2H)	33,1
OH	9,92 (s; 1H)	-

ERMN ¹H-28: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **62e** em DMSO-d₆.



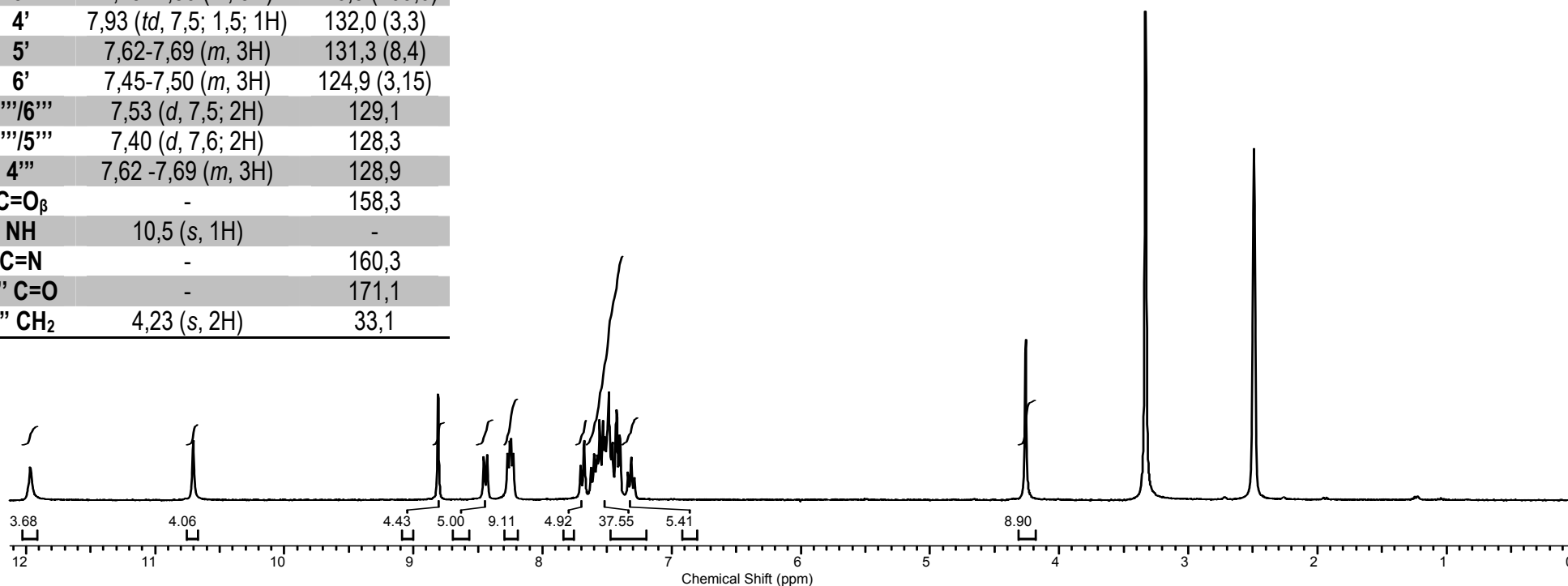
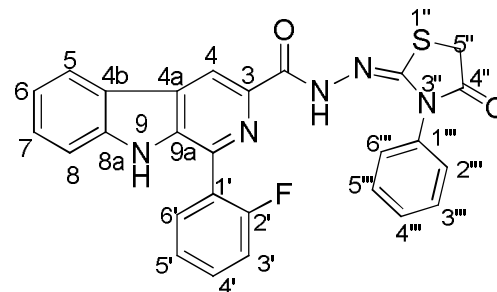
ERMN ^{13}C -28: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **62e** em DMSO- d_6 .



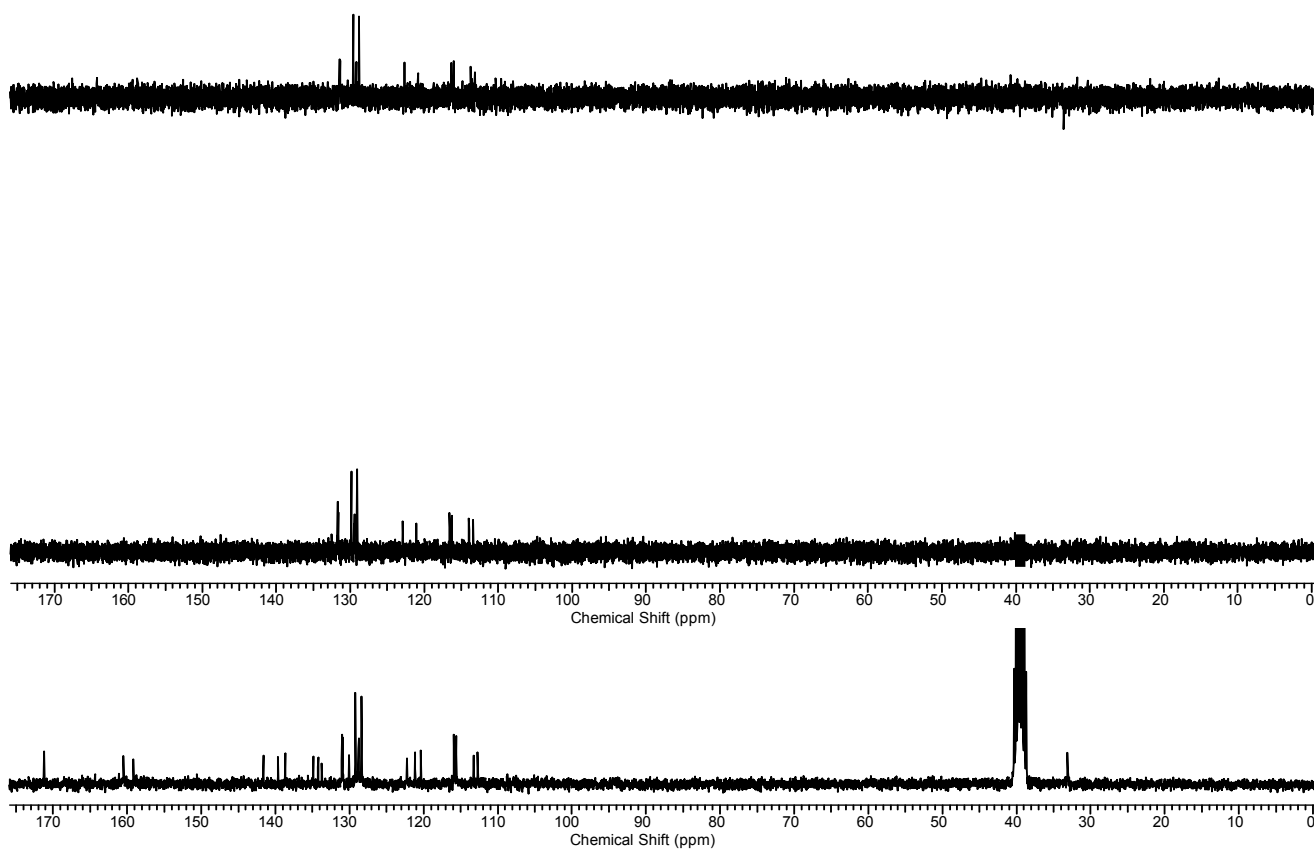
EHSQC-28: Espectro de RMN HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **62e** em DMSO- d_6 .

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C (J=Hz)
1 C ₀	-	138,6
3 C ₀	-	136,4
4 CH	8,87 (s; 1H)	113,7
4a C ₀	-	120,8
4b C ₀	-	125,1
5 CH	8,45 (d; 7,8; 1H)	122,3
6 CH	7,31 (td; 7,2; 1,5; 1H)	120,3
7 CH	7,45-7,50 (m, 3H)	128,7
8 CH	7,62-7,69 (m, 3H)	112,4
8a C ₀	-	141,3
9 NH/NH	11,8 (s, 1H)	-
9a	-	135,3
1'/1'''	-	134,8/133,2
2'C ₀	-	159,2 (247,8)
3'	7,45 -7,50 (m, 3H)	116,3 (209,0)
4'	7,93 (td, 7,5; 1,5; 1H)	132,0 (3,3)
5'	7,62-7,69 (m, 3H)	131,3 (8,4)
6'	7,45-7,50 (m, 3H)	124,9 (3,15)
2'''/6'''	7,53 (d, 7,5; 2H)	129,1
3'''/5'''	7,40 (d, 7,6; 2H)	128,3
4'''	7,62 -7,69 (m, 3H)	128,9
C=O _{β}	-	158,3
NH	10,5 (s, 1H)	-
C=N	-	160,3
4'' C=O	-	171,1
5'' CH ₂	4,23 (s, 2H)	33,1

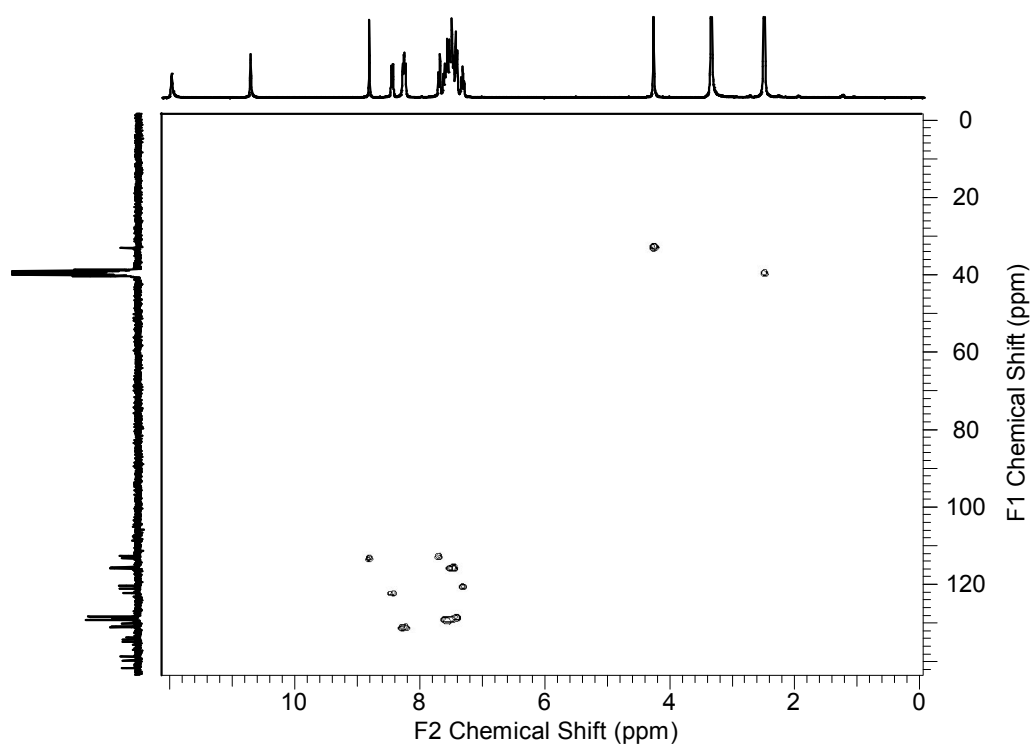
Anexo 29: 1-(*o*-fluorofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-fenil)4-tiazolidinona (**62g**)



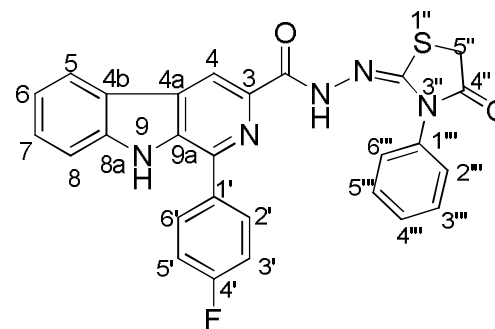
ERMN ¹H-29: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **62g** em DMSO-d₆.



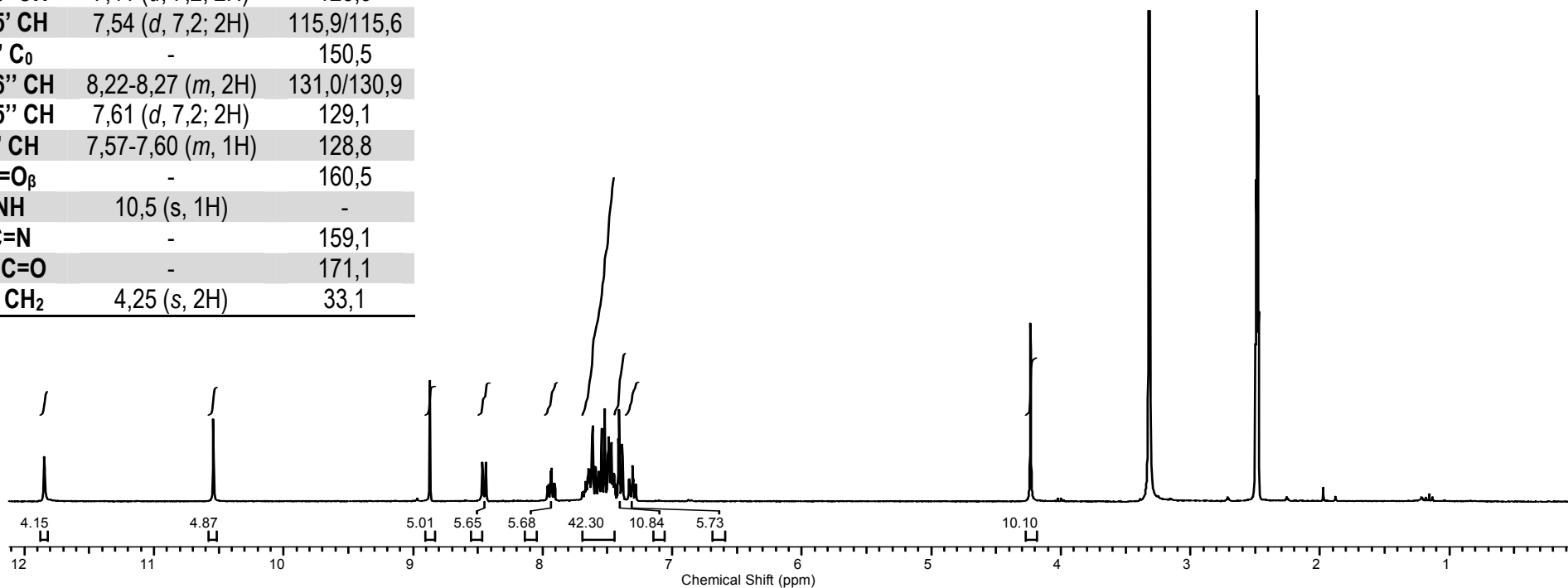
ERMN ^{13}C -29: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **62g** em DMSO-d_6 .

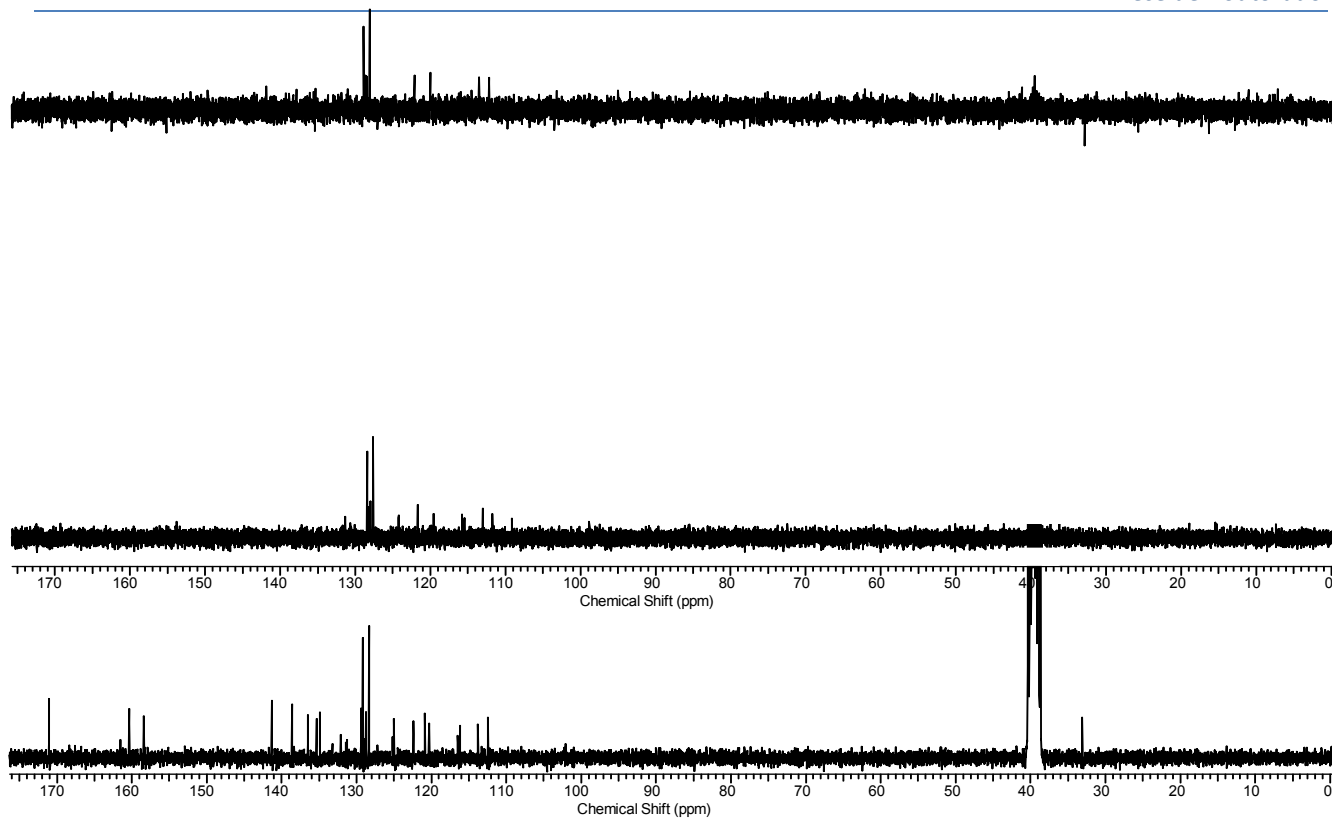


EHSQC-29: Espectro de RMN HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **62g** em DMSO-d_6 .

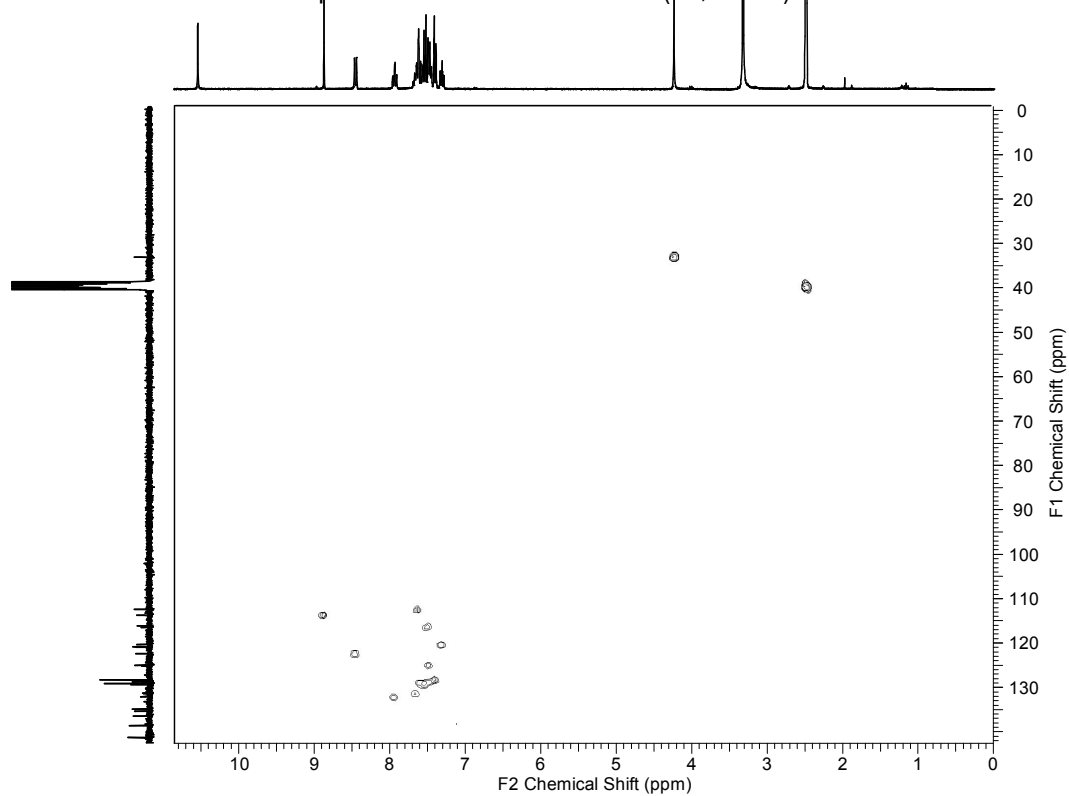
Anexo 30: 1-(*p*-fluorofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-fenil)4-tiazolidinona (**62i**)

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	138,6
3 C ₀	-	139,6
4 CH	8,80 (s; 1H)	113,2
4a C ₀	-	121,1
4b C ₀	-	130,1
5 CH	8,44 (d; 7,8; 1H)	122,2
6 CH	7,31 (t; 7,2; 1H)	120,3
7 CH	7,45-7,48 (m, 1H)	128,7
8 CH	7,68 (d; 8,1; 1H)	112,7
8a C ₀	-	141,6
9 NH	11,9 (s)	-
9a C ₀	-	134,9
1'/1'' C ₀	-	134,2/133,7
2'/6' CH	7,41 (d, 7,2; 2H)	128,3
3'/5' CH	7,54 (d, 7,2; 2H)	115,9/115,6
4' C ₀	-	150,5
2''/6'' CH	8,22-8,27 (m, 2H)	131,0/130,9
3''/5'' CH	7,61 (d, 7,2; 2H)	129,1
4'' CH	7,57-7,60 (m, 1H)	128,8
C=O _{β}	-	160,5
NH	10,5 (s, 1H)	-
C=N	-	159,1
4'' C=O	-	171,1
5'' CH ₂	4,25 (s, 2H)	33,1

ERMN 1H-30: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **62i** em DMSO-d₆.



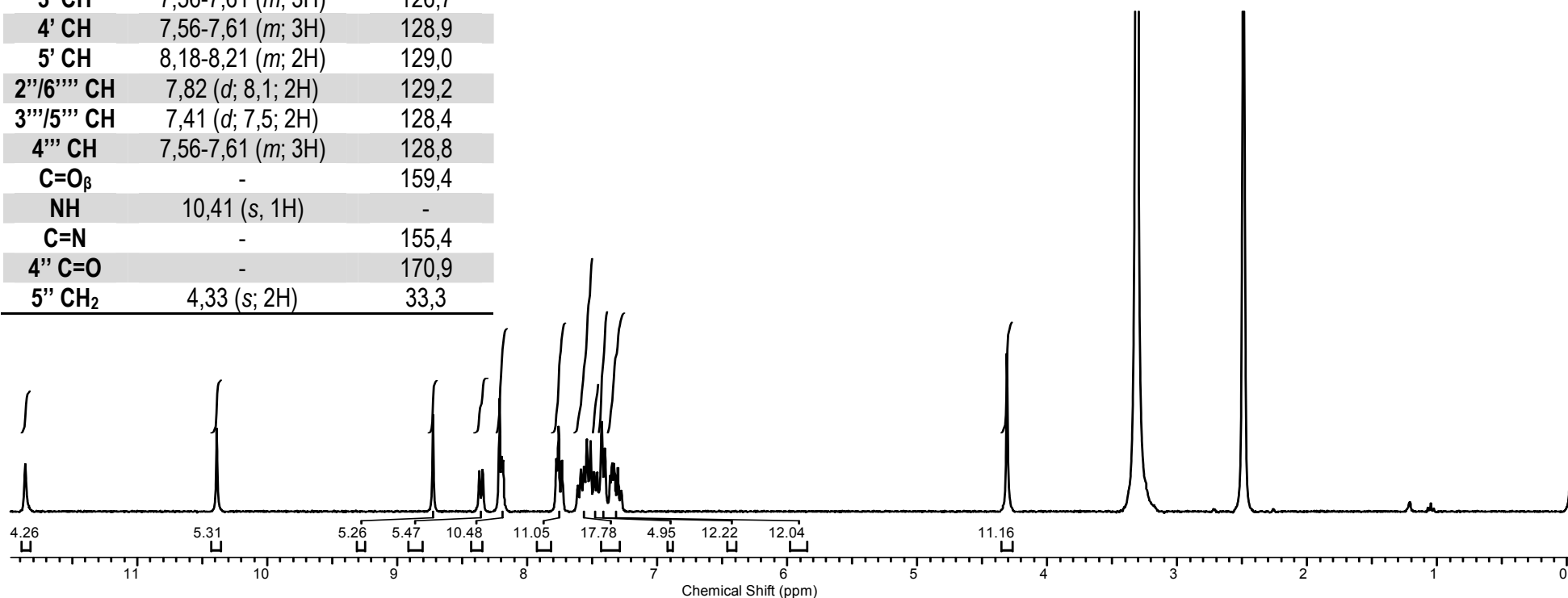
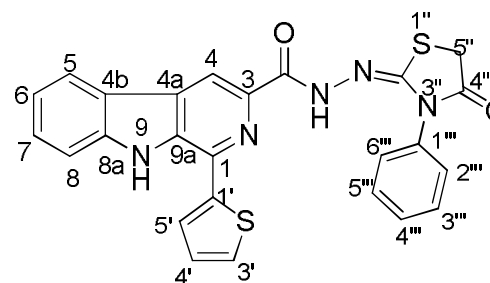
ERMN ^{13}C -30: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **62i** em DMSO-d_6 .

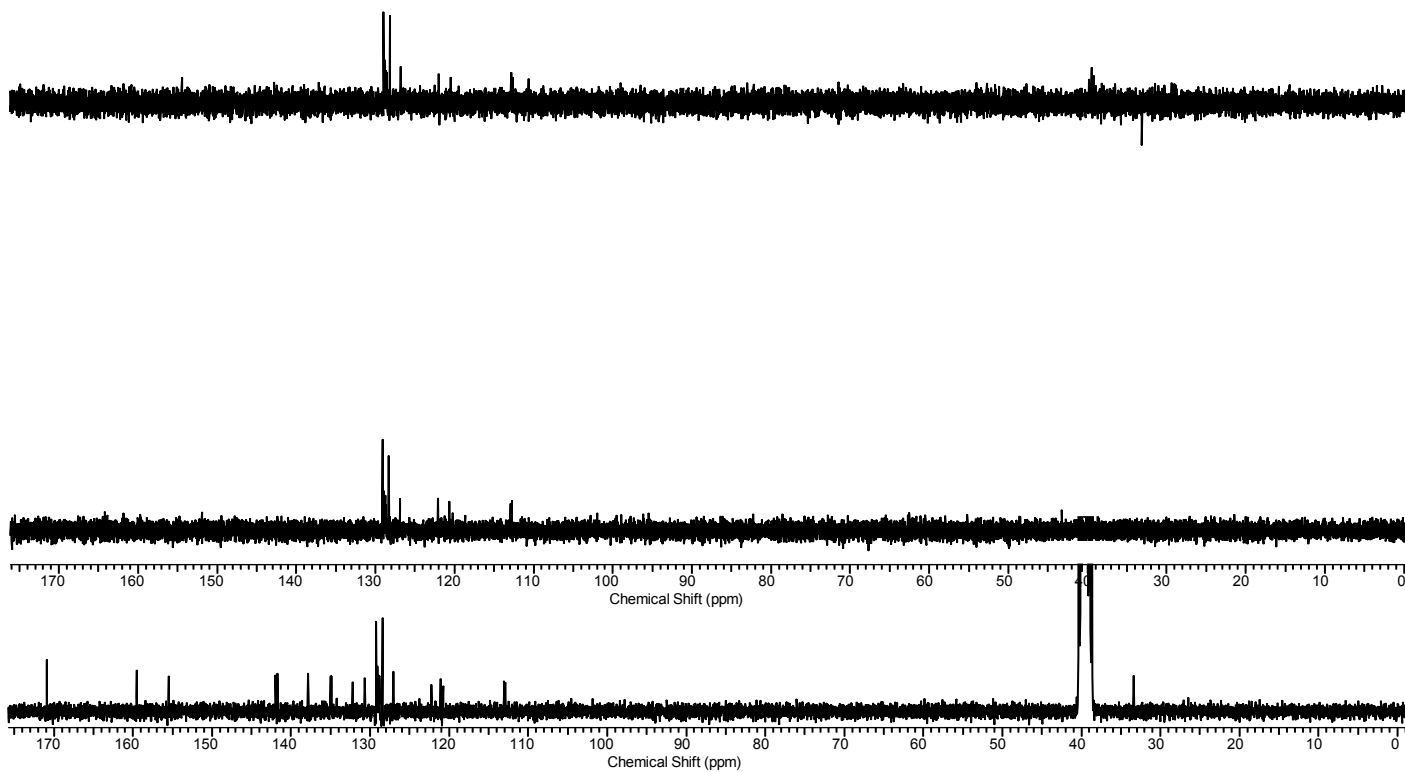


EHSQC-30: Espectro de RMN HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **62i** em DMSO-d_6 .

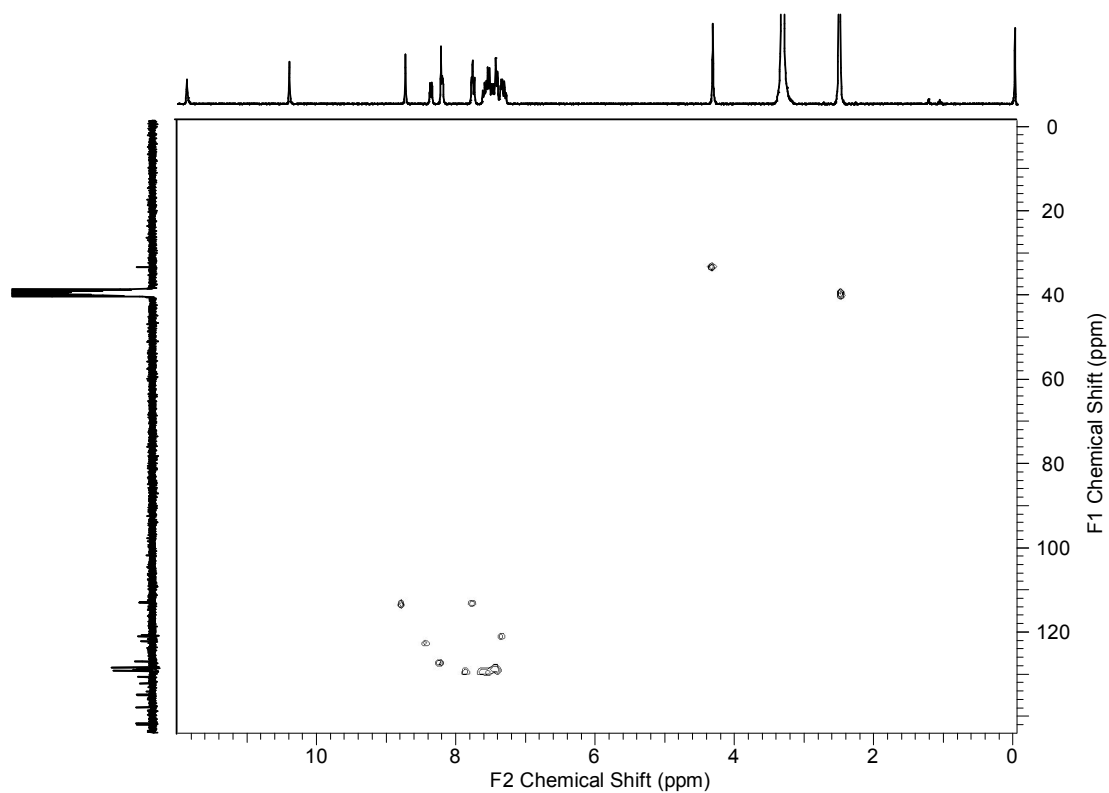
Anexo 31: 1-(2-tiofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono-(3-fenil)4-tiazolidinona (**62k**)

C/H	δ_H (<i>multipl.</i> ; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	137,7
3 C ₀	-	134,7
4 CH	8,72 (s; 1H)	112,7
4a C ₀	-	121,0
4b C ₀	-	130,7
5 CH	8,35 (d; 7,8; 1H)	122,2
6 CH	7,30-7,34 (m; 2H)	120,9
7 CH	7,73-7,77 (m; 7,5; 1H)	128,5
8 CH	7,52 (d; 7,8; 1H)	112,8
8a C ₀	-	-
9 NH	11,94 (s, 1H)	-
9a C ₀	-	136,7
1'/1''' C ₀	-	132,1/141,8
3' CH	7,56-7,61 (m; 3H)	126,7
4' CH	7,56-7,61 (m; 3H)	128,9
5' CH	8,18-8,21 (m; 2H)	129,0
2''/6''' CH	7,82 (d; 8,1; 2H)	129,2
3'''/5''' CH	7,41 (d; 7,5; 2H)	128,4
4''' CH	7,56-7,61 (m; 3H)	128,8
C=O _{β}	-	159,4
NH	10,41 (s, 1H)	-
C=N	-	155,4
4'' C=O	-	170,9
5'' CH ₂	4,33 (s; 2H)	33,3

ERMN 1H-31: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **62k** em DMSO-d₆.



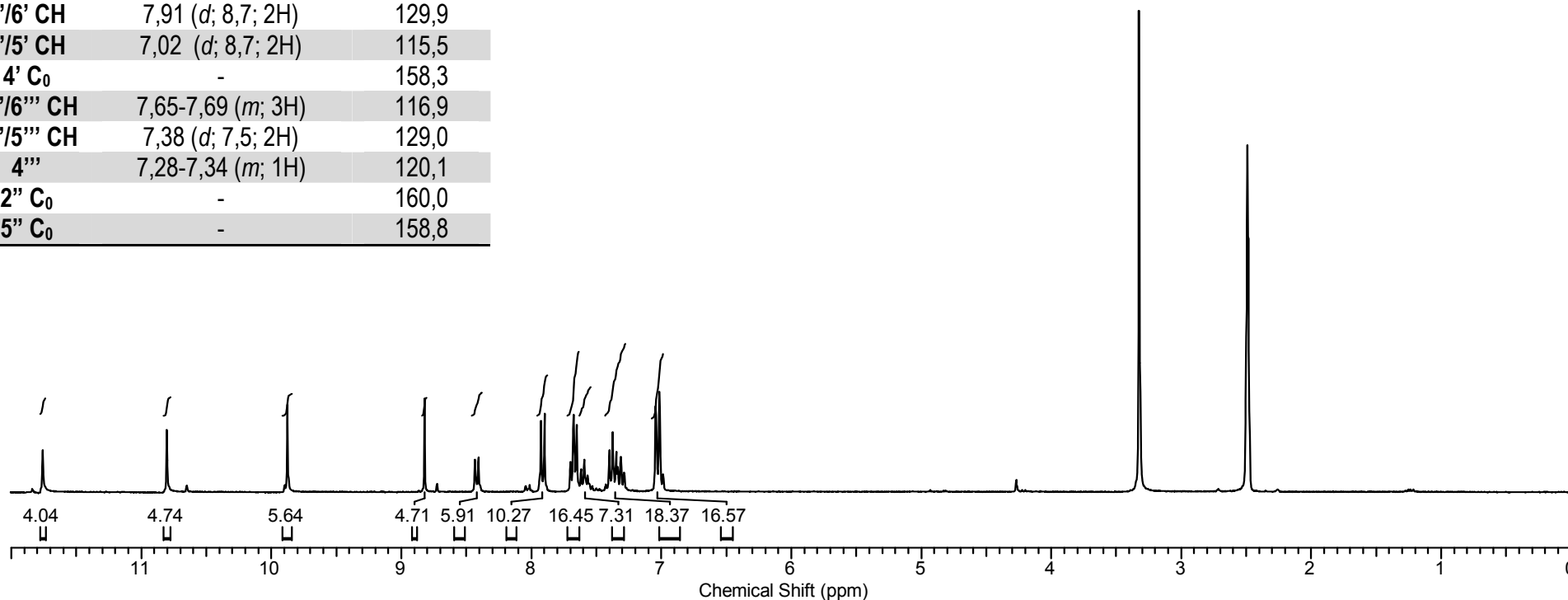
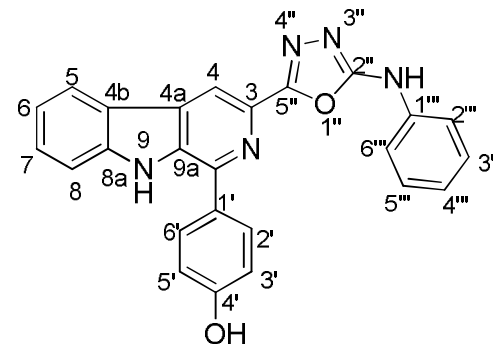
ERMN-31: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **62k** em DMSO-d_6 .



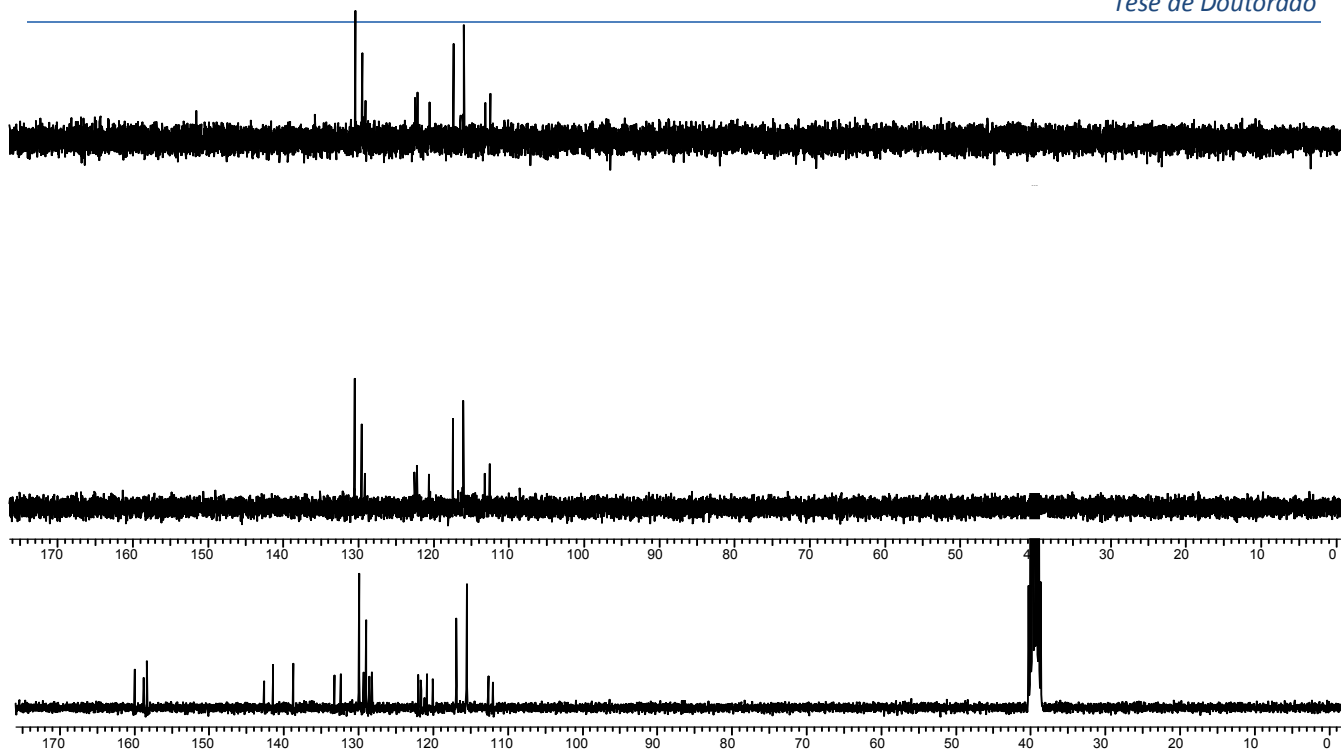
EHSQC-31: Espectro de RMN de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **62k** em DMSO-d_6 .

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	138,8
3 C ₀	-	142,7
4 CH	8,82 (s; 1H)	112,0
4a C ₀	-	120,9
4b C ₀	-	128,2
5 CH	8,42 (d; 7,8; 1H)	122,0
6 CH	6,98-7,04 (m; 1H)	121,7
7 CH	7,59 (t; 7,2; 1H)	128,6
8 CH	7,65-7,69 (m; 3H)	112,6
8a C ₀	-	141,5
9 NH/NH	11,70 (s; 1H)/10,8(s; 1H)	-
9a C ₀	-	129,4
1'/1''' C ₀	-	132,4/133,3
2'/6' CH	7,91 (d; 8,7; 2H)	129,9
3'/5' CH	7,02 (d; 8,7; 2H)	115,5
4' C ₀	-	158,3
2'''/6''' CH	7,65-7,69 (m; 3H)	116,9
3'''/5''' CH	7,38 (d; 7,5; 2H)	129,0
4'''	7,28-7,34 (m; 1H)	120,1
2'' C ₀	-	160,0
5'' C ₀	-	158,8

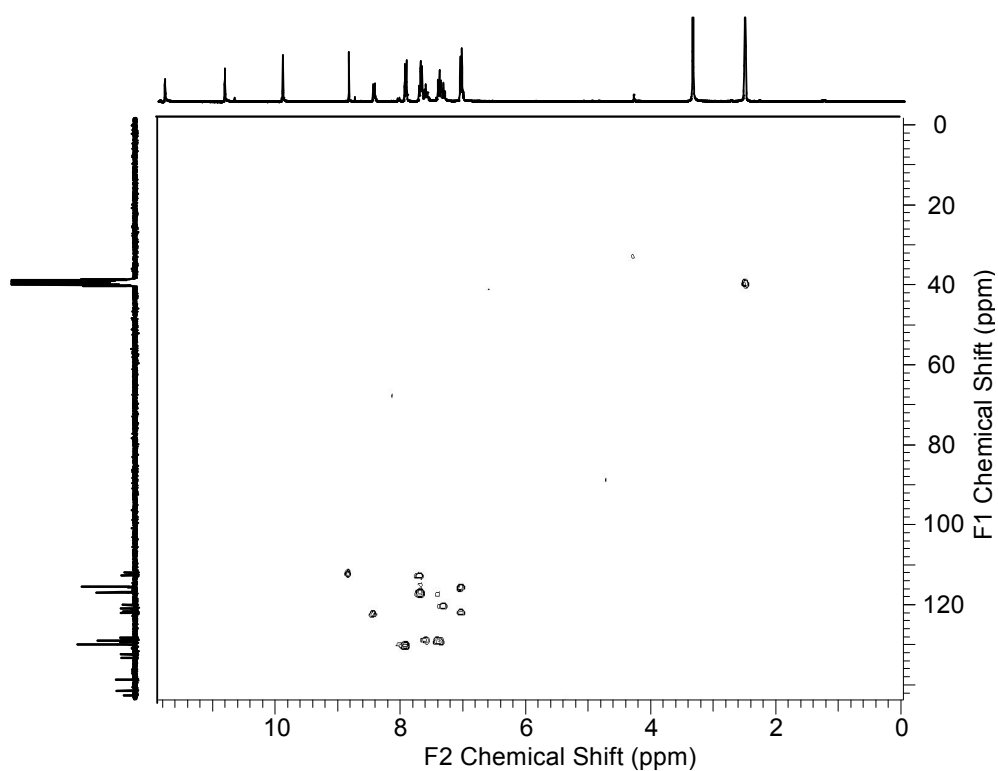
Anexo 32: 1-(*p*-hidroxiifenil)- β -carbolina-3-(-1,3,4-oxadiazol-2-il) (**63**)



ERMN ¹H-32: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **63** em DMSO-d₆.

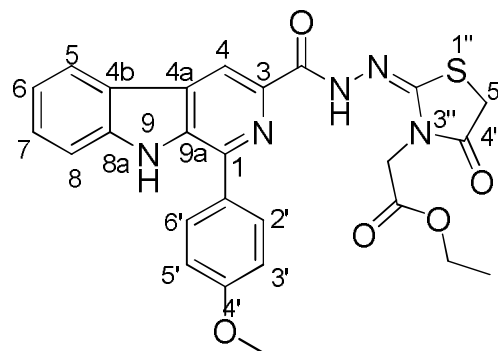


ERMN ^{13}C -32: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **63** em DMSO- d_6 .

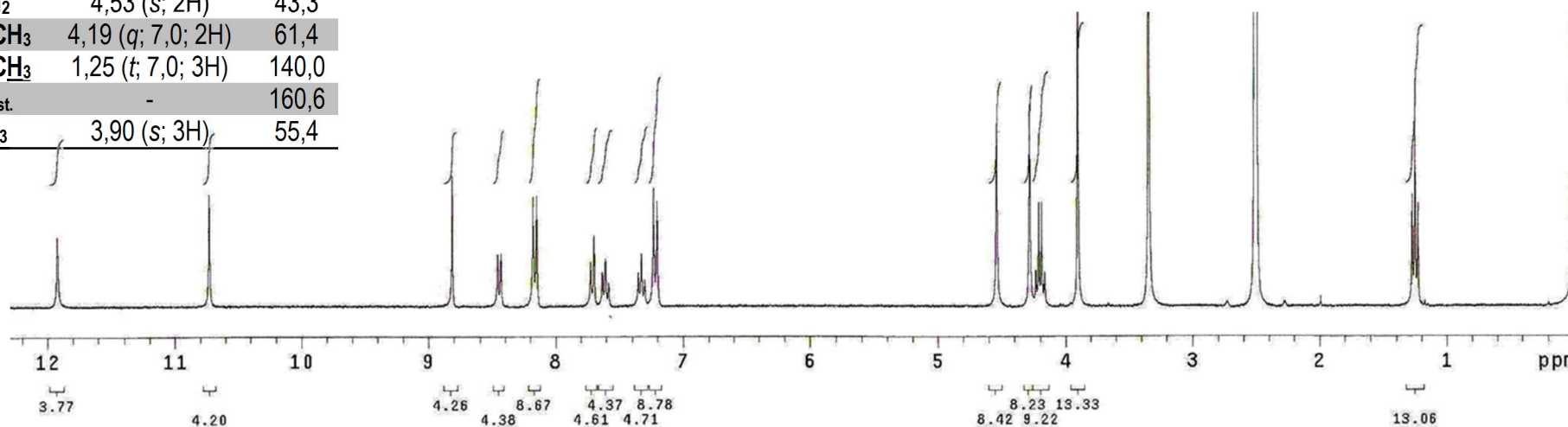


EHSQC-32: Espectro de RMN de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **63** em DMSO- d_6 .

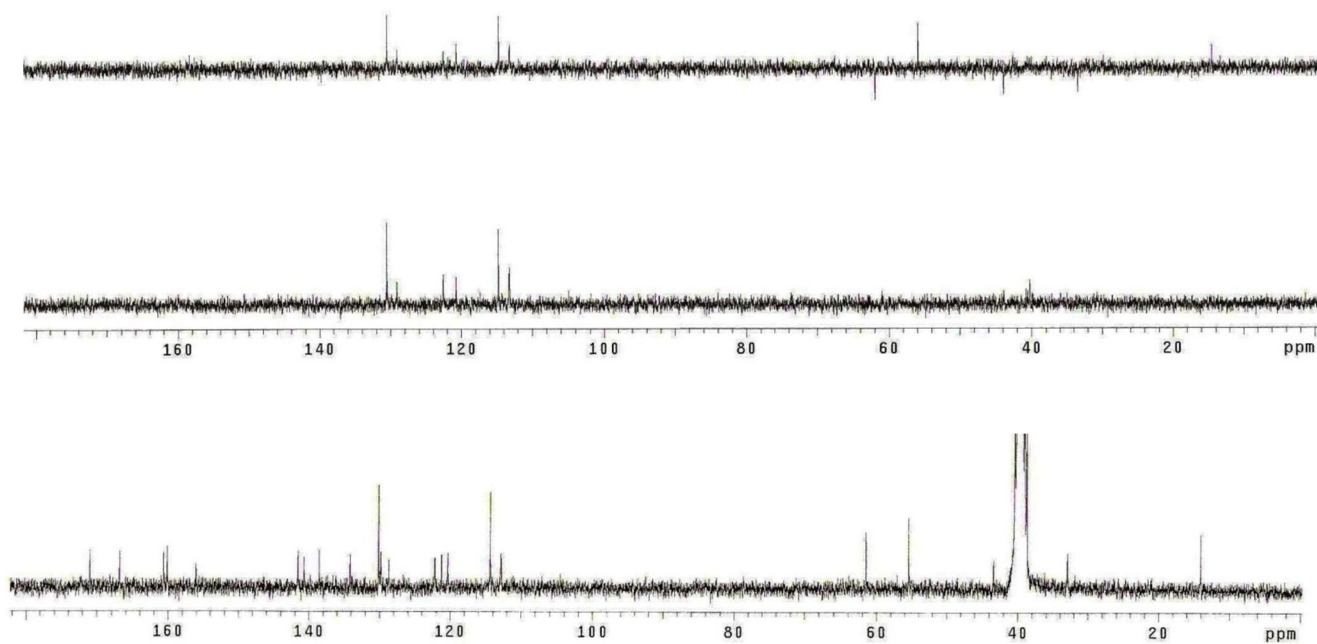
Anexo 33: 1-(*p*-metoxifenil)- β -carbolina-3-carbonihidrazono (3''-aceto acetoxi de etila)-4-tiazolidinona (**64a**)



H/C	δ_H (<i>multip.</i> ; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	138,5
3 C ₀	-	140,6
4 CH	8,81 (s; 1H)	112,7
4a C ₀	-	121,2
4b C ₀	-	129,7
5 CH	8,44 (d; 7,8; 1H)	122,1
6 CH	7,32 (t; 7,3; 1H)	120,3
7 CH	7,60 (t; 7,5; 1H)	128,6
8 CH	7,71 (d; 8,1; 1H)	112,8
8a C ₀	-	141,5
9 NH	11,92 (s; 1H)	-
9a C ₀	-	134,1
1' C ₀	-	129,7
2'/6' CH	8,16 (d; 8,7; 2H)	130,0
3'/5' CH	7,21 (d; 8,7; 2H)	114,2
4' C ₀	-	156,0
C=O	-	166,8
NH	10,72 (s; 1H)	-
C=N	-	160,0
4'' C=O	-	170,9
5'' CH ₂	4,28 (s; 1H)	32,9
N-CH ₂	4,53 (s; 2H)	43,3
OCH ₂ -CH ₃	4,19 (q; 7,0; 2H)	61,4
OCH ₂ -CH ₃	1,25 (t; 7,0; 3H)	140,0
C=O _{ést.}	-	160,6
OCH ₃	3,90 (s; 3H)	55,4



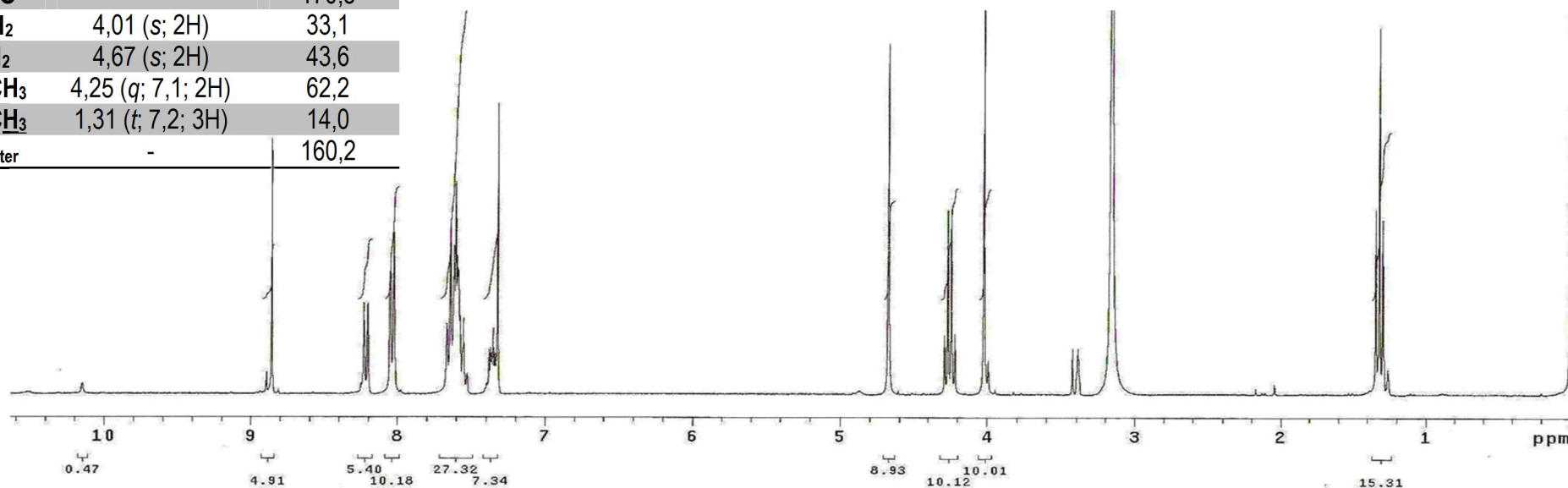
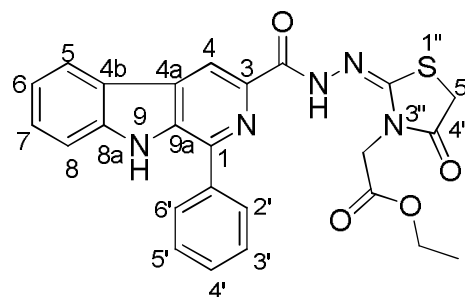
ERMN 1H-33: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **64a** em DMSO-d₆.



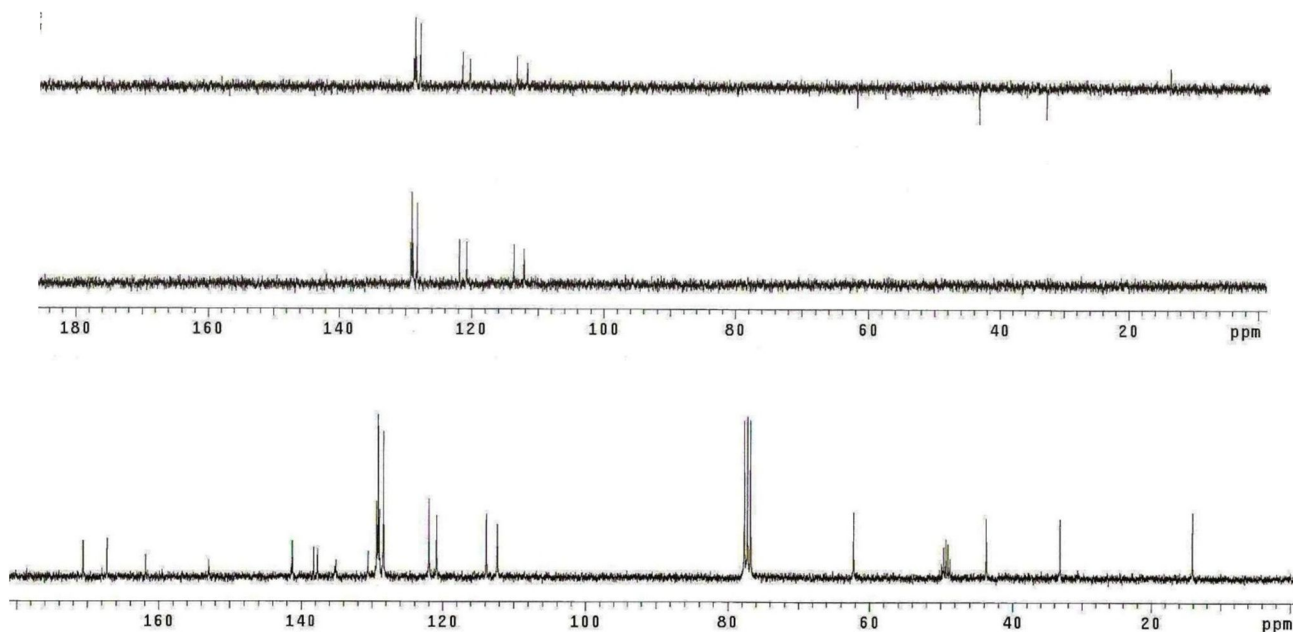
ERMN ^{13}C -33: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **64a** em DMSO-d_6 .

H/C	δ_H (<i>multipl.</i> ; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	138,1
3 C ₀	-	141,2
4 CH	8,85 (s; 1H)	113,8
4a C ₀	-	Não obs.
4b C ₀	-	130,5
5 CH	8,21 (d; 7,8; 1H)	121,9
6 CH	7,33-7,38 (m; 1H)	120,8
7 CH	7,52-7,60 (m; 1H)	128,9
8 C ₀ / 8a C ₀	7,64-7,66 (m; 1H)	112,2/141,3
9 NH	Não obs.	-
9a C ₀	-	137,6
1' C ₀	-	135,0
2'/6' CH	8,03 (d; 6,9; 2H)	128,3
3'/5' CH	7,62 (d; 7,5; 2H)	129,1
4' CH	7,52-7,66 (m; 5H)	129,2
C=O _{β}	-	167,2
NH	Não obs.	-
C=N	-	152,9
4'' C=O	-	170,5
5'' CH ₂	4,01 (s; 2H)	33,1
N-CH ₂	4,67 (s; 2H)	43,6
OCH ₂ CH ₃	4,25 (q; 7,1; 2H)	62,2
OCH ₂ CH ₃	1,31 (t; 7,2; 3H)	14,0
C=O _{éster}	-	160,2

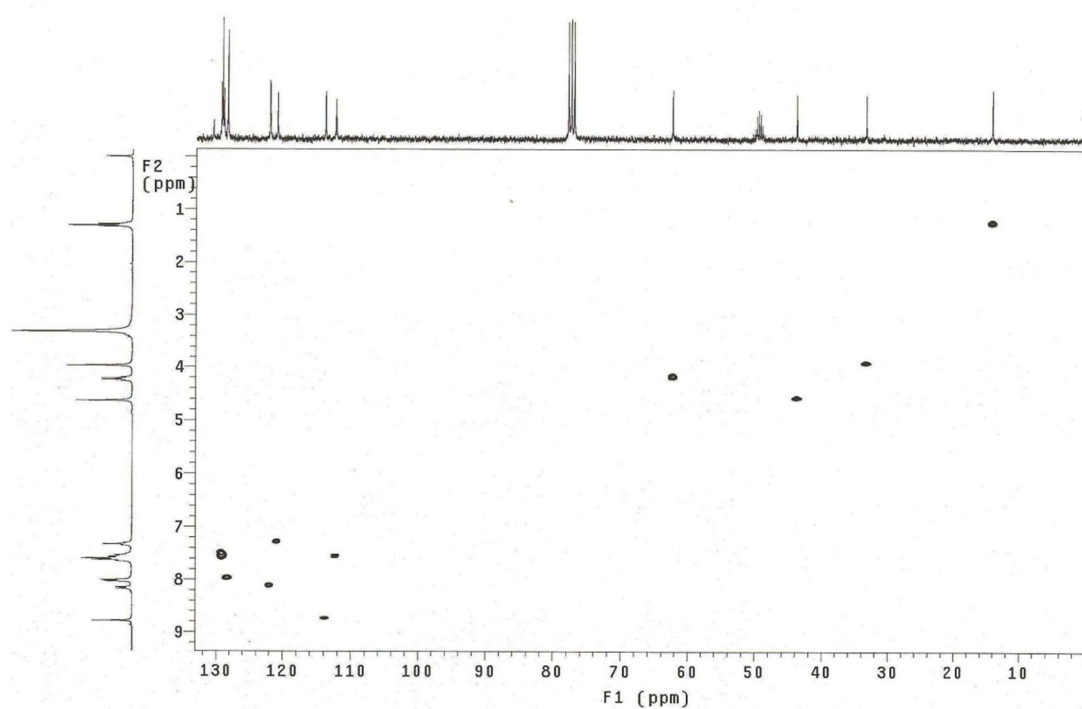
Anexo 34: 1-(fenil)- β -carbolina-3-carbonihidrazono(3''-aceto acetoxi de etila)-4-thiazolidinona
(64b)



ERMN ¹H-34: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **64b** em CDCl₃.



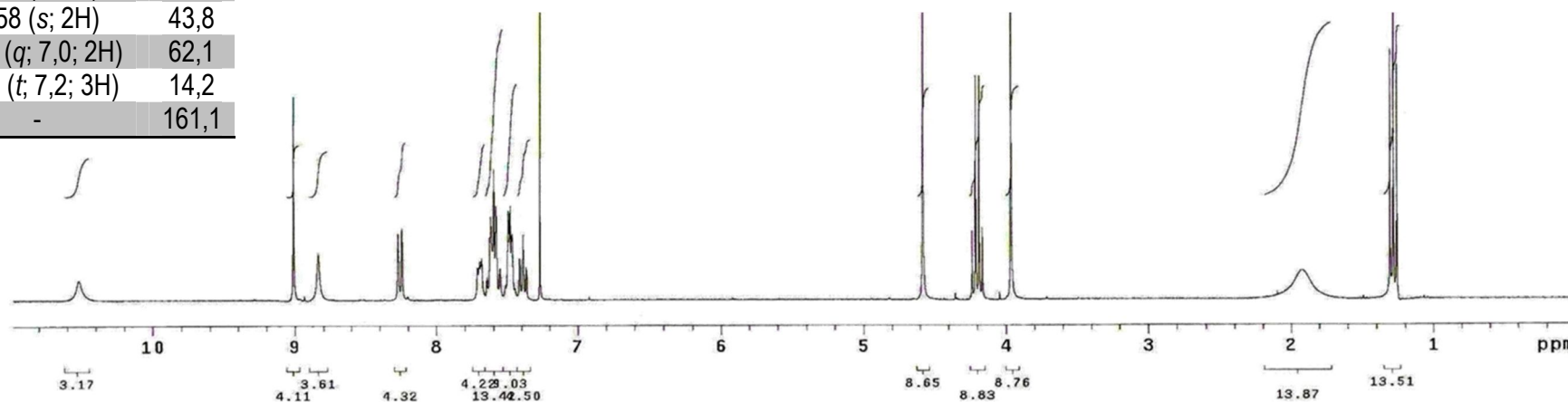
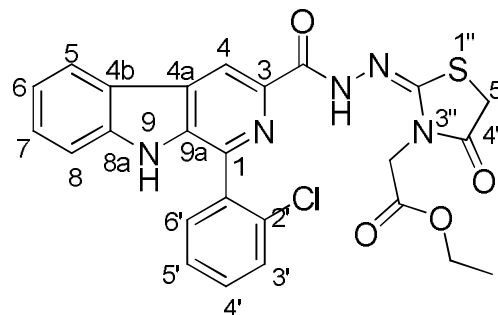
ERMN ^{13}C -34: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **64b** em CDCl₃.



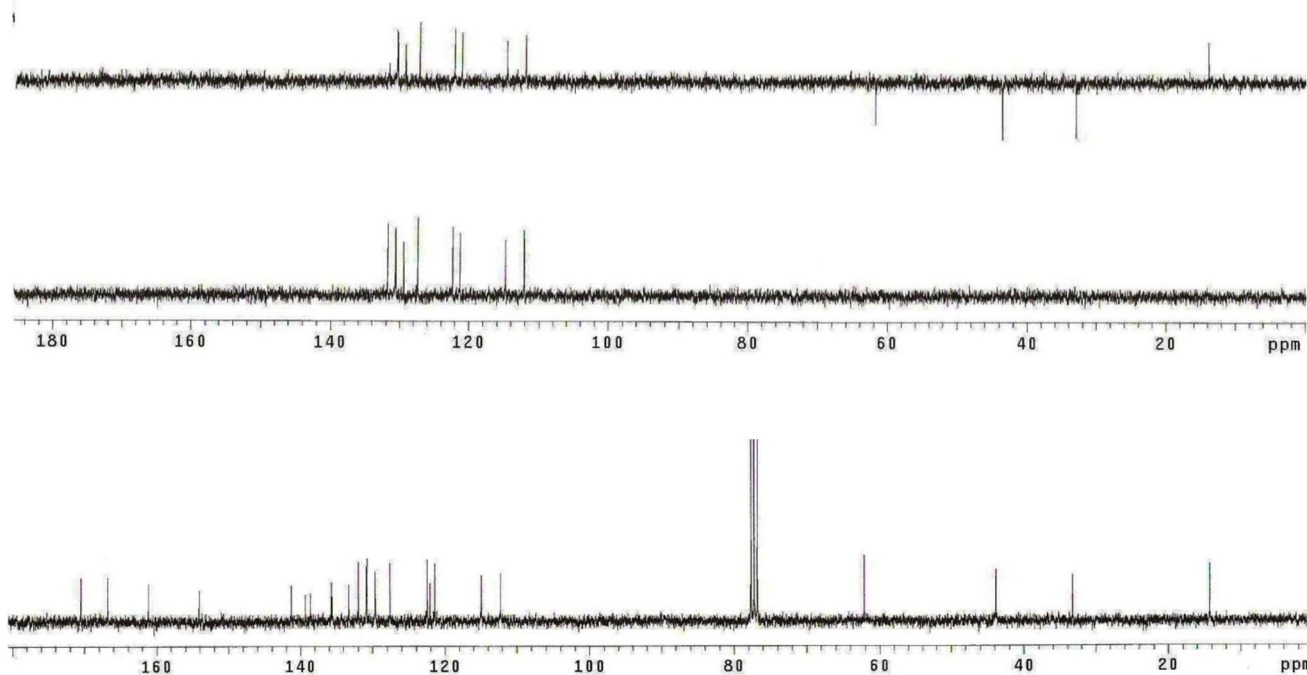
EHSQC 34 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **64b** em CDCl₃.

H/C	δ_H (<i>multip.</i> ; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	139,3
3 C ₀	-	135,6
4 CH	9,00 (s; 1H)	114,9
4a C ₀	-	122,1
4b C ₀	-	130,7
5 CH	8,25 (d; 7,8; 1H)	122,4
6 CH	7,39 (t; 7,2; 1H)	121,4
7 CH	7,44-7,51 (m; 2H)	127,5
8 CH	7,44-7,51 (m; 2H)	122,2
8a C ₀	-	141,2
9 NH	10,51 (s; 1H)	-
9a C ₀	-	138,6
1' C ₀	-	135,5
2' C ₀	-	133,2
3' CH	7,55-7,64 (m; 3H)	130,7
4' CH	7,68-7,71 (m; 1H)	131,9
5' CH	7,55-7,64 (m; 3H)	129,6
6' CH	7,55-7,64 (m; 3H)	130,8
C=O _{β}	-	166,7
NH	8,83 (s; 1H)	
C=N	-	154,1
4'' C=O	-	170,4
5'' CH ₂	3,96 (s; 2H)	33,2
N-CH ₂	4,58 (s; 2H)	43,8
OCH ₂ CH ₃	4,19 (q; 7,0; 2H)	62,1
OCH ₂ CH ₃	12,8 (t; 7,2; 3H)	14,2
C=O _{est.}	-	161,1

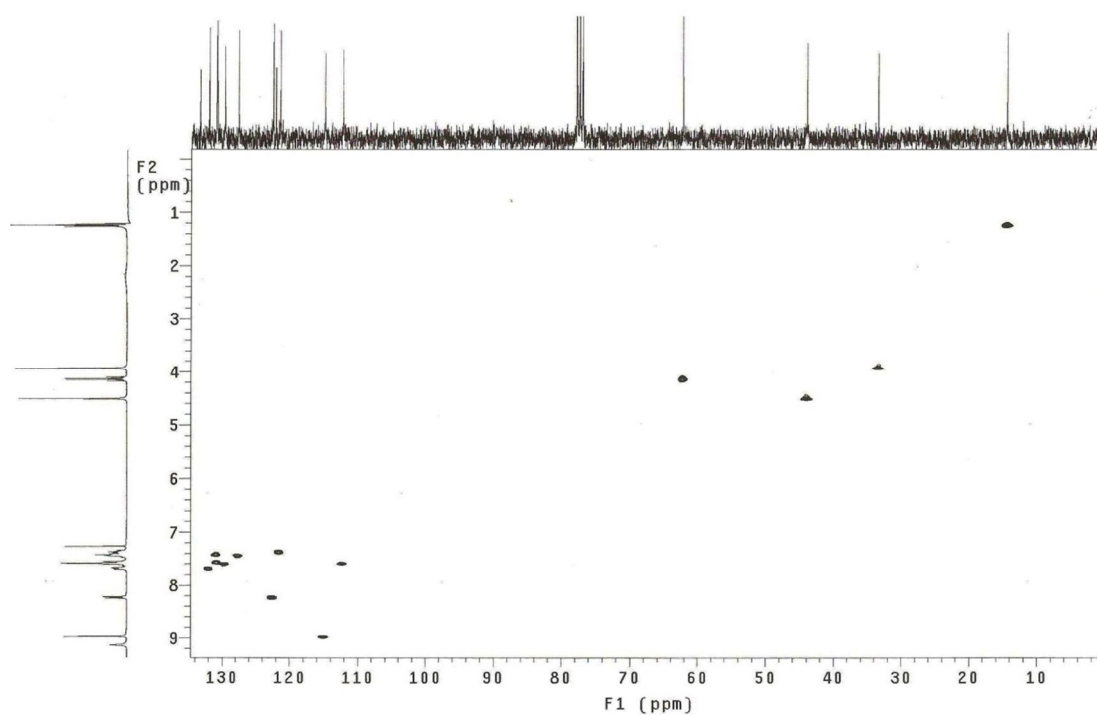
Anexo 35: 1-(*o*-clorofenil)- β -carbolina-3-carbonihidrazono (3''-aceto acetoxi de etila)-4-thiazolidinona (**64f**)



ERMN ¹H-35: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **64f** em CDCl₃.

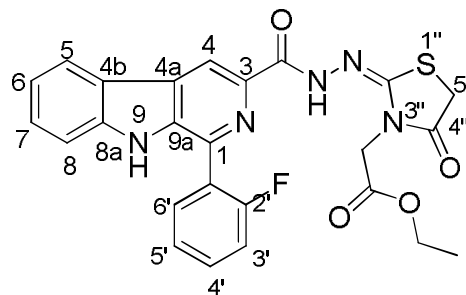


ERMN ^{13}C -35: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **64f** em CDCl_3 .

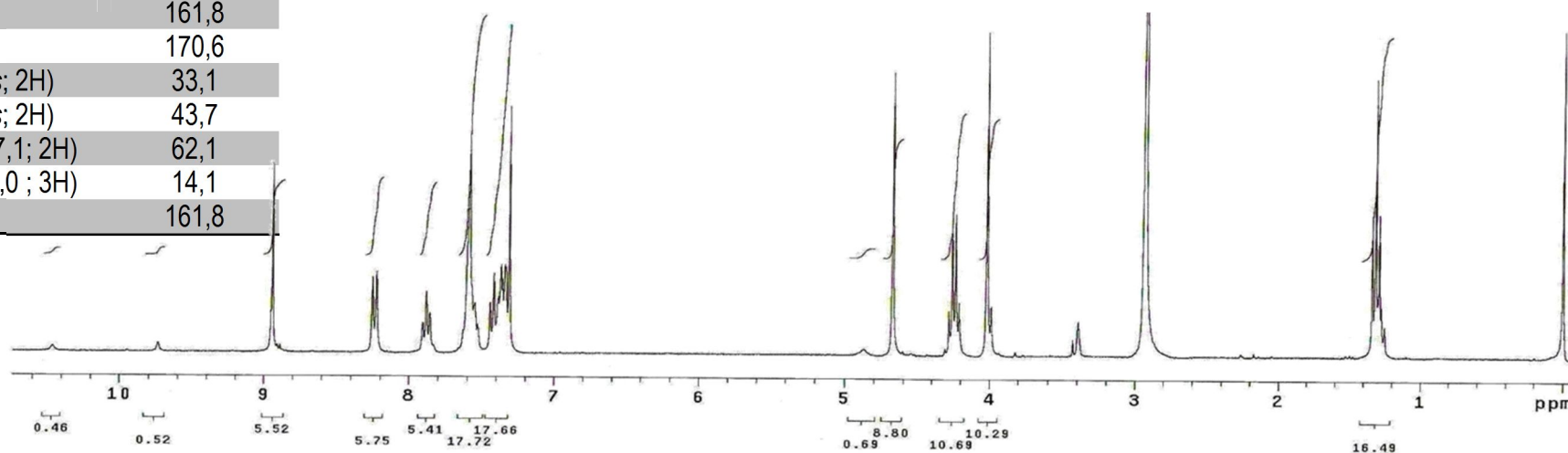


EHSQC 35 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **64f** em CDCl_3 .

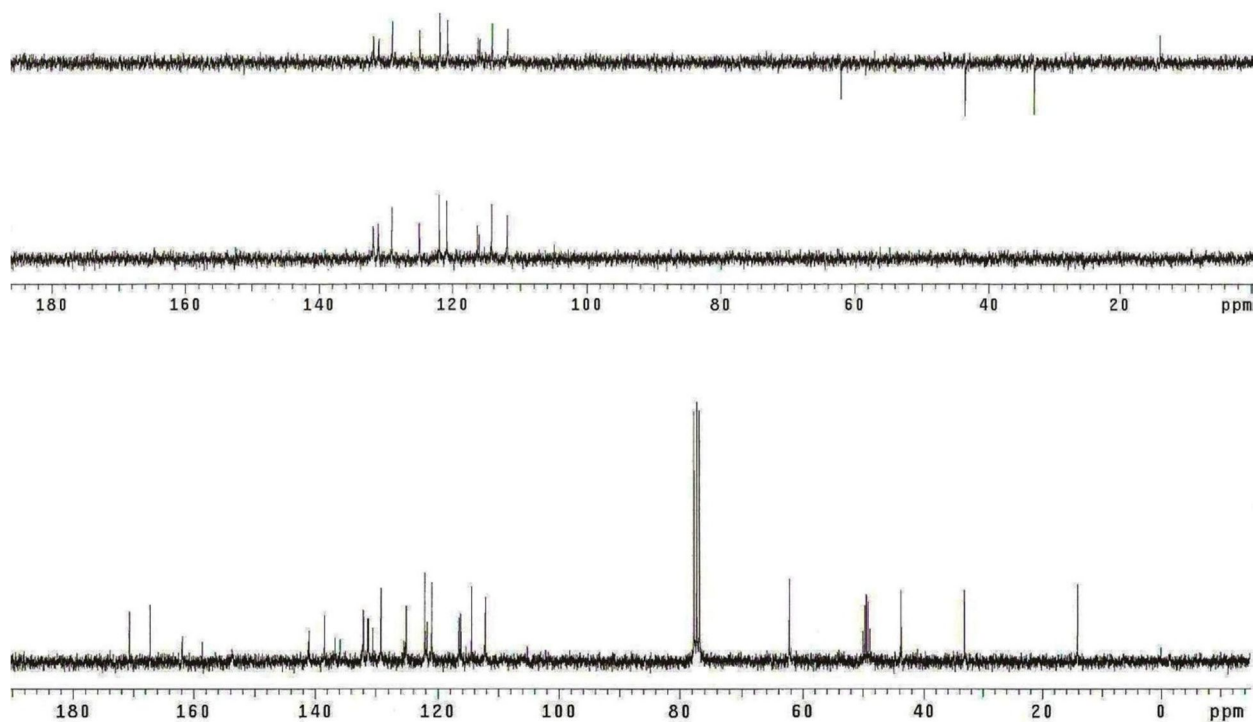
Anexo 36: 1-(o-fluorofenil)- β -carbolina-3-carbonihidrazono
(3''-aceto acetoxi de etila)-4-thiazolidinona (**64g**)



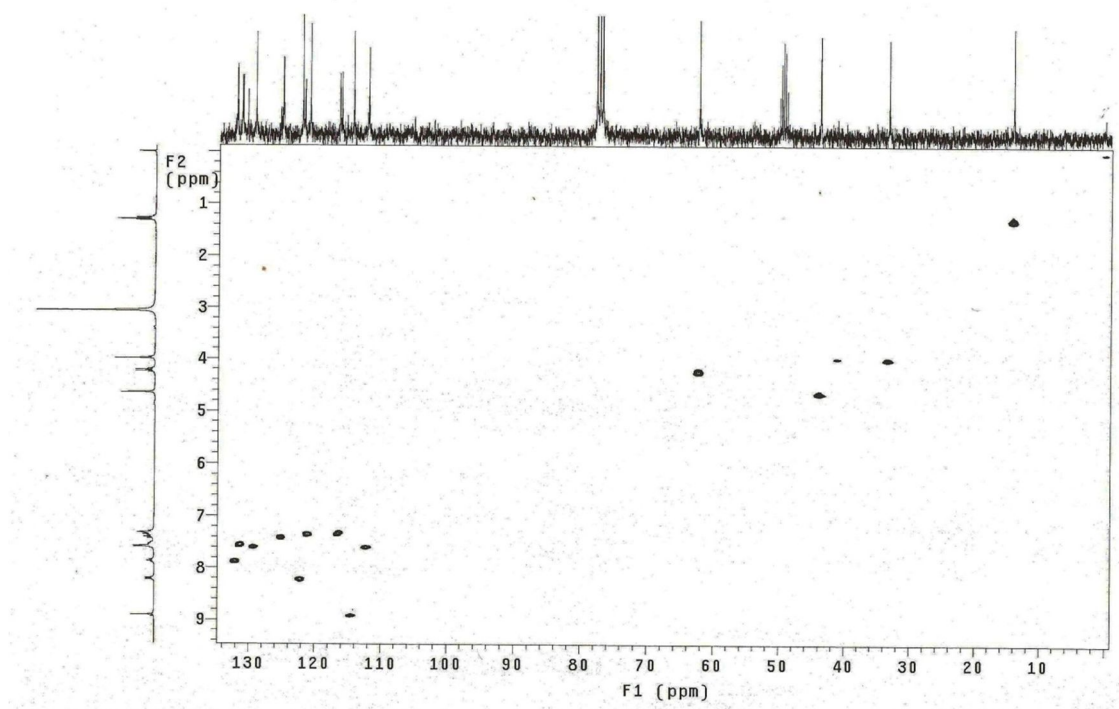
H/C	δ_H (multip.; J=Hz)	δ_C (J=Hz)
1 C ₀	-	136,2 (63,9)
3 C ₀	-	130,4
4 CH	8,94 (s; 1H)	114,4
4a C ₀	-	121,7
4b C ₀	-	Não obs.
5 CH	8,23 (d; 8,1)	122,0
6 CH	7,33-7,44 (m; 3H)	120,9
7 CH	7,52-7,58 (m; 3H)	129,1
8 CH	7,52-7,58 (m; 3H)	112,1
8a C ₀	-	138,4
9 NH	10,46 (s; 1H)	-
9a C ₀	-	141,0
1' C ₀	-	125,3 (14,4)
2' C ₀	-	156,1 (361,6)
3' CH	7,33-7,44 (m; 3H)	116,3 (21,7)
4' CH	7,87 (t; 7,5 ; 1H)	131,9 (3,9)
5' CH	7,33-7,44 (m; 3H)	125,0 (3,3)
6' CH	7,52-7,58 (m; 3H)	131,2 (8,25)
C=O _{β}	-	167,1
NH	9,73 (s; 1H)	-
C=N	-	161,8
4'' C=O	-	170,6
5'' CH ₂	4,01 (s; 2H)	33,1
N-CH ₂	4,67 (s; 2H)	43,7
OCH ₂ CH ₃	4,24 (q; 7,1; 2H)	62,1
OCH ₂ CH ₃	1,31 (t; 7,0 ; 3H)	14,1
C=O _{éster}	-	161,8



ERMN ¹H-36: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **64g** em CDCl₃/ CD₃OD.



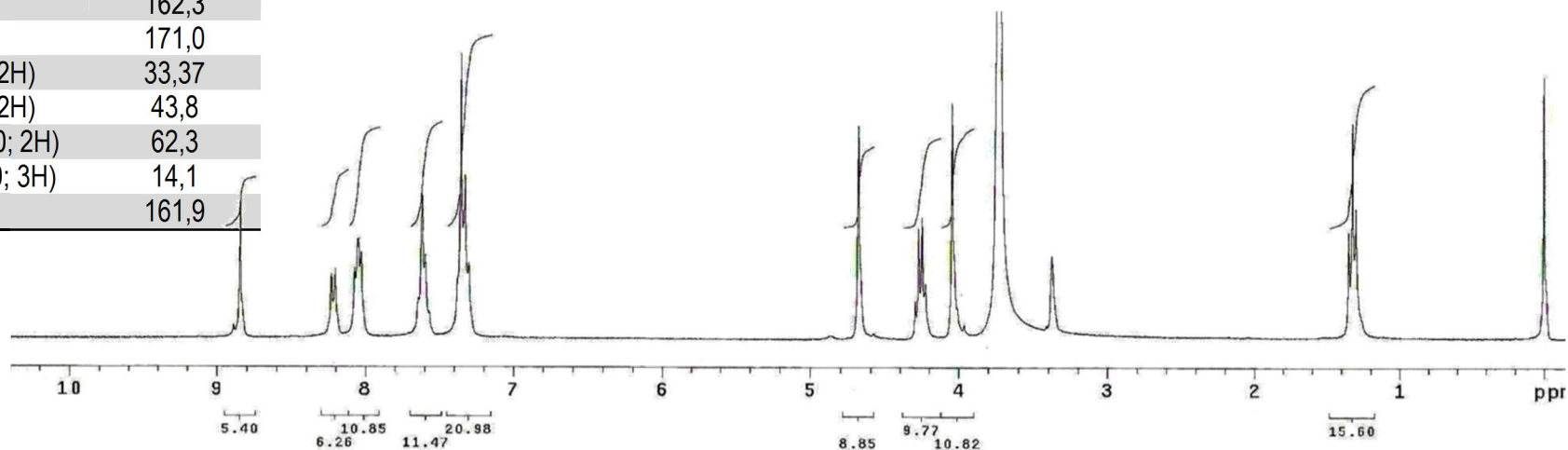
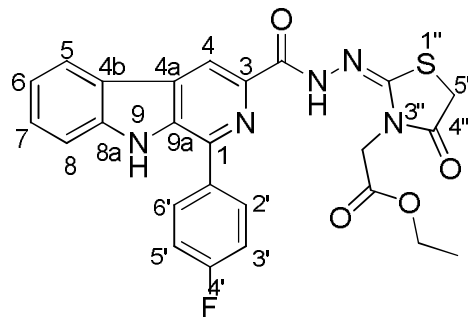
ERMN ^{13}C -36: Espectro de RMN de ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **64g** em CDCl_3 /



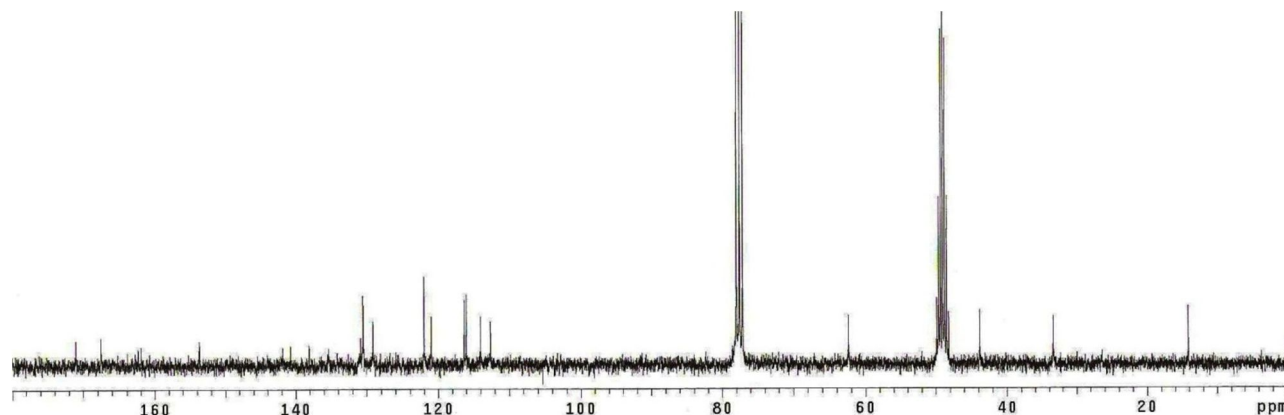
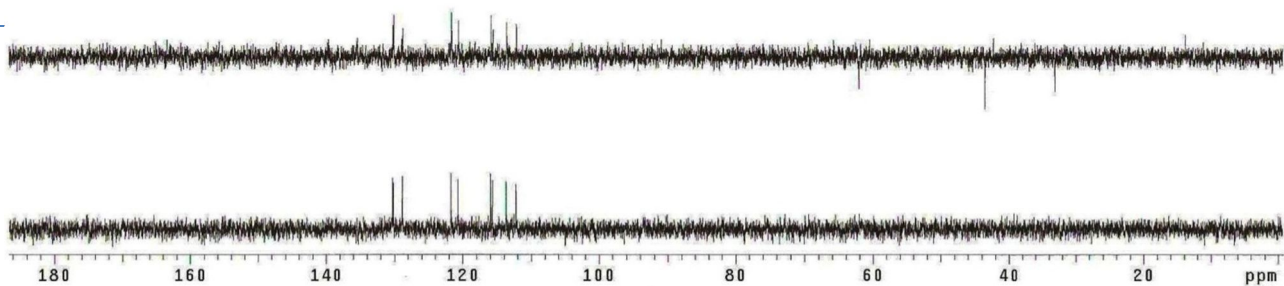
EHSQC 36 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **64g** em CDCl_3 / CD_3OD .

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	140,7
3 C ₀	-	141,8
4 CH	8,84 (s; 1H)	114,0
4a C ₀	-	Não obs.
4b C ₀	-	130,8
5 CH	8,21 (d; 7,8; 1H)	122,0
6 CH	7,30-7,35 (m; 3H)	120,9
7 CH	7,59-7,64 (m; 2H)	129,1
8 CH	7,59-7,64 (m; 2H)	112,5
8a C ₀	-	153,6
9 NH	Não obs.	-
9a C ₀	-	138,0
1'	-	134,7 (90,4)
2'/6' CH	8,04 (d; 8,1; 2H)	130,5 (8,4)
3'/5' CH	7,30-7,35 (m; 3H)	116,1 (21,4)
4' C ₀	-	164,8 (337,5)
C=O _{β}	-	167,5
NH	Não obs.	-
C=N	-	162,3
4'' C=O _{tiaz.}	-	171,0
5'' CH ₂	4,04 (s; 2H)	33,37
N-CH ₂	4,68 (s; 2H)	43,8
OCH ₂ CH ₃	4,25 (q; 7,0; 2H)	62,3
OCH ₂ CH ₃	1,32 (t; 7,0; 3H)	14,1
C=O _{éster}	-	161,9

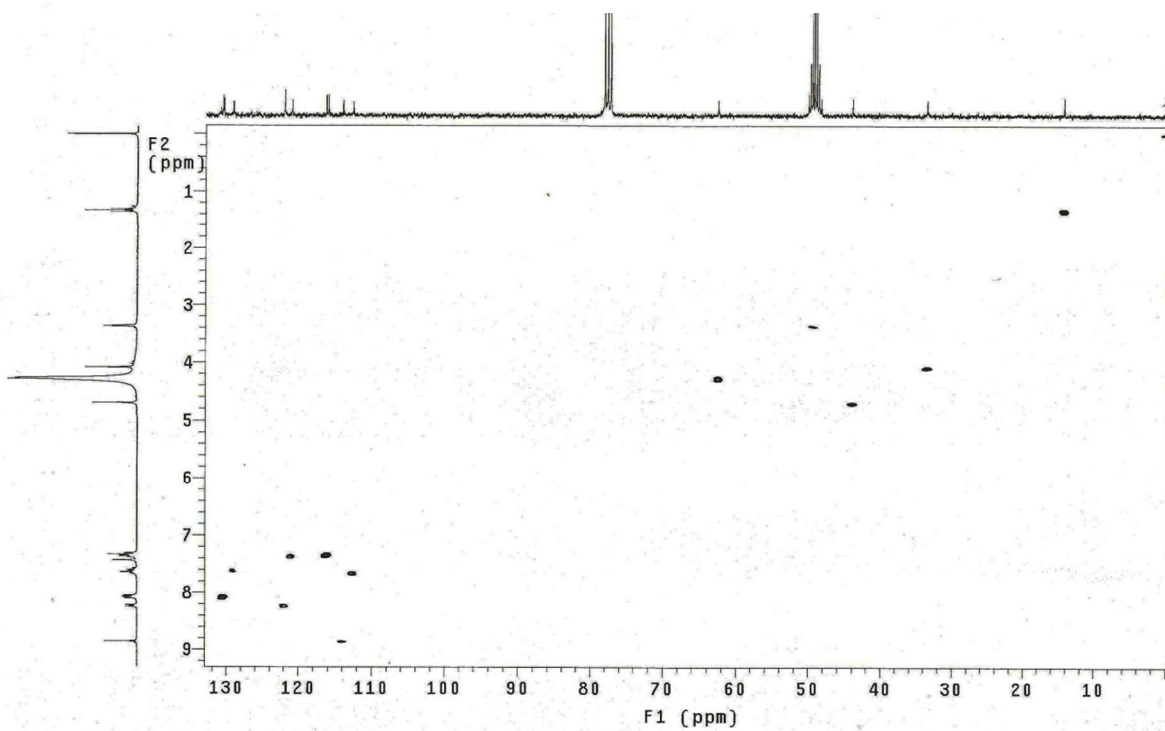
Anexo 37: 1-(*p*-fluorofenil)- β -carbolina-3-carbonilidrazono (3''-aceto acetoxi de etila)-4-tiazolidinona (**64i**)



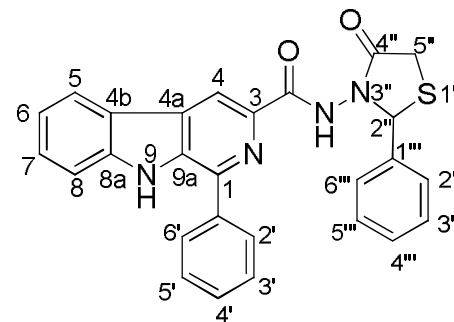
ERMN ¹H-37: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **64i** em DMSO-d₆.



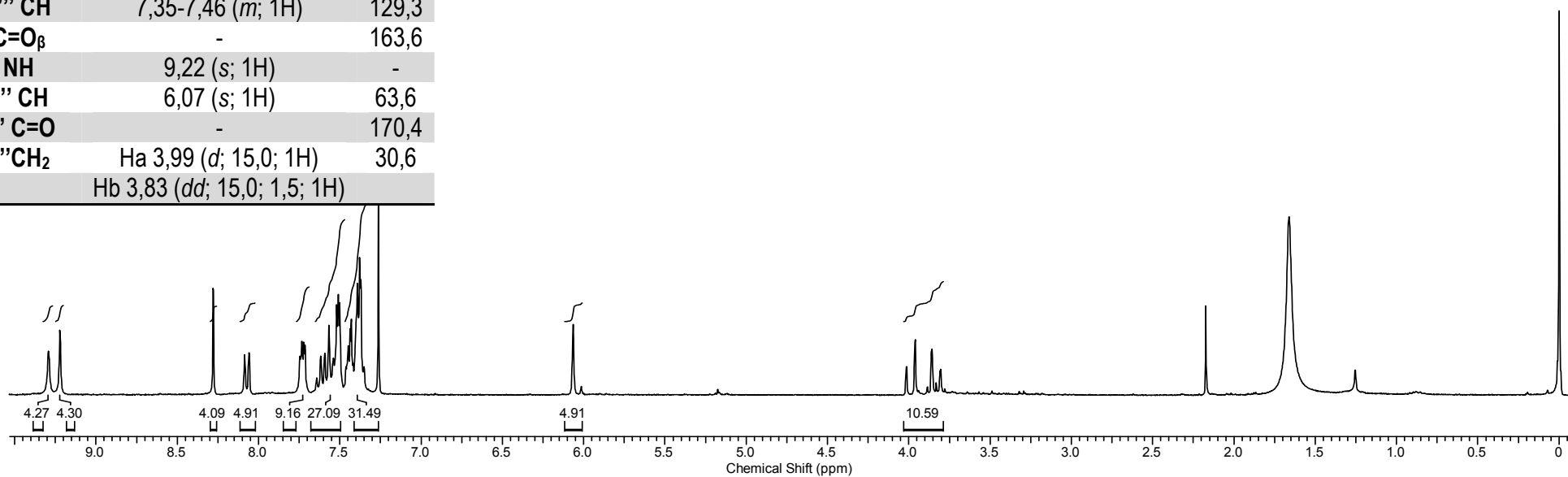
ERMN ¹³C-37: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) de **64i** em DMSO-d₆.

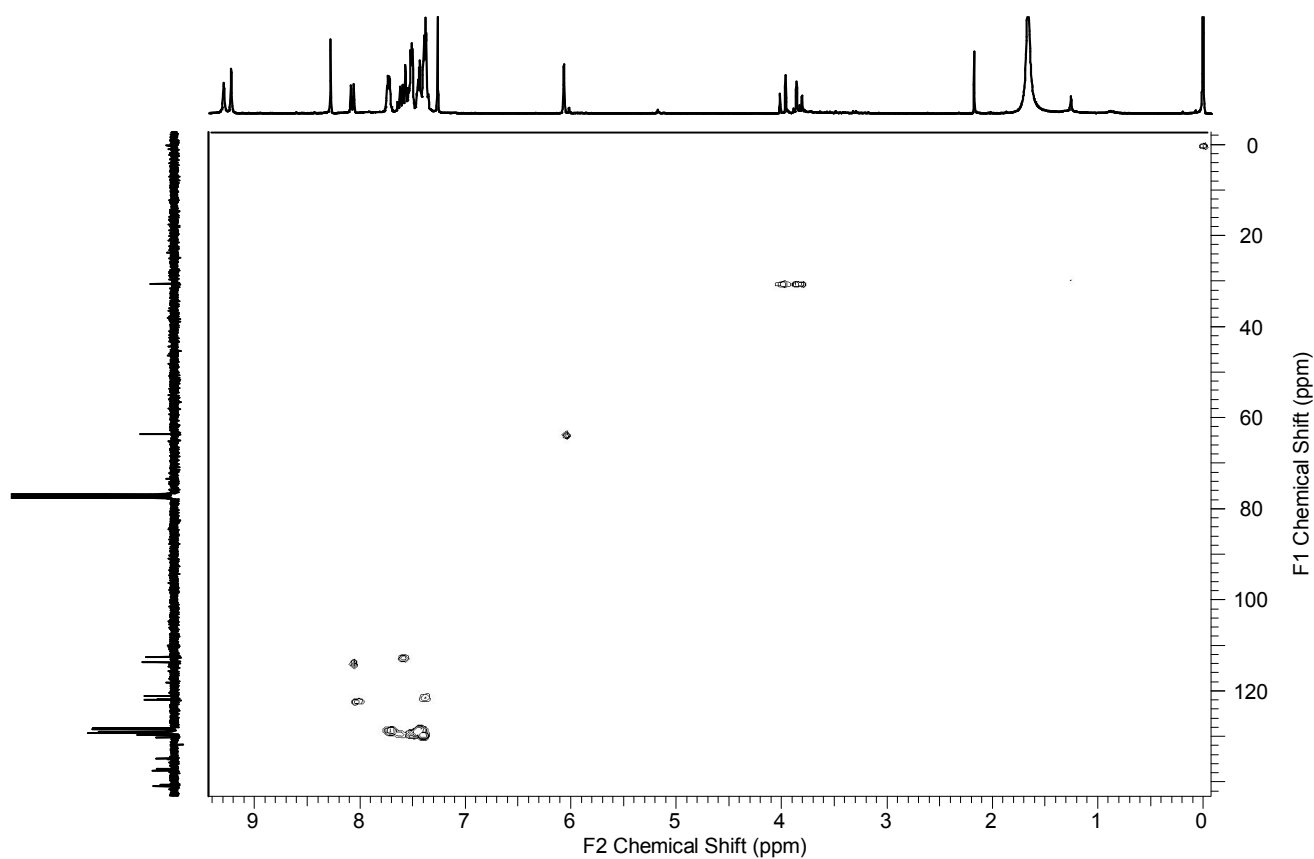


EHSQC 37 Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **64i** em DMSO-d₆.

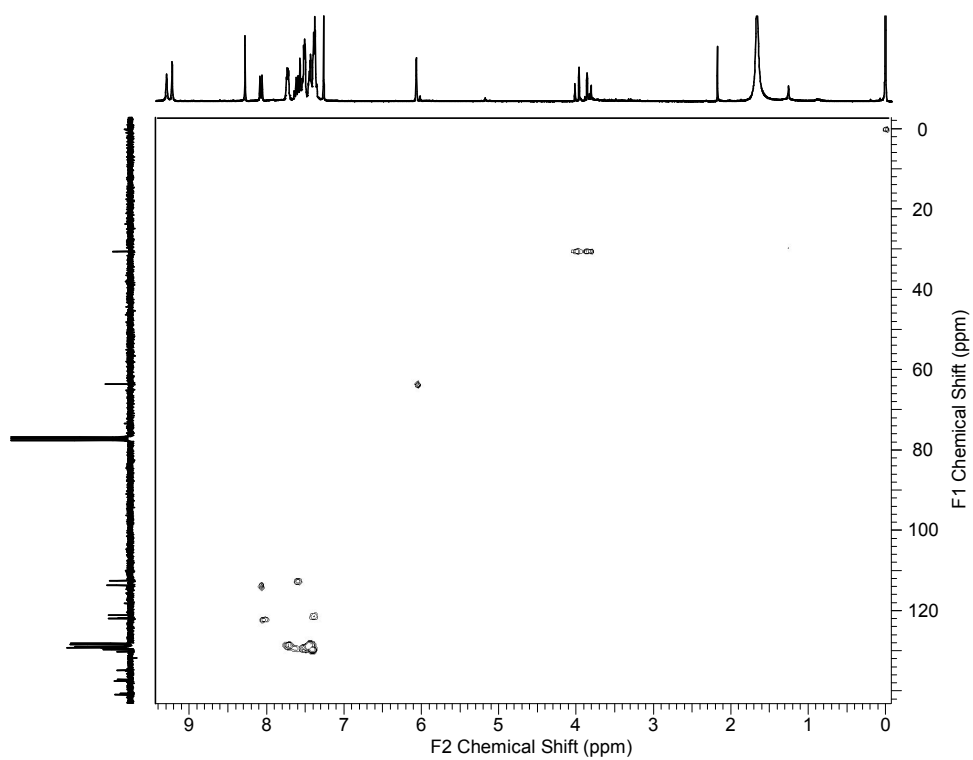
Anexo 38: 1-(fenil)- β -carbolina-3-(amido-N³-(2-fenil)4-tizolidinona (73)

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	140,9
3 C ₀	-	137,5
4 CH	8,27 (s; 1H)	113,8
4a C ₀	-	134,8
4b C ₀	-	121,9
5 CH	8,07 (d; 7,8; 1H)	122,0
6 CH	7,35-7,46 (m; 1H)	121,1
7 CH	7,71-7,74 (m; 1H)	129,2
8 CH	7,49-7,64 (m; 1H)	112,6
8a C ₀	-	140,6
9 NH	9,29 (s; 1H)	-
9a C ₀	-	137,3
1'/1''' C ₀	-	137,2
2'/6' CH	7,49-7,64 (m; 1H)	129,0
3'/5' CH	7,49-7,64 (m; 1H)	128,4
4' CH	7,49-7,64 (m; 1H)	129,6
2'''/6''' CH	7,35-7,46 (m; 1H)	129,2
3'''/5''' CH	7,35-7,46 (m; 1H)	128,1
4''' CH	7,35-7,46 (m; 1H)	129,3
C=O _{β}	-	163,6
NH	9,22 (s; 1H)	-
2'' CH	6,07 (s; 1H)	63,6
4'' C=O	-	170,4
5''CH ₂	Ha 3,99 (d; 15,0; 1H) Hb 3,83 (dd; 15,0; 1,5; 1H)	30,6

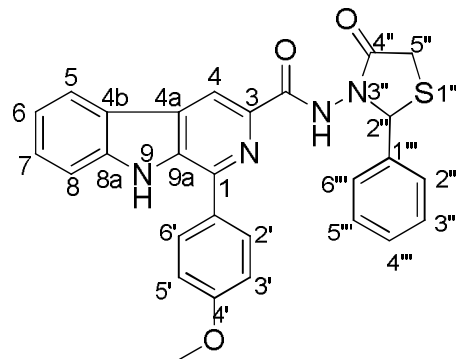
ERMN 1H-38 Espectro de RMN 1H (300,00 MHz) de 73 em CDCl₃.



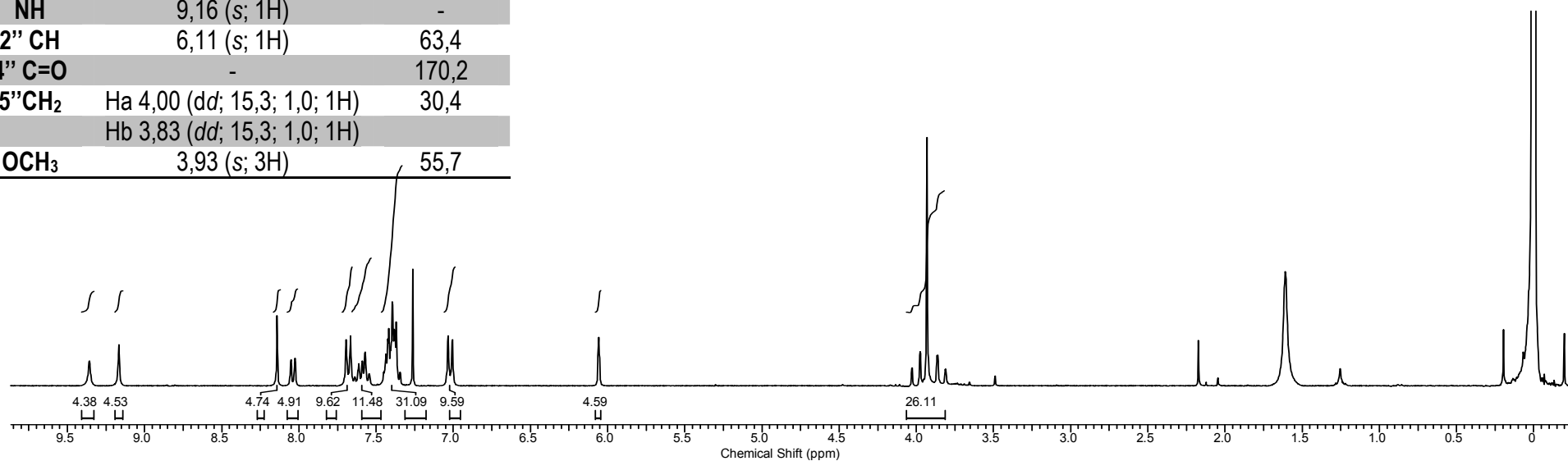
ERMN ^{13}C -38: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **73** em CDCl_3 .

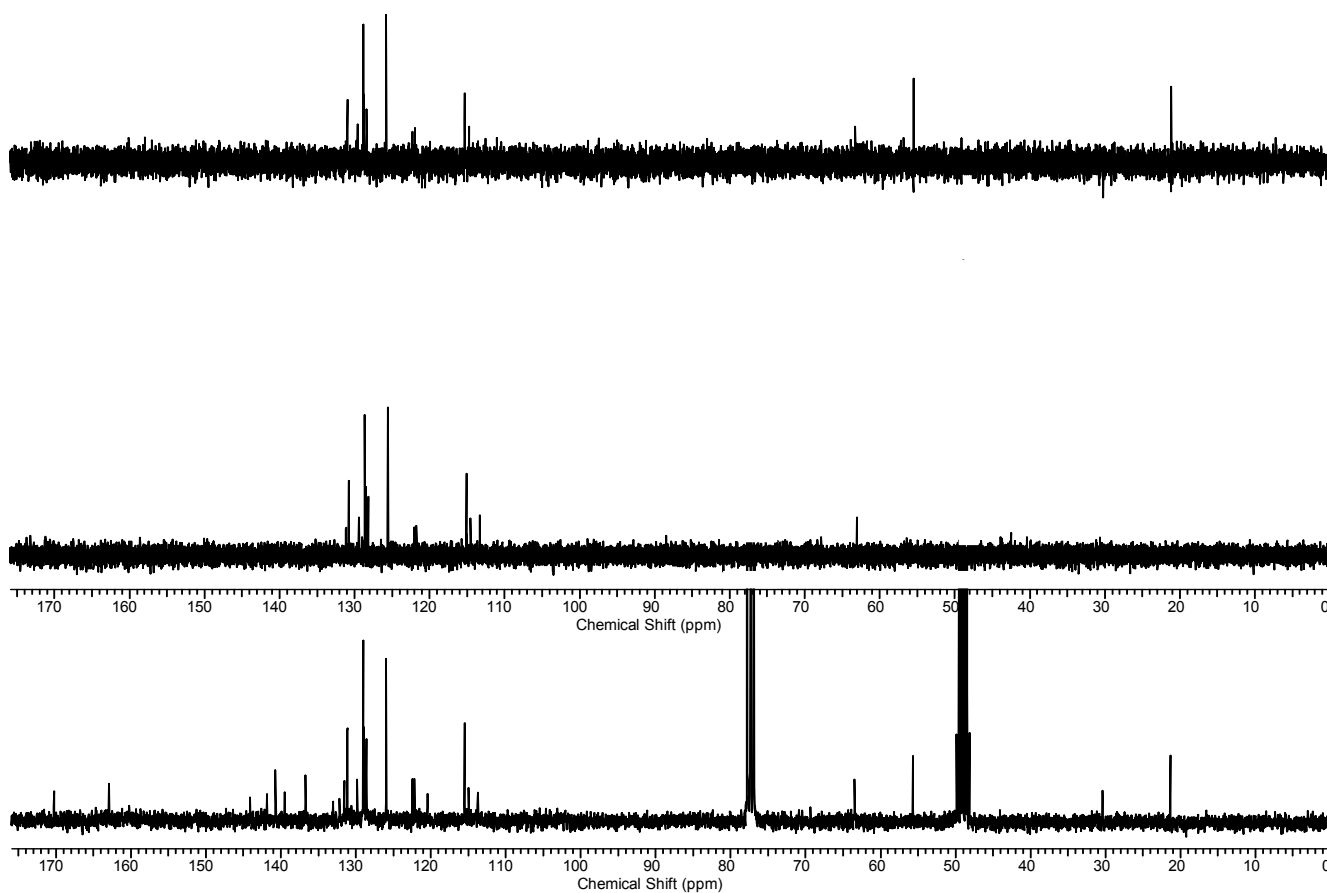


EHSQC-38: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **73** em CDCl_3 .

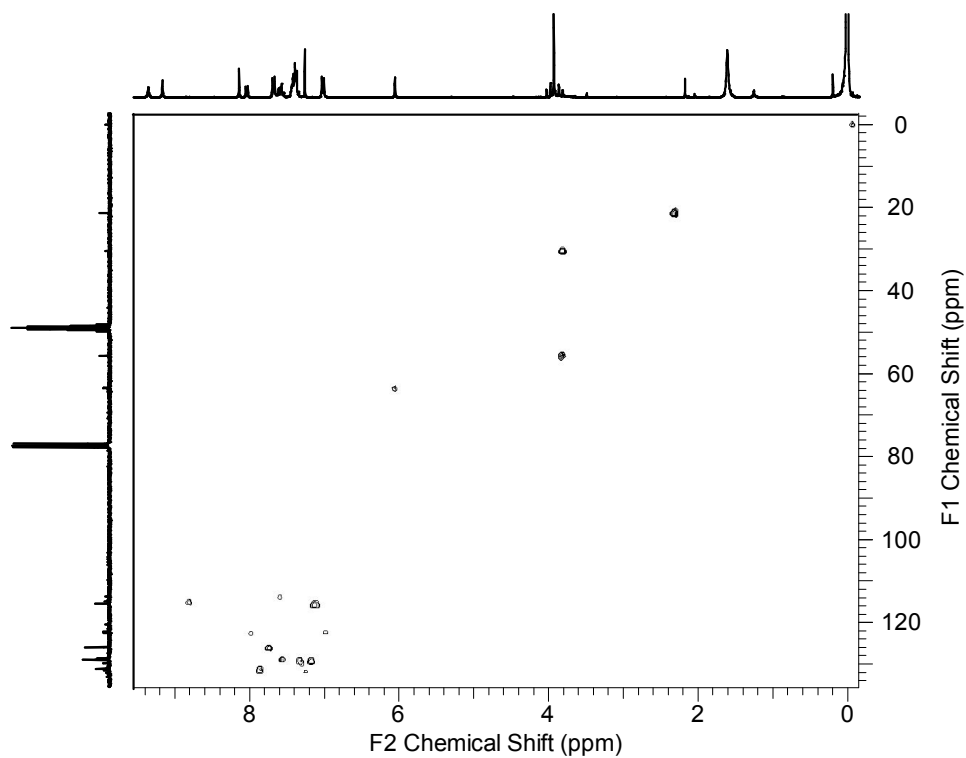
Anexo 39: 1-(*p*-metoxilfenil)- β -carbolina-3-(amido-N³-(2-fenil)4-tizolidinona (**74**)

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	139,5
3 C ₀	-	140,7
4 CH	8,14 (s; 1H)	114,9
4a C ₀	-	120,4
4b C ₀	-	131,5
5 CH	8,03 (d; 7,8; 1H)	122,4
6 CH	6,94 (t; 7,5; 1H)	122,1
7 CH	7,58-7,64 (m; 1H)	128,5
8 CH	7,58-7,64 (m; 1H)	113,7
8a C ₀	-	144,1
9 NH	9,35 (s; 1H)	-
9a C ₀	-	136,7
1'/1''' C ₀	-	132,1/141,8
2'/6' CH	7,90 (d; 9,0; 2H)	131,1
3'/5' CH	7,15 (d; 8,7; 2H)	155,5
4' CH	7,49-7,64 (m; 1H)	160,2
2'''/6''' CH	7,82 (d; 8,1; 2H)	125,9
3'''/5''' CH	7,25 (d; 8; 1; 2H)	129,0
4''' CH	7,33 (m; 1H)	129,8
C=O _{β}	-	162,9
NH	9,16 (s; 1H)	-
2'' CH	6,11 (s; 1H)	63,4
4'' C=O	-	170,2
5''CH ₂	Ha 4,00 (dd; 15,3; 1,0; 1H) Hb 3,83 (dd; 15,3; 1,0; 1H)	30,4
OCH ₃	3,93 (s; 3H)	55,7

ERMN ¹H-39: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **74** em CDCl₃/CD₃OD.



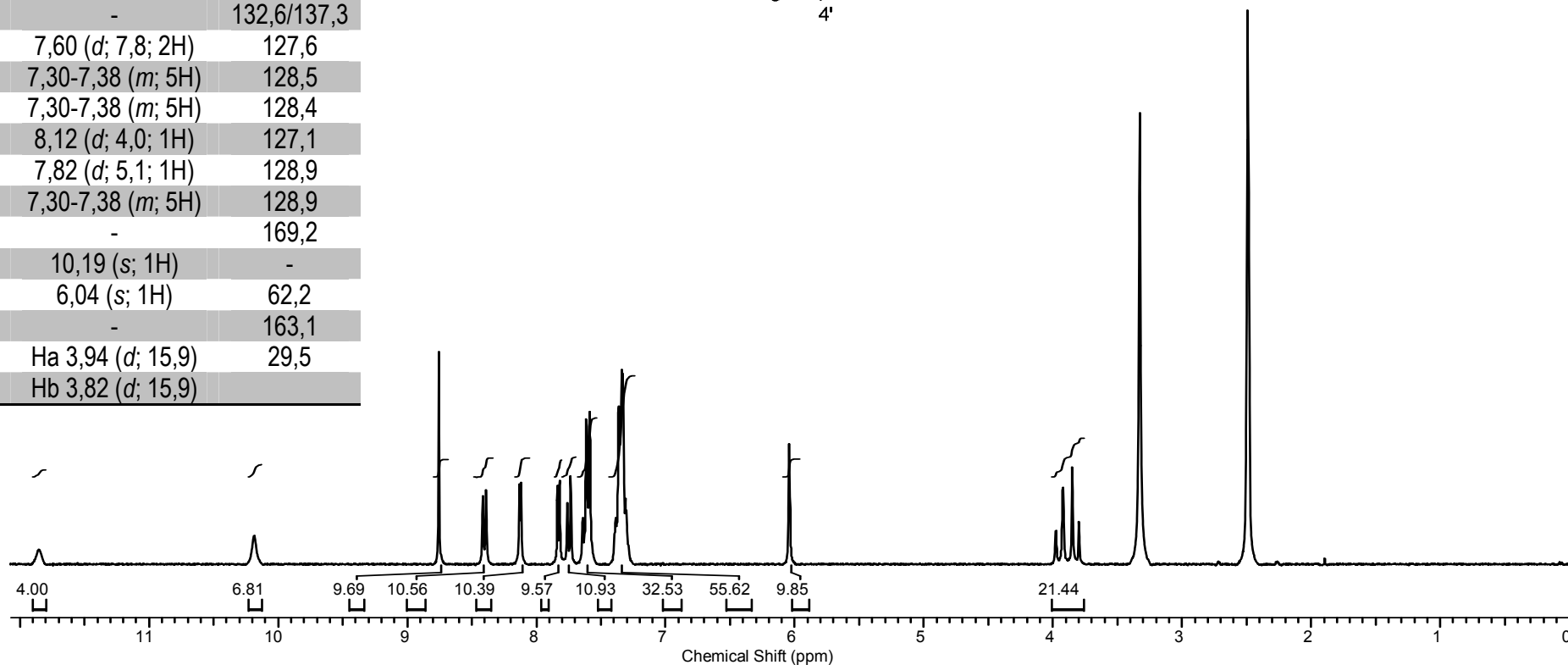
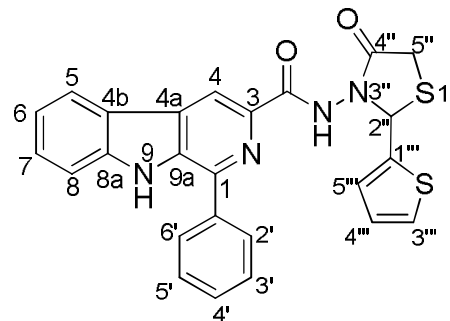
ERMN ¹³C-39: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) de **74** em CDCl₃/CD₃OD.



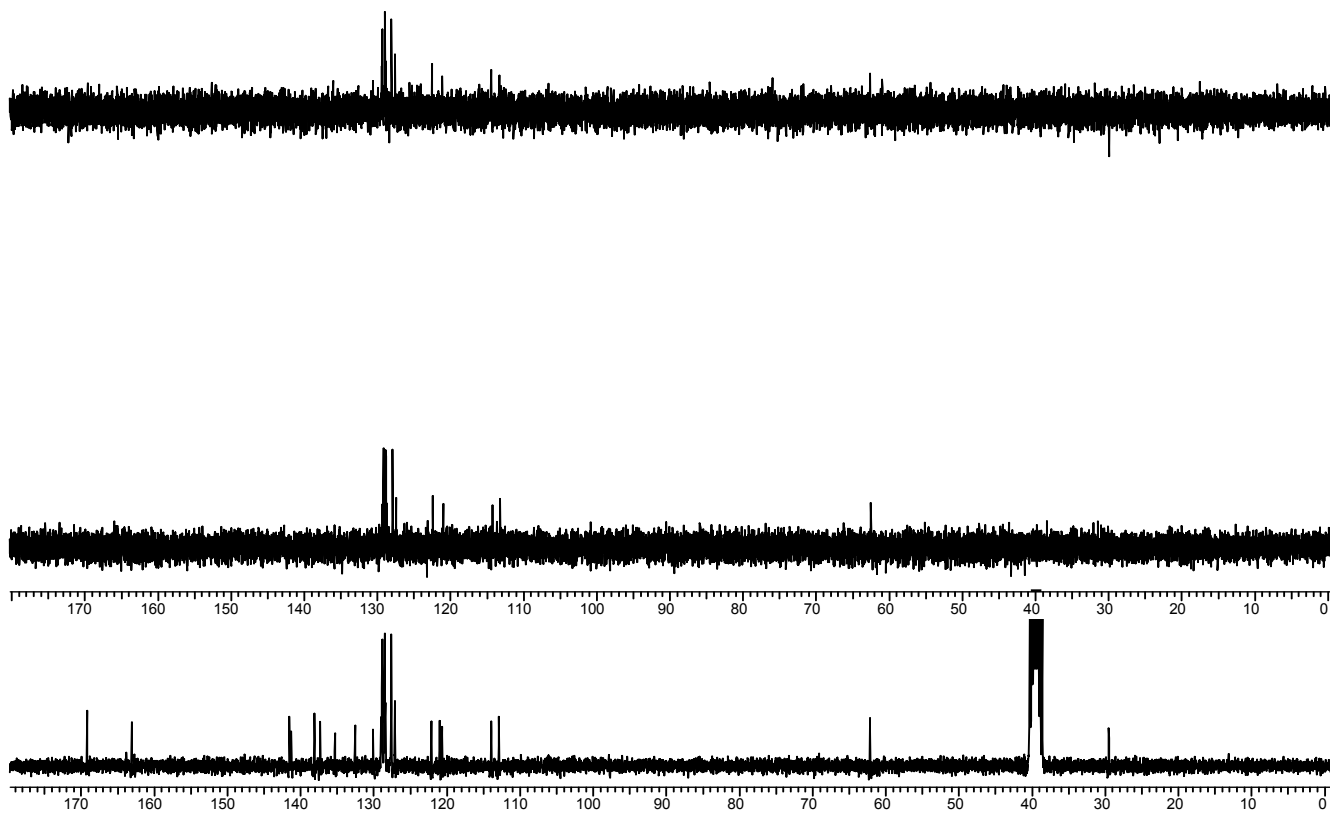
EHSQC-39: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **74** em CDCl₃/CD₃OD.

CH	δ_H (multip.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	141,5
3 C ₀	-	141,3
4 CH	8,75 (s; 1H)	114,0
4a C ₀	-	121,0
4b C ₀	-	130,1
5 CH	8,40 (d; 8,1; 1H)	122,1
6 CH	7,30-7,38 (m; 5H)	120,7
7 CH	7,58-7,63 (m; 5H)	129,1
8 CH	7,74 (d; 8,4; 1H)	112,9
8a C ₀	-	135,3
9 NH	11,86 (s; 1H)	-
9a C ₀	-	138,1
1'/1'''	-	132,6/137,3
2'/6' CH	7,60 (d; 7,8; 2H)	127,6
3'/5' CH	7,30-7,38 (m; 5H)	128,5
4' CH	7,30-7,38 (m; 5H)	128,4
3''' CH	8,12 (d; 4,0; 1H)	127,1
4''' CH	7,82 (d; 5,1; 1H)	128,9
5''' CH	7,30-7,38 (m; 5H)	128,9
C=O _{β}	-	169,2
NH	10,19 (s; 1H)	-
2''CH	6,04 (s; 1H)	62,2
4'' C=O	-	163,1
5''CH ₂	Ha 3,94 (d; 15,9)	29,5
	Hb 3,82 (d; 15,9)	

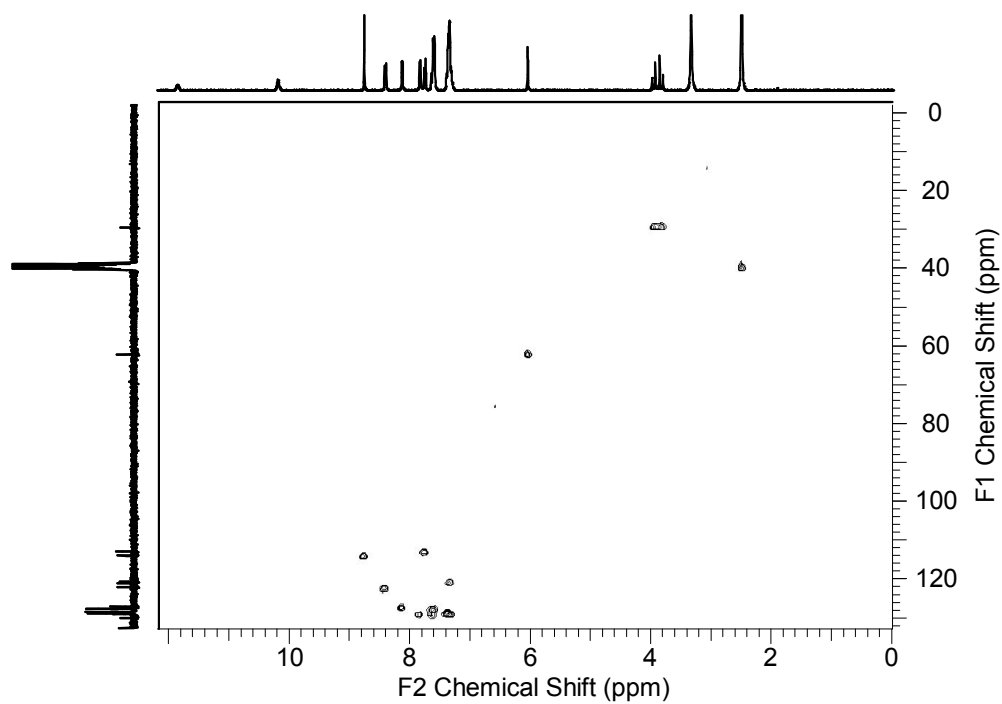
Anexo 41: 1-(fenil)- β -carbolina-3-(amido-N³-(2-(2-tiofenil))4-tizolidinona (76)



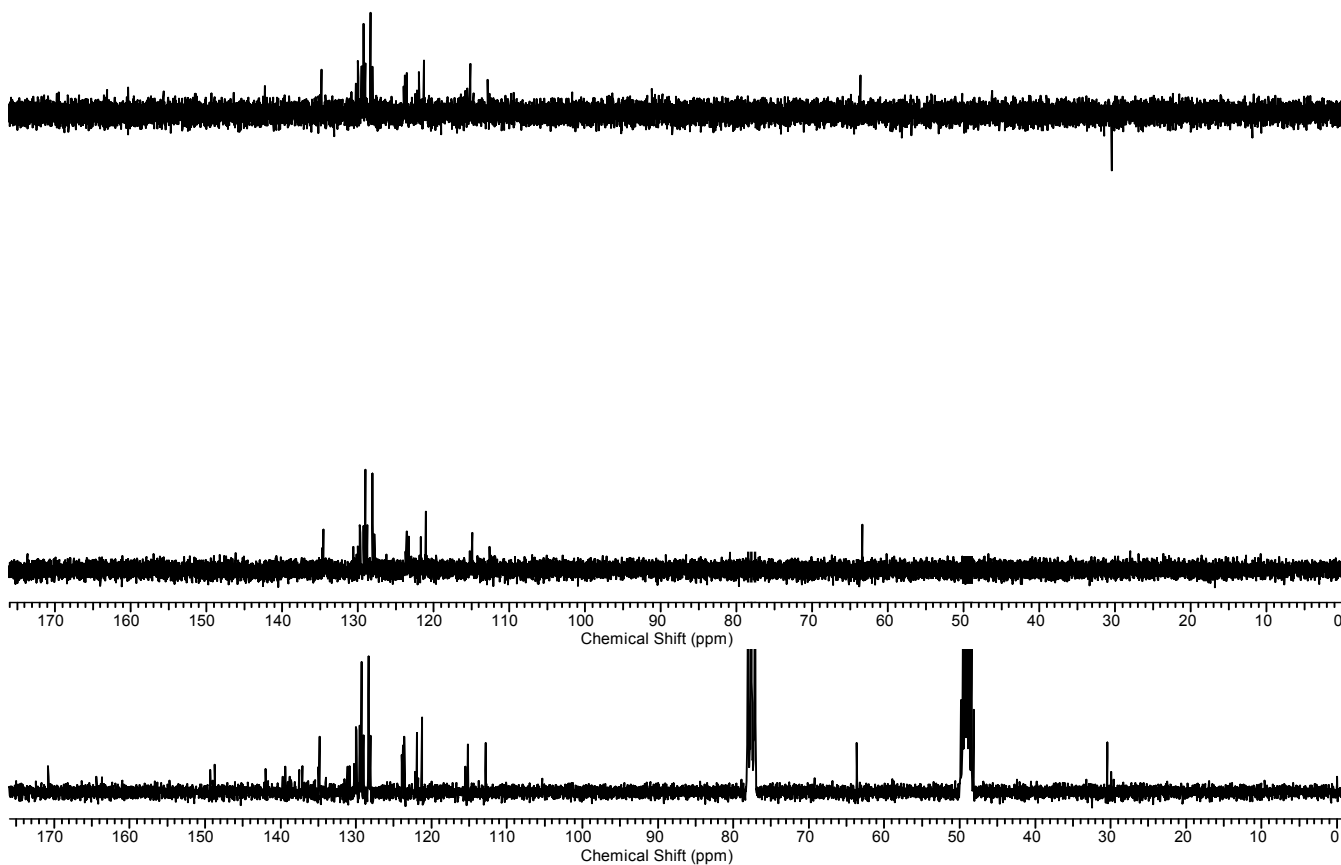
ERMN ¹H-41: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de 76 em DMSO-d₆.



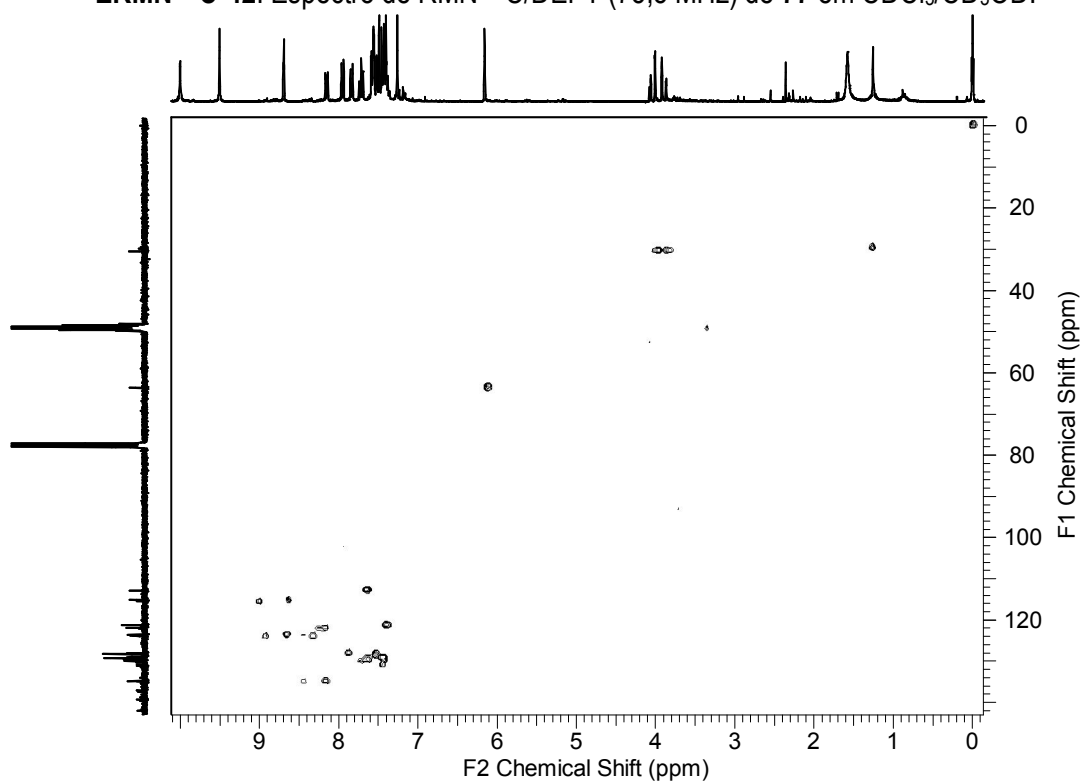
ERMN ¹³C-41: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz) de **76** em DMSO-d₆.



EHSQC-41: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **76** em DMSO-d₆.



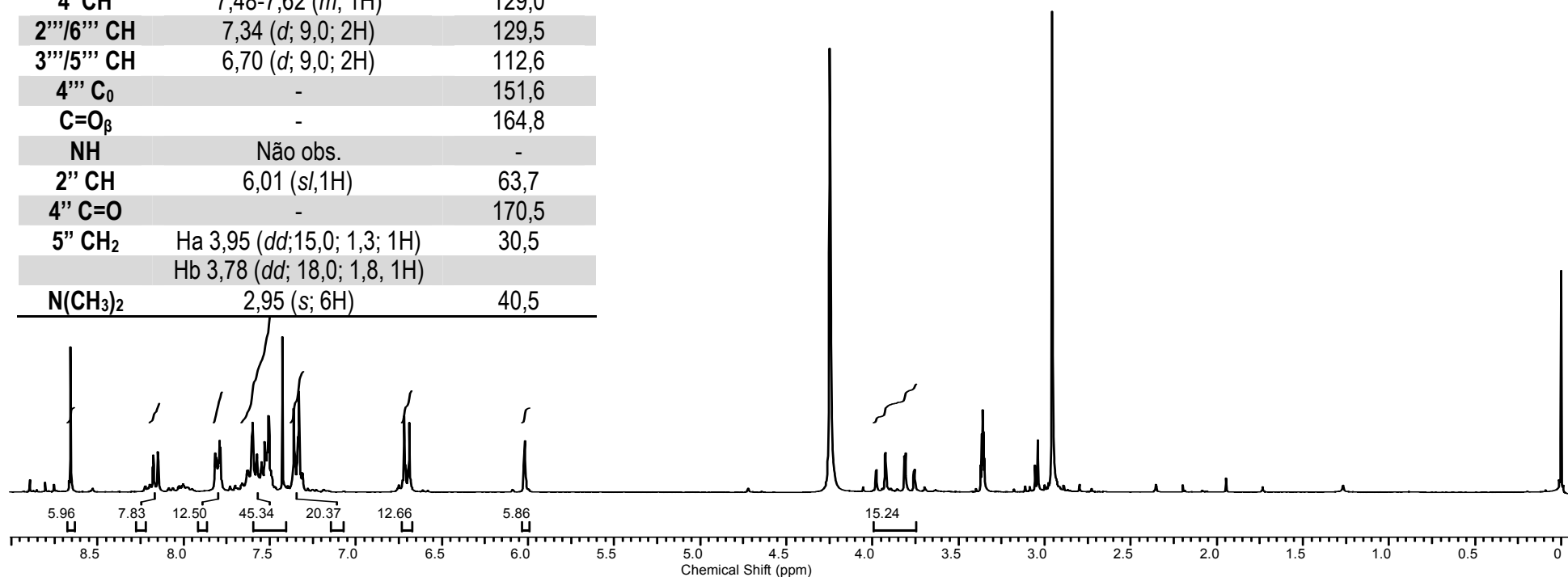
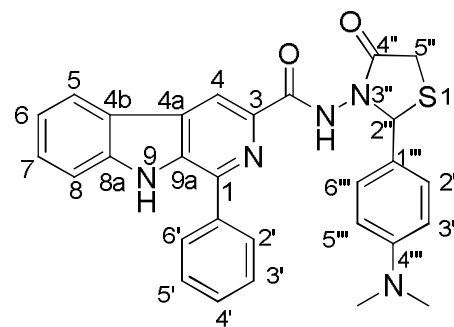
ERMN ^{13}C -42: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **77** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.

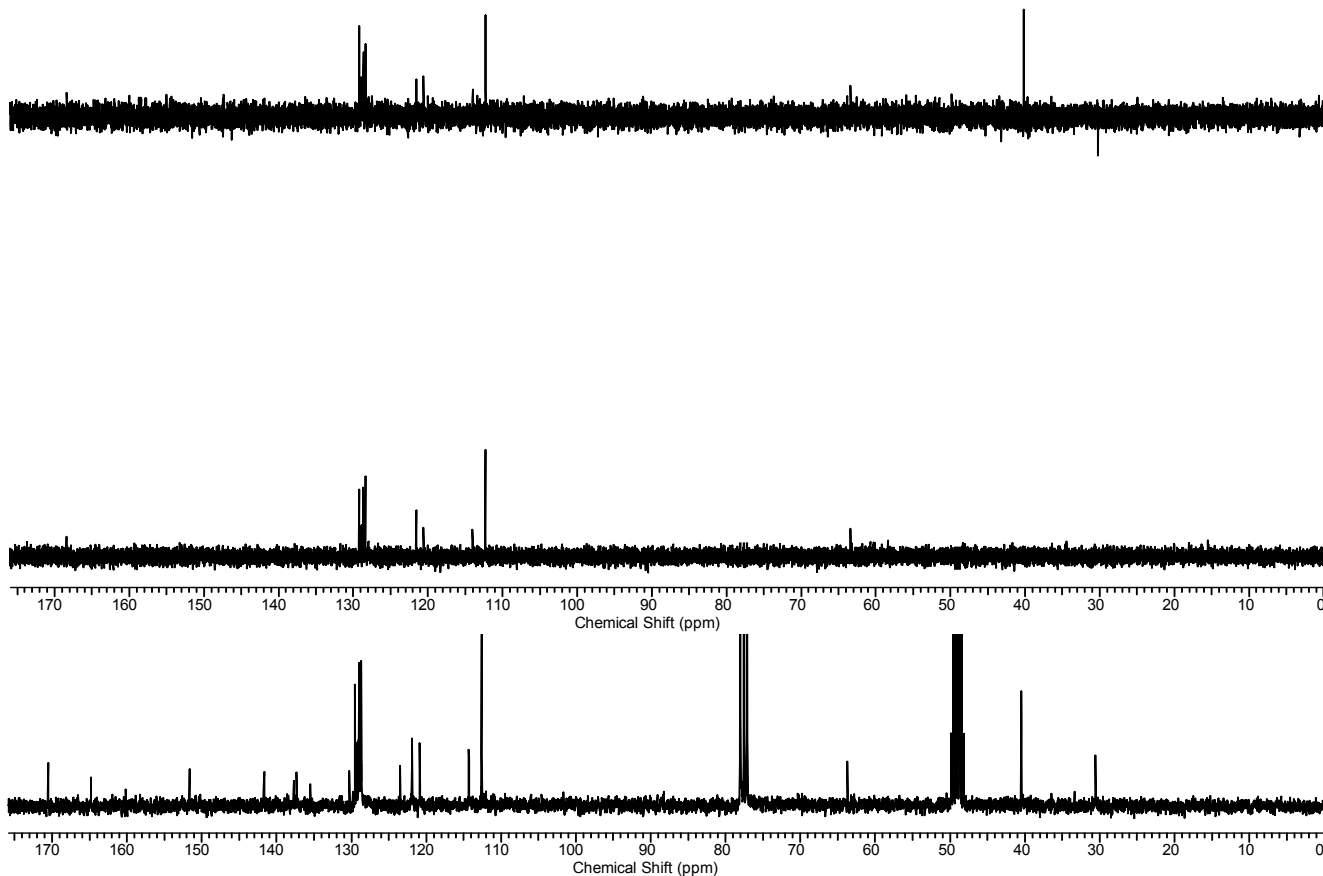


EHSQC-42: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **77** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.

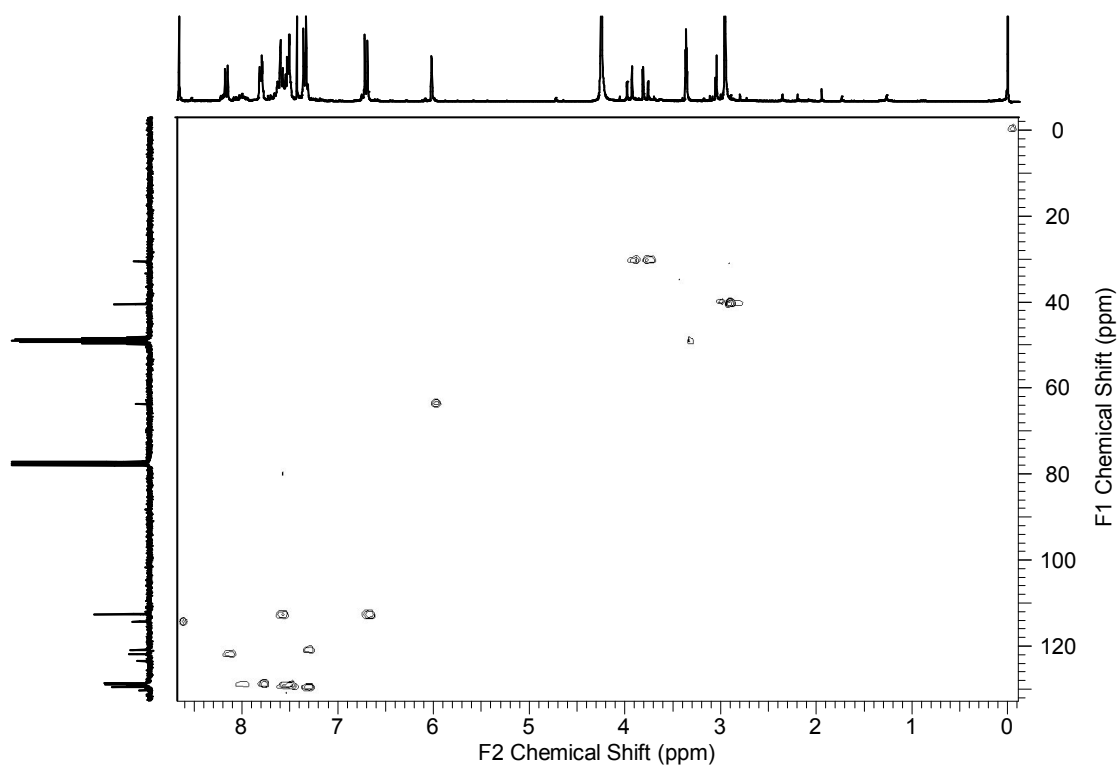
Anexo 43: 1-(fenil)- β -carbolina-3-(amido-N³-(2-(*p*-dimetilaminofenil))4-tizolidinona (**78**)

C/H	δ_H (<i>multipl.</i> ; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	141,6
3 C ₀	-	137,7
4 CH	8,65 (s; 1H)	114,3
4a C ₀	-	121,9
4b C ₀	-	123,5
5 CH	8,16 (d; 7,8; 1H)	121,8
6 CH	7,30-7,35 (m; 1H)	120,9
7 CH	7,49-7,54 (m; 1H)	129,3
8 CH	7,78-7,81 (m; 1H)	112,6
8a C ₀	-	160,1
9 NH	Não obs.	-
9a C ₀	-	137,3
1'/1''' C ₀	-	130,2/135,5
2'/6'	7,55-7,62 (m; 2H)	129,5
3'/5'	7,51 (d; 7,5; 2H)	128,9
4' CH	7,48-7,62 (m; 1H)	129,0
2'''/6''' CH	7,34 (d; 9,0; 2H)	129,5
3'''/5''' CH	6,70 (d; 9,0; 2H)	112,6
4''' C ₀	-	151,6
C=O _{β}	-	164,8
NH	Não obs.	-
2'' CH	6,01 (sl, 1H)	63,7
4'' C=O	-	170,5
5'' CH ₂	Ha 3,95 (dd; 15,0; 1,3; 1H) Hb 3,78 (dd; 18,0; 1,8; 1H)	30,5
N(CH ₃) ₂	2,95 (s; 6H)	40,5

ERMN ¹H-43: Espectro de RMN ¹H (300,00 MHz) de **78** em CDCl₃/CD₃OD.



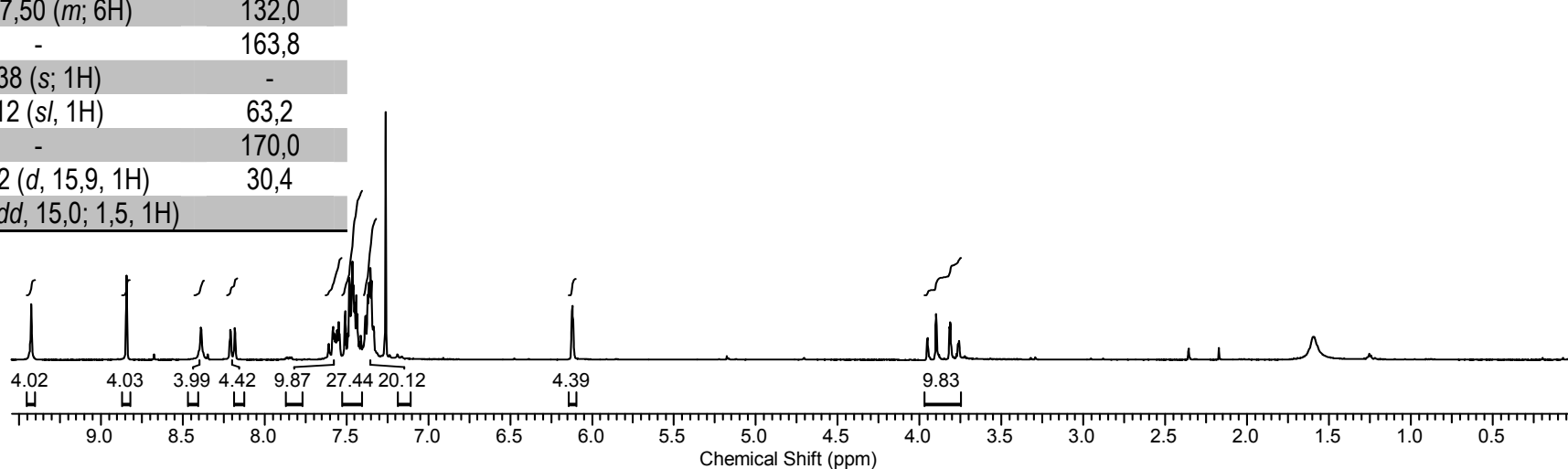
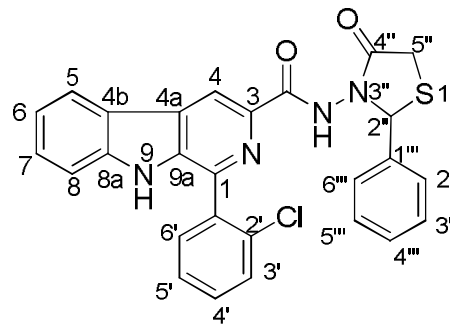
ERMN ^{13}C -43: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **78** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.



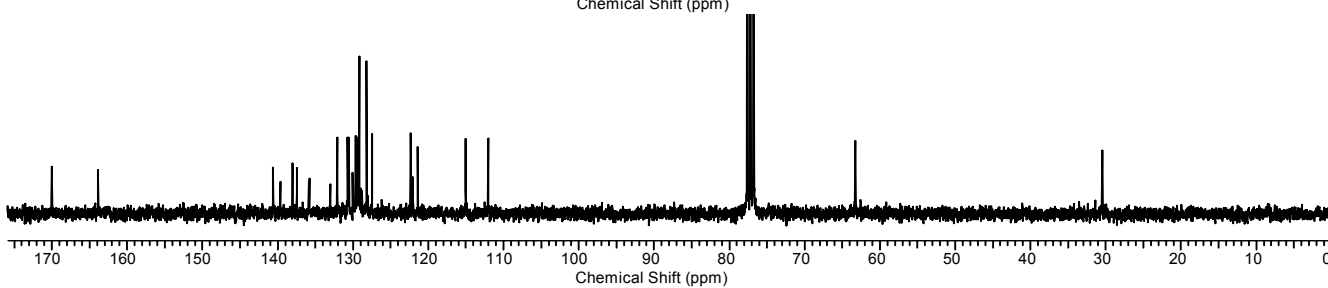
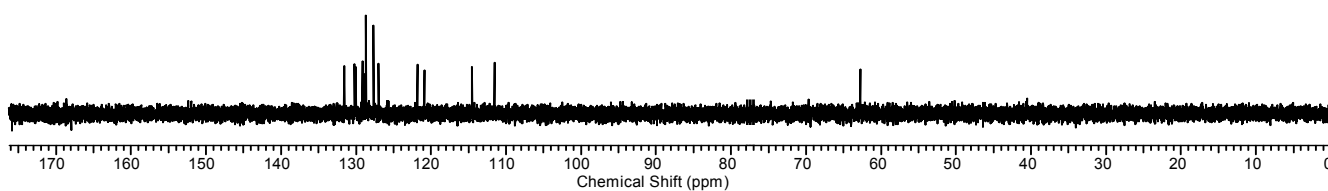
EHSQC-43: Espectro de HSQC (300,00 MHz/75,5 MHz) de **78** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.

C/H	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
1 C ₀	-	137,4
3 C ₀	-	138,0
4 CH	8,84 (s; 1H)	115,0
4a C ₀	-	122,0
4b C ₀	-	130,0
5 CH	8,19 (d; 8,1; 1H)	122,3
6 CH	7,33-7,38 (m; 4H)	121,3
7 CH	7,33-7,38 (m; 4H)	129,4
8 CH	7,38-7,33 (m; 6H)	112,0
8a C ₀	-	140,6
9 NH	9,42 (s; 1H)	-
9a C ₀	-	135,9
1'/1''' C ₀	-	135,7/139,6
2' C ₀	-	133,0
3' CH	7,43-7,50 (m; 6H)	130,5
4' CH	7,54-7,58 (m; 2H)	130,7
5' CH	7,54-7,58 (m; 2H)	126,6
6' CH	7,43-7,50 (m; 6H)	127,4
2'''/6''' CH	7,49 (d; 7,8; 2H)	129,1
3'''/5''' CH	7,33-7,38 (4H)	128,1
4''' C ₀	7,43-7,50 (m; 6H)	132,0
C=O _{β}	-	163,8
NH	8,38 (s; 1H)	-
2''CH	6,12 (sl, 1H)	63,2
4'' C=O	-	170,0
5'' CH ₂	Ha 3,92 (d, 15,9, 1H) Hb 3,78 (dd, 15,0; 1,5, 1H)	30,4

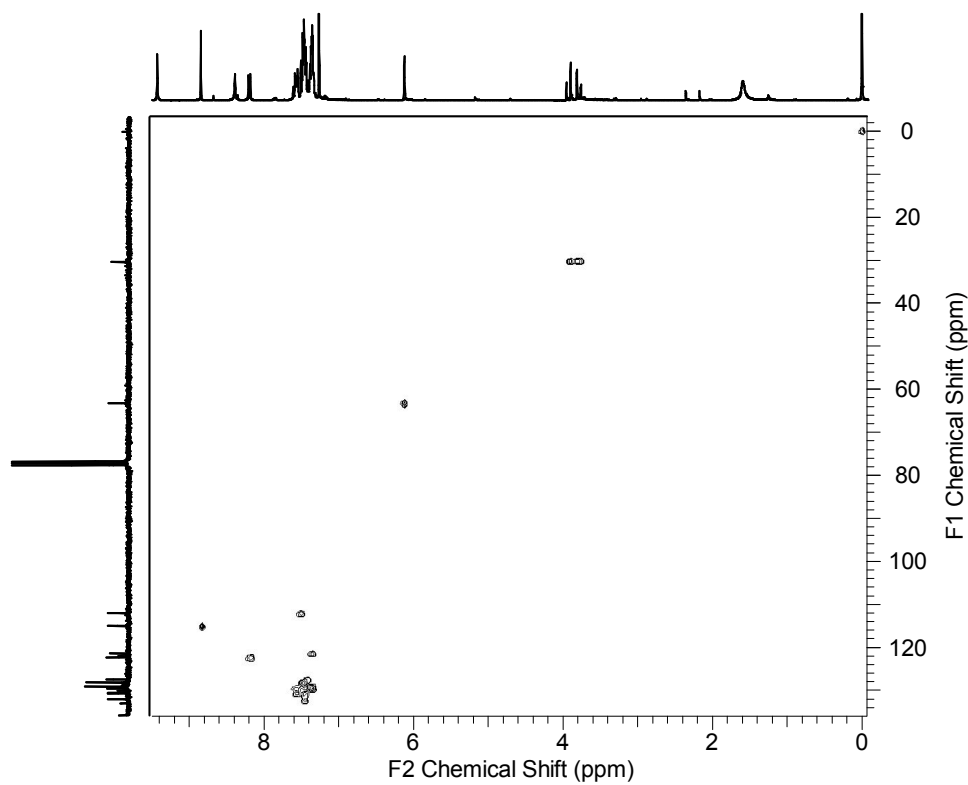
Anexo 44: 1-(o-clorofenil)- β -carbolina-3-(amido-N³-(2-(fenil))4-tizolidinona (**79**)



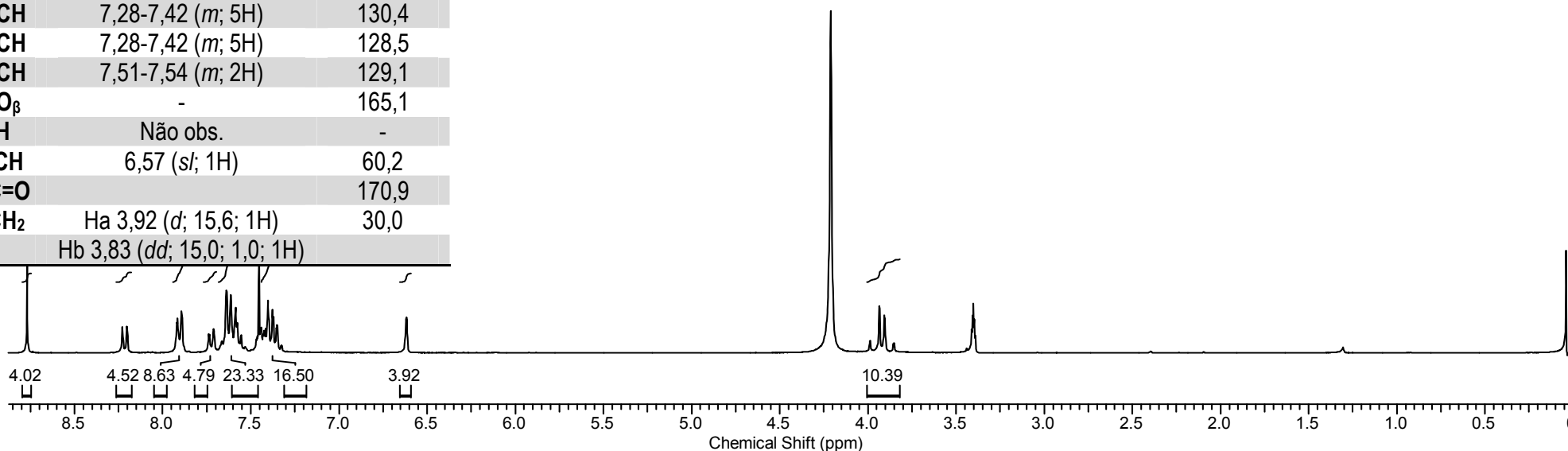
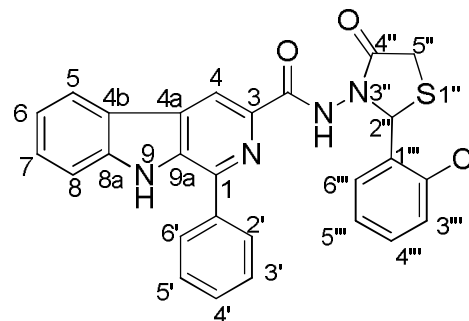
ERMN ¹H-44: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **79** em CDCl₃.

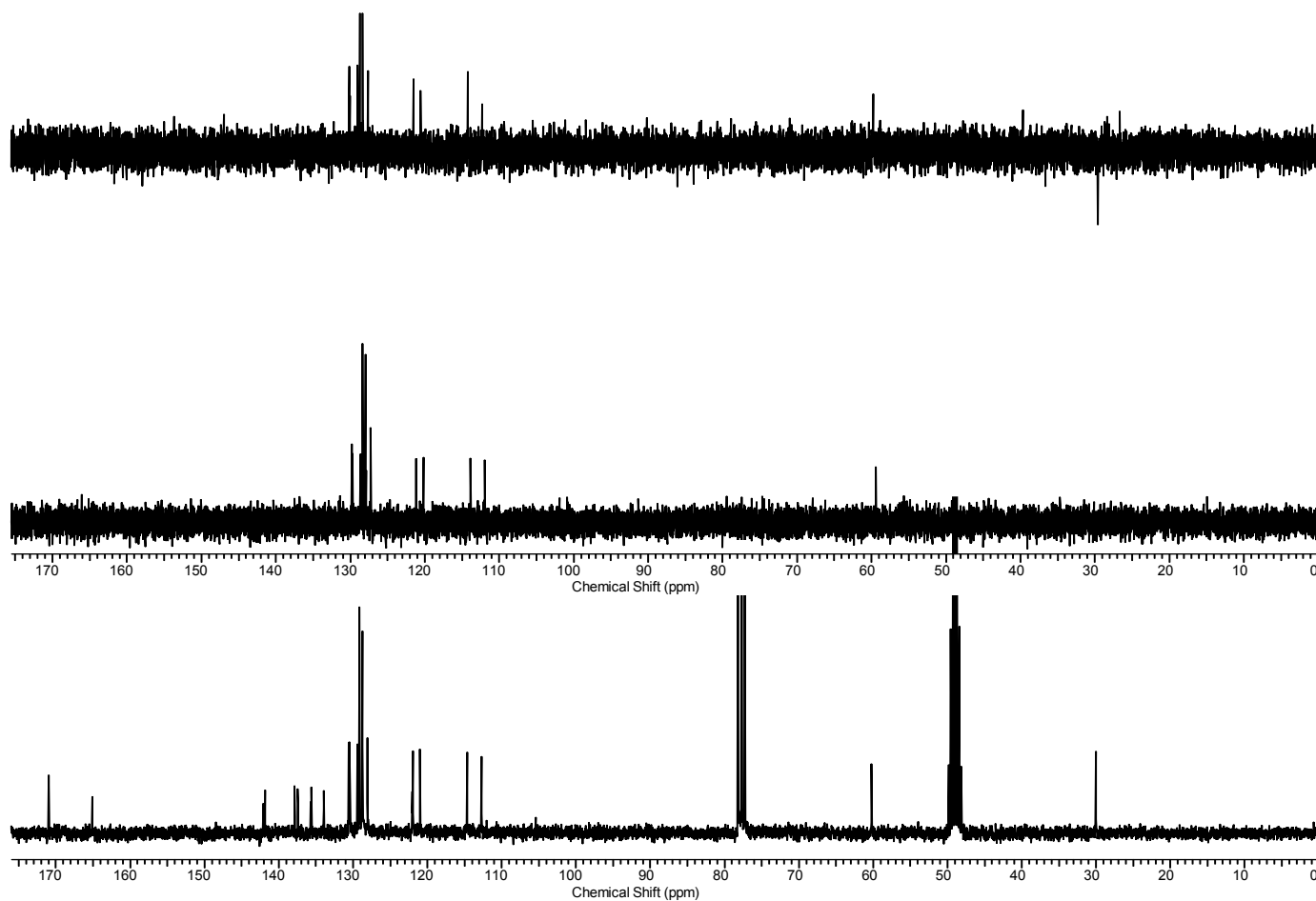


ERMN ¹³C-44: Espectro de RMN de ¹³C/DEPT (75,5 MHz) de **79** em CDCl₃.

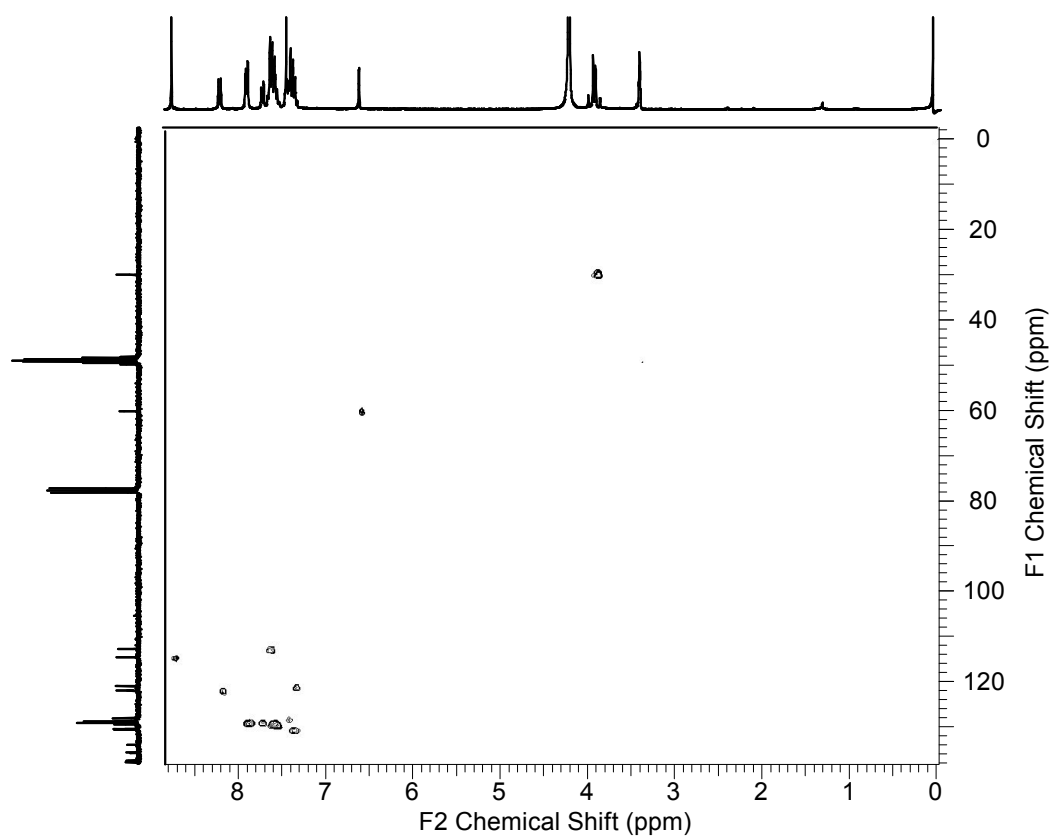


EHSQC-44: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz) de **79** em CDCl₃.

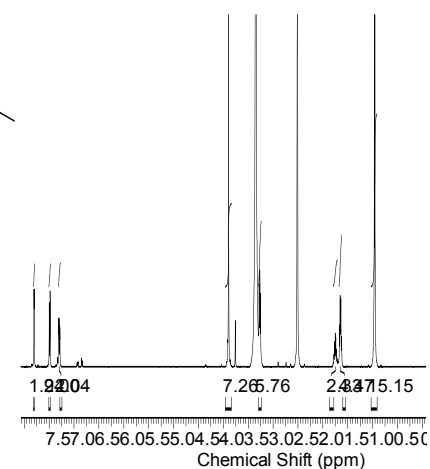
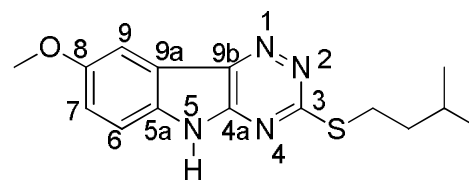
Anexo 45: 1-(fenil)- β -carbolina-3-(amido-N³-(2-(o-clorofenil))4-tizolidinona (**80**)ERMN ¹H-45: Espectro de RMN de ¹H (300,00 MHz) de **80** em CDCl₃/CD₃OD.



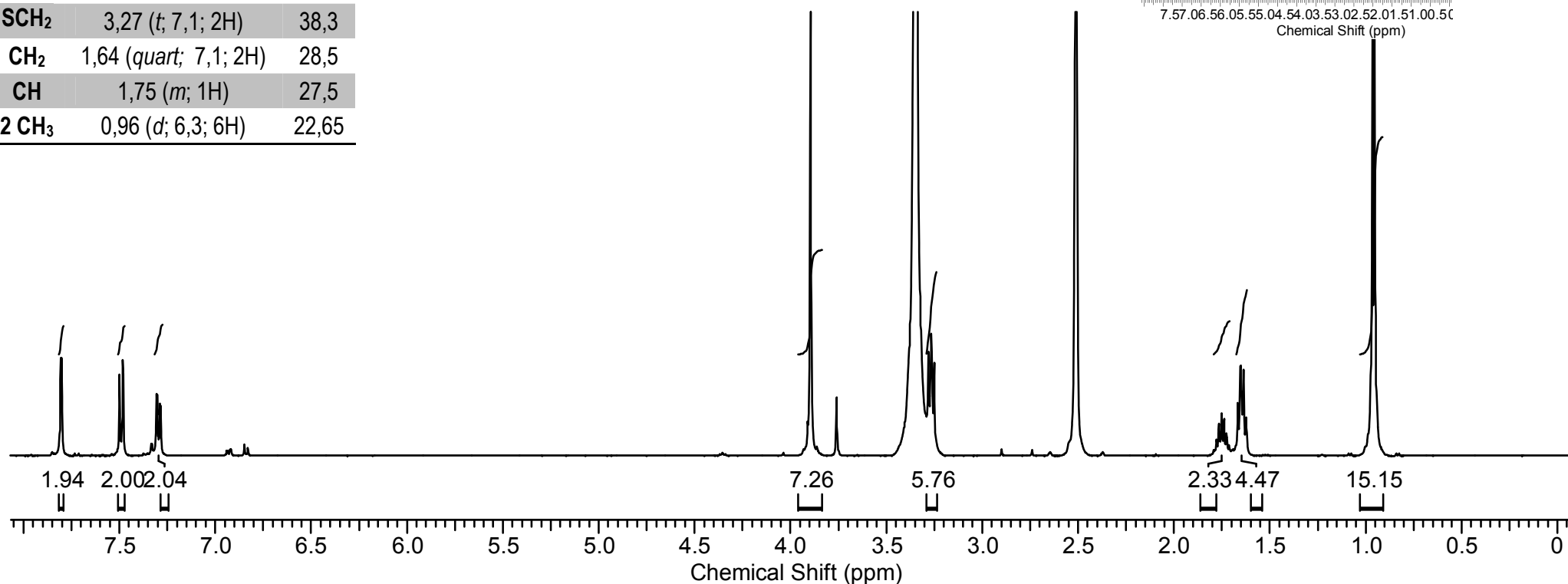
ERMN ^{13}C -45: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz) de **82** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.

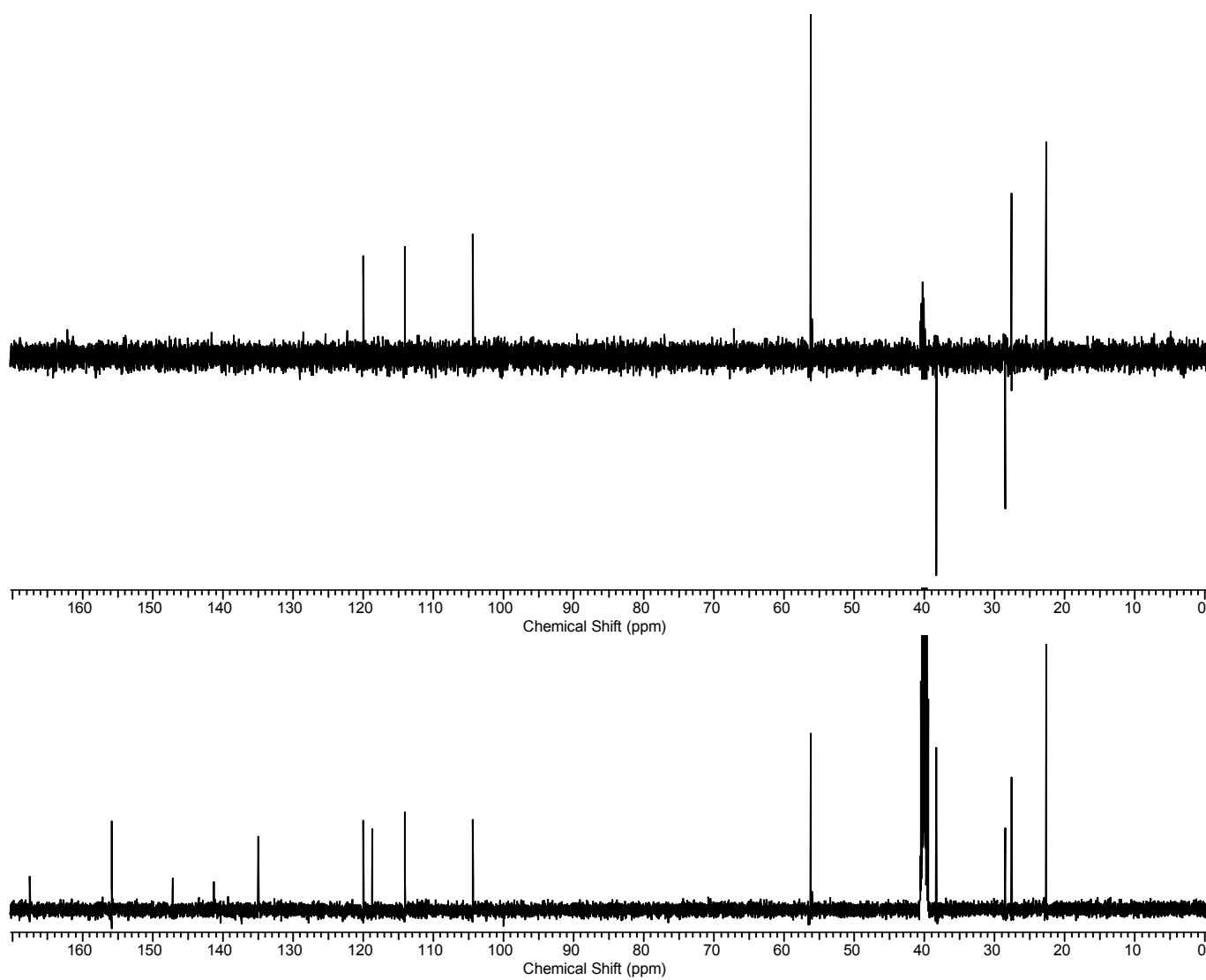


EHSQC-45: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz) de **80** em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$.

Anexo 46: 3-(3-metilbutiltio)-8-metoxi-[1,2,4]indol-triazino (**96a**)

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	167,5
4a C ₀	-	141,3
5a C ₀	-	147,1
6 CH	7,49 (d; 8,8; 1H)	114,0
7 (H	7,29 (dd; 8,8; 2,0; 1H)	119,9
8 C ₀	-	155,8
9 CH	7,80 (d; 2,5; 1H)	104,4
9a C ₀	-	134,9
9b C ₀	-	118,7
OCH ₃	3,90 (s; 3H)	56,2
SCH ₂	3,27 (t; 7,1; 2H)	38,3
CH ₂	1,64 (quart; 7,1; 2H)	28,5
CH	1,75 (m; 1H)	27,5
2 CH ₃	0,96 (d; 6,3; 6H)	22,65

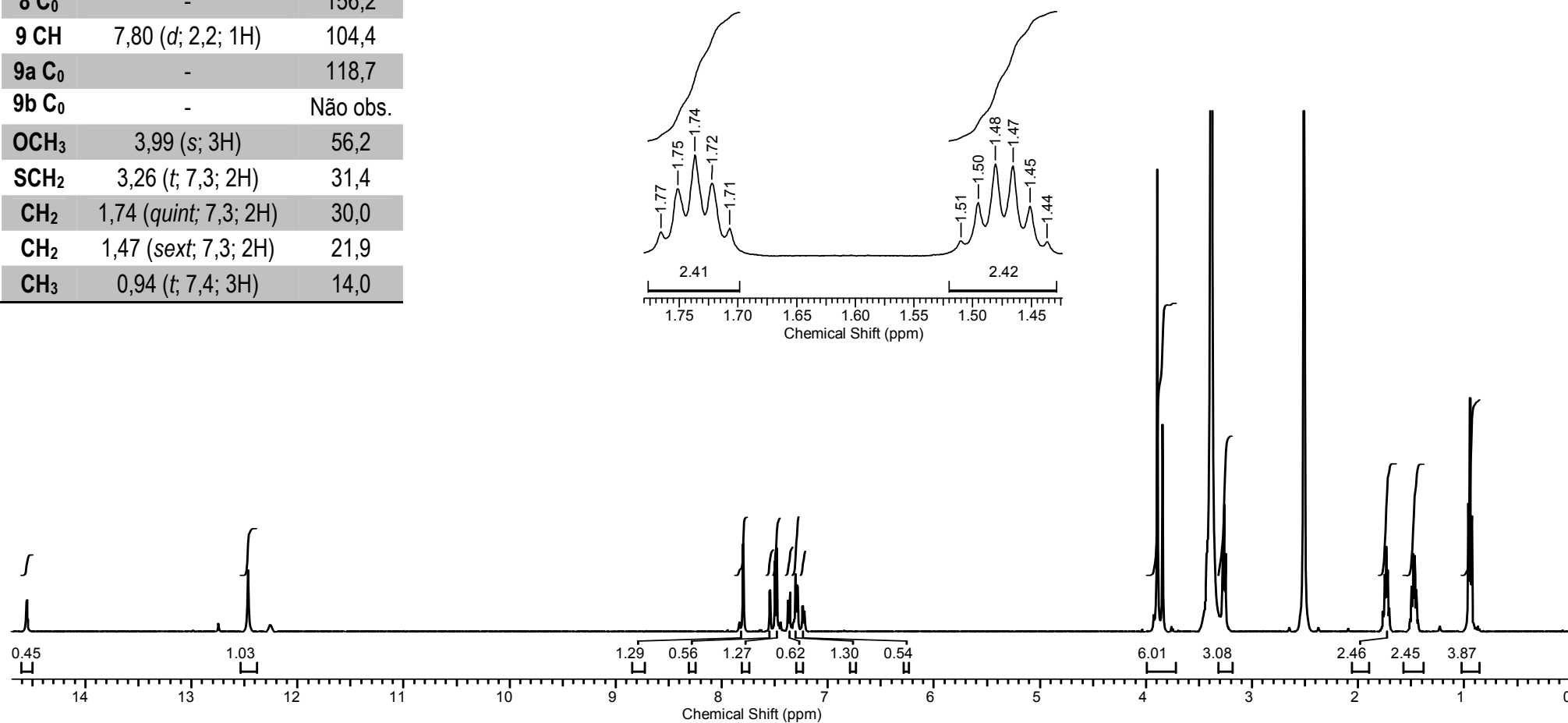
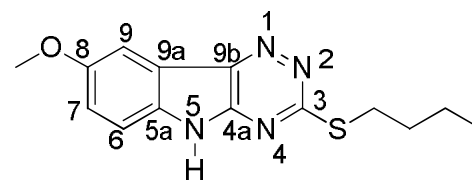
ERMN ¹H-46: Espectro RMN ¹H (500,01 MHz) de **96a** em DMSO-*d*₆.



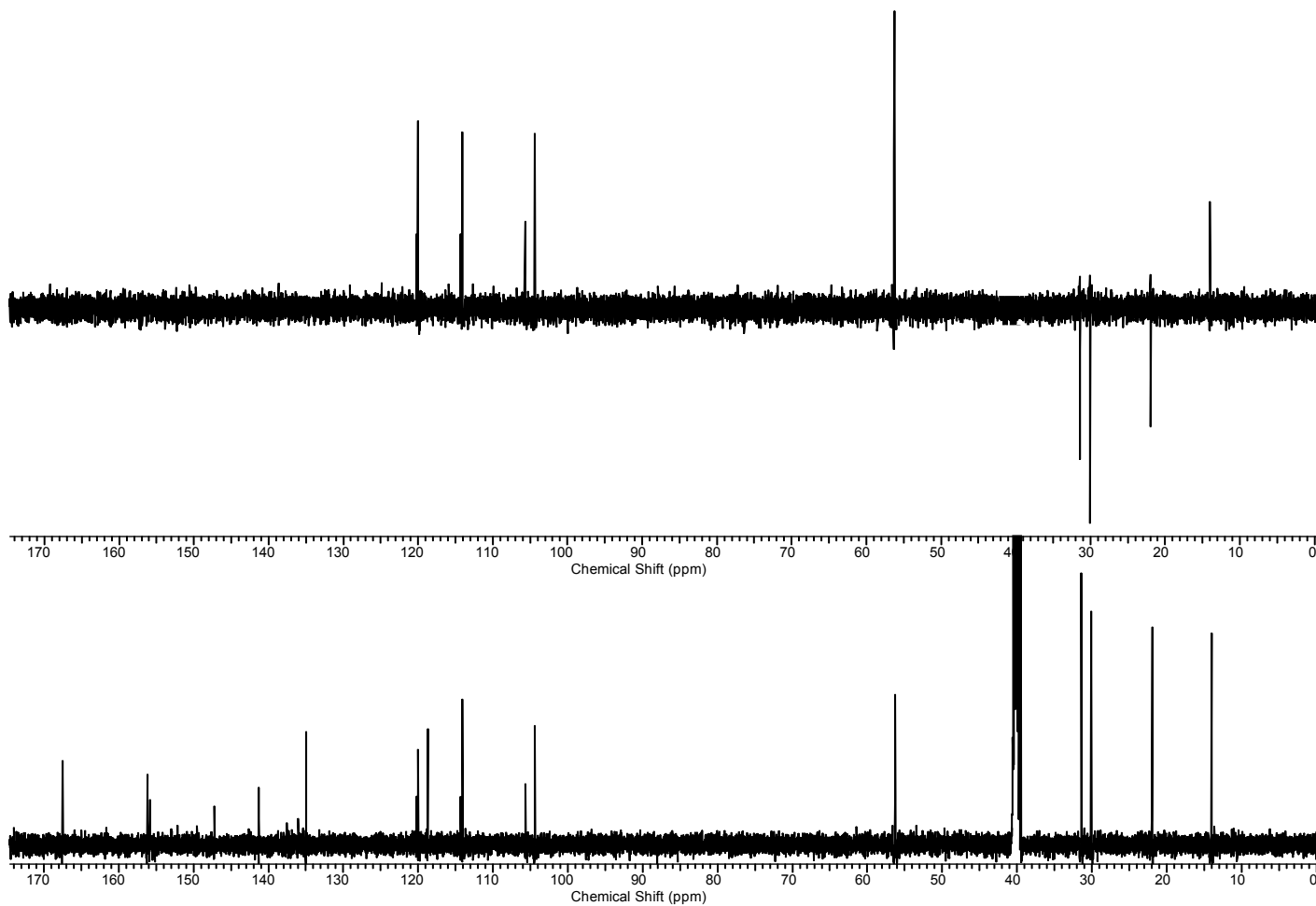
ERMN ^{13}C -46: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **96a** em $\text{DMSO-}d_6$.

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	167,5
4a C ₀	-	134,9
5 NH	12,47 (s; 1H)	-
5a C ₀	-	141,2
6 CH	7,49 (d; 1H)	114,0
7 CH	7,30 (dd; 8,8; 2,5; 1H)	120,0
8 C ₀	-	156,2
9 CH	7,80 (d; 2,2; 1H)	104,4
9a C ₀	-	118,7
9b C ₀	-	Não obs.
OCH ₃	3,99 (s; 3H)	56,2
SCH ₂	3,26 (t; 7,3; 2H)	31,4
CH ₂	1,74 (quint; 7,3; 2H)	30,0
CH ₂	1,47 (sext; 7,3; 2H)	21,9
CH ₃	0,94 (t; 7,4; 3H)	14,0

Anexo 47: 3-(butiltio)-8-metoxi-[1,2,4]indol-triazino (**96b**)



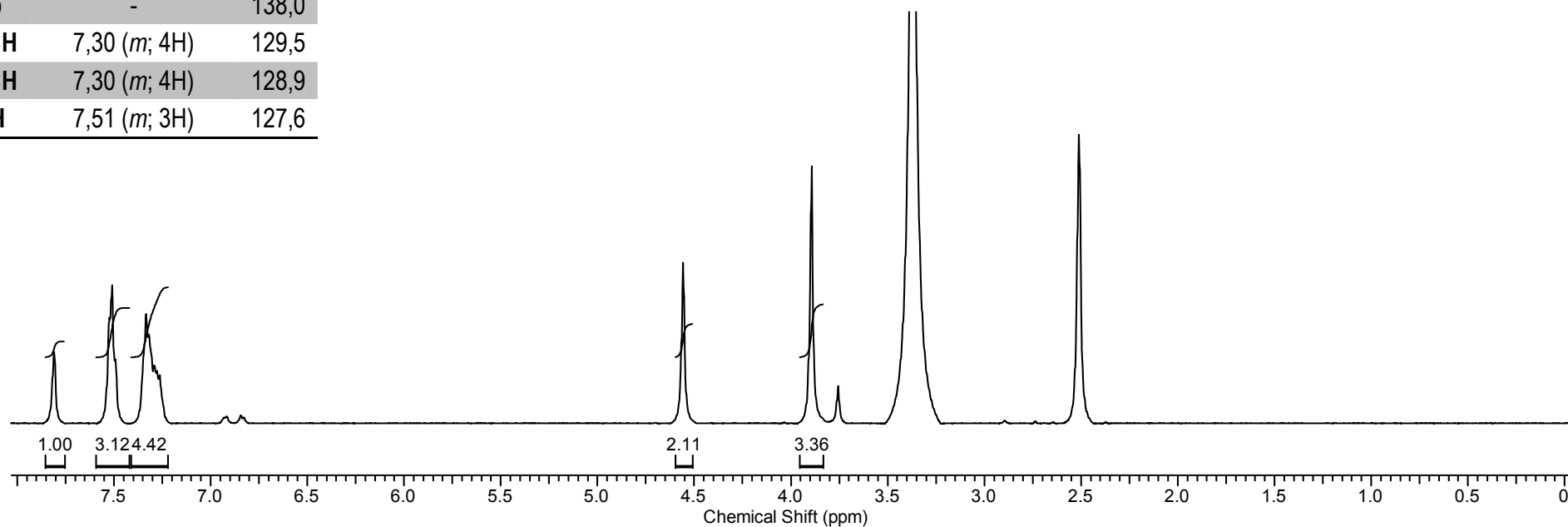
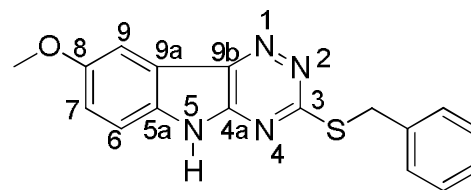
ERMN ¹H-47: Espectro RMN ¹H (500,01 MHz) de **96b** em DMSO-*d*₆.



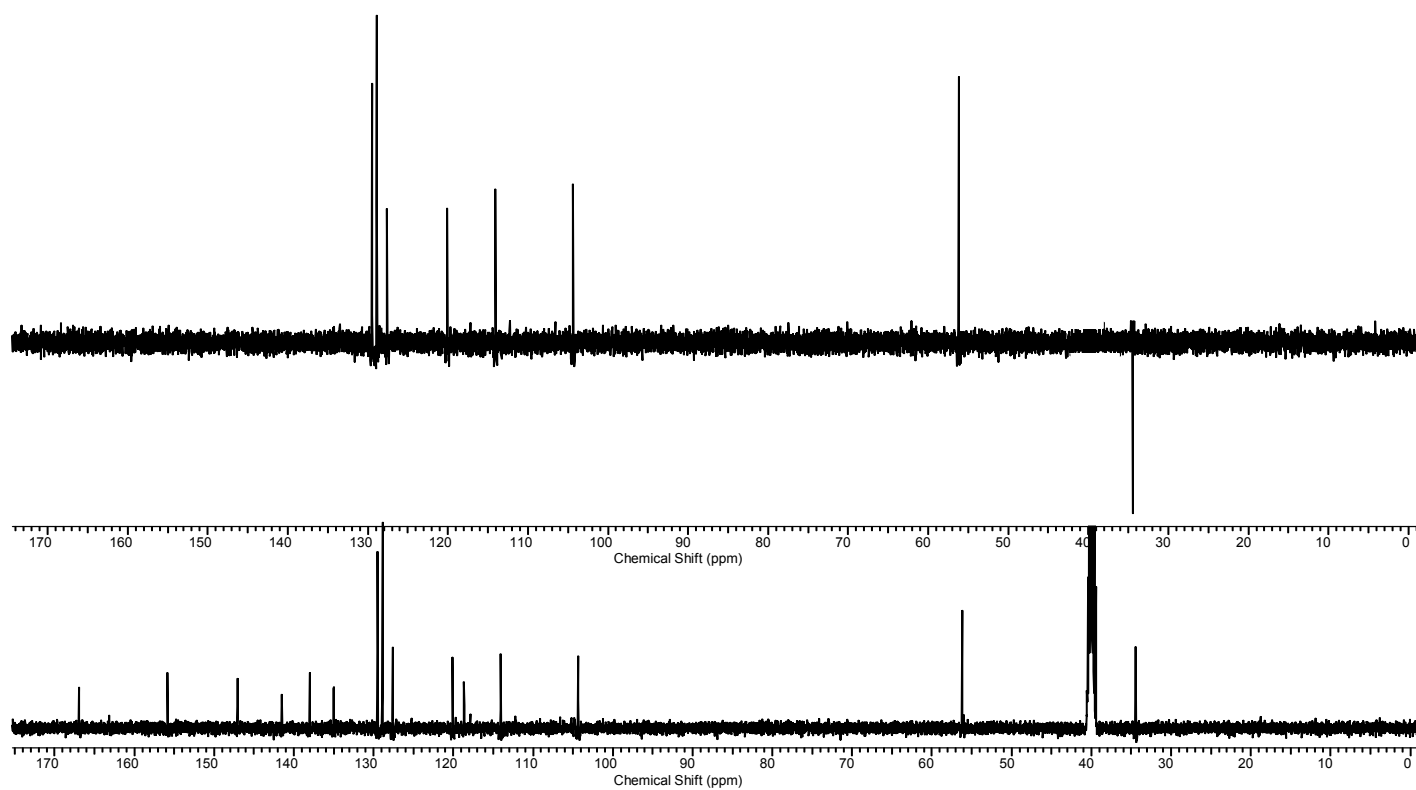
ERMN ^{13}C -47: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **96b** em $\text{DMSO-}d_6$.

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	166,9
4a C ₀	-	141,5
5 NH	Não obs.	-
5a C ₀	-	147,1
6 CH	7,51 (m; 3H)	114,1
7 CH	7,51 (m; 3H)	120,1
8 C ₀	-	155,8
9 CH	7,81 (s; 1H)	104,4
9a C ₀	-	135,0
9b C ₀	-	118,6
OCH ₃	3,89 (s; 3H)	56,2
SCH ₂	4,56 (s; 2H)	34,4
1' C ₀	-	138,0
2'/6' CH	7,30 (m; 4H)	129,5
3'/5' CH	7,30 (m; 4H)	128,9
4' CH	7,51 (m; 3H)	127,6

Anexo 48: 3-(benziltio)-8-metoxi-[1,2,4]indol-triazino (**96c**)



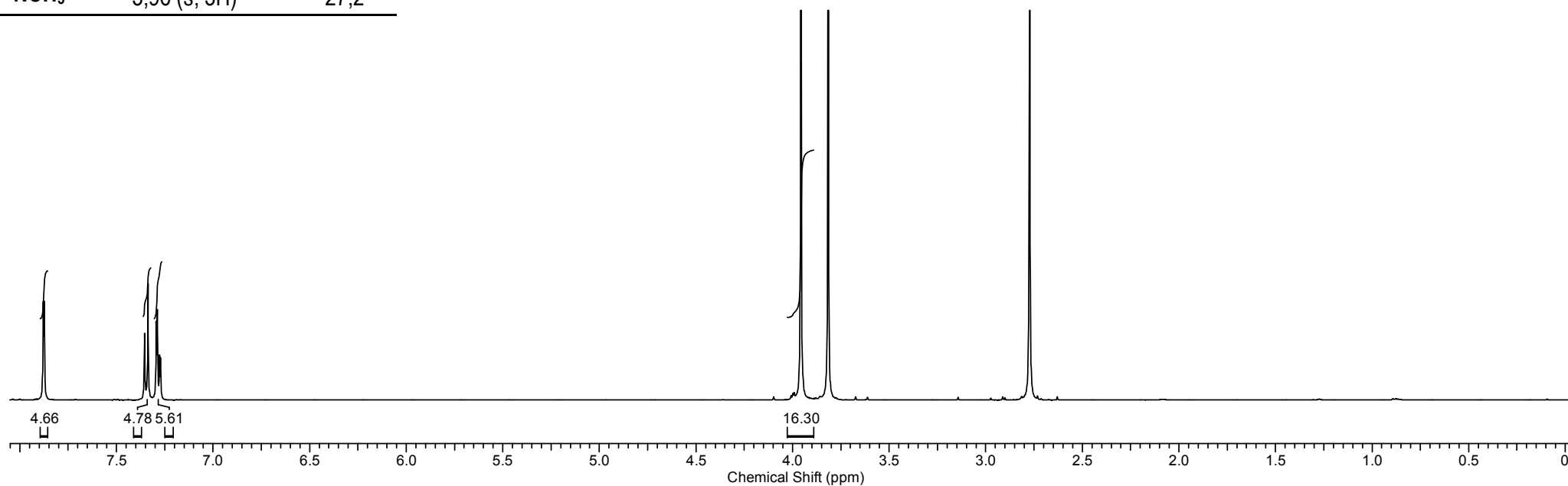
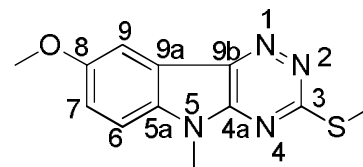
ERMN ¹H-48: Espectro RMN ¹H (500,1 MHz) de **96c** em DMSO-*d*₆.



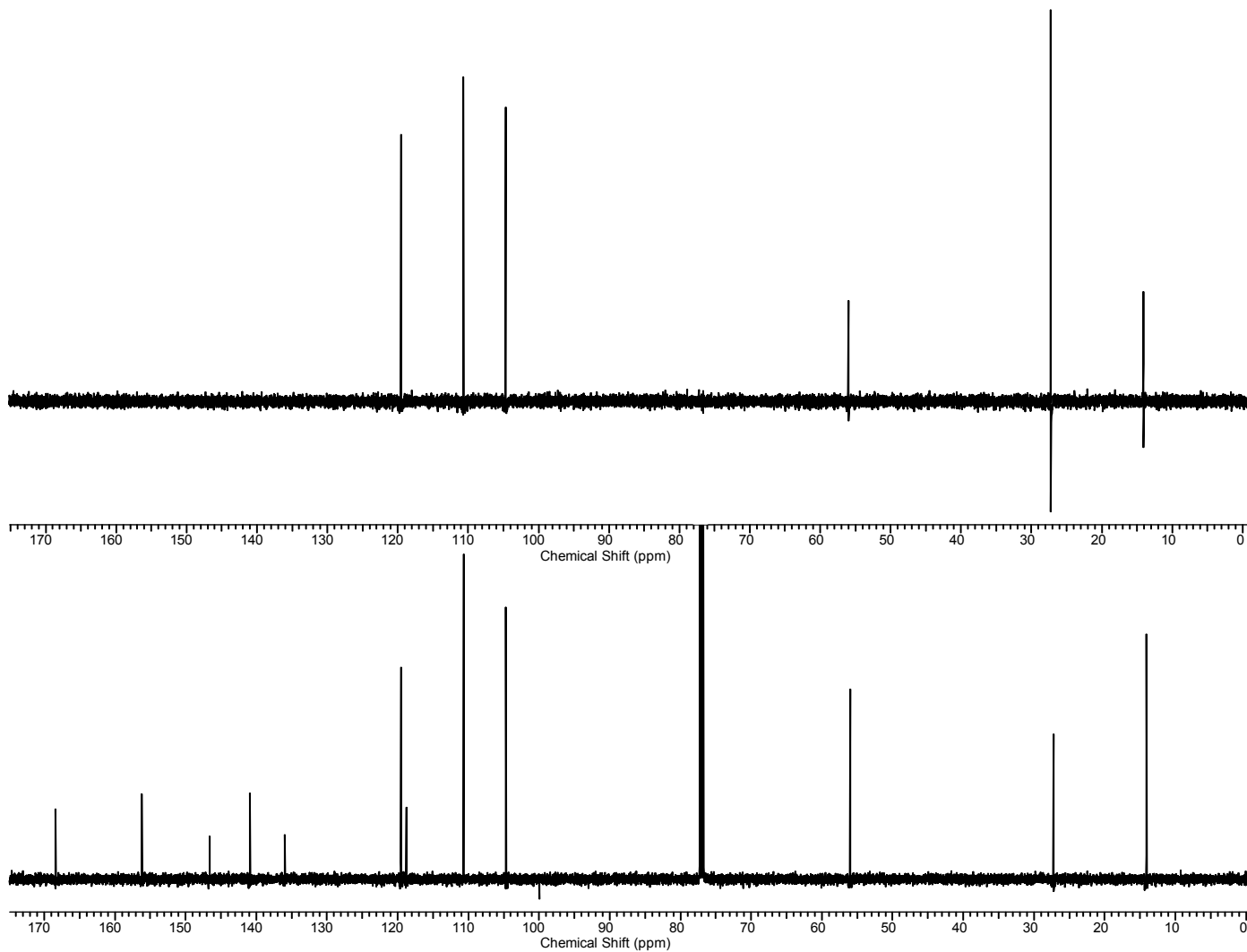
ERMN ^{13}C -48: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **96c** em $\text{DMSO-}d_6$.

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	168,4
4a C ₀	-	140,9
5a C ₀	-	146,6
6 CH	7,35 (d; 8,8; 1H)	110,6
7 CH	7,28 (dd; 8,8; 2,5; 1H)	119,5
8 C ₀	-	156,1
9 CH	7,88 (d; 2,5; 1H)	104,6
9a C ₀	-	135,9
9b C ₀	-	Não obs.
OCH ₃	3,82 (s; 3H)	56,0
SCH ₃	2,77 (s; 3H)	14,1
NCH ₃	3,96 (s; 3H)	27,2

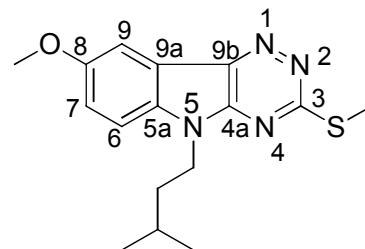
Anexo 49: 8-metoxi-5-metil-3-metiltio-[1,2,4]-indol-triazino (**96d**)



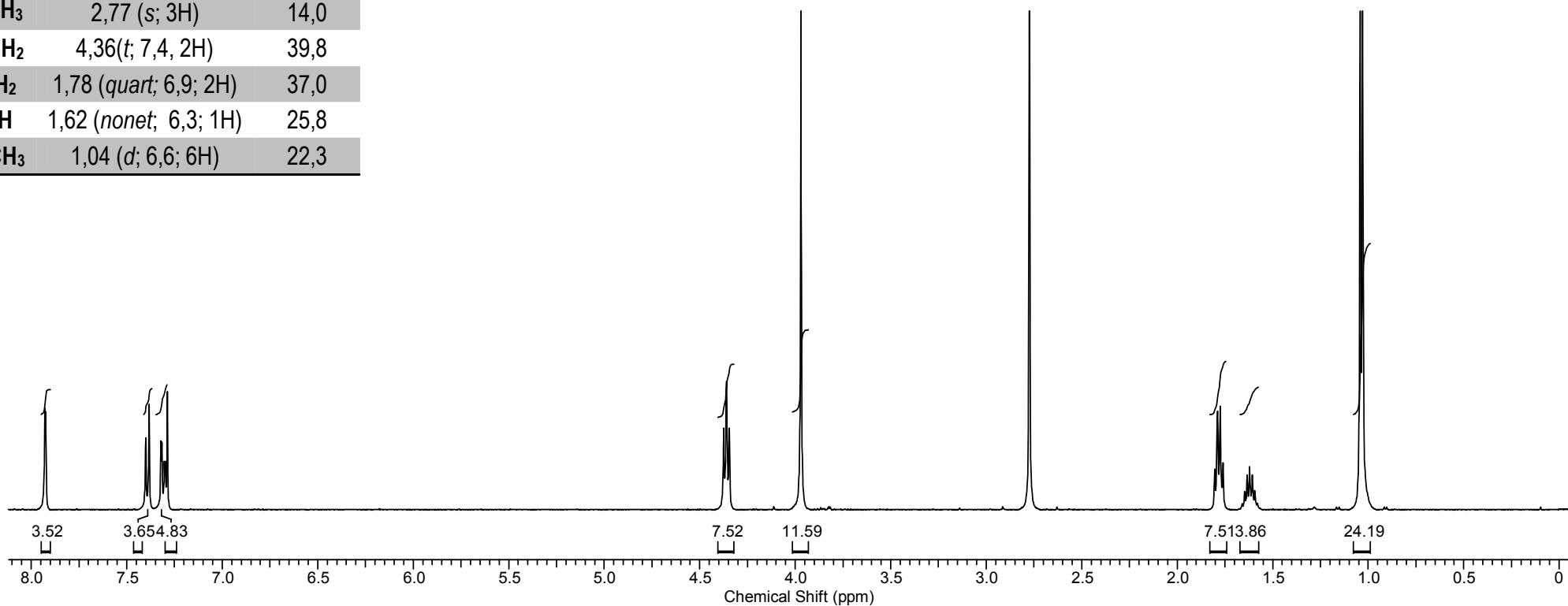
ERMN ¹H-49: Espectro RMN ¹H (500,01 MHz) de **96d** em DMSO-*d*₆.

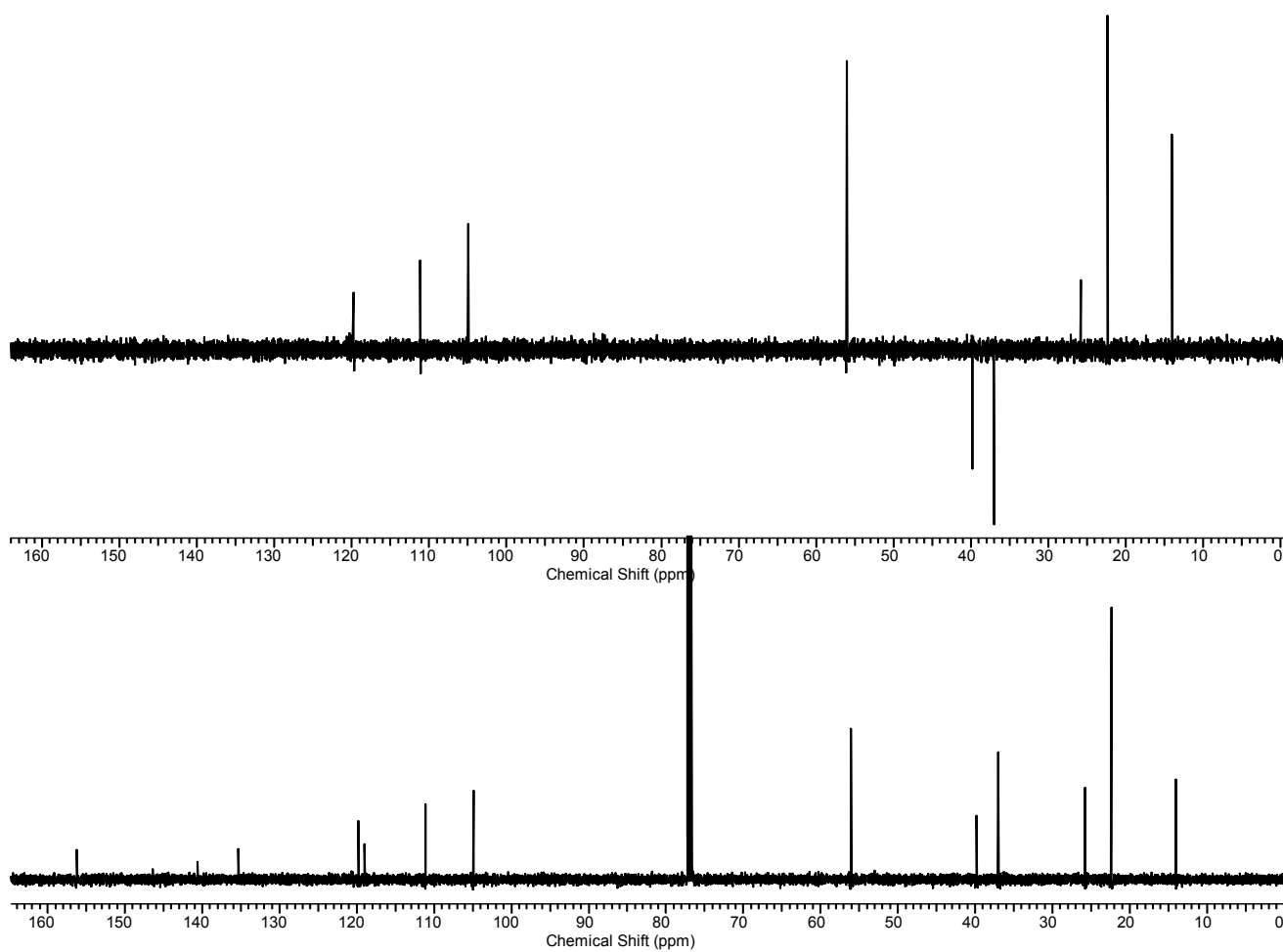


ERMN ^{13}C -49: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **96d** em $\text{DMSO-}d_6$.

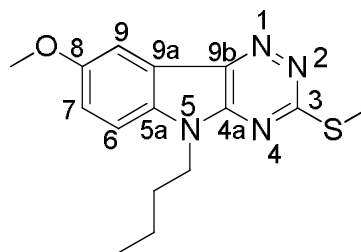
Anexo 50: 8-metoxi-5-(3-metilbutil)-3-metiltio-[1,2,4]-indol-triazino (**100a**)

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	168,2
4a C ₀	-	135,3
5a C ₀	-	140,6
6 CH	7,39 (d; 8,8; 1H)	111,1
7 CH	7,30 (m; 1H)	119,8
8 C ₀	-	156,2
9 CH	7,93 (d; 2,2; 1H)	104,9
9a C ₀	-	Não obs.
9b C ₀	-	119,0
OCH ₃	3,97 (s; 3H)	56,0
SCH ₃	2,77 (s; 3H)	14,0
NCH ₂	4,36(t; 7,4, 2H)	39,8
CH ₂	1,78 (quart; 6,9; 2H)	37,0
CH	1,62 (nonet; 6,3; 1H)	25,8
2 CH ₃	1,04 (d; 6,6; 6H)	22,3

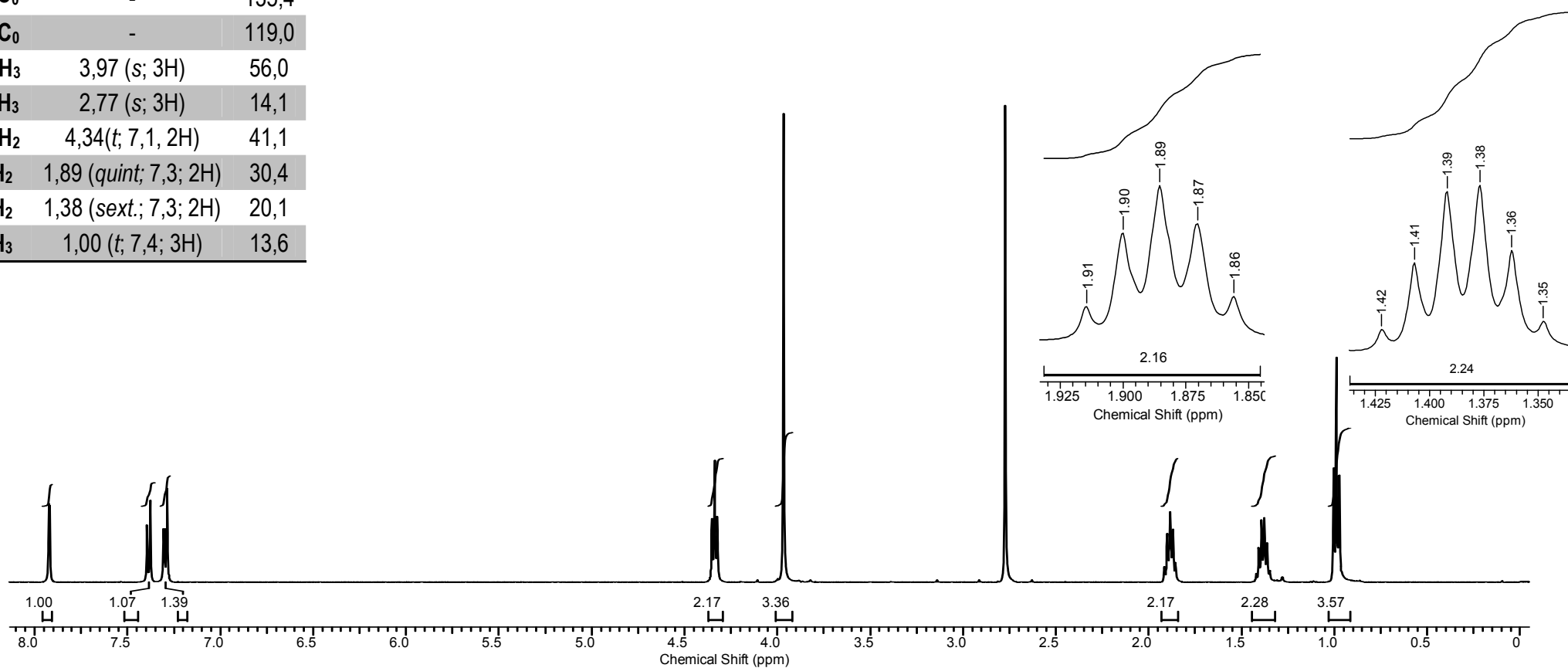
ERMN ¹H-50: Espectro RMN ¹H (500,01 MHz) de **100a** em CDCl₃.

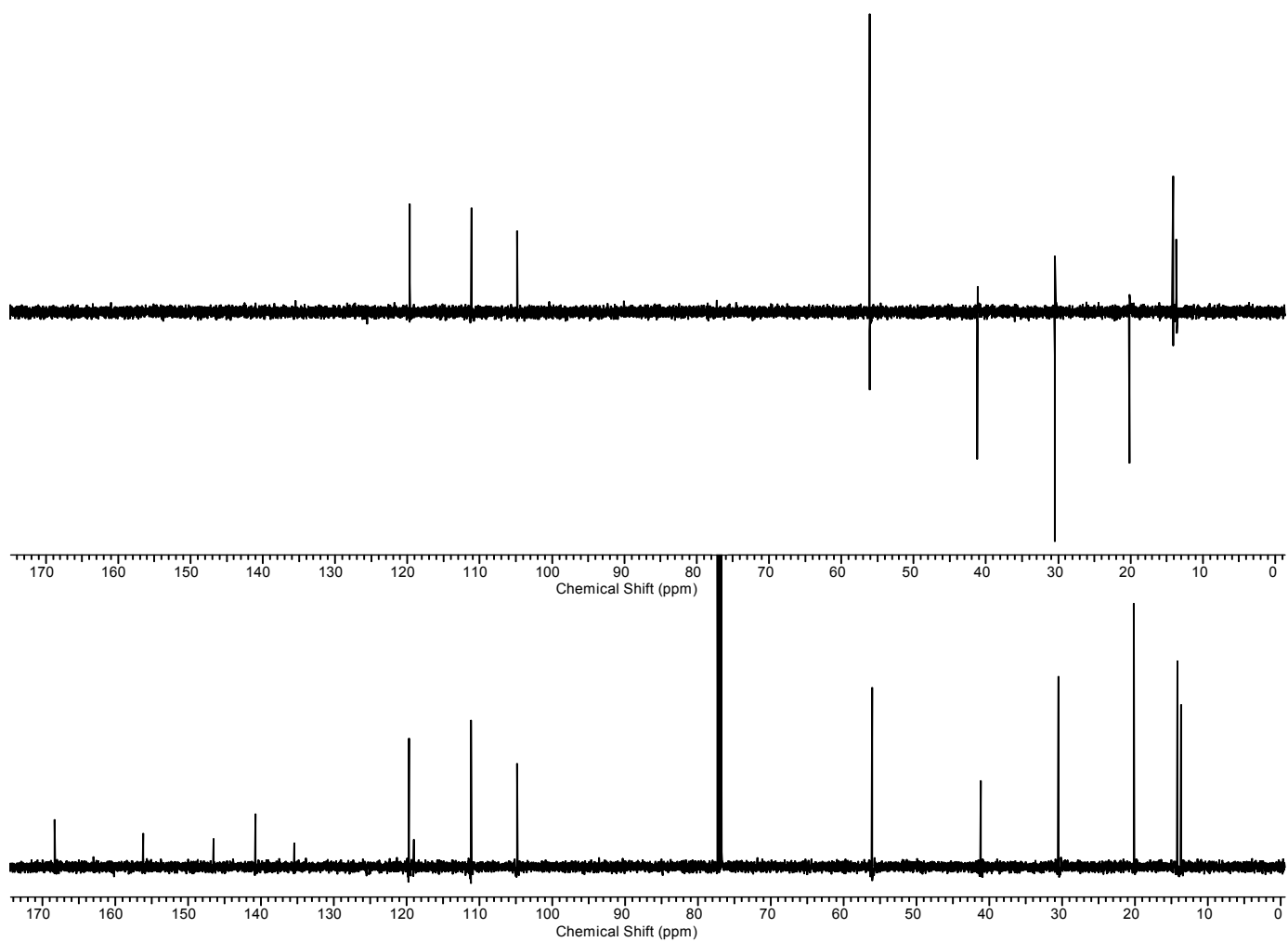


ERMN ^{13}C -50: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **100a** em CDCl_3 .

Anexo 51: 8-metoxi-5-butil-3-metiltio-[1,2,4]-indol-triazino (**100b**)

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	168,3
4a C ₀	-	140,7
5a C ₀	-	146,5
6 CH	7,39 (<i>d</i> ; 8,8; 1H)	111,1
7 CH	7,29 (<i>m</i> ; 1H)	119,6
8 C ₀	-	156,1
9 CH	7,92 (<i>d</i> ; 2,5; 1H)	104,8
9a C ₀	-	135,4
9b C ₀	-	119,0
OCH ₃	3,97 (<i>s</i> ; 3H)	56,0
SCH ₃	2,77 (<i>s</i> ; 3H)	14,1
NCH ₂	4,34 (<i>t</i> ; 7,1; 2H)	41,1
CH ₂	1,89 (<i>quint</i> ; 7,3; 2H)	30,4
CH ₂	1,38 (<i>sext</i> .; 7,3; 2H)	20,1
CH ₃	1,00 (<i>t</i> ; 7,4; 3H)	13,6

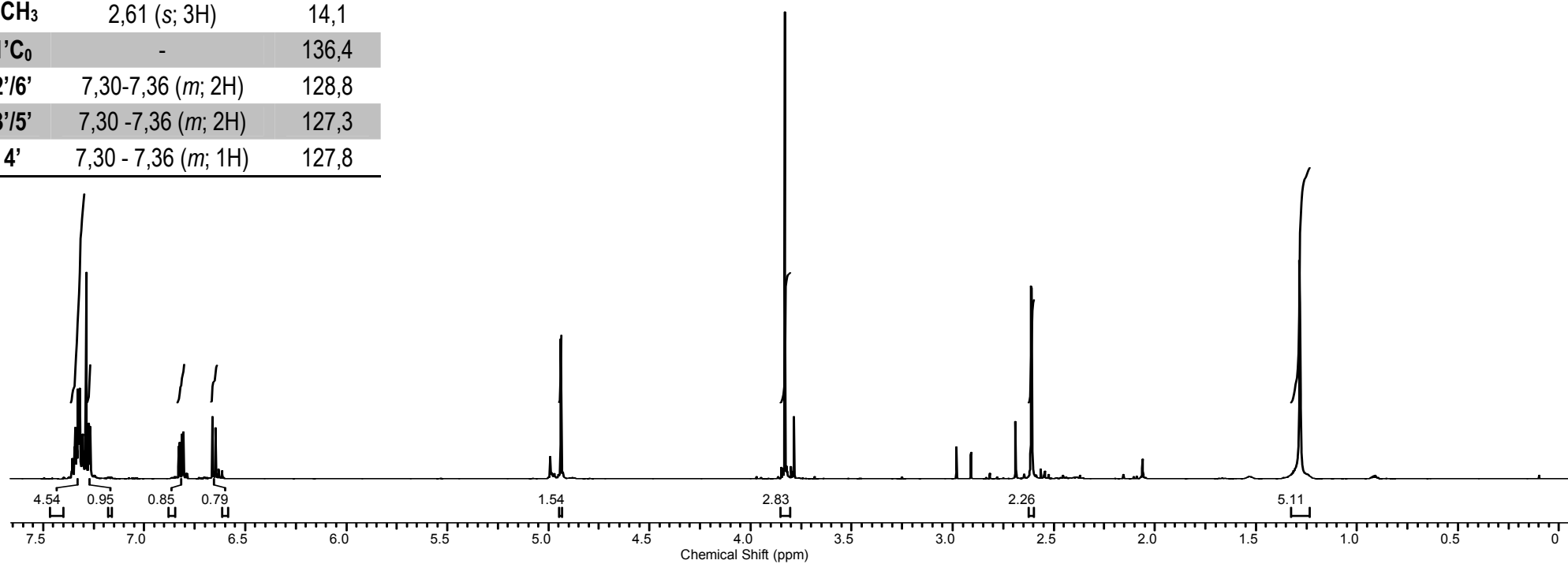
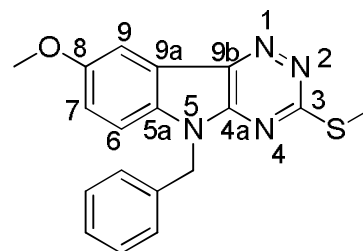
ERMN 1H-51: Espectro RMN ¹H (500,01 MHz) de **100b** em CDCl₃.



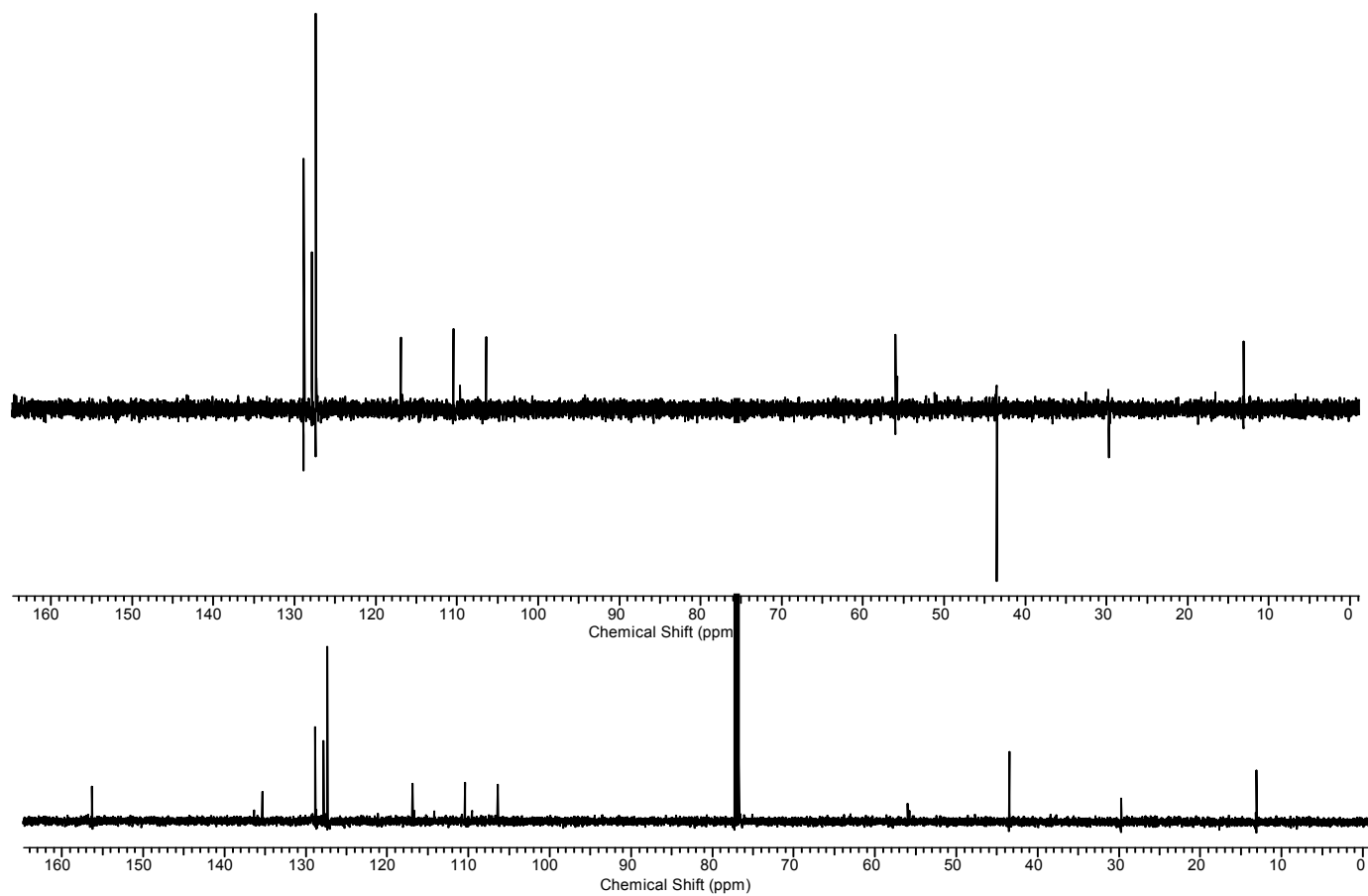
ERMN ^{13}C -51: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **100b** em CDCl_3 .

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	168,4
4a C ₀	-	140,9
5a C ₀	-	146,6
6 CH	6,66 (d; 8,5; 1H)	110,6
7 CH	6,82 (dd; 8,5; 2,5; 1H)	119,5
8 C ₀	-	156,1
9 CH	7,27 (d; 2,5; 1H)	104,7
9a C ₀	-	135,9
9b C ₀	-	Não obs.
CH ₂	4,94 (s; 2H)	
OCH ₃	3,83 (s; 3H)	56,0
SCH ₃	2,61 (s; 3H)	14,1
1' C ₀	-	136,4
2'/6'	7,30-7,36 (m; 2H)	128,8
3'/5'	7,30 - 7,36 (m; 2H)	127,3
4'	7,30 - 7,36 (m; 1H)	127,8

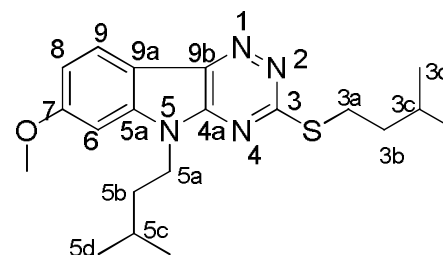
Anexo 52: 8-metoxi-5-benzil-3-metiltio-[1,2,4]-indol-triazino (**100c**)



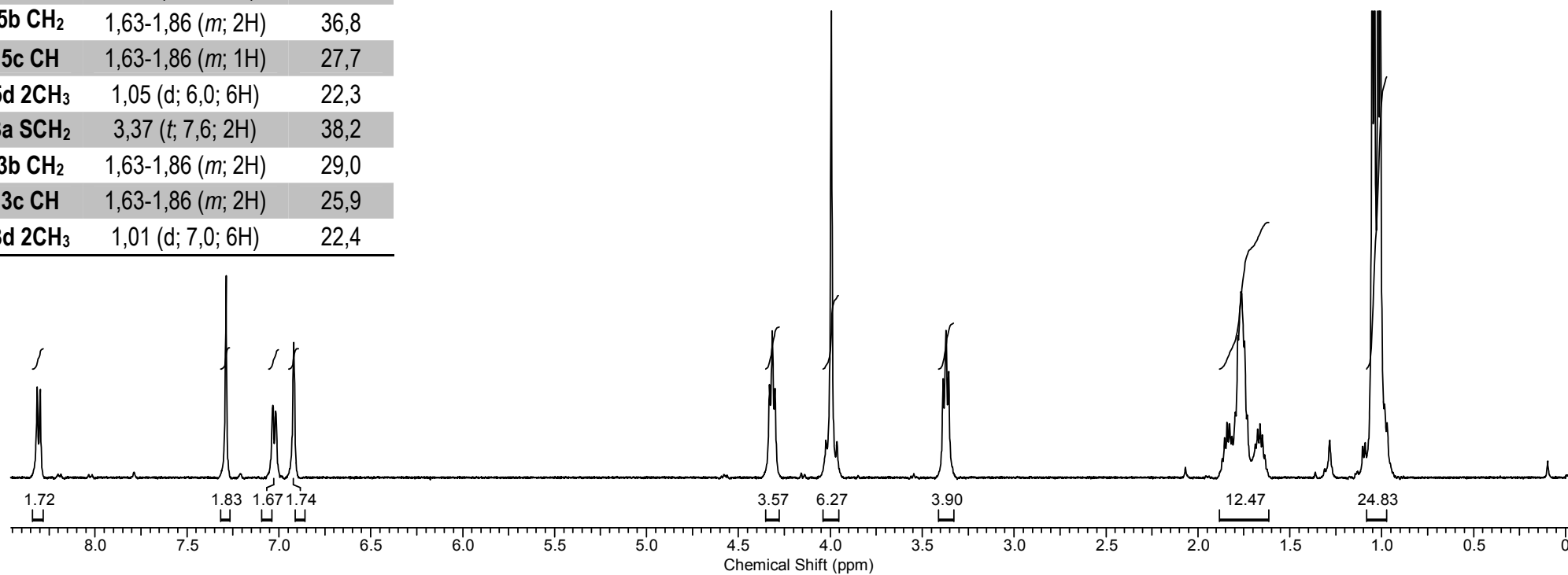
ERMN ¹H-52: Espectro RMN ¹H (500,1 MHz) de **100c** em CDCl₃.

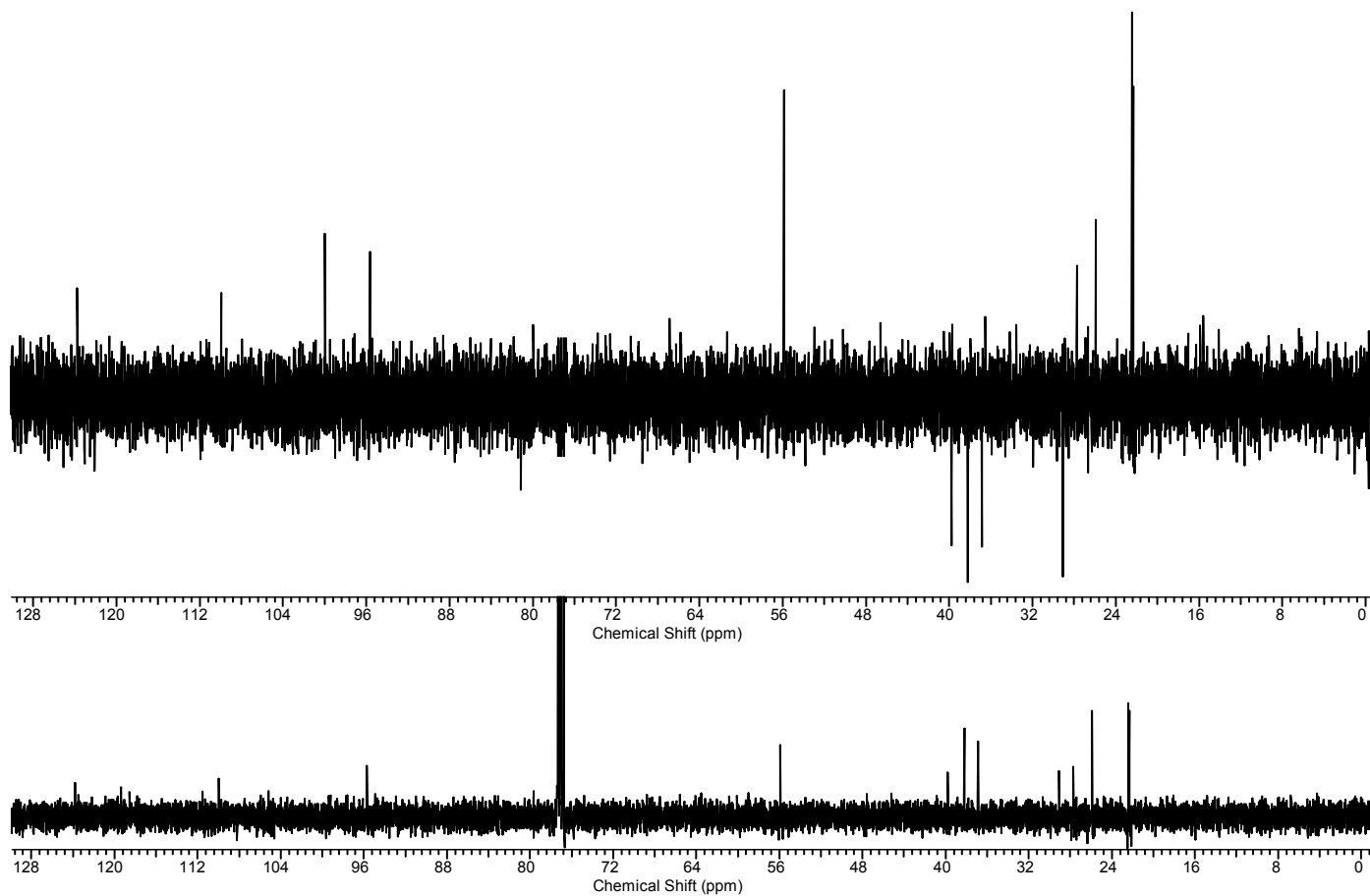


ERMN ^{13}C -52: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **100c** em CDCl_3 .

Anexo 53: 7-metoxi-5-(3-metilbutil)-3-(3-metilbutiltio)-[1,2,4]-indol-triazino (**108a**)

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	163,7
4a C ₀	-	Não obs.
5a C ₀	-	Não obs.
6 CH	6,92 (s; 1H)	95,6
7 C ₀	-	153,7
8 CH	7,02 (d; J = 7,6; 1H)	109,9
9 CH	8,31 (d; J = 8,5; 1H)	123,7
9a C ₀	-	148,1
9b C ₀	-	Não obs.
O CH ₃	3,99 (s; 3H)	55,8
5a NCH ₂	4,31 (t; 7,5; 2H)	39,7
5b CH ₂	1,63-1,86 (m; 2H)	36,8
5c CH	1,63-1,86 (m; 1H)	27,7
5d 2CH ₃	1,05 (d; 6,0; 6H)	22,3
3a SCH ₂	3,37 (t; 7,6; 2H)	38,2
3b CH ₂	1,63-1,86 (m; 2H)	29,0
3c CH	1,63-1,86 (m; 2H)	25,9
3d 2CH ₃	1,01 (d; 7,0; 6H)	22,4

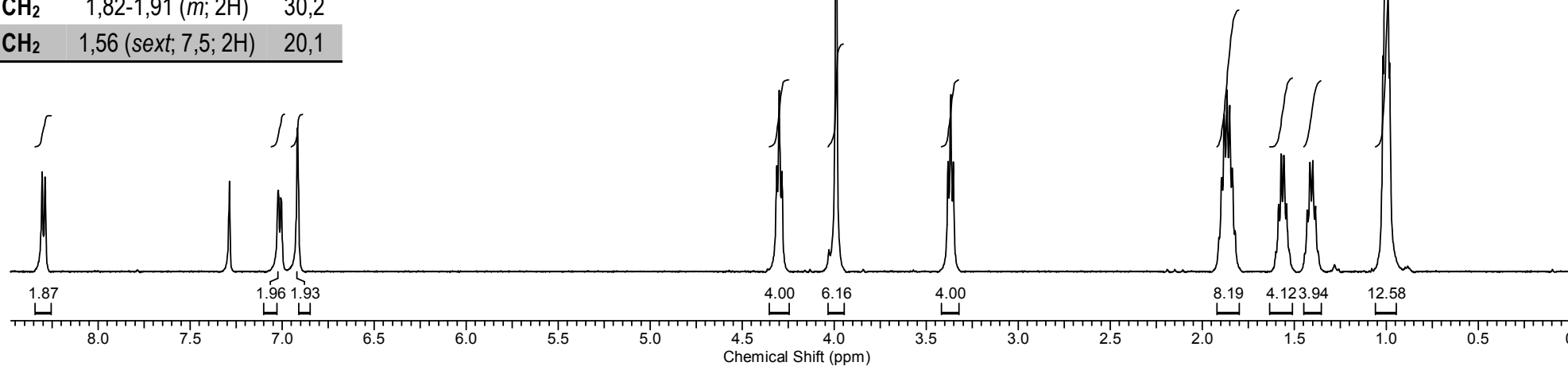
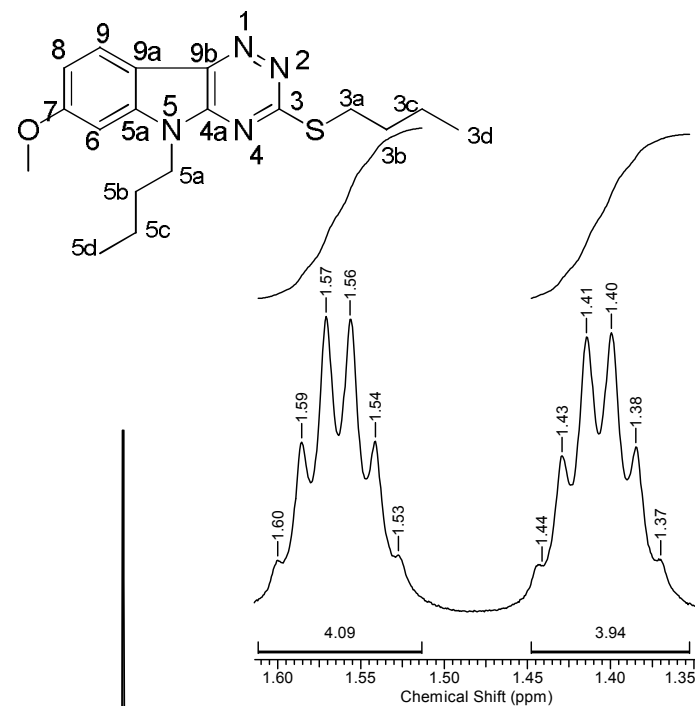
ERMN ¹H-53: Espectro RMN ¹H (500,01 MHz) de **108a** em CDCl₃

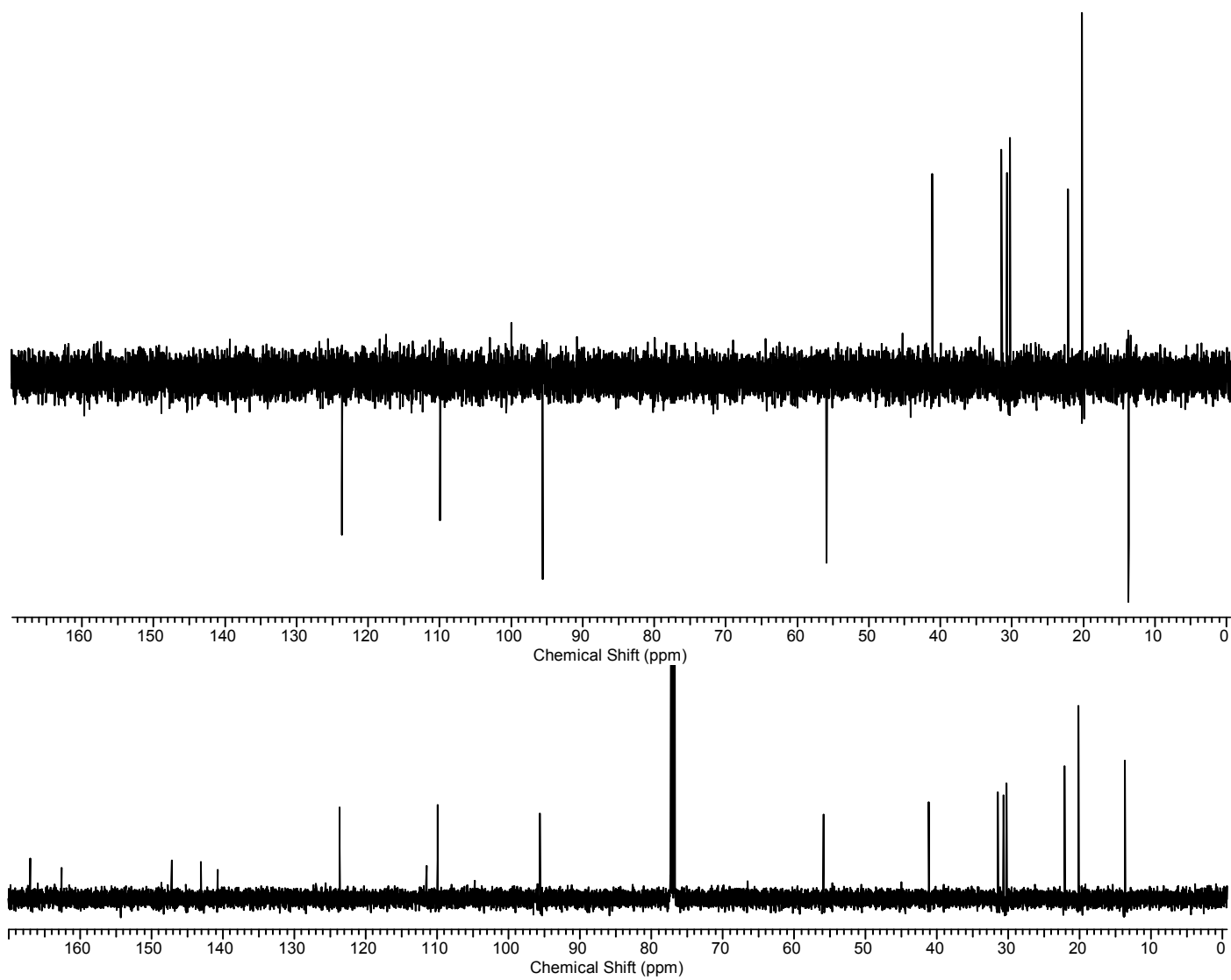


ERMN ^{13}C -53: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **108a** em CDCl_3 .

Anexo 54: 7-metoxi-5-butil-3-butiltio-[1,2,4]-indol-triazino (**108b**)

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	167,0
4a C ₀	-	143,0
5a C ₀	-	147,2
6 CH	6,92 (s; 1H)	95,5
7 C ₀	-	162,6
8 CH	7,30 (d; 7,3; 1H)	109,9
9 CH	8,30 (d; 8,5; 1H)	123,6
9a C ₀	-	140,7
9b C ₀	-	111,5
OCH ₃	3,99 (s; 3H)	55,8
5a NCH ₂	4,30 (t; 6,9; 2H)	41,1
5b CH ₂	1,82-1,91 (m; 2H)	30,7
5c CH ₂	1,41 (sext; 7,5; 2H)	22,1
5d/3d CH ₃	1,00 (m; 6H)	13,6
3a SCH ₂	3,37 (t; 7,4; 2H)	31,4
3b CH ₂	1,82-1,91 (m; 2H)	30,2
3c CH ₂	1,56 (sext; 7,5; 2H)	20,1

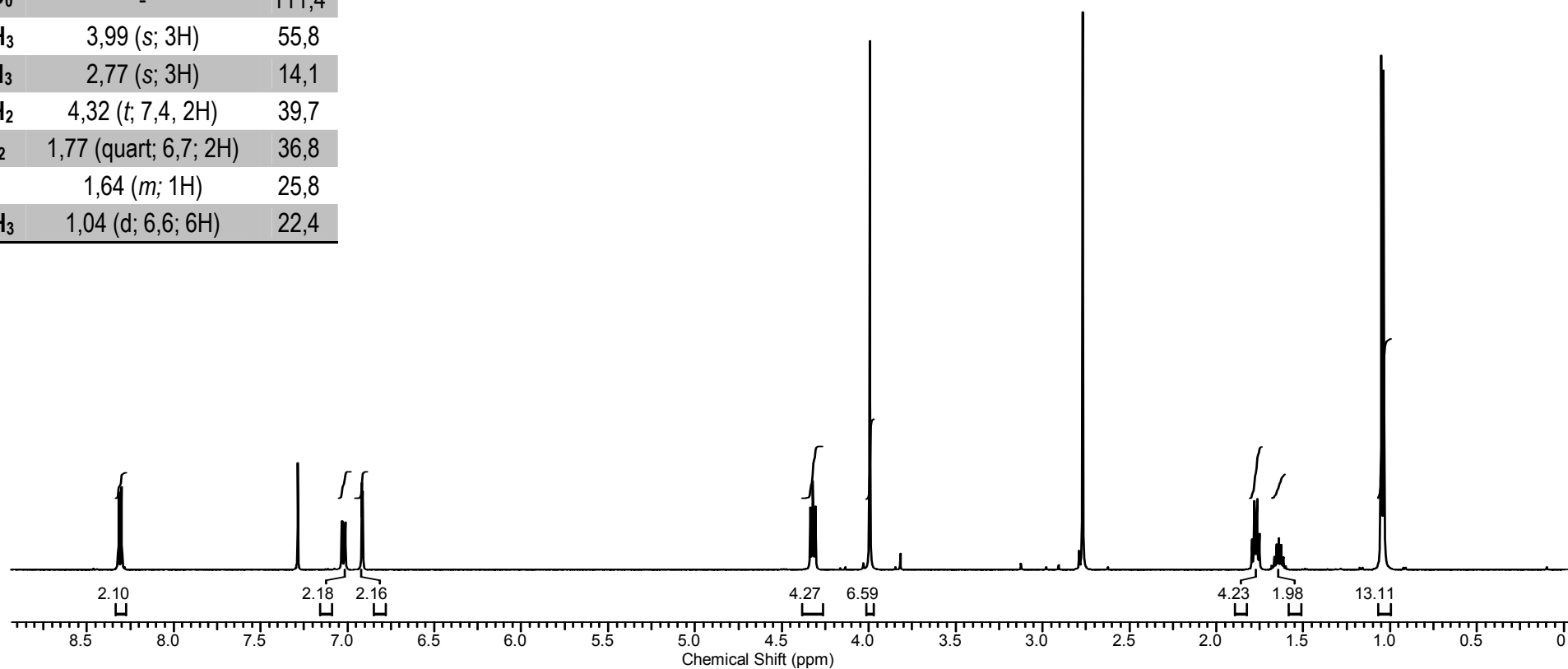
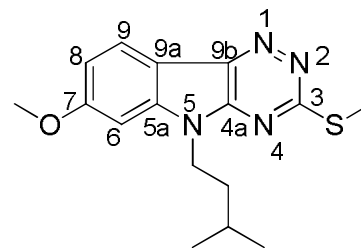
ERMN ¹H-54: Espectro RMN ¹H (500,01 MHz) de **108b** em CDCl₃.



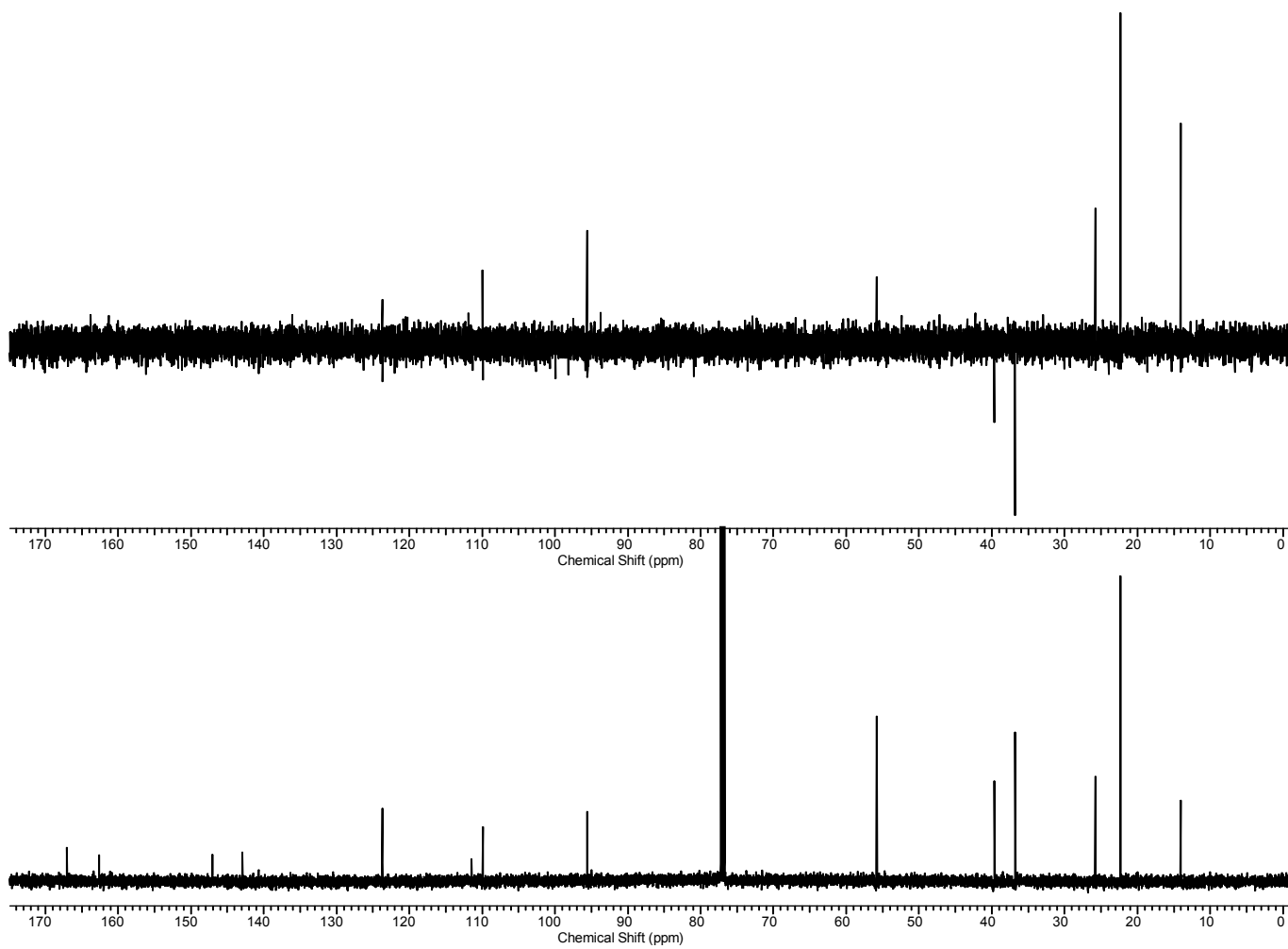
ERMN ^{13}C -54: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **108b** em CDCl_3 .

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	167,1
4a C ₀	-	145,0
5a C ₀	-	147,1
6 CH	6,92 (d; 1,9; 1H)	95,6
7C ₀	-	162,6
8 CH	7,02 (dd; 8,5; 2,2; 1H)	109,9
9 CH	8,31 (d; 8,5; 1H)	123,7
9a C ₀	-	142,9
9b C ₀	-	111,4
OCH ₃	3,99 (s; 3H)	55,8
SCH ₃	2,77 (s; 3H)	14,1
NCH ₂	4,32 (t; 7,4; 2H)	39,7
CH ₂	1,77 (quart; 6,7; 2H)	36,8
CH	1,64 (m; 1H)	25,8
2 CH ₃	1,04 (d; 6,6; 6H)	22,4

Anexo 55: 7-metoxi-5-(3-metilbutil)-3-metiltio-[1,2,4]-indol-triazino (**112a**)



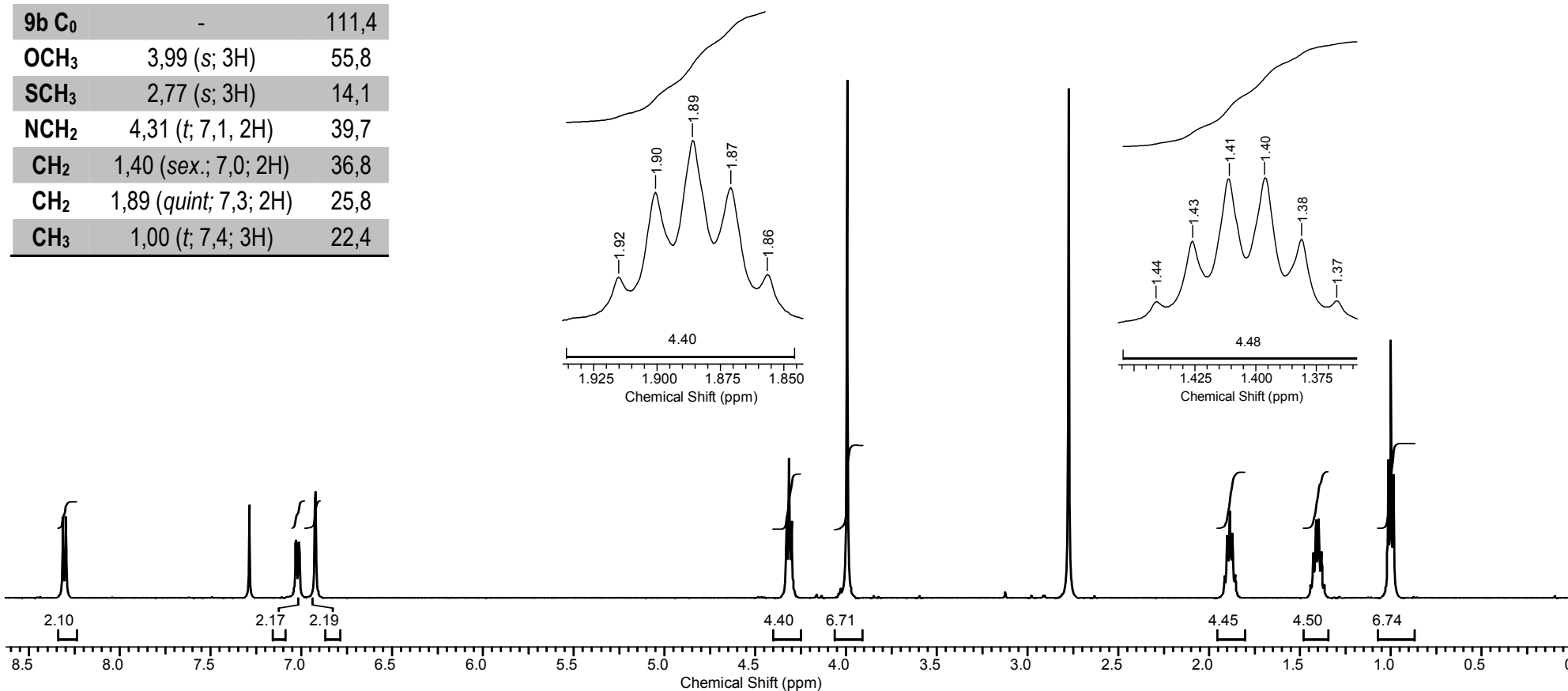
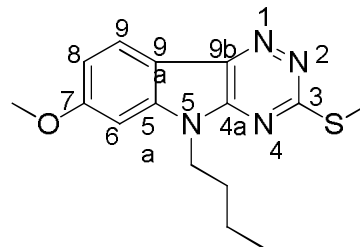
ERMN ¹H-55: Espectro RMN ¹H (500,01 MHz) de **112a** em CDCl₃.



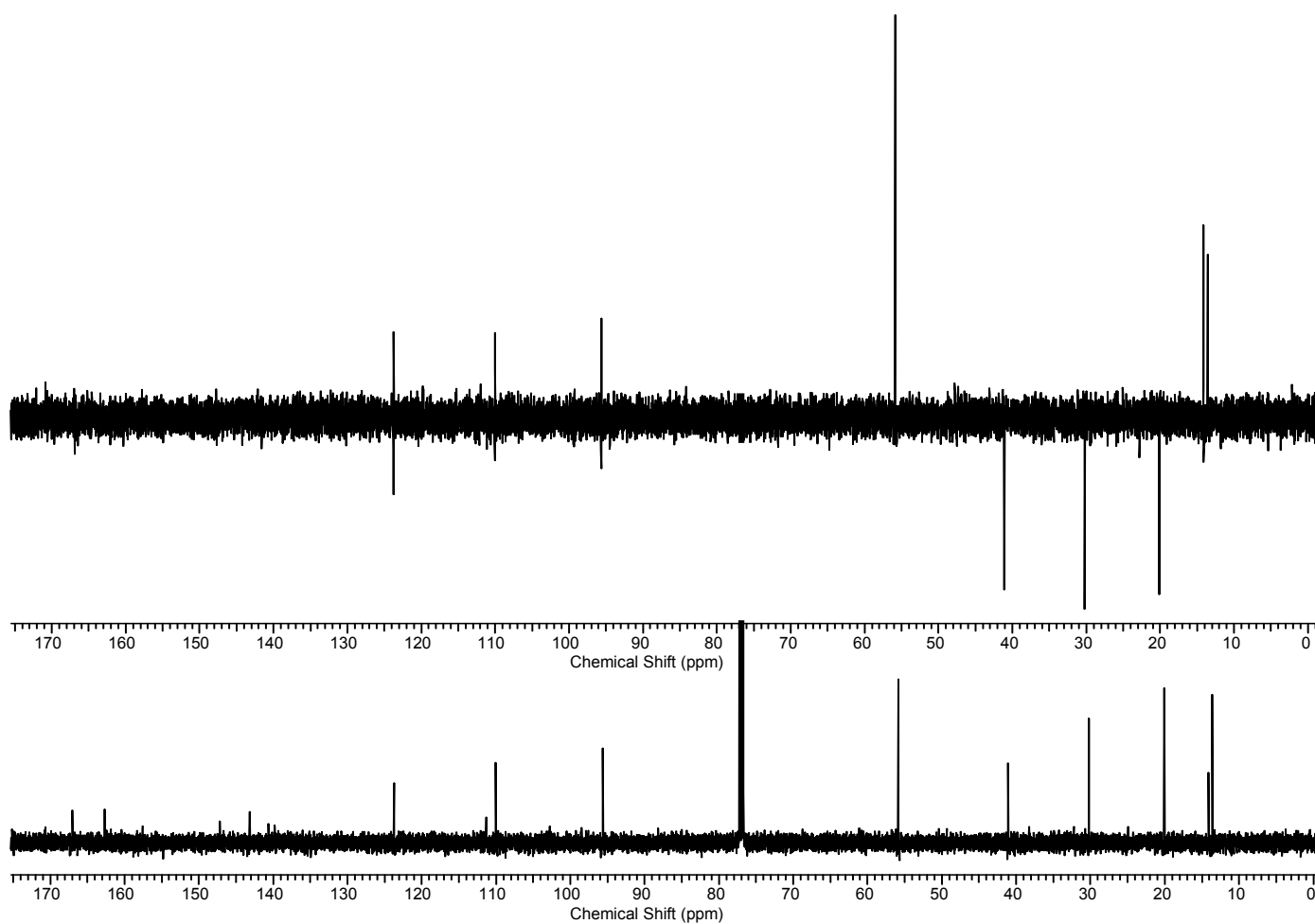
ERMN ^{13}C -55: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **112a** em CDCl_3 .

H/C	δ_H (multipl.; J=Hz)	δ_C
3 C ₀	-	167,0
4a C ₀	-	143,1
5a C ₀	-	147,1
6 CH	6,92 (d; 1,9; 1H)	95,6
7 C ₀	-	162,7
8 CH	7,02 (dd; 8,8; 1,9; 1H)	110,0
9 CH	8,31 (d; 8,5; 1H)	123,7
9a C ₀	-	142,9
9b C ₀	-	111,4
OCH ₃	3,99 (s; 3H)	55,8
SCH ₃	2,77 (s; 3H)	14,1
NCH ₂	4,31 (t; 7,1; 2H)	39,7
CH ₂	1,40 (sex.; 7,0; 2H)	36,8
CH ₂	1,89 (quint; 7,3; 2H)	25,8
CH ₃	1,00 (t; 7,4; 3H)	22,4

Anexo 56: 7-metoxi-5-butil-3-metil-1,2,4-indol-triazino (**112b**)



ERMN ¹H-56: Espectro RMN ¹H (500,1 MHz) de **112b** em CDCl₃.



ERMN ^{13}C -56: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (125,7 MHz) de **112b** em CDCl_3 .