

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

MARINA GALDINO DA ROCHA PITTA

Novos Agentes Anticâncer Tiazacridínicos
Substituídos: Síntese, Estrutura e Efeitos Biológicos

Recife
2010

MARINA GALDINO DA ROCHA PITTA

Novos Agentes Anticâncer Tiazacridínicos

Substituídos: Síntese, Estrutura e Efeitos Biológicos

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Inovação
Terapêutica, da Universidade Federal de
Pernambuco, para a obtenção do Título de
Mestre em Inovação Terapêutica**

Orientador: Profa. Dr. Maria do Carmo Alves de Lima

Co-orientador: Dr. Thiago Mendonça de Aquino

Recife

2010

1 Pitta, Marina Galdino da Rocha

Novos agentes anticâncer Tiazacridínicos substituídos: síntese, estrutura e efeitos biológicos / Marina Galdino da Rocha Pitta. – Recife: O Autor, 2010.

184 folhas: Il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, 20010.

2 Inclui bibliografia e apêndices.

**1. Câncer 2. Farmacologia 3. Química médica e farmacêutica
4. Agentes anticâncer I. Título.**

3

4 616.994

CDD (22.ed.)

UFPE/ CCB – 2010-

098

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Pitta, Marina Galdino da Rocha

Título: Novos Agentes Anticâncer Tiazacridínicos Substituídos: Síntese, Estrutura e Efeitos Biológicos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Inovação Terapêutica

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora

Profa. Dr. Maria do Carmo Alves de Lima

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Assinatura: _____

Profa. Dr. Ana Cristina Lima Leite

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Assinatura: _____

Dr. Thiago Mendonça de Aquino

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Ivan da Rocha Pitta e Suely Lins Galdino, que sempre estiveram ao meu lado e que são meus exemplos de vida.

Aos meus irmãos, Maira, Ivan, Luis, Tania, Maoro e Nadia.

*Aos meus avós Felix (in memorian) e
Gertrudes, Walter e Joanna.*

*Aos meus primos, Lília, Alice, Mariana, Bruno, Cauet,
Lorena, Talita, Daniel, Jane, Eduardo, Ivo, Igor,
Luciana, Walter, Evelise e Tatiana.*

Aos meus sobrinhos Victor, Fernande e Salomé.

*Aos meus tios, Sérgio, Célia, Sandra, Paulo,
Ivo, Walter (in memorian)
Fátima e Antônio.*

AGRADECIMENTOS

A Profa Dr. Maria do Carmo Alves de Lima, pesquisadora do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, do Departamento de Antibióticos da UFPE, pela orientação, amizade, apoio e incentivos constantes para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Thiago Mendonça de Aquino, pela co-orientação e importante contribuição na interpretação de espectros.

Aos professores Doutores Suely Lins Galdino e Ivan da Rocha Pitta, pela amizade, confiança, incentivo e, sobretudo, pela inestimável contribuição à minha formação acadêmico-científica e pessoal.

Aos professores Doutores Cláudia do Ó Pessoa e Manoel Odorico de Moraes, do Laboratório de Oncologia Experimental da UFCE, pela colaboração na realização da avaliação da atividade anticâncer *in vitro*.

A UFPE, pela importante contribuição para o desenvolvimento do país quando, cumprindo sua missão, busca capacitar técnica, científica e culturalmente alunos de graduação e de pós-graduação.

Aos meus amigos, colegas e professores do Laboratório de Planejamento de Síntese de Fármacos: Albert Rocha, Andreza Tavares, Anekécia Lauro, Antônio Sérgio de Almeida, Beatriz Souza, Breno de Albuquerque, Camila Protásio, Cleiton Diniz, Danielle Costa, Etiêne dos Santos, Fabiana Gomes, Francisco Mendonça, Leidiane Oliveira, Luiz Carlos Apolinário, Maira Pitta, Mariana Carvalho, Nathália Colaço, Ricardo Moura, Sandra Sarinho, Sandra Alcântara, Tiago Bento, Thiago Lins e Lins e Willams Leal, pelos agradáveis momentos e pela colaboração direta ou indireta na realização de todas as etapas deste trabalho.

Aos professores, amigos, colegas e funcionários do Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica, PPGIT, pela oportunidade de um convívio “intelectualmente refrescante”.

A todos aqueles não mencionados que, de alguma maneira, contribuíram de forma direta ou indireta na finalização deste trabalho.

TECENDO A MANHÃ

*Um galo sozinho não tece uma manhã:
ele precisará sempre de outros galos.
De um que apanhe esse grito que ele
e o lance a outro; de um outro galo
que apanhe o grito que um galo antes
e o lance a outro; e de outros galos
que com muitos outros galos se cruzem
os fios de sol de seus gritos de galo,
para que a manhã, desde uma teia tênue,
se vá tecendo, entre todos os galos.*

*E se encorpando em tela, entre todos,
se erguendo tenda, onde entrem todos,
Se entretendo para todos, no toldo
(a manhã) que plana livre de armação.
A manhã, toldo de um tecido tão aéreo
que, tecido, se eleva por si: luz balão.*

João Cabral de Melo Neto

RESUMO

O câncer é uma das principais causas de morte no mundo e acolhe intensos e crescentes investimentos em pesquisa oriundos dos setores público e privado. Considerando os alarmantes indicadores epidemiológicos registrados e a visível carência de medicamentos mais eficazes e menos tóxicos para esta patologia, o Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos vem, desde o final da década de 1980, desenvolvendo moléculas com potenciais propriedades anticâncer. A meta é minimizar o impacto dessa doença no Brasil e no mundo. Para tanto, conhecendo-se as propriedades anticâncer de derivados da acridina, este trabalho teve como objetivo preparar, determinar as características físico-químicas, caracterizar estruturalmente e avaliar a atividade anticâncer de nove moléculas originais derivadas da acridina. Nos ensaios *in vitro* foram utilizadas linhagens celulares SF-295 (Sistema Nervoso Central), MDA-MB435 (melanoma) e HCT-8 (carcinoma de cólon). Para a realização das sínteses, foram realizadas reações de *N*-alquilação, condensação, ciclização e adição de Michael. As moléculas obtidas foram comprovadas através de métodos espectroscópicos no infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectrometria de massas utilizando a técnica de electrospray. Os resultados colimados revelam que os compostos 3-acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona, 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona e 3-acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona destacaram-se entre os mais ativos da série, pois apresentaram, respectivamente, 92,4%, 86,7% e 96,6% de inibição da proliferação celular contra a linhagem de carcinoma de cólon; enquanto que a doxorubicina, fármaco de referência, apresentou 95,2% de inibição contra a mesma linhagem de células. Estes resultados ratificam a importância de derivados tiazacridínicos no combate do câncer.

Palavras-chave: 1. Acridina. 2. Química Medicinal. 3. Câncer. 4. Intercalação DNA.

ABSTRACT

Cancer is a leading cause of death worldwide and conceals intense and growing investment by public and private sectors. Taking into account the alarming epidemiological data recorded and visible lack of drugs more effective and less toxic to treat this pathology, the Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos has been producing compounds, since the late 80's. The purpose is minimize the impact of this disease in Brazil and in the world. Therefore, considering the anticancer properties of the acridine derivatives, the aim of this work was the synthesis, determination of the physico-chemical properties, structural characterization and *in vitro* antiproliferative activity against human cancer cell lines HL-60 (promyelocytic leukemia), MDA-MB435 (breast carcinoma) and HCT-8 (colon carcinoma), of nine new bis-thiazacridine and thiazacridines derivatives. The syntheses were carried out with N-alkylation, condensation, cyclization and Michael addition reactions. The obtained molecules were analysed by mass spectrometry using the electrospray technique and spectroscopic methods, such as infrared and nuclear magnetic resonance of hydrogen. The compounds 3-acridine-9-yl-methyl-5-acridine-9-yl-methylene-thiazolidine-2,4-dione, 3-acridine-9-yl-methyl-5-(4 -- methoxy-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione and 3-acridine-9-yl-methyl-5-(4-bromo-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione were the most active of the series, and presented, respectively, 92.4%, 86.7% and 96.6% of inhibition of cell proliferation against the colon carcinoma, whereas doxorubicin, the reference drug, presented 95.2% of inhibition against same cell line. These results confirm the importance of thiazacridine derivatives in combat of cancer.

Keywords: 1. Acridine. 2. Medicinal Chemistry. 3. Cancer. 4. DNA intercalation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Eventos genéticos que geram o câncer	28
Figura 2. Alguns fatores que induzem a desordem do ciclo celular	30
Figura 3. Causas de mortes no Brasil projetadas para 2030 (WHO, 2005)	31
Figura 4. Número estimado de mortes causadas pelo câncer em 2020 (WHO, 2005)	32
Figura 5. Proporção estimada do câncer que pode ser prevenido associado a 8 fatores de risco (WHO, 2005).....	33
Figura 6. Classificação dos agentes antineoplásicos	37
Figura 7. Doxorrubicina	43
Figura 8. Alcalóides pentacíclicos (a-f) e eilatina (g)	44
Figura 9. Acridina	45
Figura 10. Derivados de acridina.....	46
Figura 11. Complexos de <i>bis</i> (acridiniltiouréia)platina II	46
Figura 12. Numeração da tiazolidina-2,4-diona - IUPAC.....	49
Figura 13. Derivados benzilidênicos sintetizados por Beharry e colaboradores	50
Figura 14. Derivados tiazacridínicos sintetizados por Pitta e colaboradores em 2004	70
Figura 15. Espectro de RMN ¹ H da acridin-9-il--metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A).....	75
Figura 16. Espectro de Massas por IES da acridin-9-il--metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A) (M = 308)	76
Figura 17. Espectro de Massas por IES (modo positivo) da acridin-9-il--metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A) (M = 308)	76
Figura 18. Espectro de Massas por IES (modo negativo) da acridin-9-il--metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A) (M = 308)	76
Figura 19. Espectro de IV do LPSF-AA1A	77
Figura 20. Espectro de RMN ¹ H do 3-acridin-9-il--metil-5-acridin-9-il--metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2)	78
Figura 21. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il--metil-5-acridin-9-il--metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2) (M = 497)	79

Figura 22. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2) (M = 497)	79
Figura 23. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2) (M = 497)	80
Figura 24. Espectro de IV do LPSF-AA2	80
Figura 25. Espectro de RMN ¹ H do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3)	81
Figura 26. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3) (M = 426)	82
Figura 27. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3) (M = 426)	82
Figura 28. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3) (M = 426)	83
Figura 29. Espectro de IV do LPSF-AA3	83
Figura 30. Espectro de RMN ¹ H do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4)	84
Figura 31. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4) (M = 410)	85
Figura 32. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4) (M = 410)	85
Figura 33. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4) (M = 410)	86
Figura 34. Espectro de IV do LPSF-AA4	86
Figura 35. Espectro de RMN ¹ H do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5)	87
Figura 36. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5) (M = 430)	88
Figura 37. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5) (M = 430)	88
Figura 38. Espectro de Massas por IES (modo negativo) da 3-acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5) (M = 430)	89
Figura 39. Espectro de IV do LPSF-AA5	89
Figura 40. Espectro de RMN ¹ H do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6)	90

Figura 41. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6) (M = 474)	91
Figura 42. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6) (M = 474)	91
Figura 43. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6) (M = 474)	91
Figura 44. Espectro de IV do LPSF-AA6	92
Figura 45. Espectro de RMN ¹ H do 3-acridin-9-il-metil-5-(2,4-dimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA7).....	93
Figura 46. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(2,4-dimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA7) (M = 456)	94
Figura 47. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(2,4-dimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA7) (M = 456)	94
Figura 48. Espectro de RMN ¹ H do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8).....	95
Figura 49. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8) (M = 474)	96
Figura 50. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8) (M = 474)....	96
Figura 51. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8) (M = 474)	97
Figura 52. Espectro de IV do LPSF-AA8.....	97
Figura 53. Espectro de RMN ¹ H do 3-acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9).....	98
Figura 54. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9) (M = 504)	99
Figura 55. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9) (M = 504)..	99
Figura 56. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9) (M = 504)	100
Figura 57. Espectro de IV do LPSF-AA9	100
Figura 58. <i>Bis</i> -pirimido e <i>bis</i> -pirazolo-acridinas	103
Figura 59. Duas séries químicas sintetizadas pelo LPSF	105

Figura 60. "Acceptor" corresponde aos pontos aceitadores de ligação de hidrogênio e "ring aromatic" corresponde aos anéis aromáticos. Carbono, oxigênio, nitrogênio e átomos de enxofre são representados por cinza, vermelho, azul e tons de amarelo, respectivamente. Figura gerada com o software visualizador DS (Discovery Studio Visualizer v2.5.1.9167, Copyright © 2005-09, Accelrys Software Inc).....	108
Figura 61. Alguns dos primeiros derivados das acridinas descobertos	152
Figura 62. Fórmula geral dos novos derivados acridínicos sintetizados por Pitta et al	155
Figura 63. Quinacrina e Tacrina	157
Figura 64. Conjugado da 9-aminoacridina	158
Figura 65. Amsacrina e análogos	159
Figura 66. Agentes antiinflamatórios	160
Figura 67. Estrutura geral dos derivados da 9-amino-nitro-acridina.....	160
Figura 68. Derivados substituídos da 1-nitroacridina	161
Figura 69. Derivados da isoquino[4,5- <i>b,c</i>]acridina	161
Figura 70. DACA e seu análogo clorado na posição 7	162
Figura 71. Estrutura das pirazolo[3,4,5- <i>k</i>]acridinas-5-carboxamidas.....	162
Figura 72. Derivado 9-metoxi sintetizado, acridina-4-carboxamida e pirazol[3,4,5- <i>k</i>]acridina	163
Figura 73. Derivados da pirazoloacridona.....	164
Figura 74. Derivado de produto natural e seu análogo	164
Figura 75. Alcalóides acridônicos ativos contra o <i>P. falciparum</i>	165
Figura 76. Cloreto de di-hidroindolizino[7,6,5- <i>k</i>]acridinium.....	165
Figura 77. Ascididemina e derivados	166
Figura 78. Arnoaminas A1 (R=H) e B2 (R=CH ₃) e derivado.....	166
Figura 79. Bisamidoacridinas inibidoras da telomerase	167
Figura 80. Derivados da tiazolo[5,4- <i>a</i>]acridina	167
Figura 81. Estrutura geral de derivados das triazoloacridinonas.....	168
Figura 82. C-1305	169
Figura 83. Desenho racional das [1,2,6]tiadiazino[3,4,5- <i>k</i>]acridinas.....	169
Figura 84. Dímeros de acridina	170
Figura 85. <i>Bis</i> (acridina-4-carboxamida)	171
Figura 86. Derivados <i>bis</i> e <i>tetra</i> -acridínicos	172

Figura 87. Derivados de <i>bis</i> -alquilaminas	172
Figura 88. Complexos de <i>bis</i> (acridiniltiouréia)platina II	173
Figura 89. <i>Bis</i> -pirimido e <i>bis</i> -pirazolo-acridinas	173
Figura 90. Fotonuclease derivada de <i>bis</i> -acridinas	174

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Venda de medicamentos anticâncer em 2006, 2007 e 2008 (KNOLS, 2010)	35
Tabela 2. Blockbusters anticâncer e novos medicamentos aprovados em 2007 (KNOLS, 2010).....	36
Tabela 3. Propriedades das topoisomerasas I e II de eucariotos.....	38
Tabela 4. Agentes antineoplásicos inibidores da topoisomerase II aprovados pela FDA	42
Tabela 5. Reagentes e solventes utilizados nas diferentes etapas sintéticas ..	58
Tabela 6. Características físico-químicas das moléculas sintetizadas	71
Tabela 7. Absorções características no IV de alguns grupos funcionais característicos das tiazacridinas (McMURRY, 2006)	74
Tabela 8. Inibição da proliferação (%) realizado em duplicata pelo método do MTT para as células SF-295 (SNC), HCT-8 (carcinoma de cólon) e MDA-MB435 (melanoma); doxorubicina foi usada como controle positivo	101
Tabela 9. Valores de IC ₅₀ (concentração inibitória de 50%) e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) realizado pelo método do MTT para as células HL-60 (leucemia promielocítica), CEM (leucemia linfocítica), MDA-MB435 (melanoma), HCT-8 (carcinoma de cólon) e SF-295 (SNC) obtidos por regressão não-linear através do programa GraphPad Prism	104
Tabela 10. Propriedades moleculares e parâmetros farmacocinéticos, importantes para uma boa biodisponibilidade de derivados tiazacridínicos e doxorubicina (dox): número de aceptadores de ligações de hidrogénio e grupos doadores (nON e nOHNH, respectivamente), peso molecular (PM), calculado através do coeficiente de partição octanol / água (miLogP), número de violações da regra (Nviolat), número de ligações rotativas (Nrotb), superfície topológica polar (TPSA), volume molecular (Vol), escores para avaliar o potencial total do composto de beneficiar de um fármaco (druglikeness e drug-score), momento de dipolo, afinidade eletrônica e energia potencial de ionização.	107

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Derivados da Camptotecina disponíveis no comércio e de alguns que estão sendo desenvolvidos em pesquisas clínicas	40
Esquema 2. Etoposida, teniposida e fosfato de etoposida (HANDE, 1998)	41
Esquema 3. Alquilação da acridina por um agente nucleofílico	47
Esquema 4. Produtos de redução da acridina (CHIRON, 2004)	48
Esquema 5. Derivados da 5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona	50
Esquema 6. Reação de ciclização da tiazolidina-2,4-diona partindo da tiouréia	52
Esquema 7. Reação de ciclização da tiazolidina-2,4-diona partindo da <i>N</i> -2-propen-1-il--tiouréia	52
Esquema 8. Reação de ciclização da tiazolidina-2,4-diona partindo do acetato de 2-[[[(2-fenilhidrazinilideno)metil]tio] de metila	52
Esquema 9. Reciclagem da 2-tioxo-1,3-tiazan-4-ona	52
Esquema 10. <i>N</i> -alquilação da tiazolidina-2,4-diona	53
Esquema 11. Derivados <i>bis</i> -tiazolidínicos	55
Esquema 12. Reações com a tiazolidina-2,4-diona	55
Esquema 13. Rota sintética geral para obtenção dos derivados LPSF-AA3 a LPSF-AA9	63
Esquema 14. Rota sintética para formação do LPSF-IP29	64
Esquema 15. Os grupos ligados aos anéis aromáticos, por efeito indutivo, retiram elétrons devido à polaridade de suas ligações (X = F, Cl ou Br)	66
Esquema 16. Grupos que, por efeito indutivo, doam elétrons para o anel (a) e seu suposto mecanismo (b)	67
Esquema 17. Suposto mecanismo da reação de ciclização da tiazolidina-2,4-diona	67
Esquema 18. Suposto mecanismo reacional de <i>N</i> -alquilação da tiazolidina-2,4-diona	68
Esquema 19. Reação de condensação de Knoevenagel	69
Esquema 20. Suposto mecanismo da reação de adição de Michael em derivados tiazolidínicos	69

Esquema 21. Relação entre a estrutura química e a eficácia dos derivados LPSF-AAs nas linhagens celulares SF-295, HCT-8 e MDA-MB435.....	102
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Acr-H	Hidrogênio Acridínico
ALL	<i>Acute Lymphoblastic Leukemia</i>
Ar-H	Hidrogênio Aromático
AML	<i>Acute Myeloid Leukemia</i>
ADA	Adenosina-desaminase
ARA-C	Arabinosídeo C
BCNU	Carmustina
CBDCA	Carboplatina
CCNU	Lomustina
CEM	Leucemia Linfocítica
Cis-DDP	Cisplatina
CML	<i>Chronic Myeloid Leukemia</i>
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CPT	Camptotecina
DACA	N-[2-(dimetil-amino)etil]-acridina-4-carboxamida
dFdc	Difurordeoxicitidina
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DTIC	Dacarbazina
EM	Espectrometria de Massa
Eq	Equivalente
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GIST	<i>Gastrointestinal Stromal Tumor</i>
GPIT	Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica
HCC	Carcinoma Hepato Cellular
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HCT-8	Carcinoma de Cólon
HL-60	Leucemia Promielocítica
HPV	<i>Human Papilloma Viruses</i>
IES	Ionização por Electrospray

INCA	Instituto Nacional de Câncer
IV	Infravermelho
LPSF	Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos
<i>m</i> -AMSA	Amsacrina ou [4'-(9acridilamino)metanosulfona]- <i>m</i> -anisidina
MDA-MB435	Melanoma
MDR	Multi-droga Resistência
MDS	<i>Multidysplastic syndrome</i>
Metil-CCNU	Semustina
MM	Modelagem Molecular
MPM	<i>Malignant Pleural Mesothelioma</i>
MTAs	<i>Microtubule-Targeting Agents</i>
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium
NEQs	Novas Entidades Químicas
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
NSCLC	<i>Non Small Cell Lung Cancer</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
P.A.	Pró-Análise
PDT	Terapia Fotodinâmica
Pgp	Glicoproteína P
PhC+	<i>Philadelphia Chromosome</i> +
PPGIT	Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica
P.S.	Para Síntese
P&D	Pesquisa & Desenvolvimento
QSAR	Relação Quantitativa Estrutura Atividade
RCC	<i>Renal Cell Carcinoma</i>
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RNA	Ácido Ribonucléico
SAR	Relação Estrutura Atividade
SF-295	Células cancerígenas do SNC
SNC	Sistema Nervoso Central
t.a.	Temperatura Ambiente
TIA	Alcalóide Indol Terpenóide
Topo I	Topoisomerase I

Topo II	Topoisomerase II
UFC	Universidade Federal do Ceará
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
6-MP	6-Mercaptopurina
6-TG	6-Tioguanina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	OBJETIVOS.....	24
2.1	Geral	24
2.2	Específicos.....	24
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	25
3.1	Química Medicinal	25
3.2	Câncer	26
3.2.1	Origem	27
3.2.2	Epidemiologia.....	30
3.3	Mercado Global do Câncer	34
3.4	A Terapêutica do Câncer	36
3.5	Enzimas Topoisomerases	38
3.5.1	Inibidores da Topoisomerase I.....	39
3.5.2	Inibidores da Topoisomerase II.....	41
3.6	Agentes Intercalantes de DNA	42
3.7	Acridina	45
3.7.1	Química da Acridina.....	46
3.8	Tiazolidina-2,4-diona	48
3.8.1	Química da Tiazolidina-2,4-diona	51
3.8.1.1	Síntese da Tiazolidina-2,4-diona.....	51
3.8.1.2	Reação de N-alkilação.....	53
3.8.1.3	Reação de Condensação	53
3.9	Modelagem Molecular	56
4	MATERIAL E MÉTODOS	57
4.1	Síntese Orgânica	57
4.1.1	Tiazolidina-2,4-diona.....	59
4.1.2	9-Metil-acridina (LPSF-AC1)	59
4.1.3	Acridina-9-carboxaldeído (LPSF-AC2)	59
4.1.4	3-Acridin-9-il-2-ciano acrilato de etila (LPSF-IP29).....	60
4.1.5	Ésteres de Cope (LPSF-IP)	60
4.1.6	3-Acridin-9-il-metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A)	61
4.1.7	3-Acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2).....	61
4.1.8	Derivados Tiazacridínicos (LPSF-AAs).....	62
4.1.9	Esquema Geral de Síntese	63
4.2	Avaliação da Atividade Biológica	64
4.3	Modelagem Molecular	66
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
5.1	Síntese Orgânica	66
5.1.1	Mecanismos Reacionais	67

5.1.2	Características Físico-Químicas	71
5.1.3	Caracterização Estrutural dos Derivados LPSF-AAs.....	72
5.1.3.1	3-Acridin-9-il--metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A).....	75
5.1.3.2	3-Acridin-9-il--metil-5-acridin-9-il--metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2)	78
5.1.3.3	3-Acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3)	81
5.1.3.4	3-Acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4)	84
5.1.3.5	3-Acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5)	87
5.1.3.6	3-Acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6).....	90
5.1.3.7	3-Acridin-9-il-metil-5-(2,4-dimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA7).....	93
5.1.3.8	3-Acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8) ...	95
5.1.3.9	3-Acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9) .	98
5.2	Avaliação da Atividade Biológica	101
5.3	Modelagem Molecular	105
5.4	Artigo: Synthesis and in vitro anticancer activity of novel thiazacridine derivatives	109
6	CONCLUSÕES.....	131
7	PERSPECTIVAS	133
	REFERÊNCIAS.....	134
	APÊNDICE A - A importância das acridinas na terapêutica anticâncer.....	149

1 INTRODUÇÃO

O câncer é o resultado do crescimento autônomo e desordenado de células e tecidos e é considerado uma das doenças de maior incidência no mundo (WHO, 2009). A quimioterapia, apesar de ser o tratamento mais empregado, traz como inconveniente o fato dos quimioterápicos não agirem exclusivamente em células neoplásicas, podendo levar a diferentes graus de toxicidade. Dessa forma, é um desafio para os profissionais de saúde a busca de moléculas mais eficazes e menos tóxicas, bem como de novas alternativas terapêuticas para o tratamento do câncer.

Os derivados de acridinas, foco de estudo deste trabalho de pesquisa, foram introduzidos na terapêutica do câncer a partir da década de 1970. Desde então, contínuas e intensas pesquisas têm esclarecido, em parte, o mecanismo de ação e os alvos biológicos desse grupo de moléculas, o que vem contribuindo para a descoberta, o planejamento, identificação e preparação de novas substâncias com propriedades antineoplásicas.

As acridinas despertam o interesse de vários pesquisadores por vários motivos. Dentre esses, merecem destaque: (i) apresentam um amplo espectro de atividades biológicas, como atividades antimicrobiana, antiviral, antimalárica, antitripanossômica, leishmanicida, antiparkinsoniana, além de suas propriedades antineoplásicas já descritas; (ii) possuem diversos alvos biológicos: capacidade de interagir com o DNA, inibem as enzimas topoisomerases e telomerase, inibem o complexo proteossômico das células; (iii) possuem outros mecanismos de ação ainda desconhecidos.

O nosso Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica (GPIT), consolidado no final da década de 80, vem produzindo diversos compostos aplicados para um largo espectro de atividades biológicas. Alguns dos resultados obtidos desde então voltados para a atividade antitumoral que merecem destaque são a produção de duas patentes de moléculas com atividade anticâncer (PITTA et al., 2002; PITTA, GALDINO e LIMA, 2006)

Neste trabalho foram desenvolvidas nove novas moléculas *bis*-acridínica e tiazacridínicas que exibiram promissores resultados para a atividade antiproliferativa *in vitro* contra as linhagens de células tumorais HL60, MDA-MB 435 e HCT-8.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- ✓ Desenvolvimento de novas moléculas para o tratamento do câncer através da síntese de moléculas *bis*-acridínica e tiazacridínicas intercalantes de DNA.

2.2 Específicos

- ✓ Síntese e determinação das características físico-químicas de novos derivados *bis*-acridínico e tiazacridínicos;
- ✓ Caracterização das estruturas químicas através de técnicas espectroscópicas no infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectrometria de massas;
- ✓ Avaliação da atividade antitumoral *in vitro* dos derivados sintetizados nas linhagens de células HL60 (leucemia promielocítica), MDA-MB 435 (melanoma) e HCT-8 (carcinoma de cólon).

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Química Medicinal

A descoberta de fármacos é considerada uma atividade complexa, multifatorial, cara, demorada, envolvendo a aplicação de técnicas e metodologias modernas, e cuja produtividade é questionada com base em dados que demonstram a relação inversamente proporcional entre os investimentos em P&D e a descoberta de Novas Entidades Químicas (NEQs) (LIMA, 2007).

As NEQs podem ser de origem sintética, semi-sintéticas ou oriundas de produtos naturais. Os fármacos de origem sintética representam significativa parcela do mercado farmacêutico. Estima-se que 80% dos fármacos encontrados no mercado são obtidos por síntese orgânica. Entretanto, apesar da alta quantidade de fármacos disponíveis na clínica, a demanda de novos medicamentos e/ou novas alternativas terapêuticas por parte da população é evidente. Desse modo, autores de diversas áreas do conhecimento empenham-se para descobrir e desenvolver novos medicamentos mais eficazes, seletivos e menos tóxicos (LIMA, 2007).

Dentre as diversas estratégias utilizadas na Química Medicinal, podemos destacar a hibridação molecular, que consiste na combinação de dois núcleos farmacoforos distintos em uma única molécula. Como podemos verificar no decorrer desta dissertação, os núcleos tiazolidínico e acridínico são bastante estudados para o combate de diversas patologias, assim como o câncer. Nesse sentido, a união destes núcleos pode ser vantajosa de modo a contribuir com a formação de moléculas anticâncer mais eficazes.

3.2 Câncer

Hipócrates, por volta do ano 400 a.C deu à moléstia o nome de karkinoma (carcinoma), palavra grega que também significa caranguejo. Esse termo foi associado à doença porque ele comparou as veias de alguns tumores de mama às pernas de um caranguejo (MORI, 2002).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas (OMS, 2009).

A multiplicação celular pode gerar mutações gênicas que podem divergir em novas células cujas alterações podem ser incompatíveis com as funções celulares normais no que diz respeito à organização estrutural e fisiológica da célula. Dentre essas mudanças, podem ocorrer alterações no programa de crescimento celular, que levam ao surgimento de grandes populações de células que não obedecem às regras de construção e manutenção de um tecido normal (WEINBERG, 2007).

Os tumores podem ser classificados como *benignos*, aqueles que não invadem os tecidos adjacentes, ou *malignos*, que se espalham nos tecidos próximos (metástases) (WEINBERG, 2007). Os vários tipos de neoplasias malignas são classificados de acordo com o tipo de célula de origem. *Carcinoma* se refere a tumores que se desenvolvem na pele ou em tecidos que recobrem os órgãos internos. *Sarcoma* acomete ossos, cartilagem, tecido adiposo, músculos e vasos sanguíneos. *Mieloma* eclode nas células do sistema imune. Tumores do Sistema Nervoso Central desenvolvem-se no cérebro e na medula espinhal. *Leucemia* refere-se a derivados malignos de diversas linhagens de células hematopoiéticas que transitam livremente pela circulação.

Os *linfomas* incluem tumores das linhagens *linfóides* (linfócitos B e T) que se agregam para formar massas tumorais sólidas, mais frequentemente encontradas nos nódulos linfáticos, em vez das colônias de células individuais dispersas observadas em leucemias.

Dentre todas as patologias, o câncer é uma das mais devastadoras, pois mesmo com o avanço da medicina e a cura para determinados tipos de câncer detectados precocemente, outros ainda não têm cura, ou ainda, as células tumorais se tornam resistentes aos fármacos disponíveis na clínica. Portanto, o tratamento contra o câncer continua sendo um desafio para todos, em especial para os profissionais da área de saúde de todo o mundo.

3.2.1 Origem

O câncer surge de uma única célula que sofreu mutação, multiplicou-se por mitoses e suas descendentes foram acumulando outras mutações até darem origem a uma célula cancerosa (LOPES et al., 2002). Portanto, a incidência destes tumores se caracteriza pela proliferação celular anormal, invasão e metástase (Figura 1), cuja denominação correta é neoplasia.

Provavelmente, todos os diferentes tipos de câncer não têm uma única causa, mas sim uma etiologia multifatorial. Para que essa doença ocorra, parece ser necessário uma operação conjunta de vários fatores, tais como a predisposição genética, a exposição a fatores ambientais de risco, o contágio por determinados vírus, o uso do cigarro, a ingestão de substâncias alimentícias cancerígenas, e muitos outros (CARVALHO, 2002).

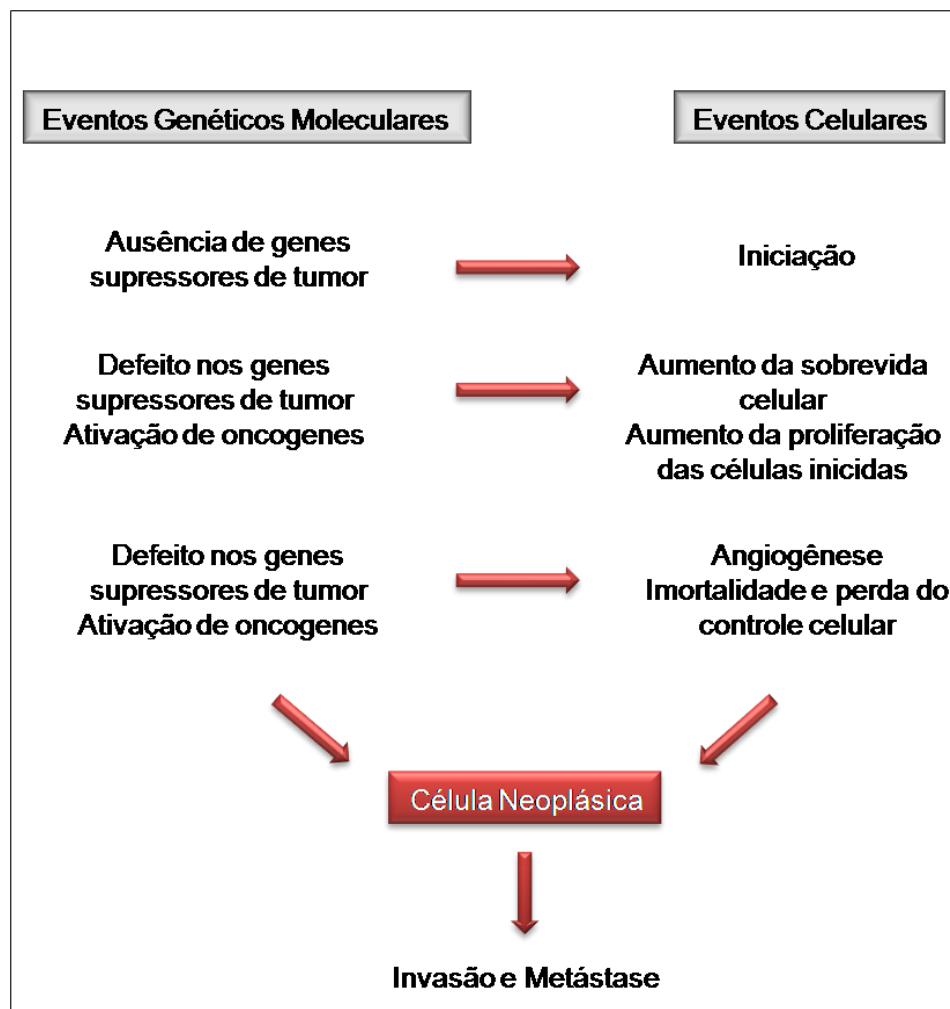


Figura 1. Eventos genéticos que geram o câncer

Nesse sentido, o câncer é resultado de uma série de acidentes genéticos que podem ocorrer ao acaso e que estão por sua vez sujeitos à seleção natural. Desse modo, não existe dois casos da mesma variedade da doença que sejam geneticamente idênticos. Além disso, uma mutação única não é suficiente para causar o câncer. Sabe-se que cerca de 10^{16} mutações celulares ocorrem em um ser humano no curso de sua vida e que mesmo na ausência de agentes mutagênicos as alterações podem ocorrer espontaneamente numa taxa estimada de 10^6 mutações por gene por divisão celular. Existem mecanismos de “segurança” reguladores de proteção, caso contrário, se uma mutação única em um gene em particular fosse suficiente para converter uma célula saudável em uma célula tumoral, não seríamos organismos viáveis (VIDEIRA et al., 2002).

Os genes que participam da formação de tumores são, principalmente, os que nas células normais estão envolvidos com o controle do ciclo celular, reparação do DNA danificado e apoptose. São os anti-oncogenes e os oncogenes. Os anti-oncogenes ou genes supressores de tumores são recessivos, isto é, o efeito cancerígeno só aparece quando eles estão ausentes ou são defeituosos nos dois cromossomos do genoma. Ao contrário, os oncogenes são dominantes, e esses codificam proteínas e promovem a multiplicação desordenada das células, que se convertem em malignas. Basta uma cópia do oncogene no genoma para causar a transformação da célula normal em célula cancerosa. Os anti-oncogenes codificam genes relacionados com o crescimento, diferenciação e proliferação celular normais. Codificam fatores de crescimento, receptores de membrana e proteínas de ligação do DNA. Como exemplo, podemos citar o gene Rb, o p53, p16, BRCA1, BRCA2, APC e VHL (LOPES, OLIVEIRA e PRADO, 2002).

Os oncogenes são proto-oncogenes ativados, que codificam produtos que super estimulam a proliferação celular, levando a célula a perder o controle sobre o ciclo mitótico. Sua ativação é desencadeada através de alterações genéticas: translocações e inversões, deleções, amplificações, mutações pontiformes e inserção de DNA viral. Essas alterações genéticas podem gerar as seguintes desordens celulares: aumento da transcrição de fatores de crescimento e de seus respectivos receptores de membrana, aumento da transdução de sinais e aumento do estímulo para a transcrição de genes (Figura 2) (LOPES, OLIVEIRA e PRADO, 2002).

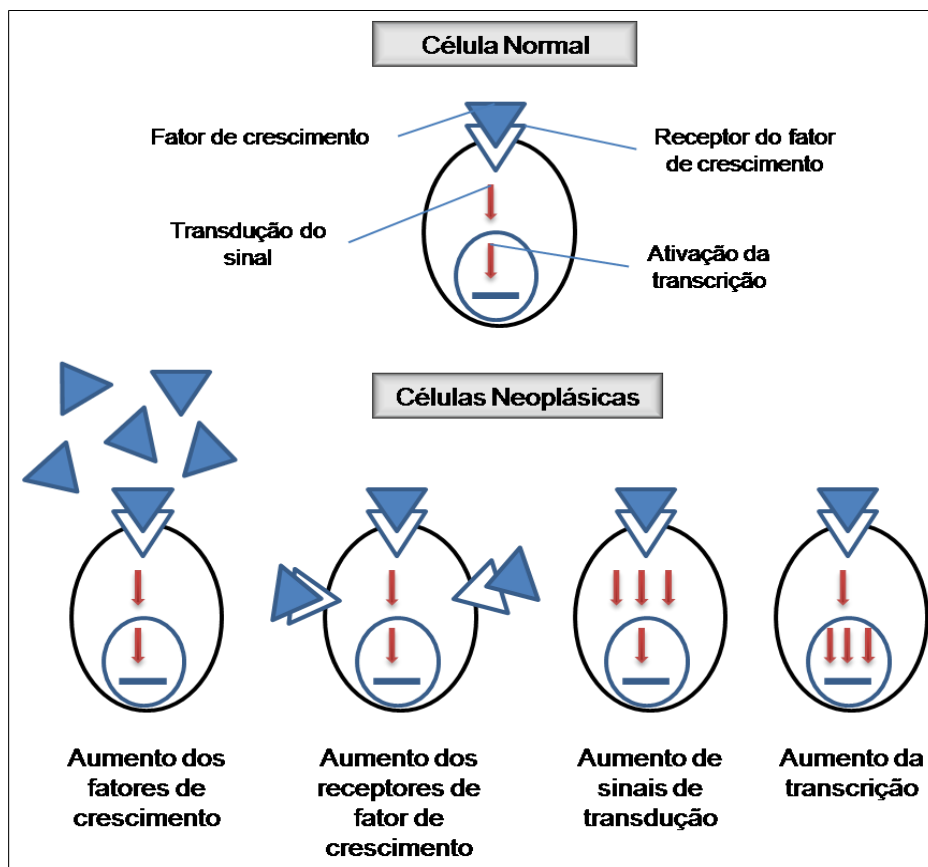


Figura 2. Alguns fatores que induzem a desordem do ciclo celular

3.2.2 Epidemiologia

O câncer lidera as causas de morte do mundo. Das 58 milhões de morte em 2005, 7,6 milhões (13%) foram causadas pelo câncer. Os cinco tipos mais comuns de câncer que matam anualmente as pessoas são: câncer de pulmão (1,3 milhões de mortes), estômago (1 milhão de mortes), fígado (662.000 mil mortes), cólon (655.000 mil mortes) e mama (502.000 mil mortes). E ainda, mais de 70% destas mortes acometem países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, onde os recursos disponíveis para prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer são limitados ou inexistentes. E ainda, projeções apontam que as mortes devido ao câncer tendem a aumentar: 9 milhões, em 2015, e 11,4 milhões, em 2030 (WHO, 2009).

No Brasil, em 2005, 190.000 pessoas morreram devido ao câncer, e, em 2030, será responsável por 17,2% das mortes. No entanto, a adoção de medidas de saúde pública pelo governo e profissionais de saúde poderá reverter estes números evitando em até 33% dos casos, curando outros 33%, e assegurando condições paliativas de qualidade para os demais (WHO, 2009).

Na figura 3 podemos observar a proporção dos principais fatores responsáveis pelas mortes no Brasil em 2030, que são as doenças circulatórias, doenças transmissíveis pelo contato, danos ou injúrias corpóreas, câncer e outras doenças crônicas, como diabetes e doenças respiratórias.

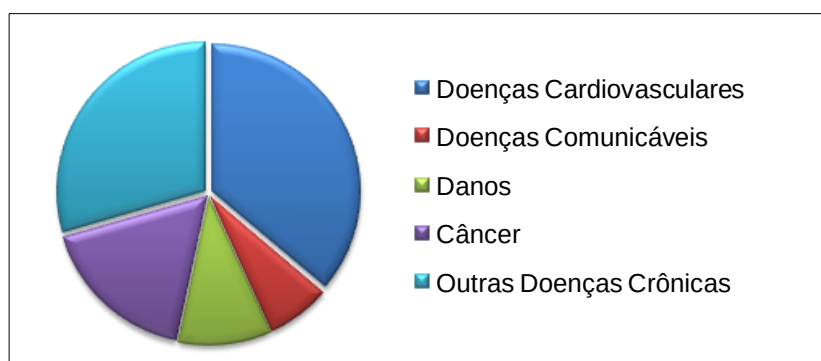


Figura 3. Causas de mortes no Brasil projetadas para 2030 (WHO, 2005)

Na figura 4 encontra-se uma estimativa do número de casos de câncer que aumentará de 46,8% nos próximos 20 anos, passando de 10,9 milhões em 2002 para 16 milhões em 2020. Os continentes mais afetados pela doença são a América do Sul, América Central, o norte da África e o leste e sul da Ásia. Nestes, há uma predominância de países subdesenvolvidos e/ou em desenvolvimento que sofrem de carência de recursos, políticas públicas e sociais necessárias para a conter a doença. Alguns países da Europa e do norte da Ásia são os menos afetados, estima-se que o número de casos aumentará cerca de 0 a 25% nos próximos 20 anos.

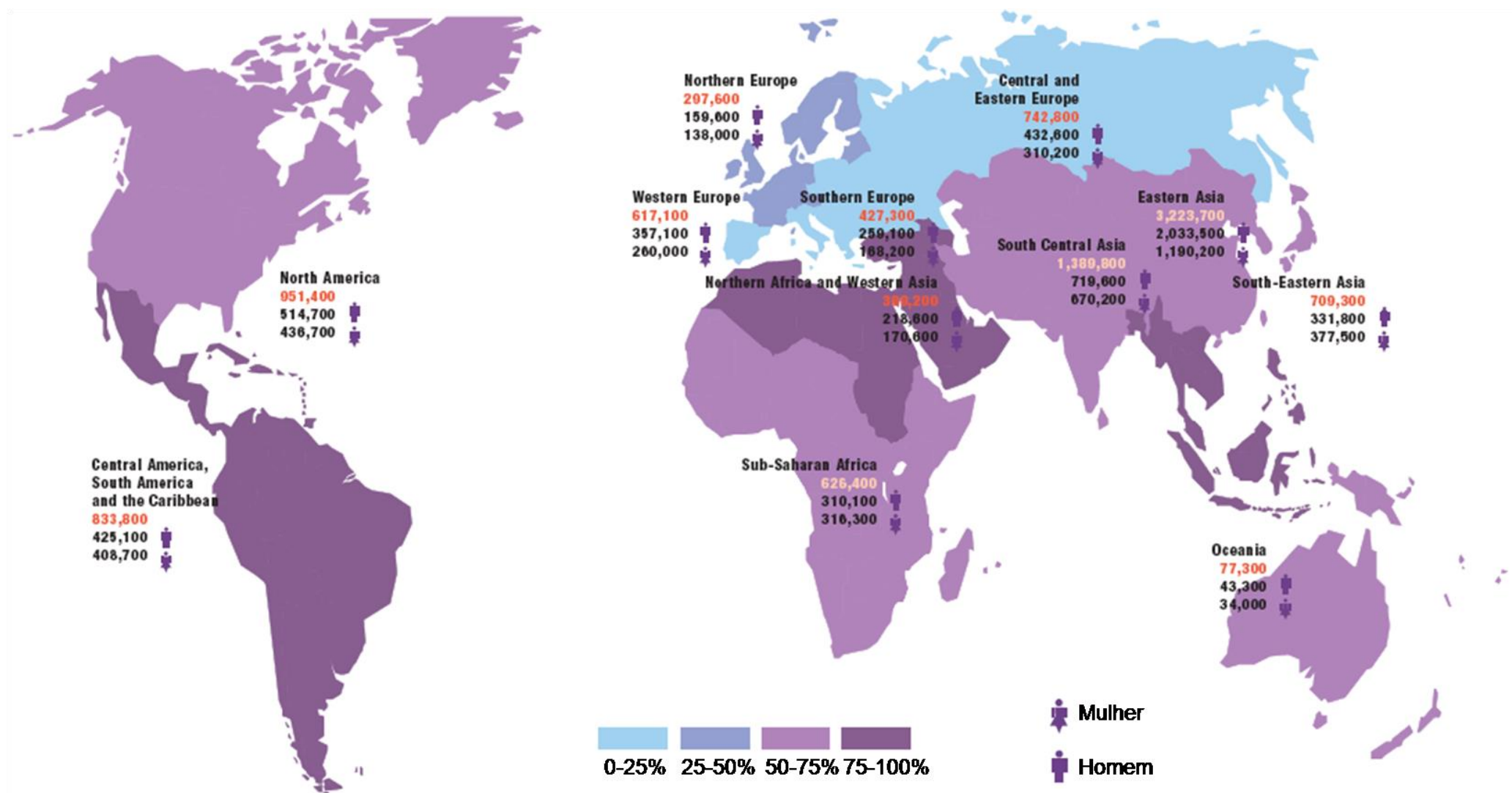


Figura 4. Número estimado de mortes causadas pelo câncer em 2020 (WHO, 2005)

Cerca de 40% dos cânceres podem ser prevenidos caso alguns princípios sejam seguidos, como: não fumar ou consumir bebidas alcoólicas, ter uma dieta saudável, fazer atividades físicas e prevenir infecções que possam causar o câncer (Hepatite B, HPV, HIV etc) (Figura 5) (WHO, 2009).

Em países desenvolvidos, a possibilidade de um diagnóstico precoce é bem maior do que nos países menos desenvolvidos, que, devido à falta de acesso da população aos serviços de saúde, o diagnóstico é feito numa fase tardia da doença onde as possibilidades de cura são menores. Portanto, é evidente a necessidade de melhores programas de prevenção e controle da doença.

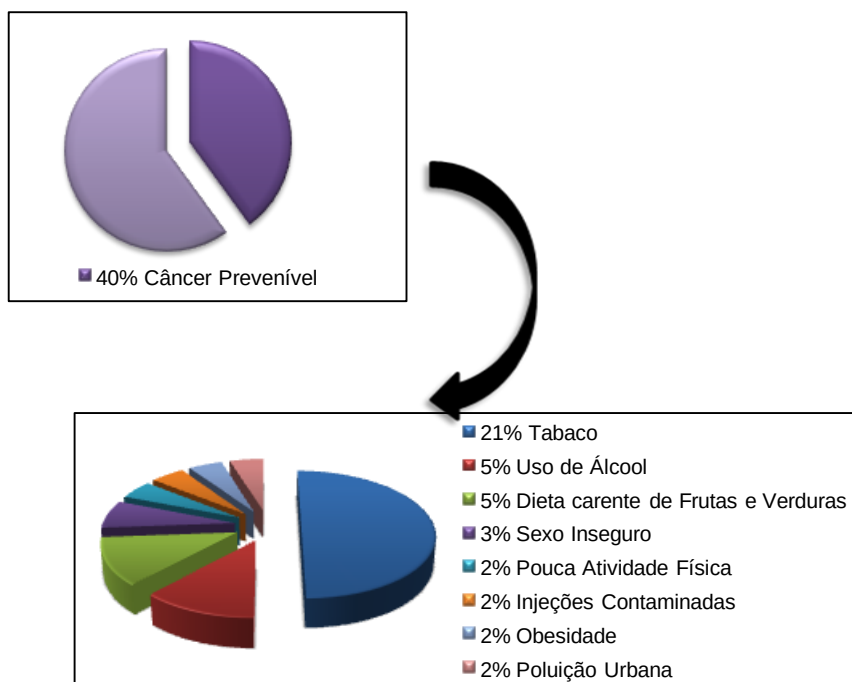


Figura 5. Proporção estimada do câncer que pode ser prevenido associado a 8 fatores de risco (WHO, 2005)

Enquanto não se descobre a cura definitiva para o câncer, vários esforços têm sido feitos para sua prevenção e controle, como pesquisas envolvendo a manipulação do sistema imunológico, terapia genética e avanço no descobrimento e desenvolvimento de novos fármacos. Estes esforços tratam de questões de saúde pública, tais como, cirurgia, radioterapia e

quimioterapia combinada, pesquisa translacional, questões a respeito de qualidade de vida e economia de saúde ou desenvolvem estudos sobre tumores raros (INCA, 2008).

Na tentativa de se desenvolver fármacos anticancerígenos mais potentes e menos tóxicos, as acridinas têm despertado o interesse de vários pesquisadores por apresentarem um amplo espectro de atividades biológicas.

3.3 Mercado Global do Câncer

De acordo com a Aarkstore Enterprise, em 2008, os medicamentos utilizados na terapêutica do câncer conferem a terceira maior fonte de lucros para a indústria farmacêutica. O mercado do câncer experimentou significativas inovações nos últimos anos, criando atraentes oportunidades para novas empresas de biotecnologia e indústrias farmacêuticas. Embora o desenvolvimento de novos produtos envolva riscos, a inovação é o eixo diretor no mercado, de modo que levou a exclusão competitiva de várias indústrias tradicionais. Considerando a rapidez do lançamento de novos produtos utilizados em múltiplas indicações, o conseqüente aumento das vendas está mudando rapidamente o cenário competitivo do mercado do câncer (Aarkstore Enterprise, 2008).

O custo econômico global do câncer é assustador. O Instituto Nacional de Saúde (NIH) estimou que, em 2006, dos \$206,3 bilhões gastos nos USA com o câncer, \$78,2 bilhões foram diretamente com medicamentos. Ainda, a WHO prevê que de 2005 a 2020 haverá um aumento de 50% nos casos de câncer. Estes surpreendentes números indicam a importância de terapias eficazes para o tratamento desta epidemia. Hoje, ainda necessita-se de terapias mais seletivas às células cancerígenas que aumentem a estimativa de vida dos doentes e que forneçam aos pacientes com metástase melhores opções de tratamento (WHO, 2009).

Os medicamentos citotóxicos foram responsáveis por mais da metade do mercado global do câncer em 2006, contando com 48 bilhões (SADLER, 2009). Os três medicamentos que lideram o mercado são todos anticorpos monoclonais: Rituxan®, Herceptin® e Avastin®. Todos os medicamentos listados na tabela 1 tiveram uma venda de \$2 bilhões ou mais. O número de blockbusters anticâncer, com venda anual de \$1 bilhão ou mais, cresceu de 19, em 2007, para 24, em 2008. Ainda, nos últimos dois anos, a terapia anticâncer se tornou o terceiro maior mercado depois da cardiovascular (\$95 bilhões) e do sistema nervoso central (\$87 bilhões) (KNOLS, 2010).

Tabela 1. Venda de medicamentos anticâncer em 2006, 2007 e 2008 (KNOLS, 2010)

Nome Genérico	Nome Comercial	Indústria Farmacêutica	Indicações	Vendas \$ bilhões		
				2006	2007	2008
Rituximab	Rituxan®	Roche	NHL, RA	4.7	5.01	5.6
Trastuzumab	Herceptin®	Roche	Câncer de Mama	3.1 4	4.4	4.8
Bevacizumab	Avastin®	Roche	Câncer de Cólon	2.4	3.93	4.7
Imatinib	Gleevec® Glivec®	Novartis	CML, GIST Leucemia Mielóide Crônica, GI Stromal Tumors	2.5	3.1	3.4
Darbepoetin	Aranesp®	Amgen	Anemia	4.1	4.2	3.3
Docetaxel	Taxotere®	Sanofi Aventis	Câncer de Mama, Pulmão, Próstata, Estômago	2.2	2.6	3.2
G-CSF	Neulasta®	Amgen	Neutropenia	2.6	2.7	3.2
Human Papilloma Virus	Gardasil®	Merck	Câncer Cervical	–	1.5	3.0
Erythropoietin	Procrit® Eprex®	J&J	Anemia	3.2	2.9	2.3
Erythropoietin	Epogen®	Amgen	Anemia	2.5	2.6	2.3
Anastrozole	Arimidex®	Astra Zeneca	Câncer de Mama	1.5	1.7	2.0
Cetuximab	Erbitux®	BMS, Merck AG	Câncer de Cólon, Cabeça e Pescoço	1.1	1.35	2.0

Roche e Genentech são as indústrias farmacêuticas que lideram o mercado por venda e P&D. Outras que merecem destaque são: Amgen, Novartis, Astra Zeneca, BMS e Pfizer. O FDA aprovou quatro novas drogas anticâncer em 2006, cinco em 2007 e duas em 2008: Sancuso da ProStreaken, utilizada para náuseas e vômitos, e Treanda da Cephalon, indicada para o tratamento da leucemia linfocítica crônica (KNOLS, 2010).

Tabela 2. Blockbusters anticâncer e novos medicamentos aprovados em 2007 (KNOLS, 2010)

Nome Genérico	Nome Comercial	Indústria Farmacêutica	Indicações	Vendas (bilhões \$) 2007
Oxaliplatin	Eloxatine®	Sanofi Aventis	Cólon	2.13
Luprolide	Lupron®	Takeda	Próstata	1.66
Gemcitabine	Gemzar®	Lilly	Câncer	1.60
Bicalutamide	Casodex®	Astra Zeneca	Próstata	1.33
Zolidronic acid	Zometa®	Novartis	Ossos	1.30
Filgrastim	Neupogen®	Amgen	Neutropenia	1.23
Goserelin	Zoladex®	Astra Zeneca	Próstata	1.10
Somatostatin	Sandostatin®	Novartis	Acromegalia	1.02
Capecitabine	Xeloda®	Roche	Câncer	1.02
Irinotecan	Camptosar®	Pfizer	Cólon	0.97
Sunitinib	Sutent®	Pfizer	RCC, GIST	–
Letrozole	Femara®	Novartis	Mama	0.93
Lenalidomide	Revlimid®	Celgene	Mieloma Múltiplo	0.77
Bortizomib	Velcade®	Takeda	Mieloma Múltiplo	–
Desatinib	Sprycel®	BMS	ALL, CML PhC+	–
Nilotinib	Tasigna®	Novartis	CML PhC+	–
Pemetrexed	Alimta®	Lilly	NSCLC, MPM	–
Panitumumab	Vectibix®	Amgen	Cólon	–
Ixabepilone	Ixempra®	BMS	Mama	–
Azacitabine	Vidaza®	Celgene	Anemia, MDS, AML	–
Sorafenib	Nexavar®	Bayer/Onyx	RCC, HCC	–

3.4A Terapêutica do Câncer

No tratamento clínico do câncer são utilizadas substâncias capazes de exterminar ou impedir o crescimento tumoral. O tratamento propriamente dito do câncer pode ser feito pela cirurgia, transplante de medula óssea, radioterapia, terapia fotodinâmica (BELMONT e DORANGE, 2008), imunoterapia, hormonioterapia ou quimioterapia, utilizada forma isolada ou combinada, dependendo do tipo celular do órgão de origem e do grau de invasão do tumor.

A quimioterapia, método mais utilizado, é baseada no uso de quimioterápicos. O primeiro quimioterápico antineoplásico foi desenvolvido a partir do gás mostarda, usado nas 1ª e 2ª Guerras Mundiais como arma química. O fator que limita a utilização destes agentes é a multi-droga resistência. Entretanto, é possível reverter o mecanismo de resistência a partir

do uso de compostos que inativem a glicoproteína 170-P (SANTOS et al., 2007).

Os agentes antineoplásicos mais empregados no tratamento do câncer (Figura 6) são: agentes antimetabólitos, agentes túbulo-afins, inibidores da topo I, Inibidores da topo II, análogos das purinas, análogos das pirimidinas, agentes alquilantes, inibidores da RNA-polimerase, agentes intercalantes, inibidores da síntese de proteínas e agentes cindidores de DNA.

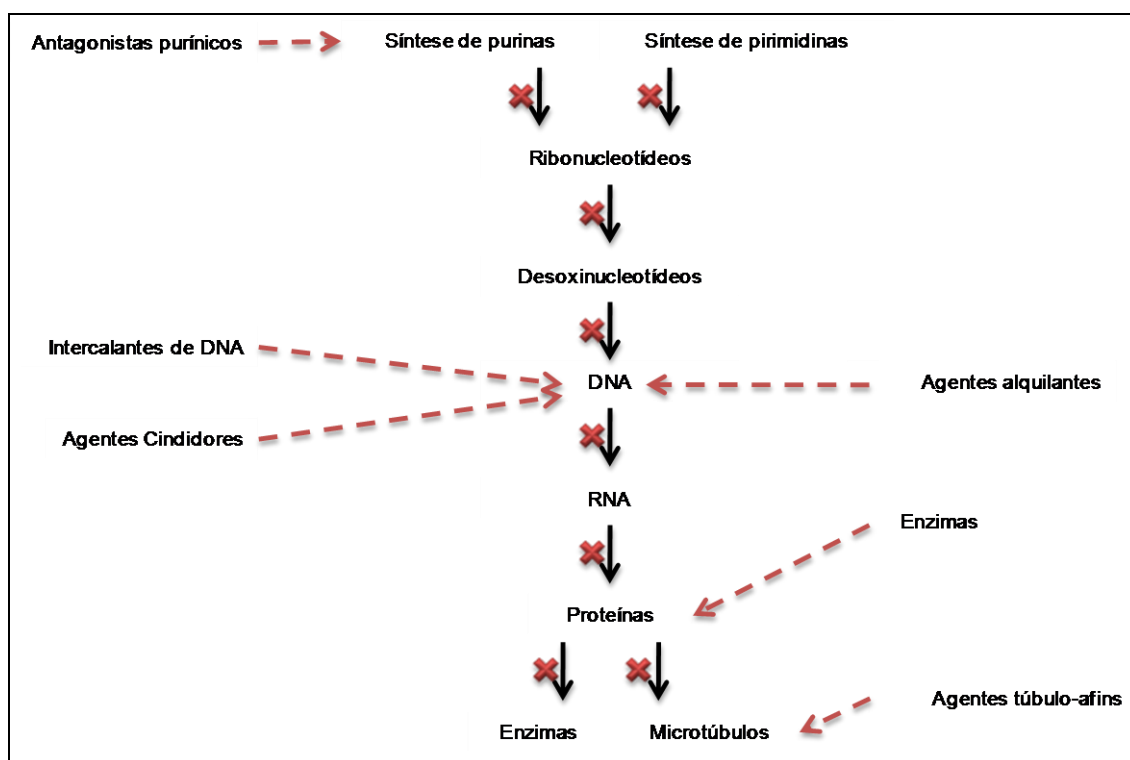


Figura 6. Classificação dos agentes antineoplásicos

A eficácia dos fármacos antineoplásicos varia de acordo com o tipo de câncer, com as condições fisiológicas do paciente e com grau ou estágio em que se encontra o tumor. Muitas das drogas quimioterápicas interferem em algum ponto da divisão celular, ou seja, desde a síntese das bases purínicas e pirimidínicas até a síntese de proteínas. A 6-mercaptopurina inibe a biossíntese do anel purina impedindo a síntese dos ribonucleotídeos; a hidroxiuréia inibe a ribonucleotídeo redutase interferindo na síntese do DNA; a citarabina inibe a síntese do DNA; a bleomicina, etoposida e tenoposida danificam o DNA e impedem sua reparação; a dactinomicina e daunorrubicina intercalam o DNA e

inibem a síntese de RNA; a L-asparaginase inibe a síntese de proteínas (GOODMAN e GILMAN, 2003).

Os principais mecanismos de ação de acridinas é a intercalação ao DNA e o bloqueio das enzimas topoisomerases I e II. A tabela 3 apresenta os fármacos antineoplásicos disponíveis no comércio inibidores da enzima topo I (rinotecana, topotecana) e da topo II (etoposida, teniposida, doxorubicina, daunorubicina, idarubicina, mitoxantrona) (HANDE, 1998).

Tabela 3. Propriedades das topoisomerases I e II de eucariotos

Topoisomerase I	Topoisomerase II
Relaxamento positivo e negativo do supercolóide	Relaxamento positivo e negativo do supercolóide
Ausência de atividade no supercolóide	Ausência de atividade no supercolóide
Ligação covalente à terminação 3' do DNA	Ligação covalente à terminação 5' do DNA
Estímulo de íons metálicos divalentes, mas não essencial	Requer ATP e íons metálicos divalentes
	"Catenates/decatenates"
–	"Knots/unknotted"

3.5 Enzimas Topoisomerases

As topoisomerases (topo) são enzimas nucleares essenciais que modificam a topologia (ou conformação) do DNA. Duas formas principais das topoisomerases estão presentes em todas as células: a enzima topoisomerase I (topo I), que faz cortes em umas das fitas do DNA, e a topoisomerase II (topo II), que corta a dupla fita do DNA. A topo II é o alvo de vários agentes antitumorais das mais diversas classes químicas, inclusive dos derivados das acridinas (CORBETT et al., 1993). O interesse nas topoisomerases cresceu quando descobriram que a leucemia linfoblástica crônica e vários tipos de linfomas apresentam níveis superiores desta enzima em relação aos tecidos normais (POTMESIL, 1988).

A topo I foi descrita pela primeira vez em 1971 e a topo II em 1976 (GELLERT et al., 1976). Estas enzimas são essenciais para a célula por causa da natureza da estrutura da dupla hélice do DNA, que apesar de ser normalmente complexada na forma de cromatina, pode ocasionar problemas devido ao super enrolamento da fita, quando o DNA está sendo processado. A topo I cataliza modificações no número de ligações ao DNA (o número de vezes que uma fita da dupla hélice do DNA cruza a outra fita) pela quebra e religação das ligações fosfodiésteres (modificam o grau de enrolamento da fita) (CUMMINGS e SMYTH, 1993)

A topo I está envolvida com a expressão gênica (transcrição) e com a replicação do DNA. Participa dos complexos de transcrição e de replicação, relaxando o DNA e permitindo que a dupla hélice gire sobre si mesma (CUMMINGS e SMYTH, 1993).

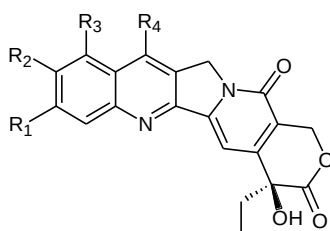
Existem pelo menos duas isoenzimas topo II em vertebrados (exceto em eucariotos inferiores): a forma α (170 kDa) e a β (180 kDa). As funções biológicas básicas da topo II são: segregação dos cromossomos filhos, construção estrutural do cromossomo, replicação do DNA, transcrição genética e recombinação do DNA (WANG, 1985).

3.5.1 Inibidores da Topoisomerase I

A camptotecina (CPT) (**1**, Esquema 1) é um alcalóide indol terpenóide (TIA) produzido por algumas angiospermas. Wall e Wani (1966) isolaram a CPT da árvore chinesa *Camptotheca acuminata*. A CPT exhibe suas propriedades anticâncer por interagir de modo específico com a topo I, cuja função é reduzir a tensão de torção do DNA, causando ruptura reversível de uma das cadeias. A CPT não é um agente intercalante de DNA. Acredita-se que a CPT só se liga ao DNA depois que o mesmo tenha sido quebrado pela topoisomerase (CUMMINGS e SMYTH, 1993; SIRIKANTARAMAS et al., 2007).

O topotecano (Hycamptin®) (2), derivado semi-sintético da camptotecina, une-se ao complexo formado pela topo I e o DNA, o que favorece a ruptura das duas cadeias. Ele é indicado para o tratamento do câncer de ovário e de pulmão. Recentemente cristalizou-se a estrutura da topo I em um complexo ternário com o DNA e o topotecano, o que fornece informações valiosas para o desenho de novas estruturas mais eficazes que os derivados protótipos. (SIRIKANTARAMAS et al., 2007).

O irinotecano (3) (Camptosar®) e seu metabólito ativo, o SN-38, também se unem ao complexo DNA-topo I impedindo a ruptura do DNA. É indicado para o tratamento de câncer de cólon. Rubitecano (4) (Oratecin®) ainda não foi aprovado pela FDA e atualmente está sendo desenvolvido na fase II para o tratamento de câncer de pâncreas e de outros tumores sólidos. Lurtotecano (5) também está sendo investigado na fase II para o tratamento de câncer de mama, cólon e pulmão (SIRIKANTARAMAS et al., 2007).

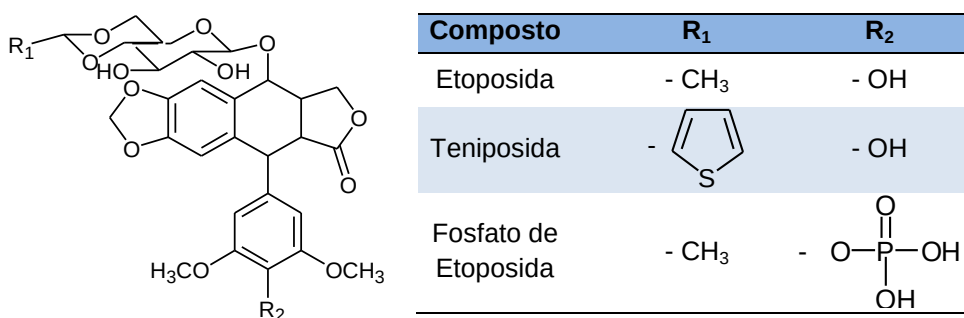


R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Fármaco
H	H	H	H	Camptotecina (1)
H	OH	CH ₂ N(CH ₃) ₂	H	Topotecano (2)
H		C ₂ H ₅	H	Irinotecano (3)
H	H	NO ₂	H	Rubitecano (4)
(R ₁)			H	Lurtotecano (5)
H ₂ C=NOC(CH ₃)	H	H	H	Gimatecano (6)
F	CH ₃			Exatecano (7)

Esquema 1. Derivados da Camptotecina disponíveis no comércio e de alguns que estão sendo desenvolvidos em pesquisas clínicas

3.5.2 Inibidores da Topoisomerase II

Em 1950, cientistas começaram as buscas por derivados da podofilotoxina mais eficazes. Estes esforços resultaram no desenvolvimento de uma nova classe de antineoplásicos cujo alvo é a topo II. Etoposida (Esquema 2) foi a primeira droga antitumoral reconhecida como inibidor da topo II. A etoposida e outros inibidores da topo II não matam a célula por bloquear a função catalítica da topoisomerase. Eles aumentam a estabilidade das ligações covalentes do complexo com o DNA. Esta ação converte as topoisomerases em toxinas fisiológicas que induzem um aumento nos níveis de proteínas transientes associadas à quebra no genoma de células tratadas (HANDE, 1998; LIU, 1989).



Esquema 2. Etoposida, teniposida e fosfato de etoposida (HANDE, 1998)

Algumas das classes estabelecidas como inibidores da topo II são: antraciclinas (principal droga - doxorrubicina); antracenedionas (mitoxantrona); antrapirazoles (biantrazole); actinomicina (actinomicina D, inibidor da topo I e II); acridinas (*m*-AMSA); ellipticinas (9-hidroxi-ellipticina); e epipodofilotoxinas (VP-16 e VM-26) (CUMMINGS e SMYTH, 1993).

Na tabela 4 podemos observar alguns fármacos antineoplásicos inibidores da topoisomerase II aprovados pela FDA e suas indicações terapêuticas.

Tabela 4. Agentes antineoplásicos inibidores da topoisomerase II aprovados pela FDA

Fármaco	Nome Comercial	Indicações Terapêuticas
Doxorubicina	Adriamycin®	Linfomas*
	Rubex®	Câncer de Mama*
	Doxil®	Sarcomas*
		Sarcoma de Kaposi Leucemia
Daunorubicina	Cerubidina®	Leucemia Mielóide aguda* Leucemia Linfocítica aguda
Idarubicina	Idamycin®	Leucemia mielóide aguda
Mitoxantrona	Novantrona®	Leucemia aguda Câncer de Mama Linfomas
Etoposida	VePesid®	Câncer de Testículo*
	Etopophos®	Câncer de Pulmão*
		Linfomas
		Sarcoma de Ewing
		Sarcoma de Kaposi Câncer de Ovário
Teniposida	Vumon®	Leucemia Llinfocítica*

*Droga de primeira escolha para o tratamento da doença

3.6 Agentes Intercalantes de DNA

O desenvolvimento de pequenas moléculas capazes de interagir com o DNA nuclear em uma sequência específica desempenha um papel importante na quimioterapia. O recente desenvolvimento de moléculas direcionadas ao DNA inclui agentes que se ligam a sequências específicas de genes promotores ou a sequências específicas de bases nitrogenadas, bem como aos complexos entre o DNA e enzimas nucleares. Todos esses mecanismos de dano relatados interferem com a integridade estrutural e funcional do genoma e podem alterar ou perturbar os processos vitais para a progressão do ciclo celular e, por fim, promovendo a morte da célula cancerosa (GUDDNEPPANAVAR et al., 2006).

Os intercalantes são moléculas que se inserem perpendicularmente no DNA sem formar ligações covalentes. São reconhecidas apenas as forças que mantêm a estabilidade do complexo DNA-intercalante: interações de van der

Waals, ligações de hidrogênio, hidrofóbicas e/ou forças de transferência de carga. A interação dos orbitais de fronteira também foi sugerida. Isso significa que esse processo tem a possibilidade de ser revertida, e, como consequência, deve ter um equilíbrio constante. Tem sido argumentado que o grupo amino na posição 9 é uma importante região para o reconhecimento no DNA, devido à sua capacidade de formar ligações de hidrogênio. Experimentos em que uma inosina foi substituída por uma guanina indicaram a pertinência deste grupo. No entanto, muitos intercalantes reconhecem especificamente as bases AT, o que indica que há outros fatores além das ligações de hidrogênio a considerar (BELMONT et al., 1999; MARTÍNEZ e CHACÓN-GARCÍA, 2005)

Os derivados de acridinas são compostos heterodímeros que interagem em locais apúricos/apirimídicos do DNA, e constituem uma atraente ferramenta para potencializar a ação de agentes anticancerígenos conhecidos. Essas moléculas são compostas de três unidades: (1) uma intercalante para se ligar ao DNA, (2) uma base de ácido nucléico para o reconhecimento abásico do DNA, e (3) um ligador de poliamino que é capaz de estabilizar o complexo fármaco-DNA através de interações eletrostáticas com o esqueleto de fosfato (BELMONT et al., 1999).

A doxorubicina (adriamicina®) (Figura 7) é o precursor dos antibióticos antraciclinas e é utilizada no combate do câncer de mama. Apesar de estes compostos serem potentes intercalantes de DNA, esta propriedade está pouco relacionada com a atividade anticâncer (MARTÍNEZ e CHACÓN-GARCÍA, 2005).

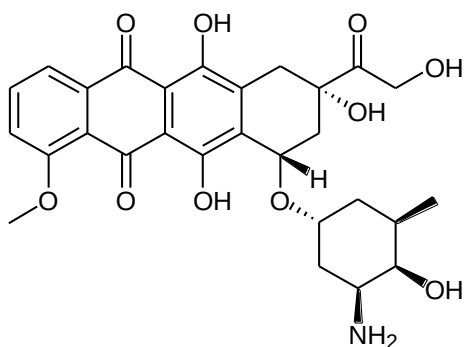


Figura 7. Doxorubicina

Já a mitoxantrona, e outros derivados da antracenodiona, são intercalantes de DNA que também são capazes de inibir a topo II (DE ISABELLA et al., 1993).

Os alcalóides pentacíclicos, por sua vez, são produtos naturais muito interessantes devido às suas propriedades citotóxicas. Em 1994, sete alcalóides derivados da piridoacridina – dehidrokuanoniamina B (**a**, Figura 8), shermilamina C (**b**), cistoditin J (**c**), cistoditin A (**d**), kuanoniamina D (**e**), shermilamina B (**f**), e eilatina (**g**) – foram isoladas de um *Fijiano ascidian* (Cystodytes SP) (MCDONALD et al., 1994). Estes compostos exibiram um perfil dose dependente com relação à inibição da proliferação de células humanas de carcinoma de cólon.

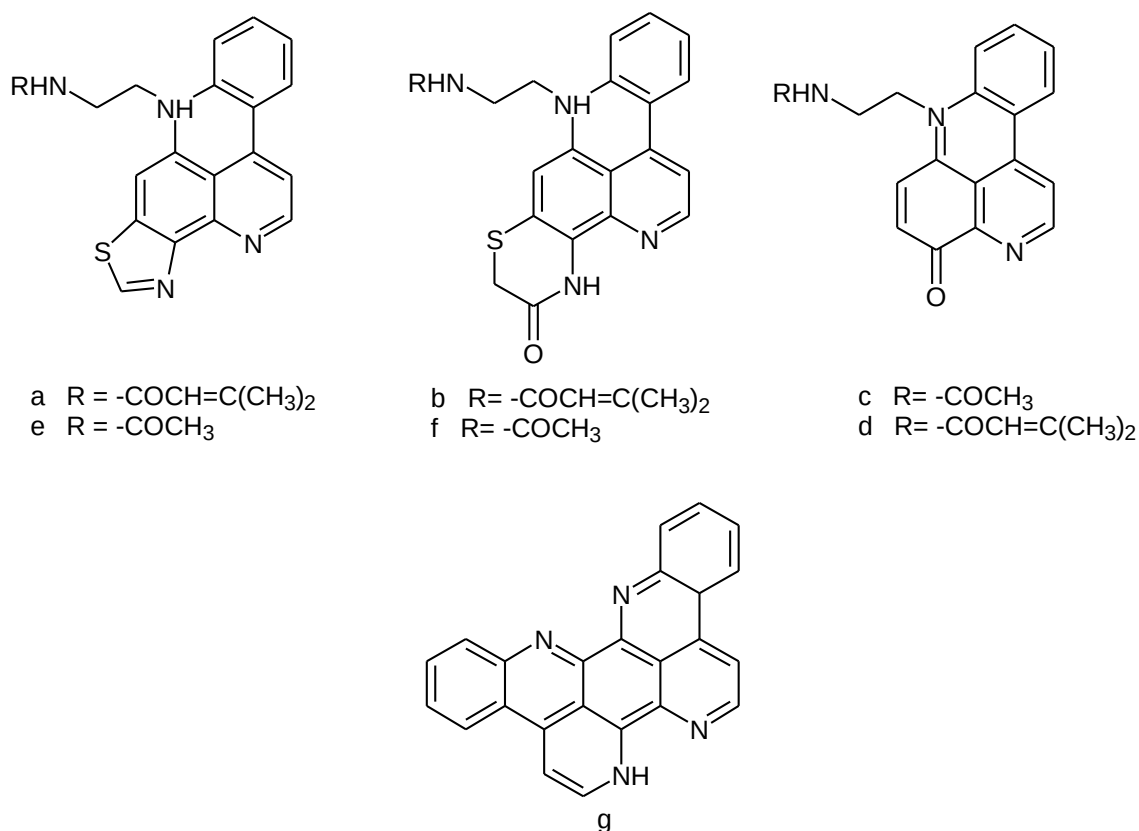


Figura 8. Alcalóides pentacíclicos (**a-f**) e eilatina (**g**)

Denny e colaboradores, em 1985, verificaram que *bis*-acridinas policatiônicas são inativas *in vivo*, possivelmente devido a uma pobre distribuição de cargas. Por sua vez, as *bis*-acridinas ligadas por uma cadeia pirazólica, com uma ligação suficientemente rígida e polar para conferir

desejável ligação ao DNA, têm boa solubilidade em água e são biologicamente ativas.

3.7 Acridina

Diversas substâncias sintéticas são obtidas a partir de derivações de anéis heterocíclicos, dentre as quais, destaca-se a acridina (Figura 9) devido à sua potencialidade como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos.

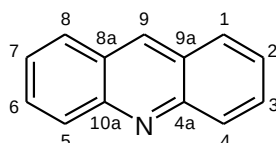


Figura 9. Acridina

Os derivados acridínicos são conhecidos por apresentarem um amplo espectro de atividades biológicas, como, além da atividade anticâncer, atividades antimicrobiana, antimalárica, antialzheimer, antitripanossômica (BONSE et al., 1999), leishmanicida (GIRAULT et al., 2000).

Os derivados da acridina foram inicialmente desenvolvidos como pigmentos e corantes no final do Século 19 e, durante a 1ª Guerra Mundial, suas propriedades farmacológicas foram avaliadas. O interesse medicinal data de 1888, mas apenas em 1913 estes compostos começaram a ser usados na prática médica quando Browning descobriu a ação bactericida da proflavina c e da acriflavina b (Figura 10) (ALBERT, 1966). Em 1930 foi descoberta a mepacrina, o primeiro antimalárico sintético concorrente da quinina em atividade, fato que impulsionou o ritmo das investigações científicas. A atividade anticâncer foi considerada pela primeira vez em 1920. A partir de então, vários compostos, alcalóides naturais ou moléculas sintéticas, foram testados como agentes antitumorais (DEMEUNYNCK et al., 2001). A amsacrina (Figura 10) é um derivado da aminoacridina. É um potente agente intercalante antineoplásico efetiva no tratamento de leucemia aguda e de linfomas malignos, mas é pouco ativa contra tumores sólidos (GRAZIANO et al., 1996).

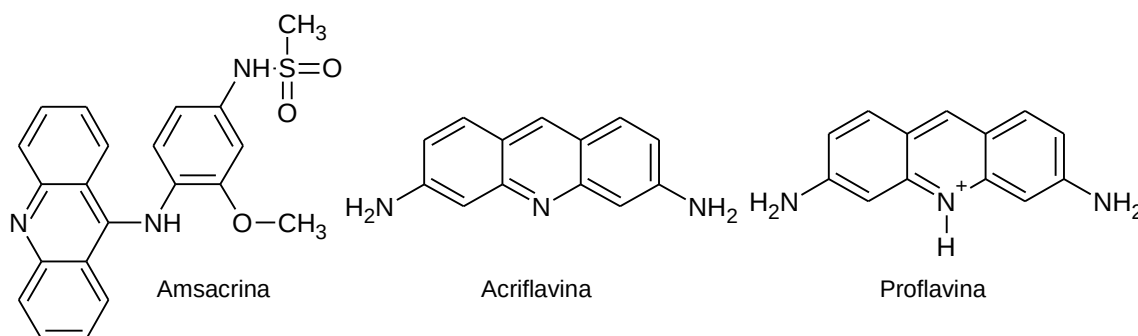


Figura 10. Derivados de acridina

As propriedades mutagênicas dos compostos acridínicos dependem de sua habilidade de inibir a síntese de ácidos nucleicos pelo bloqueio da ação das enzimas topo I e II (SURDON et al., 2001). Estudos com diferentes classes de agentes intercalantes de DNA comprovaram que a atividade antineoplásica está associada com a alta afinidade de ligação ao DNA, a baixa taxa de dissociação fármaco-DNA e também ao longo tempo de permanência da substância em um sítio de ligação individual do DNA (DENNY et al., 1985).

Augustus e colaboradores, em 2003, prepararam complexos de *bis*-(acridina)platina II (Figura 11) (114). Os conjugados com carga 4^+ associaram-se fortemente a dupla hélice do DNA, provavelmente por *bis*-intercalação.

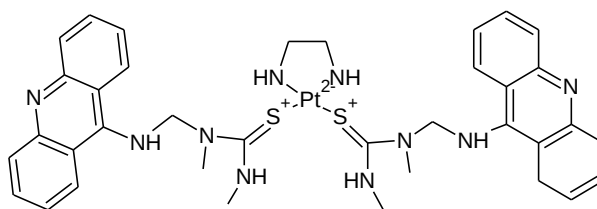


Figura 11. Complexos de *bis*(acridiniltiouréia)platina II

3.7.1 Química da Acridina

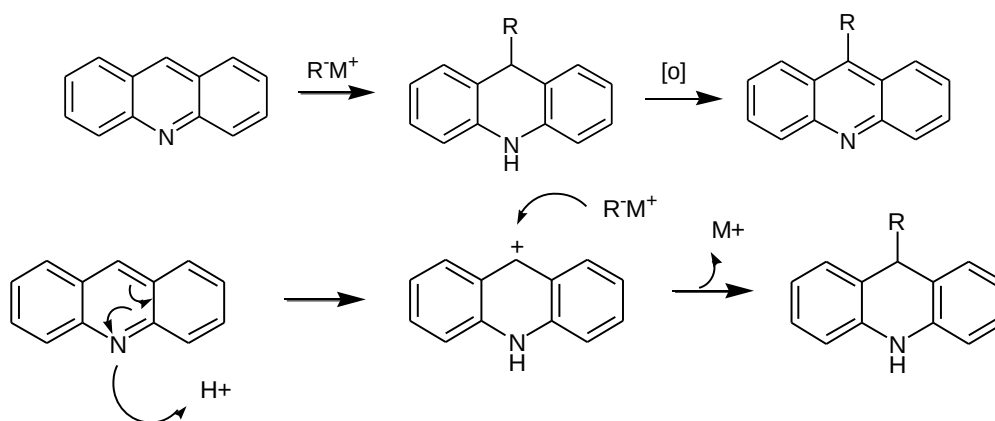
A reatividade de acridinas foi revisada por Albert (1966), Acheson (1973) e Chiron (2004).

O nitrogênio do anel central da acridina é a posição mais nucleofílica da molécula, o que facilita as reações de *N*-alquilação. A *N*-alquilação mais

descrita é a *N*-metilação, que pode ser realizada por vários agentes metilantes, como iodeto de metila e dimetilsulfato, resultando nos sais *N*-metilados correspondentes. Outros derivados halogenoalquilados também alquilam os derivados de acridina em seu nitrogênio. Além disso, a acridina é uma base fraca (pK_a 5,74 à 25 °C) podendo ser facilmente protonada resultando no sal acridinium em meio extremamente ácido (CHIRON, 2004).

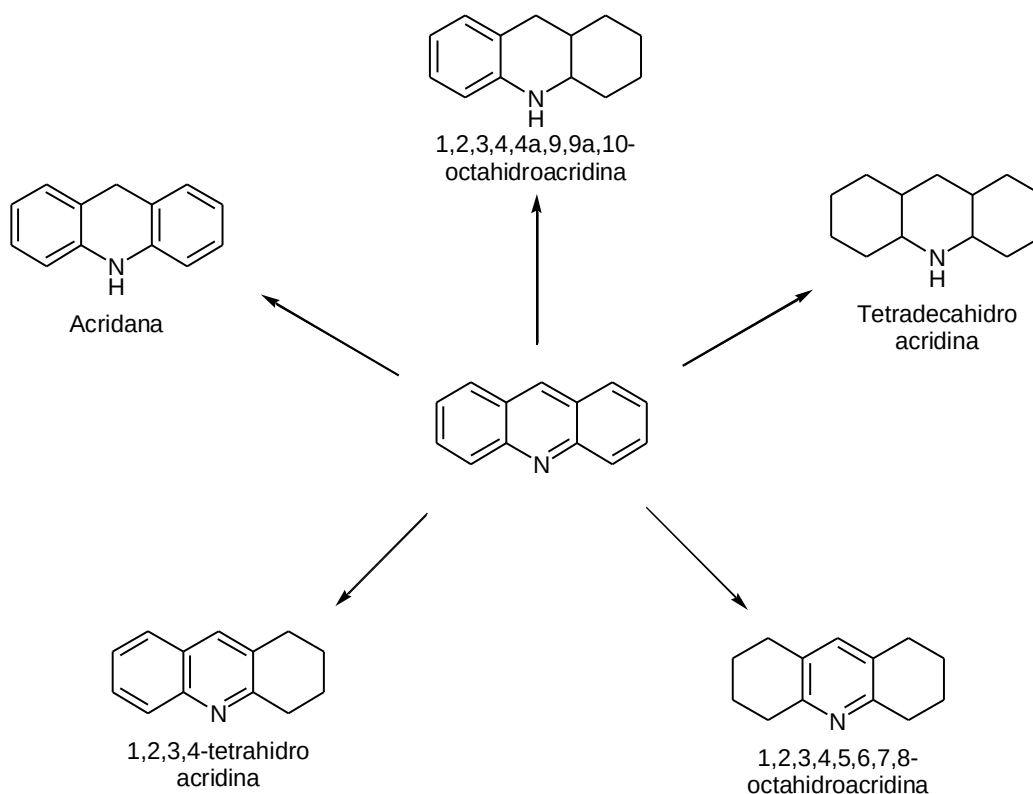
Em relação aos aza-heterociclos, a *N*-oxidação é fácil de ser executada utilizando-se agentes oxidantes, como peróxido de hidrogênio, ácidos perbenzóicos, MCPBA ou oxaziridinas perfluoradas.

Skonieczny, em 1977, observou que a posição 9 da acridina é particularmente eletrofílica devido à presença do nitrogênio na posição *para* do anel central. Dessa forma, agentes nucleofílicos reagem facilmente nesta posição, conduzindo à formação da acridana ou à rearomatização da acridina dependendo da estabilidade da acridana e das condições experimentais (Esquema 3). Conseqüentemente, a alquilação na posição 9 pode ser facilmente realizada utilizando-se vários agentes alquilantes nucleofílicos como: haletos de mercúrio alquilados, reagentes de Grignard, peróxidos alquilados, sais de diazônio ou compostos organolitiados. É importante lembrar que a substituição na posição 10 da acridina geralmente modifica a reatividade da posição 9.



Esquema 3. Alquilação da acridina por um agente nucleofílico

A redução das acridinas, por sua vez, foi revisada por Selby em 1973. De acordo com esta revisão, condições redutivas catalisadas por metal geralmente resultam em vários produtos reduzidos (Esquema 4). Todavia, alguns agentes redutores específicos (como sódio, amálgamo de sódio, lítio, ou hidreto de alumínio e lítio) levam à formação da acridana.



Esquema 4. Produtos de redução da acridina (CHIRON, 2004)

3.8 Tiazolidina-2,4-diona

As Tiazolidinas-2,4-dionas (TZDs) (Figura 12) são derivados da tiazolidina (anel heterocíclico de cinco membros) que possuem átomos de enxofre e nitrogênio nas posições 1 e 3, respectivamente e grupos carbonilas na posição 2 e 4.

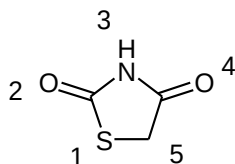


Figura 12. Numeração da tiazolidina-2,4-diona - IUPAC

Existem inúmeras moléculas biologicamente ativas com anéis de cinco membros contendo dois heteroátomos. A tiazolidina é um importante protótipo conhecida por ser associada a várias atividades biológicas: diabetes melito tipo 2 e a aterosclerose (relação com o receptor PPAR γ), antimicrobiana, anticâncer, antiviral, anticonvulsivante, antiturbecular, antifungo, anti-inflamatória, analgésica e antiproliferativa (VERMA E SARAF, 2008).

Os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs) são fatores de transcrição pertencentes à família de receptores nucleares que regulam a homeostase da glicose, metabolismo de lipídeos e inflamação. Estudos recentes sugerem que a ativação do PPAR γ pode diminuir a progressão da aterosclerose e aumentar a sensibilidade à insulina, podendo ser um potencial alvo terapêutico para o tratamento de diversas enfermidades, incluindo o diabetes melito do tipo 2 e dislipidemia, como exemplo temos a rosiglitazona e a pioglitazona (TAVARES, 2007). A importância do PPAR γ no metabolismo humano começou em 1995, quando foi identificado um receptor para a classe das TZDs, caracterizadas por aumentar a sensibilidade tecidual à insulina e por normalizar o nível de glicose no sangue (LEHMANN, 1995; LEITE, 2007). Por outro lado, tem sido relatado que os ativadores do PPAR γ induzem a diferenciação, a inibição do ciclo celular ou a apoptose (BEHARRY et al., 2009) em certos tipos de células cancerosas, o que leva a inibição do crescimento do câncer (FUJIWARA e SHIMAZAKI, 2009; SMITH e KRAFT, 2009).

A proteína quinase Pim desempenha um papel importante no desenvolvimento e na progressão do câncer (ex. tumores de próstata). Para investigar o papel destas enzimas como alvos de fármacos anticâncer, Beharry e colaboradores, em 2009, sintetizaram derivados benzilidênicos das tiazolidina-2,4-dionas (Figura 13) que atuam como potentes inibidores da

proteína quinase Pim. Presume-se que esses compostos bloqueiam a capacidade da Pim de fosforilar peptídeos e proteínas *in vitro* e, quando adicionada às células de câncer de próstata DU145 (super expressão de Pim), inibem a capacidade desta enzima de fosforilar a proteína BAD BH3. Quando adicionadas a linhagens de células de câncer de próstata de humanos PC3, DU145 e CWR22Rv1, e de células leucêmicas MV4, 11, K562 e U937, esses compostos induzem a parada do ciclo celular em G1-S e bloqueiam o efeito anti-apoptótico da proteína quinase Pim.

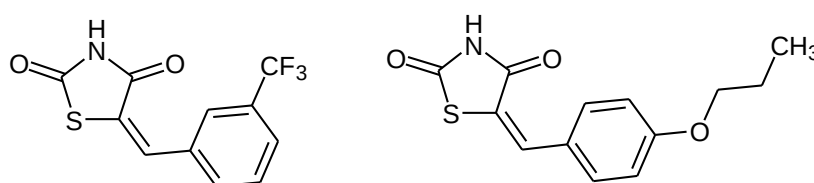
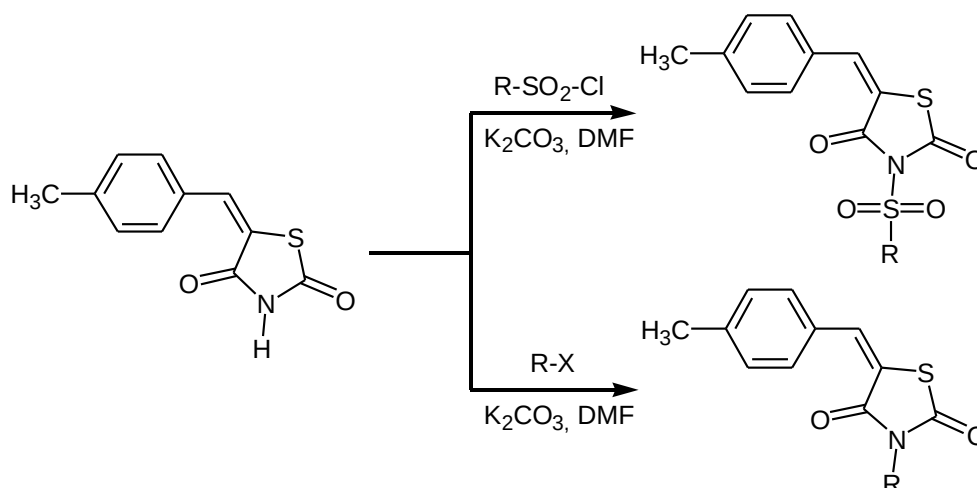


Figura 13. Derivados benzilidênicos sintetizados por Beharry e colaboradores

Em 2008, Chandrappa e colaboradores sintetizaram uma série de novos derivados da 5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona substituídos com diferentes cloretos sulfônicos aromáticos ($R-SO_2-Cl$) e haletos de alquila ($R-X$) (Esquema 5). Todos os compostos sintetizados foram avaliados quanto à sua atividade antiproliferativa pelo ensaio MTT [3-(4,5-dimetil-2-il)-2,5-difenil brometo de tetrazolium]. Os compostos sintetizados foram testados contra as linhagens de células humanas de fibroblastos da pele e contra as linhagem de células de carcinoma HeLa, ou seja, células HT-29, células MCF-7 e células HEPG-2. Os resultados obtidos confirmaram a importância do grupo nitro e os autores concluíram que a quarta posição do anel arila substituído desempenha um papel dominante e determinante da atividade antiproliferativa.



Esquema 5. Derivados da 5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona

Estes derivados da tiazolidina-2,4-diona diferem entre si pela natureza do grupo que está ligado ao núcleo da tiazolidina. Em geral, verificou-se que a presença da cadeia fenoxietil aumenta a potência do composto de origem. Nos últimos anos, surgiram inúmeros relatos da síntese de derivados das tiazolidinas contendo a cadeia fenoxietil, muitos dos quais são usados para o tratamento do câncer (MAHALLE, 2009).

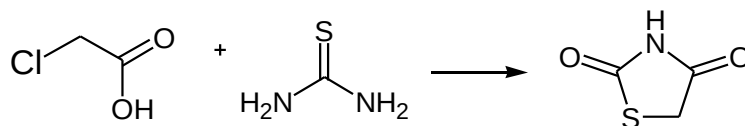
3.8.1 Química da Tiazolidina-2,4-diona

Dentre as diversas reações que envolvem o anel da tiazolidinona-2,4-diona, destacam-se os processos quimiosseletivos que ocorrem nas posições 1 (enxofre) em reações de oxidação (JOHNSON, et al., 1983); 3 (nitrogênio) em reações de *N*-alquilação (GRACIET et al., 1996) e em reações de Mannich (SINGH, et al., 1981); 4 (carbonila) em reações de tionação via reagente de Lawesson (ANDRADE et al., 2002) e 5 (carbono metilênico) em reações de condensação com aldeídos (VINICI, et al., 2006), cetonas ou com sais de diazônio.

O nitrogênio do anel tiazolidínico comporta-se como um ácido fraco em meio básico, e isto facilita a ocorrência de reações de *N*-alquilação com cloretos ou brometos de alquila. Além disso, a tiazolidina também pode ser condensada na posição 5 caso reaja com aldeídos aromáticos substituídos.

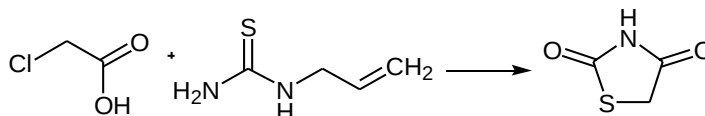
3.8.1.1 Síntese da Tiazolidina-2,4-diona

Em 1948, Libermann e colaboradores realizam uma reação de ciclização utilizando ácido monocloroacético e tiouréia em meio aquoso para a obtenção da tiazolidina-2,4-diona (Esquema 6). Já em 2006, Kumar e colaboradores desenvolvam um novo método sintético utilizando os mesmos reagentes: 15 min no microondas com a temperatura entre 0-5°C em meio aquoso levou a 83% de rendimento.



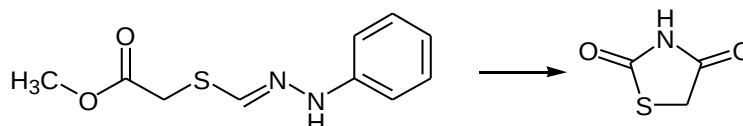
Esquema 6. Reação de ciclização da tiazolidina-2,4-diona partindo da tiouréia

Levshin e colaboradores, em 1985, também através de uma reação de ciclização, obtiveram a tiazolidina a partir do ácido monocloroacético e da *N*-2-propen-1-il--tiouréia em meio aquoso aquecido à 50°C (rendimento = 81%) (Esquema 7).



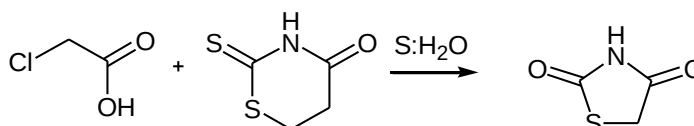
Esquema 7. Reação de ciclização da tiazolidina-2,4-diona partindo da *N*-2-propen-1-il--tiouréia

Em 2007, Matsubara e colaboradores obtiveram a tiazolidina pela reação do acetato de 2-[[[(2-fenilhidrazinilideno)metil]tio] de metila com metóxido de sódio em meio metanólico aquecido à 30°C (Esquema 8).



Esquema 8. Reação de ciclização da tiazolidina-2,4-diona partindo do acetato de 2-[[[(2-fenilhidrazinilideno)metil]tio] de metila

A reciclagem da 2-tio-1,3-tiazan-4-ona com ácido monocloroacético em meio aquoso resultou na formação da tiazolidina-2,4-diona com 89% de rendimento (Esquema 9) (ONLINSKII, 1993).

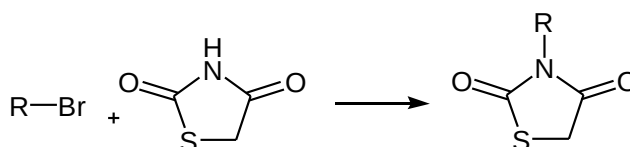


Esquema 9. Reciclagem da 2-tio-1,3-tiazan-4-ona

3.8.1.2 Reação de *N*-alquilação

A tiazolidina-2,4-diona comporta-se como um ácido fraco quando não apresenta substituição no átomo de nitrogênio e reage com haletos de alquila, substituídos ou não, em soluções alcalinas, conduzindo à formação de sais.

As reações de *N*-alquilação ocorrem através de substituições nucleofílicas de segunda ordem (S_N2), onde o hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio é suficientemente ácido para ser suprimido por ação de uma base, conduzindo à formação de um sal. O sal obtido atua como um agente nucleofílico atacando o haleto de alquila para formar a tiazolidina-2,4-diona substituída na posição 3 (Esquema 10).



Esquema 10. *N*-alquilação da tiazolidina-2,4-diona

Lo e colaboradores, em 1957, prepararam doze 3-alkil-tiazolidina-2,4-dionas, das quais oito foram obtidas pela *N*-alquilação da tiazolidina-2,4-diona com brometo de alquila. A reação foi mantida sob refluxo durante 4 horas. O solvente utilizado foi DMF, e para a formação do sal da tiazolidina, acrescentam hidróxido de potássio ao meio. Apesar de ser antiga, essa metodologia é bastante utilizada por ser simples e gerar altos rendimentos.

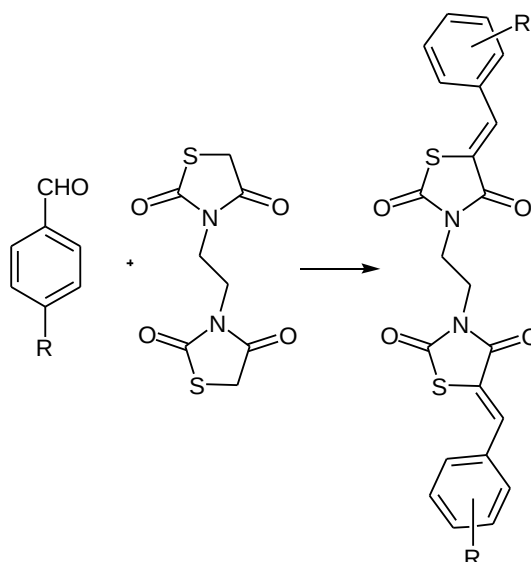
3.8.1.3 Reação de Condensação

O grupo metilênico da posição 5 da tiazolidina-2,4-diona apresenta uma reatividade característica frente a vários reagentes. Ele pode condensar com aldeídos ou cetonas em uma reação de Knoevenagel na presença de piperidina ou acetato de sódio. Esse carbono metilênico comporta-se como um nucleófilo, e as reações normalmente ocorrem com a presença de uma base, onde a tiazolidina-2,4-diona comporta-se como um ânion. A formação deste ânion é facilitada pela presença dos grupamentos carbonílicos nas posições 2

e 4. A reação de condensação ocorre geralmente em presença de solução tamponada ácido acético glacial/acetato de sódio anidro (VICINI et al., 2006), onde o acetato de sódio funciona tanto como base quanto como agente desidratante, ou alternativamente em solução piperidina/etanol (OTTANÀ et al., 2005).

A síntese de 5-arilidenos-4-tiazolidinonas, obtidos pela condensação de 4-tiazolidinonas com benzaldeídos substituídos, conduz, teoricamente, à duas configurações diastereoisoméricas *E* e *Z*. A configuração na qual os dois substituintes prioritários (enxofre e fenil) se encontram do mesmo lado é denominada *Z*; quando estes substituintes estão localizados em lados opostos é denominada *E*. A determinação da configuração dos diastereoisômeros pode ser feita através de análises espectroscópicas (RMN ^{13}C , RMN ^1H) e através de cristalografia por raios X. Otanná e colaboradores determinaram a configuração *Z* para análogos 2-imino-5-arilideno-4-tiazolidinonas verificando a influência magnética da carbonila sobre o deslocamento químico do hidrogênio metínico em RMN ^1H , que aparece como um singleto em 7,70-7,75 ppm, enquanto que para isômeros *E*, devido à menor influência magnética do átomo de enxofre, este singleto aparece com deslocamento inferior a 7,70 ppm (LIESEN et al., 2008).

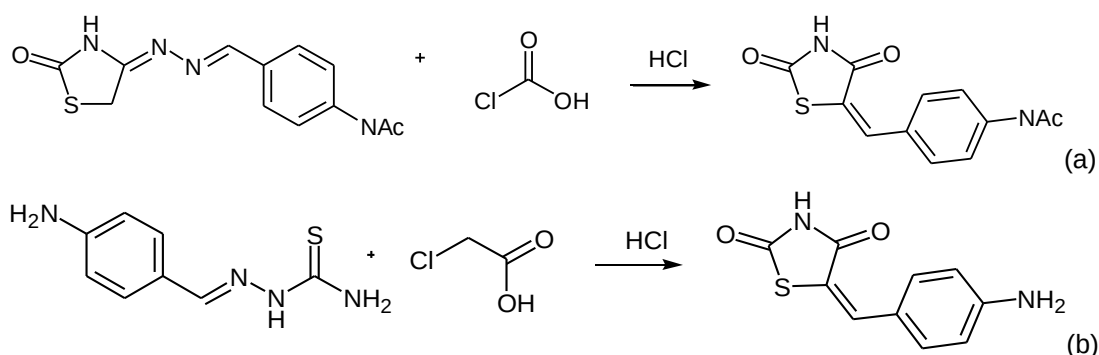
Em 1975, Vladzimirskaya e Kirichenko obtiveram dos derivados *bis*-tiazolidínicos reagindo a 3,3'-etileno-*bis*-tiazolidina-2,4-diona com aldeídos aromáticos substituídos (Esquema 11).



R = H, *p*-Cl, *p*-Br, *o*-HO, *p*-Me₂CH, *p*-Me₂N, *p*-Et₂N, *o*-, *m*-, e *p*-NO₂

Esquema 11. Derivados *bis*-tiazolidínicos

Em 1957, Turkevich e Vladzimirskaya produziram o derivado da TZD *N*-[4-[(2,4-dioxo-5-tiazolidinilideno)metil]fenil]-acetamida reagindo a *N*-[4-[[2-(4,5-dihidro-4-oxo-2-tiazolil)hidrazinilideno]metil]fenil]-acetamida com ácido monocloroacético na presença de ácido clorídrico. A reação foi submetida a refluxo durante 2 horas e teve como rendimento 38% (**a**, Esquema 12). No mesmo ano, os autores obtiveram a 5-[(4-aminofenil)metileno]-tiazolidina-2,4-diona condensada na posição 5 reagindo a 2-[(4-aminofenil)metileno]-hidrazinacarbotoamida com o ácido monocloroacético em meio ácido obtendo 89% de rendimento (**b**, Esquema 12).



Esquema 12. Reações com a tiazolidina-2,4-diona

3.9 Modelagem Molecular

A ação terapêutica de fármacos resulta de interações destes com sistemas biológicos e é dependente de fatores relacionados com sua estrutura química e, conseqüentemente, de suas propriedades físico-químicas. Estes fatores, sejam eles de caráter eletrônico, hidrofóbico ou estérico, influenciam a interação do fármaco com a biofase e a sua distribuição nos compartimentos que compõem o sistema biológico. As propriedades físico-químicas de compostos bioativos, reflexo de sua estrutura química, podem ser descritas quantitativamente se forem expressas por meio de parâmetros físico-químicos ou descritores estruturais adequados. Assim, com base neste conceito, foi possível desenvolver nova área do conhecimento, que se preocupa com o estudo das relações entre a estrutura química e a atividade biológica. Estas relações são expressas por modelos matemáticos, que correlacionam descritores estruturais de séries de compostos análogos com a atividade biológica por eles desempenhada (TAVARES, 2004).

A modelagem molecular (MM) constitui-se em ferramenta do planejamento racional envolvendo a compreensão da interação ao nível molecular de uma substância com seu receptor, sob os pontos de vista quali e quantitativo. Nesse sentido, a MM permite a análise profunda da estrutura molecular compreendida em determinado sistema biológico e também fornece meios para prever a potencialidade de moléculas candidatas a compostos bioativos. De forma simplificada, pode ser considerada como conjunto de técnicas computadorizadas baseadas em métodos de química teórica e/ou dados experimentais (COHEN, 1996).

Entre as propriedades físico-químicas mais importantes para o estabelecimento da atividade biológica de fármacos citam-se a distribuição eletrônica, a hidrofobicidade e a estereoquímica da molécula. Cada uma destas propriedades contribui com maior ou menor intensidade para o estabelecimento da resposta biológica e podem ser representadas por descritores estruturais,

que expressam de forma quali e quantitativa a sua influência na bioatividade de compostos químicos (TAVARES, 2004).

A resposta biológica produzida por compostos bioativos está diretamente relacionada com os mecanismos de absorção, distribuição e atividade intrínseca. Nesse sentido, a determinação de algumas propriedades intrínsecas de fármacos, como o coeficiente de partição (**log P**) e outras variáveis são de grande importância para a que haja uma melhor compreensão do comportamento do fármaco no organismo.

A lipofilia de uma molécula pode ser expressa quantitativamente (Equação 1) pelo coeficiente de partição, ou **log P**, que pode ser definido como o logaritmo da concentração de equilíbrio de espécies monoméricas de um composto na fase orgânica, dividido pela concentração da mesma espécie na forma neutra, presente na fase aquosa:

$$\log P = \log ([\text{composto org}] / [\text{composto aq}])$$

Equação 1. Determinação do Log P

Christopher Lipinski estudou a lipossolubilidade de compostos e verificou que a baixa atividade de um fármaco é devida à sua baixa penetração nas membranas biológicas (Regra de Lipinski), que ocorre quando: i) há mais do que 5 centros doadores de ligação de hidrogênio, ii) há mais do que 10 aceptores de ligações de hidrogênio, iii) o peso molecular é maior do que 500 unidades e iv) o log P calculado é maior do que 5 (NOGUEIRA et al., 2009).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Síntese Orgânica

Para a síntese e comprovação estrutural dos novos derivados acridínicos sintetizados, foram utilizados os seguintes equipamentos, placas cromatográficas, reagentes, solventes:

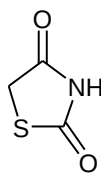
- ✓ Espectrofotômetro de Absorção no Infravermelho - FTIR Bruker Modelo IFS 66 do DQF da UFPE.
- ✓ Espectrômetro de RMN¹H - espectrômetro Varian Modelo Plus 300 MHz do DQF da UFPE.
- ✓ Espectrometria de Massa - aparelho LC/MS HCT ultra da Bruker Daltonics.
- ✓ Determinação dos pontos de fusão - Quimis Modelo 340.27 do LPSF
- ✓ Lâmpada de Ultravioleta - Philco do LPSF
- ✓ Rota evaporador - Fisatom do LPSF

- ✓ Placas Merck silicagel 60 F254, de 0,25 mm de espessura, reveladas em luz ultravioleta (254 ou 366 nm)

Tabela 5. Reagentes e solventes utilizados nas diferentes etapas sintéticas

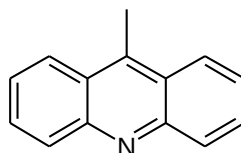
Composto	Empresa	Grau de Pureza
9-Bromo-metil-acridina	Sigma Aldrich	PA
4-Metóxi-benzaldeído	Sigma Aldrich	PS
Acetato de etila	Cinética	PA
Ácido acético	Cinética	PA
Ácido clorídrico	Sigma Aldrich	PA
Ácido monocloroacético	Sigma Aldrich	PA
Ácido sulfúrico	Sigma Aldrich	PA
Álcool etílico	J. T. Baker	PA
Benzeno	Sigma Aldrich	PA
Bicarbonato de sódio	Cinética	PA
Carbonato de sódio	Sigma Aldrich	PA
Cianoacetato de etila	Sigma Aldrich	PS
Cloreto de sódio	Sigma Aldrich	PA
Cloreto de zinco	Cinética	PA
Clorocromato de piridínio (PCC)	Acros Organics	PS
Diclorometano	Cinética	PA
Difenilamina	Acros Organics	PS
Hidróxido de amônio	Sigma Aldrich	PA
Hidróxido de sódio	Sigma Aldrich	PA
n-Hexano	Cinética	PA
n-n-Dimetil-nitrosoanilina	Acros Organics	PS
Piperidina	Sigma Aldrich	PA
Sulfato de magnésio	Sigma Aldrich	PA
Sulfato de sódio	Sigma Aldrich	PA
Tiouréia	Sigma Aldrich	PA

4.1.1 Tiazolidina-2,4-diona



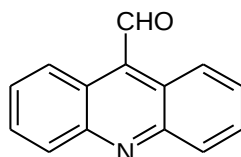
Em um balão de fundo redondo, com agitação magnética, adaptado a um condensador sob refluxo, foram adicionados quantidades equimolares de tiouréia e de ácido monocloroacético, previamente dissolvidos em 16 mL de água destilada. A mistura foi aquecida a 80°C por 18 horas e, em seguida, mantida sob refrigeração durante 24h. Os cristais foram isolados por filtração e purificados através de sucessivas lavagens com água destilada.

4.1.2 9-Metil-acridina (LPSF-AC1)



Em um balão de 500 mL de fundo redondo, com agitação magnética, adaptado a um condensador sob refluxo, foram adicionados 5g de difenilamina (0,029 mols), 20g de cloreto de zinco (0,147 mols) e 5mL de ácido acético. A mistura foi aquecida gradativamente até 230°C e mantida por 8 horas. Após resfriamento, a mistura reacional foi tratada com uma solução ácido sulfúrico a 10% e, em seguida, alcalinizada pela adição de uma solução aquosa de hidróxido de amônio a 30%. O produto foi isolado através de extração com acetato de etila e concentrado em rota evaporador a 50°C. A 9-metil-acridina foi purificada através de cromatografia sob pressão em sílicagel 60, utilizando como sistema de eluição *n*-hexano/AcOEt 7:3.

4.1.3 Acridina-9-carboxaldeído (LPSF-AC2)

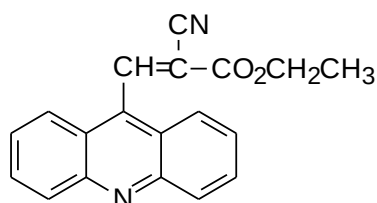


Em um balão de fundo redondo, com agitação magnética, adaptado a um condensador, foram adicionados 1g (0,005 mols) de 9-metil-acridina, 0,006

mols de *n-n*-dimetil-nitrosoanilina e etanol. A mistura foi aquecida a 80°C e mantida por 8 horas. Após este tempo, o precipitado formado foi filtrado à quente e lavado com etanol quente (3x5mL).

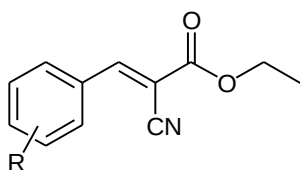
Em um balão de 100mL, com agitação magnética, adaptado a um condensador, foram adicionados 500mg do produto obtido previamente e 6M HCl. A mistura foi aquecida a 75°C por 6 horas. Após este tempo, o precipitado foi resfriado a t.a., filtrado e lavado com HCl 2M. O produto foi então adicionado em um balão contendo água destilada (25-30 mL) em um banho de gelo e agitado por 10 min. Em seguida, uma solução saturada de K₂CO₃ foi adicionada ao balão até atingir o pH básico. O produto foi extraído com CH₂Cl₂ e a fase aquosa foi saturada com uma solução de NaCl. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e e concentrada à secura em rota evaporador.

4.1.4 3-Acridin-9-il-2-ciano acrilato de etila (LPSF-IP29)

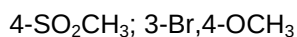


Em um balão de fundo redondo, com agitação magnética, adaptado a um condensador sob refluxo, foram adicionadas quantidades equimolares da 9-acridina-carboxaldeído (2,182g – 0,105 mols) e do cianoacetato de etila (3 mL) na presença de 250 µL de piperidina como catalizador. A mistura reacional foi aquecida a 110°C e mantida 8 horas. O produto foi purificado por cromatografia sob pressão em sílica gel 60, *n*-hexano/AcOEt 6:4.

4.1.5 Ésteres de Cope (LPSF-IP)

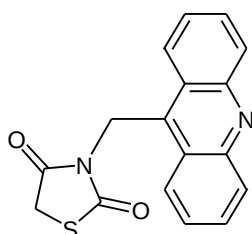


R = 4-OCH₃; 4-CH₃; 4-Cl; 4-Br; 2,4-(OCH₃)₂;



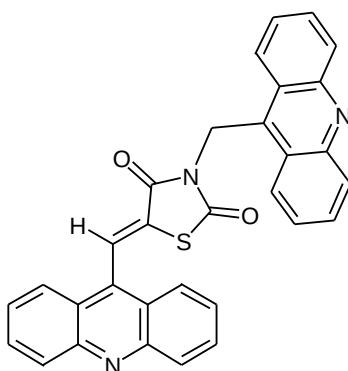
Em um balão de fundo redondo, com agitação magnética, adaptado a um condensador, foram adicionados quantidades equimolares do aldeído aromático substituído e do cianoacetato de etila na presença de piperidina como catalisador e benzeno como solvente. A mistura reacional foi aquecida sob refluxo a 110°C por 4 horas. Passado este tempo, o produto foi lavado com água, filtrado e purificado por cristalização com álcool etílico.

4.1.6 3-Acridin-9-il-metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A)



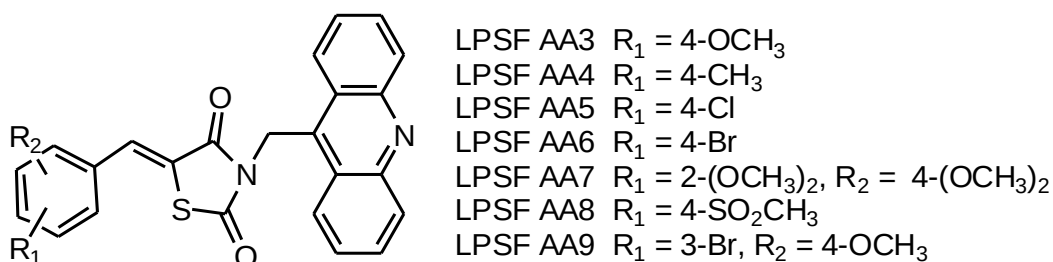
Em um balão de fundo redondo, com agitação magnética, adaptado a um condensador, foram adicionados a tiazolidina-2,4-diona e hidróxido de sódio previamente dissolvido em álcool etílico. A mistura reacional foi agitada durante 10 minutos. Passado este tempo, foi adicionado a 9-bromo-metil-acridina em quantidades equimolares e a mistura foi aquecida e mantida a uma temperatura de 60°C durante 7 horas. O produto foi lavado com água destilada e, depois, purificado com álcool etílico.

4.1.7 3-Acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2)



Obtêm-se o derivado *bis*-acridínico através do aquecimento da 3-(acridin-9-il--metil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A), dissolvida em etanol anidro, com o 2-ciano-acridin-9-il--acrilato de etila a uma temperatura de 80°C por 4 horas.

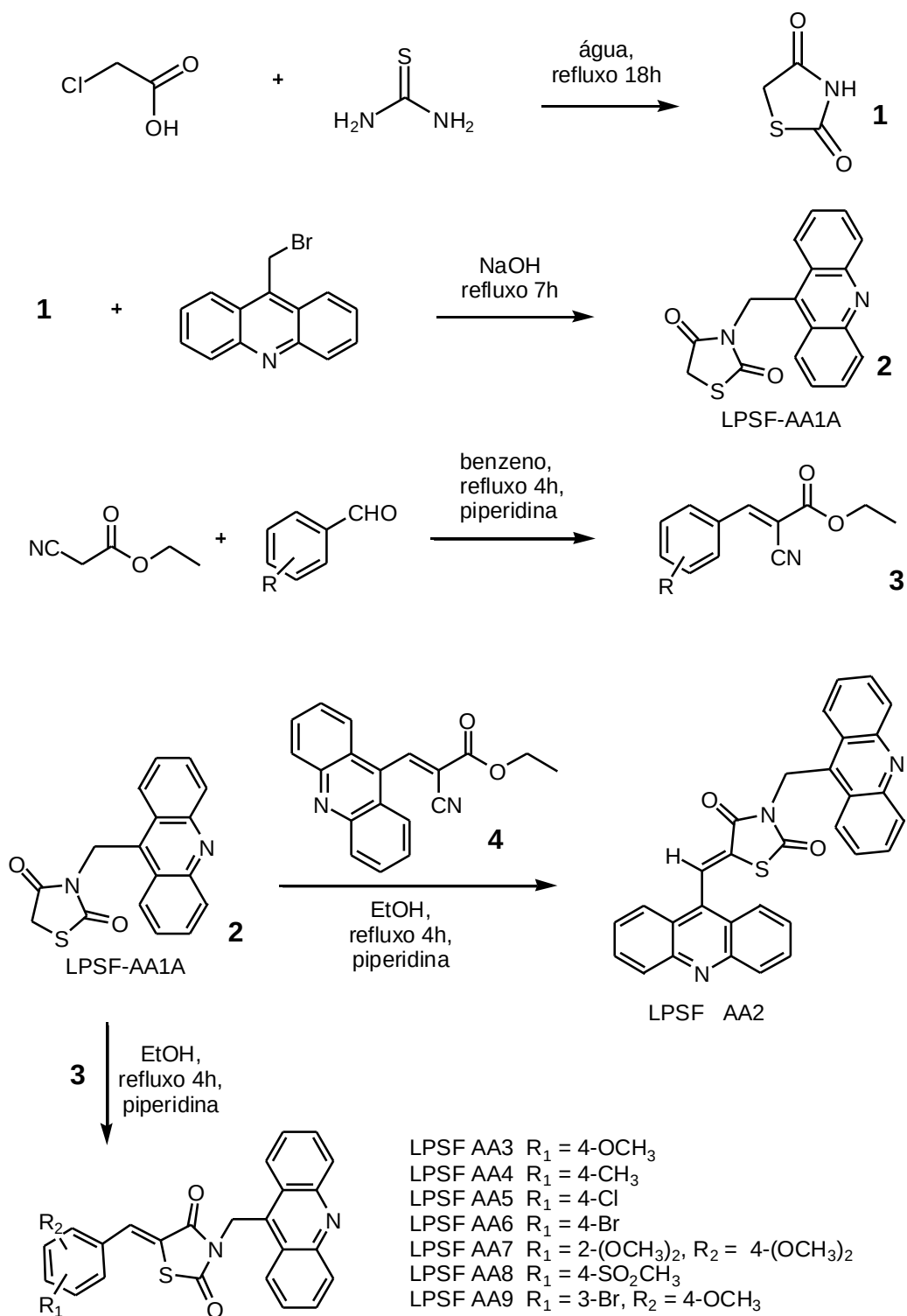
4.1.8 Derivados Tiazacridínicos (LPSF-AAs)



Em um balão de fundo redondo, com agitação magnética, adaptado a um condensador, foram adicionados quantidades equimolares do 3-acridin-9-il-metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A) e dos derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (série LPSF IP) substituídos dissolvidos em álcool etílico, na presença de piperidina como catalisador. A mistura reacional foi aquecida e mantida sob refluxo a 50°C por 4 horas levando à formação dos novos derivados tiazacrinícos, que foram purificados através de lavagens sucessivas com água destilada e álcool etílico.

4.1.9 Esquema Geral de Síntese

O esquema 13 apresenta a rota de síntese empregada na obtenção das tiazacridinas planejadas.

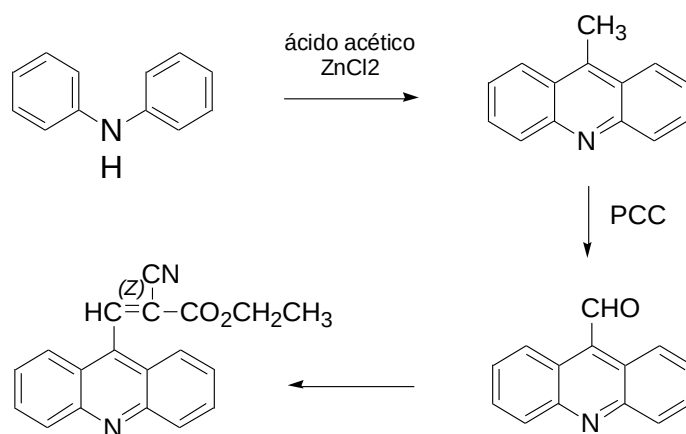


Esquema 13. Rota sintética geral para obtenção dos derivados LPSF-AA3 a LPSF-AA9

A primeira etapa reacional consistiu em uma reação de ciclização partindo da tiouréia com o ácido monocloroacético para a obtenção do anel da tiazolidina-2,4-diona. Na segunda etapa, a tiazolidina-2,4-diona foi *N*-alquilada na presença de 9-bromo-metil-acridina dando origem ao intermediário 3-acridin-9-il-metil-tiazolidina-2,4-diono (LPSF-AA1A).

Nas duas últimas etapas, o LPSF-AA1A reagiu com cianoacetatos de etila substituídos (ésteres de cope **3** e intermediário **4**) através de uma reação de adição de Michael para formar os compostos finais LPSF-AA2-9 (Esquema 13).

Para a formação do éster 3-acridin-9-il-2-ciano acrilato de etila de configuração *Z* (Esquema 14), inicialmente fizemos reagir a difenilamina com o cloreto de zinco em meio ácido, através uma reação de ciclização. A 9-metil-acridina (LPSF-AC1) obtida foi oxidada na presença de clorocromato de piridínio (PCC) para formação da acridina-9-carboxaldeído (LPSF-AC2) que, por sua vez, reagiu com o cianoacetato de etila dando origem ao éster 3-acridin-9-il-2-ciano acrilato de etila (LPSF-IP29).



Esquema 14. Rota sintética para formação do LPSF-IP29

4.2 Avaliação da Atividade Biológica

A avaliação da atividade biológica *in vitro* foi realizada no Laboratório de Oncologia Experimental da UFC pela professora Doutora Cláudia do Ó Pessoa e colaboradores.

A análise de citotoxicidade pelo método do MTT, primeiramente descrita por Mosman em 1983, vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN et al., 1990). É um método rápido, sensível e barato que tem a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE et al., 1996).

Células: As linhagens de células humanas utilizadas, HL60 (leucemia), MDA-MB435 (melanoma), HCT-8 (cólon), foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (USA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37°C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

Amostras: As amostras puras foram diluídas em DMSO na concentração estoque de 5 mg/mL.

As células foram plaqueadas na concentração de $0,3 \times 10^6$ céls./100µL para células suspensas e $0,1 \times 10^6$ céls./100µL para células aderidas. Os compostos foram acrescidos em diferentes concentrações, que variaram entre 0,39 – 25µg/mL. Foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Ao término deste, as placas foram centrifugadas e o sobrenadante foi removido. Em seguida, foram adicionados 200µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com DMSO em espectrofotômetro de placa a 550nm.

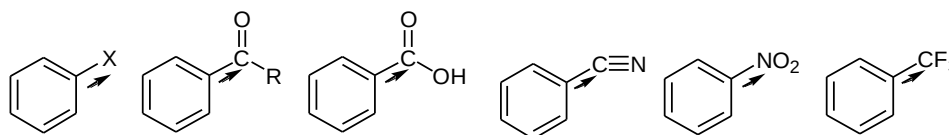
4.3 Modelagem Molecular

A fim de investigar as propriedades das tiazacridinas sintetizadas, os cálculos de modelagem molecular foram realizados pelo método semi-empírico AM1 (DEWAR et al.1985), , através do programa BioMedCAche 6.1 Fujitsu Limited 2000-2003, Microcal™ Origin™ 7.0 disponibilizado no Laboratório de Química Teórica Medicinal (LQTM) do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE. Também foram calculadas algumas propriedades eletrônicas, tais como afinidade eletrônica, potencial de ionização e momento de dipolo molecular. O passo seguinte foi a análise das moléculas através da regra de Lipinski (LIPINSKI et al., 1997), usando a ferramenta online Molinspiration (<http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

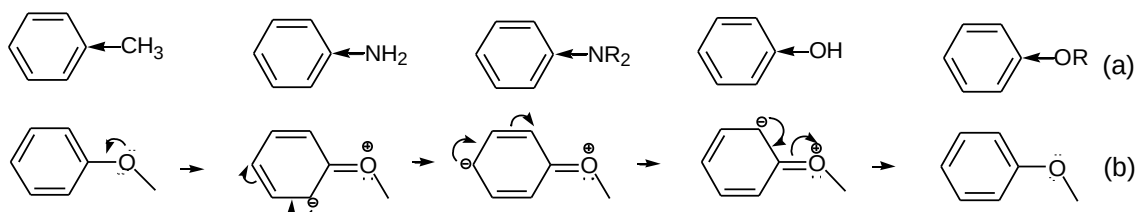
5.1 Síntese Orgânica

A reatividade dos compostos aromáticos depende em grande parte de sua disponibilidade eletrônica, principalmente nas reações de substituição, onde um dos hidrogênios aromáticos pode ser substituído por agentes eletrofílicos. Dessa forma, o estudo da influência dos radicais ligados ao anel aromático é de extrema importância. Os grupos “elêtron-atraentes” exercem um efeito Indutivo Negativo (-I) sob o anel. São aqueles que possuem elementos mais eletronegativos em relação ao carbono X (por ex. F, O, N, Cl, Br, I) ou radicais insaturados (grupos carbonila, ciano e nitro) (Esquema 15) que *retiram* elétrons do anel aromático por efeito de ressonância. Os elétrons π fluem do anel para os substituintes, deixando uma carga positiva no anel.



Esquema 15. Os grupos ligados aos anéis aromáticos, por efeito indutivo, retiram elétrons devido à polaridade de suas ligações (X = F, Cl ou Br)

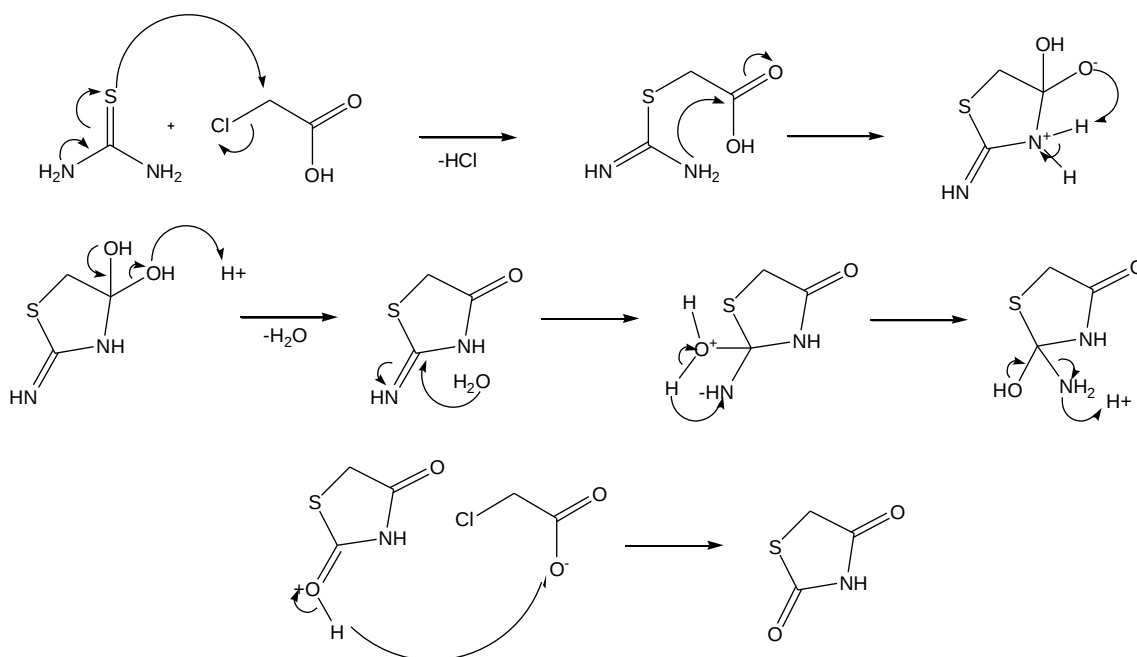
Os grupos que exercem um efeito Indutivo Positivo (+I) "empurram" os elétrons das ligações em direção oposta a eles (Esquema 16). Os mais importantes grupos elétron-repelentes são os radicais saturados (alquila) e os que possuem carga elétrica negativa. Nos radicais alquila, quanto mais átomos de C^6 e H^1 (com simples ligações) tiver o radical mais elétron-repelente ele será. Entretanto, Quanto mais distante um átomo estiver do átomo gerador, menor a intensidade do efeito produzido sobre ele.



Esquema 16. Grupos que, por efeito indutivo, doam elétrons para o anel (a) e seu suposto mecanismo (b)

5.1.1 Mecanismos Reacionais

A tiazolidina-2,4-diona foi obtida através da reação da tiouréia com o ácido α -cloroacético em meio ácido através de uma reação de ciclização (LIBERMANN, HIMBERT E HENGL, 1948). No esquema 17 detalhamos o suposto mecanismo da reação para a obtenção do anel tiazolidínico.

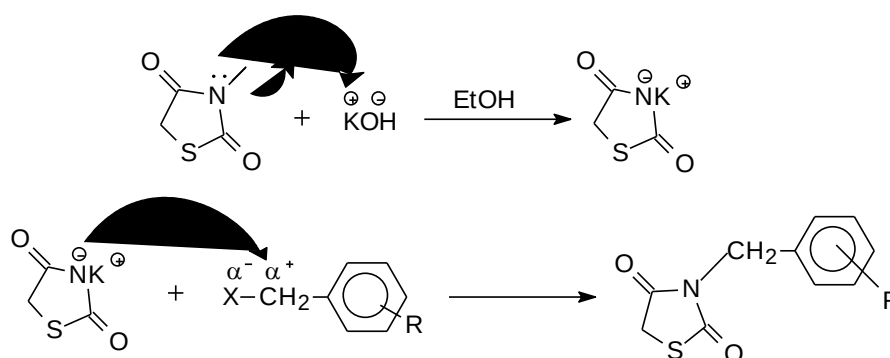


Esquema 17. Suposto mecanismo da reação de ciclização da tiazolidina-2,4-diona

A reação se inicia quando o átomo de enxofre ataca o carbono α do ácido monocloroacético, liberando um próton e o ânion cloreto, através de uma reação S_N2 . Em seguida, o par de elétrons livre do nitrogênio da amina primária ataca a carbonila (ataque intramolecular) levando a ciclização do anel, que para se estabilizar, transfere o próton do nitrogênio com carga positiva para o oxigênio com carga negativa, formando uma hidroxila. Essa hidroxila é então protonada, devido à acidez do meio, e há uma conseqüente desidratação da molécula e formação da carbonila na posição 4. A posição 2 tiazolidina é então atacada por uma molécula de água que leva a perda de uma molécula de amônia. A formação da tiazolidina-2,4-diona se dá quando a base $ClCH_2COO^-$ desprotona o oxigênio positivo da posição 2.

Quando não apresenta substituição no átomo de nitrogênio, a tiazolidina-2,4-diona comporta-se como um ácido fraco, que reage com haletos de alquila, substituídos ou não, em soluções alcalinas conduzindo à formação de sais.

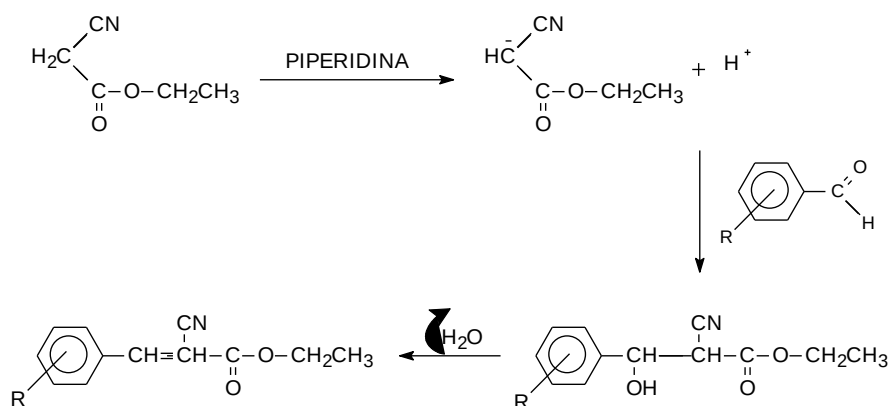
As reações de *N*-alquilação ocorrem através de substituições nucleofílicas de segunda ordem (S_N2), onde o hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio é suficientemente ácido para ser suprimido por ação de uma base, conduzindo à formação de um sal. O sal obtido atua como um agente nucleofílico atacando o haleto de alquila para formar a tiazolidina-2,4-diona substituída em posição 3 (Esquema 18).



Esquema 18. Suposto mecanismo reacional de *N*-alquilação da tiazolidina-2,4-diona

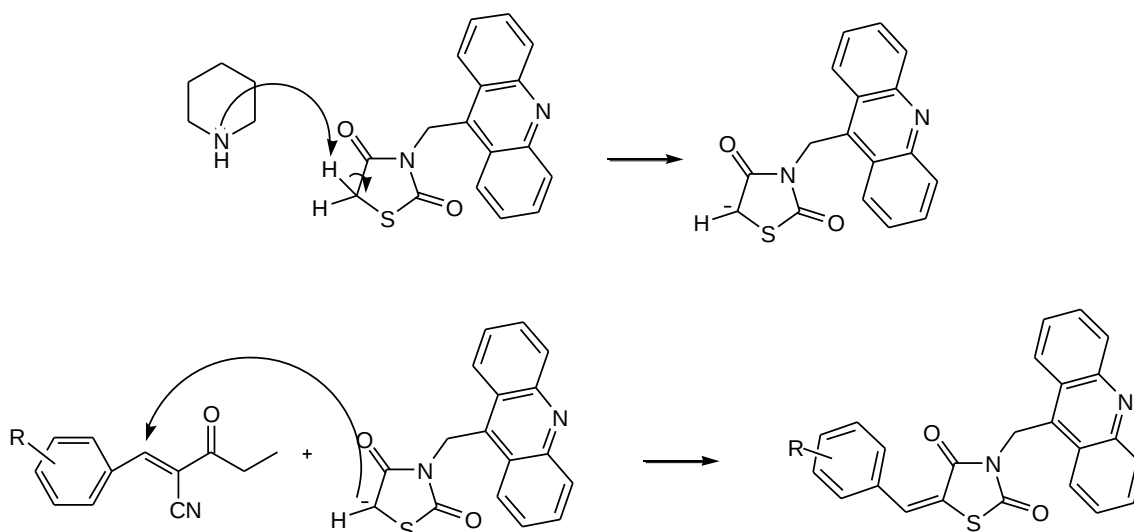
Derivados de aldeídos aromáticos, tais como os ésteres de Cope, são obtidos através da reação de condensação do tipo Knoevenagel entre aldeídos aromáticos substituídos e cianoacetato de etila, em presença de uma base,

normalmente a piperidina. Este éster cianocinâmico atua como um intermediário para as reações de condensações em posição 5 da tiazolidina-2,4-diona *N*-alquilada ou não (Esquema 19).



Esquema 19. Reação de condensação de Knoevenagel

No esquema 20 podemos observar o suposto mecanismo da reação de adição de Michael para derivados tiazolidínicos utilizando-se piperidina como catalizador.



Esquema 20. Suposto mecanismo da reação de adição de Michael em derivados tiazolidínicos

O grupo metilênico em posição 5 da tiazolidina-2,4-diona apresenta uma reatividade característica frente a vários reagentes. Esse carbono metilênico comporta-se como um nucleófilo, e as reações ocorrem normalmente em presença de uma base, onde a tiazolidina-2,4-diona comporta-se como um

ânion. A formação deste ânion é facilitada pela presença dos grupamentos carbonílicos nas posições 2 e 4.

A formação da dupla exocíclica no núcleo tiazolidinônico a partir do éster de Cope ocorre através do seguinte mecanismo reacional: observa-se a formação de um carbânion na posição 5 da tiazolidina-2,4-diona *N*-alquilada, seguido de um ataque ao carbono α do éster cianocinâmico através de uma reação de adição do tipo Michael, conduzindo aos novos derivados tiazacridínicos.

Resultados anteriores obtidos no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos impulsionaram a realização da síntese de novos derivados tiazacridínicos. Pitta e colaboradores, em 2004, sintetizaram e investigaram os benefícios que o acoplamento dos grupos tiazolidínico e acridínico em uma molécula traz para a atividade anticâncer. Vários derivados foram produzidos, dentre os quais os compostos 5-acridin-9-il-metileno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AC4) (Figura 14) e 5-acridin-9-il-metileno-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AC7) exibiram excelentes resultados. Estes dois produtos possuem o anel benzilidênico ligado ao nitrogênio da tiazolidina e possuem a fração da acridina condensada na posição 5 da tiazolidina. Ambos os compostos apresentaram um perfil citotóxico semelhante frente as linhagens de células tumorais SF-295, HCT-8 e MDA-MB435, sendo mais eficazes contra a linhagem de células HCT-8. O LPSF-AC7 apresentou uma percentagem de inibição da linhagem de células HCT-8 de 98,04% e o LPSF-AC4, 90,74%.

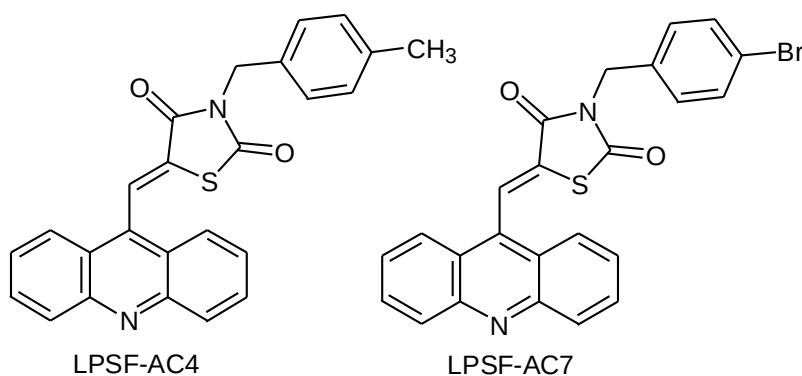


Figura 14. Derivados tiazacridínicos sintetizados por Pitta e colaboradores em 2004

As moléculas sintetizadas nessa pesquisa são estruturalmente semelhantes aquelas sintetizadas por Pitta e colaboradores. A principal diferença entre essas duas séries é a localização das frações acridínica e do anel benzilidênico. No caso dos derivados da série AA, inicialmente a fração acridínica foi inserida na posição 3 do anel tiazolidínico através de uma reação de *N*-alquilação e, posteriormente, o anel benzilidênico substituído foi condensado na posição 5 do anel da tiazolidina.

A potente atividade do LPSF-AC7 sugeriu que a presença de grupos eletronegativos ou grupos que exercem o efeito indutivo negativo aumentassem a atividade do composto, então foram sintetizados derivados clorados, bromados e metoxilados. Já no caso do LPSF-AC4, a presença da metila contribuiu para a atividade, então foi sintetizado o LPSF-AA4 que, como vamos ver mais adiante, teve considerável perda de atividade.

Assim sendo, a troca dos grupos químicos das posições 3 e 5 do anel tiazolidínico provoca alterações nas interações entre a molécula e o DNA. Nesse sentido, a análise e a comparação de resultados prévios os com resultados obtidos neste trabalho possibilitam a descoberta de moléculas mais eficazes e menos tóxicas.

5.1.2 Características Físico-Químicas

Tabela 6. Características físico-químicas das moléculas sintetizadas

Produto	F.M.	M.M.	Rdt. (%)	P.F. (°C)	Razão de Frente
Tiazolidina	C ₃ H ₃ NO ₂ S	117	84	121-122	0,51 (Triclorometano/MeOH 96:4)
LPSF-AC1	C ₁₄ H ₁₂ N	194	80	115-117	0,59 (<i>n</i> -Hexano/AcOEt 7:3)
LPSF-AC2	C ₁₄ H ₁₀ NO	208	90	151-152	0,7 (Diclorometano/AcOEt 9:1)
LPSF-AA1A	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₂ S	308,06	51	192-196	0,24 (<i>n</i> -Hexano/AcOEt 7:3)
LPSF-AA2	C ₃₁ H ₁₉ N ₃ O ₂ S	497,12	11	243-245	0,45 (<i>n</i> -Hexano/AcOEt 6:4)
LPSF-AA3	C ₂₅ H ₁₈ N ₂ O ₃ S	426,10	52	225-226	0,60 (<i>n</i> -Hexano/AcOEt 7:3)
LPSF-AA4	C ₂₅ H ₁₈ N ₂ O ₂ S	410,11	20	194-195	0,62 (<i>n</i> -Hexano/AcOEt 6:4)
LPSF-AA5	C ₂₄ H ₁₅ ClN ₂ O ₂ S	430,05	47	229-231	0,68 (<i>n</i> -Hexano/AcOEt 6:4)
LPSF-AA6	C ₂₄ H ₁₅ BrN ₂ O ₂ S	474,00	24	222-223	0,48 (<i>n</i> -Hexano/AcOEt 7:3)
LPSF-AA7	C ₂₆ H ₂₀ N ₂ O ₄ S	456,11	60	229-231	0,40 (<i>n</i> -Hexano/AcOEt 7:3)
LPSF-AA8	C ₂₅ H ₁₈ N ₂ O ₄ S ₂	474,55	28	227-228	0,40 (<i>n</i> -Hexano/AcOEt 7:3)
LPSF-AA9	C ₂₅ H ₁₇ BrN ₂ O ₃ S	504,01	62	230-232	0,53 (<i>n</i> -Hexano/AcOEt 7:3)

5.1.3 Caracterização Estrutural dos Derivados LPSF-AAs

Os compostos sintetizados tiveram suas estruturas comprovadas através das técnicas espectroscópicas de RMN¹H, Massa e espectrofotometria de absorção no IV.

- ✓ Espectrometria de RMN¹H: espectrômetro Varian Modelo Plus 300 MHz. O solvente utilizado para análise foi o DMSO à temperatura ambiente. Os principais picos de absorção encontrados nos espectros foram oriundos de hidrogênios de alcanos, alcenos e de anéis aromáticos.
- ✓ Espectrometria de Massa: aparelho LC/MS HCT ultra da Bruker Daltonics em IES. MS2 em modo positivo e negativo.
- ✓ Espectrofotometria de Absorção no Infravermelho: aparelho FTIR Bruker Modelo IFS 66. Para análise, foram utilizadas pastilhas de KBr a 1%. As principais bandas observadas foram: C=O, C=C e H-C de aromáticos.

Para o espectro de RMN¹H, o padrão interno utilizado foi o tetrametilsilano (TMS); os deslocamentos químicos foram reportados em ppm; as constantes de acoplamento foram indicadas em Hz e as multiplicidades dos sinais foram designadas da seguinte forma: s – singleto, d – dubleto, dd – duplo dubleto, t – tripleto, m – multiplete.

Com relação aos espectros de RMN¹H dos derivados AAs, o singleto do grupo CH₂ foi detectado na faixa de 5,7 ppm para o intermediário LPSF AA-1A e na faixa de 5,9 ppm para os compostos restantes. No espectro do LPSF-AA1A, pudemos observar um singleto na faixa de 4,2 ppm com 2 hidrogênios.

No espectro de IV dos derivados LPSF-AA2-9, encontramos bandas representativas do estiramento C=C, o que comprovou a condensação dos mesmos.

Alguns picos foram característicos de todos os espectros de RMN¹H, como os hidrogênios aromáticos e os hidrogênios do anel benzilideno. Com relação ao anel acridínico, os hidrogênios da posição 3 (multiplete de 2H na faixa de 7,6 - 7,7 ppm) são os mais blindados, seguido dos H¹ da posição 4, 1 e 2. Os H¹ da posição 2 (dublete de 2H na faixa de 8,5 - 8,4 ppm) foram encontrados em campo mais alto provavelmente devido a proximidade do nitrogênio do anel central da acridina. Os hidrogênios da posição 1 (dublete de 2H na faixa de 8,1 – 8,2 ppm) também estão mais desprotegidos que os H¹ da posição 3 e 4, e esse fato é explicado pela presença da carbonila que se aproxima do H¹ graças a livre rotação da ligação entre o anel da tiazolidina e da acridina.

Nos produtos finais (LPSF-AA2 o LPSF-AA9) um singlete de intensidade moderada foi encontrado na região dos H¹ acridínicos, na faixa de 8,74 ppm para o LPSF-AA2 e aproximadamente 7,9 ppm para os outros compostos. Alguns picos também foram encontrados provenientes de substituições no anel benzílico, como os H¹ do grupo metoxila (singlete de 3H na faixa de 4,0 - 3,8 ppm), metila (singlete de 3H na faixa de 2,34 ppm) e metanosulfonila (singlete de 3H na faixa de 3,25 ppm).

Os prótons do anel benzílico não foram detectados em faixas específicas por causa da influência das diferentes substituições no anel, variando de 8,0 a 6,3 ppm.

A maioria dos grupos funcionais possuíram bandas de absorção características no IV que não mudam de um composto para outro, por exemplo, a absorção C=C de um alceno está sempre na faixa de 1640 a 1680 cm⁻¹ e a absorção da carbonila na faixa de 1670 – 1780.

A tabela 7 lista as bandas de IV características dos principais grupos funcionais encontrados nos espectros deste trabalho.

Tabela 7. Absorções características no IV de alguns grupos funcionais característicos das tiazacridinas (McMURRY, 2006)

Classe dos grupos funcionais	Posição da banda (cm ⁻¹)	Intensidade de absorção
Alcanos, grupos alquilas C–H	2850 – 2960	Médio a forte
Alcenos =C–H	3020 – 3100	Médio
C=C	1640 – 1680	Médio
Haletos de alquila C–Cl	600 – 800	Forte
C–Br	500 – 600	Forte
Aromáticos C–H	3030	Fraco
–C=C–	1660 – 2000	Fraco
	1450 – 1600	Médio
Compostos carbonílicos C=O	1670 – 1780	Forte

Os espectros de massa foram realizados pelo método de ionização por electron-spray, MS2 em modo positivo e negativo. Alguns picos foram característicos de todos os compostos analisados, como, no caso do MS2 em modo positivo, 193 (m/z), correspondente a fração acridínica e 235 (m/z), que contém a porção da acridina e parte da tiazolidina que foi fragmentada. O LPSF-AA6 tem um grupo bromo na posição 4 do anel benzilideno; o bromo está presente na natureza na forma dos isótopos Br⁷⁹ e Br⁸¹, por isso no espectro de MS observamos 2 picos base próximos e de alta intensidade.

5.1.3.1 3-Acridin-9-il--metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A)

RMN¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

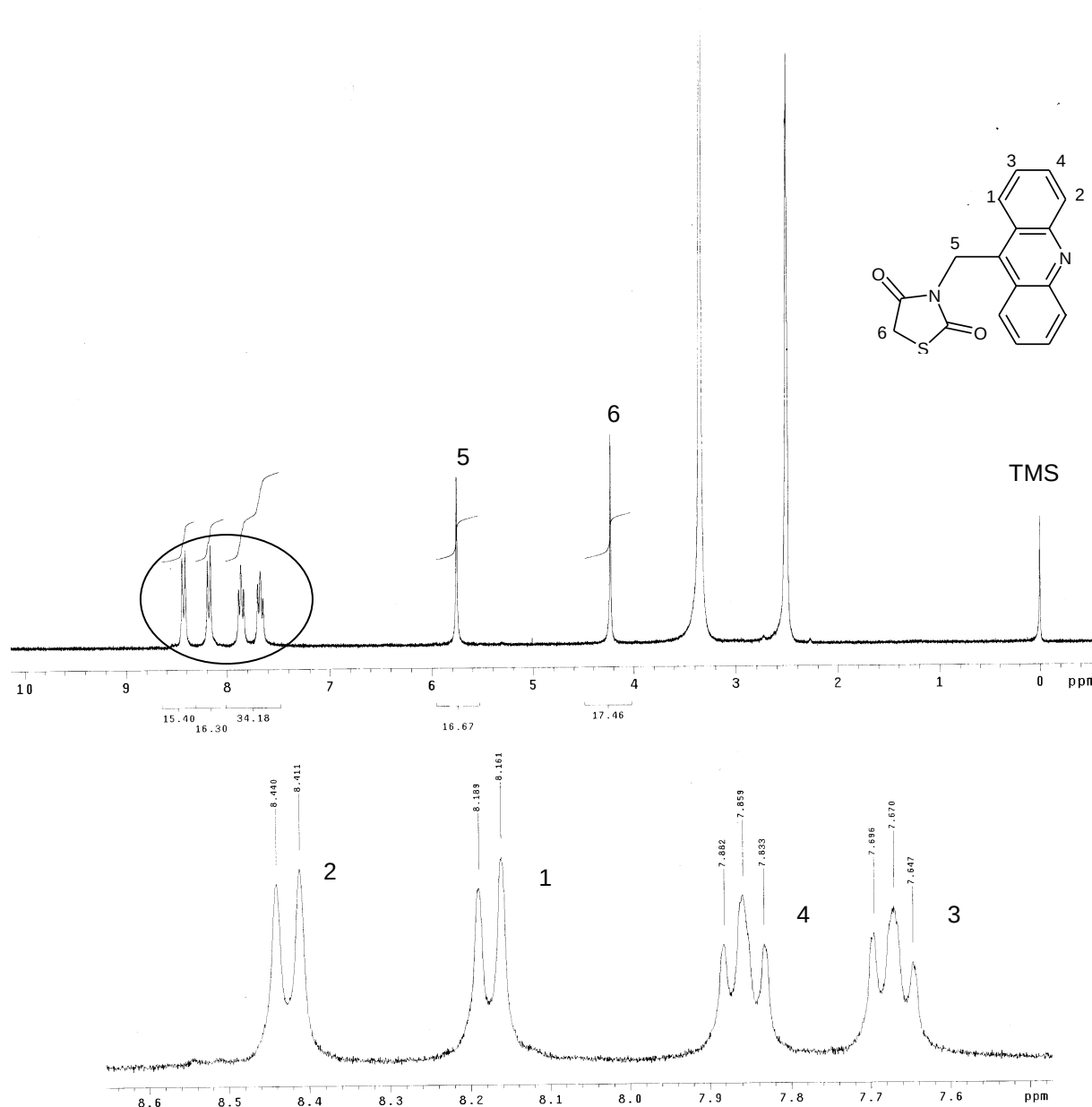


Figura 15. Espectro de RMN¹H da acridin-9-il--metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A)

CH ₂ -N	-CH ₂ -S	Acridina-H
5) 5,75 (s, 2H)	6) 4,22 (s, 2H)	3) 7,65 – 7,70 (m, 2H)
		4) 7,83 – 7,88 (m, 2H)
		1) 8,17 (d, 2H, J = 8,4 Hz)
		2) 8,42 (d, 2H, J = 8,7 Hz)

Espectrometria de Massas (MS)

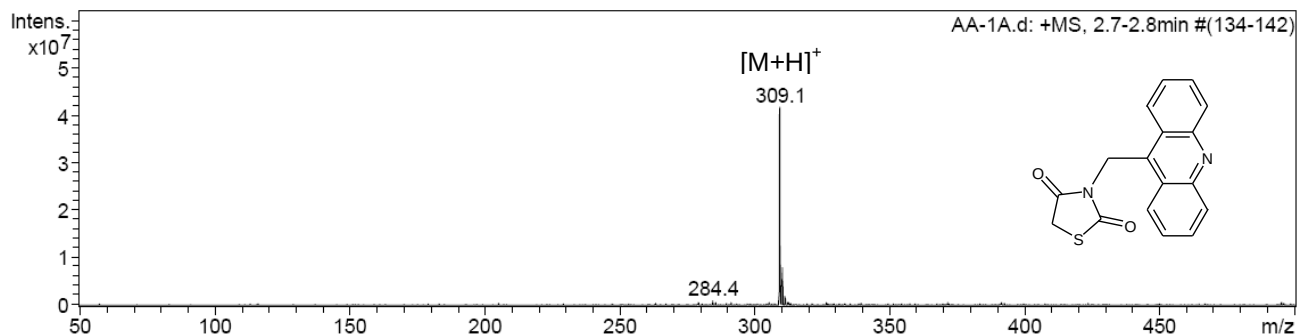


Figura 16. Espectro de Massas por IES da acridin-9-il--metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A) ($M = 308$)

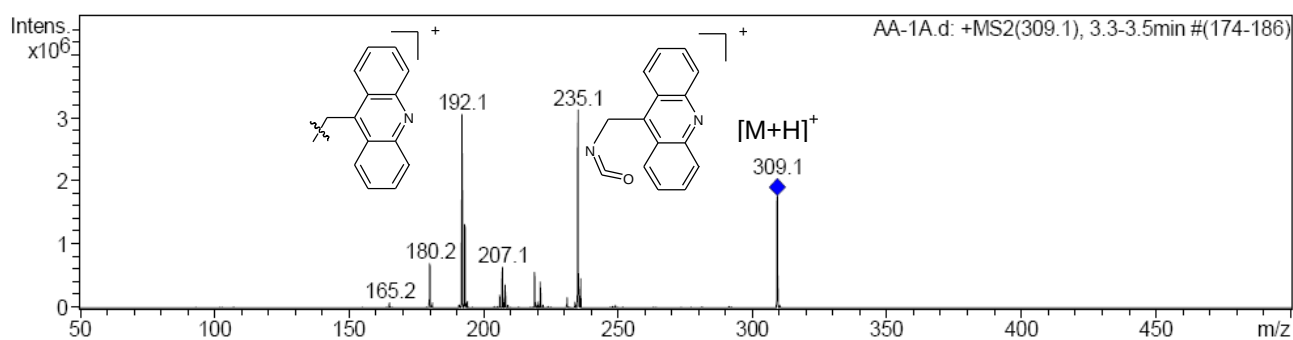


Figura 17. Espectro de Massas por IES (modo positivo) da acridin-9-il--metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A) ($M = 308$)

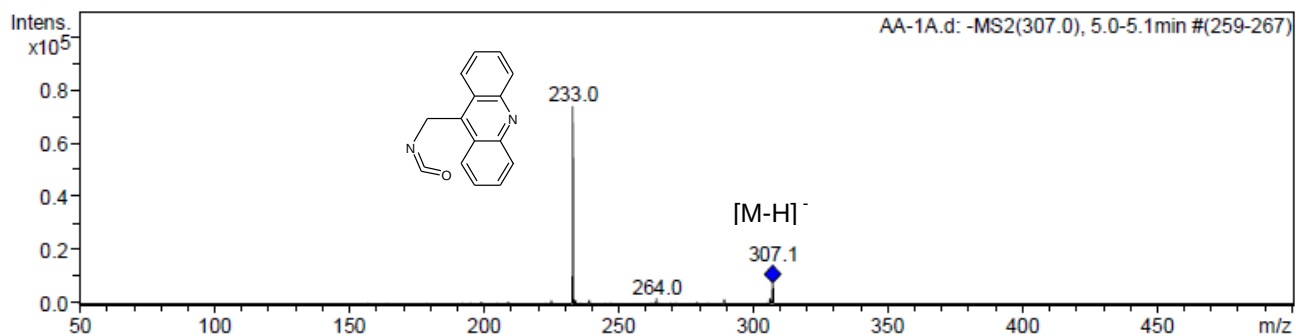
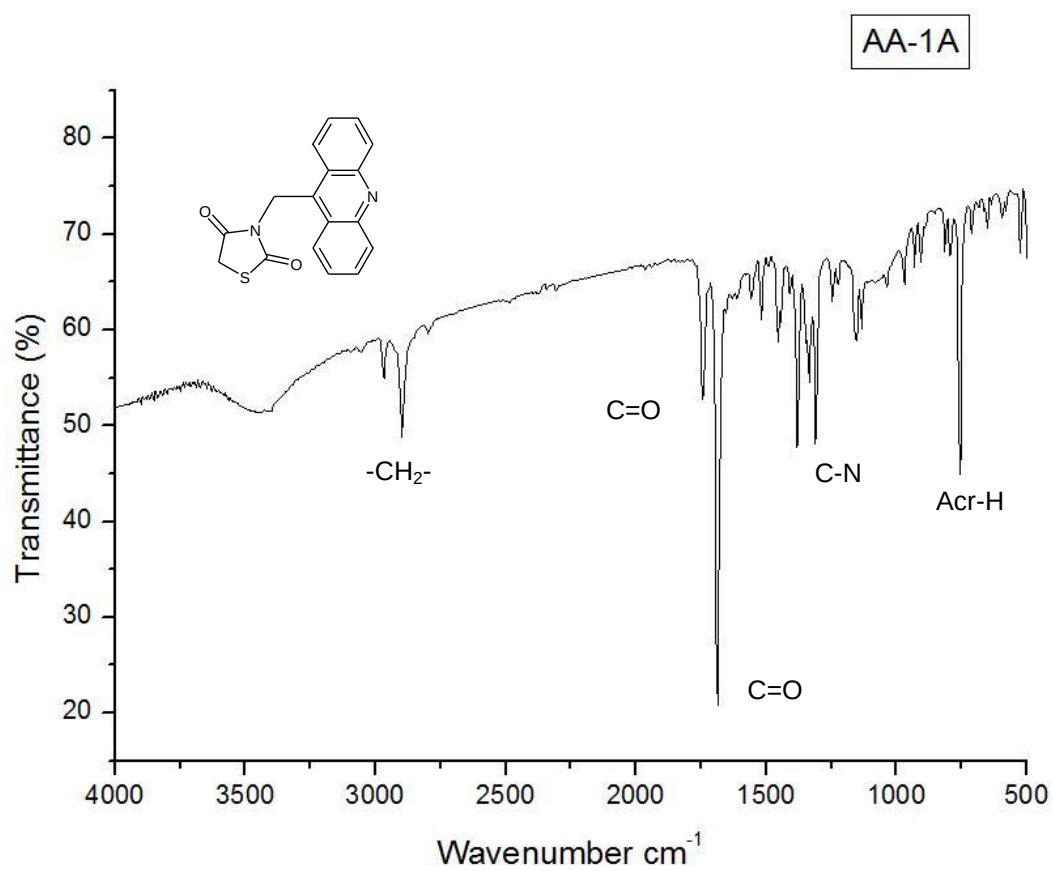


Figura 18. Espectro de Massas por IES (modo negativo) da acridin-9-il--metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A) ($M = 308$)

Espectrometria no Infravermelho (IV)**Figura 19.** Espectro de IV do LPSF-AA1A

5.1.3.2 3-Acridin-9-il--metil-5-acridin-9-il--metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2)

RMN¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

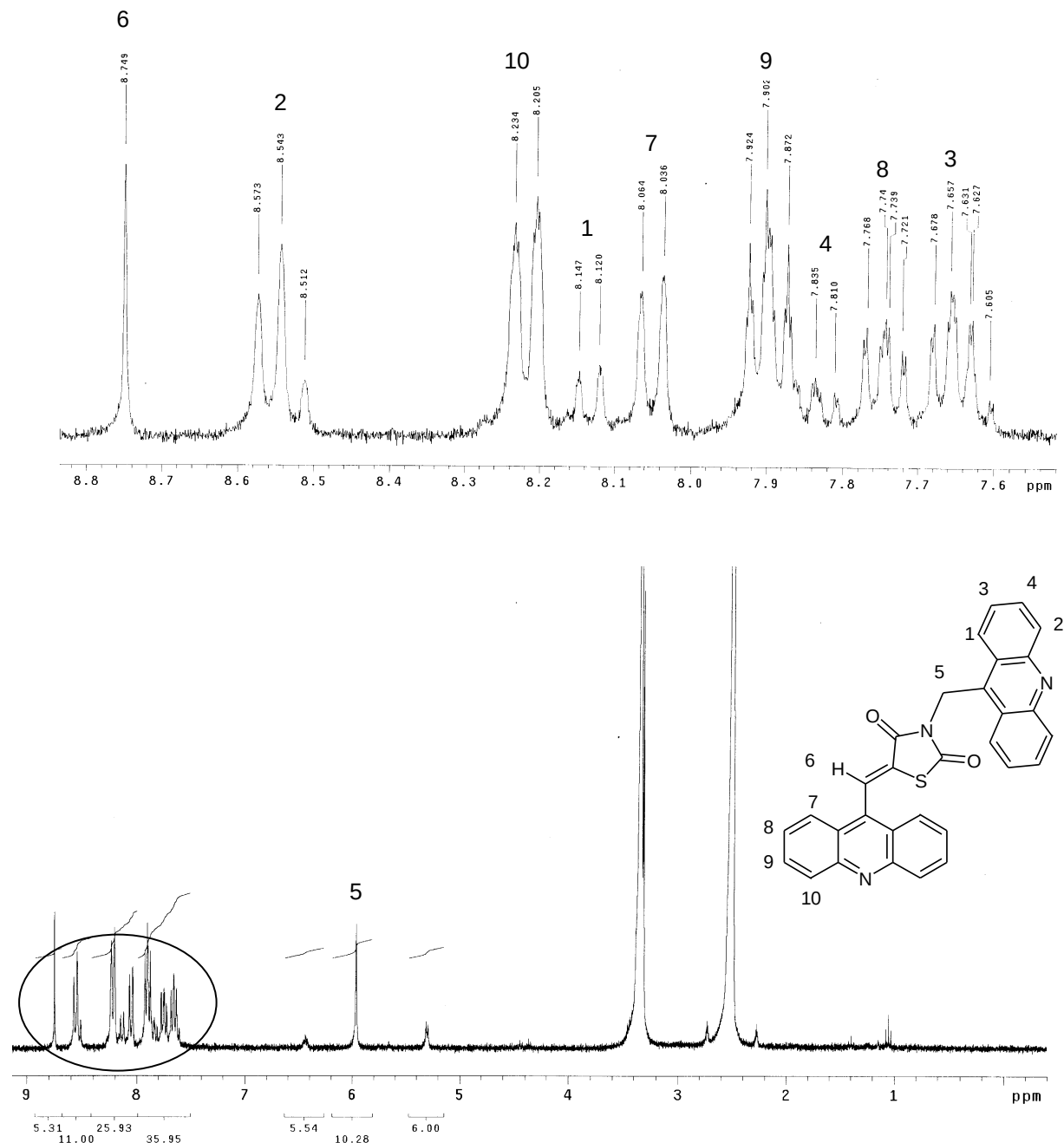


Figura 20. Espectro de RMN¹H do 3-acridin-9-il--metil-5-acridin-9-il--metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2)

N-CH ₂	-C=CH	Acridina-H
5) 5,96 (s, 2H)	6) 8,74 (s, 1H)	3) 7,60 – 7,68 (m, 2H)
		8) 7,72 – 7,77 (m, 2H)
		4) 7,81 – 7,84 (m, 2H)
		9) 7,87 – 7,92 (m, 2H)
		7) 8,04 (d, 2H, J = 8,4 Hz)
		1) 8,13 (d, 2H, J = 8,1 Hz)
		10) 8,21 (d, 2H, J = 8,7 Hz)
		2) 8,54 (d, 2H, J = 9,0 Hz)

Espectrometria de Massas (MS)

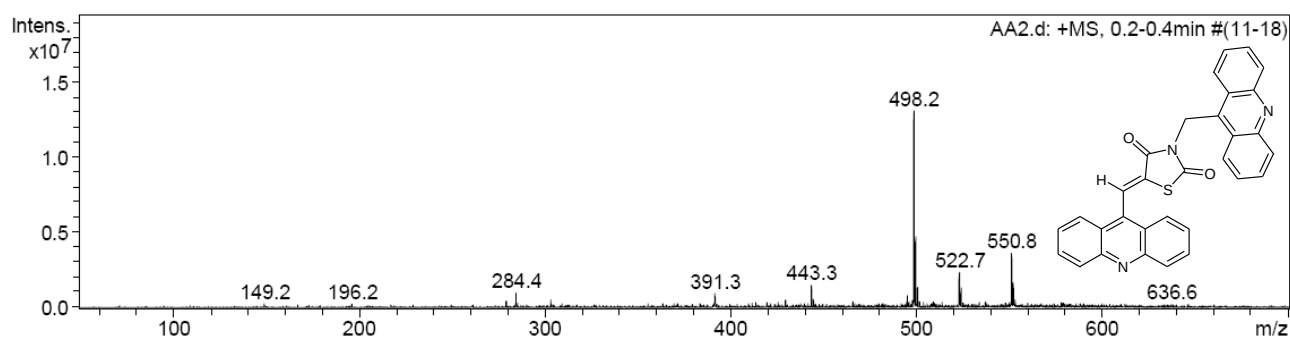


Figura 21. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2) (M = 497)

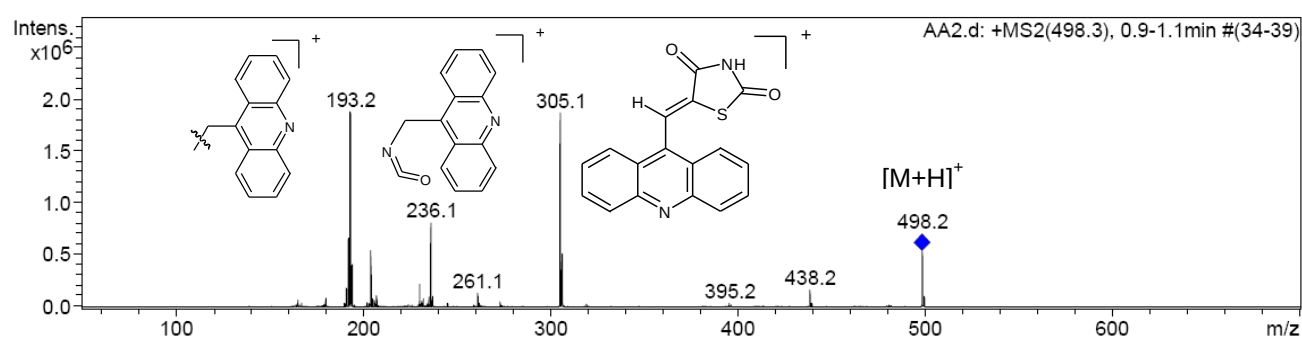


Figura 22. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2) (M = 497)

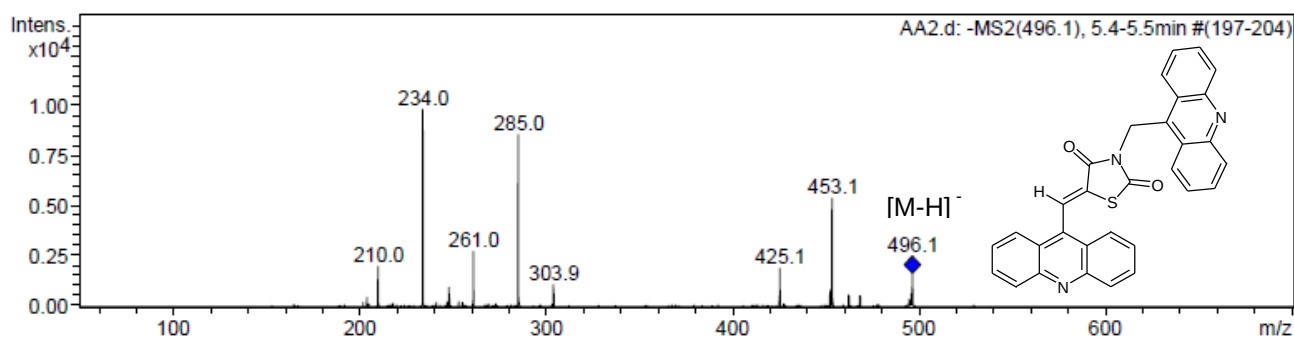


Figura 23. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2) ($M = 497$)

Espectrometria no Infravermelho (IV)

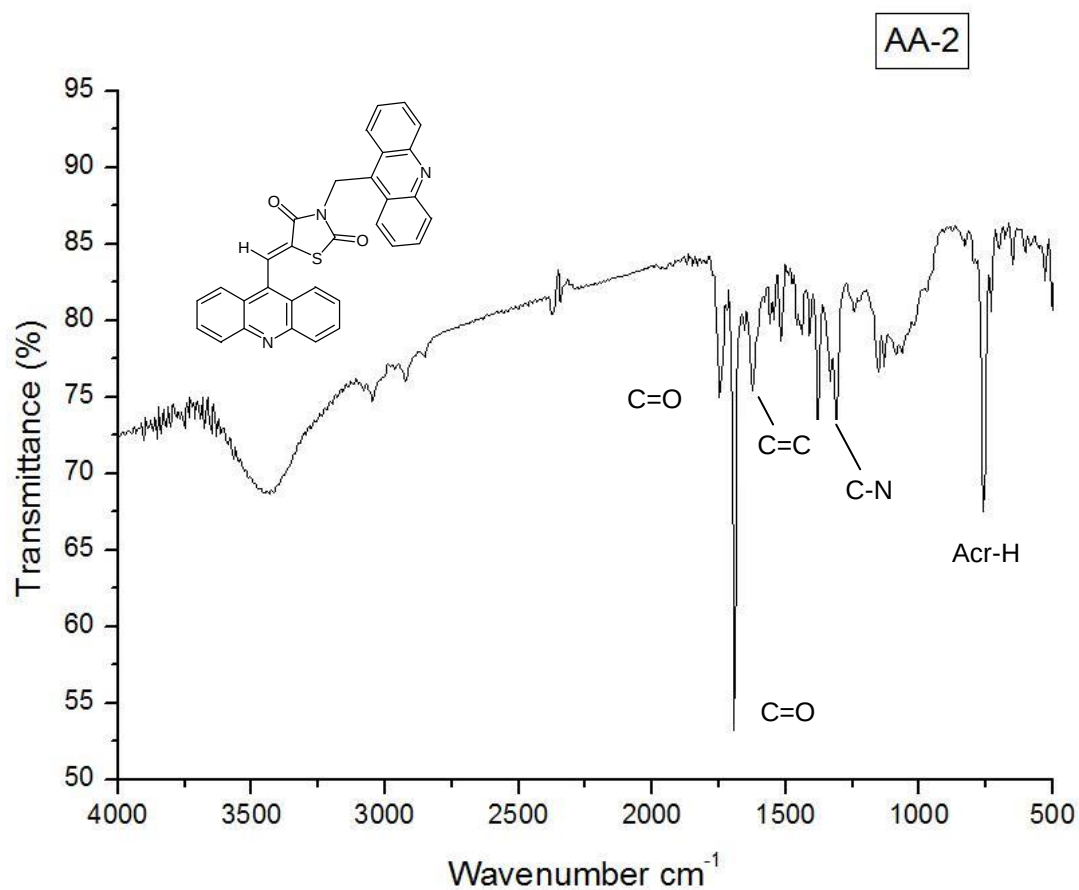


Figura 24. Espectro de IV do LPSF-AA2

5.1.3.3 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3)

RMN¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

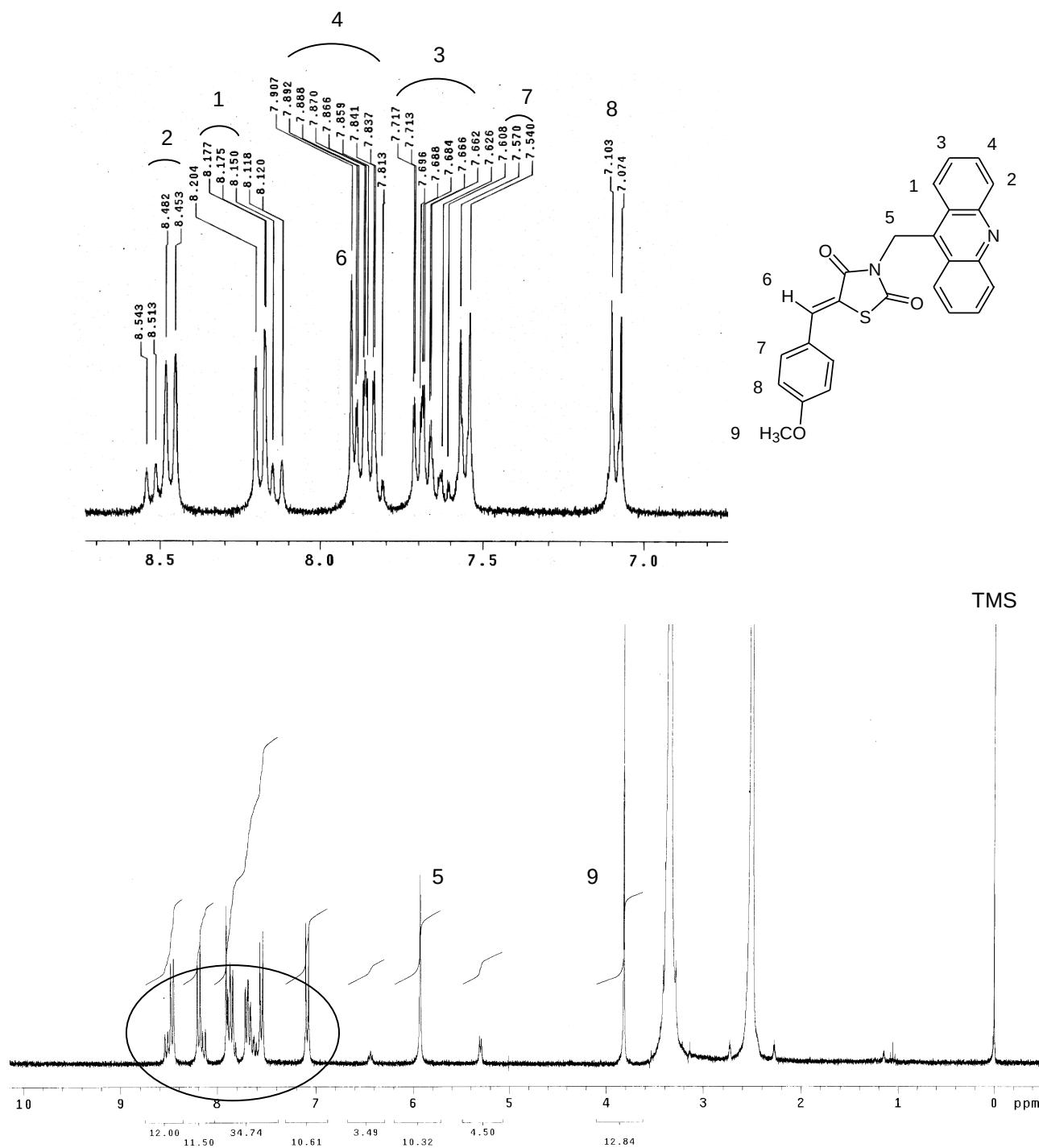


Figura 25. Espectro de RMN¹H do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3)

-O-CH ₃	-CH ₂ -N	Ar-H	Acridina-H	-C=CH
9) 3,81 (s, 3H)	5) 5,92 (s, 2H)	8) 7,08 (d, 2H, J = 8,7 Hz) 7) 7,55 (d, 2H, J = 8,7 Hz)	3) 7,60 – 7,71 (m, 2H) 4) 7,81 – 7,89 (m, 2H) 1) 8,16 (d, 2H, J = 8,4 Hz) 2) 8,49 (d, 2H, J = 9,0 Hz)	6) 7,90 (s, 1H)

Espectrometria de Massas (MS)

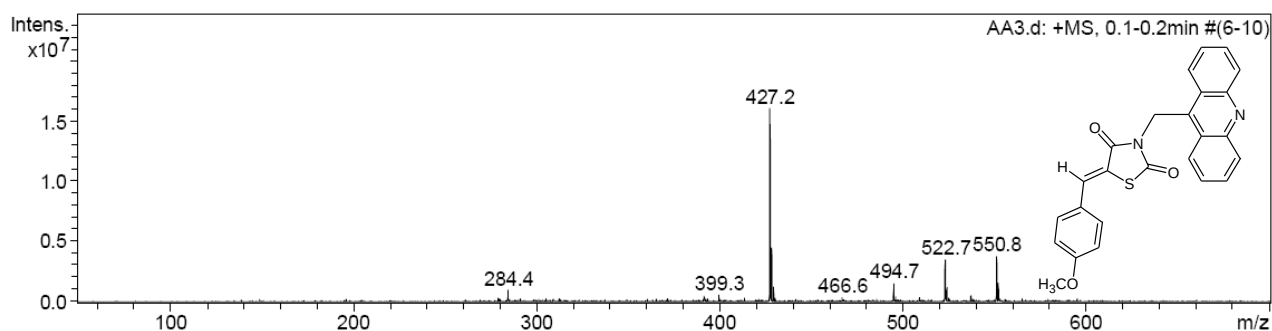


Figura 26. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3) (M = 426)

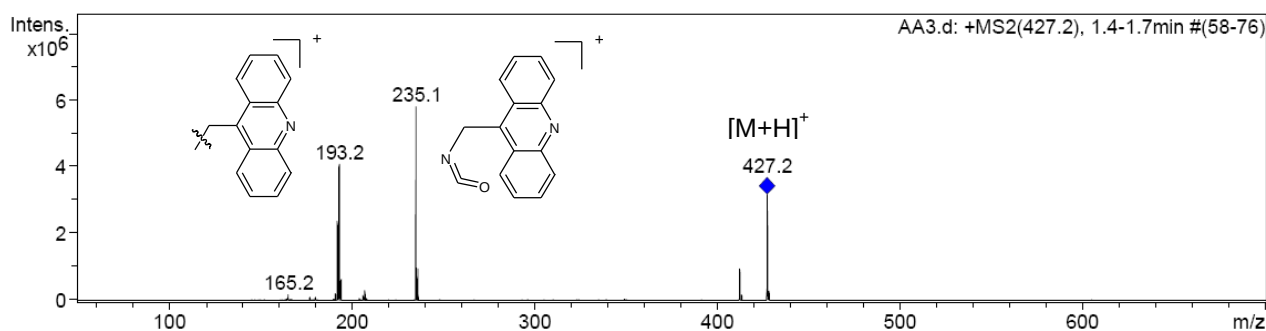


Figura 27. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3) (M = 426)

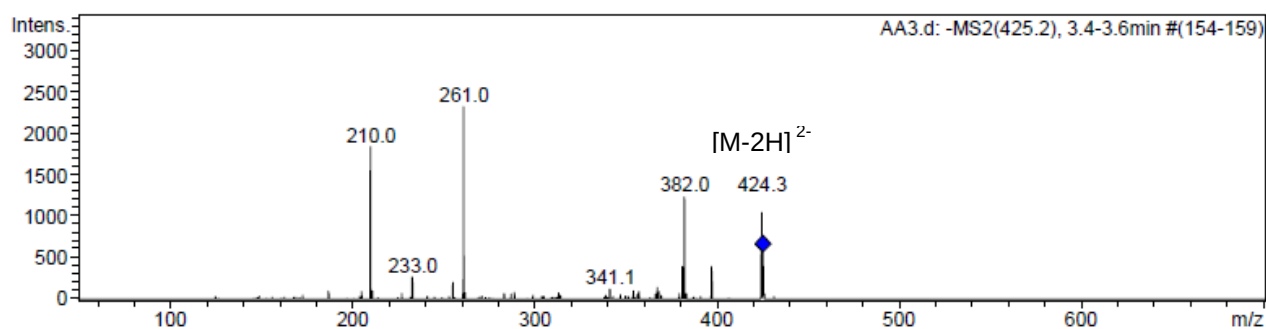


Figura 28. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3) ($M = 426$)

Espectrometria no Infravermelho (IV)

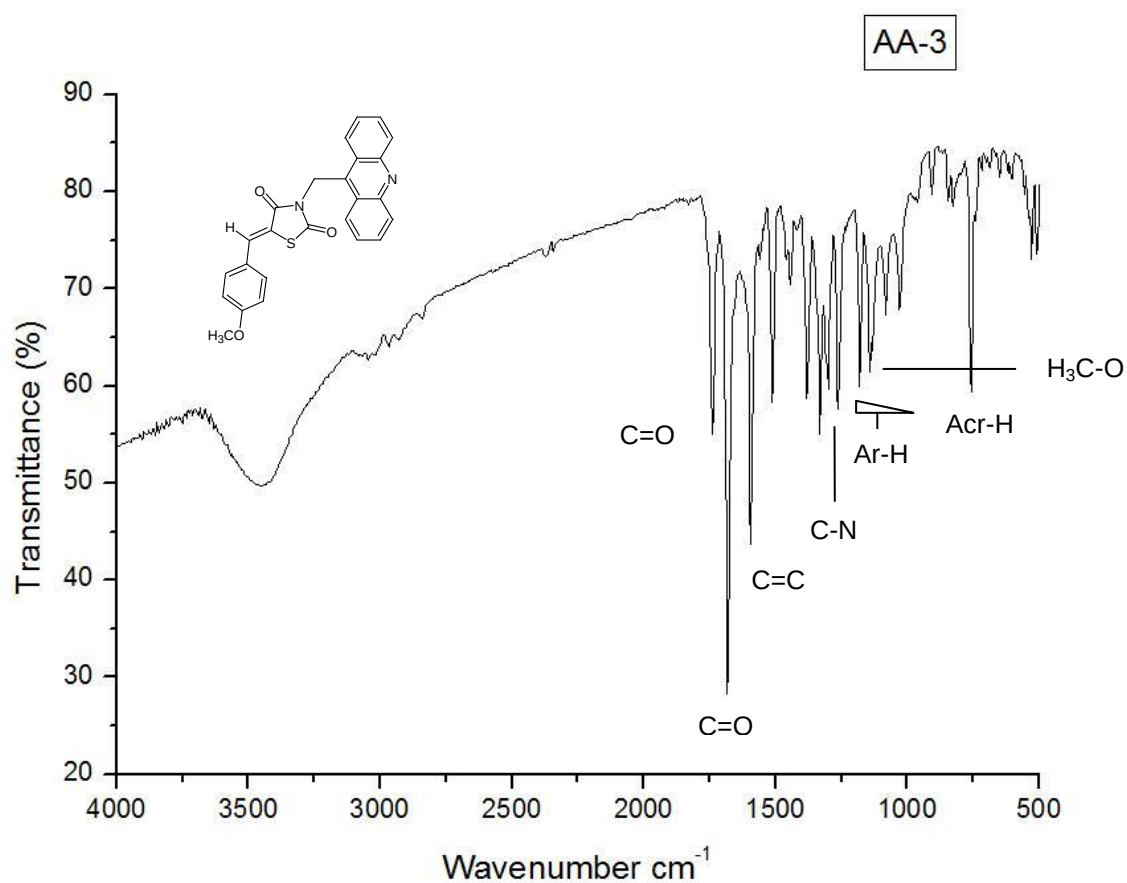


Figura 29. Espectro de IV do LPSF-AA3

5.1.3.4 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4)

RMN¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

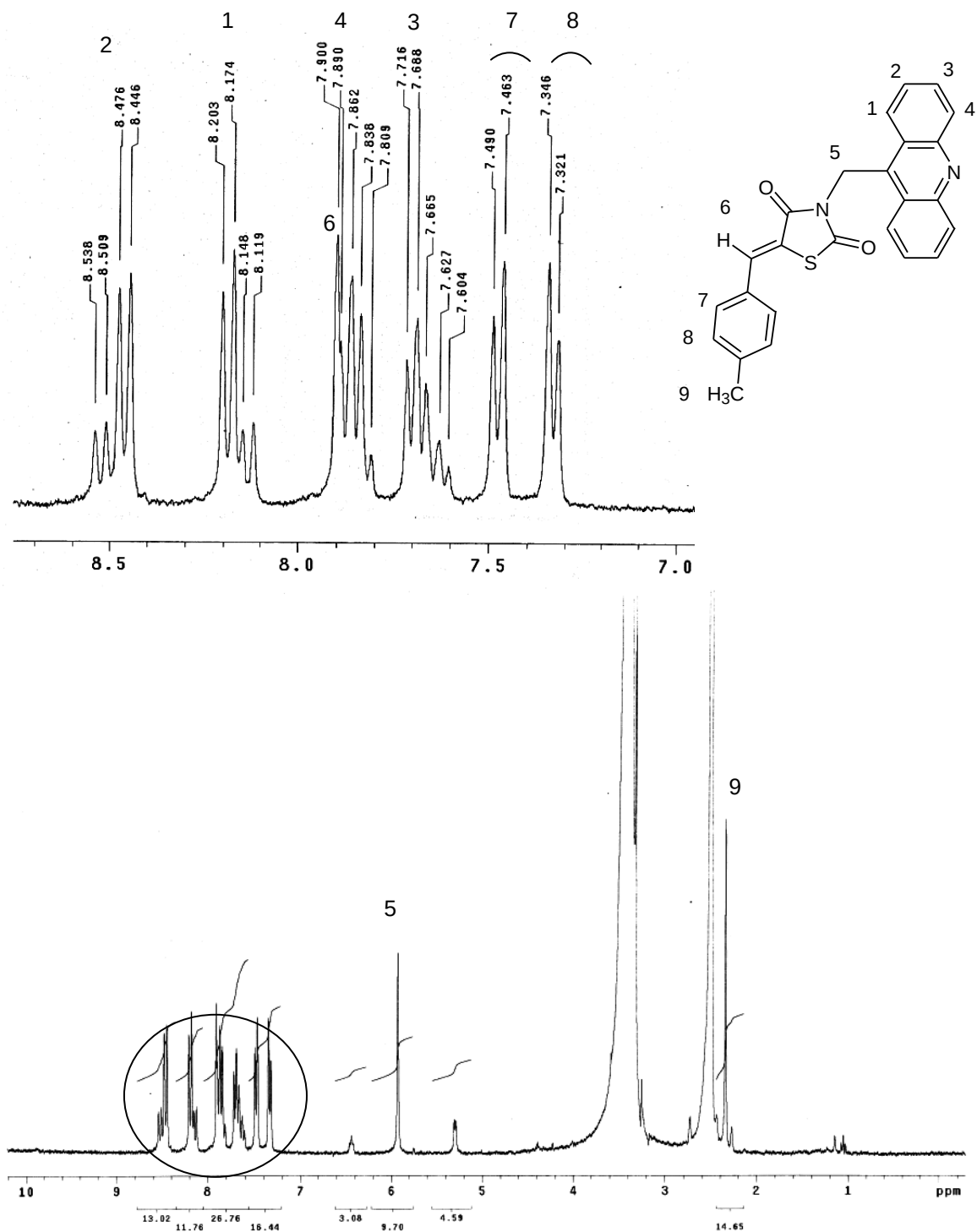


Figura 30. Espectro de RMN¹H do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4)

-CH ₃	CH ₂ -N	Ar-H	Acridina-H	-C=CH
9) 2,34 (s, 3H)	5) 5,92 (s, 2H)	8) 7,33 (d, 2H, J = 8,1 Hz) 7) 7,47 (d, 2H, J = 8,1 Hz)	3) 7,60 – 7,71 (m, 2H) 4) 7,81 – 7,86 (m, 2H) 1) 8,16 (d, 2H, J = 8,7 Hz) 2) 8,49 (d, 2H, J = 8,7 Hz)	6) 7,90 (s, 1H)

Espectrometria de Massas (MS)

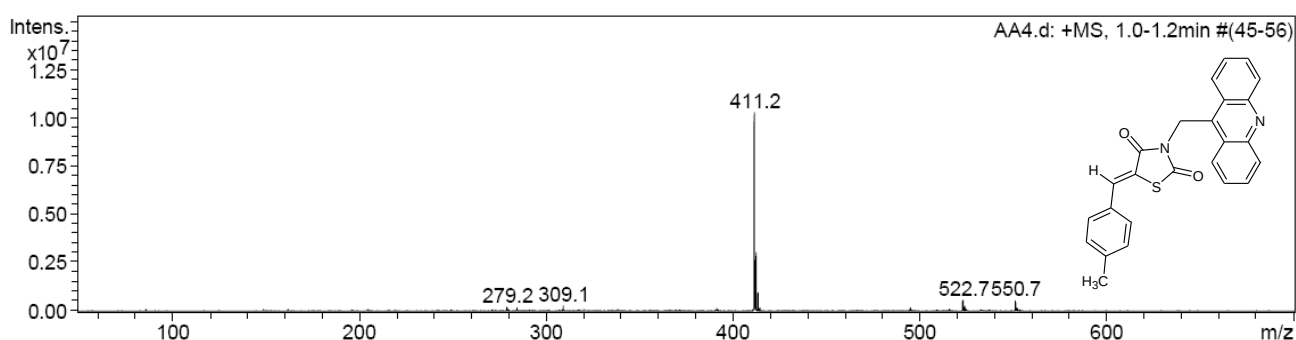


Figura 31. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4) (M = 410)

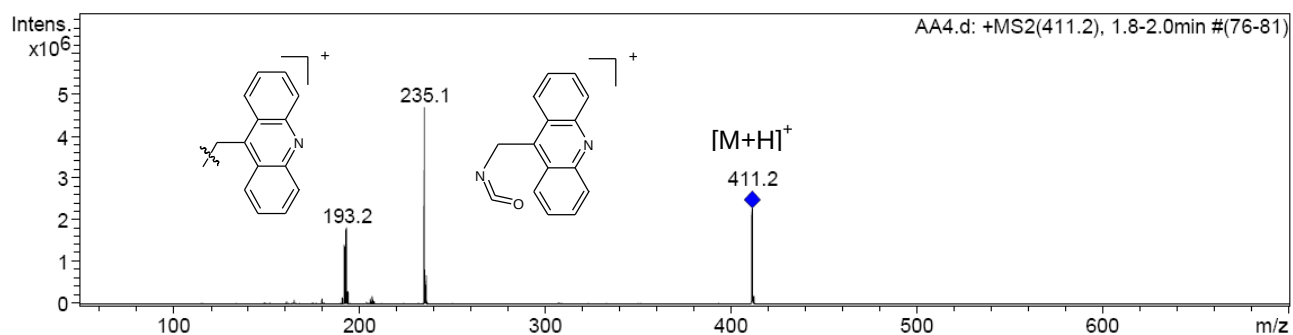


Figura 32. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4) (M = 410)

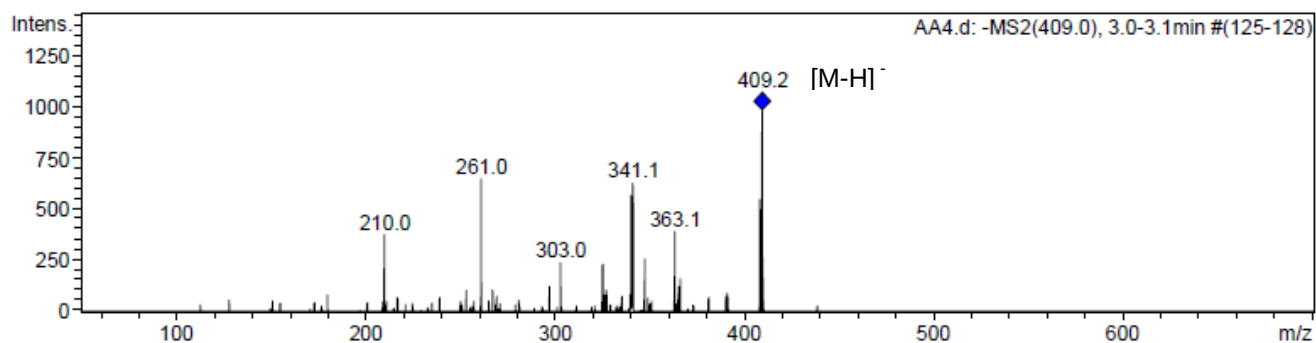


Figura 33. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4) ($M = 410$)

Espectrometria no Infravermelho (IV)

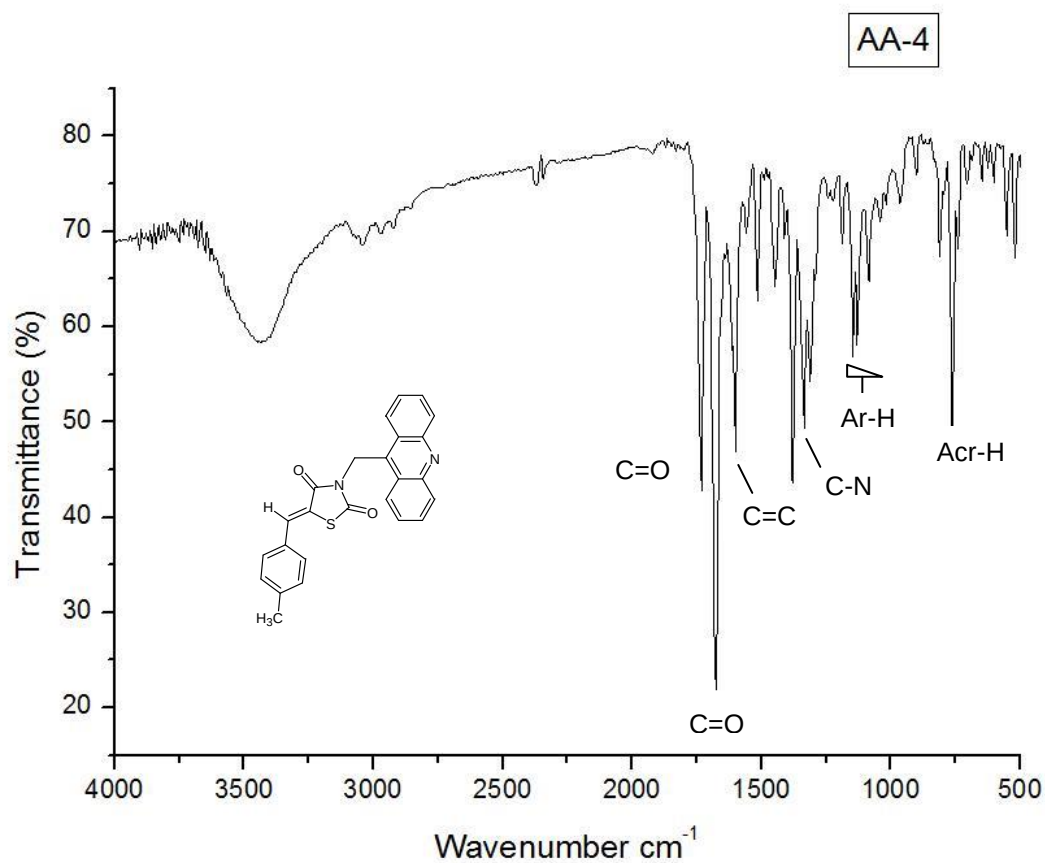


Figura 34. Espectro de IV do LPSF-AA4

5.1.3.5 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5)

RMN¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

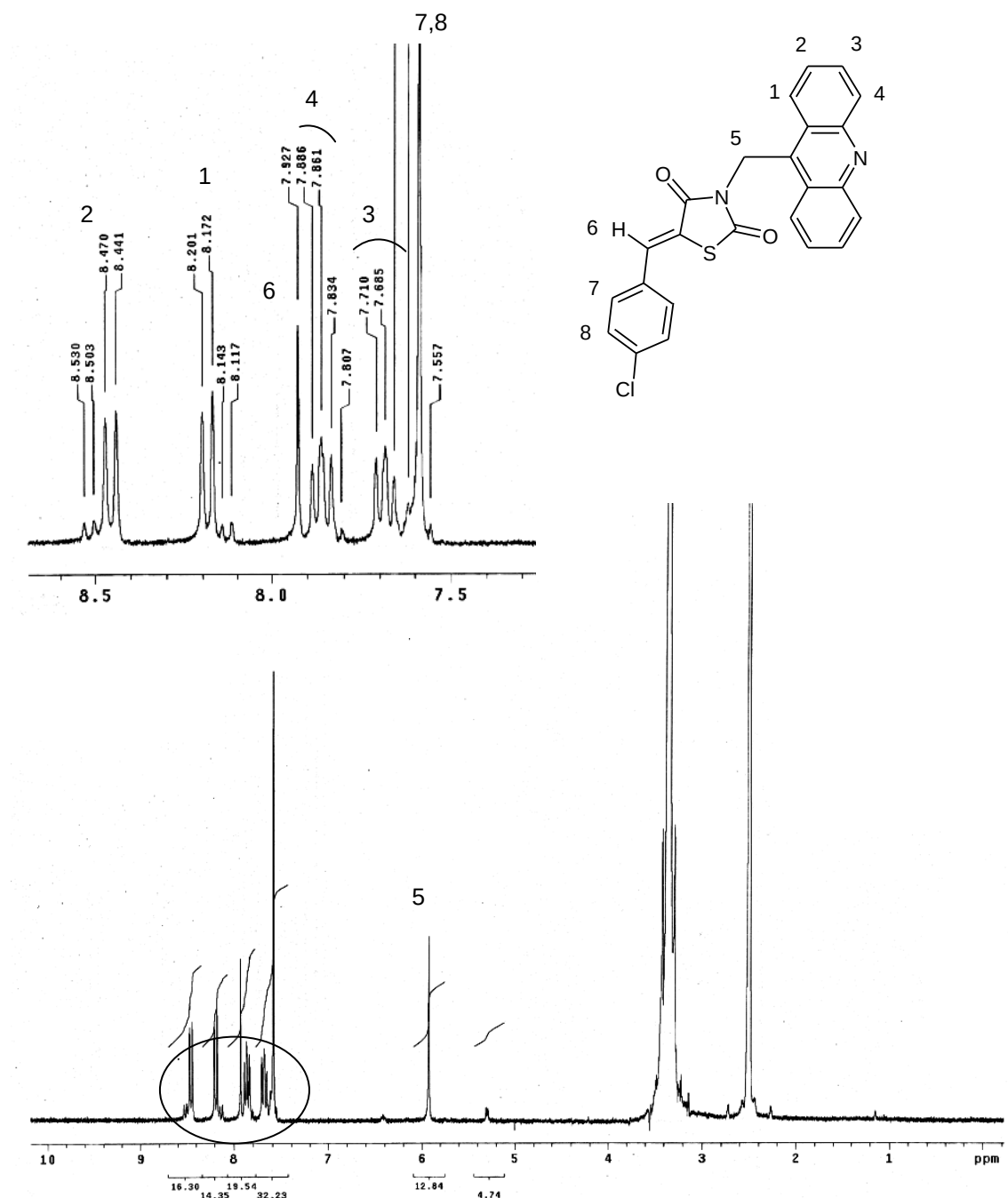


Figura 35. Espectro de RMN¹H do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5)

CH ₂ -N	Ar-H	Acridina-H	-C=CH
5) 5,92 (s, 2H)	7,8) 7,61 – 7,55 (m, 4H)	3) 7,65 – 7,71 (m, 2H) 4) 7,83 – 7,88 (m, 2H) 1) 8,15 (d, 2H, J = 8,7 Hz) 2) 8,48 (d, 2H, J = 8,7 Hz)	6) 7,92 (s, 1H)

Espectrometria de Massas (MS)

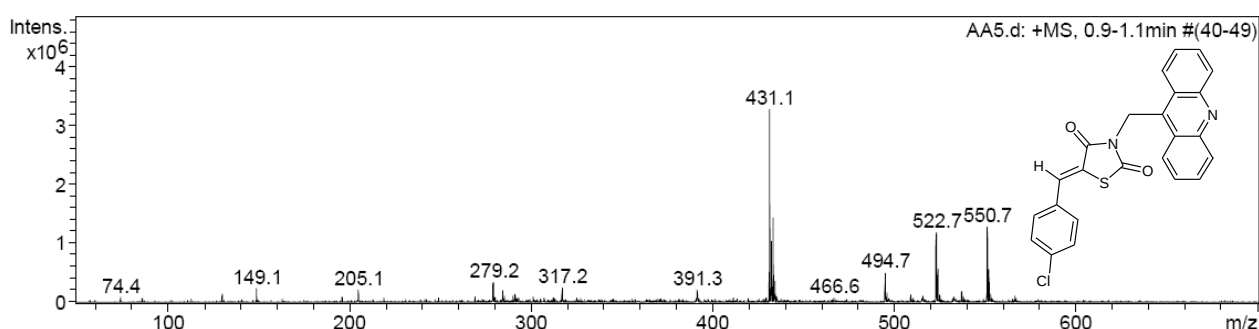


Figura 36. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5) (M = 430)

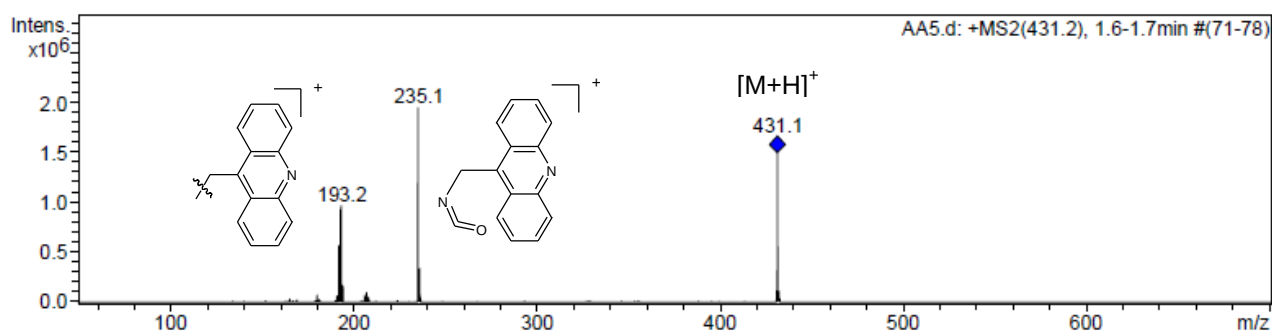


Figura 37. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5) (M = 430)

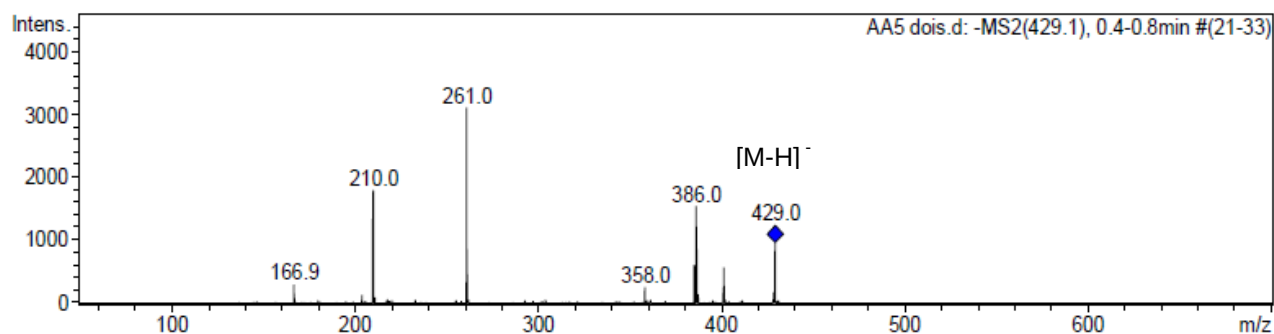


Figura 38. Espectro de Massas por IES (modo negativo) da 3-acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5) ($M = 430$)

Espectrometria no Infravermelho (IV)

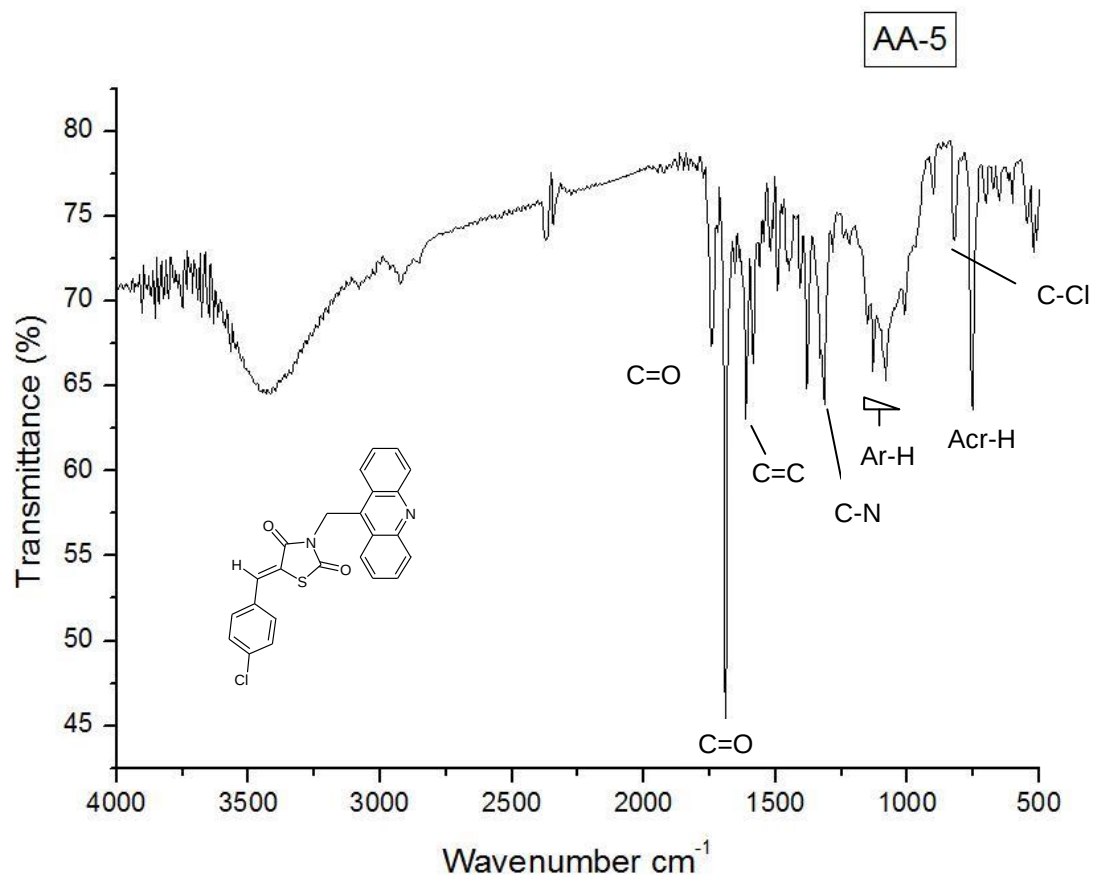


Figura 39. Espectro de IV do LPSF-AA5

5.1.3.6 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6)

RMN¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

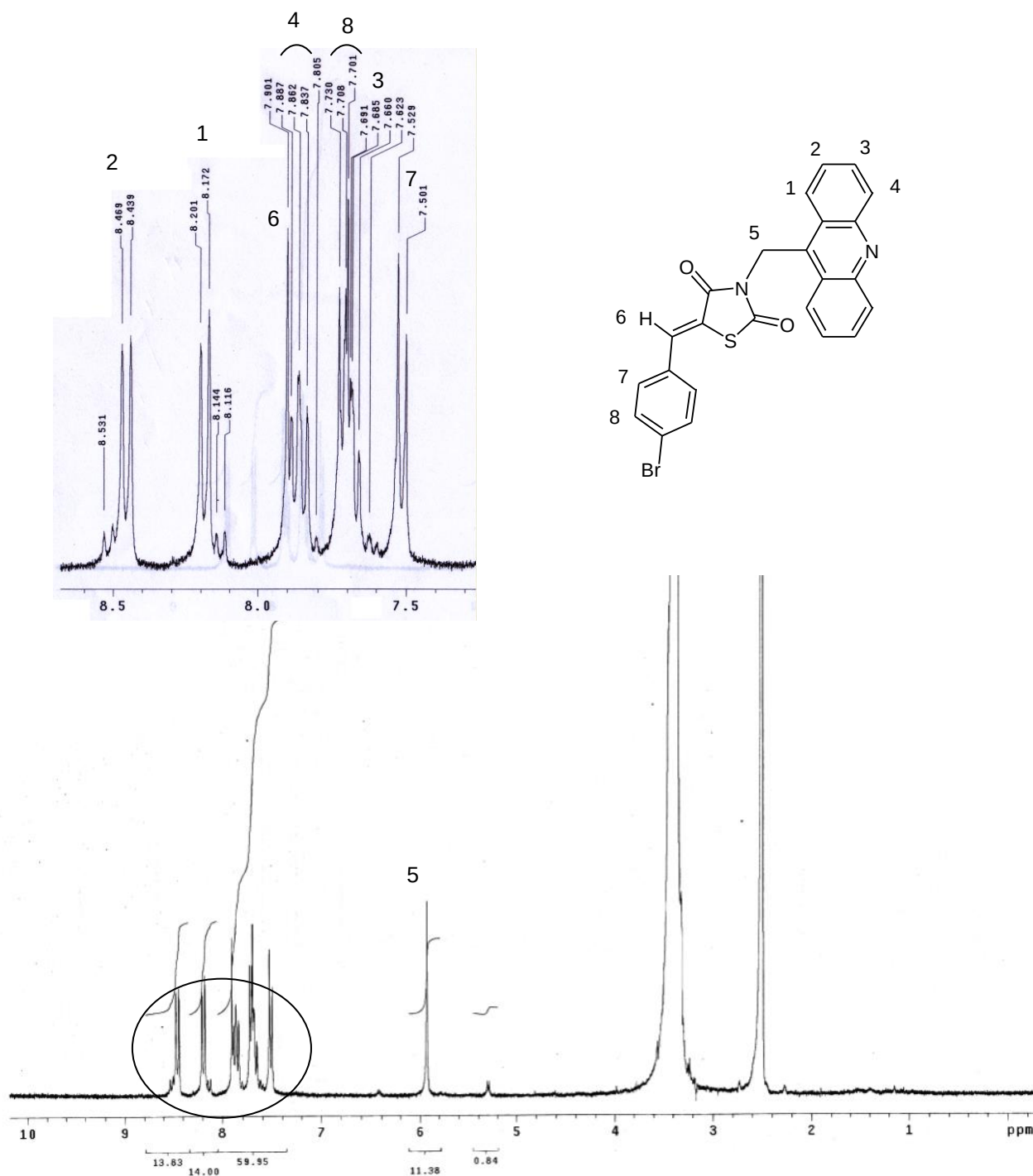


Figura 40. Espectro de RMN¹H do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6)

CH ₂ -N	Ar-H	Acridina-H	-C=CH
5) 5,92 (s, 2H)	7) 7,51 (d, 2H, J = 8,4 Hz) 8) 7,70 – 7,73 (m, 2H)	3) 7,62 – 7,69 (m, 2H) 4) 7,84 – 7,88 (m, 2H) 1) 8,15 (d, 2H, J = 8,7 Hz) 2) 8,48 (d, 2H, J = 9,0 Hz)	6) 7,90 (s, 1H)

Espectrometria de Massas (MS)

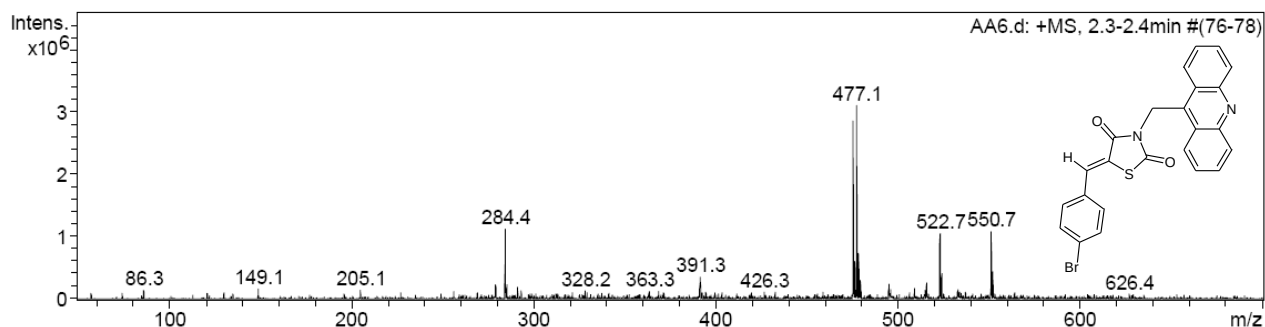


Figura 41. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6) (M = 474)

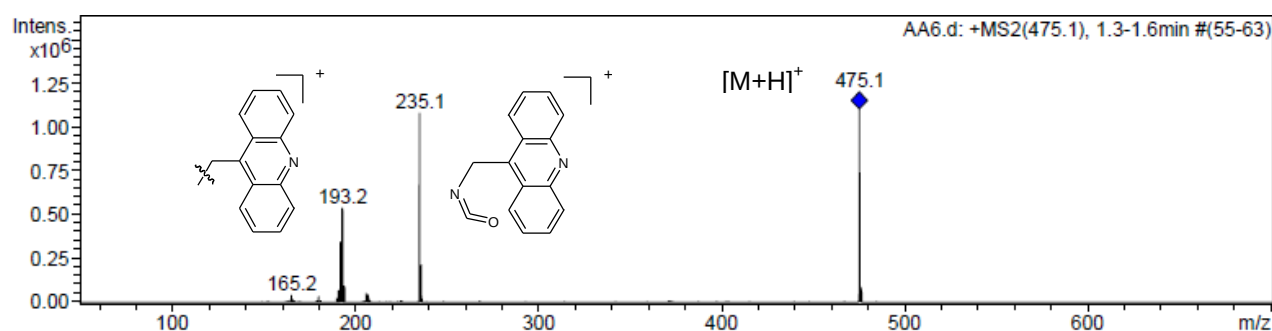


Figura 42. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6) (M = 474)

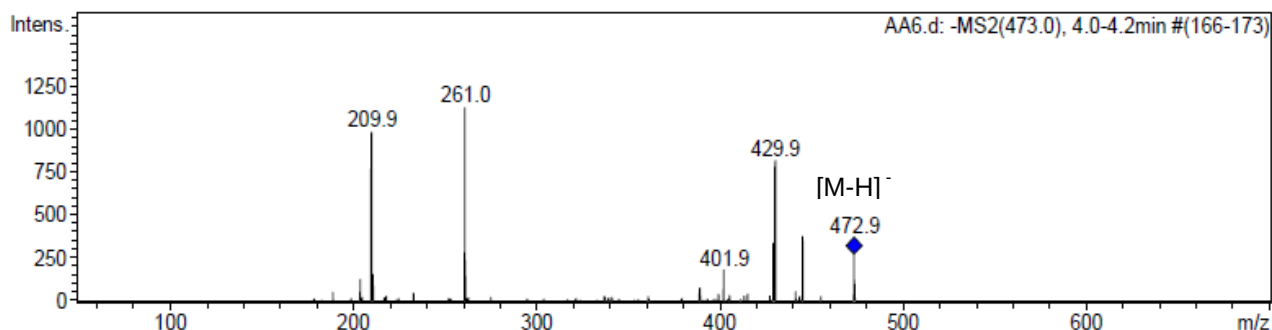


Figura 43. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6) (M = 474)

Espectrometria no Infravermelho (IV)

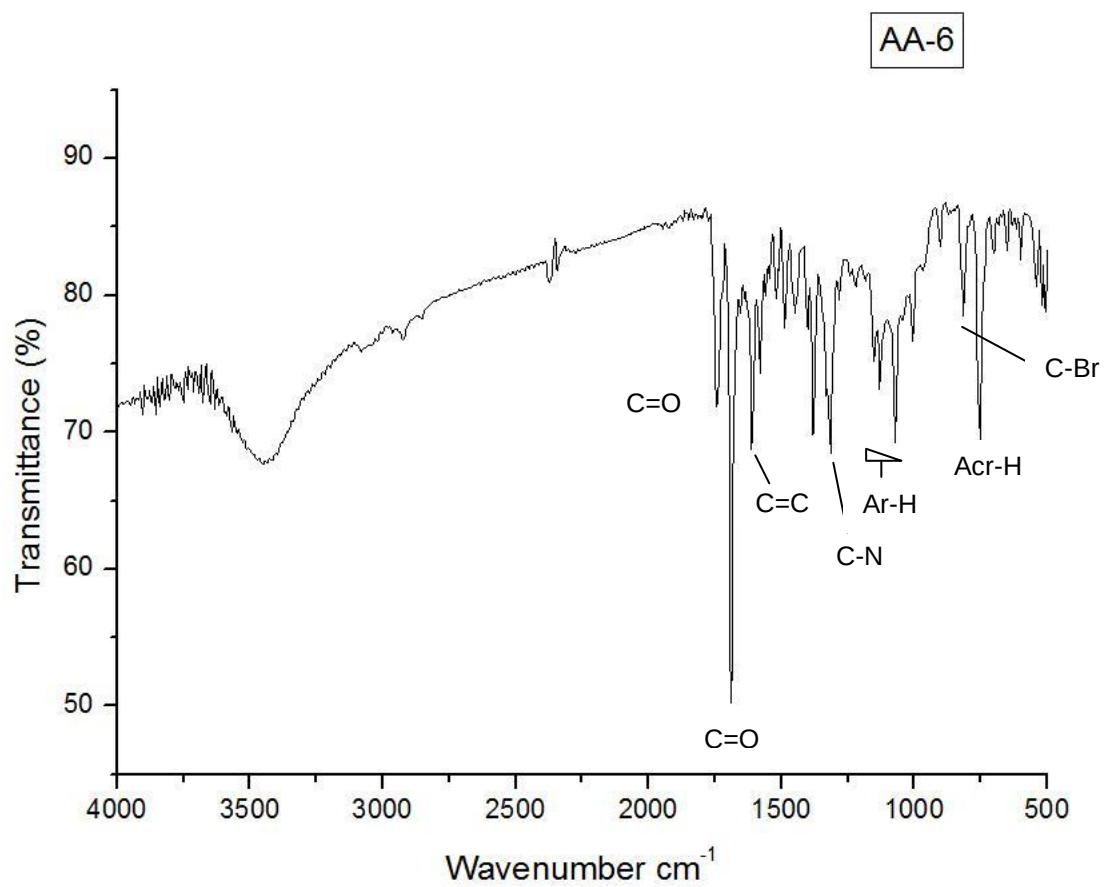


Figura 44. Espectro de IV do LPSF-AA6

5.1.3.7 3-Acridin-9-il-metil-5-(2,4-dimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA7)

RMN¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

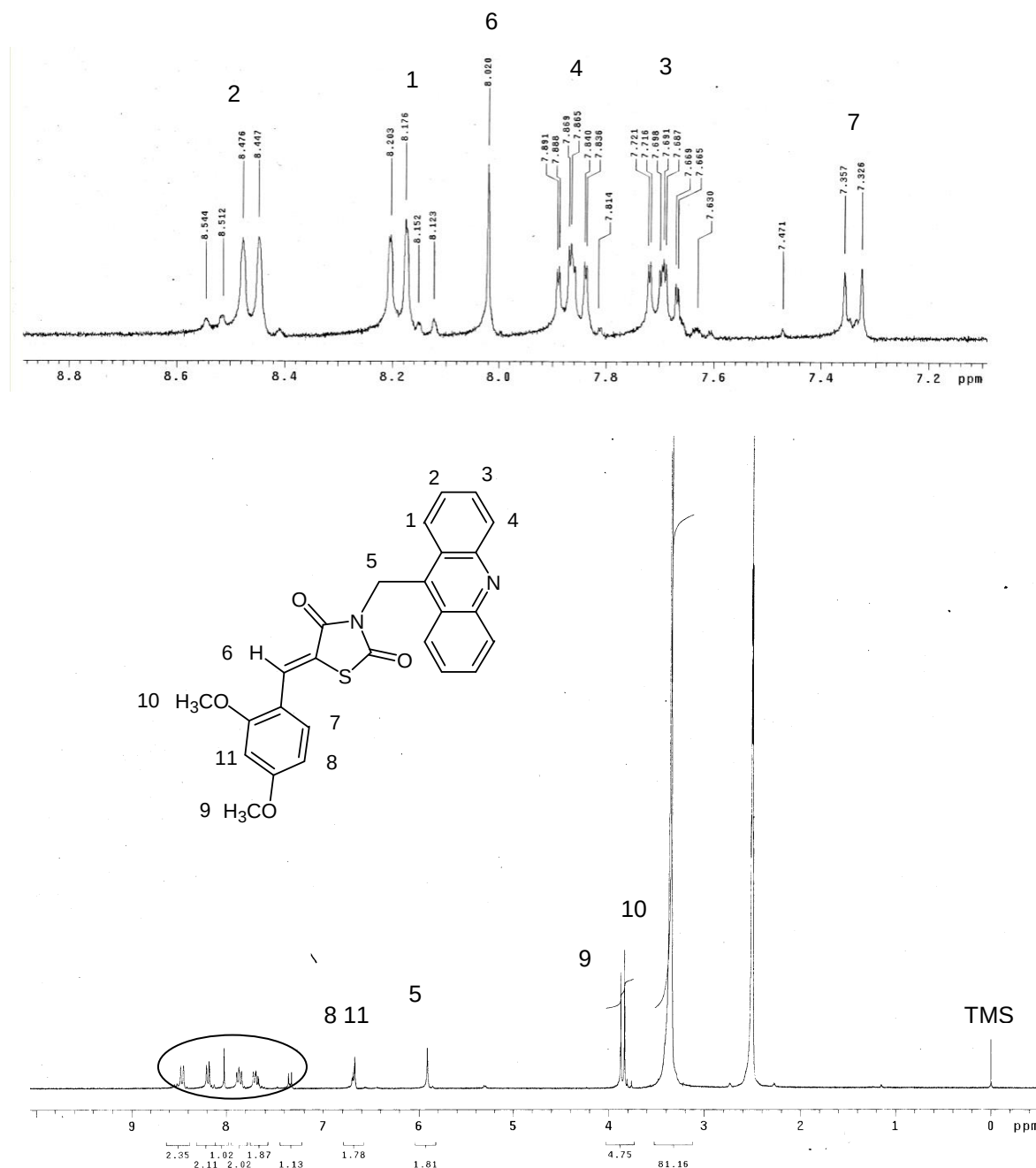


Figura 45. Espectro de RMN¹H do 3-acridin-9-il-metil-5-(2,4-dimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA7)

-OCH ₃	- CH ₂ -N	Ar-H	Acridina-H	-C=CH
9) 3,83 (s, 3H) 10) 3,87 (s, 3H)	5) 5,91 (s, 2H)	8) 6,67 (d, 1H, J = 2,4 Hz) 11) 6,69 (d, 1H, J = 2,1 Hz) 7) 7,34 (d, 1H, J = 9,3 Hz)	3) 7,66 – 7,72 (m, 2H) 4) 7,84 – 7,89 (m, 2H) 1) 8,18 (d, 1H, J = 8,1 Hz) 2) 8,46 (d, 2H, J = 8,7 Hz)	6) 8,02 (s, 1H)

Espectrometria de Massas (MS)

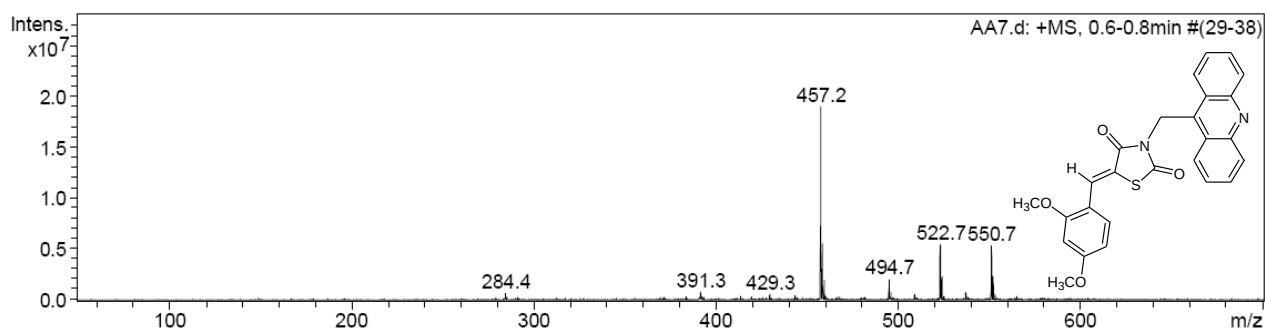


Figura 46. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(2,4-dimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA7) (M = 456)

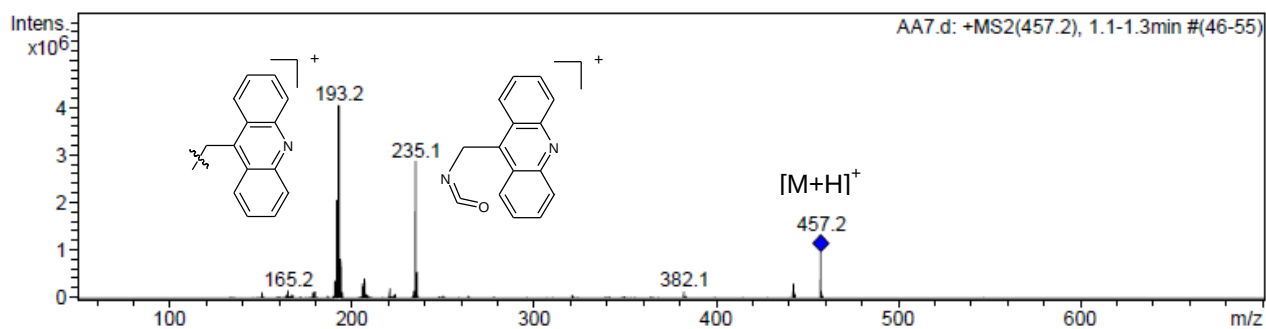


Figura 47. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(2,4-dimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA7) (M = 456)

5.1.3.8 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8)

RMN¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

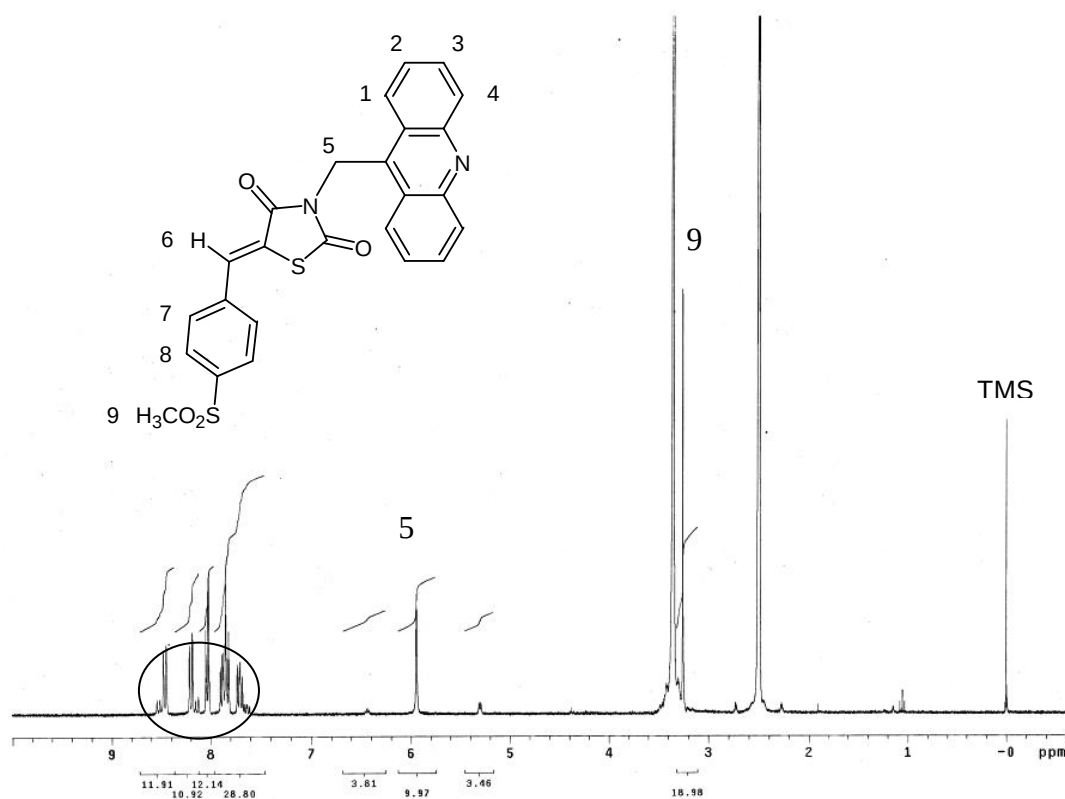
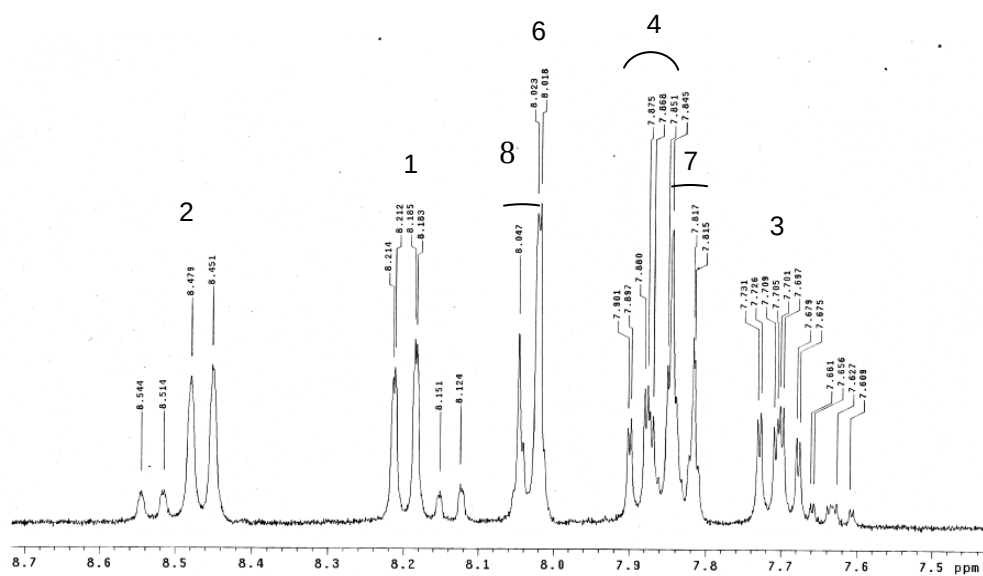


Figura 48. Espectro de RMN¹H do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8)

-SO ₂ CH ₃	CH ₂ -N	Acridina-H	Ar-H	-C=CH
9) 3,25 (s, 3H)	5) 5,94 (s, 2H)	3) 7,67 – 7,73 (m, 2H) 4) 7,85 – 7,90 (m, 2H) 1) 8,19 (d, 2H, J = 8,1 Hz) 2) 8,46 (d, 2H, J = 8,4 Hz)	8) 8,03 (d, 2H, J = 7,2 Hz) 7) 7,83 (d, 2H, J = 8,4 Hz)	6) 8,02 (s, 1H)

Espectrometria de Massas (MS)

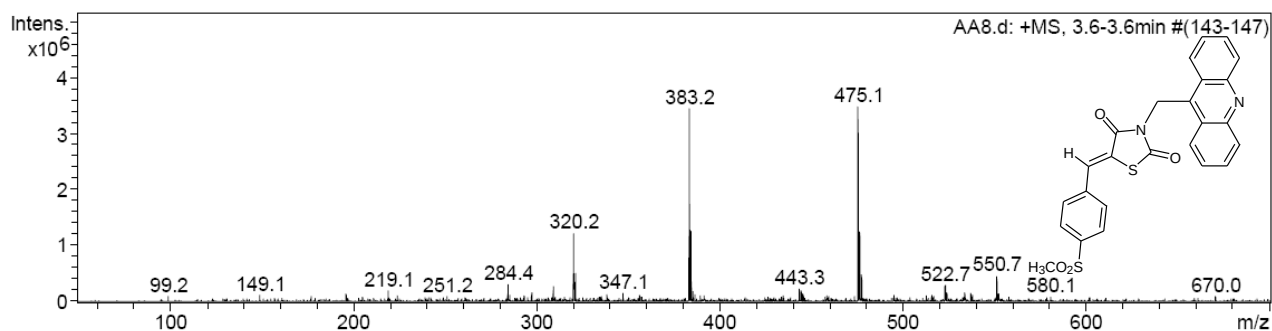


Figura 49. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8) (M = 474)

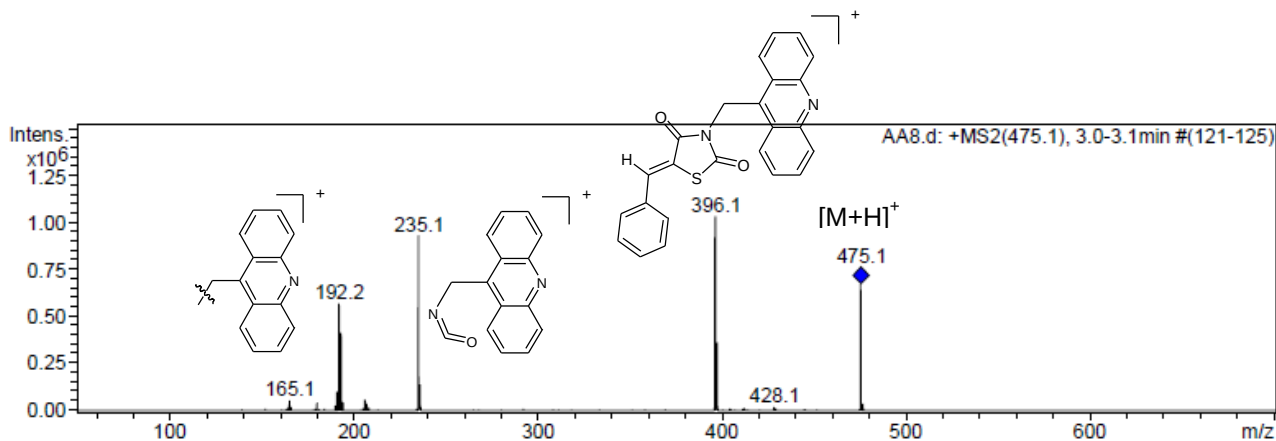


Figura 50. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8) (M = 474)

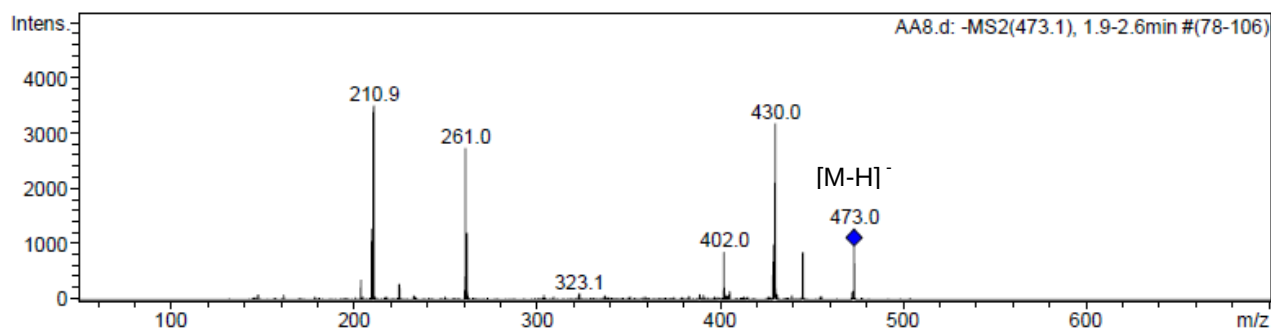


Figura 51. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8) ($M = 474$)

Espectrometria no Infravermelho (IV)

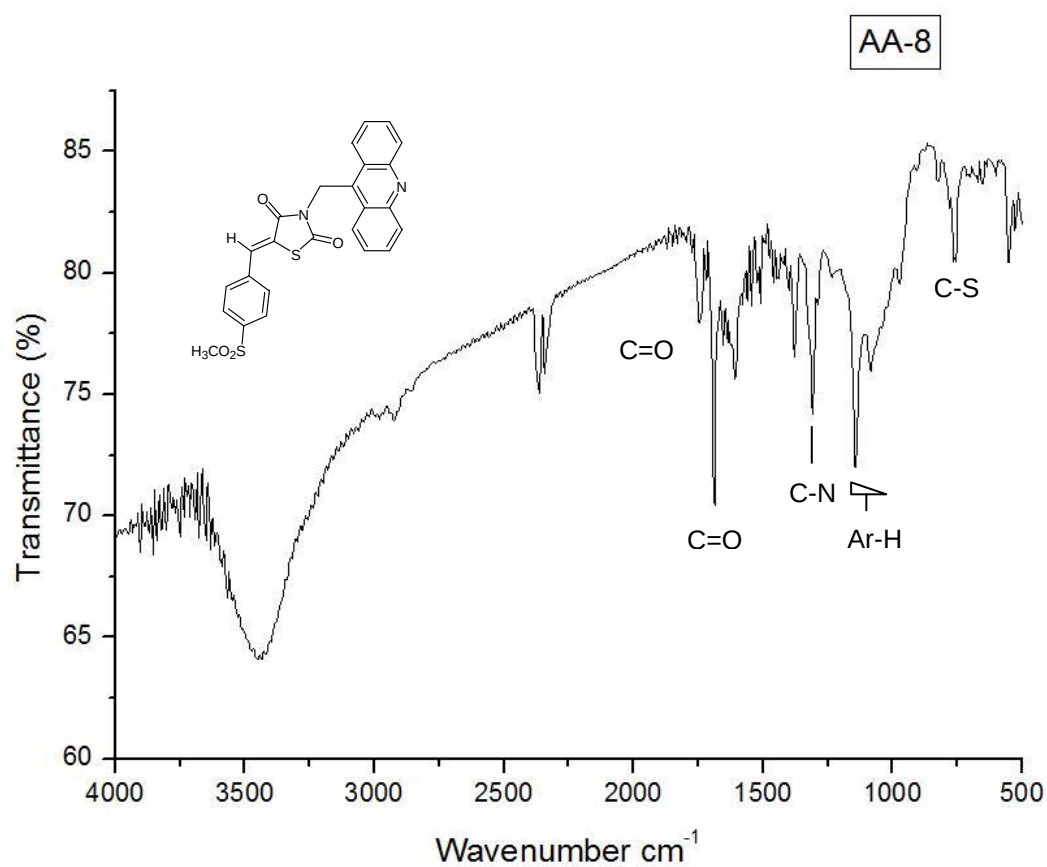


Figura 52. Espectro de IV do LPSF-AA8

5.1.3.9 3-Acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9)

^1H RMN (300 MHz, δ ppm, DMSO- d_6)

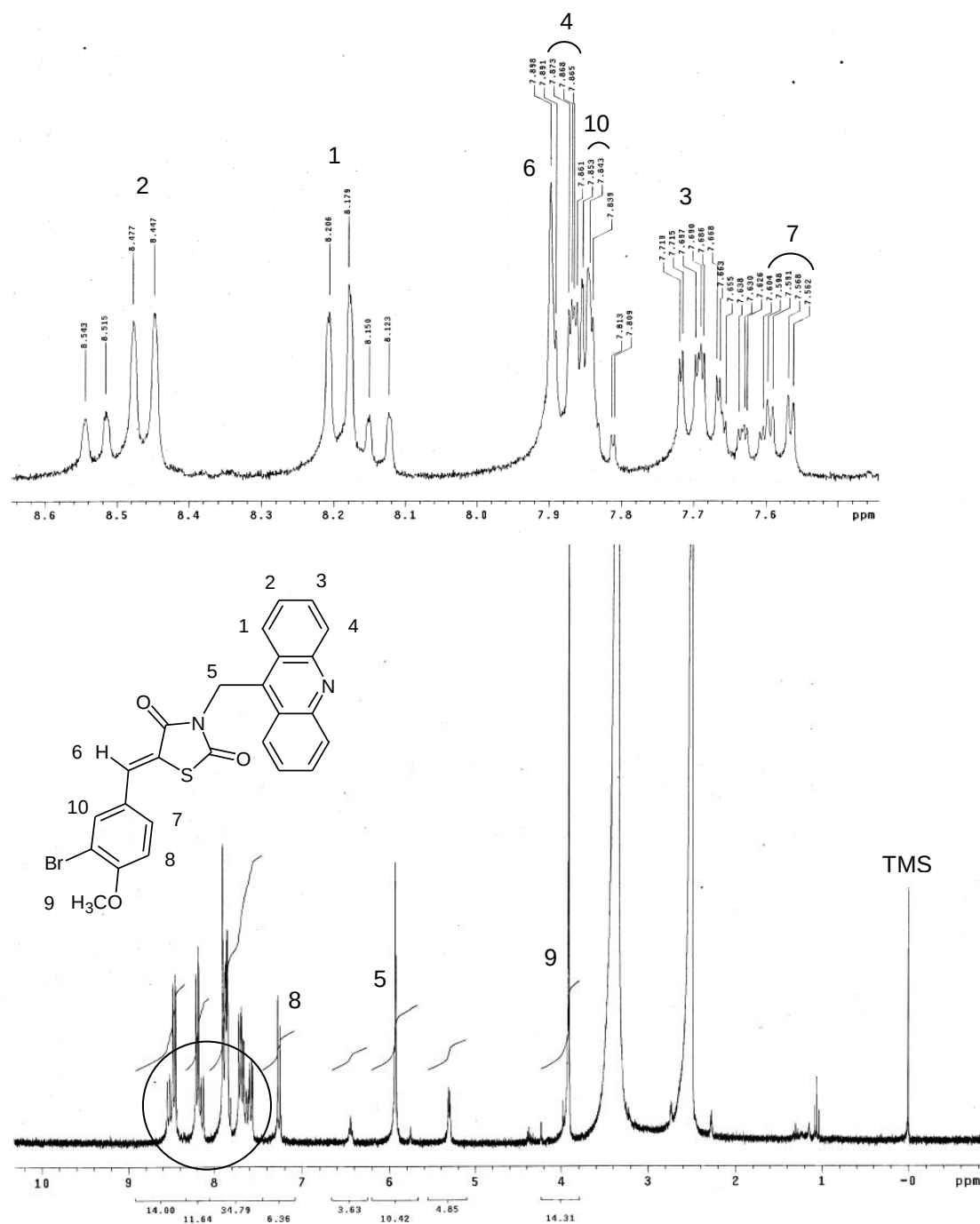


Figura 53. Espectro de RMN ^1H do 3-acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9)

-OCH ₃	CH ₂ -N	Ar-H	Acridina-H	-C=CH
9) 3,99 (s, 3H)	5) 5,92 (s, 2H)	8) 7,26 (d, 1H, J = 9,0 Hz) 7) 7,58 (d, 1H, J = 8,7 Hz) 10) 7,84 (s, 1H)	3) 7,65 – 7,72 (m, 2H) 4) 7,86 - 7,87 (m, 2H) 1) 8,19 (d, 2H, J = 8,1 Hz) 2) 8,46 (d, 2H, J = 8,4 Hz)	6) 7,89 (s, 1H)

Espectrometria de Massas (MS)

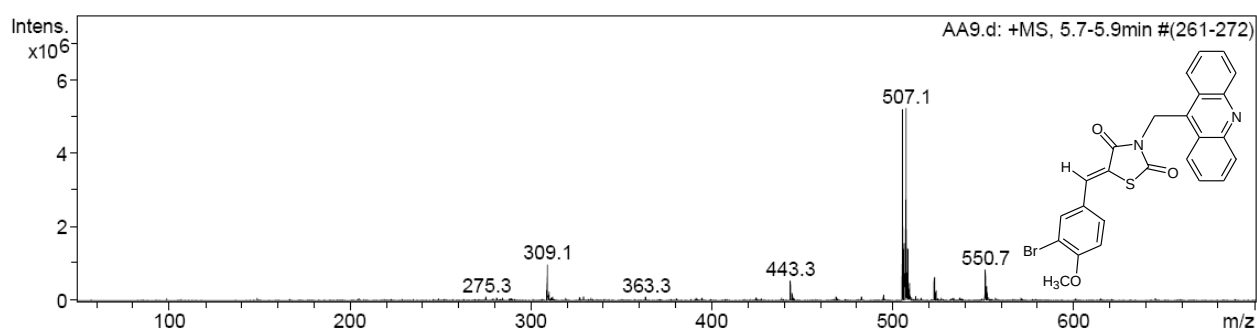


Figura 54. Espectro de Massas por IES do 3-acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9) (M = 504)

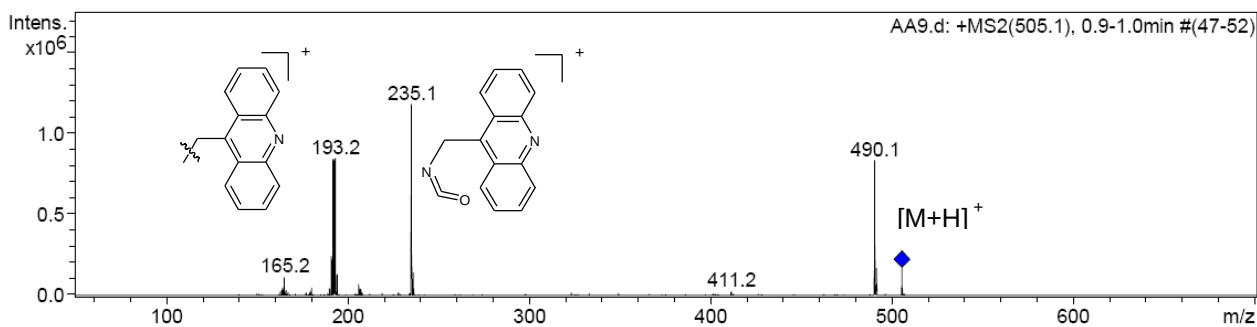


Figura 55. Espectro de Massas por IES (modo positivo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9) (M = 504)

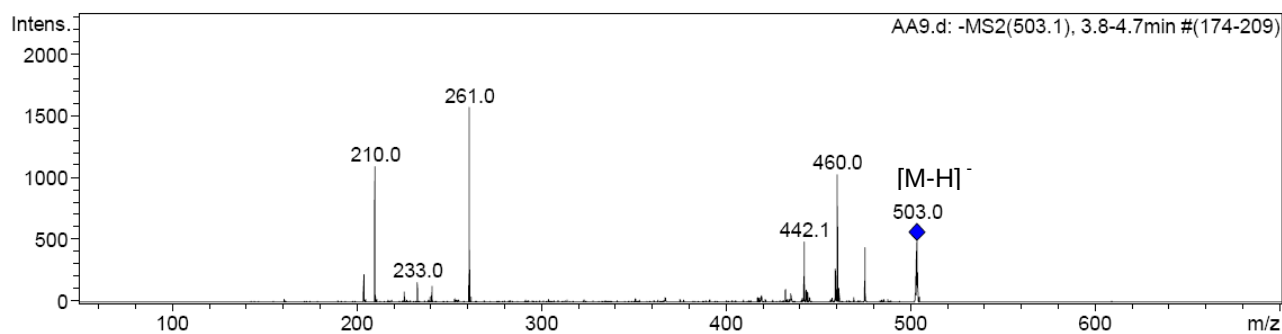


Figura 56. Espectro de Massas por IES (modo negativo) do 3-acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9) ($M = 504$)

Espectrometria no Infravermelho (IV)

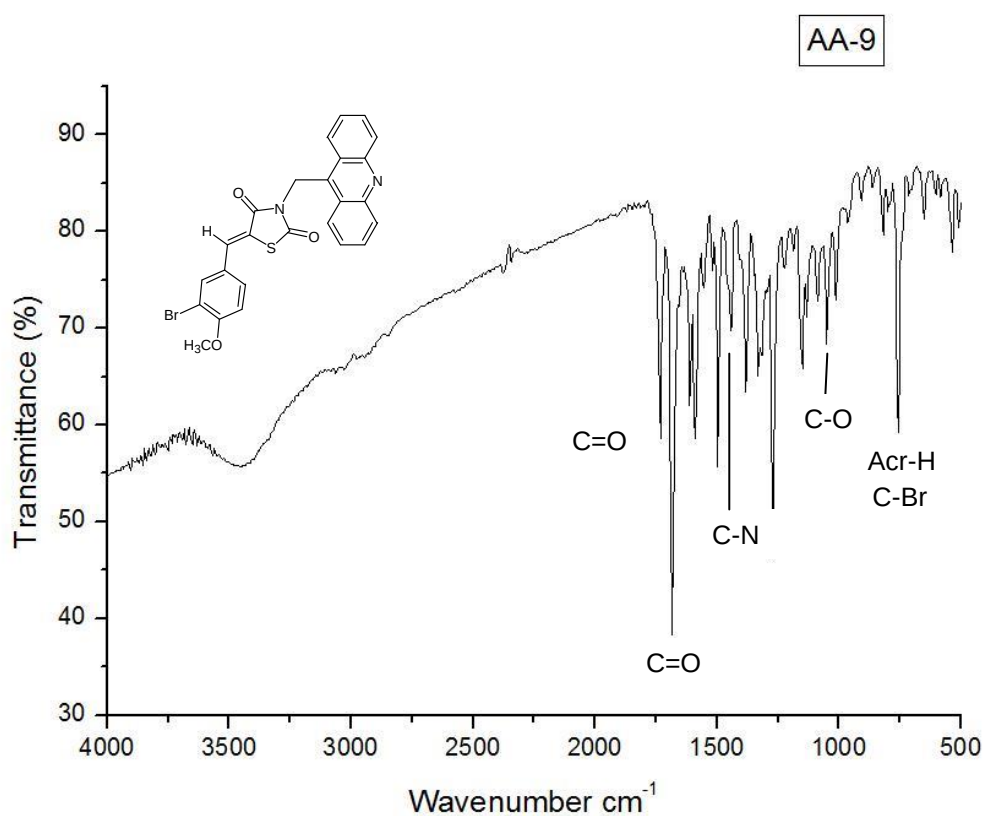


Figura 57. Espectro de IV do LPSF-AA9

5.2 Avaliação da Atividade Biológica

Os derivados LPSF-AAs foram diluídos na concentração de 5mg/mL e foram testados nas seguintes linhagens: SF-295 (SNC); HCT-8 (côlon) e MDA-MB435 (melanoma). Os resultados da atividade citotóxica estão apresentados na tabela 8.

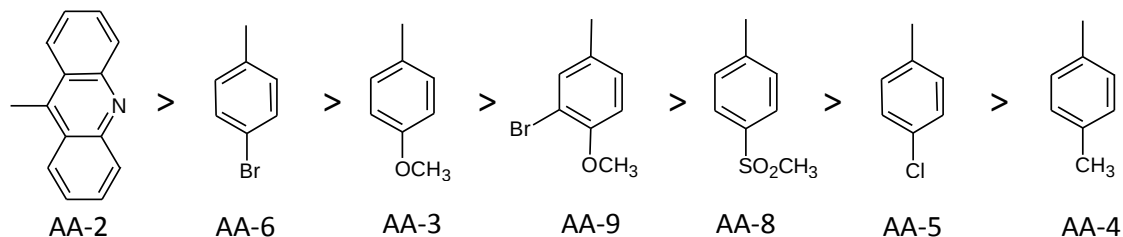
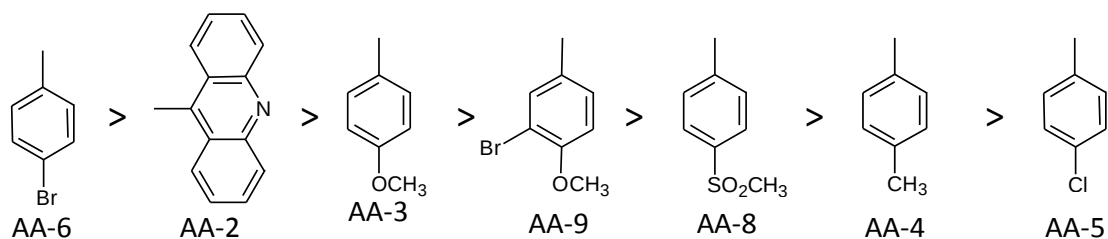
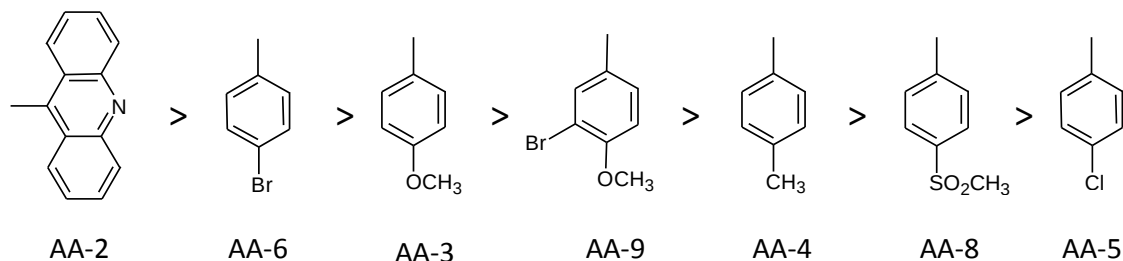
Tabela 8. Inibição da proliferação (%) realizado em duplicata pelo método do MTT para as células SF-295 (SNC), HCT-8 (carcinoma de cólon) e MDA-MB435 (melanoma); doxorrubicina foi usada como controle positivo

Substância	Linhagens Celulares		
	SF-295	HCT-8	MDA-MB435
AA-1A	32,8 (SA)	42,0 (PA)	0,00 (SA)
AA-2	76,7 (MO)	92,4 (MA)	95,9 (MA)
AA-3	59,5 (MO)	86,7 (MA)	84,2 (MO)
AA-4	29,9 (SA)	51,3 (PA)	31,2 (SA)
AA-5	31,3 (PA)	37,8 (PA)	0,00 (SA)
AA-6	62,2 (PA)	96,6 (MA)	85,3 (MO)
AA-8	44,3 (PA)	64,3 (MO)	12,9 (SA)
AA-9	48,0 (PA)	72,5 (MO)	53,0 (PA)
Doxorrubicina	91,1 (MA)	95,2 (MA)	93,6 (MA)

0 - 35% (SA) – Sem Atividade; 36 – 55% (PA) – Pouca Atividade; 56 – 85% (MO) – Moderada Atividade; 86 – 100% (MA) – Muita Atividade.

Todos os compostos mostram um potencial citotóxico seletivo para a linhagem de células HCT-8 (Colon), tendo o composto AA6 apresentado o maior potencial citotóxico para esta linhagem.

No esquema 21 temos a relação entre as linhagens de células tumorais utilizadas com os substituintes dos derivados tiazacridínicos sintetizados.

SF-295**HCT-8****MDA-MB435**

Esquema 21. Relação entre a estrutura química e a eficácia dos derivados LPSF-AAs nas linhagens celulares SF-295, HCT-8 e MDA-MB435

Mesmo possuindo volume maior que os outros compostos sintetizados, o derivado LPSF-AA2 foi a molécula mais ativa desta série. Foi o mais ativo para as linhagens SF-295 e MDA-MB435, e foi o segundo mais ativo para a linhagem HCT-8. Este é um fato esperado, visto que, teoricamente, a constante de ligação de um *bis*-intercalante simétrico seria aproximadamente o quadrado do monômero (DENNY et al., 1985).

Em 2004, Antonini e colaboradores realizaram o desenho racional, a síntese, e a avaliação da atividade biológica da *bis*-pirimido[5,6,1-*de*]acridinas) (**a**, Figura 58) e da bis(pirazolo[3,4,5-*kl*]acridina-5-carboxamidas) (**b**). Os resultados indicaram que (i) os compostos são excelentes ligantes do DNA; (ii) os derivados bis possuem maior afinidade ao DNA que os monômeros correspondentes; (iii) os novos bis sintetizados blindam menos o DNA do que

as bis(acridina-4-carboxamidas); (iv) em ambas as séries, houve uma preferência de blindagem pelas bases AT do DNA.

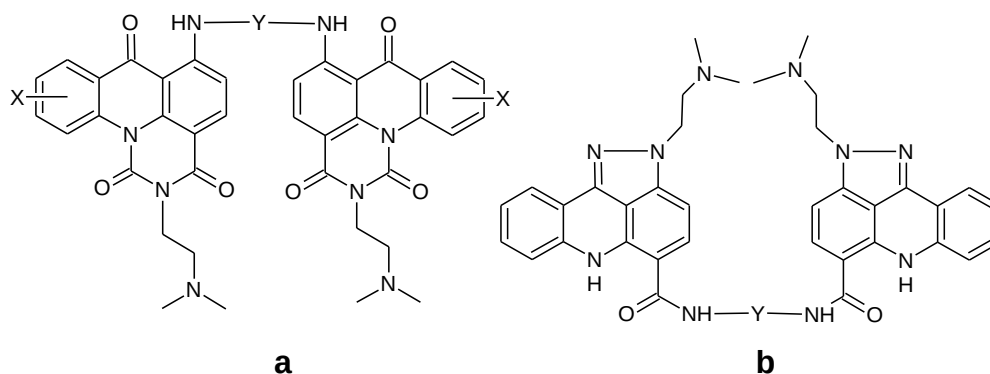


Figura 58. Bis-pirimido e bis-pirazolo-acridinas

O composto LPSF-AA6, com um átomo de bromo *para* substituído no anel benzilidênico, também foi bastante eficaz. Ele foi o mais ativo para a linhagem de células HCT-8 e o segundo mais ativo para as linhagens SF-295 e MDA-MB435, provavelmente devido a sua capacidade de retirar elétrons do anel e por causa de seu grande volume. A metoxila localizada na posição *para*, por sua vez, foi o terceiro composto mais ativo para as três linhagens, possivelmente devido a esse grupo ser aceptor de hidrogênio, sendo capaz de realizar ligações de hidrogênio. No entanto, a combinação do bromo na posição *meta* e do metoxi na posição *para* não é preferida, pois a potência reduz cerca de 20 a 40%. O LPSF-AA9 manteve a quarta posição em todas as linhagens testadas.

O derivado LPSF-AA8, com o substituinte metanosulfonil na posição *para*, teve moderada atividade para a linhagem HCT-8 (64,3% de inibição), foi pouco ativo para SF-295 (44,3%) e não teve atividade para MDA-MB435 (12,9%). Apesar de ser capaz de formar ligações de hidrogênio, provavelmente o grande volume do substituinte tornou o ambiente estericamente congestionado desfavorecendo a interação com o DNA.

O derivado substituído na posição *para* pelo radical metil foi pouco ativo para a linhagem HCT-8 (51,3% de inibição) e não teve atividade para SF-29

(29,9%) e MDA-MB435 (31,2%). Nesse caso, o efeito indutivo positivo do grupo metil não foi favorável a atividade.

O LPSF-AA5 foi o menos ativo de todos os compostos sintetizados contra a linhagem de células HCT-8 e MDA-MB435. O efeito indutivo negativo e o pequeno volume do cloro na posição *para*, nesse caso, não contribuíram para a atividade. Isto comprova a importância do tamanho e da densidade eletrônica dos substituintes para a atividade.

Os compostos LPSF-AA2, LPSF-AA3 e LPSF-AA6 foram selecionados para a determinação do IC₅₀ (tabela 9), pois apresentaram percentual de inibição do crescimento tumoral maior que 80% nas linhagens celulares utilizadas.

Como podemos observar na tabela 9, dos 3 compostos mais potentes, o LPSF-AA2 apresentou os melhores valores de IC₅₀: 4,4 µg/mL para MDA-MB435, 4,45 µg/mL para HCT-8, 7,01 µg/mL para SF-295 e valores maiores que 25 µg/mL para HL-60 e CEM, mas ainda assim estes valores estão muito altos quando comparados a doxorrubicona.

Tabela 9. Valores de IC₅₀ (concentração inibitória de 50%) e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) realizado pelo método do MTT para as células HL-60 (leucemia promielocítica), CEM (leucemia linfocítica), MDA-MB435 (melanoma), HCT-8 (carcinoma de cólon) e SF-295 (SNC) obtidos por regressão não-linear através do programa GraphPad Prism

Substância	Linhagens Celulares				
	HL-60 IC ₅₀ (µg/mL)	CEM IC ₅₀ (µg/mL)	MDA-MB435 IC ₅₀ (µg/mL)	HCT-8 IC ₅₀ (µg/mL)	SF-295 IC ₅₀ (µg/mL)
AA-2	>25	>25	4,44 3,37-5,85	4,45 3,57-5,55	7,01 5,50-8,92
AA-3	>25	>25	>25	19,26 15,11-24,53	>25
AA-6	19,49 14,21-26,73	>25	>25	20,63 18,24-23,34	>25
Doxorrubicona	0,02 0,01-0,02	0,02 0,02-0,03	0,48 0,34 – 0,66	0,01 0,01-0,02	0,24 0,17 – 0,36

Para este ensaio, foram consideradas ativas aquelas substâncias que apresentaram IC₅₀ < 4 µg/mL (BOIK, 2001).

Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos erros-padrão. O cálculo das IC_{50} (concentração inibitória média capaz de provocar 50% do efeito máximo) e seus respectivos desvios foram realizados a partir da regressão não-linear no programa *GraphPad Prism*. Cada amostra foi analisada a partir de dois experimentos realizados em triplicata.

Nos últimos anos, o nosso laboratório também vem sintetizando derivados tiazacridínicos em que o grupo acridínico está condensado na posição 5 da tiazolidina e o grupo benzila está *N*-alquilado na posição 3. Vários derivados foram sintetizados com as seguintes substituições no anel benzilidênico: H, 4- C_6H_5 , 3-Cl, 2- NO_2 , e 4- NO_2 . Estes foram testados nas linhagens SF-295, HCT-8 e MDA-MB435. O derivado clorado na posição 3 apresentou as seguintes percentagens de inibição da proliferação: 41,87% para SF-295, 54,51% para HCT-8 e 21,47% para MDA-MB435. Quando comparamos este composto com o derivado LPSF-AA5, verificamos que o LPSF-AA5 é bem menos potente. Isso provavelmente é explicado pela maior flexibilidade da ligação do nitrogênio tiazolidínico com o grupo benzílico (**c**, Figura 59), enquanto que, no LPSF-AA5, o grupo benzílico está condensado na posição 5 da tiazolidina, e essa ligação é mais rígida, devido à presença da dupla ligação, que diminui a flexibilidade da cadeia lateral.

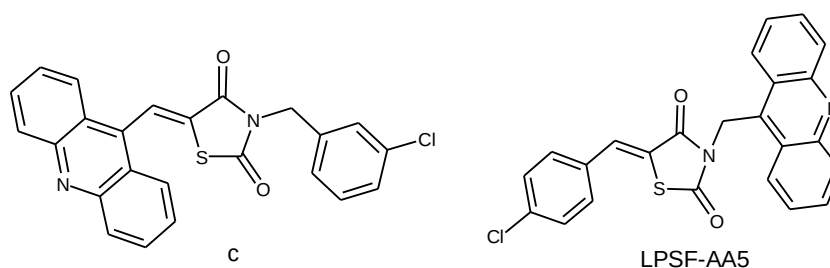


Figura 59. Duas séries químicas sintetizadas pelo LPSF

5.3 Modelagem Molecular

Os dados obtidos a partir da regra de de Lipinski torna possível a análise das características moleculares que estão relacionados com a biodisponibilidade de um fármaco ideal. O número de ligações flexíveis é um descritor importante para esse efeito (WENLOCK et al., 2003). Foram

calculadas algumas propriedades, como a superfície topológica polar (TPSA), que é um parâmetro muito útil para a predição de propriedades de transporte de fármacos (ERTL, et al., 2000), e volume molecular. Além disso, avaliou-se a pontuação para avaliar o potencial total do composto para ser classificado como um fármaco (druglikeness e pontuação de drogas), utilizando o sistema on-line de propriedade Osiris Explorer (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo>). Todos esses dados estão resumidos na Tabela 10.

De acordo com a regra Lipinski, a violação de mais de um dos critérios especificados pode diminuir a biodisponibilidade do fármaco. Nossos resultados demonstraram que todos os derivados tiazacridínicos, com exceção do composto 3-ilmetil-acridin-9-5-(3-bromo-4-metoxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona, obedecem a regra de Lipinski. A Tabela 10 mostra que o medicamento de referência, a doxorubicina, parece ser muito diferente dos derivados tiazacridínicos, o que é esperado, devido à sua peculiar estrutura molecular.

Tabela 10. Propriedades moleculares e parâmetros farmacocinéticos, importantes para uma boa biodisponibilidade de derivados tiazacridínicos e doxorubicina (dox): número de aceitadores de ligações de hidrogénio e grupos doadores (nON e nOHNH, respectivamente), peso molecular (PM), calculado através do coeficiente de partição octanol / água (miLogP), número de violações da regra (Nviolat), número de ligações rotativas (Nrotb), superfície topológica polar (TPSA), volume molecular (Vol), escores para avaliar o potencial total do composto de beneficiar de um fármaco (druglikeness e drug-score), momento de dipolo, afinidade eletrônica e energia potencial de ionização.

Composto	Regra de Lipinski					Nrotb ^a	TPSA ^a	Vol ^a	drug likeness ^b	drug score ^b	momento dipolo (debye) ^c	afinidade eletrônica (eV) ^c	potencial ionização (eV) ^c
	nON ^a	nOHNH ^a	PM ^a	miLogP ^a	Nviolat ^a								
3	4	0	308.36	3.07	0	2	50.27	259.51	2.15	0.42	2.48	1.21	8.56
5	5	0	497.58	6.67	1	3	64.86	425.36	4.38	0.14	2.66	1.34	8.52
7a	5	0	426.50	4.96	0	4	61.20	367.08	4.56	0.24	5.30	1.18	8.45
7b	4	0	410.50	5.35	1	3	51.97	358.10	2.97	0.22	4.72	1.22	8.46
7c	4	0	430.92	5.58	1	3	51.97	355.07	5.17	0.2	2.95	1.42	8.52
7d	4	0	475.37	5.71	1	3	51.97	359.42	2.46	0.17	2.72	1.47	8.53
7e	6	0	474.56	3.78	0	4	86.11	389.53	4.54	0.24	1.98	1.84	8.63
7f	5	0	505.39	5.7	2	4	61.20	384.97	3.52	0.17	3.89	1.32	8.50
dox	12	7	543.52	0.57	3	5	206.08	459.18	8.12	0.52	5.49	1.54	9.06

^a <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>

^b <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo>

^c Software BioMedCACHe

Após uma análise detalhada da estrutura das moléculas sintetizadas, pode-se observar na figura 60 as possíveis interações dos derivados, utilizando o derivado 3-acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/AA-2) como exemplo, pois apresentou alta atividade contra as linhagens de células HCT-8 e MDA-MB435. Os benefícios destes compostos, independentemente do alvo farmacológico, são a presença de dois anéis aromáticos (sistemas π), planaridade significativa (capacidade de intercalação) e a presença de três receptores de ligação de hidrogênio, dos quais dois são mais fortes (os átomos de oxigênio) do que o átomo de enxofre.

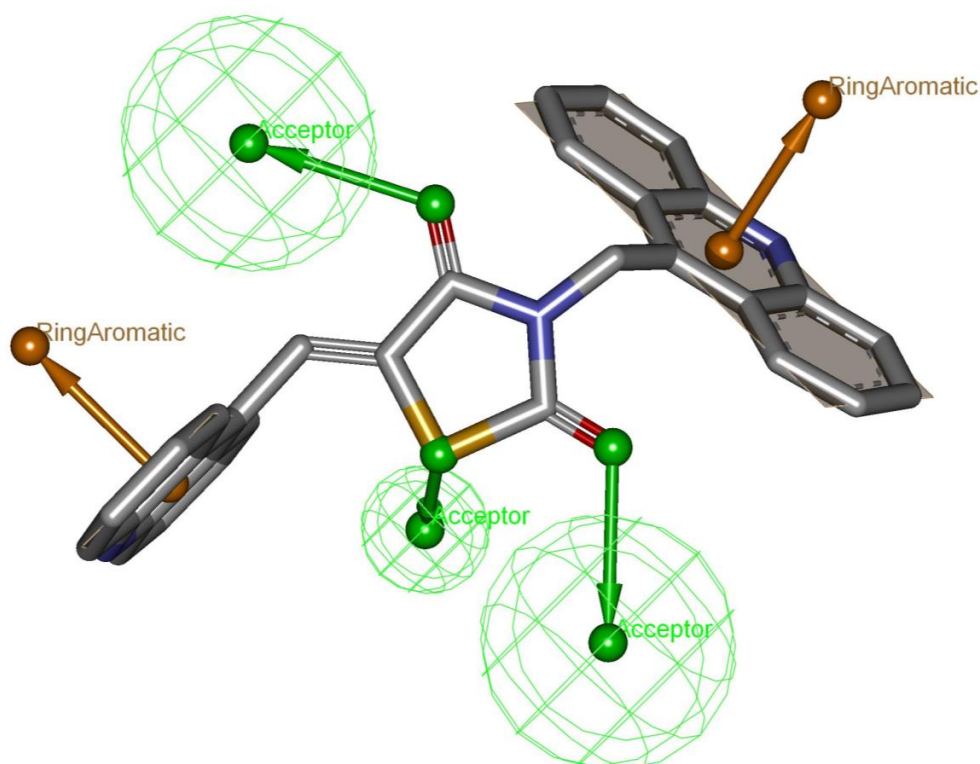


Figura 60. "Acceptor" corresponde aos pontos aceitadores de ligação de hidrogênio e "ring aromatic" corresponde aos anéis aromáticos. Carbono, oxigênio, nitrogênio e átomos de enxofre são representados por cinza, vermelho, azul e tons de amarelo, respectivamente. Figura gerada com o software visualizador DS (Discovery Studio Visualizer v2.5.1.9167, Copyright © 2005-09, Accelrys Software Inc)

Alguns compostos apresentaram resultados um pouco melhores em relação ao medicamento de referência (doxorrubicina), especialmente os derivados 3-acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6) e 3-acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/AA-2), que foram muito ativos contra a linhagem de células HCT-8 e MDA-MB435.

5.4 Artigo: Synthesis and in vitro anticancer activity of novel thiazacridine derivatives

Submetido na revista Investigational New Drugs

Marina G. R. Pitta^a, Érica S. Souza^a, Francisco W. A. Barros^b, Manoel O. Moraes^b, Claudia Pessoa^b, Marcelo Z. Hernandez^a, Maria do Carmo A. Lima^a, Suely L. Galdino^a, Ivan R. Pitta^{a*}

^aNúcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50670-901 Recife, Brazil.

^bDepartamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, CEP 60430-270 Fortaleza, Brazil.

* Corresponding author. Tel.: +55 81 21268347; fax: +55 81 21268346.

e-mail address: ivan.pitta@pesquisador.cnpq.br

Abstract

Acridine derivatives represent a well-known class of anticancer agents that generally interfere with DNA synthesis and inhibit topoisomerase II. A series of eight new 3-acridin-9-ylmethyl-thiazolidine-2,4-dione and 3-acridin-9-ylmethyl-5-arylidene-thiazolidine-2,4-dione derivatives were synthesized. All the compounds were evaluated for their cell antiproliferation activity with the 3-(4,5-dimethyl-2-thiozoly)-2,5-diphenyl-2*H*-tetrazolium bromide, MTT assay. The antiproliferative effects of the synthesized compounds were tested against several tumoral cell lines, namely SF-295, HCT-8 and MDA-MB435 cells, using doxorubicin as a positive control. Among the synthesized compounds, 3-acridin-9-ylmethyl-5-acridin-9-ylmethylene-thiazolidine-2,4-dione; 3-acridin-9-ylmethyl-

5-(4-methoxy-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione and 3-acridin-9-ylmethyl-5-(4-bromo-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione exhibited the most potent antiproliferative activity against the HCT-8 and MDA-MB435 cell lines. After a detailed analysis of the structure of the thiazacridine molecules, we revealed the main possible interactions, using the compound 3-acridin-9-ylmethyl-5-acridin-9-ylmethylene-thiazolidine-2,4-dione as an example. The benefits of these compounds, regardless of the pharmacological target, are the presence of two aromatic rings (pi systems), significant planarity (intercalating ability) and the presence of three hydrogen-bond acceptors, two of which are stronger (oxygen atoms) than the other (sulfur atom).

Keywords thiazacridine, MTT assay, anticancer, molecular modeling

Introduction

Until the early 1980s, intense research of drug discovery programs for cancer resulted in efficient medicinals, but with high toxicity due to the lack of selectivity [1-5]. The design and synthesis of small molecules that bind selectively to and cleave nucleic acids are still major challenges in this field. These synthetic nucleases have important applications as tools in molecular biology and as potential therapeutic agents for the treatment of cancer [6]. The acridine ring, one such nuclease, is a potential anticancer chromophore, which has a long history of treatment of human diseases, particularly parasitic infections, cancer and Alzheimer's disease [2,7-8]. They represent a well-known class of multi-targeted anticancer agents that generally interfere with DNA synthesis, due to the ability of the acridine nucleus to intercalate into the DNA base pairs. The act of intercalation induces local structural changes to the DNA, including the unwinding of the double helix and lengthening of the DNA strand [9]. Also, acridines are able to stabilize the DNA-topoisomerase II cleavable complex, and form the so-called 'ternary complex' which involves DNA, the intercalated compound and topoisomerase II [10-11]. These enzymes can

manipulate DNA by changing the number of topological links between two strands of the same or different DNA molecules [12] and are involved in many cellular processes, such as replication, recombination, transcription and chromosome segregation [13-15].

The aim of this study was to evaluate the antiproliferative effect of eight novel thiazacridine derivatives against tumor cell lines.

Chemistry

The thiazacridine derivatives were prepared by the method summarized in Scheme 1. Initially compound **3** was synthesized by the N-alkylation reaction of thiazolidine-2,4-dione, compound **1**, with 9-bromomethyl-acridine, compound **2**, in the presence of sodium hydroxide. The Michael reaction of 3-acridin-9-ylmethyl-thiazolidine-2,4-dione, compound **3**, with different cyanoacrylates, compounds, **4** and **6a-f** was carried out in the presence of piperidine, with ethanol as a solvent [16-19]. The presence of the arylidene proton peak in the synthesized derivatives, **5** and **7a-f**, in proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR) confirms completion of the nucleophilic addition reaction. It is also confirmed by MS data, which contains ions at m/z 193 and 235 in positive ESI-MS2 spectrum indicates the presence of the acridine and thiazolidine moiety respectively, Figure 1.

Please, insert **Scheme 1** and **Figure 1** here.

Materials and methods

All the synthesized compounds were analyzed with multiple analytical procedures. Melting points were determined in a capillary tube using a Quimis apparatus. Infrared spectra (IR) were recorded on a Bruker IFS66 spectrometer. ^1H NMR spectra were recorded on a Varian Plus 300 MHz spectrometer, using DMSO- d_6 as a solvent and tetramethylsilane as an internal standard. The chemical shifts are expressed in ppm, and the following abbreviations are used:

s = singlet, d = doublet, t = triplet and m = multiplet. Mass spectra were recording using liquid chromatography/MS (LC/MS) with a HCT Ultra from Bruker Daltonics and were performed by electrospray ionization in positive or negative mode.

Synthesis of 3-acridin-9-ylmethyl-thiazolidine-2,4-diones (compound **3**)

Thiazolidine-2,4-dione, compound **1**, (1.0 eq) and sodium hydroxide, previously solubilized in ethanol, were stirred for 10 minutes at room temperature (30°C). 9-Bromomethyl-acridine, compound **2**, (1.0 eq) was added, and the mixture was stirred at 60°C for 7 h. After completion of the reaction, the mixture was filtered and washed with water. The product obtained was a yellow solid. Formula: $C_{17}H_{12}N_2O_2S$. Melting point (Mp): 192-196°C. Yield: 51%. IR (KBr, cm^{-1}): 2889, 1750, 1694, 750. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.42 (d, 2H, J = 8.7 Hz, Acr-H, 4 pos.), 8.17 (d, 2H, J = 8.4 Hz, Acr-H, 1 pos.), 7.83 – 7.88 (m, 2H, Acr-H, 3 pos.), 7.65 – 7.70 (m, 2H, Acr-H, 2 pos.), 5.75 (s, 2H, N-CH₂), 4.23 (s, 2H, S-CH₂). MS m/z (%): (M + H)⁺ 309.1 (100), calculated 308; +MS2 309.1 (56), 235 (100), 192 (98).

Synthesis of novel 3-acridin-9-ylmethyl-5-arylidene-thiazolidine-2,4-dione: general procedure (compounds **5** and **7a-f**)

3-Acridin-9-ylmethyl-thiazolidine-2,4-dione, compound **3**, (1.0 eq) and either 3-acridin-9-yl-2-cyano-acrylic acid ethyl ester, compound **4**, (1.0 eq) or one of the phenyl-substituted 2-cyano-3-phenyl-acrylic acid ethyl esters, compounds **6a-f**, were refluxed in ethanol in the presence of piperidine and heated at 50°C for 4 h. After this period, the mixture was filtered and washed with water and ethanol [18-19].

3-Acridin-9-ylmethyl-5-acridin-9-ylmethylene-thiazolidine-2,4-dione (compound **5**)

Yellow solid. $C_{31}H_{19}N_3O_2S$. Mp: 243-245°C. Yield: 11%. IR (KBr, cm^{-1}): 1759, 1694, 760. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.75 (s, 1H, =CH), 8.54 (d, 2H, J =

9.0 Hz, 3-Acr-H, 4 pos.), 8.21 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, 5-Acr-H, 4 pos.), 8.13 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, 3-Acr-H, 1 pos.), 8.04 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, 5-Acr-H, 1 pos.), 7.87 – 7.92 (m, 2H, 5-Acr-H, 3 pos.), 7.81 – 7.84 (m, 2H, 3-Acr-H, 3 pos.), 7.72 – 7.77 (m, 2H, 5-Acr-H, 2 pos.), 7.60 – 7.68 (m, 2H, 3-Acr-H, 2 pos.), 5.96 (s, 2H, -CH₂). MS m/z (%): (M + H)⁺ 498.2 (100), calculated 497; +MS2 498.2 (28), 305 (99), 236 (43), 193 (100).

3-Acridin-9-ylmethyl-5-(4-methoxy-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (compound 7a)

Yellow solid. C₂₅H₁₈N₂O₃S. Mp: 225-226°C. Yield: 52%. IR (KBr, cm⁻¹): 1744, 1679, 1593, 756. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.49 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, Acr-H, 4 pos.), 8.16 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Acr-H, 1 pos.), 7.90 (s, 1H, =CH), 7.81 – 7.89 (m, 2H, Acr-H, 3 pos.), 7.60 – 7.71 (m, 2H, Acr-H, 2 pos.), 7.55 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, Ar-H, 2,6 pos.), 7.08 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, Ar-H, 3,5 pos.), 5.93 (s, 2H, N-CH₂), 3.81 (s, 3H, O-CH₃). MS m/z (%): (M + H)⁺ 427.2 (100), calculated 426; +MS2 427.2 (54), 235 (100), 193 (70).

3-Acridin-9-ylmethyl-5-(4-methyl-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (compound 7b)

Yellow solid. C₂₅H₁₈N₂O₂S. Mp: 194-195°C. Yield: 20%. IR (KBr, cm⁻¹): 1729, 1674, 1604, 760. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.46 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, Acr-H, 4 pos.), 8.19 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, Acr-H, 1 pos.), 7.90 (s, 1H, =CH), 7.81 – 7.86 (m, 2H, Acr-H, 3 pos.), 7.60 – 7.71 (m, 2H, Acr-H, 2 pos.), 7.47 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, Ar-H, 2,6 pos.), 7.33 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, Ar-H, 3,5 pos.), 5.92 (s, 2H, N-CH₂), 2.34 (s, 3H, -CH₃). MS m/z (%): (M + H)⁺ 411.2 (100), calculated 410; +MS2 411.2 (48), 235 (100), 193 (39).

3-Acridin-9-ylmethyl-5-(4-chloro-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (compound 7c)

Yellow solid. C₂₄H₁₅ClN₂O₂S. Mp: 229-231°C. Yield: 47%. IR (KBr, cm⁻¹): 1739, 1689, 1608, 750. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.45 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, Acr-

H, 4 pos.), 8.19 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, Acr-H, 1 pos.), 7.93 (s, 1H, =CH), 7.83 – 7.88 (m, 2H, Acr-H, 3 pos.), 7.66 – 7.71 (m, 2H, Acr-H, 2 pos.), 7.62 – 7.56 (m, 4H, Ar-H), 5.93 (s, 2H, N-CH₂). MS m/z (%): (M + H)⁺ 431.1 (100), calculated 430; +MS2 431.1 (77), 235 (100), 193 (50).

3-Acridin-9-ylmethyl-5-(4-bromo-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (compound 7d)

Yellow solid. C₂₄H₁₅BrN₂O₂S. Mp: 222-223°C. Yield: 24%. IR (KBr, cm⁻¹): 1744, 1689, 1608, 750. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.45 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, Acr-H, 4 pos.), 8.19 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, Acr-H, 1 pos.), 7.90 (s, 1H, =CH), 7.84 – 7.89 (m, 2H, Acr-H, 3 pos.), 7.70 – 7.73 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, Ar-H, 3,5 pos.), 7.66 – 7.71 (m, 2H, Acr-H, 2 pos.), 7.51 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H, 2,6 pos.), 5.92 (s, 2H, N-CH₂). MS m/z (%): (M + H)⁺ 475.1 (92), (M+2 + H)⁺ 477.1 (100), calculated 474; +MS2 475.1 (100), 235 (98), 193 (50).

3-Acridin-9-ylmethyl-5-(4-methanesulfonyl-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (compound 7e),

Yellow solid. C₂₅H₁₈N₂O₄S₂. Mp: 227-228°C. Yield: 28%. IR (KBr, cm⁻¹): 3440, 2368, 1744, 1689, 1608, 1142. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.46 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Acr-H, 4 pos.), 8.19 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, Acr-H, 1 pos.), 8.03 (d, 2H, $J = 7.2$ Hz, Ar-H, 3,5 pos.), 8.02 (s, 1H, =CH), 7.85 – 7.90 (m, 2H, Acr-H, 3 pos.), 7.83 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H, 2,6 pos.), 7.67 – 7.73 (m, 2H, Acr-H, 2 pos.), 5.94 (s, 2H, N-CH₂), 3.25 (s, 3H, S-CH₃). MS m/z (%): (M + H)⁺ 475.1 (100), 383 (99), calculated 474; +MS2 475.1 (65), 396 (100), 235 (90), 193(40), 192 (55).

3-Acridin-9-ylmethyl-5-(3-bromo-4-methoxy-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (compound 7f)

Yellow solid. C₂₅H₁₇BrN₂O₃S. Mp: 230-232°C. Yield: 62%. IR (KBr, cm⁻¹): 1730, 1684, 1589, 1499, 1267, 756. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.46 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Acr-H, 4 pos.), 8.19 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, Acr-H, 1 pos.), 7.89 (s, 1H, =CH), 7.86 - 7.87 (m, 2H, Acr-H, 3 pos.), 7.85 (d, 1H, $J = 3$ Hz, Ar-H, 2 pos.),

7,65 – 7,72 (m, 2H, Acr-H, 2 pos.), 7,58 (dd, 1H, $J = 8,7$ and $1,8$ Hz, Ar-H, 6 pos.), 7,26 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, Ar-H, 5 pos.), 5,92 (s, 2H, N-CH₂), 3,99 (s, 3H, O-CH₃). MS m/z (%): (M + H)⁺ 505.1 (99.5), (M+2 + H)⁺ 507.1 (100), calculated 504; +MS2 505.1 (14), 490 (71), 235 (100), 192 (71), 193 (72).

Biological activity

Compounds **3**, **5** and **7a-f** were tested for anticancer activity, using three human tumor cell lines: SF-295 (central nervous system), HCT-8 (colon carcinoma) and MDA-MB435 (melanoma), which were obtained from the National Cancer Institute (Bethesda, MD, USA).

The cells were maintained in RPMI 1640 medium supplemented with 10% fetal bovine serum, 2 mM glutamine, 100 U/mL penicillin and 100 µg/mL streptomycin at 37°C with 5% CO₂. The cells were grown in complete medium one day before each experiment.

Tumor cell growth was quantified by measuring the ability of living cells to reduce the yellow dye 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) to a purple formazan product [20-21]. For the experiments, cells were seeded in 96-well plates. After 24 h, the thiazacridine compounds (0.39 to 25.00 µg/mL) dissolved in DMSO (0.1%) were added to each well and incubated for 72 h. DMSO (0.1%) and doxorubicin were used as negative and positive controls, respectively. Thereafter, the plates were centrifuged, and the medium was replaced with fresh medium (150 µL) containing 0.5 mg/mL MTT. Three hours later, the MTT formazan product was dissolved in 150 µL DMSO, and the absorbance was measured using a multiplate reader (Spectra Count, Packard, Ontario, Canada). The drug effect was expressed as the % cell inhibition, defined as the absorbance of the reduced dye at 595 nm in treated cells, relative to the absorbance in untreated control cells.

The cytotoxic activities of the thiazacridine compounds, in terms of their ability to inhibit cell growth, are presented in Table 1. An activity scale was utilized to rank the cytotoxic potential of the tested samples against each of the cell lines: inactive samples (IS, 0 – 35% inhibition), samples with low activity

(LA, 36 – 55% inhibition), moderate activity (MA, 56 – 85% inhibition) and high activity (HA, 86 – 100% inhibition).

Please, insert **Table 1** here.

The experiments were analyzed using the GraphPad Prism program, and the data are reported as the mean of two assays completed in triplicate. The cytotoxic activities of the compounds are expressed as the percentage of inhibition of cell growth (% GI) determined relative to a negative control (untreated cells).

Results and discussion

In this report, we show the antiproliferative activity of eight acridine derivatives. The extent of inhibition of carcinoma cell lines by these compounds are schematically presented in Figure 2. Among all the tested compounds, **3** and **7c** exhibited the lowest inhibitory activity against the three carcinoma cell lines tested, especially against the MDA-MB435 cell line. Additionally, compounds **5**, **7a** and **7d** exhibited potent inhibitory activity against the MDA-MB435 and HCT-8 cell lines, with greater than 90% of inhibition in the HCT-8 cell line.

Please, insert **Figure 2** here.

The biological activity of acridines is mainly attributed to the planarity of these aromatic structures, which allows them to intercalate within the double-stranded DNA structure, thus interfering with the cellular machinery [22]. In this way, connecting two planar intercalating moieties to obtain a bis derivative generally increases the DNA binding affinity and the drug's residence times in

the DNA-bound form [23]. As expected for this reason, compound **5**, which contains two acridine nuclei, showed a promising result.

It is noteworthy that the position and the nature of the substituent on the heterocyclic core are the determinants for the biological properties observed. Therefore, it could be concluded that the inhibition of cell proliferation increases with a methoxy group, as in compound **7a**, or a bromo group, as in compound **7d**, on the substituted phenyl at the *para* position, but when they are linked with bromo at the meta position and methoxy at the *para* position, as with compound **7f**, the inhibition is decreased.

Molecular modeling

In order to investigate the structures and properties of the thiazacridines, all optimized geometries were obtained using the AM1 semi-empirical method [24], available in the BioMedCACHé software [25], using the internal default settings for convergence criteria. Additionally, some electronic properties, such as electron affinity, ionization potential and molecular dipole moment were calculated. Then, the molecules were submitted to the classical analysis of Lipinski [26], using the Molinspiration online tool (<http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>). Lipinski's rule of five verifies molecular features related to the optimum bioavailability of a drug. The number of rotatable bonds also seems to be an important descriptor for this purpose [27]. Other properties were also calculated, such as the topological polar surface area (TPSA), which is a very useful parameter for the prediction of drug transport properties [28], and molecular volume. In addition, we evaluated the scores to judge the compound's overall potential to qualify as a drug (druglikeness and drug-score), using the Osiris Property Explorer online system (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo>). All of these data are summarized in Table 2.

Please, insert **Table 2** here.

According to Lipinski's rule, the violation of more than one of the specified criteria may decrease bioavailability. Our results demonstrated that all of the thiazacridine derivatives, except 3-acridin-9-ylmethyl-5-(3-bromo-4-methoxy-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione, compound **7f**, obey Lipinski's rule. Table 2 shows that the reference drug, doxorubicin, seems to be very unlike the thiazacridine molecules, which is expected because of its peculiar molecular structure.

After a detailed analysis of the structure of the thiazacridine molecules, one can see in Figure 3 the main possible interactions with thiazacridine derivatives, using the compound **5** as an example, because it presents high activities, at least against the HCT-8 and MDA-MB435 cell lines (see Table 1). The benefits of these compounds, regardless of the pharmacological target, are the presence of two aromatic rings (π systems), significant planarity (intercalating ability) and the presence of three hydrogen-bond acceptors, two of which are stronger (oxygen atoms) than the other (sulfur atom).

Acridine and its derivatives are the most extensively studied DNA intercalating agents that bind reversibly but non-covalently to DNA [30]. We evaluated the molecular properties and pharmacokinetic parameters of thiazacridine derivatives, which are considered potential drugs for anticancer treatment. Some compounds showed slightly better results when compared to the reference drug (doxorubicin), especially compounds 3-acridin-9-ylmethyl-5-(4-bromo-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione, compound **7d**, and 3-acridin-9-ylmethyl-5-acridin-9-ylmethylene-thiazolidine-2,4-dione, compound **5**, which were very active against the HCT-8 and MDA-MB435 cell lines.

Conclusion

The eight newly synthesized 3-acridin-9-ylmethyl-thiazolidine-2,4-dione and 3-acridin-9-ylmethyl-5-arylidene-thiazolidine-2,4-dione analogues were evaluated for their cell antiproliferative activity against the human SF-295 central nervous system cell line, the HCT-8 colon carcinoma cell line and the

MDA-MB435 breast carcinoma cell line. We have found that the acridine dimer 3-acridin-9-ylmethyl-5-acridin-9-ylmethylene-thiazolidine-2,4-dione demonstrates potent DNA binding affinity and anticancer activity against all the three cancer cell lines tested. The great majority of the molecules presented here seems to obey the Lipinski's rule of five, regarding the bioavailability features. In addition, compounds 3-acridin-9-ylmethyl-5-(4-methoxybenzylidene)-thiazolidine-2,4-dione and 3-acridin-9-ylmethyl-5-(4-bromobenzylidene)-thiazolidine-2,4-dione exhibited strong inhibition of these cell lines, compared to the other tested compounds.

Acknowledgements

We are thankful to CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil), the CAPES/COFECUB (Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior/Comité Français d'Evaluation de la Coopération Universitaire avec le Brésil), the INCT_IF (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Inovação Farmacêutica) and the PPGIT (Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica) for their support of the joint research program.

References

1. Brana MF, Cacho M, Gradillas A, de Pascual-Teresa B, Ramos A (2001) Intercalators as anticancer drugs. *Curr Pharm Des* 7:1745-1780. doi: 10.2174/1381612013397113
2. Demeunynck M, Charmantray F, Martelli A (2001) Interest of acridine derivatives in the anticancer chemotherapy. *Curr Pharm Des* 7:1703-1724. doi: 10.2174/1381612013397131
3. Martinez R, Chacon-Garcia L (2005) The search of DNA-intercalators as antitumoral drugs: what it worked and what did not work. *Curr Med Chem* 12:127-151. doi: 10.2174/0929867053363414

4. Cummings J, Smyth JF (1993) DNA topoisomerase I and II as targets for rational design of new anticancer drugs. *Ann Oncol* 4:533-543.
5. Georghiou S (1977) Interaction of acridine drugs with DNA and nucleotides. *Photochem Photobiol* 26:59-68. doi: 10.1111/j.1751-1097.1977.tb07450.x
6. Fernandez MJ, Wilson B, Palacios M, Rodrigo MM, Grant, KB, Lorente A (2007) Copper-activated DNA photocleavage by a pyridine-linked bis-acridine intercalator. *Bioconjug Chem* 18:121-129. doi: 10.1021/bc0601828
7. Denny WA (2002) Acridine derivatives as chemotherapeutic agents. *Curr Med Chem* 9:1655-1665. doi: 10.2174/0929867023369277
8. Chatellier G, Lacomblez L (1990) Tacrine (tetrahydroaminoacridine; THA) and lecithin in senile dementia of the Alzheimer type: a multicentre trial. Groupe Francais d'Etude de la Tetrahydroaminoacridine. *BMJ* 300: 495-499. doi: 10.1136/bmj.300.6723.495
9. Ferguson LR, Denny WA (2007) Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators. *Mutat Res* 623:14-23. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2007.03.014
10. Chilin A, Marzaro G, Marzano C, Dalla Via, L, Ferlin MG, Pastorini G, Guiotto A (2009) Synthesis and antitumor activity of novel amsacrine analogs: the critical role of the acridine moiety in determining their biological activity. *Bioorg Med Chem* 17:523-529. doi: 10.1016/j.bmc.2008.11.072
11. Vispe S, Vandenberghe I, Robin M, Annereau JP, Creancier L, Pique V, Galy JP, Kruczynski A, Barret JM, Bailly C (2007) Novel tetra-acridine derivatives as dual inhibitors of topoisomerase II and the human proteasome. *Biochem Pharmacol* 73:1863-1872. doi: 10.1016/j.bcp.2007.02.016
12. Champoux JJ (2001) DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism. *Annu Rev Biochem* 70:369-413. doi: 10.1146/annurev.biochem.70.1.369
13. Corbett AH, Osheroff N (1993) When good enzymes go bad: conversion of topoisomerase II to a cellular toxin by antineoplastic drugs. *Chem Res Toxicol* 6:585-597. doi: 10.1021/tx00035a001

14. Wang JC (1996) DNA topoisomerases. *Annu Rev Biochem* 65:635-692. doi: 10.1146/annurev.bi.65.070196.003223
15. Nitiss JL (1998) Investigating the biological functions of DNA topoisomerases in eukaryotic cells. *Biochim Biophys Acta* 1400:63-81. doi: 10.1016/S0167-4781(98)00128-6
16. Leite LFC, Mourao RHV, Lima MCA, Galdino SL, Hernandez MZ, Neves ARF, Vidal S, Barbe J, Pitta IR (2007) Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of arylidene-thiazolidinediones with potential hypoglycemic and hypolipidemic activities. *Eur J Med Chem* 42:1263-1271. doi: 10.1016/j.ejmech.2007.02.015
17. Mourao RH, Silva TG, Soares AL, Vieira ES, Santos JN, Lima MCA, Lima VL, Galdino, SL, Barbe J, Pitta, I.R. (2005) Synthesis and biological activity of novel acridinylidene and benzylidene thiazolidinediones. *Eur J Med Chem* 40:1129-1133. doi: 10.1016/j.ejmech.2005.06.002
18. Pitta IR, Lima MCA, Galdino SL (2007) Acridine derivatives with antitumoral activity. WO 2007/109871 A2.
19. Pitta IR, Lima MCA, Galdino SL, Barbe JF (2004). Molecules with Antitumor Activity and Chemical. PCT/BR03/00128.
20. Mosmann T (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65:55-63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4
21. Denizot F, Lang R (1986) Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods* 89:271-277. doi: 10.1016/0022-1759(86)90368-6
22. Belmont P, Bosson J, Godet T, Tiano M (2007) Acridine and acridone derivatives, anticancer properties and synthetic methods: where are we now? *Anticancer Agents Med Chem* 7:139-169. doi: 10.2174/187152007780058669
23. Antonini I, Polucci P, Magnano A, Gatto B, Palumbo M, Menta E, Pescalli N, Martelli S (2003) Design, synthesis, and biological properties of new

bis(acridine-4-carboxamides) as anticancer agents. *J Med Chem* 46:3109-3115. doi: 10.1021/jm030820x

24. Dewar MJS, Zoebisch EG, Healy EF, Stewart JJP (1985) Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. *J. Am. Chem. Soc.* 107:3902-3909. doi: 10.1021/ja00299a024

25. BioMedCACHe version 6.1, 2000-2003 Fujitsu Limited, <http://www.cache.fujitsu.com/biomedcache>.

26. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ (1997) Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv.Drug.Delivery Rev.* 23:4-25. doi: 10.1016/S0169-409X(96)00423-1

27. Wenlock MC, Austin RP, Barton P, Davis AM, Leeson PD (2003) A comparison of physiochemical property profiles of development and marketed oral drugs. *J. Med. Chem.* 46:1250-1256. doi: 10.1021/jm021053p

28. Ertl P, Rohde B, Selzer P (2000) Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. *J. Med. Chem.* 43:3714-3717. doi: 10.1021/jm000942e

29. Discovery Studio Visualizer v2.5.1.9167, Copyright © 2005-09, Accelrys Software Inc.

30. Strekowski L, Wilson B (2007). Noncovalent interactions with DNA: an overview. *Mutat Res* 623:3-13. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2007.03.008

Figure Captions:

Scheme 1 Synthetic pathways of thiazacridines.

Fig. 1 Specific fragmentation in positive ESI-MS2 for 3-acridin-9-ylmethyl-5-arylidene-thiazolidine-2,4-diones.

Fig. 2 Cytotoxic activities of the compounds **3** and **5**, **7a-f**, expressed as the percentage of cell growth inhibition for three tumor cell lines: A. SF-295, B. HCT-8 and C. MDA-MB435. Doxorubicin (dox) was used as the positive control.

Fig. 3 Possible molecular interactions of the thiazacridine derivatives, using the compound 3-acridin-9-ylmethyl-5-acridin-9-ylmethylene-thiazolidine-2,4-dione, compound **5**, as an example. “Acceptor” corresponds to hydrogen-bond acceptor points and “Ring Aromatic” corresponds to aromatic rings. Carbon, oxygen, nitrogen and sulfur atoms are represented with grey, red, blue and yellow colors, respectively. This figure was generated with DS visualizer software [29].

Table 1 Cytotoxic activities towards three tumor cell lines (% cell growth inhibition) for the synthesized compounds (**3**, **5** and **7a-f**). Doxorubicin (dox) was used as a positive control.

Product	Cell growth inhibition (%)		
	SF-295	HCT-8	MDA-MB435
3	32.8 (IS)	42.0 (LA)	0.00 (IS)
5	76.7 (MA)	92.4 (HA)	95.9 (HA)
7a	59.5 (MA)	86.7 (HA)	84.2 (MA)
7b	29.9 (IS)	51.3 (LA)	31.2 (IS)
7c	31.3 (IS)	37.8 (LA)	0.00 (IS)
7d	62.2 (MA)	96.6 (HA)	85.3 (MA)
7e	44.3 (LA)	64.3 (MA)	12.9 (IS)
7f	48.0 (LA)	72.5 (MA)	53.0 (LA)
Dox	91.1 (HA)	95.2 (HA)	93.6 (HA)

Inactive Samples (IS, 0 - 35%), Low Activity (LA, 36 - 55%),
Moderate Activity (MA, 56 - 85%) and High Activity (HA, 86 - 100%)

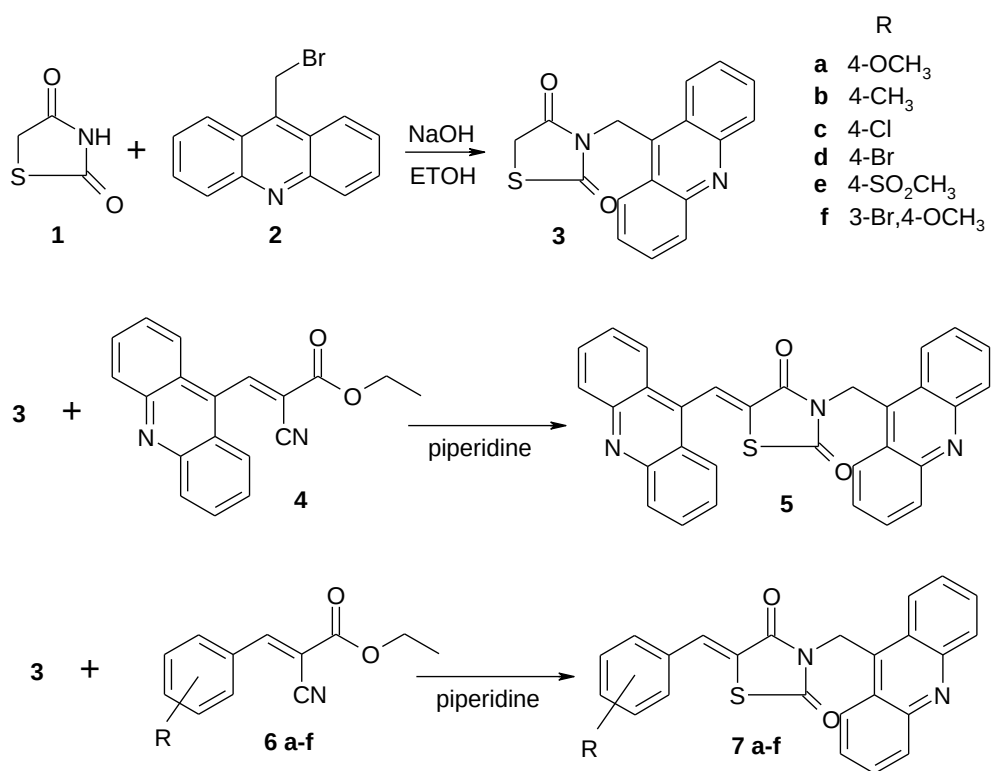
Table 2 Molecular properties and pharmacokinetic parameters, important for the good bioavailability of thiazacridine derivatives and doxorubicin (dox): number of hydrogen bond acceptor and donor groups (nON and nOHNH, respectively), molecular weight (MW), calculated octanol/water partition coefficient (miLogP), number of rule's violations (Nviolat), number of rotatable bonds (Nrotb), topological polar surface area (TPSA), molecular volume (Vol), the scores to judge the compound's overall potential to qualify for a drug (druglikeness and drug-score), dipole moment, electron affinity and ionization potential energies.

Compound	Lipinski's rule of five					Nrotb ^a	TPSA ^a	Vol ^a	drug likeness ^b	drug score ^b	dipole moment (debye) ^c	electron affinity (eV) ^c	ionization potential (eV) ^c
	nON ^a	nOHNH ^a	MW ^a	miLogP ^a	Nviolat ^a								
3	4	0	308.36	3.07	0	2	50.27	259.51	2.15	0.42	2.48	1.21	8.56
5	5	0	497.58	6.67	1	3	64.86	425.36	4.38	0.14	2.66	1.34	8.52
7a	5	0	426.50	4.96	0	4	61.20	367.08	4.56	0.24	5.30	1.18	8.45
7b	4	0	410.50	5.35	1	3	51.97	358.10	2.97	0.22	4.72	1.22	8.46
7c	4	0	430.92	5.58	1	3	51.97	355.07	5.17	0.2	2.95	1.42	8.52
7d	4	0	475.37	5.71	1	3	51.97	359.42	2.46	0.17	2.72	1.47	8.53
7e	6	0	474.56	3.78	0	4	86.11	389.53	4.54	0.24	1.98	1.84	8.63
7f	5	0	505.39	5.7	2	4	61.20	384.97	3.52	0.17	3.89	1.32	8.50
dox	12	7	543.52	0.57	3	5	206.08	459.18	8.12	0.52	5.49	1.54	9.06

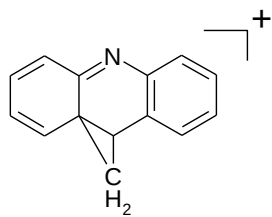
^a <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>

^b <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo>

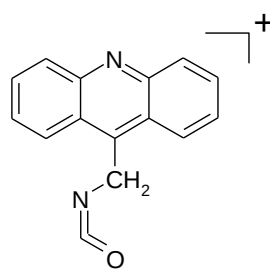
^c BioMedCACHe software



Scheme 1

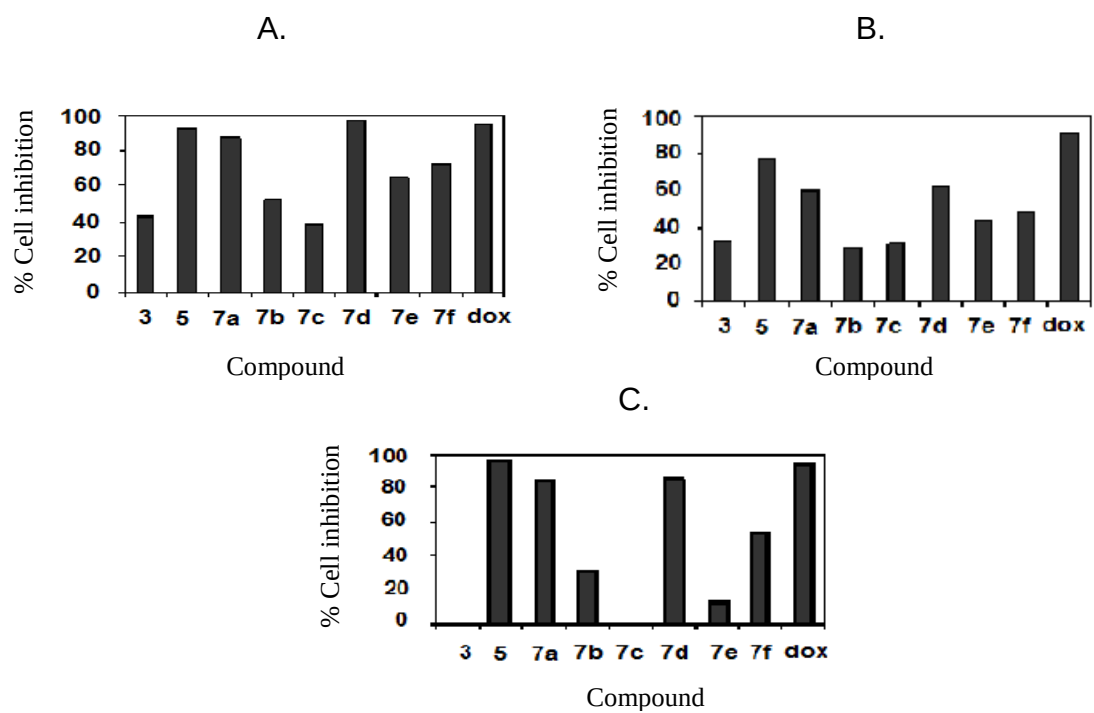


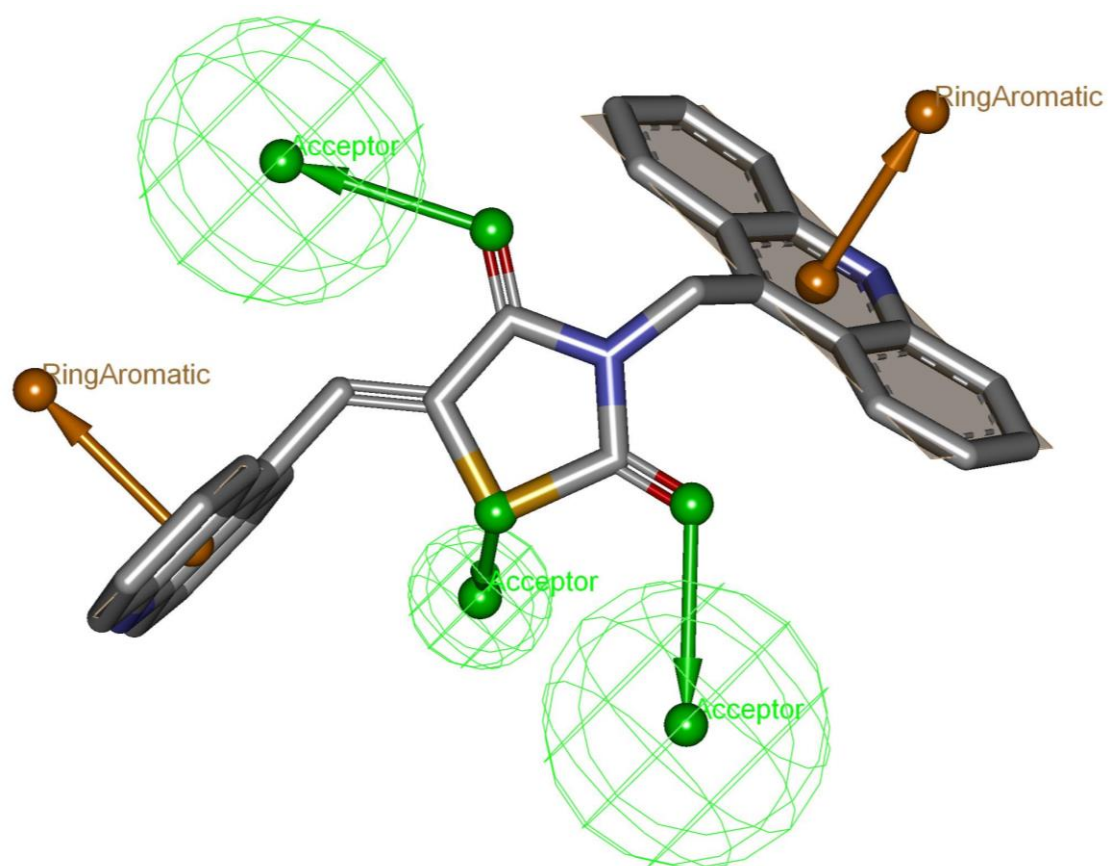
$$M + H = C_{14}H_{11}N = m/z = 193$$



$$M + H = C_{15}H_{11}N_2O = m/z = 235$$

Fig. 1

**Fig. 2**

**Fig. 3**

6 CONCLUSÕES

Considerando a vasta gama de efeitos colaterais e o possível desenvolvimento de resistência aos fármacos anticâncer disponíveis atualmente na clínica, nós realizamos a síntese, purificação, determinação das características físico-químicas, comprovação estrutural e avaliação da atividade anticâncer *in vitro* de novos derivados *bis*-acridínico e tiazacridínicos.

Foram sintetizados um total de 9 compostos finais ativos contra as células cancerígenas SF-295 (SNC), HCT-8 (cólon) e MDA-MB435 (melanoma): 3-Acridin-9-il-metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA1A), 3-Acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2), 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-metó-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3), 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA4), 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-cloro-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA5), 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6), 3-Acridin-9-il-metil-5-(2,4-dimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA7), 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-metanosulfonil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA8), 3-Acridin-9-il-metil-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA9).

As moléculas sintetizadas tiveram suas estruturas comprovadas através da Espectrofotometria de Absorção no Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e da Espectroscopia de Massa.

Entre os compostos sintetizados que tiveram a atividade anticâncer avaliada *in vitro*, merecem destaque: 3-Acridin-9-il-metil-5-acridin-9-il-metileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA2), 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA3) e 3-Acridin-9-il-metil-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF-AA6). O percentual de inibição da proliferação do LPSF-AA2 foi de 76,7% contra a linhagem SF-295, 92,4% contra HCT-8 e 95,9% contra MDA-MB435; o LPSF-AA3 teve 59,5% de inibição contra a linhagem SF-295,

86,7% contra HCT-8 e 84,2% contra MDA-MB435; já o LPSF-AA6 teve 62,2% de inibição contra a linhagem SF-295, 96,6% contra HCT-8 e 85,3% contra MDA-MB435.

Dessa forma, pode-se dizer que os derivados Tiazacridínicos sintetizados neste trabalho apresentam potencial terapêutico para o tratamento do câncer.

7 PERSPECTIVAS

Considerando os promissores resultados obtidos nessa pesquisa, é bastante interessante a realização do planejamento, de estudos de QSAR e da síntese de novas moléculas estruturalmente relacionadas às previamente sintetizadas objetivando obter compostos mais eficazes e que produzam menos efeitos tóxicos com resultados ainda mais promissores. Além disso, esta pesquisa pode ser ampliada de forma a serem realizados ensaios de toxicidade, avaliação da atividade antitumoral *in vivo* e ensaios para avaliação do mecanismo de ação das tiazacridinas.

Considerando a baixa estabilidade e lipofilicidade dos derivados tiazacridínicos, é de particular interesse realizar a formulação das mesmas em nanopartículas, determinar o diâmetro e potencial zeta dos sistemas lipossoma-acridina, realizar a caracterização estrutural e a análise morfológica dos sistemas lipossoma-acridina utilizando-se microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão e microscopia de força atômica com a finalidade de aumentar a estabilidade e solubilidade dos derivados sintetizados.

REFERÊNCIAS

Aarkstore Enterprise, The Cancer Market Outlook to 2013, Competitive landscape, pipeline analysis and growth opportunities. **Health Care Reports**, Business Insights, 128 pgs, published: Global, December 2008.

ACHESON, A. *Acridines*, John Wiley & Sons: New York, 1973. In: CHIRON, J.; GALY, J.P. **Synthesis**, n. 3, p. 313-325, 2004.

ANTONINI, I.; POLUCCI, P.; MAGNANO, A.; CACCIAMANI, D.; KONIECZNY, M. T.; PARADZIEJ-ŁUKOWICZ, J.; MARTELLIA, S. Rational Design, Synthesis and Biological Evaluation of Thiadiazinoacridines: A New Class of Antitumor Agents. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 11, p. 399-405, 2003.

ANTONINI, I.; POLUCCI, P.; MAGNANO, A.; SPARAPANI, S.; MARTELLI, S. Rational design, synthesis, and biological evaluation of bis(pyrimido[5,6,1-de]acridines) and bis(pyrazolo[3,4,5-kl]acridine-5-carboxamides) as new anticancer agents. **J. Med. Chem.**, v. 47, n. 21, p. 5244-50, 2004.

ALBERT, "The Acridines", London 1966. In: DEMEUNYNCK, M.; CHARMANTRAY, F.; MARTELLI, A. **Curr. Pharm. Des.**, v. 7, p. 1703-24, 2001.

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o dna: uma introdução. **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-29, 2005.

ÁLVAREZ, M.; FELIU, L.; AJANA, W.; JOULE, J. A.; FERNÁNDEZ-PUENTES, J. L. Synthesis of ascididemine and an isomer. **Eur. J. Org. Chem.**, v. 2000, n. 5, p. 849-55, 2000.

ANDRADE, A. M.; LIMA, W. T.; ROCHA, M. P.; LIMA, M. C.; GALDINO, S. L.; BARBOSA FILHO, J. M.; GOES, A. J.; PITTA, I. R. Synthesis and structural study of substituted thioxothiazolidinones and thioxoimidazolidinones. **Boll. Chim. Farm.**, v. 141, n. 6, p. 428-33, 2002.

ATAÍDE, D. S. T.; ESMANHOTO L. D. K.; HELMER K. A.; GUERRA I. R. C.; GUIMARÃES C. C. G.; MORITZ S. Ulceração das placas psoriáticas - efeito cutâneo adverso do metotrexato em altas doses no tratamento da psoríase: relato de três casos*, **An. Bras. Dermatol.**, v. 78, n. 6, p. 749-53, 2003.

AUGUSTUS, T. M.; ANDERSON, J.; HESS, S. M.; BIERBACH, U. Bis(acridinylthiourea)platinum(II) complexes: synthesis, DNA affinity, and biological activity in glioblastoma cells. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 13, n. 5, p. 855-8, 2003.

BARBET J.; ROQUES, B. P.; LE PECQ, J. B. DNA-intercalating compounds: Synthesis of acridine dimers. *C. R. Acad. Sci. Hebd. Seances Acad. Sci. D.*, v. 281, n. 12, p. 851-3, 1975.

BEHARRY, Z.; ZEMSKOVA, M.; MAHAJAN, S.; ZHANG, F.; MA, J.; XIA, Z.; LILLY, M.; SMITH, C. D.; KRAFT, A. S. Novel benzylidene-thiazolidine-2,4-diones inhibit Pim protein kinase activity and induce cell cycle arrest in leukemia and prostate cancer cells. **Mol. Cancer. Ther.**, v. 8, p. 1473-83, 2009.

BELMONT, P.; JOURDAN, M.; DEMEUNYNCK, M.; CONSTANT, J. F.; GARCIA, J.; LHOMME, J.; CAREZ, D.; CROISY, A. Abasic site recognition in DNA as a new strategy to potentiate the action of anticancer alkylating drugs? **J. Med. Chem.**, v. 42, n. 25, p. 5153-9, 1999.

BELMONT, P.; DORANGE, I. Acridine/acridone: a simple scaffold with a wide range of application in oncology. **Expert Opin. Ther. Patents**, v. 18, n. 11, p. 1211-24, 2008.

BERRIDGE, M. V.; TAN, A. S.; MCCOY, K. D.; WANG, R. The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. **Biochemica**, n. 4, p. 15-20, 1996.

BONSE, S.; SANTELLI-ROUVIER, C.; BARBE, J.; KRAUTH-SIEGEL, R. L., Inhibition of Trypanosoma cruzi trypanothione reductase by acridines: kinetic studies and structure-activity relationships. **J. Med. Chem.**, v. 42, n. 26, p. 5448-54, 1999.

BRIDEWELL, D. J.; FINLAY, G. J.; BAGULEY, B. C. Topoisomerase I/II selectivity among derivatives of N-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide (DACA). **Anticancer Drug Des.**, v. 16, n. 6, p. 317-24, 2001.

BU, X.; CHEM, J.; DEADY, L. W.; DENNY, W. A. Synthesis e citotoxicity of potential anticancer derivatives of pyrazolo [3,4,5-*k*]acridine and indolo[2,3-*a*]acridine. **Tetrahedron**, p. 123-27, 2001.

CARVALHO, L.; SILVA, A.; ANDRADE, C.; BARROSO, C.; FARINHA, C.; FERNANDES, J. C.; LANDEIRO, R. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, v. XV, n. 4, p. 683-96, 2009.

CARVALHO, M. M. Psico-Oncologia: História, Características E Desafios. **Psicologia USP**, v. 13, n. 1, p. 151-66, 2002.

CHABNER, B. A.; CALABRESI, P., In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 1995, 903-49 p.

CHANDRAPPA, S.; PRASAD, S. B. B. ; VINAYA, K.; KUMAR, C. S. A.; THIMMEGOWDA, N. R.; RANGAPPA, K. S. Synthesis and in vitro antiproliferative activity against human cancer cell lines of novel 5-(4-methyl-benzylidene)-thiazolidine-2,4-diones. **Invest. New Drugs**, v. 26, p. 437–44, 2008.

CHEN, C. J.; CHIN, J. E.; HUEDA, K.; CLARK, D. P.; PASTAN, I.; GOTTESMANN, M. M.; RONINSON, I. B., In: AVENDAÑO C.; MENÉNDEZ, J. C. **Curr. Med. Chem.**, v. 9, p. 159-93, 2002.

CHEN, T. K.; FICO, R.; CANELLAKIS, E. S. Diacridines, bifunctional intercalators: Chemistry and antitumor activity. **J. Med. Chem.**, v. 21, n. 9, p. 868-74, 1978.

CHIRON, J.; GALY, J-P. Reactivity of the Acridine Ring: A Review. **Synthesis**, n. 3, p. 313-25, 2004.

CHOI, Y. H.; PARK, A.; SCHMITZ, F. J.; VANALTENA, I. **J. Nat. Prod.**, v. 56, p. 1431–33, 1993.

COHEN, N.C. **Guidebook on molecular modeling in drug design**. San Diego: Academic Press, 361p, 1996.

COLNAGO, L. A.; ALMEIDA, F. C. L.; VALENTE, A. P. Espectrometria de Massa e RMN Multidimensional e Multinuclear: Revolução no Estudo de Macromoléculas Biológicas. **Química Nova na Escola**, n. 16, p. 9-14, 2002.

CORBETT, A. H.; GUERRY, P.; PFLIEGER, P.; OSHEROFF, N. A pyrimido[1,6-a]benzimidazole that enhances DNA cleavage mediated by

eukaryotic topoisomerase II: a novel class of topoisomerase II-targeted drugs with cytotoxic potential. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 37, n. 12, p. 2599-605, 1993.

COSTES, N.; LE DEIT, H.; MICHEL, S.; TILLEQUIN, F.; KOCH, M.; PFEIFFER, B.; RENARD, P.; LÉONCE, S.; GUILBAUD, N.; KRAUS-BERTHIER, L.; PIERRÉ, A.; ATASSI, G. Synthesis and cytotoxic and antitumor activity of benzo[b]pyrano[3, 2-h]acridin-7-one analogues of acronycine. **J. Med. Chem.**, v. 43, n. 12, p. 2395-402, 2000.

CUMMINGS, J.; SMYTH, J. F. DNA topoisomerase I and II as targets for rational design of new anticancer drugs. **Ann. Oncol.**, v. 4, p. 533-43, 1993.

DAHM, R. Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research. **Hum. Genet.**, v. 122, p. 565-81, 2008. Review

DAHM, R. Friedrich Miescher and the discovery of DNA. **Developmental Biology**, v. 278, p. 274-88, 2005. Review

DANAEI, G.; HOORN, S. V.; LOPEZ, A. D.; MURRAY, C. J. L.; EZZATI, M. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. **Lancet**, v. 366, p. 1784-93, 2005.

DE ISABELLA, P.; CAPRANICO, G.; PALUMBO, M.; SISSI, C.; KRAPCHO, P. A.; ZUNINO, F. Sequence selectivity of topoisomerase II DNA cleavage stimulated by mitoxantrone derivatives: Relationships to drug DNA binding and cellular effects. **Mol. Pharmacol.**, v. 43, n. 5, p. 715-21, 1993.

DENNY, W. A.; ATWELL, G. J.; BAGULEY, B. C. ; WAKELIN, L. P. Potential antitumor agents. 44. Synthesis and antitumor activity of new classes of diacridines: importance of linker chain rigidity for DNA binding kinetics and biological activity. **J. Med. Chem.**, v. 28, p. 1568, 1985.

DNA-label. Disponível em:

<<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7d/DNA-labels.png>>. Acesso em: 18 março 2009

DELFOURNE, E.; ROUBIN, C.; BASTIDE, J. The first synthesis of the pentacyclic pyridoacridine marine alkaloids: arnoamines A and B. **J. Org. Chem.**, v. 65, n. 18, p. 5476-9, 2000.

DEMEUNYNCK, M.; CHARMANTRAY, F.; MARTELLI, A. Interest of acridine derivatives in the anticancer chemotherapy. **Curr. Pharm. Des.**, v. 7, n.17, p. 1703-24, 2001.

DENNY, W. A.; ATWELL, G. J.; BAGULEY, B. C.; WAKELIN, L. P. Potential antitumor agents: Synthesis and antitumor activity of new classes of diacridines: importance of linker chain rigidity for DNA binding kinetics and biological activity. **J. Med. Chem.**, v. 28, n. 11, p. 1568-74, 1985.

D'INCALCI, M. Nitrosoureas: molecular pharmacology/ translational research. **Tumori.**, v. 93, n. 3, p. 17-21.

DEWAR, M. J. S.; ZOEBSCH, E. G.; HEALY, E. F.; STEWART, J. J. P. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 107, p. 3902-9, 1985.

ESTÈVE, M. A.; CARRE, M.; BRAGUER, D. Microtubules in apoptosis induction: are they necessary? **Curr. Cancer Drug Targets.**, v. 7, n. 8, p. 713-29, 2007.

FERGUSON, L.R.; DENNY, W.A. Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators. **Mutat. Res.**, v. 623, p. 14-23, 2007.

FERLIN, M. G.; MARZANO, C.; CHIARELOTTO, G.; BACCICHETTI, F.; BORDIN, F. Synthesis and antiproliferative activity of some variously substituted acridine and azacridine derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 35, p. 827-37, 2000.

FERNÁNDEZ, M-J.; WILSON, B.; PALACIOS, M.; RODRIGO, M-M.; GRANT, K. B.; LORENTE, A. Copper-Activated DNA Photocleavage by a Pyridine-Linked Bis-Acridine Intercalator. **Bioconjug. Chem.**, v. 18, p. 121-29, 2007.

FIGGITT, D. P.; DENNY, W. A.; GAMAGE, S. A.; RALPH, R. K. Structure-activity relationships of 9-anilinoacridines as inhibitors of human DNA topoisomerase II. **Anticancer Drug Des.**, v. 9, n. 3, p. 199-208, 1994.

FISCHER, G.; PINDUR, U. A molecular modeling study of B-DNA-intercalation complexes with amsacrine and related 9-anilino-acridines. **Pharmazie**, v. 54, n. 2, p. 83-93, 1999.

FREUDENRICH, C. How DNA Works. Disponível em:
<<http://static.howstuffworks.com/gif/dna-2.jpg>>. Acesso em: 19 março 2009.

FUJIWARA, K.; SHIMAZAKI, N. Japan. **Anti-cancer pharmaceutical compositions containing benzimidazole thiazolidinedione derivatives - PPAR γ agonists and RXR agonists and methods for treating patients with cancer**. U.S. Pat. Appl. Publ. Cont.-in-part of Appl. No. PCT/JP2007/052178. (2009), 26 pp.

GALLAGHER, J. R. Microtubule-stabilizing natural products as promising cancer therapeutics. **Curr. Med. Chem.**, v. 14, n. 28, p. 2959-67, 2007.

GAMAGE, S. A.; FIGGITT, D. P.; WOJCIK, S. J.; RALPH, R. K.; RANSIJN, A.; MAUEL, J.; YARDLEY, V.; SNOWDON, D.; CROFT, S. L.; DENNY, W. A. Structure-activity relationships for the antileishmanial and antitrypanosomal activities of 1'-substituted 9-anilinoacridines. **J. Med. Chem.**, v. 40, n. 16, p. 2634-42, 1997.

GAMAGE, S. A.; SPICER, J. A.; ATWELL, G. J.; FINLAY, G. J.; BAGULEY, B. C.; DENNY, W. A. Structure-activity relationships for substituted bis(acridine-4-carboxamides): a new class of anticancer agents. **J. Med. Chem.**, v. 42, n. 13, p. 2383-93, 1999.

GELLERT, M.; MIZUUCHI, K.; O'DEA, M. H.; NASH, H. A. DNA gyrase: an enzyme that introduces superhelical turns into DNA. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 73, n. 11, p. 3872-6, 1976.

GIRAULT, S.; GRELLIER, P.; BEREICIBAR, A.; MAES, L.; MOURAY, E.; LEMIÈRE, P.; DEBREU, M. A.; DAVIOUD-CHARVET, E.; SERGHERAERT, C. Antimalarial, antitrypanosomal, and antileishmanial activities and cytotoxicity of bis(9-amino-6-chloro-2-methoxyacridines): influence of the linker. **J. Med. Chem.**, v. 43, n. 14, p. 2646-54, 2000.

GIORGIO, C. D.; NIKOYAN, A.; DECOMEIA, L.; BOTTA, C.; ROBIN M.; REBOUL J-P.; SABATIER, A-S.; MATTA, A.; M'EO, M. D. DNA-damaging activity and mutagenicity of 16 newly synthesized thiazolo[5,4-a]acridine derivatives with high photo-inducible cytotoxicity. **Mutat. Res.**, v. 650, p. 104-14, 2008.

GLOGAUER, A. Síntese e caracterização fotofísica de dois copolímeros eletroluminescentes: um completamente conjugado e outro multibloco tendo como unidade cromofórica o fluoreno-vinileno-fenileno. 2004. 123 f.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2004.

GOODMAN & GILMAN **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9^a ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 1436p., 1996.

GOODMAN & GILMAN **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10^a ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 1647p., 2003.

GRACIET, J. C.; NIDDAM, V.; GAMBERONI, M.; TRABAUS, C.; DESSOLIN, J.; MEDOU, M.; MOURIER, N.; ZOULIM, F.; BOREL, C.; et al. Modelization, synthesis and antiviral evaluation of new 2,3-disubstituted thiazolidinone nucleoside analogs. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 6, n. 15, p. 1775-80, 1996.

GRAZIANO, M. J.; COURTNEY, C. L.; MEIERHENRY, E. F.; KHEOH, T.; PEGG, D. G.; GOUGH, A. W. Carcinogenicity of the anticancer topoisomerase inhibitor, amsacrine, in Wistar rats. **Fundam. Appl. Toxicol.**, v. 32, n. 1, p. 53-65, 1996.

GUDDNEPPANAVAR, R.; SALUTA, G.; KUCERA, G. L.; BIERBACH, U. Synthesis, Biological Activity, and DNA-Damage Profile of Platinum-Threading Intercalator Conjugates Designed To Target Adenine. **J. Med. Chem.**, v. 49, p. 3204-14, 2006.

HANDE, K. R. Etoposide: four decades of development of a Topoisomerase II inhibitor. **Eur. J. Cancer**, v. 34, n. 10, p. 1514-21, 1998.

HARRISON, R. J.; GOWAN, S. M.; KELLAND, L. R.; NEIDLE, S. Human telomerase inhibition by substituted acridine derivatives. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 9, n. 17, p. 2463-8, 1999.

INCA - Instituto Nacional do Câncer. Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. Rio de Janeiro, 2008.

JOHNSON, M. R.; FAZIO, M. J.; WARD, D. L.; SOUSA, L. R. Synthesis of beta-lactams by the photochemical extrusion of sulfur dioxide from 1,1-dioxo-4-thiazolidinones. **J. Org. Chem.**, v. 48, n. 4, p. 494-9, 1983.

KLUSA, J.; LANSIAUX, A.; WATTEZ, N.; HILDEBRAND, M-P. LEONCE, S., PIERRE, A.; HICKMAN, J. A.; BAILLY, C. Inuction of apoptosis in HL-60 leukemia and B16 melenoma cells by the acronycine derivative S23906-1. **Biochem. Pharmacol.**, v. 63, p. 1443-52, 2002.

KNOLS, K. M. Global Cancer Market Review 2008 (World Top Ten Cancer Drugs): World Best Selling Top Ten Anticancer Drugs, Leading Companies, Market Trends [internet]. Versão 79, 2010. Disponível em: <<http://knol.google.com/k/global-cancer-market-review-2008-world-top-ten-cancer-drugs#>>. Acesso em: 5 outubro 2010.

KOLOMEICHUK, S. N.; TERRANO, D. T.; LYLE, C. S., SABAPATHY, K.; CHAMBERS, T. C. Distinct signaling pathways of microtubule inhibitors - vinblastine and Taxol induce JNK-dependent cell death but through AP-1-dependent and AP-1-independent mechanisms, respectively. **FEBS J.**, v. 275, n. 8, p. 1889-99, 2008.

KUMAR, B. R.; PRASHANTHA; KARVEKAR, M. D.; ADHIKARY, L.; NANJAN, M. J.; SURESH, B. Microwave induced synthesis of the thiazolidine-2,4-dione motif and the efficient solvent free-solid phase parallel syntheses of 5-benzylidene-thiazolidine-2,4-dione and 5-benzylidene-2-thioxo-thiazolidine-4-one compounds. **J. Heterocycl. Chem.**, v. 43, n. 4, p. 897-903, 2006.

LÊ PECQ, J. B.; LE BRET, M.; BARBET, J.; ROQUES, B. DNA polyintercalating drugs: DNA binding of diacridine derivatives. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 72, n. 8, p. 2915-9, 1975.

LEHMANN, J. M. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferators-activated receptor gamma (PPAR γ). **J. Biol. Chem.**, v. 270, p. 12953-6, 1995.

LEITE, L. F. C. C.; MOURÃO, R. H. V.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; HERNANDES, M. Z.; NEVES, F. A. R.; VIDAL, S.; BARBE, J.; PITTA, I. R. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of arylidene-thiazolidinediones with potential hypoglycemic and hypolipidemic activities. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 42, p. 1263-71, 2007.

LERMAN, L. S. Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. **J. Mol. Biol.**, v. 3, p. 18-30, 1961.

LERMAN, L. S. The structure of the DNA-acridine complex. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 49, p. 94-102, 1963.

LEVSHIN, I. B.; GRIGOR'EVA, I. V.; TSYRKAN, A. A.; TARASEVICIUS, E.; V'YUNOV, K. A.; GINAK, A. I. Reactivity and tautomerism of azolidones. LII. Synthesis of 2- and 3-allyl-substituted pseudothiohydantoin. **Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii**, v. 3, p. 336-8, 1985.

LIBERMANN, D.; HIMBERT, J.; HENGL, L. Thiazolidinedione as starting material in a synthesis of substituted thiopyruvic and thioglyoxylic acids. **Bull. Soc. Chim. Fr.**, p. 1120-4, 1948.

LIMA, L. M. Química Medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. **Quim. Nova**, v. 30, n. 6, p. 1456-68, 2007.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug. Delivery Rev.**, v. 23, p. 4-25, 1997.

LIU, L. F. DNA topoisomerase poisons as antitumor drugs. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 58, p. 351-75, 1989.

LIU, Y. S.; ZHOU, X. M.; ZHI, M. X.; LI, X. J.; WANG, Q-L. Darwin's contributions to genetics. **J. Appl. Genet.**, v. 50, n. 3, p. 177-84, 2009.

LO, C.; SHROPSHIRE, E. Y., The alkylation of 2,4-thiazolidinedione. **J. Org. Chem.**, v. 22, p. 999-1001, 1957.

LOPES, A. A.; OLIVEIRA, A. M.; PRADO, C. B. C. Principais genes que participam da formação de tumores. **Rev. Bras. Biol. Ciência da Terra**, v. 2, n. 2, 2002.

MACHADO, A. E. D. *Quim. Nova*, v. 23, p. 237, 2000. In: ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. **Quim. Nova**, São Paulo, p. 118-29, 2005.

MAHALLE, S.; LIGAMPALLE, D.; MANE, R. Microwave-Assisted Synthesis of Some 2,4-Thiazolidinedione Derivatives. **Heteroatom Chemistry**, v. 20, n. 3, p. 151-56, 2009.

MARTÍNEZ, R.; CHACÓN-GARCÍA, L. The Search of DNA-Intercalators as Antitumoral Drugs: What it Worked and What did not Work. **Curr. Med. Chem.**, v. 12, p. 127-51, 2005.

MATSUBARA, Y.; NAKAMURA, T.; YOSHIHARA, M.; MAESHIMA, T. Reaction of methyl (phenylhydrazonomethylthio)acetate with sodium methoxide. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 33, n. 7, p. 3009-11, 1985.

MCDONALD, L. A.; ELDREDGE, G. S.; BARROWS, L. R.; IRELAND, C. M. Inhibition of topoisomerase II catalytic activity by pyridoacridine alkaloids from a *Cystodytes* sp. ascidian: a mechanism for the apparent intercalator-induced inhibition of topoisomerase II. **J. Med. Chem.**, v. 37, n. 22, p. 3819-27, 1994.

MCMURRY, J. **Química Orgânica**. Trad, técnica Ana Flavia Nogueira e Izilda Aparecida Bagatin. 6. ed. São Paulo: Thompson, 2006. Vol 1.

MOOBERRY, S. L. Strategies for the development of novel Taxol-like agents. **Methods Mol. Med.**, v. 137, p. 289-302, 2007.

MORI, L. Mutação e câncer. **Ciência Hoje**, v. 30, n. 180, p. 32-7, 2002.

MOSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

NARAYANAN, R.; EL-SAYED, M. A. Raman studies on the interaction of the reactants with the platinum nanoparticle surface during the nanocatalyzed electron transfer reaction. **J. Phys. Chem. B**, v. 109, n. 39, p. 18460-4, 2005.

NEIDLE, S.; PARKINSON, G. Telomerase maintenance as a target for anticancer drug discovery. **Nature.**, v. 1, p. 383-93, 2002.

NISHIMOTO, S.; HATTA, H.; UESHIMA, H.; KAGIYA, T. 1-(5'-Fluoro-6'-hydroxy-5',6'-dihydrouracil-5'-yl)-5-fluorouracil, a novel N(1)-C(5)-linked dimer that releases 5-fluorouracil by radiation activation under hypoxic conditions. **J. Med. Chem.**, v. 35, n. 14, p. 2711-12, 1992.

NOGUEIRA, L. J.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Histórico da evolução da química medicinal e a importância da lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus e as contribuições de Overton e de Hansch. **Ver. Virt. Quim.**, v. 1, n. 3, p. 227 - 40, 2009.

ONLINSKII, M. M. Recyclization of 2-thioxo-1,3-thiazan-4-one and its derivatives. **Zhurnal Organicheskoi Khimii**, v. 29, n. 11, p. 2323-4, 1993.

OTTANA, R.; MACCARI, R.; BARRECA, M. L.; BRUNO, G.; ROTONDO, A.; ROSSI, A.; CHIRICOSTA, G.; DI PAOLA, R.; SAUTEBIN, L.; CUZZOCREA, S.; VIGORITA, M. G. 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: design and synthesis of novel anti-inflammatory agents. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 13, n. 13, p. 4243-52, 2005.

PASTWA, E.; CIESIELSKA, E.; PIESTRZENIEWICZ, M. K.; DENNY, W. A.; GNIAZDOWSKI, M.; SZMIGIERO, L. Cytotoxic and DNA-damaging properties of N-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide (DACA) and its analogues. **Biochem. Pharmacol.**, v. 56, n. 3, p. 351-59, 1998.

PITTA, I. R.; GALDINO, S. L.; LIMA, M. C. A. Brasil. **Moléculas com atividade antitumoral**. Universidade Federal de Pernambuco (2006), PI 0601827-0.

PITTA, I. R.; GALDINO, S. L.; LIMA, M. C. A.; BARBE, J. **Moléculas com atividade antitumoral e processo para sua obtenção**. Universidade Federal de Pernambuco (2002) PI 0203747-5.

POTMESIL, M.; HSIANG, Y. H.; LIU, L. F.; BANK, B.; GROSSBERG, H.; KIRSCHENBAUM, S.; FORLENZA, T. J.; PENZINER, A.; KANGANIS, D. Resistance of human leukemic and normal lymphocytes to drug-induced DNA cleavage and low levels of DNA topoisomerase II. **Cancer Res.**, v. 48, n. 12, p. 3537-43, 1988.

RINEHART, K. L.; HOLT, T. G.; FREJEAU, N. L.; STROH, J. G.; KEIFER, P. A.; SUN, F.; LI, L. H.; MERTIN, D. G. Ecteinascidin 729, 743, 745, 759A e 770: potent antitumor from the Caribbean tunicate *Ecteinascidia turbinata*. **J. Org. Chem.**, v. 55, p. 4512-15, 1990.

SADLER, P. Precious anticancer drugs. **Chemistry & Industry**, v. 5, p. 18-20, 2009.

SAFAVY, A. Recent developments in taxane drug delivery. **Curr. Drug Deliv.**, v. 5, n. 1, p. 42-54, 2008.

SANTOS, J. C. M. Jr. Tratamento coadjuvante do câncer do reto: II – quimioterapia. **Rev. Bras. Coloproctologia**, v. 17, n. 2, p. 143-49, 1997.

SANTOS, V. M. R.; DONNICI, C. L.; COSTA, J. B. N.; CAIXEIRO, J. M. R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Quim. Nova**, v. 30, n. 1, p. 159-70, 2007.

SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; MCMAHON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J. T.; BOKESCH, H.; KENNEY, S. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **J. Nat. Cancer Inst.**, v. 82, p. 1107-18, 1990.

SELBY, I. A. In: CHIRON, J.; GALY, J.P. Reactivity of the Acridine Ring: A Review. **Synthesis**, n. 3, p. 313-325, 2004.

PERROT, S., **Thérapeutique Pratique**. 17^e ed. Paris : MED-LINE, 2007, 21p.

Singh, S. P.; Parmar, S. S.; Raman, K.; Stenberg, V. I. Chemistry and biological activity of thiazolidinones. **Chem. Rev.**, v. 81, n. 2, p. 175-203, 1981.

SIRIKANTARAMAS, S.; ASANO, T.; SUDO, H.; YAMAZAKI, M.; SAITO, K. Camptothecin: Therapeutic potential and biotechnology. **Curr. Pharm. Biotechnol.**, v. 8, p. 196-202, 2007.

SKONIECZNY, S. *Heterocycles*, v. 6, p. 987, 1977. In: CHIRON, J.; GALY, J-P., Reactivity of the Acridine Ring: A Review. **Synthesis**, n. 3, p. 313-25, 2004.

SMITH C. D.; KRAFT, A. S. **Inhibitors of pim protein kinases, compositions, and methods for treating cancer**. WO 2009/064486 A2. 22 May 2009, 15 November 2007. World Intellectual Property Organization.

SPIKER, J. A.; GAMAGE, S. A.; ATWELL, G. J.; FINLAY, G. J.; BAGULEY, B. C.; DENNY, W. A. Structure-activity relationships for acridine-substituted analogues of the mixed topoisomerase I/II inhibitor N-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide. **J. Med. Chem.**, v. 40, n. 12, p. 1919-29, 1997.

SPIKER, J. A.; GAMAGE, S. A.; FINLAY, G. J.; DENNY, W. A. Synthesis and evaluation of unsymmetrical bis(arylcarboxamides) designed as topoisomerase-targeted anticancer drugs. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 10, n. 1, p. 19-29, 2002.

STANSLAS, J.; HAGAN, D. J.; ELLIS, M. J.; TURNER, C.; CARMICHAEL, J. WARD, W.; HAMMONDS, T. R.; STEVENS, M. F. G. Antitumor Polycyclic Acridines. 71. Synthesis and Biological Properties of DNA Affinic Tetra- and Pentacyclic Acridines. **J. Med. Chem.**, v. 43, p. 1563-72, 2000.

STREKOWSKI L.; WILSON B. Noncovalent interactions with DNA: an overview. **Mutat. Res.**, v. 623, n. 1-2, p. 3-13, 2007.

SU, T.; CHEN, C.; HUANG, L.; CHEN, C.; BASU, M. K.; ZHANG, X.; CHOU, T. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Potential Anticancer Agents: Alkylcarbamates of 3-(9-acridinylamino)-5-hydroxymethylaniline. **J. Med. Chem.**, v. 42, p. 4741-48, 1999.

SUGAYA, T.; MIMURA, Y.; SHIDA, Y.; OSAWA, Y.; MATSUKUMA, I.; IKEDA, S.; AKINAGA, S.; MORIMOTO, M.; ASHIZAWA, T.; OKABE, M. et al. 6H-pyrazolo[4,5,1-de]acridin-6-ones as a novel class of antitumor agents. Synthesis and biological activity. **J. Med. Chem.**, v. 37, n. 7, p. 1028-32, 1994.

SURDON, V.; MAZOYER, S.; PIQUE, V.; GALY, J-P. Synthesis of New Bis and Tetracridines. **Molecules**, v. 6, p. 673-82, 2001.

TAVARES, C. L. QSAR: A Abordagem De Hansch. **Quim. Nova**, v. 27, n. 4, p. 631-9, 2004.

TAVARES, V.; HIRATA, M. H.; HIRATA, R. D. C. Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PPAR γ): Estudo Molecular na Homeostase da Glicose, Metabolismo de Lipídeos e Abordagem Terapêutica. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 51, n. 4, p. 526-33, 2007.

TURKEVICH, N. M.; VLADZIMIRSKAYA, E. V. Synthesis of derivatives of thiazolidone of biological interest. V. Reaction of condensation of chloroacetic acid with thiosemicarbazones in the presence of hydrochloric acid. **Zhurnal Obshchei Khimii**, v. 27, p. 2566-9, 1957.

VERMA, A.; SARAF, 4-Thiazolidinone - A biologically active scaffold. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 43, p. 897-905, 2008.

VICINI, P.; GERONIKAKI, A.; ANASTASIA, K.; INCERTI, M.; ZANI, F.; Synthesis and antimicrobial activity of novel 2-thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 14, n. 11, p. 3859-64, 2006.

VIDEIRA, R. S.; DEBONI, M. C. Z.; ARAÚJO, C. A. S.; OKAMOTO, A. C.; MELHADO, R. M. Oncogenes e desenvolvimento do câncer. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 6, n. 1, p. 71-6, 2002

VLADZIMIRSKAYA, E. V.; KIRICHENKO, B. M. Synthesis and properties of bicyclic derivatives of thiazolidine. **Farmatsevtichnii Zhurnal (Kiev)**, v. 30, n. 1, p.41-3, 1975.

WAINWRIGHT, M. Acridine, a neglected antibacterial chromophore. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 47, n. 1, p. 1-13, 2001.

WAKELIN, L. P.; ROMANOS, M.; CHEN, T. K.; GLAUBIGER, D.; CANELLAKIS, E. S.; WARING, M. J. Structural limitations on the bifunctional intercalation of diacridines into DNA. **Biochemistry**, v. 17, n. 23, p. 5057-63, 1978.

WANG, J. C. DNA topoisomerases. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 54, p. 665-97, 1985.

WATSON, J. D.; CRICK, F. H. Molecular structure of Nucleic Acid, *Nature*, v. 171, p. 737-8, 1953.

WEINBERG, R. A. **A biologia do Câncer**. Porto Alegre: Artmed, 2008, 25 p.

WENIGER, B.; UM, B. H.; VALENTIN, A.; ESTRADA, A.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R.; MAILLÉ, M.; SAUVAIN, M. Bioactive acridone alkaloids from *Swinglea glutinosa*. **J. Nat. Prod.**, v. 64, n. 9, p. 1221-3, 2001.

WENLOCK, M. C.; AUSTIN, R. P.; BARTON, P.; DAVIS, A.M.; LEESON, P.D. A comparison of physiochemical property profiles of development and marketed oral drugs. **J. Med. Chem.**, v. 46, p. 1250-6, 2003.

WHO – World Health Organization. Global Action Against Câncer. International Union Against Cancer (UICC), global cancer control. Geneva, 2005.

WHO - World Health Organization. Cancer is a leading cause of death worldwide: it accounted for 7.9 million deaths (around 13% of all deaths) in 2007. Geneva, 2009.

YANG, P.; YANG, Q.; QIAN, X.; TONG, L.; LI, X. Isoquino[4,5-bc]acridines: design, synthesis and evaluation of DNA binding, anti-tumor and DNA photo-damaging ability. **J. Photochem. Photobiol.**, v. 84, n. 3, p. 221-6, 2006.

APÊNDICE A - A importância das acridinas na terapêutica anticâncer

Submetido na revista Química Nova.

A IMPORTÂNCIA DAS ACRIDINAS NA TERAPÊUTICA ANTICÂNCER

**Marina Galdino da Rocha Pitta, Ricardo Olímpio de Moura Silva,
Teresinha Gonçalves da Silva, Maria do Carmo Alves de Lima, Suely Lins
Galdino e Ivan da Rocha Pitta***

Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica, Universidade Federal de
Pernambuco

Cidade Universitária. CEP: 50.670-901. Recife, Pernambuco, Brasil

A IMPORTÂNCIA DAS ACRIDINAS NA TERAPÊUTICA ANTICÂNCER

THE ROLE OF ACRIDINES IN CANCER THERAPY. Over the last four decades, intense research has focused on the effects of small organic compounds with antitumoral activities that intercalate noncovalently between DNA base pairs. In this review we wish to concentrate our attention on the properties of acridines, one interesting group of chemotherapeutic agents used in cancer therapy since the 1970's. Recent understanding of the mode of action of acridines leads to continuous and exciting research in this heterocyclic family. This review further pinpoints of the progress in the development of anticancer agents based on 15 classes of synthetic and naturally occurring acridines *in vivo* / *in vitro* clinical studies.

Keywords: Acridine derivatives, DNA intercalation, anticancer.

INTRODUÇÃO

Dentre todas as patologias, o câncer é uma das mais devastadoras. Apesar do avanço científico, vários tipos de cânceres ainda não têm cura, ou ainda, as células tumorais se tornam resistentes aos fármacos disponíveis na clínica. Dessa forma, o tratamento para o câncer continua sendo um desafio para profissionais da área de saúde em todo o mundo.

Dados da Organização Mundial de Saúde advertem que o câncer lidera as causas de morte no mundo. Em 2005, o câncer foi responsável por 7,6 milhões de mortes e, em 2007, por 7,9 milhões. A possibilidade de um diagnóstico precoce em países desenvolvidos é bem maior do que em países menos desenvolvidos, que devido à falta de acesso da população aos serviços de saúde, muitas vezes o diagnóstico é feito numa fase tardia da doença onde as possibilidades de cura são bem menores (1, 2).

Projeções apontam que as mortes devido ao câncer tentem a aumentar: 9,0 milhões em 2015 e 11,4 milhões em 2030 (1). No entanto, a adoção de medidas de saúde pública pelo governo e profissionais de saúde pode reverter estes dados caso sejam elaboradas novas estratégias obtenção de novos quimioterápicos, de prevenção, controle e de detecção precoce do câncer.

Com o objetivo de desenvolver fármacos anticâncer mais potentes e menos tóxicos, as acridinas têm despertado o interesse de vários grupos de pesquisadores (3, 4). Na Figura 1, podemos ver alguns dos primeiros derivados da acridina estudados.

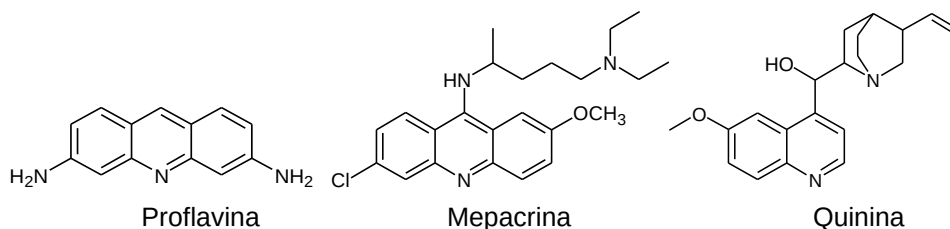


Figura 61. Alguns dos primeiros derivados das acridinas descobertos

Os derivados da acridina foram inicialmente desenvolvidos como pigmentos e corantes no final do Século 19 e, durante a 1ª Guerra Mundial, suas propriedades farmacológicas foram avaliadas. O primeiro interesse

medicinal desses compostos data de 1888, mas apenas em 1913 começaram a ser usados na prática médica quando Browning descobriu a ação bactericida da proflavina e da acriflavina. Em 1930 a mepacrina foi descoberta, o primeiro antimalárico sintético concorrente da quinina em atividade (Figura 1), fato que impulsionou o ritmo das investigações científicas.

A atividade anticâncer das acridinas foi considerada pela primeira vez em 1920. A partir de então, vários compostos, alcalóides naturais ou moléculas sintéticas, foram testados como agentes antitumorais (3).

Atualmente, os derivados acridínicos são conhecidos por apresentarem um amplo espectro de atividades biológicas, sendo utilizados no tratamento de bactérias e protozoários (5-8), da malária (9-14), da leishmaniose (13, 15, 16), de vírus (17-21), da doença de chagas (13, 14, 22, 23), parkinson (24, 25), alzheimer (26, 27), do lupus eritematoso (28), sobretudo, no tratamento do câncer (29-35).

As propriedades citotóxicas dos compostos acridínicos dependem de sua habilidade de se intercalar entre os pares de base do ADN e, também, de inibir a síntese de ácidos nucleicos pelo bloqueio da ação das enzimas topoisomerase I e topoisomerase II (3). Estudos com diferentes classes de agentes intercalantes de ADN comprovaram que a atividade antineoplásica das acridinas está associada a sua afinidade de ligação ao ADN, a baixa taxa de dissociação fármaco-ADN e também ao longo tempo de permanência da substância em um sítio de ligação individual do ADN (36).

Nesta revisão, será abordada a importância farmacológica dos derivados acridínicos e seu uso potencial sobretudo como agente anticâncer.

TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO DO CÂNCER

No tratamento do câncer, além da cirurgia, são utilizadas substâncias capazes de exterminar ou impedir o crescimento tumoral, como a hormonioterapia, radioterapia, imunoterapia ou quimioterapia.

A hormonioterapia consiste na manipulação do sistema endócrino em pacientes com tumores hormoniossensíveis; esta manipulação pode ser feita

por mecanismos cirúrgicos, radioterápicos e mais comumente através de substâncias bloqueadoras hormonais (37). Os agentes modificadores da resposta imunológica (38) por sua vez, agem principalmente no mecanismo da imunidade celular objetivando estimular o sistema imune.

Os agentes quimioterápicos mais empregados no tratamento do câncer incluem os alquilantes polifuncionais, os antimetabólitos, os antibióticos antitumorais, os inibidores mitóticos e outros.

Além da citotoxicidade intrínseca dos fármacos antineoplásicos, o efeito da quimioterapia depende da histologia do tumor (tipo, diferenciação celular), do modo evolutivo, do volume tumoral a ser tratado, da localização (vascularização). Ainda, sabe-se que a eficácia dos fármacos antineoplásicos é maior nas células que estão em divisão celular em comparação com aquelas que estão na fase G_0 , uma vez que é na fase S que ocorre a replicação das moléculas de ADN. Assim sendo, os fármacos antineoplásicos interferem em algum ponto da divisão celular, desde a síntese das bases purícas e pirimídicas até a síntese de proteínas.

MECANISMO DE AÇÃO DOS DERIVADOS ACRIDÍNICOS

A maioria dos efeitos biológicos dos compostos acridínicos pode ser explicada pela interação entre a acridina e o ADN. Várias substâncias de importância clínica como a actinomicina D e a daunomicina, bem como várias drogas usadas em doenças parasitárias, como a quinacrina e a cloroquina agem intercalando-se ao ADN (39).

Estas drogas exercem seus efeitos clínicos primários pela capacidade de interferir na função do ADN, seja inibindo a replicação e/ou transcrição do ADN. Lerman, foi o primeiro pesquisador a propor um modelo de intercalação para drogas que se ligam ao ADN examinando as interações acridina-ADN. No modelo proposto, moléculas aromáticas planares possuindo 2 ou 3 anéis de 6 membros são inseridas entre os pares de bases adjacentes do ADN. O cromóforo aromático intercalado se orienta paralelamente aos pares de bases nucleotídicos e perpendicularmente ao eixo da dupla hélice. Este complexo formado é estabilizado por interação hidrofóbica, ligação de van der Waals e

por ligação de hidrogênio. Estas interações são consideradas as mais importantes na intercalação. A intercalação causa modificações estruturais e alterações das características físico-químicas dos ácidos nucleicos; a dupla hélice se tornar rígida e estica (40, 41).

No entanto, sabe-se que as propriedades antitumorais das acridinas não dependem somente do modo de ligação ao ADN, mas também de interações específicas com outros receptores nucleares, assim como as enzimas topoisomerases e telomerases (3).

As topoisomerases (topo I e II) são enzimas que estão envolvidas em diversos processos nucleares, incluindo a replicação e a transcrição do ADN. Estas enzimas catalizam o relaxamento do ADN pela quebra (das fitas simples e dupla, pelas topo I e II, respectivamente) e religação do ADN por um mecanismo dependente de ATP. As acridinas formam um complexo terciário com a topoisomerase e o ADN, e isto implica na quebra do ADN e subsequente morte da célula via apoptose (42).

NOVAS ACRIDINAS COM ATIVIDADE ANTICÂNCER

Pitta e colaboradores realizaram a síntese de derivados tiazacridínicos e imidazacridínicos (Figura 2) que mostraram ser bastante eficazes no tratamento do câncer (32).

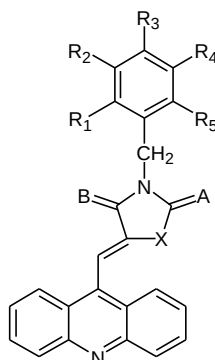


Figura 62. Fórmula geral dos novos derivados acridínicos sintetizados por Pitta et al

A rota sintética utilizada para a obtenção destes compostos iniciou-se com a oxidação da 9-metil-acridina, preparada a partir da difenilamina, que produziu a acridina-9-carboxaldeído. A etapa seguinte consistiu em uma reação

de condensação em meio alcalino utilizando o cianoacetato de etila para a obtenção do éster 2-cianoacridina-9-il-acrilato de etila.

A obtenção dos derivados tiazolidínicos e imidazolidínicos n-alquilados foi realizada através da bezilação e/ou fenilação dos mesmos, seguida ou não de tionação na posição 4 na presença de pentasulfeto de fósforo. Na última etapa, a tiazolidina e a imidazolidina sofreram reações de condensação utilizando o éster 2-cianoacridina-9-il-acrilato de etila na presença de piperidina conduzindo a formação dos derivados tiazacridínicos e imidazacridínicos.

Estas duas novas séries de agentes intercalantes mostraram ter a capacidade de se inserirem entre os pares de bases deformando a dupla hélice do ADN impedindo a replicação ou transcrição do mesmo. Para avaliação da atividade antitumoral, camundongos foram infectados pelo implante de tumores sólidos Sarcoma 180. Dez a doze dias após o tratamento com os novos derivados sintetizados, os tumores foram medidos e analisados morfológicamente. Empregando-se baixas doses dos compostos, observou-se reduções significativas das massas tumorais na maior parte dos animais tratados, quando comparados aos animais controles.

9-Aminoacridinas

As 9-aminoacridinas e seus derivados têm sido empregadas no tratamento de várias doenças. No início do século XX, foram empregadas no combate de bactérias e protozoárioze e, posteriormente, para o tratamento de câncer, infecções virais e doenças dos príons (43). Algumas destas atividades são resultantes de interações diretas - conjugação - com biomoléculas, tais como peptídeos e proteínas (3).

As 9-aminoacridinas foram inicialmente empregadas por serem capazes de se intercalar entre os pares de bases do ADN e de inibir as enzimas topoisomerases. Recentes estudos demonstraram que esta família pode induzir o gene p53 e, conseqüentemente, induzindo a apoptose celular (44).

O desenvolvimento dos fármacos derivados da 9-aminoacridina deu esperanças a milhões de pessoas em todo o mundo por ser ativo contra diversas doenças. Um dos mais importantes compostos desta família, a 6-cloro-9-(4-(*N,N*-dietilamino)-1-metilbutilamino-2-metoxiacridina) (quinacrina,

Figura 3), é aplicada no tratamento de Lupus eritematoso, artrite reumática, malária resistente à cloroquina, doença de Chagas etc. Já a 9-amino-1,2,3,4-tetrahidroacridina (tacrina) é indicada no tratamento da demência leve a moderada dos pacientes portadores da doença de Alzheimer (43).

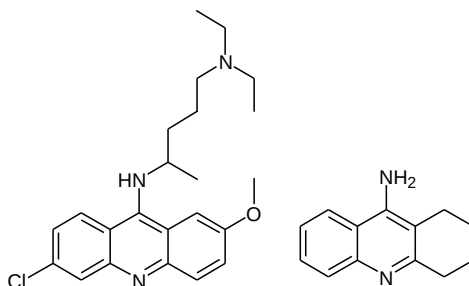


Figura 63. Quinacrina e Tacrina

A conjugação é a união de duas ou mais moléculas com a finalidade de partilharem suas propriedades em um composto resultante. Os conjugados peptídicos das 9-aminoacridinas são moléculas artificiais seletivas ao RNA que possuem atividades anticâncer, antiviral e antimicrobiana. Devido à capacidade de interação com o ADN, estes conjugados peptídicos podem interferir com a função da enzima peptidiltransferase. Entretanto, pouco se sabe quais os parâmetros que distinguem o reconhecimento entre o RNA e o ADN e quais os substituintes necessários para a inibição da peptidiltransferase (45).

Os conjugados da 2,6-diaminopurina (grupo guanina) com as 9-aminoacridinas (Figura 4) têm como alvo o ADN e, apesar de serem monointercaladores, vários deles são potentes inibidores da linhagem celular L1210 e A549. Neste sentido, observou-se que o crescimento da cadeia dos compostos conjugados leva ao aumento da capacidade de intercalação. E ainda, evidenciou-se que estes compostos alquilam preferencialmente a base nitrogenada adenina (35, 43).

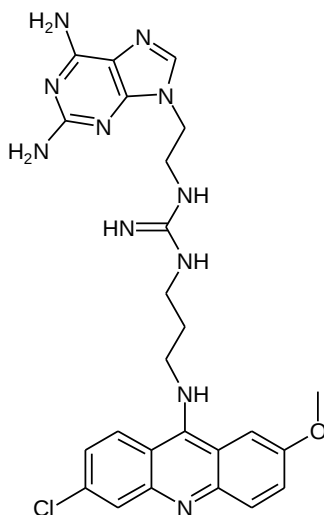


Figura 64. Conjugado da 9-aminoacridina

Os derivados metilados hidrocloreto de *N*-(4-(9-acridinilamino)-fenil)carbamato (AMCA) e hidrocloreto de *N*-(4-(9-acridinilamino)-2-metoxifenil)carbamato (m-AMCA) são análogos da amsacrina e inibem a topoisomerase II β (46). A mutação no resíduo Glu522 desta enzima leva a resistência do tumor a estas drogas. Contudo, o potencial anticâncer de outros fármacos pode melhorar devido a esta mutação. Isto justifica o uso da terapia multi-alvos no tratamento do câncer.

A amsacrina [4'-(9-acridilamino)-metanosulfona]-*m*-anisidina] (m-AMSA, Figura 5) foi o primeiro fármaco intercalador de ADN sintético introduzido na clínica (47, 48). Ela foi lançada no mercado em 1976 para o tratamento de leucemia aguda e de linfomas malignos (47, 49). Embora a seja empregada isoladamente, ela é quase exclusivamente utilizada em combinação com citarabina no tratamento de leucemias agudas refratárias em adultos.

Estudos cristalográficos da amsacrina mostraram que o plano do anel fenil tem orientação ortogonal ($\sim 70^\circ$) em relação ao plano do cromóforo. Nesta orientação, o cromóforo da acridina pode se acomodar na fenda do ADN ligando-se paralelamente com os pares de bases axiais do ADN. Ainda, ela induz a apoptose da célula tumoral via inibição da enzima topoisomerase II (50).

A asulacrina (ASL, Figura 5), derivado da m-AMSA, é um potente agente terapêutico ativo contra câncer de pulmão e de mama (33, 51).

Su e colaboradores sintetizaram e avaliaram a atividade antitumoral de análogos da 3-(9-acridinilamino)-5-hidroximetilamina (AHMA, Figura 5) (52, 53). Alguns destes derivados apresentaram potente citotoxicidade na inibição do crescimento de células leucêmicas humanas HL-60 em cultura.

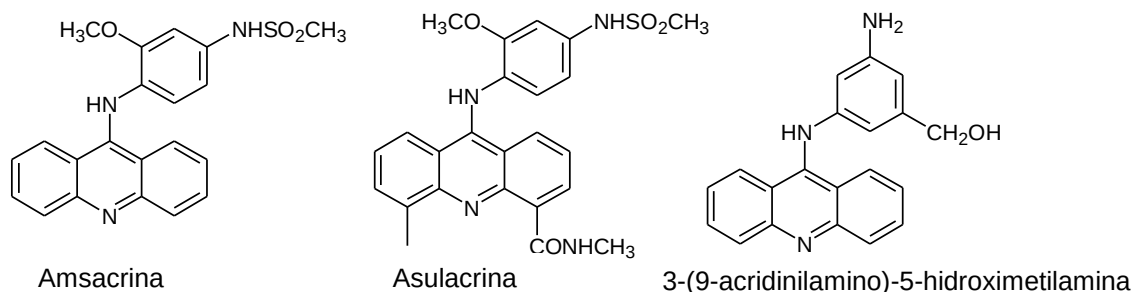


Figura 65. Amsacrina e análogos

Ferlin e colaboradores sintetizaram acridinas substituídas no C9 e derivados das azacridinas (análogos da *m*-AMSA). Alguns compostos apresentaram notáveis citotoxicidade frente ao crescimento em cultura de células humanas de leucemia HL-60 e células de câncer cervical HeLa. Os danos ao ADN foram avaliados por meio da eluição de filtros de ADN e por técnicas de precipitação de proteínas. Estudos catalíticos com topoisomerasas purificadas confirmaram que esses compostos inibem as enzimas topoisomerasas (54).

Chen e colaboradores, em 2003, na busca de novos agentes antiinflamatórios, sintetizaram derivados da 9-anilinoacridina e da 9-fenoxiacridina. Estes derivados (Figura 6) mostraram ser mais potentes que o inibidor de referência (mepacrina) para inibição da desgranulação peritoneal de mastócitos de ratos, dotado de valores IC₅₀ de 16-21 μM. Os resultados indicaram que os efeitos antiinflamatórios dos derivados da acridina foram mediados por meio da supressão da liberação de mediadores químicos de mastócitos, neutrófilos e macrófagos, e que estes compostos têm potencial para serem novos agentes antiinflamatórios com citotoxicidade reduzida (55).

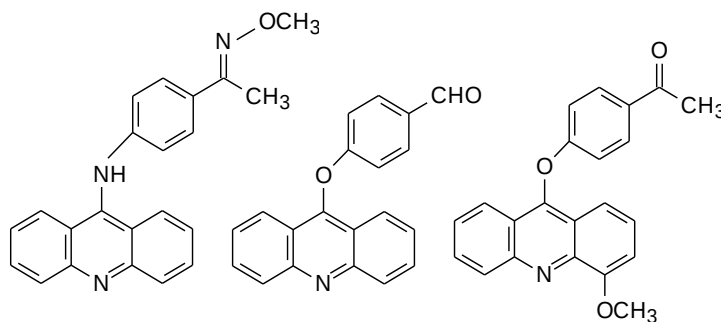


Figura 66. Agentes antiinflamatórios

Giorgio e colaboradores sintetizaram derivados das 9-aminoacridinas com atividade antiparasitária (56). Dentre estes, uma série 9-amino-2-metoxiacridina (e seus análogos *bis*- e *tetra*-acridina) foram capazes de inibir notavelmente a proliferação do *Leshmania infantum*.

A atividade citotóxica *in vitro* de vários derivados da 9-amino-nitro-acridina (Figura 7) foi testada em cultura de células da linhagem KB e células do carcinoma de Ehrlich (57). Correlações distintas entre atividade biológica e estrutura química foram encontradas. Verificou-se que i) a atividade biológica depende principalmente da posição do grupo nitro e da presença da cadeia dialquilamino na posição 9 da acridina; iii) a introdução de substituintes como metil, metoxi e bromo nas posições 4, 6 e 7 da 1-nitro-acridina exercem pouca influência na atividade biológica; iv) o número de grupos metilênicos não influencia a atividade anticâncer.

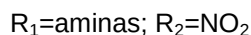
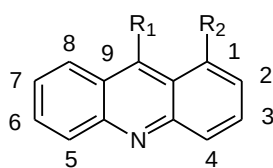
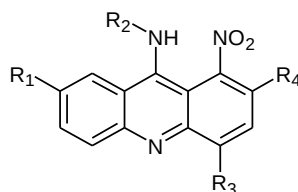


Figura 67. Estrutura geral dos derivados da 9-amino-nitro-acridina

Narayanan, em 2005, sintetizou a segunda geração das 1-nitroacridinas (Figura 8) que mostrou ser ativa contra tumores sólidos. O composto 1-nitro-9-amino-etanolil-acridina (C-857) possui grande eficácia terapêutica contra o câncer de próstata, de cólon e células de sarcoma. No entanto, seu desenvolvimento clínico foi impedido devido a sua alta toxicidade sistêmica. Com a finalidade de minimizar essa toxicidade, derivados do C-857 foram

sintetizados com substituições no C4 e/ou grupos hidroxilas esterificados no C9. A introdução de um grupo metil no C4 do C-857 levou a formação da 1-nitro-4-metil-9-aminoetanolil-acridina (C-1748), que possui melhor atividade anticâncer (específica para o câncer de próstata), e produz uma diminuição drástica da toxicidade e da potência mutagênica (58).



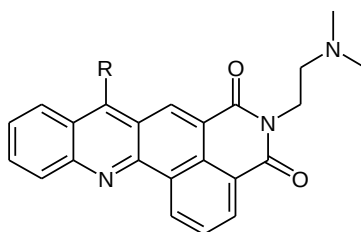
C-857 R_1, R_3 e $R_4 = H, R_2 = (CH_2)_2OH$

C-1748 R_1 e $R_4 = H, R_2 = (CH_2)_2OH, R_3 = CH_3$

Figura 68. Derivados substituídos da 1-nitroacridina

Isoquinoacridinas

Em 2006, Yang e colaboradores desenharam e sintetizaram cinco novos derivados da isoquino[4,5-*b,c*]acridina (Figura 9) com o objetivo de desenvolver moléculas antitumorais com alta capacidade de blindar o ADN e de causar danos ao ADN pela atividade óptica (59). O composto 5-[2-(dimetilamino)etil]-4H-dibenzo[*b,k*][1,7]fenantrolina-4,6,8(5H,13H)-triona ($R=O$) mostrou ser mais ativo contra a linhagem celular A549 e P388. Todos os compostos mostraram ser mais citotóxicos contra a linhagem celular P388 do que contra a linhagem A549.



$R=Cl$; $R=SCH_2CH_3$; $R=HN(CH_2CH_2)_2NCH_3$; $R=H$; $R=O$

Figura 69. Derivados da isoquino[4,5-*b,c*]acridina

Acridinas-4-carboxamidas

As acridinas 4-carboxamidas são ativas contra tumores sólidos e leucemias. O derivado *N*-[2-(dimetil-amino)etil]-acridina-4-carboxamida (DACA,

Figura 10) é um agente intercalante de ADN que inibe a atividade das enzimas topoisomerases (60, 61).

A DACA tem um amplo espectro de atividade contra tumores sólidos em animais e não é muito afetada pela multidroga resistência (MDR) mediada pela glicoproteína P (P-gP), provavelmente devido a sua alta lipofilicidade. Análogos da DACA com substituintes metil, metoxi e cloro em diferentes posições do anel acridínico foram sintetizados, e muitos apresentaram significativa atividade contra tumores sólidos em camundongos (62). O derivado 7-cloro-*N*-[2-(dimetilamino)etil]-4-acridinacarboxamida foi cerca de quatro vezes mais potente do que a própria DACA.

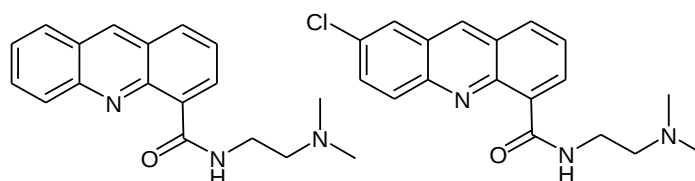


Figura 70. DACA e seu análogo clorado na posição 7

Acridinas-5-carboxamidas

Os derivados da *N*-5,2-di[ω -(amino)alquil]-2,6-dihidropirazolo[3,4,5-*k*]acridina-5-carboxamidas blindam-se ao ADN e são potentes agentes citotóxicos. Antonini e colaboradores, em 2001, sintetizaram 25 novos derivados das pirazolo[3,4,5-*k*]acridina-5-carboxamidas com o objetivo de verificar: (i) a atividade citotóxica; (ii) a potência de ligação ao ADN de compostos com/sem o anel pirazolo; (iii) a importância da presença e da posição do grupo nitro na molécula (63). Dois destes compostos (Figura 11) se destacaram por exercer atividade citotóxica em escala nanomolar contra o adenocarcinoma de cólon humano HT29.

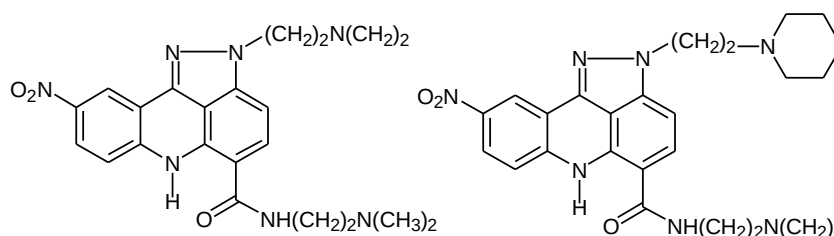


Figura 71. Estrutura das pirazolo[3,4,5-*k*]acridinas-5-carboxamidas

Pirazoloacridinas/onas

Partindo do conhecimento da atividade citotóxica de derivados da acridina-4-carboxamida (Figura 12) e de derivados da pirazolo[3,4,5-*k*]-acridina, o composto 9-metoxi-*N,N*-dimetil-5-nitro-pirazolo[3,4,5-*k*]acridina-2(6H)-propanamina foi sintetizado e encontra-se em ensaios clínicos.

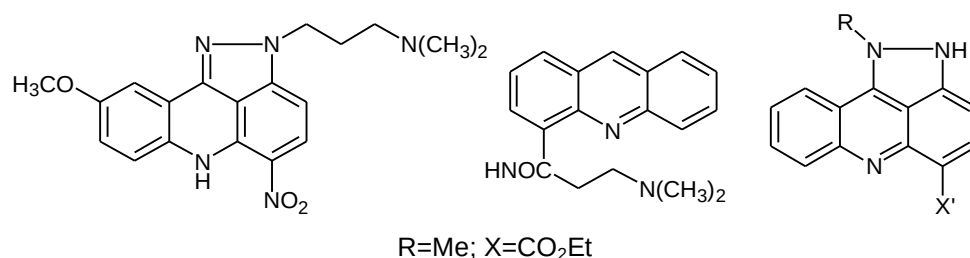


Figura 72. Derivado 9-metoxi sintetizado, acridina-4-carboxamida e pirazol[3,4,5-*k*]-acridina

Bu e colaboradores obtiveram derivados possuindo tanto o anel pirazolo quanto a cadeia 4-carboxamida na tentativa de obter produtos mais potentes (64). Derivados da pirazolo[3,4,5-*k*]-acridina foram testados para inibição do crescimento tumoral em linhagens de células P388 e Jurkat, apresentando atividade citotóxica significativa. Análogos contendo apenas o grupo carboxamida ou apenas a cadeia amina em N-1 exibiram citotoxicidade similar ao composto de referência (DACA), enquanto que o composto contendo as duas funções apresentou melhor atividade.

Sugaya e colaboradores sintetizaram derivados da 6H-pirazolo-[4,5,1-*de*]acridina-6-onas (Figura 13), genericamente designados pirazoloacridonas, uma classe de intercalantes de ADN (65). O estudo biológico realizado com as pirazoloacridonas apontou que elas exercem atividade antiproliferativa *in vitro* contra células Hela S₃ e significativa atividade antitumoral *in vivo* frente a células de leucemia P388 e sarcoma 180. Concernente a relação estrutura-atividade, cadeias 7-hidroxi, e aminoalquilamino e/ou hidroxialquilamino em C-2 e C-5 exercem um papel importante na atividade biológica.

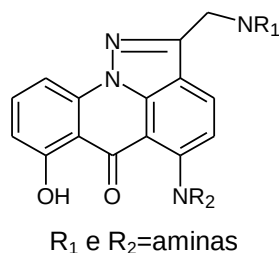


Figura 73. Derivados da pirazoloacridona

Derivados de produtos naturais

A acronicina (Figura 14) é um alcalóide citotóxico isolado do arbusto *Achronychia baueri* (66) que apresentou alta toxicidade contra determinadas células tumorais *in vitro*. Vários análogos da acronicina foram sintetizados e avaliados quanto as suas propriedades antitumorais (67-70). Estudos de relação estrutura atividade (SAR) conduziu ao desenvolvimento de derivados da acronicina com maiores potências anticancerígenas (68). Um dos análogos, o S-23906-1, apresentou promissora atividade *in vivo* frente ao adenocarcinoma 38 de cólon implantado em camundongos. O S23906-1, derivado da benzoacronicina, é um potente indutor da apoptose em células humanas promielocíticas de leucemia HL-60 e, em menor extensão, em células de melanoma B16 de murinos (71, 72).

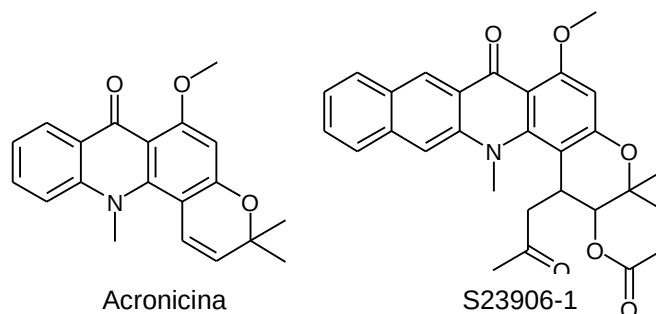


Figura 74. Derivado de produto natural e seu análogo

Alcalóides acridônicos bioativos (Figura 15) foram isolados da *Swinglea glutinosa* Merr. (Rutaceae) e testados para atividade antiplasmodial, exibindo promissora atividade contra cepas de *Plasmodium falciparum* sensíveis e resistentes a cloroquina (73, 74). Também foram feitos testes de citotoxicidade usando células HeLa. Todos os compostos testados apresentaram boa atividade antiplasmodial.

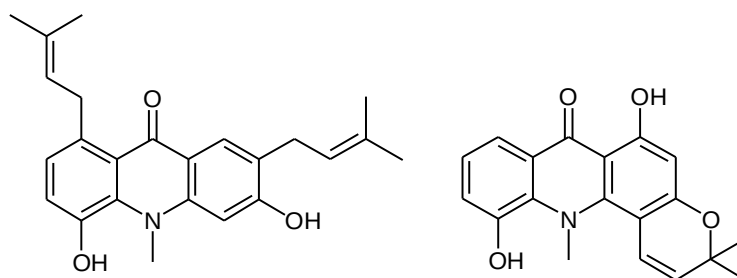


Figura 75. Alcalóides acridônicos ativos contra o *P. falciparum*

O cloreto de di-hidroindolizino[7,6,5-*k*]-acridinium (Figura 16) apresentou atividade inibitória superior a *m*-AMSA em um painel de células tumorais do fígado (75). Supõe-se que a atividade deste composto está ligada à desorganização da enzima topo II. Ao contrário da *m*-AMSA, este composto não é susceptível ao efluxo da droga mediada pela glicoproteína P e é ativo em células de câncer de pulmão resistentes ao etoposídeo, outro inibidor da topo II.

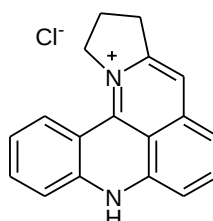


Figura 76. Cloreto de di-hidroindolizino[7,6,5-*k*]-acridinium

Nas últimas décadas, os organismos marinhos têm fornecido um grande número de compostos com diversas atividades farmacológicas, incluindo briostatina, dolastatina, criptoficina e ecteinascidina (76). A maioria dos alcalóides marinhos caracterizados foi baseada no esqueleto pirido[2,3,4-*k*]-acridina, sendo a ascididemina um dos primeiros exemplos desses compostos. Alguns derivados das ascidideminas (Figura 17), como a bromoleptoclinidona, 11-hidroxi-ascididemina e neocaliactina, também foram isolados de fontes marinhas. A ascididemina e seus análogos naturais foram testados pelo Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos, e todos exibiram atividade anticancerígena *in vitro*. Alguns análogos foram sintetizados por Alvarez e colaboradores, em 2000, e testados em células de linfoma P388D murinas e em células humanas de carcinoma de pulmão A549 (77). Delfourne e colaboradores prepararam ascidideminas com modificações no anel D (78). Os resultados obtidos *in vitro* mostraram que os compostos tiveram boa atividade

citotóxica, sendo que alguns deles foram até 100 vezes mais ativos que o protótipo.

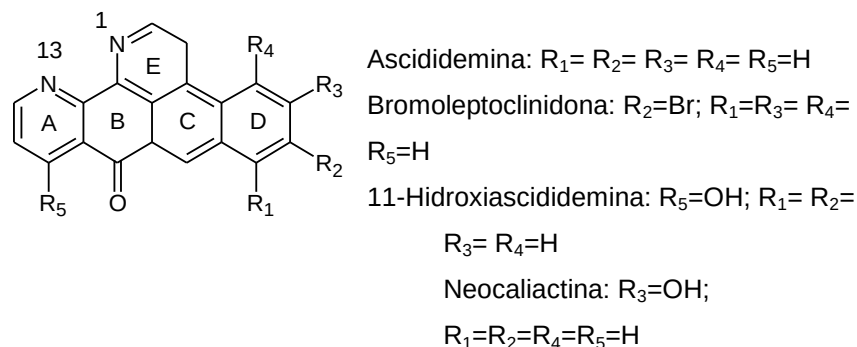


Figura 77. Ascidiemina e derivados

As arnoaminas A1 e B2 (Figura 18) são os primeiros membros de uma família de alcalóides citotóxicos que possuem um sistema de anéis pirido-[4,3,2-*mn*]pirrolo[3,2,1-*de*]acridina até então não observados na natureza. Em 2000, Delfourne e colaboradores realizaram a primeira síntese destes alcalóides partindo do composto 2-metoxi-5-nitroanilina (78). A arnoamina B2 foi obtida em 12 etapas e com 5% de rendimento global. Em 2006, Radchenko e colaboradores utilizaram uma metodologia simples e efetiva cuja rota sintética envolveu sete etapas e conduziu ao composto etil 4-metoxi-1-metilpirido[4,3,2-*mn*]pirrolo[3,2,1-*de*]acridina-2-carboxilato (Figura 17) com um rendimento global de 41,5% (79).

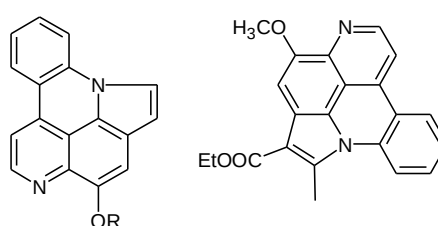


Figura 78. Arnoaminas A1 ($R=H$) e B2 ($R=CH_3$) e derivado

Bis-amidoacridinas

A enzima telomerase é super expressada em células tumorais e serve para manter as extremidades dos cromossomos que se desgastam no decurso de sucessivas replicações do ADN. A ativação da telomerase é o evento genético chave que conduz à imortalidade das células tumorais (80-83). Logo,

as substâncias que agem inibindo esta enzima (Figura 19) são promissoras drogas anticancerígenas (54, 83, 84).

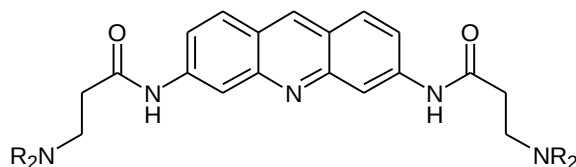


Figura 79. Bisamidoacridinas inibidoras da telomerase

Tiazoloacridinas

Considerando a potente atividade anticâncer de alcalóides naturais da série piridotiazoloacridina, os derivados da tiazoloacridina despertaram o interesse de Giorgio e colaboradores. Na tentativa de desenvolver moléculas que blindam o ADN e que quebram o ADN pela atividade óptica, estes pesquisadores, em 2008, sintetizaram 16 novos derivados da tiazolo[5,4-a]acridinas (85). Eles avaliaram as atividades citotóxicas destes compostos na *Salmonella typhimurium* e mediram a influência que a atividade óptica exerce durante a intercalação do grupo químico ao ADN. Um composto mostrou ter capacidade de se intercalar ao ADN (* Figura 20) enquanto três compostos só possuíram propriedades intercalantes após ativação óptica. A atividade citotóxica dos derivados foi realizada em células humanas de leucemia monocítica THP1.

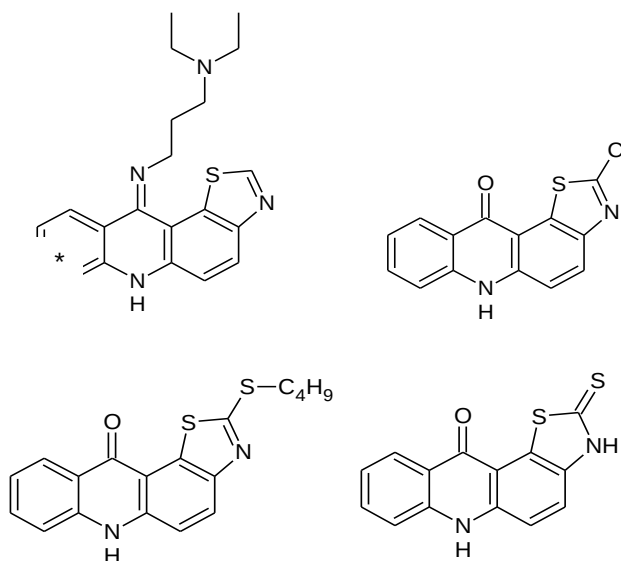


Figura 80. Derivados da tiazolo[5,4-a]acridina

Triazoloacridinonas

As triazoloacridinonas (86-90) (TA) (Figura 21) exibem alta atividade citotóxica contra um largo espectro de células tumorais *in vitro* e, em ratos, contra alguns tumores transplantados: leucemia P388, melanoma B16 e adenocarcinoma de cólon. Prévias investigações ratificaram que i) as TA inibem o complexo topoisomerase II-ADN; ii) bloqueiam a atividade catalítica da topoisomerase II; iii) e inibem a fase G2 do ciclo celular, levando a apoptose celular.

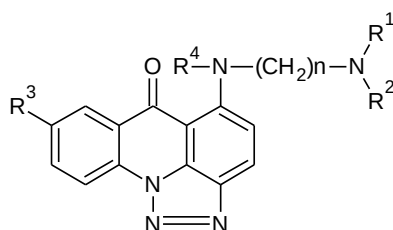


Figura 81. Estrutura geral de derivados das triazoloacridinonas

O derivado das TA com atividade mais promissora é o C-1305 (Figura 22) que foi selecionado para realização do estudo pré-clínico (90). Averiguou-se que o C-1305 inibe a proliferação de células envolvidas com a poli-(ADP-ribose) polimerase 1 (PARP-1). Isto é um fato surpreendente, pois estas células são normalmente resistentes a compostos inibidores da topoisomerase II (91).

O C-1305 intercala-se ao ADN preferencialmente nas regiões de tripletos de guaninas e induz mudanças específicas na estrutura do ADN (92). No entanto, sabe-se que a habilidade de se intercalar ao ADN não é crucial para a atividade biológica das TAs. Estudos envolvendo cultura de células revelaram que o composto C-1305, após prévia ativação metabólica, induz a formação de ligações cruzadas covalentes entre as fitas do ADN de alguns tumores e de células de fibroblastos. Estas ligações geralmente são essenciais para a atividade.

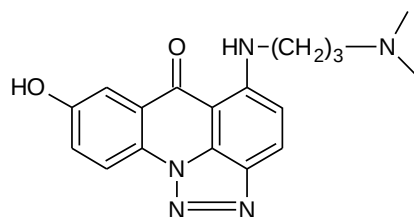
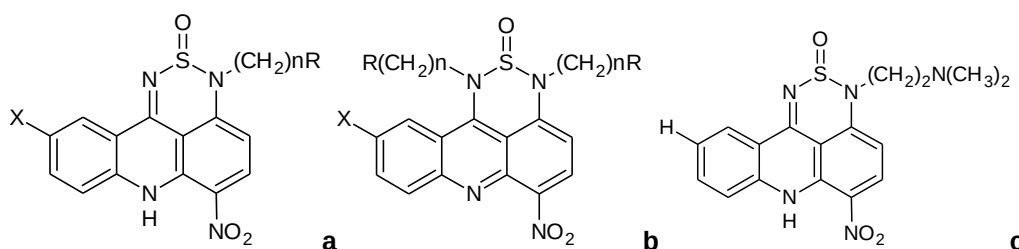


Figura 82. C-1305

Tiadiazinoacridinas

O esqueleto da acridina, quando fundido com um anel heterocíclico de cinco ou seis membros, gera derivados policíclicos que fazem parte de uma importante classe de agentes intercalantes de ADN. Antonini e colaboradores, em 2003, sintetizaram duas séries de agentes intercalantes de ADN: 3-[o-(alquilamino)alquil]-6-nitro-[1,2,6]tiadiazino[3,4,5-*k*]acridinas (**a**, Figura 22) e 1,3-di[o-(alquilamino) alquil]-6-nitro-[1,2,6]tiadiazino[3,4,5-*k*]acridinas (**b**) (93). O 3-[2-(dimetilamino)etil]-6-nitro-2,7-dihidro-3H-2l4-[1,2,6]tiadiazino[3,4,5-*k*]acridina-2-ona (**c**) foi o composto que possuiu a mais relevante atividade antitumoral *in vivo*, podendo ser considerado como protótipo na busca de novos derivados de acridinas tetracíclicas mais eficazes e menos tóxicos.

Figura 83. Desenho racional das [1,2,6]tiadiazino[3,4,5-*k*]acridinas

Poliacridinas

Na ausência de fatores estéricos ou entrópicos significantes, a constante de ligação de um bis-intercalador simétrico seria aproximadamente o quadrado do monômero. Nesse sentido, considerando que a dissociação do ligante ao ADN envolve a saída de cromóforos do sítio de ligação, foram observadas menores taxas de dissociação dos dímeros de acridinas ao ADN quando comparado aos monômeros correspondentes (36).

Quando a distância de dois grupos acridínicos em uma mesma molécula atinge a distância crítica, o composto é dito como bis-intercalador e a constante de intercalação do ADN aumenta ($> 10^8 - 10^9 \text{ M}^{-1}$) (39). No entanto, ao avaliar a atividade de *tri*- e *bis*-intercaladores, observou-se que os derivados *tri* possuem menor capacidade intercalante que os *bis* (43).

Foram preparados dímeros de acridina (Figura 24) utilizando cadeias aminoalquiladas como a espermina ou a espermidina para ligar os dois núcleos aromáticos (94). A afinidade destes compostos pelo ADN foi estudada.

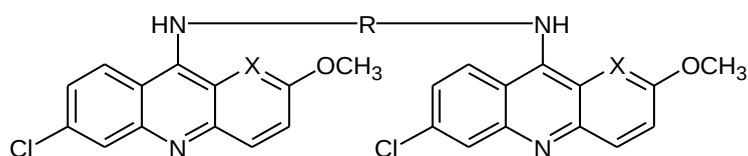


Figura 84. Dímeros de acridina

Os efeitos das diacridinas, putrescina, espermidina e espermina no crescimento de células de câncer cervical humano HeLa e células leucêmicas P-388 e L-1210 foram avaliados e comparados a 9-aminoacridina (95, 96). Os resultados indicaram que as diacridinas são mais ativas do que a 9-aminoacridina.

Quatro classes de *bis*-acridinas unidas na posição 9 por cadeias de comprimento, rigidez e polaridade variáveis tiveram suas propriedades antitumorais avaliadas (36). Nesse estudo, verificou-se que as *bis*-acridinas unidas por cadeias flexíveis de polaridade variável apresentam baixas taxas de dissociação e são capazes de realizar trocas cinéticas entre os sítios de ligação do ADN. Estas trocas cinéticas podem ser diminuídas drasticamente pela inclusão de cargas positivas na cadeia de ligação, mas os compostos policatiônicos resultantes são inativos *in vivo*, possivelmente devido a uma pobre distribuição de cargas. Por sua vez, as *bis*-acridinas ligadas por uma cadeia pirazólica, com uma ligação suficientemente rígida e polar para conferir desejável ligação ao ADN, têm boa solubilidade em água e são biologicamente ativas.

A síntese e o perfil citotóxico de um grande número de derivados acridínicos foram extensivamente estudados por (22, 61, 62, 93, 97-99). Uma série de *bis*(acridina-4-carboxamida) substituídas (Figura 25) ligadas por uma cadeia $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{NHCO}-$ foram preparadas (98). Estes análogos

diméricos da *N*-[2-(dimetil-amino)etil]acridina-4-carboxamida (DACA) mostraram ter potência superior do que a mesma em um painel de células, incluindo o tipo selvagem (JL_c) e o mutante de leucemia Jurkat humana (JL_A e JL_D). A linhagem mutante (JL_D) mostrou ser resistente aos compostos que inibem a topoisomerase II devido aos baixos níveis desta enzima nas células.

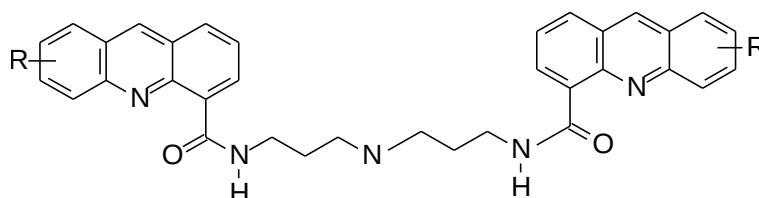
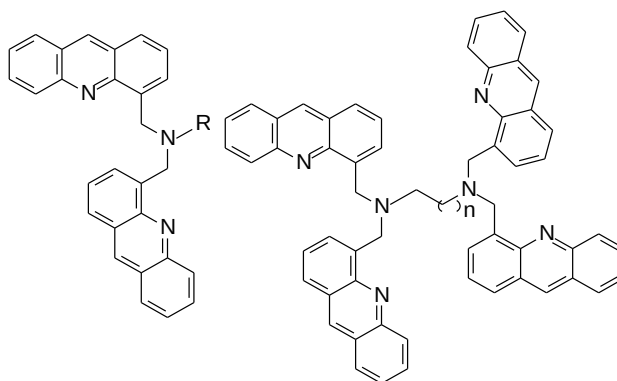


Figura 85. *Bis*(acridina-4-carboxamida)

Os análogos da *bis*-(acridina-4-carboxamida) com pequenos substituintes (metil e cloro) na posição 5 da acridina foram visivelmente mais ativos que seus monômeros correspondentes, com IC₅₀ na ordem de 2 nM em carcinoma de pulmão de Lewis e 11 nM contra JL_c (98). Substituintes volumosos causaram diminuição da atividade, provavelmente devido a baixa afinidade de ligação pelo ADN provocado pelo impedimento estérico. Já a introdução dos grupos metil e cloro nas posições 1 e 8, respectivamente, pouco influenciaram a atividade do composto *bis*-(5-metil-DACA). Todos os compostos foram equitóxicos contra a linhagem Jurkat mutante e selvagem, e tiveram maior seletividade para topoisomerase I.

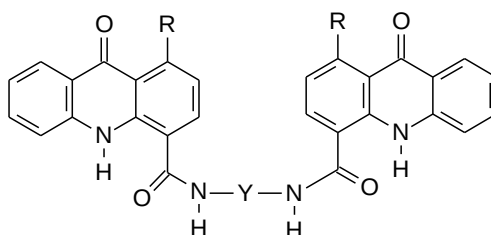
Bis- e *tetra*-acridinas foram sintetizadas a partir da 4-(bromo-metil)-acridina. Alguns derivados exibiram boa atividade citotóxica *in vitro* contra linhagens de células murinas. A atividade antiproliferativa foi realizada com linhagens de células de leucemia L1212 e A549. Os derivados ilustrados na Figura 25 apresentaram bons resultados (100).



$n=1-7$; $R=n$ -propil, fenil, p -clorofenil, p -metoxifenil

Figura 86. Derivados *bis* e *tetra*-acridínicos

Uma série de bis{[(9-oxo-9,10-di-hidroacridina-4-carbonil)amino]alquil} alquilaminas (Figura 27) foram preparadas e testadas contra linhagens de células de câncer de cólon HT-29 (101). Experimentos sugeriram que a alta atividade de alguns destes compostos pode estar relacionada à forte ligação com o ADN. Simulações de dinâmica molecular demonstraram que estes compostos são capazes de formar complexos estáveis com o ADN.



$R=H, Cl, NO_2, NH_2$

Figura 87. Derivados de *bis*-alquilaminas

Augustus e colaboradores, em 2003, prepararam complexos de *bis*-(acridina)platina II (Figura 28) (102). Os conjugados com carga 4^+ associaram-se fortemente a dupla hélice do ADN, provavelmente por *bis*-intercalação. Os ensaios de viabilidade celular demonstraram que ambos os compostos são capazes de apresentar citotoxicidade em concentrações micromolares em células de tumor cerebral SNB19.

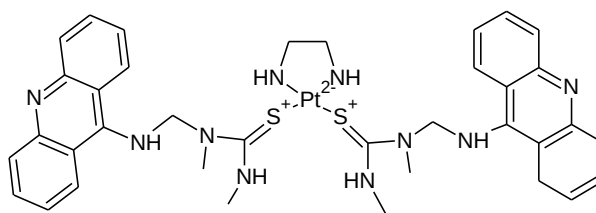


Figura 88. Complexos de *bis*(acridiniltiouréia)platina II

Antonini e colaboradores realizaram o desenho racional, a síntese, e a avaliação da atividade biológica da *bis*-pirimido[5,6,1-*de*]acridinas) (**a**, Figura 29) e da *bis*(pirazolo[3,4,5-*k*]acridina-5-carboxamidas) (**b**) (99). Os resultados indicaram que (i) os compostos são excelentes ligantes do ADN; (ii) os derivados *bis* possuem maior afinidade ao ADN que os monômeros correspondentes; (iii) os novos *bis* sintetizados blindam menos o ADN do que as *bis*(acridina-4-carboxamidas); (iv) em ambas as séries, notou-se uma preferência de blindagem pelas bases AT do ADN.

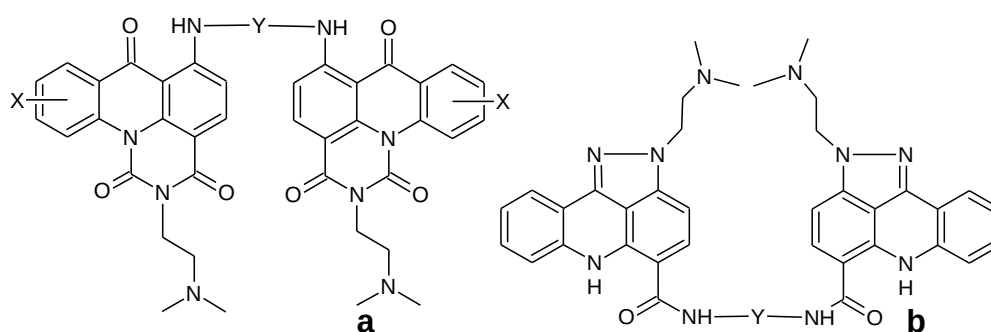


Figura 89. *Bis*-pirimido e *bis*-pirazolo-acridinas

Como já se sabe, as principais desvantagens das atuais terapias contra o câncer são os graves efeitos colaterais. Para minimizar este problema, a terapia fotodinâmica (PDT), que se dirige seletivamente para as células tumorais, está recebendo uma crescente atenção (103). A fotossensibilização induzida por agentes intercalantes pode provocar danos ao ADN por três mecanismos: (i) transferência de elétrons das bases nucleotídicas, especialmente guanina, para um estado fotoquímico excitado do agente intercalante; (ii) fotogeração de radicais hidroxílicos, uma espécie de intermediário reativo que pode absorver átomos de hidrogênio do esqueleto de açúcar do ADN; (iii) oxidação preferencial das guaninas por uma molécula de

oxigênio gerada por uma transferência de energia de um fotossensibilizador excitado eletronicamente (34, 64).

A quebra do ADN geralmente está associada à alteração redox ou a transição de complexos metálicos foto ativadores. Fernández e colaboradores, em 2007, desenvolveram novos complexos fotonucleares acridínicos de cobre (104). Um dos compostos, a 2,6-bis{[[(6-amino-acridina-3-yl)metoxicarbonilamino)-etil]metilaminometil}piridina (Figura 30), consiste em dois anéis acridínicos unidos por uma base piridínica que se liga ao cobre. Este composto quebra o ADN por fotólise e tem sua eficiência aumentada notavelmente na presença de cobre II em condições fisiológicas de pH e temperatura. Este composto blinda o ADN através de intercalação monofuncional e exibe uma preferência pelos pares de bases guanina e citosina do ADN.

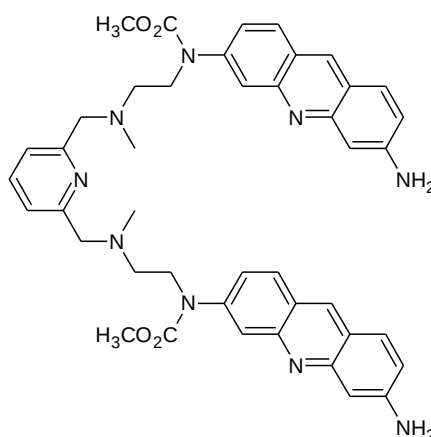


Figura 90. Fotonuclease derivada de *bis*-acridinas

A maquinaria proteossômica é um complexo multimérico que possui três atividades endoproteolíticas, nomeadas de acordo com a quebra específica dos seguintes peptídeos: peptídeo tipo tripsina, peptídeo peptidil-glutamil hidrolase (PGPH) e peptídeo tipo quimiotripsina. Este complexo multiprotéico é responsável pela degradação da maioria das proteínas das células, incluindo aquelas que regulam o ciclo celular e a apoptose, sendo, portanto, um alvo potencial para o tratamento do câncer (105).

Dentre os vários alvos anticâncer estudados, os proteossômicos ganharam credibilidade pelo desenvolvimento e comercialização do VelcadeTM (Bortezomibe, PS-341, da Millennium Pharmaceuticals) aprovado em 2003

para o tratamento de mieloma múltiplo. O ácido borônico peptídico (105) demonstrou atividade antitumoral através da inibição específica do peptídeo tipo quimiotripsina.

Vispé e colaboradores estudaram o mecanismo de ação de uma série de bis e tetra-acridinas (Tabela 1) (105). Estes compostos mostraram ser citotóxicos contra células de leucemia humana HL-60 e mantiveram a mesma potência citotóxica quando a atividade da topoisomerase II nas células estava baixa. O fato da linhagem celular HL-60/MX2 ser resistente a mitoxantrona e a amsacrina e sensível aos derivados testados, indicou que a topoisomerase II não é o único alvo destes compostos. Quando testados em alvos proteossômicos *in vitro*, quatro destes compostos demonstraram propriedades inibitórias, e pelo menos dois destes inibiram todo o complexo proteossômico das células. Em relação a estas novas acridinas, outros alvos, além dos proteossômicos, devem ser levados em consideração. Dessa forma, estas descobertas abrem caminho para o desenvolvimento de novas acridinas capazes de inibir o complexo proteossômico.

CONCLUSÕES

57 anos se passaram desde a elucidação da estrutura do ADN por Watson e Crick em 1953 (106). A partir desta data, diversas e intensas pesquisas foram realizadas tendo como objetivo comum a busca de compostos que interajam com o ADN para o tratamento de diversas patologias, dentre elas, o câncer.

As acridinas são uma atrativa estratégia terapêutica por (i) apresentarem um amplo espectro de atividades biológicas, como atividades antimicrobiana, antiviral, antimalárica, antitripanossômica, leishmanicida, antiparkinsoniana e, sobretudo, por suas propriedades antineoplásicas; (ii) possuírem diversos alvos biológicos: capacidade de interagir com o ADN, inibir as enzimas topoisomerases e telomerase, inibir o complexo proteossômico das células, e outros que ainda permanecem desconhecidos; (iii) superarem algumas limitações críticas no tratamento do câncer, como a seletividade e a resistência tecidual.

Nas últimas décadas, vários derivados de acridinas ligados a diversos grupos químicos foram desenvolvidos com o objetivo de modular a citotoxicidade celular, a natureza da atividade e dos alvos e biológicos da molécula. Dentre os derivados produzidos e descritos nesta revisão, podemos citar as tiazacridinas, imidazacrininas, 9-aminoacridinas, isoquinoacridinas, acridinas-4-carboxamidas, acridinas-5-carboxamidas, pirazoloacridinas, alguns alcalóides derivados de produtos naturais, *bis*-amidoacridinas, tiazoloacridinas, triazoloacridinonas, tiadiazinoacridinas e, poliacridinas.

AGRADECIMENTOS

Ao Grupo de Pesquisa e Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, ao Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos e ao CNPq.

ABREVIações

ADN	Ácido desoxirribonucleico
IC ₅₀	Concentração Inibitória
MDR	Multidroga resistência
PDT	Terapia fotodinâmica

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 2009. Quick Cancer Facts, Vol. 2008. World Health Organization.
2. 2009. Cancer, Vol. 2009. World Health Organization.
3. Demeunynck, M., F. Charmantray, and A. Martelli. 2001. Interest of acridine derivatives in the anticancer chemotherapy. *Curr Pharm Des* 7:1703.
4. Denny, W. A. 2002. Acridine derivatives as chemotherapeutic agents. *Curr Med Chem* 9:1655.
5. Eiter, L. C., N. W. Hall, C. S. Day, G. Saluta, G. L. Kucera, and U. Bierbach. 2009. Gold(I) analogues of a platinum-acridine antitumor agent are only moderately cytotoxic but show potent activity against *Mycobacterium tuberculosis*. *J Med Chem* 52:6519.
6. Wainwright, M. 2001. Acridine-a neglected antibacterial chromophore. *J Antimicrob Chemother* 47:1.

7. Novosad, N. V. 1996. [The antimicrobial activity of thio-, thioxo- and oxo-derivatives of acridine]. *Mikrobiol Z* 58:55.
8. Gaidukevich, A. N., G. S. Bashura, I. M. Pertsev, A. F. Piminov, and A. I. Piatikop. 1973. [Determination of the antimicrobial activity of some acridine derivatives]. *Farm Zh* 28:50.
9. Loiseau, P. M., and D. X. Nguyen. 1996. Plasmodium berghei mouse model: antimalarial activity of new alkaloid salts and of thiosemicarbazone and acridine derivatives. *Trop Med Int Health* 1:379.
10. Jones, M., A. E. Mercer, P. A. Stocks, L. J. La Pensee, R. Cosstick, B. K. Park, M. E. Kennedy, I. Piantanida, S. A. Ward, J. Davies, P. G. Bray, S. L. Rowe, J. Baird, T. Charidza, O. Janneh, and P. M. O'Neill. 2009. Antitumour and antimalarial activity of artemisinin-acridine hybrids. *Bioorg Med Chem Lett* 19:2033.
11. Shibnev, V. A., M. P. Finogenova, L. N. Grinberg, and A. M. Allakhverdiev. 1988. [Synthesis of acridine derivatives of amino acid hydrazines and their antimalarial activity]. *Bioorg Khim* 14:1565.
12. Muth, C. W., H. L. Minigh, S. Chookruvong, L. A. Hall, and H. T. Chao. 1981. Syntheses of 9-acridine- and 2-phenanthridinemethanols as potential antimalarials. *J Med Chem* 24:1016.
13. Girault, S., P. Grellier, A. Berecibar, L. Maes, E. Mouray, P. Lemiere, M. A. Debreu, E. Davioud-Charvet, and C. Sergheraert. 2000. Antimalarial, antitrypanosomal, and antileishmanial activities and cytotoxicity of bis(9-amino-6-chloro-2-methoxyacridines): influence of the linker. *J Med Chem* 43:2646.
14. Figgitt, D., W. Denny, P. Chavalitsheewinkoon, P. Wilairat, and R. Ralph. 1992. In vitro study of anticancer acridines as potential antitrypanosomal and antimalarial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 36:1644.
15. Morales, N. M., F. W. Schaefer, 3rd, S. J. Keller, and R. R. Meyer. 1972. Effects of ethidium bromide and several acridine dyes on the kinetoplast DNA of Leishmania tropica. *J Protozool* 19:667.
16. Mauel, J., W. Denny, S. Gamage, A. Ransijn, S. Wojcik, D. Figgitt, and R. Ralph. 1993. 9-Anilinoacridines as potential antileishmanial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 37:991.
17. Sasvari, Z., S. Bach, M. Blondel, and P. D. Nagy. 2009. Inhibition of RNA recruitment and replication of an RNA virus by acridine derivatives with known anti-prion activities. *PLoS One* 4:e7376.
18. Mucsi, I., J. Molnar, M. Tanaka, C. Santelli-Rouvier, A. M. Patelis, J. P. Galy, and J. Barbe. 1998. Effect of acridine derivatives on the multiplication of herpes simplex virus. *Anticancer Res* 18:3011.
19. Zeitlenok, N. A., E. R. Pille, and O. V. Konosh. 1956. [Effect of acridine compounds on multiplication of vaccinia virus.]. *Vopr Virusol* 1:16.
20. Csuk, R., A. Barthel, T. Brezesinski, and C. Raschke. 2004. Synthesis of dimeric acridine derived antivirals. *Bioorg Med Chem Lett* 14:4983.
21. Lyakhov, S. A., Y. I. Suveyzdis, L. A. Litvinova, S. A. Andronati, S. L. Rybalko, and S. T. Dyadyun. 2000. Biological active acridine derivatives. Part 4: Synthesis and antiviral activity of some bis-acridinylated diamides. *Pharmazie* 55:733.
22. Gamage, S. A., D. P. Figgitt, S. J. Wojcik, R. K. Ralph, A. Ransijn, J. Mauel, V. Yardley, D. Snowdon, S. L. Croft, and W. A. Denny. 1997. Structure-activity relationships for the antileishmanial and

- antitrypanosomal activities of 1'-substituted 9-anilinoacridines. *J Med Chem* 40:2634.
23. Bonse, S., C. Santelli-Rouvier, J. Barbe, and R. L. Krauth-Siegel. 1999. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase by acridines: kinetic studies and structure-activity relationships. *J Med Chem* 42:5448.
 24. McSwain, M. L., and L. M. Forman. 1995. Severe parkinsonian symptom development on combination treatment with tacrine and haloperidol. *J Clin Psychopharmacol* 15:284.
 25. Cabeza-Alvarez, C. I., M. Gonzalez-Rubio, R. Garcia-Montero, and A. Alvarez-Tejerina. 1999. [Parkinsonian syndrome related to tacrine]. *Neurologia* 14:96.
 26. Csuk, R., A. Barthel, C. Raschke, R. Kluge, D. Strohl, L. Trieschmann, and G. Bohm. 2009. Synthesis of Monomeric and Dimeric Acridine Compounds as Potential Therapeutics in Alzheimer and Prion Diseases. *Arch Pharm (Weinheim)*.
 27. Shutske, G. M., F. A. Pierrat, M. L. Cornfeldt, M. R. Szewczak, F. P. Huger, G. M. Bores, V. Haroutunian, and K. L. Davis. 1988. (+/-)-9-Amino-1,2,3,4-tetrahydroacridin-1-ol. A potential Alzheimer's disease therapeutic of low toxicity. *J Med Chem* 31:1278.
 28. Ottolenghi-Lodigiani, F. 1955. [Treatment of chronic lupus erythematosus, local intradermal infiltration with an acridine preparation.]. *Hautarzt* 6:24.
 29. Oppegard, L. M., A. V. Ougolkov, D. N. Luchini, R. A. Schoon, J. R. Goodell, H. Kaur, D. D. Billadeau, D. M. Ferguson, and H. Hiasa. 2009. Novel acridine-based compounds that exhibit an anti-pancreatic cancer activity are catalytic inhibitors of human topoisomerase II. *Eur J Pharmacol* 602:223.
 30. Atwell, G. J., B. F. Cain, and R. N. Seelye. 1972. Potential antitumor agents. 12. 9-Anilinoacridines. *J Med Chem* 15:611.
 31. Cain, B. F., R. N. Seelye, and G. J. Atwell. 1974. Potential antitumor agents. 14. Acridylmethanesulfonanilides. *J Med Chem* 17:922.
 32. Da Rocha Pitta, I. B., M. d. C. B. Alves de Lima, S. B. Lins Galdino, and J. F. Barbe. 2004. Molecules with Antitumor Activity and Chemical Synthesis, Brazil.
 33. Baguley, B. C., W. A. Denny, G. J. Atwell, G. J. Finlay, G. W. Rewcastle, S. J. Twigden, and W. R. Wilson. 1984. Synthesis, antitumor activity, and DNA binding properties of a new derivative of amsacrine, N-5-dimethyl-9-[(2-methoxy-4-methylsulfonylamino) phenylamino]-4-acridinecarboxamide. *Cancer Res* 44:3245.
 34. Belmont, P. D., I. 2008. Acridine/acridone: a simple scaffold with a wide range of application in oncology. *Expert Opin. Ther. Patents* 18:1211.
 35. Alarcon, K., M. Demeunynck, J. Lhomme, D. Carrez, and A. Croisy. 2001. Potentiation of BCNU cytotoxicity by molecules targeting abasic lesions in DNA. *Bioorg Med Chem* 9:1901.
 36. Denny, W. A., G. J. Atwell, B. C. Baguley, and L. P. Wakelin. 1985. Potential antitumor agents. 44. Synthesis and antitumor activity of new classes of diacridines: importance of linker chain rigidity for DNA binding kinetics and biological activity. *J Med Chem* 28:1568.

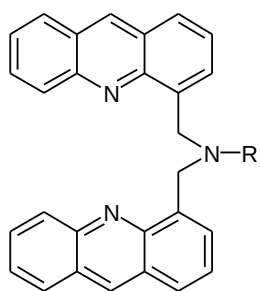
37. Pronzato, P., and M. Rondini. 2005. Hormonotherapy of advanced prostate cancer. *Ann Oncol* 16 Suppl 4:iv80.
38. Baxevanis, C. N., S. A. Perez, and M. Papamichail. 2009. Cancer immunotherapy. *Crit Rev Clin Lab Sci* 46:167.
39. Le Pecq, J. B., M. Le Bret, J. Barbet, and B. Roques. 1975. DNA polyintercalating drugs: DNA binding of diacridine derivatives. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72:2915.
40. Lerman, L. S. 1961. Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *J Mol Biol* 3:18.
41. Lerman, L. S. 1963. The structure of the DNA-acridine complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 49:94.
42. Strekowski, L., and B. Wilson. 2007. Noncovalent interactions with DNA: an overview. *Mutat Res* 623:3.
43. Sebestik, J., J. Hlavacek, and I. Stibor. 2007. A role of the 9-aminoacridines and their conjugates in a life science. *Curr Protein Pept Sci* 8:471.
44. Wang, W., W. C. Ho, D. T. Dicker, C. MacKinnon, J. D. Winkler, R. Marmorstein, and W. S. El-Deiry. 2005. Acridine derivatives activate p53 and induce tumor cell death through Bax. *Cancer Biol Ther* 4:893.
45. Malina, A., S. Khan, C. B. Carlson, Y. Svitkin, I. Harvey, N. Sonenberg, P. A. Beal, and J. Pelletier. 2005. Inhibitory properties of nucleic acid-binding ligands on protein synthesis. *FEBS Lett* 579:79.
46. Turnbull, R. M., E. L. Meczkes, M. Perenna Rogers, R. B. Lock, D. M. Sullivan, G. J. Finlay, B. C. Baguley, and C. A. Austin. 1999. Carbamate analogues of amsacrine active against non-cycling cells: relative activity against topoisomerases II α and β . *Cancer Chemother Pharmacol* 44:275.
47. Denny, W. A. 2004. Chemotherapeutic effects of acridine derivatives. *Medicinal Chemistry Reviews* 1:257.
48. Finlay, G. J., G. J. Atwell, and B. C. Baguley. 1999. Inhibition of the action of the topoisomerase II poison amsacrine by simple aniline derivatives: evidence for drug-protein interactions. *Oncol Res* 11:249.
49. Graziano, M. J., C. L. Courtney, E. F. Meierhenry, T. Kheoh, D. G. Pegg, and A. W. Gough. 1996. Carcinogenicity of the anticancer topoisomerase inhibitor, amsacrine, in Wistar rats. *Fundam Appl Toxicol* 32:53.
50. Figgitt, D. P., W. A. Denny, S. A. Gamage, and R. K. Ralph. 1994. Structure-activity relationships of 9-anilinoacridines as inhibitors of human DNA topoisomerase II. *Anticancer Drug Des* 9:199.
51. Cain, B. F., G. J. Atwell, and W. A. Denny. 1975. Potential antitumor agents. 16.4'-(Acridin-9-ylamino)methanesulfonanilides. *J Med Chem* 18:1110.
52. Chang, J. Y., C. F. Lin, W. Y. Pan, V. Bacherikov, T. C. Chou, C. H. Chen, H. Dong, S. Y. Cheng, T. J. Tasi, Y. W. Lin, K. T. Chen, L. T. Chen, and T. L. Su. 2003. New analogues of AHMA as potential antitumor agents: synthesis and biological activity. *Bioorg Med Chem* 11:4959.
53. Su, T. L., C. H. Chen, L. F. Huang, M. K. Basu, X. G. Zhang, and T. C. Chou. 1999. Synthesis and structure-activity relationships of potential anticancer agents: alkylcarbamates of 3-(9-acridinylamino)-5-hydroxymethylaniline. *J Med Chem* 42:4741.

54. Ferlin, M. G., C. Marzano, G. Chiarelotto, F. Baccichetti, and F. Bordin. 2000. Synthesis and antiproliferative activity of some variously substituted acridine and azacridine derivatives. *Eur J Med Chem* 35:827.
55. Chen, Y. L., I. L. Chen, C. M. Lu, C. C. Tzeng, L. T. Tsao, and J. P. Wang. 2003. Synthesis and anti-inflammatory evaluation of 9-phenoxyacridine and 4-phenoxyfuro[2,3-b]quinoline derivatives. Part 2. *Bioorg Med Chem* 11:3921.
56. Di Giorgio, C., F. Delmas, N. Filloux, M. Robin, L. Seferian, N. Azas, M. Gasquet, M. Costa, P. Timon-David, and J. P. Galy. 2003. In vitro activities of 7-substituted 9-chloro and 9-amino-2-methoxyacridines and their bis- and tetra-acridine complexes against *Leishmania infantum*. *Antimicrob Agents Chemother* 47:174.
57. Konopa, J., J. W. Pawlak, and K. Pawlak. 1983. The mode of action of cytotoxic and antitumor 1-nitroacridines. III. In vivo interstrand cross-linking of DNA of mammalian or bacterial cells by 1-nitroacridines. *Chem Biol Interact* 43:175.
58. Narayanan, R., and M. A. El-Sayed. 2005. Raman studies on the interaction of the reactants with the platinum nanoparticle surface during the nanocatalyzed electron transfer reaction. *J Phys Chem B* 109:18460.
59. Yang, P., Q. Yang, X. Qian, L. Tong, and X. Li. 2006. Isoquino[4,5-bc]acridines: design, synthesis and evaluation of DNA binding, anti-tumor and DNA photo-damaging ability. *J Photochem Photobiol B* 84:221.
60. Pastwa, E., E. Ciesielska, M. K. Piestrzeniewicz, W. A. Denny, M. Gniazdowski, and L. Szmigiero. 1998. Cytotoxic and DNA-damaging properties of N-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide (DACA) and its analogues. *Biochem Pharmacol* 56:351.
61. Bridewell, D. J., G. J. Finlay, and B. C. Baguley. 2001. Topoisomerase I/II selectivity among derivatives of N-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide (DACA). *Anticancer Drug Des* 16:317.
62. Spicer, J. A., S. A. Gamage, G. J. Atwell, G. J. Finlay, B. C. Baguley, and W. A. Denny. 1997. Structure-activity relationships for acridine-substituted analogues of the mixed topoisomerase I/II inhibitor N-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide. *J Med Chem* 40:1919.
63. Antonini, I., P. Polucci, A. Magnano, and S. Martelli. 2001. Synthesis, antitumor cytotoxicity, and DNA-binding of novel N-5,2-di(omega-aminoalkyl)-2,6-dihydropyrazolo[3,4,5-kl]acridine-5-carboxamides. *J Med Chem* 44:3329.
64. Bu, X. C., J. Deady, L.W. Denny, W.A. 2002. Synthesis and cytotoxicity of potential anticancer derivatives of pyrazolo[3,4,5-kl]acridine and indolo[2,3-a]acridine. *Tetrahedron* 58:175.
65. Sugaya, T., Y. Mimura, Y. Shida, Y. Osawa, I. Matsukuma, S. Ikeda, S. Akinaga, M. Morimoto, T. Ashizawa, M. Okabe, and et al. 1994. 6H-pyrazolo[4,5,1-de]acridin-6-ones as a novel class of antitumor agents. Synthesis and biological activity. *J Med Chem* 37:1028.
66. Svoboda, G. H., G. A. Poore, P. J. Simpson, and G. B. Boder. 1966. Alkaloids of *Acronychia Baueri* Schott I. Isolation of the alkaloids and a study of the antitumor and other biological properties of acronycine. *J Pharm Sci* 55:758.
67. Liska, K. J. 1972. Preparation and antitumor properties of analogs of acronycine. *J Med Chem* 15:1177.

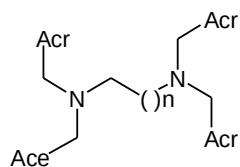
68. Costes, N., H. Le Deit, S. Michel, F. Tillequin, M. Koch, B. Pfeiffer, P. Renard, S. Leonce, N. Guilbaud, L. Kraus-Berthier, A. Pierre, and G. Atassi. 2000. Synthesis and cytotoxic and antitumor activity of benzo[b]pyrano[3, 2-h]acridin-7-one analogues of acronycine. *J Med Chem* 43:2395.
69. Guilbaud, N., L. Kraus-Berthier, F. Meyer-Losic, V. Malivet, C. Chacun, M. Jan, F. Tillequin, S. Michel, M. Koch, B. Pfeiffer, G. Atassi, J. Hickman, and A. Pierre. 2001. Marked antitumor activity of a new potent acronycine derivative in orthotopic models of human solid tumors. *Clin Cancer Res* 7:2573.
70. Guilbaud, N., S. Leonce, F. Tillequin, M. Koch, J. A. Hickman, and A. Pierre. 2002. Acronycine derivatives as promising antitumor agents. *Anticancer Drugs* 13:445.
71. David-Cordonnier, M. H., W. Laine, A. Lansiaux, M. Kouach, G. Briand, A. Pierre, J. A. Hickman, and C. Bailly. 2002. Alkylation of guanine in DNA by S23906-1, a novel potent antitumor compound derived from the plant alkaloid acronycine. *Biochemistry* 41:9911.
72. Kluza, J., A. Lansiaux, N. Wattez, M. P. Hildebrand, S. Leonce, A. Pierre, J. A. Hickman, and C. Bailly. 2002. Induction of apoptosis in HL-60 leukemia and B16 melanoma cells by the acronycine derivative S23906-1. *Biochem Pharmacol* 63:1443.
73. Braga, P. A., D. A. Dos Santos, M. F. Da Silva, P. C. Vieira, J. B. Fernandes, P. J. Houghton, and R. Fang. 2007. In vitro cytotoxicity activity on several cancer cell lines of acridone alkaloids and N-phenylethyl-benzamide derivatives from *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr. *Nat Prod Res* 21:47.
74. Weniger, B., B. H. Um, A. Valentin, A. Estrada, A. Lobstein, R. Anton, M. Maille, and M. Sauvain. 2001. Bioactive acridone alkaloids from *Swinglea glutinosa*. *J Nat Prod* 64:1221.
75. Stanslas, J., D. J. Hagan, M. J. Ellis, C. Turner, J. Carmichael, W. Ward, T. R. Hammonds, and M. F. Stevens. 2000. Antitumor polycyclic acridines. 7. Synthesis and biological properties of DNA affinic tetra- and pentacyclic acridines. *J Med Chem* 43:1563.
76. Rinehart, K. L., T. G. Holt, N. L. Fregeau, P. A. Keifer, G. R. Wilson, T. J. Perun, Jr., R. Sakai, A. G. Thompson, J. G. Stroh, L. S. Shield, and et al. 1990. Bioactive compounds from aquatic and terrestrial sources. *J Nat Prod* 53:771.
77. Álvarez, M. F., L.; Ajana, W.; Joule, J. A.; Fernández-Puentes, J.L. 2000. Synthesis of Ascidiemine and an Isomer. *European Journal of Organic Chemistry*:849.
78. Delfourne, E., C. Roubin, and J. Bastide. 2000. The first synthesis of the pentacyclic pyridoacridine marine alkaloids: arnoamines A and B. *J Org Chem* 65:5476.
79. Radchenko, O. S. B., N.N.; Denisenko, V.A.; Novikov, V.L. 2006. A simple and effective approach to the synthesis of pyrido[4,3,2-mn]pyrrolo[3,2,1-de]acridine skeleton of arnoamines A and B, pentacyclic marine alkaloids from the ascidian *Cystodytes* sp. *Tetrahedron Letters* 47:7819.
80. Cech, T. R. 2000. Life at the End of the Chromosome: Telomeres and Telomerase. *Angew Chem Int Ed Engl* 39:34.

81. Gellert, G. C. J., S.R.; Dikmen, Z.G.; Wright, W.E.; Shay, J.W. 2005. Telomerase as a therapeutic target in cancer. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 2:159.
82. Kelland, L. R. 2005. Overcoming the immortality of tumour cells by telomere and telomerase based cancer therapeutics--current status and future prospects. *Eur J Cancer* 41:971.
83. Harrison, R. J., S. M. Gowan, L. R. Kelland, and S. Neidle. 1999. Human telomerase inhibition by substituted acridine derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 9:2463.
84. Neidle, S., and G. Parkinson. 2002. Telomere maintenance as a target for anticancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 1:383.
85. Di Giorgio, C., A. Nikoyan, L. Decome, C. Botta, M. Robin, J. P. Reboul, A. S. Sabatier, A. Matta, and M. De Meo. 2008. DNA-damaging activity and mutagenicity of 16 newly synthesized thiazolo[5,4-a]acridine derivatives with high photo-inducible cytotoxicity. *Mutat Res* 650:104.
86. Cholody, W. M., S. Martelli, and J. Konopa. 1990. 8-Substituted 5-[(aminoalkyl)amino]-6H-v-triazolo[4,5,1-de]acridin-6-ones as potential antineoplastic agents. Synthesis and biological activity. *J Med Chem* 33:2852.
87. Kusnierczyk, H., W. M. Cholody, J. Paradziej-Lukowicz, C. Radzikowski, and J. Konopa. 1994. Experimental antitumor activity and toxicity of the selected triazolo- and imidazoacridinones. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 42:415.
88. Skladanowski, A. L., A.K.; Konopa, J.; Lemke, K. 1999. Inhibition of DNA topoisomerase II by antitumor triazoloacridinones in vitro and in tumor cells. *Proc Am Assoc Cancer Res* 40:681.
89. Lemke, K., V. Poindessous, A. Skladanowski, and A. K. Larsen. 2004. The antitumor triazoloacridone C-1305 is a topoisomerase II poison with unusual properties. *Mol Pharmacol* 66:1035.
90. Koba, M., and J. Konopa. 2007. Interactions of antitumor triazoloacridinones with DNA. *Acta Biochim Pol* 54:297.
91. Wesierska-Gadek, J., D. Schloffer, M. Gueorguieva, M. Uhl, and A. Skladanowski. 2004. Increased susceptibility of poly(ADP-ribose) polymerase-1 knockout cells to antitumor triazoloacridone C-1305 is associated with permanent G2 cell cycle arrest. *Cancer Res* 64:4487.
92. Lemke, K., M. Wojciechowski, W. Laine, C. Bailly, P. Colson, M. Baginski, A. K. Larsen, and A. Skladanowski. 2005. Induction of unique structural changes in guanine-rich DNA regions by the triazoloacridone C-1305, a topoisomerase II inhibitor with antitumor activities. *Nucleic Acids Res* 33:6034.
93. Antonini, I., P. Polucci, A. Magnano, D. Cacciamani, M. T. Konieczny, J. Paradziej-Lukowicz, and S. Martelli. 2003. Rational design, synthesis and biological evaluation of thiadiazinoacridines: a new class of antitumor agents. *Bioorg Med Chem* 11:399.
94. Barbet, J., B. P. Roques, and J. B. Le Pecq. 1975. [DNA-intercalating compounds. Synthesis of acridine dimers]. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* 281:851.
95. Wakelin, L. P., M. Romanos, T. K. Chen, D. Glaubiger, E. S. Canellakis, and M. J. Waring. 1978. Structural limitations on the bifunctional intercalation of diacridines into DNA. *Biochemistry* 17:5057.

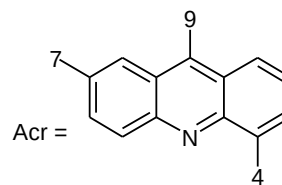
96. Chen, T. K., R. Fico, and E. S. Canellakis. 1978. Diacridines, bifunctional intercalators. Chemistry and antitumor activity. *J Med Chem* 21:868.
97. Spicer, J. A., S. A. Gamage, G. J. Finlay, and W. A. Denny. 2002. Synthesis and evaluation of unsymmetrical bis(arylcarboxamides) designed as topoisomerase-targeted anticancer drugs. *Bioorg Med Chem* 10:19.
98. Gamage, S. A., J. A. Spicer, G. J. Atwell, G. J. Finlay, B. C. Baguley, and W. A. Denny. 1999. Structure-activity relationships for substituted bis(acridine-4-carboxamides): a new class of anticancer agents. *J Med Chem* 42:2383.
99. Antonini, I., P. Polucci, A. Magnano, S. Sparapani, and S. Martelli. 2004. Rational design, synthesis, and biological evaluation of bis(pyrimido[5,6,1-de]acridines) and bis(pyrazolo[3,4,5-kl]acridine-5-carboxamides) as new anticancer agents. *J Med Chem* 47:5244.
100. Sourdon, V. M., S.; Pique, V.; Galy, J.P. 2001. Synthesis of new bis- and tetra-acridines. *Molecules* 6:673.
101. Brana, M. F., L. Casarrubios, G. Dominguez, C. Fernandez, J. M. Perez, A. G. Quiroga, C. Navarro-Ranninger, and B. de Pascual-Teresa. 2002. Synthesis, cytotoxic activities and proposed mode of binding of a series of bis([(9-oxo-9,10-dihydroacridine-4-carbonyl)amino]alkyl) alkylamines. *Eur J Med Chem* 37:301.
102. Augustus, T. M., J. Anderson, S. M. Hess, and U. Bierbach. 2003. Bis(acridinylthiourea)platinum(II) complexes: synthesis, DNA affinity, and biological activity in glioblastoma cells. *Bioorg Med Chem Lett* 13:855.
103. Triesscheijn, M., P. Baas, J. H. Schellens, and F. A. Stewart. 2006. Photodynamic therapy in oncology. *Oncologist* 11:1034.
104. Fernandez, M. J., B. Wilson, M. Palacios, M. M. Rodrigo, K. B. Grant, and A. Lorente. 2007. Copper-activated DNA photocleavage by a pyridine-linked bis-acridine intercalator. *Bioconjug Chem* 18:121.
105. Vispe, S., I. Vandenberghe, M. Robin, J. P. Annereau, L. Creancier, V. Pique, J. P. Galy, A. Kruczynski, J. M. Barret, and C. Bailly. 2007. Novel tetra-acridine derivatives as dual inhibitors of topoisomerase II and the human proteasome. *Biochem Pharmacol* 73:1863.
106. Watson, J. D., and F. H. Crick. 1953. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171:737.

Tabela 1. Estruturas químicas de derivados das bis e tetra-acridinas

Bis-acridinas
 composto 1, R = CN
 composto 2, R = C₃H₇



Tetra-acridinas
 compostos 3-9



Compostos	Substituintes			Posição da ligação da acridina (Acr)
	9	7	n	
3	H	H	1	4
4	H	H	3	4
5	H	H	5	4
6	H	H	7	4
7	NH ₂	H	1	4
8	Cl	Br	3	4
9	H	H	7	2