

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e
Bioprospecção



Dissertação

**1*H*-Pirazol-1-il-4-feniltiazóis: Reveladores de
Impressões Digitais Latentes com Baixa
Citotoxicidade**

Bruno Nunes da Rosa

Pelotas, outubro de 2018.

Bruno Nunes da Rosa

**1*H*-Pirazol-1-il-4-feniltiazóis: Reveladores de Impressões Digitais Latentes com
Baixa Citotoxicidade**

Dissertaçãoa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção dotítulo de Mestre em Ciências (áreado Conhecimento: Bioquímica e Bioprospecção).

Orientador: Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira

Co-orientador: Dr^a. Kristiane de Cássia Mariotti

Pelotas, outubro de 2018.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

R7881 Rosa, Bruno Nunes da

1H-Pirazol-1-il-4-feniltiazóis: Reveladores de Impressões Digitais Latentes com Baixa Citotoxicidade / Bruno Nunes da Rosa ; Claudio Martin Pereira de Pereira, orientador ; Kristiane de Cássia Mariotti, coorientadora. — Pelotas, 2018.

63 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Impressões digitais latentes. 2. Tiazol. 3. Fluorescência. 4. Substância reveladora. I. Pereira, Claudio Martin Pereira de, orient. II. Mariotti, Kristiane de Cássia, coorient. III. Título.

CDD : 574.192

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**1H-Pirazol-1-il-4-feniltiazóis: Reveladores de Impressões Digitais Latentes com
Baixa Citotoxicidade**

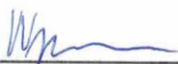
elaborada por
Bruno Nunes da Rosa

Como requisito à obtenção do título de **Mestre em Ciências**
(Área do conhecimento: **Bioquímica e Bioprospecção**)

Banca Examinadora



Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira (PPGBBio/CCQFA) – PRESIDENTE



Prof. Dr. Wilson João Cunico Filho (PPGBBio/ CCQFA)



Prof. Dr. Vinicius Farias Campos (PPGBBio/CDTEC)

Agradecimentos

Expresso a minha gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, especialmente:

À minha mãe Carmen da Rosa, meu irmão Guilherme da Rosa e namorada Valesca Dias, por compartilhar diferentes momentos e estarem sempre comigo; incentivarem em todas as escolhas, além de aguentar os estresses do dia-a-dia.

Ao professor Claudio Pereira, pela orientação desde a iniciação científica e por sempre acreditar e me apoiar na pesquisa. Obrigado por todas orientações, conversas, cafés, cervejas e grande parceria e amizade durante todos esses anos.

À Dra. Kristiane Mariotti, minha co-orientadora, por aceitar a parceria com o nosso laboratório, e por ter me recebido na Polícia Federal, juntamente com a Marina González. Pela orientação e ensinamentos nos experimentos de papiloscopia.

Aos amigos do “grupo fingerprint” Bruna Pacheco, Caroline Carapina, Taís Poletti, e Caroline Nicolodi por compartilhar de momentos diários de descontração e de trabalho. Companhia para todas horas e risadas garantidas.

Aos amigos de laboratório Lucas Berneira, Kathleen Winkel, Samantha Freitas, Marco Ziemann, Letícia Ferreira, Allison Assunção, Júlia Balota, Thais Figueiredo e Luan Passos pela colaboração, troca de experiências, bom convívio, bons cafés e parceria nas junções de copa do mundo.

Ao professor Neftalí e seus alunos por sempre estarem dispostos a colaborar com nosso estudo e por contribuir com análises em seu laboratório.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção por colaborar para um ambiente de ensino multidisciplinar e empreendedor.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Forense (INCT-Forense) por propiciar recursos e parceria efetiva na área de ciências forenses.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro que nos permite dar continuidade aos estudos e pesquisas.

“The most beautiful thing we can experience is the mysterious. It is the
source of all true art and science.”

Albert Einstein

PARTE I

Resumo

DA ROSA, Bruno Nunes. **1H-Pirazol-1-il-4-feniltiazóis: Reveladores de Impressões Digitais Latentes com Baixa Citotoxicidade**. 2018. 63f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Impressões digitais latentes (IDL) quando detectadas em locais de crime são consideradas como evidências circunstanciais em investigações forenses e para a justiça criminal. Tal importância se dá devido a singularidade no padrão de crista para cada indivíduo e, portanto, são únicos e vitais para a identificação e ou o envolvimento de um suspeito. Para a visualização de uma IDL faz-se necessário que alguma substância seja capaz de reagir quimicamente ou fisicamente com os compostos presentes nela. Considerando-se isso, foram sintetizados diferentes análogos de 1H-pirazol-1-il-4-feniltiazol e avaliados quanto ao seu potencial revelador de IDL, já que os compostos apresentam coloração e fluorescência. Os produtos foram sintetizados a partir de tiocarbamoilpirazóis e 4-Bromoacetofenona em rendimentos de 70-77%. IDL foram depositadas para avaliar compostos écrinos e sebáceos e reveladas com os compostos preparados. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) comprovou que os compostos em forma de pó apresentaram aderência em comparação aos reagentes comercialmente consolidados. Além disso, a avaliação de fluorescência mostrou alta emissão na faixa de 472-475 nm. Os 1H-pirazol-1-il-4-feniltiazol foram avaliados quanto à citotoxicidade em células de queratinócitos, apresentando resultados positivos com alta viabilidade celular. Estes compostos representam uma classe alternativa de reagentes de detecção de IDL. O presente estudo sugere uma nova aplicação para os derivados de 1H-pirazol-1-il-4-feniltiazol como potencial novo produto revelador de impressões digitais latentes.

Palavras-chave: Impressões digitais latentes; fluorescência; tiazol; substância reveladora.

Abstract

DA ROSA, Bruno Nunes. **1H-Pirazol-1-il-4-feniltiazóis: Reveladores de Impressões Digitais Latentes com Baixa Citotoxicidade**. 2018. 63f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Latent fingerprint (LFM) when detected at crime scenes are considered as circumstantial evidence in forensic investigations and criminal justice. Such importance is due to the uniqueness in crest pattern for each individual and thus are unique and vital for the identification or involvement of a suspect. For the visualization of an LFM it is necessary that some substance is able to react chemically or physically with the compounds present therein. In view of this, different 1H-pyrazol-1-yl-4-phenylthiazole analogues were synthesized and evaluated for their LFM developer potential, since the compounds show staining and fluorescence. The products were synthesized from thiocarbamoyl pyrazoles and 4-bromoacetophenone in yields of 70-77%. LFM were deposited to evaluate eccrine and sebaceous compounds and developed with the compounds prepared. Scanning electron microscopy (SEM) showed that the compounds in powder form exhibited adhesion compared to commercially bound reagents. In addition, the fluorescence assessment showed high emission in the range of 472-475 nm. The 1H-pyrazol-1-yl-4-phenylthiazole were evaluated for cytotoxicity in keratinocyte cells, presenting positive results with high cell viability. These compounds represent an alternate class of LFM detection reagents. The present study suggests a new application for 1H-pyrazol-1-yl-4-phenylthiazole derivatives as a potential novel latent fingerprinting product.

Keywords: Latent fingerprint; fluorescence; thiazole; developer substance.

Lista de Figuras

Figura 1. Classificação das impressões digitais de acordo com Juan Vucetich	14
Figura 2. Compostos orgânicos de origem bioquímica presentes em impressões digitais.	19
Figura 3. Variáveis que implicam na composição de impressões digitais antes e depois da deposição	20
Figura 4. Mecanismo de reação da ninidrina com aminoácidos	21
Figura 5. Estrutura dos análogos de ninidrina	22

Lista de Abreviaturas

BPE	Bovine Pituitary Extract
CIT	Coordenação de Inovação Tecnológica
EGF	Epidermal Growth Factor
IDL	Impressões Digitais Latentes
INPI	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
LFM	Latent Fingermarks
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MTT	brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolio
NOK-SI	Normal Oral Keratinocytes Spontaneously Immortalized
SEM	Scanning Electron Microscopy

Sumário

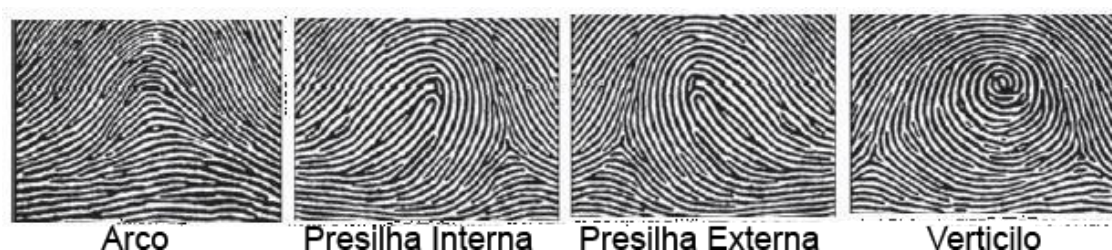
1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
Objetivo Geral	15
Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
Impressões Digitais	16
Composição	16
Substâncias Reveladoras	19
Desenvolvimento de Novas Substâncias Reveladoras	21
Feniltiazol	23
ARTIGO CIENTÍFICO	25
SUPPLEMENTAL FILES	44
PATENTE	49
4 Considerações gerais sobre a patente	50
5 CONCLUSÃO	62
6 REFERÊNCIAS	63

PARTE II

1 INTRODUÇÃO

As impressões digitais são amplamente utilizadas na resolução de crimes devido aos padrões característicos nas superfícies palmares das mão e dos pés. Em especial, são comumente encontradas, em diferentes superfícies, as digitais das pontas dos dedos, as quais vão diferenciar um ser humano de outro, uma vez que, duas pessoas não têm exatamente as mesmas digitais apresentando diferentes características e minúcias (FIGINI, 2012). O que, no âmbito das ciências forenses, acaba se tornando uma importante ferramenta de identificação humana, bem como, contribuindo para investigações forenses (CABALLERO, 2012).

Os sulcos presentes nas impressões digitais formam imagens específicas, que podem ser enquadradas em quatro tipos majoritarios de formato de acordo com a classificação de Juan Vucetich. Sendo, arco, presilha interna, presilha externa e verticilo como ilustrado na **Figura 1** (BAXTER, 2015; CHAMPOD, 2016). Além disso, podem ser analisados diferentes pontos característicos produzindo algumas figuras como: ponto, ilhota, fim de linha, delta e bifurcação. Para fins de comparação entre uma impressão digital questionada e uma impressão digital padrão de determinado indivíduo, a legislação brasileira exige a coincidência de, no mínimo, 12 pontos idênticos e na mesma localização, para confirmar uma identidade (VELHO; GEISER; ESPINDULA, 2017).



Fonte: Adaptado pelo autor, BAXTER, 2015.

Figura 1 – Classificação das impressões digitais de acordo com Juan Vucetich.

Impressões digitais podem ser encontradas de diferentes formas, tais como: Impressões latentes, as quais são invisíveis e requerem o emprego de alguma técnicas de revelação; impressões visíveis, que podem ser observadas devido as pontas dos dedos estarem contaminadas com tinta, óleo ou sangue; e impressões

modeladas, que são aquelas que aparecem facilmente em superfícies macias e modeláveis, como massa de vidraceiro por exemplo (JIN et al., 2017; FIGINI, 2012).

Em especial as impressões digitais latentes (IDL) dificilmente serão depositadas de forma intencional por um indivíduo, mas sim como uma consequência de secreções naturais da pele, que são substâncias de origem bioquímica e de outros agentes aderentes, podendo variar de acordo com o indivíduo (CADD et al., 2015). Dentre os constituintes residuais das IDL são, de forma geral, lipídeos, aminoácidos, ceras, esteres, proteínas (GIROD; RAMOTOWSKI; WEYERMANN, 2012). Então para que seja possível uma revelação, faz-se necessário que algum composto seja capaz de reagir quimicamente ou fisicamente com um ou mais desses componentes presentes, de modo que torne visíveis as impressões digitais para avaliação (MARTINIS, 2015). Dentre as metodologias utilizadas, podem ser citados métodos físicos, químicos ou mistos. Sendo amplamente empregada a técnica do pó, por ser uma técnica rápida e fácil, demonstrando bons resultados. Embora outras técnicas como vapor de iodo, ninidrina e cianoacrilato também sejam amplamente utilizadas.

Nesse sentido, nos últimos anos, tem havido um crescente número de publicações que refletem o interesse científico neste campo (HUYNH; HALAMEK, 2016). O desenvolvimento de novas técnicas de detecção de IDL ou o aprimoramento de metodologias operacionais já utilizadas, podem trazer benefícios para a comunidade forense. Assim, o objetivo no presente trabalho, foi sintetizar análogos de 1*H*-pirazol-1-il-4-feniltiazol de baixa citotoxicidade e avaliar como novo pó revelador de IDL.

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

O objetivo geral do trabalho compreende o estudo do potencial dos 1*H*-pirazol-1-il-4-feniltiazóis como reveladores de impressões digitais latentes. A citotoxicidade dessas substâncias também será avaliada.

Objetivos Específicos

- 1) Síntese de 1*H*-pirazol-1-il-4-feniltiazóis;
- 2) Identificação dos 1*H*-pirazol-1-il-4-feniltiazóis através de ferramentas espectroscópicas: RMN ¹H, ¹³C, espectroscopia de infravermelho e espectrometria de massas;
- 3) Avaliação da citotoxicidade dos 1*H*-pirazol-1-il-4-feniltiazóis em células de queratinócitos;
- 4) Avaliação do potencial dos 1*H*-pirazol-1-il-4-feniltiazóis como reveladores de impressões digitais latentes em vidro e plástico conforme protocolo utilizado pelas polícias científicas;
- 5) Avaliação da interação dos 1*H*-pirazol-1-il-4-feniltiazóis com as superfícies através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

3 REVISÃO DE LITERATURA

Impressões Digitais

Composição

A epiderme é a camada mais externa da pele, composta por epitélio dividido em diferentes camadas. A camada córnea é a camada mais externa da epiderme e é composta de células mortas regularmente eliminadas através do processo contínuo de descamação necessário para a renovação da pele (CANDI; SCHMIDT; MELINO, 2005; MILSTONE, 2004). Durante este processo, as células migram através da epiderme da camada basal em direção à superfície em aproximadamente 30 dias. Diferentes proteínas se proliferam durante esse fenômeno (DRAPEL et al., 2009) o que faz com que os compostos sejam transferidos para um substrato. Com isso, uma impressão digital é composta de secreções de suor transferidas para um substrato, resultando em uma impressão do padrão de crista ou impressão deixada por um indivíduo (BAXTER, 2015). Devido a importância de compostos reveladores de impressões digitais reagirem com essas secreções presentes nas pontas dos dedos. Cabe salientar, que as impressões digitais contêm uma mistura de substâncias originárias da epiderme, provenientes das glândulas secretoras da derme, apresentando componentes intrínsecos, incluindo metabólitos, traços de medicamentos e drogas; contaminantes extrínsecos, como sangue, sujeira e graxa, maquiagem, contaminantes de alimentos, hidratantes e produtos capilares (IFA et al., 2008; HARKER, 2006). Os constituintes intrínsecos e extrínsecos podem variar significativamente entre indivíduos, bem como do mesmo indivíduo, de um dia para o outro e em momentos diferentes no mesmo dia (GIROD; RAMOTOWSKI; WEYERMANN, 2012).

Os componentes intrínsecos de uma impressão digital são substâncias compostas por 95-99% de água e compostos orgânicos (LIEWELLYN; DINKINS, 1995). O componente éctrico da impressão digital é composto de aproximadamente 98% de água, bem como compostos orgânicos e inorgânicos (CROXTON, 2010; RAMOTOWSKI, 2001), sendo os orgânicos majoritários, aminoácidos, proteínas e alguns açúcares; enquanto que os inorgânicos majoritários como cloro, sódio, potássio, ferro e cálcio (YAMASHITA; FRENCH, 2011; CADD et al., 2015). Alguns

estudos relatam a quantificação dos aminoácidos em impressões digitais utilizando eletroforese capilar acoplada com espectrometria de massas, ressaltando que as substâncias em maior abundância e quase sempre encontradas são serina, glicina, ornitina, ácido aspártico, alanina, valina, histidina e treonina (ATHERTON et al., 2012). Por sua vez, o suor sebáceo é composto de numerosos compostos orgânicos de origem bioquímica. A maioria são lipídios incluindo ácidos graxos, glicérides e ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, esqualeno, esteróis, colesterol e outros ésteres lipídicos (RAMOTOWSKI, 2001; GIROD; RAMOTOWSKI; WEYERMANN, 2012). Semelhante aos aminoácidos, os ácidos graxos em impressões digitais também já foram avaliados por caracterizados, porém por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, sendo encontrado ácido octanóico, ácido decanóico, ácido dodecanóico, ácido 9,12-octadecadienóico, ácido tetraicosanóico (WEYERMAM; ROUX; CHAMPOD, 2011; GIROD; RAMOTOWSKI; WEYERMANN, 2012; FRICK et al., 2015). Em resumo alguns dos compostos presentes nas impressões digitais provenientes das glândulas ecrina e sebácea, estão representados na **Figura 2**.

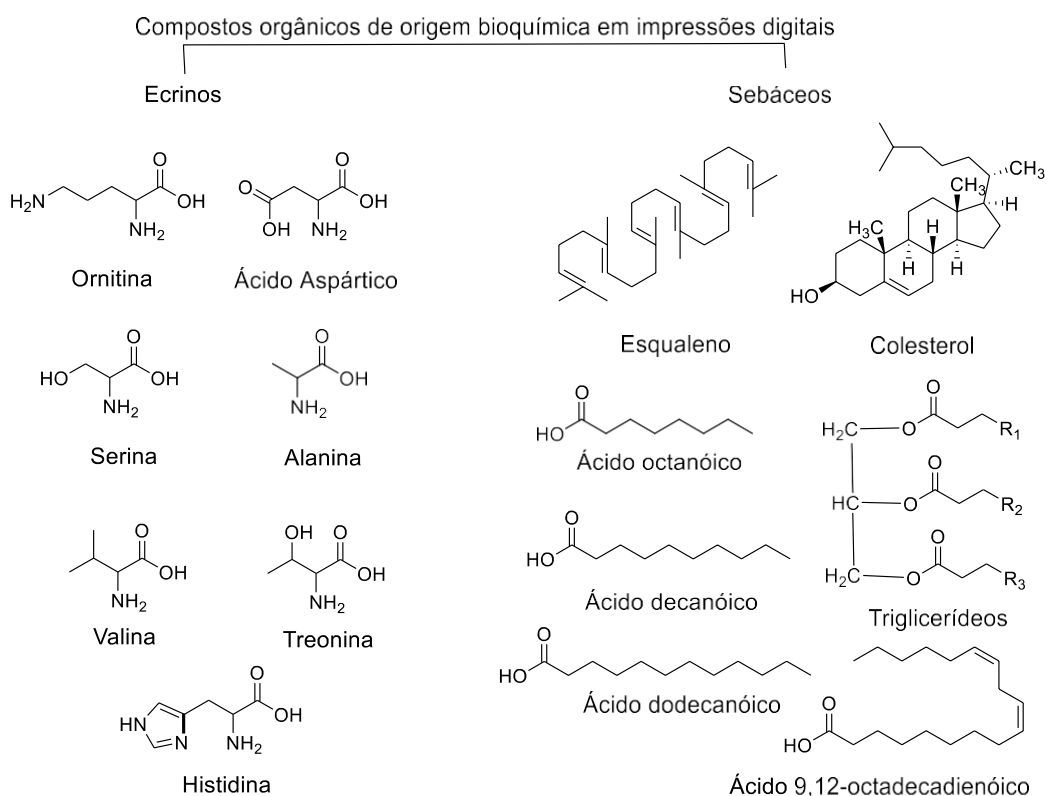
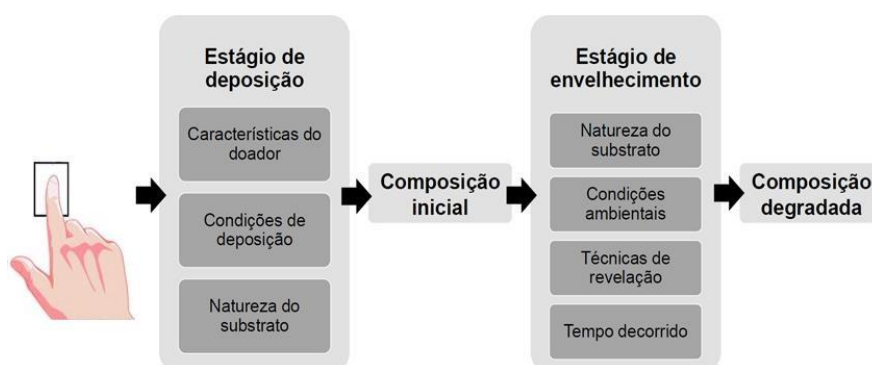


Figura 2 – Compostos orgânicos de origem bioquímica presentes em impressões digitais.

A composição de uma impressão digital está sujeita a inúmeros fatores, que afetam a composição inicial tanto na deposição quanto após o envelhecimento ao longo do tempo. Esses fatores afetam a composição da impressão digital em duas etapas, podendo ser descrita como o estágio de deposição e o estágio de envelhecimento, resultam em uma matriz particularmente complexa e variável (SEARS et al., 2012).

O estágio de deposição é afetado pelas características do doador, incluindo idade, gênero, raça e dieta; as condições de deposição, incluindo ação de deposição, tempo de contato, ângulo e pressão; e a natureza do substrato, incluindo porosidade, curvatura e textura da superfície. Devido a variações consideráveis entre doadores, métodos de deposição e substratos, a composição inicial pode variar significativamente (SEARS et al., 2012; GIROD; RAMOTOWSKI; WEYERMANN, 2012; CADD et al., 2015).

O estágio de envelhecimento afeta a composição imediatamente após a deposição, produzindo a composição envelhecida encontrada no realce. Durante o estágio de envelhecimento, as impressões digitais são afetadas pelo substrato, condições ambientais, tais como temperatura, umidade e níveis de luz. Também, as técnicas de revelação, tais como métodos físicos, físico-químicos ou químicos; e o tempo decorrido desde a deposição, com períodos de envelhecimento mais longos, resultando em maior degradação dos componentes de impressão digital (GIROD; RAMOTOWSKI; WEYERMANN, 2012; CADD et al., 2015). A composição da idade final é, portanto, uma combinação de todos os fatores, tanto do estágio de deposição quanto do estágio de envelhecimento, essas variáveis estão destacadas na **Figura 3**.



Fonte: Adaptado pelo autor, CADD et al., 2015.

Figura 3 – Variáveis que implicam na composição de impressões digitais antes e depois da deposição.

A partir disso, as impressões digitais depositadas em uma cena de crime estão sujeitas a uma variedade de substratos e estão, portanto, sujeitos a variações ambientais, o que pode afetar significativamente a forma como a composição muda ao longo do tempo (CADD et al., 2015). Com isso, cada vez mais a busca para o desenvolvimento de diferentes meios de tornar visíveis essas impressões digitais (HUYNH; HALAMEK, 2016).

Substâncias Reveladoras

Em particular, substâncias de origem sintética tem sido de relevante pesquisa no sentido da possibilidade de produção pela indústria e posterior comercialização. Nesse sentido, a ninidrina é reconhecida como o reagente de grande importância para a visualização impressões digitais latentes em algumas superfícies para auxiliar investigações criminais. Na reação representada pela **Figura 4**, a ninidrina (2,2-dihidroxi-1,3-indanodiona) ao reagir com os aminoácidos forma um produto púrpura não fluorescente. A substância foi sintetizada pela primeira vez e descoberta a reação com aminoácidos em 1910 por Siegfried Ruhemann. Uma mudança de cor foi observada depois que o reagente contatou sua pele, com a formação de um composto roxo que foi subsequenteiramente chamado “roxo de Ruhemann” (HANSEN; JOULLIÉ, 2004; FRIESEN, 2015). Com isso, a ninidrina tornou-se amplamente utilizada para analisar e caracterizar aminoácidos, peptídeos e proteínas, bem como numerosos outros compostos positivos para ninidrina em matrizes alimentares, forenses, histoquímicas, microbiológicas e nutricionais (FRIEDMAN, 2004; FRIESEN, 2015). Cabe salientar, que no caso das impressões digitais a coloração purpura pode variar até próximo do laranja, alterando de pessoa para pessoa, em função dos componentes presentes na impressão digital (FIGINI, 2012).

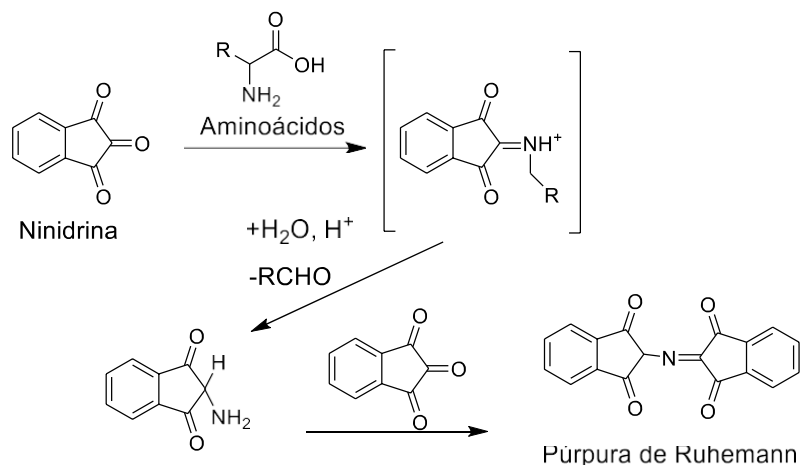


Figura 4 – Mecanismo de reação da ninidrina com aminoácidos.

Apesar do sucesso operacional da ninidrina em relação ao desenvolvimento de marcas de expressão latentes em superfícies porosas, várias limitações se tornaram aparentes. Em particular a falta de contraste em alguns casos. Com isso começaram a ser feitas estruturas análogas a ninidrina como a benzoninidrina, 5-metilninidrina, 1,8-diazafluorenona, 1,2-indandiona, 5-aminoninidrina, 5-metoxininidrina e 5-aminoninidrina (JELLY et al., 2009; MARMINON et al., 2015), com suas estruturas representadas na **Figura 5**.

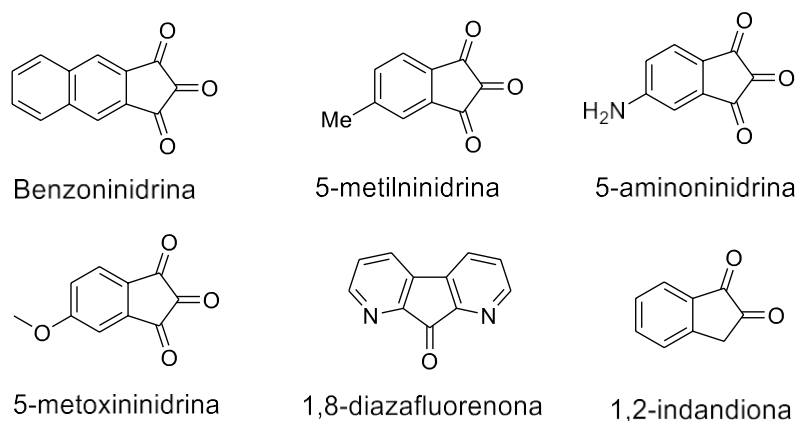


Figura 5 – Estrutura dos análogos de ninidrina.

Semelhante a ninidrina a 1,2-indandiona e a 1,8-diazafluorenona reagem com aminoácidos pelo mesmo mecanismo de reação. Porém, esses compostos são reconhecidos devido a sua alta fluorescência, atribuindo uma revelação de melhor contraste para as impressões digitais quando excitadas com uma fonte de iluminação apropriada. Segundo Jelly e colaboradores (JELLY et al., 2008), todos os reagentes que apresentarem uma certa fluorescência podem fornecer imagens de boa qualidade

para impressões digitais, aplicando iluminação e emissão de fluorescência corretamente.

Apesar desses reagentes estarem consagrados na papiloscopia, já é bem descrito que estes compostos apresentam alta toxicidade e efeitos carcinogênicos (KING; HALLETT; FOSTER, 2015; BECUE et al., 2011). Assim como a técnica do pó, onde existem diferentes pós com composições variadas apresentando diferentes sais inorgânicos que podem causar risco a saúde humana. Dentre esses, podem ser citados pó de óxido de ferro, pó de dióxido de manganês, pó negro-de-fumo, pó de óxido de titânio e pó de carbonato de chumbo. A exposição a esses pós pode não ter efeitos imediatos, mas pode causar ferimentos ou doença após uso prolongado, se os procedimentos e protocolos de segurança não forem seguidos (CHEMELLO, 2006; DALUZ, 2015).

Desenvolvimento de Novas Substâncias Reveladoras

Nesse contexto, para o desenvolvimento de novas técnicas ou substâncias reveladoras de IDL, alguns autores desenvolveram diferentes metodologias para testar a viabilidade e o potencial destes, de modo a auxiliar as pesquisas nessa área e fazer com que os pesquisadores sigam alguns parâmetros, devido as inúmeras variáveis que podem ser consideradas em relação a uma IDL.

Como essas variáveis vão estar de acordo com o estágio de deposição e o estágio de envelhecimento, uma das precauções a ser avaliada é o número de doadores e o número de substratos a serem considerados. Sendo que o número de doadores quanto maior, é considerado como representativo da população, sem desconsiderar impressões mal reveladas (KENT, 2010). Enquanto que o número de substratos pode ser considerado de forma ampla sendo avaliados dois ou mais.

Desse modo, sabendo que as impressões papilares apresentam substâncias provenientes das glândulas écrina (impressão digital natural) e sebácea (impressão digital “gordurosa”), pode ser avaliado qual tipo de impressão tem a melhor interação com o novo revelador (IFRG, 2014). De modo que os doadores devem contaminar os dedos com a gordura presente na testa e nariz para impressão “gordurosa” e levar as mãos para impressão natural (SEARS et al., 2012). Os resultados devem ser confrontados e avaliados qual teve a melhor qualidade de impressão digital revelada. Cabe salientar, que as impressões papilares femininas vão apresentar quantidade

menor de compostos do que as impressões masculinas, de modo que essa diferenciação deve ser considerada (FERGUSON et al., 2012).

Outra ferramenta bastante utilizada para avaliar a sensibilidade de novos compostos reveladores de IDL são as séries de depleção (KENT, 2010; SEARS et al., 2012; IFRG, 2014). Essas séries são obtidas pela coleta sequencial de diferentes IDL de um mesmo indivíduo em um pequeno intervalo, depositando várias impressões digitais consecutivas do mesmo dedo e em locais diferentes da mesma superfície, sem guardar a produção de secreção nem repor. A cada deposição, a quantidade de resíduos transferidos da pele para a superfície diminui, de modo que as impressões depositadas tendem a se tornar cada vez menos detectáveis. Com isso, pode ser avaliada a eficiência do revelador para impressões contendo diferentes quantidades de compostos (SEARS et al., 2012).

Nesse sentido, para implementação de novos reveladores de IDL, essas ferramentas utilizadas levam o novo método a se enquadrar em quatro fases de avaliação da pesquisa. A fase 1 envolve avaliações iniciais e comprovação de conceito do novo reagente para detecção de IDL. Enquanto que a fase 2 é uma avaliação mais detalhada do método, sendo otimizados os parâmetros nas variáveis como: substrato; doadores; período de envelhecimento e comparado com técnicas operacionais estabelecidas. Já na fase 3, o método desenvolvido deve ser empregado com sucesso em aplicações realistas de IDL, a fim de avaliar a adequação para o uso operacional em potencial. Por fim, a fase 4 deve ser realizada em um caso real de investigação e deve atender aos padrões internacionais. Cabe lembrar que os estudos de fase 1 a 3 são desenvolvidos em universidades enquanto que estudos de fase 4 deve ser realizado por alguma instituição que pretenda introduzir o método (KENT, 2010; IFRG, 2014).

Feniltiazol

Nesse contexto, para implementação de um novo revelador de IDL, faz-se necessário que esses compostos apresentem preferencialmente baixa citotoxicidade e que tenham eficiência frente a IDL conforme IFRG. De modo que, o método seja simples, econômico, rápido e sensível para a análise de IDL que possa ser empregado tanto em cenas de crime quanto em laboratórios forenses, o que ainda é um desafio. Nesse seguimento, azóis e seus derivados constituem uma classe interessante de

compostos orgânicos com diversas aplicações químicas e farmacêuticas. Em especial os tiazóis são compostos aromáticos com cinco átomos, sendo o enxofre na posição 1 e o nitrogênio na posição 3 do anel aromático. Os derivados tiazólicos são apresentados em muitos produtos naturais e sintéticos com uma ampla gama de atividades farmacológicas, como antifúngica (SA et al., 2017), antibacteriana (MOHAMMAD; CUSHMAN; SELEEM, 2015) e também usados no tratamento da doença de chagas (ÁLVAREZ et al., 2015).

A obtenção de 1*H*-pirazol-1-il-4-feniltiazóis é descrita na literatura (PIZZUTI et al., 2009; VENZKE et al., 2011) como uma síntese rápida, onde pode ser empregada a cavitação por meio de ultrassom adquirindo bons rendimentos. O que leva a considerar a utilização desses compostos promissora quanto a utilização como um novo produto, devido poder ser preparado em larga escala e em solventes de baixo custo e renováveis como água e etanol. Além disso, não há nenhuma aplicação destes compostos como reveladores IDL, o que compõe originalidade e inovação tecnológica na área.

PARTE III

Capítulo 1

ARTIGO CIENTÍFICO

Os resultados dessa dissertação serão apresentados na forma de manuscrito submetido ao periódico internacional *Science & Justice*.

2-(1H-PYRAZOL-1-YL)-4-PHENYLTHIAZOLES: A NEW AND VERSATILE CLASS OF REAGENT FOR THE DETECTION OF LATENT FINGERMARKS

Bruno Nunes da Rosa^{a, e}, Kristiane de Cássia Mariotti^{b, e}, Bruna Silveira Pacheco^a, Caroline Carapina da Silva^a, Neftalí Lenin Villarreal Carreño^c, Caroline Nicolodi^a, Allison Carlos Assunção Silva^a, Adriana Fernandes da Silva^d, Claudio Martin Pereira de Pereira^{a, e}

^a *Laboratory of Lipidomics and Bioorganic, Bioforensics Research Group, Federal University of Pelotas, zip code 96010-900, Pelotas, RS, Brazil*

^b *Identification Group, Brazilian Federal Police, zip code 90610-093, Porto Alegre, RS, Brazil*

^c *Materials Science and Engineering, Technology Development Center, Federal University of Pelotas, zip code 96010-000, Pelotas, RS, Brazil*

^d *Post-Graduate Program in Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Dental School, Federal University of Pelotas, zip code 96010-, Pelotas, RS, Brazil*

^e *National Institute of Forensic Science and Technology (INCT Forensic), Porto Alegre (RS), Pelotas (RS), Brazil.*

* Corresponding author. E-mail address: brunondrosa@gmail.com; lahbbioufpel@gmail.com

ABSTRACT

Fingerprints are unique to each individual contributing to human identification in forensic cases. The visualization of latent fingerprints often involves the use of a chemical substance that creates a contrast between the fingerprint residues and the surface on which the print was deposited. In this sense, the present work, giving continuity to our research in forensic sciences, aimed to synthesize 1H-pyrazol-1-yl-4-phenylthiazoles and apply them as powder agent to reveal latent fingerprints. The compounds were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM) and the results demonstrated that their powder form had adherence in fingerprint ridges compared to the commercially consolidated reagents. Fluorescence was also observed with high emission in the range of 472-475nm. The thiazoles was tested by evaluation of cytotoxicity in keratinocyte cells and the results demonstrated a high cell viability. The thiazole powders were applied in eccrine and sebaceous fingerprints and showed to be a good development power for both. These compounds represent a promising new and alternative class of fingerprint detection reagents.

Keywords: fingerprint, fingermark, thiazole, fluorescence

1. Introduction

Cyclic organic molecules have a long history in fine chemicals. A special example is the ninhydrin. This compound was first made in 1910 by the English chemist Siegfried Ruhemann, who also investigated its reaction with amines and amino acids to form a colored compound [1]. The product of this reaction is a compound known as Ruhemann's purple, which has a maximum absorption at 570 nm. Ninhydrin is a stable hydrated product of indane-1,2,3-trione, which is considered to be a very important analytical tool in organic, biochemical, analytical and forensic sciences [2-3]. Due to the promising properties of ninhydrin, many studies have been carried out with derived molecules and with other cyclic organic compounds. In this context, new fluorescent dyes have been studied as variations of the structure of ninhydrin [4], phenanthro imidazole derivatives [5] and benzazoline derivatives [6] in addition to the dyes that are already commonly used for forensic purposes such as Basic Red 28, Basic Yellow 40, Ardrex and 4-(4-methoxybenzylamino)-7-nitrobenzofurazan (MBD) [7]. There are also works with compounds used for coloring to complement techniques such as the cyanoacrylate fuming, such as the use of NaYF₄:Yb,Er/Ce submicrocrystals coated with polyethyleneimine, obtaining high fluorescent contrast [8], and dimethylaminobenzaldehyde, also fluorescent, used to improve the visualization of simple fingerprints in problematic samples as rough surface materials [9].

Fingermarks are widely used for criminal investigations and they are one of the most common types of physical traces evidence found in a crime scene being used internationally as a mean of human identification [10,11,12] besides being able to contain evidences of contact with explosives or drugs of abuse [13]. Invisible impressions named as latent fingermarks (LFM) require physical or chemical treatments to enhance their visualization [14]. Numerous efforts have been made in recent years to improve the existing techniques for better visualization of these marks [15] and allow the visualization of LFM on a crime scene or on related items. Often, the use of fluorescent reagents to develop LFM has superiority over non-fluorescent reagents employed in colored or difficult-to-develop substrates [16]. In addition, these reagents are high in cost and toxicity. Powder dusting is the most commonly and portably used visualization technique for LFM. However, it is inevitably associated with serious problems in developing LFM, such as dust pollution, low sensitivity on wet surfaces and inevitable destruction of the fingerprint details when brushing powders on the mark [14]. Over

the past few years, there has been continuously growing number of publications that reflect the scientific interest in this field [17]. The development of new fingerprint detection techniques or the enhancement of an operational workflow may bring benefits for the forensic community. The development of simple, cost-effective, fast, sensitive methods for LFMs analysis that can be employed in both crime scenes and in forensic laboratories still remains a challenge. Thereby thiazoles are aromatic compounds with five atoms, sulfur being at the 1-position and nitrogen at the 3-position of the aromatic ring. Thiazole derivatives are presented in many natural and synthetic products with a wide range of pharmacological activities, such as antifungal [18], antibacterial [19] and also used for treatment of chagas disease [20]. In this sense, as part of our continuing work on the synthesis of organic compounds with bioactive potential [21,22,23], we reported here in the characterization, toxicity assessment and a new application of 2-(3,5-diaryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)-4-phenylthiazoles as LFM development agents.

2. Experimental

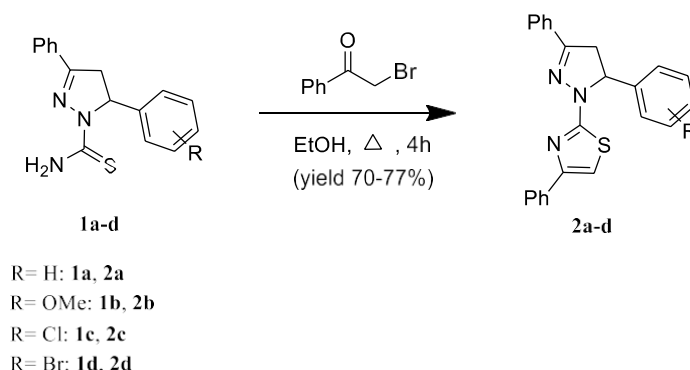
Apparatus and analysis

^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker DRX500 spectrometer in CDCl_3 (500 MHz for ^1H and 126 MHz for ^{13}C) using TMS as internal standard. Infrared spectra (IR) were recorded on a Bomem MB 100 FT-IR spectrometer as KBr pellets. Melting points were recorded in open capillary on an Electrothermal apparatus. All solvents and chemicals were of research grade and were used as obtained from Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Progress of the reactions was monitored on a Shimadzu 2010 Gas Chromatograph equipped with an RTX-Wax polyethylene glycol capillary column (0.32 mm $\times$ 30 m). Mass spectra were obtained on a Hewlett Packard 6890/MSD5973 GC-MS with a split-splitless injector and equipped with a HP-Innowax capillary column (30m $\times$ 250 μm); helium was used as the carrier gas (56Kpa). For evaluation of fluorescence of the compounds a scan of 200 to 800 nm was made using a Hewlett-Packard spectrophotometer (model 8452a Diode Array). With these values in place, the compounds were evaluated for fluorescence at a concentration of 1 mg/mL in acetone in a HITACHI Fluorescence Spectrophotometer (model F-4500).

General procedure for the synthesis of thiazoles

In a 50 mL rounded flask, 1-thiocarbamoyl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazoles **1a-d** (2.0 mmol) [24] and phenacyl bromine (2.0 mmol, 0.40 g) were mixed with ethanol (10 mL) and kept under reflux for 4 hours (70 $^\circ\text{C}$) (**Scheme 1**) [25]. The crude products were allowed to cool in a

refrigerator. The obtained precipitates were filtered and washed with cold ethanol to give the pure 2-(3,5-diaryl- 4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)-4-phenylthiazoles **2a-d**.



Scheme 1 – Synthesis of 2-(3,5-diaryl- 4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)-4-phenylthiazoles.

Experimental data for compounds 2a–d

2-(3,5-Diphenyl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)-4-phenylthiazole (**2a**): yellow solid; mp 213–215°C; IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3115–3028, 1953–1756, 1541, 1520, 1492, 1443, 707, 694; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) 3.33 (dd, 1H, $J=6.7$ Hz, $J=17.4$ Hz), 3.90 (dd, 1H, $J=12.0$ Hz, $J=17.4$ Hz), 5.68 (dd, 1H, $J=6.7$ Hz, $J=12.0$ Hz), 6.80 (s, 1H), 7.20–7.77 (m, 15H, ArH); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz): δ (ppm) 43.4, 64.7, 103.3, 125.8, 126.3, 126.6, 127.4, 127.7, 128.4, 128.6, 128.7, 129.7, 131.5, 135.0, 141.8, 151.5, 151.5, 164.9;

2-[5-(4-Methoxyphenyl)-3-phenyl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl]-4-phenylthiazole (**2b**): yellow solid; mp 182–184°C; IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3123–2833, 1959–1647, 1544, 1515, 1443, 1249, 789, 672; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) 3.29 (dd, 1H, $J=6.6$ Hz, $J=17.4$ Hz), 3.75 (s, 3H), 3.83 (dd, 1H, $J=12.0$ Hz, $J=17.4$ Hz), 5.61 (dd, 1H, $J=6.6$ Hz, $J=12.0$ Hz), 6.78 (s, 1H), 6.84–7.76 (m, 14H, ArH); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz): δ (ppm) 43.3, 55.2, 64.1, 103.3, 114.0, 125.8, 126.3, 127.4, 127.9, 128.3, 128.6, 129.6, 131.5, 133.8, 135.0, 151.4, 151.5, 159.0, 164.9;

2-[5-(4-Chlorophenyl)-3-phenyl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl]-4-phenylthiazole (**2c**): yellow solid; mp 226–228°C; IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3116–2765, 1947–1686, 1581, 1490, 1444, 768, 726, 684; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ (ppm) 3.34 (dd, 1H, $J=6.0$ Hz, $J=17.6$ Hz), 3.96 (dd, 1H, $J=11.8$ Hz, $J=17.6$ Hz), 6.14 (dd, 1H, $J=6.0$ Hz, $J=11.8$ Hz), 6.79 (s, 1H), 7.27–7.79 (m, 14H, ArH); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz): δ (ppm) 43.7, 64.2, 103.3, 126.1, 126.7, 128.1, 128.2, 128.6, 128.8, 129.0, 130.4, 130.8, 133.8, 139.4, 149.6, 153.9, 156.7, 164.9;

2-[5-(4-Bromophenyl)-3-phenyl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl]-4-phenylthiazole (**2d**): yellow solid; mp 135–137°C; IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3114–2840, 1953–1632, 1538, 1521, 1490, 1444, 767, 711, 689; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 3.30 (dd, 1H, J=6.2 Hz, J=17.5 Hz), 3.92 (dd, 1H, J=11.9 Hz, J=17.5 Hz), 5.99 (br s, 1H), 6.79 (s, 1H), 7.24–7.77 (m, 14H, ArH); ¹³C NMR (CDCl₃, 126 MHz): δ (ppm) 43.5, 64.2, 103.4, 121.8, 126.0, 126.6, 128.0, 128.4, 128.5, 128.8, 130.3, 130.8, 131.9, 140.1, 149.9, 149.9, 153.3, 164.8;

Cytotoxicity assessment of synthetic compounds

The following cells were used in this study: normal oral keratinocytes spontaneously immortalized (NOK-SI) donated from National Institute of Dental and Craniofacial Research collaborators at the NIH (Clinical Protocol # 06-D-0144) [26]. The cells were cultured at a density of 2x10⁴ cells in 96-well plates containing Keratinocyte- SFM medium (Gibco, USA) supplemented with bovine pituitary extract (BPE) and epidermal growth factor (EGF), penicillin (100 U/mL) and streptomycin (100 U/mL). Both cells were incubated at 37°C under 95% air and 5% CO₂ for 24h.

The tested groups were composed of thiazole analogues **2a-d** which were evaluated at concentrations of 100 μ M, 50 μ M and 25 μ M in 0.6% Dimethyl Sulfoxide (DMSO). Then, the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA) was used to assess cell metabolic function by mitochondrial dehydrogenase activity. The cytotoxicity produced by different concentrations of thiazole analogues was assessed at 24h of cell exposure time. After removing the synthetic compounds, 200 μ L of medium and 20 μ L of MTT solution (5 mg of MTT/mL PBS) were added to each well. After 4h of incubation at 37°C in darkness, the formazan precipitate was solubilized with 200 μ L/well DMSO on a shaker for 5 minutes at 150 rpm. The absorption was determined spectrophotometrically at 540 nm using the device TP READER NM (Termoplate®). All observations were validated by two independent experiments in triplicate for each experiment.

The cell viability data (absorbance) was analyzed using the program SigmaStat 3.5 (SPSS, Chicago, IL, USA). The statistical analysis was performed by non-parametric test Kruskal Wallis one-way analysis of variance (ANOVA) by ranks followed by a multiple-comparison Tukey post hoc test. The level of significance was set at $p < 0.05$.

Latent fingerprints deposition and development

The above described synthetic analogues of thiazole (**2a-d**) were tested as development agents for latent fingerprints. To prepare the powder, the analogues were macerated with liquid nitrogen. Latent fingerprints were deposited by volunteers, 5 men and 3 women, who pressed her fingertips onto clean glass slides or onto clean plastic surface. The donors have not been picked out based on a special selection criteria. For a natural fingerprint deposition, they washed their hands with neutral soap and water and kept doing her usual activities for a period of 30 minutes. For a sebaceous deposition, the donor rubbed the thumb on areas of the face such as the forehead and nose followed by rubbing of the fingertips to enrich the print with oily components [27]. When placing the fingerprints, the pressure was subjectively firm (exerting medium pressure) and the contact time was between 3 and 5 seconds. After the deposition, latent fingerprints were kept during 24 h at room temperature to simulate a real casework, and then its development was carried out by powder dusting method (physical method) using specific brushes for the development and cleaning the of powder excess (132LBW and CFB100 from Sirchie®). The powders of synthetic analogs of thiazole were compared with commercial gold powder ("Gold Metallic No. BPP8916 Hi-Fi Powder" from Sirchie® purchased from Forensics Brazil) that has similar color with the tested substances. Ultraviolet light with wavelength of 395 nm and yellow filter was used to visualize the fluorescence emission of the compounds in the developed latent fingerprints. Photographs were taken with a semiprofessional camera Canon model EOS Rebel T6.

Powder and samples analysis using Scanning electron microscopy procedure

The samples characterization was done by SEM using a Shimadzu equipment, model SSX-550 Superscan. Surfaces were cleaned to remove any surface impurities. Standard size of each substrate (10 mm x 10 mm) was prepared, in which thiazoles and standard gold developer were tested separately. The substrates (glass and plastic) were mounted on the stubs with carbon tape, metallized with gold, and analyzed using beam acceleration between 5 kV and 15 kV. The particle size analyses were performed using a laser diffractometer - isopoCILAS 1064. Before the analysis samples **2a-d** were dispersed by ultrasound for 5 minutes with water as dispersing agent.

3. Results and Discussion

The reaction to obtain 2-(3,5-diaryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)-4-phenylthiazoles was performed in ethanol as solvent at room temperature under ultrasonic irradiation or via conventional procedure under reflux of the same reagents for 4h [25]. Is it relevant to mention that, in both cases, the products can be obtained via clean reactions, considering that ethanol is a green solvent. All compounds (**Scheme 1**) exhibited physical and spectrometric properties consistent with the proposed structures and in agreement with the literature.

From the results of fluorescence analysis, as shown in **Figure 1**, it can be seen that compound **2b** displays high fluorescence intensity of 1900.854 at 474 nm. Also, it may be mentioned that compound **2d** has an emission intensity of 1349.262 at 472.0 nm. Compounds **2a** and **2c** have a maximum emission of 729.219 and 548.727 at 475.0 nm and 472.0 nm respectively. This can be explained by the presence of numerous unsaturations, since heterocyclic structures with large delocalized π electron systems can provide fluorescent compounds [28].

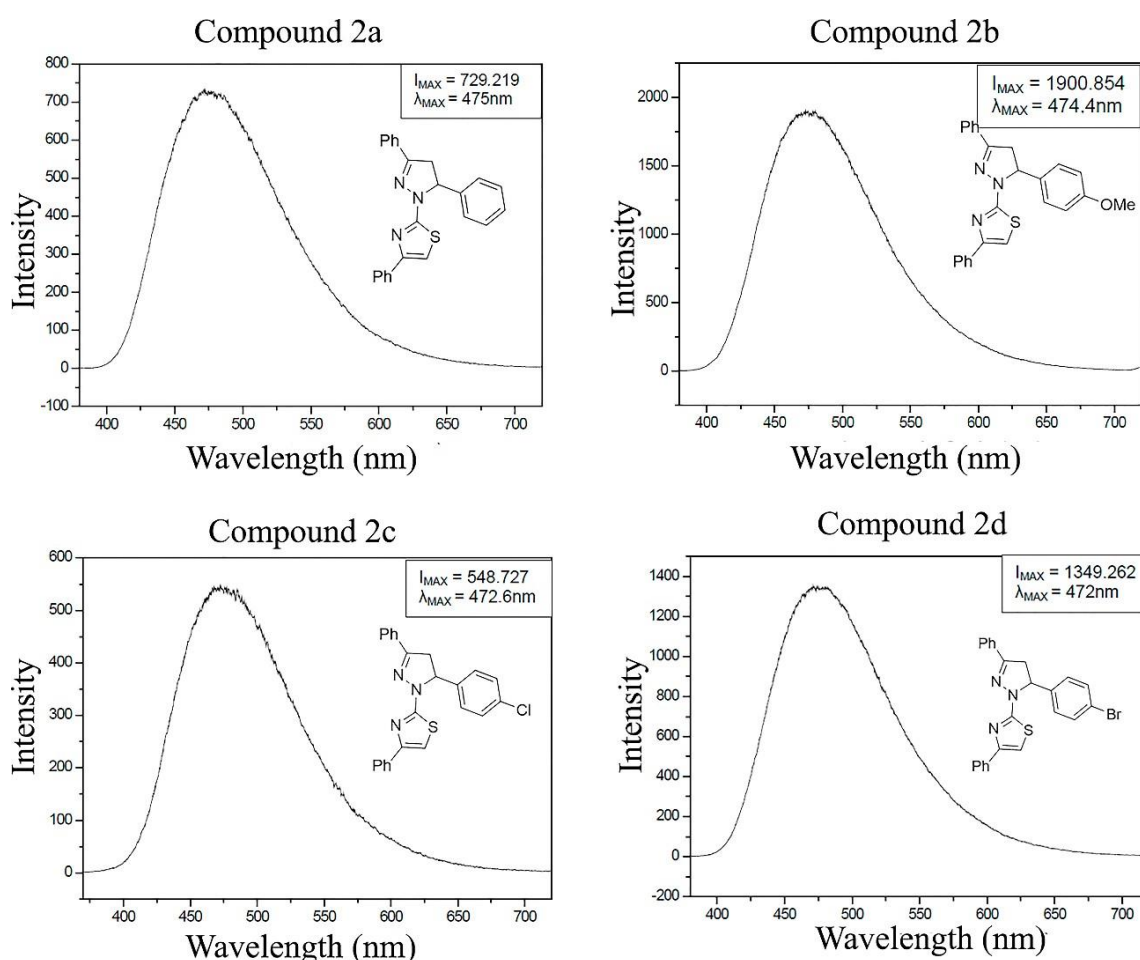


Figure 1 - Emission intensity spectra for 1*H*-pyrazol-1-yl-4-phenylthiazoles.

In addition, according to the cytotoxicity assays, the compounds have shown to be promising. **Figure 2** shows the viability of NOK-SI cells after 24 hours of exposure to 25, 50 and 100 μM of compounds **2a-d**. The thiazole analogues **2a-d** showed cell viability proximate to 100%, which indicates that these compounds are nontoxic against keratinocyte cells, according to International Organization for Standardization (ISO 10993-5:2009) [29]. Low toxicity is an important characteristic to new fingerprint developers. Common developers, as iodine fuming, cyanoacrylate, ninhydrin and gentian violet are known to have high toxicity and carcinogenic effects [30,31]. In accordance with our results, literature suggests that thiazole compounds are generally nontoxic. Sa and co-authors [18] demonstrated thiazole compounds as efficient antifungal agents with low toxicity to mammalian cells (IC_{50} values greater than 100 μM). Also, the low cytotoxicity of thiazole compounds was demonstrated in human keratinocyte (HaCaT) cell line [19]. These data support the use of thiazole **2a-d** as safe fingerprint developers. After statistical analysis the tested thiazoles did not show significant difference when compared to the untreated group.

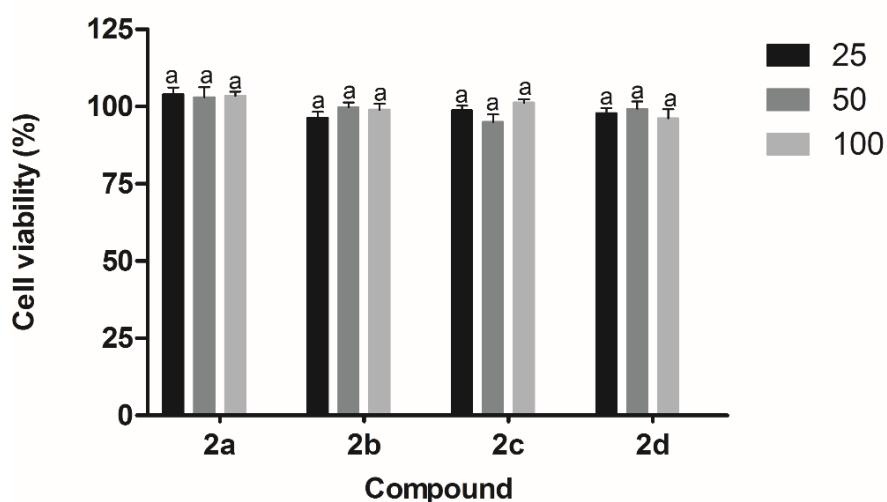


Figure 2 - Cytotoxicity of thiazole analogues (**2a**, **2b**, **2b** and **2d**) using MTT assay. Compounds were tested at concentrations of 100, 50 and 25 μM and incubated for 24h. The cell viability/proliferation using NOKSi cells (untreated=negative group represents cell viability of 100%) did not show significant difference between tested groups ($p < 0.05$).

Assessment of latent fingerprints

From the development results, it was possible to observe the drawings of the dermal papillae of the donor's fingers on glass and plastic surface after 24 h of deposition. The

developed powders were able to adhere, preferentially, to the latent print residue, providing good visibility and definition of fingerprint details. These results can be illustrated in **Figure 3**, compound **2a** was applied on glass and plastic surfaces under visible and under UV-A light (black light). For compounds **2b-d** the images are in supplementary data. The luminescence visualization is important since it allows for the background to be desconsidered and enhances the fingermark observation.

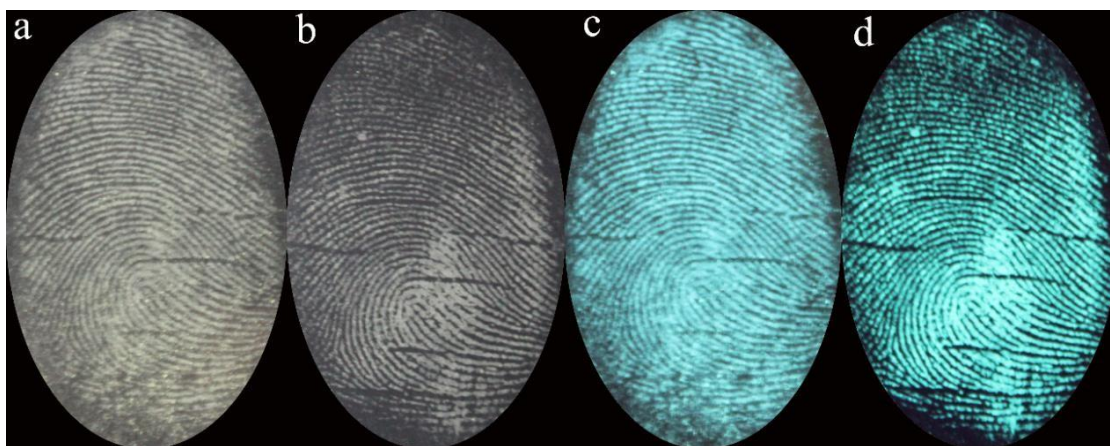


Figure 3- Latent fingerprint development using thiazole analogue **2a**: **(a)** on glass surface; **(b)** on plastic surface; **(c)** on glass surface under UV-A light; **(d)** on plastic surface under UV-A light ($\lambda = 395$ nm).

Usually, the visualization of the fingerprints can be evaluated by three levels. In level 1, the general classification is displayed, including the presence of delta and the core. Level 2 can display commonly found minutiae, such as bifurcation, ridge ending, island, among others. Level 3 provides quantitative data for accurate fingerprint recognition and includes ridge path deviations, sweat pores, and edge contours [32]. Based on these three levels of fingerprint information, considering the visual and the morphological analysis and the SEM results of the four synthetic substances tested, compound **2a** showed to be effective for developing fingerprints. Also, this compound has the advantage of fluorescence when visualised with ultraviolet light (395 nm), which increases their forensic application possibilities. This is an initial study that proposes new synthetic thiazoles as agents for latent fingerprint detection.

According to guidelines for the assessment of fingerprint detection techniques [33], it is preferable to use natural fingerprints because they are more likely to simulate operational samples, but the use of sebaceous fingerprints is also important because some techniques develop poor results on brands such as overdevelopment and loss of detail. Thus, it is acceptable

to use a combination of standards, groomed marks and natural marks provided that initial conclusions regarding reactive performance and sensitivity can be drawn. From this, the development of natural and sebaceous fingerprint using the compound **2a** are shown in **Figures 4** and **5**, respectively, being five males and three females. It was possible to observe that the developmental quality of thiazole analogue **2a** has been shown to be more selective for the sebaceous fingerprints, although for the natural ones it is possible to see the marks of the dermal papillae.

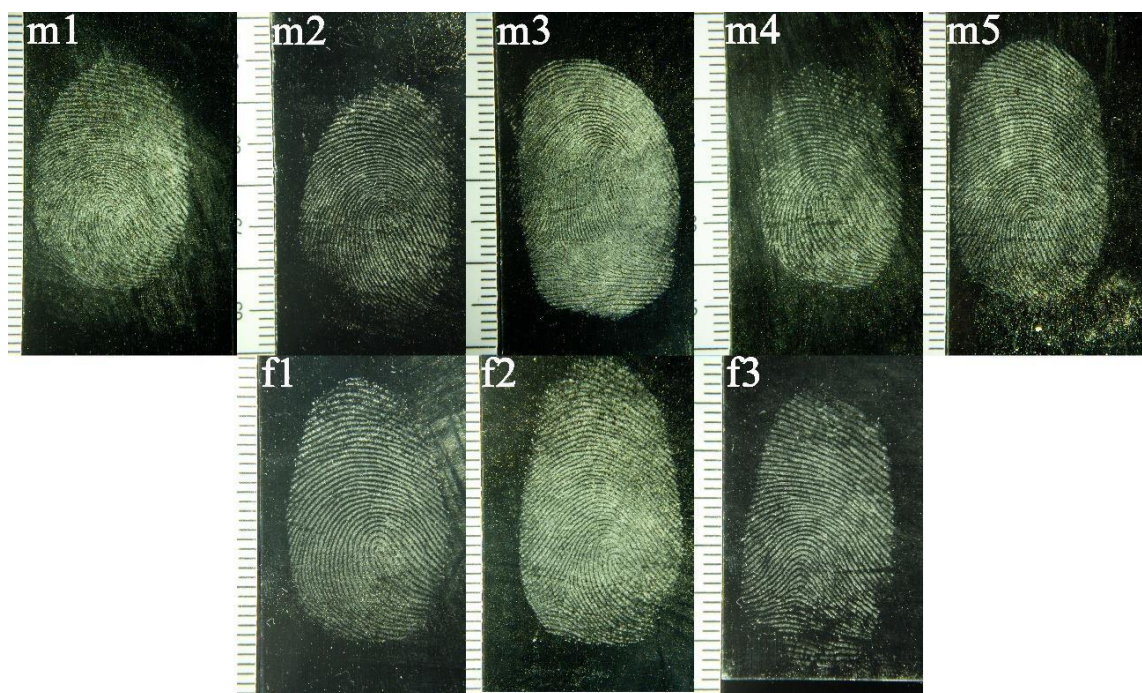


Figure 4 – Series of natural fingerprints developed with thiazole analogue **2a**.

*m: male donors

f: female donors

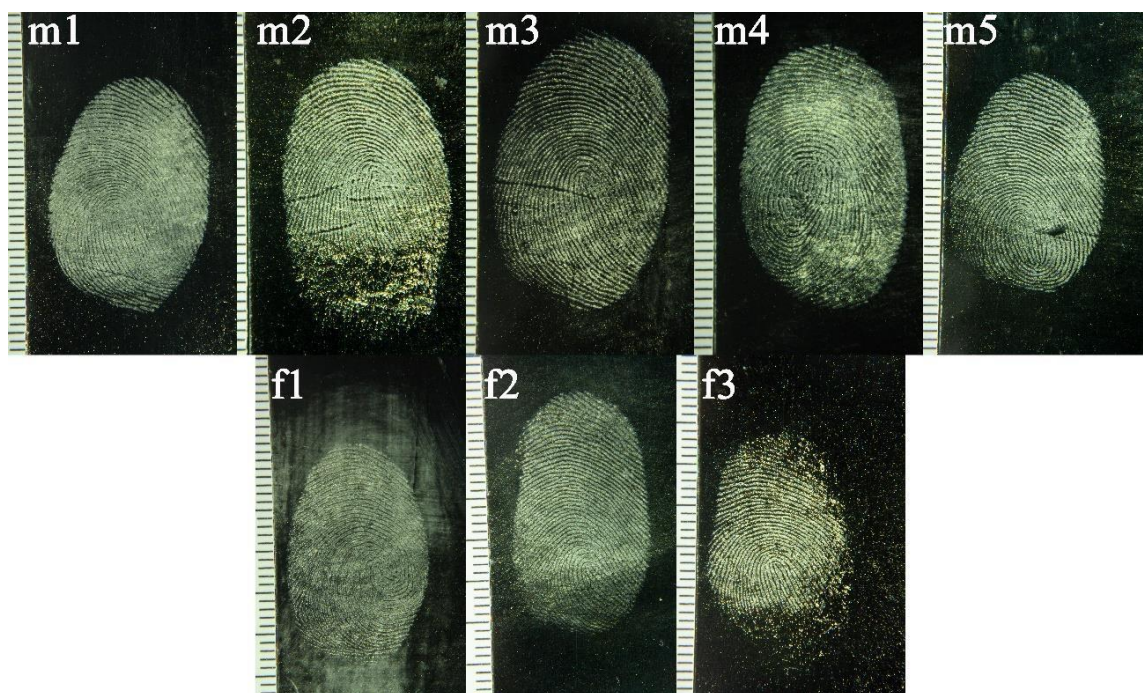


Figure 5 – Series of sebaceous fingerprints developed with thiazole analogue **2a** on glass.

*m: male donors

f: female donors

Considering that the use of sequential impressions from the same finger to produce weaker marks is recommended for assessing sensitivity, the depletion assay was performed [27]. Three donors deposited the finger ten consecutive times, obtaining marks in descending order. When developing with the proposed developer, in **Figure 6**, it was possible to observe that until the last mark it was possible to observe good sensitivity and resolution of friction ridge.

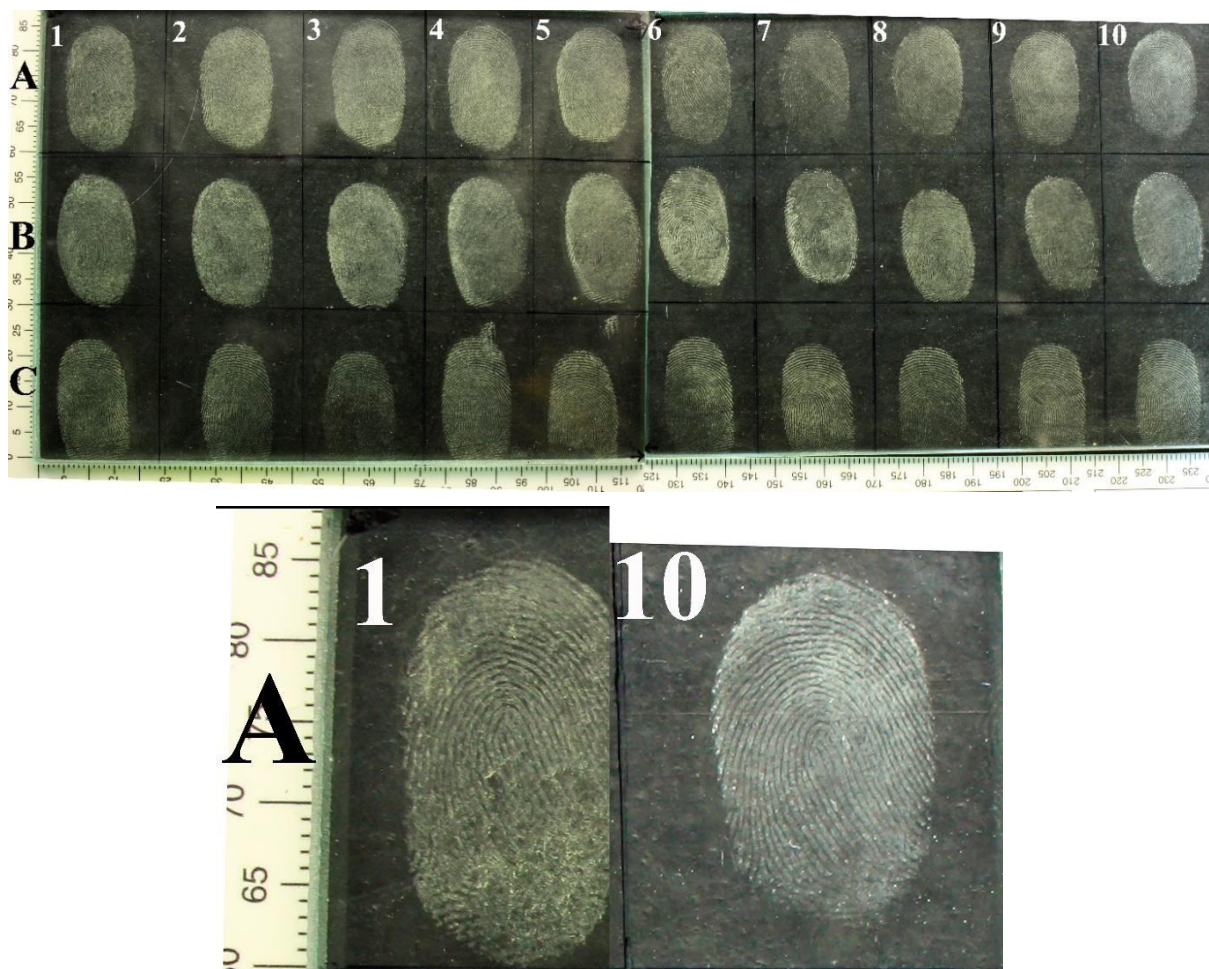


Figure 6 – Multiple depletion series developed by thiazole analogue **2a** on glass.

Assessment of scanning electron microscopy (SEM)

The analysis from SEM are shown in **Figure 7**, illustrating the sheet morphology on standard samples versus the small grain morphology on phenylthiazoles (compound **2a**). Similar shapes were observed on different sample regions. The histogram of the size distribution by laser granulometry technique for compound **2a** and for the standard powder revealed that the mean particle diameter was $115.79\ \mu\text{m}$ and $116.66\ \mu\text{m}$, respectively. **Table 1** shows the frequency values of the distribution D10, D50 and D90, which refer to the particle diameters in the ranges below 10%, 50% and 90% of the size distribution curve, as well as the mean diameter for the thiazoles and the standard.

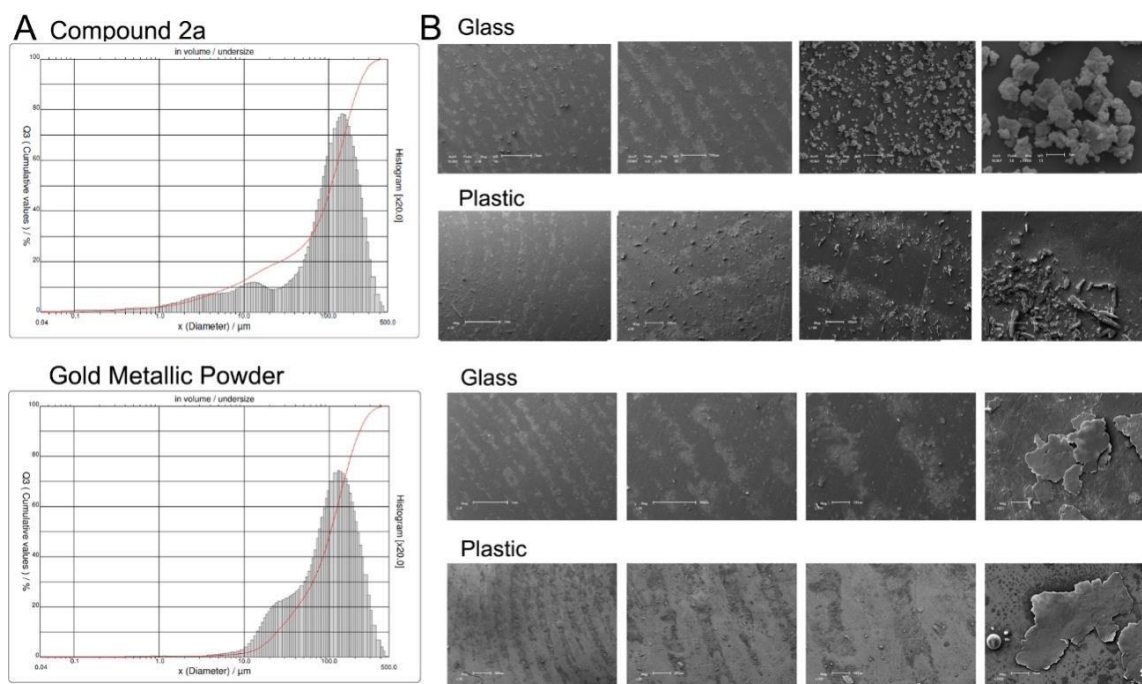


Figure 7 - Particle size histogram **(A)** and SEM images **(B)** for compound **2a** and gold metallic powder in glass and plastic surfaces. The SEM images are presented with increased x20, x50, x100 and x1000.

Observing the histograms, it is also possible to notice that both analyzes presented a shoulder and a peak in the graph of density distribution, indicating a certain degree of heterogeneity in the size of the particles. In addition, a great similarity in the particle size of compound **2a** and the standard is observed, so that the two are mostly on the same scale.

Table 3 – Particle size of the tested compounds **2a-d** and Gold metallic standar.

Compound	10% (μm)	50% (μm)	90% (μm)	Mean diameter (μm)
2a	6.89	107.91	232.36	115.79
2b	5.88	36.69	140.15	57.07
2c	3.37	12.21	41.66	18.27
2d	8.03	26.84	83.93	39.35
Standard	24.19	103.50	227.26	116.66

Also analyzing the SEM images, it was possible to observe the interaction of the thiazoles with the glass and plastic surfaces, as shown in **Figure 8**. Thus, it is possible to observe that the prepared powder adhered to the fingerprint showing unfilled lines in **(A)** as well as some sweat pores present in the fingerprint, which can be viewed in detail (level 3) **(B)**.

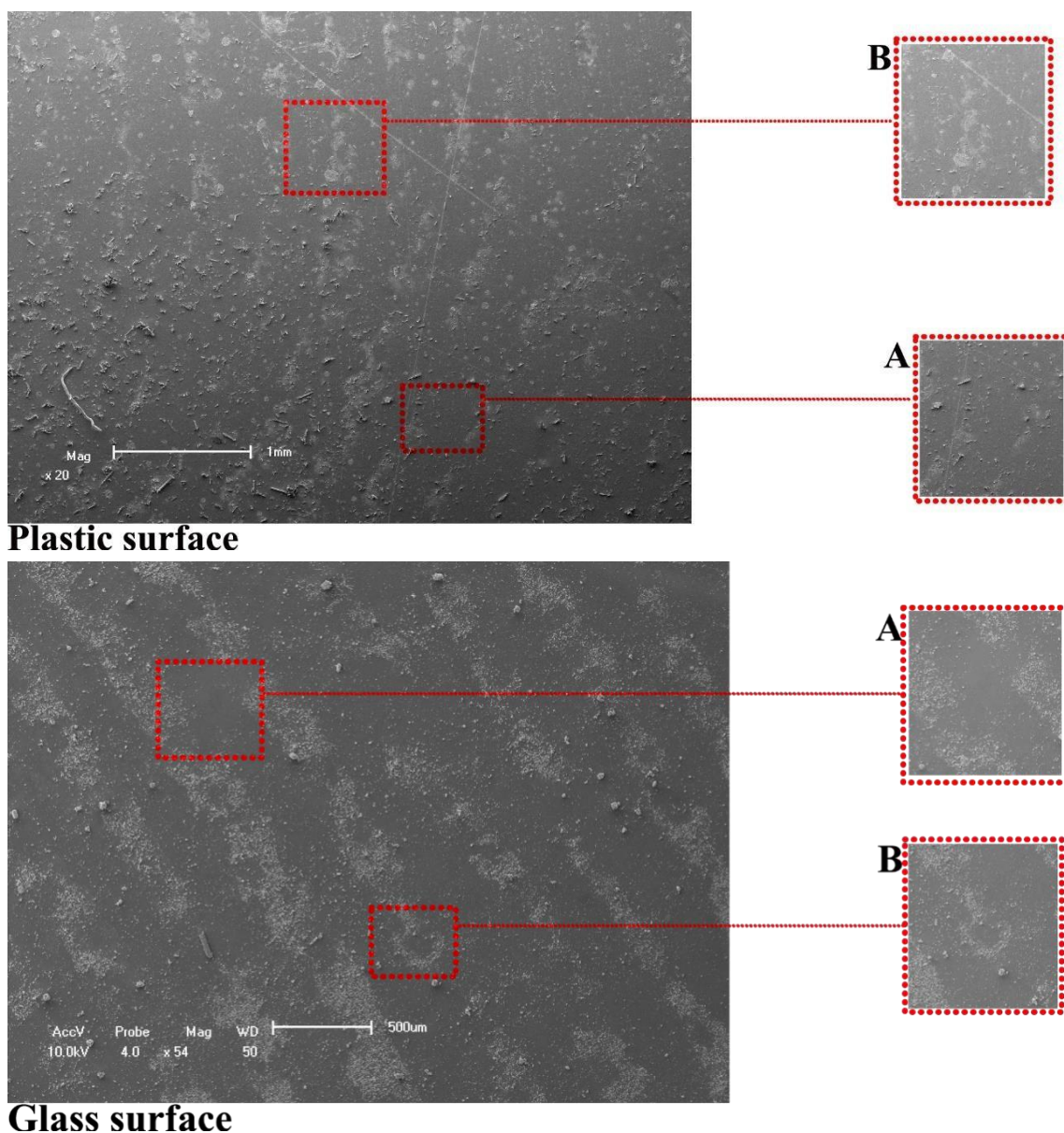


Figure 8 – SEM images showing developed fingerprint for compound **2a** on plastic and glass surface. For both surfaces: (A) lines between the friction ridges of the developed fingerprint and (B) details of pores of the epidermis.

4. Conclusion

It was synthesized thiazole analogues using a green route. The powders produced were characterized, their keratinocytes cytotoxicity was evaluated and it was proposed a new used in forensic science as a LFM developers. All compounds displayed high fluorescence intensity, exhibiting maximum intensities from 547,727 to 1900,854 at the appropriate wavelength. Thiazoles **2a-d** were not capable to promote the decrease of NOKSi cell viability, representing a safety fingerprint developers in this assay. All compounds allowed development of fingerprints on glass and plastic surfaces. The best results were obtained with compound **2a**

which showed good morphometric design of friction ridges and high sensitivity, mainly on sebaceous fingermarks. Also, This is a pilot study of the application of thiazol compounds as LFM developer. It is necessary to extend the number of donors and surfaces and apply in real cases.

Acknowledgements

The authors are grateful theNational Institute of Science and Technology (INCT Forencics – CNPq 465450/2014-8) for technical assistance and resources. This work is part of the project “Revealers and Forensic Markers: Obtainment and Chemical Properties - 8634”. The authors would also like to thank Dr. Rogerio Castilho from Laboratory of Epithelial Biology (University of Michigan, USA) for donation of keratinocyte cells.

References

- [1] D.B. Hansen, M.M. Joullié, The development of novel ninhydrin analogues, *Chem. Soc. Rev.* 34 (2005) 408–417. doi:10.1039/B315496N.
- [2] M. Friedman, Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences, *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) 385–406. doi:10.1021/jf030490p.
- [3] C. Marminon, A. Nacereddine, Z. Bouaziz, P. Nebois, J. Jose, M. Le Borgne, Microwave-assisted oxidation of indan-1-ones into ninhydrins, *Tetrahedron Lett.* 56 (2015) 1840–1842. doi:10.1016/j.tetlet.2015.02.086.
- [4] Z. Fei; N. Junli; J. xiaodong; Y. Lei. China Pat., CN107325107A, 2017.
- [5] K.K. Sharma, P. Nagaraju, M.E. Mohanty, T.R.R. Baggi, V.J. Rao, Latent fingermark development using a novel phenanthro imidazole derivative, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 351 (2018) 253–260. doi:10.1016/j.jphotochem.2017.10.038.
- [6] H.L. Barros, V. Stefani, A new methodology for the visualization of latent fingermarks on the sticky side of adhesive tapes using novel fluorescent dyes, *Forensic Sci. Int.* 263 (2016) 83–91. doi:10.1016/j.forsciint.2016.03.053.
- [7] J.B. Friesen, Forensic Chemistry: The Revelation of Latent Fingerprints, *J. Chem. Educ.* 92 (2015) 497–504. doi:10.1021/ed400597u.

- [8] H.H. Xie, Q. Wen, H. Huang, T.Y. Sun, P. Li, Y. Li, X.F. Yu, Q.Q. Wang, Synthesis of bright upconversion submicrocrystals for high-contrast imaging of latent-fingerprints with cyanoacrylate fuming, *RSC Adv.* 5 (2015) 79525–79531. doi:10.1039/c5ra15255k.
- [9] M. Takatsu, O. Shimoda, H. Teranishi, Vapor-phase Staining of Cyanoacrylate-Fumed Latent Fingerprints Using p-Dimethylaminobenzaldehyde, *J. Forensic Sci.* 57 (2012) 515–520. doi:10.1111/j.1556-4029.2011.01976.x.
- [10] A. van Dam, F.T. van Beek, M.C.G. Aalders, T.G. van Leeuwen, S.A.G. Lambrechts, Techniques that acquire donor profiling information from fingermarks - A review, *Sci. Justice.* 56 (2016) 143–154. doi:10.1016/j.scijus.2015.12.002.
- [11] A. van Dam, A. van Weert, K. Falkena, C. Weymans, A.D. Kloosterman, S.A.G. Lambrechts, T.G. van Leeuwen, M.C.G. Aalders, Sex determination from fingermarks using fluorescent in situ hybridization, *Anal. Methods.* 10 (2018) 1413–1419. doi:10.1039/C7AY02805A.
- [12] A. Arshad, M.A. Farrukh, D. Ph, S. Ali, Development of Latent Fingermarks on Various Surfaces Using ZnO-SiO₂, *J. Forensic Sci.* 60 (2015) 1182–1187. doi:10.1111/1556-4029.12890.
- [13] D.R. Ifa, N.E. Manicke, A.L. Dill, R.G. Cooks, Latent Fingerprint chemical imaging by Mass Spectrometry, *Sci.* 321(5890) 805-805. 321 (2008) 805. doi:10.1126/science.1157199.
- [14] X. Jin, R. Xin, S. Wang, W. Yin, T. Xu, Y. Jiang, X. Ji, L. Chen, J. Liu, A Tetraphenylethene-based Dye for Latent Fingerprint Analysis, *Sensors Actuators B. Chem.* (2017). doi:10.1016/j.snb.2017.01.080.
- [15] A. Bécue, Emerging fields in fingerprint (meta)detection – A critical review, *Anal. Methods.* 8 (2016) 7983–8003. doi:10.1039/c6ay02496c.
- [16] H. Chen, R.L. Ma, Y. Chen, L.J. Fan, Fluorescence Development of Latent Fingerprint with Conjugated Polymer Nanoparticles in Aqueous Colloidal Solution, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 9 (2017) 4908–4915. doi:10.1021/acsami.6b15951.
- [17] C. Huynh, J. Halámek, Trends in Fingerprint Analysis, *Trends Anal. Chem.* 1-22 (2016). doi:10.1016/j.trac.2016.06.003.
- [18] N.P. de Sá, C.M. de Lima, C.I. Lino, P.J.S. Barbeira, L. de M. Baltazar, D.A. Santos, R.B. de Oliveira, E. Mylonakis, B.B. Fuchs, S. Johann, Heterocycle Thiazole Compounds

Exhibit Antifungal Activity through Increase in the Production of Reactive Oxygen Species in the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* Species Complex, *Antimicrob. Agents Chemother.* 61 (2017) 1–8. doi:10.1128/AAC.02700-16.

[19] H. Mohammad, M. Cushman, M.N. Seleem, Antibacterial Evaluation of Synthetic Thiazole Compounds In Vitro and In Vivo in a Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Skin Infection Mouse Model, *PLoS One*. 10 (2015) e0142321. doi:10.1371/journal.pone.0142321.

[20] G. Álvarez, J. Varela, E. Cruces, M. Fernández, M. Gabay, S.M. Leal, P. Escobar, L. Sanabria, E. Serna, S. Torres, S.J. Figueredo Thiel, G. Yaluff, N.I. Vera de Bilbao, H. Cerecetto, M. González, Identification of a New Amide-Containing Thiazole as a Drug Candidate for Treatment of Chagas' Disease, *Antimicrob. Agents Chemother.* 59 (2015) 1398–1404. doi:10.1128/AAC.03814-14.

[21] B.N. Rosa, B.S. Pacheco, C.C. Silva, C.M.P. Pereira, C. Nicolodi, K.C. Mariotti, T. Poletti, R.S. Ortiz, N.L.V. Carreño, O.G. Paniz, F. Quina, L. Pizzuti. Brazil Pat., BR1020180098977, 2018.

[22] B.S. Pacheco, C.C. Silva, C.M.P. Pereira, C.M.M. Santos, N.P. Moura, T.C.L. Soares, G.T. Guerra, C. Nicolodi, B.N. Rosa, K.C. Mariotti, R.S. Ortiz. Brazil Pat., BR1020170278077, 2017.

[23] B.N. Rosa, B.S. Pacheco, C.M.P. Pereira, C. Nicolodi, K.C. Mariotti, N.L.V. Carreño, L. Pizzuti, A.C.A. Silva, A.F. Silva, V.F. Campos, J.L. Giongo. Brazil Pat., BR1020180136151, 2018.

[24] L. Pizzuti, L.A. Piovesan, A.F.C. Flores, F.H. Quina, C.M.P. Pereira, Environmentally friendly sonocatalysis promoted preparation of 1-thiocarbamoyl-3,5-diaryl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles, *Ultrason. Sonochem.* 16 (2009) 728–731. doi:10.1016/j.ultsonch.2009.02.005.

[25] D. Venzke, A.F.C. Flores, F.H. Quina, L. Pizzuti, C.M.P. Pereira, Ultrasound promoted greener synthesis of 2-(3,5-diaryl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-4-phenylthiazoles, *Ultrason. Sonochem.* 18 (2011) 370–374. doi:10.1016/j.ultsonch.2010.07.002.

[26] R.M. Castilho, C.H. Squarize, K. Leelahavanichkul, Y. Zheng, T. Bugge, J.S. Gutkind, Rac1 Is Required for Epithelial Stem Cell Function during Dermal and Oral Mucosal Wound

Healing but Not for Tissue Homeostasis in Mice, *PLoS One*. 5 (2010) e10503. doi:10.1371/journal.pone.0010503.

[27] V.G. Sears, S.M. Bleay, H.L. Bandey, V.J. Bowman, A methodology for finger mark research, *Sci. Justice*. 52 (2012) 145–160. doi:10.1016/j.scijus.2011.10.006.

[28] P. Krawczyk, M. Pietrzak, T. Janek, B. Jędrzejewska, P. Cysewski, Spectroscopic and nonlinear optical properties of new chalcone fluorescent probes for bioimaging applications: a theoretical and experimental study, *J. Mol. Model*. 22 (2016) 125. doi:10.1007/s00894-016-2990-4.

[29] The International Organization for Standardization. ISO 10993-5, 2009. Biological evaluation of medical devices -- Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. 34p. Geneva, Switzerland.

[30] A. Becue, S. Moret, C. Champod, P. Margot, A. Becue, S. Moret, C. Champod, P. Margot, Use of stains to detect fingerprints Use of stains to detect fingerprints, *Biotech. Histochem*. 86 (2011) 140–160. doi:10.3109/10520290903462838.

[31] R.S.P. King, P.M. Hallett, D. Foster, Seeing into the infrared : A novel IR fluorescent fingerprint powder, *Forensic Sci. Int*. 249 (2015) 21–26. doi:10.1016/j.forsciint.2015.01.020.

[32] D. Zhang, F. Liu, Q. Zhao, G. Lu, N. Luo, Selecting a reference high resolution for fingerprint recognition using minutiae and pores, *IEEE Trans. Instrum. Meas*. 60 (2011) 863–871. doi:10.1109/TIM.2010.2062610.

[33] Joseph Almog; Antonio A Cantu, Guidelines for the Assessment of Fingerprint Detection Techniques, *J. Forensic Identif*. 174 (2014) 64–174. doi:10.1007/s00278-007-0579-

SUPPLEMENTAL FILES

1H-PYRAZOL-1-YL-4-PHENYLTHIAZOLES: A NEW AND VERSATILE CLASS OF REAGENT FOR THE DETECTION OF LATENT FINGERMARKS

Bruno Nunes da Rosa^{a, e}, Kristiane de Cássia Mariotti^{b, e}, Bruna Silveira Pacheco^a, Caroline Carapina da Silva^a, Neftalí Lenin Villarreal Carreño^c, Caroline Nicolodi^a, Allison Carlos Assunção Silva^a, Adriana Fernandes da Silva^d, Claudio Martin Pereira de Pereira^{a, e}

^a *Laboratory of Lipidomics and Bioorganic, Bioforensics Research Group, Federal University of Pelotas, zip code 96010-900, Pelotas, RS, Brazil*

^b *Identification Group, Brazilian Federal Police, zip code 90610-093, Porto Alegre, RS, Brazil*

^c *Materials Science and Engineering, Technology Development Center, Federal University of Pelotas, zip code 96010-000, Pelotas, RS, Brazil*

^d *Post-Graduate Program in Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Dental School, Federal University of Pelotas, zip code 96010-, Pelotas, RS, Brazil*

^e *National Institute of Forensic Science and Technology (INCT Forensic), Porto Alegre (RS), Pelotas (RS), Brazil.*

* Corresponding author. E-mail address: brunondrosa@gmail.com; lahbbiufpel@gmail.com

2.1. Apparatus and analysis

¹H and ¹³C NMR spectra were recorded on a Bruker DRX500 spectrometer in CDCl₃ (500 MHz for ¹H and 126 MHz for ¹³C) using TMS as internal standard. Infrared spectra (IR) were recorded on a Bomem MB 100 FT-IR spectrometer as KBr pellets. Melting points were recorded in open capillary on an Electrothermal apparatus. All solvents and chemicals were of research grade and were used as obtained from Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Progress of the reactions was monitored on a Shimadzu 2010 Gas Chromatograph equipped with an RTX-Wax polyethylene glycol capillary column (0.32 mm × 30 m). Mass spectra were obtained on a Hewlett Packard 6890/MSD5973 GC-MS with a split-splitless injector and equipped with a HP-Innowax capillary column (30m x 250 μm); helium was used as the carrier gas (56Kpa). For evaluation of fluorescence of the compounds a scan of 200 to 800 nm was made using a Hewlett-Packard spectrophotometer (model 8452a Diode Array). With these values in place,

the compounds were evaluated for fluorescence at a concentration of 1 mg/mL in acetone in a HITACHI Fluorescence Spectrophotometer (model F-4500).

2.5. Latent fingerprints deposition and development

The above described synthetic analogues of thiazole (**2a-d**) were tested as development agents for latent fingerprints. To prepare the powder, the analogues were macerated with liquid nitrogen. Latent fingerprints were deposited by volunteers, 5 men and 3 women, who pressed their fingertips onto clean glass slides or onto clean plastic surface. The donors have not been picked out based on a special selection criteria. For a natural fingerprint deposition, they washed their hands with neutral soap and water and kept doing their usual activities for a period of 30 minutes. For a sebaceous deposition, the donor rubbed the thumb on areas of the face such as the forehead and nose followed by rubbing of the fingertips to enrich the print with oily components [27]. When placing the fingerprints, the pressure was subjectively firm (exerting medium pressure) and the contact time was between 3 and 5 seconds. After the deposition, latent fingerprints were kept during 24 h at room temperature to simulate a real casework, and then its development was carried out by powder dusting method (physical method) using specific brushes for the development and cleaning the of powder excess (132LBW and CFB100 from Sirchie®). The powders of synthetic analogs of thiazole were compared with commercial gold powder ("Gold Metallic No. BPP8916 Hi-Fi Powder" from Sirchie® purchased from Forensics Brazil) that has similar color with the tested substances. Ultraviolet light with wavelength of 395 nm and yellow filter was used to visualize the fluorescence emission of the compounds in the developed latent fingerprints. Photographs were taken with a semiprofessional camera Canon model EOS Rebel T6.

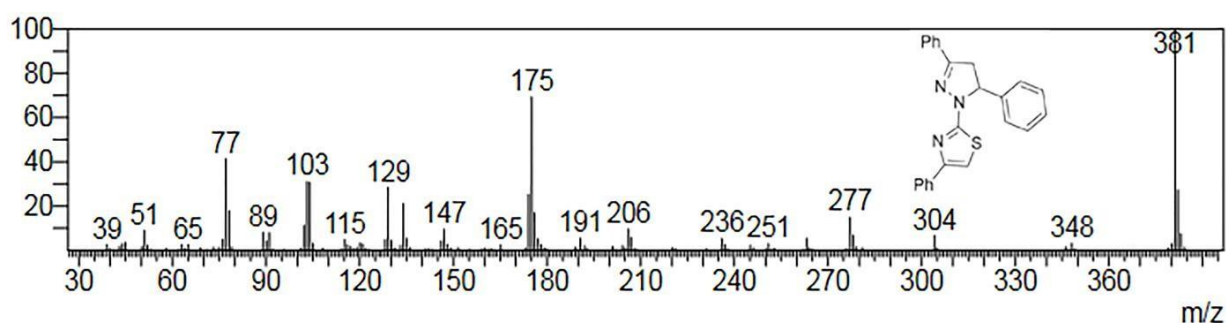


Figure 1–Mass spectrum for thiazole analogue **2a**.

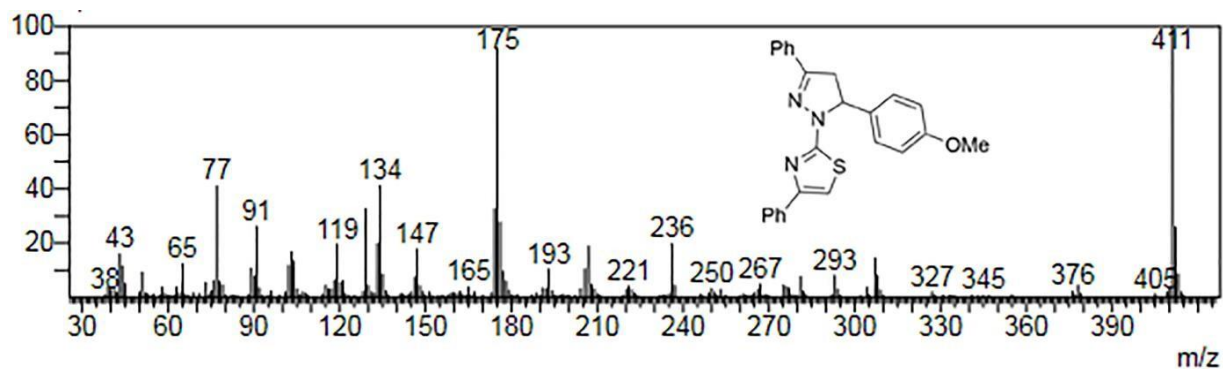


Figure 2 – Mass spectrum for thiazole analogue **2b**.

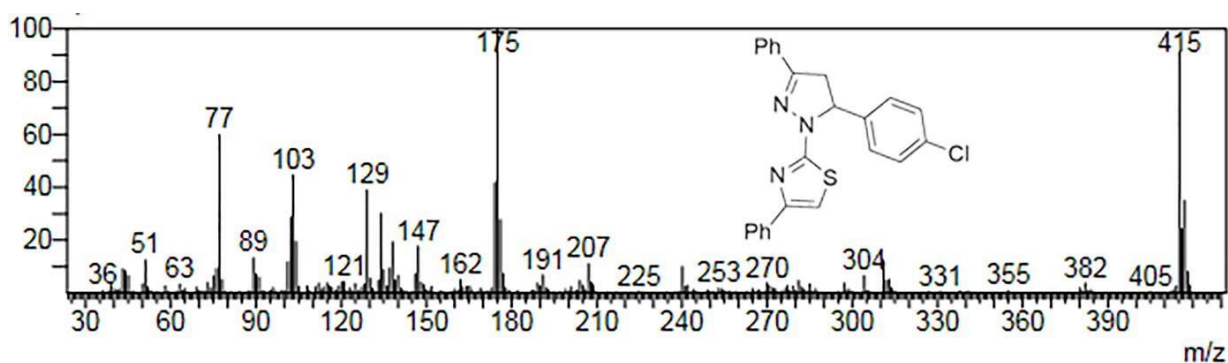


Figure 3 – Mass spectrum for thiazole analogue **2c**.

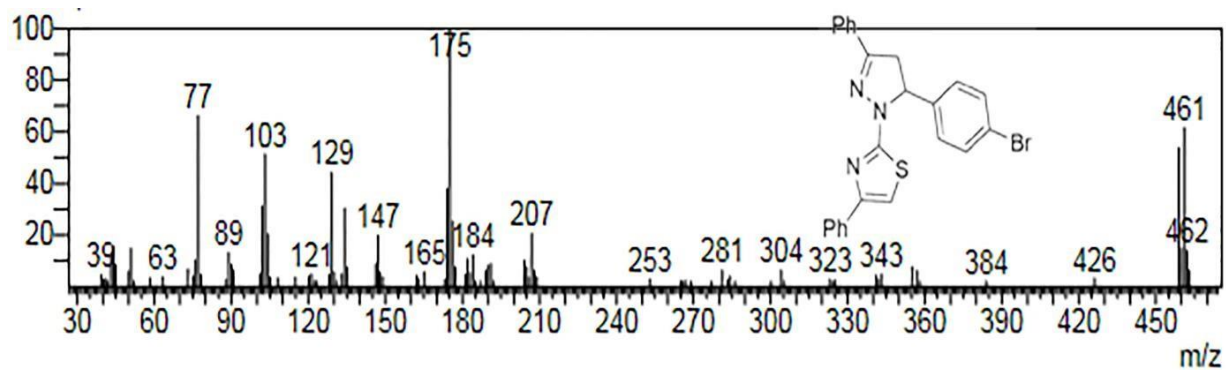


Figure 4 – Mass spectrum for thiazole analogue **2d**.

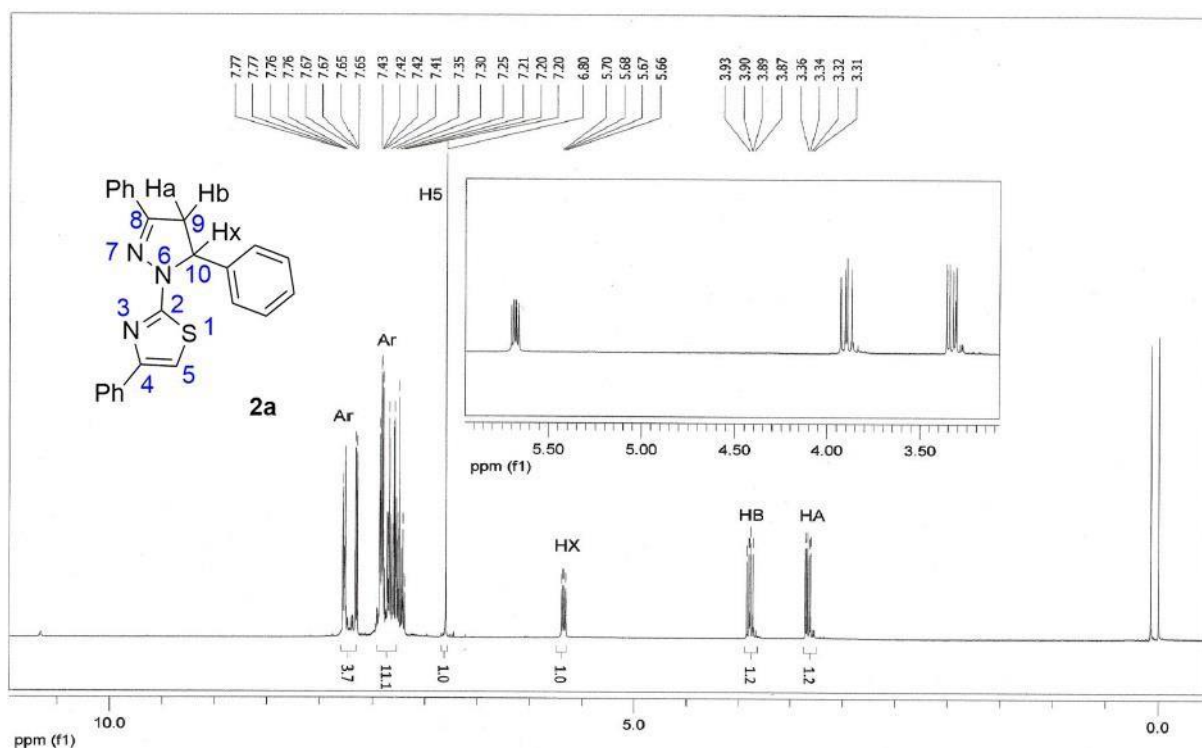


Figure 5 – ¹H RMN spectrum of compound 2a.

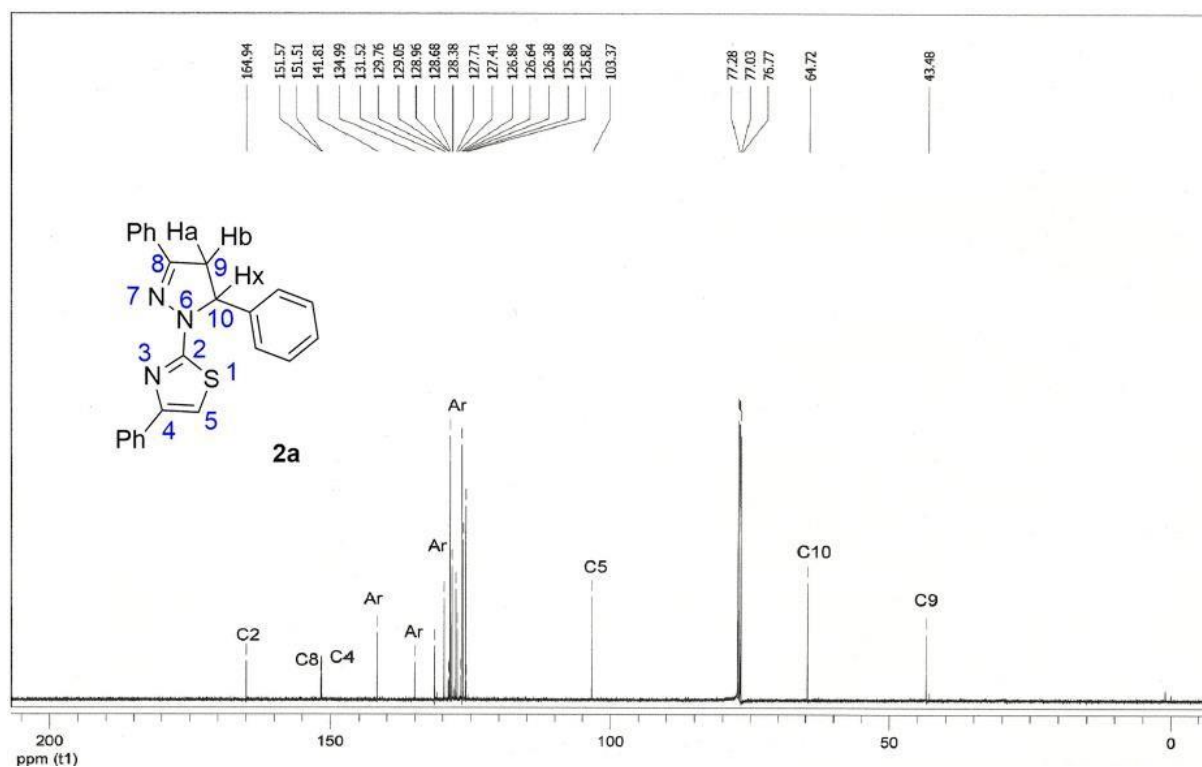


Figure 6 – ¹³C RMN spectrum of compound 2a.

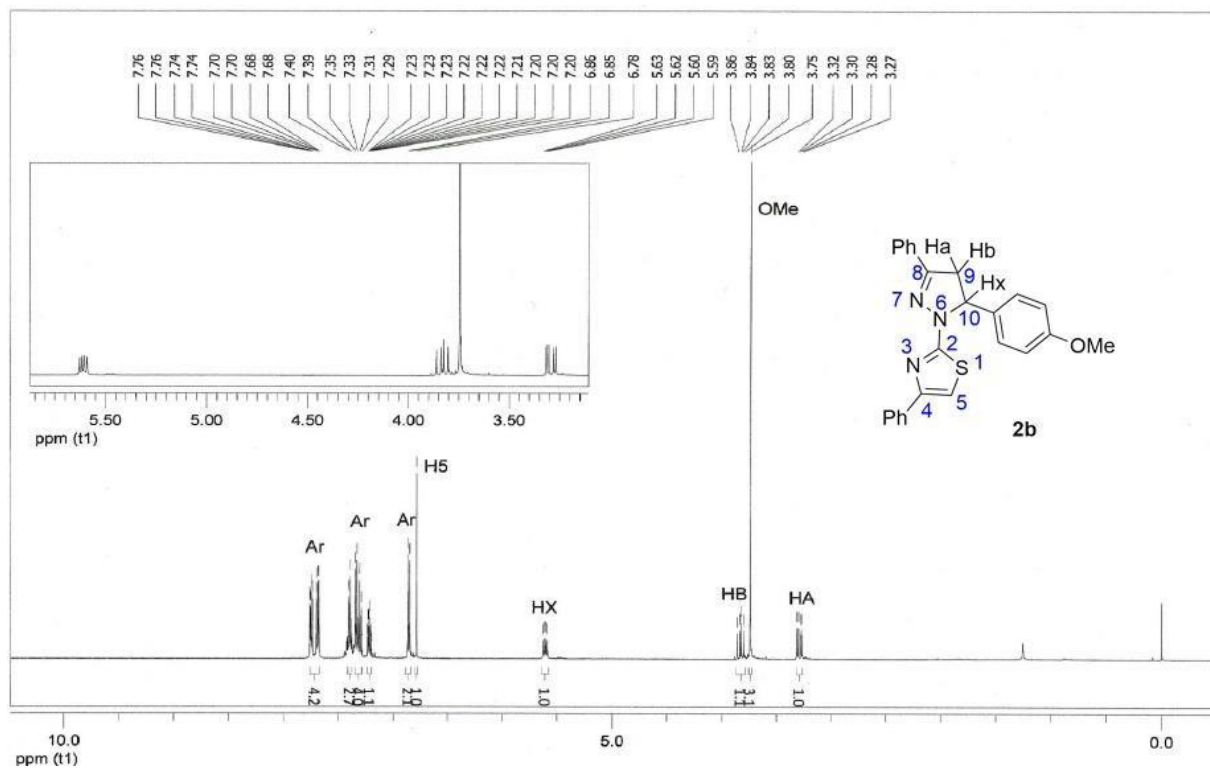


Figure 7 – ¹H RMN spectrum of compound 2b.

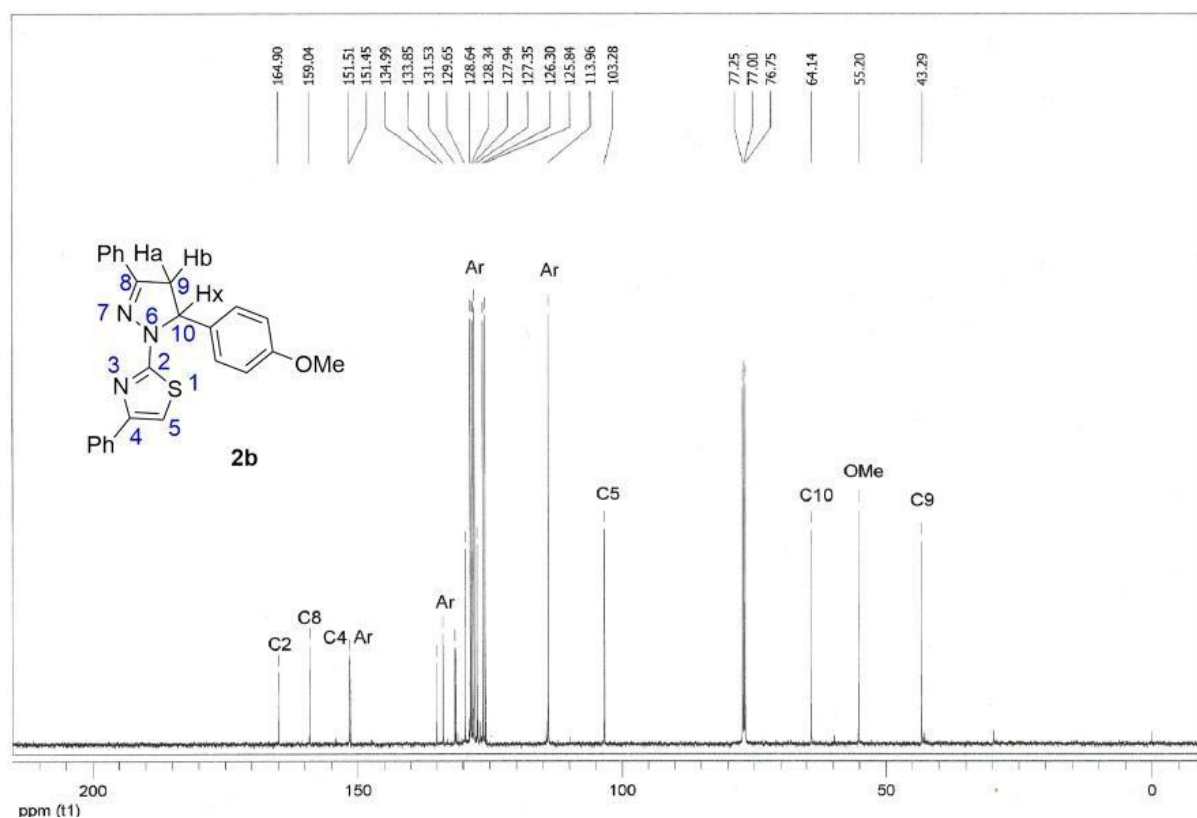
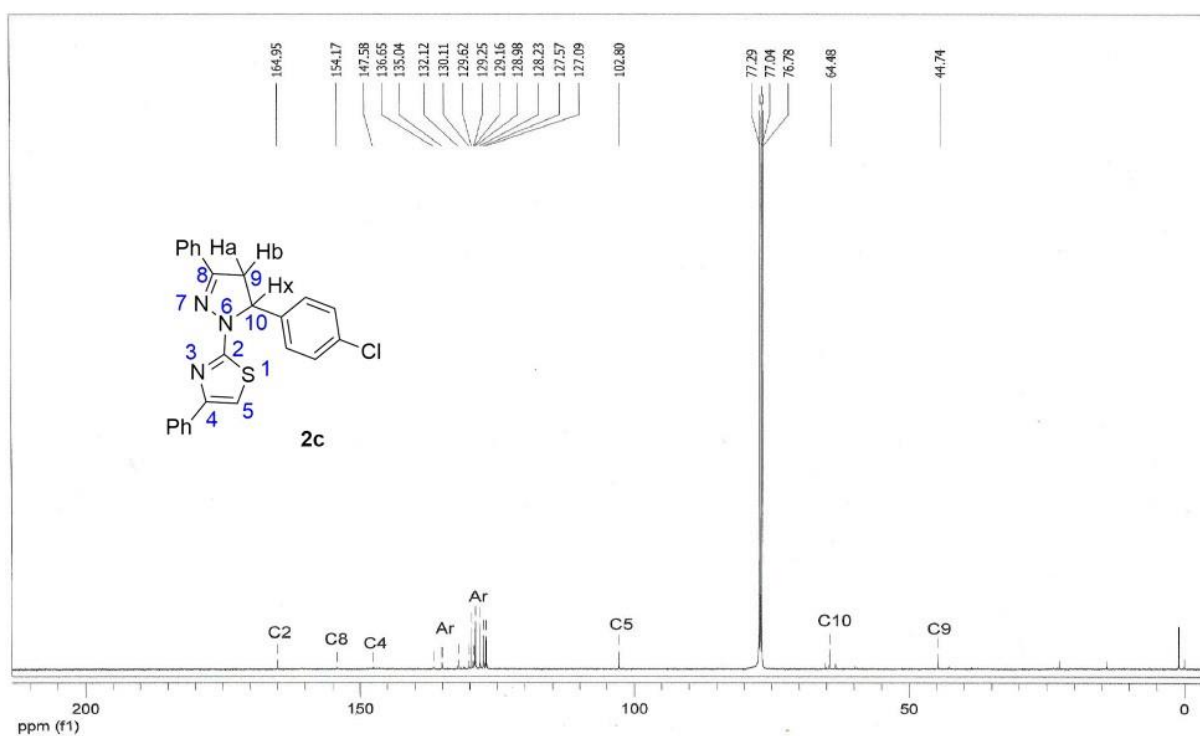
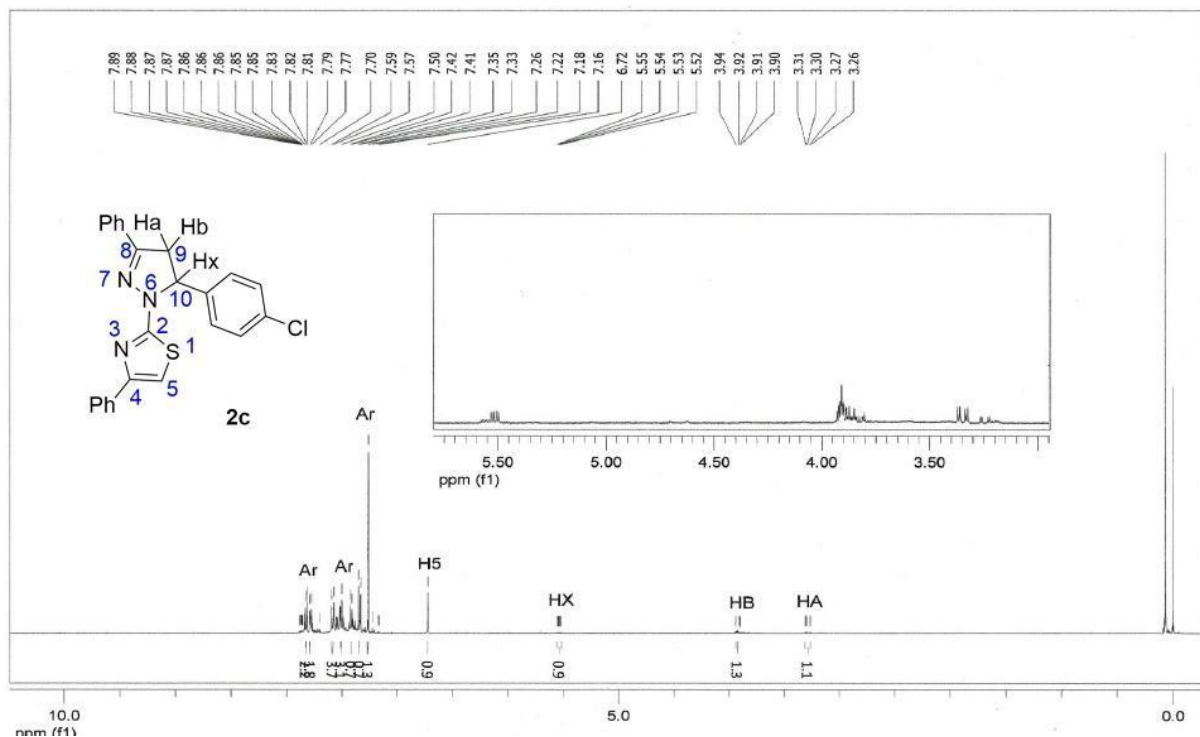


Figure 8 – ¹³C RMN spectrum of compound 2b.



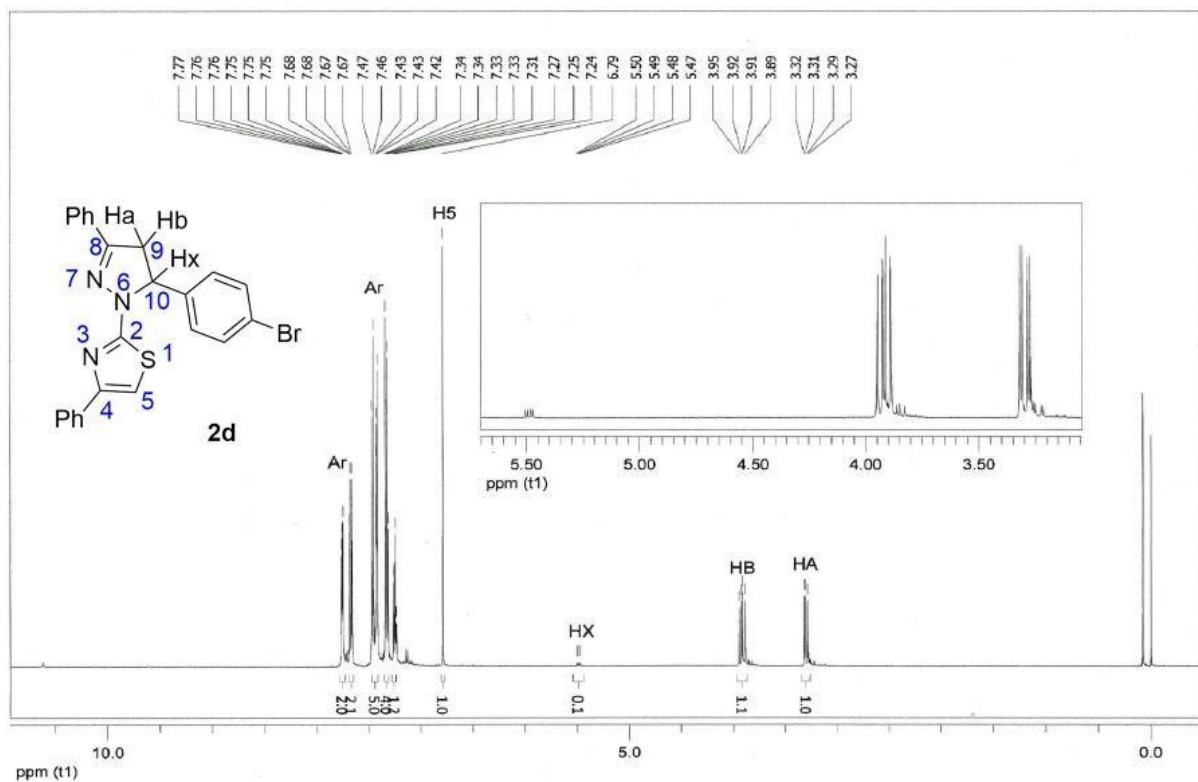


Figure 11 – ¹H RMN spectrum of compound **2d**.

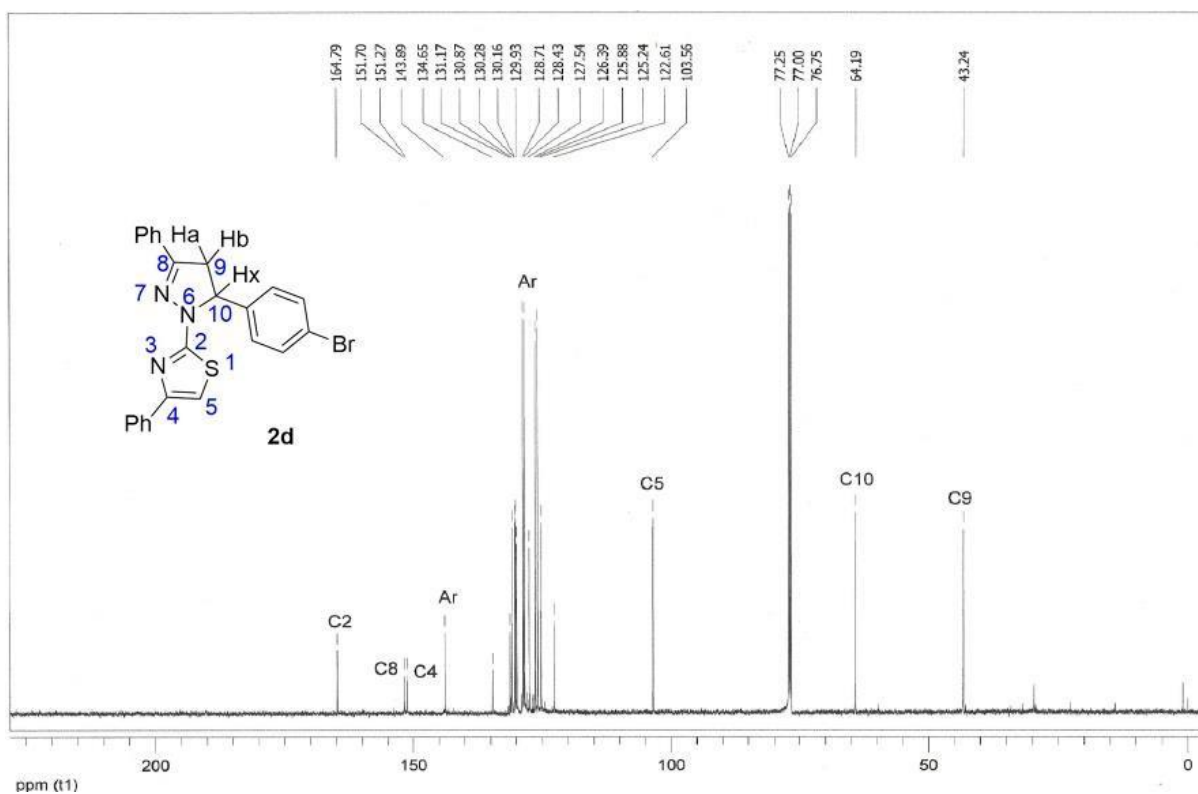


Figure 12 – ¹³C RMN spectrum of compound **2d**.

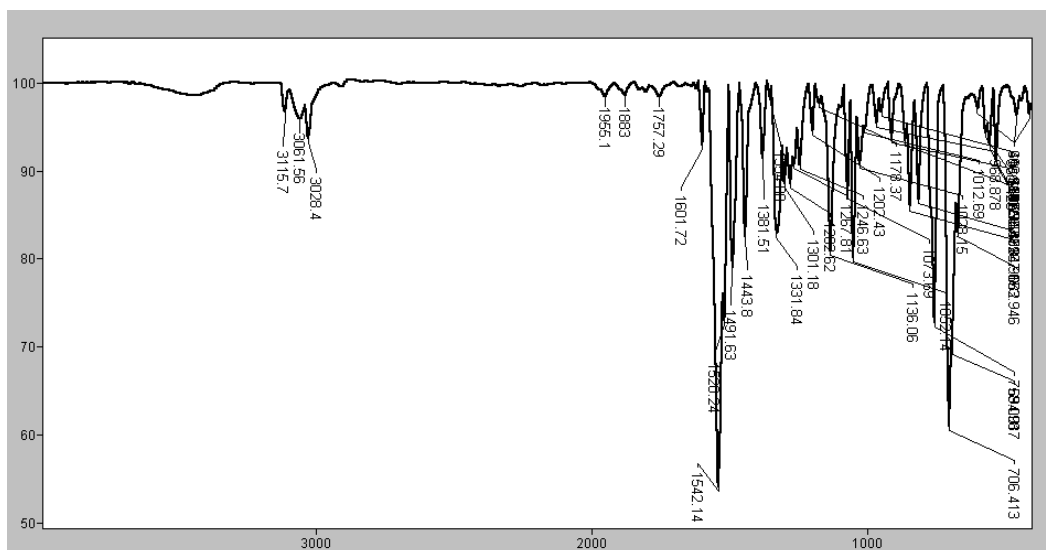


Figure 13 - Infrared spectrum of the compound 2a.

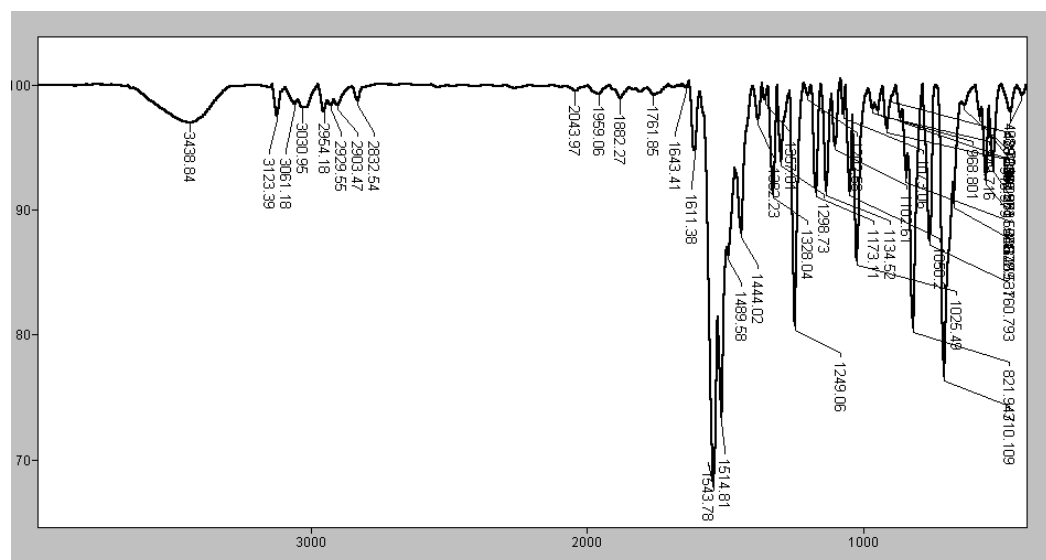


Figure 14 - Infrared spectrum of the compound 2b.

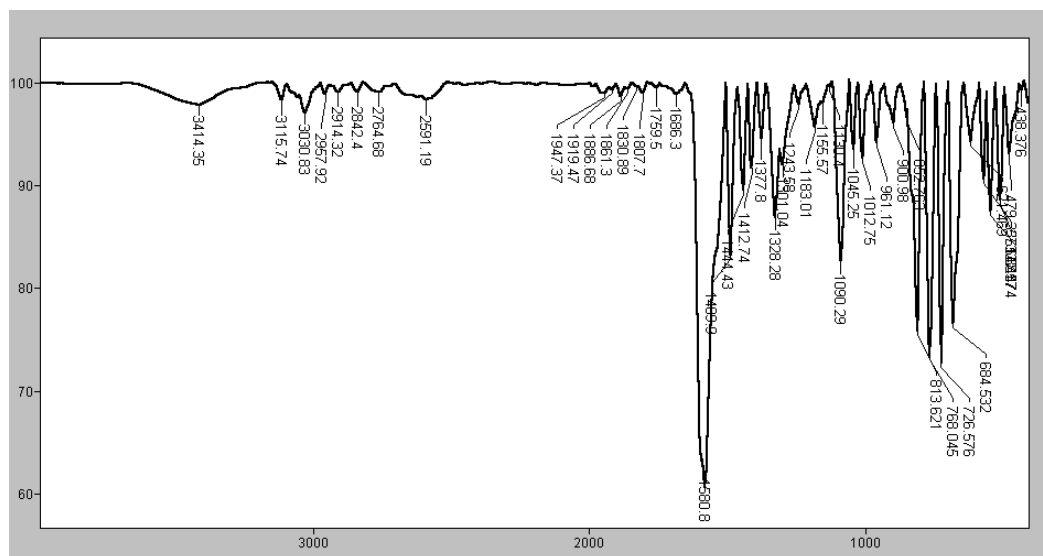


Figure 15 - Infrared spectrum of the compound **2c**.

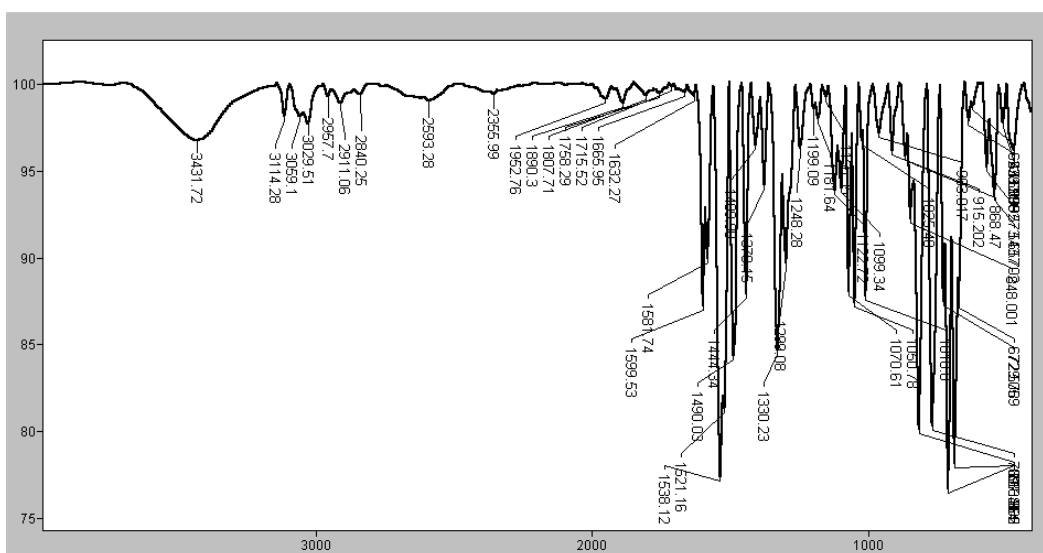


Figure 16 - Infrared spectrum of the compound **2d**.

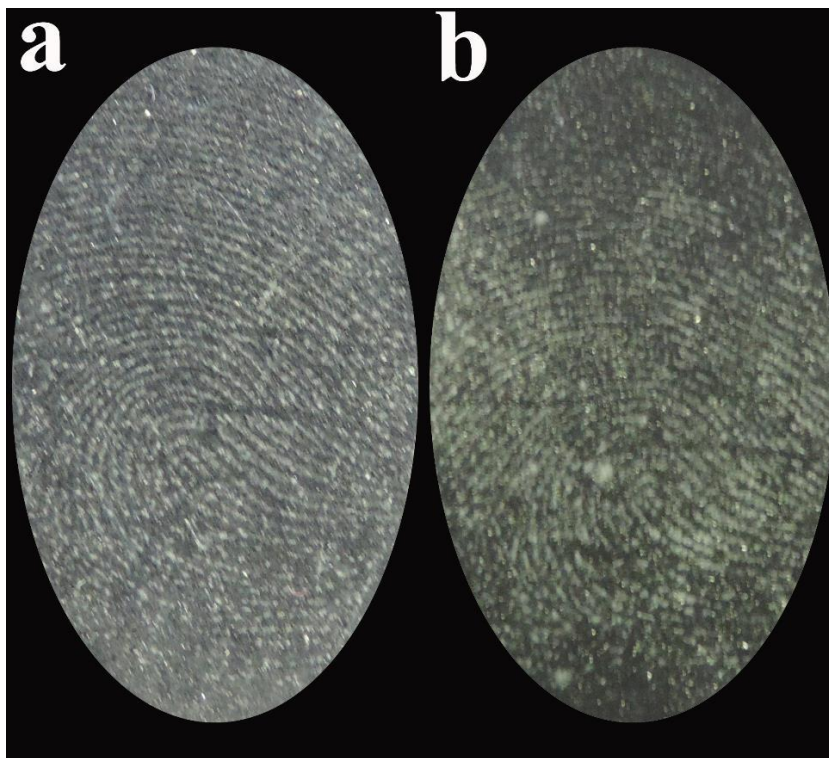


Figure 17 - Latent fingerprint development using thiazole analogue **2b**: **(a)** on glass surface; **(b)** on plastic surface.

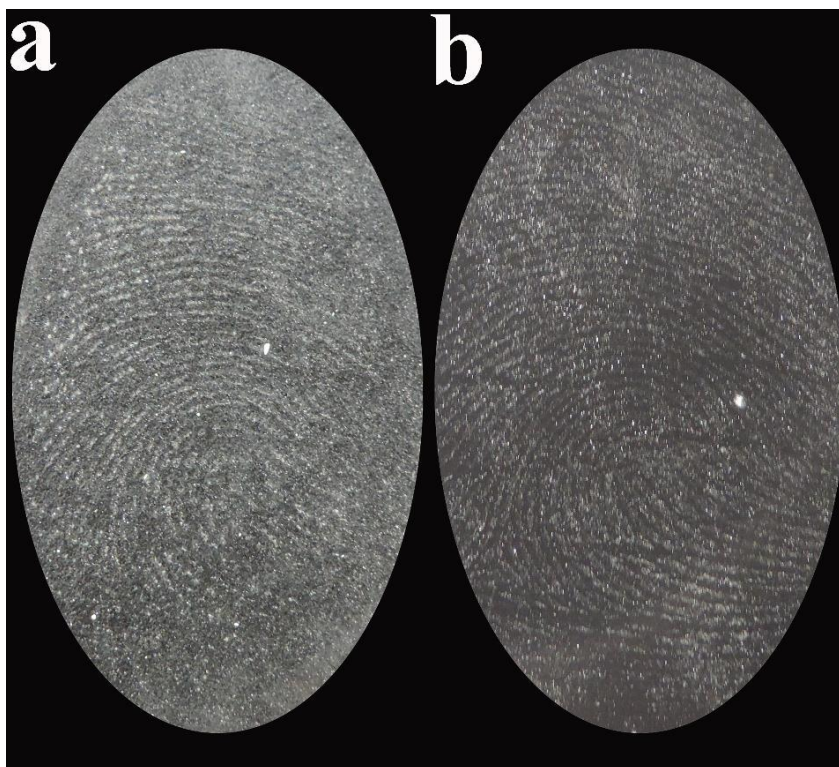


Figure 18 - Latent fingerprint development using thiazole analogue **2c**: **(a)** on glass surface; **(b)** on plastic surface.

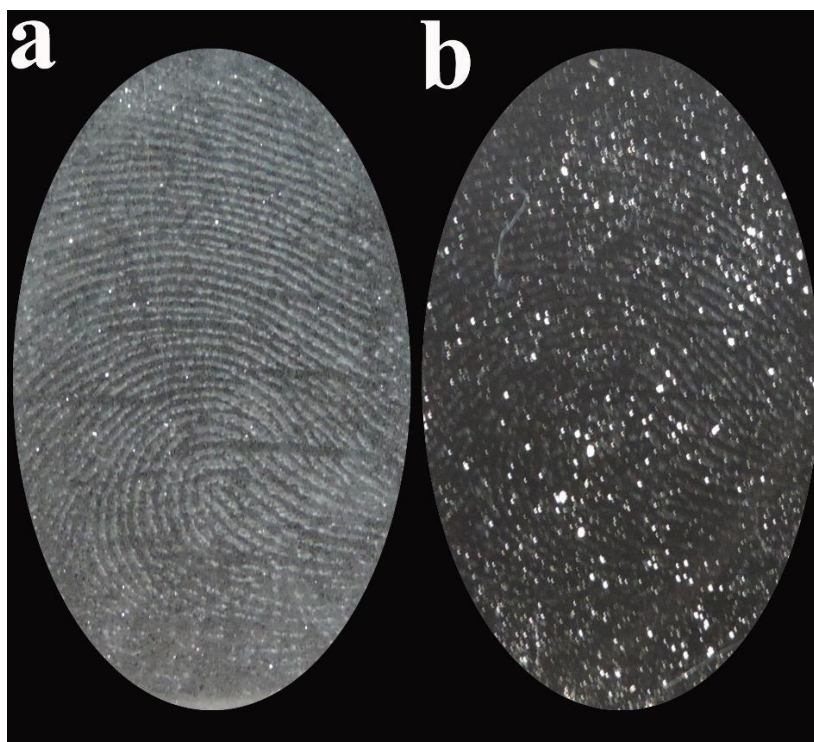


Figure 19 - Latent fingerprint development using thiazole analogue **2d**: **(a)** on glass surface; **(b)** on plastic surface.

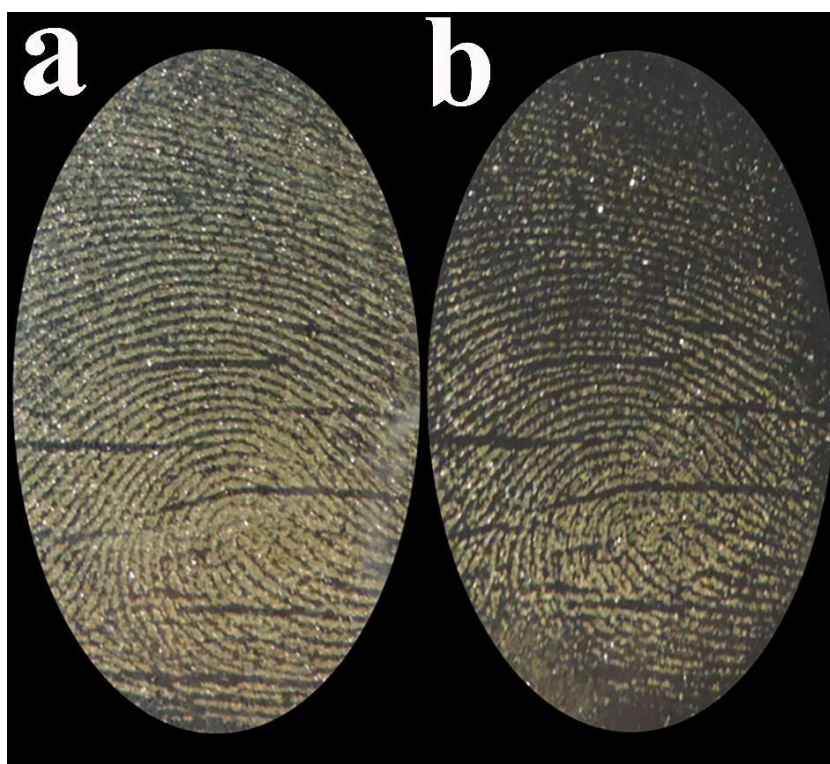


Figure 20 - Latent fingerprint development using Gold Metallic No. BPP8916 from Sirchie®: **(a)** on glass surface; **(b)** on plastic surface.

Capítulo 2

PATENTE

Os resultados dessa dissertação constituem parte de patente depositada no Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

4CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A PATENTE

Os resultados desse estudo em relação a nova aplicação dos análogos de feniltiazol foram reivindicados pelo nosso grupo de pesquisa na forma de patente depositada no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), através da Coordenação de Inovação Tecnológica (CIT) da UFPel. A seguir está disposto o comprovante de depósito da patente intitulada: “TIAZÓIS REVELADORES DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES” sob o número de processo BR1020180098977.



**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2018 009897 7

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 92242080000100

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua Gomes Carneiro, 01 - Ed. Delfim Mendes Silveira - Campus
Porto/Reitoria - 4º Andar - PRPPG

Cidade: Pelotas

Estado: RS

CEP: 96010-610

País: Brasil

Telefone: (53) 3284 4086

Fax:

Email: cit@ufpel.edu.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 16/05/2018 às 10:56, Petição 870180040761

PARTE IV

5 CONCLUSÃO

Foram sintetizados diferentes 1*H*-pirazol-1-il-4-feniltiazóis utilizando uma via verde. Os pós produzidos foram caracterizados, e tiveram sua avaliada citotoxicidade em linhagem de queratinócitos. Com isso, foi proposta uma nova técnica usada em ciências forenses como revelador de IDL. Todos os compostos exibiram alta intensidade de fluorescência, exibindo intensidades máximas de 547.727 a 1900.854 no comprimento de onda apropriado. Os 1*H*-pirazol-1-il-4-feniltiazóis **2a-d** não foram capazes de promover a diminuição da viabilidade das células NOKSi, representando reveladores de impressões digitais de segurança neste ensaio. Todos os compostos permitiram o desenvolvimento de impressões digitais em superfícies de vidro e plástico. Os melhores resultados foram obtidos com o composto **2a**, que apresentou bom desenho morfométrico das cristas de fricção e alta sensibilidade, principalmente em impressões sebáceas. Além disso, este é um estudo piloto da aplicação de compostos tiazol como revelador de IDL. É necessário ampliar o número de doadores e superfícies, além de aplicar em casos reais.

6 REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ, G.; VARELA, J.; CRUCES, E.; FERNÁNDEZ, M.; GABAY, M.; LEAL, S. M.; ESCOBAR, P.; SANABRIA, L.; SERNA, E.; TORRES, S.; FIGUEREDO THIEL, S. J.; YALUFF, G.; VERA DE BILBAO, N. I.; CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M.

Identification of a New Amide-Containing Thiazole as a Drug Candidate for Treatment of Chagas' Disease. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 3, p. 1398–1404, mar. 2015.

ATHERTON, T.; ATHERTON, T.; CROXTON, R.; BARON, M.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, J.; GÁMIZ-GRACIA, L.; GARCÍA-CAMPAÑA, A. M. Analysis of amino acids in latent fingerprint residue by capillary electrophoresis-mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, v. 35, n. 21, p. 2994–2999, 2012.

BAXTER, E. **Crime Scene Investigation**. CRC Press, Pg. 153-204, 2015.

BECUE, A.; MORET, S.; CHAMPOD, C.; MARGOT, P. Use of stains to detect fingerprints Use of stains to detect fingerprints. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 86, n. 3, p. 140–160, 2011.

CABALLERO, S.A.D. **Datilosopia e Revelação de Impressões Digitais**. Millennium editora. Pg. 75-112, 2012

CADD, S.; ISLAM, M.; MANSON, P.; BLEAY, S. Fingerprint composition and aging: A literature review. **Science & Justice**, v. 55, n. 4, p. 219–238, jul. 2015.

CANDI, E.; SCHMIDT, R.; MELINO, G. The Cornified Envelope: A Model Of Cell Death In The Skin. **Nature**, v. 6, n. April, p. 328–340, 2005.

CHAMPOD, C. **Fingerprints and other ridge skin impressions**. CRC Press, Pg. 6-102, 2016.

CHEMELLO, E. Ciência Forense: Impressões Digitais. Química Virtual. p. 1–11, 2006.

CROXTON, R. S.; BARON, M.; BUTLER, D.; KENT, T.; SEARS, V. G. Development of a GC-MS method for the simultaneous analysis of latent fingerprint components. **Journal of Forensic Sciences**, v. 51, n. 6, p. 1329–1333, 2006.

DALUZ, Hillary Moses. **Fundamentals of Fingerprint Analysis**. CRC Press, Pg. 43-58 2015.

DRAPEL, V.; BECUE, A.; CHAMPOD, C.; MARGOT, P. Identification of promising antigenic components in latent fingerprint residues. **Forensic Science International**, v. 184, p. 47–53, 2009.

FERGUSON, L. S.; WULFERT, F.; WOLSTENHOLME, R.; FONVILLE, J. M.; CLENCH, M. R.; CAROLAN, V. A.; FRANCESE, S. Direct detection of peptides and small proteins in fingerprints and determination of sex by MALDI mass spectrometry profiling. **The Analyst**, v. 137, n. 20, p. 4686, 2012.

FIGINI, D. **Datilosopia e Revelação de Impressões Digitais**. Millennium editora. Pg. 139-154, 2012

FRICK, A. A.; CHIDLOW, G.; LEWIS, S. W.; VAN BRONSWIJK, W. Investigations into the initial composition of latent fingerprint lipids by gas chromatography-mass spectrometry. **Forensic Science International**, v. 254, p. 133–147, 2015.

FRIEDMAN, M. Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 3, p. 385–406, 2004.

FRIESEN, J. B. Forensic Chemistry: The Revelation of Latent Fingerprints. **Journal of Chemical Education**, v. 92, n. 3, p. 497–504, 10 mar. 2015.

GIROD, A.; RAMOTOWSKI, R.; WEYERMANN, C. Composition of fingerprint residue: A qualitative and quantitative review. **Forensic Science International**, v. 223, n. 1–3, p. 10–24, 2012.

HANSEN, D. B.; JOULLIÉ, M. M. The development of novel ninhydrin analogues. **Chem. Soc. Rev.**, v. 34, n. 5, p. 408–417, 2005.

HARKER, M.; COULSON, H.; FAIRWEATHER, I.; TAYLOR, D.; DAYKIN, C. A. A metabonomic study of eccrine sweat from healthy male and female human subjects by ¹H NMR spectroscopy Study of metabolite composition of eccrine sweat from healthy male and female human subjects by ¹H NMR spectroscopy. **Metabolomics**, v. 2, n. 3 September, p. 105–112, 2006.

HUYNH, C.; HALÁMEK, J. Trends in Fingerprint Analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, 2016.

IFA, D. R.; MANICKE, N. E.; DILL, A. L.; COOKS, R. G. Latent Fingerprint chemical imaging by Mass Spectrometry. **Science (2008) 321(5890) 805-805**, v. 321, n. August, p. 805, 2008.

JELLY, R.; PATTON, E. L.T.; LENNARD, C.; LEWIS, S. W.; LIM, K. F. The detection of latent fingermarks on porous surfaces using amino acid sensitive reagents: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 652, n. 1–2, p. 128–142, 2009.

JIN, X.; XIN, R.; WANG, S.; YIN, W.; XU, T.; JIANG, Y.; JI, X.; CHEN, L.; LIU, J. A Tetraphenylethene-based Dye for Latent Fingerprint Analysis. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, 2017.

JOSEPH ALMOG; ANTONIO A CANTU. Guidelines for the Assessment of Fingerprint Detection Techniques. **Journal of Forensic Identification**, v. 174, n. 1, p. 64–174, 6 jan. 2014.

KENT, T. Standardizing Protocols for Fingerprint Reagent Testing. **Journal of Forensic Identification**, v. 60, n. 3, p. 371–379, 2010.

KING, R. S. P.; HALLETT, P. M.; FOSTER, D. Seeing into the infrared: A novel IR fluorescent fingerprint powder. **Forensic Science International**, v. 249, p. e21–e26, 2015.

LLEWELLYN P., DINKINS, L. New use for an old friend, **Journal of Forensic Identification**. V. 42, n. 5, p. 498–503 1995.

MARMINON, C.; NACEREDDINE, A.; BOUAZIZ, Z.; NEBOIS, P.; JOSE, J.; LE BORGNE, M. Microwave-assisted oxidation of indan-1-ones into ninhydrins. **Tetrahedron Letters**, v. 56, n. 14, p. 1840–1842, 2015.

MARTINIS, B.S., OLIVEIRA, M.F., **Química Forense Experimental**. CENGAGE Learning, Pg. 39-49, 2015.

MILSTONE, L. M. Epidermal desquamation. p. 131–140, 2004.

MOHAMMAD, H.; CUSHMAN, M.; SELEEM, M. N. Antibacterial Evaluation of Synthetic Thiazole Compounds In Vitro and In Vivo in a Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Skin Infection Mouse Model. **PLOS ONE**, v. 10, n. 11, p. e0142321, 4 nov. 2015.

PIZZUTI, L.; PIOVESAN, L. A.; FLORES, A. F.C.; QUINA, F. H.; PEREIRA, C. M. P. Environmentally friendly sonocatalysis promoted preparation of 1-thiocarbamoyl-3,5-diaryl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 16, n. 6, p. 728–731, ago. 2009.

RAMOTOWSKI, R. Composition of latent print residue, **Advances in Fingerprint Technology**, 2nd ed. CRC Press, London, pp. 63–104, 2001.

RAMOTOWSKI, R. Preface, **Advances in Fingerprint Technology**, 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, 2013.

RENEE JELLY, SIMON W. LEWIS, CHRIS LENNARD, K. F. L. AND J. A. Chemical Technology. **Chemical Technology**, v. 5, n. 8, p. 57–64, 2008.

SÁ, N. P.; LIMA, C. M.; LINO, C. I.; BARBEIRA, P. J. S.; BALTAZAR, L. M.; SANTOS, D. A.; OLIVEIRA, R. B.; MYLONAKIS, E.; FUCHS, B. B.; JOHANN, S. Heterocycle Thiazole Compounds Exhibit Antifungal Activity through Increase in the Production of Reactive Oxygen Species in the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* Species Complex. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 8, p. 1–8, ago. 2017.

SEARS, V. G.; BLEAY, S. M.; BANDEY, H. L.; BOWMAN, V. J. A methodology for finger mark research. **Science and Justice**, v. 52, n. 3, p. 145–160, 2012.

VELHO, J. A.; GEISER, G. C.; ESPINDULA, A. **Ciências Forenses: Uma introdução às principais áreas da criminalística moderna**. 3ªed. Millennium Editora, Pg. 135-162, 2017.

VENZKE, D.; FLORES, A. F.C.; QUINA, F. H.; PEREIRA, C. M. P. Ultrasound promoted greener synthesis of 2-(3,5-diaryl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-4-phenylthiazoles. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 1, p. 370–374, jan. 2011.

YAMASHITA, B., FRENCH, M. **Fingerprint Sourcebook**, NCJ 225320, US Department of Justice, Washington, 2011.