

**SÍNTESE, ATIVIDADE ANTILEISHMANIA E CITOTÓXICA DE HIDRAZONAS DERIVADAS DE ALDEÍDOS NATURAIS**

Débora Caroline Marques de Souza<sup>a</sup>, Valéria Carlos de Sousa<sup>b</sup>, Lucas Pereira Lima da Cruz<sup>b</sup>, Sabrina Maria Portela Carneiro<sup>b</sup>, Michel Muálem de Moraes Alves<sup>c</sup>, Fernando Aécio de Amorim Carvalho<sup>d</sup>, Marcília Pinheiro da Costa<sup>b</sup>, Cíntia Marques Corrêa<sup>a</sup>, Arlan de Assis Gonsalves<sup>a</sup>, Cleônia Roberta Melo Araújo<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Colegiado de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56304-97 Petrolina – PE, Brasil.

<sup>b</sup>Curso de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, 64049-550 Teresina – PI, Brasil

<sup>c</sup>Departamento de Morfofisiologia, Universidade Federal do Piauí, 64049-550 Teresina – PI, Brasil

<sup>d</sup>Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, 64049-550 Teresina – PI, Brasil

Recebido em 10/07/2019; aceito em 07/08/2019; publicado em 13/11/2019

**SYNTHESIS, ANTILEISHMANIA AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF HYDRAZONES FROM NATURAL ALDEHYDES.**

Leishmaniasis is endemic anthrozoosis considered to be a severe public health problem. The treatment with pentavalent antimonials presents high toxicity motivating the search for effective and less toxic drugs. Hydrazones and *N*-acylhydrazones are functional groups that are prominent in Medicinal Chemistry, including as antiprotozoals. In this context, five hydrazones derived from the natural aldehydes were synthesized and the molecular structures were suitably determined to employ uni and bidimensional <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR techniques. The antileishmanial activity of all hydrazones was determined against promastigote forms of *Leishmania amazonensis*, and the compounds HDZ-3, HDZ-4, and HDZ-5 showed the best results, with IC<sub>50</sub> of 9.00, 38.10 and 26.30 μM, respectively. In the cytotoxic evaluation against RAW macrophages, HDZ-4 presented the least cytotoxic (CC<sub>50</sub> = 222.24 μM) and the higher selectivity. Lipinski's descriptors of the hydrazones were calculated, and the compounds HDZ-3 and HDZ-5 were more promising. These hydrazones are hybrids of natural aldehydes with drugs, the first is the result of the junction of the cinnamaldehyde with isoniazid, and the second of the vanillin with hydralazine. The results highlighted the Markush isonicotinoylhydrazone and phthalazinylhydrazone groups, molecular structures that are present in HDZ-3 and HDZ-5 and are therefore considered innovators in the development of antileishmanial drugs.

Keywords: molecular hybridization; rule of five Lipinski; *N*-acylhydrazone; medicinal chemistry; Markush Group.

**INTRODUÇÃO**

As leishmanioses são doenças parasitárias negligenciadas causadas por mais de 20 espécies de protozoários do gênero *Leishmania*. A transmissão para os humanos ocorre durante o repasto sanguíneo de flebotomíneos da família *Phlebotomus* (Velho Mundo) e *Lutzomyia* (Novo Mundo), sendo apenas as fêmeas hematófagas responsáveis pela inoculação das formas promastigotas na pele do hospedeiro.<sup>1</sup> As leishmanioses são consideradas endêmicas em 98 países, afetando 12 milhões de pessoas, com 350 milhões em risco de contrair a infecção, especialmente populações de baixa renda nos países subdesenvolvidos.<sup>2</sup> A espécie *Leishmania amazonensis* está associada ao desenvolvimento de leishmaniose cutânea com a formação de úlceras necróticas, sendo capaz ainda de causar a forma disseminada da doença.<sup>3</sup>

Os fármacos de primeira escolha são os antimonial pentavalentes (antimoniato de *N*-metilglucamina), e os de segunda escolha, anfotericina B e pentamidina.<sup>4</sup> Nos últimos anos tem havido relatos de casos de resistência ao tratamento com antimonials, e uma terapêutica de substituição bem sucedida é o uso clínico do fármaco Miltefosina.<sup>5,6</sup> Porém, até o momento, a leishmaniose configura-se como uma doença de difícil controle devido a inexistência de vacinas para humanos, e as terapias farmacológicas disponíveis apresentam variada eficácia e segurança devido ao tempo prolongado de tratamento, uma gama de reações adversas, necessidade de administração parenteral, além do possível surgimento de resistência, acarretando uma baixa adesão ao tratamento por parte dos pacientes.

Porém, até o momento, as terapias farmacológicas contra as leishmanioses apresentam uma série de desvantagens, tais como, alto custo, tempo prolongado de tratamento, alta toxicidade e uma gama de efeitos adversos, o que acarreta uma baixa adesão ao tratamento por parte dos pacientes. Diante desses problemas novas moléculas vêm sendo estrategicamente sintetizadas para o tratamento das leishmanioses, e surgem como uma alternativa promissora para superar esses inconvenientes e proporcionar uma terapia mais adequada ao paciente.

As recentes descobertas de alvos moleculares e os avanços da química computacional, em muito têm contribuído para o planejamento de novas moléculas.<sup>7,8</sup> A proposta que estes estudos auxiliam na busca de novos agentes para o tratamento das leishmanioses baseados em planejamentos químicos racionais, resultando na obtenção de substâncias com maior eficácia, seletividade e consequentemente, menor toxicidade. Nesse contexto, a capacidade de interagir com sistemas biológicos coloca os grupos funcionais hidrazona e *N*-acilhidrazona em destaque entre os compostos químicos para fins medicinais. Adicionalmente, vários são os trabalhos que apontam compostos hidrazônicos como potenciais agentes antileishmanias.<sup>9-13</sup> Portanto, considerando a relevância de se obter novos fármacos que possam ser empregados no tratamento farmacológico das leishmanioses, cinco hidrazonas derivadas dos aldeídos naturais cinamaldeído e vanilina foram preparadas e, tiveram suas atividades biológicas avaliadas frente a formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, além da avaliação citotóxica em macrófagos murino.

\*e-mail: cleonia.araujo@univasf.edu.br

## PARTE EXPERIMENTAL

### Reagentes e equipamentos

Todos os reagentes empregados, exceto a hidralazina, foram obtidos de fonte comercial e utilizados sem purificação prévia. Os compostos obtidos tiveram suas temperaturas de fusão (PF) determinadas empregando-se o fusiômetro digital Microquímica (modelo MQAPF-302). As Cromatografias em Camada Delgada Analítica (CCDA) foram realizadas em placas de alumínio de 2x4 cm, recobertas com sílica gel 60 contendo indicador de fluorescência UV<sub>254nm</sub>, sendo reveladas com luz ultravioleta (UV) ou iodo (I<sub>2</sub>), e os resultados expressos como fator de retenção (Rf).

A determinação estrutural das hidrazonas foi realizada empregando-se as técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C), <sup>13</sup>C-DEPT 135°, assim como, as técnicas bidimensionais de correlação homonuclear, <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-COSY, e heteronuclear, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C (HSQC e HMBC). Os espectros de RMN foram registrados em um aparelho Bruker (modelo Ascend™ 400), operando a 400 MHz para o núcleo de <sup>1</sup>H e a 100 MHz para o núcleo de <sup>13</sup>C. Os deslocamentos químicos (δ) foram obtidos em ppm utilizando o solvente tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Todas as amostras foram solubilizadas em solvente deuterado (CDCl<sub>3</sub> ou DMSO-d<sub>6</sub>). Os espectros de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram obtidos utilizando o equipamento PerkinElmer (modelo Spectrum 400). O leitor de placas de absorvância Biotek (modelo ELX800) foi empregado nos ensaios de avaliação da atividade antileishmania.

### Isolamento da hidralazina a partir de comprimidos de cloridrato de hidralazina (Apresolina®) Novartis

A hidralazina utilizada neste trabalho foi extraída de comprimidos de cloridrato de hidralazina (Apresolina®) da marca Novartis, através da remoção do revestimento de coloração rosa (laca de eritrosina) por lavagem com água, e subsequente secagem. O sólido seco foi macerado e o pó resultante armazenado para uso nas reações.

### Procedimento geral de síntese das hidrazonas e N-acilhidrazona

Em um balão de reação de 25 mL o aldeído, cinamaldeído (1 mmol; 152 mg) ou vanilina (1 mmol; 132 mg), foi pesado e solubilizado em etanol (2 mL), seguida da adição de 2 mL de uma solução etanólica previamente preparada da adequada hidrazina, fenilhidrazina (1 mmol; 108 mg), dinitrofenilhidrazina (1 mmol; 198 mg), isoniazida (1 mmol; 137 mg) ou hidralazina (2 mmol; 320 mg). A esta mistura foram adicionadas 3 gotas de ácido fosfórico concentrado, e o meio reacional submetido a irradiação de micro-ondas na potência 150 W, empregando um aparelho de uso doméstico, até o completo consumo dos reagentes. O progresso da reação foi verificado através de CCDA. Após o resfriamento, o sólido formado foi filtrado, lavado com água deionizada e seco a temperatura ambiente.

### Cinamaldeído fenilhidrazona – HDZ-1

**HDZ - 1:** sólido amarelo; rendimento de 91% e PF: 155-158 °C. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] 7,52 (d, J = 9,2 Hz, 1H, HC=N-NH); 7,47-7,41 (m, 2H, Ar); 7,37-7,30 (m, 2H, Ar); 7,29-7,23 (m, 3H, Ar); 7,07-6,97 (m, 3H, Ar); 6,87 (t, J = 7,15 Hz, 1H, Ar-CH=CH); 6,67 (d, J = 15,84 Hz, 1H, HC-CH=N). RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] 144,1 (C<sub>Ar</sub>-NH-N); 139,9 (HC=N); 136,6 (C<sub>Ar</sub>-CH=CH); 134,3 (Ar-CH=); 129,3 (C<sub>Ar</sub>); 128,7 (C<sub>Ar</sub>); 128,0 (C<sub>Ar</sub>); 126,5 (C<sub>Ar</sub>); 125,8 (=CH-NH); 120,2 (C<sub>Ar</sub>); 112,6 (C<sub>Ar</sub>). IV: ν̄ [cm<sup>-1</sup>] 3032 (C-H sp<sup>2</sup>); 2945 (C-H sp<sup>3</sup>); 1605 (C=C); 1565 (C=N; C=N-N=C), Figuras 1S à 7S.

### Cinamaldeído 2,4-dinitrofenilhidrazona – HDZ-2

**HDZ - 2:** sólido laranja; rendimento de 60% e PF: 247-250 °C. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] 11,27 (s, 1H, C=NH); 9,15 (s, 1H, Ar); 8,35 (m, 1H, Ar); 8,03 – 7,91 (m, 2H, Ar); 7,56-7,34 (m, 5H, CH=N, Ar); 7,05-7,00 (m, 2H, CH=CH). RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] 149,8 (HC=N); 144,4 (C<sub>Ar</sub>-N); 141,2 (C<sub>Ar</sub>); 138,2 (C<sub>Ar</sub>-NO<sub>2</sub>); 135,4 (C<sub>Ar</sub>-NO<sub>2</sub>); 130,0 (C<sub>Ar</sub>); 129,6; 129,3 (C<sub>Ar</sub>-C); 129,0 (C<sub>Ar</sub>); 127,3 (C<sub>Ar</sub>); 124,0 (C<sub>Ar</sub>); 123,5 (C<sub>Ar</sub>); 116,7 (C<sub>Ar</sub>). IV: ν̄ [cm<sup>-1</sup>] 3275 (C-H sp<sup>2</sup>); 3092 (C-H sp<sup>3</sup>); 1612 (C=N; C=N); 1490 (C=N; C=N-N=C) 1510 (NO<sub>2</sub>); 1335 (NO<sub>2</sub>), Figuras 8S à 14S.

### Cinamaldeído isonicotinoilhidrazona – HDZ-3

**HDZ - 3:** sólido amarelo claro; rendimento de 84% e PF: 182-184 °C. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] 11,97 (s, 1H, NH); 8,81-8,87 (m, 2H, Ar); 8,28 - 8,22 (m, 1H, Ar); 7,84-7,79 (m, 2H, Ar); 7,68-7,61 (m, 2H, Ar); 7,45-7,31 (m, 3H, Ar); 7,13-7,08 (m, 2H, Ar). RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] 161,4 (C=O); 150,9 (HC=N); 150,2 (C<sub>Ar</sub>); 140,3 (C<sub>Ar</sub>); 139,8 (C<sub>Ar</sub>); 135,7 (C<sub>Ar</sub>); 128,9 (C<sub>Ar</sub>); 128,8 (C<sub>Ar</sub>); 127,1 (C<sub>Ar</sub>); 125,3 (C<sub>Ar</sub>); 121,4 (C<sub>Ar</sub>). IV: ν̄ [cm<sup>-1</sup>] 3483 (C-H sp<sup>2</sup>); 3233 (NH); 3086 (C-H sp<sup>3</sup>); 3050 (C-H sp<sup>3</sup>); 1682 ((C=O); 1647 (C=C); 1541 (N-H); 1354 (C-N<sub>Ar</sub>); 1307 (C-N alifático), Figuras 15S à 21S.

### Vanilina 2,4-dinitrofenilhidrazona – HDZ-4

**HDZ - 4:** sólido vermelho; rendimento de 70 % e PF: 266-267 °C. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] 11,58 (s, 1H, OH); 9,75 (s, 1H, NH); 8,86-8,80 (m, 1H, Ar); 8,56 (s, 1H, HC=N); 8,37-8,27 (m, 1H, Ar); 8,11-8,02 (m, 1H, Ar); 7,37 (s, 1H, Ar); 7,20-7,06 (m, 1H, Ar); 6,90-6,83 (m, 1H, Ar); 3,87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>). RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] 150,0 (C=N); 149,5 (C<sub>Ar</sub>-OH); 148,0 (C<sub>Ar</sub>-OMe); 144,3 (C<sub>Ar</sub>-C); 136,3 (C<sub>Ar</sub>-C); 129,5 (C<sub>Ar</sub>); 128,8 (C<sub>Ar</sub>); 125,0 (C<sub>Ar</sub>); 123,0 (C<sub>Ar</sub>); 122,5 (C<sub>Ar</sub>); 116,6 (C<sub>Ar</sub>); 115,4 (C<sub>Ar</sub>); 109,3 (C<sub>Ar</sub>); 55,2 (OCH<sub>3</sub>). IV: ν̄ [cm<sup>-1</sup>] 3275 (C-H sp<sup>2</sup>); 3099 (C-H sp<sup>3</sup>); 1618 (C=N); 1517 (C=N; C=N-N=C), 1328 (NO<sub>2</sub>), Figuras 22S à 28S.

### Vanilina 1-ftalazinilhidrazona – HDZ-5

**HDZ - 5:** sólido amarelo; rendimento 98% e PF: 234-237 °C. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO): δ [ppm] 14,34 (s, 1H, NH); 9,98 (s, 1H, OH); 9,26-9,17 (d, J = 7,7 Hz, 1H); 9,05 (s, 1H, Ar); 9,00 (s, 1H, HC=N); 8,31-8,08 (m, 3H, Ar); 7,87 (s, 1H, Ar); 7,31-7,28 (dd, J = 8,2, 1,8 Hz, 1H, Ar); 6,93- 6,88 (d, J = 8,1 Hz, 1H, Ar); 3,92 (s, 3H, OMe). RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO): δ [ppm] 153,1 (C=N); 150,2 (-HN-C<sub>Ar</sub>); 148,0 (HO-C<sub>Ar</sub>); 147,2 (MeO-C<sub>Ar</sub>); 144,3 (C<sub>Ar</sub>); 135,6 (C<sub>Ar</sub>); 133,4 (C<sub>Ar</sub>); 128,0 (C<sub>Ar</sub>); 127,6 (C<sub>Ar</sub>); 125,2 (C<sub>Ar</sub>); 124,5 (C<sub>Ar</sub>); 124,1 (C<sub>Ar</sub>); 114,8 (C<sub>Ar</sub>); 109,8 (C<sub>Ar</sub>); 55,8 (OCH<sub>3</sub>). IV: ν̄ [cm<sup>-1</sup>] 3590 (OH); 3483 (NH); 3124-3043 (C-H sp<sup>2</sup>); 2968 (C-H sp<sup>3</sup>); 1620 (C=N); 1596 (C=N; C=N-N=C), 1370 (C-N<sub>Ar</sub>); 1288 (C-N alifático), Figuras 29S à 35S.

### Determinação da concentração inibitória média (CI<sub>50</sub>) das hidrazonas sintéticas contra as formas promastigotas da *Leishmania amazonensis*

Nesse ensaio foram utilizados parasitos da espécie *Leishmania amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8), mantidos criopreservados em nitrogênio líquido e em meio de cultivo de Schneider (Sigma, Chemical - USA) suplementado com Soro Fetal Bovino (SFB) e 100 UI.mL<sup>-1</sup> de penicilina-estreptomicina (Sigma) e glicerol como criopreservante. Para utilização, os parasitos foram descongelados e mantidos no mesmo meio, sem criopreservante, a 26 ± 1 °C em estufa de demanda biológica de oxigênio (BOD). Para o uso, as promastigotas em fase estacionária de crescimento foram lavadas em solução salina 0,9% estéril, contadas em câmara de Neubauer e volume ajustado para a

concentração desejada. O ensaio foi realizado com formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* em fase logarítmica de crescimento. Os parasitos foram semeados em placas de cultivo celular de 96 poços contendo meio Schneider's suplementado, na quantidade de  $1 \times 10^6$  Leishmania/100  $\mu\text{L}$  de meio. Em seguida as substâncias HDZ-1, HDZ-2, HDZ-3, HDZ-4 e HDZ-5 foram adicionadas aos poços em triplicata e realizadas diluições seriadas, atingindo doze faixas de concentrações (0,0097 a 20  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ). A placa foi incubada em estufa de demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D.) a temperatura de 26 °C por 48 h, restando 6 h para o término deste período, foram adicionados 20  $\mu\text{L}$  de resazurina  $1 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$ , quando incubou-se novamente a placa. A leitura da placa foi realizada num leitor de placas de absorbância - Biotek (modelo ELx800), no comprimento de onda de 550 nm, e os resultados foram expressos em termos de inibição do crescimento (%). O controle positivo foi realizado com 2  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  de anfotericina B (Anf B) diluído em meio Schneider's contendo  $1 \times 10^6$  promastigotas por poço. Já o controle negativo equivaleu ao meio Schneider's contendo  $1 \times 10^6$  promastigotas por poço e, neste caso, a viabilidade foi de 100% para o parasito. A leitura do branco, para cada concentração e para os controles, fez-se necessária para desprezar a absorbância resultante do próprio meio com interferência ou não dos compostos estudados.<sup>14, 15</sup>

#### Determinação da concentração citotóxica média ( $\text{CC}_{50}$ ) das hidrazonas sintéticas sobre macrófagos RAW

A avaliação da citotoxicidade foi realizada em placas de 96 poços utilizando o ensaio do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio). Foram incubados  $2 \times 10^5$  macrófagos da linhagem RAW 264.7 por poço em 100  $\mu\text{L}$  de meio RPMI 1640 (suplementado com 10% de SFB e 10.000 UI de penicilina e 1.000 UI de estreptomomicina) em estufa a 37 °C e 5% de  $\text{CO}_2$ , durante 4 h para a adesão celular. Após esse período retirou-se o sobrenadante para remoção das células que não aderiram. Os derivados hidrazônicos foram diluídos em meio RPMI suplementado, adicionados à placa contendo os macrófagos em concentrações seriadas atingindo doze faixas de concentrações finais, partindo de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , e incubados a 37 °C e 5% de  $\text{CO}_2$  durante 48 h. Após esse período, a citotoxicidade foi avaliada por adição de 10 % MTT na concentração de 5 mg  $\text{mL}^{-1}$ , diluído em 100  $\mu\text{L}$  de meio RPMI e incubou-se novamente a placa durante 4 h a 37 °C e 5% de  $\text{CO}_2$ . Passado esse período, o sobrenadante foi descartado e os cristais de formazan foram dissolvidos por adição de 100  $\mu\text{L}$  de DMSO. Finalmente, a absorbância (550 nm) foi medida utilizando um leitor de placas Biotek (ELx800).<sup>16</sup> O índice de seletividade (SI) foi calculado pela razão entre  $\text{CC}_{50}$  e  $\text{CI}_{50}$ .<sup>17</sup>

#### Análises estatísticas

Todos os ensaios foram realizados em três experimentos independentes. A concentração inibitória média ( $\text{CI}_{50}$ ) e a concentração citotóxica média ( $\text{CC}_{50}$ ) com limite de confiança de 95%, foram calculadas utilizando regressão. Foram realizadas análises de variância ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni tomando-se o valor de  $p < 0,05$  como nível máximo de significância estatística.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Síntese e caracterização das hidrazonas

As hidrazonas foram preparadas através da reação entre os aldeídos naturais, cinamaldeído ou vanilina, com uma hidrazina (a fenilhidrazina, a 2,4-dinitrofenilhidrazina ou a hidralazina), ou hidrazida (a isoniazida). A reação aconteceu com rendimentos satisfatórios

em etanol, solvente verde, sob catálise ácida empregando-se ácido fosfórico, e radiação de micro-ondas, conforme os dados mostrados na Tabela 1.

Analisando o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de HDZ-1 (Figura 1S) foram observados sinais na região de hidrogênio aromático, os multipletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,47-7,41; 7,37-7,30; 7,29-7,23 e 7,07-6,97 ppm, referentes conjuntamente à 10 H. Em região mais desblindada do espectro, um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  7,52 ppm ( $J = 9,2$  Hz), com integral para 1 H, refere-se ao H do grupo azometina ( $\text{HC}=\text{N}$ ). E em região mais protegida, um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  6,67 ppm ( $J = 15,84$  Hz) e um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,87 ppm ( $J = 7,15$  Hz), com integrais de 1 H cada. Já o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de HDZ-1 (Figura 2S) apresentou 11 linhas espectrais. Através da análise comparativa dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 3S) foi possível determinar a presença de 9 sinais de carbono monohidrogenado (CH), todos localizados na região de C com hibridização  $\text{sp}^2$  e na região de C de anel aromático, sendo o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  139,9 ppm referente ao carbono  $\text{HC}=\text{N}$  (azometina). Também foram identificados dois sinais de carbono não hidrogenados na região de hibridização  $\text{sp}^2$  em  $\delta_{\text{C}}$  144,1 e 136,6 ppm. Por fim, no espectro bidimensional de correlação heteronuclear direta ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC - 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 5S), foi observada a correlação entre o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  7,52 ppm, referente ao H hidrazônico, com o sinal de carbono em  $\delta_{\text{C}}$  139,9 ppm ( $\text{HC}=\text{N}$ , azometina).

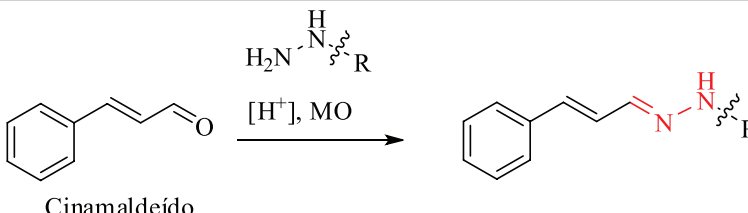
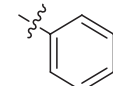
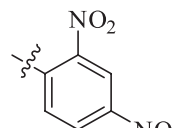
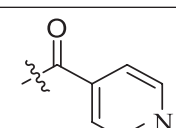
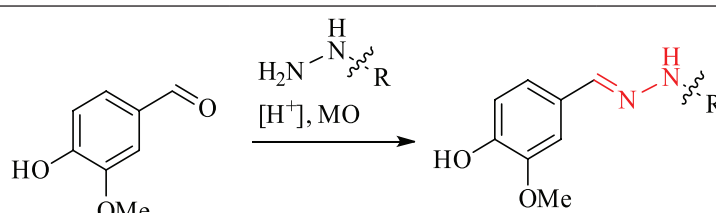
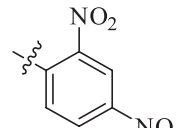
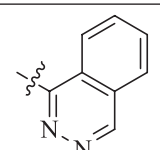
No espectro de IV (FTIR) de HDZ-1 (Figura 7S) foi observada a banda em 1605  $\text{cm}^{-1}$ , referente à ligação  $\text{C}=\text{C}$ , e a banda em 1565  $\text{cm}^{-1}$ , referente aos estiramentos dos grupos  $\text{C}=\text{N}$  e  $\text{C}=\text{N}-\text{N}=\text{C}$ .

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de HDZ-2 (Figura 8S) foram observados sinais de hidrogênio aromático, com integral conjunta para 9 H, nas regiões de  $\delta_{\text{H}}$  9,15, 8,35; 8,03-7,91; 7,56-7,34 e 7,05-7,00 ppm. Dentre estes sinais, o multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  8,03-7,91 ppm contempla 1H aromático e 1H do grupo azometina ( $\text{HC}=\text{N}$ ). O espectro bidimensional de correlação heteronuclear direta ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC - 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 12S) mostra relação direta entre os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  149,8 ppm e  $\delta_{\text{H}}$  7,96 ppm. O sinal de  $\text{N}-\text{H}$  do grupo hidrazona foi observado no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\delta_{\text{H}}$  11,27 ppm. Já no espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC - 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 13S), o qual possibilita correlacionar os átomos de hidrogênio e carbono a duas ( $^2J_{\text{C-H}}$ ) e três ( $^3J_{\text{C-H}}$ ) ligações, foi observada a correlação entre o sinal do H em  $\delta_{\text{H}}$  11,27 ppm com os dos C em  $\delta_{\text{C}}$  116,7 e 144,4 ppm. Por fim, o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de HDZ-2 (Figura 9S) apresentou 13 linhas espectrais e, na comparação com o espectro de  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 10S), foi possível determinar a presença de 4 sinais referentes a carbonos não hidrogenados em região de hibridização  $\text{sp}^2$  em  $\delta_{\text{C}}$  144,4; 138,2; 135,4 e 129,3 ppm. O carbono do grupo azometina ( $\text{HC}=\text{N}$ ) foi detectado em  $\delta_{\text{C}}$  149,8 ppm.

No espectro de IV (FTIR) de HDZ-2 (Figura 14S) foi observada a banda em 1612  $\text{cm}^{-1}$ , referente à ligação  $\text{C}=\text{C}$ , e a banda em 1490  $\text{cm}^{-1}$ , referente aos estiramentos dos grupos  $\text{C}=\text{N}$  e  $\text{C}=\text{N}-\text{N}=\text{C}$ . As bandas de forte intensidade referente ao grupo nitro, estiramentos  $\text{N}-\text{O}$  assimétrico e simétrico, respectivamente em 1510 e 1335  $\text{cm}^{-1}$ , também foram registrados.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) de HDZ-3 (Figura 16S) apresentou multipletos na região de hidrogênio aromático com integral conjunta para 9 H, sendo estes em:  $\delta_{\text{H}}$  8,81-8,87; 7,68-7,61; 7,45-7,31; 7,13-7,08 ppm. Um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  8,28-8,22 ppm também foi revelado, sendo este sinal referente ao H do grupo azometina ( $\text{HC}=\text{N}$ ). O espectro bidimensional de correlação heteronuclear direta de HDZ-3 ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC - 400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) (Figura 20S) mostra relação entre os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  150,9 ppm e  $\delta_{\text{H}}$  8,28-8,22 ppm. Por fim, no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) de HDZ-3 (Figura 17S), 11 linhas espectrais foram detectadas e, ao comparar-se

**Tabela 1.** Hidrazonas sintetizadas, rendimentos e pontos de fusão obtidos experimentalmente

Hidrazona/Código/Aspecto	R	Rend. (%)	PF (°C)
 <p>Cinamaldeído</p>			
Cinamaldeído fenilhidrazona – HDZ-1 sólido amarelo		91	155-158
Cinamaldeído 2,4-dinitrofenilhidrazona – HDZ-2 sólido laranja		60	247-250
Cinamaldeído isonicotinoilhidrazona – HDZ-3 sólido amarelo		84	182-184
			
Hidrazona/Código/Aspecto	R	Rend. (%)	PF (°C)
Vanilina 2,4-dinitrofenilhidrazona – HDZ-4 sólido vermelho		70	266-267
Vanilina 1-ftalazinilhidrazona – HDZ-5 sólido amarelo		98	234-237

com o espectro de  $^{13}\text{C}$ -DEPT  $135^\circ$  (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) (Figura 18S), foi possível determinar a presença de 3 sinais referentes a carbonos não hidrogenados em região  $\text{sp}^2$ , sendo o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  161,4 ppm, referente ao carbono carbonílico ( $\text{C}=\text{O}$ ). O carbono do grupo azometina foi registrado em  $\delta_{\text{C}}$  150,9 ppm ( $\text{HC}=\text{N}$ ).

No espectro de IV (FTIR) de HDZ-3 (Figura 21S) foram observadas as bandas em  $1682$ ,  $1647$  e  $1541\text{ cm}^{-1}$ , referentes às ligações  $\text{C}=\text{O}$ ,  $\text{C}=\text{C}$  e  $\text{NH}$ , respectivamente. A banda em  $1354\text{ cm}^{-1}$  foi registrada, e corresponde à ligação  $\text{C}-\text{N}$  aromática.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) de HDZ-4 (Figura 22S) foram identificados 6 sinais referentes a hidrogênios aromáticos, 1 simpleto do hidrogênio hidrazônico ( $\text{HC}=\text{N}$ ) em  $\delta_{\text{H}}$  8,56 ppm, e os sinais de H dos grupos  $\text{O}-\text{H}$ ,  $\text{N}-\text{H}$  e  $\text{O}-\text{CH}_3$  em  $\delta_{\text{H}}$  11,58; 9,75 e 3,87 ppm, respectivamente. No espectro bidimensional de correlação heteronuclear direta ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC - 400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) (Figura 26S) foi revelada uma relação entre os sinais de C em  $\delta_{\text{C}}$  150,0 ppm e H em  $\delta_{\text{H}}$  8,56 ppm. Por fim, o espectro de

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) de HDZ-4 (Figura 23S) registrou 14 linhas espectrais e, por comparação com o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^{13}\text{C}$ -DEPT  $135^\circ$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 24S), foram identificados 6 carbonos aromáticos não hidrogenados. O carbono do grupo azometina ( $\text{HC}=\text{N}$ ) surgiu em  $\delta_{\text{C}}$  150,0 ppm.

No espectro de IV (FTIR) de HDZ-4 (Figura 29S) foram observadas as bandas em  $1618$ ,  $1517$  e  $1328\text{ cm}^{-1}$ , referentes aos estiramentos do  $\text{C}=\text{N}$ ,  $\text{C}=\text{N}-\text{N}=\text{C}$  e  $\text{NO}_2$ , respectivamente.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) de HDZ-5 (Figura 29S) foram identificados 6 sinais referentes aos 8 hidrogênios aromáticos. Os sinais de H ligados a heteroátomos e os metoxílicos foram encontrados em  $\delta_{\text{H}}$  14,34; 9,98 e  $\delta_{\text{H}}$  3,92 ppm. O hidrogênio hidrazônico ( $\text{N}-\text{H}$ ) foi registrado em  $\delta_{\text{H}}$  9,00 ppm e, no espectro bidimensional de correlação heteronuclear direta ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC - 400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) (Figura 33S), foi revelada a relação entre os sinais de C em  $\delta_{\text{C}}$  153,1 ppm e de H em  $\delta_{\text{H}}$  9,00 ppm.

Já no espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC

- 400 MHz, DMSO- $d_6$ ) (Figura 34S) foi observada a relação entre o sinal de H em  $\delta_H$  9,00 ppm e os carbonos em  $\delta_C$  109,8 e 124,1 ppm, o que confirma a presença do hidrogênio hidrazônico. Por fim, o espectro de RMN  $^{13}C$  de HDZ-5 (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) (Figura 30S) exibiu 15 linhas espectrais e, por comparação com o espectro de RMN de  $^{13}C$  e  $^{13}C$ -DEPT 135° (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) (Figura 31S), foram identificados 4 sinais de carbonos aromáticos não hidrogenados, e o carbono do grupo azometina (HC=N) em  $\delta_C$  153,1 ppm.

As bandas em 3549, 3483, 1620 e 1370  $cm^{-1}$  registradas no espectro de IV (FTIR) de HDZ-5 (Figura 35S) são referentes aos seguintes grupos OH, NH, C=C, NH aromático, respectivamente.

Os altos rendimentos sintéticos, o uso de matéria prima de baixo custo e a simplicidade metodológica utilizada na síntese das hidrazonas (HDZ-1 – HDZ-5) são características que enquadra o processo nos princípios sintéticos apontados por Barry Price, na ocorrência da descoberta da ranitidina, onde o pesquisador defende o emprego de métodos clássicos de síntese orgânica, de baixo custo e alta reprodutibilidade na produção de fármacos.<sup>18, 19</sup>

### Atividade antileishmania e citotóxica das hidrazonas sintéticas

A avaliação de atividade antileishmania somente em formas promastigotas tem sido realizado em diversos trabalhos de síntese química como ensaio de triagem.<sup>16, 17, 20-22</sup> As diferentes moléculas apresentaram resultados de atividade antipromastigota com grandes variações, com valores entre 9,00 e 77,18  $\mu M$ . Os resultados de  $CI_{50}$ ,  $CC_{50}$  e IS obtidas estão apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2.** Atividade antileishmania em *L. amazonensis* e citotóxica sobre macrófagos RAW das hidrazonas sintéticas

Compostos	<i>L. amazonensis</i> (Formas promastigotas)	Macrófagos (RAW)	Índice de seletividade (IS)
	<sup>a</sup> $CI_{50}$ ( $\mu M$ )	<sup>b</sup> $CC_{50}$ ( $\mu M$ )	
HDZ-1	77,18 $\pm$ 0,45	10,09 $\pm$ 1,71	0,13
HDZ-2	> 64	24,31 $\pm$ 0,93	> 0,4
HDZ-3	9,00 $\pm$ 1,03	6,31 $\pm$ 1,47	0,70
HDZ-4	38,06 $\pm$ 0,48	222,24 $\pm$ 0,48	5,83
HDZ-5	26,26 $\pm$ 0,68	29,73 $\pm$ 0,88	1,13
<sup>c</sup> Anf B	0,43 $\pm$ 0,16	9,47 $\pm$ 0,26	22,02

<sup>a</sup> $CI_{50}$ : Concentração inibitória média; <sup>b</sup> $CC_{50}$ : Concentração citotóxica média.  
<sup>c</sup>Anf B: Anfotericina B.

As substâncias testadas apresentaram atividade antileishmania para as formas promastigotas de *L. amazonensis*, onde as moléculas HDZ-3, HDZ-4 e HDZ-5 tiveram melhor atividade. A molécula HDZ-3 foi a mais citotóxica enquanto a HDZ-4 a menos citotóxica contra os macrófagos testados pelo método do MTT. As substâncias com melhor índice de seletividade foram as HDZ-4 e HDZ-5. Portanto, os resultados apontam para uma atividade promissora das hidrazonas sintéticas contra parasitas *in vitro* de *L. amazonensis* na forma promastigota, apesar de inferior à Anfotericina B. Dentre os compostos avaliados, o HDZ-4 demonstrou atividade contra a forma promastigota de *L. amazonensis* comparável à Miltefosina, um fármaco de referência para o tratamento da leishmaniose.<sup>23</sup> Porém, as melhores atividades apresentadas ocorreram por ação das HDZ-3 e HDZ-5, com  $CI_{50}$  inferior ao da Miltefosina ( $CI_{50}$  34,6  $\mu M$ ). Nos últimos anos tem havido relatos de casos de resistência ao tratamento com antimoniais, principalmente por cepas da espécie *L. donovani*, responsável por causar a forma visceral em países da Ásia e África, sendo na

Índia considerado ineficiente, e substituído pela Miltefosina.<sup>5, 6</sup> Essa resistência pode surgir em função de fatores como a resposta imune do hospedeiro, a adaptação biológica das cepas, além de fatores farmacológicos.<sup>24</sup>

Em trabalhos independentes, Sharma (2017) e Lima (2017), e respectivos colaboradores, relataram a atividade contra leishmania do cinamaldeído e da vanilina.<sup>25, 26</sup> Sendo a  $CI_{50}$  do cinamaldeído de 1,426  $g \cdot mL^{-1}$  (10,79  $\times 10^3 \mu M$ ) contra *L. major*.<sup>25</sup> Já a vanilina, na concentração de 50  $\mu M$ , promoveu a inibição de 12,94% da forma amastigota de *L. amazonensis*.<sup>26</sup> Estes dados, ao serem confrontados com os resultados obtidos no presente trabalho, indicam que a modificação molecular realizada promoveu um aumento da atividade antileishmania dos compostos testados, derivados do cinamaldeído e vanilina.

A atividade contra as formas promastigotas de *L. braziliensis* da isonizada foi avaliada por Amim e colaboradores (2016) onde a  $CI_{50}$  obtida foi de 17,04  $\mu M$ .<sup>27</sup> O composto HDZ-3 é um derivado da isoniazida e cinamaldeído, e a  $CI_{50}$  obtida foi de 9,0  $\mu M$ . Neste caso, percebe-se que a modificação estrutural realizada na isoniazida aumentou sua ação antileishmania. Contudo, cabe salientar, que é precipitado propor aplicação clínica a uma molécula antes de se realizar ensaios de farmacocinética e de toxicidade, já que fatores como absorção, distribuição, metabolismo e excreção são de grande relevância no contexto geral de ação dos fármacos.

Considerando a relevância da farmacocinética e reconhecendo a utilidade da regra dos 5 de Lipinski<sup>28, 29</sup> para o desenvolvimento de novos compostos bioativos, as hidrazonas do presente estudo tiveram os descritores de Lipinski calculados empregando-se o Software Advanced Chemistry Development (ACD/Labs), disponível na plataforma da American Chemical Society, o *Scifinder*<sup>®</sup>,<sup>30</sup> Tabela 3.

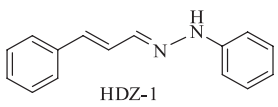
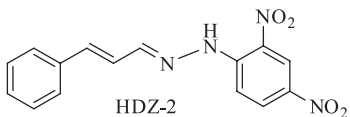
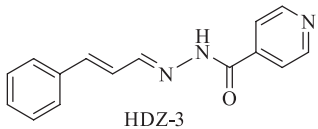
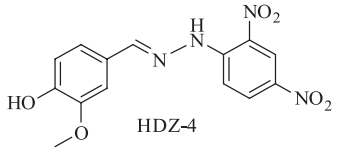
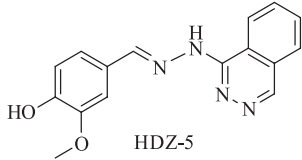
As hidrazonas HDZ-1 e HDZ-3 não violaram nenhum descritor de Lipinski, o que sugere que os mesmos podem possuir farmacocinética favorável para administração por via oral. Já a hidrazona HDZ-4, por possuir 10 receptores de prótons em ligação de hidrogênio e 7 ligações com rotação livre, e HDZ-5, por possuir 6 receptores de prótons em ligação de hidrogênio, terminam por violar a regra dos 5 de Lipinski. E entre os compostos estudados, a HDZ-3 foi a que apresentou menor  $CI_{50}$  contra *L. amazonensis*, diante destes resultados, pode-se afirmar que os compostos sintetizados mais promissores foram HDZ-3 e HDZ-5.

É válido salientar que no *design* estrutural de HDZ-3 e HDZ-5 é resultante de um planejamento prévio efetuado com ênfase na estratégia de hibridação molecular. Esta é um método usado para o desenvolvimento de compostos bioativos que vem ganhando relevância dentro do cenário científico, e consiste na junção de estruturas farmacofóricas distintas em uma molécula.<sup>31</sup> Tanto HDZ-3 quanto HDZ-5 são híbridos moleculares resultantes da junção de aldeídos naturais bioativos com fármacos comerciais. No primeiro caso, cinamaldeído com isoniazida e, no segundo caso, vanilina com hidralazina. Ambos os híbridos têm um espaçador molecular, que são o grupo funcional *N*-acilhidrazona e hidrazona, respectivamente para HDZ-3 e HDZ-5 (Figura 1).

Coimbra e colaboradores (2013) empregaram a amodiaquine, uma 4-aminoquinolona utilizada como antimalárico, como *lead compound* para o planejamento de uma série de 4-hidrazoquinolonas com potencial leishmanicida.<sup>23</sup> Os resultados apresentados foram promissores contra as formas promastigota de *L. amazonensis*, *L. brasiliensis*, *L. chagasi* e *L. major*, com  $CI_{50}$  variando entre 1,0 e >100  $\mu M$ .<sup>23</sup> Coa e colaboradores (2015), percebendo a relevância do núcleo quinolínic e do grupo *N*-acilhidrazona em compostos leishmanicida, planejaram e prepararam uma série de híbridos *N*-acilhidrazoquinolínicos com potencial atividade contra estes protozoários.<sup>32</sup>

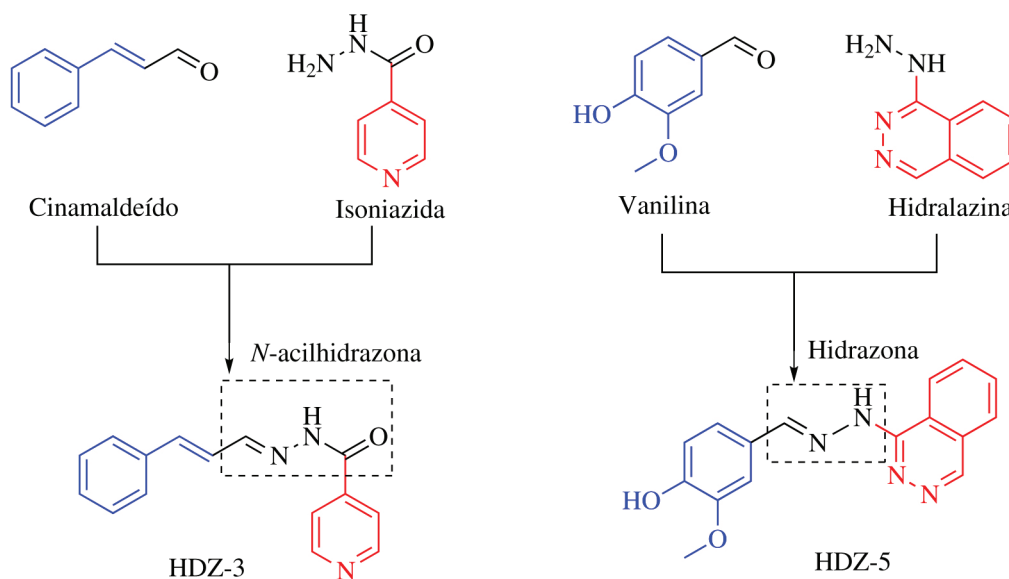
Ao comparar as estruturas moleculares das hidrazonas HDZ-3 e HDZ-5 com as dos compostos preparados nos trabalhos de Coimbra

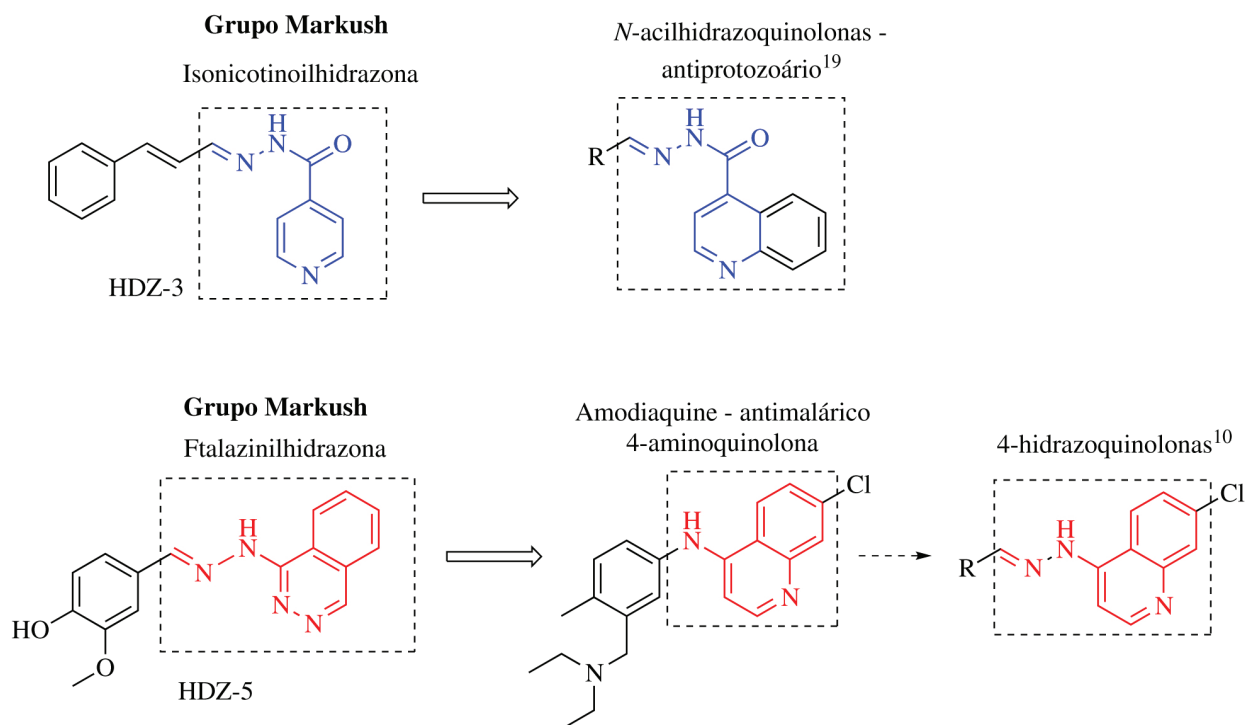
**Tabela 3.** Concentração inibitória de 50% (CI<sub>50</sub>) das hidrazonas sintetizadas sobre a forma promastigota de *L. amazonensis* e os respectivos descritores de Lipinski

HIDRAZONA	CI <sub>50</sub> (µM)	Descritores de Lipinski <sup>a</sup>				
		logP	MM	NRH	NDH	LRL
 HDZ-1	77,2	3.407±0.407	222,29	2	1	4
 HDZ-2	> 64	-	-	-	-	-
 HDZ-3	9,0	2.048±0.419	251,28	4	1	4
 HDZ-4	38,1	4.484±0.571	332,27	10 <sup>b</sup>	2	7 <sup>b</sup>
 HDZ-5	26,3	3.463±0.575	294,31	6 <sup>b</sup>	2	4
Anfotericina B	0,43	-	-	-	-	-
Miltefosina	34,6 <sup>23</sup>	-	-	-	-	-

MM – Massa molar. NRH – Número de receptores de prótons em ligação de hidrogênio. NDH – Número de doador de prótons em ligação de hidrogênio. LRL – ligações com rotação livre. <sup>a</sup>Calculado usando ACD/Labs. <sup>b</sup>Viola a Regra dos 5 de Lipinski.

### Hibridação Molecular

**Figura 1.** Esquema de hibridação molecular empregada do planejamento estrutural de HDZ-3 e HDZ-5



**Figura 2.** Esquema de comparação das estruturas moleculares das hidrazonas HDZ-3 e HDZ-5, destacando os Grupos Markush isonicotinoilhidrazona e ftalazinilhidrazona, e a estrutura geral das *N*-acilhidrazoquinolonas<sup>32</sup> e 4-hidrazoquinolonas.<sup>23</sup>

e Coa,<sup>23, 32</sup> percebe-se que as semelhanças estruturais encontradas colocam em destaque os núcleos isonicotinoilhidrazona e ftalazinilhidrazona, sendo estes semelhantes às *N*-acilhidrazoquinolonas e 4-hidrazoquinolonas, respectivamente (Figura 2).

A fim de encontrar publicações que relatem possíveis aplicabilidades para uso medicinal de hidrazonas semelhantes às sintetizadas neste trabalho, a plataforma *Scifinder* foi empregada para realizar uma busca específica pelos Grupos Markush isonicotinoilhidrazona e ftalazinilhidrazona. Grupo Markush se refere a um esqueleto molecular proposto a partir de um protótipo, e representa inúmeras moléculas que possuem o mesmo esqueleto, mas com radicais diferentes.<sup>31</sup> A busca pelo Grupo Markush isonicotinoilhidrazona, estrutura presente em HDZ-3, resultou em 60 patentes, e apenas 36 trazem atividades biológicas. A principal bioatividade mencionada nestas publicações foi a antitumoral, presente em 8 patentes, sendo que em nenhuma delas é proposto o uso de substâncias contendo esse Grupo Markush como possível agente leishmanicida. Nesta pesquisa também foram encontradas 12 patentes citando compostos com o Grupo Markush ftalazinilhidrazona, presente em HDZ-5. Deste total, apenas 6 patentes propõem novos agentes terapêuticos. Nestes documentos é apontada a possível utilização das substâncias contendo o grupo ftalazinilhidrazona para o tratamento de desordens relacionadas com a proteína huntingtina,<sup>33</sup> da doença de Parkinson,<sup>34</sup> do câncer,<sup>35</sup> de esclerose múltipla,<sup>36</sup> e como ativador do fator de transcrição 6 (ATF6).<sup>37</sup>

Desta forma, a ausência de patentes abordando substâncias contendo os núcleos isonicotinoilhidrazona e ftalazinilhidrazona com atividade contra o parasita do gênero *Leishmania*, e os resultados obtidos no presente trabalho, revelam o potencial de inovação da aplicação destas estruturas para o desenvolvimento de novos fármacos para leishmanioses.

## CONCLUSÕES

As hidrazonas HDZ (1-5) sintetizadas através de insumos de baixo custo e rotas sintéticas clássicas apresentaram altos rendimentos.

Dentre as hidrazonas sintetizadas, os compostos HDZ-3 e HDZ-5 apresentaram atividade relevante contra formas promastigotas de *L. amazonensis*, enquanto a HDZ-4 apresentou melhor seletividade. As hidrazonas mais ativas foram resultado do planejamento estrutural empregando-se a estratégia de hibridação molecular, sendo HDZ-3 obtida pela união do cinamaldeído com isoniazida, e HDZ-5, um híbrido da vanilina com hidralazina, sendo os grupos funcionais *N*-acilhidrazona e hidrazona os espaçadores moleculares utilizados. Esse estudo, além de reforçar mais uma vez o potencial da hibridação molecular para o desenvolvimento de novos fármacos, e de ampliar a relevância dos grupos funcionais *N*-acilhidrazona e hidrazona em moléculas bioativas, também destacou os Grupos Markush isonicotinoilhidrazona e ftalazinilhidrazona como estruturas privilegiadas em moléculas com atividade antiprotozoária.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e Dept-135 e FTIR dos compostos sintetizados neste trabalho estão disponíveis em <http://quimicanova.s bq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à UNIVASF e ao IF-Sertão.

## REFERÊNCIAS

- Burza, S.; Croft, S.L.; Boelaert, M. *Lancet*. **2018**, *392*, 951.
- Gurung, P.; Kanneganti, T. D. *Cell. Microbiol.*, **2015**, *17*, 1286.
- Marlow, M. A.; Da Silva Mattos, M.; Makowiecky, M. E. *PLoS ONE*, **2013**, *8*, e56177.
- Handler, M. Z.; Patel, P. A.; Kapila, R.; Al-Qubati, Y.; Schwartz, R. A. *J. Amer. Acad. Dermat.* **2015**, *73*, 911.
- Hendrickx, S.; Guerin, P.; Caljon, G.; Croft, S.; Maes, L. *Parasitology*. **2016**, *145*, 453.

6. Hefnawy, A.; Berg, M.; Dujardin, J. C.; De Muylder, G. *Trends Paras.* **2017**, *33*, 162.
7. Pandey, S. C.; Jha, A.; Kumar, A.; Samant, M. *Int. J. Biol. Macromol* **2019**, *121*, 480.
8. Kumar A.; Pandey S. C.; Samant, M. *Parasitol. Open* **2018**, *4*, 1.
9. Romero, A. H.; Medina, R.; Alcalá, A.; García-Marchan, Y.; Núñez-Duran, J.; Leanez, J.; Mijoba, A.; Ciangherotti, C.; Serrano-Martín, X.; Lopez, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *127*, 606.
10. Taha, M.; Ismail, N. H.; Imran, S.; Anouar, E. H.; Selvaraj, M.; Jamil, W.; Ali, M.; Kashif, S. M.; Rahim, F.; Khan, K. M.; Adenan, M. I. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *126*, 1021.
11. Amim, R. S.; Firmino, G. S. S.; Rego, A. C. P. D.; Nery, A. L.; Da-Silva, S. A. G.; Souza, M. V. N.; Pessoa, C.; Resende, J. A. L. C.; Figueroa-Villar, J. D.; Lessa, J. A. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *4*, 769.
12. Matta, C. B. B.; Queiroz, A. C.; Santos, M. S.; Alexandre-Moreira, M. S.; Gonçalves, V. T.; Cistia, C. N. D.; Sant'Anna, C. M. R.; Da Costa, J. B. N. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *101*, 1.
13. Coimbra, E. S.; Antinarelli, L. M. R.; Silva, A. D.; Bispo, M. L. F.; Kaiser, C. R.; Souza, M. V. N. *Chem. Biol. Drug Des.* **2013**, *81*, 658.
14. Soares, D. C.; Pereira, C. G.; Meireles, M. A. A.; Saraiva, A. *Parasitol. Int.* **2007**, *2*, 135.
15. Valadares, D. G.; Duarte, M. C.; Oliveira, J. S.; Chávez-Fumagalli, M. A.; Martins, V. T.; Costa, L. E.; Leite, J. P. V.; Santoro, M. M.; Régis, W. C. B.; Tavares, C. A. P.; Coelho, E. A. F. *Parasitol. Int.* **2011**, *60*, 357.
16. Maciel-Rezende, C. M.; Almeida, L.; Costa, E. D.; Pires, F. R.; Alves, K. F.; Cláudio Viegas Junior, C.; Dias, D. F.; Doriguetto, A. C.; Marques, M. J.; Santos, M. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 3114.
17. Masood, M. M.; Hasan, P.; Tabrez, S.; Ahmad, M. B.; Yadava, U.; Daniliuc, C. G.; Sonawane, Y.A.; Azam, A.; Rub, A.; Abid, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 1886.
18. Campos, W. R. A.; Souza, D. C. M.; Guimarães, D. G.; Santos, V. L. A.; Gonsalves, A. A.; Araújo, C. R. M. *Quim. Nova* **2019**, *42*, 305.
19. Fraga, C. A. M.; Lima, L. M.; Barreiro, E. J. Em *Química Medicinal Métodos e Fundamentos em Planejamento de Fármacos*; Montanari, C. A. ed.; Editora da Universidade de São Paulo, 2011, cap. 2.
20. Arshad, N.; Hashim, J.; Irfanullah; Ali Minhas, M. A.; Aslam, J.; Ashraf, T.; Hamid, S. Z.; Iqbal, T.; Javed, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *15*, 3251.
21. Arshia, A. F.; Ghouri, N.; Kanwal, K. K. M.; Perveen, S.; Choudhary, M. I. *R. Soc. Open Sci.* **2018**, *5*, 171771.
22. Mohajeri, M.; Saghaei, L.; Ghanadian, M.; Saberi, S.; Pesteichian, N.; Ostadhusseini E. *Adv. Biomed. Res.* **2018**, *7*, 64.
23. Coimbra, E. S.; Antinarelli, L. M. R.; Silva, A. D.; Bispo, M. L. F.; Kaiser, C. R.; Souza, M. V. N. *Chem. Biol. Drug Des.* **2013**, *81*, 658.
24. Gazanion, E.; Fernández-Prada, C.; Papadopoulou, B.; Leprohon, P.; Ouellette, M. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2016**, *113*, E3012.
25. Sharma, U. K.; Sharma, A. K.; Gupta, A.; Kumar, R.; Pandey, A.; Pandey, A. K. *Cell. Mol. Biol.* **2017**, *6*, 73.
26. Lima, T. C.; Souza, R. J.; Moraes, M. H.; Steindel, M.; Biavatti, M. W. *J. Braz. Chem. Soc.* **2017**, *2*, 367.
27. Amim, R. S.; Firmino, G. S. S.; Rego, A. C. P. D.; Nery, A. L.; Da-Silva, S. A. G.; Souza, M. V. N.; Pessoa, C.; Resende, J. A. L. C.; Figueroa-Villar, J. D.; Lessa, J. A. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *4*, 769.
28. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *46*, 3.
29. Lipinski, C. A.; *Drug Discovery Today: Technol.* **2004**, *4*, 337.
30. Santos, V. L. A.; Gonsalves, A. A.; Araújo, C. R. M. *Quim. Nova* **2018**, *1*, 110.
31. Araújo, C. R. M.; Leite Filho, C. A.; Santos, V. L. A.; Maia, G. L. A.; Gonsalves, A. A. *Quim. Nova* **2015**, *6*, 868.
32. Coa, J. C.; Castrillón, W.; Cardona, W.; Carda, M.; Ospina, V.; Muñoz, J. A.; Vélez, I.; Robledo, S. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *101*, 746.
33. Wanker, E.; Wiglenda, T.; Babila, J. T.; Boeddrich, A.; Schmidt, M.; Neuendorf, S.; Schiele, F. *PCT Int. Appl., WO 2011020883 A1*, 2011.
34. Shi, R. *PCT Int. Appl., WO 2016153874 A1*, 2016.
35. Halby, L.; Arimondo, P. B. *PCT Int. Appl., WO 2015040169 A1*, 2015.
36. Shi, R. *PCT Int. Appl., WO 2012064923 A2*, 2012.
37. Cooley, C.; Kelly, J. W.; Paxman, R.; Plate, L.; Wiseman, R. L. *PCT Int. Appl., WO 2017117430 A1*, **2017**.