



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS DA SAÚDE E BIOLÓGICAS

ELIZABETE SILVA DE SOUSA

**SÍNTESE, AVALIAÇÃO CITOTÓXICA E ESTUDO ADMET *in silico* de
NAFTOQUINONAS E SEUS DERIVADOS METILTIOSSEMICARBAZONAS**

PETROLINA

2024

ELIZABETE SILVA DE SOUSA

**SÍNTESE, AVALIAÇÃO CITOTÓXICA E ESTUDO ADMET *in silico* de
NAFTOQUINONAS E SEUS DERIVADOS METILTIOSEMICARBAZONAS**

Trabalho de Dissertação apresentado a
Universidade Federal do Vale do São Francisco –
UNIVASF, Campus Petrolina, como requisito para
a obtenção do título de mestre em Ciências da
Saúde e Biológicas.

Orientadora: Prof. Dra. Cleônia Roberta Melo
Araújo

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Pereira Ramos

PETROLINA

2024

Sousa, Elizabete Silva de.
S725s Síntese, avaliação citotóxica e estudo ADMET in sílico de
naftoquininas e seus derivados metiltiossemicarbazonas / Elizabete
Silva de Sousa. - Petrolina, 2024.
Xiii, 115 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência da Saúde e Biológicas) –
Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Petrolina,
Petrolina-PE, 2024.

Orientadora (a): Prof^a. Dra. Cleônia Roberta Melo Araújo.

Inclui referências.

1. Química medicinal. 2. Câncer. 3. Antitumoral. I. Título. II.
Araújo, Cleônia Roberta Melo. III. Universidade Federal do Vale do
São Francisco.

CDD 615.19

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS DA SAÚDE E BIOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

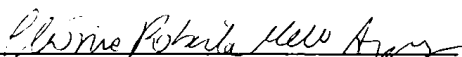
ELIZABETE SILVA DE SOUSA

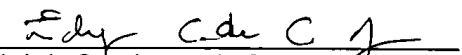
**SÍNTESE, AVALIAÇÃO CITOTÓXICA E ESTUDO ADMET IN SILICO DE
NAFTOQUINONAS E SEUS DERIVADOS METILTIOSSEMICARBAZONAS**

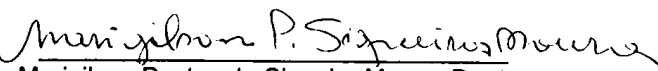
Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências com ênfase na linha de pesquisa: Biodiversidade, Tecnologia e Recursos Naturais, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovada em: 08 de março de 2024

Banca Examinadora


Cleônia Roberta Melo Araújo, Doutora
Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf


Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo, Doutora
Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf


Marigilson Pontes de Siqueira Moura, Doutor
Universidade Federal do Vale do São Francisco – Univasf

Dedicado à minha família e ao GQAF-UNIVASF.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me acompanhar em toda trajetória, me dando saúde, força e sabedoria.

Ao meu querido pai, senhor Antônio Alves, por todo apoio e incentivo, por sempre acreditar e orar por mim! Por sempre me incentivar nos estudos, por comprar meu café da manhã todos os dias, por me esperar no portão de casa, muitas vezes tarde da noite, até eu chegar da UNIVASF. Infelizmente meu pai faleceu antes de ver a conclusão deste trabalho. Mas eu dedico a ele tudo o que vivi, sempre serás minha inspiração, te amo paiinho!

Aos meus irmãos, a Liza e o Val que sempre acreditaram em mim e me ajudaram até financeiramente.

Ao meu quase noivo Isaac, por sempre me incentivar, orar e acreditar que tudo iria dar certo.

À melhor orientadora que eu poderia ter, professora Cleônia Roberta, por cada ensinamento, pela paciência. Por acreditar na minha capacidade e sempre me incentivar a continuar. Me sinto honrada por ter me aceitado em seu grupo de pesquisa, por ser uma mulher muito inspiradora! Obrigada por tudo professora, eu sempre serei grata.

Aos colegas do GQAF – UNIVASF, por todo apoio e conhecimento compartilhado, muito obrigada, esse trabalho é nosso!

Aos técnicos do laboratório Cícero e Amanda, pela disponibilidade e paciência.

À UNIVASF e ao PPGCSB, por proporcionar o melhor ensino.

À CAPES e a FACEPE (APQ-0788-1.06/22) pelo apoio financeiro para realização deste trabalho.

E a todos que de alguma forma contribuíram com o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBr) pela realização dos espectros de massas de alta resolução.

RESUMO

O tratamento quimioterápico do câncer é realizando empregando fármacos que devem suprimir células neoplásicas. Contudo, a maioria desses agentes atuam lesando tanto células tumorais quanto não tumorais. Pesquisas que buscam novos compostos antitumorais são relevantes, destacando-se aqueles com variedade de atividades biológicas, como as naftoquinonas e as tiossemicarbazonas. Essas duas classes de compostos vem despertando o interesse da Química Medicinal por suas atividades biológicas, dentre estas a antitumoral. Logo, sabendo das propriedades citotóxicas contra células tumorais das naftoquinonas e tiossemicarbazonas, foram planejados quatro naftoquinonas e quatro derivados tiossemicarbazonas inéditos. Para a obtenção das moléculas, foram sintetizados os derivados naftoquinônicos: a β -lapachona (**2**), o ácido-3- β -lapachona sulfônico (**3**), a 3-iodo- β -lapachona (**4**), e a α -lapachona (**5**), a partir do lapachol (**1**), extraído do cerne do caule do ipê amarelo (*Tabebuia* sp.). Em seguida, os derivados naftoquinônicos (**2 – 5**) foram submetidos a reações com 4-metil-3-tiossemicarbazida, em meio ácido, para formação das tiossemicarbazonas inéditas (**TSMM1-TSMM4**). As tiossemicarbazonas foram obtidas com rendimentos de 87%, 73%, 63% e 57%, respectivamente. As naftoquinonas e os derivados tiossemicarbazonas tiveram suas estruturas moleculares confirmadas por espectro de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, espectro na região do infravermelho (IV) e espectrometria de massas (EM). As naftoquinonas e as tiossemicarbazonas tiveram seus resultados farmacocinéticos ADMET *in silico* determinados, observou-se que todos os compostos apresentaram aceitável absorção oral, distribuição, metabolismo, excreção e baixa toxicidade. A citotoxicidade dos compostos foi avaliada através do ensaio de MTT (brometo de 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) frente a quatro linhagens celulares humanas, nomeadas, L929 (fibroblastos de camundongo, ATCC® CCL-1™), B16-F10 (melanoma murino, ATCC CRL-6475™), CT26.WT (carcinoma de cólon murino, ATCC CRL-2638™) e 4T1 (câncer de mama murino, ATCC CRL-2539™). Os resultados mostram que a modificação de **2**, **4** e **5**, gerando as tiossemicarbazonas inéditas **TSMM1**, **TSMM3** e **TSMM4** foi favorável, por serem derivados mais seletivos para células tumorais. Sendo, estas classes de compostos fortes candidatos a novos fármacos.

Palavras-chave: Base de Schiff; Antitumoral; Química Medicinal.

ABSTRACT

Cancer treatment involves drugs that suppress neoplastic cells. However, most of these agents act by damaging both tumor and non-tumor cells. Research looking for new antitumor compounds is relevant, highlighting those with a variety of biological activities, such as naphthoquinones and thiosemicarbazones. Which has been arousing interest in Medicinal Chemistry due to its biological activities, including antitumor. Therefore, knowing the cytotoxic properties against tumor cells of naphthoquinones and thiosemicarbazones, four naphthoquinones and four new thiosemicarbazone derivatives were planned. To obtain the molecules, naphthoquinone derivatives were synthesized: β -lapachone (**2**), 3- β -lapachone sulfonic acid (**3**), 3-iodo- β -lapachone (**4**), and α -lapachone (**5**), from lapachol (**1**), extracted from the heartwood of the yellow ipê (*Tabebuia* sp.) stem. Next, the naphthoquinone derivatives (**2 – 5**) were subjected to reactions with 4-methyl-3-thiosemicarbazide, in an acidic medium, to form the new thiosemicarbazones (**TSMM1-TSMM4**). Thiosemicarbazones were obtained in yields of 87%, 73%, 63% and 57%, respectively. Naphthoquinones and thiosemicarbazone derivatives had their molecular structures confirmed by one- and two-dimensional ^1H and ^{13}C NMR spectra, spectra in the infrared region (IR) and mass spectrometry (MS). Naphthoquinones and thiosemicarbazones had their ADMET pharmacokinetic results determined *in silico*, it was observed that all compounds showed acceptable oral absorption, distribution, metabolism, excretion and low toxicity. The cytotoxicity of the compounds was evaluated using the MTT assay (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) against four human cell lines, named L929 (mouse fibroblasts, ATCC® CCL-1™), B16-F10 (murine melanoma, ATCC CRL-6475™), CT26.WT (murine colon carcinoma, ATCC CRL-2638™) and 4T1 (murine breast cancer, ATCC CRL-2539™). The results show that the modification of **2**, **4** and **5**, generating the new thiosemicarbazones **TSMM1**, **TSMM3** and **TSMM4**, was favorable, as they are more selective derivatives for tumor cells. These classes of compounds are strong candidates for new drugs.

Keywords: Schiff base; Antitumor; Medicinal Chemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular das 4-metiltiossemicarbazonas propostas (TSMM1 – TSMM4).....	12
Figura 2 - Principais modificações para desenvolver compostos naftoquinoidais bioativos.	16
Figura 3 - Estrutura molecular do lapachol (1), β -lapachona (2), ácido- β -lapachona-3-sulfônico (3), 3-iodo- β -lapachona (4) e α -lapachona (5).	16
Figura 4 - Esquema do mecanismo reacional da síntese de tiossemicarbazonas. ..	17
Figura 5 - Rota sintética proposta para a obtenção dos quatro compostos inéditos 4-metiltiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4).....	23
Figura 6 - Esquema de extração do lapachol (1).....	24
Figura 7 - Espectro de infravermelho das 4-metiltiossemicarbazonas (TSMM1-TSMM4).....	34
Figura 9 - Gráfico tipo “teia de aranha” das propriedades físico-químicas das naftoquinonas (2 – 5) e tiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4) determinadas in silico pelo ADMETLab.	36
Figura A1 - Estrutura molecular do lapachol (1).....	51
Figura A2 - Síntese da β -lapachona (2) a partir do lapachol (1).....	52
Figura A3 - Síntese do ácido- β -lapachona-3-sulfônico (3) a partir do lapachol (1). .	52
Figura A4 - Síntese do 3-iodo- β -lapachona (4) a partir do lapachol (1).....	53
Figura A5 - Síntese da α -lapachona (5) a partir do lapachol (1).....	54
Figura A6 - Esquema de síntese da tiossemicarbazona TSMM1 , derivada da β -lapachona (2).	55
Figura A 7 - Esquema de síntese da tiossemicarbazona TSMM2 derivada do ácido- β -lapachona-3-sulfônico (3).....	56
Figura A8 - Esquema de síntese da tiossemicarbazona TSMM3 , derivada do 3-iodo- β -lapachona (4).	57
Figura A9 - Esquema de síntese da tiossemicarbazona TSMM4 , derivada da α -lapachona (5).	58
Figura B1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do lapachol (1).....	60
Figura B2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do lapachol (1).	61

Figura B3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135 $^{\circ}$ (100 MHz, CDCl_3) do lapachol (1).	62
Figura B4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) do lapachol (1).	63
Figura B5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) do lapachol (1).	64
Figura B6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) do lapachol (1).	65
Figura C1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) da β -lapachona (2).	67
Figura C2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) da β -lapachona (2).	68
Figura C3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135 $^{\circ}$ (100 MHz, DMSO-d_6) da β -lapachona (2).	69
Figura C4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, DMSO-d_6) da β -lapachona (2).	70
Figura C5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, DMSO-d_6) da β -lapachona (2).	71
Figura C6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, DMSO-d_6) da β -lapachona (2).	72
Figura D1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (5).	73
Figura D2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (5).	74
Figura D 3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135 $^{\circ}$ (100 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (5).	75
Figura D4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (5).	76
Figura D5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (5).	77
Figura D6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (5).	78
Figura E1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (3).	80
Figura E2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (3).	81
Figura E3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135 $^{\circ}$ (100 MHz, DMSO-d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (3).	82

Figura E4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, DMSO- d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (3).....	83
Figura E5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, DMSO- d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (3).....	84
Figura E6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, DMSO- d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (3).....	85
Figura E7 - Espectro total de massas de alta resolução do ácido β -lapachona-3-sulfônico (3).....	86
Figura F1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do 3-iodo- β -lapachona (4).....	87
Figura F2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do 3-iodo- β -lapachona (4).....	88
Figura F3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135 $^\circ$ (100 MHz, DMSO- d_6) do 3-iodo- β -lapachona (4).	89
Figura F4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, DMSO- d_6) do 3-iodo- β -lapachona (4).	90
Figura F5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, DMSO- d_6) do 3-iodo- β -lapachona (4).	91
Figura F6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, DMSO- d_6) do 3-iodo- β -lapachona (4).	92
Figura G1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do TSMM1	93
Figura G2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do TSMM1	94
Figura G3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135 $^\circ$ (100 MHz, CDCl_3) do TSMM1 . ..	95
Figura G4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) do TSMM1	96
Figura G5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) do TSMM1	97
Figura G6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) do TSMM1	98
Figura G7 - Espectro de IV em pastilha de KBr do TSMM1	99
Figura G8 - Espectro total de massas de alta resolução do TSMM1	100
Figura H1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do TSMM2	101
Figura H2 - Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) do TSMM2	102
Figura H3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135 $^\circ$ (100 MHz, DMSO- d_6) do TSMM2	103
Figura H4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, DMSO- d_6) do TSMM2	104

Figura H5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, DMSO- d_6) do TSMM2	105
Figura H6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, DMSO- d_6) do TSMM2	106
Figura H7 - Espectro de IV em pastilha de KBr do TSMM2	107
Figura H8 - Espectro total de massas de alta resolução do TSMM2	108
Figura I1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do TSMM3	109
Figura I2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do TSMM3	110
Figura I3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (100 MHz, CDCl_3) do TSMM3	111
Figura I4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) do TSMM3	112
Figura I5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) do TSMM3	113
Figura I6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) do TSMM3	114
Figura I7 - Espectro de IV em pastilha de KBr do TSMM3	115
Figura I8 - Espectro total de massas de alta resolução do TSMM3	116

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características das tiossemicarbazonas TSMM1 – TSMM4	26
Tabela 2 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) e ^1H (400 MHz, CDCl_3), e correlações C-H da tiossemicarbazona TSMM1	28
Tabela 3 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) e ^1H (400 MHz, DMSO-d_6), e correlações C-H da tiossemicarbazona TSMM2	29
Tabela 4 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) e ^1H (400 MHz, CDCl_3), e correlações C-H da tiossemicarbazona TSMM3	30
Tabela 5 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) e ^1H (400 MHz, CDCl_3), e correlações C-H da tiossemicarbazona TSMM4	32
Tabela 6 - Previsão das propriedades físico-químicas das naftoquinonas (2 – 5) e 4-metiltiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4) determinadas in silico pelo ADMETLab.	35
Tabela 7 - Previsão de absorção em célula do tipo Caco-2 e MDCK das naftoquinonas (2 – 5) e tiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4) preditas in silico pelo ADMETLab.	38
Tabela 8 - Previsão da capacidade de ligação com as proteínas plasmáticas e em atravessar a barreira hematoencefálica das naftoquinonas (2 – 5) e tiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4) determinadas in silico pelo ADMETLab....	39
Tabela 9 - Previsão do comportamento das naftoquinonas (2 – 5) e tiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4) sobre isoformas das enzimas do complexo P450, determinada in silico pelo ADMETLab.	39
Tabela 10 - Previsão de clearance renal e meia vida plasmática das naftoquinonas (2 – 5) e tiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4) determinados in silico pela ADMETLab.....	40
Tabela 11 - Previsão de DL_{50} , hepatotoxicidade, imunotoxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade das naftoquinonas (2 – 5) e tiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4) determinados pela ferramenta online ProToxII.	41
Tabela 12 - Avaliação da citotoxicidade in vitro em linhagens tumorigênicas e normal determinadas pelo ensaio MTT após 72 h de incubação em concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$	42

LISTA DE ABREVIATURAS

CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CDCl_3	Clorofórmio delterado
CL	Clearence renal
CL_{50}	Concentração Inibitória Média
COSY	<i>Correlation spectroscopy</i>
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMSO-d_6	Dimetilsulfóxido delterado
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multipleteo
RMN ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	Ressonância Magnética de Carbono-13
<i>s</i>	Simpleto
<i>t</i>	Tripleteo
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 GERAL	13
2.2 ESPECÍFICOS	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 CÂNCER	14
3.2 NAFTOQUINONAS	14
3.3 TIOSSEMICARBAZONAS: QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA	17
3.4 ESTUDO FARMACOCINÉTICO <i>in silico</i> DE COMPOSTOS	18
4 METODOLOGIA	20
4.1 SÍNTESE DAS TIOSSEMICARBAZONAS (TSMM1 – TSMM4)	21
4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA <i>in vitro</i>	21
4.3 ENSAIOS ADMET <i>in silico</i>	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS NAFTOQUINONAS (2 – 5) E 4-METILTIOSSEMICARBAZONAS (TSMM1 – TSMM4)	24
5.1.1 Caracterização estrutural das 4-metiltiossemicarbazonas inéditas (TSMM2 – TSMM4)	27
5.1.1.1 Caracterização das tiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4) por RMN	27
5.1.1.2 Caracterização das tiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4) por espectroscopia de absorção na região infravermelho (IV) e espectroscopia de massas (MS)	33
5.2 AVALIAÇÃO ADMET <i>in silico</i> DAS TIOSSEMICARBAZONAS	34
5.3 AVALIAÇÃO <i>in vitro</i> DO POTENCIAL CITOTÓXICO DAS TIOSSEMICARBAZONAS (TSMM1-TSMM4)	41
6. CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45
APÊNDICE A	51
1.1 Extração, purificação e identificação do lapachol (1)	51
1.2 Síntese da β -lapachona (2)	51
1.3 Síntese do ácido- β -lapachona-3-sulfônico (3)	52
1.4 Síntese da 3-iodo- β -lapachona (4)	53

1.5 Síntese da α-lapachona (5)	54
1.6 Método geral de síntese das tiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4)	55
1.6.1 Caracterização de 1-(2,2-dimetil-5-oxo-3,4-diidro-2H-benzo[h]cromen-6(5H)-ilideno)metiltiossemicarbazida (TSMM1).....	55
1.6.2 Caracterização de 6-(2-metilcarbamoiltiohidrazona)-2,2-dimetil-5-oxo-3,4,5,6-tetrahidro 2H-benzo[h]cromeno-3-sulfônico ácido (TSMM2)	56
1.6.3 Caracterização de 1-(3-iodo-2,2-dimetil-5-oxo-3,4-diidro-2H-benzo[h]cromeno-6(5H)-ilideno)metiltiossemicarbazida (TSMM3).....	57
1.6.4 Caracterização de 1-(2,2-dimetil-5-oxo-3,4-diidro-2H-benzo[g]cromeno-10(5H)ilideno)metiltiossemicarbazida (TSMM4).....	57
APÊNDICE B	59
APÊNDICE C	66
APÊNDICE D	73
APÊNDICE E	79
APÊNDICE F	87
APÊNDICE G	93
APÊNDICE H	101
APÊNDICE I	109
APÊNDICE J	117

1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma disfunção na reprodução celular gerada a partir de mutações, originando tumores locais em partes do corpo. Trata-se da segunda principal causa de morte no mundo, sendo responsável por cerca de 9,6 milhões de mortes em 2018. Até 2025, são esperados 704 mil novos casos de câncer no Brasil. De acordo com o tipo e a gravidade do câncer, o tratamento é realizado através de cirurgia de retirada do tumor, radioterapia e da quimioterapia, ou ainda, pela combinação dessas técnicas. Dentre estas, a quimioterapia é o principal método (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019; INCA, 2023).

Na quimioterapia o tratamento do câncer é feito com medicamentos antineoplásicos que devem suprimir as células neoplásicas preservando as normais. Contudo, a maioria desses agentes atua lesando tanto células tumorais quanto as não tumorais (ALMEIDA *et al.*, 2005; GUIMARÃES *et al.*, 2017). Além disso, a maioria dos quimioterápicos disponíveis apresentam baixa biodisponibilidade, resistência e alta toxicidade (HUANG *et al.*, 2014; YADAV *et al.*, 2015). Sendo necessária a busca por novos candidatos anticâncer, mais seletivos e que apresentem um efeito citotóxico menor/ou ausente às células normais do corpo (NAYAK *et al.*, 2021).

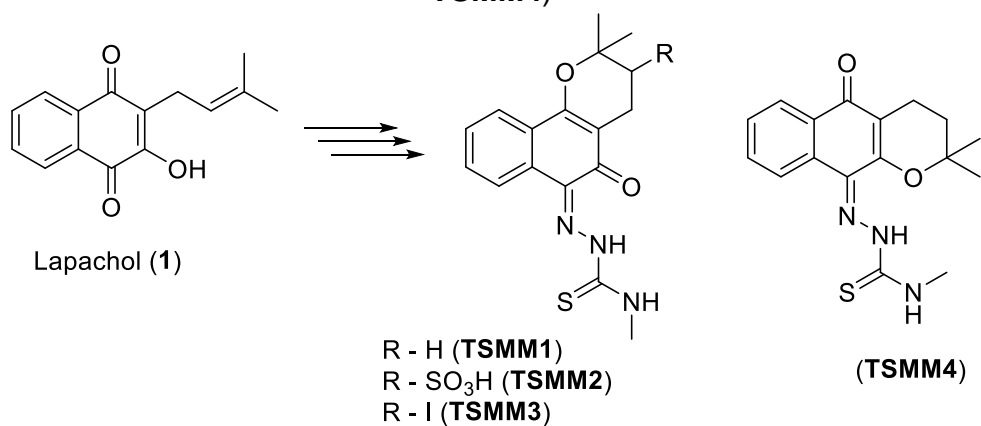
Duas classes de compostos têm chamado atenção dos pesquisadores, quanto a sua variedade de atividades biológicas: as naftoquinonas e as tiossemicarbazonas. As naftoquinonas são metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, fungos e animais (BARBOSA; DINIZ NETO, 2013). As naftoquinonas naturais e derivados sintéticos apresentam atividades biológicas, como: leishmanicida, antimicrobiana, antifúngica, antitumoral, moluscicida, tripanocida, anti-inflamatória, inibidoras da topoisomerase, inibidora da transcriptase reversa (FERREIRA *et al.*, 2010). O lapachol (**1**) é um exemplo de naftoquinona encontrado em plantas da família Bignoniaceae. Estudos sobre a atividade farmacológica de derivados do lapachol (**1**) mostraram as potencialidades destes compostos em várias linhagens de tumores (MARQUES *et al.*, 2020).

As tiossemicarbazonas constituem um grupo molecular com estrutura geral $R_2C=N-NH-CS-NR_2$. Compostos contendo este grupo funcional têm apresentado variadas atividades biológicas, tais como: atividade antibacteriana, antiparasitária,

antiviral, antitumoral e leishmanicida. A ação antitumoral das tiossemicarbazonas não é totalmente conhecida, mas estudos mostram que sua ação citotóxica pode ocorrer pela inibição do ribonucleotídeo redutase, enzima necessária para síntese do DNA ou pela inibição da topoisomerase, responsável por regular a topologia do DNA durante a divisão celular (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Assim, com o intuito de produzir novos compostos antitumorais, e considerando as potencialidades biológicas das naftoquinonas e do grupo funcional tiossemicarbazona, o presente trabalho traz o planejamento, síntese e caracterização de quatro 4-metiltiossemicarbazonas (**TSMM1** – **TSMM4**) inéditas, com potencial antitumoral, derivadas do lapachol (**1**), Figura 1.

Figura 1 - Estrutura molecular das 4-metiltiossemicarbazonas propostas (**TSMM1** – **TSMM4**).



Fonte: Próprio autor, 2024.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Sintetizar, purificar e caracterizar quatro 4-metiltiossemicarbazonas inéditas com potencial antitumoral (**TSMM1 – TSMM4**) e, em seguida, realizar a avaliação da citotoxicidade frente a diferentes linhagens de células tumorais e avaliar o perfil farmacocinético *in silico*.

2.2 ESPECÍFICOS

- Sintetizar e purificar a β -lapachona (**2**), o ácido- β -lapachona-3-sulfônico (**3**), a 3-iodo- β -lapachona (**4**) e a α -lapachona (**5**);
- Preparar, purificar e caracterizar as 4-metiltiossemicarbazonas inéditas (**TSMM1 – TSMM4**);
- Avaliar o potencial citotóxico *in vitro* das naftoquinonas (**2 – 5**) e das 4-metiltiossemicarbazonas (**TSMM1 – TSMM4**);
- Avaliar a atividade *in silico* das naftoquinonas (**2 – 5**) e 4-metiltiossemicarbazonas inéditas (**TSMM1 – TSMM4**) inéditas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 CÂNCER

O câncer é o principal problema de saúde pública no mundo. Na maioria dos países, corresponde à primeira ou à segunda causa de morte antes dos 70 anos. De acordo com o Instituto Nacional de Câncer são esperados 704 mil novos casos da doença no Brasil até 2025, com destaque para as regiões Sul e Sudeste, que apresentam cerca de 70% dos casos do país (INCA, 2023).

Câncer é um termo que abrange mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas que têm em comum o crescimento desordenado de células, que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos a distância. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo. O tratamento do câncer é feito com medicamentos antineoplásicos que devem suprimir as células neoplásicas. Contudo, a maioria desses agentes atuam lesando tanto células tumorais quanto as não tumorais, como também, a maioria dos quimioterápicos disponíveis apresentam baixa biodisponibilidade, resistência e alta toxicidade (HUANG *et al.*, 2014; YADAV *et al.*, 2015; NAYAK *et al.*, 2021; INCA, 2023).

Diante de tal cenário, nota-se a necessidade de buscar novos agentes terapêuticos anticâncer, que apresentem efeitos citotóxicos menores às células saudáveis (NAYAK *et al.*, 2021). Por isso, o estudo de novas moléculas bioativas como alternativas antineoplásicas tem se intensificado nas últimas décadas.

3.2 NAFTOQUINONAS

As naftoquinonas são substâncias que possuem um anel quinonoídico sustentado por um anel naftaleno, que podem apresentar duas carbonilas, em posição 1,2-naftoquinona ou 1,4-naftoquinona. A atividade biológica dessa classe de compostos se deve a sua capacidade de atuar no transporte de elétrons e a partir da geração de espécies reativas de oxigênio, como peróxido de hidrogênio, radicais hidroxila e ânions radicais superóxido, e induzir o estresse oxidativo em células (SILVA, 2021).

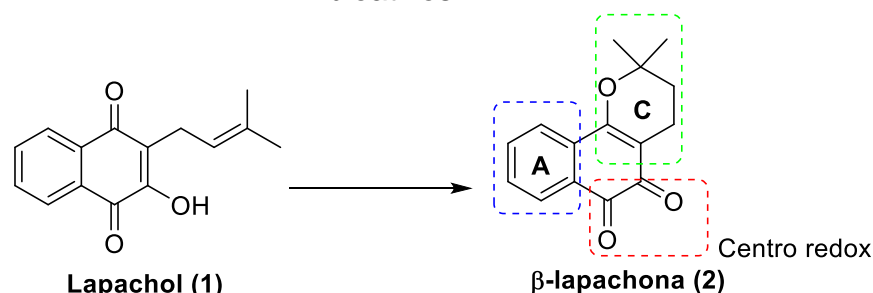
As naftoquinonas apresentam ampla atividade biológica, como: ação bactericida, fungicida, antiparasitária, inseticida, antitumoral, efeito sedativo e larvicida (COSTA *et al.*, 2015, SOUZA, 2018). Uma das naftoquinonas naturais mais

estudadas é o lapachol (**1**), um dos principais representantes do grupo de quinonas presente em espécies do gênero *Tabebuia* sp. (LOPES, 2020).

O lapachol (**1**) é uma *para*-naftoquinona de coloração amarela e baixa solubilidade em água (LOPES, 2020). Conhecido desde o ano de 1858 é encontrado como constituinte de plantas das famílias Bignoniaceae, Verbenaceae e Proteaceae. Contudo, sua ocorrência é maior na família Bignoniaceae, particularmente no gênero *Tabebuia* (*Tecoma*) (SALUNKE-GAWALI *et al.*, 2017). Esta naftoquinona natural possui ação contra o parasito leishmania, fazendo desse grupo fonte de estudos em todo o mundo. Em seu artigo, Miranda e colaboradores (2023) demonstraram a eficácia citotóxica do lapachol (**1**) para o tratamento do câncer de mama, sendo capaz de melhorar controle do crescimento tumoral e redução da metástase pulmonar em um modelo murino de câncer de mama.

A β -lapachona (**2**) é uma *orto*-naftoquinona natural derivada do lapachol (**1**), em razão do seu potencial biológico, é o isômero mais promissor (COSTA, 2022). Existem três principais estratégias para desenvolver compostos naftoquinoidais bioativos: a modificação no anel C, com a inserção de halogênios e grupos retiradores de elétrons na β -lapachona (**2**), figura 2. A modificação do centro redox, explorando a reatividade das carbonilas por meio de reações de adição ou cicloadição; e a modificação do anel A, essa é a porção menos reativa, existe algumas estruturas com modificações no anel A, como por exemplo a sintetizada por Da Rocha e colaboradores (2011), figura 2. Nas reações de adição, a modificação estrutural acontece em uma das carbonilas, gerando derivados monossustituídos. Já nas reações de cicloadição, a modificação estrutural acontece nas duas carbonilas, gerando derivados cíclicos (DE CASTRO; EMERY; DA SILVA JÚNIOR, 2013), figura 2. Ferreira e colaboradores (2011) obtiveram a β -lapachona modificada no anel C. Di Chenna e colaboradores sintetizaram derivados imina a partir da β -lapachona, por modificação no centro redox (DI CHENNA, *et al.*, 2001; DE CASTRO; EMERY; DA SILVA JÚNIOR, 2013).

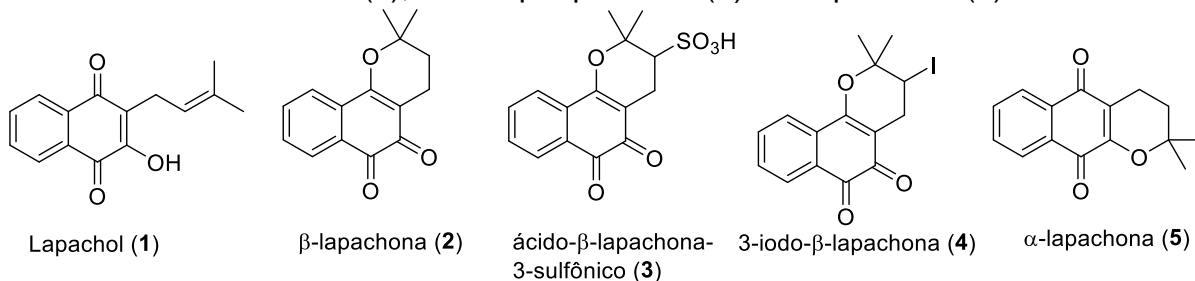
Figura 2 - Principais modificações para desenvolver compostos naftoquinoidais bioativos.



Fonte: Próprio autor, 2024.

Na literatura encontra-se resultados promissores relacionados com a ação antitumoral da β -lapachona (2). Yang e colaboradores, (2017) confirmaram a atividade anticâncer da β -lapachona (2) em ensaios clínicos de fase II para o tratamento do câncer de pâncreas. Além da β -lapachona (2), outros compostos derivados do lapachol (1) têm sido estudados quanto a sua atividade antitumoral, como: o ácido- β -lapachona-3-sulfônico (3), 3-iodo- β -lapachona (4) e a α -lapachona (5), Figura 3. A atividade antitumoral da α -lapachona (5) foi demonstrada nos estudos de Krishnsan e colaboradores (2000, 2001) destacando que a α -lapachona (5) é inibidor da topoisomerase-II. Logo, pode ser um composto com potencial para o desenvolvimento de fármacos no tratamento de tumores resistentes à múltiplas drogas.

Figura 3 - Estrutura molecular do lapachol (1), β -lapachona (2), ácido- β -lapachona-3-sulfônico (3), 3-iodo- β -lapachona (4) e α -lapachona (5).



Fonte: Próprio autor, 2024.

De Andrade-Neto e colaboradores (2004) em seus estudos testaram o ácido 3-sulfônico- β -lapachona (3) *in vitro* contra o *Plasmodium falciparum*, agente causador da forma maligna da malária, e obteve 98% de inibição do parasita. Já a 3-

iodo- β -lapachona (**4**) demonstrou ter propriedades anti-inflamatórias, antitumorais e antimicrobianas (ANTUNES *et al.*, 2006; DIAS *et al.*, 2018).

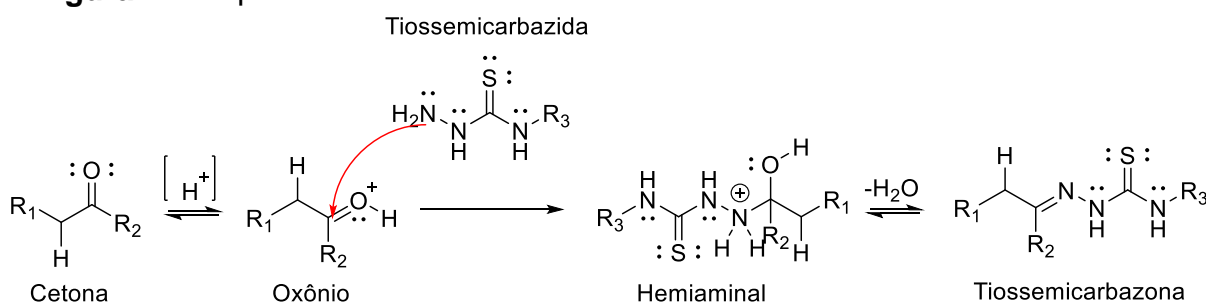
3.3 TIOSSEMICARBAZONAS: QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA

As tiossemicarbazonas são compostos com a seguinte estrutura geral $R_2C=N-NH-CS-NR_2$, podendo assumir a configuração *sin* ou *anti* em relação ao átomo de nitrogênio da imina e o átomo de enxofre. As tiossemicarbazonas não substituídas na posição N-4 apresentam átomo de enxofre em posição *anti* em relação ao nitrogênio da imina, possibilitando a ocorrência de ligação de hidrogênio entre o nitrogênio da imina e hidrogênio da tioamida. O arranjo estrutural muda ao adicionar grupos substituintes na posição N-4, favorecendo a conformação *sin* (TENÓRIO *et al.*, 2005, REIS, 2011).

A síntese das tiossemicarbazonas pode ocorrer de forma direta, através da reação de aldeídos e/ou cetonas com tiossemicarbazidas comerciais, ou de forma indireta, através da preparação prévia das tiossemicarbazidas para então reagir com aldeído/cetona. Esse processo pode ser entendido a partir da teoria ácido-base de Lewis, já que o aldeído e/ou cetona (composto carbonilado) atua como ácido de Lewis, já que o aldeído e/ou cetona (composto carbonilado) atua como ácido de Lewis, deficiente em elétrons, e a tiossemicarbazida atua como base de Lewis, realizando o ataque nucleofílico no carbono carbonílico, figura 4 (REIS, 2011).

As tiossemicarbazonas são obtidas como misturas de isômeros *E* e *Z* no grupo imínico ($C=N$), logo as tiossemicarbazonas derivadas de aldeídos formam preferencialmente isômero *E*. Contudo, nas derivadas de cetonas formam isômeros *E* ou *Z*, dependendo da estrutura dos substituintes da carbonila de origem (TENÓRIO *et al.*, 2005).

Figura 4 - Esquema do mecanismo reacional da síntese de tiossemicarbazonas.



Fonte: Próprio autor, 2024.

Os derivados tiossemicarbazonas possuem variadas propriedades biológicas, tais como: antiviral (PELOSI *et al.*, 2010), antitumoral (SOARES *et al.*, 2012), antimicrobiana (SILVA *et al.*, 2023), antifúngica (SOARES *et al.*, 2017), atuando na topoisomerases I e II (YALOWICH *et al.*, 2012) e antiparasitária contra *Leishmania amazonensis* (SILVA *et al.*, 2017) e *Leishmania major* (PERVEZ *et al.*, 2014).

Alguns autores atribuem a atividade biológica das tiossemicarbazonas ao fato destes compostos apresentarem afinidade pela enzima ribonucleotídeo redutase, responsável pela duplicação do DNA, ou ainda ao fato das tiossemicarbazonas possuírem a capacidade de formar complexos do tipo quelatos, atuando como ligantes, doando pares de elétrons a íons metálicos (PEDERZOLLI, 2011). As informações químicas e biológicas das tiossemicarbazonas presentes na literatura, favorecem novos estudos para o desenvolvimento de compostos com propriedades antitumorais.

A atividade antitumoral das tiossemicarbazonas tem despertado interesse da comunidade científica. Por exemplo, a 3-aminopiridina carboxaldeído tiossemicarbazona ou triapina, foi testado como um potente inibidor de ribonucleotídeo redutase para tratamento de câncer, e desde então entrou em ensaios clínicos de Fase I e II, mostrando-se mais ativo que a hidroxiureia, medicamento já utilizado em tratamentos clínicos antitumorais (CHAO *et al.*, 2012; DE SIQUEIRA *et al.*, 2019).

3.4 ESTUDO FARMACOCINÉTICO *in silico* DE COMPOSTOS

A farmacocinética estuda o que o organismo faz com o fármaco, este processo é dividido em quatro etapas de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME). Logo quando o fármaco entra no organismo é absorvido passando pelas membranas plasmáticas das células até alcançar a corrente sanguínea. Após isso, o fármaco será distribuído através da vascularização, podendo este se encontrar em sua forma livre ou ligado a proteína. Ao final, o fármaco será metabolizado por um conjunto de reações enzimáticas e posteriormente excretado do corpo. Em resumo, a farmacocinética estuda o movimento do fármaco no corpo humano, desde a administração até a excreção (DONG *et al.*, 2018).

No processo de descoberta de novos medicamentos é importante a previsão da farmacocinética dos fármacos no início da pesquisa, já que a otimização das propriedades do fármaco estudado é feita por modificações na estrutura química e/ou estratégias farmacotécnicas (DONG *et al.*, 2018; VICTAL *et al.*, 2014).

Estudos farmacocinéticos *in silico* são métodos computacionais que visam a otimização de moléculas com maior potencial de desenvolvimento. Estas ferramentas avaliam propriedades físico-químicas e farmacocinéticas importantes na ação de fármacos. Os modelos computacionais são ferramentas úteis no processo de descoberta de novos fármacos, fornecendo informações preliminares das propriedades ADME e toxicológicas de um composto antes da investigação *in vitro* e/ou *in vivo*, aumentando as chances de sucesso no desenvolvimento de um novo medicamento. Com isso, a modelagem molecular computacional usa métodos matemáticos complexos e robustos para avaliar possíveis efeitos adversos de um determinado candidato a fármaco (SILVA, 2019).

Em 1997, Lipinski e colaboradores observaram que algumas propriedades físico-químicas eram necessárias para que as drogas apresentem boa solubilidade em água e permeabilidade intestinal. Surgindo aí a chamada regra dos cinco de Lipinski (RO5). Que tem objetivo de auxiliar os químicos medicinais nas decisões relacionadas às modificações químicas. A regra propõe que compostos com boa absorção e permeação são mais prováveis de ocorrer quando a molécula possui os seguintes parâmetros: peso molecular ≤ 500 daltons, $\log P \leq 5$ e número de aceptores H (≤ 10) e doadores H (≤ 5) de ligação de hidrogênio, permitindo que no máximo uma regra seja violada. Ter informações preliminares sobre os compostos, em estudo, são essenciais para o desenvolvimento de novos fármacos com efeitos colaterais reduzidos (SANTOS *et al.*, 2018).

4 METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no laboratório de Química Geral da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus Centro. Para os experimentos de síntese todos os reagentes empregados foram obtidos de fonte comercial e utilizados sem purificação prévia, com exceção do lapachol (**1**), que foi extraído da madeira do ipê amarelo (*Tabebuia* sp). Os compostos sintetizados tiveram suas temperaturas de fusão definidas em triplicata, e determinadas em equipamento fusiômetro digital, modelo MQAPF - 302. Tanto o acompanhamento das reações como a caracterização dos produtos obtidos foram realizados por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), empregando placas de alumínio 2 x 4 cm recobertas com sílica gel 60. Os produtos obtidos como mistura foram devidamente purificados por coluna cromatográfica (CC) contendo sílica gel 60, e empregando sistema de solvente acetato de etila/hexano em porcentagem crescente de polaridade.

Os produtos de síntese tiveram suas estruturas caracterizadas por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN ^1H e ^{13}C), técnicas uni e bidimensionais de correlação homonuclear (COSY) e heteronuclear (HSQC e HMBC), além do RMN de ^{13}C -DEPT 135°. Os espectros de RMN foram registrados em um aparelho Bruker Ascend™ 400, que opera a 400 MHz para o núcleo de ^1H e a 100 MHz para o núcleo de ^{13}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_3 ou DMSO-d_6). Os espectros de RMN foram realizados na Central de Análise de Fármacos, Medicamentos e Alimentos (CAFMA) da UNIVASF Campus Petrolina - Centro.

A análise dos compostos por espectrometria de massas foi realizada no Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR), do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), uma Organização Social supervisionada pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI). As amostras foram solubilizadas de acordo com os solventes indicados pelo usuário, diluídas até a concentração de 20 $\mu\text{g/mL}$ e filtradas em microfiltro PVDF 0,22 μM . Os espectros foram adquiridos no espectrômetro de massas de alta resolução *Waters Synapt XS*,

com analisador do tipo qToF (quadrupolo tempo de voo) em modos positivo e negativo *full scan* na faixa de 50 a 1200 Da.

4.1 SÍNTESE DAS TIOSSEMICARBAZONAS (**TSMM1** – **TSMM4**)

Para a obtenção das quatro 4-metiltiossemicarbazonas (**TSMM1** – **TSMM4**) inéditas a partir do lapachol (**1**), primeiramente foi planejada uma rota sintética constituída de duas etapas. Inicialmente a naftoquinona natural **1** é submetida a ciclização ácida em diferentes condições reacionais para a obtenção da β -lapachona (**2**), do ácido- β -lapachona-3-sulfônico (**3**), da 3-iodo- β -lapachona (**4**) e da α -lapachona (**5**). Por fim, para a obtenção das 4-metiltiossemicarbazonas inéditas (**TSMM1** – **TSMM4**), as naftoquinonas **2**, **3**, **4** e **5** reagem com a 4-metiltiossemicarbazida. Antes de iniciar a rota sintética, o lapachol (**1**) foi extraído da madeira do ipê amarelo (*Tabebuia* sp). O experimental se encontra no apêndice A.

4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA *in vitro*

Os ensaios de citotoxicidade dos compostos foram realizados no Laboratório de Cancerologia Experimental (LabCancer) da Universidade Federal do Piauí. As linhagens utilizadas, L929 (fibroblastos de camundongo, ATCC® CCL-1™), B16-F10 (melanoma murino, ATCC CRL-6475™), CT26.WT (carcinoma de cólon murino, ATCC CRL-2638™) e 4T1 (câncer de mama murino, ATCC CRL-2539™) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio DMEM (L929) e RPMI (B16-F10, CT26.WT e 4T1) e suplementadas com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos (penicilina/estreptomicina, Sigma®) e 5 mg/L de anfotericina (Cristalia®), mantidas em estufa (Shel Lab®) a 37°C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

As amostras foram diluídas em DMSO P.A. (Dinâmica®) para preparo da solução estoque de 10 mg/mL. Em seguida, foram testadas em concentração única de 25 μ g/mL. O controle negativo consistiu em meio de cultura contendo células. O controle positivo utilizado foi a doxorrubicina na concentração de 0,5 μ g/mL.

A citotoxicidade dos compostos foi analisada em linhagens de células, normal e tumorigênicas determinadas pelo ensaio MTT. A citotoxicidade foi avaliada por

meio da Inibição da proliferação celular (%), revelando os valores de inibição do crescimento celular promovido nas diferentes linhagens utilizadas.

As células foram plaqueadas na concentração de 5×10^3 cel/mL. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37 °C. Ao término deste, adicionou-se 20 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium) solubilizado em PBS estéril, e as placas foram incubadas por 4h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 100µL de DMSO P.A. em espectrofotômetro (GloMax®) de microplaca a 560 nm.

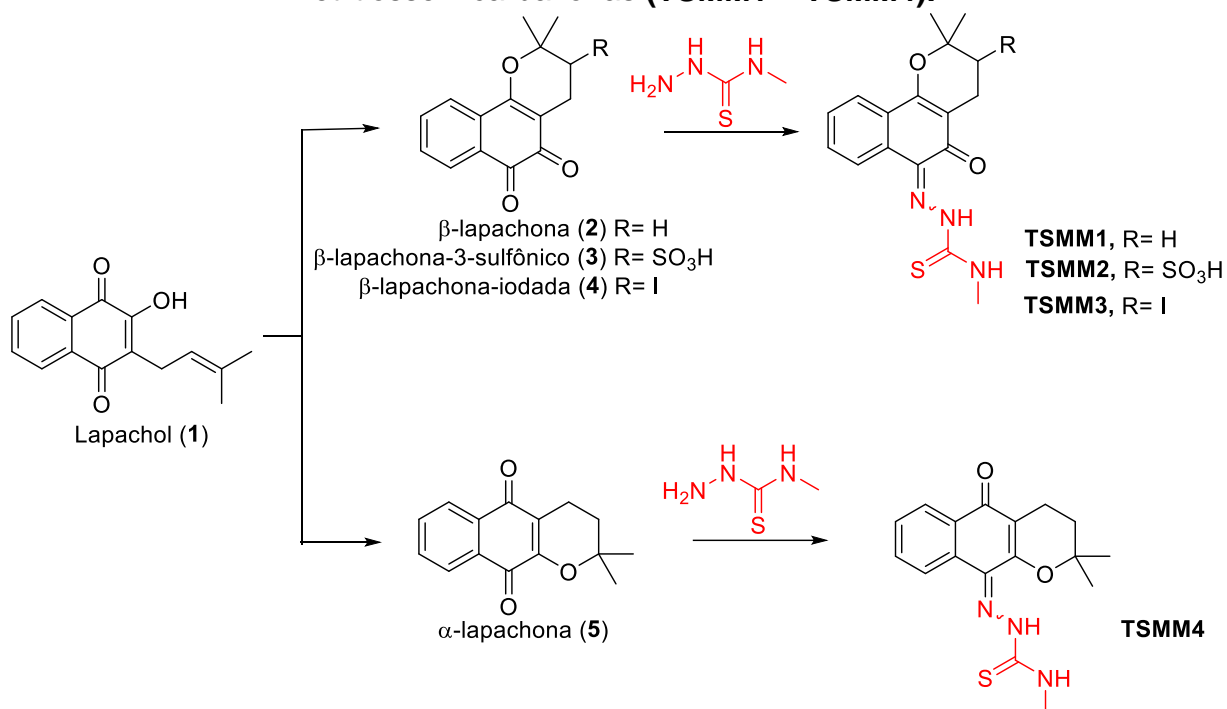
4.3 ENSAIOS ADMET *in silico*

As quatro 4-metiltiossemicarbazonas inéditas (**TSMM1 – TSMM4**) tiveram suas propriedades farmacocinéticas avaliadas por teste *in silico* utilizando o software ADMETLab 2.0 (<https://admetmesh.scbdd.com/>) função *ADMET evaluation*, que prevê treze propriedades físico-químicas e farmacocinéticas de um composto: peso molecular (MW), coeficiente de lipossolubilidade (LogP), LogP em pH fisiológico (LogD), Log da solubilidade aquosa (LogS), números de anéis (nRig), carga formal (fChar), número de heteroátomos (nHet), número de átomos no maior anel (MaxRing), número de anéis (nRing), número de ligações rotacionáveis (nRot), área de superfície polar topológica (TPSA), e o número de aceptadores de ligações de hidrogênio/ Número de doadores de ligações de hidrogênio (nHD/nHA). As tiossemicarbazonas (**TSMM1 – TSMM4**) foram ainda submetidas a teste de toxicidade *in silico* usando a ferramenta online ProToxII (https://tox-new.charite.de/protox_II/). Foram analisados a hepatotoxicidade (Hep), a imunotoxicidade (Imun), a citotoxicidade (Cit), a mutagenicidade (Mut), a carcinogenicidade (Car) e a dose oral letal aguda média em ratos (DL₅₀).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O lapachol (1) se tornou uma molécula promissora para a obtenção de protótipos a fármacos devido a presença de sítios susceptíveis a modificações químicas. Com isso, sabendo das propriedades antitumorais das naftoquinonas, das tiossemicarbazonas e de seus derivados (TENORIO *et al.*, 2005), foram planejados neste trabalho, quatro tiossemicarbazonas inéditas **TSMM1 – TSMM4** com possível atividade antitumoral. Para obtenção das tiossemicarbazonas (**TSMM1 – TSMM4**) foi proposta uma rota sintética de duas etapas reacionais, empregando o lapachol (1) como material de partida. A primeira é a ciclização ácida da naftoquinona natural (1), para obtenção dos derivados β -lapachona (2), ácido β -lapachona-3-sulfônico (3), 3-iodo- β -lapachona (4) e α -lapachona (5). A segunda etapa trata-se da obtenção dos derivados tiossemicarbazonas inéditos (**TSMM1 – TSMM4**), figura 5.

Figura 5 - Rota sintética proposta para a obtenção dos quatro compostos inéditos 4-metiltiossemicarbazonas (**TSMM1 – TSMM4**).

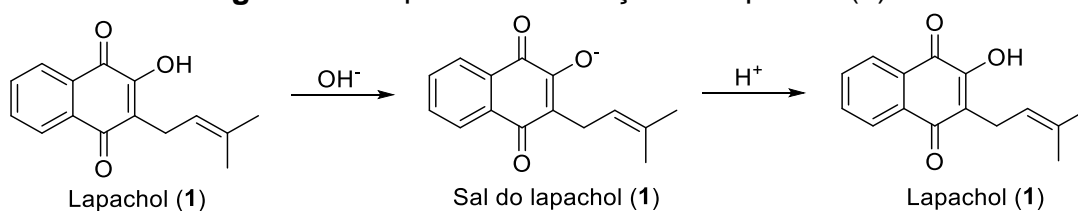


Fonte: próprio autor, 2024.

5.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS NAFTOQUINONAS (2 – 5) E 4-METILTIOSSEMICARBAZONAS (TSMM1 – TSMM4)

Para a obtenção do lapachol (1), a madeira do ipê foi cortada em pequenos filetes e colocado em solução básica. O lapachol (1) sofre ionização em meio básico, formando um sal orgânico solúvel em água. Logo após a solução foi acidificada, fazendo com que o lapachol retorne a sua forma molecular neutra, deixando de ser solúvel em meio aquoso e precipitando, trata-se de uma extração ácido-base, representada na figura 14. O lapachol (1) obtido foi purificado por recristalização etanol/água e caracterizado por CCDA. Além disso, o ponto de fusão obtido experimentalmente ficou entre 138 - 139 °C, dado compatível com a literatura que cita uma faixa entre 139 - 140 °C. O sólido formado apresentou uma coloração amarela com rendimento de 2,7 % (m/m) (SOUZA *et al.*, 2008).

Figura 6 - Esquema de extração do lapachol (1).



Fonte: próprio autor, 2024.

A obtenção do lapachol (1) foi confirmada através da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , incluindo as técnicas bidimensionais ^1H , ^1H -COSY, ^1H , ^{13}C (HSQC e HMBC) e C-DEPT 135°. Todos os carbonos e hidrogênios tiveram seus deslocamentos químicos devidamente atribuídos, estando de acordo com relatos da literatura (Apêndice B) (SOUZA *et al.*, 2008).

Após a obtenção do lapachol (1), passou-se para a próxima etapa deste trabalho, obtenção dos derivados β -lapachona (2), β -lapachona-3-sulfônico (3), 3-iodo- β -lapachona (4) e α -lapachona (5). Primeiramente foi sintetizada a β -lapachona (2), por meio da ciclização do lapachol (1). A ciclização do lapachol (1) em meio ácido se deve à formação de carbocátion terciário, após uma reação de adição à ligação dupla da cadeia lateral do lapachol (1). O ácido usado para a formação da β -lapachona (2) é o H_2SO_4 concentrado, formando com isso dois produtos, a β -lapachona (2) e o α -lapachona (5).

lapachona (**2**) e uma quantidade muito minoritária da α -lapachona (**5**). A formação majoritária da β -lapachona (**2**) está relacionada a basicidade, uma vez que a β -lapachona (**2**) é mais básica que seu isômero α (**3**) (BARBOSA, DINIZ NETO, 2013). A β -lapachona (**2**) obtida foi purificada por coluna cromatográfica, tendo rendimento de 59%, apresentando coloração laranja e ponto de fusão de 145 °C. O composto foi caracterizado por CCDA e sua estrutura confirmada através da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , apresentando sinais semelhantes aos relatados na literatura (Apêndice C) (SOUZA *et al.*, 2008; BARBOSA, DINIZ NETO, 2013).

O próximo derivado sintetizado foi ácido β -lapachona-3-sulfônico (**3**) por meio da ciclização do lapachol (**1**) em anidrido acético e ácido sulfúrico concentrado. O sólido obtido apresentou coloração vermelha, rendimento de 76% e ponto de fusão de 158 °C, estando em conformidade com a literatura. A estrutura molecular de **3** foi confirmada por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C (Apêndice E) (SOUZA, *et al.*, 2008).

A 3-iodo- β -lapachona (**4**) foi sintetizada através da iodo-ciclização do lapachol (**1**), em meio contendo diclorometano, iodo molecular e piridina. A síntese resultou na obtenção de um sólido laranja, rendimento de 33% e ponto de fusão de 130 °C. A síntese do 3-iodo- β -lapachona (**4**), foi comprovada através dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (Apêndice E).

A α -lapachona (**5**) foi a última naftoquinona obtida, a mesma foi sintetizada através da ciclização do lapachol em meio ácido. A formação dos produtos (**2**) ou (**5**), depende do ácido utilizado, já que para a formação da α -lapachona (**5**) utiliza-se uma mistura de ácido acético e ácido clorídrico concentrado, e para a síntese da β -lapachona (**2**) utiliza-se apenas o ácido sulfúrico, conforme mencionado anteriormente. A α -lapachona (**5**) foi obtida com rendimento de 63%, e apresentando ponto de fusão 116 °C e coloração amarela. A confirmação da síntese da naftoquinona foi realizada por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C (Apêndice C) (BARBOSA, DINIZ NETO, 2013).

Analisando o deslocamento químico dos derivados do lapachol (**1**) obtidos até aqui, observou-se que as estruturas do ácido β -lapachona-3-sulfônico (**3**) e 3-iodo- β -lapachona (**4**) possuem substituinte no carbono 3, diferentemente da β -lapachona (**2**) e da α -lapachona (**5**), que não apresentam. Os substituintes nesta posição tornando o deslocamento químico do carbono 3 nestes compostos mais

desprotegido, sendo de 59,47 e 30,49 ppm, respectivamente, para as naftoquinonas **3** e **4**. Além disso, a inserção de um substituinte em C3 tornou esse carbono assimétrico, tornando o ambiente químico dos carbonos metílicos (CH₃) diferentes. Uma vez que, os carbonos metílicos da β -lapachona (**2**) e da α -lapachona (**5**), apresentam um sinal para 6 hidrogênios ($\delta_H \approx 1,40$ ppm) já os carbonos metílicos do ácido β -lapachona-3-sulfônico (**3**) e 3-iodo- β -lapachona (**4**) apresentam dois sinais distintos com integração de 3 hidrogênios para cada (Apêndices E) (BRUICE, 2006; PAVIA et al., 2010).

Seguindo a rota sintética, na próxima etapa os derivados naftoquinônicos **2**, **3**, **4** e **5** obtidos foram usados na síntese das tiossemicarbazonas inéditas (**TSMM1** – **TSMM4**). Para a preparação das tiossemicarbazonas **TSMM1**, **TSMM2**, **TSMM3** e **TSMM4** optou-se pela reação de condensação dos derivados naftoquinônicos (**2** - **5**) com o 4-meti-3-tiossemicarbazida, usando catalisador ácido para obtenção de **TSMM1**, **TSMM3** e **TSMM4**, e acetado de sódio para **TSMM2** (TENORIO *et al.*, 2005; SHAIENDRA *et al.*, 2003). Todas as sínteses ocorreram em meio alcóolico e sob aquecimento, e os produtos foram caracterizados por técnica de CCDA e tiveram suas temperaturas de fusão determinadas por fusiômetro digital.

Após a síntese, **TSMM1** foi obtida com rendimento de 87% como um sólido puro de coloração laranja e ponto de fusão entre 218 – 219 °C. **TSMM2** também foi obtido puro, com rendimento de 73% e carbonizando a 250 °C, e com coloração laranja. **TSMM3** foi obtida sem purificação prévia, como um sólido laranja, rendimento de 63% e ponto de fusão de 191 – 192 °C. **TSMM4** foi purificado por recristalização em etanol/água, sendo um sólido amarelo com ponto de fusão 217 – 219 °C, tabela 1.

Tabela 1 - Características das tiossemicarbazonas **TSMM1** – **TSMM4**.

	TSMM1	TSMM2	TSMM3	TSMM4
Cor	Laranja	Laranja	Laranja	Amarelo
Rendimento	87%	73%	63%	57%
P.f. °C	218 – 219 °C	180 – 181 °C	191 – 192 °C	217 – 219 °C

Fonte: Próprio autor, 2024.

5.1.1 Caracterização estrutural das 4-metiltiossemicarbazonas inéditas (**TSMM2** – **TSMM4**)

A obtenção das quatro tiossemicarbazonas inéditas **TSMM1** – **TSMM4** foi confirmada através da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , incluindo as técnicas bidimensionais, ^1H , ^1H -COSY, ^1H , ^{13}C (HSQC e HMBC) e ^{13}C -DEPT 135°. Além da caracterização por RMN, as quatro estruturas foram confirmadas por técnicas de espectroscopia de absorção na região do infravermelho e massas de alta resolução, conforme descrito a seguir.

5.1.1.1 Caracterização das tiossemicarbazonas (**TSMM1** – **TSMM4**) por RMN

Analisando o espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da tiossemicarbazona **TSMM1** foram observados sinais na região de hidrogênio aromático, multipletos em 8,10 – 8,05 (H10) e 7,50 – 7,41 (H8 e H9) e duplo duplete em 7,88 (H7). O espectro de RMN de ^1H do **TSMM1** revelou ainda a presença de um duplete em 3,34 ppm (H15) para três hidrogênios referente à metila da porção tiossemicarbazona, dois tripletos referentes aos hidrogênios metilênicos em 1,84 (3H) e 2,58 ppm (4H) e o simpleto em 1,41 ppm referente aos hidrogênios metílicos (H16 e H17). Com isso, o número de hidrogênios obtidos pela integração dos sinais e o padrão de multiplicidade destes estão de acordo com a estrutura esperada para **TSMM1**, tabela 2.

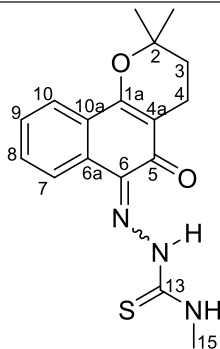
A existência de apenas um sinal para carbono de carbonila cetônica (181,1 ppm) foi o primeiro indício que a adição nucleofílica ocorreu como o esperado, em uma das carbonilas da β -lapachona (**2**), C5 ou C6. Uma vez que o efeito indutivo do oxigênio do anel pirano torna o carbono carbonílico da posição C6 mais reativo, ou seja, mais susceptível ao ataque nucleofílico, a adição do grupo funcional tiossemicarbazona ocorreu em C6, confirmado pelo espectro de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C -HMBC, o qual foi possível correlacionar os átomos de hidrogênio e carbono a duas ($^2J_{\text{C-H}}$) e três ($^3J_{\text{C-H}}$) ligações.

Nesse espectro foi possível observar a correlação entre o hidrogênio H4 (2,58 ppm) com o carbono C1a (161,5 ppm). Os hidrogênios H7 e C=N-NH, por sua vez, acoplam com o sinal 129,2 (C6), confirmando dessa maneira, a posição da função tiossemicarbazona na estrutura molecular **TSMM1** (tabela 2). Pelo espectro

bidimensional de correlação homonuclear, H, H-COSY foi possível observar o sinal referente aos hidrogênios H8 e H9 (7,50 – 7,41 ppm), correlacionando com o sinal 8,10 – 8,05 ppm referente ao hidrogênio H10.

Por meio do deslocamento químico do sinal C=N-NH foi possível assegurar a isomeria *Z* para **TSM1**, uma vez que, os compostos com isomeria *Z* apresentam o sinal C=N-NH mais deslocado, em torno de 14 – 15 ppm, obtido por estabilização de ligação de hidrogênio intramolecular entre o grupo -NH e o oxigênio da carbonila em C5 (TENÓRIO *et al.*, 2005; MIRANDA *et al.*, 2018).

Tabela 2 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) e ^1H (400 MHz, CDCl_3), e correlações C-H da tiossemicarbazona **TSM1**.



HSQC			HMBC
C	δ_c	δ_H	$^{2-3}J_{C-H}$
1a	161,5	-	H4
2	78,5	-	H3, H4, H16, H17
3	31,7	1,84 (t, $J = 6,7$ Hz, 3H)	H4, H16, H17
4	16,1	2,58 (t, $J = 6,7$ Hz, 3H)	H3
4a	111,6	-	H3, H4
5	181,1	-	H4
6	129,2	-	C=N-NH, H7
6a	131,4	-	H7, H8, H9
7	123,5	7,88 (dd, $J = 8,2$ e $6,0$ Hz, 2H)	H8, H9
8 \leftrightarrow 9	129,5	7,50 – 7,41 (m, 2H, H8 e H9)	H10
9 \leftrightarrow 8	128,6	7,50 – 7,41 (m, 2H, H8 e H9)	H7
10	122,7	8,10 – 8,05 (m, 1H)	H8, H9
10a	127,2	-	H8, H9, H10
13	179,8	-	H15, C=N-NH
15	31,7	3,34 (d, $J = 4,9$ Hz, 3H)	-
16 e 17	27,1	1,45 e 1,45 (s, 6H)	H3
SC-NH	-	8,01 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H)	-

C=N-NH	-	15,11 (s, 1H)	-
---------------	---	---------------	---

(\leftrightarrow) Indica semelhança do ambiente químico por isso os deslocamentos podem estar trocados.

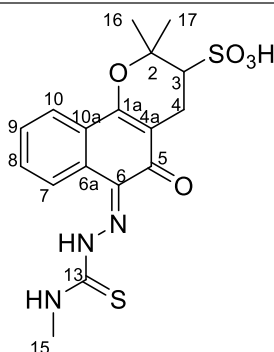
Setas azuis representam o acoplamento ^1H , ^{13}C a $^{2-3}J_{\text{C-H}}$ espectro HMBC.

Setas vermelhas representam o acoplamento entre os hidrogênios vicinais do espectro COSY.

Fonte: Próprio autor, 2024.

A estrutura dos compostos **TSMM2** e **TSMM3** é semelhante a **TSMM1**, diferenciando-as quanto a presença de substituição no carbono C3. A elucidação de **TSMM2** e **TSMM3** foi comprovada pela ausência de um sinal de carbono metilênico no espectro de ^{13}C -DEPT 135. Ainda, foi possível observar acoplamento homonuclear no espectro ^1H - ^1H COSY referente a H3 e H4 e o acoplamento heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC do C6 com o C=N-NH (tabela 3 e 4).

Tabela 3 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) e ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), e correlações C-H da tiossemicarbazona **TSMM2**.



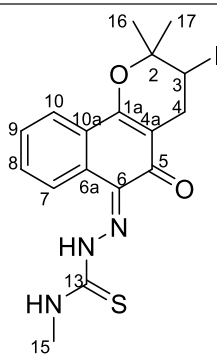
HSQC			HMBC
C	δ_{C}	δ_{H}	$^{2-3}J_{\text{C-H}}$
1a	160,6	-	H3, H4, H10
2	82,0	-	H3, H4, H16, H17
3	59,9	2,83	H4, H16, H17
4	20,7	2,95 (<i>dd</i> , $J = 17,5$ e $5,2$ Hz, 1H) 2,54 (<i>dd</i> , $J = 14,0$ e $78,4$ Hz, 1H)	H3, H16, H17
4a	112,3	-	H3, H4
5	180,9	-	H4
6	129,4	-	H7, C=N-NH
6a	126,4	-	H7, H8, H9
7	124,5	8,62 – 8,55 (<i>m</i> , 1H)	- H8, H9
8\leftrightarrow9	129,2, 130,3	7,58 – 7,47 (<i>m</i> , 2H)	H7, H8, H9, H10

10	123,4	7,84 – 7,75 (<i>m</i> , 1H, H10)	H8, H9
10a	131,5	-	H8, H9
13	178,7	-	H15, C=N-NH
15	32,2	3,13	-
16↔17	29,2	1,76	H17
17↔16	21,4	1,40	H16
SC-NH	-	9,47	-
C=N-NH	-	15,04	-

(↔) Indica semelhança do ambiente químico por isso os deslocamentos podem estar trocados.

Fonte: Próprio autor, 2024.

Tabela 4 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) e ^1H (400 MHz, CDCl_3), e correlações C-H da tiossemicarbazona **TSM3**.



HSQC			HMBC
C	δ_{C}	δ_{H}	$^{2-3}\text{J}_{\text{C-H}}$
1a	160,0	-	H4, H3, H10
2	80,6	-	H16, H17, H4
3	29,0	4,36 (<i>t</i> , $J = 6,7$ Hz, 1H)	H16, H17
4	30,5	3,34 (<i>d</i> , $J = 3,9$ Hz, 4H) 3,16 (<i>dd</i> , $J = 17,9$ e $8,6$ Hz, 1H)	-
4a	110,5	-	H3, H4
5	179,6	-	-
6	-*	-	-
6a	-*	-	-
7	122,8	8,09 (<i>d</i> , $J = 7,0$ Hz, 1H)	H8, H9
8 ↔ 9	130,2; 128,7	7,57 – 7,42 (<i>m</i> , 2H)	H7, H10
10	123,6	7,89 (<i>d</i> , $J = 7,4$ Hz, 1H)	H8, H9
10a	-*	-	-
13	179,0	-	H15, C=N-NH
15	31,5	3,34 (<i>d</i> , $J = 3,9$ Hz, 4H)	-
C=N-NH	-	15,00	-

SC-NH	-	8,01	-
--------------	---	------	---

(↔) Indica semelhança do ambiente químico por isso os deslocamentos podem estar trocados.

* sinais não detectados

Fonte: Próprio autor, 2024.

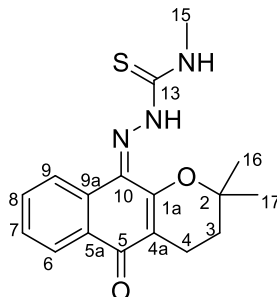
O espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do **TSMM4** apresentou 16 linhas espectrais, sendo possível determinar a presença de 4 carbonos monohidrogenados (CH) localizados na região de carbonos em anéis aromáticos do espectro, dois carbonos metilênicos (CH_2) e dois sinais referentes a carbonos metílicos (CH_3). Ainda foi possível identificar a presença de oito carbonos não hidrogenados característicos da série de tiossemicarbazonas proposta. O sinal em 183,1 ppm (C5) é fortemente característico de carbonila cetônica, o sinal 80,0 (C2) é um carbono oxigenado com hibridização sp^3 .

Analisando o espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do **TSMM4** foram observados sinais na região de hidrogênio aromático, multipeto em 7,61 – 7,43 ppm (H7 e H8) e duplo dupeto em 8,10 ppm (H6 e H9). O espectro de RMN de ^1H do **TSMM4** revelou ainda a presença de um simpleto em 3,33 ppm, para três hidrogênios (H15), dois tripletos referentes aos hidrogênios metilênicos 1,87 ppm (H3) e 2,63 ppm (H4) e o simpleto em 1,53 ppm referente aos seis hidrogênios metílicos (H16 e H17). Com isso, o número de hidrogênios obtidos pela integração dos sinais e o padrão de multiplicidade destes estão de acordo com a estrutura esperada para **TSMM4**.

A existência de um único sinal para carbono de carbonila cetônica (183,1 ppm) foi o primeiro indício que a adição nucleofílica ocorreu como o esperado, em uma das carbonilas da α -lapachona (**5**) C5 ou C10, uma vez que o efeito indutivo do oxigênio do anel pirano torna o carbono carbonílico C10 mais reativo, ou seja, susceptível ao ataque nucleofílico. A adição do grupo funcional tiossemicarbazona ocorreu de fato em C10, confirmado pelo espectro de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C -HMBC, o qual foi possível correlacionar os átomos de hidrogênio e carbono a duas ($^2J_{\text{C-H}}$) e três ($^3J_{\text{C-H}}$) ligações. Nesse espectro foi possível observar a correlação entre o sinal 8,10 ppm (H6) com o carbono C5 (183,1 ppm). O hidrogênio H9, por sua vez, acopla com o sinal em 133 ppm (C10) confirmando dessa maneira, a posição da função tiossemicarbazona na estrutura molecular **TSMM4** (tabela 5). Ainda foi possível observar a correlação homonuclear, H, H-COSY, o sinal referente

aos hidrogênios H7 e H8 (7,48 ppm) correlaciona com o sinal 8,05 ppm referente ao hidrogênio H6 e H9.

Tabela 5 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) e ^1H (400 MHz, CDCl_3), e correlações C-H da tiossemicarbazona **TSM4**.



HSQC			HMBC
C	δ_c	δ_H	$^{2-3}J_{C-H}$
1a	155,0	-	H4
2	80,0	-	H3, H4, H16, H17
3	31,2	1,87 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H)	H4, H16, H17
4	16,9	2,63 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H)	H3, H16, H17
4a	116,2	-	H3, H4
5	183,1	-	H4, H6
5a	128,5	-	H6, H9
6↔9	123,1 e 126,1	8,10 (dd, $J = 19,0$ e $7,5$ Hz, 2H)	H7, H8
7↔8	129,2 e 131,8	7,61 – 7,43 (m, 2H)	H6, H9
8↔7	129,2 e 131,8	7,61 – 7,43 (m, 2H)	H6, H9
9↔6	123,1 e 126,1	8,10 (dd, $J = 19,0$ e $7,5$ Hz, 2H)	H7, H8
9a	130,0	-	H7, H8, H9
10	133,0	-	H9
13	178,7	-	C=N-NH, H15
15	31,4	3,33 (s, 3H)	-
16 e 17	26,7	1,53 (s, 6H)	H3
SC-NH	-	7,76 (s, 1H)	-
C=N-NH	-	12,08	-

(↔) Indica semelhança do ambiente químico por isso os deslocamentos podem estar trocados.

Fonte: Próprio autor, 2024.

O deslocamento químico do sinal C=N-NH assegura a isomeria *E* para **TSM4**, já que os compostos com isomeria *E* apresentam o sinal C=N-NH com deslocamento químico em torno de 9 - 12 ppm, e são mais estáveis que o *Z*, por fatores como repulsão eletrônica e impedimento estérico. Em geral, os compostos

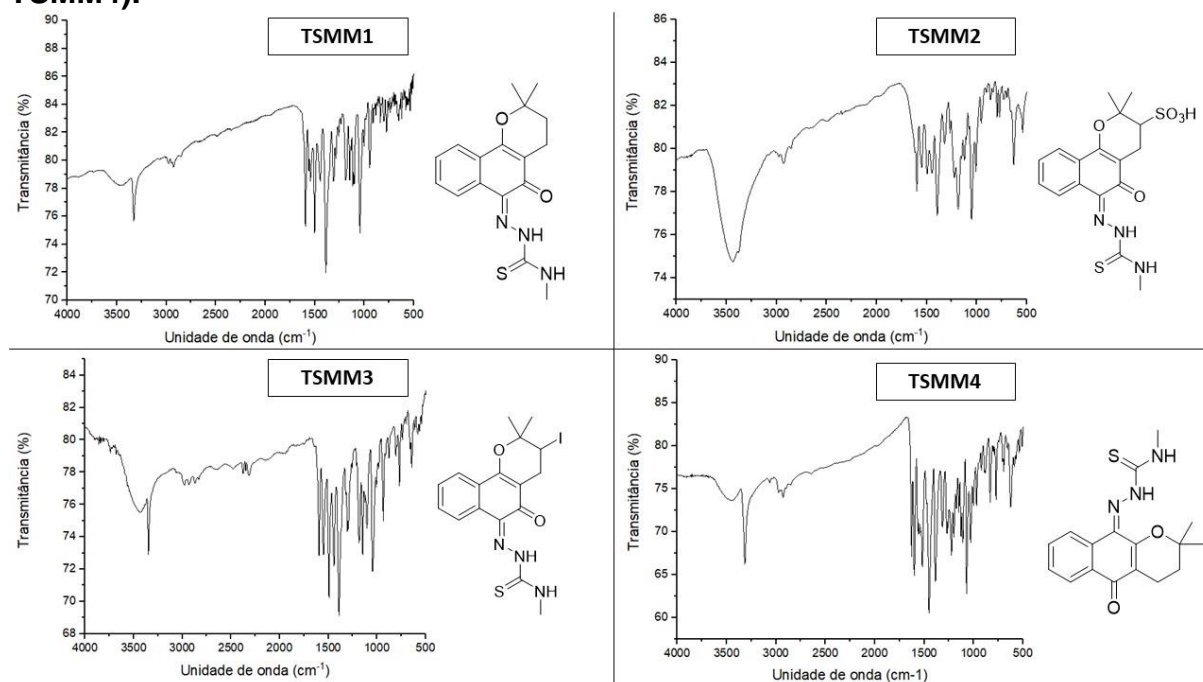
com isomeria *Z* exibem sinal C=N-NH em torno de 14 – 15 ppm, já a configuração *E* exibem o sinal entre 9 – 12 ppm (TENÓRIO *et al.*, 2005; MIRANDA *et al.*, 2018).

5.1.1.2 Caracterização das tiosemicarbazonas (**TSMM1** – **TSMM4**) por espectroscopia de absorção na região infravermelho (IV) e espectroscopia de massas (MS).

As bandas de absorção observadas no espectro de infravermelho (IV) colaboraram com a presença de todos os grupos funcionais presentes nas quatro moléculas (**TSMM1** – **TSMM4**). Como os compostos sintetizados apresentam semelhança estrutural, a discussão será feita em paralelo com todas as tiosemicarbazonas. As bandas de absorção observadas no espectro de IV estão em conformidade com os dados obtidos no RMN. A banda em 3346 cm⁻¹ é característica da ligação N-H de aminas secundárias (a possibilidade de ligação de hidrogênio aumenta a intensidade da banda em N-H, normalmente é fraca), enquanto que as bandas em 3000 e 2850 cm⁻¹ correspondem ao estiramento C-H sp³. A banda em 1600 a 1700 cm⁻¹, de intensidade média a alta, corresponde a ligação da carbonila cetônica insaturada (C=O) e (C=N). As bandas de média a alta intensidade entre 1600 e 1400 cm⁻¹ são relativas ao estiramento ou deformação axial das ligações C=C de anel aromático. As bandas entre 1200-800 cm⁻¹, são características da ligação -C-O-C-. A banda próxima de 1000 cm⁻¹ mostra o estiramento tiocarbonila, já as bandas de absorção entre 900-700 cm⁻¹ correspondem ao dobramento fora do plano das ligações C-H de anel aromático (PAVIA *et al.*, 2010).

Os compostos **TSMM2** e **TSMM3** se distinguem de **TSMM1** e **TSMM4** por apresentarem grupo substituinte no carbono (C3). Foram observadas duas bandas intensas referentes ao grupo sulfônico do **TSMM2** em 1260-1180 cm⁻¹, características de deformação axial do grupo substituinte (PAVIA *et al.*, 2010). No composto **TSMM3** não foi possível observar nenhuma banda na região do halogênio (500 cm⁻¹), por esta região apresentar frequências muito baixas na extrema direita do espectro (PAVIA *et al.*, 2010), não distinguindo assim seu valor exato. A análise espectroscópica no IV confirma a análise feita anteriormente de RMN, obtendo êxito em todas as reações de síntese (**TSMM1** – **TSMM4**) propostas neste trabalho, figura 7.

Figura 7 - Espectro de infravermelho das 4-metiltiossemicarbazonas (**TSMM1-TSMM4**).



Fonte: Próprio autor, 2024

A espectrometria de massas (MS) determina a razão massa carga (m/z) de uma molécula. Segue abaixo, o espectro de massa de alta resolução isolado do derivado **TSMM1** (figura 1), este composto possui fórmula química $C_{17}H_{19}N_3O_2S$ e massa molecular exata de 329,12; determinada pelo software ChemBioDraw Ultra. O espectro de massas confirmou a massa molecular da estrutura proposta, obtendo-se o pico do íon molecular de 330,1299 m/z , correspondente à estrutura molecular **TSMM1** acrescida da massa de um átomo de hidrogênio ($[M + H]^+$). O espectro total de massas de alta resolução de **TSMM1** e dos demais compostos encontram-se em anexo (Apêndice G-J).

5.2 AVALIAÇÃO ADMET *in silico* DAS TIOSSEMICARBAZONAS

A avaliação *in silico* é o estudo usado para previsões precisas das propriedades do ADMET de um composto (DOS SANTOS et al., 2022). Logo as quatro tiossemicarbazonas inéditas (**TSMM1** – **TSMM4**) e as naftoquinonas precursoras (**2** – **5**) tiveram suas propriedades farmacocinéticas avaliadas por teste *in silico* utilizando o software ADMETLab 2.0 (<https://admetmesh.scbdd.com/>) função

ADMET evaluation que prevê treze propriedades físico-químicas e farmacocinéticas de um composto: peso molecular (MW), coeficiente de lipossolubilidade (LogP), LogP em pH fisiológico (LogD), Log da solubilidade aquosa (LogS), números de anéis (nRig), carga formal (fChar), número de heteroátomos (nHet), número de átomos no maior anel (MaxRing), número de anéis (nRing), número de ligações rotacionáveis (nRot), área de superfície polar topológica (TPSA), e o número de aceptadores de ligações de hidrogênio/ número de doadores de ligações de hidrogênio (nHD/nHA). Estas propriedades preveem a possibilidade da administração oral destes protótipos à fármaco baseando-se na Regra dos Cinco elaborada por Lipinski (1997) (RO5), que ainda prevê dentre estas treze propriedades, as mais relevantes sendo o logP, o nDH, o nAH e o peso molecular.

A RO5 propõe que os compostos com boa absorção ou permeação devem ter $nDH \leq 5$, $nAH \leq 10$, peso molecular ≤ 500 daltons e $\log P < 5$ (SANTOS *et al.*, 2018). O LogS foi outro parâmetro selecionado para a discussão, já que valores altos de LogS indicam boa absorção oral do fármaco, conforme a seguinte escala: insolúvel < -10 , pouco solúvel entre -10 e -6 , moderadamente solúvel entre -6 e -4 , solúvel entre -4 e -2 , muito solúvel entre -2 e 0 e altamente solúvel acima de 0 (SUN; AGYEI; JI, 2020). Neste trabalho todas as naftoquinonas (**2** - **5**) e seus derivados tiossemicarbazonas (**TSMM1** – **TSMM4**) apresentaram propriedades previstas *in silico* dentro dos parâmetros estabelecidos pela RO5, tabela 6.

Considerando o LogS, os compostos **2**, **4**, **5**, **TSMM1**, **TSMM3** e **TSMM4** apresentaram solubilidade moderada. Já **TSMM2** e o seu precursor, a naftoquinona **3**, se enquadraram como solúveis, com LogS de $-2,93$ e $-2,06$; respectivamente, tabela 6.

Tabela 6 - Previsão das propriedades físico-químicas das naftoquinonas (**2** – **5**) e 4-metiltiossemicarbazonas (**TSMM1** – **TSMM4**) determinadas *in silico* pelo ADMETLab.

	MM(g/mol)	nAH	nDH	LogP	TPSA	LogS / Solubilidade
2	242,09	3	0	3,24	43,37	-4,97 Moderado
3	322,05	6	1	1,11	97,74	-2,06 Solúvel
4	367,99	3	0	3,92	43,37	-4,78 Moderado
5	242,09	3	0	3,25	43,37	-4,82 Moderado
TSMM1	329,12	5	2	4,04	62,72	-4,87 Moderada
TSMM2	409,08	8	3	2,51	117,09	-2,93 Solúvel
TSMM3	455,02	5	2	4,57	62,72	-4,43 Moderada

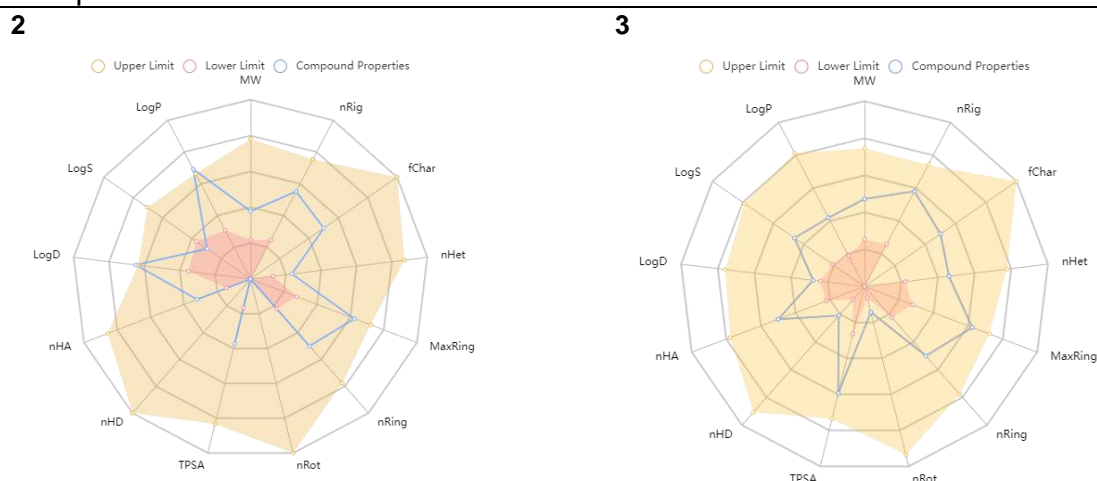
TSM4	329,12	5	2	4,10	62,72	-4,84	Moderada
-------------	--------	---	---	------	-------	-------	----------

MM - massa molar; nHA - número de grupos aceitadores de ligações de hidrogênio; nDH - número de grupos doadores de ligação de hidrogênio; LogP - coeficiente de partida octanol/água. Fonte: próprio autor, 2024.

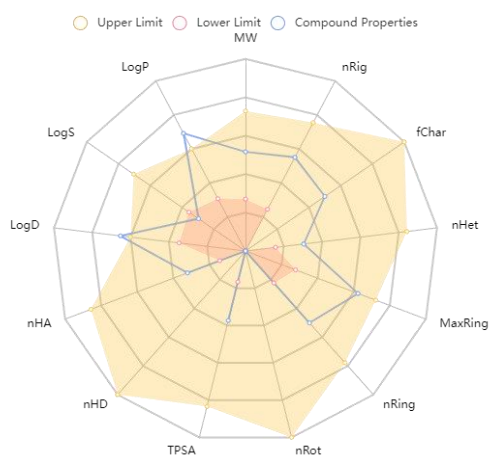
Os dados estão apresentados em formato gráfico “teia de aranha”, da figura 9. O próprio ADMETLab 2.0 coloca os parâmetros neste formato para melhor visualização. A região em coloração salmão é a região aceitável, estabelecendo os valores máximos e mínimos. Nos gráficos os valores do LogP foram extrapolados para **2, 4, 5, TSM1, TSM3, TSM4**, trata-se de valores aceitáveis segundo a regra de Lipinski, já que apenas uma violação à regra RO5 é considerada aceitável. O composto **TSM2 e o 3** foram os únicos que atenderam todos os parâmetros, figura 8.

A ferramenta online ADMETlab 2.0 também calculou parâmetros capazes de indicar o comportamento dos compostos em cada etapa da farmacocinética: absorção, distribuição, metabolismo e excreção. Com intuito de prever o comportamento dos compostos na etapa de absorção foi avaliada a eficiência da absorção *in vitro* no corpo em linhagens celulares de adenocarcinoma de cólon humano (Caco-2) e rim canino Madin-Darby (MDCK). Todos os compostos apresentaram permeabilidade excelente em células MDCK, já em células Caco-2 apenas os compostos **2, 3, 4, 5 e TSM4** apresentaram a permeabilidade maior que $-5,15 \log \text{ cm/s}$, tabela 7.

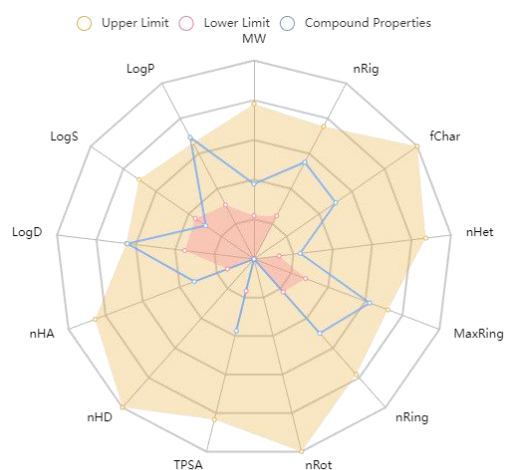
Figura 8 - Gráfico tipo “teia de aranha” das propriedades físico-químicas das naftoquinonas (**2 – 5**) e tiossemicarbazonas (**TSM1 – TSM4**) determinadas *in silico* pelo ADMETLab.



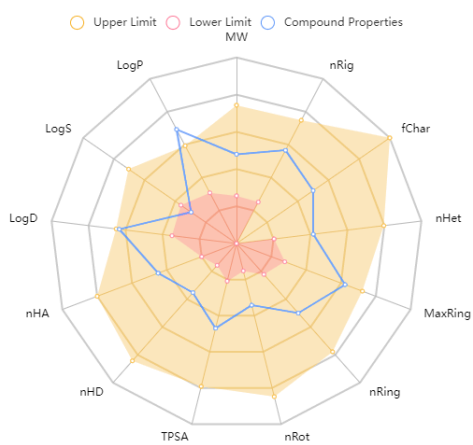
4



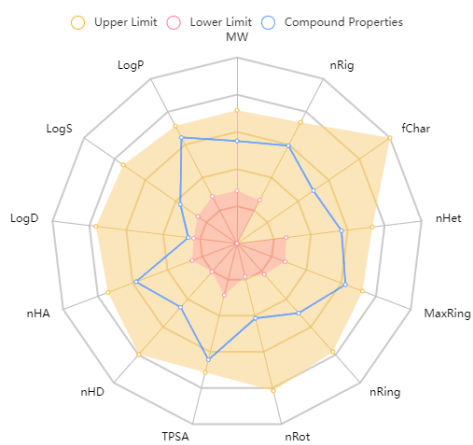
5



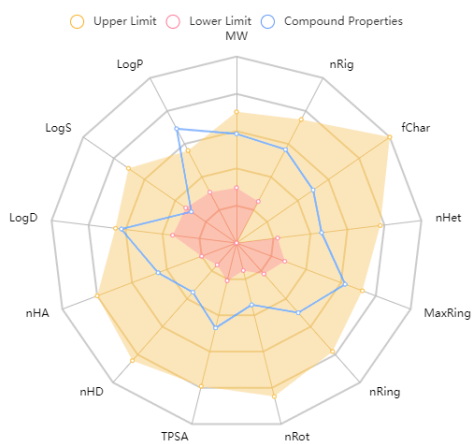
TSM1



TSM2



TSM3



TSM4

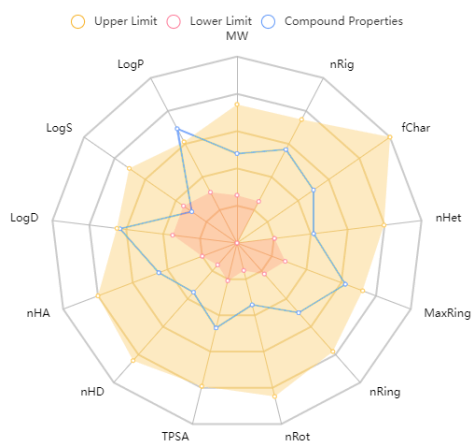


Tabela 7 - Previsão de absorção em célula do tipo Caco-2 e MDCK das naftoquinonas (**2 – 5**) e tiossemicarbazonas (**TSM1 – TSM4**) preditas *in silico* pelo ADMETLab.

	2	3	4	5	TSM1	TSM2	TSM3	TSM4
Caco-2*	-4,50	-4,87	-4,53	-4,51	-5,42	-5,98	-5,44	-4,82
MDCK**	2,6x10 ⁻⁵	2,5x10 ⁻⁵	2,7x10 ⁻⁵	2,1x10 ⁻⁵	2,9x10 ⁻⁵	2,5x10 ⁻⁵	2,6x10 ⁻⁵	3,2x10 ⁻⁵
AIH	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	Ruim	Excelente	Excelente
BO_{30%}	Excelente	Ruim	Excelente	Excelente	Ruim	Ruim	Médio	Excelente
Gp-P Inibidor	Excelente	Excelente	Excelente	Ruim	Médio	Excelente	Excelente	Ruim
Gp-P Substrato	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente

* >-5,15 log cm/s; **>2x10⁻⁶cm/s

Fonte: Próprio autor, 2024.

Os compostos foram avaliados quanto a absorção oral por verificação da absorção intestinal humana (AIH) e biodisponibilidade oral 30% (BO_{30%}). Os compostos **2, 3, 4, 5, TSM1, TSM3 e TSM4** foram classificados com AIH excelente e apenas **TSM2** com AIH ruim, com absorção intestinal inferior a 30%. O BO_{30%} foi excelente para **2, 3, 4, 5 e TSM4**, médio para **TSM3** e ruim para **TSM1, TSM2, 3**, tabela 7.

A glicoproteína-P (gp-P) é uma glicoproteína de superfície, estando presente na membrana citoplasmática, atuando como resistência a fármacos ao expulsar toxinas e xenobióticos para o fora das células. Os compostos avaliados quanto a resistência a drogas utilizadas no tratamento e promovendo a saída de quimioterápicos do interior da célula pela glicoproteína P (Gp-P), tiveram resultados satisfatórios para **TSM4 e 5**, médio para **TSM1** e não desejados para **TSM2, TSM3, 2, 3, 4**. Todos os compostos provavelmente são substratos para a Gp-P, tabela 7.

Para verificar a capacidade de distribuição dos compostos foi realizada uma previsão da capacidade destes compostos em se ligarem às proteínas (LPP) e a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE). Todos os compostos tiveram LPP > 90%, o ideal seria obter valores ≤ 90% para que a porção de fármaco livre na circulação alcance seus alvos. Todos os compostos analisados não atravessam a BHE, evitando com isso, possíveis efeitos colaterais no sistema nervoso central, tabela 8.

Tabela 8 - Previsão da capacidade de ligação com as proteínas plasmáticas e em atravessar a barreira hematoencefálica das naftoquinonas (**2 – 5**) e tiossemicarbazonas (**TSM1 – TSM4**) determinadas *in silico* pelo ADMETLab.

	2	3	4	5	TSM1	TSM2	TSM3	TSM4
LPP ($\leq 90\%$)	98,82%	97,08%	99,16%	98,69%	97,16%	94,77%	97,05%	99,76%
BHE	Não atravessa	Não atravessa	Não atravessa	Não atravessa	Não atravessa	Não atravessa	Não atravessa	Não atravessa

Fonte: Próprio autor, 2024.

Após os fármacos efetuarem a sua ação precisam ser metabolizados, sendo as enzimas do complexo de citocromo P450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4) as responsáveis por mais de 80% dos medicamentos conhecidos em humanos (ADMETLab 2.0). De acordo com as previsões realizadas, todos os compostos são substratos de no mínimo 1 isoformas das enzimas do complexo P450, e atuam como inibidoras de no máximo 5 isoformas, mostrando que possivelmente os compostos serão metabolizados e não interferirão no metabolismo de outros fármacos, reduzindo as possibilidades de interações medicamentosas, tabela 9.

Tabela 9 - Previsão do comportamento das naftoquinonas (**2 – 5**) e tiossemicarbazonas (**TSM1 – TSM4**) sobre isoformas das enzimas do complexo P450, determinada *in silico* pelo ADMETLab.

	METABOLISMO	2	3	4	5	TSM1	TSM2	TSM3	TSM4
CYP1A2	Inibidor	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	Substrato	+	--	++	++	++	-	++	++
CYP2C19	Inibidor	+++	--	+++	+++	+++	--	+++	+++
	Substrato	---	---	---	---	--	---	--	---
CYP2C9	Inibidor	+++	+	+++	+++	+++	++	+++	+++
	Substrato	++	++	-	+	++	++	+	--
CYP2D6	Inibidor	+++	---	++	+++	++	---	+	++
	Substrato	---	---	---	---	-	--	-	--
CYP3A4	Inibidor	+	---	-	+	+++	--	++	+++
	Substrato	--	--	--	--	--	--	--	--

Valores de probabilidade de previsão transformados em seis símbolos: 0-0,1(---), 0,1-0,3(--), 0,3-0,5(-), 0,5-0,7(+), 0,7- 0,9(++) e 0,9-1,0(+++). Fonte: Próprio autor, 2024.

A excreção é a última etapa da farmacocinética, neste trabalho foi realizada a previsão de excreção dos compostos através do cálculo de taxa de clearance renal (CL) e pelo cálculo de meia vida plasmática ($T_{1/2}$). A CL de um medicamento é classificada como alta depuração (>15 mL/min/kg), depuração moderada (5-15 mL/min/kg) e depuração baixa (< 5 mL/min/kg). O tempo de meia-vida é avaliado como curto (< 3 horas) e longo (> 3 horas). Todas as tiossemicarbazonas apresentaram tempo de meia-vida menor que 3 horas, sendo o composto **TSMM1** o único que apresentou tempo de depuração maior ≥ 5 mL/min/kg, tabela 10.

Tabela 10 - Previsão de clearance renal e meia vida plasmática das naftoquinonas (**2 – 5**) e tiossemicarbazonas (**TSMM1 – TSMM4**) determinados *in silico* pela ADMETLab.

EXCREÇÃO	2	3	4	5	TSMM1	TSMM2	TSMM3	TSMM4
CL	Ruim	Ruim	Ruim	Ruim	Excelente	Ruim	Ruim	Ruim
$T_{1/2}$	0,08	0,08	0,09	0,09	0,49	0,30	0,41	0,68

Fonte: Próprio autor, 2024.

Durante o desenvolvimento de fármacos, um parâmetro importante para ser analisado é a toxicidade dos compostos. Os compostos foram submetidos a teste de toxicidade *in silico* usando a ferramenta online ProToxII (https://tox-new.charite.de/protox_II/). Foram analisados a hepatotoxicidade (Hep), a imunotoxicidade (Imun), a citotoxicidade (Cit), a mutagenicidade (Mut), a carcinogenicidade (Car) e a dose oral letal aguda média em ratos (DL_{50}). Neste caso a DL_{50} possui quatro classificações: composto fatal ($DL_{50} < 50$ mg/kg), tóxico (50 mg/kg $< DL_{50} < 500$ mg/kg), nocivo (500 mg/kg $< DL_{50} < 5000$ mg/kg) e não tóxico ($DL_{50} > 5000$ mg/kg) (SEPÚLVEDA-ROBLES *et al.*, 2019). Deve-se ainda ressaltar que todas as substâncias naturais e/ou sintéticas possuem alguma toxicidade e podem causar efeitos adversos a saúde, contudo a principal diferença está no tempo de exposição e na dosagem da substância (VEIGA JUNIOR, PINTO, MACIEL, 2005; NTUNGWE *et. al*, 2020).

Analisando os dados de toxicidade previstos dos compostos, pôde-se concluir que **2**, **3**, **4**, **TSMM1**, **TSMM2** e **TSMM3** são compostos não tóxicos, já **TSMM4** e **5** foram classificados como nocivos à saúde. Apenas as tiossemicarbazonas (**TSMM1 – TSMM4**) apresentaram toxicidade hepática. Todos os compostos não são imunotóxicos, citotóxicos, com exceção do **TSMM2** o que possivelmente é carcinogênico e a naftoquinona **3** que possivelmente é mutagênico, tabela 11.

Tabela 11 - Previsão de DL₅₀, hepatotoxicidade, imunotoxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade das naftoquinonas (**2 – 5**) e tiossemicarbazonas (**TSMM1 – TSMM4**) determinados pela ferramenta online ProToxII.

	DL ₅₀	Hep	Imun	Cit	Mut	Car
2	8000mg/kg	Inativo	Inativo	Inativo	Inativo	Inativo
3	8000mg/kg	Inativo	Inativo	Inativo	Ativo	Inativo
4	8000mg/kg	Inativo	Inativo	Inativo	Inativo	Inativo
5	2000mg/kg	Inativo	Inativo	Inativo	Inativo	Inativo
TSMM1	8000mg/kg	Ativo	Inativo	Inativo	Inativo	Inativo
TSMM2	5000mg/kg	Ativo	Inativo	Inativo	Inativo	Ativo
TSMM3	8000mg/kg	Ativo	Inativo	Inativo	Inativo	Inativo
TSMM4	2000mg/kg	Ativo	Inativo	Inativo	Inativo	Inativo

DL₅₀ - dose oral média letal aguda em ratos; Hep – hepatotoxicidade; Imun – imunotoxicidade; Cit - citotoxicidade; Mut -mutagenicidade; Car - carcinogenicidade. Fonte: próprio autor, 2024.

Os resultados farmacocinéticos ADMET realizados por ferramentas online sugerem que as tiossemicarbazonas **TSMM1 – TSMM4** têm aceitável absorção oral, distribuição, metabolismo, excreção e baixa toxicidade, sendo elegíveis para dar continuidade aos estudos *in vitro* e *in vivo*. Foi possível ainda, dentre as quatro tiossemicarbazonas inéditas, destacar a naftoquinona **2** e o seu derivado, a tiossemicarbazona **TSMM1** como tendo avaliação ADMET mais promissoras devido as seus melhores resultados na absorção intestinal humana (AIH), com baixa toxicidade e a possibilidade de boa metabolização.

5.3 AVALIAÇÃO *in vitro* DO POTENCIAL CITOTÓXICO DAS TIOSSEMICARBAZONAS (**TSMM1-TSMM4**)

Com as naftoquinonas (**2–5**) e tiossemicarbazonas (**TSMM1-TSMM4**) devidamente sintetizadas e caracterizadas, foi avaliada a citotoxicidade das mesmas frente à três linhagens de células tumorais: melanoma murino (B16-F10), carcinoma de cólon murino (CT26.WT) e câncer de mama murino (4T1). Também foi avaliada a atividade citotóxica dos compostos frente a uma linhagem de células saudáveis, fibroblastos de camundongo (L929), empregando o ensaio colorimétrico de MTT por 72 h de tratamento.

No ensaio, os compostos foram testados em concentração única de 25 µg/mL, e apresentaram atividade antiproliferativa. A doxirrubicina foi empregada como controle positivo na concentração de 0,5 µg/mL. Os resultados mostraram que todos os compostos sintéticos apresentaram algum grau de citotoxicidade contra, pelo menos, uma das linhagens cancerosas ensaiadas.

Contra a linhagem tumoral B16-F10, com exceção de **TMMS2**, todos os compostos apresentaram potencial inibitório da proliferação de células tumorigênicas, que reduziram mais de 50% a viabilidade celular. As naftoquinonas **2** e **4** merecem destaque, visto que inibiram em 94,68 e 93,19%, respectivamente, Tabela 12.

As naftoquinonas (**2 – 5**) e a tiossemicarbazona **TSMM1** se destacaram contra a linhagem 4T1, com inibição da viabilidade celular superior a 50%, sendo os melhores resultados obtidos pelos compostos **2** e **4**. E apenas as naftoquinonas **2**, **4** e **5** foram capazes de inibir mais que 50% da proliferação celular de linhagens CT26.WT, Tabela 12.

A avaliação da citotoxicidade dos compostos contra a linhagem de fibroblasto murino (L929) é uma importante ferramenta para avaliação de investigação de citotoxicidade em células normais, observou-se que as naftoquinonas **2**, **4** e **5**, e a tiossemicarbazona **TSMM1** promoveram redução da viabilidade superior a 50%, o que denota efeito antiproliferativo contra células saudáveis, Tabela 12.

Tabela 12 - Avaliação da citotoxicidade *in vitro* em linhagens tumorigênicas e normal determinadas pelo ensaio MTT após 72 h de incubação em concentração de 25µg/mL.

Amostra	Inibição da proliferação celular (%)			
	B16-F10	4T1	CT26.WT	L929
2	94,68 ± 0,40*	82,25 ± 2,39*	91,27 ± 0,86*	67,75 ± 6,65*
3	84,41 ± 0,23*	68,36 ± 3,29*	7,69 ± 1,61	28,84 ± 8,10
4	93,19 ± 0,53*	78,18 ± 4,31*	86,88 ± 7,23*	78,46 ± 6,58*
5	71,93 ± 5,58*	74,45 ± 2,51*	87,03 ± 0,66*	73,07 ± 4,27*
TSMM1	75,27 ± 1,59*	66,42 ± 4,18*	0,00 ± 2,41	37,95 ± 4,85*
TSMM2	29,29 ± 2,53*	0,00 ± 5,68	6,05 ± 10,39	12,97 ± 4,33
TSMM3	57,85 ± 4,44*	22,94 ± 4,94*	0,36 ± 7,68	12,17 ± 2,33
TSMM4	56,06 ± 0,43*	17,15 ± 3,91	15,13 ± 2,69	0,00 ± 1,39
Doxorrubicina**	58,90 ± 3,40*	46,41 ± 0,68*	60,18 ± 4,84*	18,40 ± 4,27*

Legenda: os dados foram expostos como média ± EPM.

*Análise de Variância (ANOVA), seguido do teste de Dunnet para avaliação de significância ($p < 0,05$).

** concentração de 0,5 μmL . Fonte: próprio autor, 2024.

Comparando os resultados, nota-se que a naftoquinona **3** e a tiossemicarbazona **TSMM1** merecem destaque, visto que foram ativas contra as linhagens B16-F10 e 4T1, enquanto preservou as células normais (L929). Já as tiossemicarbazonas inéditas **TSMM3** e **TSMM4** foram ativas contra a linhagem tumoral B16-F10, poupando a linhagem saudável.

Considerando os resultados da naftoquinona com o seu derivado inédito tiossemicarbazona, é notado que a modificação de **2**, **4** e **5**, gerando **TSMM1**, **TSMM3** e **TSMM4**, respectivamente, foi favorável, pois os derivados são mais seletivos para células tumorais. Enquanto que a modificação em **3** não foi favorável, visto que a tiossemicarbazona **TSMM2** não apresentou ação antiproliferativa, Tabela 12.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foram desenvolvidos, com sucesso, a síntese de quatro naftoquinonas **2**, **3**, **4** e **5**, e a partir delas, sintetizadas quatro tiossemicarbazonas inéditas, **TSMM1**, **TSMM2**, **TSMM3** e **TSMM4**, compostos obtidos com os rendimentos de 87, 73, 63, 57%, respectivamente. As moléculas sintetizadas tiveram suas estruturas elucidadas por técnicas uni e bidimensionais de RMN de ^1H e ^{13}C , espectroscopia de IV e massas de alta resolução. Esses compostos foram investigados quanto ao seu potencial citotóxico contra linhagens de células tumorais. Os resultados obtidos a partir da investigação biológica, demonstram, que as tiossemicarbazonas inéditas **TSMM1**, **TSMM3** e **TSMM4**; possuem atividade contra células cancerosas, preservando as células normais do corpo. Logo, estas classes de compostos são fortes candidatos a novos fármacos com aplicação antineoplástica, tornando-as elegíveis para dar continuidade com o estudo *in vivo*.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, V. L. et al. Câncer e agentes antineoplásicos específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, v. 28, p. 118-129, 2005.

ANTUNES, Rossana M. Pessoa et al. Atividade antimicrobiana "in vitro" e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 517-524, 2006.

BARBOSA, Ticiano Pereira; DINIZ NETO, Hermes. **preparação de derivados do lapachol em meio ácido e em meio básico**: uma proposta de experimentos para a disciplina de química orgânica experimental. **Química Nova**, João Pessoa, v. 36, n. 2, p.331-334, fev. 2013.

BRUICE, Paula Y. **Química Orgânica**. Vol. 1 e 2, 4^o Ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. Número de Chamada BU UFSC: 547 B892 4.ed.

CARVALHO, Carlos Eduardo M. et al. Derivados heterocíclicos de naftoquinonas de ocorrência natural: síntese, caracterização e estrutura de raios-X de compostos hidrazólicos de beta-lapachona. **Corantes e pigmentos**, v. 52, n. 3, pág. 209-214, 2002.

CHAO, Joseph et al. A phase I and pharmacokinetic study of oral 3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (3-AP, NSC# 663249) in the treatment of advanced-stage solid cancers: a California Cancer Consortium Study. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 69, p. 835-843, 2012.

COSTA, Edna Márcia Almeida et al. **Avaliação do metabolismo in vitro do CNFD (6b, 7-dihidro-5H-ciclopenta [b] nafto [2, 1-d] furano-5, 6 (9aH)-diona)**. 2022.

COSTA, Érick Caique Santos et al. **Contribuição ao estudo de fitoquímico e avaliação das atividades anti-inflamatória e larvicida da mapirunga**. 2015.

DA ROCHA, David R. et al. Synthesis of new 9-hydroxy- α -and 7-hydroxy- β -pyran naphthoquinones and cytotoxicity against cancer cell lines. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 9, n. 11, p. 4315-4322, 2011.

DE ANDRADE-NETO, Valter F. et al. Antimalarial activity of phenazines from lapachol, β -lapachone and its derivatives against *Plasmodium falciparum* in vitro and *Plasmodium berghei* in vivo. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 14, n. 5, p. 1145-1149, 2004.

DE CASTRO, Solange L.; EMERY, Flavio S.; DA SILVA JUNIOR, Eufranio N. Synthesis of quinoidal molecules: strategies towards bioactive compounds with an emphasis on lapachones. **European journal of medicinal chemistry**, v. 69, p. 678-700, 2013.

DE SIQUEIRA, Lucianna Rabelo Pessoa et al. Multi-target compounds acting in cancer progression: Focus on thiosemicarbazone, thiazole and thiazolidinone analogues. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 170, p. 237-260, 2019.

DI CHENNA, Pablo H. et al. Preparation and cytotoxicity toward cancer cells of mono (arylimino) derivatives of β -lapachone. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 15, p. 2486-2489, 2001.

DIAS, Rosane Borges et al. β -Lapachone and its iodine derivatives cause cell cycle arrest at G2/M phase and reactive oxygen species-mediated apoptosis in human oral squamous cell carcinoma cells. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 126, p. 87-100, 2018.

DONG, Jie et al. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. **Journal of cheminformatics**, v. 10, p. 1-11, 2018.

DOS SANTOS PINHEIRO, Renata Batista et al. Análise in silico do perfil farmacocinético e toxicológico do complexo tioglicolato de Zinco II [Zn (ATG) 2 (OH₂) 2]. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e44711629430-e44711629430, 2022.

FERREIRA, Sabrina B. et al. β -Lapachone: Medicinal chemistry significance and structural modifications. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 2, n. 2, p.140-160, 2010. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

FERREIRA, Sabrina Baptista et al. Synthesis and anti-Trypanosoma cruzi activity of β -lapachone analogues. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 7, p. 3071-3077, 2011.

FERREIRA, V. F. Aprendendo sobre os conceitos de ácido e base. **Química Nova**
FILHO, José Maria Barbosa. et al. Processo de síntese da 3-iodo- alfa-larachgna e 3-íggg-detà-lápàchona e usos como imunomodulador, antimicrobiano e antiinflamatório, 2006.

GUIMARÃES, D. G et al. Investigação do potencial biológico de hidrazonas obtidas
HUANG, Chung-Cheng et al. Effect of age-related cartilage turnover on serum C-telopeptide of collagen type II and osteocalcin levels in growing rabbits with andwithout surgically induced osteoarthritis. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

INCA: Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/inca-lanca-a-estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil/>

KRISHSAN, P.; BASTOW, K. F. Novel Mechanisms of DNA Topoisomerase II Inhibition by Pyranonaphthoquinone Derivatives – Eleutherin, α -lapachone, and β -lapachone. **Biochemical Pharmacology**, v. 60, p. 1367-1379, Nov. 2000.

KRISHSAN, P.; BASTOW, K. F. Novel Mechanisms of DNA Topoisomerase II Inhibition by the Pyranonaphthoquinone Derivatives α -lapachone, and β -lapachone. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, v. 47, p. 187-198, Mar. 2001.

LOPES, K. P. S. **Solubilidade do estudo citotóxico do lapachol em soluções micelares de sistema binárias**. 2020. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

MARQUES, L. B. et al. Lapachol acetylglycosylation enhances its cytotoxic and proapoptotic activities in HL60 cells. *Toxicology in Vitro*, v. 65, p. 104772, jun. 2020.
Medicamento genérico Lei nº. 9.787, de 1999. Disponível em: <https://www.4bio.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Doxorrubicina-639-638.pdf>

MELO, Any Raphaely Soares de. **Síntese e caracterização de compostos nitrogenados derivados da β -lapachona**. 2020.

MELO, Maria Gabriella Nunes de et al. Clinical and epidemiological profiles of patients with American cutaneous leishmaniasis from the states of Pernambuco and Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, 2020.

MIRANDA, Mirelly Dianne Santos de et al. Obtenção, caracterização estrutural de novos derivados tiossemicarbazonas candidatos à agentes anti-inflamatórios. 2018.

MIRANDA, Sued Eustáquio Mendes et al. Avaliação da atividade antitumoral e toxicidade, em modelo experimental, do lapachol e do L-fucosídeo peracetilado do lapachol (F-LapA) encapsulados em nanoemulsões O/A. 2023.
na Escola, n. 4, p. 35-36, 1996.

NAYAK, Swarnagowri et al. 1, 3, 4-Oxadiazole-containing hybrids as potential anticancer agents: Recent developments, mechanism of action and structure-activity
NOVEL COMBINATION OF LAPACHOL IN. SOUTHERN BRAZILIAN JOURNAL OF CHEMISTRY 2021 VIRTUAL CONFERENCE.

NTUNGWE N, Epole et al. Artemia species: An important tool to screen general toxicity samples. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 24, p. 2892-2908, 2020.

OLIVEIRA, C. G.; ROMERO-CANELÓN, I.; SILVA, M. M.; COVERDALE, J. P. C.; MAIA, P. I. S.; BATISTA, A. A.; CASTELLI, S.; DESIDERI, A.; SADLER, P. J.; DEFLON, V. M. Palladium(ii) complexes with thiosemicarbazones derived from pyrene as topoisomerase IB inhibitors. **Dalton Transactions**, v. 48, n. 44, p. 16509-16517, 2019.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PEDERZOLLI, F. R. S. **Estudo Estrutural de Ligantes Tiossemicarbazonas e de um Complexo de Níquel(II)**. 137f. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica Ambiental) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, Rio Grande do Sul, 2011.

PELOSI, G. et al. Antiretroviral activity of thiosemicarbazone metal complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, n. 24, p. 8765-8769, 2010.

PERVEZ, H. et al. 5-Nitroisatin-derived thiosemicarbazones: potential antileishmanial agents. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 628-632, 2014.

REIS, D. C. Estudo do perfil farmacológico de novas tiosemicarbazonas e novos complexos de bismuto(III) e antimônio(III). 150f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) - Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SALUNKE-GAWALI, Sunita; PEREIRA, Eulália; DAR, Umar Ali; BHAND, Sujit. **Metal complexes of hydroxynaphthoquinones**: Lawsone, bis-lawsone, lapachol, plumbagin and juglone. *Journal of Molecular Structure*, [S. l.], v. 1148, p. 435–458, 2017. DOI: 10.1016/j.molstruc.2017.06.130.

SANTOS, Victória Laysna dos Anjos; GONSALVES, Arlan de Assis; ARAÚJO, Cleônia Roberta Melo. Abordagem didática para o desenvolvimento de moléculas bioativas: regra dos cinco de Lipinski e preparação de heterociclo 1, 3, 4-oxadiazol em forno de micro-ondas doméstico. **Química Nova**, v. 41, p. 110-115, 2018.

SEPÚLVEDA-ROBLES, Omar et al. Trypanocidal and toxicological assessment in vitro and in silico of three sesquiterpene lactones from Asteraceae plant species. **Food and Chemical Toxicology**, v. 125, p. 55-61, 2019.

SHAIENDRA, Neelam Bharti; NAQVI, Fehmida; AZAM, Amir. Synthesis, spectral studies and screening for amoebicidal activity of new palladium (II) complexes derived from thiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, n. 4, p. 689-692, 2003.

SILVA, A. C. et al. Aryl thiosemicarbazones: In vitro and immunomodulatory activities against *L. amazonensis*. **Experimental Parasitology**, v. 177, p. 5765, 2017.

SILVA, Alane Alves da et al. TIOSSEMICARBAZONAS COMO POTENCIAIS AGENTES ANTIMICROBIANOS: UMA MINI REVISÃO. **CIÊNCIAS DA SAÚDE: DESAFIOS E POTENCIALIDADES EM PESQUISA-VOLUME 2**, v. 2, n. 1, p. 506-516, 2023.

SILVA, Bruna Cristina Ulian. Estudo de ADME de candidatos a fármacos para o tratamento da leishmaniose visceral e tripanossomíase americana. 2019.

SILVA, Carla Cristina da et al. **Atividade antibacteriana de novas 2-Amino-1, 4-Naftoquinonas**. 2021.

SILVA, Thiago Freitas et al. **Plantas leishmanicidas da Amazônia Brasileira: uma revisão**. 2017.

SOARES, M. A. et al. N4-Phenyl-substituted 2-acetylpyridine thiosemicarbazones: cytotoxicity against human tumor cells, structure–activity relationship studies and investigation on the mechanism of action. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 11, p. 3396-3409, 2012.

SOARES, M. A.; ALMEIDA, M. A.; MARINS-GOULART, C.; CHAVES, O. A.; ECHEVARRIA, A.; OLIVEIRA, M. C. C. de. Thiosemicarbazones as inhibitors of tyrosinase enzyme. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 27. p. 3546–3550. 2017.

SOUZA, Alan Gonçalves de. **Síntese de novos derivados quinolonocarboxâmídicos conjugados a quinonas visando à avaliação de sua atividade anticâncer**. 2018.

SOUZA, M. A. A. et al. Atividade biológica do lapachol e de alguns derivados sobre o desenvolvimento fúngico e em germinação de sementes. **Química Nova**, v. 31, p.1670- 1672, 2008.b

SOUZA, Marco Andre Alves de et al. Atividade biológica do lapachol e de alguns derivados sobre o desenvolvimento fúngico e em germinação de sementes. **Química Nova**, v. 31, p. 1670-1672, 2008.

SUN, N.; AGYEI, D.; JI, D. Medicinal Chemistry Friendliness of Pigments from Monascus-Fermented Rice and the Molecular Docking Analysis of Their Anti-Hyperlipidemia Properties. *Fermentation*, v. 6, n. 4, p. 111, 2020.

TIWARI, Neeraj et al. Limitations of current therapeutic options, possible drug targets and scope of natural products in control of leishm

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

VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VICTAL, J. Costa et al. Métodos alternativos in vitro e in silico: métodos auxiliares e substitutivos à experimentação animal. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 2, p. 36-57, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cancer. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/topics/cancer/en/>. Acesso em: 19 Dez. 2023.

World Health Organization. Leishmaniasis: Epidemiological situation. 2019 [updated Feb 1, 2019; Retrieved April 2, 2019 Available: 2019 [Updated Feb 1, 2019; retrieved 2 April 2019 available at: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/> » <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>

YADAV, Shipra et al. Synthesis and spectroscopic characterization of diorganotin (IV) complexes of N'-(4-hydroxypent-3-en-2-ylidene) isonicotinohydrazide: chemotherapeutic potential validation by in vitro interaction studies with DNA/HSA,

DFT, molecular docking and cytotoxic activity. **RSC Advances**, v. 5, n. 63, p. 50673-50690, 2015.

YALOWICH, J. C. et al. The anticancer thiosemicarbazones Dp44mT and triapine lack inhibitory effects as catalytic inhibitors or poisons of DNA topoisomerase II α . *Biochem. Pharmacol.* 84, 52–58 2012.

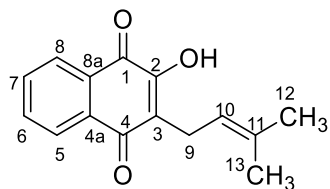
YANG, Yang et al. β -lapachone suppresses tumour progression by inhibiting epithelial-to-mesenchymal transition in NQO1-positive breast cancers. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 2681, 2017.

APÊNDICE A

EXPERIMENTAL

1.1 Extração, purificação e identificação do lapachol (1)

Figura A1 - Estrutura molecular do lapachol (1).



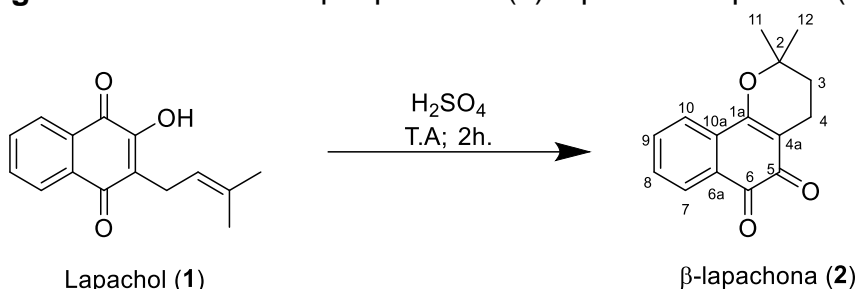
Lapachol (1)

Fonte: Próprio autor, 2024.

O lapachol (1) foi extraído de lascas do cerne do caule do ipê amarelo (*Tabebuia* sp). A madeira foi cortada em pequenos filetes (100g) e colocada em 800 mL de solução de hidróxido de sódio 1% (m/v) durante 2 horas. Em seguida, a solução vermelha foi filtrada e neutralizada com 100 mL de solução de ácido clorídrico 6 M até a completa precipitação da naftoquinona 1. O sólido amarelo foi filtrado e colocado para secar a temperatura ambiente.

O lapachol (1) obtido foi purificado solubilizando o sólido em etanol absoluto à quente, seguida de filtração simples e imediata precipitação em água destilada. O sólido precipitado foi filtrado a vácuo e deixado secar em temperatura ambiente. O lapachol (1) foi caracterizado por CCDA e técnicas uni (1D) e bidimensionais (2D) de RMN de ^1H e ^{13}C . Obtendo um sólido amarelo cristalino com rendimento entre 1,6 e 2,7% (m/m); P.f.: 138 - 139 °C, lit. 139 – 140 °C (FERREIRA, 1996; SOUZA *et al.*, 2008; NOVEL, 2021). Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_3$; Massa molar: 242,09 g/mol; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] 8,12 (m, 1H, H5); 8,07 (m, 1H, H8); 7,75 (td, $J = 7,6$; 1,4 Hz, 1H, H6); 7,67 (td, $J = 7,5$; 1,4 Hz, 1H, H7); 7,33 (s, 1H, -OH); 5,21 (m, 1H, H10); 3,31 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H, H9); 1,79 (s, 3H, H13); 1,69 (s, 3H, H12). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ [ppm] 184,5 (C4); 181,7 (C1); 125,6 (C2); 135,0 (C6); 133,9 (C11); 133,0 (C7); 129,6 (C8a); 129,3 (4a); 126,1 (C5); 126,9 (C8); 123,5 (C3); 119,6 (C10); 25,9 (C12); 22,6 (C9); 18,0 (C13).

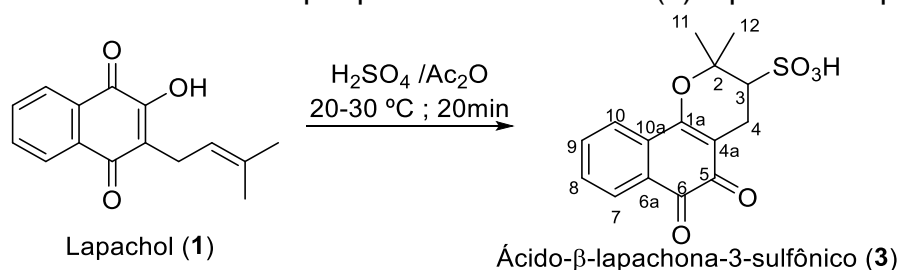
1.2 Síntese da β -lapachona (2)

Figura A2 - Síntese da β -lapachona (**2**) a partir do lapachol (**1**).

Fonte: Próprio autor, 2024.

Em um erlenmeyer de 25 mL pesou-se o lapachol (**1**) (1 mmol; 242 mg), e foi acrescentado H_2SO_4 concentrado (2,5 mL). A reação permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por duas horas. Em seguida, a mistura reacional foi vertida em um béquer com 250 mL contendo água destilada gelada. O sólido precipitado foi filtrado a vácuo, e deixado secar a temperatura ambiente. A β -lapachona (**2**) foi purificada por CC obtendo um sólido vermelho cristalino com rendimento entre 50 e 90%; P.f.: 154 – 155 °C, lit. 154 – 156 °C (MELO, 2020; CARVALHO *et al.*, 2002). Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_3$, Massa Molar: 242,09 g/mol; RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] 7,91 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, H7); 7,77 (m, 2H, H9 e H10); 7,61 (m, 1H, H8); 2,40 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H4); 1,82 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H3); 1,43 (s, 6H, H11, H12). RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] 179,0 (C6); 177,7 (C5); 160,6 (C1a); 135,0 (C9); 132,0 (C10a); 130,8 (C8); 129,9 (C6a); 127,8 (C7); 123,7 (C10); 112,5 (C4a); 79,0 (C2); 30,8 (C3); 26,3 (C11, C12); 15,9 (C4).

1.2 Síntese do ácido- β -lapachona-3-sulfônico (**3**)

Figura A3 - Síntese do ácido- β -lapachona-3-sulfônico (**3**) a partir do lapachol (**1**).

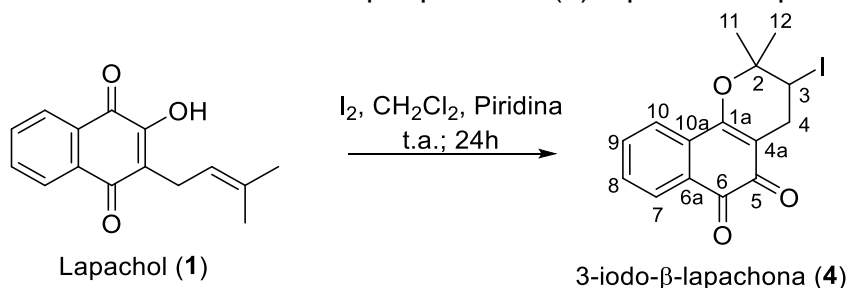
Fonte: Próprio autor, 2024.

Em um balão de reação de 50 mL pesou-se o lapachol (**1**) (2 mmol; 484 mg) e adicionou-se 2 mL de anidrido acético. A mistura foi submetida a agitação constante,

e adicionou-se 120 µl de ácido sulfúrico concentrado gota-a-gota. Ao acrescentar o ácido, a temperatura começa a subir, logo a mistura reacional foi colocada em banho de gelo, mantendo a temperatura da mistura entre 20 e 30 °C. Depois de gotejado todo o ácido sulfúrico, a mistura reacional permaneceu sob agitação a temperatura de 20 a 30 °C por 20 min. O sólido formado foi filtrado e lavado com 150 mL de éter etílico, e em seguida seco a temperatura ambiente. Obteve-se um sólido vermelho com rendimento de 76%, P.f.: 123-125 °C, lit. 158 – 160 °C (SOUZA *et al.*, 2008). Fórmula molecular: C₁₅H₁₄O₃, Massa Molar: 242,09 g/mol; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] 7,89 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, H7); 7,73 (m, 2H, H8 e H9); 7,58 (m, 1H, H10); 2,82 (m, 2H, H4); 2,49 (m, 1H, H3); 1,74 (s, 3H, H11); 1,41 (s, 3H, H12). RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] 179,1 (C6); 177,6 (C5); 159,8 (C1a); 135,0 (C9); 131,9 (C6a); 130,8 (C10); 130,0 (C10a); 127,8 (C7); 123,8 (C8); 112,8 (C4a); 82,0 (C2); 59,4 (C3); 28,6 (C11); 21,1 (C4); 20,4 (C12).

1.3 Síntese da 3-iodo-β-lapachona (4)

Figura A4 - Síntese do 3-iodo-β-lapachona (4) a partir do lapachol (1).



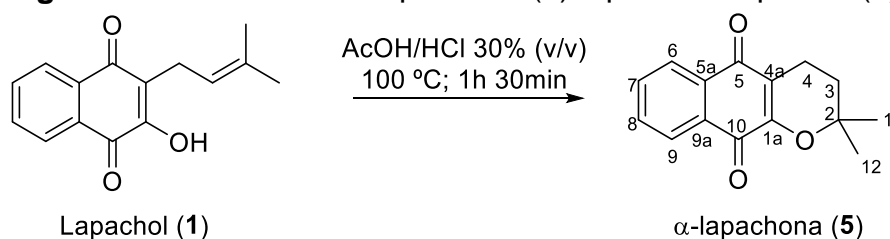
Fonte: Próprio autor, 2024.

A uma mistura de lapachol (1) (1 mmol; 242 mg) e diclorometano (20 mL) sob agitação, adicionou-se iodo molecular (1 mmol; 254 mg) triturado e piridina (0,6 mmol; 48 µL). A reação permaneceu em agitação por 24 horas à temperatura ambiente, em seguida o solvente foi evaporado no rotaevaporador e o sólido seco foi solubilizado em 20 mL de clorofórmio. A mistura reacional foi lavada com solução aquosa 5% de bicarbonato de sódio (3 x 10 mL), e de água destilada (3 x 10 mL). O solvente foi evaporado e o sólido foi solubilizado mais uma vez em clorofórmio (6 mL), a mistura foi lavada com uma solução à 10% de iodeto de potássio (3 x 15 mL), e posteriormente lavado com água destilada (3 x 15 mL) (FILHO *et al.*, 2006). O

produto obtido foi purificado por CC, e obteve-se um sólido cristalino laranja com rendimento de 33%; P.f.: 130 – 131 °C. Fórmula molecular: C₁₅H₁₄O₃, Massa Molar: 242,09 g/mol; RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] 7,95 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, H7); 7,80 (d, *J* = 3,5 Hz, 2H, H8 e H9); 7,67 (m, 1H, H10); 4,73 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H, H3); 3,20 (dd, *J* = 18,2/ 5,3 Hz, 1H, H4); 2,99 (dd, *J* = 18,2/ 6,3Hz, 1H, H4); 1,59 (s, 3H, H11); 1,58 (s, 3H, H12). RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ[ppm] 178,6 (C6); 177,8 (C5); 159,8 (C1a); 135,1 (C9); 131,4 (C10a); 131,2 (C10); 129,9 (6a); 128,0 (C7); 123,8 (C8); 111,7 (C4a); 80,5 (C2), 30,4 (C3); 30,2 (C4); 27,0 (C11); 24,6 (C12).

1.4 Síntese da α-lapachona (5)

Figura A5 - Síntese da α-lapachona (5) a partir do lapachol (1).



Fonte: Próprio autor, 2024.

Em um balão de reação de 25 mL pesou-se o lapachol (1) (1 mmol; 242 mg) e adicionou-se uma solução de ácido acético glacial (240μL) e ácido clorídrico concentrado (630μL). Em seguida, a mistura reacional foi submetida a agitação com aquecimento em banho de glicerina a 100 °C por 1,5 h. Passado esse período, a reação foi resfriada até a temperatura ambiente. Posteriormente, a mistura foi vertida em cerca de 500 mL de água destilada bem gelada (contendo pedras de gelo) para a precipitação da α-lapachona (5). O sólido obtido foi filtrado a vácuo e deixado secar à temperatura ambiente.

A α-lapachona (5) obtida foi purificada solubilizando-a em etanol absoluto a quente, seguido de filtração simples e imediata precipitação em água destilada. O sólido foi filtrado e seco à temperatura ambiente. Obteve-se um sólido amarelo pálido com rendimento de 63%, P.f.: 106 – 107 °C, lit. 113 – 114 °C (SOUZA *et al.*, 2008). Fórmula molecular: C₁₅H₁₄O₃, Massa Molar: 242,09 g/mol; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] 8,02 (m, 2H, H6 e H9); 7,61 (m, 2H, H7 e H8); 2,56 (t, *J* = 6,6

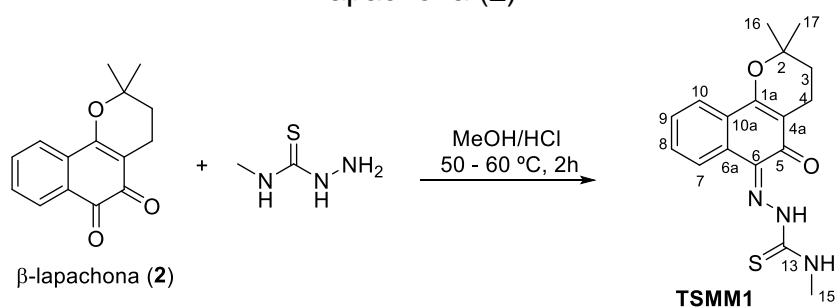
Hz, 2H, H4); 1,76 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H3); 1,37 (s, 6H, H11, H12). RMN de ^{13}C (100MHz, CDCl_3): δ [ppm] 184,5 (C5); 180,1 (C10); 154,7 (C1a); 134,0 (C7); 133,0 (C8); 132,2 (C5a \leftrightarrow C9a); 132,2 (C9a \leftrightarrow C5a); 126,4 (C6); 126,4 (C9); 120,2 (C4a); 78,2 (C2); 31,4 (C3); 26,5 (H11 \leftrightarrow H12); 16,8 (C4).

1.6 Método geral de síntese das tiossemicarbazonas (TSMM1 – TSMM4)

A uma solução metanólica da adequada naftoquinona (**2**, **3**, **4** ou **5**) (0,5 mmol) foi acrescentada uma solução metanólica de 4-metil-3-tiossemicarbazida (0,5 mmol). A mistura reacional foi submetida a aquecimento (50 - 60 °C) e agitação constante, e em seguida adicionou-se uma gota de HCl ao meio reacional, para a síntese de **TSMM2**, **TSMM4** e **TSMM5**, ou acetato de sódio, para a preparação de **TSMM3**. O progresso da reação foi acompanhado por CCDA, o sólido precipitado no meio reacional foi filtrado e lavado com metanol e colocado para secar a temperatura ambiente. Em seguida, os quatro produtos inéditos obtidos (**TSMM2** – **TSMM5**) foram caracterizados por RMN.

1.6.1 Caracterização de 1-(2,2-dimetil-5-oxo-3,4-diidro-2H-benzo[h]cromen-6(5H)-ilideno)metiltiossemicarbazida (**TSMM1**)

Figura A6 - Esquema de síntese da tiossemicarbazona **TSMM1**, derivada da β -lapachona (**2**).



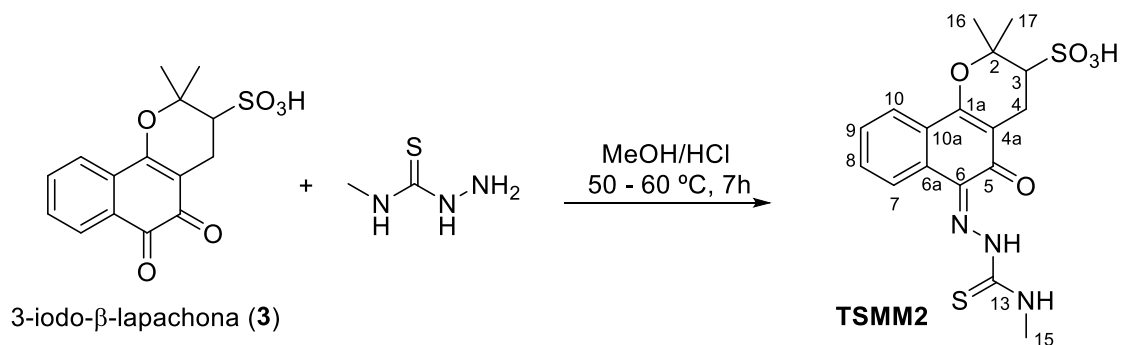
Fonte: Próprio autor, 2024.

Obteve-se um sólido laranja com rendimento de 87%; P.f.: 218 – 219 °C. MS: ([M + H]⁺) m/z 330,1299. ChemBioDraw Ultra 12.0: FM: $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ e MM: 329,12. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] 15,11 (s, 1H, H12); 8,10 – 8,05 (m, 1H, H10); 8,01 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H, NH); 7,88 (dd, $J = 8,2$ e 6,0 Hz, 2H, H7); 7,50 – 7,41 (m, 2H, H8 e H9); 3,34 (d, $J = 4,9$ Hz, 3H, H15); 2,58 (t, $J = 6,7$ Hz, 3H, H4); 1,84 (t, $J = 6,7$

Hz, 3H, H3); 1,45 (s, 6H, H16 e H17). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ [ppm] 181,1 (C5); 179,8 (C13); 161,5 (C1a); 131,4 (C6a); 129,5 (C9); 129,2 (C6); 128,6 (C8); 127,2 (C10a); 123,5 (C7); 122,7 (C10); 111,6 (C4a); 78,5 (C2), 31,7 (C3); 31,5 (C15); 27,1 (C16 e C17); 16,1 (C4). IV: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3346 (N-H); 1700 (C=O); 1600 (C=N); 1200 (C=S).

1.6.2 Caracterização de 6-(2-metilcarbamoiltioidrazona)-2,2-dimetil-5-oxo-3,4,5,6-tetrahidro 2H-benzo[h]cromeno-3-sulfônico ácido (**TSM2**)

Figura A7 - Esquema de síntese da tiossemicarbazona **TSM2** derivada do ácido- β -lapachona-3-sulfônico (**3**).

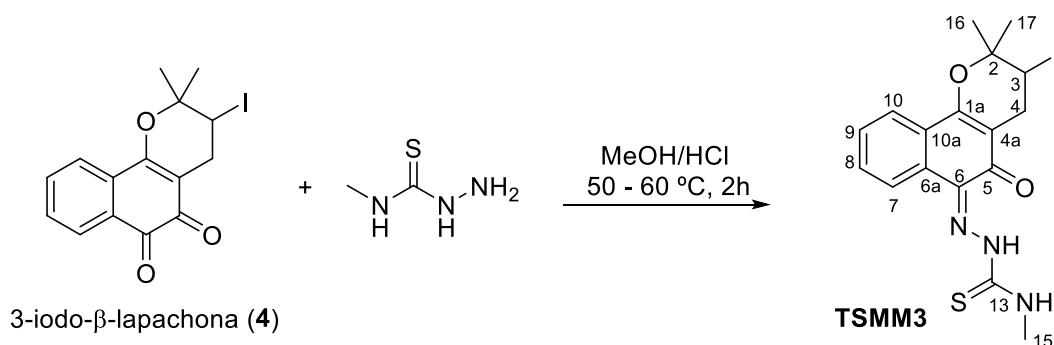


Fonte: Próprio autor, 2024.

Obteve-se um sólido amarelo com rendimento de 73%; carbonizou em 250 °C. MS: ($[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z 410,0873. ChemBioDraw Ultra 12.0: FM: $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_2$ e MM: 409,08. RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ [ppm] 15,04 (s, 1H, C=N-NH); 9,47 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H, SC-NH); 8,62 – 8,55 (m, 1H, H7); 7,84 – 7,75 (m, 1H, H10); 7,58 – 7,47 (m, 2H, H8 e H9); 3,13 (d, $J = 3,37$ Hz, 3H, H15); 2,95 (dd, $J = 17,5$ e 5,2 Hz, 1H, H4); 2,83 (dd, $J = 11,2$ e 5,2 Hz, 1H, H3); 2,54 (dd, $J = 14,0$ e 78,4 Hz, 1H, H4); 1,76 (s, 3H, H17); 1,40 (s, 3H, H16). RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ [ppm] 180,9 (C5); 178,7 (C13); 160,6 (C1a); 131,5 (C6a); 130,3 (C8 \leftrightarrow C9), 129,4 (C6); 129,2 (C8 \leftrightarrow C9); 126,4 (C6); 124,5 (C7); 123,4 (C10); 112,3 (C4a); 82,0 (C2), 59,9 (C3); 32,2 (C15); 29,2 (C16 \leftrightarrow C17); 21,4 (C16 \leftrightarrow C17); 20,8 (C3). IV: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3346 (N-H); 1700 (C=O); 1600 (C=N); 1200 (C=S).

1.6.3 Caracterização de 1-(3-iodo-2,2-dimetil-5-oxo-3,4-diidro-2H-benzo[h]cromeno-6(5H)-ilideno)metiltiossemicarbazida (**TSM3**)

Figura A8 - Esquema de síntese da tiossemicarbazona **TSM3**, derivada do 3-iodo-β-lapachona (**4**).

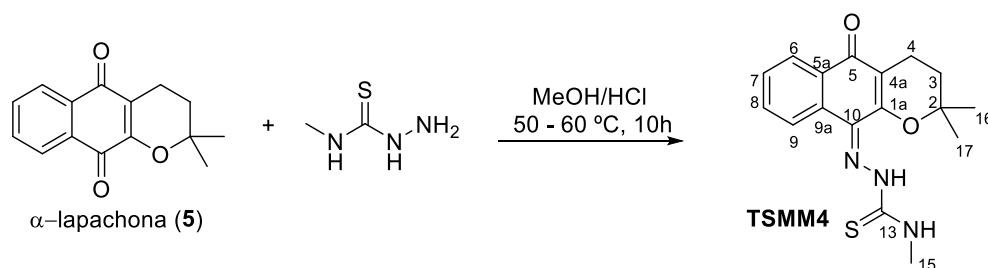


Fonte: Próprio autor, 2024.

Obteve-se um sólido laranja com rendimento de 63%; Pf.: 191 – 192 °C. MS: ([M + H]⁺) *m/z* 456,0269. ChemBioDraw Ultra 12.0: FM: C₁₇H₁₈IN₃O₂S e MM: 455,02. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 15,00 (s, 1H, C=N-NH); 8,09 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, H7); 8,01 (s, 1H, SC-NH), 7,89 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, H10); 7,57 – 7,42 (m, 2H, H8 e H9); 4,36 (t, *J* = 6,7 Hz, 1H, H3); 3,34 (d, *J* = 3,9 Hz, 4H, H4 e H15); 3,16 (dd, *J* = 17,9 e 8,6 Hz, 1H, H4); 1,69 (s, 3H, H16); 1,61 (s, 3H, H17). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ[ppm] 179,6 (C5); 179,0 (C13); 160,0 (C1a); 130,2 (C8 e C9); 128,7 (C8 e C9); 123,6 (C10); 122,8 (C7); 110,5 (C1a); 80,6 (C2), 31,5 (C15); 30,5 (C4); 29,0 (C3); 26,9 (C16↔C17). IV: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] 3346 (N-H); 1700 (C=O); 1600 (C=N); 1200 (C=S).

1.6.4 Caracterização de 1-(2,2-dimetil-5-oxo-3,4-diidro-2H-benzo[g]cromeno-10(5H)ilideno)metiltiossemicarbazida (**TSM4**)

Figura A9 - Esquema de síntese da tiossemicarbazona **TSMM4**, derivada da α -lapachona (**5**).



Fonte: Próprio autor, 2024.

Obteve-se um sólido amarelo com rendimento de 57%; Pf.: 217 – 219 °C. MS: ([M + H]⁺) *m/z* 330,1303. ChemBioDraw Ultra 12.0: FM: C₁₇H₁₉N₃O₂S e MM: 329,12. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] 12,08 (s, 1H, C=N-NH); 8,10 (dd, *J* = 19,0 e 7,5 Hz, 2H, H6 e H9); 7,76 (s, 1H, SC-NH); 7,61 – 7,43 (m, 2H, H7 e H8); 3,33 (s, 3H, H15); 2,63 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, H4), 1,87 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H, H3), 1,53 (s, 6H, H16 e H17). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ [ppm] 183,1 (C5); 178,7 (C13); 155,0 (C1a); 133,0 (C10); 131,8 (C7 \leftrightarrow C8); 130,0 (C9a); 129,2 (C7 \leftrightarrow C8); 128,1 (C5a); 126,1 (C6 \leftrightarrow C9); 123,1 (C6 \leftrightarrow C9); 116,2 (C4a); 80,0 (C2); 31,4 (C15); 31,2 (C3); 26,7 (C16 e C17); 16,9 (C4). IV: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] 3346 (N-H); 1700 (C=O); 1600 (C=N); 1200 (C=S).

APÊNDICE B

Tabela B1 - Deslocamento químico de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) e ^1H (400 MHz, CDCl_3) e correlações C-H do lapachol (**1**).

Lapachol (1)			HMBC
C	δ_{C}	δ_{H}	$^{2-3}J_{\text{C-H}}$
1	181,7	-	OH
2	125,6	-	H9; OH
3	123,5	-	H9; OH
4	184,5	-	H9; OH
4a	129,3	-	H5
5	126,1	8,12 (m, 1H)	-
6	135,0	7,75 (td, $J=7,6$; 1,4Hz, 1H)	H8
7	133,0	7,67 (td, $J=7,5$; 1,4 Hz, 1H)	H5, H6, H8
8	126,9	8,07 (m, 1H)	H6, H7
8a	129,6	-	H7
9	22,6	3,31 (d, $J=7,4$ Hz, 2H)	H10
10	119,6	5,21 (m, 1H)	H9, H12, H13
11	133,9	-	H9, H12, H13
12	25,9	1,69 (s, 3H)	H10, H13
13	18,0	1,79 (s, 3H)	H10, H12
OH	-	7,33 (s, 1H)	-

(\leftrightarrow) Indica semelhança do ambiente químico por isso os deslocamentos podem estar trocados.

Setas azuis representam o acoplamento ^1H , ^{13}C a $^{2-3}J_{\text{C-H}}$ espectro HMBC.

Setas vermelhas representam o acoplamento entre os hidrogênios vicinais do espectro COSY.

Fonte: Próprio autor, 2023

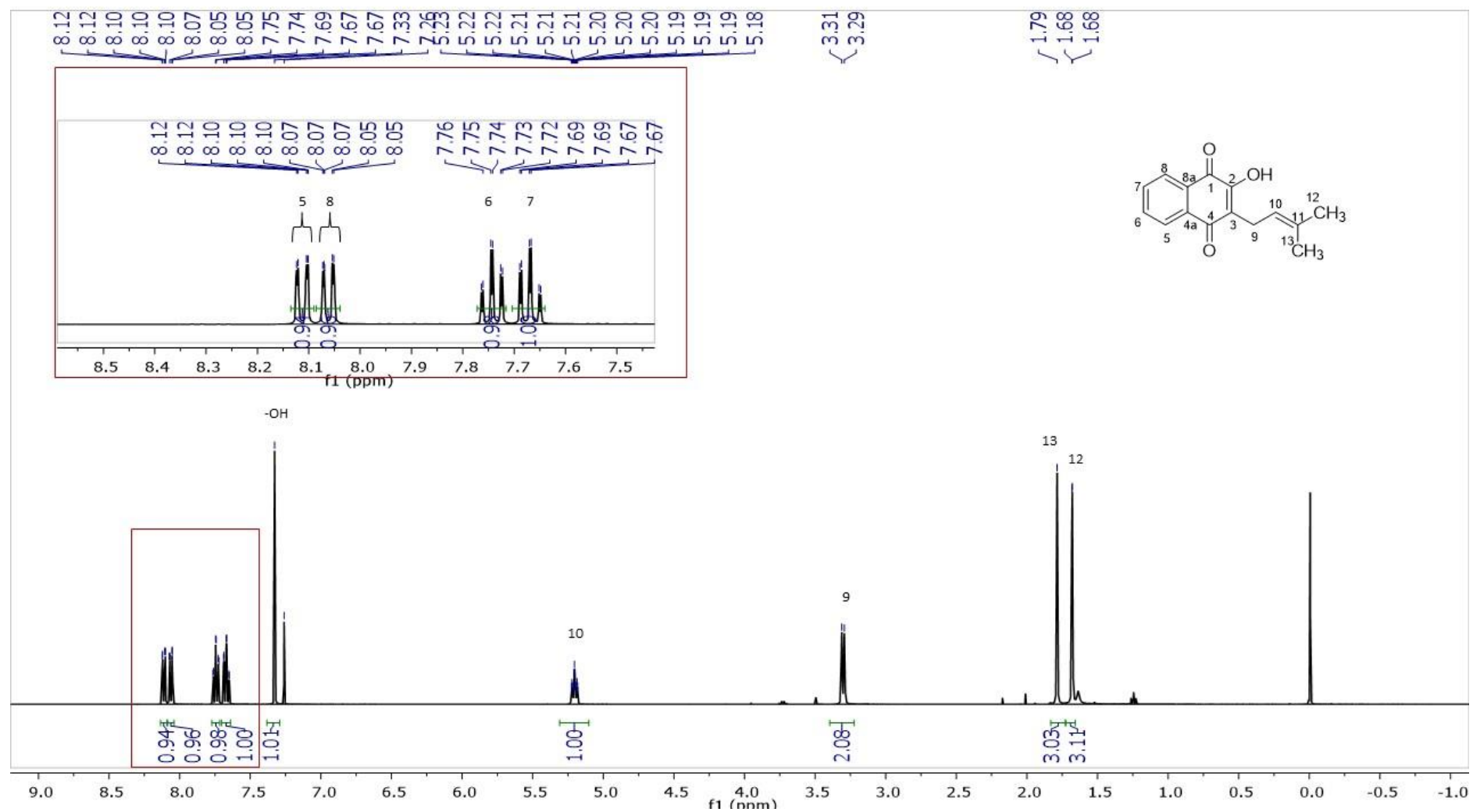
Figura B1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do lapachol (**1**).

Figura B2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do lapachol (**1**).

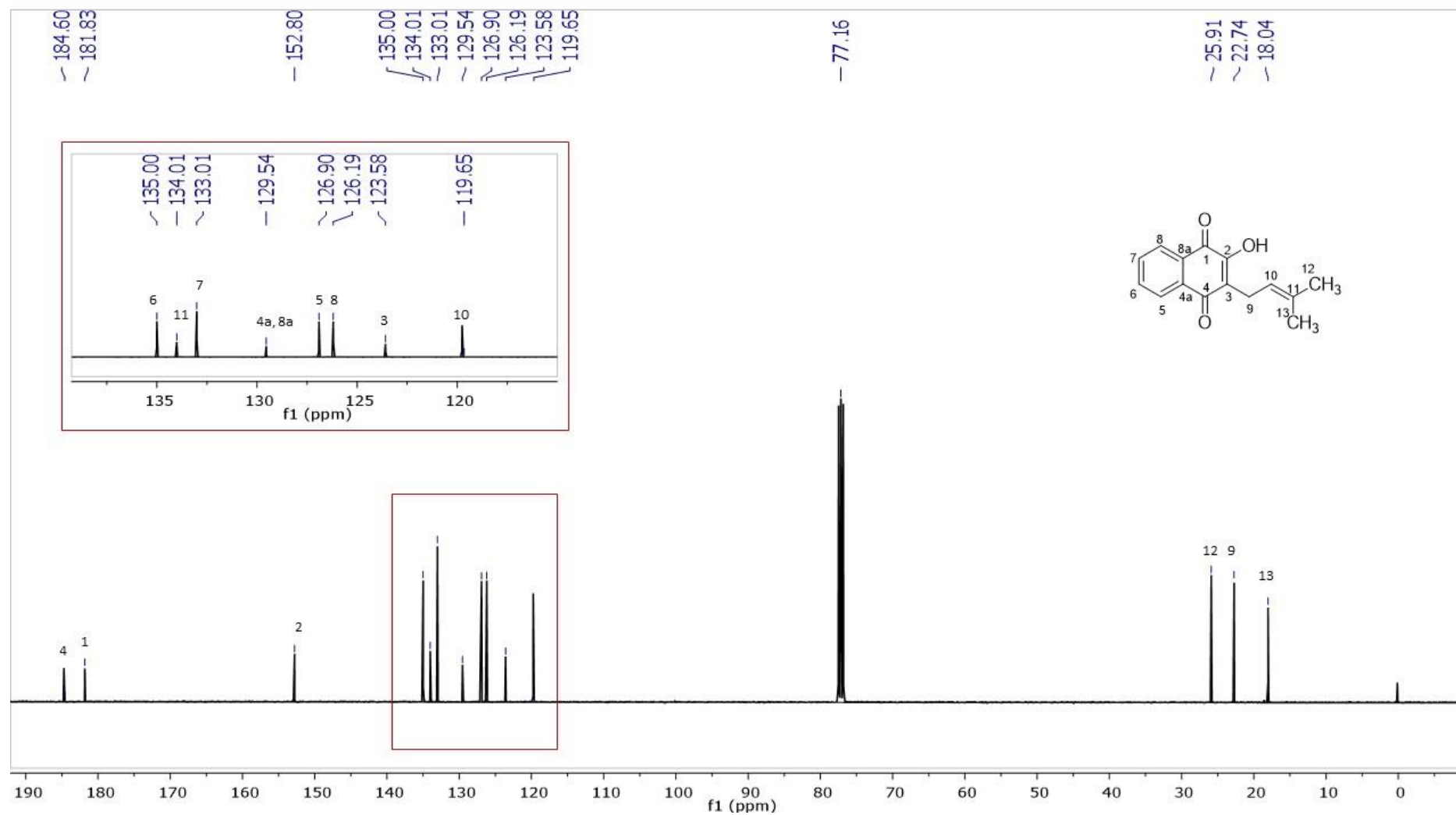


Figura B3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (100 MHz, CDCl_3) do lapachol (**1**).

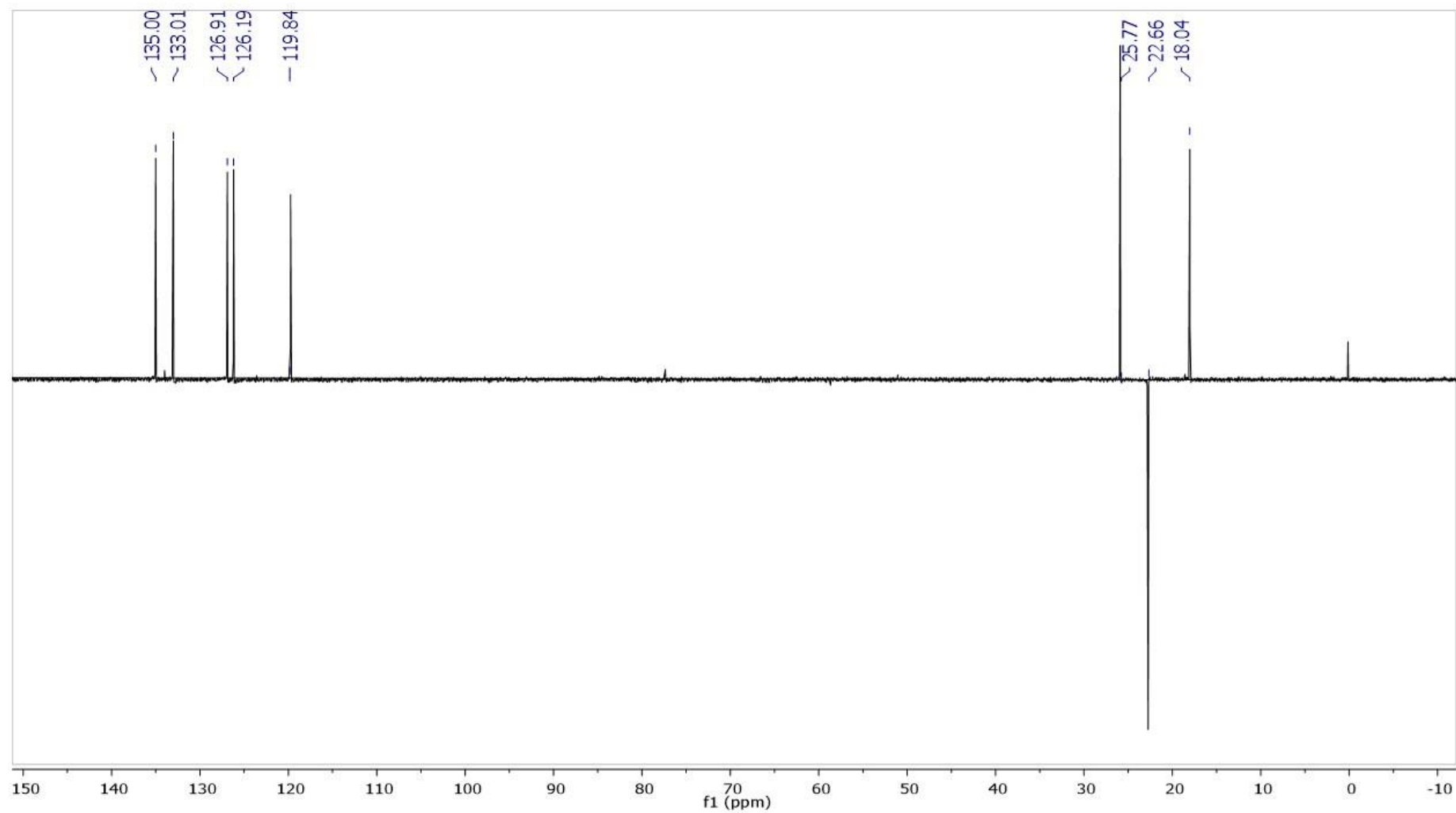


Figura B4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) do lapachol (**1**).

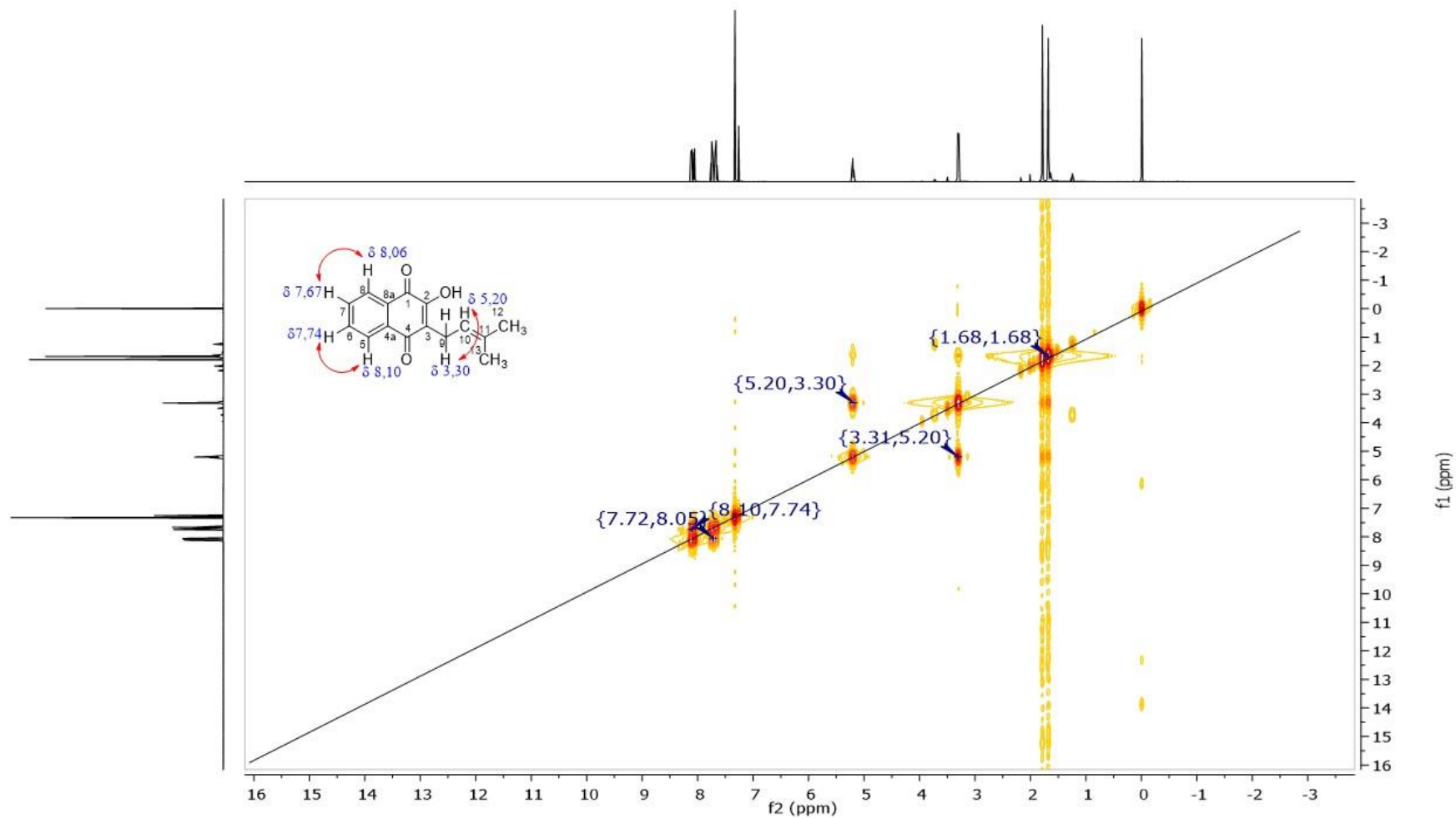


Figura B5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) do lapachol (**1**).

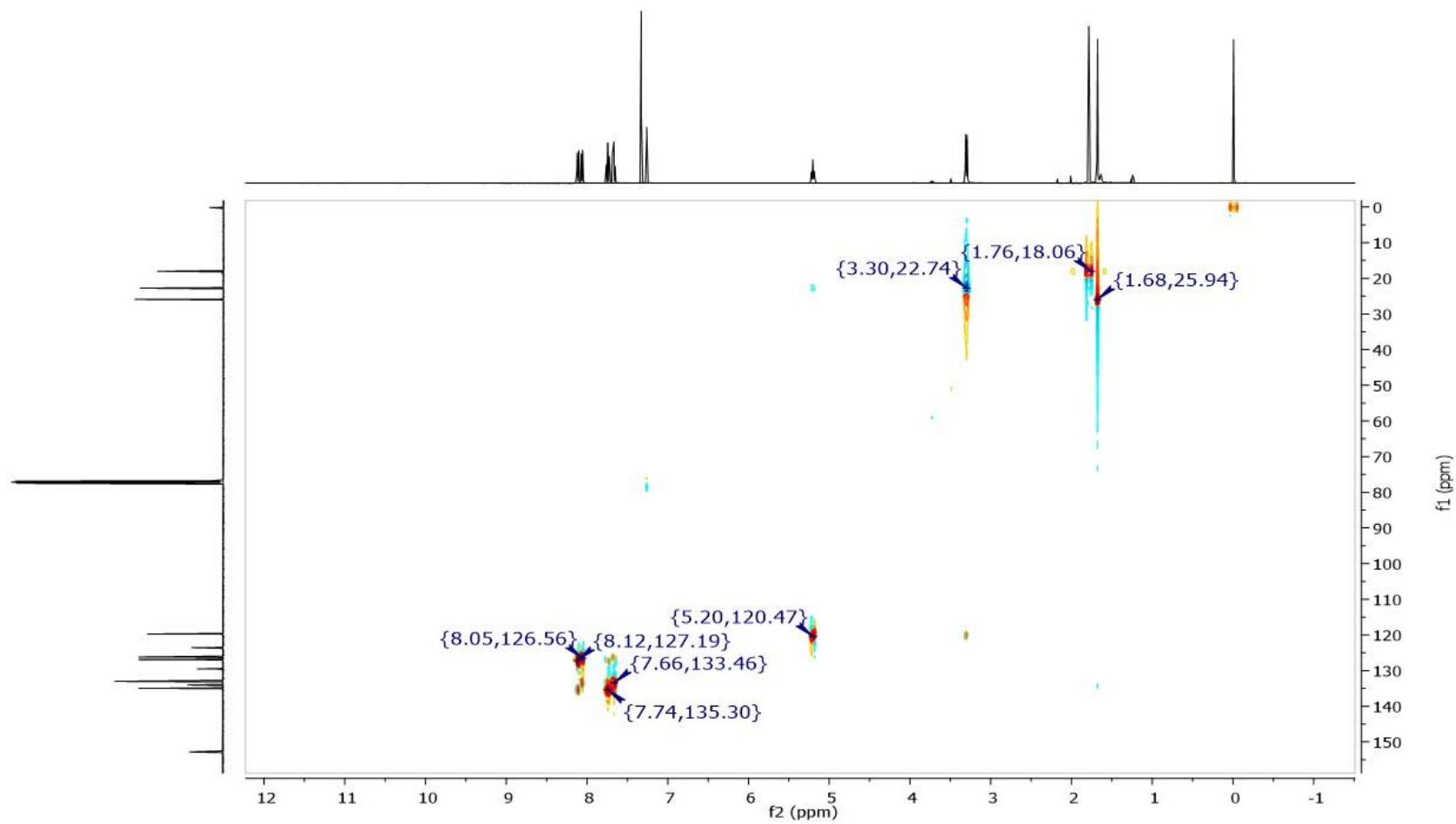
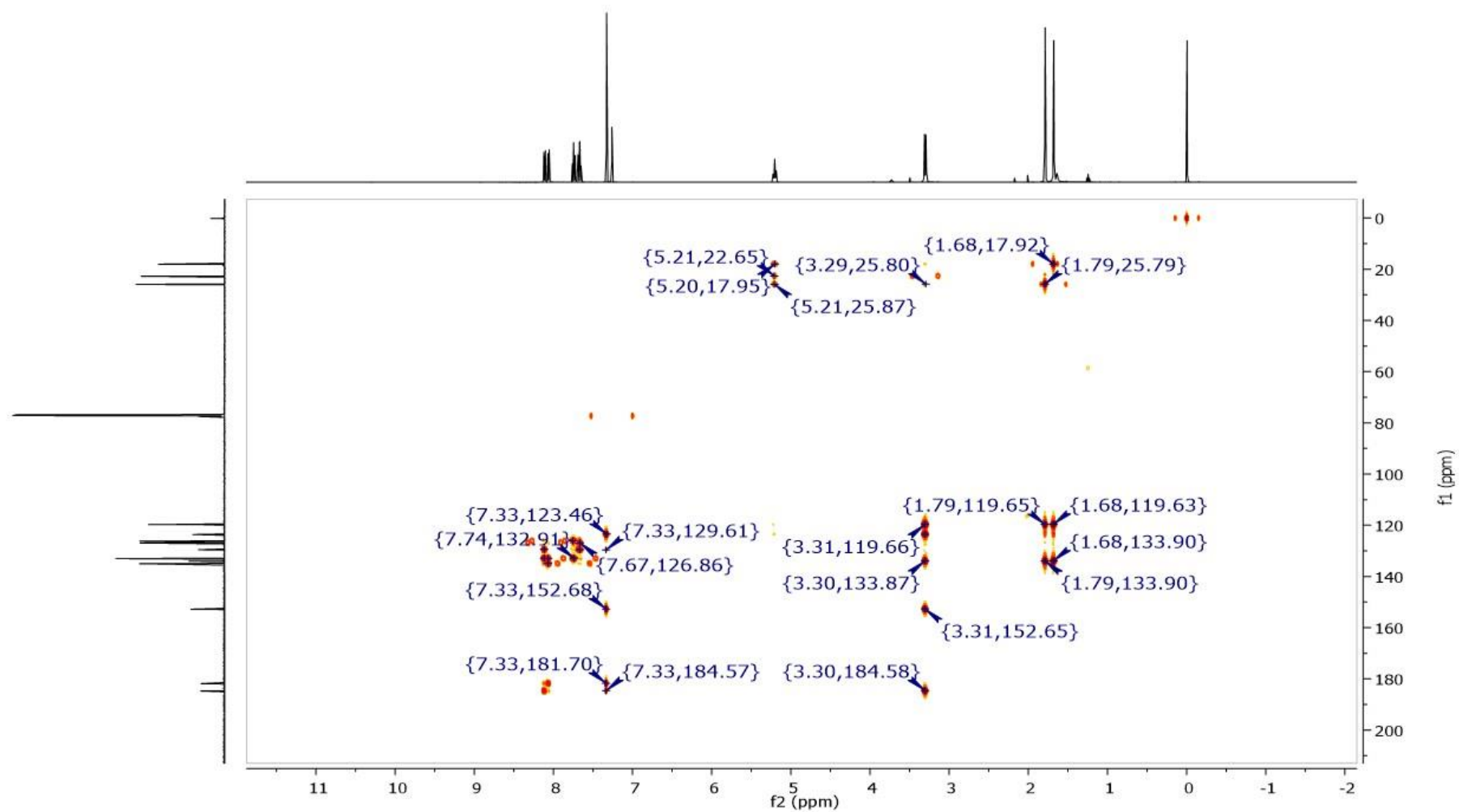
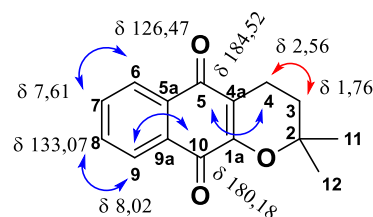
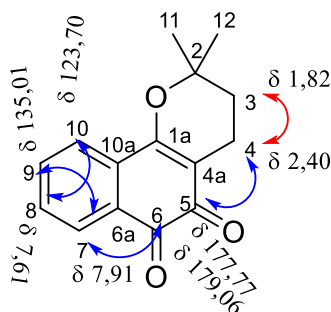


Figura B6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) do lapachol (**1**).



APENDICE C

Tabela C1- Deslocamento químico de RMN de ^{13}C e ^1H e correlações C-H da β -lapachona (**2**) de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) e ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) e α -lapachona (**3**) de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) e ^1H (400 MHz, CDCl_3).



β -lapachona (2)				α -lapachona (3)			
HSQC		HMBC		HSQC		QMBC	
C	δ_c	δ_H	$^{2-3}J_{C-H}$	C	δ_c	δ_H	$^{2-3}J_{C-H}$
1a	160,6	-	H4; H10	1a	154,7	-	H4
2	79,0	-	H3; H4; H11; H12	2	78,2	-	H3, H4, H11, H12
3	30,8	1,82 (t, $J=6,6$ Hz, 2H)	H4; H11; H12	3	31,4	1,76 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H)	H4, H11, H12
4	15,9	2,40 (t, $J=6,6$ Hz, 2H)	H3, H11, H12	4	16,8	2,56 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H)	H3, H11, H12
4a	112,5	-	H3, H4	4a	120,2	-	H3, H4
5	177,8	-	H4	5	184,5	-	H4, H6
6	179,0	-	H7	5a \leftrightarrow 9a	132,2	-	H6, H7, H9
6a	129,9	-	H8	6	126,4	8,02 (m, 2H)	H7, H8
7	127,8	7,91 (d, $J=7,6$ Hz, 1H)	H9, H10	7	134,0	7,61 (m, 2H)	H6, H9
8	130,8	7,61 (m, 1H)	-	8	133,0	7,61 (m, 2H)	H6, H9
9	135,0	7,77 (m, 2H)	H7	9	126,4	8,02 (m, 2H)	H7, H8
10a	123,7	7,77 (m, 2H)	H8, H9, H10	9a \leftrightarrow 5a	132,2	-	H7, H8
11	132,1	-	H7, H9, H10	10	180,1	-	H4, H7, H8
12	26,3	1,43 (s, 6H)	H3, H12	11	26,5	1,37 (s, 6H)	H3, H12

(\leftrightarrow) Indica semelhança do ambiente químico por isso os deslocamentos podem estar trocados. Setas azuis representam o acoplamento ^1H , ^{13}C a $^{2-3}J_{C-H}$ espectro HMBC. Setas vermelhas representam o acoplamento entre os hidrogênios vicinais do espectro COSY.

Fonte: Próprio autor, 2023

Figura C1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) da β -lapachona (**2**).

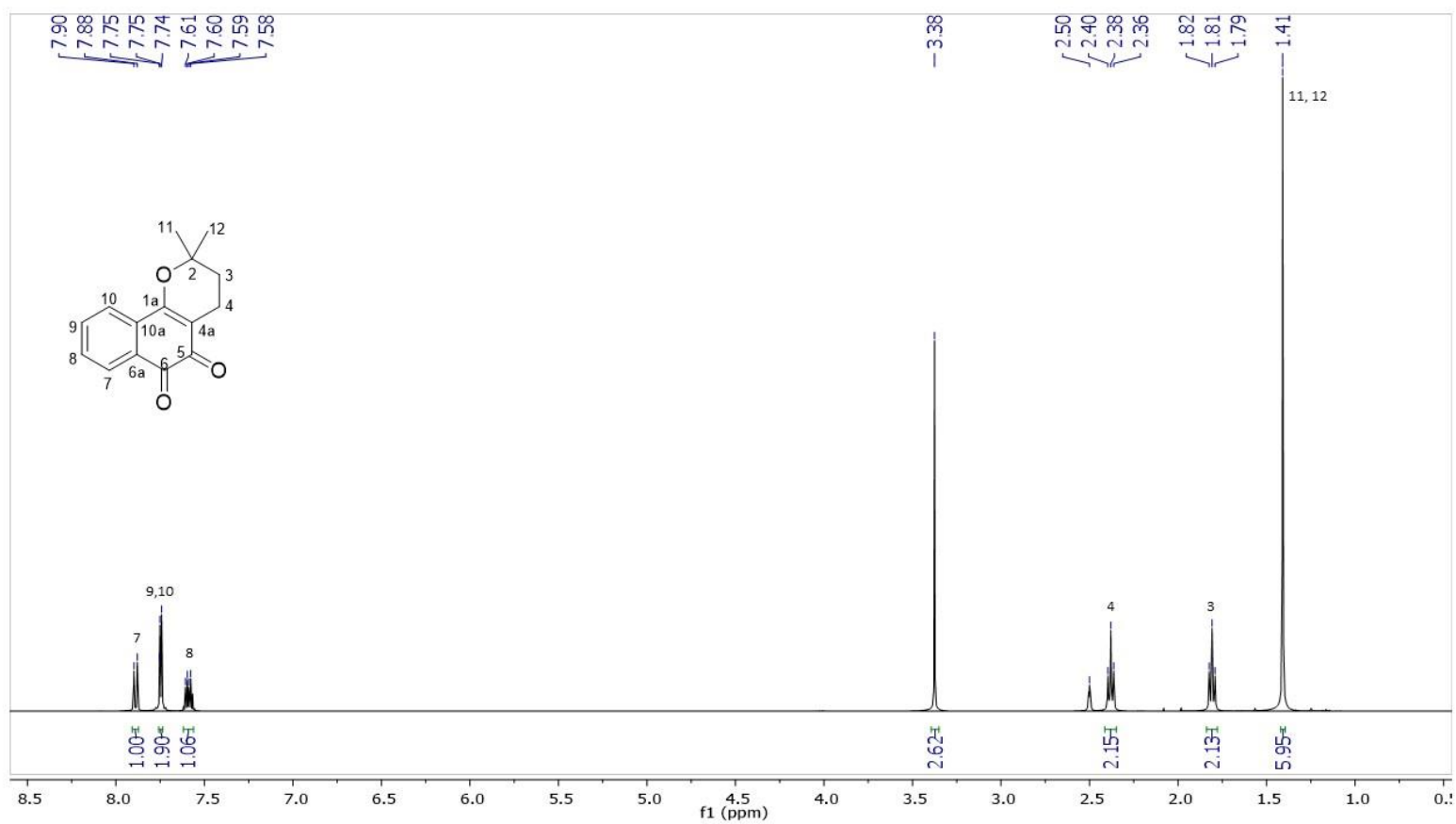


Figura C2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) da β -lapachona (**2**).

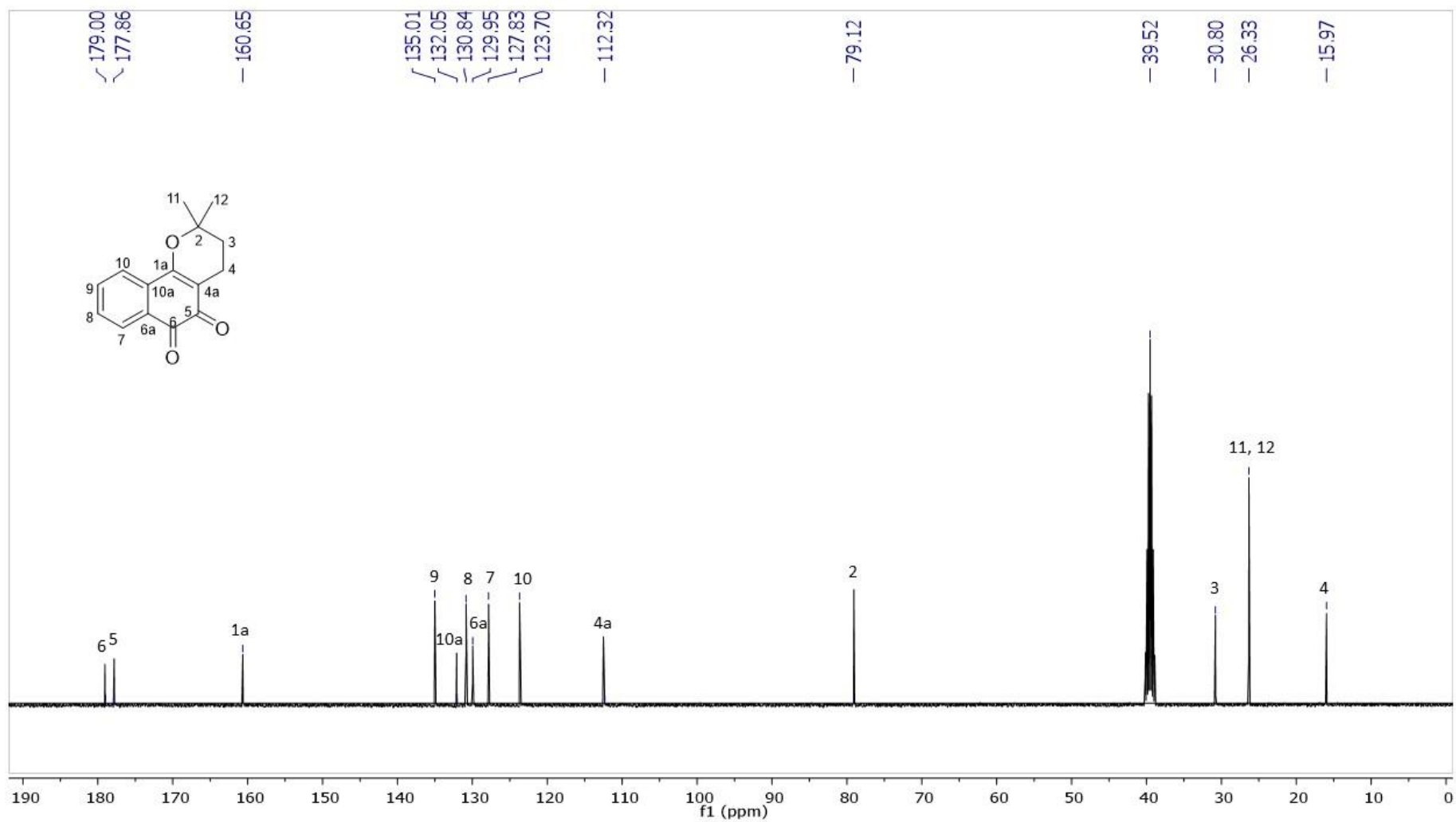


Figura C3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (100 MHz, DMSO- d_6) da β -lapachona (**2**).

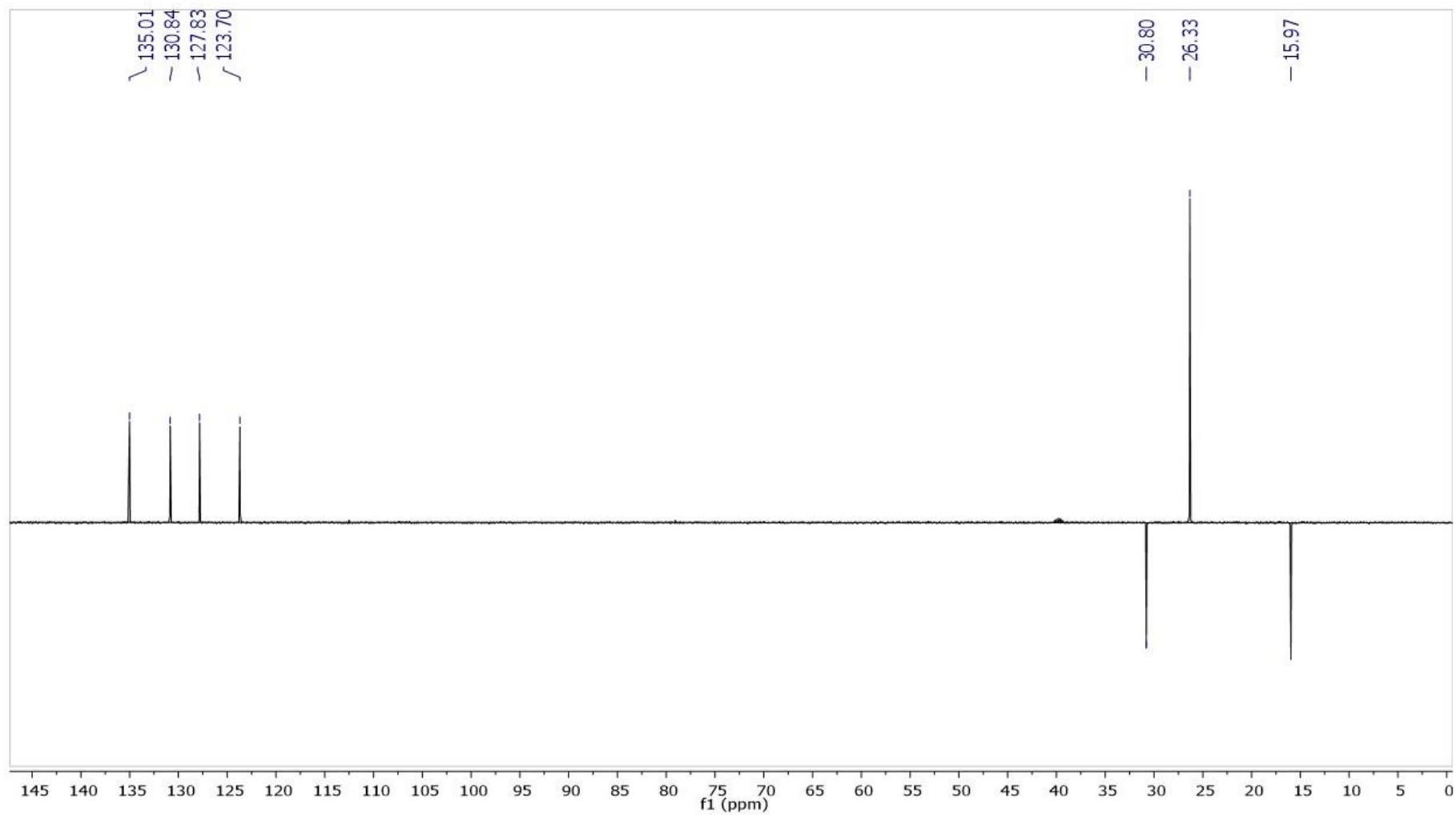


Figura C4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, DMSO-d_6) da β -lapachona (**2**).

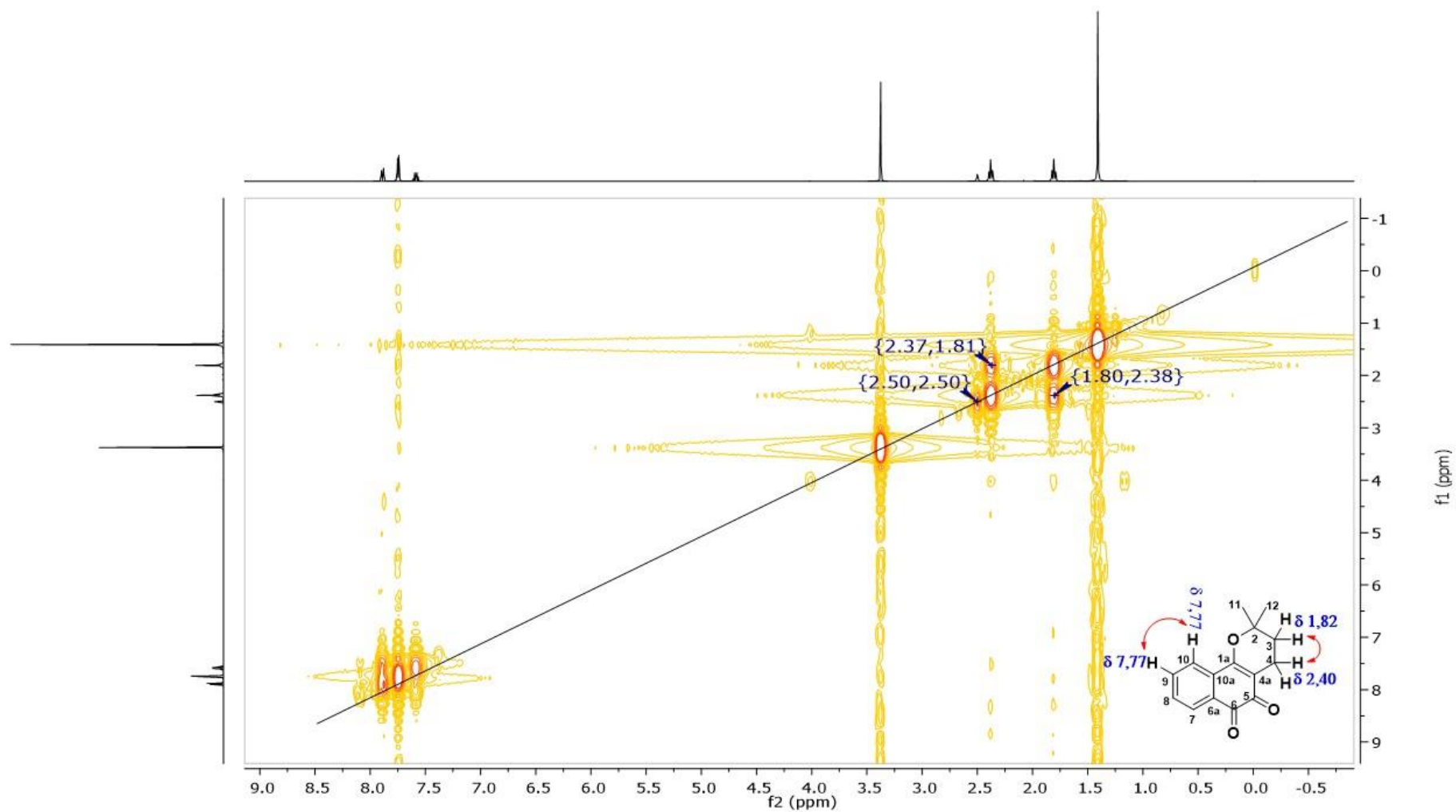


Figura C5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, DMSO- d_6) da β -lapachona (**2**).

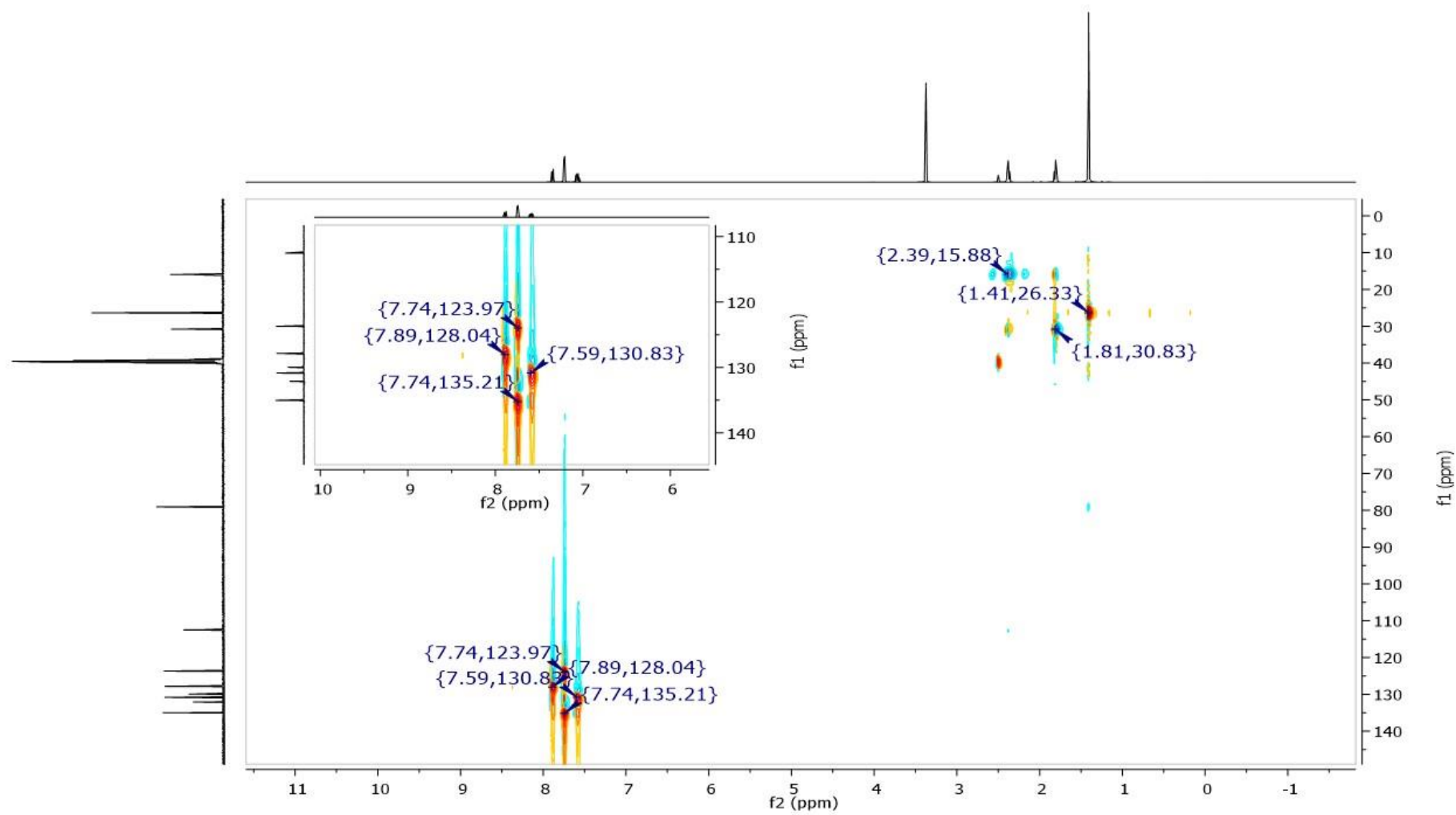
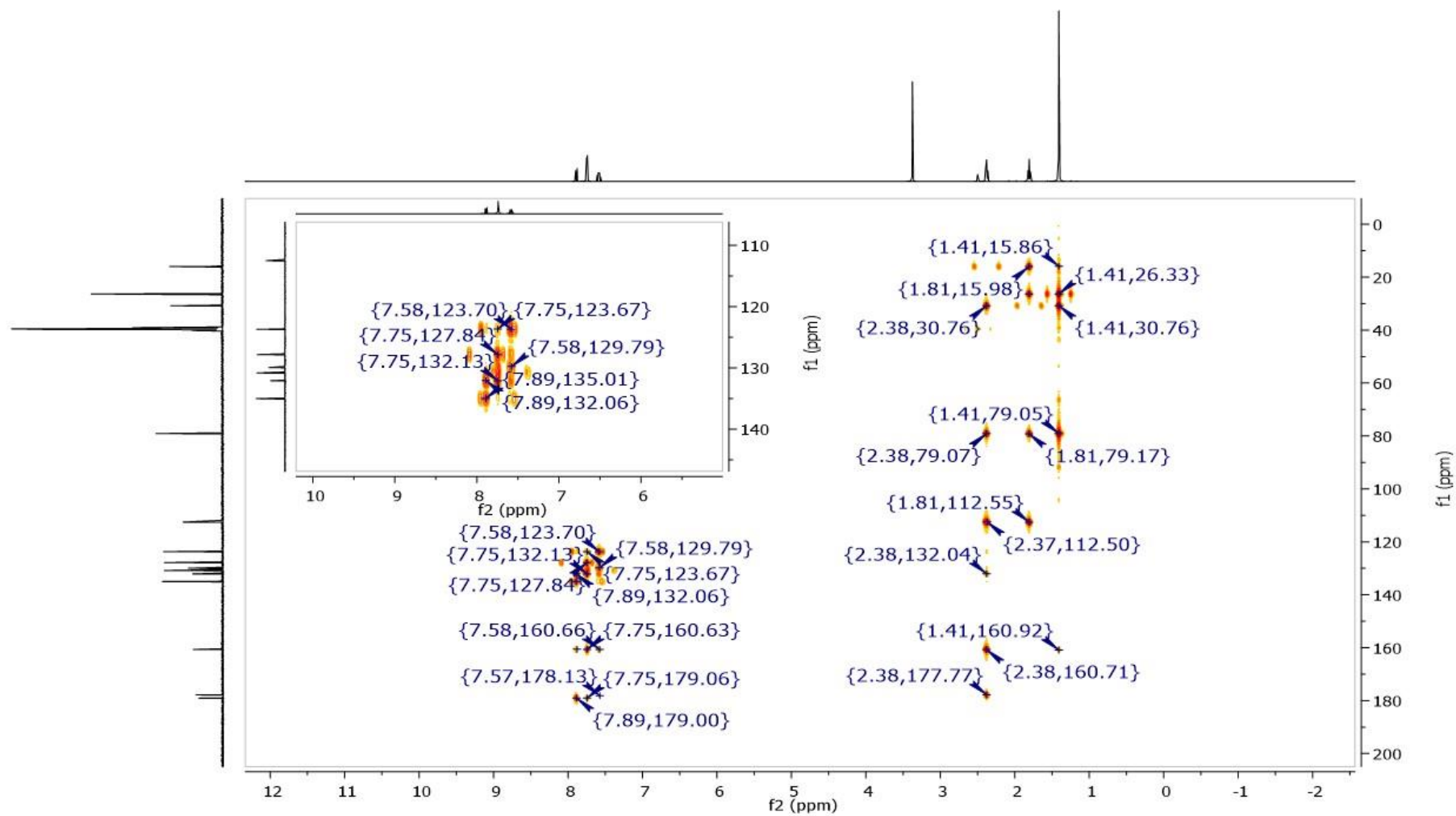


Figura C6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, DMSO-d_6) da β -lapachona (**2**).



APÊNDICE D

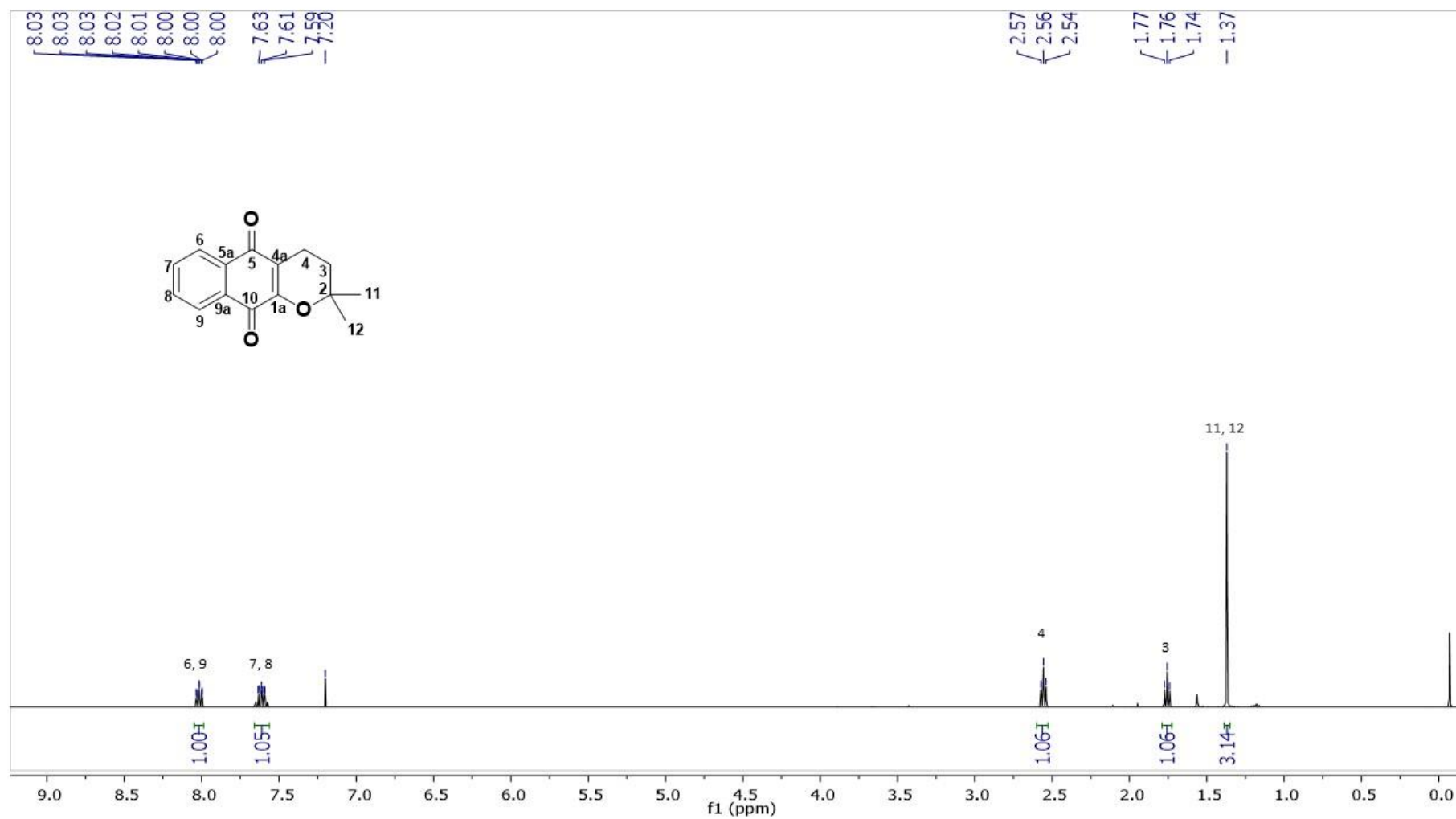
Figura D1- Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (**5**).

Figura D2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (**5**).

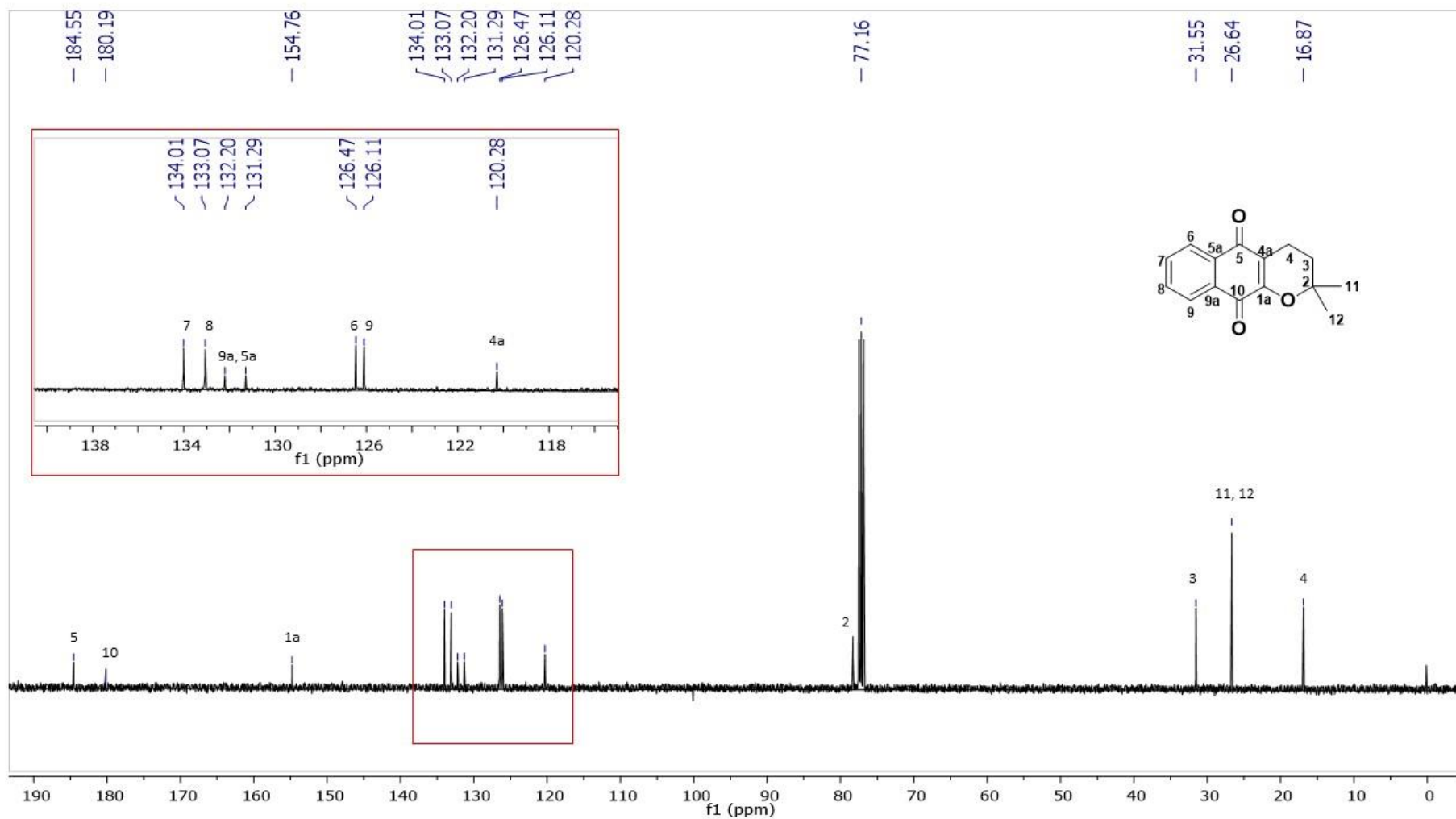


Figura D 3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (100 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (**5**).

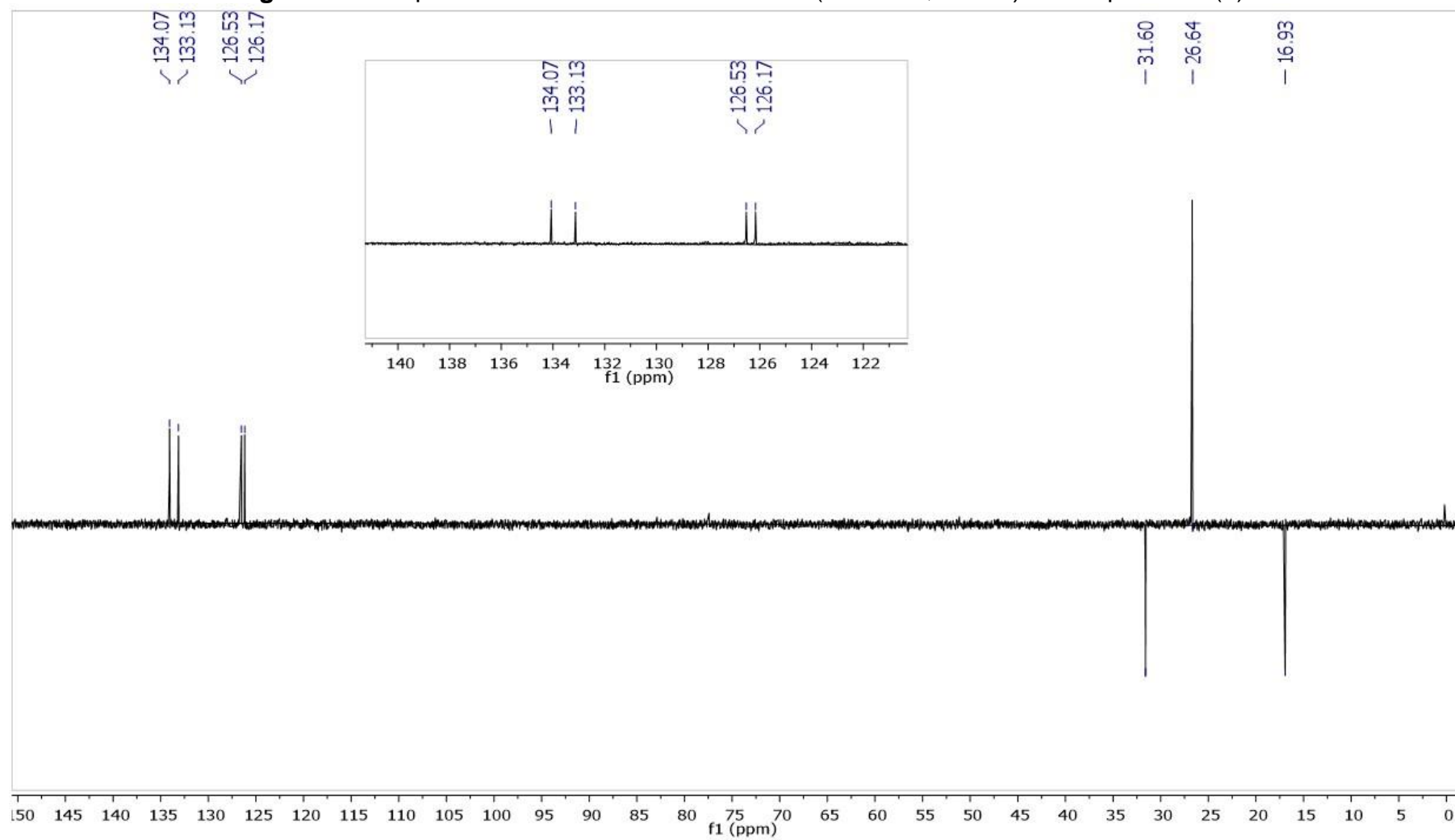


Figura D4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (**5**).

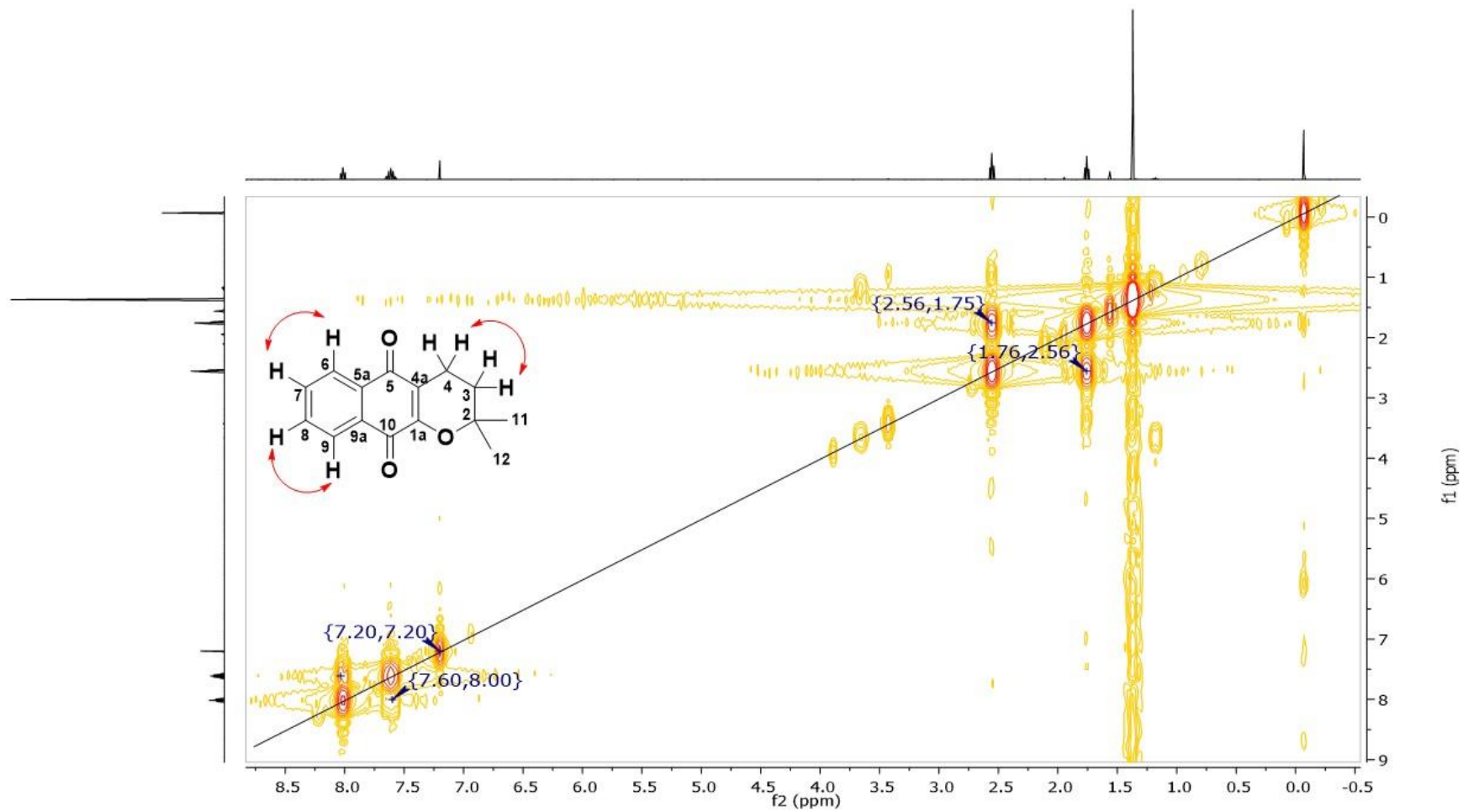


Figura D5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (**5**).

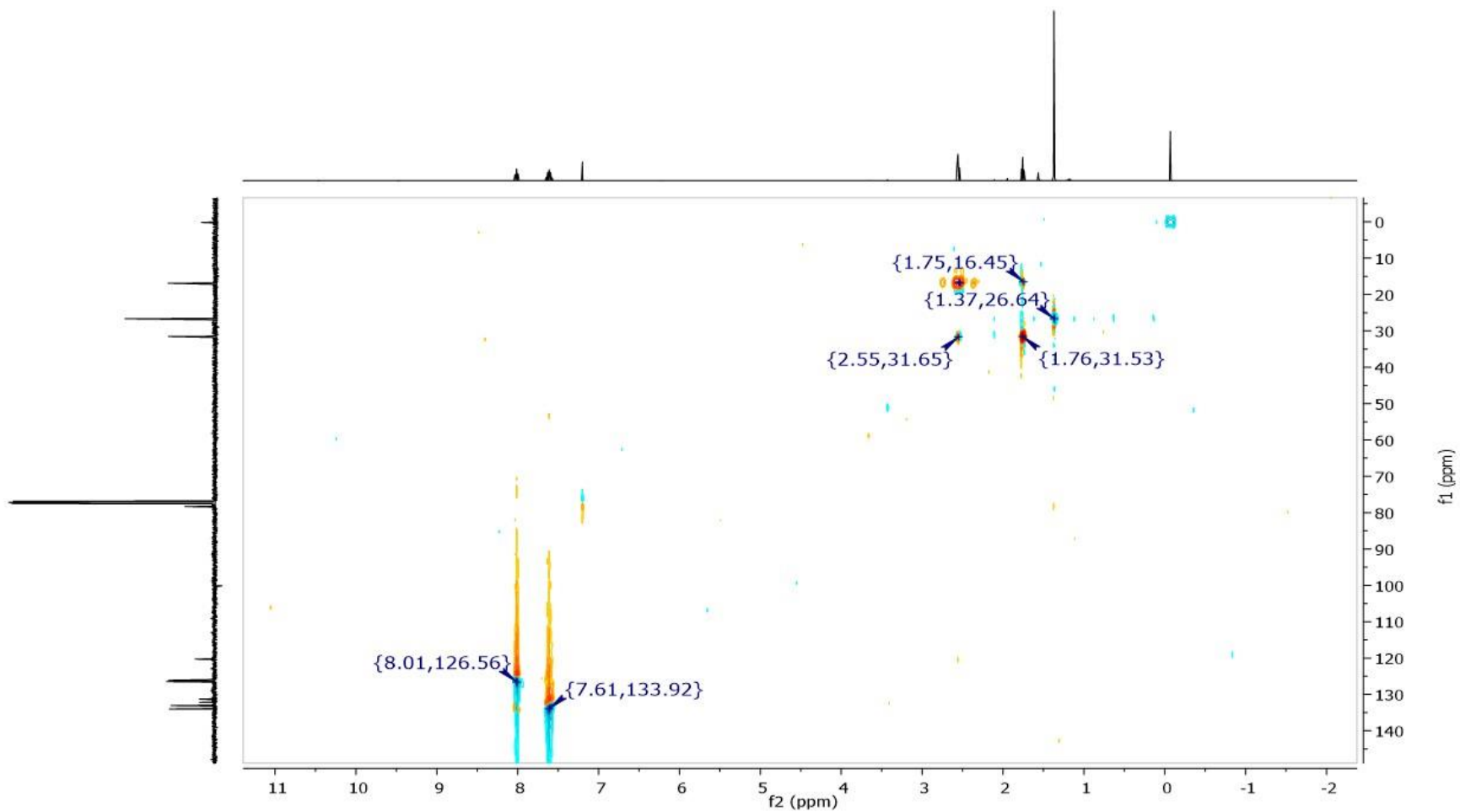
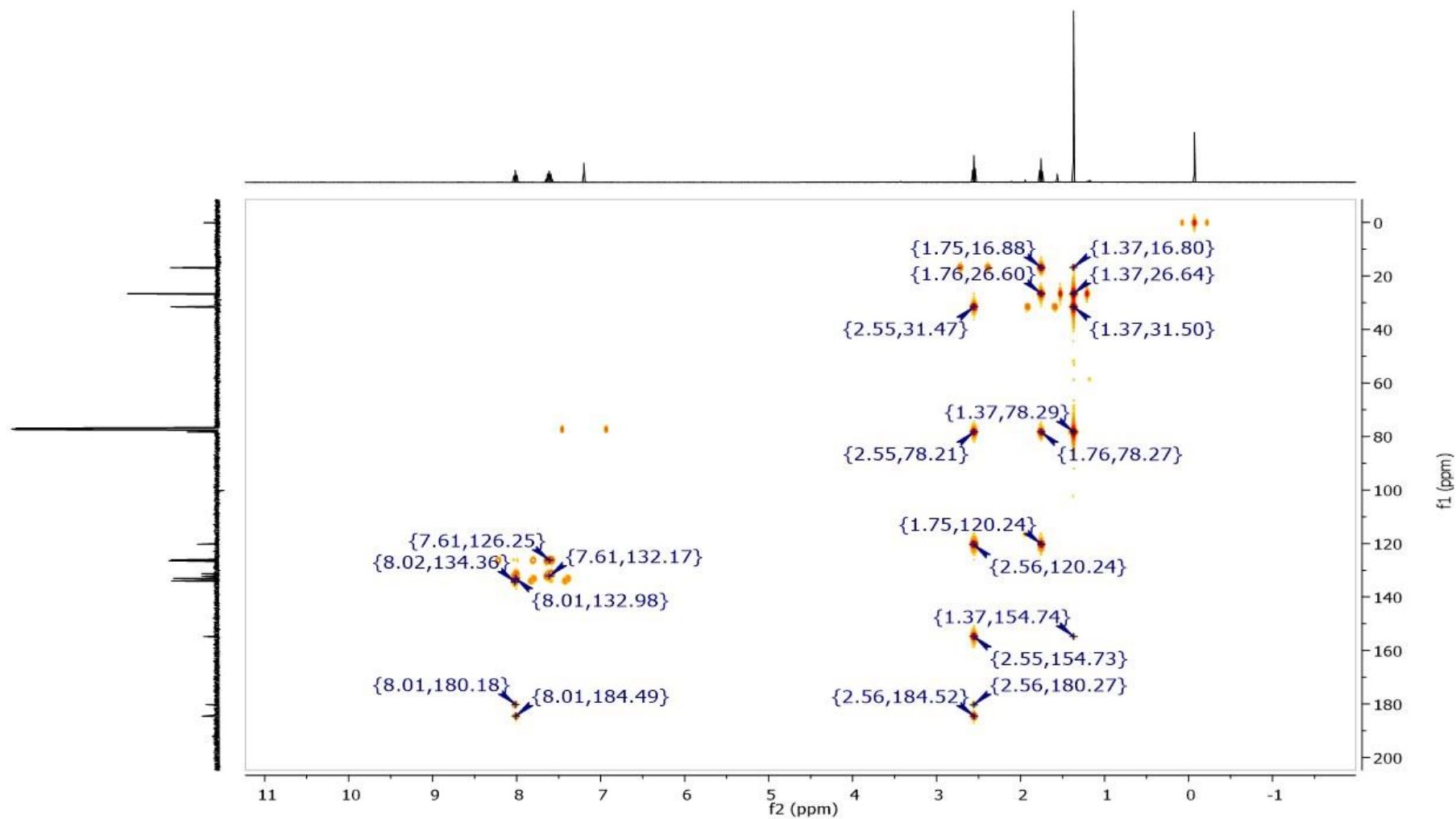
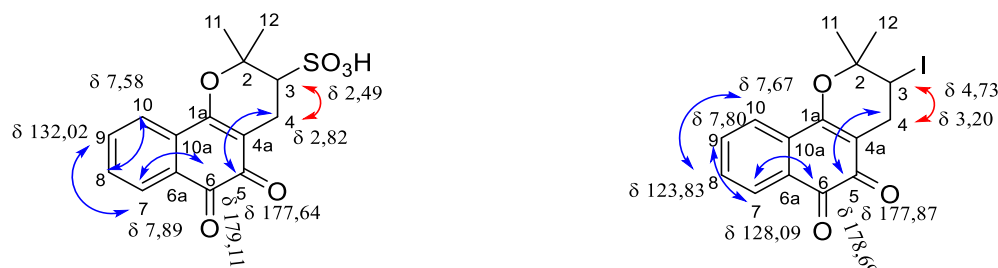


Figura D6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) da α -lapachona (**5**).



APÊNDICE E

Tabela E1 - Deslocamento químico de RMN de ^{13}C e ^1H e correlações C-H da β -lapachona-3-sulfônico (**4**) ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) e ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) e da 3-iodo- β -lapachona (**5**) ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) e ^1H (400 MHz, DMSO- d_6).



β -lapachona-3-sulfônico (4)				3-iodo- β -lapachona (5)			
HSQC		HMBC		HSQC		QMBC	
δ_{C}	δ_{H}	$^{2-3}J_{\text{C-H}}$		C	δ_{C}	δ_{H}	$^{2-3}J_{\text{C-H}}$
1a	159,8	-	H3, H4, H12	1a	160,2	-	H4, H10
2	82,0	-	H3, H4, H11, H12	2	81,1	-	H3, H4, H11, H12
3	59,4	2,49 (m, 1H)	H3, H4, H11, H12	3	30,9	4,73 (t, $J = 5,8\text{Hz}$, 1H)	H4, H11, H12
4	21,1	2,81 (m, 2H)	H4, H12	4	30,7	3,00 (m 1H)	H3
4a	112,8	-	H3, H4	4a	112,1	-	H3, H4
5	177,5	-	H4	5	177,8	-	H4
6	179,1	-	H7	6	179,0	-	H7
6a	131,9	-	H8, H9	6a	130,4	-	H7, H8, H10
7	127,8	7,89 (d, $J = 7,4\text{Hz}$, 1H)	H8, H9	7	128,5	7,95 (d, $J = 7,5\text{Hz}$, 1H)	H8, H9
8	123,8	7,73 (m, 2H)	H10	8	124,2	7,80 (d, $J = 3,5\text{ Hz}$, 2H)	H7, H9, H10
9	135,0	7,73 (m, 2H)	H7, H8, H10	9	135,6	7,80(d, $J=3,5\text{ Hz}$, 2H)	H7, H8, H10
10	130,8	7,58 (m, 1H)	H7	10	131,6	7,70 (m, 1H)	H8, H9
10a	129,9	-	-	10a	131,9	-	H7, H9, H10
11	28,6	1,74 (s, 3H)	H12	11	27,4	1,60 (s, 3H)	H3, H12
12	20,4	1,41 (s, 3H)	H11	12	25,0	1,59 (s, 3H)	H3, H11

(\leftrightarrow) Indica semelhança do ambiente químico por isso os deslocamentos podem estar trocados. Setas azuis representam o acoplamento ^1H , ^{13}C a $^{2-3}J_{\text{C-H}}$ espectro HMBC. Setas vermelhas representam o acoplamento entre os hidrogênios vicinais do espectro COSY.

Fonte: Próprio autor, 2023

Figura E1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (**3**).

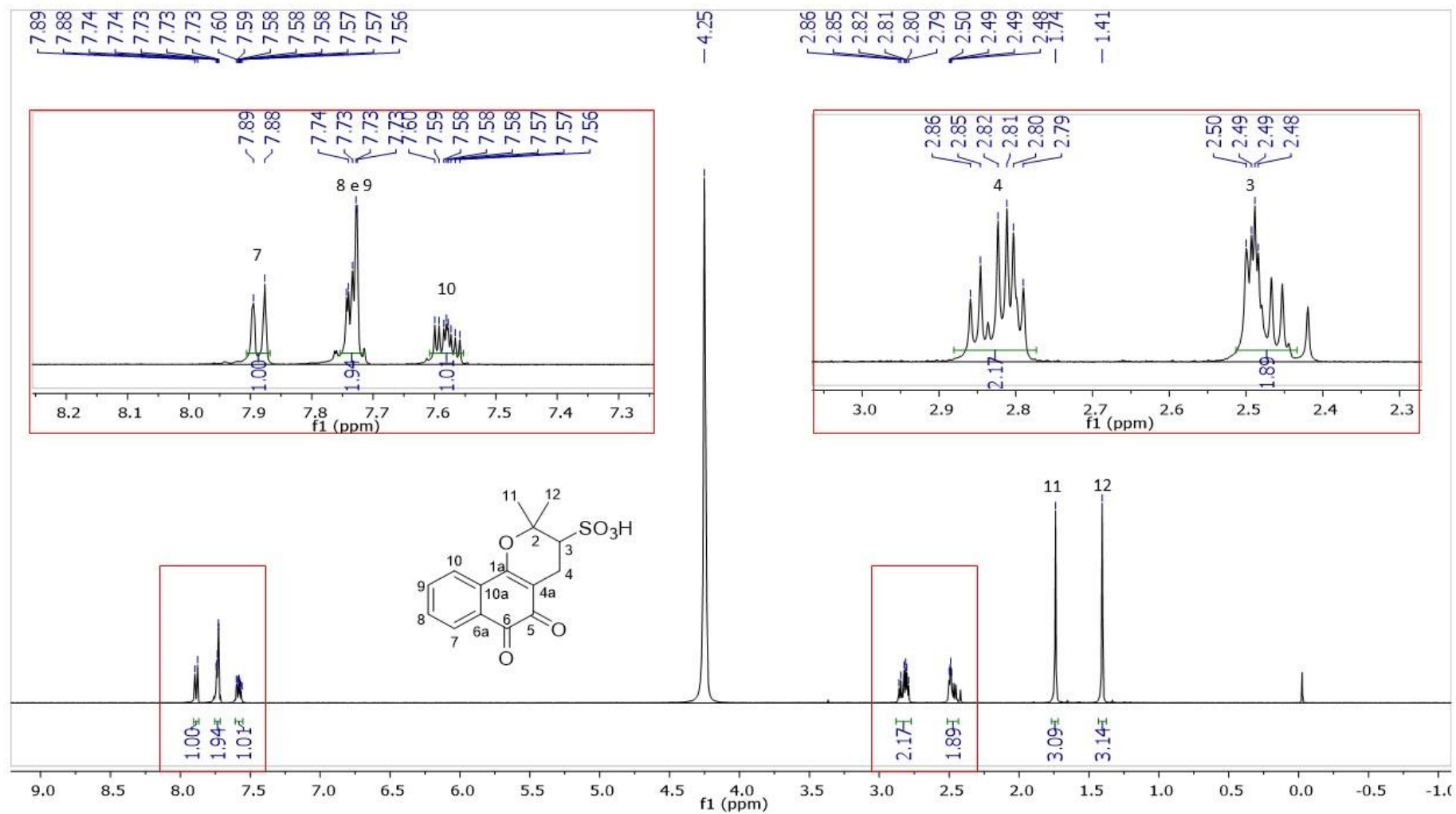


Figura E2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (**3**).

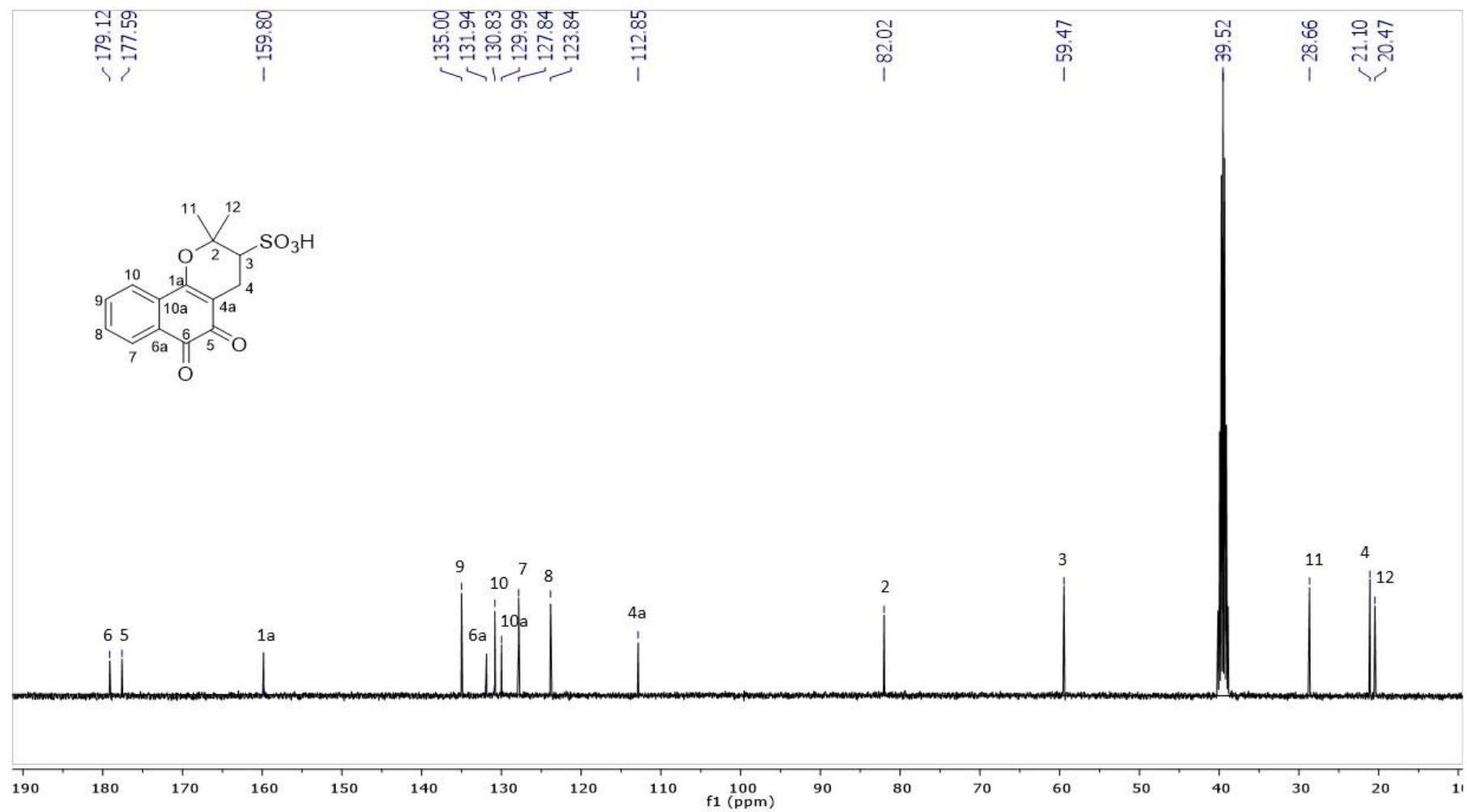


Figura E3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135 $^{\circ}$ (100 MHz, DMSO- d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (**3**).

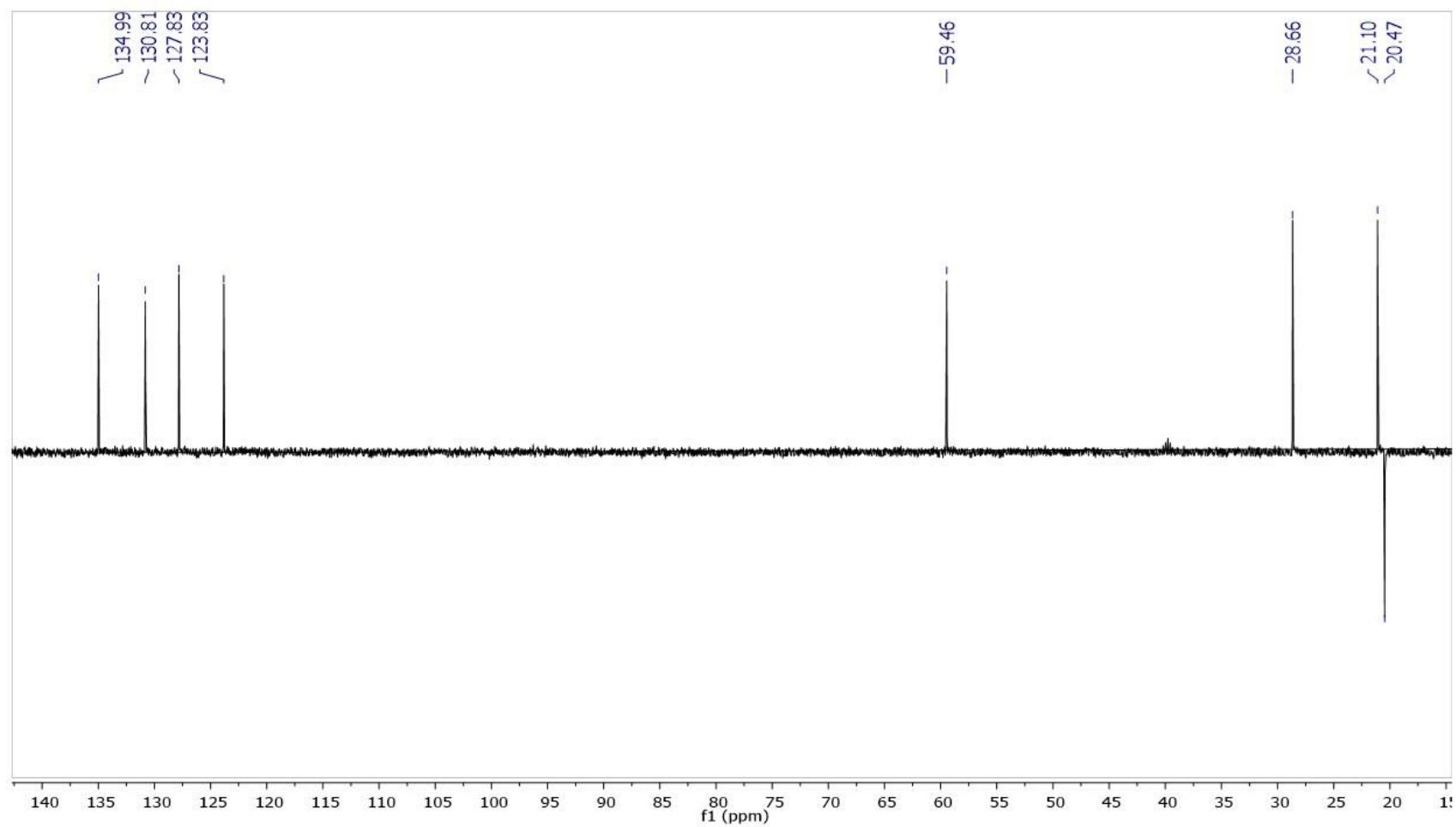


Figura E4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, DMSO-d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (**3**).

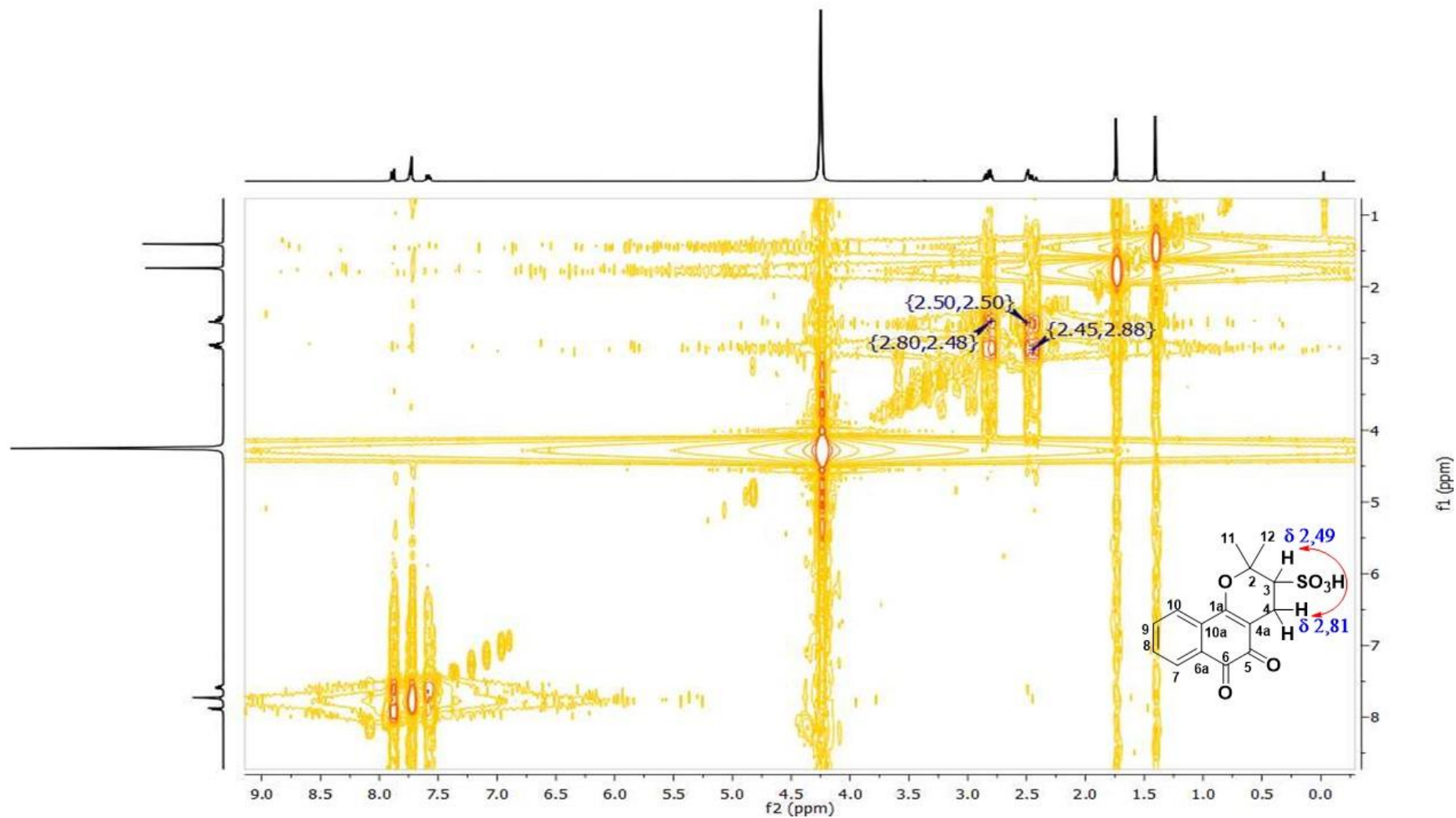


Figura E5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, DMSO-d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (**3**).

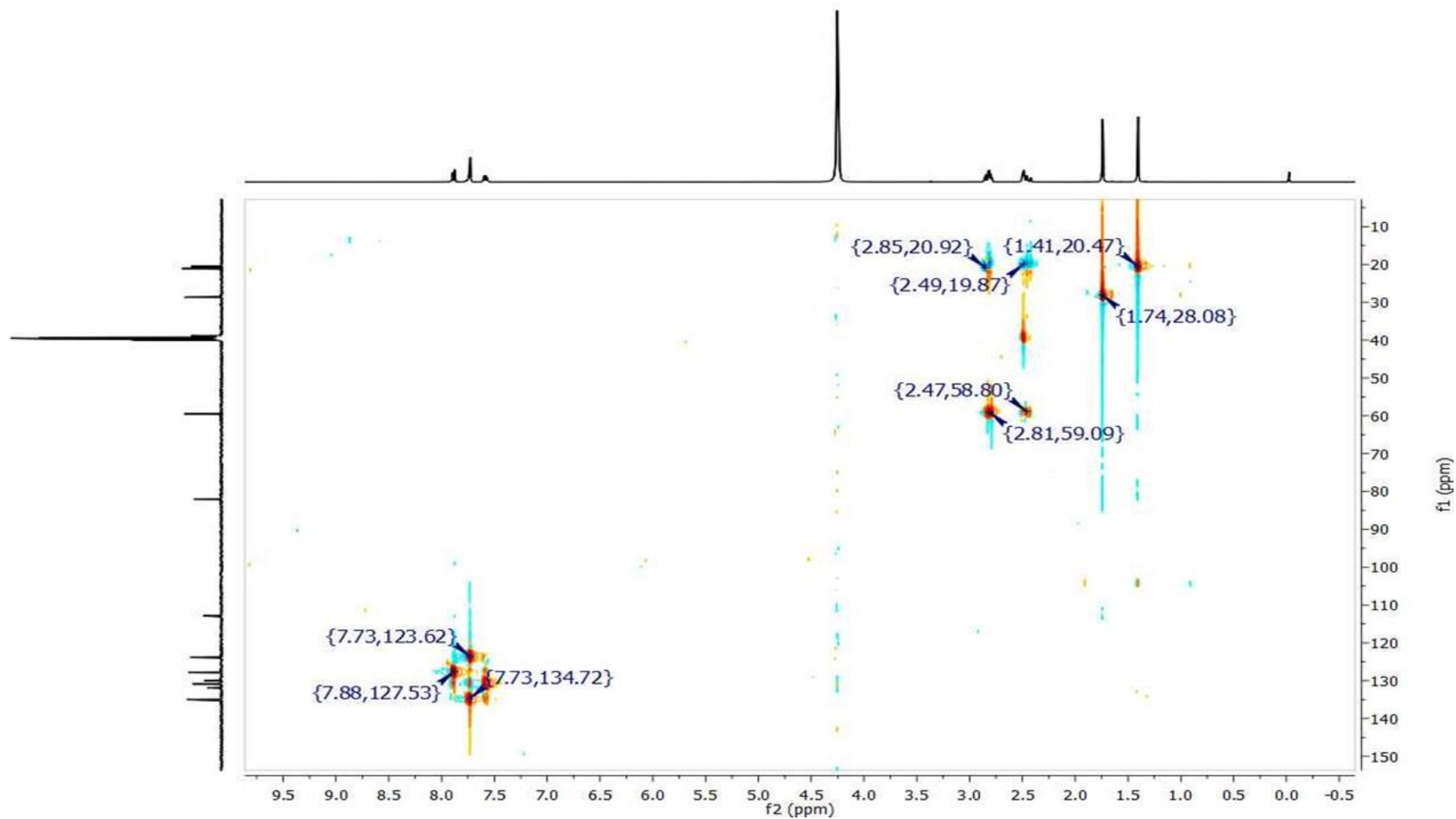


Figura E6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, DMSO-d_6) do ácido β -lapachona-3-sulfônico (**3**).

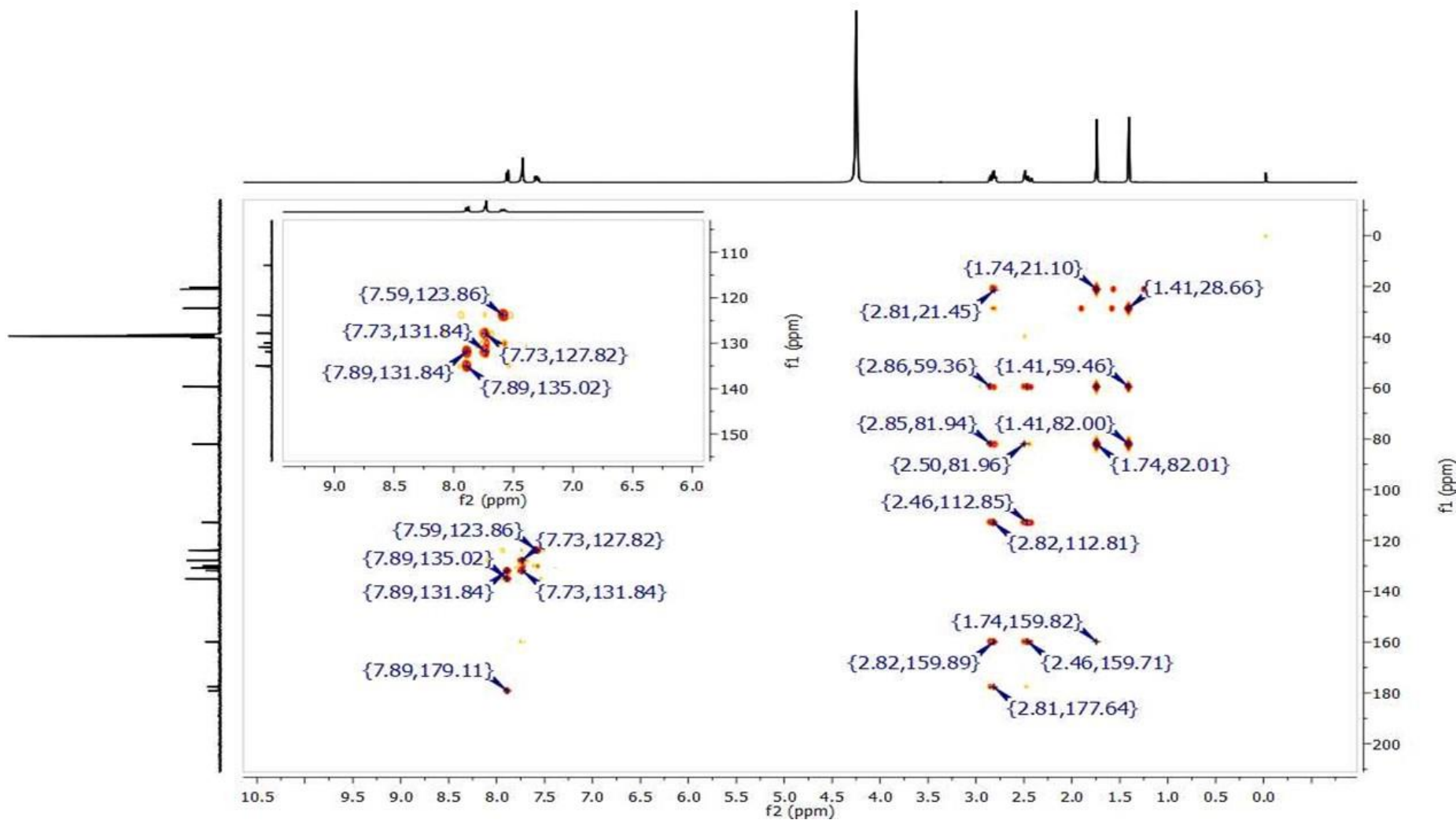
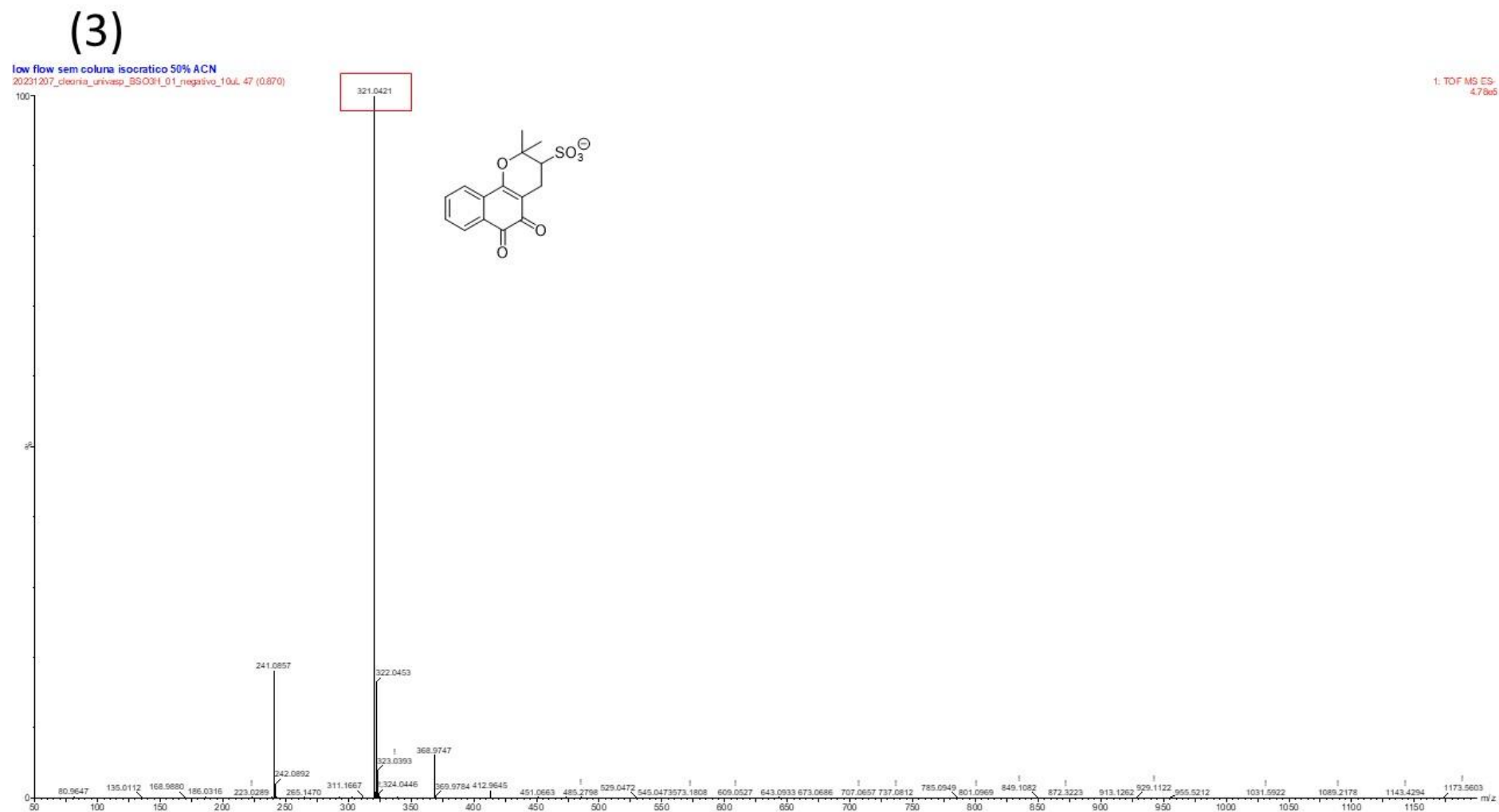


Figura E7 - Espectro total de massas de alta resolução do ácido β -lapachona-3-sulfônico (**3**).



APENDICE F

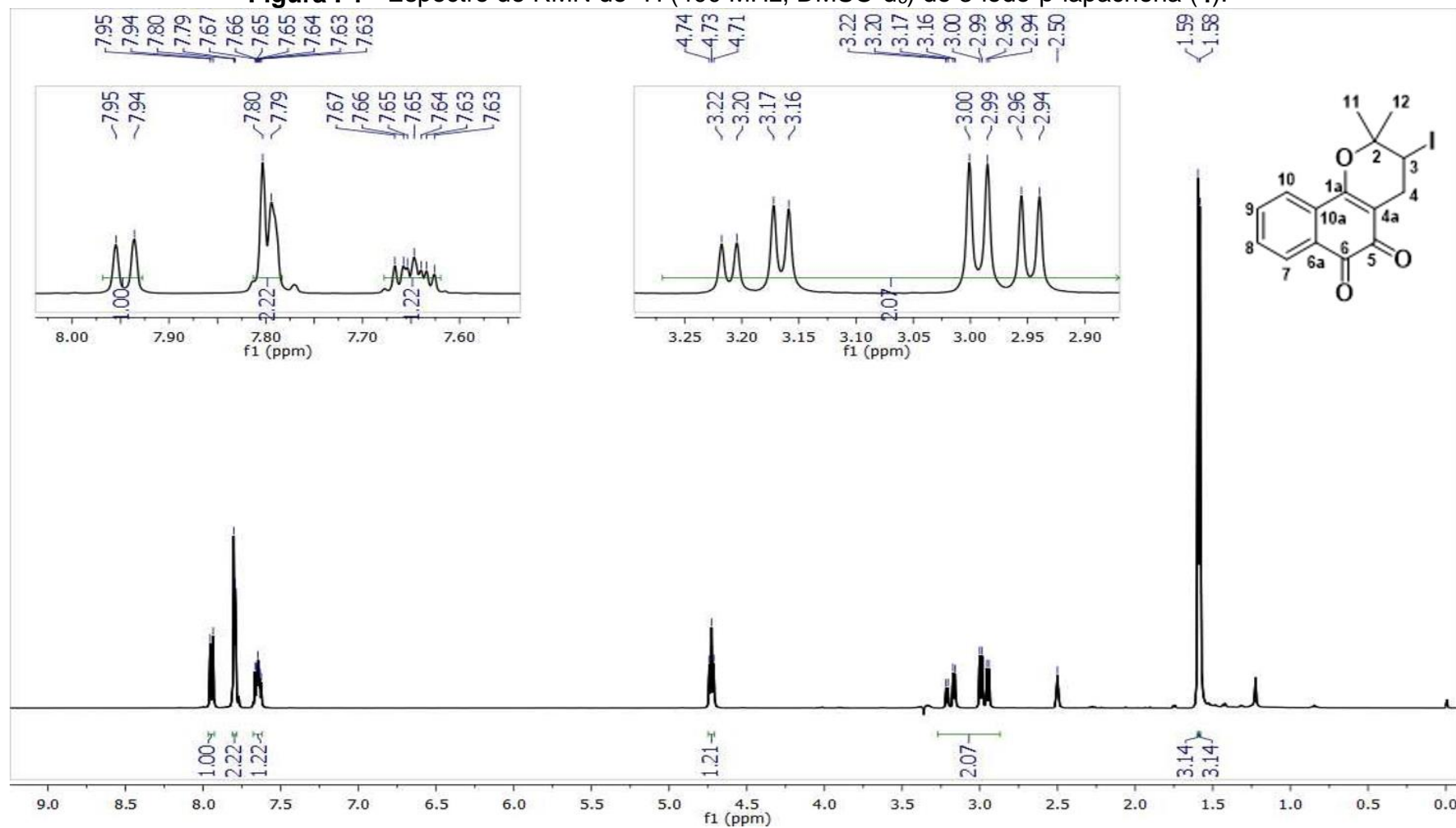
Figura F1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) do 3-iodo- β -lapachona (**4**).

Figura F2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do 3-iodo- β -lapachona (**4**).

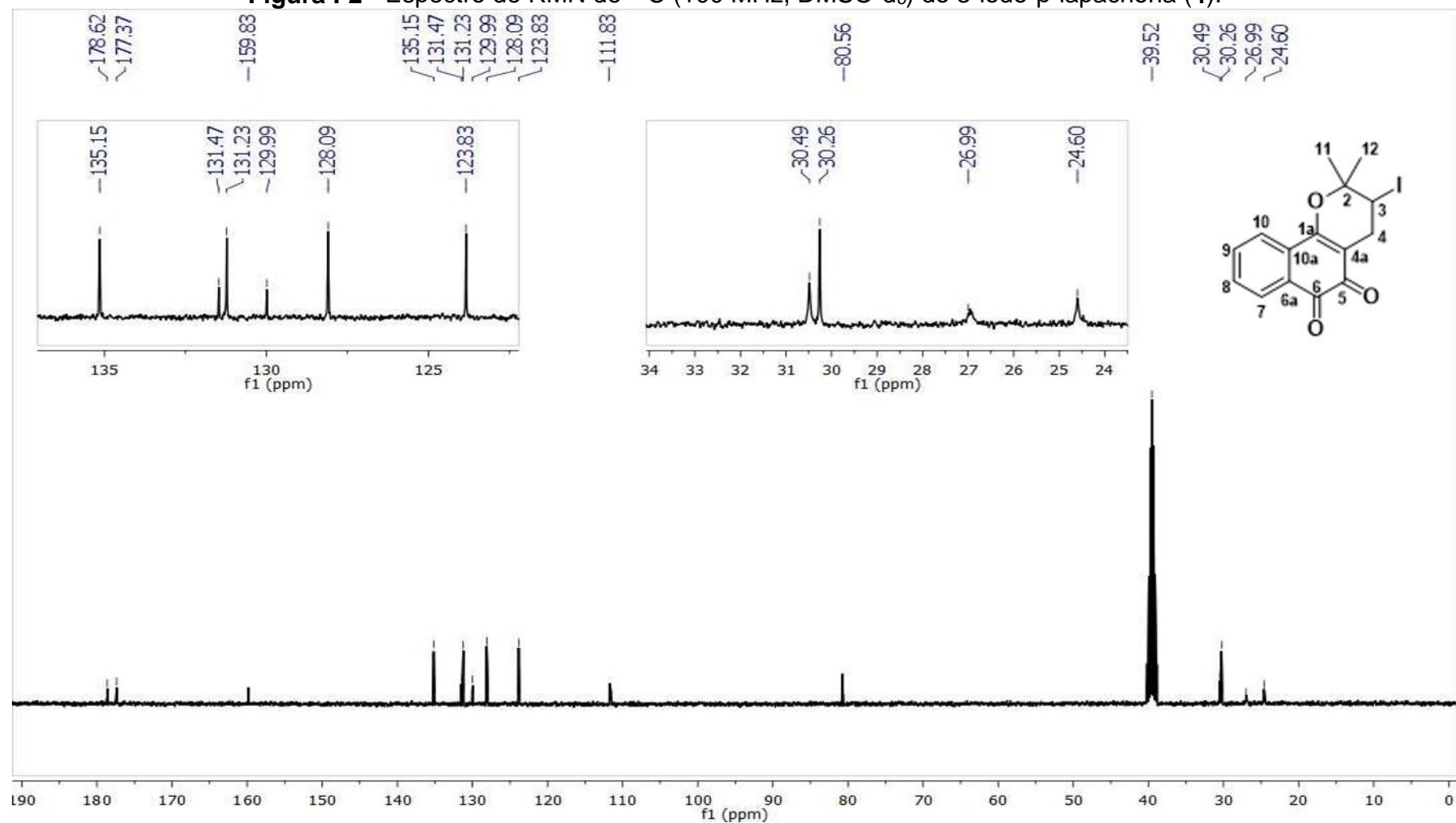


Figura F3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (100 MHz, DMSO- d_6) do 3-iodo- β -lapachona (**4**).

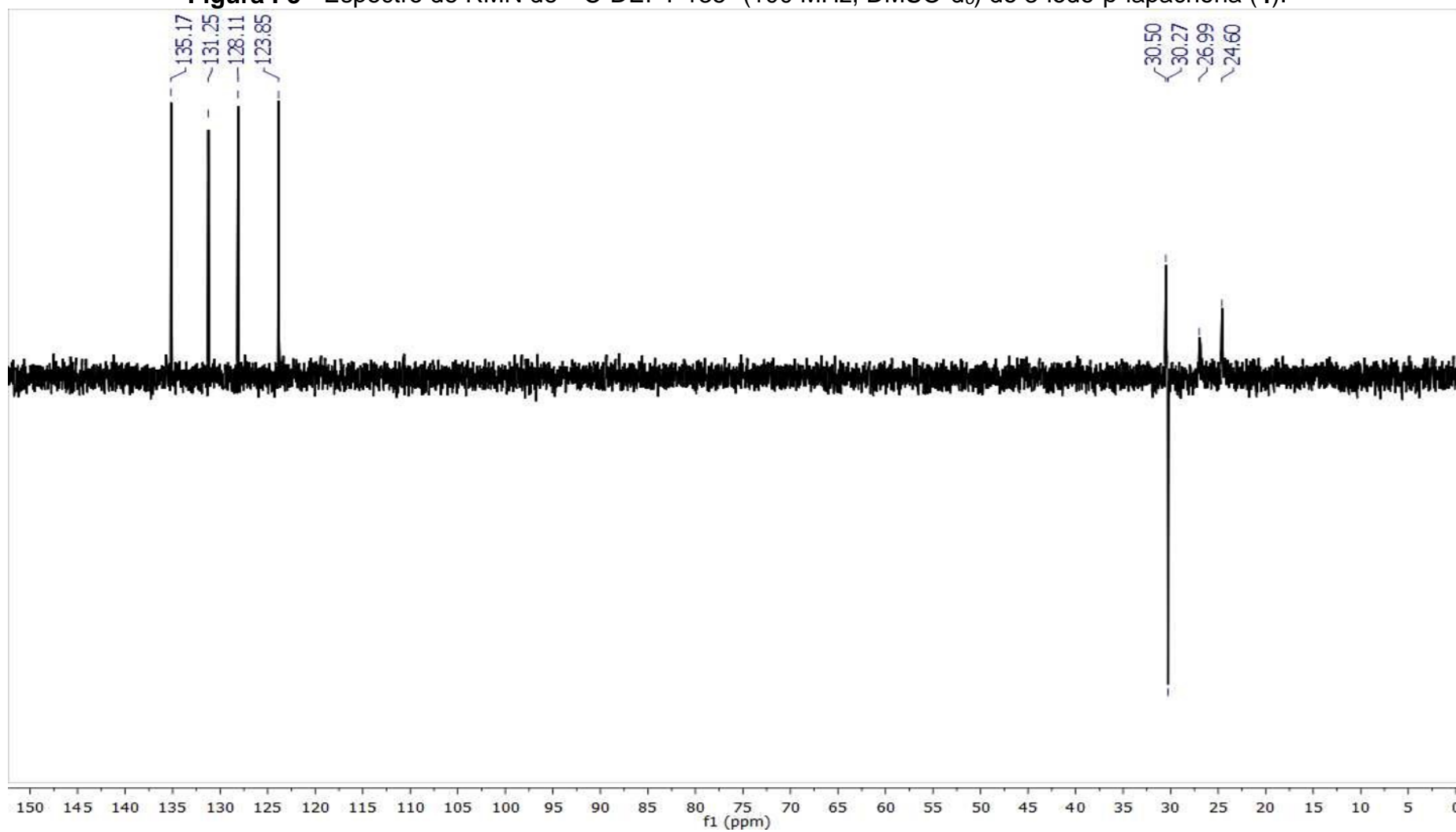


Figura F4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, DMSO-d_6) do 3-iodo- β -lapachona (**4**).

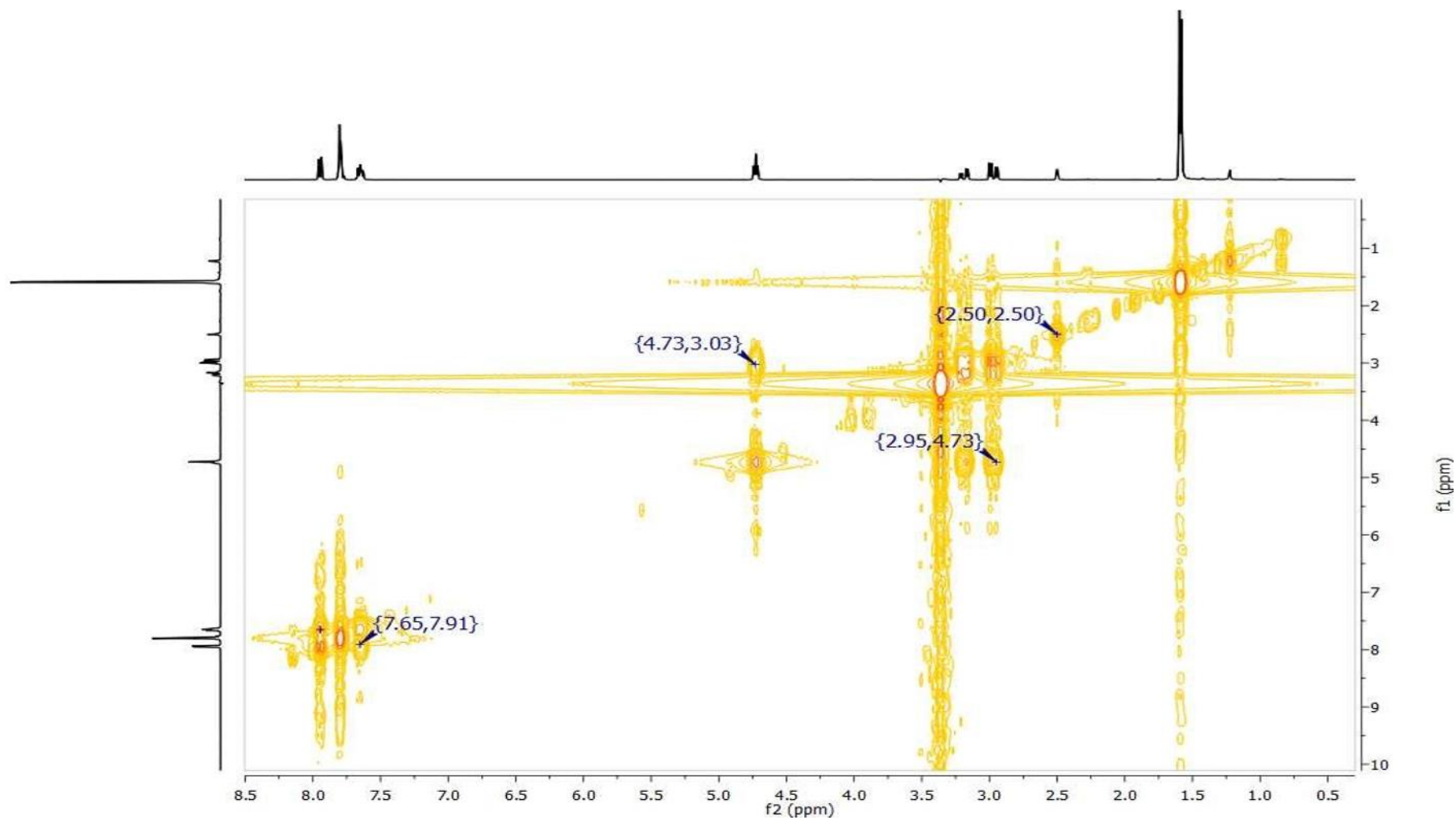


Figura F5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, DMSO-d_6) do 3-iodo- β -lapachona (**4**).

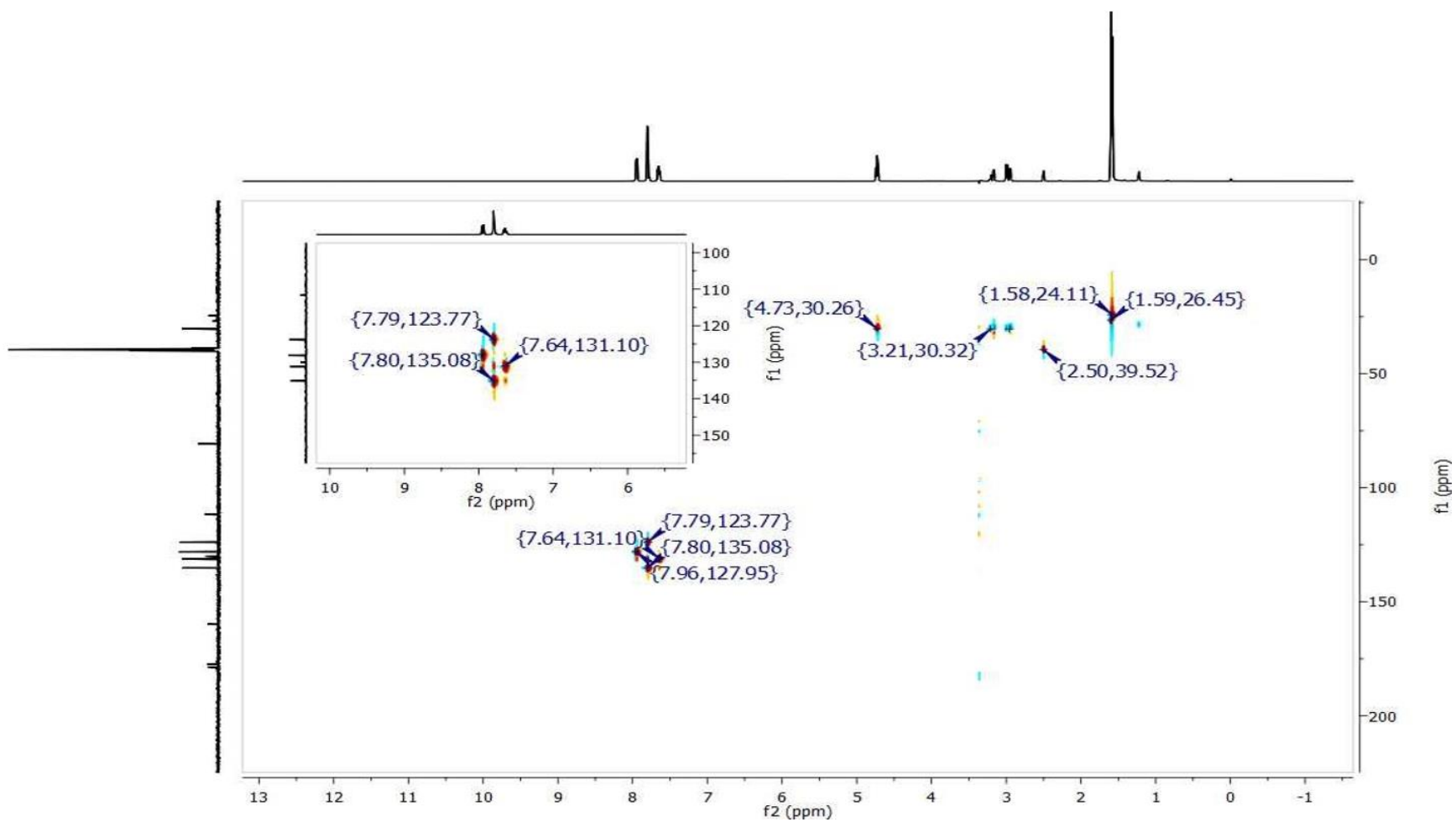
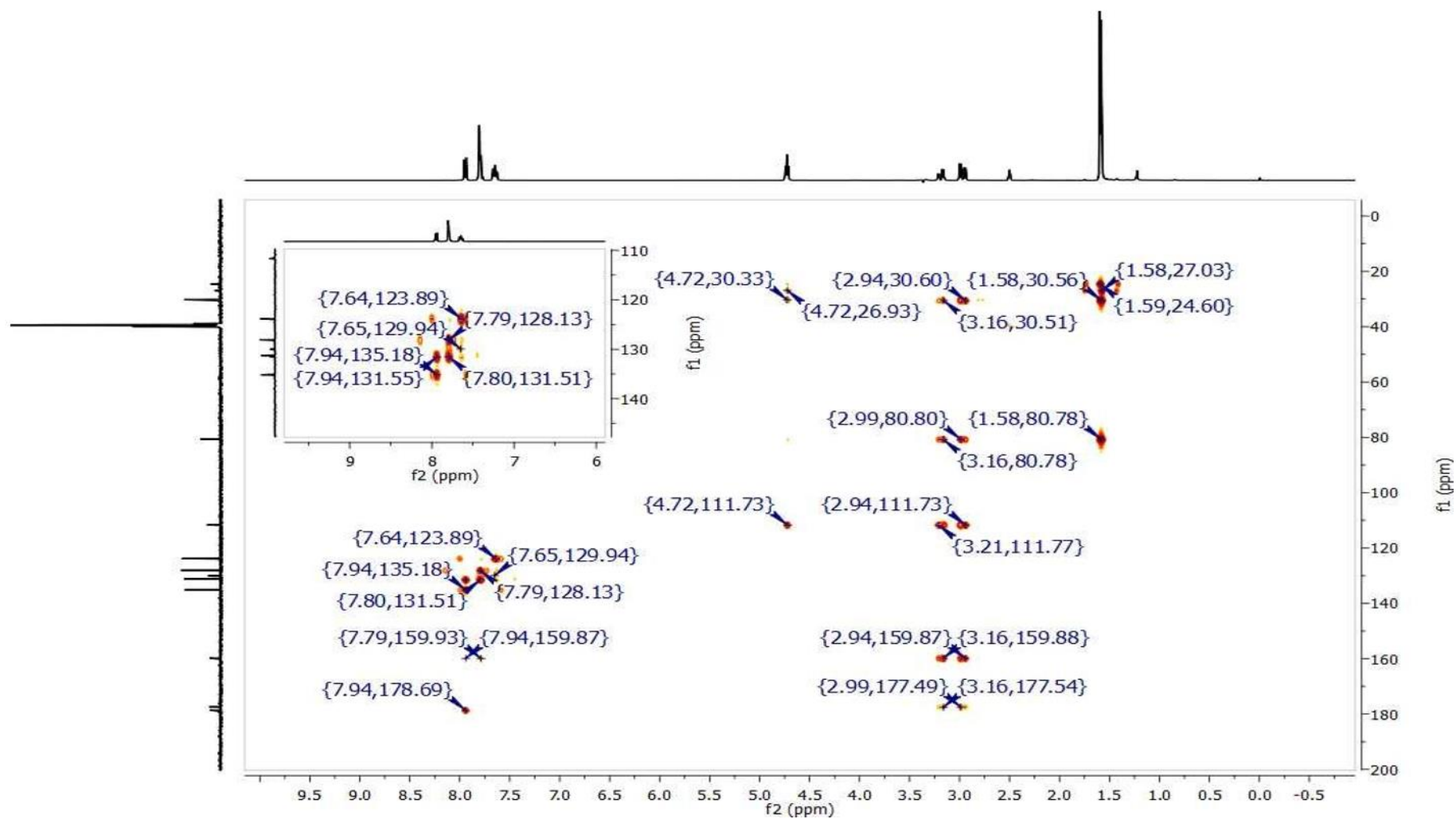


Figura F6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, DMSO-d_6) do 3-iodo- β -lapachona (**4**).



APÊNDICE G

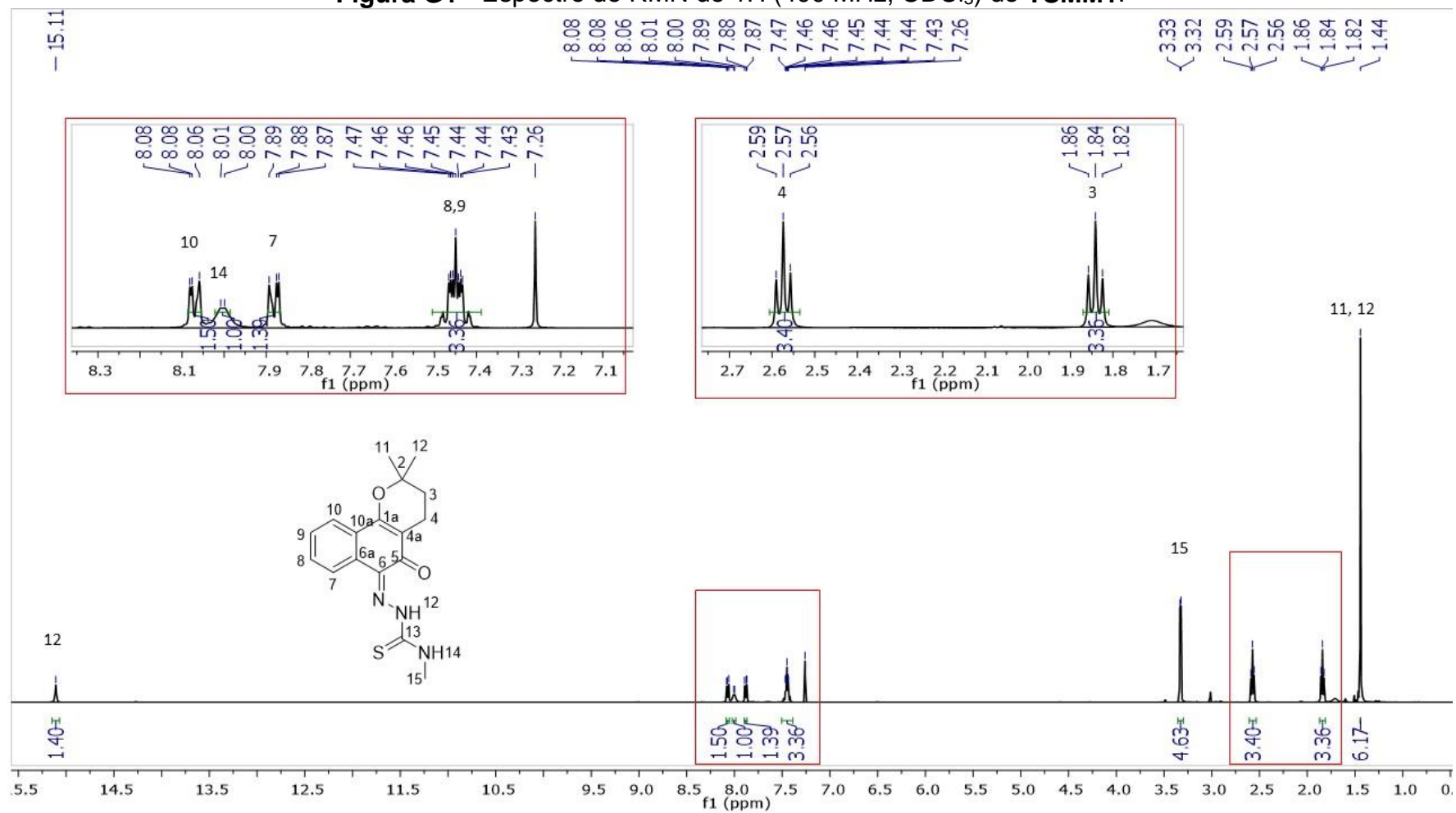
Figura G1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do TSMM1.

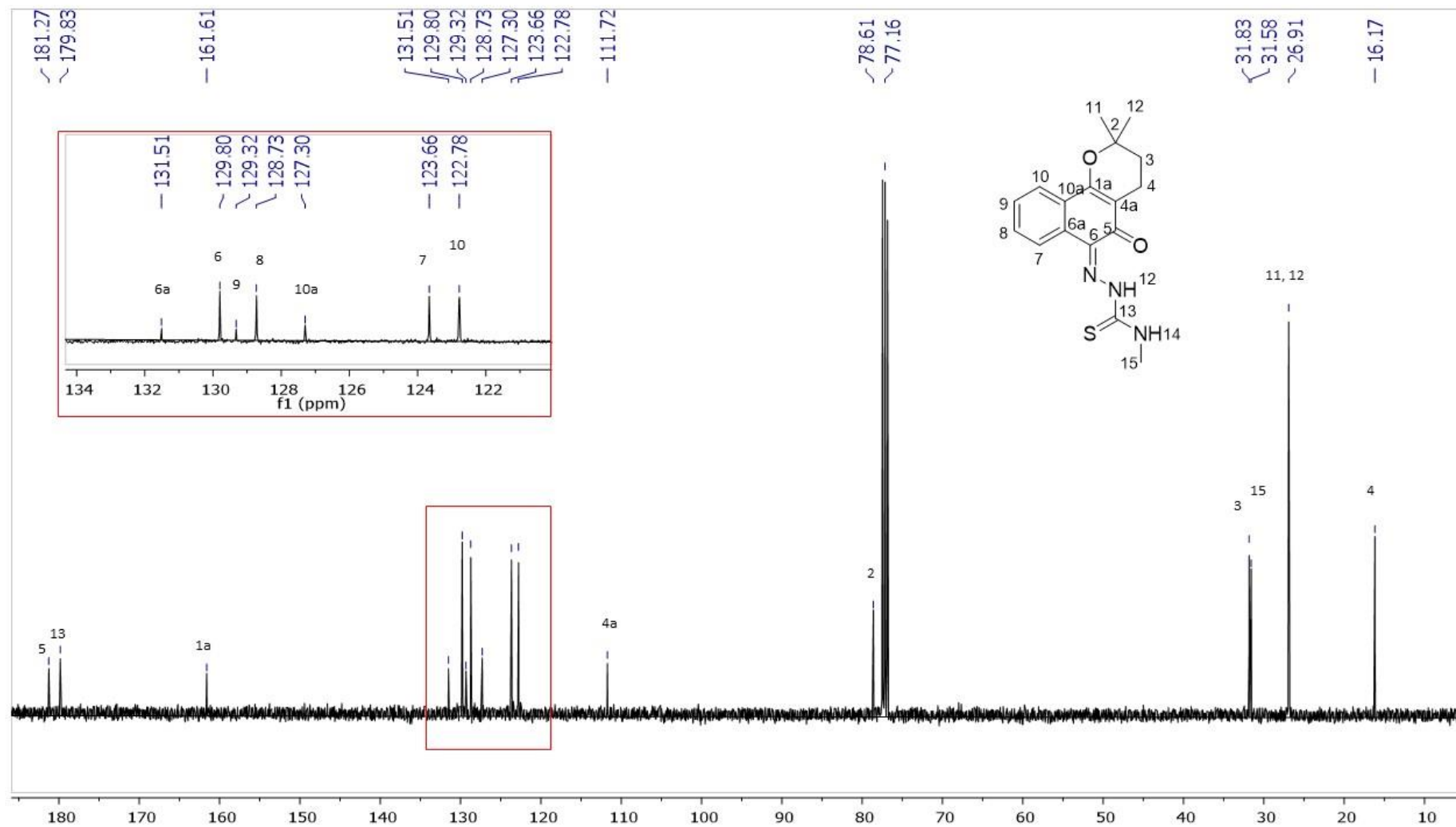
Figura G2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do **TSM1.**

Figura G3 – Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (100 MHz, CDCl_3) do **TSM1**.

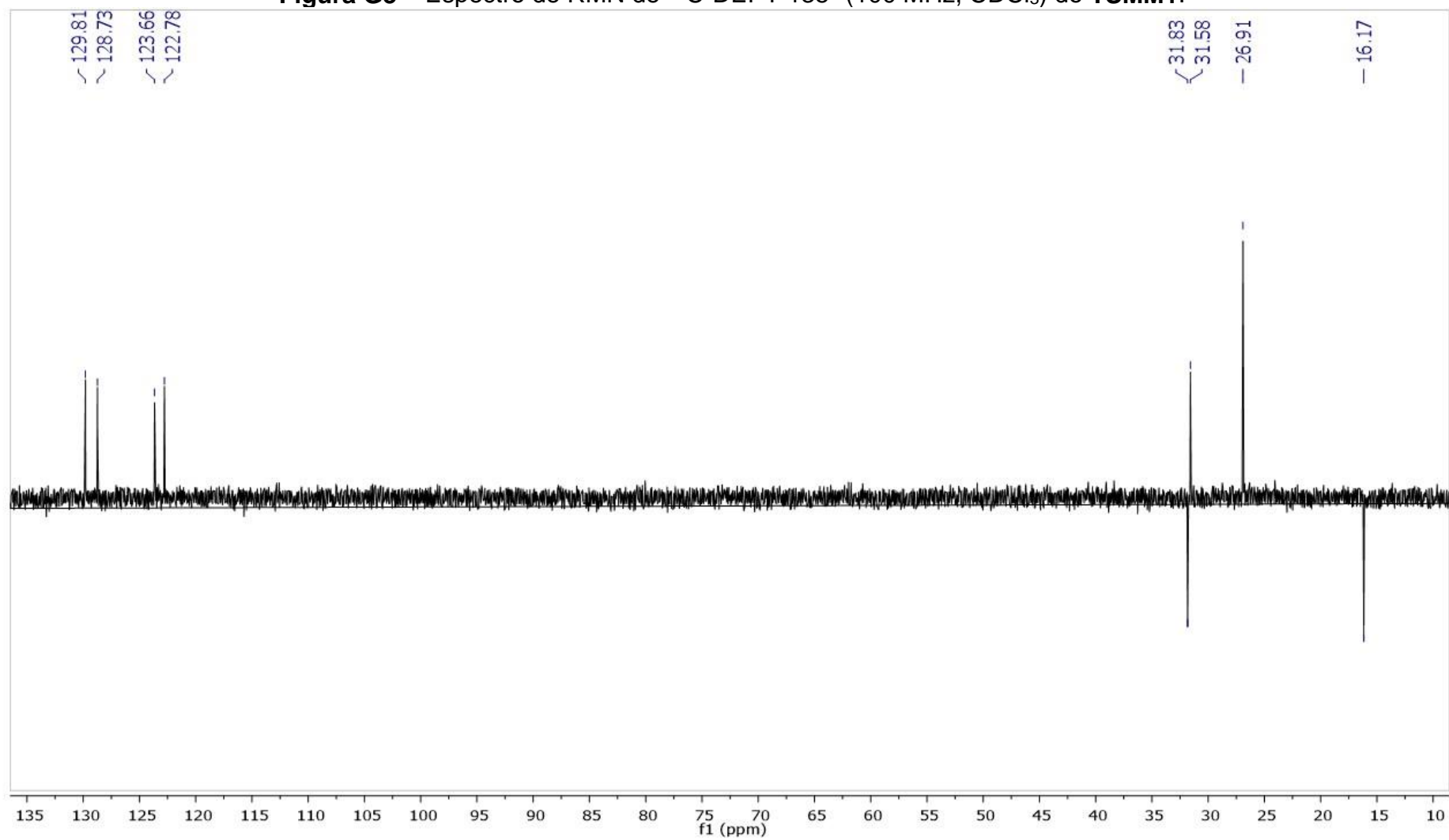


Figura G4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) do **TSMM1**.

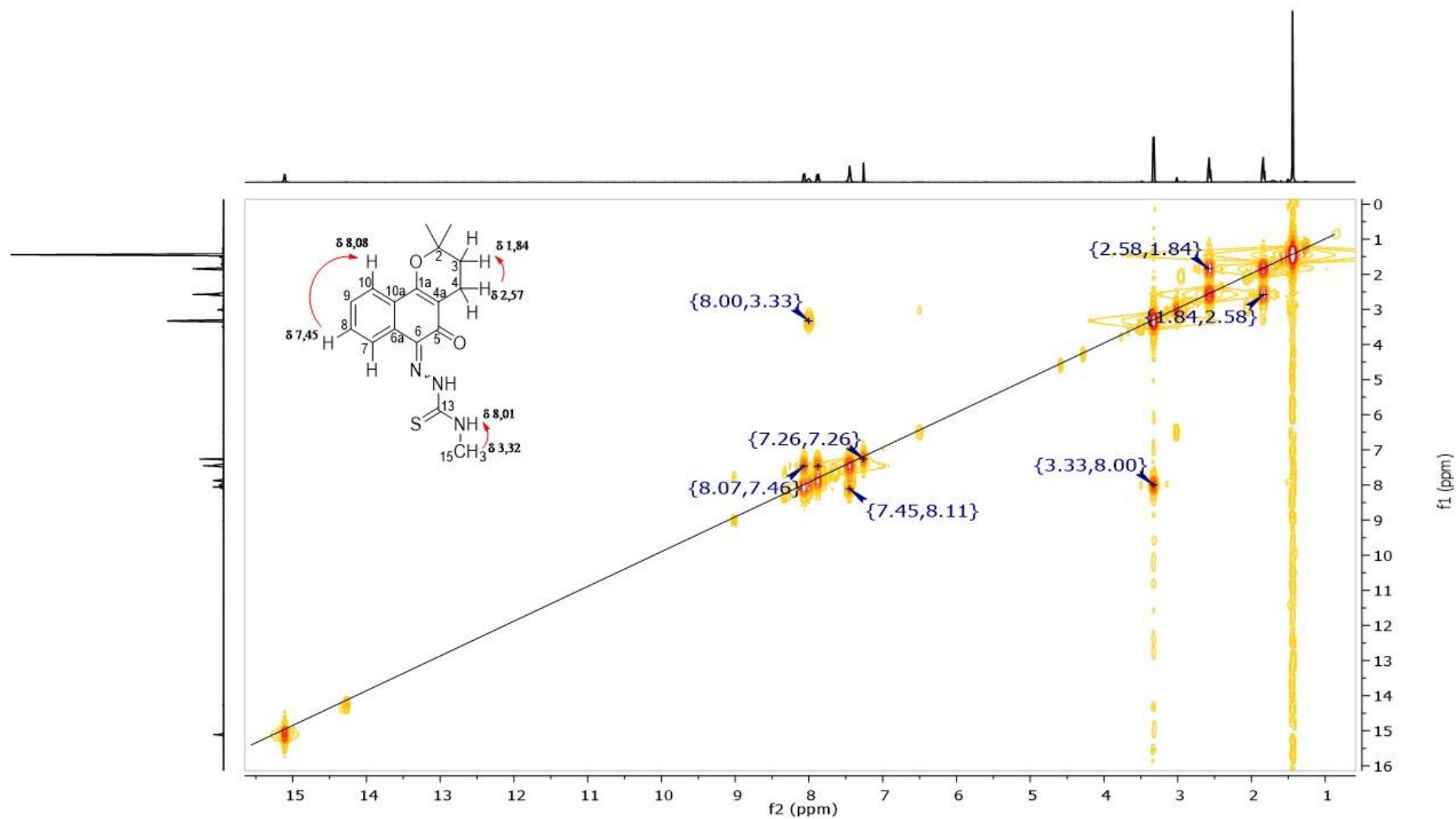


Figura G5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) do **TSMM1**.

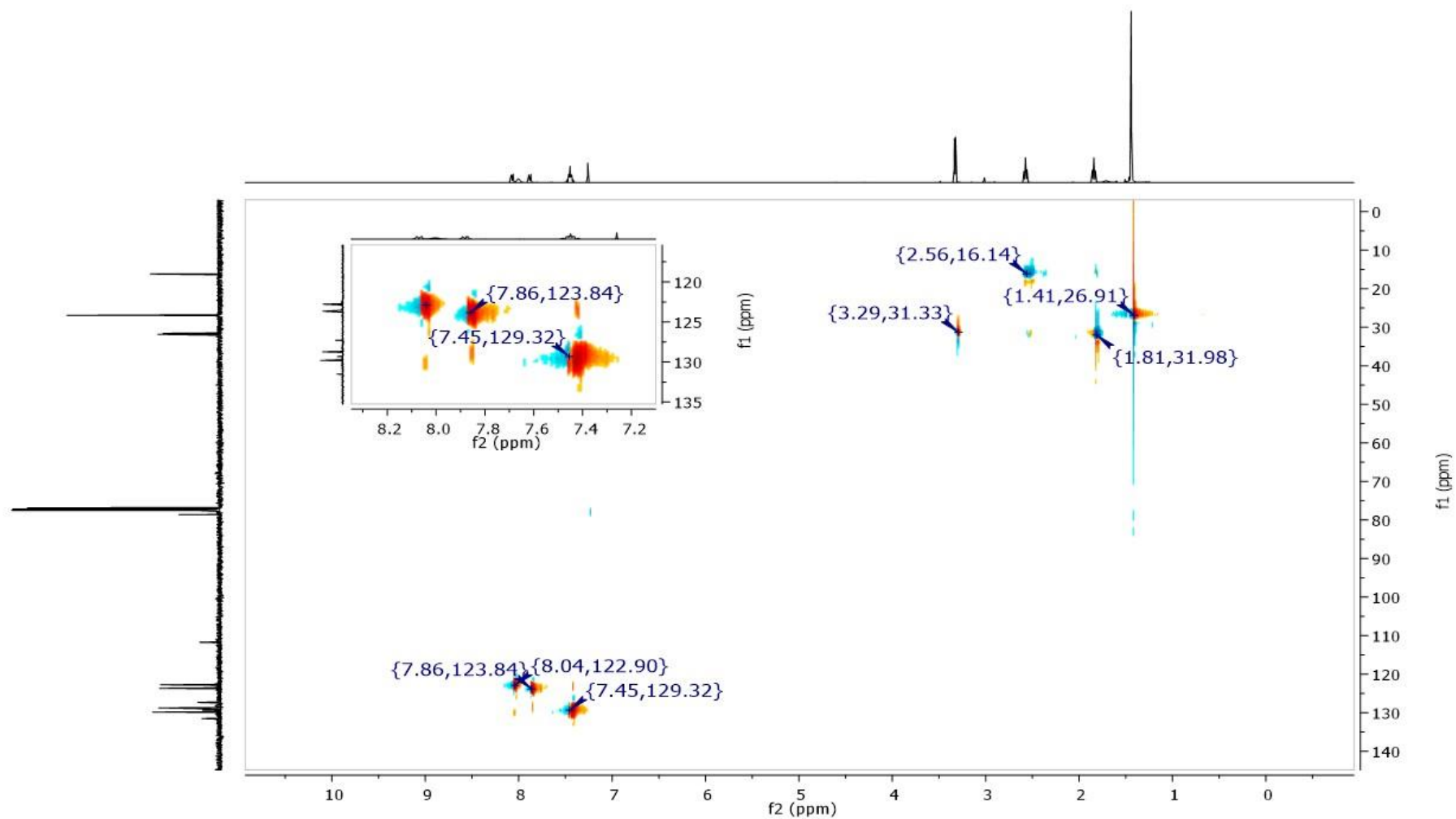


Figura G6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) do **TSMM1**.

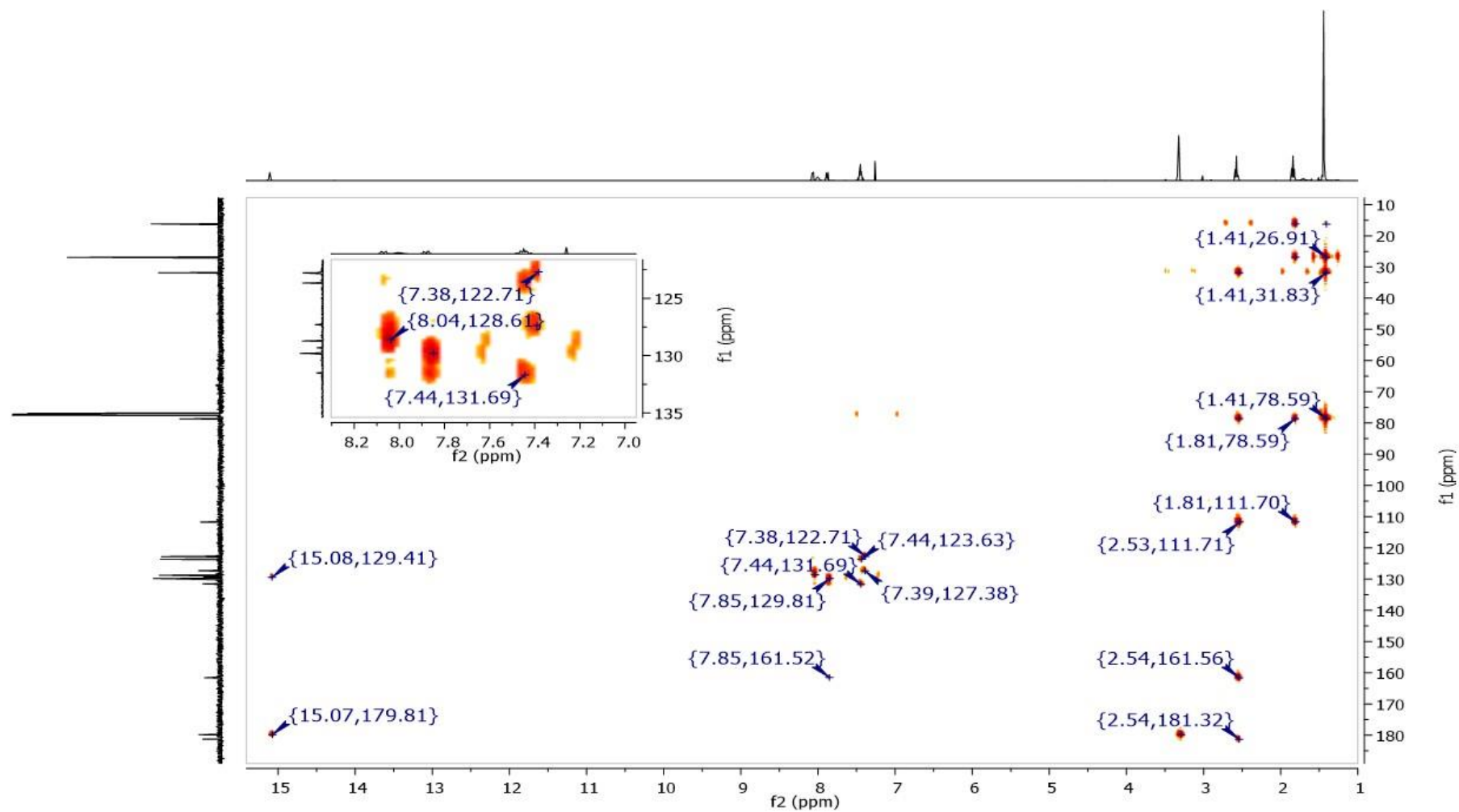


Figura G7 - Espectro de IV em pastilha de KBr do **TSMM1**.

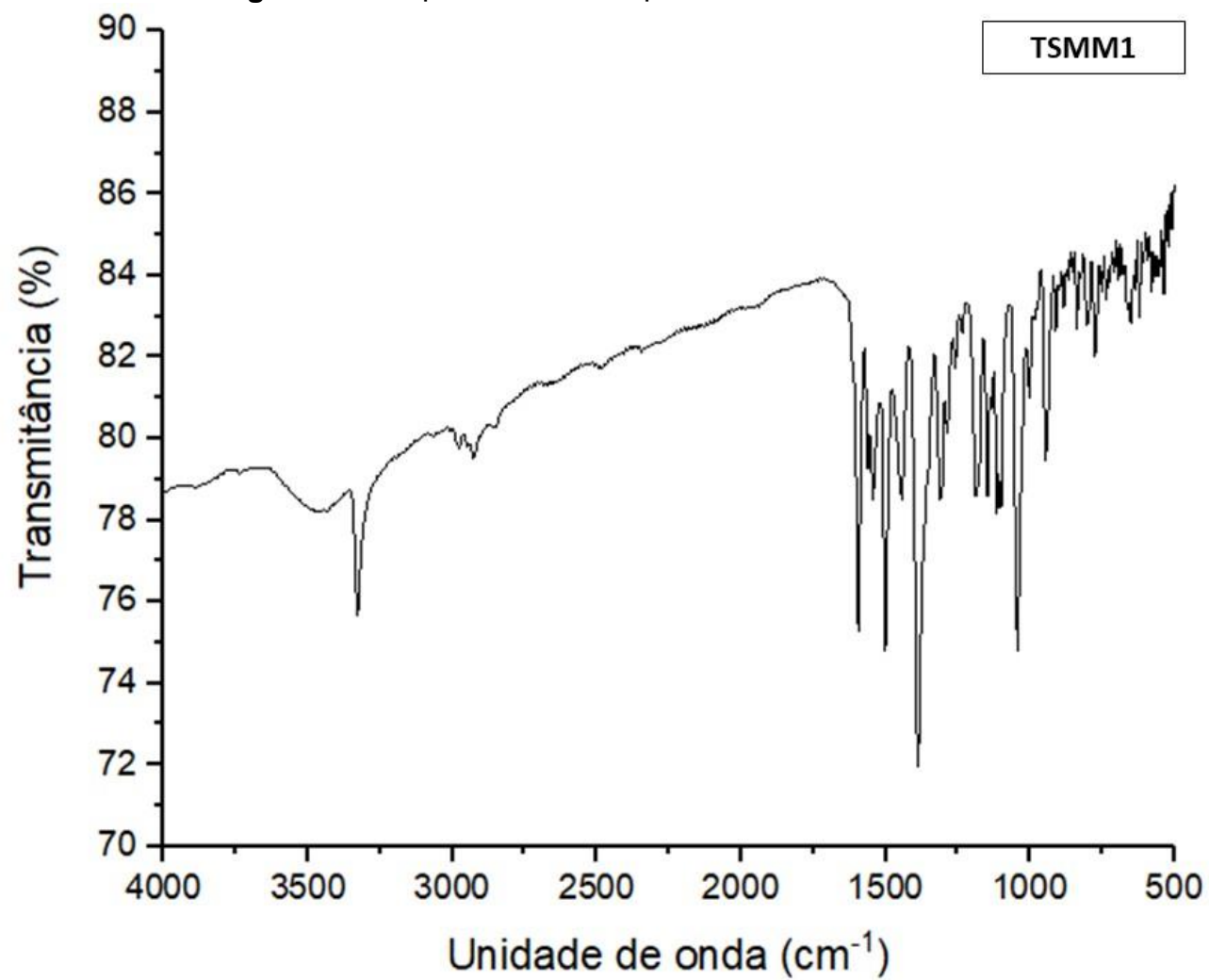
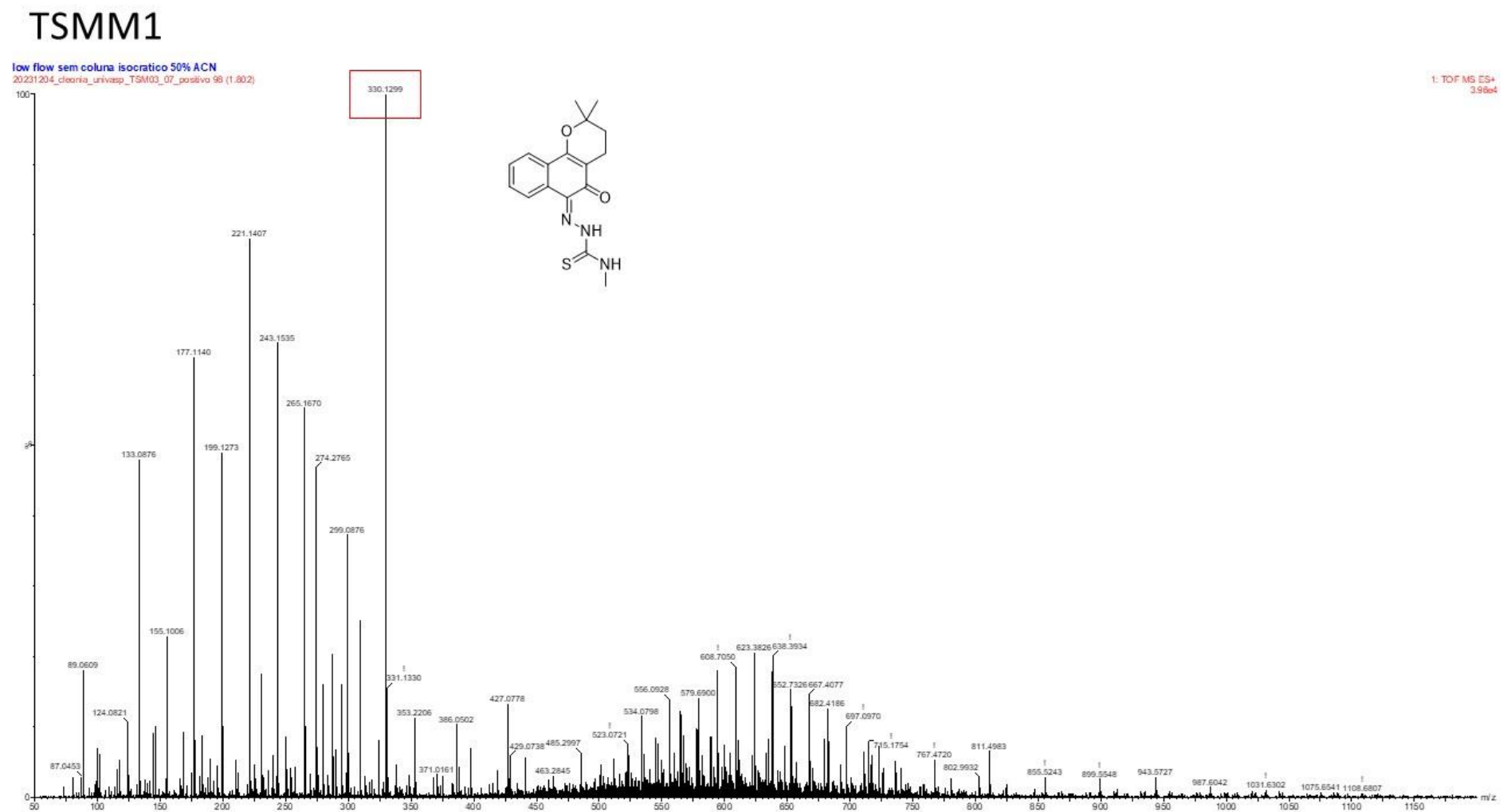


Figura G8 - Espectro total de massas de alta resolução do TSMM1.

APÊNDICE H

Figura H1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) do **TSM2**.

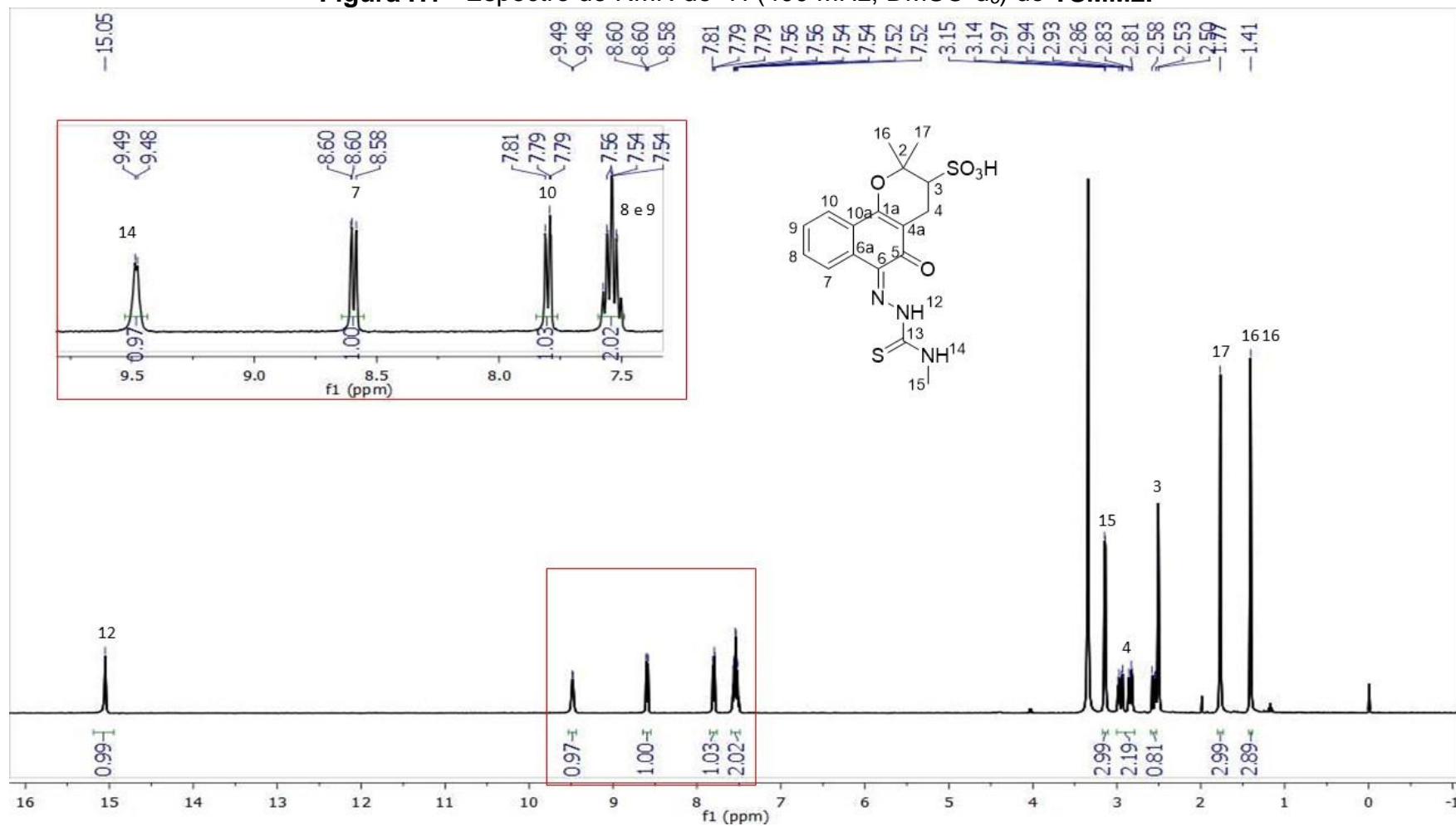


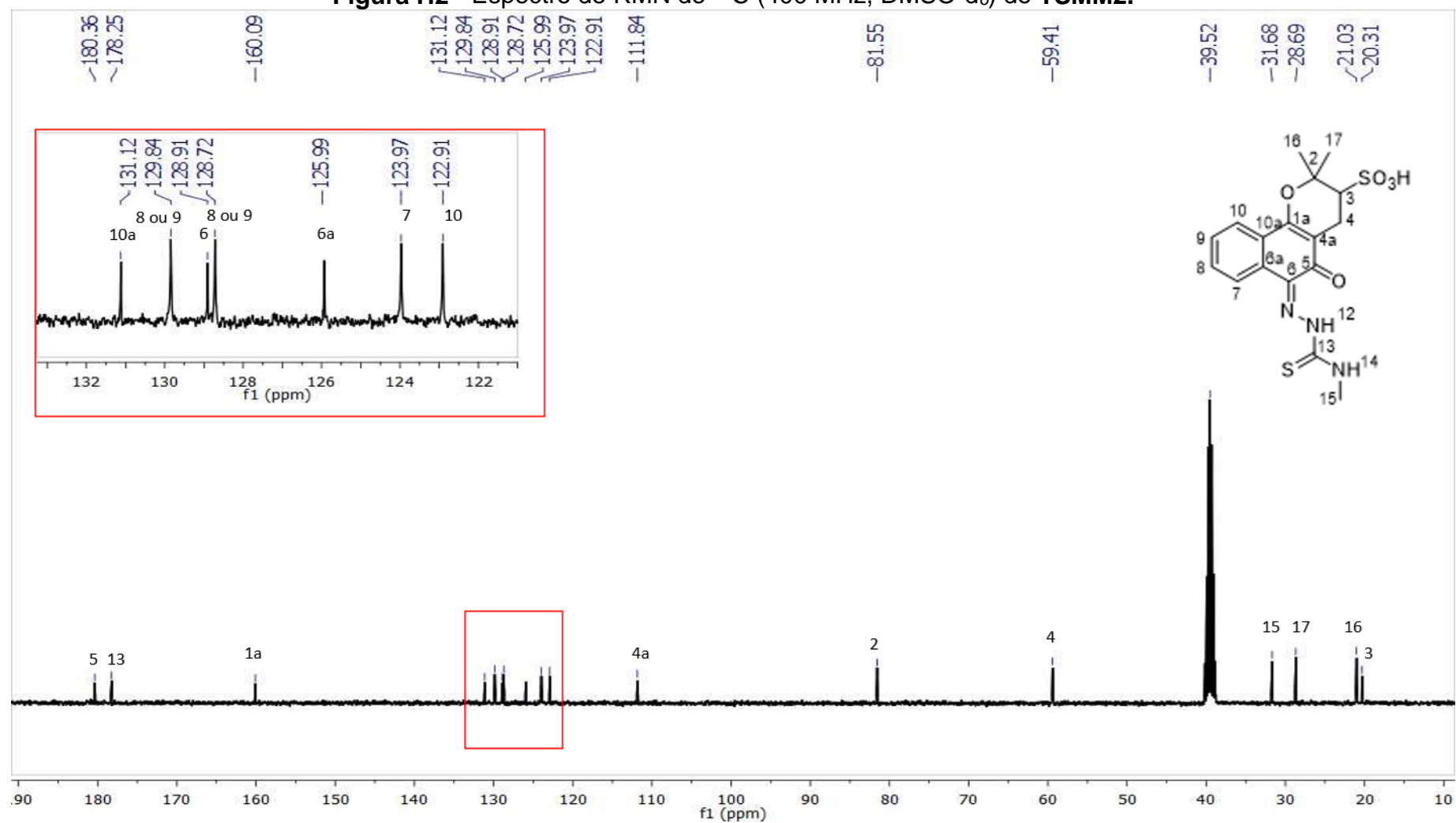
Figura H2 - Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6) do TSM2.

Figura H3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135 $^{\circ}$ (100 MHz, DMSO- d_6) do **TSM2**.

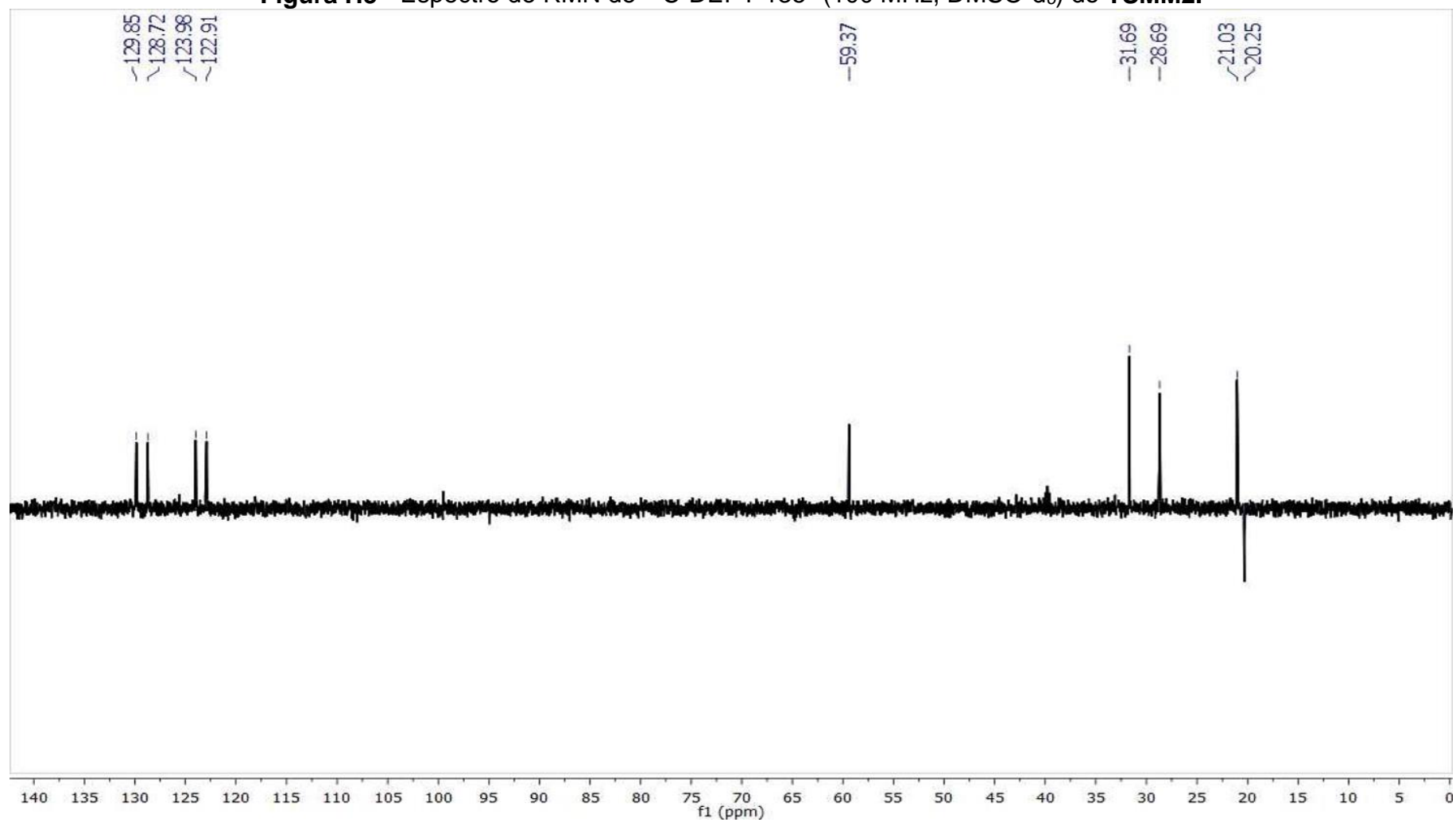


Figura H4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, DMSO-d_6) do **TSM2**.

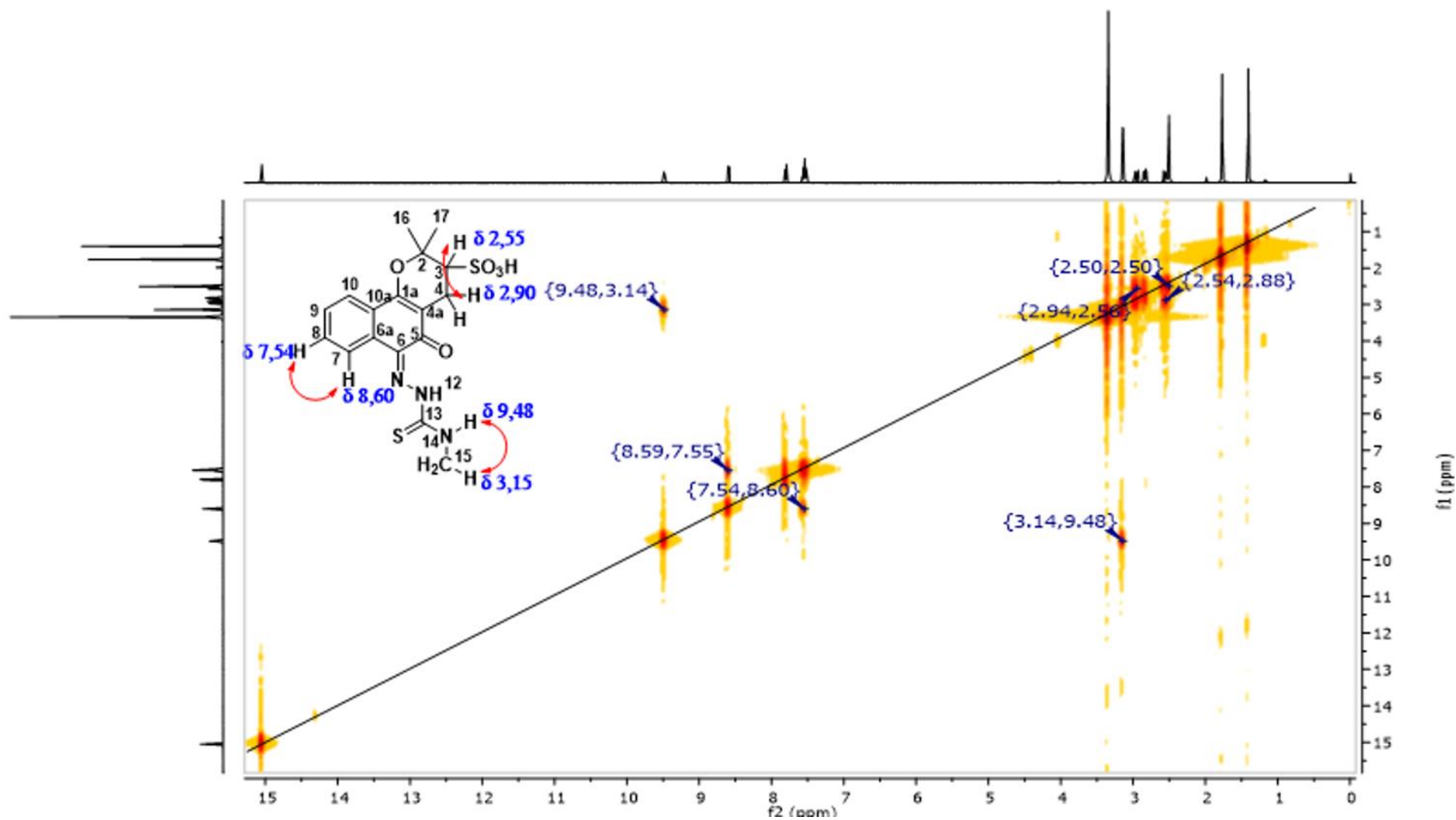


Figura H5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, DMSO-d_6) do **TSMM2**.

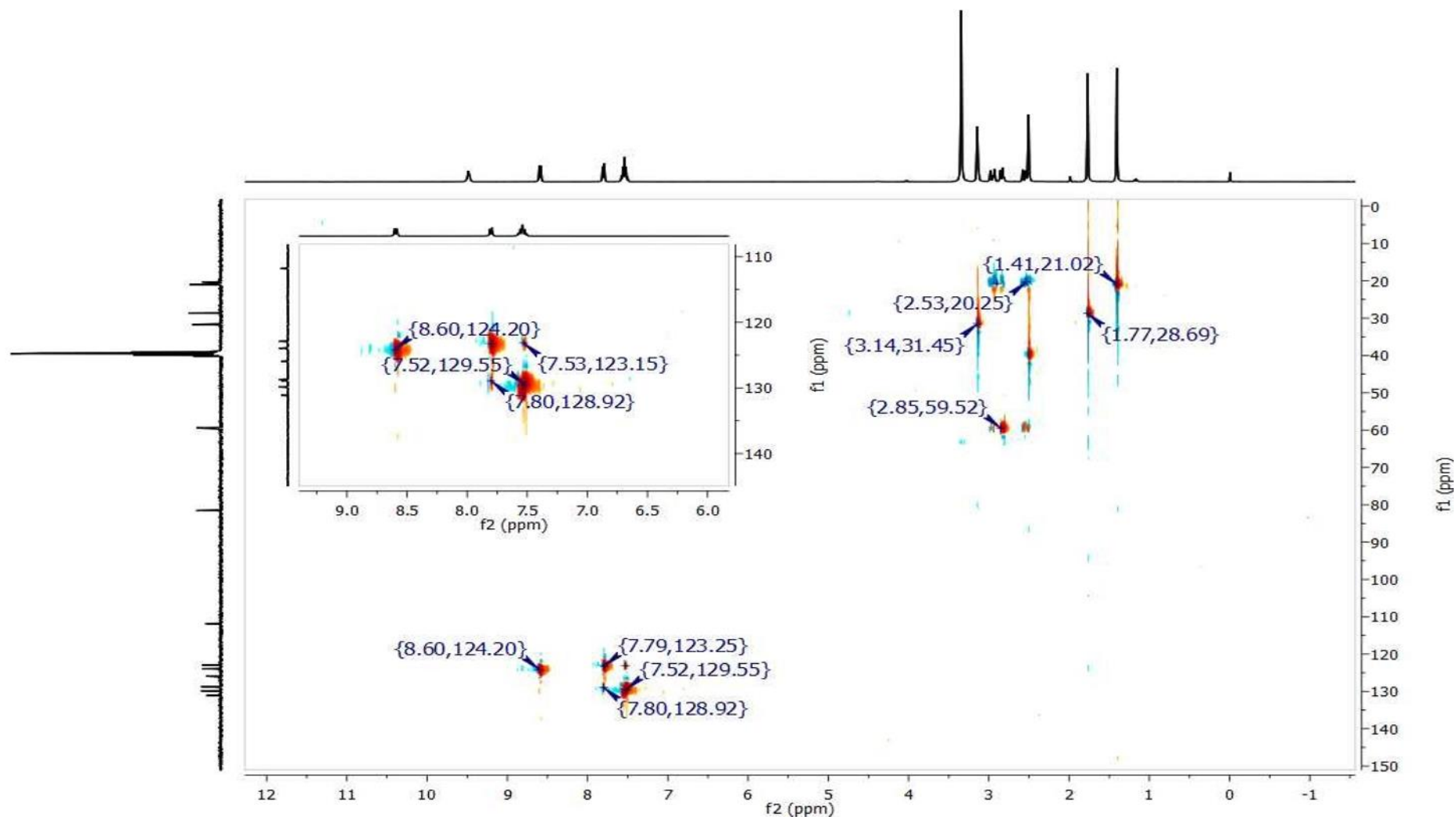


Figura H6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, DMSO- d_6) do **TSMM2**.

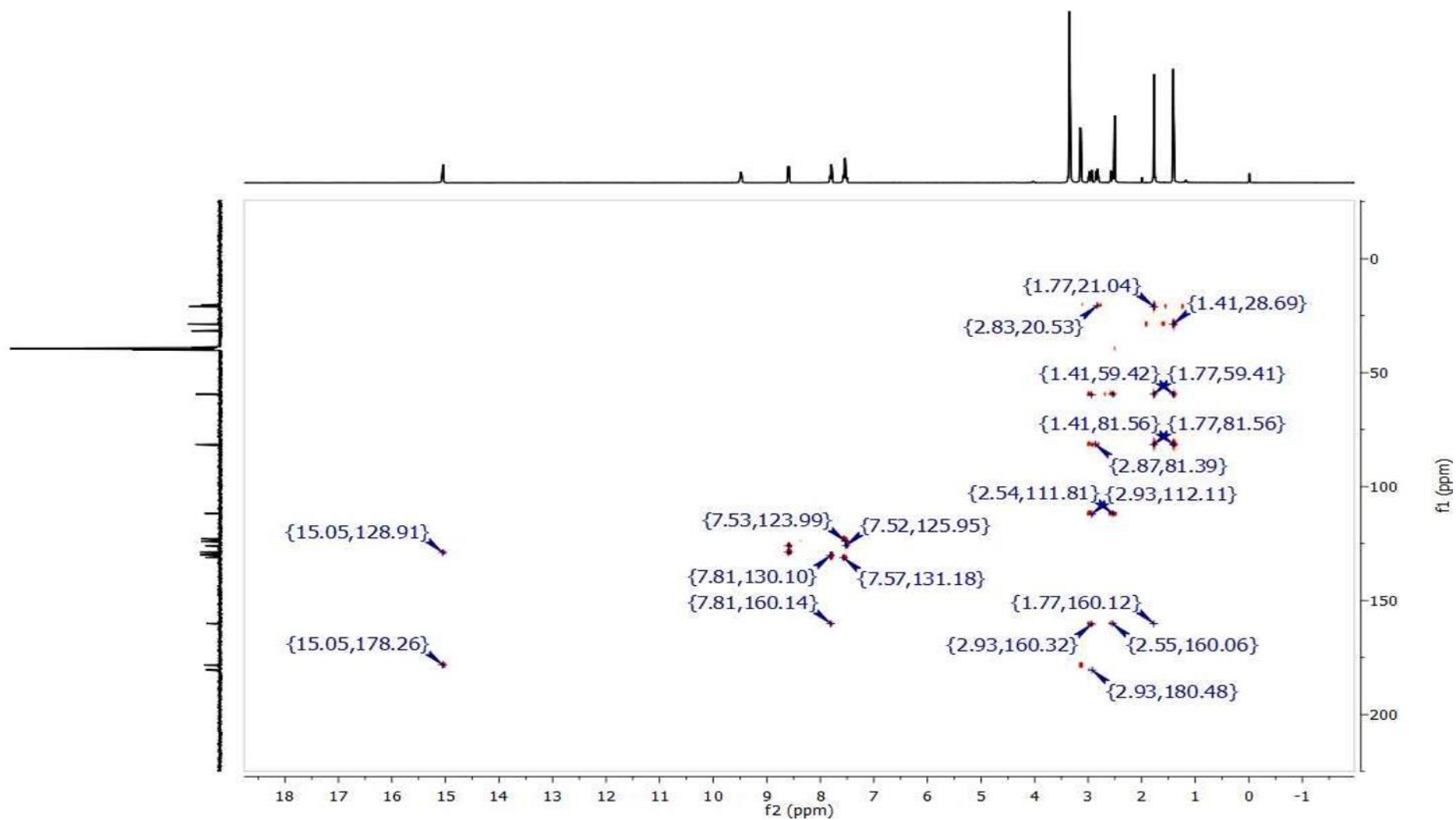


Figura H7 - Espectro de IV em pastilha de KBr do TSMM2.

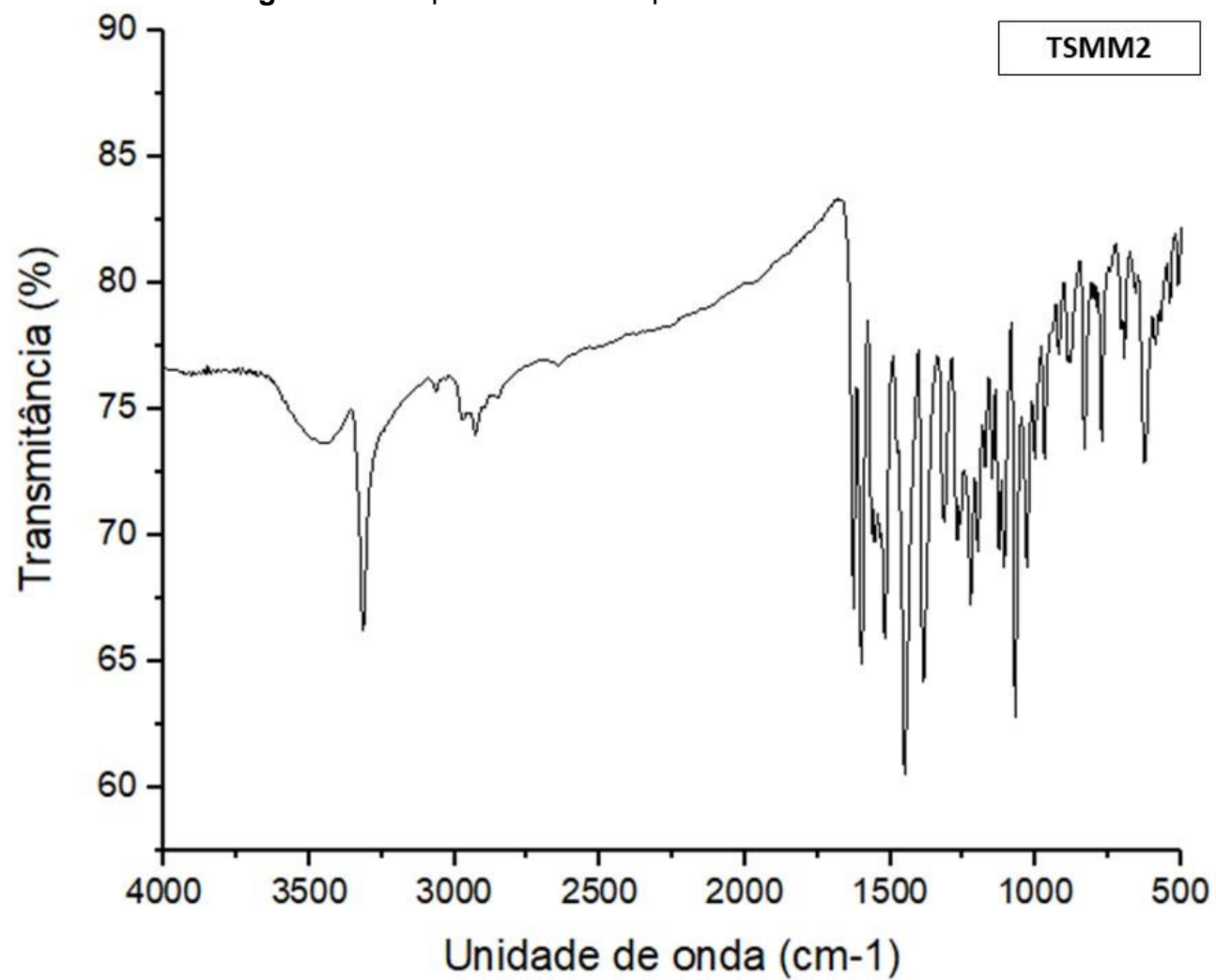
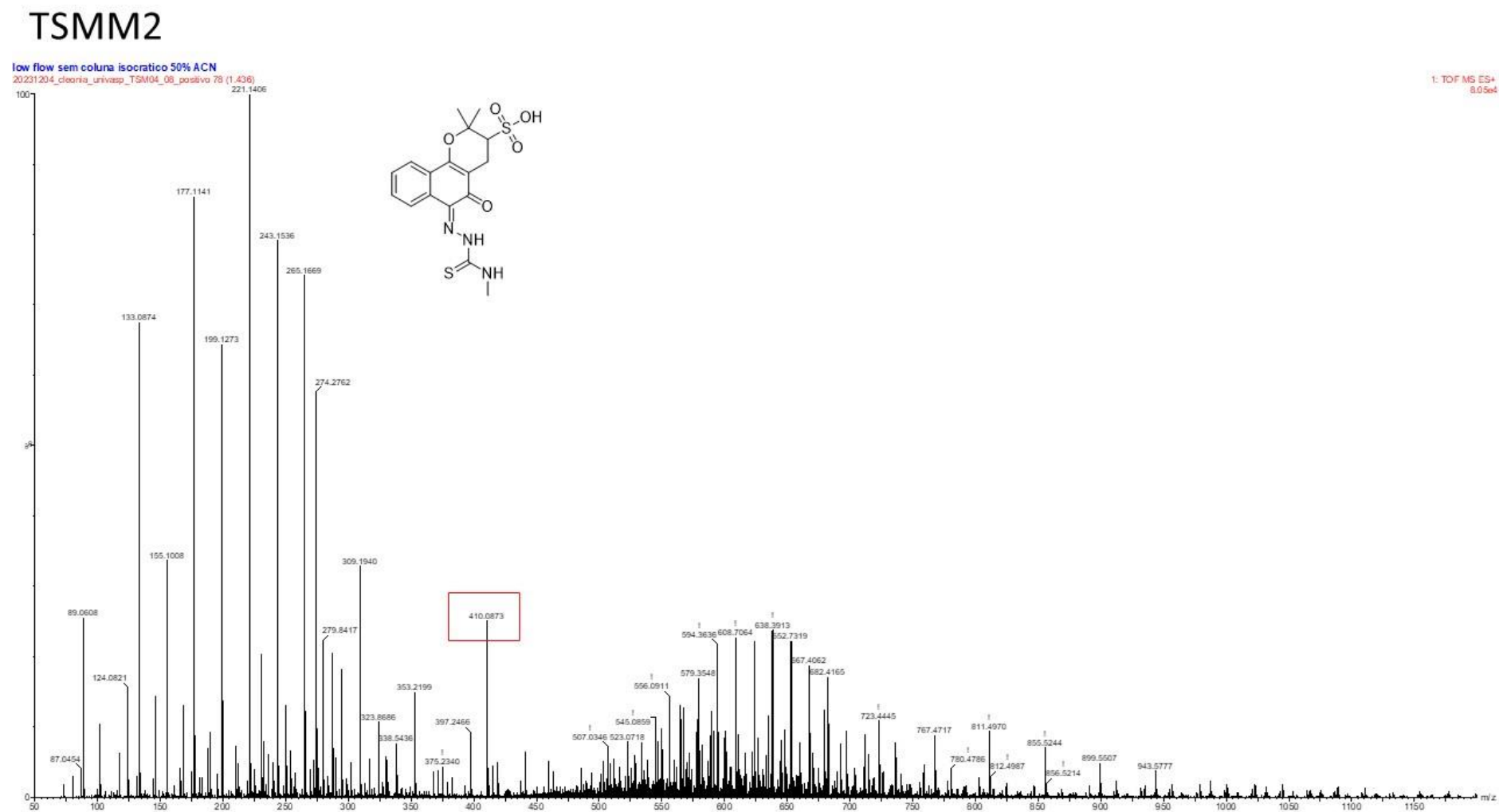


Figura H8 - Espectro total de massas de alta resolução do TSMM2.

APÊNDICE I

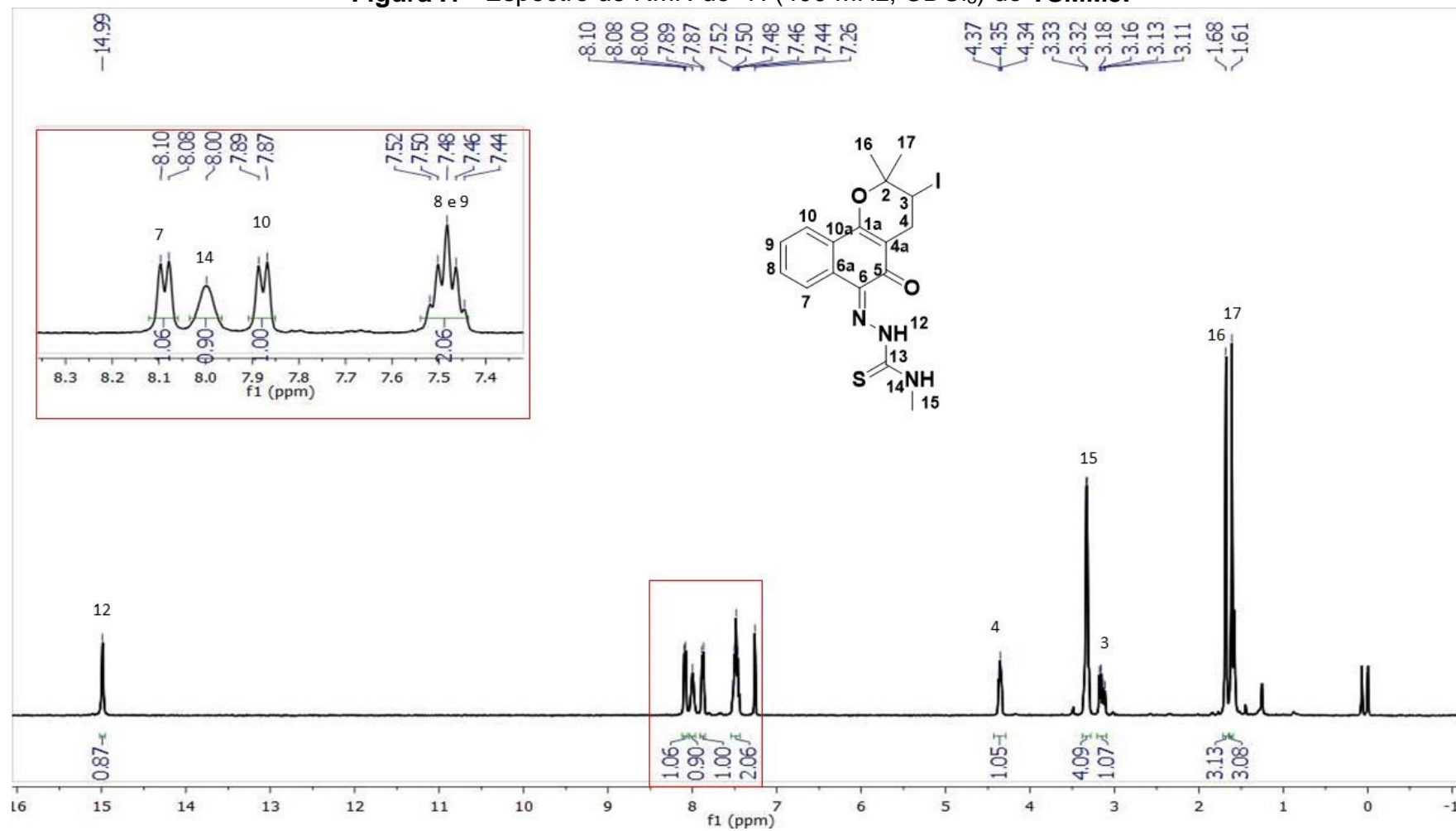
Figura I1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do **TSMM3**.

Figura I2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do **TSM3**.

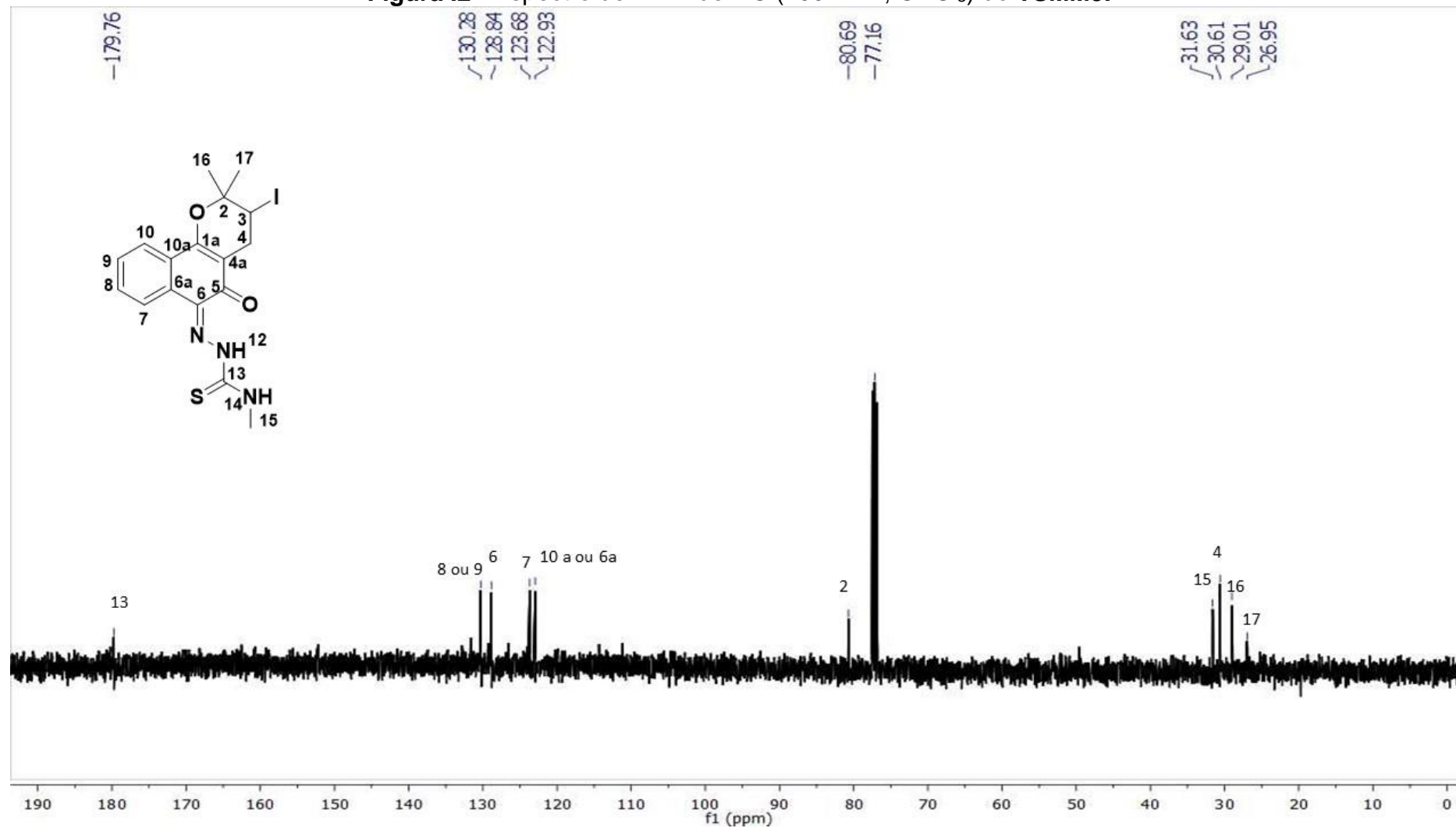


Figura I3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (100 MHz, CDCl_3) do **TSMM3**.

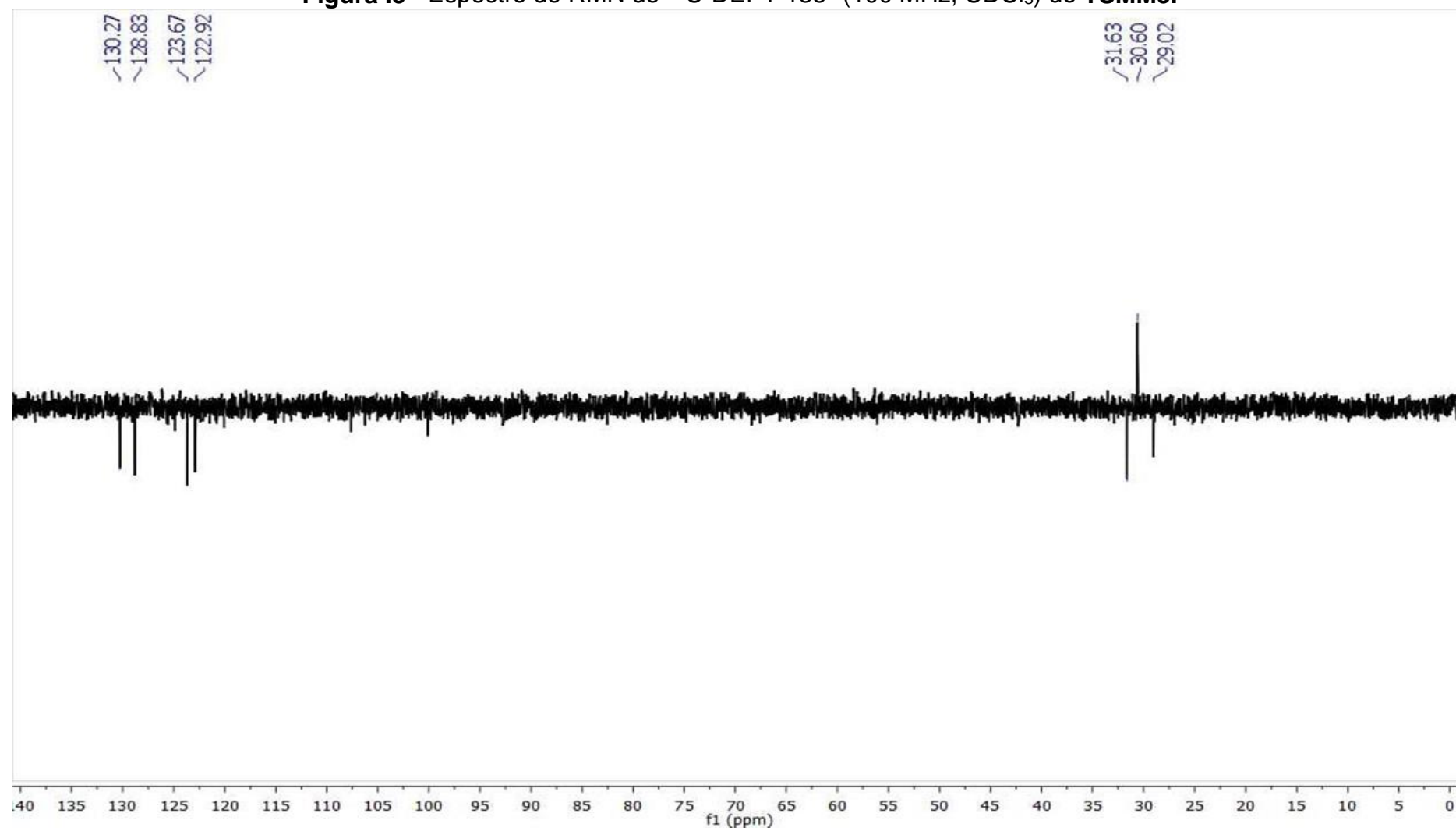


Figura I4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) do **TSM3**.

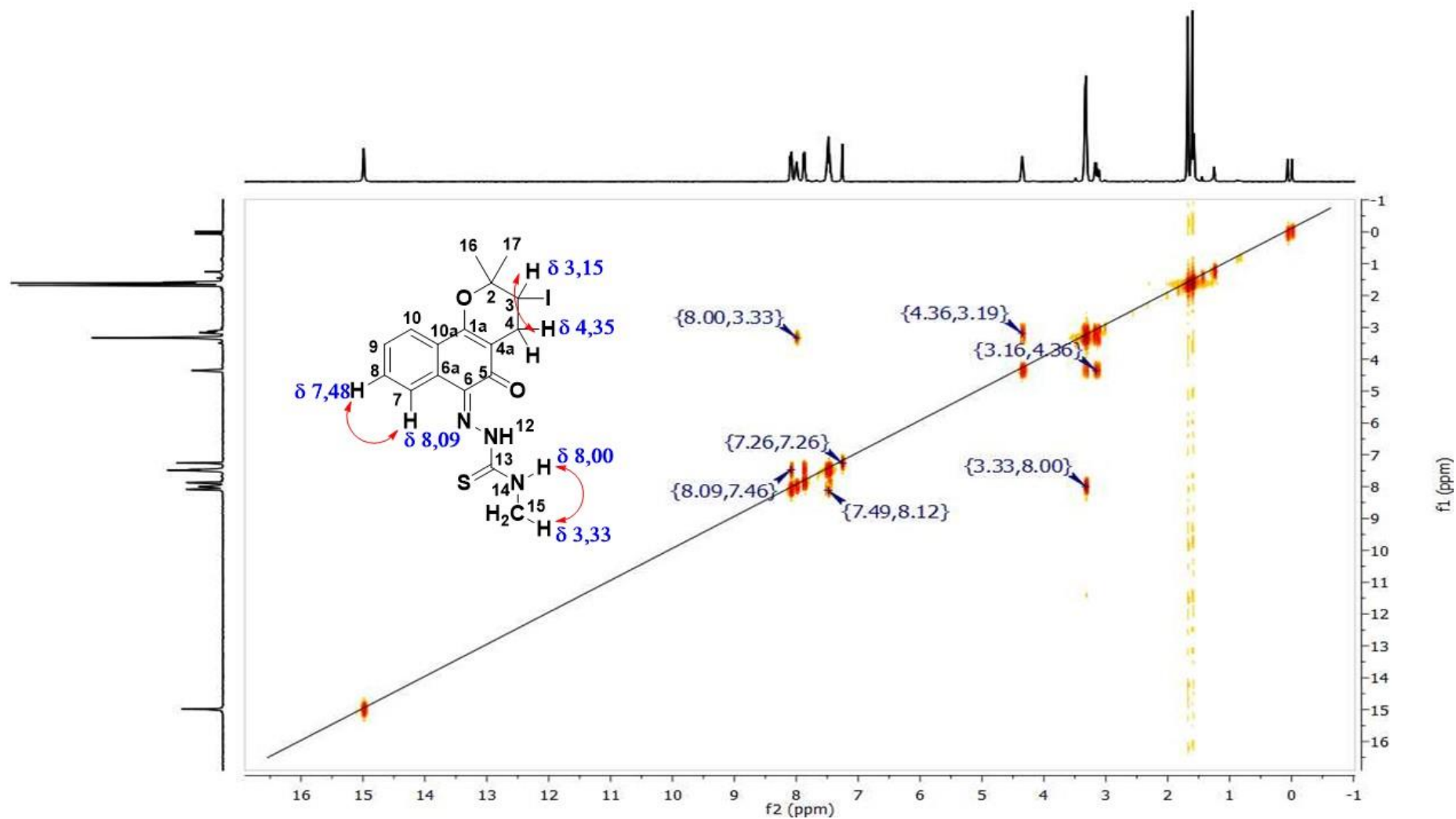


Figura I5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) do **TSM3**.

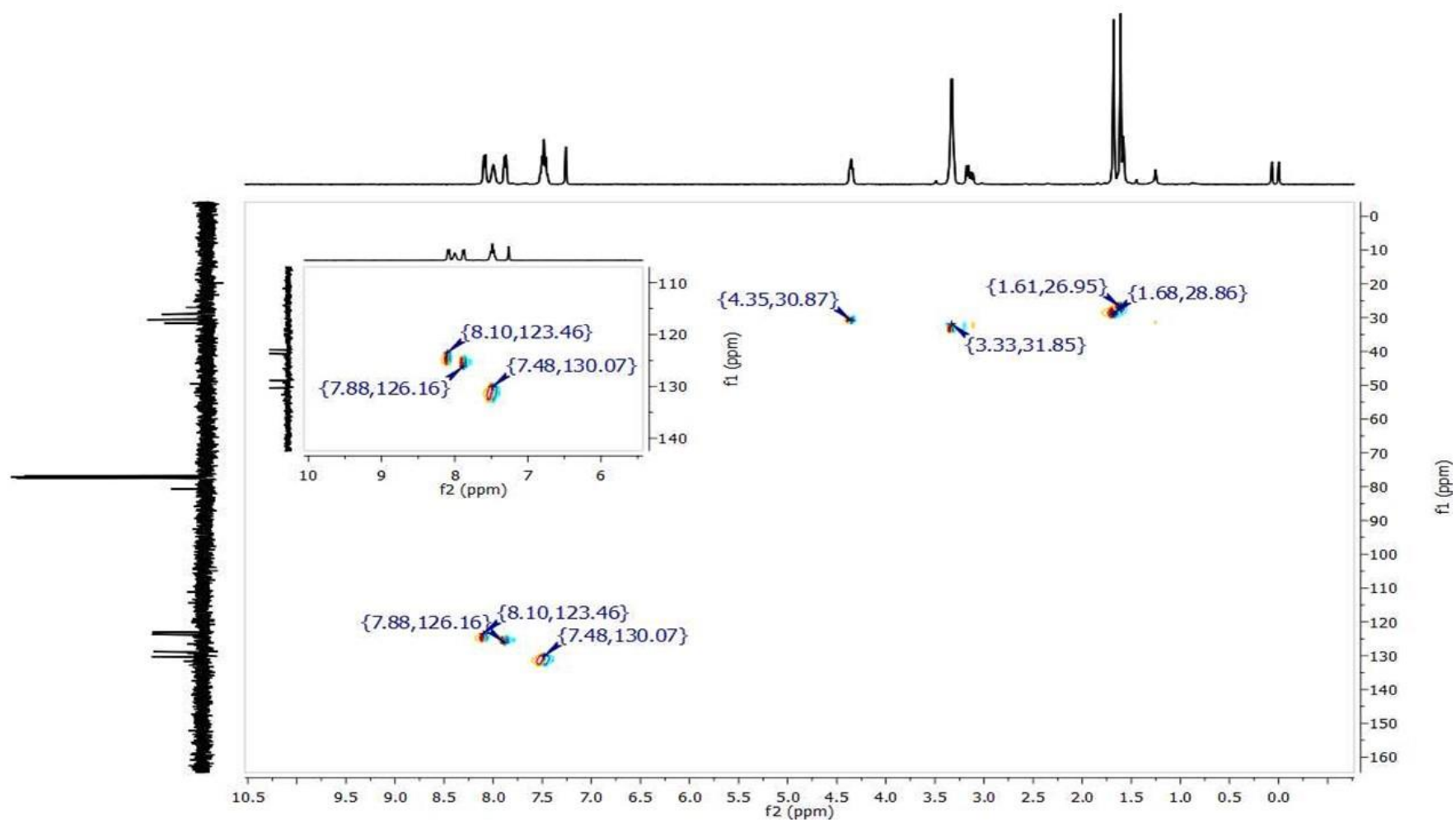


Figura I6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) do **TSM3**.

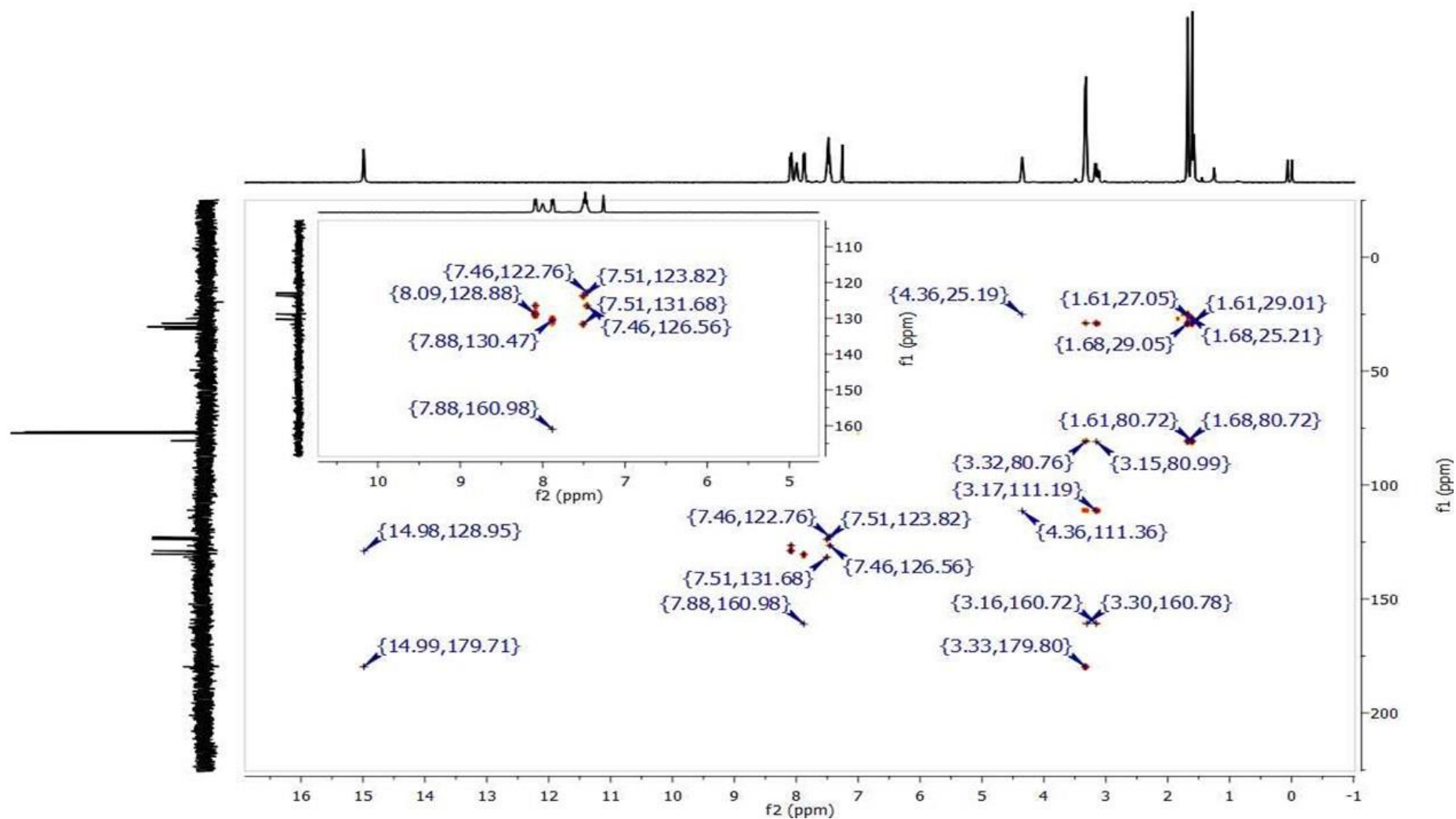


Figura I7 - Espectro de IV em pastilha de KBr do **TSM3**.

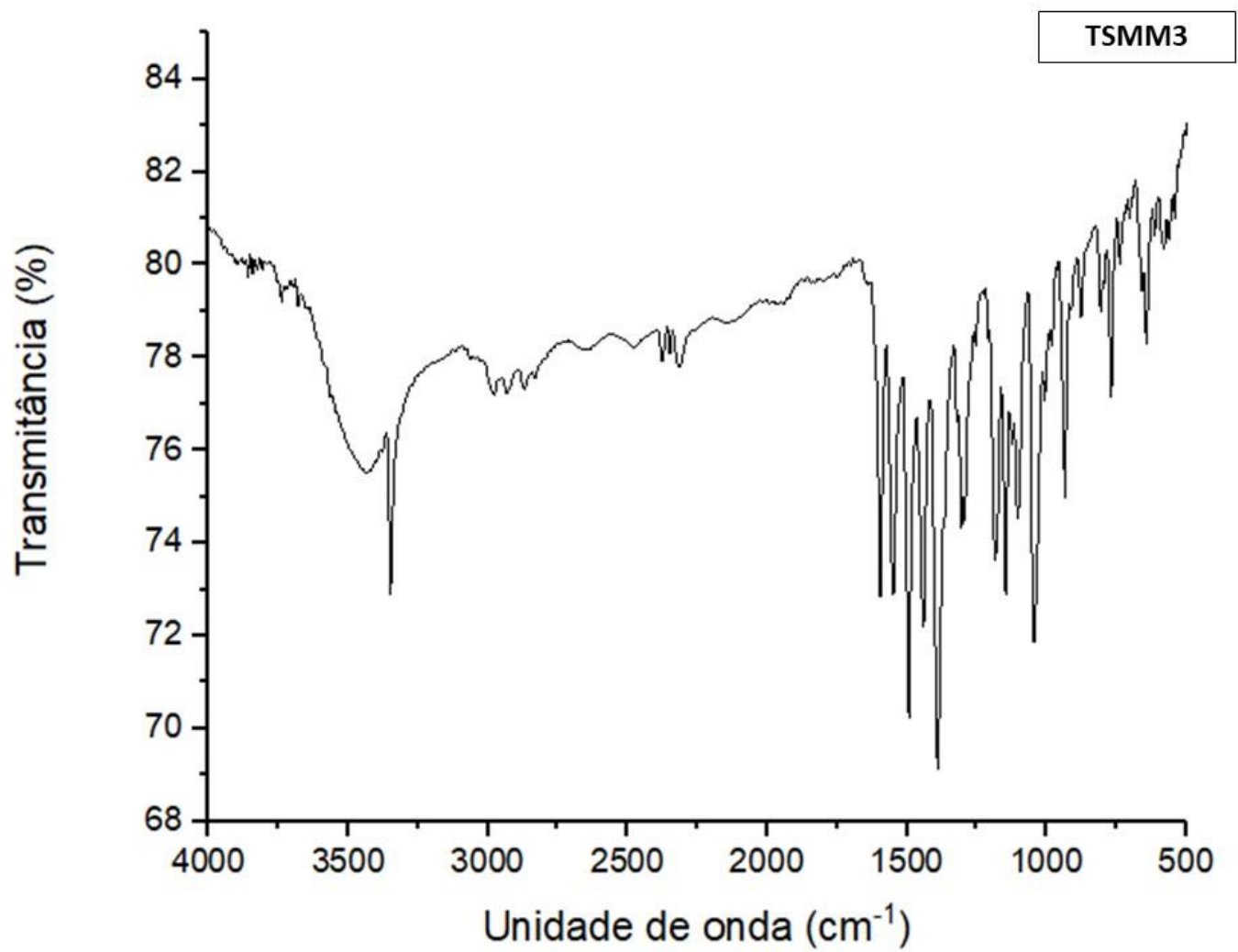
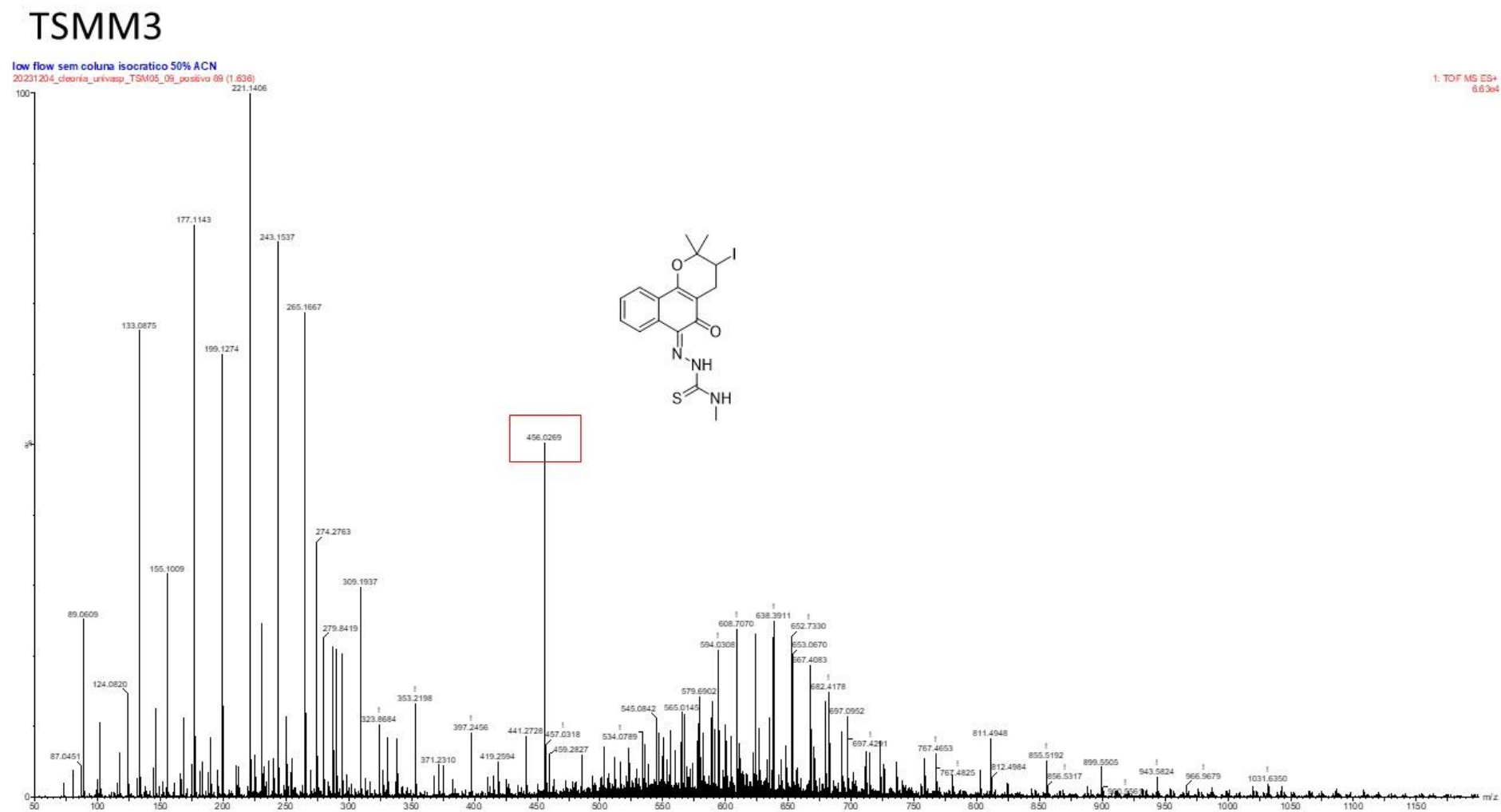


Figura I8 - Espectro total de massas de alta resolução do TSM3.



APÊNDICE J

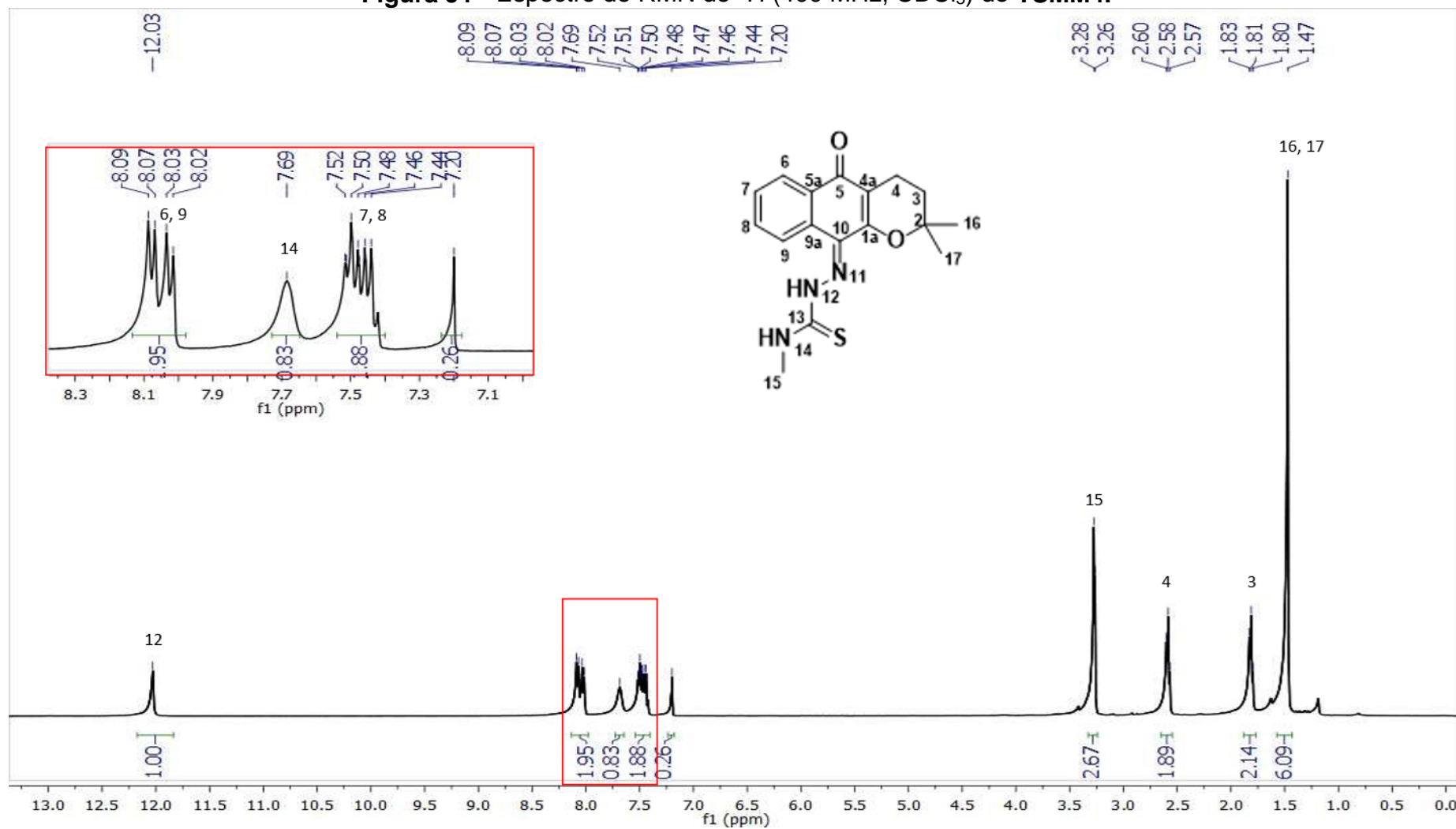
Figura J1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do TSM4.

Figura J2 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do **TSM4**.

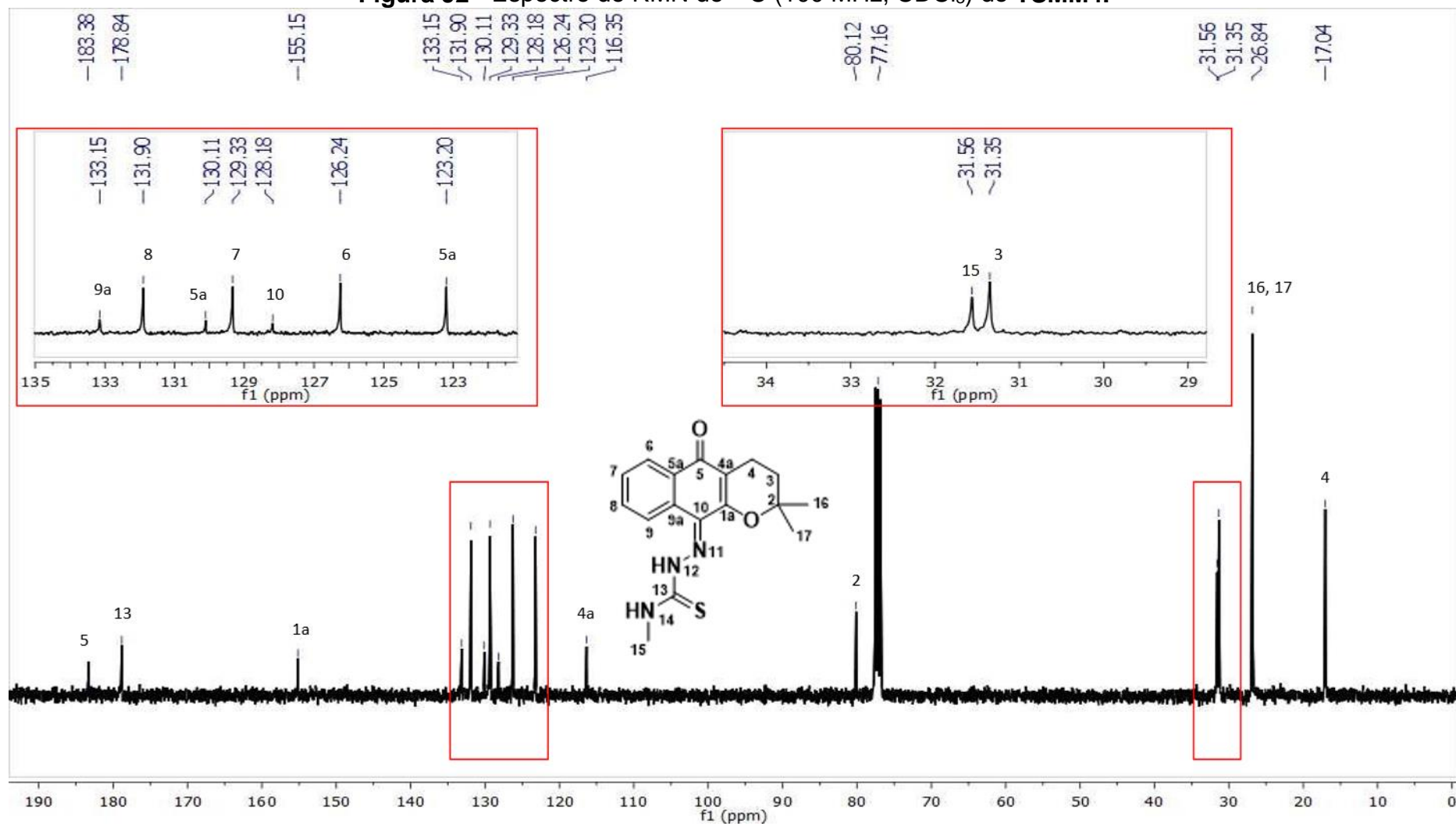


Figura J3 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° (100 MHz, CDCl_3) do **TSM4**.

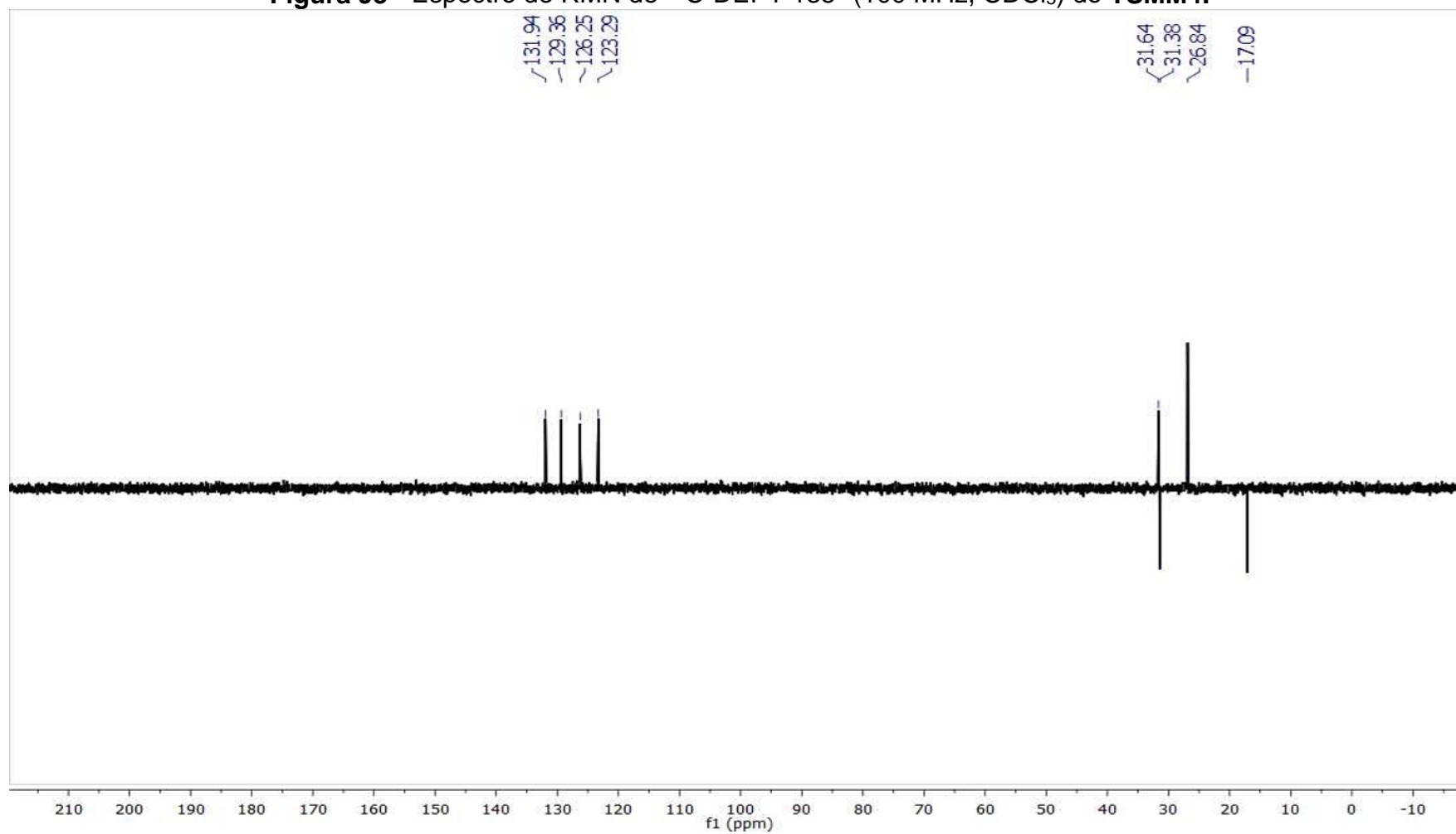


Figura J4 - Espectro de RMN de ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) do **TSM4**.

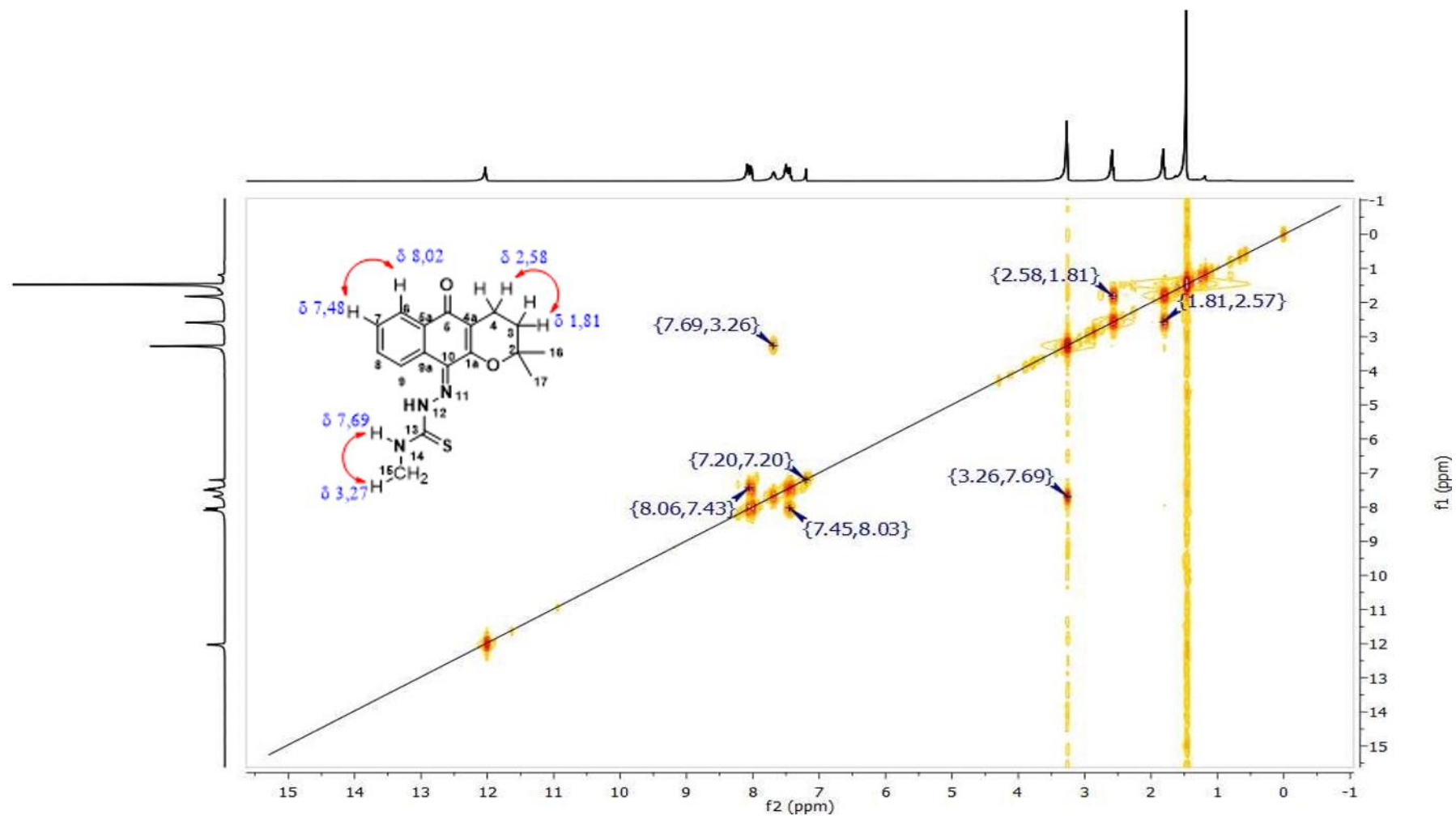


Figura J5 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HSQC (400 MHz, CDCl_3) do **TSM4**.

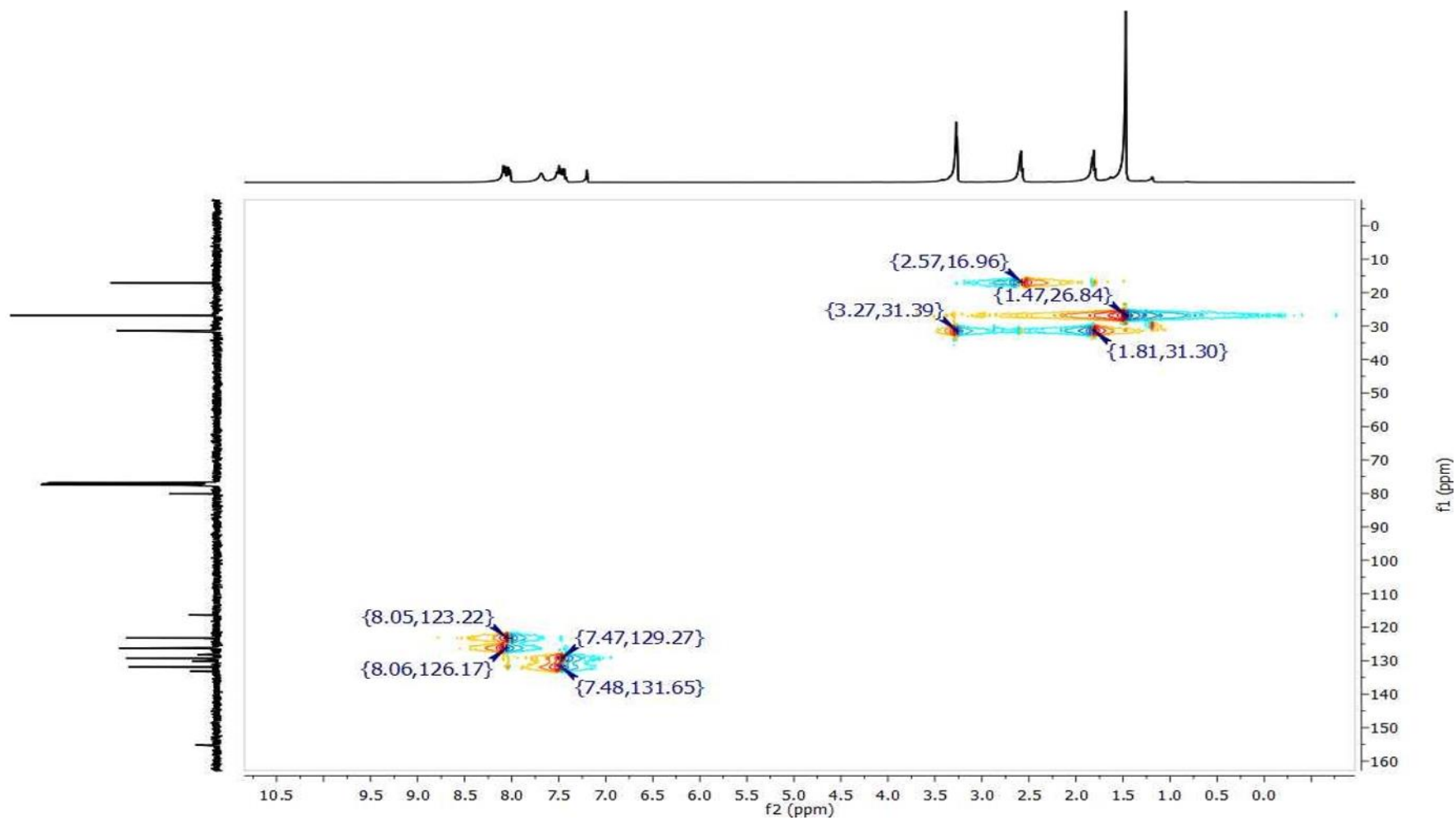


Figura J6 - Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMBC (400 MHz, CDCl_3) do **TSM4**.

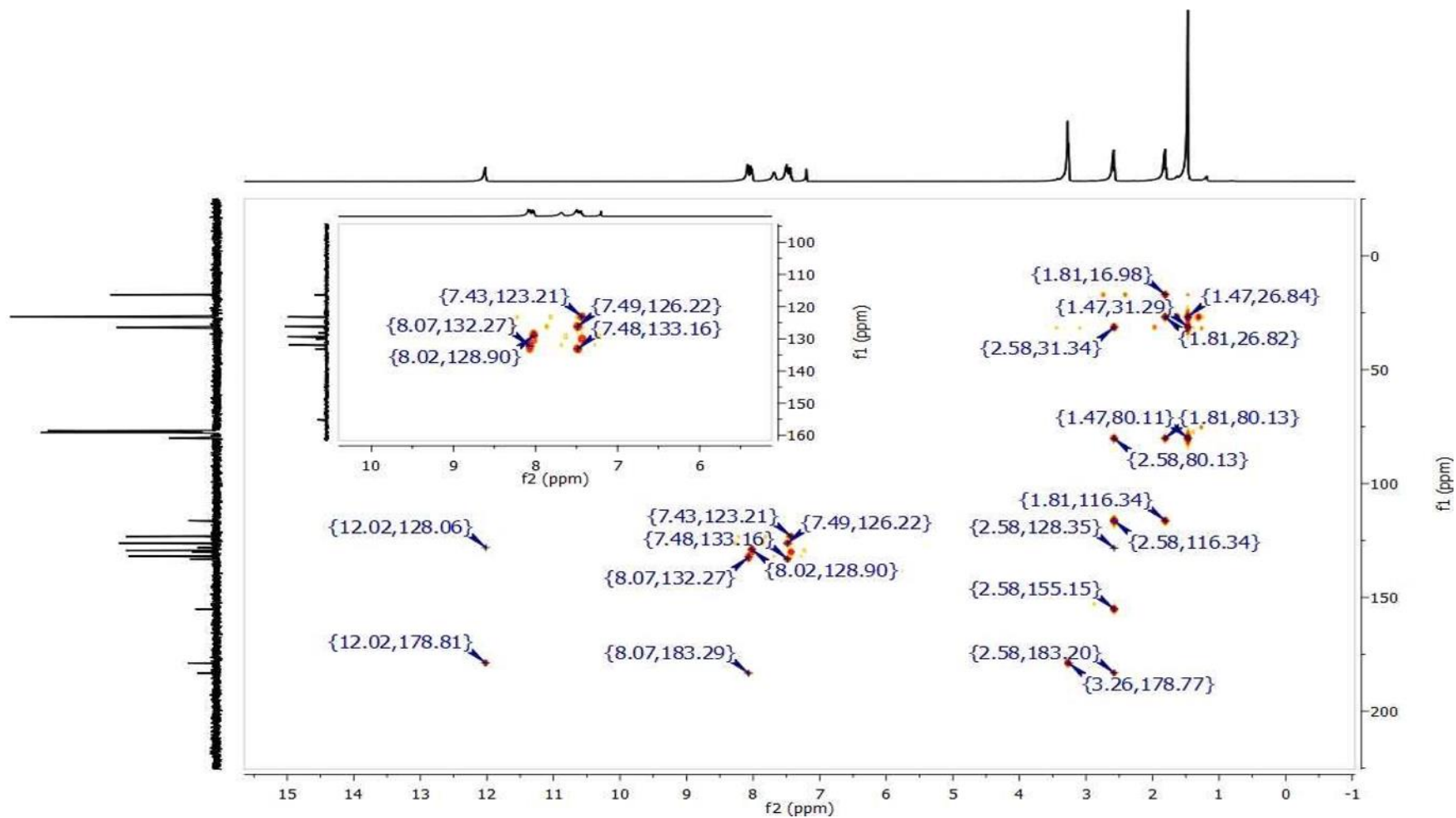


Figura J7 - Espectro de IV em pastilha de KBr do **TSM4**.

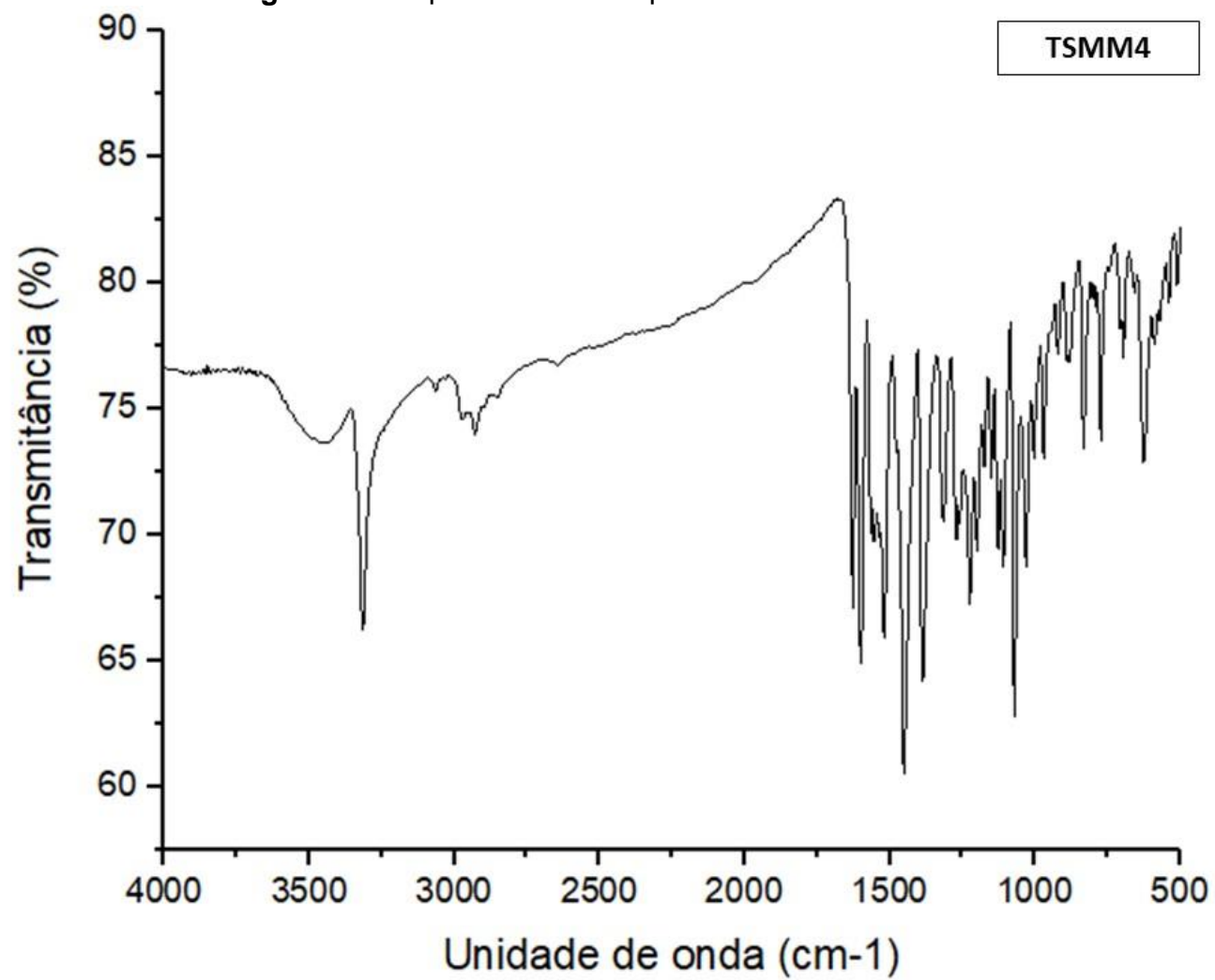


Figura J8 - Espectro total de massas de alta resolução do TSMM4.