



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CHARLES CHRISTOPHE DU BARRIÈRE MENDES

DERIVADOS NITROGENADOS PLANARES:
Síntese, elucidação estrutural, *docking* e estudos de interação com o DNA e
albumina do soro bovino

Recife
2019

CHARLES CHRISTOPHE DU BARRIÈRE MENDES

**DERIVADOS NITROGENADOS PLANARES:
Síntese, elucidação estrutural, *docking* e estudos de interação com o DNA e
albumina do soro bovino**

**Tese de doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito para obtenção de título
de Doutor em Ciências Farmacêuticas.
Área de concentração: Fármacos e
Medicamentos.**

Orientadora:

Prof. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima

Departamento de Antibióticos, CCS/UFPE

Laboratório de Química e Inovação Terapêutica, LQIT/UFPE

Coorientador:

Prof. Dr. Jamerson Ferreira de Oliveira

Departamento de Antibióticos, CCS/UFPE

Laboratório de Química e Inovação Terapêutica, LQIT/UFPE

**Recife
2019**

Bibliotecário: Elaine Freitas, CRB4:1790

617.6 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2019 - 194)

Universidade Federal de Pernambuco

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Parecer da comissão examinadora da tese de doutorado de

CHARLES CHRISTOPHE DU BARRIÈRE MENDES

DERIVADOS NITROGENADOS PLANARES:

Síntese, elucidação estrutural, *docking* e estudos de interação com o DNA e albumina do soro bovino

A comissão examinadora, composta pelos professores abaixo, sob a presidência do primeiro, considera o candidato como: APROVADO.

Recife, 23 de Maio de 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima (Presidente e Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dra. Rosali Maria Ferreira da Silva (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dr. Ricardo Oliveira da Silva (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dra. Sinara Mônica Vitalino de Almeida (Examinadora Externa)
Universidade de Pernambuco – UPE

Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura (Examinador Externo)
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

AGRADECIMENTOS

A Deus pela criação de todo o bem que existe e por nos proporcionar a orientação de conduzirmos nossas ações em prol do bem do próximo.

A minha orientadora Prof. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima pelo acolhimento perene e por sua atitude sempre judiciosa, bem como carinhosa, com seus estudantes.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Jamerson Ferreira de Oliveira por sempre estar disponível e disposto a ajudar sempre que nós o buscamos.

Ao professor Dr. Túlio Couto pela incansável vontade de nos auxiliar e por sempre estar ao nosso lado nos orientando direta e pessoalmente.

Aos professores Dr. Ricardo Olímpio de Moura, Dra. Sinara Mônica Vitalino de Almeida, Dr. Ricardo Oliveira, Dra. Rosali Maria Ferreira da Silva e Dr. Thiago Oliveira pelas inestimáveis contribuições e orientações durante o exame de qualificação, bem como na defesa da tese.

Aos meus pais pelo eterno cuidado e pelo carinho incomensurável com os quais tratam seus filhos e netos.

A minha esposa Regiane Fixina por me estimular e me proporcionar todo o suporte físico e emocional para concluir esta missão.

Aos amigos e colegas do laboratório Natanael Bezerra, César Amorim, Amélia Galdino, Thiago Oliveira, Kerioline Santos, Mariana Soares, Josival Emanuel Alves, Thammyris Pires, Franciane Gonçalves, Miguel, Suellen Feitosa, Íris Trindade, Paula Roberta Silva, Allana Gouveia, Pedro Bonfim, Cleberson, Rubinho, Hanna Lopes e Ariany França pelo espírito de equipe, pela presença diária e pela amizade sincera.

Aos colaboradores do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE, da Central Analítica do DQF/UFPE e do Laboratório de Combustíveis – LAC/DEQ/UFPE pela realização dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear, Infravermelho e Espectrometria de Massas.

A CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

Sem o apoio de cada uma das pessoas e instituições supramencionadas, este trabalho não haveria se concretizado.

RESUMO

As substâncias heterocíclicas planares vem recebendo amplo destaque na terapêutica das neoplasias, visto que apresentam extensa atividade antiproliferativa frente as mais diversas linhagens de células cancerígenas. Esta atividade deriva da capacidade de intercalação entre estes ligantes e o DNA, inibindo ação da topoisomerase II α . Para obtenção dos compostos do estudo, lançou-se mão da simplificação molecular, que é uma estratégia da Química Medicinal que busca modificações estruturais de classes distintas de compostos para obtenção de novas moléculas menos complexas, com atividade terapêutica mais pronunciada. Foram sintetizados 17 novos compostos contendo os heteronúcleos quinolina, indol, pirrol, acridina e tiazolina, bem como tiossemicarbazonas, relatados na literatura como responsáveis por diversas atividades biológicas, dentre elas, antiproliferativas. Para tanto, foi planejada a obtenção de novos derivados indol-tiossemicarbazonas, pirrol-tiossemicarbazonas, quinolina-tiossemicarbazonas por reações entre aldeídos quinolínicos, indólicos e pirrólicos com a hidrazinacarbotioamida com rendimentos de 22% a 85%. Para obtenção das acridina-tiossemicarbazonas e acridina-tiazolinas foi realizada inicialmente a síntese das tiossemicarbazidas aromáticas, por meio da reação entre aril-isotiocianatos e hidrazina. Subsequentemente, as tiossemicarbazonas foram submetidas à reações com a acridina-9-carboxaldeído, obtendo-se as acridina-tiossemicarbazonas com rendimentos de 51% a 52%. Para obtenção das tiazolinas, as acridina-tiossemicarbazonas reagiram com a 2-bromoacetofenona, alcançando-se rendimentos de 35% a 77%. Os compostos foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C , COSY, HSQC, FTIR, MALDI-TOF. Nos estudos de espectrofotometria e espectrofluorimetria dos ligantes com o ctDNA e a albumina do soro bovino (BSA), respectivamente, foram evidenciados interações por meio dos efeitos de hiper/hipocromicidade, bato/hipsocromicidade, K_b e K_{sv} . Nos ensaios de absorção, os derivados apresentaram constante de ligação intrínseca com o ctDNA entre $1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ e $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$, com destaque para os ligantes LqIT/JF-97 (indol), para o qual foi constatado um K_b de $7,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ e hipercromicidade de 84,12% e o LqIT/JF-102 (benzo[g]indol) para o qual foi constatado um K_b de $9,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ e hipercromicidade de 54,28%. Nos ensaios de fluorescência com a BSA, foram averiguados resultados de hipocromicidade que oscilaram entre 51,90% e 90,33%, bem como valores da constante de Stern-Volmer (K_{sv}), observados entre $0,08 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ e $2,94 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. Para estes resultados são enfatizados os ligantes LqIT/JF-74, LqIT/JF-98, LqIT/JF-99 e LqIT/JF-115, com valores de hipocromicidade de 90,33%, 89,73%, 90,04% e 89,83%, e valores de K_{sv} de $2,94 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, $2,46 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, $1,73 \times$

10^4 M^{-1} e $2,08 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, respectivamente. Nos ensaios de *docking* molecular foi constatado que todos os ligantes interagem com as bases nitrogenadas do DNA e com o Trp²¹² da BSA por meio de empilhamento π - π , bem como por outras interações hidrofóbicas não covalentes. Assim, são propostos futuros testes mais refinados visando à atividade antiproliferativa dos derivados, bem como avaliar o tipo de morte celular provocam em células neoplásicas.

Palavras-chave: Tiossemicarbazona. Acridina. Ligação ao DNA. DNA do timo bovino. Ligação à albumina.

ABSTRACT

Planar heterocyclic substances have been receiving ample attention in the therapeutics of neoplasias, since they show an extensive antiproliferative activity against the most diverse cancer cell lines. This activity derives from the ability of intercalation between these ligands and DNA, inhibiting action of topoisomerase II α . In order to obtain the compounds of the study, it has been used the molecular simplification, which is a strategy of Medicinal Chemistry that seeks structural modifications of different classes of compounds to obtain new less complex molecules, with more pronounced therapeutic activity. 17 new compounds containing quinoline, indole, pyrrole, acridine, thiazoline and thiosemicarbazones were synthesized, reported in the literature as being responsible for several biological activities, among them, antiproliferative. For this, it was planned obtaining new indole-thiosemicarbazones, pyrrole-thiosemicarbazones, quinoline-thiosemicarbazones derivatives by reactions between quinolinic, indolic and pyrrolic aldehydes with hydrazinecarbothioamide in yields of 22% to 85%. To obtain the acridine-thiosemicarbazones and acridine-thiazolines, the synthesis of the aromatic thiosemicarbazides was initially carried out by means of the reaction between aryl-isothiocyanates and hydrazine. Subsequently, the thiosemicarbazones were reacted with the acridine-9-carboxaldehyde, to give the acridine thiosemicarbazones in yields of 51% to 52%. To obtain the thiazolines, the acridine-thiosemicarbazones reacted with 2-bromoacetophenone, in yields of 35% to 77%. Compounds were characterized by ^1H and ^{13}C NMR, COSY, HSQC, FTIR, MALDI-TOF. In the spectrophotometric and spectrofluorimetry studies of the ligands with ctDNA and bovine serum albumin (BSA), respectively, interactions have been evidenced by means of hyper/hypochromicity effects, bathochromicity effects, K_b and K_{sv} . In the absorption assays, the derivatives showed intrinsic binding constant with ctDNA between $1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ and $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$, with emphasis on the ligands LqIT/JF-97 (indole), for which a K_b of $7.3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ and hyperchromicity of 84.12% and LqIT/JF-102 (benzo[g]indole) for which a K_b of $9.3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ and 54.28% hyperchromicity were found. In the fluorescence assays with BSA, hypochromicity results ranging from 51.90% to 90.33%, as well as values of the Stern-Volmer constant (K_{sv}), observed between $0.08 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ and $2.94 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. For these results the LqIT/JF-74, LqIT/JF-98, LqIT/JF-99 and LqIT/JF-115 ligands with bathochromicity values of 90.33%, 89.73%, 90.04% e 89.83%, and K_{sv} values of $2.94 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, $2.46 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, $1.73 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ e $2.08 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, respectively. In the molecular docking assays it was found that all the ligands interact with the nitrogenous bases of the DNA and the Trp²¹² of the BSA

by means of π - π stacking, as well as by other non-covalent hydrophobic interactions. Thus, more refined future tests are proposed aiming at the antiproliferative activity of the derivatives, as well as to evaluate the type of cell death provoked in neoplastic cells.

Keywords: Thiosemicarbazone. Acridine. DNA binding. Calf thymus DNA. Albumin binding.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Base estrutural da inibição enzimática específica: interação do imatinibe (fármaco) com o BCR-ABL (receptor).....	22
Figura 2-	Processo de desenvolvimento de novos fármacos (IND – Investigação de novo fármaco; NDA – solicitação para um novo fármaco).....	23
Figura 3-	Estrutura tridimensional do alvo molecular empregada em estudos de modelagem molecular (SBDD).....	25
Figura 4-	Estrutura dos heterociclos pirrol, indol, quinolina e acridina, enfatizando a estratégia de simplificação molecular.....	26
Figura 5-	Representação esquemática dos modos de interação covalentes e não covalentes com o DNA: intercalação, intercalação ao sulco, interação eletrostática, ligação à base nitrogenada e ligação ao fosfato.....	27
Figura 6-	Intercalação de um complexo acridina/cisplatina com octâmero de DNA, 5'-CCTCGTCC-3'/3'-GGAGCAGG-5'.....	28
Figura 7-	Derivados acridínicos com atividade terapêutica.....	29
Figura 8-	Tiazacridinas e Imidazacridinas com atividade de inibição da topoisomerase I.....	29
Figura 9-	Fórmula geral para as Acridina-Tiossemicarbazonas com atividade antitumoral e de ligação ao DNA.....	30
Figura 10-	Classificação de reações de fechamento de anel para preparação de acridinas.	31
Figura 11-	Estrutura do heterociclo aromático indol e atividades terapêuticas relatadas.....	34
Figura 12-	Derivados indólicos com atividade antiproliferativa.....	35
Figura 13-	Derivados indólicos com atividade antiproliferativa.....	35
Figura 14-	Estrutura do heterociclo aromático quinolina e atividades terapêuticas relatadas.....	37
Figura 15-	Estruturas das quinolinas-3-carboxamidas tasquinimod e paquinimod..	37
Figura 16-	Derivados quinolínicos com atividade antiproliferativa.....	38
Figura 17-	Estrutura das tiossemicarbazonas.....	39
Figura 18-	Estruturas dos fármacos tioacetazona e metisazona.....	39
Figura 19-	Estrutura da tiossemicarbazona e atividades terapêuticas relatadas.....	40

Figura 20-	Função imina (base de Schiff) e a função tiocarbamida componentes das tiosemicarbazonas.....	41
Figura 21-	Fármacos que contém o heterociclo tiazol.....	44
Figura 22-	Estrutura do tiazol e atividades terapêuticas relatadas.....	44
Figura 23-	Fármacos que interagem ao sulco menor do DNA: amidinas aromáticas, netropsina e distamicina.....	45
Figura 24-	Estrutura de uma combilexina tipo berenil-acridina contendo um espaçador tiazol e esquema da formação complexo bifuncional com o sulco menor do DNA.....	46
Figura 25-	Tiazol lexitropsina ligado ao cromóforo anilino-acridina intercalante...	47
Figura 26-	Interação dos diversos heterociclos da lexitropsina com resíduos de guanina (G) da fita do sulco menor do DNA (interação do tiazol em destaque).....	47
Figura 27-	Interações π - π entre anéis aromáticos do benzeno.....	67
Figura 28-	Interação dos ligantes LqIT/JF-74 e LqIT/JF-75 com o ctDNA (1G3X).....	68
Figura 29-	Interação dos ligantes LqIT/JF-74 e LqIT/JF-75 com o sulco menor do ctDNA (6CQ3).....	69
Figura 30-	Interação dos ligantes LqIT/JF-98 e LqIT/JF-99 com o ctDNA (1G3X).....	70
Figura 31-	Interação dos ligantes LqIT/JF-102 e LqIT/JF-116 com o ctDNA (1G3X).....	71
Figura 32-	Interação dos ligantes LqIT/JF-102 e LqIT/JF-116 com o sulco menor do ctDNA (6CQ3).....	72
Figura 33-	Interação do ligante LqIT/JF-248 com o ctDNA (1G3X).....	73
Figura 34-	Interação dos ligantes LqIT/JF-243, LqIT/JF-244 e LqIT/JF-245 com o ctDNA (1G3X).....	73
Figura 35-	Interação dos ligantes LqIT/JF-243, LqIT/JF-244, LqIT/JF-245 e LqIT/JF-248 com o sulco menor do ctDNA (6CQ3).....	74
Figura 36-	Estruturas cristalizadas da HSA e da BSA.....	76
Figura 37-	Interação dos ligantes LqIT/JF-73 e LqIT/JF-74 com a BSA.....	78
Figura 38-	Interação dos ligantes LqIT/JF-97 e LqIT/JF-98 com a BSA.....	79
Figura 39-	Interação do ligante LqIT/JF-99 com a BSA e espectro de emissão de	

	fluorescência da albumina do soro bovino (BSA) na presença de quantidades crescentes do ligante.....	80
Figura 40-	Interação dos ligantes LqIT/JF-102 e LqIT/JF-115 com o complexo BSA-Naproxeno.....	80
Figura 41-	Interação dos ligantes LqIT/JF-244 e LqIT/JF-245 com o complexo BSA-Naproxeno.....	81
Figura 42-	Estruturas moleculares dos compostos LqIT/JF-242, JF-243, JF-244 e JF-248.....	84
Figura 43-	Espectros de RMN ^1H (campo baixo) dos compostos JF-242 e JF-243	85
Figura 44-	Espectros de RMN ^1H da região de aromáticos do composto JF-242....	86
Figura 45-	Espectros de RMN ^1H da região de aromáticos do composto JF-243...	87
Figura 46-	Espectros de RMN ^{13}C (campo baixo) dos compostos JF-242 e JF-243	88
Figura 47-	Estrutura do composto LqIT/JF-242 em conformações <i>E-sin-periplanar</i> e <i>E-anti-periplanar</i>	90
Figura 48-	Estruturas moleculares dos compostos JF-240 e JF-248.....	91
Figura 49-	Espectros de RMN ^1H dos compostos JF-248 (campo baixo) e JF-240 (completo).....	91
Figura 50-	Deslocamentos químicos da região de aromáticos do composto JF-248	93
Figura 51-	Espectros de RMN ^{13}C dos compostos JF-244 e JF-248.....	93
Figura 52-	Espectro bidimensional de HSQC do composto LqIT/JF-248.....	94
Figura 53-	Espectro DEPT do composto LqIT/JF-248.....	95
Figura 54-	Espectro bidimensional de COSY do composto LqIT/JF-248.....	96
Figura 55-	Distorção da estrutura de helicoidal do DNA por intercalação de ligante.....	109
Figura 56-	Estruturas dos compostos intercalantes de DNA LqIT/LT-51 e LqIT/JF-97.....	110
Figura 57-	Espectros de absorção do LqIT/JF-97 e LqIT/LT-51 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.....	111
Figura 58-	Espectros de absorção do LqIT/JF-102 e LqIT/LT-115 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.....	111
Figura 59-	Interações entre os ligantes LqIT/JF-102 e LqIT/JF-115 com o ctDNA	112
Figura 60-	Espectros de absorção do LqIT/JF-244 e LqIT/LT-245 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.....	113

Figura 61-	Interações entre os ligantes LqIT/JF-244 e LqIT/JF-245 com o ctDNA	113
Figura 62-	Espectros de absorção do LqIT/JF-242 e LqIT/LT-243 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.....	114
Figura 63-	Espectro de absorção do LqIT/JF-116 na presença de quantidades crescentes do ctDNA e interação do ligante com o ctDNA.....	115
Figura 64-	Interação do ligante LqIT/JF-73 com o ctDNA e espectro de absorção do LqIT/JF-74 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.....	116
Figura 65-	Espectro de absorção do LqIT/JF-73 e LqIT/JF-75 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.....	116
Figura 66-	Espectro de emissão de fluorescência da albumina do soro bovino (BSA) na presença de quantidades crescentes do composto LqIT/JF-74.....	119
Figura 67-	Posição de interação do ligante LqIT/JF-74 entre os sítios IIA (verde) e IIIA (azul escuro) da BSA e interações de empilhamento entre o ligante e o Trp-212.....	120
Figura 68-	Espectro de emissão de fluorescência da albumina do soro bovino (BSA) na presença de quantidades crescentes dos compostos LqIT/JF-98, LqIT/JF-99, LqIT/JF-102 e LqIT/JF-115 e interações de empilhamento entre os ligantes e o Trp-212.....	120
Figura 69-	Espectro de emissão de fluorescência da albumina do soro bovino (BSA) na presença de quantidades crescentes do composto LqIT/JF-244 e interações entre o ligante e o Trp-212.....	122

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1-	Síntese de acridinas com fechamento de anel central por utilização de micro-ondas.....	32
Esquema 2-	Síntese da 9-metilacridina por meio da reação de Bernthsen-Bender.....	32
Esquema 3-	Síntese do 9-acridinaldeído por oxidação com PCC.....	33
Esquema 4-	Formas tiol e tiona das tiossemicarbazonas em equilíbrio tautomérico.....	41
Esquema 5-	Obtenção de tiossemicarbazonas por método indireto com isotiocianatos.....	42
Esquema 6-	Método indireto de obtenção de tiossemicarbazonas por meio da utilização do ditiocarbamato (DTC).....	43
Esquema 7-	Síntese dos tiazóis a partir de tiossemicarbazonas e 2-bromoacetofenona.....	48
Esquema 8-	Síntese dos tiazóis a partir de tiossemicarbazonas e 3-bromopiruvato de etila.....	48
Esquema 9-	Síntese dos tiazóis a partir de tiocarbamida e 2-cloroacetofenona.....	49
Esquema 10-	Estratégias de restrição conformacional e simplificação molecular empregadas para a síntese dos compostos tiazolínicos e tiossemicarbazônicos pirrólicos, quinolínicos e indólicos.....	53
Esquema 11-	Retrossíntese das tiazolinas acridínicas.....	53
Esquema 12-	Esquema reacional para obtenção das tiossemicarbazidas substituídas.....	54
Esquema 13-	Obtenção das acridina-tiossemicarbazonas.....	55
Esquema 14-	Obtenção das quinolina/indol/pirrol-tiossemicarbazonas.....	55
Esquema 15-	Obtenção das acridina-tiazolinas.....	56
Esquema 16-	Mecanismo de síntese das tiossemicarbazidas substituídas.....	82
Esquema 17-	Mecanismo de síntese das tiossemicarbazonas substituídas.....	83
Esquema 18-	Mecanismo de síntese das acridina-tiazolinas.....	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Moléculas e denominação IUPAC dos reagentes utilizados nas sínteses dos derivados tiossemicarbazônicos.....	50
Tabela 2-	Modalidades de interações e energias estimadas dos ligantes frente ao dodecâmeros de DNA 1G3X e 6CQ3.....	65
Tabela 3-	Modalidades de interações e energias estimadas dos ligantes frente ao complexo BSA-Naproxeno.....	76
Tabela 4-	Deslocamentos químicos dos hidrogênios hidrazínico (17), tioamídico (19) e azometínico (15) dos compostos LqIT/JF-242 e JF-243.....	86
Tabela 5-	Deslocamentos químicos dos carbonos da tiocarbamida, os carbonos acridínicos e o carbono imínico dos compostos LqIT/JF-242 e JF-243..	89
Tabela 6-	Valores da entalpia de formação do composto LqIT/JF-115 nas conformações <i>Z-sin</i> -periplanar, <i>Z-anti</i> -periplanar, <i>E-sin</i> -periplanar e <i>E-anti</i> -periplanar.....	89
Tabela 7-	Deslocamentos químicos (δ em ppm), multiplicidades e constantes de acoplamento (<i>J</i>) dos hidrogênios dos compostos LqIT/JF-240 e LqIT/JF-248.....	92
Tabela 8-	Dados espectroscópicos de absorção UV-Vis dos derivados LqIT/JF na presença e ausência do ctDNA e constantes de ligação K_b	107
Tabela 9-	Dados espectroscópicos de fluorescência dos derivados LqIT/JF na presença e ausência da BSA e constantes de ligação K_{sv}	118
Tabela 10-	Dados físico-químicos e farmacocinéticos <i>in silico</i> calculados nas plataformas SwissADME e pkCSM.....	123

LISTA DE ABREVIATURAS

BSA – Albumina do soro bovino (do inglês *Bovine Serum Albumin*)

CCD – Cromatografia em camada delgada

COSY – Espectroscopia Correlacionada (do inglês *Correlation Spectroscopy*)

ctDNA – DNA de timo bovino (do inglês *calf thymus DNA*)

DEPT – *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*

DMSO-*d*6 – Dimetilsulfóxido deuterado

DNA – Ácido desoxirribonucleico

FTIR – Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (do inglês *Fourier-transform infrared spectroscopy*)

HSA – Albumina do soro humano (do inglês *Human Serum Albumin*)

HSQC – *Heteronuclear Single-Quantum Correlation*

IV - Infravermelho

LQIT – Laboratório de Química e Inovação Terapêutica

MALDI-TOF/MS - Ionização/Dessorção de Matriz Assistida por Laser - Tempo-de-Vôo/Espectrômetro de Massa (do inglês *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight/Mass Spectrometer*)

QSAR – Relação Estrutura-Atividade Quantitativa (do inglês *Quantitative Structure-Activity Relationship*)

R_f – Fator de retenção (do inglês *Retention factor*)

RMN ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13

RMN ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio

SAR – Relação Estrutura-Atividade (do inglês *Structure-Activity Relationship*)

Trp - Triptofano

UV-Vis – Ultravioleta-Visível

δ ppm – Deslocamento químico em parte por milhão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	OBJETIVOS.....	21
2.1	OBJETIVOS GERAIS.....	21
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	22
3.1	ESTRATÉGIAS E FERRAMENTAS PARA DESCOBERTA DE NOVOS FÁRMACOS.....	23
3.2	ACRIDINAS.....	26
3.2.1	Aplicação terapêutica das acridinas.....	26
3.2.2	Síntese das acridinas.....	31
3.3	INDÓIS.....	33
3.4	QUINOLINAS.....	36
3.5	TIOSSEMICARBAZONAS.....	39
3.5.1	Aplicação terapêutica das tiossemicarbazonas.....	39
3.5.2	Tiossemicarbazonas como função orgânica.....	41
3.5.3	Síntese das tiossemicarbazonas.....	42
3.6	TIAZÓIS.....	43
3.6.1	Aplicação terapêutica dos tiazóis.....	43
3.6.2	Tiazóis em moléculas ligante de DNA.....	44
3.6.3	Síntese dos tiazóis.....	47
4	METODOLOGIA.....	50
4.1	METODOLOGIA QUÍMICA.....	50
4.1.1	Materiais e reagentes.....	50
4.1.2	Equipamentos e softwares.....	51
4.1.3	Procedimentos experimentais.....	52
4.1.3.1	Síntese das tiossemicarbazidas.....	54
4.1.3.2	Síntese dos derivados indol-tiossemicarbazonas, pirrol-tiossemicarbazona, quinolina-tiossemicarbazonas, acridina-tiossemicarbazonas e acridina-tiazolinas (LQIT/JF).....	54
4.1.3.3	Descrição sucinta dos procedimentos experimentais.....	56
4.2	ENSAIOS DE INTERAÇÃO.....	59

4.2.1	Estudos de interação dos derivados nitrogenados (JF-LqIT) com o ctDNA e com a albumina do soro bovino (BSA)	59
4.2.1.1	Materiais e equipamentos.....	59
4.2.1.2	Preparação das soluções de ctDNA e albumina.....	59
4.2.1.3	Espectroscopia de absorção eletrônica.....	60
4.2.1.4	Espectroscopia de emissão de fluorescência.....	60
4.3	ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR.....	61
4.3.1	Preparação da estrutura dos ligantes.....	61
4.3.2	Preparação das macromoléculas dodecâmero de DNA complexado com a 9-acridina-peptídeo, o dodecâmero de DNA livre e a albumina do soro bovino (BSA).....	62
4.3.3	<i>Docking</i> molecular.....	62
4.3.3.1	<i>Docking</i> dos ligantes com a macromolécula dodecâmero de DNA complexado com a 9-acridina-peptídeo (1G3X) e o dodecâmero de DNA livre (6CQ3).....	62
4.3.3.2	<i>Docking</i> dos ligantes com a macromolécula albumina do soro bovino (BSA - 4OR0).....	63
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
5.1	ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR.....	64
5.1.1	Estudo de docking dos derivados LqIT/JF com o dodecâmero de DNA complexado com a 9-acridina-peptídeo (1G3X) e o dodecâmero de DNA livre (6CQ3)	64
5.1.2	Estudo de <i>docking</i> dos derivados LqIT/JF com a albumina do soro bovino.....	75
5.2	MECANISMOS DE SÍNTESE DAS TIOSSEMICARBAZIDAS, DOS DERIVADOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS E DOS DERIVADOS TIAZOLÍNICOS.....	82
5.2.1	Análises espectroscópicas dos derivados acridina-tiossemicarbazonas e acridina-tiazolinas (LqIT/JF).....	84
5.2.2	Dados espectroscópicos, espectrométricos e físico-químicos dos derivados tiossemicarbazônicos e tiazolínicos (LqIT/JF).....	96
5.3	ENSAIOS DE INTERAÇÃO.....	106
5.3.1	Estudos de ligação com o ctDNA - Espectroscopia de absorção eletrônica	106

5.3.2	Estudos de interação com a Albumina do Soro Bovino (BSA) - Espectroscopia de fluorescência.....	116
5.4	PROPRIEDADES ADME DOS LIGANTES.....	122
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	126
6.1	PERSPECTIVAS.....	127
	REFERÊNCIAS.....	128
	APÊNDICE A - ESPECTROS DE RMN ¹H E ¹³C, COSY, HSQC, DEPT, INFRAVERMELHO E MALDI-TOF DOS DERIVADOS LQIT/JF.....	158
	APÊNDICE B - ESPECTROS DE ABSORÇÃO DOS LIGANTES LQIT/JF-98, LQIT/LT-99, LQIT/LT-100, LQIT/LT-101, LQIT/LT-114 E LQIT/LT-248 NA PRESENÇA DE QUANTIDADES CRESCENTES DO ctDNA.....	187
	APÊNDICE C - ESPECTROS DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA DA ALBUMINA DO SORO BOVINO (BSA) NA PRESENÇA DE QUANTIDADES CRESCENTES DOS COMPOSTOS LQIT/JF-73, LQIT/JF-75, LQIT/JF-97, LQIT/JF-100, LQIT/JF-101, LQIT/JF-114, LQIT/JF-116, LQIT/JF-242, LQIT/JF-243, LQIT/JF-245 E LQIT/JF-248.....	188

1 INTRODUÇÃO

A química de compostos heterocíclicos compõe um área de fundamental importância para o desenvolvimento de novas moléculas com atividade terapêutica. Estes compostos são relatados desde o século XIX, e dentre eles a acridina, descrita em 1884 pelo químico alemão August Bernthsen (BERNTHSEN, 1884). A maioria das classes de fármacos é formada por compostos heterocíclicos, sejam agentes antimicrobianos (COATES et al., 2002; GAUDELLI et al., 2015), antivirais (LIU et al., 2015), antineoplásicos (LIU et al., 2015; DONG et al., 2015; LI et al., 2018), antiespasmódicos (ELBASIOUNY et al., 2010) e antiproliferativa (IBRAHIM; SAYED, 2018).

A fim de promover o delineamento e variabilidade de séries de novas moléculas candidatas a fármacos que apresentem tais atividades, pode-se lançar mão das estratégias sintéticas de simplificação molecular e restrição conformacional. A simplificação molecular envolve a síntese de moléculas menos complexas, de obtenção menos dispendiosa, a partir de um composto protótipo, porém com manutenção das porções farmacofóricas do derivado ativo. (ALBERT, 1982; BARREIRO, 2002; GARCÍA et al., 2010; SHI et al., 2016). A restrição conformacional é empregada de modo a fixar uma ou várias regiões do ligante, minimizando o número de conformações possíveis, limitando a quantidade de posições que este ligante pode assumir ao interagir com o um sítio de ação específico, aumentando a seletividade e estabilidade do confôrmero (POHLMANN et al., 1999).

Assim, o desenvolvimento de novos compostos heterocíclicos tiossemicarbazônicos e tiazolínicos, que apresentem núcleos poliaromáticos planares como acridina, deram origem a compostos contendo núcleos mais simples, como o indol (benzopirrol), pirrol e quinolina, que estão descritos em diversos estudos, para os quais sucessos terapêuticos foram evidenciados (LAFAYETTE et al., 2013; ALMEIDA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017).

Desta forma, através de reações com tiossemicarbazidas, é possível obter tiossemicarbazonas (ALMEIDA et al., 2015; SU et al., 2016; SENS et al., 2018) e obter derivados com moléculas simplificadas, que apresentem propriedades tão ou mais desejáveis que um protótipo, em potência, especificidade, duração de ação, menor toxicidade e maior estabilidade.

Outra modalidade utilizada quando se almejam tais características é a substituição isostérica (LANGMUIR, 1919; ERLÉNMEYER, 1932), mais tarde aplicada como bioisostérica (FRIEDMAN, 1951; BURGER, 1970; THORNBUR, 1979), que consiste na substituição de grupos específicos por grupos que possuem propriedades semelhantes,

alterando desta forma, as propriedades físico-químicas, e consequentemente, as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas da molécula, sem, no entanto, modificar drasticamente suas estruturas.

De modo a direcionar o presente estudo para interações dos compostos com o ctDNA e a albumina (BSA), estudos *in silico* por *docking* molecular foram executados de modo a verificar a que tipo de interações os compostos são submetidos, sejam do tipo não covalentes ou covalentes, visando o cálculo da energia global de interação dos ligantes do estudo com as supracitadas macromoléculas (DO AMARAL; PICCIRILLO, 2018). Estas interações controlam inúmeros fenômenos encontrados na organização de macromoléculas, tais como as interações entre as bases nitrogenadas que estabilizam a estrutura helicoidal do DNA, a intercalação de fármacos no DNA, o empacotamento de moléculas aromáticas em cristais, a estrutura terciária de proteínas, as preferências conformacionais e propriedades de ligações de compostos poliaromáticos, como as acridinas (HUNTER; SANDERS, 1990).

A análise das interações não covalentes e eletrostáticas entre compostos e a albumina é de fundamental importância, visto que esta proteína age como reservatório e carreador de compostos, tais como nutrientes e fármacos, no sangue. Assim, o estudo da ligação de compostos com a albumina é indispensável para traçar perfis farmacocinéticos destes ligantes, de modo a desenvolvermos predições acerca de suas propriedades de absorção, distribuição, metabolização e excreção (OTAGIRI et al., 2013).

A interação ligante-DNA é realizada com o objetivo de atestar sua capacidade de intercalação, mecanismo evidenciado para diversos tipos de agentes inibidores da topoisomerase, visando à atividade antineoplásica destes compostos (ALMEIDA et al., 2015). Pelo fato de a maioria destes compostos intercalantes se mostrar como compostos poliaromáticos planares (daunorrubicina, doxorubicina, dactinomicina), foi planejada a síntese de compostos aromáticos planares tendo em vista sua atividade frente ao DNA.

Destarte, a hipótese deste estudo é avaliar se a execução das estratégias de simplificação molecular e restrição conformacional de derivados tiossemicarbazônicos, contendo os núcleos planares acridínicos, para geração de novas tiossemicarbazonas contendo núcleos mais simples como indol, quinolina e pirrol, além da substituição bioisostérica de grupos elétron doadores e elétron retiradores, influenciam na interação destes derivados com o ctDNA e a BSA.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar e avaliar por meio de estudos *in silico* e *in vitro* a influência da restrição conformacional e simplificação molecular de derivados tiosemicarbazônicos acridínicos em macromoléculas biológicas (ctDNA e BSA).

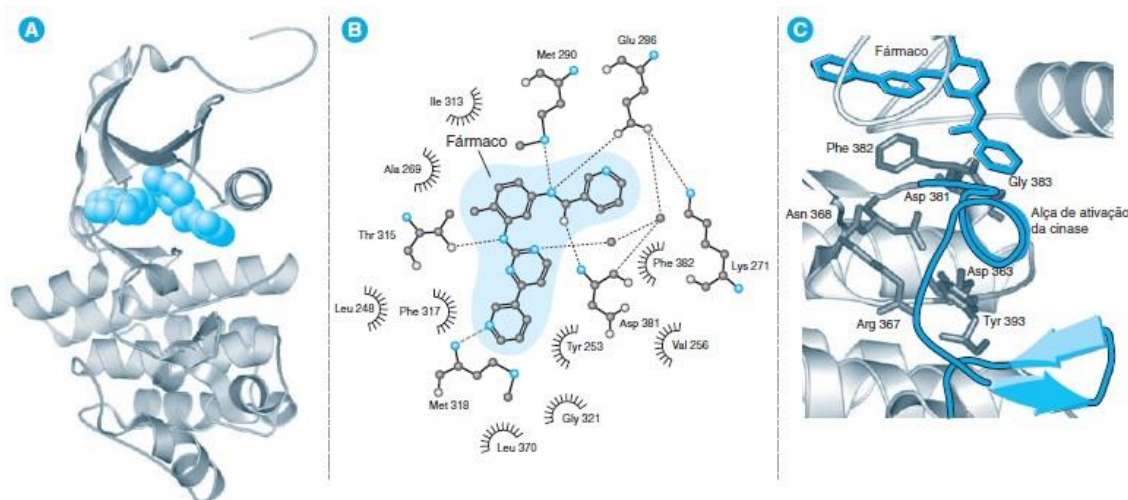
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Executar estudo de *docking* de modo a verificar a interação entre as moléculas dos derivados em estudo e o ctDNA, bem como a interação destes derivados com os sítios de ligação da proteína albumina (BSA), localizados nos seus subdomínios IIA e IIIA.
- Sintetizar derivados tiosemicarbazônicos a partir das tiosemicarbazidas e dos aldeídos contendo os núcleos acridina, indol (benzopirrol), pirrol e quinolina;
- Sintetizar derivados dihidrotiazóis (tiazolinas) a partir de tiosemicarbazonas acridínicas;
- Determinar as faixas de fusão e elucidar a estrutura dos compostos obtidos por análise de RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , COSY, HSQC, FTIR e MALDI-TOF;
- Realizar estudos de ligação com o ctDNA, por meio de estudos de espectroscopia de absorção eletrônica com o intuito de calcular a constante de ligação intrínseca (K_b) ligante-ctDNA;
- Realizar estudos de ligação com a proteína albumina do soro bovino (BSA), por meio de espectroscopia de emissão de fluorescência para analisar as propriedades de ligação dos derivados com a proteína albumina;
- Determinar as propriedades ADME dos compostos por meio das plataformas SwissADME e pkCSM;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

A proposição de novos fármacos se baseia na invenção de compostos químicos ativos inéditos, chamados de *hits*, que são submetidos a ensaios biológicos visando uma atividade específica (HUGHES et al., 2011). Os *hits* são originados de observações estruturais de fragmentos de pequenas moléculas ligadas a alvos terapêuticos (enzimas ou receptores), onde os fragmentos servem como pontos de partida para desenvolver formas quimicamente complexas por síntese orgânica (Figura 1), como no caso do imatinibe, utilizado para o tratamento de leucemia mieloide crônica e o receptor BCR-Abl (HANTSCHER et al., 2008).

Figura 1- Base estrutural da inibição enzimática específica: interação do imatinibe (fármaco) com o BCR-Abl (receptor).



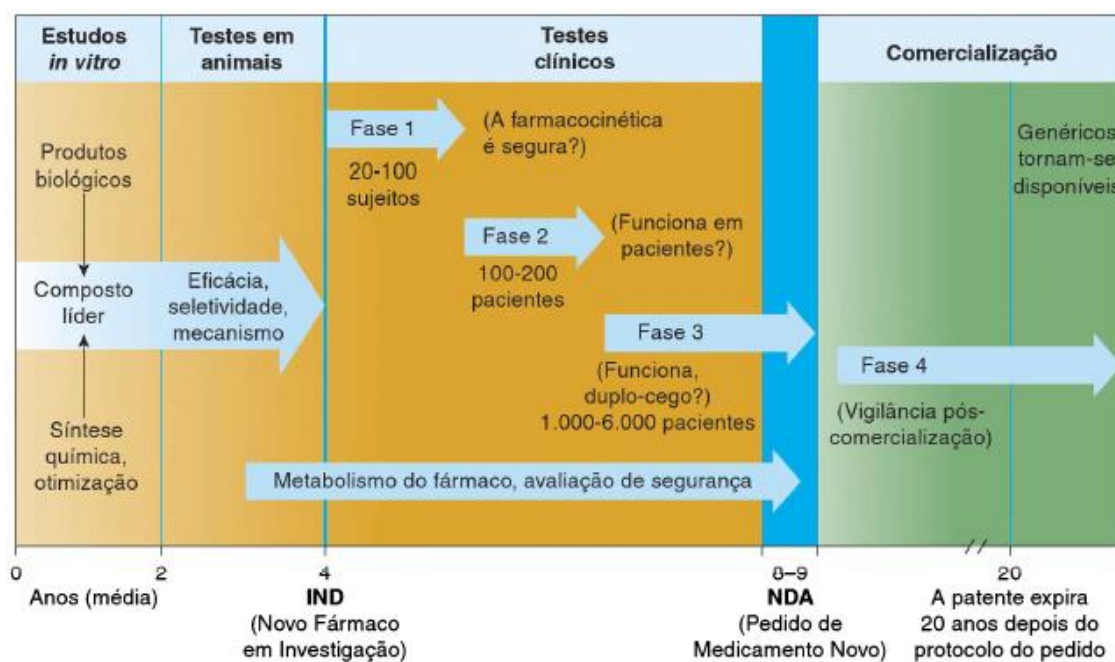
A. Uma fração da proteína quinase é exibida em formato de fita (cinza). O fármaco análogo do imatinibe é evidenciado na forma de modelo espacial (azul). **B.** Interações intermoleculares entre o fármaco (na cor azul) e os resíduos de aminoácidos da proteína BCR-Abl. As linhas tracejadas indicam as ligações de hidrogênio, enquanto as interações hidrofóbicas de van der Waals (demonstradas por arcos em volta da sigla de cada aminoácido e sua numeração de sequenciamento na proteína) são exibidas para nove aminoácidos com cadeias laterais hidrofóbicas, tais como a valina, glicina e leucina. **C.** Interação do fármaco (azul) com a proteína BCR-Abl (cinza) inibe a atividade quinase de fosforilação de uma alça de ativação (formato em fita de cor azul intensa), antagonizando a atividade catalítica da enzima na alça de ativação da quinase.

Fonte: GOLAN, D. E. et al., Principles of Pharmacology, 4th Ed., 2016.

Desta forma, os *hits* são originados a partir de testes de compostos químicos contra alvos biológicos, presentes em Banco de Dados de Proteínas (*Protein Data Bank* - PDB), onde os compostos podem derivar de novas bibliotecas químicas sintéticas, conhecidas por terem propriedades particulares (atividade inibitória da quinase ou semelhança com fármacos tradicionais, conhecida como *drug-likeness*), ou de bibliotecas criadas por meio da química

combinatória (LIMA, 2007; BOLZANI; BARREIRO, 2009; MIGNANI et al., 2018) (Figura 2).

Figura 2- Processo de desenvolvimento de novos fármacos (IND – Investigação de novo fármaco; NDA – solicitação para um novo fármaco).



Fonte: Katzung, B. G. *Basic & Clinical Pharmacology*, 14th Ed., 2018.

3.1 ESTRATÉGIAS E FERRAMENTAS PARA DESCOBERTA DE NOVOS FÁRMACOS

Nos últimos anos, vem havendo uma marcante mudança no processo de concepção de novos fármacos. Ferramentas inovadoras foram incorporadas ao rol de metodologias, dando gênese a um processo mais dinâmico no desenvolvimento de fármacos. Assim, o design de candidatos a fármacos seria conduzido pelo prévio reconhecimento do sítio de interação molecular da enzima ou alvo implicado na doença em estudo, por meio da estratégia SBDD (*structure-based drug design*).

Caso a estrutura do alvo não seja conhecida, lança-se mão da estratégia LBDD (*ligand-based drug design*), pela qual o planejamento teria como base um ligante eficiente (DO AMARAL; PICCIRILLO, 2018). Essa prática da Química Medicinal promoveu a exploração das diversas metodologias possíveis para o planejamento de compostos líderes, de forma inovadora por pesquisas em diferentes abordagens: análise computacional de análogos, triagem sistemática em alta escala (HTS – do inglês *high-throughput screening*),

levantamento de dados biológicos e farmacológicos e, ainda, o desenho almejando-se um alvo específico (WERMUTH, 2008).

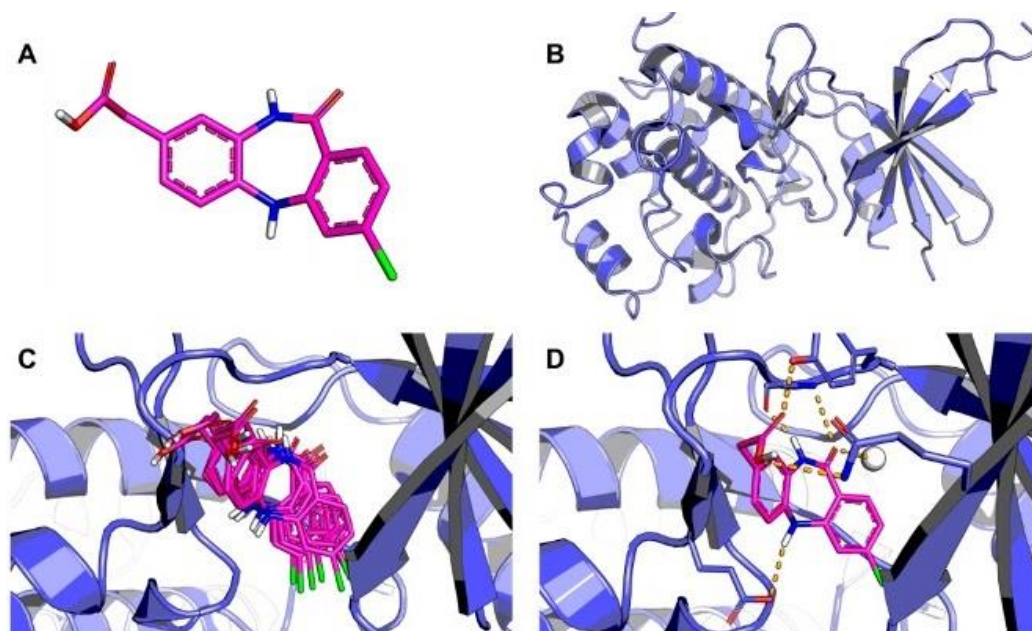
Por meio destas metodologias é possível obter um composto que apresente alta probabilidade de apresentar atividades terapêuticas, dentre uma série de análogos, e que possua uma estrutura sub-ótima que requeira modificação para se adequar melhor ao alvo almejado, oferecendo ainda, a possibilidade de servir de molde para a construção de novos análogos, tal como a amsacrina (m-AMSA) (LANG et al., 2013). Os compostos com tais características são denominados compostos líderes (*lead compounds*) (ANDERSON, 2003).

Para tanto, modificações químicas podem melhorar a potência, a geometria de reconhecimento e ligação (grupos farmacofóricos) dos compostos candidatos, como também a sua afinidade para os seus alvos, bem como melhorar as propriedades físico-químicas da molécula que são fundamentais à farmacocinética (ADMET: absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade) e farmacodinâmica desejadas. Além disso, perfis toxicológicos (estabilidade em relação à degradação metabólica, ausência/presença de toxicidades hepáticas, cardíacas, genotoxicidade, etc.) devem ser analisados, de tal forma que o composto químico seja adequado para introdução em estudos em humanos (SILVA, 2013).

Assim, um alvo adequado para o planejamento de medicamentos deve ser selecionado com base na plausibilidade biológica ou identificado por meio do rastreamento de potenciais compostos líderes contra alvos múltiplos (também conhecida como MTDD, do inglês *Multi-Target Drug Discovery*) (RAMSAY et al., 2018). As bibliotecas de fármacos são frequentemente testadas por HTS que podem rastrear compostos quanto sua capacidade para inibir (antagonista) ou estimular (agonista) um receptor de interesse, assim como determinar a sua seletividade (HUGHES et al., 2011). Em vista disso, almeja-se essencialmente um fármaco que seja sem precedentes dentre os já aprovados e regulados, passando este a se denominar como nova entidade química ou molecular (NME, do inglês *New Molecular Entity* ou *New Chemical Entity* - NCE) (LIN, 2017).

Neste contexto, os métodos atuais de design de fármacos baseados na estrutura do receptor alvo, são componentes proeminentes da Química Medicinal (SALUM et al., 2008). O ancoramento molecular (*molecular docking*), triagem virtual baseada em estrutura (SBVS – *Structure-Based Virtual Screening*) e dinâmica molecular (*molecular dynamics*) estão entre as estratégias SBDD mais utilizadas devido à sua ampla gama de aplicações na análise de eventos de reconhecimento molecular, tais como energia de ligação, interações moleculares e alterações conformacionais induzidas (KALYAANAMOORTHY; CHEN, 2011; FERREIRA et al., 2015; WIEDER et al., 2017) (Figura 3).

Figura 3- Estrutura tridimensional do alvo molecular empregada em estudos de modelagem molecular (SBDD).



A. Estrutura tridimensional do ligante. B. Estrutura tridimensional do receptor. C. O ligante é ancorado no sítio de ligação do receptor, onde várias conformações são avaliadas. D. As interações intermoleculares são identificadas e a conformação mais favorável é determinada.

Fonte: Ferreira et al. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies, *Molecules*, 20, 13384-13421, 2015.

Uma abordagem distinta do SBDD no desenho de fármacos compreende o uso de bibliotecas de pequenas moléculas. A diversidade química disponível nessas bibliotecas representa o espaço ocupado por ligantes, conhecidos por interagir com um alvo específico. Este tipo de informação é usado em métodos de desenho de fármacos baseados em ligantes (LBDD) (ACHARYA et al., 2011).

A pesquisa por similaridade molecular, a modelagem QSAR (Relação de Estrutura-Atividade Quantitativa) e a geração de farmacóforo são alguns dos métodos LBDD mais úteis (BACILIERI; MORO, 2006). As abordagens SBDD e LBDD foram aplicadas como valiosas ferramentas de descoberta de drogas, tanto na academia como na indústria (DRWAL; GRIFFITH, 2013) devido à sua versatilidade e caráter sinérgico. A integração dessas abordagens tem sido empregada com sucesso em várias investigações de dados estruturais químicos e biológicos (TROSSINI et al., 2013; VALASANI et al., 2014).

Nesse estudo, utilizado as estratégias de simplificação molecular e design baseado no ligante (LBDD), compostos contendo heterociclos planares aromáticos foram desenvolvidos, de modo a estabelecer uma relação entre a estrutura molecular desses ligantes e sua

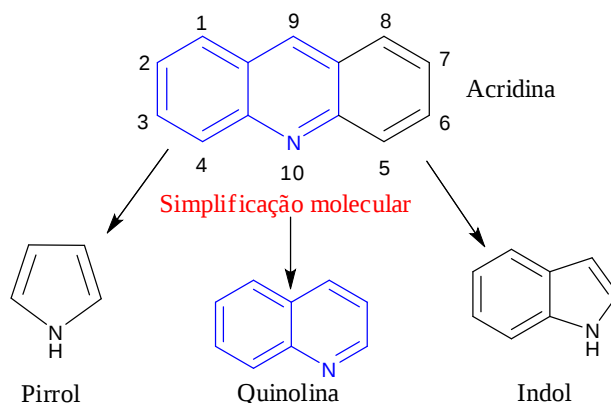
capacidade de interação com macromoléculas obtida do *Protein Data Bank* (PDB), ctDNA e albumina do soro bovino (BSA).

3.2 ACRIDINAS

3.2.1 Aplicação terapêutica das acridinas

A acridina é um composto orgânico heterociclo, contendo o heteroátomo nitrogênio. As acridinas são núcleos substituídos de uma molécula planar que é estruturalmente relacionada ao antraceno, com um dos grupos CH centrais substituído por um átomo de nitrogênio. Sua molécula é relacionada ao indol, pirrol e quinolina, pelo fato de apresentar caráter planar e aromático, permitindo que se lance mão da estratégia de simplificação molecular nesse estudo (FAVRE; POWELL, 2014) (Figura 4).

Figura 4- Estrutura dos heterociclos pirrol, indol, quinolina e acridina, enfatizando a estratégia de simplificação molecular.

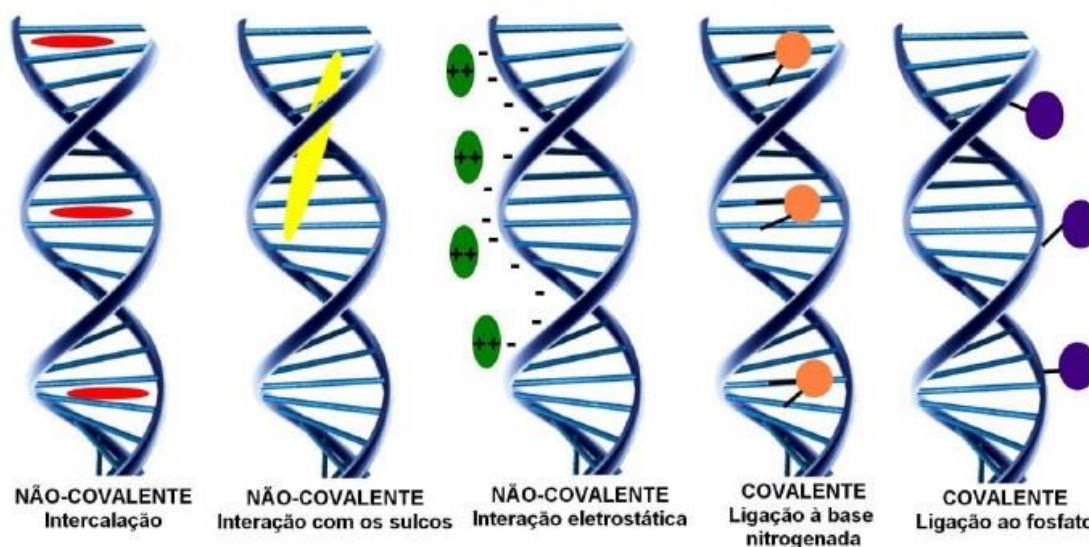


Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

Derivados de acridina formam uma importante classe de heterociclos devido à sua extensa gama de propriedades terapêuticas. Com aplicação relevante para a indústria farmacêutica, os derivados da acridina mostraram atividades, tais como, agente anti-inflamatório (CHEN et al., 2002; YARTSEVA et al., 2003), antiproliferativo (ARYA et al., 2015; SALEM et al., 2016; IBRAHIM; SAYED, 2018), antimicrobiano (KAYA et al., 2011), antituberculínico (TRIPATHI et al., 2006), antiparasitário (DI GIORGIO et al., 2005), antimalárico (KUMAR et al., 2009; TOMAR et al., 2010; YU et al., 2012), antivirais (GUPTA; JAISWAL, 2010; TONELLI et al., 2011) e fungicidas (SRIVASTAVA; NIZAMUDDIN, 2004). Estas propriedades das acridinas são atribuídas à sua estrutura heterocíclica planar, que interage apreciavelmente com diferentes alvos biomoleculares.

A atividade antitumoral dos derivados de acridina/acridona já é bem estabelecida na literatura. A estrutura do anel planar permite que estes derivados atuem como intercaladores de DNA (MINOTTI et al., 2004; LAFAYETTE et al., 2013) e inibir as enzimas topoisomerase ou telomerase (RAZA et al., 2012; GAO et al., 2012). Desta forma, estudos com derivados heterocíclicos planares são realizados de modo a verificar seus tipos de interações com a biomolécula, que podem ser por intercalção, interação com os sulcos ou eletrostática, de maneira a estabelecer o possível mecanismo de ação do ligante (Figura 5).

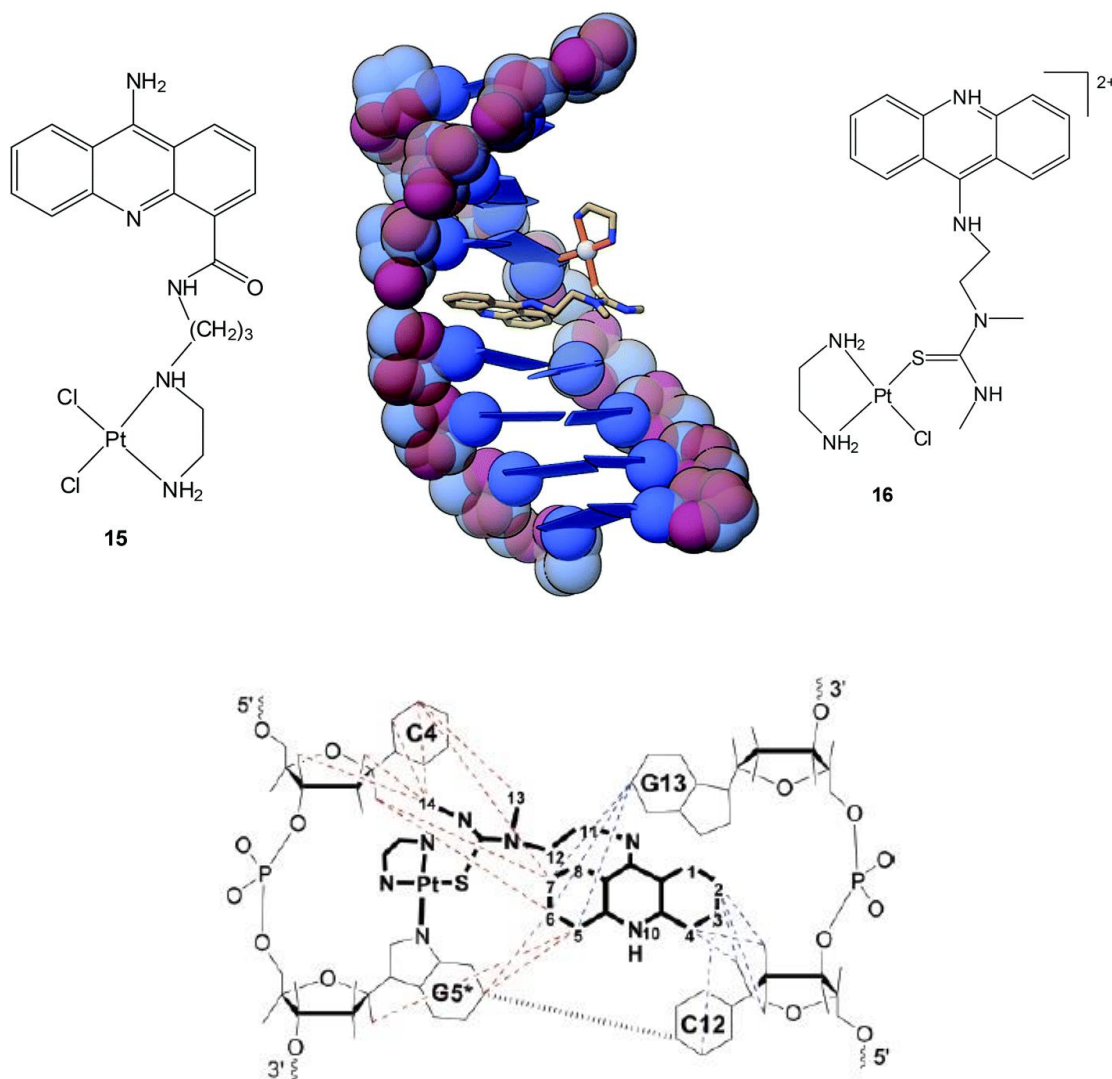
Figura 5- Representação esquemática dos modos de interação covalentes e não covalentes com o DNA: intercalação, intercalação ao sulco, interação eletrostática, ligação à base nitrogenada e ligação ao fosfato.



Fonte: Barra, C. V.; Netto, A. V. G. *Rev. Virtual Quim.* 7(6), 1998-2016, 2015.

A eficácia dos arranjos heterocíclicos, tricíclicos e planares para intercalar entre pares de bases na estrutura de cadeia dupla o DNA, como o complexo platina-acridina (BARUAH et al., 2005) (Figura 6) e a capacidade do nitrogênio aceptor/doador de elétrons são duas principais considerações para o uso de acridinas/acridonas como compostos anticâncer em potencial (SOUIBGUI et al., 2014). Adicionalmente, derivados de acridina/acridona impedem o funcionamento adequado de células tumorais, inclusive por causar disfunção considerável em enzimas que controlam a topologia da função do DNA: topoisomerase, telomerase e quinases dependentes de ciclina (ALMEIDA et al., 2015).

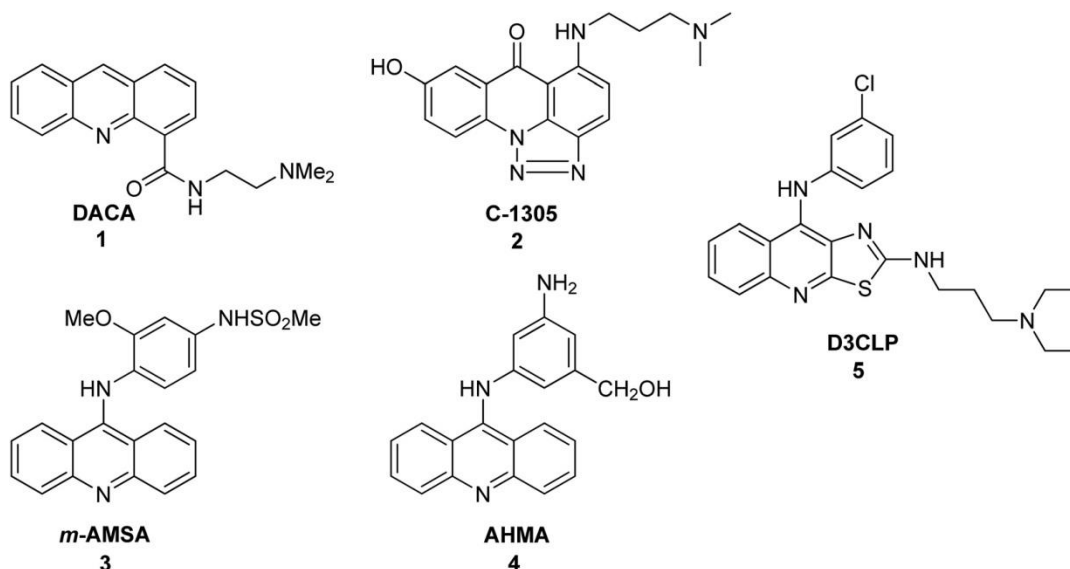
Figura 6- Intercalação de um complexo acridina/cisplatina com octâmero de DNA, 5'-CCTCGTCC-3'/3'-GGAGCAGG-5'.



Fonte: BARUAH, H.; WRIGHT, M. W.; BIERBACH, U., *Biochemistry*, 44, 6059–6070, 2005.

Uma variedade de outros derivados de acridina/acridona foi sintetizada, análogos como a *N*-(2-(dimetilamino)etil)acridina-4-carboxamida (DACA), triazoloacridona (C-1305) e amsacrina (m-AMSA) foram utilizados em estudos clínicos. Entre eles, a m-AMSA foi o primeiro fármaco sintético com eficácia clínica como inibidor da topoisomerase. Muitos derivados da m-AMSA, dentre eles o AHMA e o D3CLP (Figura 7), foram desenvolvidos e mostraram maior atividade antineoplásica e redução de efeitos adversos, tais como hemúria, úlceras na boca e língua, hemorragia e febre (GONZALEZ-SANCHEZ et al., 2011; LUAN et al., 2011; LANG et al., 2013).

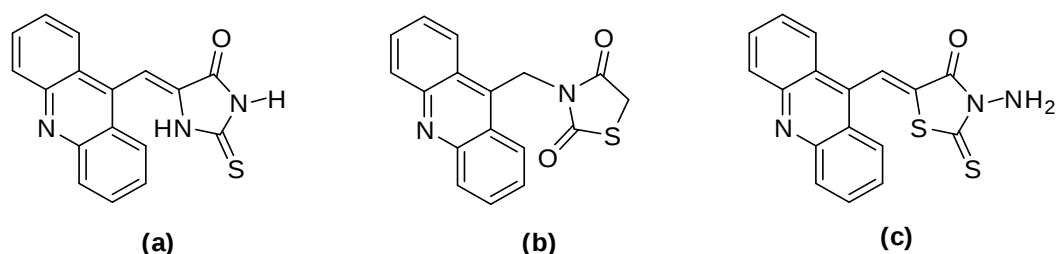
Figura 7- Derivados acridínicos com atividade terapêutica.



Fonte: Gensicka-Kowalewska, M.; Cholewinski, G.; Dzierzbicka, K. *RSC Adv.*, 7, 15776, 2017.

Em um trabalho realizado por Lafayette e colaboradores (2013) foram desenvolvidas tiazacridinas e imidazacridinas com atividade de inibição da topoisomerase I (Figura 8).

Figura 8- Tiazacridinas e Imidazacridinas com atividade de inibição da topoisomerase I.



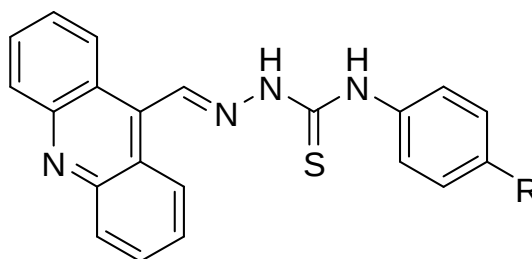
Fonte: LAFAYETTE, et al. Synthesis, DNA binding and topoisomerase I inhibition activity of thiazacridine and imidazacridine derivatives. *Molecules*. 18(12):15035-50, 2013.

Para estudar o efeito dos compostos acima sobre o relaxamento do DNA, o plasmídeo superenrolado pUC19 foi incubado com topoisomerase I humana na presença dos compostos em concentrações de 50, 100 e 200 μM . A tioxiimidazolidin-4-ona **(a)** e a tiazolidina-2,4-diona **(b)** mostraram uma atividade inibidora fraca da topoisomerase I a 100 e 200 μM , visto que o DNA superenrolado foi parcialmente relaxado pela enzima. O derivado 3-amino-2-tioxotiazolidin-4-ona **(c)** demonstrou atividade inibitória apenas a 200 μM . Este mesmo composto provocou 40,43% de hipocromicidade em ensaio de absorbância em UV-Vis, no qual o DNA de timo de bezerro (*calf thymus DNA* - ctDNA) foi utilizado como substrato para

os intercaladores acridínicos, corroborando a intercalação do derivado com o DNA (LAFAYETTE et al., 2013).

Em estudo mais recente, Almeida e colaboradores (2015) desenvolveram derivados tiossemicarbazônicos, com o núcleo acridina como composto líder, por meio de adição de porções tiossemicarbazidas 4-fenil substituídas ao aldeído acridínico pré-sintetizado pelo grupo de pesquisa (Figura 9). Estes derivados foram ensaiados para ligação destes derivados com o DNA (ctDNA), cujos espectros de absorção no UV-Vis mostraram até 92,58% de hipercromicidade para o derivado não substituído, corroborando a formação do complexo tiossemicarbazona-DNA. No mesmo estudo, alguns derivados mostraram ainda efeitos batocrômicos e hipsocrômicos, com $\Delta\lambda$ de 6 nm para o derivado não substituído, e um $\Delta\lambda$ de 12 nm para o derivado 4-naftilfenil.

Figura 9- Fórmula geral para as Acridina-Tiossemicarbazonas com atividade antitumoral e de ligação ao DNA.



Fonte: ALMEIDA, S. M. V. et al. Synthesis, DNA Binding, and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Thiosemicarbazone Derivatives *Int. J. Mol. Sci.* 16, 13023-13042, 2015.

Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

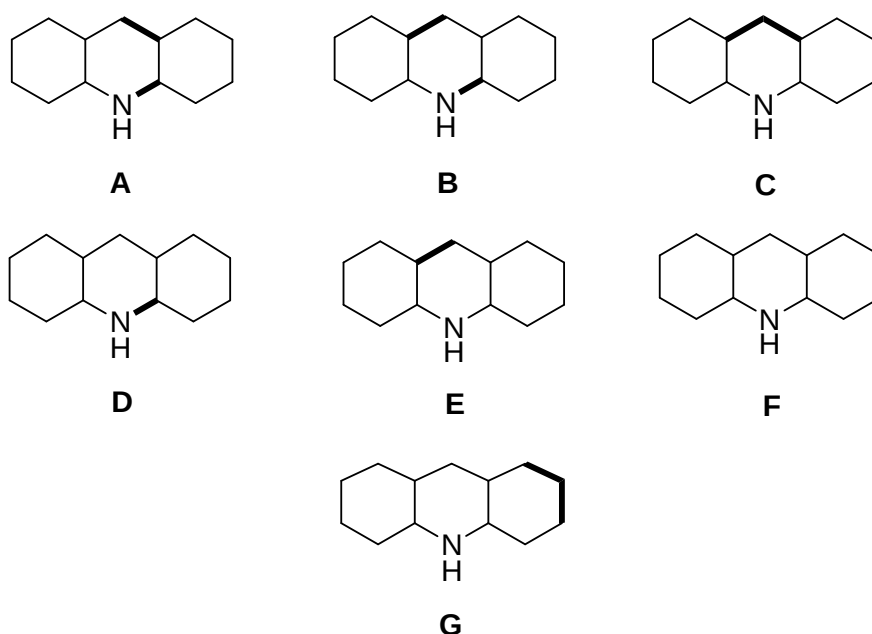
As mudanças na intensidade das absorbâncias foram utilizadas para calcular as constantes de ligação ao DNA (K_b), de acordo com McGhee e Von Hippel (McGHEE; VON HIPPEL, 1974), que apresentaram K_b de $1,74 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ até $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$, sendo este último valor para o derivado 4-clorofenil substituído, evidenciando a alta afinidade das acridina-tiossemicarbazonas pelos pares de bases nitrogenadas do DNA. Os derivados foram ainda analisados em relação a sua atividade antitumoral *in vitro* no mesmo estudo, para correlacionar a intensidade de ligação ao DNA (K_b) e sua influência na inibição do crescimento de nove diferentes linhas de celulares tumorais: glioma (U251), leucemia mieloide (K-562), adenocarcinoma mamário (MCF-7), ovário multi droga resistente (NCI-ADR/RES), rim (786-O), pulmão (NCI-H460), ovário (OVCAR-3), próstata (PC-3), colon

(HT-29) e queratinócito humano (HaCat). O derivado 4-clorofenil substituído supracitado foi letal, considerando 50% das células iniciais do estudo (LC_{50}), para as linhagens de células neoplásicas NCI-H460, MCF-7, U251, NCI-ADR/RES, HT-29 e PC-3 nas respectivas concentrações: 43,41 μ M; 60,26 μ M; 68,93 μ M; 70,2 μ M; 70,24 μ M e 72,95 μ M (ALMEIDA et al., 2015).

3.2.2 Síntese das acridinas

As sínteses mais amplamente aplicadas de acridinas envolvem fechamentos de anéis visto que reações de substituição muitas vezes resultam em misturas de regioisômeros (CHIRON; GALY, 2004). Diversos tipos de fechamento de anéis de precursores adequados para as acridinas podem ser diferenciados (Figura 10). Acridinas podem ainda ser sintetizadas por rearranjos, ou por oxidação e redução de acridanas ou acridonas, respectivamente. A acridina (Figura 4) foi descoberta em 1870, por Graebe e Caro em frações do alcatrão da hulha e tem sido sintetizada de várias formas até então.

Figura 10- Classificação de reações de fechamento de anel para preparação de acridinas.

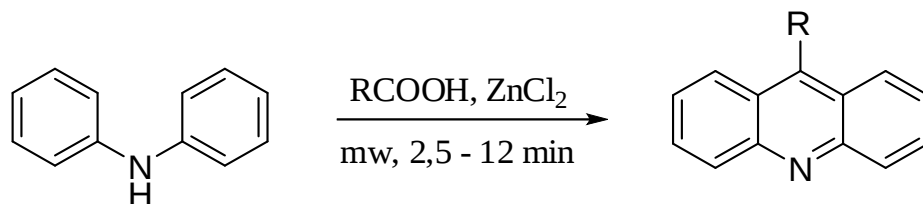


Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

A reação de Bernthsen é um exemplo de fechamento de anel tipo C (BERNTHSEN; BENDER, 1883; WYNN, 2011). A reação clássica de Bernthsen foi relatada pela primeira

vez em 1884 e descreveu o acoplamento de um ácido carboxílico aromático ou alifático e a difenilamina, na presença de excesso de cloreto de zinco em temperatura entre 200 e 270 °C, por um período de 20 h (BERNTHSEN, 1884). Em um método mais recente (Esquema 1), esta reação se processa entre 2,5 a 12 minutos, utilizando micro-ondas (KOSHIMA; KUTSUNAI, 2002; SEIJAS et al., 2002; VEVERKOVÁ; NOSKOVÁ; TOMA, 2002).

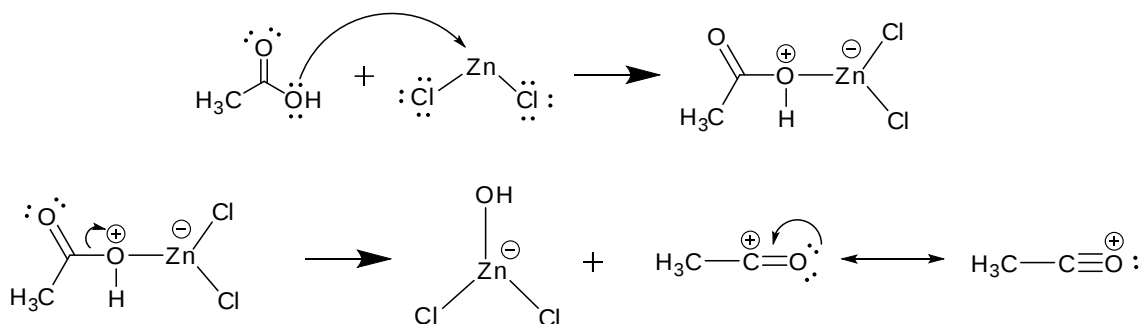
Esquema 1- Síntese de acridinas com fechamento de anel central por utilização de micro-ondas.



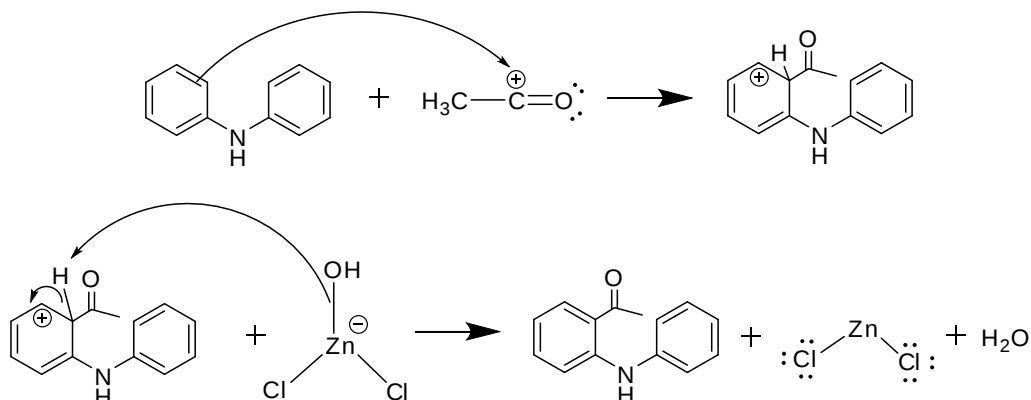
Em trabalho de Tsuge e colaboradores (1963) foi relatada a síntese da 9-metil-acridina a partir do ácido acético, cloreto de zinco e difenilamina. Esta síntese se processa em detalhes, de acordo com as seguintes etapas (Esquema 2):

Esquema 2- Síntese da 9-metilacridina por meio da reação de Bernthsen-Bender.

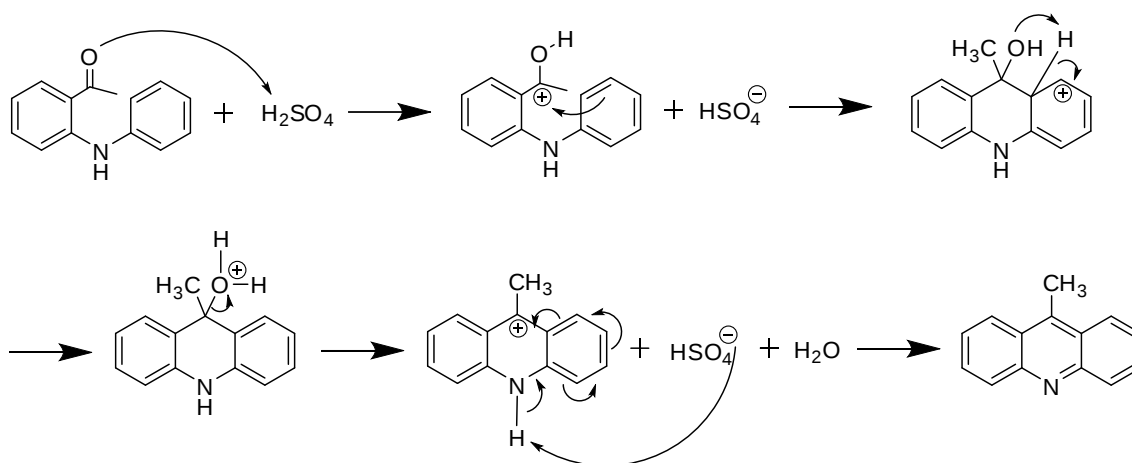
I) Formação do íon acílio



II) Acilação da Difenilamina



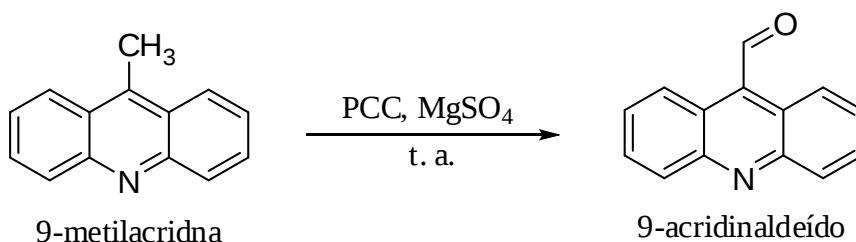
III) Ciclização



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

Em trabalhos recentes, Lafayette e colaboradores (2013) e Almeida e colaboradores (2015) procederam a oxidação do grupamento 9-metila para a obtenção da função aldeído, que foi posteriormente utilizada para a síntese de outros derivados funcionais. Foi empregado o agente oxidante clorocromato de piridínio (PCC), em sulfato de magnésio e diclorometano, sob agitação, a temperatura ambiente, para obtenção do derivado 9-acridinaldeído (Esquema 3), método desenvolvido em 1995 por Mosher e Natale (MOSHER; NATALE, 1995).

Esquema 3- Síntese do 9-acridinaldeído por oxidação com PCC.

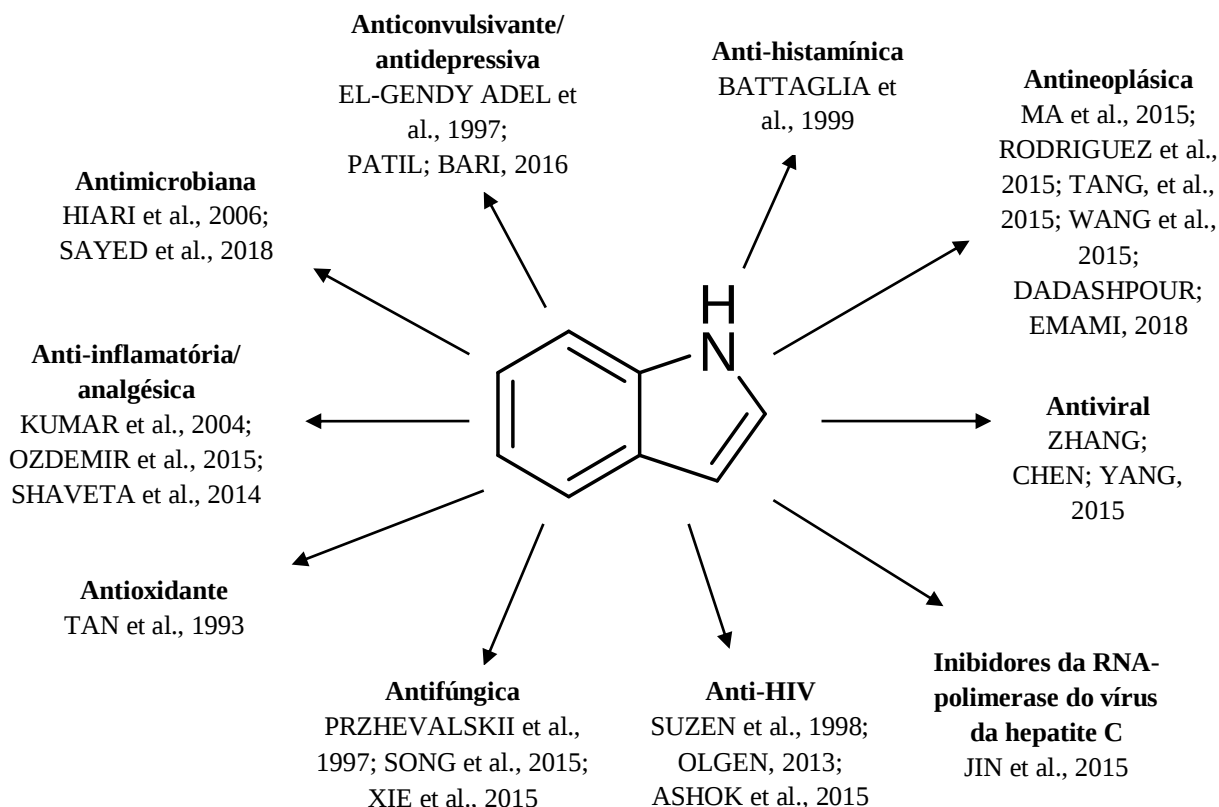


Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

3.3 INDÓIS

O indol é um composto orgânico heterocíclico aromático com a fórmula C_8H_7N . Possui uma estrutura bicíclica, consistindo de um anel de benzeno de seis membros fundido a um anel de pirrol de cinco membros (Figura 11). A síntese de derivados indólicos vem atraindo o interesse devido a uma infinidade de aplicações terapêuticas e diversas modalidades de síntese relacionadas (ZIARANI et al., 2018).

Figura 11- Estrutura do heterociclo aromático indol e atividades terapêuticas relacionadas.



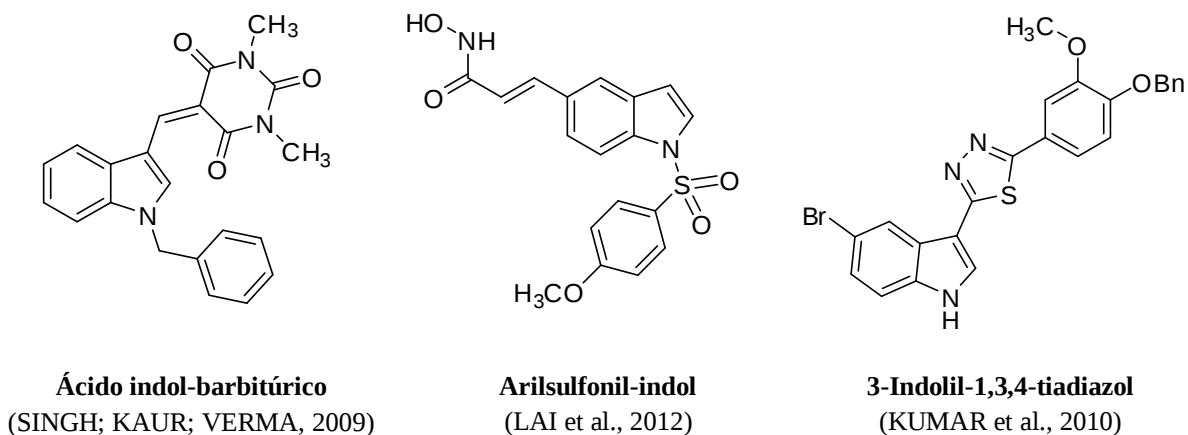
O indol e seus análogos exibiram amplo espectro de atividade antitumoral. Singh e colaboradores (2009) sintetizaram híbridos do ácido indol-barbitúrico e examinaram suas atividades anticancerígenas em mais de 60 linhagens celulares de câncer humano. O estudo revelou que os compostos exibiram atividade antitumoral contra linhagens celulares de câncer de glioma, pulmão (NSCLC), ovário, cólon, renal e mama (SINGH; KAUR; VERMA, 2009) (Figura 12).

Uma série de arilsulfonil-indóis foi preparada por Lai e colaboradores (2012) que as testaram como inibidores da histona desacetilase (HDAC). O composto protótipo exibiu elevada atividade antiproliferativa com valores de GI_{50} variando de 0,41 a 1,18 μ M, contra células neoplásicas humanas Hep3B, MDA-MB-231, PC-3 e A549. Também promovem relevante atividade de inibição de isoenzimas com valores IC_{50} de 12,3 nM para HDAC-1, 4,0 nM para HDAC-2 e 1,0 nM para HDAC-6, valores semelhantes ao apresentado pelo vorinostat, o fármaco de referência no estudo (LAI et al., 2012) (Figura 12).

Os híbridos de indolil-tiadiazol foram preparados por Kumar e colaboradores (2010) e avaliados quanto a citotoxicidade contra seis linhagens de células tumorais humanas. O 3-

indolil-1,3,4-tiadiazol mostrou excelente atividade no retardamento e controle das células do câncer pancreático (IC_{50} 1,5 μ M, PaCa2) (KUMAR et al., 2010) (Figura 12).

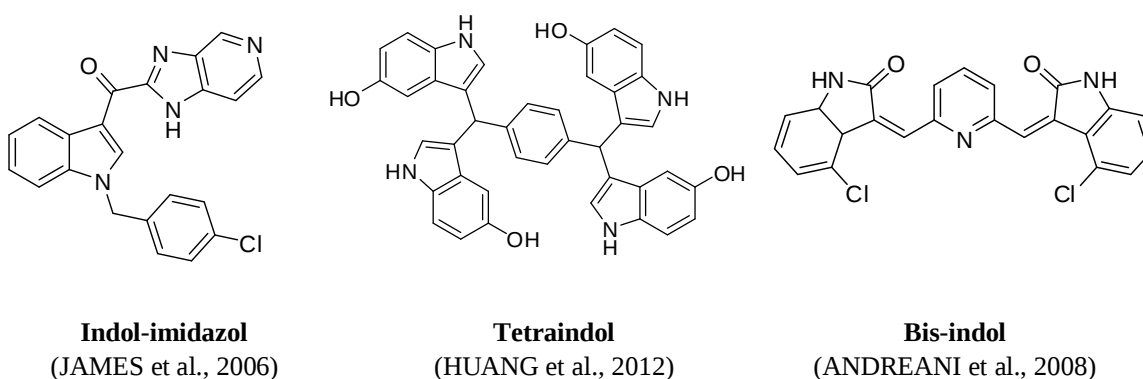
Figura 12- Derivados indólicos com atividade antiproliferativa.



Os híbridos indol-imidazol foram submetidos à análise de SAR para atividades antiproliferativas *in vitro* contra linhas celulares neoplásicas. Foi evidenciado que o indol-imidazol foi eficiente contra todas as linhas de células como MES-SA/DX5 (IC_{50} = 0,02 μ M, MDR uterino) e HL60/TX1000 (IC_{50} = 0,05 μ M, leucemia) (JAMES et al., 2006) (Figura 13).

Huang e colaboradores relataram um derivado tetraindol mostrando efeito anticancerígeno em linhas celulares e enxerto tumoral em camundongos. Este composto aumenta a produção mitocondrial de espécies reativas de oxigênio (ROS - *Reactive oxygen species*) que causam danos ao DNA de células neoplásicas (IC_{50} = 3,40 μ M para A549 - pulmão e IC_{50} = 0,38 μ M para CE48T carcinoma esofágico) (HUANG et al., 2012) (Figura 13).

Figura 13- Derivados indólicos com atividade antiproliferativa.



O bis-indol com piridina ou piperazina como ligante foi sintetizado e avaliado quanto a sua atividade antitumoral. O composto com piridina como ligante exibiu atividade contra diferentes linhagens de câncer de mama (MCF-7, MDA-MB-231 e Hs578T), com IC₅₀ variando de 0,23 a 0,4 µM (ANDREANI et al., 2008) (Figura 13).

3.4 QUINOLINAS

A Quinolina (1-azanaftaleno) é um composto aromático heterocíclico nitrogenado de fórmula C₉H₇N, caracterizado por uma estrutura de anel duplo, que contém um anel de benzeno fundido a piridina em dois átomos de carbono adjacentes. (MANSKE, 1942; ZOGRAFOS, 1999). É uma base terciária fraca que pode formar sal com ácidos e exibe reações semelhantes às da piridina e benzeno. Participa em reações de substituição tanto eletrofílica como nucleofílica, e exibe baixa toxicidade nos humanos, seja por absorção oral ou por inalação.

A quinolina foi extraída do alcatrão de carvão em 1934 por Friedel Ferdinand Runge. Esta substância continua a ser a principal fonte de quinolina comercial. As quinolinas são sintetizadas a partir de anilinas simples utilizando alguns tipos de reações, tais como: síntese de Combes, síntese de Conrad-Limpach, síntese Vilsmeier-Haack, reação de Doebner-von Miller, reação de Gould-Jacobs e síntese de Skraup (ELDERFIELD, 1960; VENKATESWARLU et al., 2012).

Os derivados da quinolina apresentam uma gama de bioatividades (Figura 14) e tem atraído atenção significativa de pesquisadores nos últimos duzentos anos (PRAJAPATI et al., 2014).

Ao longo dos anos, a quinina, cloroquina e mefloquina, fármacos que contem o núcleo quinolina, foram usados para o tratamento eficaz da malária (KATEGAONKAR et al., 2010). As quinolina-3-carboxamidas têm sido usadas em ensaios clínicos para tratamento de câncer e condições autoimunes (DERONIC et al., 2014). A quinolina-3-carboxamida denominada tasquinimod mostrou-se eficaz durante os estágios iniciais do desenvolvimento do tumor (DERONIC et al., 2016), enquanto o paquinimod foi usado recentemente em ensaios clínicos para o tratamento de esclerose sistêmica (STENSTRÖM et al., 2016) (Figura 15).

Figura 14- Estrutura do heterociclo aromático quinolina e atividades terapêuticas relacionadas.

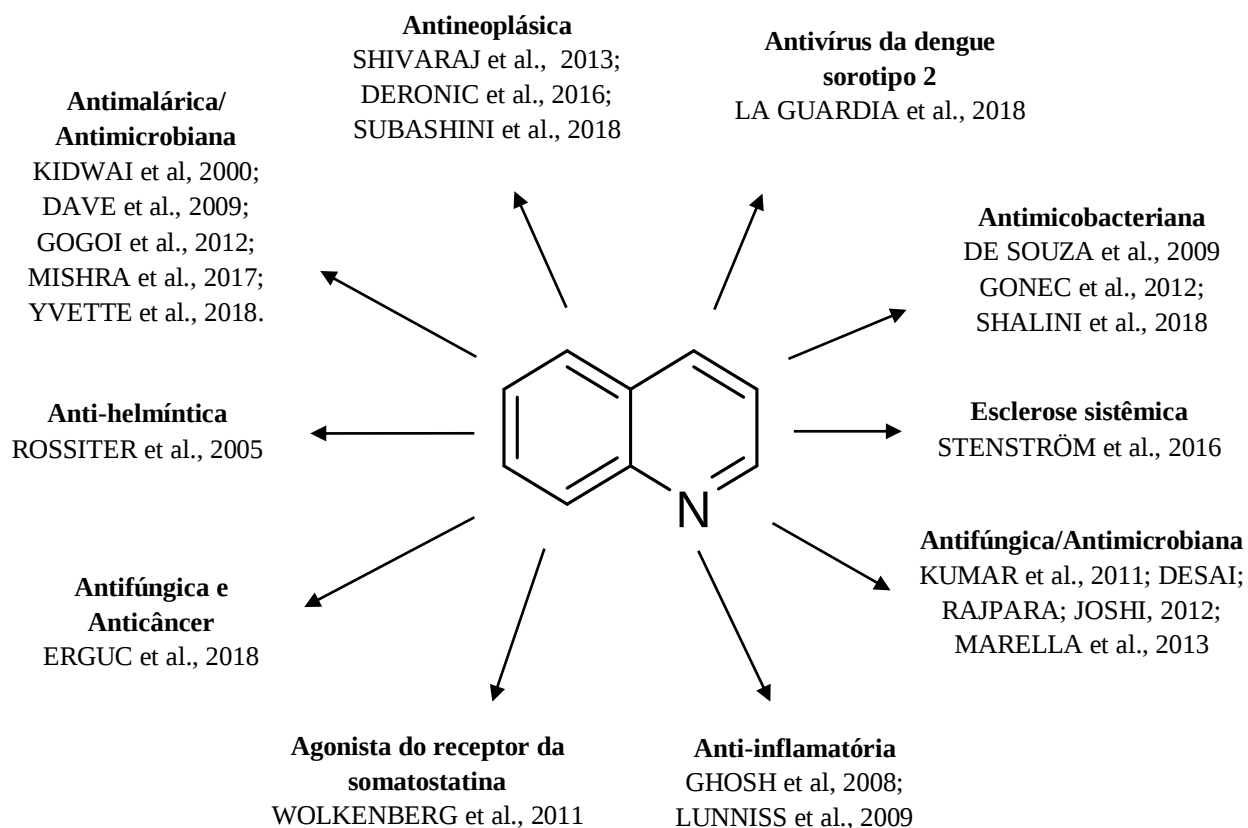
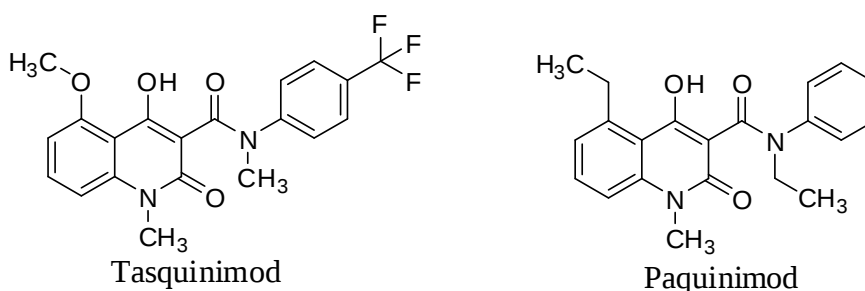


Figura 15- Estruturas das quinolinas-3-carboxamidas tasquinimod e paquinimod.



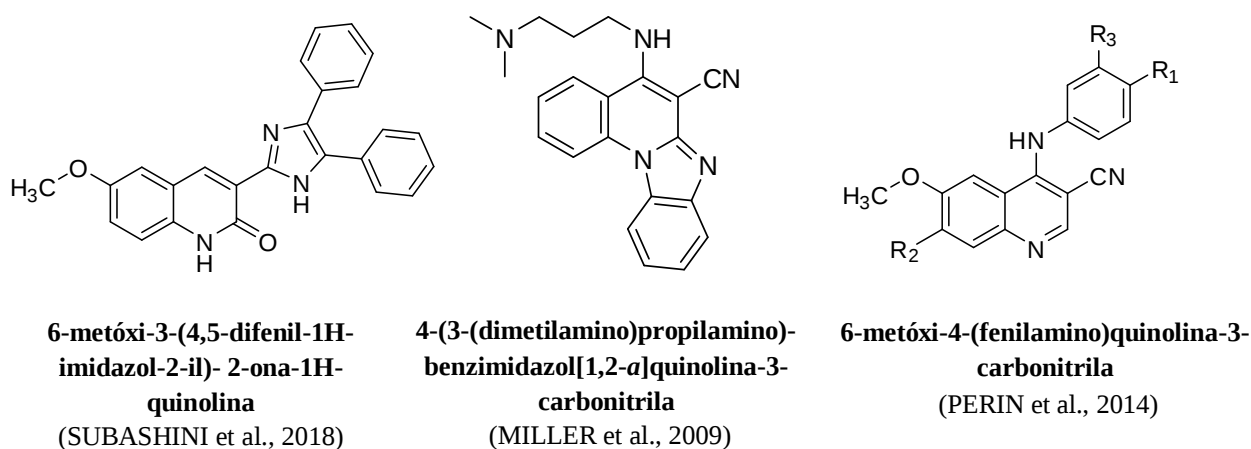
Algumas das amido-anilinoquinolinas desenvolvidas por Scott et al. (2009) atuam como agentes antitumorais pela inibição da quinase CSF-1R (SCOTT et al., 2009). Séries de 4-hidroxiquinolinas sintetizadas por Mai et al. (2009) são relatadas como inibidores da histona acetiltransferase (HAT) (MAI et al., 2009).

Subashini et al. (2018) sintetizaram seis novos derivados imidazoquinolínicos. Tais derivados promoveram inibição da Heme Oxigenase-1 (HO-1), enzima expressa por células de adenocarcinoma pulmonar (A549) e câncer de mama (MCF-7) que as protege de compostos antitumorais. Entre eles, a 3-(4,5-difenil-1H-imidazol-2-il)-1H-quinolina-2-ona foi evidenciada como o melhor inibidor da HO-1 no estudo, apresentando inibição máxima de 87,06% na concentração mínima de 9,2 μ M. A quinolina-2-ona apresentou inibição competitiva como muitos outros fármacos farmacologicamente importantes (SUBASHINI et al., 2018) (Figura 16).

Miller et al. (2009) desenvolveram 3-cianoquinolinas como inibidores de receptores do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1R) para o tratamento do câncer. O IGF-1R é um receptor do fator de crescimento ligado à tirosina quinase que age como mediador crítico da proliferação e sobrevivência celular (MILLER et al., 2009) (Figura 16).

Perin e colaboradores (2014) relataram derivados 5-amino-benzimidazo[1,2-a]quinolina-6-carbonitrila como potenciais agentes intercaladores de DNA. A maioria dos compostos foi ativa em concentrações micromolares *in vitro* contra linhagens celulares de carcinoma do cólon, pulmão e mama. O derivado *N,N*-dimetilaminopropil mostrou a atividade mais pronunciada em relação às três linhagens celulares tumorais testadas. Os estudos de ligação ao DNA, consistindo de absorvância no UV/Vis, de fluorescência e dicroísmo circular, revelaram que o composto se liga ao DNA como um intercalador (PERIN et al., 2014) (Figura 16).

Figura 16- Derivados quinolínicos com atividade antiproliferativa.

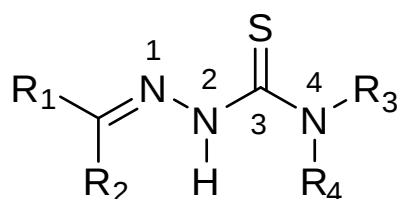


3.5 TIOSSEMICARBAZONAS

3.5.1 Aplicação terapêutica das tiossemicarbazonas

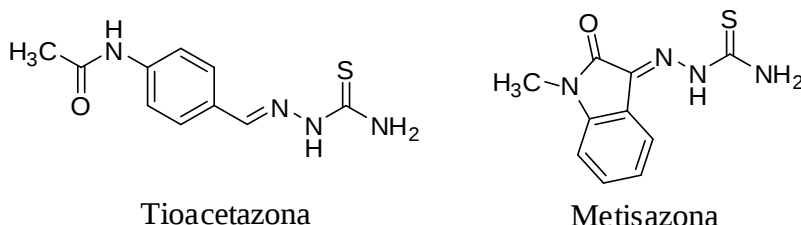
Durante as últimas décadas, as tiossemicarbazonas (Figura 17) foram desenvolvidas clinicamente para uma variedade de doenças, incluindo tuberculose, infecções virais, malária e câncer. O primeiro fármaco clinicamente aprovado desta classe de compostos (introduzido no final da década de 1940) foi o 4-acetamidobenzaldeído tiossemicarbazona (tioacetazona), que ainda é utilizado para o tratamento da tuberculose multirresistente, porém vem sendo substituída por fármacos mais eficientes como a isoniazida e a rifampicina (DONALD; McILLERON, 2009; PAVAN et al., 2010).

Figura 17- Estrutura das tiossemicarbazonas.



A segunda tiossemicarbazona clinicamente investigada (comercializada na década de 1960) foi a *N*-metilisatina tiossemicarbazona (metisazona), um agente desenvolvido contra a varíola, que, no entanto, devido ao desenvolvimento da vacina contra a varíola, não é mais administrado (MOORTHY et al., 2013) (Figura 18).

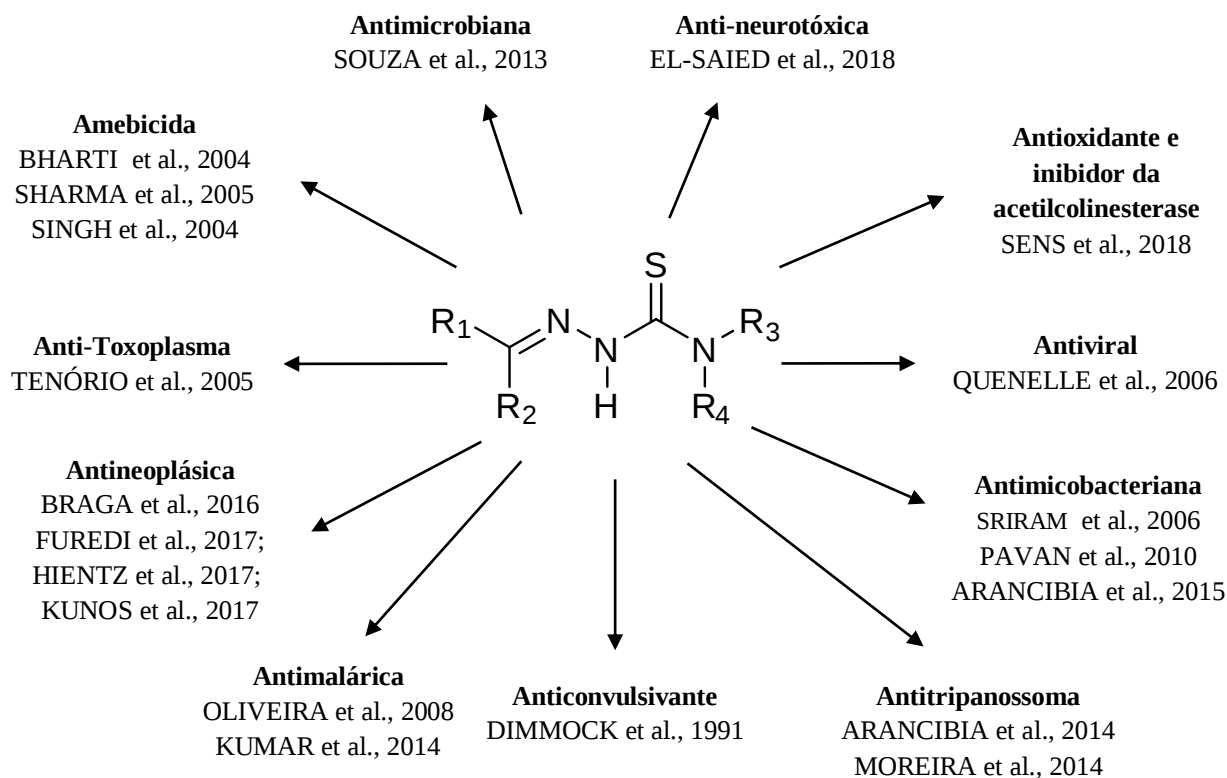
Figura 18- Estruturas dos fármacos Tioacetazona e Metisazona.



Os derivados de tiossemicarbazona são compostos de relevância sintética devido à suas atividades biológicas e farmacológicas relacionadas (Figura 19). Estes derivados são testados tanto como produtos finais, bem como intermediários para a síntese de compostos

bioativos e desta forma, são amplamente utilizados no campo da química medicinal (KUNOS et al., 2017).

Figura 19- Estrutura da tiossemicarbazona e atividades terapêuticas relacionadas.



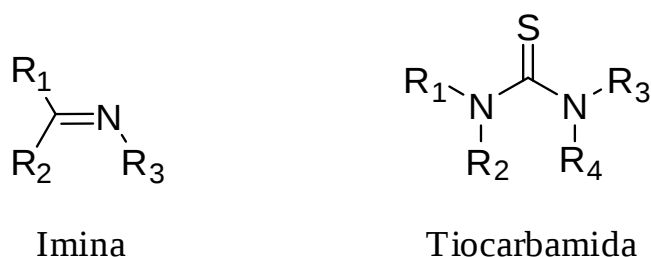
Tiossemicarbazonas são importantes compostos tionitrogenados que tem o potencial de exibir a funcionalidade química em moléculas biologicamente ativas. A otimização dessa estrutura pode resultar na descoberta inovadora de uma nova classe de agentes anticancerígenos. Estudos de relação estrutura-atividade (SAR – *Structural-Activity Relationship*) mostraram que um grande número de tiossemicarbazonas de compostos *N*-heterocíclicos tem baixa densidade de elétrons π na parte da cadeia lateral e os átomos de nitrogênio e enxofre são razoáveis doadores de pares de elétrons para reações de ciclização, gerando anéis tiazólicos (MYLONAS; MAMALIS, 2005).

As tiossemicarbazonas, na sua forma neutra ou desprotonada, comportam-se como um quelato de N, N, S - tiodentado em relação aos íons metálicos essenciais. Elas apresentam atividade antiproliferativa em diferentes linhagens celulares de tumores, o que tem sido mostrado como uma característica comum a todos os compostos com potência carcinogênica (HAMEED et al., 2017).

3.5.2 Tiossemicarbazonas como função orgânica

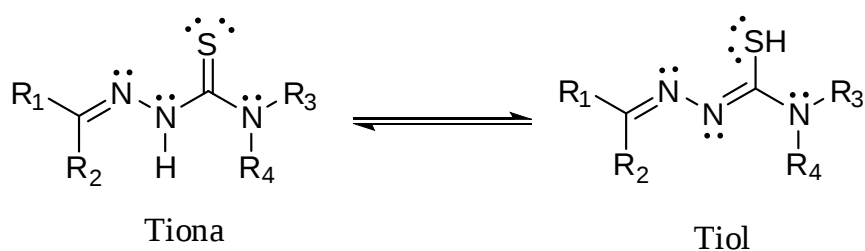
Tiossemicarbazonas são compostos orgânicos que possuem duas porções fundamentais: uma imina, $R_2C=NR'$ ($R' \neq H$), conhecidas como bases de Schiff (em homenagem ao seu delineador Hugo Schiff, que as desenvolveu em 1864), e uma tiocarbamida, $[C(=S)(N)-(N)]$ (SCHIFF, 1864) (Figura 20).

Figura 20- Função imina (base de Schiff) e a função tiocarbamida componentes das tiossemicarbazonas.



Como possuem em sua estrutura pelo menos quatro heteroátomos com pares de elétrons não ligantes ($R-C=N-NH-CS-NH_2$), estes compostos são bons doadores de elétrons, podendo funcionar como bases de Lewis, tanto na porção imina como na porção tiocarbamida. Ao se ligarem a heterociclos aromáticos, como indol, piridina, quinolina ou pirrol, a deslocalização eletrônica é favorecida promovendo formas tautoméricas em equilíbrio dinâmico (Esquema 4) (STOYANOV et al., 1990; DELAERE; RASPOET; NGUYEN, 1999; MOREIRA et al., 2014).

Esquema 4- Formas tiol e tiona das tiossemicarbazonas em equilíbrio tautomérico.

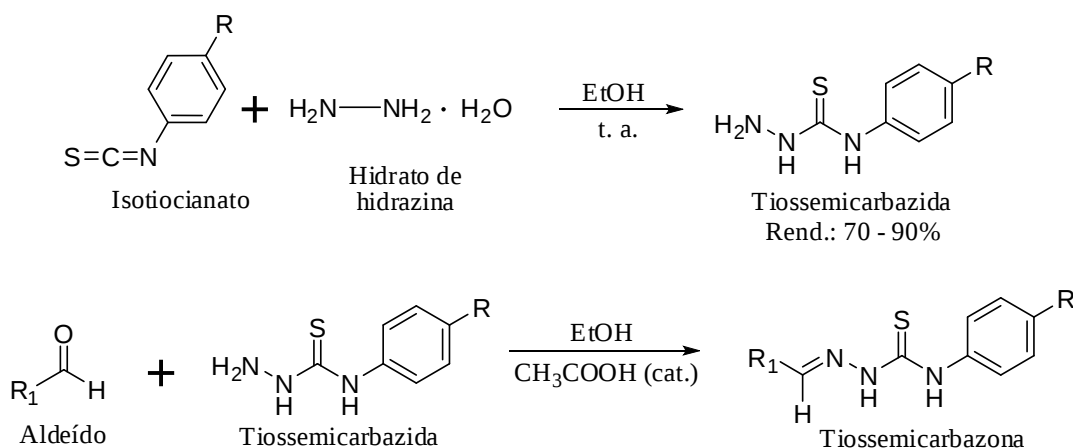


Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

3.5.3 Síntese das tiossemicarbazonas

Existem diversos métodos relatados na literatura que descrevem a obtenção de tiossemicarbazonas. Dentre eles, relata-se o método indireto da reação com isotiocianatos (DUFFY et al., 2002), no qual antes é formada a tiossemicarbazida, para então, por meio de outra reação com um aldeído, são obtidas as tiossemicarbazonas (Esquema 5).

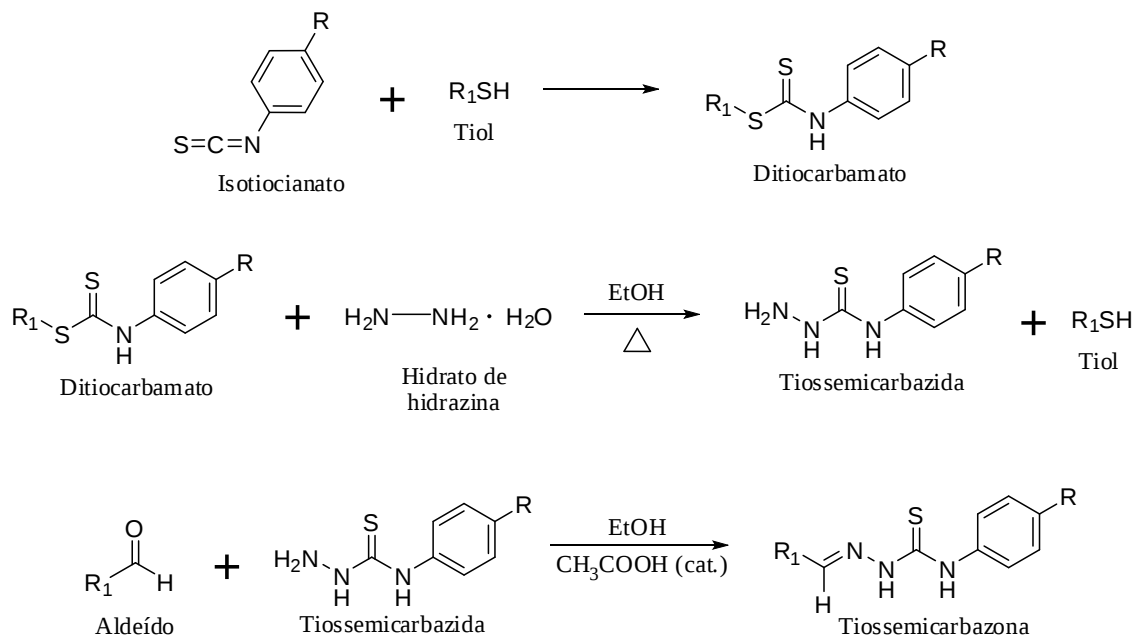
Esquema 5- Obtenção de tiossemicarbazonas por método indireto com isotiocianatos.



Ashton et al. (1993) obtiveram tiossemicarbazonas por meio do método dos ditiocarbamatos, no qual inicialmente o ditiocarbamato (DTC) é obtido pela reação de um isotiocianato com um tiol (BOGEMANN et al., 1955); em seguida a reação do DTC com a hidrazina produz a tiossemicarbazida, liberando metanotiol (CH_3SH) (ASHTON et al., 1993); por fim esta sofre o mesmo procedimento que a reação descrita anteriormente, com reação da tiossemicarbazida com o um eletrófilo, neste caso o aldeído (Esquema 6).

Ainda existem os métodos do ácido tiocarbamoilglicólico (BHARTI et al., 2002; O'SULLIVAN; SADLER; WEBLEY, 1963), no qual o ácido tioglicólico é liberado no meio após a formação tiossemicarbazida, e o método do dissulfeto de carbono (CS_2), cuja obtenção de tiossemicarbazidas se procede por meio do emprego do 2-amino-4-(*p*-cloro-fenil)-tiazol, ou ainda com azidas e trifetilfosfina [$P(Ph)_3$] (PANDEYA et al., 1999; TSUGE et al., 1963). Ambos os são métodos classificados como indiretos para obtenção das tiossemicarbazonas.

Esquema 6- Método indireto de obtenção de tiossemicarbazonas por meio da utilização do ditiocarbamato (DTC).



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

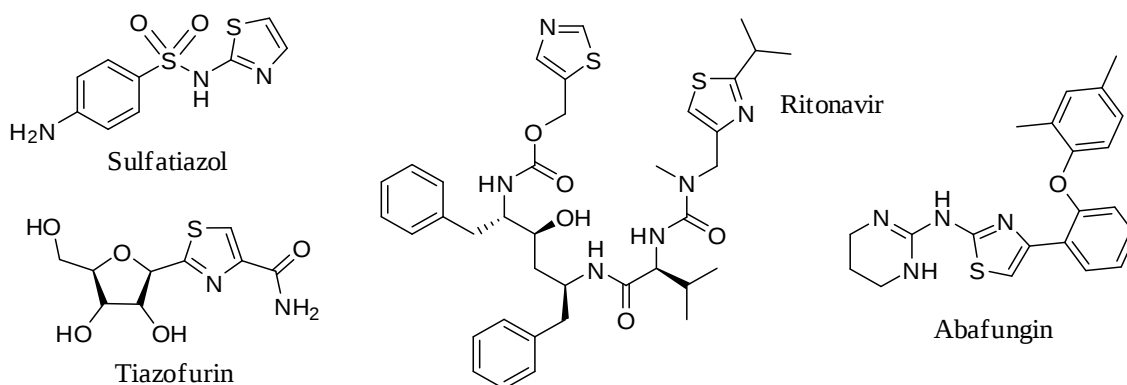
A função imina (-N=CH-), bem como a porção tiocarbamida [-C(=S)(N)(N)-] nestes compostos, são úteis na síntese orgânica, em particular para a preparação de heterociclos. Quando na presença de α -halogenocetonas, as tiossemicarbazonas dão origem ao heterociclo tiazol ou tiazolina, visto que a tioamida da tiossemicarbazona é um bom nucleofílico frente ao eletrófilo α -bromobenzofenona ou 3-bromopiruvato de etila (SARODNICK et al., 2003).

3.6 TIAZÓIS

3.6.1 Aplicação terapêutica dos tiazóis

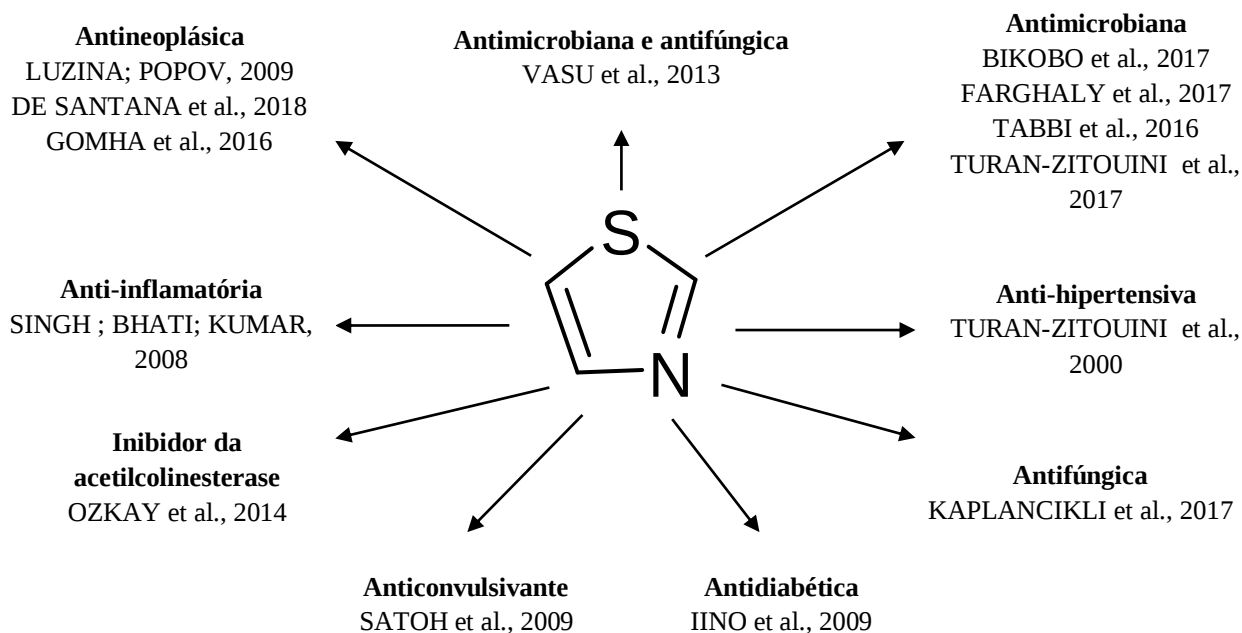
O tiazol é uma das classes mais amplamente estudadas de heterocíclicos aromáticos de cinco membros. Foi primeiramente delineado por Hantzsch e Weber em 1887 (HANTZSCH; WEBER, 1887) e vem sendo considerada uma importante classe de compostos heterocíclicos, encontrados em muitos fármacos biologicamente ativos como: sulfatiazol (antimicrobiano), ritonavir (antirretroviral), abafungin (antifúngico) e tiazofurin (antineoplásico) (Figura 21).

Figura 21- Fármacos que contém o heterociclo tiazol.



Compostos contendo o tiazol ou radical tiazolil quando presente em compostos, geralmente promovem inúmeras atividades biológicas (AYATI et al., 2015; YURTTAS et al., 2015; CHHABRIA et al., 2016) (Figura 22).

Figura 22- Estrutura do tiazol e atividades terapêuticas relacionadas.

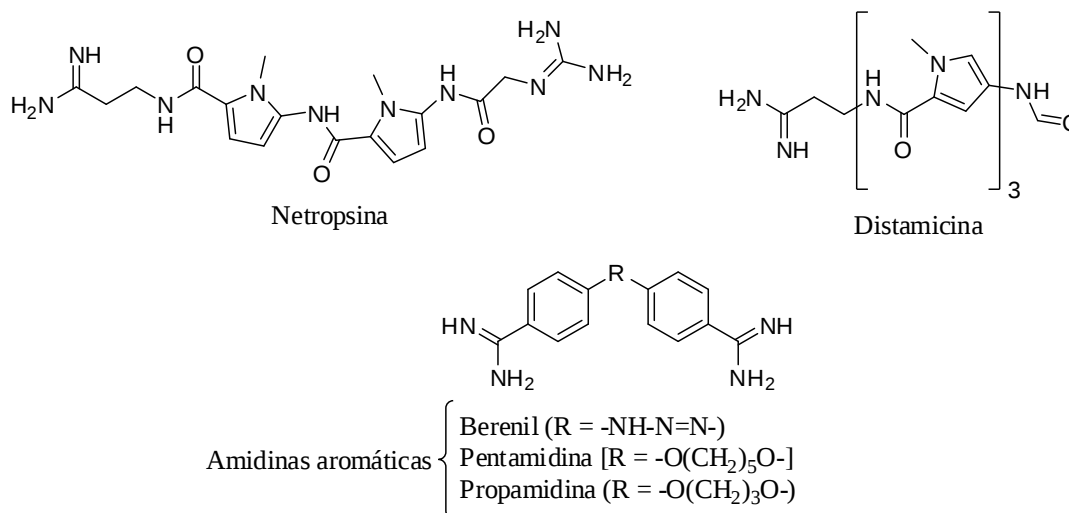


3.6.2 Tiazóis em moléculas ligantes de DNA

Uma nova abordagem explorada nas últimas décadas se baseia no conceito de sintetizar compostos biconjugados com funcionalidades mistas de ligação ao DNA. Os antibióticos e antivirais netropsina e distamicina, que se ligam não covalentemente ao sulco menor do DNA, têm servido como compostos líderes para extensas modificações químicas, que se destinam a modular a sua seletividade de sequência das bases nitrogenadas, conferindo

assim maior atividade farmacológica. Além destas, as amidinas aromáticas também fazem parte do arsenal químico de ligantes do DNA (Figura 23).

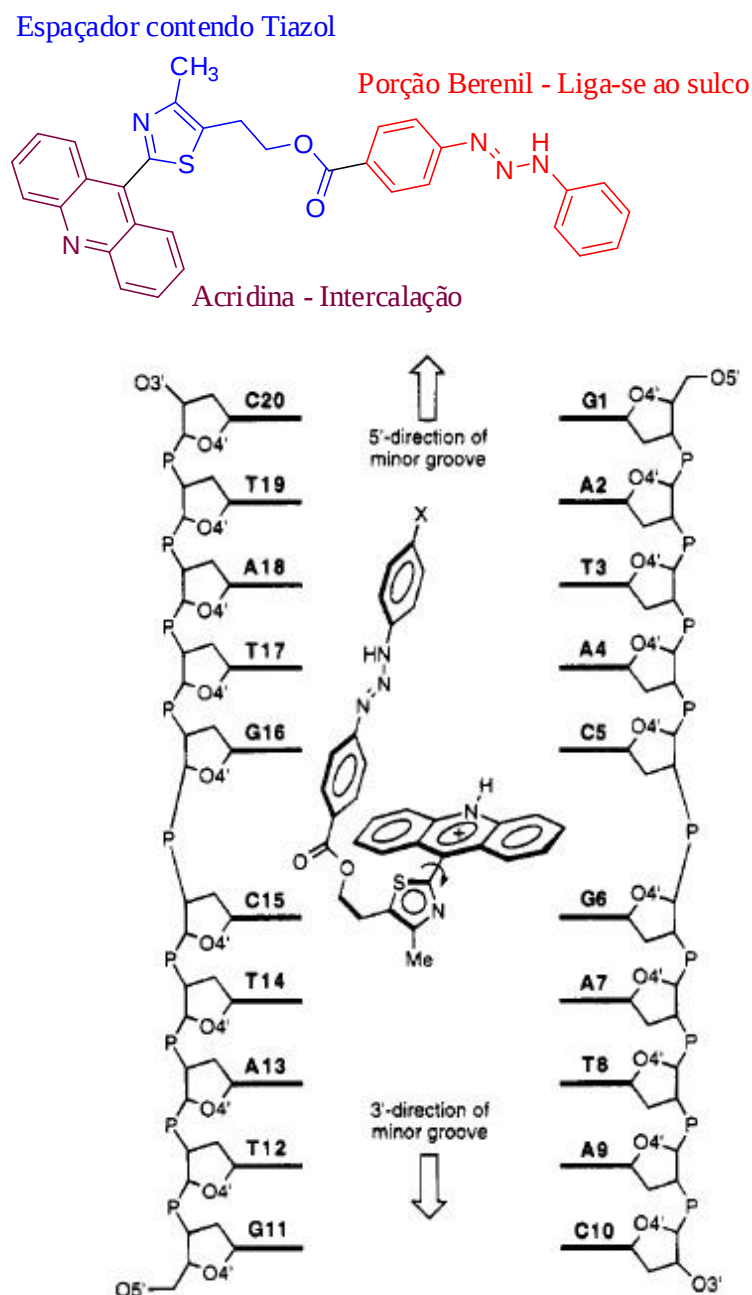
Figura 23- Fármacos que interagem ao sulco menor do DNA: amidinas aromáticas, netropsina e distamicina.



Existem basicamente duas estratégias diferentes de desenho de drogas biconjugadas: a primeira é a abordagem com a lexitropsina, desenvolvida por Dickerson & Goodsell (DICKERSON; GOODSSELL, 1986), e posteriormente utilizada como fármaco antitumoral por Lown (LOWN, 1988), que trata da substituição dos anéis pirrol da netropsina e distamicina por outros heterociclos, incluindo o imidazol, tiazol, oxazol, pirazol e piridina. A segunda estratégia envolve equipar a porção *N*-metilpirrolocarboxamida com um grupo reativo capaz de reagir irreversivelmente com o DNA (LEE et al., 1991) ou com um cromóforo intercalador, como a acridina (ELIADIS et al., 1988), com a finalidade de conferir maior afinidade do fármaco com o DNA e de facilitar a penetração e transporte do fármaco às células.

Além destas abordagens, existem ainda grupos de pesquisa que buscaram o delineamento das combilexinas, que são moléculas antitumorais que possuem porções químicas distintas, tais como as amidinas aromáticas (berenil, pentamidina, propamidina) e as lexitropsinas (netropsina e distamicina, Figura 23), que podem tanto agir por ligação na fenda menor do B-DNA, como por intercalação quando ligados a um intercalador, como sendo estas duas porções da molécula separadas por um espaçador, podendo estar presente o grupo tiazol (Figura 24) (McCONNAUGHIE; JENKINS, 1995).

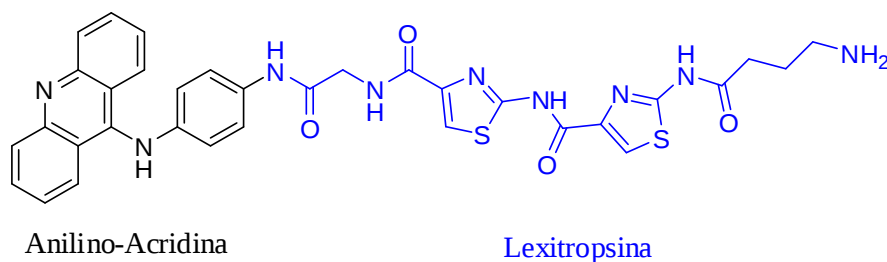
Figura 24- Estrutura de uma combilexina tipo berenil-acridina contendo um espaçador tiazol e esquema da formação complexo bifuncional com o sulco menor do DNA.



Fonte: McCONNAUGHIE, A. W.; JENKINS, T. C. J. *Med. Chem.* 38: 3488-3501, 1995.

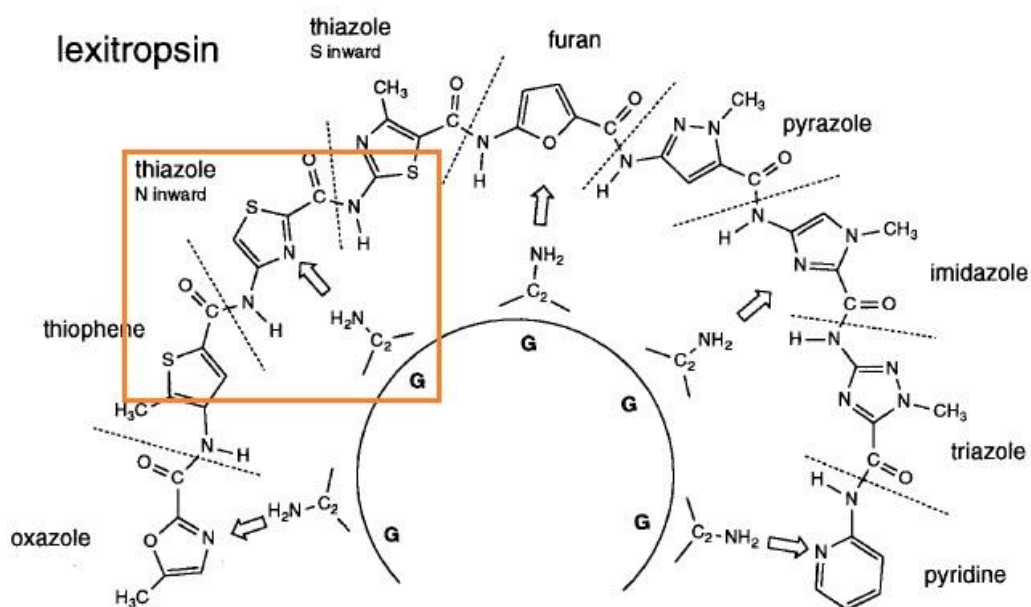
Observou-se atividade antitumoral *in vivo* com a molécula bifuncional, que combina características das abordagens da lexitropsina e combilexina (Figura 25). Este ligante híbrido, no qual são conjugados o tiazol lexitropsina e o cromóforo de anilino-acridina intercalante, liga-se ao B-DNA através de um processo bimodal envolvendo a ligação de sulcos menores da porção lexitropsina e intercalação da porção acridina.

Figura 25- Tiazol lexitropsina ligado ao cromóforo anilino-acridina intercalante.



Dependendo do tipo do heterociclo e do tipo de direcionamento dos anéis presentes na lexitropsina, haverá maior interação do fármaco com resíduos AT (Adenina-Timina) do DNA ou com os resíduos CG (Citosina-Guanina). Tiazóis, por exemplo, podem funcionar como aceptores de ligações de hidrogênio, caso o nitrogênio do anel tiazol esteja voltado para as bases citosina da fita do sulco do DNA. Caso seja o enxofre, esta interação não se procede (BAILLY; CHAIRES, 1998) (Figura 26).

Figura 26- Interação dos diversos heterociclos da lexitropsina com resíduos de guanina (G) da fita do sulco menor do DNA (interação do tiazol em destaque).



Fonte: BAILLY, C.; CHAIRES, J. B. *Bioconjugate Chem.*, 9(5): 513-538, 1998.

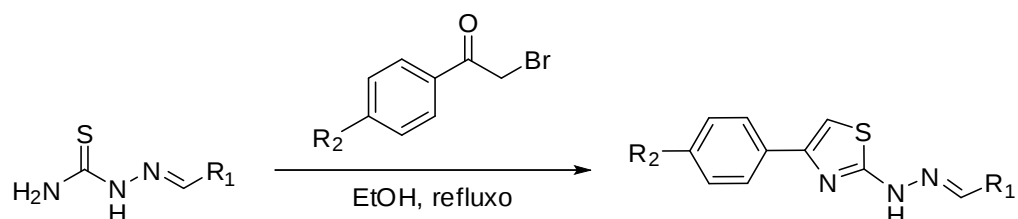
3.6.3 Síntese dos tiazóis

Os tiazóis são compostos heterociclos de cinco membros, sendo dois deles os heteroátomos enxofre e nitrogênio em posição 1,3. Os tiazóis podem ser obtidos por

diferentes métodos, o que torna sua síntese uma modalidade relativamente rápida e pouco complexa.

A principal delas consiste em lançar mão da reatividade do grupo tioamida das tiossemicarbazonas, que por ser nucleofílico, por reagir com eletrófilos obtidos comercialmente. Para obtenção dos tiazóis, Braga e colaboradores (2016) regiram tiossemicarbazonas com 2-bromoacetofenona (α -halocetofenona) sob refluxo (60°C), alcançando rendimentos de 63-100% (BRAGA et al., 2016) (Esquema 7).

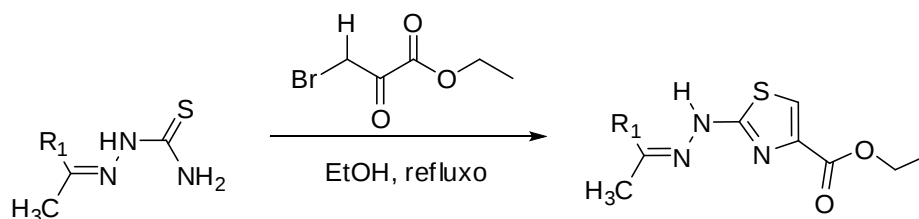
Esquema 7- Síntese dos tiazóis a partir de tiossemicarbazonas e 2-bromoacetofenona.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

Sarodnick e colaboradores (2003) obtiveram tiazóis utilizando o 3-bromopiruvato de etila, em etanol sob refluxo obtendo rendimento de 60% (SARODNICK et al., 2003) (Esquema 8).

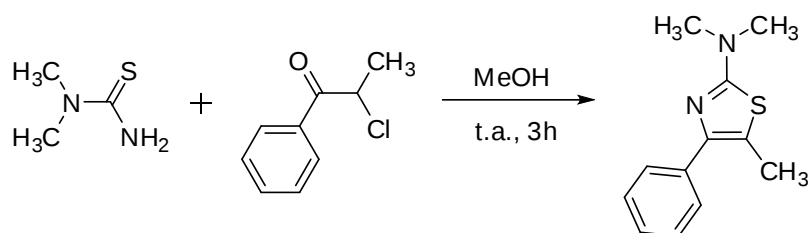
Esquema 8- Síntese dos tiazóis a partir de tiossemicarbazonas e 3-bromopiruvato de etila.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

A síntese clássica dos tiazóis, chamada síntese de Hantzsch se processa entre halocetonas e tioamidas (HANTZSCH; WEBER, 1887). Uma adaptação do método foi desenvolvida por Alajarín e colaboradores (ALAJARÍN et al., 2006) (Esquema 9).

Esquema 9- Síntese dos tiazóis a partir de tiocarbamida e 2-cloroacetofenona.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

4 METODOLOGIA

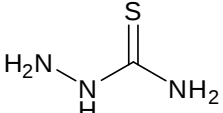
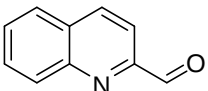
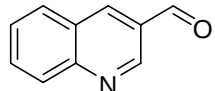
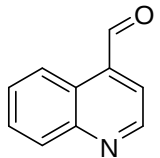
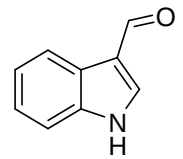
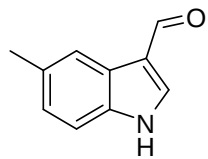
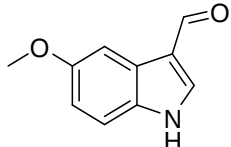
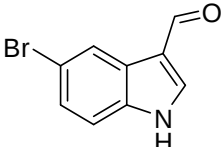
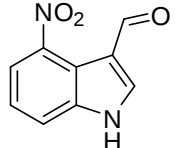
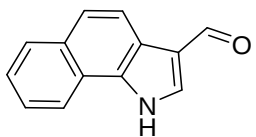
4.1 METODOLOGIA QUÍMICA

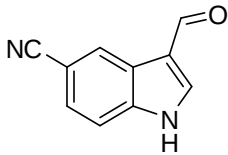
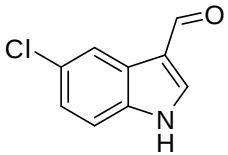
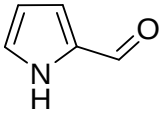
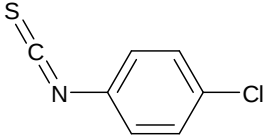
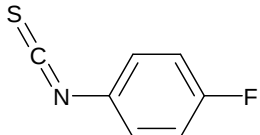
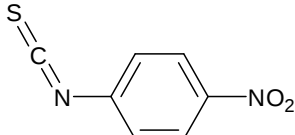
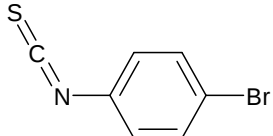
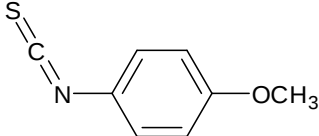
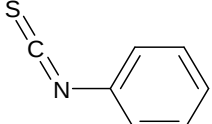
Nesta seção serão descritos os materiais, reagentes, equipamento, softwares e procedimentos experimentais utilizados na síntese dos derivados indol-tiossemicarbazonas, quinolina-tiossemicarbazonas, pirrol-tiossemicarbazonas, acridina-tiossemicarbazonas e acridina-tiazolinas.

4.1.1 Materiais e reagentes

Para obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos (indol, pirrol, quinolina, acridina) foram utilizados os seguintes reagentes, descritos na tabela 1:

Tabela 1- Moléculas e denominação IUPAC dos reagentes utilizados nas sínteses dos derivados tiossemicarbazônicos.

Molécula	Denominação IUPAC	Molécula	Denominação IUPAC
	Hydrazinecarbothioamide CAS: 79-19-6		2-Quinoline-carboxaldehyde CAS: 5470-96-2
	3-Quinoline-carboxaldehyde CAS: 13669-42-6		4-Quinoline-carboxaldehyde CAS: 4363-93-3
	Indole-3-carboxaldehyde CAS: 487-89-8		5-Methylindole-3-carboxaldehyde CAS: 52562-50-2
	5-Methoxyindole-3-carboxaldehyde CAS: 10601-19-1		5-Bromoindole-3-carboxaldehyde CAS: 877-03-2
	4-Nitroindole-3-carboxaldehyde CAS: 10553-11-4		1H-Benzo[g]indole-3-carboxaldehyde CAS: 51136-18-6

	5-Cyanoindole-3-carboxaldehyde CAS: 17380-18-6		5-Chloroindole-3-carboxaldehyde CAS: 827-01-0
	Pyrrole-2-carboxaldehyde CAS: 1003-29-8		4-Chlorophenyl isothiocyanate CAS: 2131-55-7
	4-Fluorophenyl isothiocyanate CAS: 1544-68-9		4-Nitrophenyl isothiocyanate CAS: 2131-61-5
	4-Bromophenyl isothiocyanate CAS: 1985-12-2		4-Methoxyphenyl isothiocyanate CAS: 2284-20-0
	Phenyl isothiocyanate CAS: 103-72-0		

Para obtenção das tiossemicarbazidas foi utilizado o ácido acético glacial (CH_3COOH) como catalisador, o hidrato de hidrazina ($\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 51%; hidrato 80%) como agente nucleofílico e etanol como solventes. Para obtenção dos derivados acridínicos tiossemicarbazônicos e tiazólicos foram empregadas as tiossemicarbazidas e a 2-bromoacetofenona ($\text{BrCH}_2\text{COC}_6\text{H}_5$, 98%). Foram ainda utilizados os solventes diclorometano (CH_2Cl_2), *n*-hexano (C_6H_{14}), acetato de etila ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$), água destilada (H_2O), éter etílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$) e acetona (CH_3COCH_3) para lavagem dos produtos e preparação dos sistemas para a cromatografia em camada delgada (CCD). Os reagentes utilizados foram adquiridos da Aldrich/Sigma e os solventes foram adquiridos da Acros, Vetec e Dinâmica, todos dentro das especificações P.A. (Para Análise) ou P.S. (Para Síntese). Para realização da cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas placas de sílica gel 60 Merck F254, de 0,25 mm de espessura.

4.1.2 Equipamentos e softwares

A pesagem dos reagentes foi realizada utilizando balança analítica da Bioprecisa, modelo FA2104N. Para revelar as placas cromatográficas foi utilizada uma câmara de revelação ultravioleta, com dois comprimentos de onda (254 ou 365 nm), da marca Vilber

Lourmat modelo CN15.LC (LQIT/UFPE). Utilizou-se um evaporador rotativo da marca IKA modelo RV10 para retirada de solventes em algumas reações. Os pontos de fusão foram determinados em fusiômetro Quimis, modelo 340.27 (LQIT/UFPE) e as amostras foram carregadas em tubo capilar Modelo Quimis 340 (Quimis).

Para caracterização estrutural dos compostos foram utilizadas as análises de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H), de Carbono (RMN ^{13}C) e técnicas bidimensionais como COSY ^1H - ^1H e HSQC ^1H - ^{13}C realizados nos equipamentos Varian UNMRS 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C e Bruker IFS66 para Espectroscopia de absorção vibracional na região do Infravermelho médio com Transformada de Fourier (de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}), em pastilhas de KBr.

Para determinação das massas exatas dos compostos foi utilizado o espectrômetro de massa com tecnologia MALDI-TOF/MS (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization - Time-of-Flight/Mass Spectrometer* - Ionização/Dessorção de Matriz Assistida por Laser Tempo-de-Voo/Espectrômetro de Massa) da marca Shimadzu, com placas poliméricas FlexiMass DST acoplado ao software Axima & Saramis, disponibilizado pelo Laboratório Multiusuário de Nanotecnologia (LMNano), localizado no CETENE (Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste).

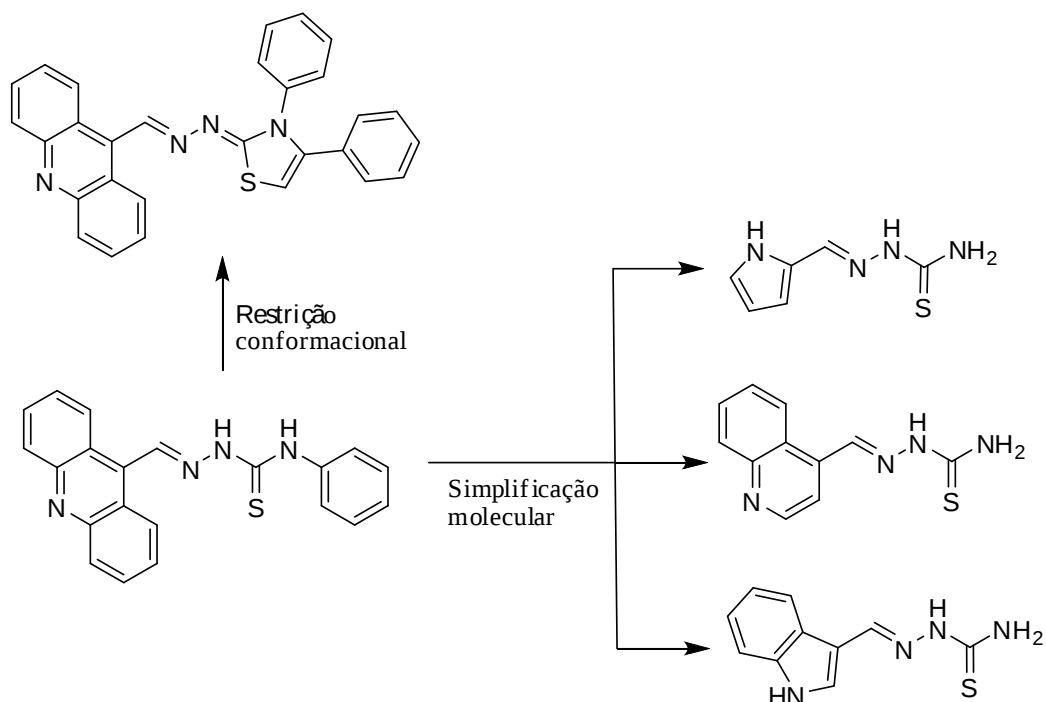
As estruturas moleculares foram desenhadas utilizando os softwares ACD/Spectrus Processor 2017.2.1 Advanced Chemistry Development, Inc. (ACD/Labs, File Version S70S41, Build 99684), ChemDraw Ultra versão 10.0.2.1076 – CambridgeSoft e Avogadro versão 1.2.0. Para análise de *docking* dos ligantes com o ctDNA e Albumina do soro bovino (BSA), foram utilizados os softwares AutoDock Tools Version 1.5.6 (*Molecular Graphics Laboratory*) e Discovery Studio Visualizer Version 17.2.0.16349 (*Dassault Systèmes Biovia Corp*).

4.1.3 Procedimentos experimentais

Visando empregar a estratégia de simplificação molecular e restrição conformacional, foram sintetizados os compostos acridínicos e posteriormente os compostos indólicos, pirrólicos, quinolínicos e tiazolínicos.

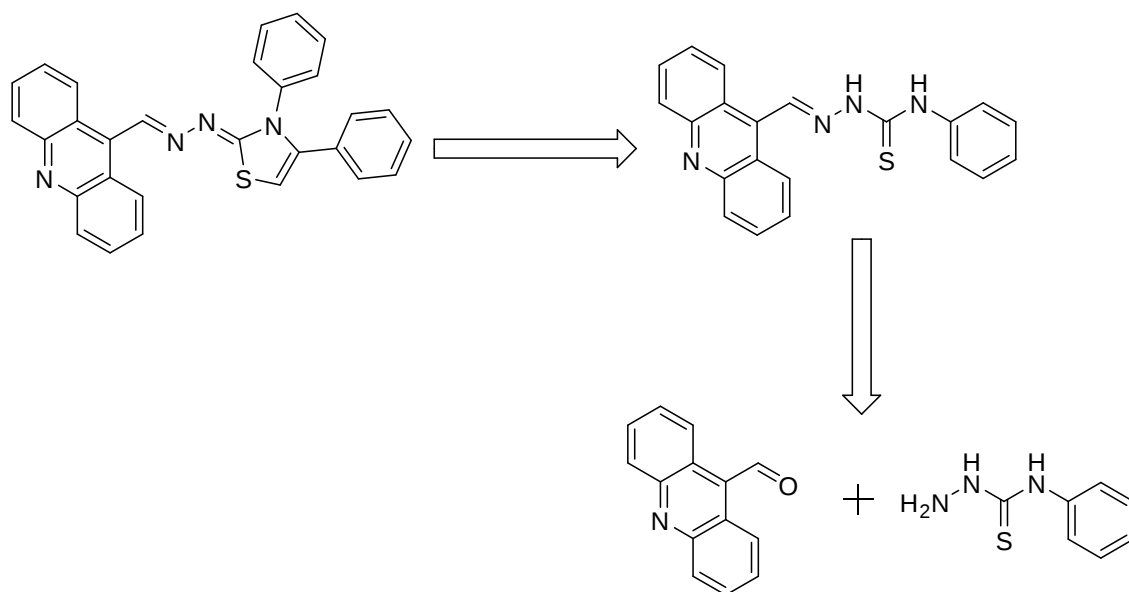
Uma visão geral da síntese, bem como do emprego das estratégias supramencionadas, é mostrada no esquema 10, e no esquema retrosintético 11.

Esquema 10- Estratégias de restrição conformacional e simplificação molecular empregadas para a síntese dos compostos tiazolínicos e tiossemicarbazônicos pirrólicos, quinolínicos e indólicos.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

Esquema 11- Retrossíntese das tiazolinas acridínicas.

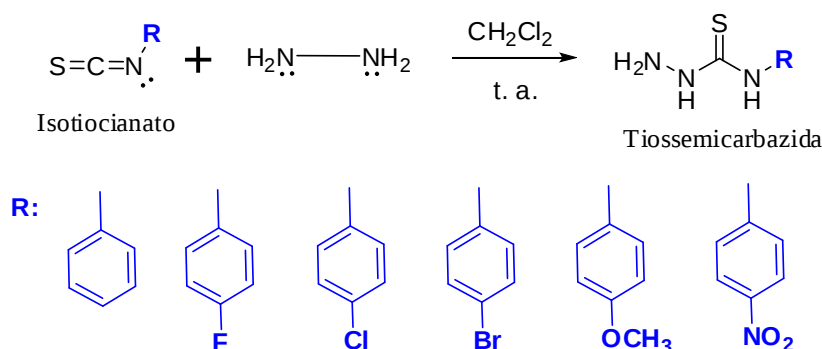


Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

4.1.3.1 Síntese das tiossemicarbazidas

Para obtenção das tiossemicarbazidas foi utilizado o método preconizado por Papastaikoudi et al. (1995), Gürsoy et al. (1997) e Duffy et al. (2002), no qual o hidrato de hidrazina comercial é utilizado como nucleófilo para reagir com isotiocianatos, que fazem o papel de eletrófilos, em proporção de 2 equivalente-molar de hidrazina para 1 equivalente-molar do isotiocianato obtidos comercialmente (*Sigma Aldrich*). Após a adição dos isotiocianatos, houve precipitação das tiossemicarbazidas no meio reacional, no qual o diclorometano (CH_2Cl_2) foi o solvente utilizado, mantendo-se em temperatura ambiente. As reações se processaram em um intervalo entre 50 minutos e 1 hora, como mostradas no esquema 12, e foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD), para verificação da formação das tiossemicarbazidas almejadas.

Esquema 12- Esquema reacional para obtenção das tiossemicarbazidas substituídas.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

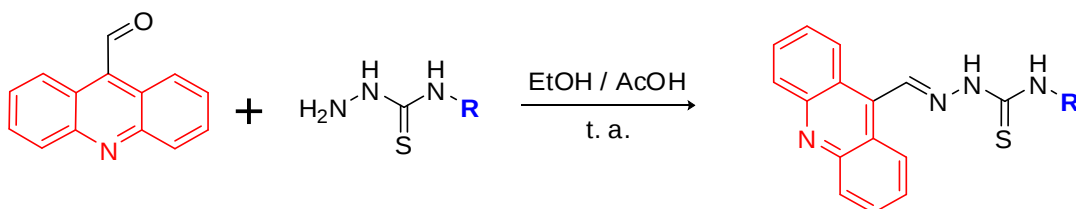
4.1.3.2 Síntese dos derivados indol-tiossemicarbazonas, pirrol-tiossemicarbazona, quinolina-tiossemicarbazonas, acridina-tiossemicarbazonas e acridina-tiazolinas (LQIT/JF)

74, LqIT/JF-75, LqIT/JF-97, LqIT/JF-98, LqIT/JF-99, LqIT/JF-100, LqIT/JF-101, LqIT/JF-114, LqIT/JF-115, LqIT/JF-116, LqIT/JF-242 e LqIT/JF-243.

Todos os procedimentos de síntese se processaram em um período entre 1h e 2h, monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD), em quantidades equimolares (aldeído/tiossemicarbazida), obtendo-se as tiossemicarbazonas precipitadas no meio, porém em alguns casos, foram submetidas à recristalização em uma mistura etanol/água, e posteriormente lavadas com água e/ou etanol gelado para obtenção dos produtos puros.

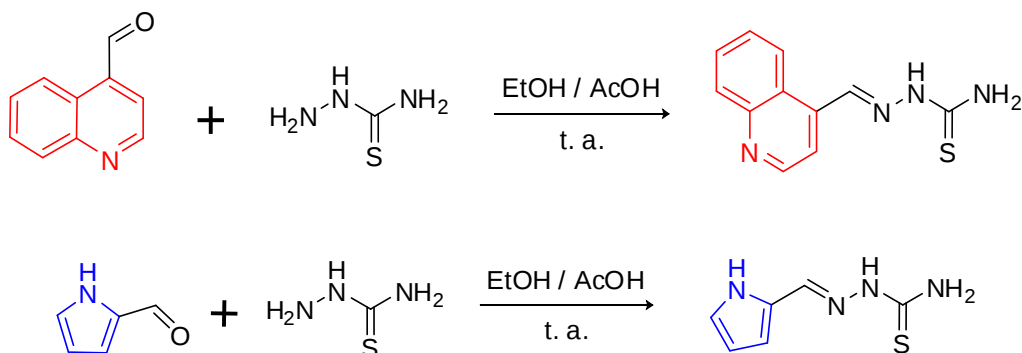
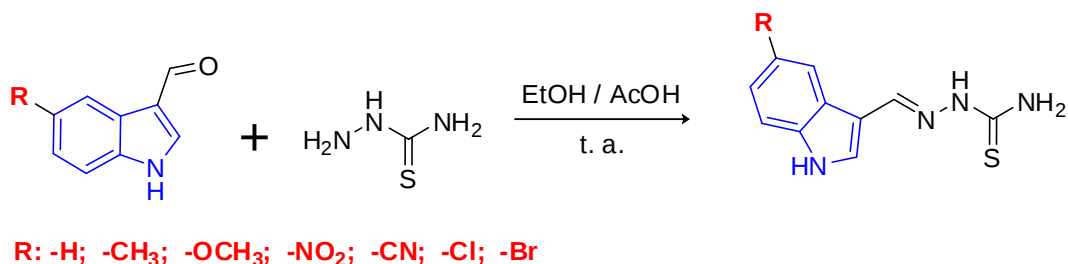
Os produtos foram caracterizados por RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , COSY ^1H - ^1H , DEPT, HSQC ^1H - ^{13}C , FTIR e MALDI-TOF.

Esquema 13- Obtenção das acridina-tiossemicarbazonas.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

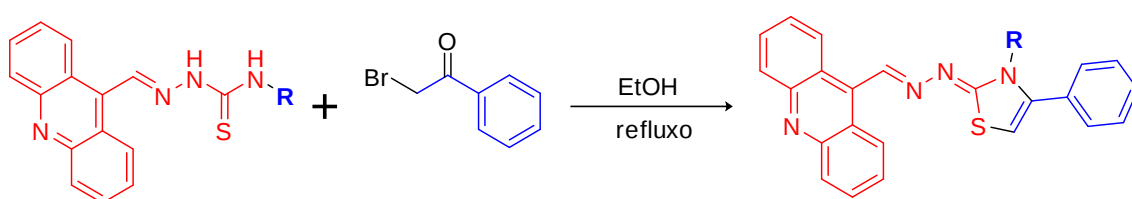
Esquema 14- Obtenção das quinolina/indol/pirrol-tiossemicarbazonas.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

Para obtenção das acridina-tiazolinas (LQIT/JF-244, LQIT/JF-245 e LQIT/JF-248) (Esquema 15), a 2-bromoacetofenona ($C_6H_5COCH_2Br$) foi agitada em etanol até solubilização e posteriormente foram adicionadas as tiossemicarbazonas, mostradas no esquema 13, em quantidades equimolares. Após 40 minutos do início da reação, a coloração do meio mudou do amarelo inicial para verde escuro (em alguns casos marrom). Passados mais 20 minutos, a coloração tornou-se azulada até o fim da reação, monitorada por CCD. Foi mantido refluxo ($60^\circ C$) durante todo o procedimento reacional.

Esquema 15- Obtenção das acridina-tiazolinas.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

4.1.3.3 Descrição sucinta dos procedimentos experimentais

Síntese da **(E)-2-(quinolin-2-ilmetileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-73)**: O meio reacional contendo a **2-quinolina-carboxaldeído** (0,1725g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 60 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-(quinolin-3-ilmetileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-74)**: O meio reacional contendo a **3-quinolina-carboxaldeído** (0,1725g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 60 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-(quinolin-4-ilmetileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-75)**: O meio reacional contendo a **4-quinolina-carboxaldeído** (0,1725g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 60 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-((1H-indol-3-il)metileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-97)**: O meio reacional contendo o **1H-Indol-3-carboxaldeído** (0,1593g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 90 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-((5-metil-1H-indol-3-il)metileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-98)**: O meio reacional contendo o **5-metil-1H-Indol-3-carboxaldeído** (0,1747g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 120 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-((5-metóxi-1H-indol-3-il)metileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-99)**: O meio reacional contendo o **5-metóxi-1H-Indol-3-carboxaldeído** (0,1923g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 90 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-((5-bromo-1H-indol-3-il)metileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-100)**: O meio reacional contendo o **5-bromo-1H-Indol-3-carboxaldeído** (0,2449g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 90 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-((4-nitro-1H-indol-3-il)metileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-101)**: O meio reacional contendo o **4-nitro-1H-Indol-3-carboxaldeído** (0,2087g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 90 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-((1H-benzo[g]indol-3-il)metileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-102)**: O meio reacional contendo o **1H-benzo[g]indol-3-carboxaldeído** (0,100g, 0,513 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,0467g; 0,513 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,50 mL) foi mantido sob agitação por 120 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-((5-ciano-1H-indol-3-il)metileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-114)**: O meio reacional contendo o **3-formil-1H-indol-5-carbonitrila** (0,1868g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 90 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-((5-cloro-1H-indol-3-il)metileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-115)**: O meio reacional contendo o **5-cloro-1H-indol-3-carboxaldeído** (0,1966g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 90 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-((1H-pirrol-2-il)metileno)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-116)**: O meio reacional contendo o **1H-pirrol-2-carboxaldeído** (0,1044g, 1,0986 mmol), **hidrazinacarbotoamida** (0,1g; 1,0986 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 120 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-(acridin-9-ilmetileno)-N-(4-clorofenil)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-241)**: O meio reacional contendo a **N-(4-clorofenil)hidrazinacarbotoamida** (0,1455g, 0,724 mmol), **acridina-9-carboxaldeído** (0,15g; 0,724 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 120 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-(acridin-9-ilmetileno)-N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-242)**: O meio reacional contendo a **N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotoamida** (0,1535g, 0,724 mmol), **acridina-9-carboxaldeído** (0,15g; 0,724 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 120 minutos em temperatura ambiente.

Síntese da **(E)-2-(acridin-9-ilmetileno)-N-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotoamida (LQIT/JF-243)**: O meio reacional contendo a **N-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotoamida** (0,1339g, 0,724 mmol), **acridina-9-carboxaldeído** (0,15g; 0,724 mmol), etanol (10 mL) e ácido etanoico (0,75 mL) foi mantido sob agitação por 120 minutos em temperatura ambiente.

Síntese do **(Z)-2-((E)-(acridin-9-ilmetileno)hidrazono)-3-(4-clorofenil)-4-fenil-2,3-dihidrotiazol (LQIT/JF-244)**: O meio reacional contendo a **(E)-2-(acridin-9-ilmetileno)-N-(4-clorofenil)hidrazinacarbotoamida** (0,100g, 0,256 mmol), **2-bromoacetofenona** (0,0507g; 0,256 mmol) e etanol (10 mL) foi mantido sob agitação por 4h em temperatura de refluxo.

Síntese do **(Z)-2-((E)-(acridin-9-ilmetileno)hidrazono)-3-(4-fluorofenil)-4-fenil-2,3-dihidrotiazol (LQIT/JF-245)**: O meio reacional contendo a **(E)-2-(acridin-9-ilmetileno)-N-(4-fluorofenil)hidrazinacarbotoamida** (0,082g, 0,220 mmol), **2-bromoacetofenona**

(0,0434g; 0,220 mmol) e etanol (10 mL) foi mantido sob agitação por 12h em temperatura de refluxo.

Síntese do **(Z)-2-((E)-(acridin-9-ilmetileno)hidrazono)-3,4-difenil)-4-fenil-2,3-dihidrotiazol (LQIT/JF-248)**: O meio reacional contendo a **(E)-2-(acridin-9-ilmetileno)-N-fenilhidrazinacarbotioamida** (0,100g, 0,280 mmol), **2-bromoacetofenona** (0,05545g; 0,280 mmol) e etanol (10 mL) foi mantido sob agitação por 2h em temperatura de refluxo.

4.2 ENSAIOS DE INTERAÇÃO

4.2.1 Estudos de interação dos derivados nitrogenados (JF-LqIT) com o ctDNA e com a albumina do soro bovino (BSA)

4.2.1.1 Materiais e equipamentos

Foi utilizado o solvente DMSO na preparação das soluções mãe e soluções tampão Tris-HCl (0,1 M, pH 7,4) na análise das interações com BSA e DNA (SURYAWANSHI et al., 2016). A BSA e o ctDNA foram obtidos da *Sigma-Aldrich* e o aparelho empregado na análise de obtenção dos espectros de Ultravioleta-visível (UV-Vis) e emissão de fluorescência foram o Espectrofotômetro de UV-Vis Ultraspec 3000 PRO e Espectrofluorímetro de JASCO FP-6300, respectivamente.

4.2.1.2 Preparação das soluções de ctDNA e albumina

No preparo da solução contendo o ctDNA, foi utilizado tampão Tris-HCl (0,1 M, pH 7,6) e DNA do timo de bovino (ctDNA) *Sigma-Aldrich*. A solução de ctDNA em tampão Tris foi deixada durante 24 h, à temperatura de 20°C. Após este período, a solução foi sonicada durante 30 minutos e sua concentração determinada utilizando o coeficiente de absorvidade molar $6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 260 nm (WOLFE et al., 1987). A pureza do DNA foi determinada através da análise do valor da relação de absorbância em 260-280 nm. A BSA também foi obtida comercialmente (*Sigma-Aldrich*) e a sua solução foi preparada em tampão Tris HCl (0,1 M, pH 7,6) a uma concentração de 1 mM.

4.2.1.3 Espectroscopia de absorção eletrônica

Os compostos foram dissolvidos em DMSO numa concentração de 1 mM (solução mãe) e as soluções de trabalho preparadas por diluição em tampão Tris-HCl (0,1 M, pH 7,6) nas seguintes concentrações 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 μ M. O sistema foi agitado e deixado à temperatura ambiente durante 10 minutos.

Os derivados, em concentração fixada (20 μ M), também foram expostos às concentrações crescentes de ctDNA (0, 10, 20 40, 60, 80 e 100 μ M), e deixados à temperatura ambiente por 10 minutos. As medições das soluções de ctDNA-ligantes foram realizadas em uma cubeta de quartzo retangular com um comprimento do percurso de 1centímetro (1 cm).

A constante de ligação intrínseca (K_b) foi obtida através da equação de McGee e Von Hippel (1974):

$$[JFs] / (\epsilon_a - \epsilon_f) = [JFs] / (\epsilon_b - \epsilon_f) + 1 / K_b (\epsilon_b - \epsilon_f)$$

$$[DNA] / (\epsilon_a - \epsilon_f) = [DNA] / (\epsilon_b - \epsilon_f) + 1 / K_b (\epsilon_b - \epsilon_f)$$

onde, ϵ_a , ϵ_b e ϵ_f são os coeficientes de absortividade aparente, ligado e livre, respectivamente. Os gráficos da $[JFs] / (\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus $[JFs]$ e $[DNA] / (\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus $[DNA]$ foram utilizados para obtenção dos valores de K_b a partir da razão entre a inclinação e o intercepto. Os dados de ligação foram obtidos utilizando o software SigmaPlot 10.0. Alterações no espectro de absorção de DNA na presença dos compostos, como também os valores das constantes de ligação, podem fornecer informações relativas ao modo de interação.

4.2.1.4 Espectroscopia de emissão de fluorescência

As medições de fluorescência dos derivados LqIT/JF foram realizadas em solução contendo tampão Tris 0,1M, pH 7,6, em concentrações de 5-25 μ M na faixa de 220-600 nm, com bandas de excitação e de emissão de 5nm e sensibilidade alta.

Na análise da interação dos LqIT/JF com a albumina, os espectros de emissão foram registrados na região de 310-400 nm utilizando um comprimento de onda de excitação de 285 nm, com bandas de excitação e de emissão de 2,5 nm, em concentrações crescentes dos derivados (5-40 μ M) e concentração fixada de BSA (20 μ M).

Todas as medições foram realizadas a 25° C em uma cubeta de quartzo retangular com um comprimento de caminho de 1 cm. Intensidades de fluorescência dos compostos exposto a diferentes concentrações de BSA foram usadas para calcular a constante de Stern-Volmer (K_{sv}), pela seguinte equação (LAKOWICZ, 2006):

$$F_0 / F = 1 + K_{sv}[Q]$$

onde, F_0 e F são as intensidades de fluorescência no estado estacionário de compostos na ausência e na presença de BSA e LqIT/JF, K_{sv} é a constante de Stern-Volmer, e $[Q]$ é a concentração de inibidor (*Quencher*).

4.3 ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR

4.3.1 Preparação da estrutura dos ligantes

Os ligantes foram desenhados no software Avogadro versão 1.2.0 e salvos no formato *.cml* (*Chemical Markup Language*), após otimização preliminar estrutural. Os arquivos foram posteriormente configurados no software Avogadro, por meio da ferramenta *Extensions*, para gerar o arquivo no formato *.mop*, no qual o método químico quântico semi-empírico PM6 foi utilizado (STEWART, 2007). Após processamento no software MOPAC 2016, foi gerado o arquivo *.out*, por meio do qual a energia de formação do composto pode ser determinada. O ligante definitivamente otimizado foi salvo no formato *.pdb* para então ser exportado para o software AutoDock Tools Version 1.5.6.

Neste, foram utilizadas as ferramentas *Ligand - Torsion tree - Detect root* e logo após a opção *Choose torsions*, quando então foi selecionada a opção *Make all rotatable bonds rotatable*, de modo a permitir que o software possa executar todas as rotações possíveis no ligante, no momento de realização do *docking*. Na ferramenta *Edit*, os hidrogênios foram configurados por meio das opções *Merge non polar* e *Add - Polar only*, de modo que apenas os hidrogênios polares ficassem disponíveis para o cálculo das cargas *Gasteiger* dos átomos. Os arquivos referentes aos ligantes foram salvos no formato *.pdbqt* para posterior reconhecimento no *docking* com as proteínas do estudo.

4.3.2 Preparação das macromoléculas dodecâmero de DNA complexado com a 9-acridina-peptídeo, o dodecâmero de DNA livre e a albumina do soro bovino (BSA)

As macromoléculas selecionadas para o estudo, o dodecâmero de DNA complexado com a 9-acridina-peptídeo (código PDB: 1G3X) (MALININA et al., 2002), para análise da capacidade de intercalação dos ligantes com o DNA, o dodecâmero de DNA livre (código PDB: 6CQ3) (DELGADO et al., 2018), para análise de ligação dos ligantes aos sulcos do DNA, e a albumina do soro bovino complexada com o naproxeno (código PDB: 4OR0) (BUJACZ et al., 2014), foram tratadas no software Discovery Studio Visualizer Version 17.2.0.16349 para remoção de moléculas de água e ligantes. Após salvo em formato *.pdb*, os arquivos das macromoléculas foram tratados no AutoDock Tools Version 1.5.6. Com o uso da ferramenta *Edit*, os hidrogênios foram configurados por meio das opções *Merge non polar* e *Add - Polar only*, de modo que apenas os hidrogênios polares ficassem disponíveis para o cálculo das cargas *Kollman* dos átomos. Para os átomos de magnésio presentes no dodecâmero de DNA complexado com a 9-acridina-peptídeo, foi atribuída a carga de valor 0,8, e enfim, os arquivos das proteínas foram salvos em formato *.pdbqt* para reconhecimentos do software durante o procedimento de *docking*.

4.3.3 Docking molecular

4.3.3.1 Docking dos ligantes com a macromolécula dodecâmero de DNA complexado com a 9-acridina-peptídeo (1G3X) e o dodecâmero de DNA livre (6CQ3)

Previamente ao procedimento de *docking*, foram calculados os parâmetros para obtenção do *grid* no AutoDock Tools Version 1.5.6. Para determinação do sítio ativo, o tamanho e localização foram configurados de acordo com o ligante cristalizado, havendo padronização da resolução em 0,375Å, com uma quantidade de pontos nas dimensões x, y e z de 80 x 80 x 80, centralizado nas posições x = 57,056, y = 52,724 e z = 60,952, para o dodecâmero de DNA complexado com a 9-acridina-peptídeo (1G3X) e 70 x 70 x 70, centralizado nas posições x = 14,152, y = 21,051 e z = 8,326, para o dodecâmero de DNA livre (6CQ3).

O Algoritmo Genético Lamarckiano no AutoDock 1.5.6 foi aplicado na busca da melhor conformação e orientação dos ligantes, utilizando as configurações padrão de busca. Durante cada experimento de *docking*, 100 conformações foram obtidas, e ao final, as

conformações foram agrupadas em clusters de RMSD (*Root-Mean-Square Deviation*) de 2 Å, e somente foram consideradas para análise conformações presentes em clusters com ao menos 10 conformações, sendo estas as de menor energia. A conformação de menor energia obtida para cada ligante foi analisada nos programas AutoDockTools e Discovery Studio Visualizer.

4.3.3.2 *Docking* dos ligantes com a macromolécula albumina do soro bovino (BSA -4OR0)

Para a proteína albumina do soro bovino (BSA), as regiões envolvidas na ligação de fármacos foram determinadas por cristalografia (HE; CARTER, 1992; CARTER; HO, 1994; GALANTINI, et al., 2010). Estas regiões de armazenamento de compostos são denominadas de subdomínios IIA e IIIA, tradicionalmente elencadas como sítios I e II de Sudlow (KRAGH-HANSEN, 1981; PETERS, 1985).

Para cálculo do *grid*, a resolução foi padronizada em 0,375Å, com uma quantidade de pontos nas dimensões x, y e z de 126 x 126 x 126, centralizado nas posições x = 6,279; y = 21,461 e z = 120,548, para as 100 primeiras conformações (posição do ligante co-cristalizado presente no sítio I da cadeia A da proteína), e x = -7,201; y = 20,543 e z = 105,568 para as 100 últimas conformações do ligante (posição do ligante co-cristalizado presente no sítio II da cadeia A da proteína).

O Algoritmo Genético Lamarckiano no AutoDock 1.5.6 foi aplicado na busca da melhor conformação e orientação especial dos ligantes, utilizando as configurações padrão de busca. Durante os experimentos de docking, 200 conformações foram obtidas e analisadas. Ao final, a conformação de menor energia obtida para cada ligante foi considerada e analisada nos programas AutoDockTools e Discovery Studio Visualizer Version 17.2.0.16349.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR

5.1.1 Estudo de docking dos derivados LqIT/JF com o dodecâmero de DNA complexado com a 9-acridina-peptídeo (1G3X) e o dodecâmero de DNA livre (6CQ3)

O ancoramento (*docking*) consiste no posicionamento dos ligantes (moléculas) em seus possíveis sítios de ligação, auxiliado por softwares específicos, almejando-se presumir a afinidade destes compostos por macromoléculas alvo, tais como proteínas ou o DNA (FERREIRA et al., 2015; ARSHAD et al., 2017). Esta ferramenta de modelagem molecular vem sendo extensamente utilizada pela indústria farmacêutica tanto na etapa de descoberta (fase pré-clínica), como na etapa de desenvolvimento (fase clínica) (BROWN et al., 2017; MUEGGE et al., 2017; MCGAUGHEY et al., 2017).

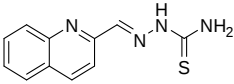
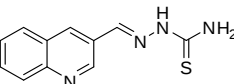
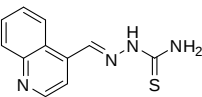
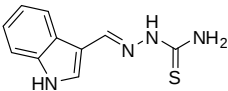
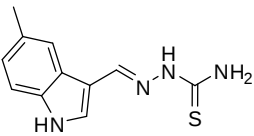
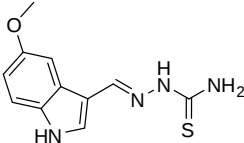
O estudo de docking envolve duas etapas fundamentais: a predição da posição do ligante (orientação e conformação dentro do sítio de ligação) e a predição da afinidade do ligante. A análise dos graus de liberdade conformacionais dos ligantes, previstos essencialmente pela quantidade de ligações rotacionáveis do mesmo, é indispensável para determinar a pose do ligante no sítio alvo. Desta forma, quanto maior (alto peso molecular) e mais flexível (elevada quantidade de carbonos sp^3 /baixa quantidade de ligações planares) for o ligante, menor a probabilidade de precisar sua conformação/orientação deste ligante no sítio de ligação.

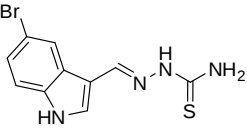
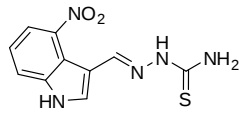
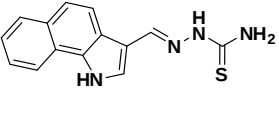
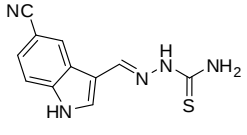
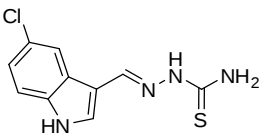
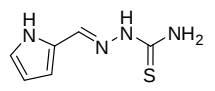
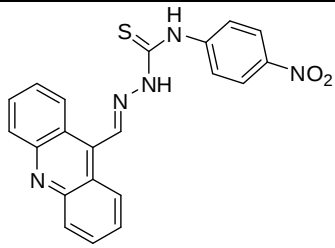
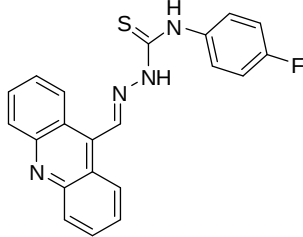
A varredura do espaço conformacional dos ligantes deste estudo foi realizada por meio do software *AutoDock Tools* 1.5.6, que utiliza o método evolutivo (Algoritmo Lamarckiano Genético - LGA), que busca aleatoriamente os espaços conformacionais, diminuindo a probabilidade de haver aprisionamento do ligante nos chamados mínimos locais. Para tanto, o software gera posições do ligante formadas por ângulos diedros e vetores rotacionais e translacionais, que servem de base para geração de novas posições ainda mais favoráveis, por meio de um sistema de escores de energia.

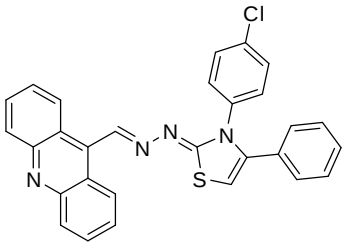
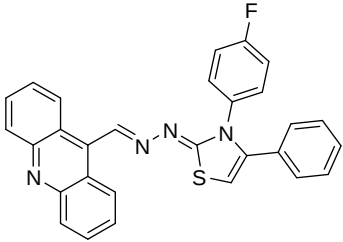
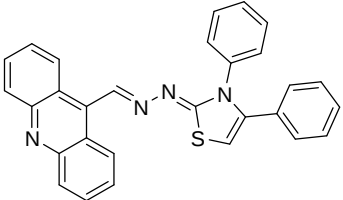
Neste estudo, os ligantes foram tratados frente ao dodecâmero de DNA complexado com a 9-acridina-peptídeo (código PDB: 1G3X) (MALININA et al., 2002), para análise da capacidade de intercalação dos ligantes com o DNA e o dodecâmero de DNA livre (código PDB: 6CQ3) (DELGADO et al., 2018), para análise de ligação dos ligantes aos sulcos do DNA. Para o primeiro, a posição dos ligantes coincide com a da 9-acridina, que serve como modelo para o algoritmo genético do *AutoDock Tools* 1.5.6 buscar as melhores conformações

e orientações de cada composto no sítio de ligação do ctDNA. As modalidades de interações, bem como as energias estimadas de ligação entre os ligantes e os dodecâmeros de DNA estão descritas na tabela 2.

Tabela 2- Modalidades de interações e energias estimadas dos ligantes frente ao dodecâmeros de DNA 1G3X e 6CQ3.

Ligantes		Empilhamento π - π	Ligações de Hidrogênio/ Interações Hidrofóbicas	Energia de ligação (kcal/mol) 1G3X / 6CQ3
	JF-73	A ^{K:605} / T ^{L:619 / 620} (Parallel-displaced)	A ^{K:605 / 606}	-7,86 -7,62
	JF-74	A ^{K:605 / 606} T ^{L:619 / 620} (Parallel-displaced)	T ^{L:619 / 620} Arg ^{M:701}	-8,75 -7,72
	JF-75	A ^{K:605 / 606} T ^{L:619 / 620} (Parallel-displaced)	T ^{L:619 / 620}	-8,34 -7,70
	JF-97	A ^{K:605 / 606} T ^{L:619 / 620} (Parallel-displaced)	T ^{L:619 / 620} Arg ^{M:701}	-8,27 -7,61
	JF-98	A ^{K:605 / 606} / T ^{L:619 / 620} (Parallel-displaced)	T ^{L:619 / 620} A ^{K:605} (π -alquil-metil) Arg ^{M:701}	-8,59 -7,83
	JF-99	A ^{K:605 / 606} / T ^{L:619 / 620} (Parallel-displaced)	A ^{K:605} (5-metóxi) T ^{L:619 / 620} Arg ^{M:701}	-8,29 -8,35

	JF-100	$A^{K:605} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced)	$T^{L:619 / 620}$ $A^{K:605}$ (π -alkyl-bromo) $Arg^{M:701}$	-8,95 -8,48
	JF-101	$A^{K:605 / 606} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced/ Sandwich)	$A^{K:605 / 606}$ $Arg^{M:701}$	-6,88 -6,77
	JF-102	$A^{K:605 / 606} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced/ Sandwich)	$T^{L:619 / 620}$ $A^{K:606}$ $Arg^{M:701}$	-10,29 -9,07
	JF-114	$A^{K:605 / 606} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced)	$T^{L:619 / 620}$ $Arg^{M:701}$	-8,71 -8,45
	JF-115	$A^{K:605 / 606} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced)	$T^{L:619 / 620}$ $A^{K:605}$ (π -alkyl-cloro) $Arg^{M:701}$	-8,60 -8,03
	JF-116	$A^{K:605 / 606} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced/ Sandwich)	$T^{L:619 / 620}$ $Arg^{M:701}$	-6,37 -6,28
	JF-242	$A^{K:605} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced/ Sandwich)	$A^{K:606}$ (π -enxofre)	-8,56 -9,79
	JF-243	$A^{K:605} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced) Arg^{701} (Amide- π)	$A^{K:606}$ $A^{K:605}$ (π -enxofre)	-11,56 -10,95

	JF-244	$A^{K:605 / 606} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced)	$A^{K:605}$ (π -alquil-cloro) $Arg^{M:701}$	-13,47 -10,84
	JF-245	$A^{K:605 / 606} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced/ Sandwich)	$A^{K:606}$ $Arg^{M:701}$	-13,25 -10,47
	JF-248	$A^{K:605 / 606} / T^{L:619 / 620}$ (Parallel-displaced/ Sandwich)	$A^{K:605 / 606}$ (π -enxofre) $Arg^{M:701}$	-13,58 -10,45

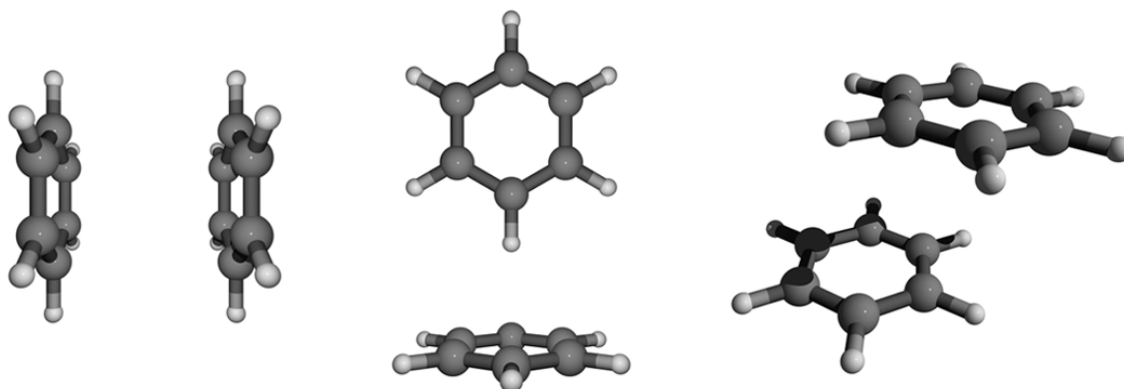
A, T = Bases nitrogenadas Adenina e Timina.

K, L = Fragmentos das fitas do dodecâmero (1G3X) do DNA.

Arg = Resíduo do aminoácido arginina associado ao dodecâmero (1G3X) do DNA.

As interações de empilhamento do tipo π - π que ocorrem entre sistemas aromáticos podem ser evidenciadas de três diferentes maneiras: *sandwich*, *T-shaped* e *parallel-displaced* (SHERRILL et al., 2002) (Figura 27).

Figura 27- Interações π - π entre anéis aromáticos do benzeno.



Fonte: SINNOKROT, M. O.; VALEEV, E. F.; SHERRILL, C. D. Estimates of the *Ab Initio* Limit for π - π Interactions: The Benzene Dimer. *J. Am. Chem. Soc.* 124 (36):10887-10893, 2002.

É relatado na literatura que o empilhamento do tipo π - π em deslocamentos paralelos (*parallel-displaced*) é 0,5 a 0,75 kcal/mol mais estável que o empilhamento em forma de T (*T-*

shaped) (McGAUGHEY et al., 1998). Entretanto, devido a troca de repulsão entre anéis em empilhamento sanduíche (*sandwich*), são verificadas estabilidade e interação maiores (1 kcal/mol) dos anéis empilhados em deslocamento paralelo (*parallel-displaced*) (WHEELER; BLOOM, 2014). Porém, a combinação entre as diversas interações em um mesmo ligante pode gerar um resultado favorável à energia de ligação entre este e a macromolécula.

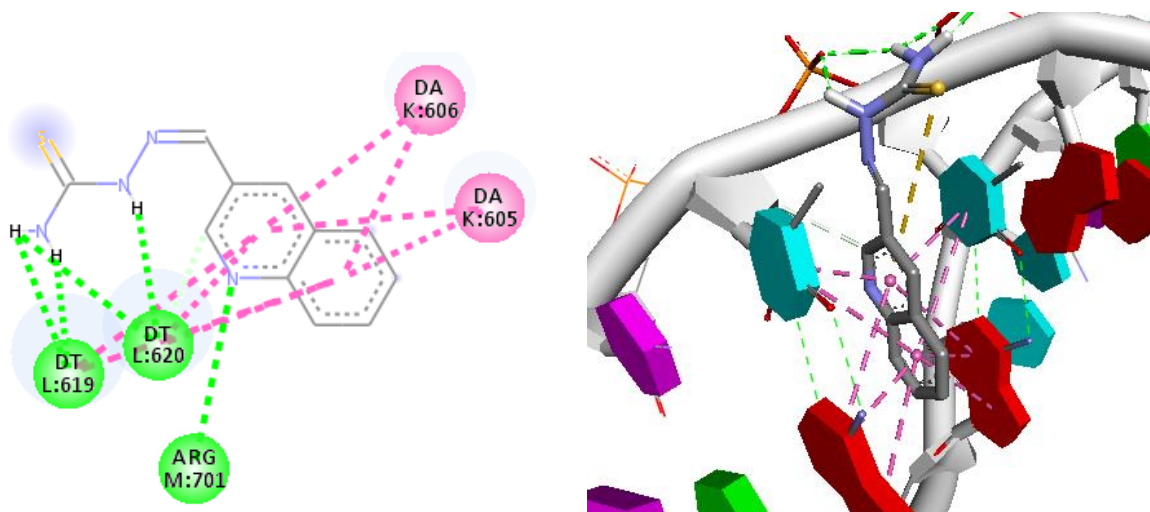
Estes fatos justificam alguns resultados obtidos para os ligantes listados na tabela 2. As diversas modalidades de interação mostradas pelas quinolinas LqIT/JF-73, LqIT/JF-74 e LqIT/JF-75, favoreceram a ligação destas com as bases nitrogenadas, sejam por empilhamento π - π , ou por ligações de hidrogênio com as bases adenina e timina.

Apesar de os valores de energia de ligação haver sido razoáveis (-8,75 kcal/mol; -8,34 kcal/mol; -7,86 kcal/mol) quando comparados à literatura (-9,78 kcal/mol) (RIBEIRO, 2018), os tipos de interação garantiram resultados relevantes quando os ligantes foram submetidos aos testes de absorção com o DNA (ver Figuras 64 e 65), visto que nestes testes exibiram considerável hipercromicidade (47%-57%) e valores de K_b igualmente significativos ($1,04 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ / $3,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$).

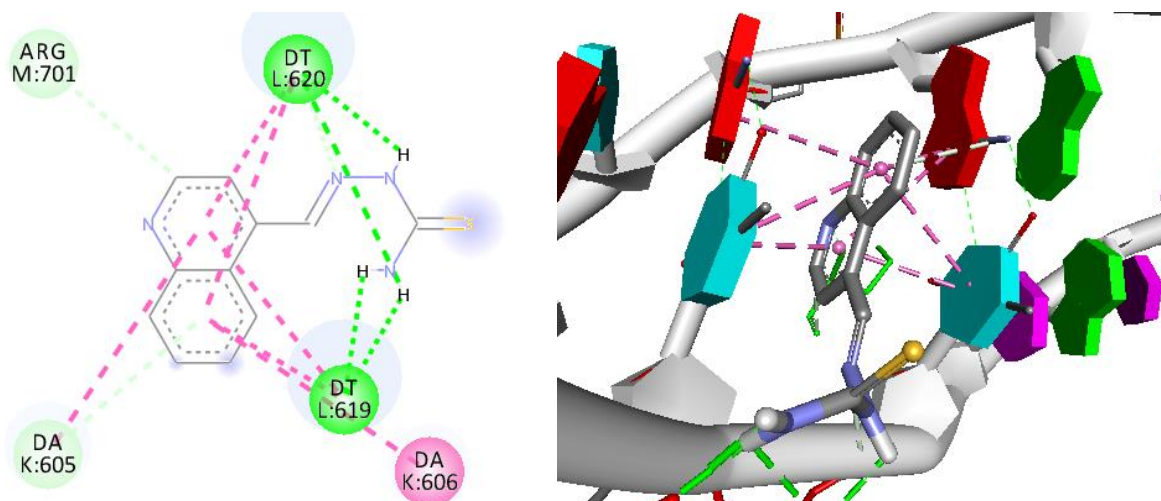
A observância de tais resultados se deve a qualidade da interação destes ligantes entres as bases nitrogenadas do ctDNA, bem como às suas interações com elementos do sulco, garantindo o desordenamento da disposição helicoidal das fitas de DNA (ver Figura 55), provocando a absorbância observada na espectrofotometria de absorção (Figura 28 e Figura 29).

Figura 28- Interação dos ligantes LqIT/JF-74 e LqIT/JF-75 com o ctDNA (1G3X).

LqIT/JF-74 (-8,75 kcal/mol)



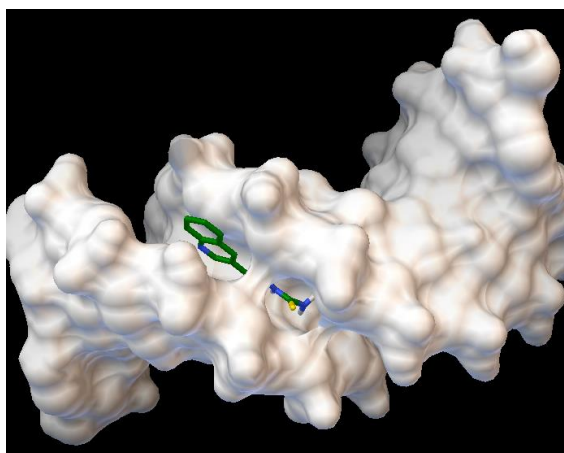
LqIT/JF-75 (-8,34 kcal/mol)



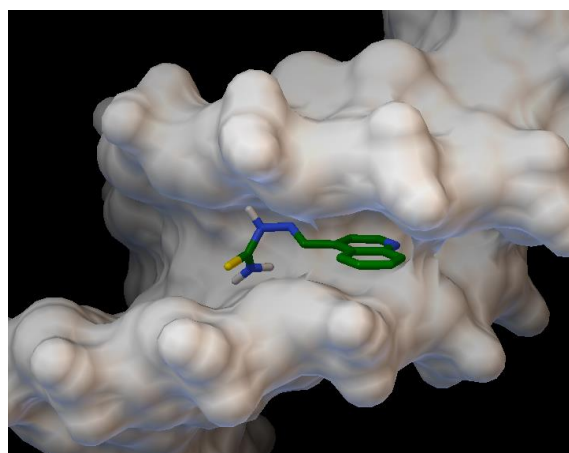
Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

Figura 29- Interação dos ligantes LqIT/JF-74 e LqIT/JF-75 com o sulco menor do ctDNA (6CQ3).

LqIT/JF-74 (-7,72 kcal/mol)



LqIT/JF-75 (-7,70 kcal/mol)



Fonte: Desenvolvido pelo autor no software AutoDockTools 1.5.6.

Os derivados indólicos mostraram energias de ligação semelhantes às quinolinas, porém neste caso houve diferenciação de grupos ligados ao núcleo heterocíclico, tanto doadores como retiradores de elétrons, o que notoriamente influenciou na energia de ligação dos ligantes indólicos frente ao ctDNA.

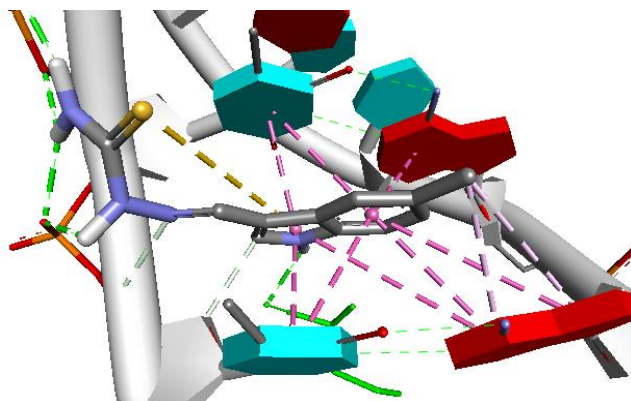
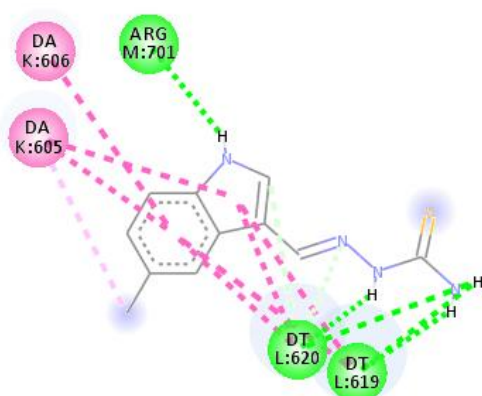
Ligantes com grupos retiradores fortes apresentam energias de ligações menores, visto que o direcionamento dos elétrons dos anéis planares para os grupos enfraquecem a intercalação por empilhamento π - π , como ocorreu no ligante LqIT/-JF-101 (4-nitro), apesar

de apresentar interações por empilhamento semelhantes aos outros derivados indólicos. Este aspecto corrobora o baixo valor de K_b para o ligante, $1,009 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (ver tabela 8), apesar de apresentar interações de empilhamento π - π do tipo *parallel-displaced* e *sandwich*, além de ligações de hidrogênio com a base adenina, A^{K:605 / 606}.

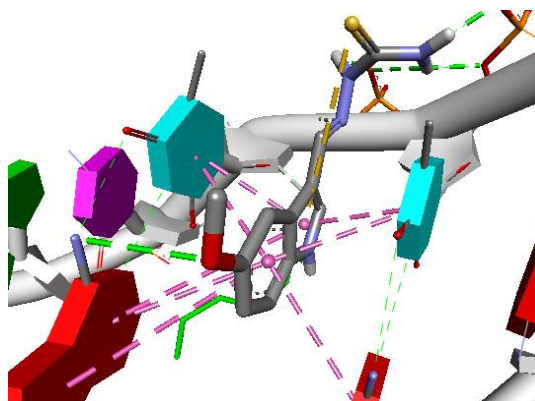
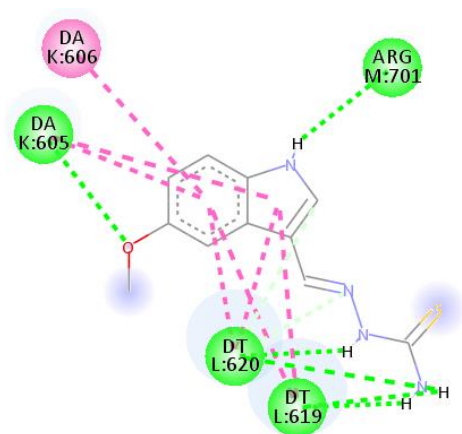
Foram evidenciadas energias de ligações maiores para os derivados indólicos com grupos elétron doadores ou retiradores fracos (halogênios), como observado nos ligantes LqIT/JF-98 (5-metil), LqIT/JF-99 (5-metóxi), LqIT/JF-100 (5-bromo) e LqIT/JF-115 (5-cloro), como energias que variaram de -8,95 kcal/mol a -8,29 kcal/mol, o que é ratificado pelos valores de K_b , que alcançam até $4,51 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ para o derivado 5-cloro e $1,88 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ para o derivado 5-metil (ver tabela 8). Estes derivados apresentaram majoritariamente empilhamento π - π do tipo *parallel-displaced* (Figura 30).

Figura 30- Interação dos ligantes LqIT/JF-98 e LqIT/JF-99 com o ctDNA (1G3X).

LqIT/JF-98 (-8,59 kcal/mol)



LqIT/JF-99 (-8,29 kcal/mol)

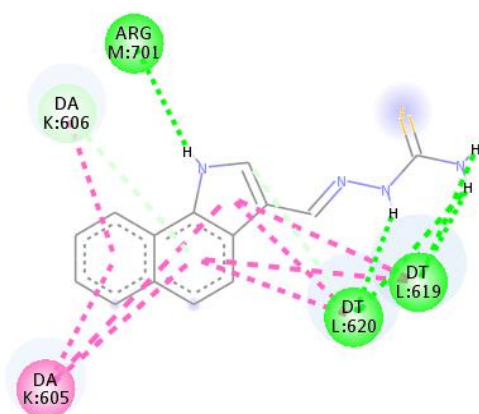


Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

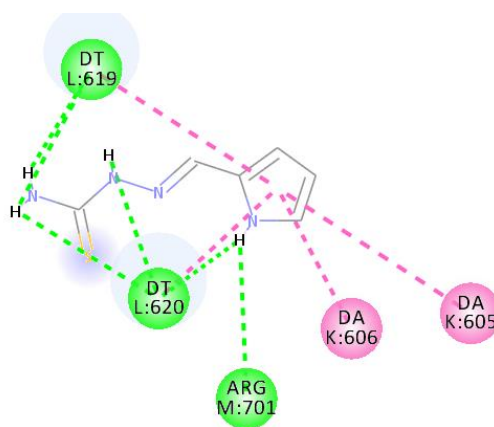
O aumento da área planar, e consequentemente da habilidade de empilhamento π - π com o ctDNA e interação com os sulcos, presente no derivado LqIT/JF-102 (benzo[g]indol), garantiram a este ligante consideráveis energias de ligação (-10,29 kcal/mol – empilhamento π - π / -9,07 kcal/mol – ligação aos sulcos), quando comparado aos outros derivados indólicos, bem como altos valores de K_b ($9,32 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) e hipercromicidade de 54,28% (ver figura 59; tabela 8), caracterizando este composto como um dos mais promissores deste estudo (Figura 31 e Figura 32).

Figura 31- Interação dos ligantes LqIT/JF-102 e LqIT/JF-116 com o ctDNA (1G3X).

LqIT/JF-102* (-10,29 kcal/mol)



LqIT/JF-116 (-6,37 kcal/mol)**



*Verificar Figura 59 para detalhamento da interação ligante-ctDNA (1G3X).

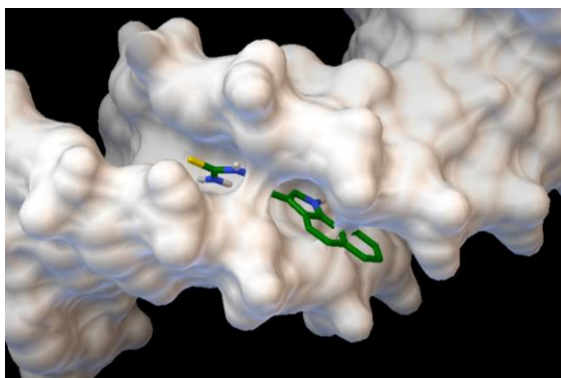
**Verificar Figura 63 para detalhamento da interação ligante-ctDNA (1G3X).

Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

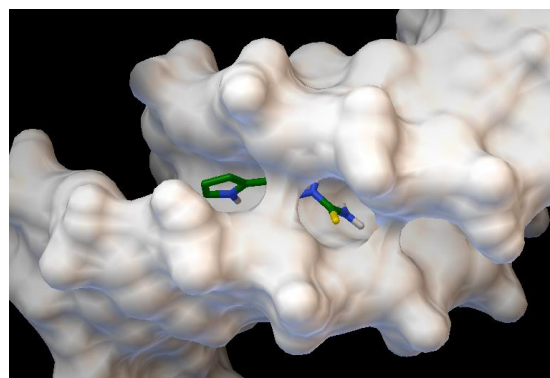
Paradoxalmente, a baixa energia de ligação do LqIT/JF-116 (pirrol), não se refletiu em uma baixa constante de ligação intrínseca, visto que para este ligante foi obtida o maior valor de K_b ($1,05 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) do estudo (ver Figura 63; tabela 8). Sua baixa energia de ligação (-6,37 kcal/mol) provavelmente se deveu ao fato de ter interagido com o ctDNA por empilhamento π - π , em interação única por base nitrogenada (ao contrário da interação tripla no LqIT/JF-102). Estas foram complementadas por ligações de hidrogênio em duas bases timina (L:619/620), em quatro hidrogênios distintos, e interação com os sulcos, que podem ter sido responsáveis pela compensação do baixo grau de empilhamento π - π (Figura 31 e Figura 32).

Figura 32- Interação dos ligantes LqIT/JF-102 e LqIT/JF-116 com o sulco menor do ctDNA (6CQ3).

LqIT/JF-102 (-9,07 kcal/mol)



LqIT/JF-116 (-6,28 kcal/mol)



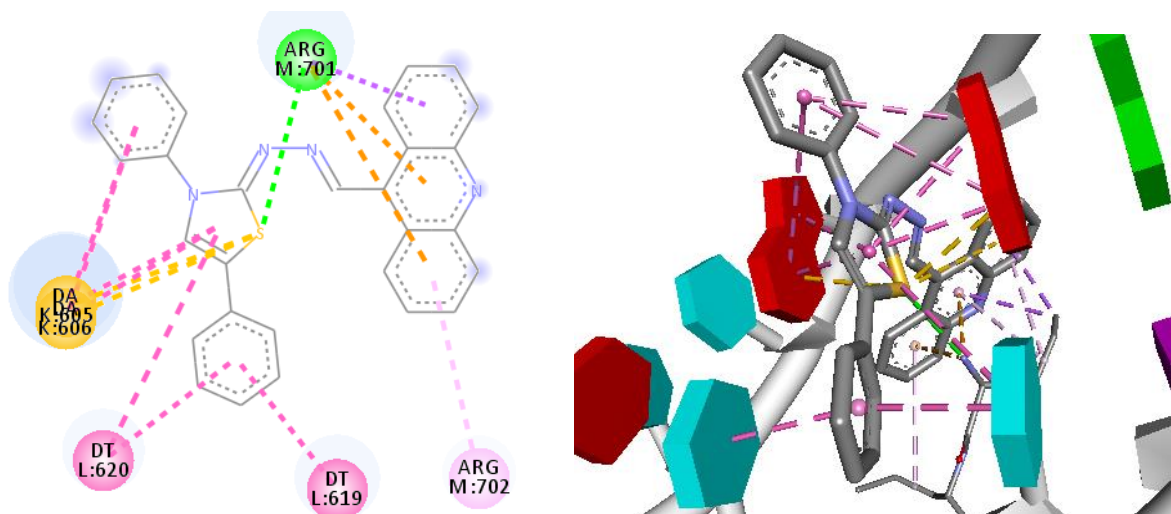
Fonte: Desenvolvido pelo autor no software AutoDockTools 1.5.6.

De maneira geral, os valores das energias de ligação dos derivados acridínicos foram maiores que os encontrados para os derivados contendo os demais núcleos, visto que possuem um núcleo intercalante tradicional em sua estrutura (acridina) (ALMEIDA et al., 2015; ARYA et al., 2015; GENSICKA-KOWALEWSKA et al., 2017; IBRAHIM; SAYED, 2018) além de uma área maior de superfície molecular planar (dois anéis aromáticos e um anel tiazolina), promovendo maior probabilidade de interação por empilhamento entre o ligante e o ctDNA.

Todos os ligantes acridínicos interagiram por empilhamento π - π do tipo *parallel-displaced* com as bases nitrogenadas do ctDNA (1G3X), alguns apresentando interação concomitante do tipo *sandwich*, com ênfase para os ligantes LqIT/JF-244 e LqIT/JF-248, que além destas, apresentam interações π -alquil-cloro e π -enxofre (Figura 33 e Figura 34). Em conjunto com as demais interações destes ligantes, incluindo interações com os sulcos, foram atribuídas a estes ligantes energias de ligação de -13,47 kcal/mol e -13,58 kcal/mol, K_b de $2,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ e $2,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, hipercromicidades de 64,7% e 26,8% e efeitos bato/hipsocrômico de $\Delta\lambda = 4 \text{ nm}$ e $\Delta\lambda = 8 \text{ nm}$ (ver Tabela 2, Tabela 8 e Figura 61).

Para o ligante LqIT/JF-243, foi verificada uma interação do tipo *amide- π* , que é classificada como não covalente do tipo $n \rightarrow \pi^*$, na qual a superfície π da amida do resíduo de arginina da macromolécula (Arg⁷⁰¹) interage com a superfície planar do anel 4-flúor (HARDER et al., 2013; SINGH; DAS, 2015). Sistemas contendo interações NH/ π (amida- π) centralizados no nitrogênio são responsáveis por um ganho de energia livre de -2,08 kcal/mol (IMAI et al., 2009; GIROUD et al., 2017; SCHAPIRA; FREITAS, 2017) (Figura 34).

Figura 33- Interação do ligante LqIT/JF-248 com o ctDNA (1G3X).



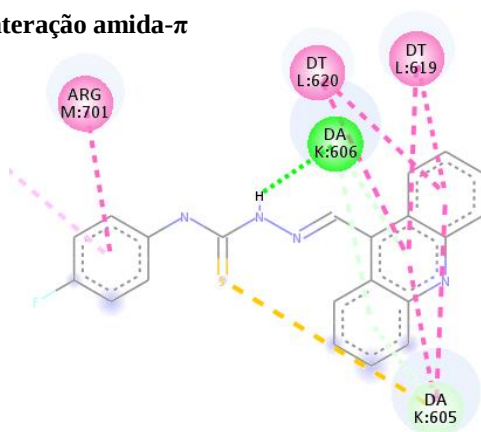
Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

Tanto o LqIT/JF-244 como o LqIT/JF-245 interagem com quatro bases nitrogenadas do ctDNA, com a participação dos seus núcleos aromáticos e o núcleo tiazolina, por empilhamentos π - π *parallel displaced* e *sandwich*. Pelo fato de o LqIT/JF-245 não apresentar a interação adicional π -alquil com o halogênio, presente no LqIT/JF-244, nem a π -enxofre presente no LqIT/JF-248, há um sensível comprometimento energético na interação do JF-245 com o ctDNA (1G3X). O aumento do número de anéis aromáticos nestes ligantes favoreceu um maior número de interações hidrofóbicas entre eles e a macromolécula, tanto por empilhamento como com os sulcos (Figura 34 e 35).

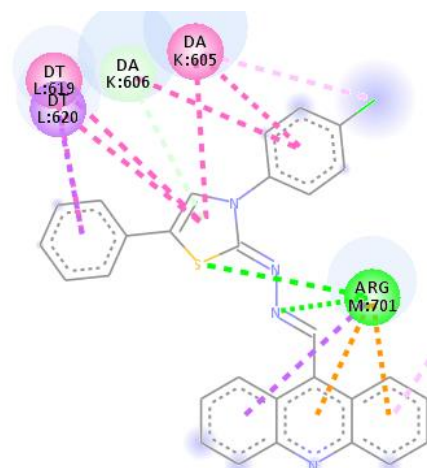
Figura 34- Interação dos ligantes LqIT/JF-243, LqIT/JF-244 e LqIT/JF-245 com o ctDNA (1G3X).

LqIT/JF-243 (-11,56 kcal/mol)

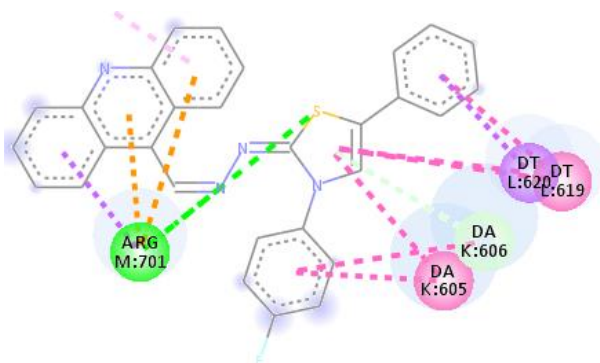
Interação amida- π



LqIT/JF-244* (-13,47 kcal/mol)



LqIT/JF-245* (-13,25 kcal/mol)

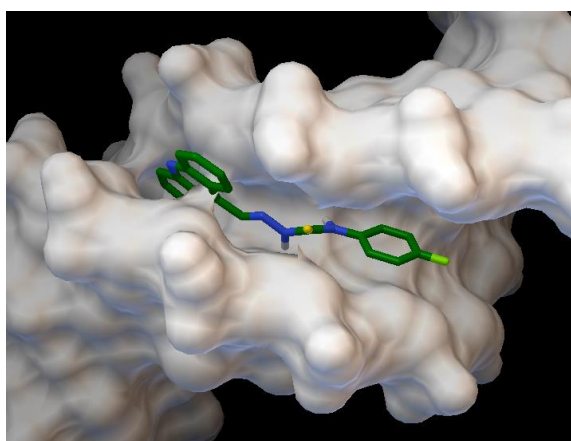


*Verificar Figura 61 para detalhamento da interação ligante-ctDNA (1G3X).

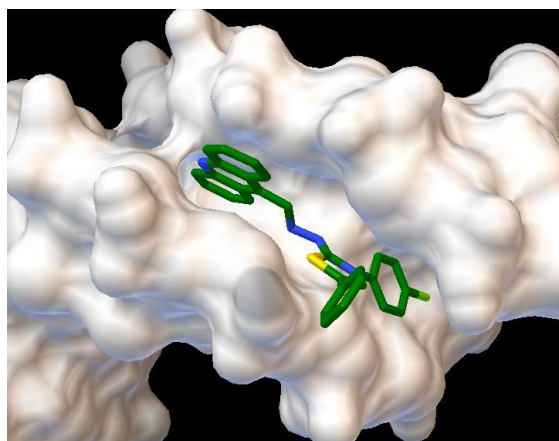
Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

Figura 35- Interação dos ligantes LqIT/JF-243, LqIT/JF-244, LqIT/JF-245 e LqIT/JF-248 com o sulco menor do ctDNA (6CQ3).

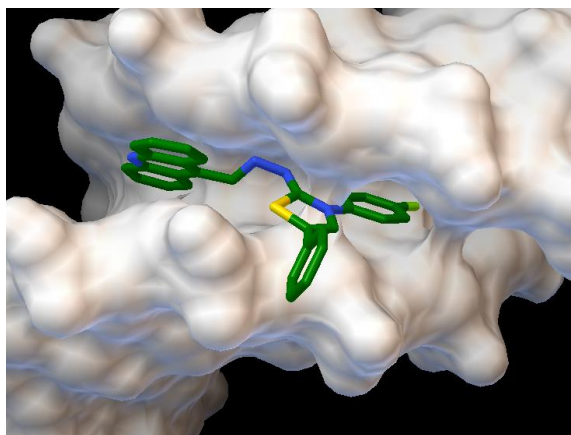
LqIT/JF-243 (-10,95 kcal/mol)



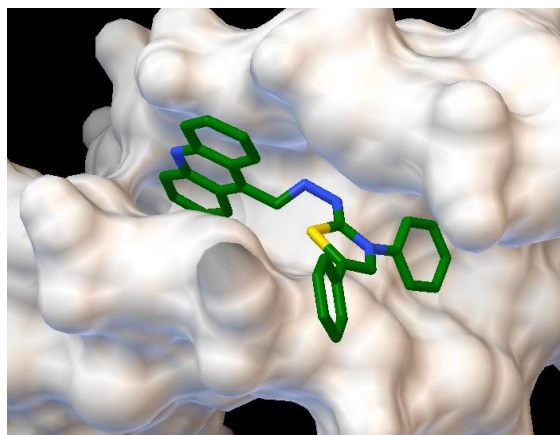
LqIT/JF-244 (-10,84 kcal/mol)



LqIT/JF-245 (-10,47 kcal/mol)



LqIT/JF-248 (-10,45 kcal/mol)



Fonte: Desenvolvido pelo autor no software AutoDockTools 1.5.6.

Em estudo recente, foi constatado que interações envolvendo um carbono alifático ou aromático na macromolécula e um cloro (LqIT/JF-244) ou flúor no ligante são uma das mais comuns interações hidrofóbicas, seguido de interações do enxofre da metionina (Met⁷⁶² e Met⁷⁶⁶, no caso de um futuro estudo com a topoisomerase II α) e um carbono aromático do ligante. Não obstante a metionina ser classificada como um resíduo hidrofóbico, as interações Met-S□□□C (aromático) promove uma estabilização adicional da interação ligante-macromolécula de 1 a 1,5 kcal/mol, quando comparamos uma interação puramente hidrofóbica (VALLEY et al., 2012; SCHAPIRA; FREITAS, 2017).

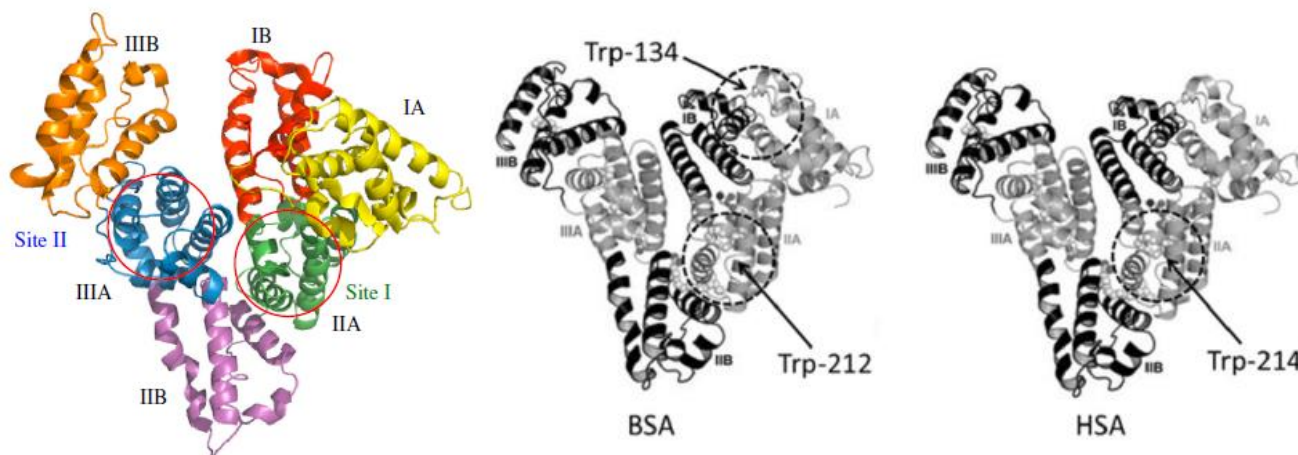
Todos estes aspectos das interações ligantes/macromolécula se traduziram em valores significativos das constantes de ligação intrínseca ($K_b = 2,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$; $2,5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$; $5,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$; $2,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$), hipercromicidade (19,57%; 64,71%; 23,91%; 26,84%), hipso/batocromicidade ($\Delta\lambda = 7 \text{ nm}$; 4 nm; 4 nm, 8 nm) e energia de ligação (-11,56 kcal/mol; -13,47 kcal/mol; -13,25 kcal/mol; -13,58 kcal/mol) para os compostos acridínicos LqIT/JF-243, LqIT/JF-244, LqIT/JF-245 e LqIT/JF-248, respectivamente (ver Tabela 2 e Tabela 8).

5.1.2 Estudo de *docking* dos derivados LqIT/JF com a albumina do soro bovino

Na indústria de medicamentos, dentre as etapas iniciais para a síntese de um potencial fármaco existe a análise de interação de compostos com proteínas, como a albumina, visto que a ligação de compostos com biomacromoléculas afeta seu perfil farmacocinético (MUHAMMAD; GUO, 2014; DE SOUZA et al., 2014).

Por sua disponibilidade, estabilidade e semelhança estrutural com a albumina humana (HSA), foi utilizada nesse estudo a albumina do soro bovino (BSA), que apresenta similaridade da estrutura terciária de 76% e uma sequência homóloga de 80%, quando a comparamos com a HSA (CARTER; HE, 1990; PETERS JR., 1995).

Interações ligante/albumina podem ocorrer em dois locais do arcabouço proteico, chamados de subdomínios, conhecidos como subdomínio IIA e IIIA. Um dos principais aminoácidos presentes nestes sítios e que interagem com os ligantes é o triptofano. Na HSA, existe apenas um aminoácido do tipo triptofano (Trp-214), localizado do subdomínio IIA, já na BSA, existe um triptofano (Trp-134) no subdomínio IB e outro no subdomínio IIA (Trp-212) (OTAGIRI et al., 2013; NAVEENRAJ; ANANDAN, 2013; DE SOUZA et al., 2014) (Figura 36).

Figura 36- Estruturas cristalizadas da HSA e da BSA.

Fontes: OTAGIRI, M. et al. *Biochimica et Biophysica Acta* 1830, 5435-5443, 2013 (colorida).

DE SOUZA, V. R. et al. *Quim. Nova*, Vol. 38, No. 2, 227-232, 2015 (preto e branco).

Para o *docking*, foi utilizada a albumina do soro bovino complexada com o naproxeno (código PDB: 4OR0) (BUJACZ et al., 2014), para a qual se buscou analisar as forças intermoleculares que ancoram os ligantes no arcabouço proteico, sejam elas interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio ou forças de van der Waals, ou ainda atrações eletrostáticas, descritas na tabela 3.

Tabela 3- Modalidades de interações e energias estimadas dos ligantes frente ao complexo BSA-Naproxeno.

Ligantes	Subdomínio de ligação	Interações hidrofóbicas / eletrostáticas			Ligações de hidrogênio	Energia de ligação (kcal/mol)
		Empilhamento π - π	π -alquila	π -sigma cátion/ ânion		
JF-73	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Arg ¹⁹⁸ /Leu ³⁴⁶ Leu ⁴⁸⁰	-	Ser ³⁴³ /Ser ⁴⁵³ Leu ⁴⁸⁰ /Arg ⁴⁸³	-7,00
JF-74	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Arg ¹⁹⁴ /Arg ¹⁹⁸	Leu ¹⁹⁷	Ala ²⁰⁹	-7,39
JF-75	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Leu ¹⁹⁷ /Arg ¹⁹⁸ Ala ²⁰⁹	Leu ³⁴⁶ Leu ⁴⁸⁰	Ser ²⁰¹ / Ser ³⁴³ Asp ⁴⁵⁰	-7,34
JF-97	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Leu ¹⁹⁷ /Leu ³⁴⁶ Val ³⁴²	Leu ¹⁹⁷ Val ³⁴²	Ala ²⁰⁹ Ser ³⁴³	-7,24

JF-98	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Leu ¹⁹⁷ /Arg ¹⁹⁸ Trp ²¹² /Val ³⁴² Leu ³⁴⁶	Leu ¹⁹⁷ Val ³⁴²	Ala ²⁰⁹ Ser ³⁴³	-7,77
JF-99	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Arg ¹⁹⁴ /Arg ¹⁹⁸	Leu ¹⁹⁷	Ser ³⁴³ / Asp ⁴⁵⁰ Leu ⁴⁸⁰	-7,36
JF-100	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Leu ¹⁹⁷ /Arg ¹⁹⁸ Ala ²⁰⁹ / Leu ³⁴⁶	Trp ²¹² Leu ⁴⁸⁰	Leu ⁴⁸⁰	-7,46
JF-101	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Arg ¹⁹⁴ / Val ³⁴² Leu ⁴⁵⁴	Leu ¹⁹⁷	Arg ¹⁹⁸ /Ser ³⁴³ Asp ⁴⁵⁰	-7,06
JF-102	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Arg ¹⁹⁴ / Val ³⁴²	Leu ¹⁹⁷ Leu ⁴⁵⁴	Ala ²⁰⁹ /Ser ³⁴³	-8,36
JF-114	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Leu ¹⁹⁷ /Arg ¹⁹⁸ Leu ³⁴⁶ /Leu ⁴⁸⁰	Trp ²¹²	Leu ⁴⁸⁰	-7,43
JF-115	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Leu ¹⁹⁷ /Arg ¹⁹⁸ Trp ²¹² /Val ³⁴²	Val ³⁴²	Ala ²⁰⁹ /Ser ³⁴³ Asp ⁴⁵⁰	-7,99
JF-116	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Leu ¹⁹⁷ /Arg ¹⁹⁸	-	Ala ²⁰⁹	-5,20
JF-242	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Leu ¹⁹⁷ /Arg ¹⁹⁸ Arg ²⁰⁸ /Ala ²¹² Leu ⁴⁸⁰ /Val ⁴⁸¹	Ala ²⁰⁹	Ala ²⁰⁹	-9,12
JF-243	Entre o IIA e o IIIA	Trp ²¹²	Leu ¹⁹⁷ /Arg ¹⁹⁴ Arg ¹⁹⁸ /Leu ⁴⁸⁰ Arg ⁴⁸³	Leu ¹⁹⁷ Leu ⁴⁵⁴	Ser ³⁴³ Arg ⁴⁸³ (F) Ser ⁴⁵³ (F) Leu ⁴⁵⁶ (F)	-9,01
JF-244	IIA	Trp ²¹²	Arg ²¹⁷ / Lys ²²¹ Leu ²³⁷ / Ala ²⁹⁰ Lys ²⁹⁴ (Cl)	Arg ¹⁹⁴ /Trp ²¹² Leu ²¹⁸ /Lys ²²¹ Glu ²⁹¹	Arg ²¹⁷ Ala ²⁹⁰	-9,25
JF-245	Entre o IIA e o IIIA	Phe ²⁰⁵ Trp ²¹²	Leu ¹⁹⁷ /Arg ¹⁹⁸ Ala ²¹² / Leu ³³⁰ Leu ³⁴⁶ / Ala ³⁴⁹ Val ⁴⁸¹	Ala ²⁰⁹ Leu ⁴⁸⁰	Ser ²⁰¹	-9,63

JF-248	IIA	Trp ²¹²	Arg ²¹⁷ /Lys ²²¹ Leu ²³⁷ /Ala ²⁹⁰	Trp ²¹² /Leu ²¹⁸ Lys ²²¹ /Glu ²⁹¹	Arg ²¹⁷ Ala ²⁹⁰	-9,04
---------------	-----	--------------------	--	--	--	-------

Ala, Arg, Asp, Glu, Leu, Lys, Ser, Trp = Resíduo dos aminoácidos alanina, arginina, ácido aspártico, ácido glutâmico, leucina, lisina, serina e triptofano, respectivamente – Proteína BSA (código PDB: 4OR0).

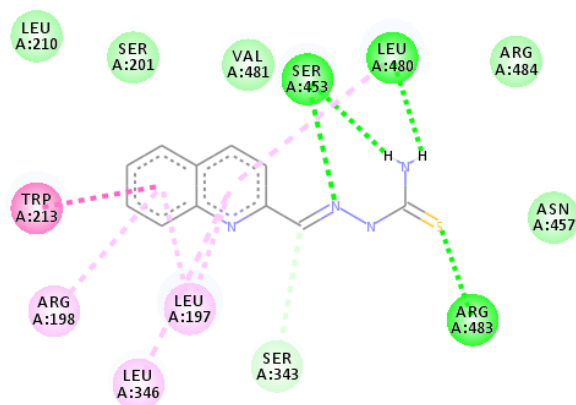
Em vista do exposto na tabela 3, é notória a participação onipresente do empilhamento π - π com o Trp²¹², bem como outras interações hidrofóbicas dos ligantes com a albumina, o que representou um papel importante na inibição da fluorescência, observada para todos os ligantes (NAVEENRAJ; ANANDAN, 2013) (ver Tabela 9).

Dentre as quinolinas, o empilhamento com ambos os anéis do Trp²¹², bem como a acomodação na cavidade hidrofóbica que circunda este aminoácido, favorecida pela ligação 3-quinolina, justificou a maior energia de ligação do ligante LqIT/JF-74, apesar de apresentar menos ligações de hidrogênio que as demais quinolinas (Figura 37). Tais características foram evidenciadas por elevados valores de K_{sv} ($2,94 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$), batocromicidade ($\Delta\lambda = 41 \text{ nm}$) e hipocromicidade (90,33%) deste ligante (ver Tabela 9).

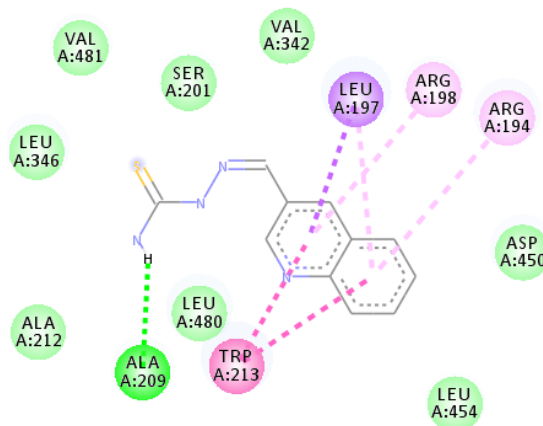
Para os derivados indólicos, destacamos os resultados dos ligantes LqIT/JF-98 (5-metil), LqIT/JF-102 (benzo[g]) e LqIT/JF-115 (5-cloro), que corroboram os valores de K_{sv} da tabela 9, classificando estes como os mais promissores ligantes indólicos para a BSA (Figura 38 e Figura 40). A inserção de um grupo metil, em um ligante localizado em uma cavidade hidrofóbica de uma proteína, provoca uma diminuição de aproximadamente $0,7 \text{ kcal mol}^{-1}$ na constante de ligação por grupo metil (DAVIS; TEAGUE, 1999; SCHAPIRA; FREITAS, 2017).

Figura 37- Interação dos ligantes LqIT/JF-73 e LqIT/JF-74 com a BSA.

LqIT/JF-73 (-7,00 kcal/mol)



LqIT/JF-74* (-7,39 kcal/mol)

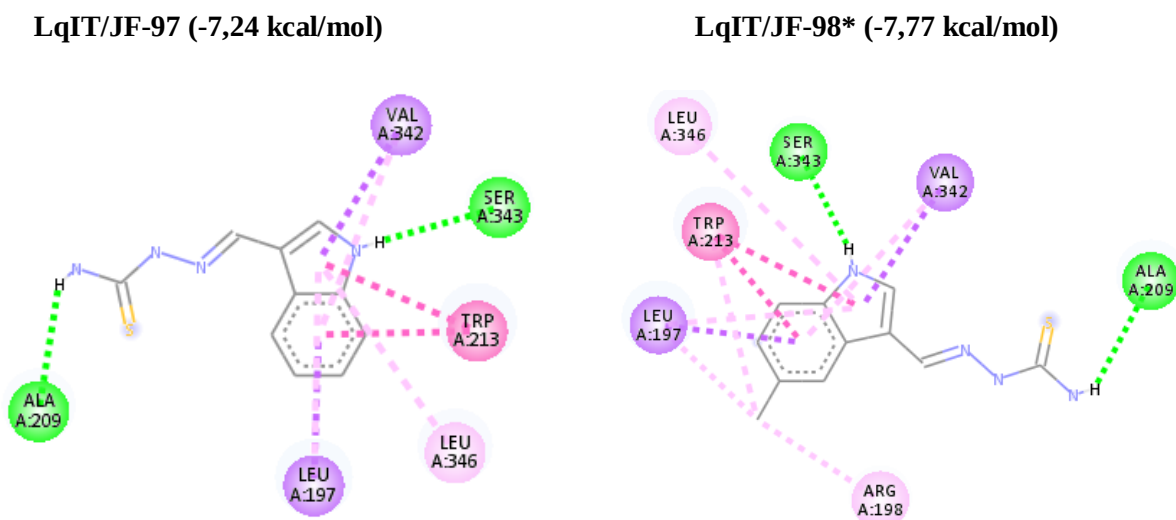


*Verificar Figura 67 para detalhamento da interação ligante-BSA.

Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

Este fato justifica a diminuição de energia de ligação, quando comparamos o LqIT/JF-97 (não substituído) ao LqIT/JF-98 (5-metil), de $-7,24 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ para $-7,77 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, e assim um incremento do K_{sv} de $1,86 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ para $2,46 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (ver Tabela 9 e Figura 38).

Figura 38- Interação dos ligantes LqIT/JF-97 e LqIT/JF-98 com a BSA.



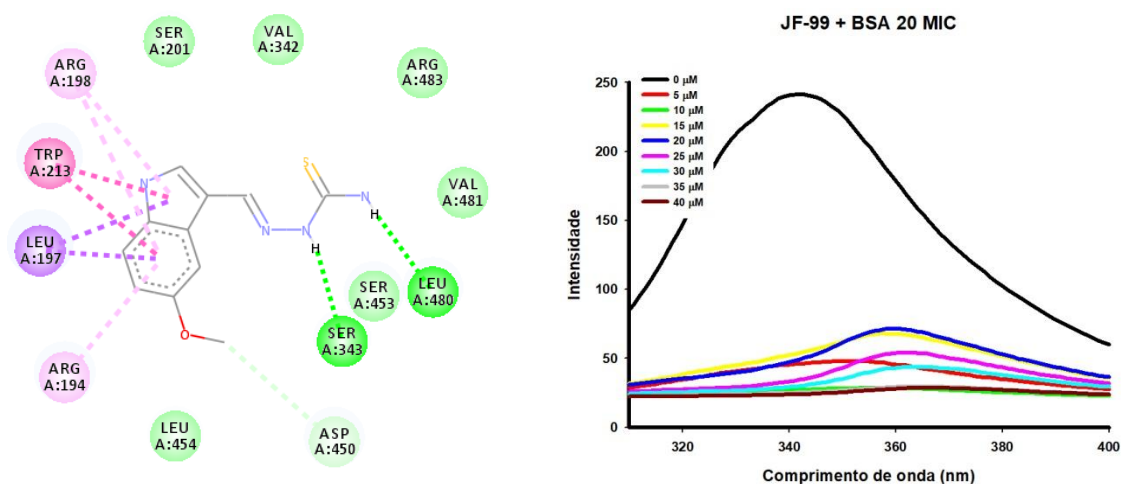
*Ver Figura 68 para detalhamento da interação ligante-BSA.

Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

Nota-se uma maior participação das interações hidrofóbicas π -alquila, com o grupo metil adicional do LqIT/JF-98, por parte dos aminoácidos Arg¹⁹⁸ e Trp²¹², que não estão presentes no LqIT/JF-97. Além do incremento do K_{sv} , adição do grupo promoveu um aumento da hipocromicidade de 87,18% para 89,73%, além de aumentar o efeito batocrômico ($\Delta\lambda$) de 17 nm para 22 nm (Ver Tabela 7).

Os resultados de hipocromicidade, $\Delta\lambda$ e K_{sv} do LqIT/JF-99 (5-metóxi) devem-se principalmente a uma ligação de hidrogênio adicional com a Asp⁴⁵⁰, e à possível estabilização do empilhamento π - π por efeito indutivo do grupo metóxi, tornando a interação núcleo indol $\square\square\square$ Trp²¹² relativamente mais estável, quando comparamos este ligante com os demais derivados indólicos. Tais características enquadram o LqIT/JF-99 como um dos mais eficientes ligantes do estudo, visto que promoveu supressão quase total da fluorescência da albumina na concentração de apenas 5 μM , enquanto para os demais ligantes foram necessárias concentrações maiores (10 μM - 40 μM) (ver Tabela 9; Figura 39).

Figura 39- Interação do ligante LqIT/JF-99* com a BSA e espectro de emissão de fluorescência da albumina do soro bovino (BSA) na presença de quantidades crescentes do ligante.



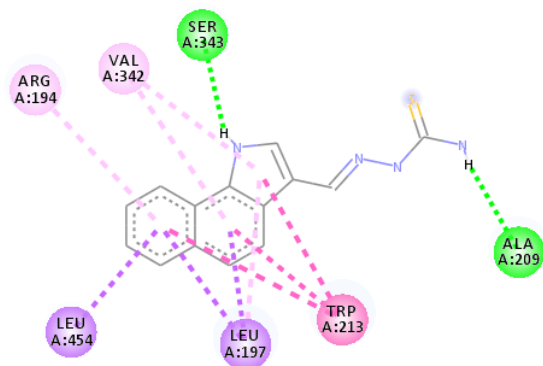
*Ver Figura 68 para detalhamento da interação ligante-BSA.

Fonte: Desenvolvido pelo autor nos softwares Discovery Studio Visualizer 17.2.0 e Sigma Plot 10.0.

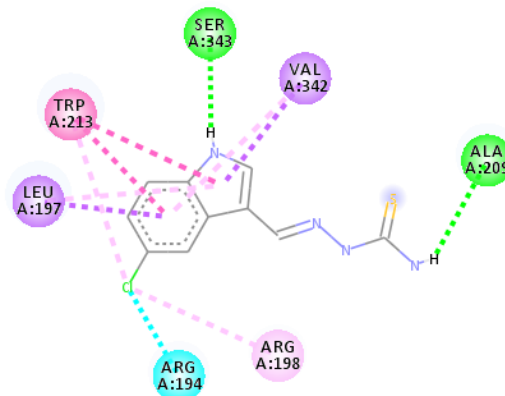
As interações com o Trp²¹², bem como interações hidrofóbicas adicionais devido ao anel fenil adicional (LqIT/JF-102 / benzo[g]), ou átomo de cloro (LqIT/JF-115 / 5-cloro), proporcionaram a estes ligantes uma intensa afinidade pelo sítio de ligação com a albumina, constatada pelas energias de ligação de $-8,36 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $-7,99 \text{ kcal mol}^{-1}$, além dos relevantes valores para batocromicidade, hipocromicidade e K_{sv} , para ambos os ligantes (ver Tabela 9) (Figura 40).

Figura 40- Interação dos ligantes LqIT/JF-102 e LqIT/JF-115 com o complexo BSA-Naproxeno.

LqIT/JF-102* ($-8,36 \text{ kcal/mol}$)



LqIT/JF-115* ($-7,99 \text{ kcal/mol}$)



*Ver Figura 68 para detalhamento da interação ligante-BSA.

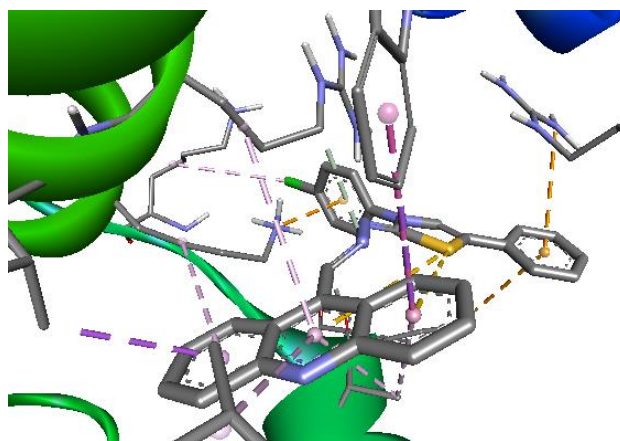
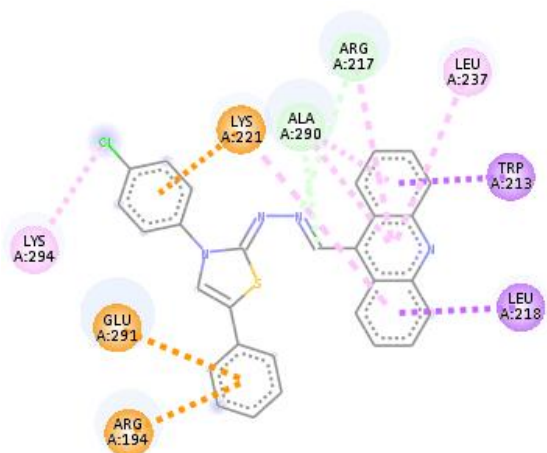
Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

Para todos os derivados acridínicos foram obtidos valores de energia de ligação acima de 9,00 kcal mol⁻¹, devido a uma maior área de interação entre os ligantes e a BSA, possibilitando aos compostos realizarem interações adicionais que não estão presentes nos demais derivados do estudo.

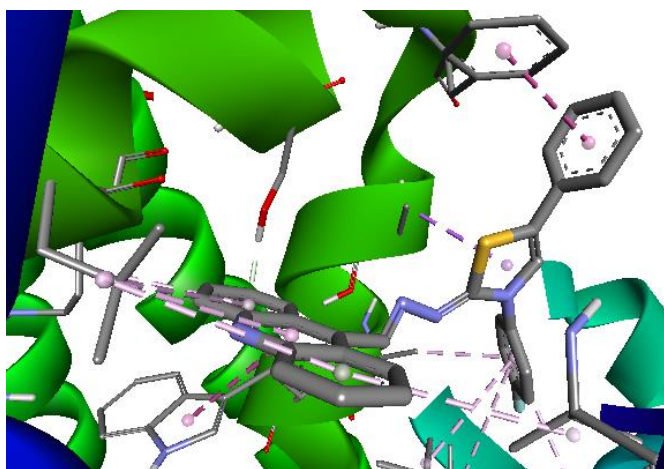
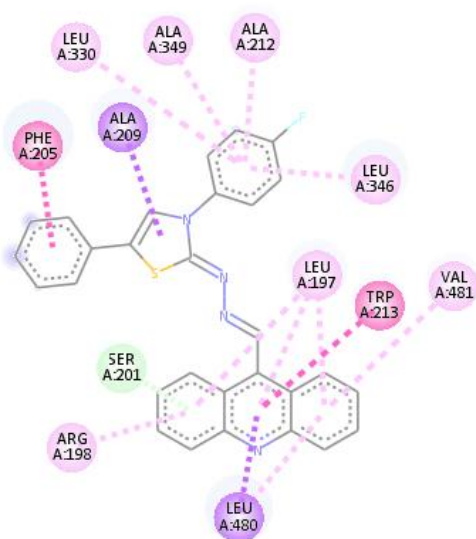
Os melhores resultados foram verificados para os ligantes tiazólicos LqIT/JF-244 e LqIT/JF-245, cujas interações atingiram diversos aminoácidos da BSA, inclusive empilhamentos π - π *T-shaped*, para ambos. No derivado LqIT/JF-245 foi evidenciado um empilhamento π - π *T-shaped* com a Phe²⁰⁵ da BSA, a única interação para este aminoácido evidenciada no estudo, e um empilhamento π - π *sandwich* com a porção acridina (Figura 41).

Figura 41- Interação dos ligantes LqIT/JF-244 e LqIT/JF-245 com o complexo BSA-Naproxeno.

LqIT/JF-244 (-9,25 kcal/mol)



LqIT/JF-245 (-9,63 kcal/mol)



Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

Nos testes de interação *in vitro* com os derivados acridínicos foram verificados resultados de K_{sv} , $\Delta\lambda$ e hipocromicidade inferiores aos demais ligantes do estudo, apesar de haverem apresentado energias de ligação superiores no *docking* molecular (ver Tabela 3 e Tabela 9). Tais inconsistências se devem ao fato de nos testes *in silico* não haver influência das propriedades doadoras eceptoras de ligações de hidrogênio dos ligantes com as moléculas de água, visto que estas são eliminadas antes das análises de *docking*, o que influencia no custo energético para romper a estrutura cristalina no estado sólido, permitindo sua solvatação (HILL; YOUNG, 2010; DO AMARAL; PICCIRILLO, 2018).

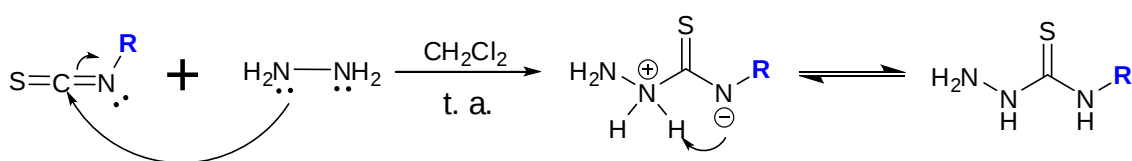
Em qualquer interação ligante-receptor ocorre o deslocamento de moléculas de água nas superfícies polares do receptor. A dessolvatação de regiões polares tem um custo entálpico que deve ser compensado pela formação de ligações de hidrogênio no complexo ligante-receptor. No entanto, a perda entálpica associada ao deslocamento de moléculas de água não foi tão prejudicada nas análises do estudo, visto que a maioria dos aminoácidos que participam das interações com os ligantes possuem cadeias laterais apolares, como a alanina (Ala), leucina (Leu), fenilalanina (Phe), triptofano (Trp) e valina (Val) (BISSANTZ et al., 2010; DO AMARAL; PICCIRILLO, 2018).

5.2 MECANISMOS DE SÍNTESE DAS TIOSSEMICARBAZIDAS, DOS DERIVADOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS E DOS DERIVADOS TIAZOLÍNICOS

Nesta seção serão descritos os mecanismos de síntese, detalhamento espectroscópico e dados espectroscópicos dos compostos obtidos neste trabalho.

Para obtenção das tiossemicarbazidas foi utilizado o método descrito por Papastaikoudi et al. (1995), Gürsoy et al. (1997) e Duffy et al. (2002), no qual o isotiociano sofre ataque nucleofílico da hidrazina no carbono posicionado entre os dois heteroátomos eletronegativos, favorecendo a carga parcial positiva (δ^+) neste carbono. Posteriormente, o hidrogênio hidrazínico migra para o nitrogênio amídico reestabelecendo a carga formal nula no derivado tiossemicarbazida (Esquema 16).

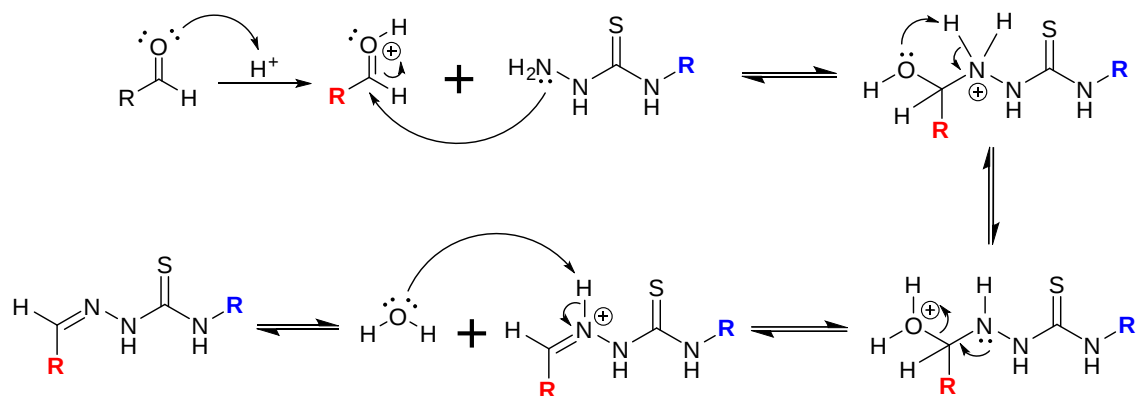
Esquema 16- Mecanismo de síntese das tiossemicarbazidas substituídas.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

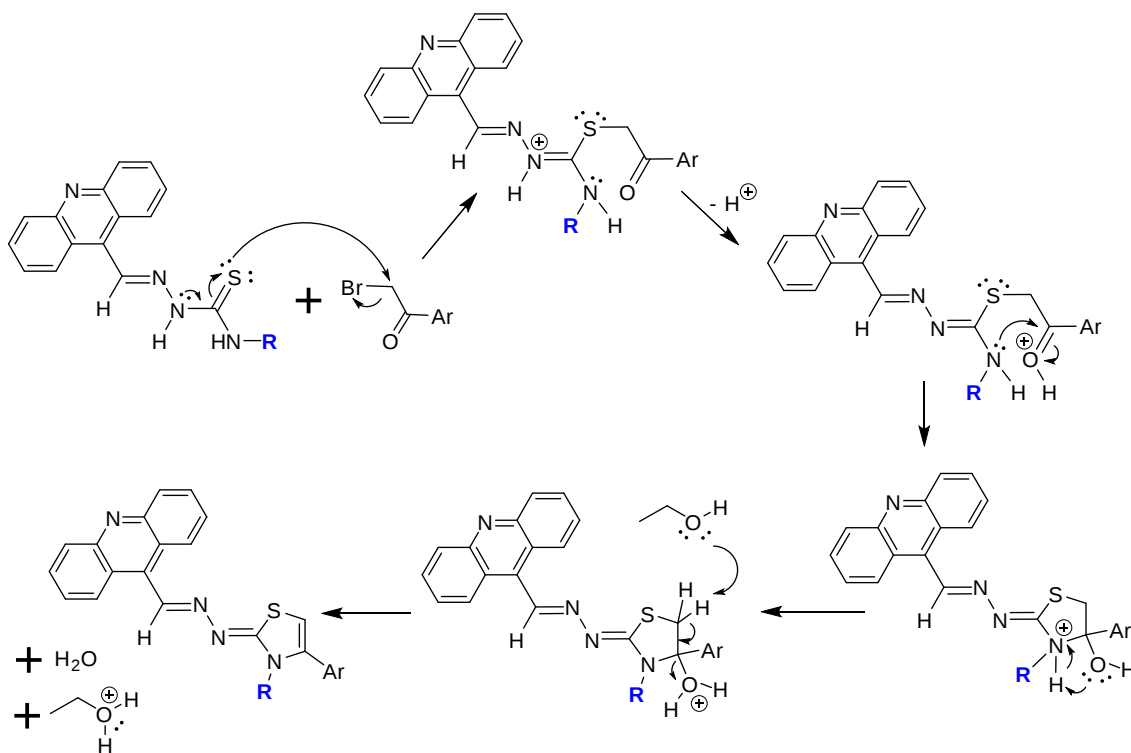
Foram obtidas neste trabalho 14 tiossemicarbazonas e 3 tiazolinas por meio da reação de acridina/indol/pirrol/quinolina-carboxaldeídos (Esquema 17) com as tiossemicarbazidas obtidas de isotiocinatos aromáticos, descritas anteriormente (Esquema 12), e da reação das acridina-tiossemicarbazonas com a 2-bromoacetofenona (Esquema 18).

Esquema 17- Mecanismo de síntese das tiossemicarbazonas substituídas.



Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

Esquema 18- Mecanismo de síntese das acridina-tiazolinas.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

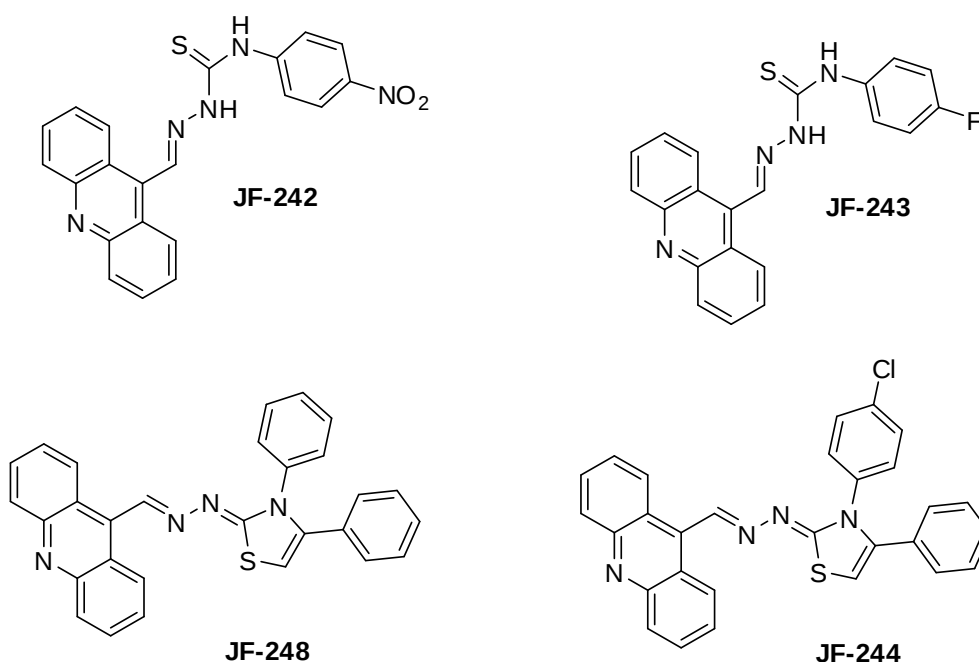
5.2.1 Análises espectroscópicas dos derivados acridina-tiossemicarbazonas e acridina-tiazolinas (LqIT/JF)

De modo a determinar com precisão a obtenção dos derivados almeçados, foram utilizadas as técnicas de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Hidrogênio (RMN ^1H), de Carbono (RMN ^{13}C) e DEPT. Além destas, as amostras das moléculas foram submetidas a análises espectroscópicas para detectar relação de acoplamento entre hidrogênios-hidrogênios (análise homonuclear - COSY) e carbono-hidrogênio (análise heteronuclear - HSQC) presentes nas moléculas obtidas, com o intuito de realizar a caracterização estrutural das mesmas.

Para determinação das massas exatas dos compostos foi utilizado o espectrômetro de massa com tecnologia MALDI-TOF/MS (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization - Time-of-Flight/Mass Spectrometer*) ou Ionização/Dessorção de Matriz Assistida por Laser Tempo-de-Vôo / Espectrômetro de Massa).

Com o objetivo de analisar os parâmetros espectroscópicos, foram elencados os compostos LQIT/JF-242, LQIT/JF-243, LQIT/JF-244, e LQIT/JF-248, mostrados na figura 42, enfatizando adicionalmente as análises bidimensionais e técnicas bidimensionais, como COSY ^1H - ^1H e HSQC ^1H - ^{13}C , para este último.

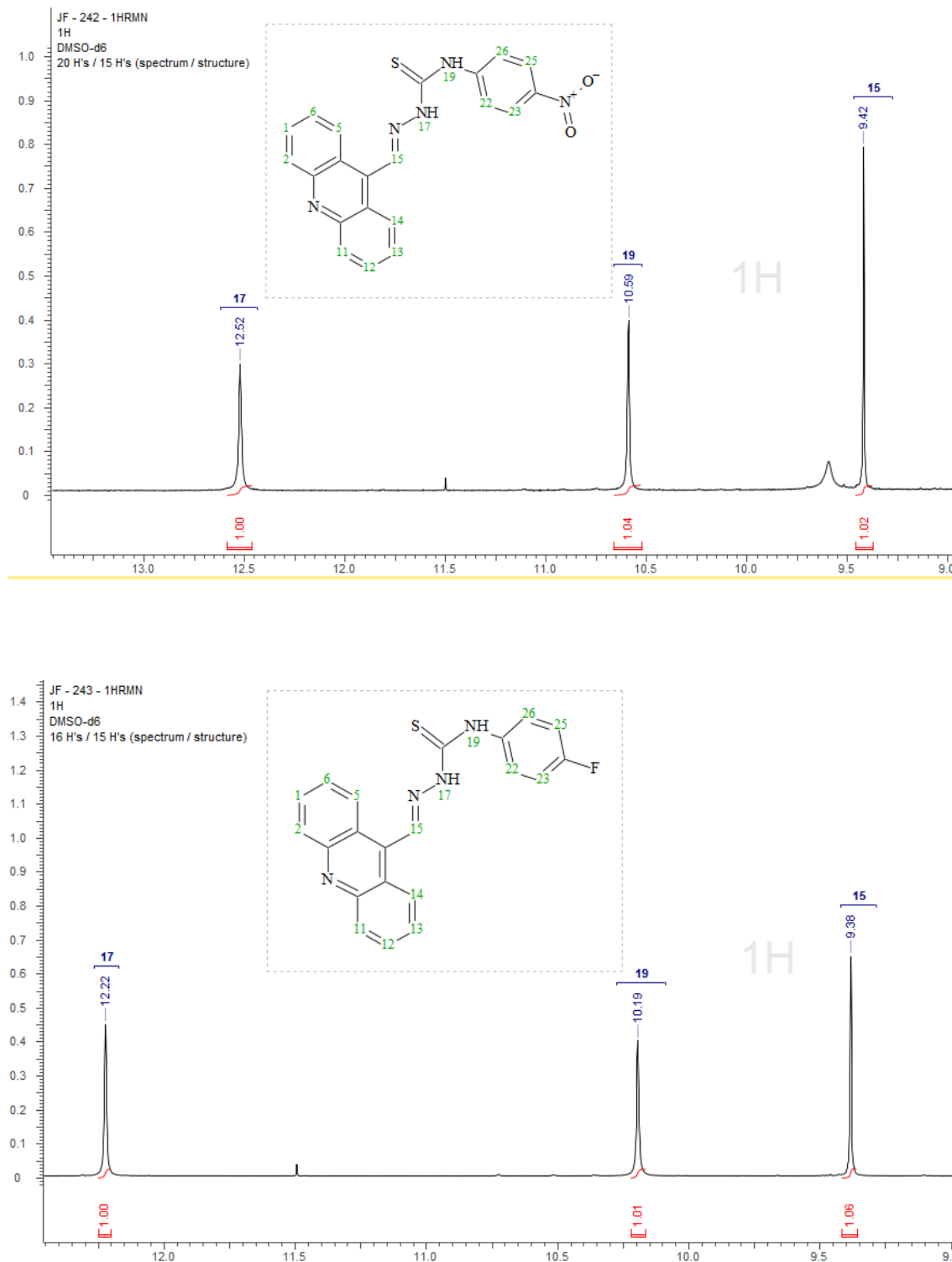
Figura 42- Estruturas moleculares dos compostos LqIT/JF-242, JF-243, JF-244 e JF-248.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

Com o objetivo de verificar a influência de grupos elétron doadores e elétron retiradores na análise de RMN, optou-se por analisar os espectros de RMN ^1H dos compostos JF-242 e JF-243, mostrados na figura 43.

Figura 43- Espectros de RMN ^1H (campo baixo) dos compostos JF-242 e JF-243.



Em ambos os espectros, observa-se o padrão de sinais para tiossemicarbazonas em δ 12 ppm, δ 10 ppm e δ 9 ppm, caracterizando os deslocamentos dos hidrogênios hidrazínico (17), hidrogênio tioamídico (19) e hidrogênio azometínico (15), regiões características que corroboram a obtenção destes derivados (VENKATACHALAM *et al.*, 2017). É evidente a desblindagem causada pelo ligante 4-nitro no composto JF-242, visto que o seu caráter elétron retirador influencia todo o sistema eletrônico molecular (Tabela 4).

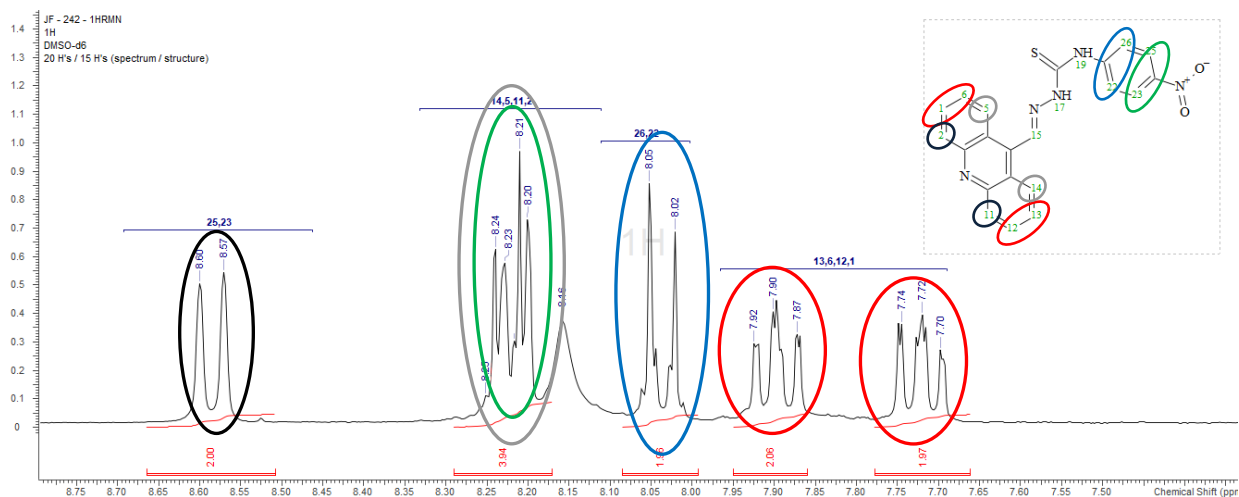
Tabela 4- Deslocamentos químicos dos hidrogênios hidrazínico (17), tioamídico (19) e azometínico (15) dos compostos LQIT/JF-242 e JF-243.

Hidrogênios/Compostos	JF - 242	JF -243	$\Delta\delta^*$
Hidrazínico	12,52 ppm	12,22 ppm	0,30 ppm
Tioamídico	10,59 ppm	10,19 ppm	0,40 ppm
Azometínico	9,42 ppm	9,38 ppm	0,04 ppm

* $\Delta\delta$ = Diferenças entre os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos compostos.

Ao analisarmos a região de aromáticos (Figura 44), alguns aspectos se tornam bem evidentes devido à mudança do ligante, no que concerne aos deslocamentos dos hidrogênios aromáticos. Os multipletos (*m*) dos hidrogênios acridínicos (em vermelho) não sofrem influência no deslocamento com a alteração do ligante, apresentando *J* entre 8,79 Hz e 8,82 Hz nos dois compostos, ambos situados entre δ 7,92 - 7,70 Hz. Já os hidrogênios acridínicos H1, H4, H5 e H8 (em preto e cinza), apresentam uma sensível mudança no deslocamento de um composto para o outro.

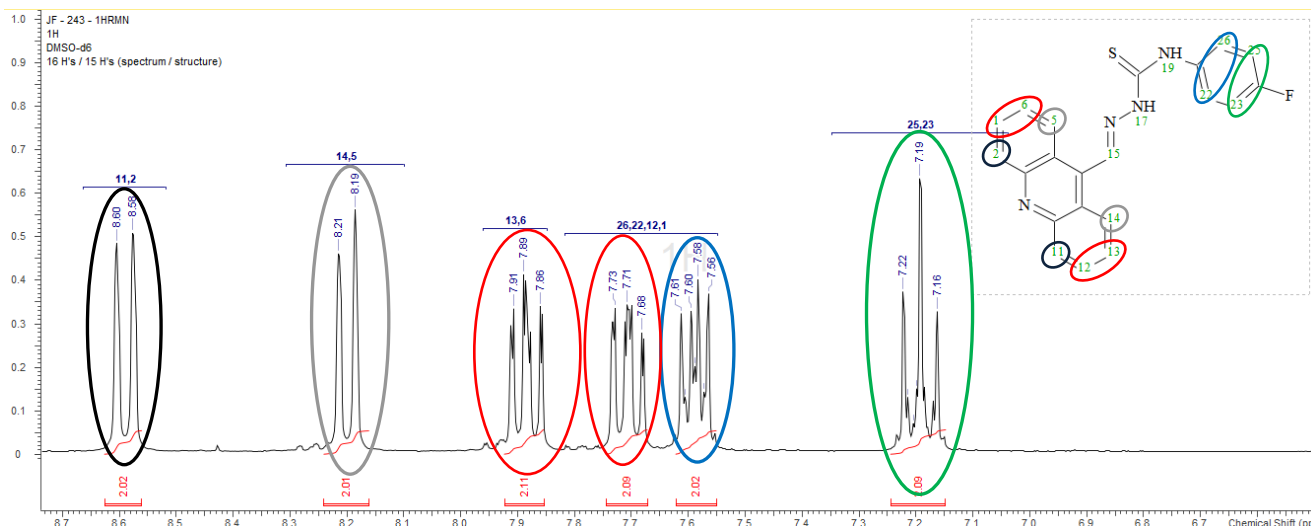
Figura 44- Espectros de RMN ^1H da região de aromáticos do composto JF-242.



No JF-242, os hidrogênios dos carbonos circulados em verde se encontram em posição *orto* ao ligante nitro, ou seja, em região mais desblindada, apresentando sinal em δ 8,23 ppm e $J = 8,22$ Hz. Já os hidrogênios circulados em azul, que estão em região mais blindada (posição *meta* em relação ao ligante nitro), pelo fato de o mesmo ser um *meta* dirigente, é evidenciado em δ 8,05 ppm e $J = 8,22$ Hz, valor de constante de acoplamento que corrobora o acoplamento dos hidrogênios tratados.

No composto JF-243, pelo fato de haver um ligante *orto-para* dirigente, há uma maior blindagem em relação aos hidrogênios em posição *orto* ao ligante flúor. Desta forma, o deslocamento é apresentado em δ 7,19 ppm e $J = 12$ Hz (em verde), como mostrado na figura 45.

Figura 45- Espectros de RMN ^1H da região de aromáticos do composto JF-243.



O deslocamento apresentando pelo sinal em 7,19 ppm é justificado pelo fato de o spin do flúor (^{19}F) ser $\frac{1}{2}$, idêntico ao spin do hidrogênio, justificando-se o acoplamento destes hidrogênios com os hidrogênios *meta* e com o átomo de flúor. Além deste fato, a constante de acoplamento (J) deste sinal é de 9,39 Hz, ratificando o acoplamento dos hidrogênios *orto* com o flúor, como tratado na literatura (PAVIA et al., 2015). Em δ 7,58 ppm (em azul) é evidenciado outro sinal referente ao acoplamento dos hidrogênios *meta* com o flúor (J^4) e com os hidrogênios *orto* (LIÃO et al., 2015), também apresentando constante de acoplamento de 9,39 Hz.

Prótons quimicamente equivalentes são, por vezes, também magneticamente equivalentes; no entanto, quando prótons quimicamente equivalentes não são magneticamente equivalentes, geralmente há inconsistências na aparência do espectro de RMN. Núcleos que

são magneticamente equivalentes darão “espectros de primeira ordem” que podem ser analisados usando a Regra $n + 1$. Núcleos que não são magneticamente equivalentes às vezes fornecem espectros de segunda ordem, nos quais sinais podem aparecer em multipletos, como foi verificado no espectro acima descrito (PAVIA et al., 2015).

Em relação aos espectros de RMN ^{13}C destes compostos, são apresentados os sinais de deslocamentos que corroboram a obtenção das tiossemicarbazonas, tais como o carbono da tiocarbamida, os carbonos acridínicos e o carbono imínico (Figura 46; tabela 5).

Figura 46- Espectros de RMN ^{13}C (campo baixo) dos compostos JF-242 e JF-243.

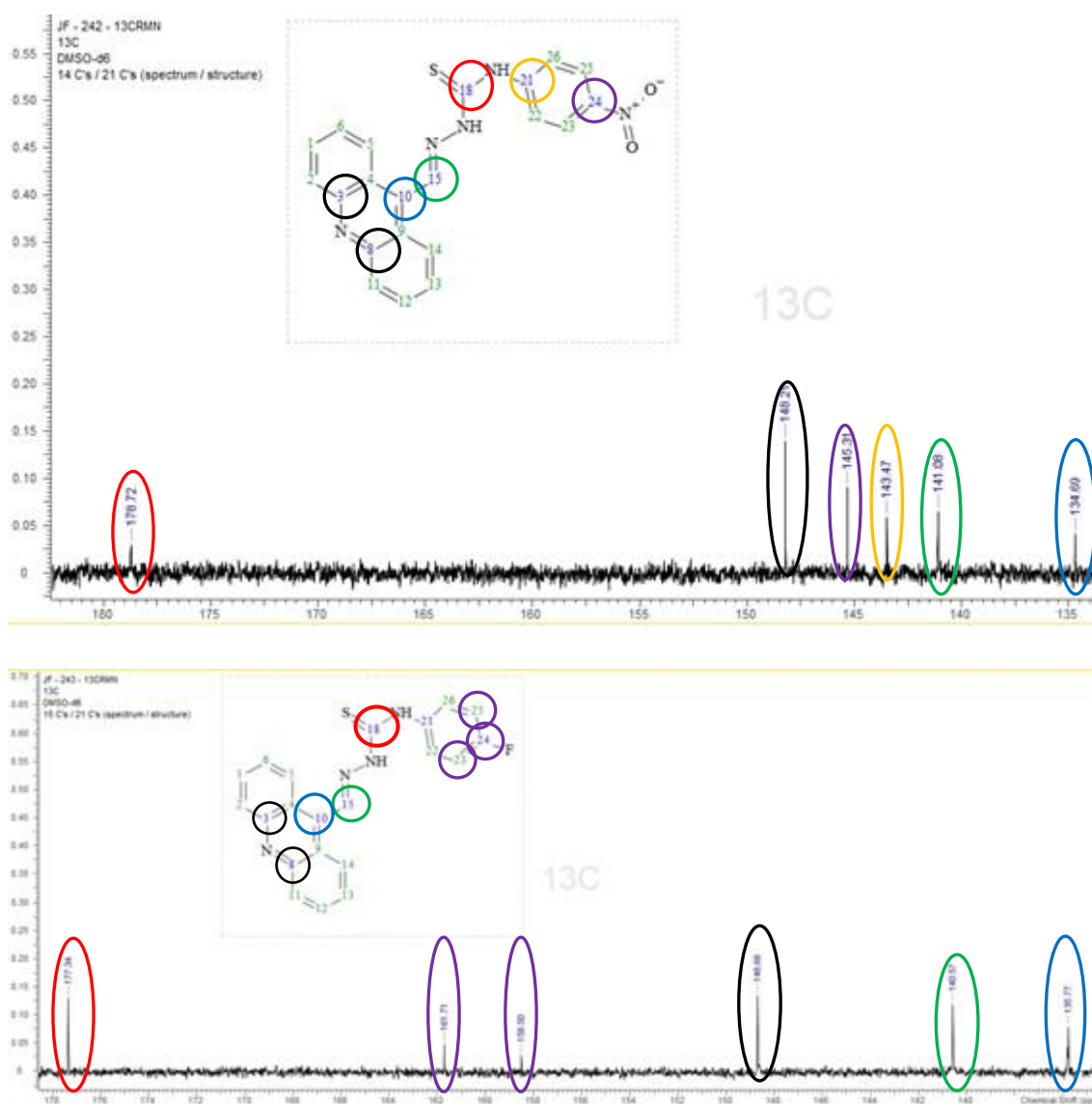


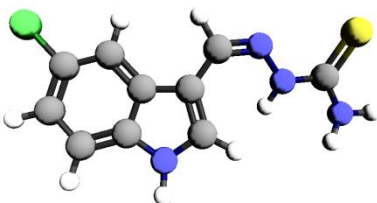
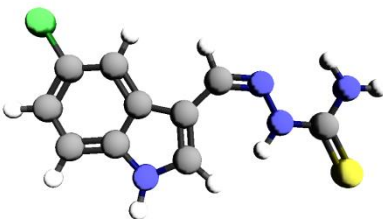
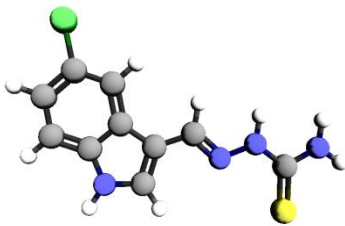
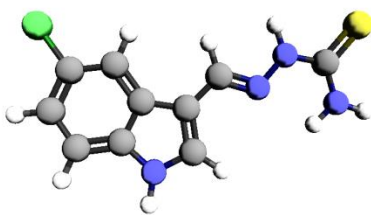
Tabela 5- Deslocamentos químicos dos carbonos da tiocarbamida, os carbonos acridínicos e o carbono imínico dos compostos LqIT/JF-242 e JF-243.

Carbonos/Compostos	JF - 242	JF -243	$\Delta\delta^*$
Tiocarbamida	178,7 ppm	177,3 ppm	1,4 ppm
Acridínicos	148,2 ppm	148,7 ppm	0,5 ppm
Imínico	141,1 ppm	140,6 ppm	0,5 ppm

* $\Delta\delta$ = Diferenças entre os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos compostos.

Como há nas tiossemicarbazonas o carbono sp^2 imínico, existe a possibilidade da formação de isômeros *Z* e *E*. Para verificação do calor (entalpia) de formação e realizar inferências acerca do isômero mais estável, ou seja, aquele em que é verificado o menor calor de formação, as energias foram calculadas utilizando o software MOPAC 2016, no método PM6. Para o composto LqIT/JF-115 em questão foram verificados os seguintes valores das energias de formação, na tabela 6.

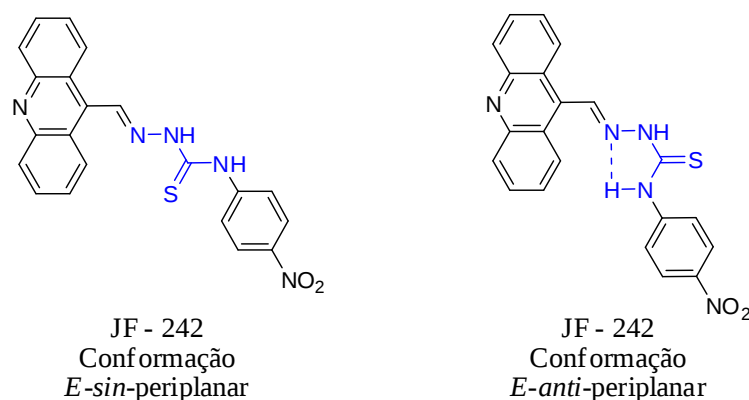
Tabela 6- Valores da entalpia de formação do composto LqIT/JF-115 nas conformações *Z-sin-periplanar*, *Z-anti-periplanar*, *E-sin-periplanar* e *E-anti-periplanar*.

Compostos	Isômeros <i>Z</i>	
	<i>Sin</i>	<i>Anti</i>
JF – 115	 $\Delta H_f = 373,31 \text{ kJ mol}^{-1}$	 $\Delta H_f = 328,94 \text{ kJ mol}^{-1}$
	Isômeros <i>E</i>	
	<i>Sin</i>	<i>Anti</i>
	 $\Delta H_f = 365,78 \text{ kJ mol}^{-1}$	 $\Delta H_f = 337,92 \text{ kJ mol}^{-1}$

Fonte: Desenhado e otimizado pelo autor nos softwares Avogadro 1.0.2 e MOPAC 2016.

Por meio do cálculo destas energias, pode-se constatar que os isômeros com menor energia de formação são os isômeros *E*, fato que é corroborado pela literatura em um estudo realizado por Moreira et al. (2014). Dentre estes isômeros, os de conformação *anti*-periplanar mostram o menor valor de calor de formação, e quando confrontado ao estudo de Casas et al. (2000), evidencia-se o fato de que as tiossemicarbazonas, quando analisadas quanto ao hidrogênio tioamídico e o nitrogênio imínico, podem formar ligações de hidrogênio (em azul), estabilizando a molécula (Figura 47). Estes dados podem ser confrontados com os dados de Tenório et al. (2005), que propuseram que as tiossemicarbazonas de conformação *anti*-periplanar são as que apresentam menores valores para energia de formação.

Figura 47- Estrutura do composto LqIT/JF-242 em conformações *E-sin*-periplanar e *E-anti*-periplanar.

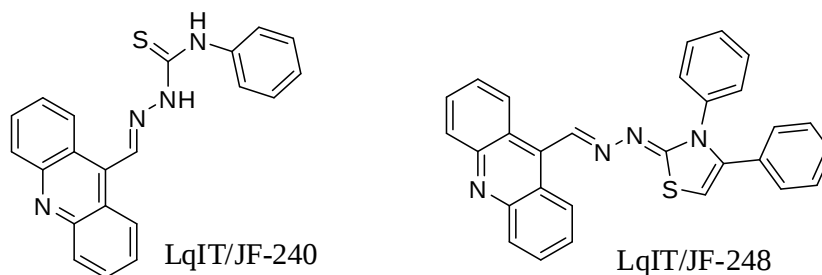


Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

Com o objetivo de caracterização do composto tiazolínico LqIT/JF-248, foram empregadas as técnicas unidimensionais RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT, bem como as técnicas bidimensionais COSY (*Correlation spectroscopy*) e HSQC (*Heteronuclear single quantum correlation*).

Os espectros de RMN do ligante tiazolínico LqIT/JF-248 foram confrontados com os espectros da tiossemicarbazona LqIT/JF-240, obtida por Almeida et al. (2015), mostrados na figura 48.

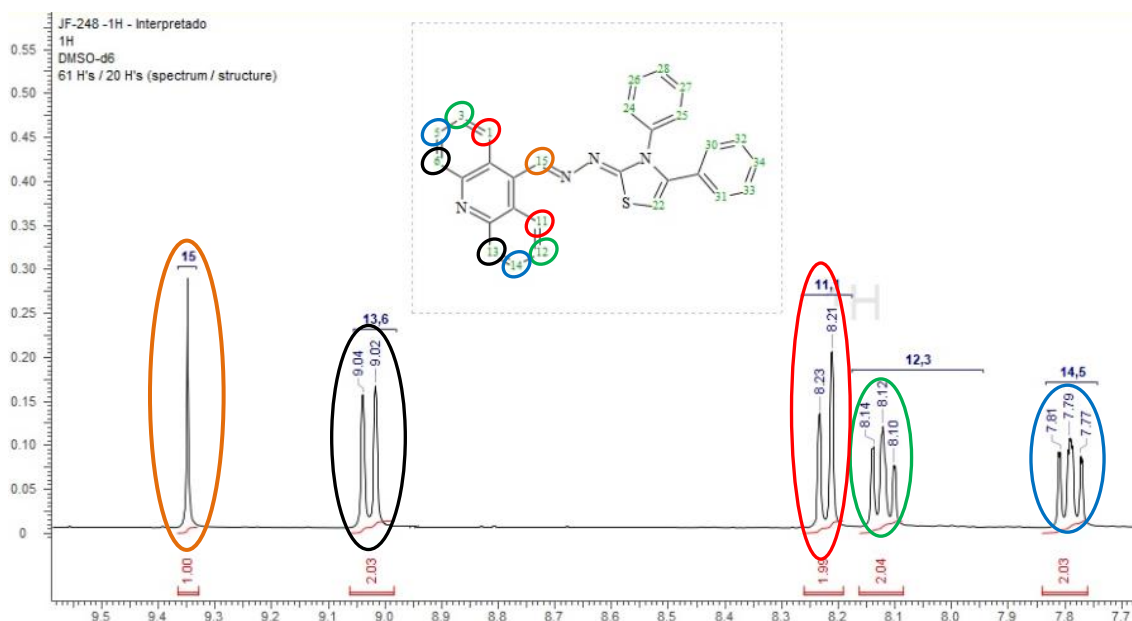
Figura 48- Estruturas moleculares dos compostos LqIT/JF-240 e LqIT/JF-248.



Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

Quando comparados, os espectros de RMN ^1H evidenciam alterações nos deslocamentos dos hidrogênios acridínicos e aromáticos, fundamentais para diferenciar a tiossemicarbazona do respectivo derivado tiazolínico JF-248. Pelo fato de tratar-se de compostos acridínicos, no RMN de ^1H são evidenciados multipletos dos hidrogênios H1, H11, H6 e H13 (em preto e vermelho) e multipletos dos hidrogênios H3, H12, H5 e H14 (em verde e azul) dos hidrogênios acridínicos que fundamentam a caracterização destes compostos (Figura 49). Nos seguintes espectros estão também evidentes os sinais do hidrogênio azometínico (em marrom), sinal diagnóstico da obtenção do composto tiazolínico. Os dados comparativos são mostrados na tabela 7.

Figura 49- Espectros de RMN ^1H dos compostos JF-248 (campo baixo) e JF-240 (completo).



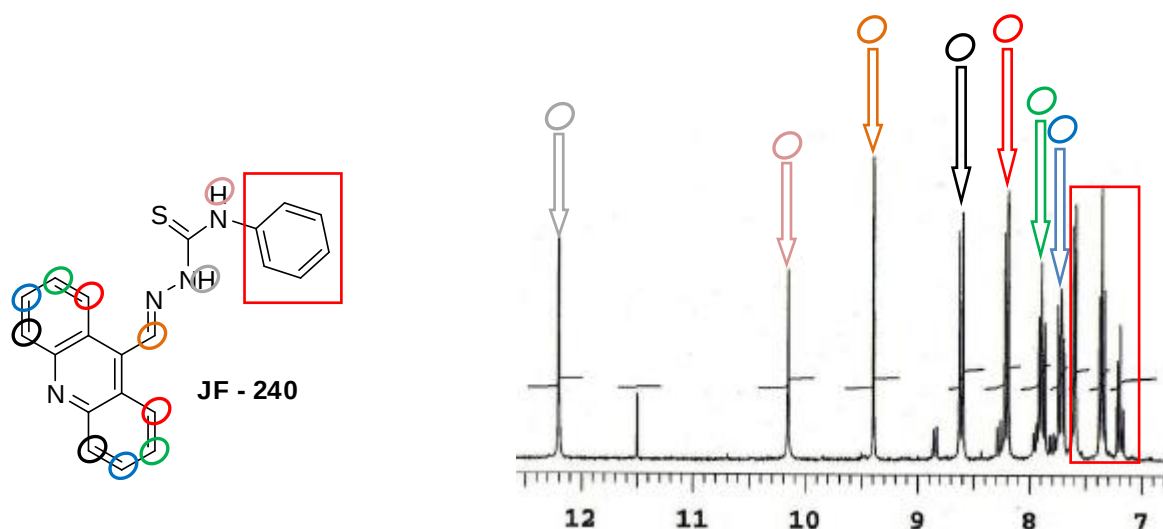


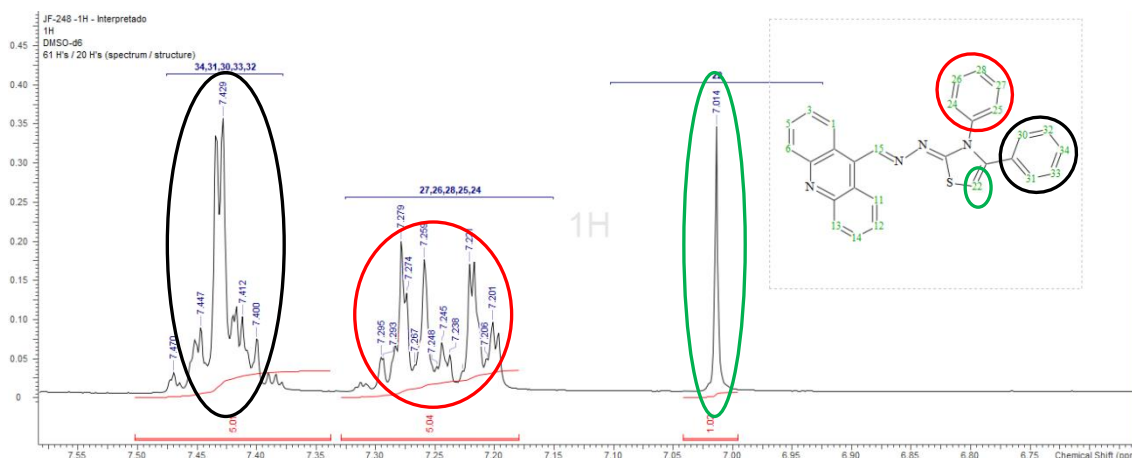
Tabela 7- Deslocamentos químicos (δ em ppm), multiplicidades e constantes de acoplamento (J) dos hidrogênios dos compostos LqIT/JF-240 e LqIT/JF-248.

Hidrogênios/Compostos	LqIT/JF-240	LqIT/JF-248
Azometínico	9,39 (s, 1H)	9,35 (s, 1H)
Acridínicos	8,61 (m, 2H, $J = 8,7$ Hz)	9,03 (m, 2H, $J = 8,6$ Hz)
Acridínicos	8,20 (m, 2H, $J = 8,7$ Hz)	8,23 (m, 2H, $J = 8,6$ Hz)
Acridínicos	7,89 (m, 2H, $J = 8,4$ Hz)	8,14 (m, 2H, $J = 7,7$ Hz)
Acridínicos	7,72 (m 2H, $J = 8,4$ Hz)	7,81 (m, 2H, $J = 7,7$ Hz)

Na região de aromáticos do composto JF-248 (Figura 50) são evidenciadas duas regiões de multipletos de deslocamentos distintos. Esta constatação se deve ao fato de um dos anéis aromáticos ser ligado ao nitrogênio da tiazolina, que por ser elétron doador, exerce efeito de blindagem do anel, sendo apresentado por deslocamentos entre δ 7,30 - 7,19 ppm. Já o outro aromático é representado por um multiplete em região de deslocamento menos blindada, entre δ 7,47 – 7,38 ppm. Nesta imagem, o hidrogênio tiazolínico é evidenciado por um simpleto em δ 7,01 ppm, que representa um sinal diagnóstico da obtenção da tiazolina.

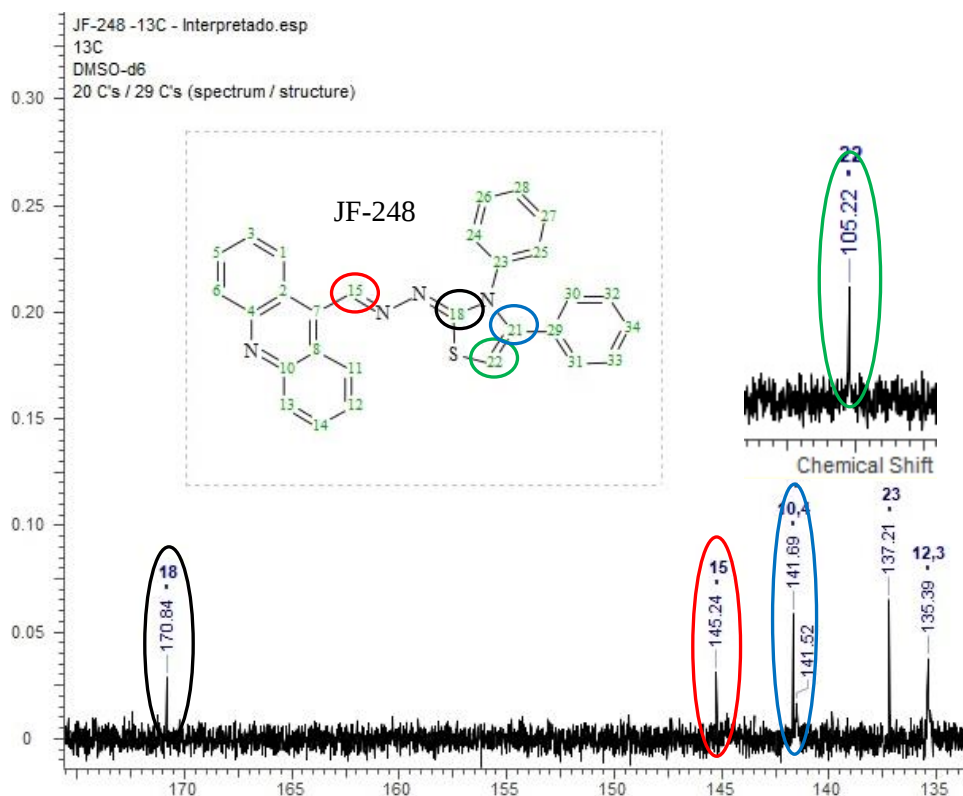
Para a tiossemicarbazona LqIT/JF-240, os hidrogênios aromáticos (retângulo vermelho) são representados por dois sinais em δ 7,19 ppm (m, 1H, $J = 7,5$ Hz) e 7,36 ppm (m, 2H, $J = 7,8$ Hz) e um sinal em 7,60 ppm (m, 2H, $J = 7,8$ Hz) (Figura 49).

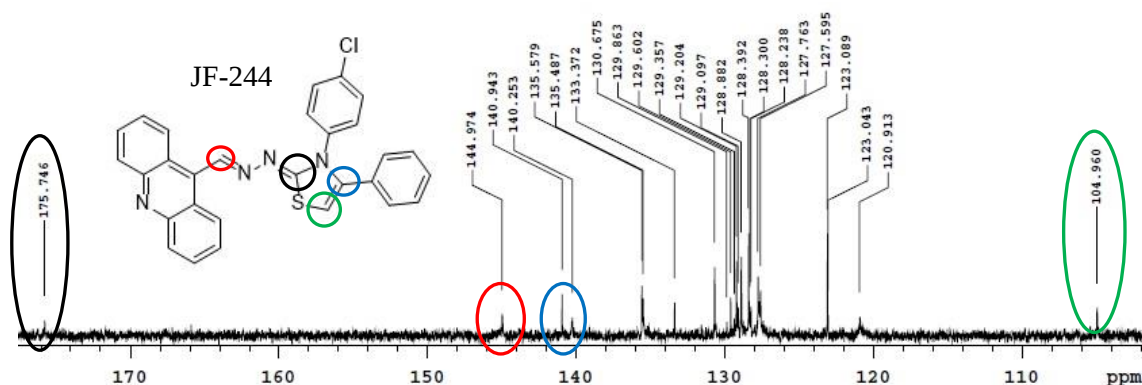
Figura 50- Deslocamentos químicos da região de aromáticos do composto JF-248.



No espectro de RMN ^{13}C , os sinais que atestam a obtenção da tiazolína são os que indicam o carbono imínico e os três carbonos que formam o heterociclo tiazolínico (Figura 51), sendo dois deles provenientes da 2-bromoacetofenona (C4 e C5) e um da tiossemicarbazona (C2), blocos construtores deste composto. O sinal do C2 quaternário é destacado em δ 170,8 ppm, já os sinais para os C4 e C5, estão presentes respectivamente em 141,7 ppm e 105,22 ppm. O sinal do carbono azometínico é evidenciado em 145,2 ppm.

Figura 51- Espectros de RMN ^{13}C dos compostos JF-244 e JF-248.

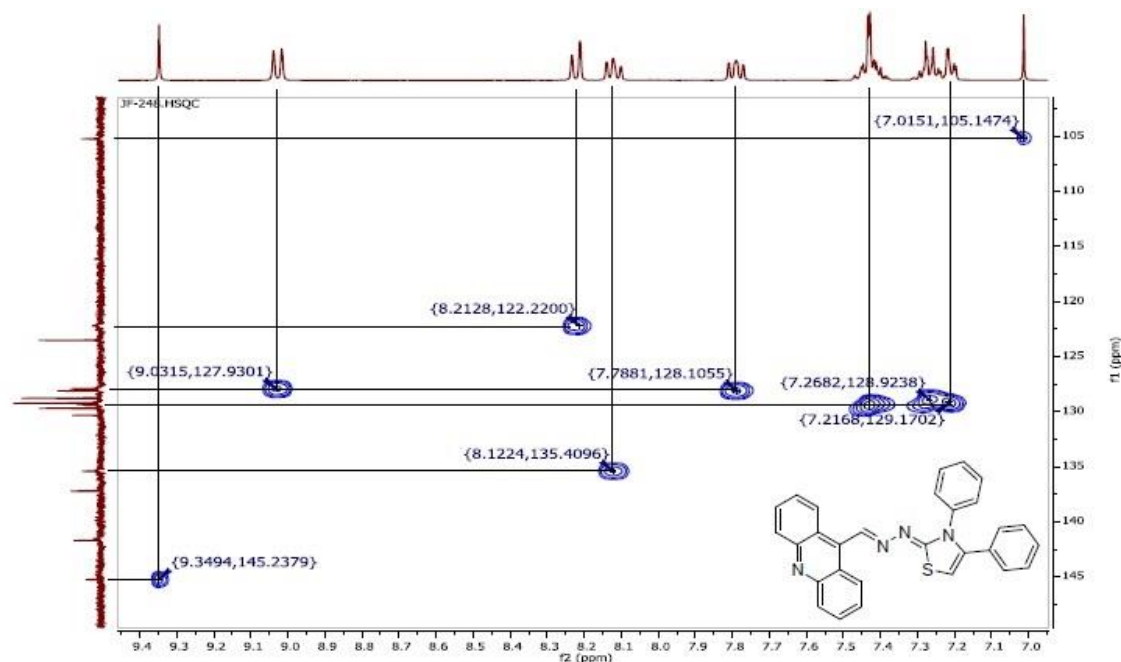




Para o composto LqIT/JF-244, o sinal do C2 quaternário é mostrado em δ 175,7 ppm, já os sinais para os C4 e C5 da tiazolina, estão salientados respectivamente em δ 140,9 ppm e 105,2 ppm. Já o sinal do carbono azometínico é evidenciado em 145,2 ppm (BRAGA et al., 2016).

Para confirmação deste fato, bem como para corroboração de acoplamentos entre carbono e hidrogênios do LqIT/JF-248, o composto foi submetido às técnicas de HSQC (Figura 52), DETP (Figura 53) e COSY (Figura 54).

Figura 52- Espectro bidimensional de HSQC do composto LqIT/JF-248.

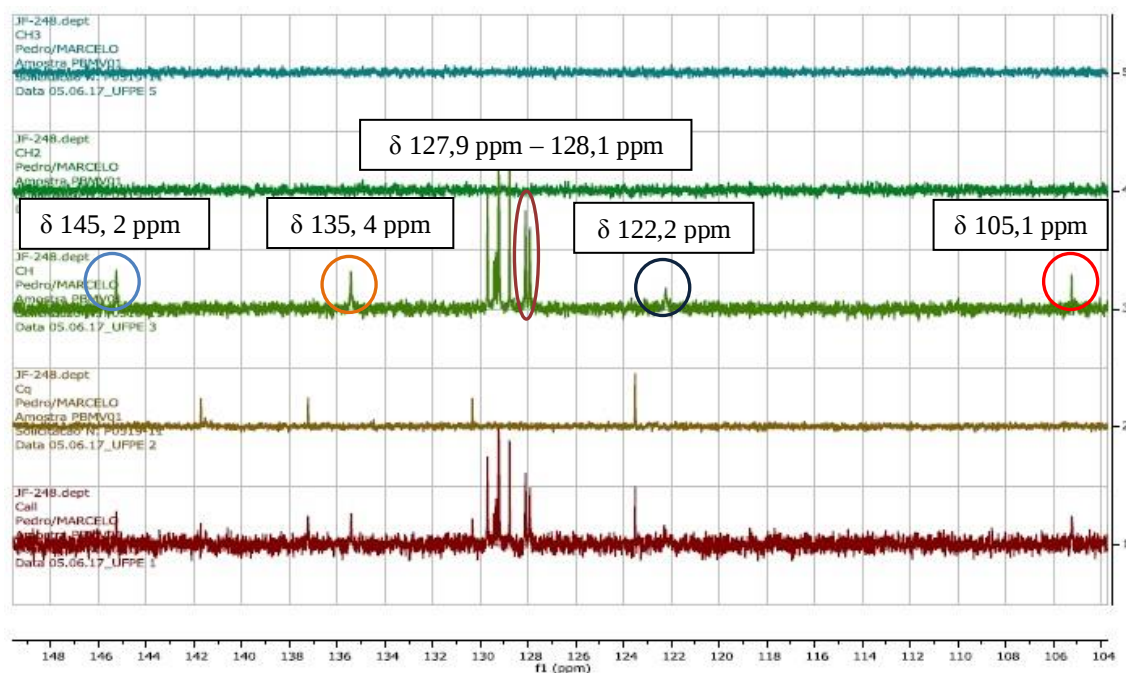


A correlação do simpleto do hidrogênio em δ 7,01 ppm com o carbono δ 105,1 ppm denota a posição do hidrogênio do C5 no anel tiazolínico, que no DEPT é mostrado como CH. O sinal de carbono em δ 145,2 ppm, no DEPT mostrado como CH, está correlacionado ao

simpleto do hidrogênio azometínico, que é evidenciado em deslocamento de 9,35 ppm. Os sinais em δ 9,03 e 8,21 ppm característicos de hidrogênios acridínicos acoplam carbonos CH (DEPT), cujos sinais estão nos deslocamentos 127,9 ppm e 122,2 ppm, respectivamente.

Os sinais em δ 7,78 e 8,12 ppm também característicos de hidrogênios acridínicos acoplam com carbonos CH (DEPT), cujos sinais estão nos deslocamentos 128,1 ppm e 135,4 ppm, respectivamente.

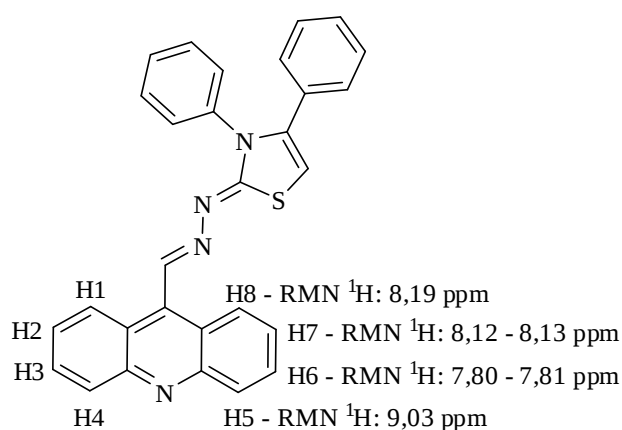
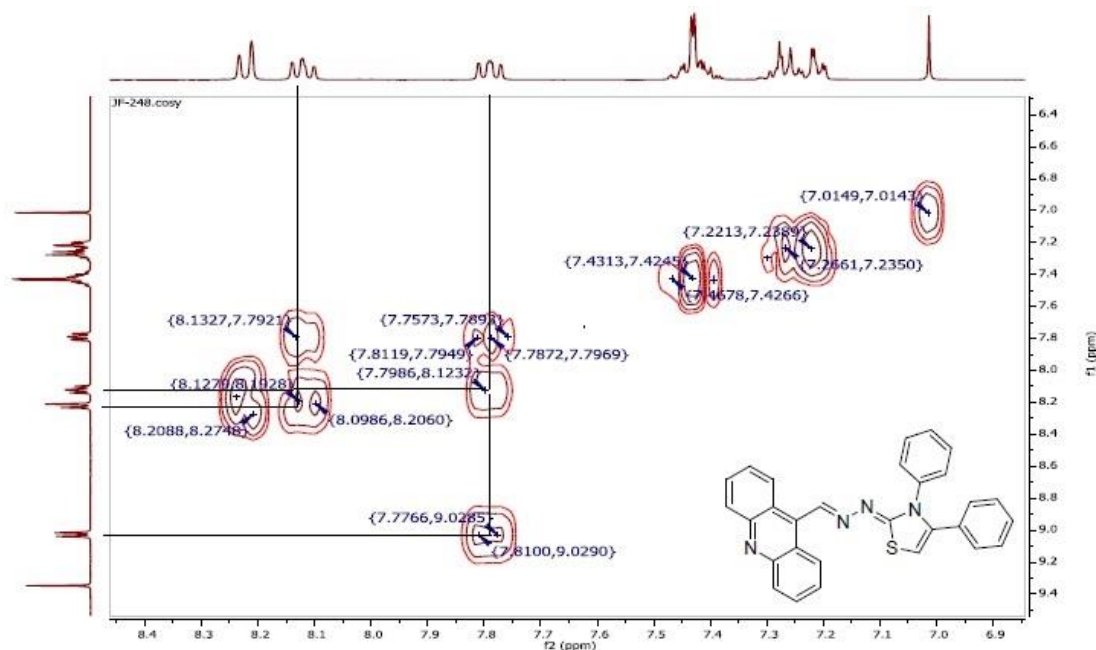
Figura 53- Espectro DEPT do composto LqIT/JF-248.



Na técnica de COSY (Figura 54), verifica-se a correlação entre os sinais em δ 7,81 ppm e o sinal em δ 9,03 ppm, gerado pelo acoplamento J^3 entre os hidrogênios H5 e H6, como também dos hidrogênios H3 e H4 da porção acridina da molécula. Outro acoplamento também evidenciado se revela entre os sinais em δ 7,80 ppm e 8,12 ppm, constituídos pelos acoplamentos entre os hidrogênios H6 e H7, bem como entre os hidrogênios H2 e H3. Por fim, é mostrada a correlação entre o sinal em δ 8,12 ppm e o sinal em δ 8,19 ppm, denotada pela vizinhança entre os hidrogênios H7 e H8, como ainda entre os hidrogênios H1 e H2.

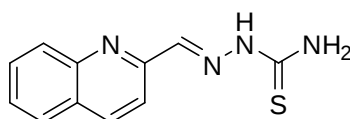
Os sinais em δ 7,42 ppm, 7,43 ppm e 7,46 ppm correspondem aos hidrogênios da fenila ligada ao C4 da tiazolina. Já os sinais em δ 7,22 ppm, 7,23 ppm e 7,26 ppm correspondem aos hidrogênios da fenila ligada ao nitrogênio N3 da tiazolina. Todos os dados foram confrontados com Lafayette et al. (2013) e Almeida et al. (2015).

Figura 54- Espectro bidimensional de COSY do composto LqIT/JF-248.



5.2.2 Dados espectroscópicos, espectrométricos e físico-químicos dos derivados tiossemicarbazônicos e tiazolínicos (LqIT/JF)

(LqIT/JF-73) (*E*)-2-(quinolin-2-ylmethylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido branco. Fórmula molecular: $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{S}$. **Rendimento:** 54,62%.

Faixa de fusão: 235-237°C. **Fator de retenção:** 0,39 (n-hexano/acetato de etila 4:6).

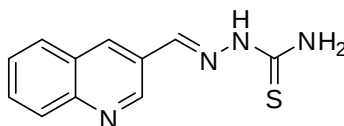
RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,7940 (s, 1H, NH hidrazínico), 8,4590 (d, 1H, J = 8,68 Hz, CH quinolínico), 8,4373 (s, 1H, NH tioamida), 8,3596 (d, 1H, J = 8,76 Hz, CH quinolínico), 8,3447 (s, 1H, NH tioamida), 8,2350 (s, 1H, CH azometínico), 8,0122 (d, 1H, J = 8,16 Hz, CH quinolínico), 7,9779 (d, 1H, J = 8,36 Hz, CH quinolínico), 7,7597 (t, 1H, J = 8,36 Hz, CH quinolínico), 7,6038 (t, 1H, J = 8,36 Hz, CH quinolínico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 178,94 (tioamida), 154,36 (C2 da quinolina), 147,78 (C9 da quinolina), 142,99 (azometínico).

IR, ($\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3392 (NH), 3262 (NH/NH₂), 1604 (C=N), 1527, 1501 (C=C aromático), 1056 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 230,0626; encontrada 230,0440.

(LqIT/JF-74) (E)-2-(quinolin-3-ylmethylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido branco. Fórmula molecular: C₁₁H₁₀N₄S. **Rendimento:** 59,81%.

Faixa de fusão: 247-249°C. **Fator de retenção:** 0,39 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

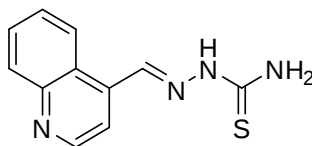
RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11,6288 (s, 1H, NH azometínico), 9,4798 (s, 1H, CH quinolínico), 8,5930 (s, 1H, CH quinolínico), 8,3054 (s, 1H, NH tioamida), 8,2340 (s, 1H, CH azometínico), 8,2220 (s, 1H, tioamida), 8,0308 (d, 1H, J = 8,44 Hz, CH quinolínico), 7,9840 (d, 1H, J = 8,44 Hz, CH quinolínico), 7,7628 (t, 1H, J = 7,28 Hz, CH quinolínico), 7,6222 (t, 1H, J = 7,32 Hz, CH quinolínico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 178,67 (C14 tioamida), 149,34 (C3 da quinolina), 148,15 (C10 da quinolina), 140,24 (C11 azometínico).

IR, ($\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3444 (NH/NH₂), 3264 (NH/NH₂), 1601 (C=N), 1541, 1462, 1401 (C=C aromático), 1056 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 230,0626; encontrada 230,0960.

(LqIT/JF-75) (*E*)-2-(quinolin-4-ylmethylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido branco. Fórmula molecular: C₁₁H₁₀N₄S. **Rendimento:** 85,37%.

Faixa de fusão: 257-259°C. **Fator de retenção:** 0,38 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

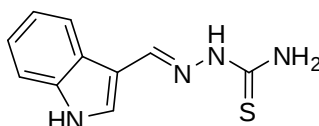
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,6921 (s, 1H, NH hidrazínico), 8,9306 (d, 1H, *J* = 4,64 Hz, CH quinolínico), 8,8761 (s, 1H, CH azometínico), 8,4802 (s, 1H, NH tioamida), 8,2937 (d, 1H, *J* = 8,40 Hz, CH quinolínico), 8,2192 (s, 1H, NH tioamida), 8,1818 (d, 1H, *J* = 4,56 Hz, CH quinolínico), 8,0829 (d, 1H, *J* = 8,40 Hz, CH quinolínico), 7,8060 (t, 1H, *J* = 6,72 Hz, CH quinolínico), 7,7068 (t, 1H, *J* = 7,76 Hz, CH quinolínico).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 178,91 (C14 tioamida), 150,56 (C4 da quinolina), 148,82 (C10 da quinolina), 138,22 (C11 azometínico).

IR, (ν/cm⁻¹): 3444 (NH/NH₂), 3145 (NH), 3095 (=C-H), 1601 (C=N), 1537, 1506 (C=C aromático), 1075 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 230,0626; encontrada 230,0640.

(LqIT/JF-97) (*E*)-2-((1H-indol-3-yl)methylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido amarelo. Fórmula molecular: C₁₀H₁₀N₄S. **Rendimento:** 80,19%.

Faixa de fusão: 237-239°C. **Fator de retenção:** 0,48 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

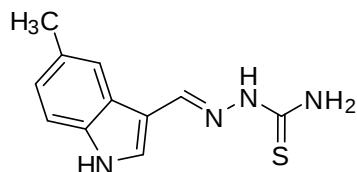
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,5794 (s, 1H, NH hidrazínico), 11,1616 (s, 1H, NH indólico), 8,2987 (s, 1H, CH azometínico), 8,2184 (d, 1H, *J* = 7,84 Hz, indólico), 8,0015 (s, 1H, NH tioamida), 7,7971 (d, 1H, *J* = 2,68 Hz, CH indólico), 7,4254 (d, 1H, *J* = 8,20 Hz, CH indólico), 7,3959 (s, 1H, NH tioamida), 7,1873 (t, 1H, *J* = 8,12 Hz, CH indólico), 7,1187 (t, 1H, *J* = 7,96 Hz, CH indólico).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 176,99 (tioamida), 141,28 (azometínico), 137,50 (C7a indol), 131,21 (C2 indol).

IR, (ν/cm⁻¹): 3445 (NH/NH₂), 3141 (NH), 3039 (=C-H), 1611 (C=N), 1535 (C=C aromático), 1250 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 218,0626; encontrada 217,9850.

(LqIT/JF-98) (*E*)-2-((5-methyl-1H-indol-3-yl)methylene)hydrazinecarbothioamide



Cristal bege. Fórmula molecular: C₁₁H₁₂N₄S. **Rendimento:** 63,62%.

Faixa de fusão: 237-239°C. **Fator de retenção:** 0,54 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

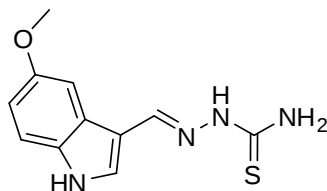
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,4686 (s, 1H, NH hidrazínico), 11,1235 (s, 1H, NH indólico), 8,2706 (s, 1H, CH azometínico), 7,9760-7,9384 (d, 2H, NH tioamida), 7,7420 (d, 1H, *J* = 2,56 Hz, CH indólico), 7,3878 (s, CH indólico), 7,3062 (dt, 1H, *J* = 8,44 Hz, CH indólico), 7,0153 (d, 1H, *J* = 8,44 Hz, CH indólico), 2,4161 (s, 3H, metila).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 176,8724 (tioamida), 141,5195 (azometínico), 135,8424 (C7a indol), 131,4555 (C2 indol), 21,6932 (metila).

IR, (ν/cm⁻¹): 3391 (NH/NH₂), 3250 (NH), 3155 (=C-H), 1617 (C=N), 1535 (C=C aromático), 1252 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 232,0783; encontrada 231,9760.

(LqIT/JF-99) (*E*)-2-((5-methoxy-1H-indol-3-yl)methylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido branco. Fórmula molecular: C₁₁H₁₂N₄OS. **Rendimento:** 47,65%.

Faixa de fusão: 248-250°C. **Fator de retenção:** 0,44 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

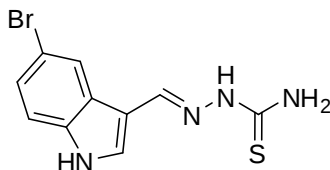
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,4693 (s, 1H, NH hidrazínico), 11,1101 (s, 1H, NH indólico), 8,2578 (s, 1H, CH azometínico), 7,8722 (s, 2H, NH tioamida), 7,7263 (d, 1H, *J* = 2,72 Hz, CH indólico), 7,5404 (s, 1H, *J* = 1,96 Hz CH indólico), 7,3368 (d, 1H, *J* = 8,64 Hz, CH indólico), 6,8405 (dd, 1H, *J* = 9 Hz – 2,36Hz), 3,7631 (s, 3H, metila).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 178,9288 (tioamida), 144,0160 (azometínico), 134,5744 (C7a indol), 133,9672 (C2 indol), 57,9410 (metila).

IR, (ν/cm⁻¹): 3433 (NH/NH₂), 3128 (NH), 3045 (=C-H), 1616 (C=N), 1549 (C=C aromático), 1252 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 248,0732; encontrada 248,1650.

(LqIT/JF-100) (E)-2-((5-bromo-1H-indol-3-yl)methylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido amarelo. Fórmula molecular: C₁₀H₉BrN₄S. **Rendimento:** 22,68%.

Faixa de fusão: 226-228°C. **Fator de retenção:** 0,37 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

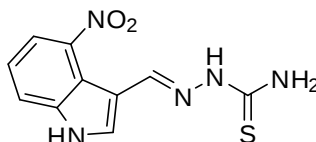
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,7816 (s, 1H, NH hidrazínico), 11,1199 (s, 1H, NH indólico), 8,2715 – 7,9466 (s, 2H, NH tioamida), 8,2432 (s, 1H, CH azometínico), 7,8301 (d, 1H, *J* = 2,36 Hz, CH indólico), 7,5061 (s, 1H, CH indólico), 7,4033 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, CH indólico), 7,3103 (dd, 1H, *J* = 8,6 Hz – 1,96Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 179,1261 (tioamida), 143,3102 (azometínico), 138,3693 (C7a indol), 134,8476 (C2 indol).

IR, (ν/cm⁻¹): 3435 (NH/NH₂), 3267 (NH), 3188 (=C-H), 1619 (C=N), 1546 (C=C aromático), 1232 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 295,9731; encontrada 296,368.

(LqIT/JF-101) (E)-2-((4-nitro-1H-indol-3-yl)methylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido laranja. Fórmula molecular: C₁₀H₉N₅O₂S. **Rendimento:** 77,54%.

Faixa de fusão: 258-260°C. **Fator de retenção:** 0,32 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

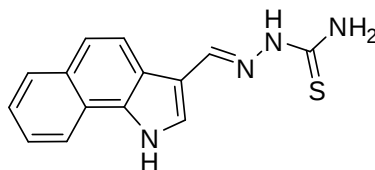
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,4785 (s, 1H, NH hidrazínico), 11,3279 (s, 1H, NH indólico), 8,4357 (s, 1H, CH azometínico), 8,3692 (d, 1H, *J* = 2,36 Hz, CH indólico), 8,0678 (s, 1H, NH, tioamida), 7,8702 (d, 1H, *J* = 10,96 Hz CH indólico), 7,8310 (d, 1H, *J* = 10,16 Hz, CH indólico), 7,4475 (d, 1H, *J* = 3,12 Hz, NH tioamida), (t, 1H, *J* = 10,20 Hz, CH indólico).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 177,0207 (tioamida), 142,2152 (azometínico), 139,0734 (C7a indol), 132,4832 (C2 indol).

IR, (ν/cm⁻¹): 3372 (NH/NH₂), 3268 (NH), 3173 (=C-H), 1611 (C=N), 1537 (C=C aromático), 1261 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 263,0477; encontrada 263,1950.

(LqIT/JF-102) (E)-2-((1H-benzo[g]indol-3-yl)methylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido cristalino incolor. Fórmula molecular: C₁₄H₁₂N₄S. **Rendimento:** 99,05%.

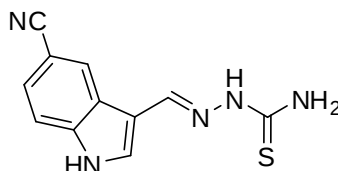
Faixa de fusão: 248-250°C. **Fator de retenção:** 0,54 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,496 (s, 1H, NH indólico), 11,238 (s, 1H, NH hidrazínico), 8,399 (s, 1H, CH azometínico), 8,376-8,327 (m, 2H, C4 indólico e C4 naftil), 8,061 (s, 1H, NH, tioamida), 7,973-7,794 (1H, C2 indólico); 7,918-7,908 (1H, NH, tioamida), 7,593-7,425 (m, 4H, C5 indólico e C1, C2 e C3 naftil).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 176,69 (tioamida), 140,795 (azometínico), 131,813 (C7a indol); 130,265 (C6 indólico); 128,595 (C2 indólico); 112,8036 (C3 indólico).

MALDI/TOF: massa exata calculada 268,0783; encontrada 268,1350.

(LqIT/JF-114) (E)-2-((5-cyano-1H-indol-3-yl)methylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido branco. Fórmula molecular: C₁₁H₉N₅S; **Rendimento:** 75,32%.

Faixa de fusão: 260-263°C. **Fator de retenção:** 0,60 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

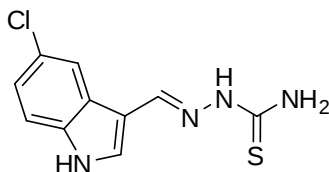
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,0723 (s, 1H, NH hidrazínico), 11,1248 (s, 1H, NH indólico), 8,7384 (s, 1H, CH azometínico), 8,2725 (s, 1H, CH indólico), 7,9740 (d, 2H, *J* = 9,8 Hz tioamida), 7,8017 (s, 1H, CH indólico), 7,5893 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, CH indólico), 7,5325 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz, CH indólico).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 179,2475 (tioamida), 142,8093 (azometínico), 141,4128 (C7a indol), 135,8495 (C2 indol).

IR, (ν/cm⁻¹): 3450 (NH/NH₂), 3337 (NH), 3179 (=C-H), 2224 (C≡N); 1617 (C=N), 1541 (C=C aromático), 1252 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 243,0579; encontrada 243,1740.

(LqIT/JF-115) (E)-2-((5-chloro-1H-indol-3-yl)methylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido branco. Fórmula molecular: C₁₀H₉ClN₄S. **Rendimento:** 48,05%.

Faixa de fusão: 256-258°C. **Fator de retenção:** 0,33 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

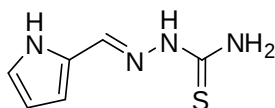
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,7679 (s, 1H, NH hidrazínico), 11,1121 (s, 1H, NH indólico), 8,2490 (s, 1H, CH azometínico), 8,1590 (d, 1H, *J* = 2,36 Hz, NH indólico), 7,9368 - 7,5316 (s, 2H, tioamida), 7,8409 (s, 1H, CH indólico), 7,4454 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, CH indólico), 7,1948 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 179,1033 (tioamida), 143,3557 (azometínico), 138,1264 (C7a indol), 135,0602 (C2 indol).

IR, (ν/cm⁻¹): 3441 (NH/NH₂), 3253 (NH), 3177 (=C-H), 1619 (C=N), 1548 (C=C aromático), 1232 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 252,0236; encontrada 252,1570.

(LqIT/JF-116) (E)-2-((1H-pyrrol-2-yl)methylene)hydrazinecarbothioamide



Sólido branco. Fórmula molecular: C₆H₈N₄S. **Rendimento:** 48,05%.

Faixa de fusão: 175-177°C. **Fator de retenção:** 0,33 (*n*-hexano/acetato de etila 4:6).

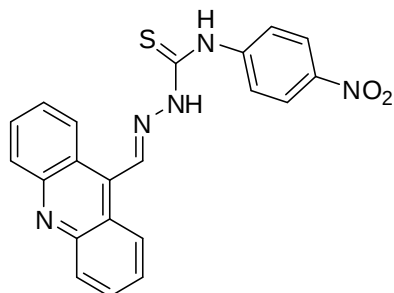
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,3453 (s, 1H, NH hidrazínico), 11,2455 (s, 1H, NH pirrólico), 8,0480 - 7,9443 (s, 2H, NH tioamida), 7,8308 (s, 1H, CH azometínico), 6,9659 (d, 1H, *J* = 1,2 Hz, CH pirrólico), 6,3925 (m, 1H, *J* = 6,9 Hz, CH pirrólico), 6,1108 (dd, 1H, *J* = 6,6 Hz, CH pirrólico).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 177,2029 (tioamida), 133,6615 (azometínico), 127,5771 (C2 pirrol), 121,7379 (C5 pirrol), 112,7874 (C3 pirrol), 109,1705 (C4 pirrol).

IR, (ν/cm⁻¹): 3444 (NH/NH₂), 3258 (NH), 3150 (=C-H), 1616 (C=N), 1531 (C=C aromático), 1267 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 168,0470; encontrada 168,0910.

(LqIT/JF-242) (*E*)-2-(acridin-9-ylmethylene)-N-(4-nitrophenyl)hydrazinecarbothioamide



Sólido amarelo. Fórmula molecular: C₂₁H₁₅FN₅O₂S. **Rendimento:** 52,77%.

Faixa de fusão: 224-226°C. **Fator de retenção:** 0,41 (*n*-hexano/acetato de etila 3:7).

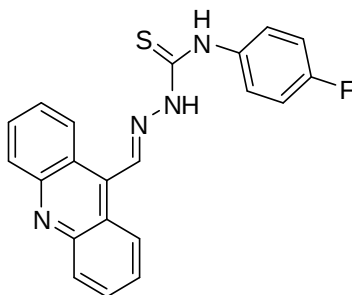
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,5214 (s, 1H, NH hidrazínico), 10,5900 (s, 1H, NH tioamida), 9,4198 (s, 1H, azometínico), 8,5999 (m, 2H, *J* = 8,79 Hz, CH acridina) 8,2399 (m, 2H, *J* = 8,82 Hz, CH acridina), 8,2281 (m, 2H, *J* = 9,39 Hz, CH fenil), 8,0520 (m, 2H, *J* = 9,39 Hz, CH fenil), 7,9013 (m, 2H, *J* = 8,79 Hz, CH acridínico), 7,7193 (m, 2H, 8,82 Hz, CH acridínico).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 176,1002 (tioamida), 148,2068 (N-C acridina), 145,3101 (C-NO₂), 141,0801 (azometínico).

IR, (ν/cm⁻¹): 3337 (NH-fenil), 3316 (NH), 3117 (=C-H), 1613 (C=N), 1543 (C=C aromático); 1332 (nitro); 1266 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 401,0946; encontrada 401,1020.

(LqIT/JF-243) (*E*)-2-(acridin-9-ylmethylene)-N-(4-fluorophenyl)hydrazinecarbothioamide



Sólido amarelo. Fórmula molecular: C₂₁H₁₅FN₄S. **Rendimento:** 51,73%.

Faixa de fusão: 210-212°C. **Fator de retenção:** 0,48 (*n*-hexano/acetato de etila 3:7).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,2221 (s, 1H, NH hidrazínico), 10,1948 (s, 1H, NH tioamida), 9,3827 (s, 1H, azometínico), 8,6039 (m, 2H, *J* = 8,22 Hz, CH acridínico), 8,2145 (m, 2H, *J* = 8,82 Hz, CH acridínico), 7,8896 (m, 2H, *J* = 8,79 Hz, CH acridínico), 7,7077 (m,

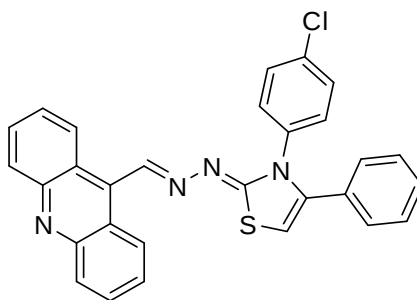
2H, $J = 8,82$ Hz, CH acridínico), 7,6118 (m, 2H, 9,39 Hz, CH fenil), 7,1930 (m, 2H, 9,39 Hz, CH fenil).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 177,3377 (tioamida), 161,7052 (C-F), 148,6780 (N-C acridina), 140,5705 (azometínico).

IR, ($\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3337 (NH-fenil), 3316 (NH), 3125 (=C-H), 1610 (C=N), 1534 (C=C aromático), 1264 (C=S).

MALDI/TOF: massa exata calculada 374,1001; encontrada 374,0770.

(LqIT/JF-244) (Z)-2-((E)-(acridin-9-ylmethylene)hydrazono)-3-(4-chlorophenyl)-4-phenyl-2,3-dihydrothiazole



Sólido azul escuro. Fórmula molecular: $\text{C}_{29}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{S}$. **Rendimento:** 62%.

Faixa de fusão: 272-274°C. **Fator de retenção:** 0,60 (*n*-hexano/acetato de etila 7:3).

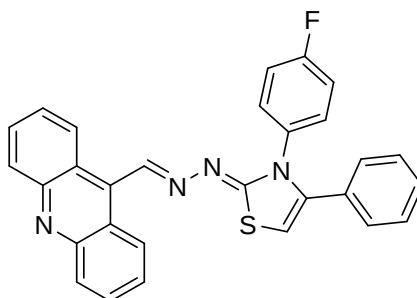
RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9,424 (s, 1H, azometínico), 9,113 (m, 2H, $J = 8,7$ Hz, H4-H5 acridina), 8,319 (m, 2H, $J = 8,1$ Hz, H1-H8 acridina), 8,217 (m, 2H, $J = 8,1$ Hz, H2-H7 acridina), 7,877 (m, 2H, $J = 8,7$ Hz, H3-H6 acridina), 7,536 – 7,493 (m, 5H, fenil C4-tiazolina), 7,345 – 7,217 (m, 4H, fenil N3-tiazolina), 7,063 (s, 1H, H5-tiazolina).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 175,746 (C2-tiazolina), 144,974 (azometínico), 140,943 (C4-C5 acridina), 140,253 (C4 tiazolina), 104,9670 (C5-tiazolina).

IR, ($\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3060, 3046, 3024 (=CH; -CH); 2599 (C=C-S); 1624 (C=C); 1583 (C=N), 1350 (N=C-S), 1260 (N-N=C); 1058 (Cl-C aromático).

MALDI/TOF: massa exata calculada 490,1019; encontrada 490,1850.

(LqIT/JF-245) (Z)-2-((E)-(acridin-9-ylmethylene)hydrazono)-3-(4-fluorophenyl)-4-phenyl-2,3-dihydrothiazole



Sólido marrom. Fórmula molecular: $C_{29}H_{19}FN_4S$. **Rendimento:** 35,4%.

Faixa de fusão: 264-266°C. **Fator de retenção:** 0,56 (*n*-hexano/acetato de etila 7:3).

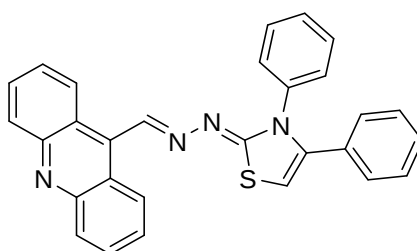
RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9,440 (s, 1H, azometínico), 9,119 (m, 2H, J = 8,8 Hz, H4-H5 acridina), 8,291 (m, 2H, J = 8,2 Hz, H1-H8 acridina), 8,203 (m, 2H, J = 8,2 Hz, H2-H7 acridina), 7,877 (m, 2H, J = 8,8 Hz, H3-H6 acridina), 7,562 - 7,515 (m, 2H, fenil N3-tiazolina-H-orto), 7,343 - 7,286 (m, 5H, fenil-C4-tiazolina), 7,270 - 7,237 (m, 2H, fenil-N3-tiazolina-H-meta), 7,033 (s, 1H, H5-tiazolina).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 175,778 (C2-tiazolina), 159,946 (C-F), 145,003 (azometínico), 141,141 (C4-C5 acridina), 140,543 (C4 tiazolina), 104,5428 (C5-tiazolina).

IR, ($\bar{\nu}/cm^{-1}$): 3106, 3057, 3021 (=CH; -CH); 2598 (C=C-S); 1624 (C=C); 1583 (C=N), 1351 (N=C-S), 1233 (N-N=C); 1128 (F-C aromático).

MALDI/TOF: massa exata calculada 474,1314; encontrada 474,1770.

(LqIT/JF-248) (Z) - 2 - ((E) - (acridin - 9 - ylmethylene) hydrazono) - 3, 4 - diphenyl - 2, 3-dihydrothiazole



Sólido azul escuro. Fórmula molecular: $C_{29}H_{20}N_4S$. **Rendimento:** 77%.

Faixa de fusão: 251-253°C. **Fator de retenção:** 0,54 (*n*-hexano/acetato de etila 7:3).

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9,3476 (s, 1H, azometínico), 9,0387 (m, 2H, J = 8,6 Hz, H4-H5 acridina), 8,2330 (m, 2H, J = 8,6 Hz, H1-H8 acridina), 8,1402 (m, 2H, J = 7,72 Hz, H2-H7 acridina), 7,8108 (m, 2H, J = 7,68 Hz, H3-H6 acridina), 7,4515 - 7,3992 (m, 5H, fenil-C4-tiazolina), 7,2780 - 7,2167 (m, 5H, fenil-N3-tiazolina), 7,0131 (s, 1H, H5-tiazolina).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 176,2142 (C2-tiazolina), 145,2530 (azometínico), 141,7067 (C4-C5 acridina), 140,543 (C4 tiazolina), 105,2179 (C5-tiazolina).

IR, ($\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$): 3107, 3046, 3025 (=CH; -CH); 2576 (C=C-S); 1625 (C=C); 1583 (C=N), 1350 (N=C-S), 1260 (N-N=C).

MALDI/TOF: massa exata calculada 456,1409; encontrada 456,1030.

5.3 ENSAIOS DE INTERAÇÃO

Nesta seção serão discutidos os resultados para interação dos compostos LqIT/JF com o ctDNA e a albumina do soro bovino (BSA), obtidos por espectroscopia de absorção e fluorescência.

5.3.1 Estudos de ligação com o ctDNA - Espectroscopia de absorção eletrônica

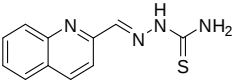
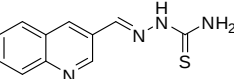
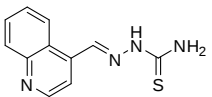
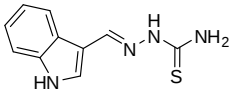
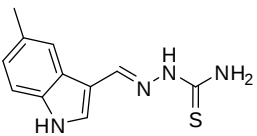
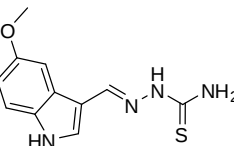
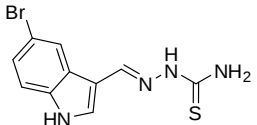
Para os derivados tiossemicarbazônicos quinolínicos (LqIT/JF-73; LqIT/JF-74; LqIT/JF-75) os valores máximos de absorção, nos espectros de absorção eletrônica, foram evidenciados em comprimentos de onda (λ) que se estendem de 300 a 400 nm. Intervalos semelhantes para compostos quinolínicos são mostrados em estudos de absorbância com bases de Schiff quinolínicas e hidroxiquinolinas (KUMAR et al. 2015; HALDER; DEY; ROY, 2015).

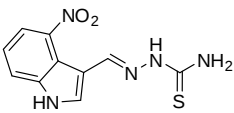
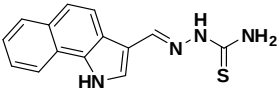
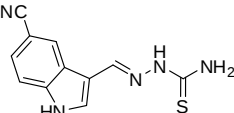
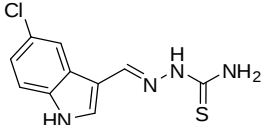
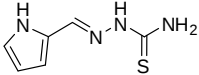
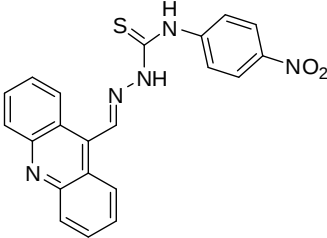
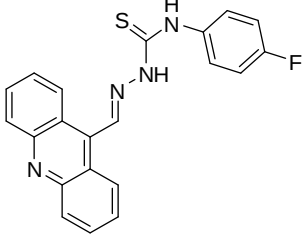
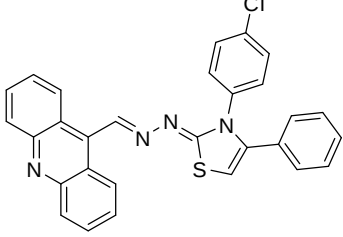
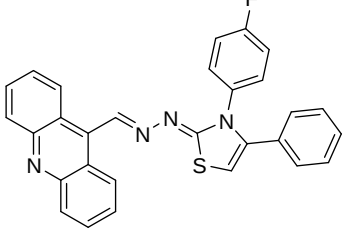
Em relação aos derivados tiossemicarbazônicos indólicos (LqIT/JF-97; LqIT/JF-98; LqIT/JF-99; LqIT/JF-100; LqIT/JF-101; LqIT/JF-102; LqIT/JF-114; LqIT/JF-115) e o derivado tiossemicarbazônico pirrólico (LqIT/JF-116) foram observados valores de absorção no intervalo de comprimento de onda (λ) de 300 a 380 nm, valores também notados em derivados indólicos contendo anéis tiazolidinonas (LAFAYETTE, 2015; LIMA, 2017).

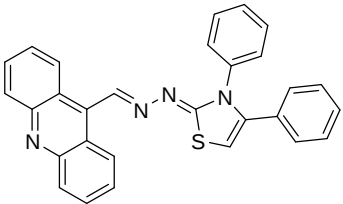
Para os derivados acridínicos tiossemicarbazônicos e tiazólicos (LqIT/JF-242; LqIT/JF-243; LqIT/JF-244; LqIT/JF-245; LqIT/JF-248) os máximos de absorbância são evidenciados em comprimentos de onda (λ) que alcançam intervalos de 320 nm a 500 nm, fenômeno também constatado em ensaio de absorbância de derivados acridínicos (ALMEIDA, 2015). Os diferentes compostos foram obtidos com o objetivo de verificar a influência de substituintes doadores e retiradores de elétrons, bem como a influência dos diferentes ciclos nitrogenados planares como a quinolina, pirrol, tiazol e acridina, no perfil de afinidade dos compostos com o ctDNA.

Para esta finalidade, foram analisadas as absorções dos derivados livres (LqIT-JF) e comparadas com a absorção provocada pelo ctDNA em concentrações molares crescentes (0-100 μM), sendo verificada a similaridade quanto aos comprimentos de onda em que houve os picos de absorção, evidenciados entre 300 e 500 nm. De modo a verificar comportamentos espectroscópicos característicos da provável interação entre os ligantes e a dupla hélice do ctDNA, foram verificados os efeitos batocrômico (desvio para o vermelho), hipsocrômico (desvio para o azul), hiperacrômico e hipocrômico, bem como o cálculo das constantes de ligação ao DNA (K_b) (McGHEE; VON HIPPEL, 1974). Os valores referentes aos comprimentos de onda (λ) de máxima absorção (ligante livre e ligado ao ctDNA), hiperacromicidade e K_b estão descritas na tabela 8.

Tabela 8- Dados espectroscópicos de absorção UV-Vis dos derivados LqIT/JF na presença e ausência do ctDNA e constantes de ligação K_b .

Composto		λ_{max} livre (nm)	λ_{max} ligado (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Hipercro. (%) ^a	K_b (M^{-1})
	JF-73	336	336	0	49,64	$3,395 \times 10^5$
	JF-74	336	337	1	57,83	$1,628 \times 10^5$
	JF-75	337	337	0	47,60	$1,039 \times 10^5$
	JF-97	325	324	1	84,12	$7,341 \times 10^5$
	JF-98	327	327	0	10,86	$1,881 \times 10^5$
	JF-99	327	327	0	8,14	$1,058 \times 10^5$
	JF-100	326	326	0	10,98	$5,980 \times 10^4$

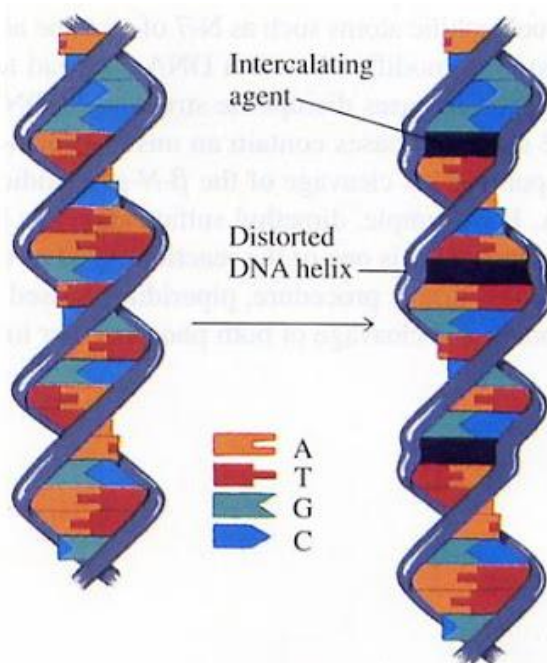
	JF-101	320	320	0	70,42	$1,009 \times 10^4$
	JF-102	318	318	0	54,28	$9,320 \times 10^5$
	JF-114	334	334	0	24,75	$8,461 \times 10^4$
	JF-115	326	326	0	48,22	$4,509 \times 10^5$
	JF-116	327	326	1	14,40	$1,051 \times 10^6$
	JF-242	343	354	11	38,63	$1,641 \times 10^5$
	JF-243	359	366	7	19,57	$2,026 \times 10^5$
	JF-244	473	477	4	64,71	$2,387 \times 10^5$
	JF-245	473	477	4	23,91	$5,124 \times 10^5$

	JF-248	486	478	8	26,84	$2,796 \times 10^5$
---	--------	-----	-----	---	-------	---------------------

^aHipercromismo resultante da formação de complexo entre os derivados LQIT/JF e 100 μ M de ctDNA em comparação com os ligantes livres.

Para todos os derivados foi observado um aumento da absorção (efeito hipercrômico), variando de 8,14 a 84,12% denotando interação do ligante com o ctDNA, em concentrações crescentes deste em solução (0-100 μ M), concentração fixa dos ligantes (20 μ M), em comprimentos de onda (λ_{max}) que alcançaram de 318 a 478 nm. Os fenômenos espectroscópicos evidenciados se devem a interações ligante-DNA que podem ser de intercalação (reduzindo ou alterando a conformação do empilhamento dos anéis das bases nitrogenadas do ctDNA), por ligação aos sulcos ou por atração eletrostática (IHMEELS, OTTO, 2005; MUKHERJEE, SASIKALA, 2013; ARSHAD et al., 2017), promovendo a desnaturação da estrutura, suscitando o aumento da absorbância (Figura 55).

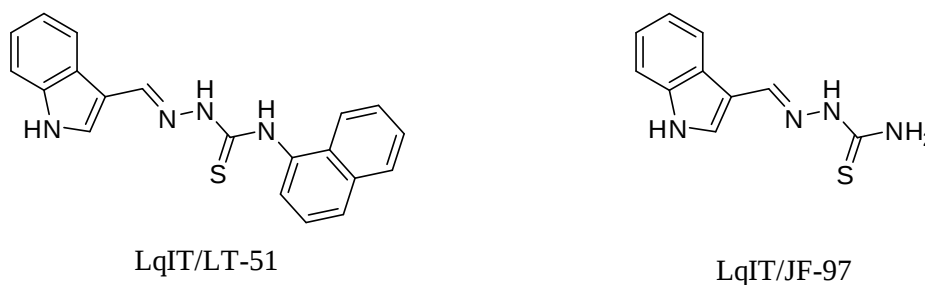
Figura 55- Distorção da estrutura de helicoidal do DNA por intercalação de ligante.



Fonte: REHA et al. Intercalators. 1. Nature of stacking interactions between intercalators (ethidium, daunomycin, ellipticine, and 4',6-diaminide-2-phenylindole) and DNA base pairs. Ab initio quantum chemical, density functional theory, and empirical potential study. *J. Am. Chem. Soc.* 124:3366-76, 2003.

Dentre os derivados indólicos, o LqIT/JF-97 se destaca pela hipercromicidade de 84,12%, sugerindo intercalação do anel indólico não substituído entre as bases nitrogenadas do ctDNA, resultado corroborado em estudo com derivados indólicos, no qual um composto análogo com radical naftil apresentou 13% de hipercromicidade (OLIVEIRA, 2017). Tal diferença pode se dever ao fato de o análogo indol-naftil se demonstrar um ligante volumoso frente à estrutura helicoidal do DNA, apesar de o naftil apresentar uma estrutura aromática planar desejável para eventos de intercalação. Em contrapartida, o derivado indólico LqIT/JF-97 por não possuir grupamentos ligados ao anel indol, nem o grupamento naftil no NH da carbotioamida, se apresenta como um ligante semelhante a ligantes enzimáticos endógenos, por possuir o padrão [(N)(N)C=S(N)] terminal livre, permitindo uma melhor interação com as bases da estrutura helicoidal do DNA (Figura 56).

Figura 56- Estruturas dos compostos intercalantes de DNA LqIT/LT-51 e LqIT/JF-97.

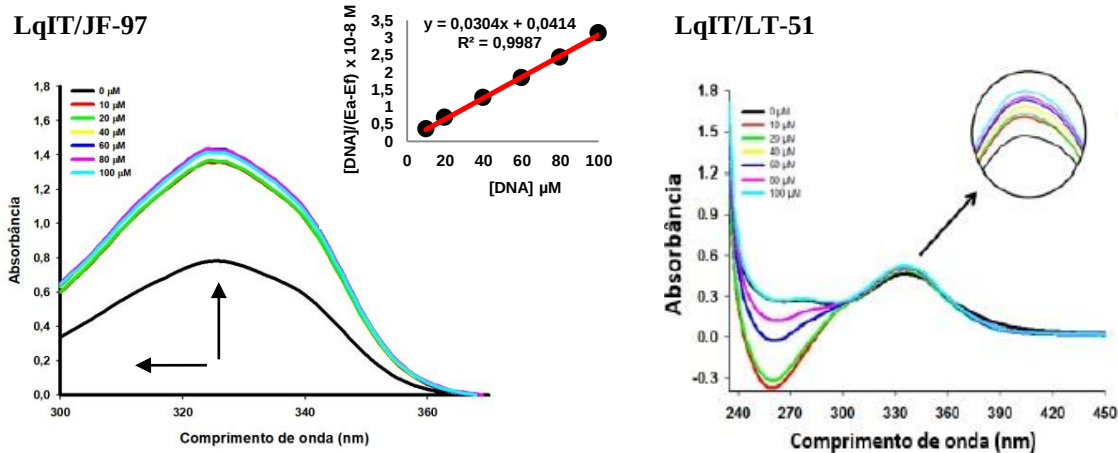


Fonte: Desenhado pelo autor no software ChemDraw Ultra 10.0.

Quanto ao valor da constante de ligação intrínseca (K_b) para o LqIT/JF-97, segundo modelo proposto por McGhee e Von Hippel (1974), foi estimado em $7,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, já para o seu análogo indol-naftil LqIT/LT-51 foi estimado um valor de $4,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, ratificado uma maior intensidade de interação daquele com o ctDNA. A mudança dos máximos de absorção para o azul (efeito hipsocrômico) para o LqIT/JF-97 ($\Delta\lambda = 1 \text{ nm}$) é outra evidência analisada para sugerir a interação ligante-DNA (Figura 57).

Outro fator preponderante para a intensa ligação ao ctDNA se deve à presença dos grupos NH doadores de hidrogênio na estrutura hidrazinacarbotioamida e NH do indol, que no caso do LqIT/JF-97, são totalizados quatro sítios doadores (HASSAN e RAUF, 2016; PAKRAVAN e MASOUDIAN, 2015; BENNER et al., 2014).

Figura 57- Espectros de absorção do LqIT/JF-97 e LqIT/LT-51 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.



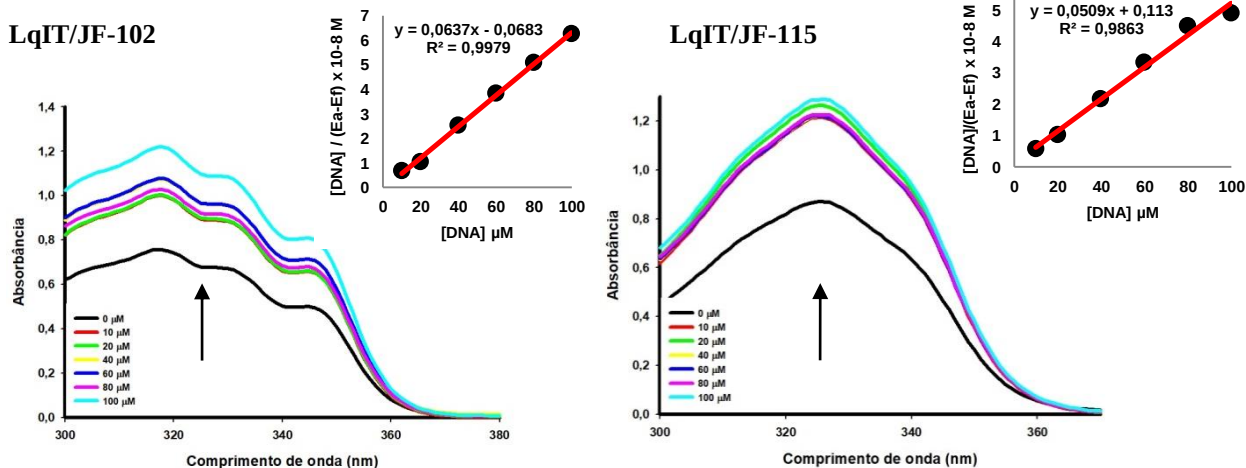
[DNA] = 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 μM . As setas ($\uparrow$) e ($\leftarrow$) são referentes aos efeitos hiperocrômico e hipsocrômico, respectivamente. Inserção: correspondente ao gráfico de $[\text{DNA}]/(\text{Ea} - \text{Ef})$ em função da concentração de DNA, conforme determinado a partir dos dados espectrais.

Fontes: LqIT/JF-97. Desenvolvido pelo autor no software SigmaPlot 10.0.

LqIT/LT-51 OLIVEIRA, J. F. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. v. 136, p. 305-314, 2017.

Efeitos de hipercromicidade semelhantes ocorreram com os derivados LqIT/JF-102 e LqIT/JF-115, cujos valores atingiram 54,28 e 48,22%, respectivamente (Figura 58).

Figura 58- Espectros de absorção do LqIT/JF-102 e LqIT/LT-115 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.



[DNA] = 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 μM . As setas ($\uparrow$) e ($\leftarrow$) são referentes aos efeitos hiperocrômico e hipsocrômico, respectivamente. Inserção: correspondente ao gráfico de $[\text{DNA}] / (\text{Ea} - \text{Ef})$ em função da concentração de DNA, conforme determinado a partir dos dados espectrais.

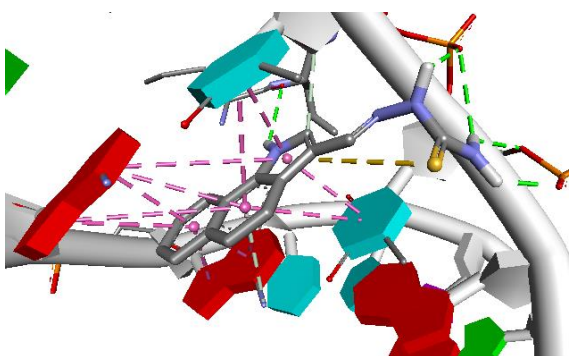
Fonte: Desenvolvido pelo autor no software SigmaPlot 10.0.

No caso do derivado benzo[g]indol (LqIT/JF-102), houve um prolongamento da cadeia planar do núcleo indólico, promovendo uma maior área de interação de empilhamento- π do ligante com as bases nitrogenadas, resultando em um valor considerável da constante de ligação intrínseca (K_b), alcançando $9,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$.

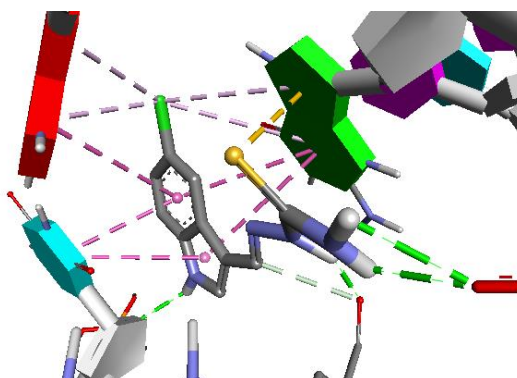
Em relação ao LqIT/JF-115, a influência da doação de elétrons pelo átomo de cloro ao núcleo indólico, por conjugação, além da interação deste átomo em interações π -halogênio com os anéis aromáticos da adenina e guanina da estrutura helicoidal do ctDNA (Figura 59), classificadas como interação anion- π (QUÍÑONERO et al., 2002; DEMESHKO et al., 2004; DE HOOG et al., 2004; BERRYMAN et al., 2006; DAWSON et al., 2010; HORI et al., 2011; HEROVEN et al., 2018), podem ter influenciado sobremaneira na interação deste ligante ao ctDNA, resultando em considerável hipercromicidade, além de uma constante de ligação intrínseca de $4,5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$.

Figura 59- Interações entre os ligantes LqIT/JF-102 e LqIT/JF-115 com o ctDNA.

LqIT/JF-102



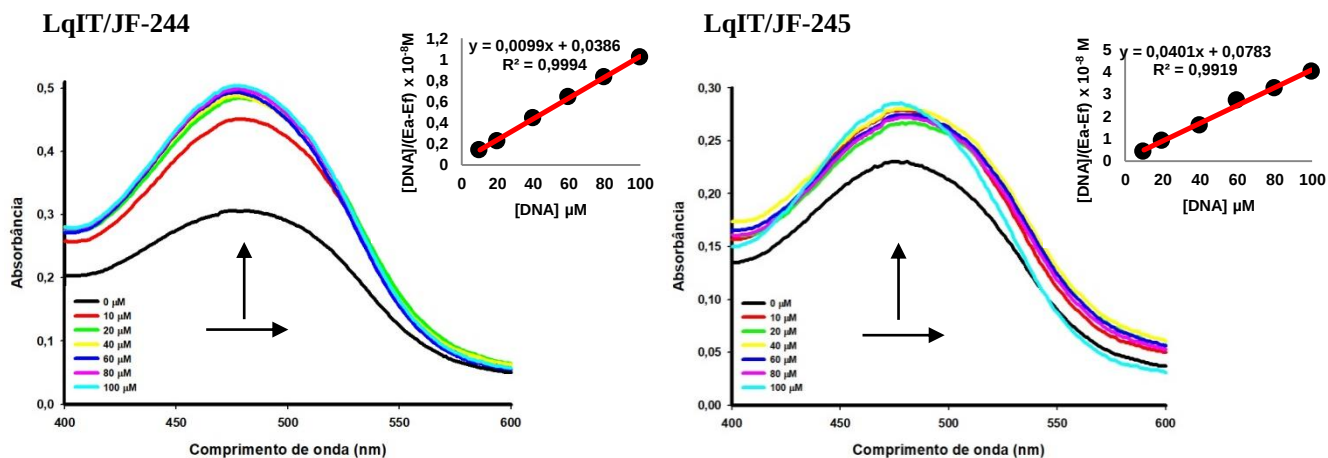
LqIT/JF-115



Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0

Para todos os ligantes acridina tiossemicarbazonas e tiazóis LqIT/JF-242, LqIT/JF-243, LqIT/JF-244, LqIT/JF-245 e LqIT/JF-248 foram obtidos valores de K_b típicos de complexos obtidos por intercalação ligante com DNA, que alcançam de 1×10^4 a 1×10^6 (IHMEIS, OTTO, 2005; ALMEIDA et al., 2015). Dentre estes, se destacam o LqIT/JF-244 e LqIT/JF-245, para os quais foram obtidos relevantes valores de hipercromicidade e de constante de ligação intrínseca, que alcançaram 64,7%, $K_b = 2,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ e 23,9%, $K_b = 5,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, respectivamente (Figura 60).

Figura 60- Espectros de absorção do LqIT/JF-244 e LqIT/LT-245 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.

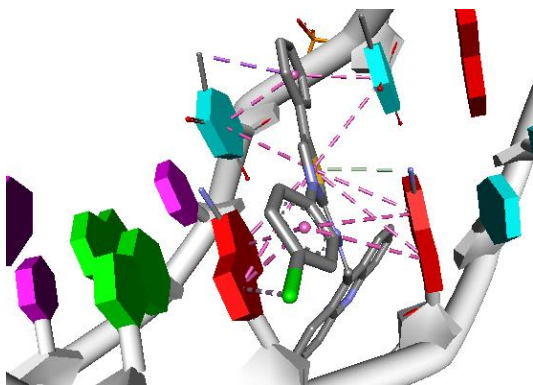


Fonte: Desenvolvido pelo autor no software SigmaPlot 10.0

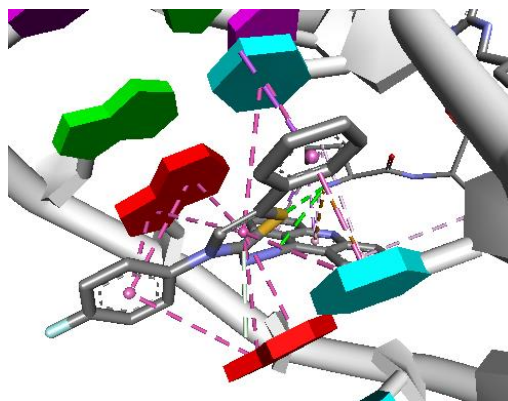
A hipercromicidade do LqIT/JF-244 deve-se, possivelmente, ao grau interação por empilhamento- π - π , com participação do núcleo tiazolina e dos anéis aromáticos fenil e fenil-4-cloro presentes no ligante, além da influência da interação π -halogênio do átomo de cloro com a adenina do ctDNA. Em relação ao LqIT/JF-245, estão presentes interações por empilhamento π - π *parallel-displaced* e *sandwich* para os grupos fenil, fenil-4-flúor e tiazol com a adenina e timina do ctDNA (Figura 61). Os halogênios provocam uma sutil alteração do momento dipolar do ligante, intensificando as interações dipolo-dipolo no sítio de ligação e podem ainda funcionar como aceptores de ligações de hidrogênio (BENNER et al., 2014).

Figura 61- Interações entre os ligantes LqIT/JF-244 e LqIT/JF-245 com o ctDNA.

LqIT/JF-244 (-13,47 kcal/mol)



LqIT/JF-245 (-13,25 kcal/mol)

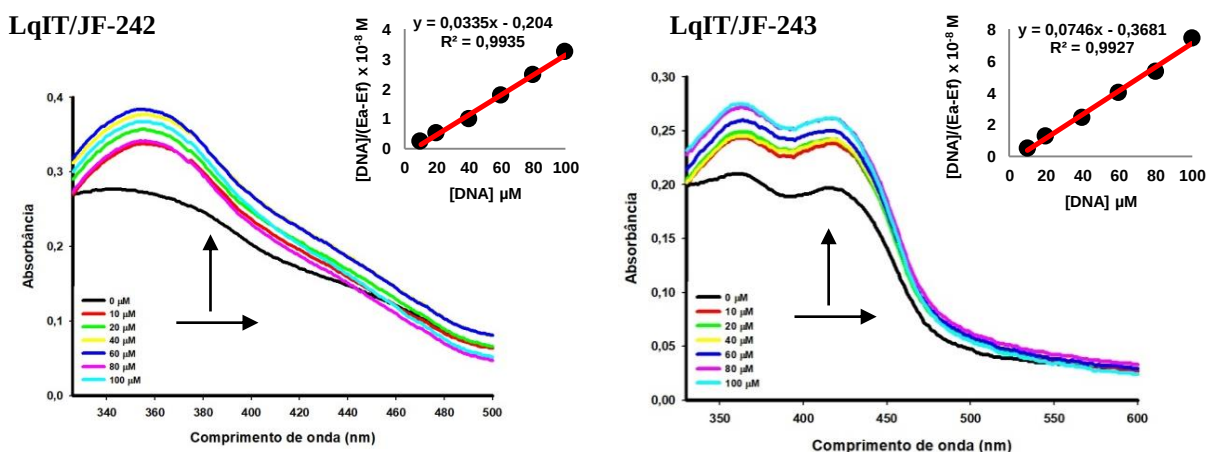


Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

Os resultados de hipercromicidade e constante de ligação intrínseca para os derivados LqIT/JF-242 (4-nitro) e LqIT/JF-243 (4-flúor) são corroborados por estudos de interação entre acridina tiossemicarbazonas e o ctDNA, no qual os derivados contendo os halogênios cloro e bromo em posição *para* foram empregados em ensaios de absorvância para ligação com o ctDNA (ALMEIDA et al., 2015).

Quando analisamos os resultados obtidos para o LqIT/JF-243 (4-flúor), verificamos uma hipercromicidade inferior a dos ligantes do mencionado estudo (4-Cl = 39,59% > 4-Br = 24,4% > 4-F = 19,57%), porém um K_b intermediário (4-Cl = $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ > 4-F = $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ > 4-Br = $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$), denotando uma atividade de intercalção semelhante a dos compostos acridínicos halogenados descritos por Almeida et al. (2015). Em contrapartida, para o derivado LqIT/JF-242 (4-nitro) foi observado um K_b ($1,6 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) ligeiramente inferior ao do ligante 4-F, porém uma hipercromicidade (38,63%) comparada ao derivado 4-Cl (39,59%), ratificando a razoável propriedade de interação do nitro composto (Figura 62). Todos os derivados acridínicos tiossemicarbazônicos e tiazólicos apresentaram efeito batocrômico superiores a $\Delta\lambda=4 \text{ nm}$, com exceção para o LqIT/JF-248, que apresentou efeito hipsocrômico de $\Delta\lambda=8 \text{ nm}$.

Figura 62- Espectros de absorção do LqIT/JF-242 e LqIT/LT-243 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.

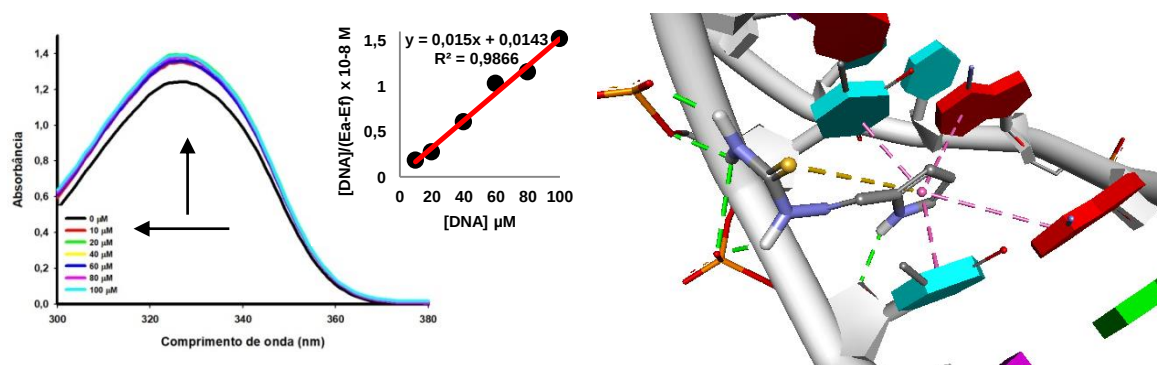


Fonte: Desenvolvido pelo autor no software SigmaPlot 10.0.

O maior K_b verificado foi para o derivado LqIT/JF-116, alcançando $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$, para o qual foram observadas interações por empilhamento dos tipos π - π *parallel-displaced* e *sandwich* entre o anel pirrol e as bases adenina e timina, além de ligações de hidrogênio do hidrogênio pirrólico com a base timina e da tioamida com elementos do sulco (VAN BERGEN et al., 2016), o que foram determinantes para o perfil da constante de ligação

intrínseca apresentado (Figura 63). Em contrapartida, não foi observado uma hipercromicidade tão expressiva para este composto como observado para os demais, atingindo a faixa de 14,4%.

Figura 63- Espectro de absorção do LqIT/JF-116 na presença de quantidades crescentes do ctDNA e interação do ligante com o ctDNA.



Fonte: Desenvolvido pelo autor nos softwares SigmaPlot 10.0 e Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

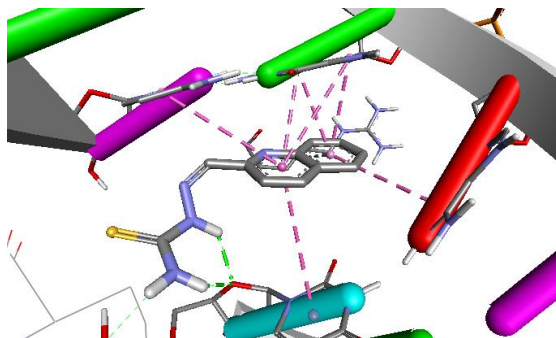
As quinolinas LqIT/JF-73, LqIT/JF-74 e LqIT/JF-75 apresentaram porcentagens de hipercromicidade, bem como valores de K_b , consonantes com valores obtidos na literatura (RIBEIRO, 2018). Os maiores valores de K_b ($3,395 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) e hipercromicidade (57,83%) foram constatados para os derivados LqIT/JF-73 e LqIT/JF-74, respectivamente, devido à posição da ligação do grupamento hidrazinacarbotoamida no anel quinolínico, nas posições 2 e 3 respectivamente, o que permitiu uma acomodação mais favorável da molécula entre as bases nitrogenadas do DNA, durante o processo de interação.

As interações de empilhamento π - π do tipo *parallel-displaced* (ligante-timina; ligante-adenina), além das ligações de hidrogênio da porção hidrazinacarbotoamida com elementos do sulco contribuíram sobremaneira para o valor de K_b do ligante LqIT/JF-73 (Figura 64).

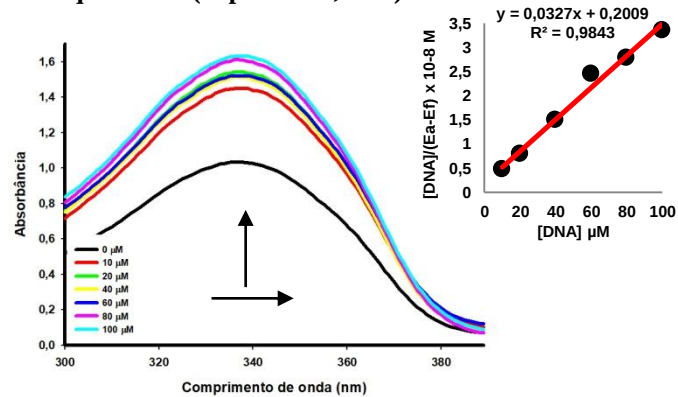
Por outro lado, os menores valores foram encontrados para o derivado LqIT/JF-75 ($1,039 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$; 47,60%), em razão da posição da ligação do grupamento hidrazinacarbotoamida no anel quinolínico (posição 4), o que permite uma maior liberdade de rotação da ligação carbono imínico-quinolina, gerando maior probabilidade de a molécula assumir diferentes conformações, podendo dificultar o processo de empilhamento (Figura 65).

Figura 64- Interação do ligante LqIT/JF-73 com o ctDNA e espectro de absorção do LqIT/JF-74 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.

LqIT/JF-73 ($K_b = 3,395 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)

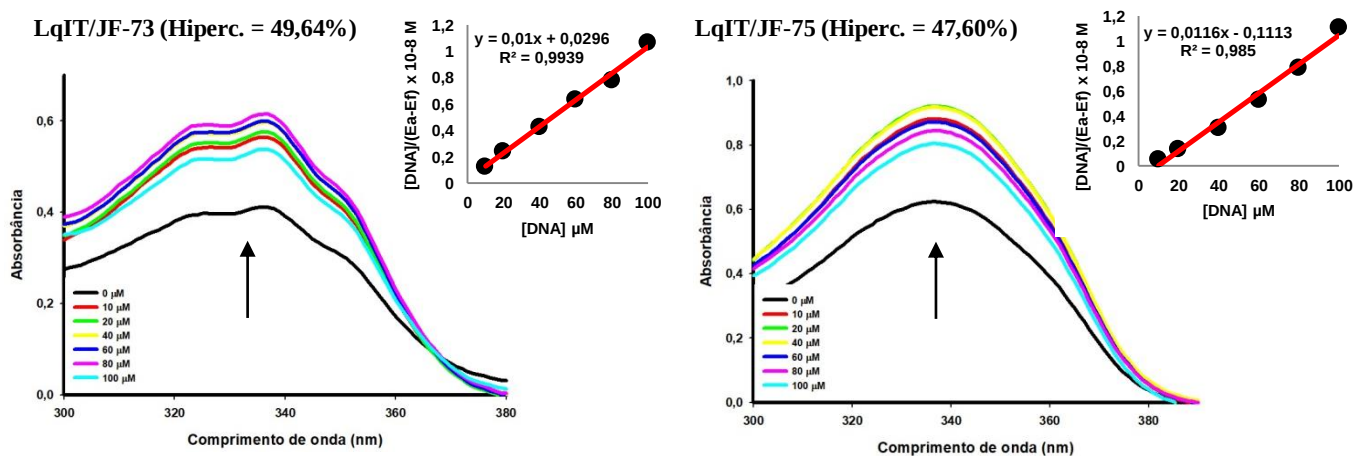


LqIT/JF-74 (Hipercl.= 57,83%)



Fonte: Desenvolvido pelo autor nos softwares SigmaPlot 10.0 e Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

Figura 65- Espectro de absorção do LqIT/JF-73 e LqIT/JF-75 na presença de quantidades crescentes do ctDNA.



Fonte: Desenvolvido pelo autor no software SigmaPlot 10.0.

5.3.2 Estudos de interação com a Albumina do Soro Bovino (BSA) - Espectroscopia de fluorescência

Dentre as etapas para descoberta de novos fármacos, se enquadra a busca de interações dos ligantes com proteínas de importância farmacológica, tais como a albumina, responsável pela ADME de compostos, tanto endógenos como exógenos, por meio da composição de

adutos (PETERS JR., 1995; SLEEP; CAMERON; EVANS, 2013; PETERS JR.; STEWART, 2013; DE SOUZA et al., 2014).

Por possuir fluoróforos (aminoácidos com cadeias laterais que promovem a fluorescência) em sua molécula, a BSA quando excitada em 280 nm, apresenta fluorescência intrínseca com o máximo de emissão em aproximadamente 345nm, que está vinculada a presença dos L-aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano. Dentre estes, as emissões mais relevantes se devem ao triptofano-134 (Trp-134), no subdomínio IB e ao triptofano-212 (Trp-212), no subdomínio IIA, devido ao ambiente químico que circunda estes aminoácidos (PETERS JR., 1995; EFTINK et al., 2000; NAVEENRAJ; ANANDAN, 2013).

A espectroscopia de fluorescência é empregada para mensurar o grau de extinção da fluorescência devido à complexação da BSA com o ligante, que se configura na modificação do ambiente químico dos fluoróforos por desnaturação, associação de subunidades e transições conformacionais da proteína (KUZNETSOVA et al., 2012). Os dados dos comprimentos de onda obtidos deste método foram empregados para calcular a hipocromicidade provocada pelos ligantes, como também as constantes de supressão da fluorescência de Stern-Volmer (K_{sv}). Também conhecido como modelo de supressão dinâmica da fluorescência, ele depende da colisão entre a molécula da proteína excitada e a espécie supressora (ligante), nesse modelo chamado de *quencher* (Q) (LAKOWICZ, 2006).

Entretanto, as colisões entre o supressor (Q) e a proteína podem ocorrer no estado fundamental levando a geração de um complexo não fluorescente, sendo, portanto, avaliado como um processo de supressão estática da fluorescência. As constantes de supressão da fluorescência (K_{sv}) foram obtidas pela regressão linear dos gráficos de emissão relativa (F_0/F) versus as concentrações dos ligantes (Q).

Para todos os derivados desse estudo foi evidenciada a supressão da fluorescência em concentrações crescentes dos ligantes (0 - 40 μ M), mantendo-se a concentração fixa da BSA (20 μ M). Excetuando-se o ligante LqIT/JF-245, que não provocou nenhum desvio do pico máximo de emissão (40 μ M), todos os compostos propiciaram desvios para o vermelho (efeito batocrômico), com exceção dos compostos LqIT/JF-242 e LqIT/JF-243, que promoveram desvios para o azul (efeito hipsocrômico) (Tabela 9).

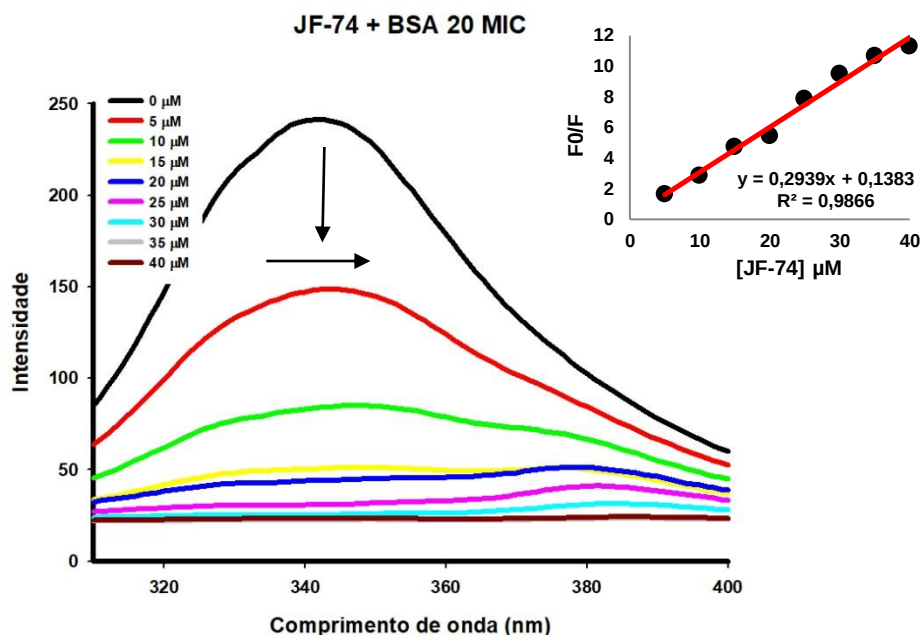
Tabela 9- Dados espectroscópicos de fluorescência dos derivados LqIT/JF na presença e ausência da BSA e constantes de ligação K_{sv} .

Composto	λ_{max} livre (nm)	λ_{max} ligado (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Hipocrom.^a (%)	K_{sv} (M^{-1})
LqIT/JF-73	343	349	6	74,65	$0,76 \times 10^4$
LqIT/JF-74	343	384	41	90,33	$2,94 \times 10^4$
LqIT/JF-75	343	348	5	87,32	$1,90 \times 10^4$
LqIT/JF-97	343	360	17	87,18	$1,86 \times 10^4$
LqIT/JF-98	343	365	22	89,73	$2,46 \times 10^4$
LqIT/JF-99	343	367	24	90,04	$1,73 \times 10^4$
LqIT/JF-100	343	360	17	85,59	$1,73 \times 10^4$
LqIT/JF-101	343	345	2	51,90	$0,08 \times 10^4$
LqIT/JF-102	343	367	24	87,50	$1,88 \times 10^4$
LqIT/JF-114	343	369	26	85,19	$1,87 \times 10^4$
LqIT/JF-115	343	362	19	89,83	$2,08 \times 10^4$
LqIT/JF-116	343	366	23	87,34	$1,90 \times 10^4$
LqIT/JF-242	343	339	4	77,16	$1,12 \times 10^4$
LqIT/JF-243	343	342	1	84,77	$1,13 \times 10^4$
LqIT/JF-244	343	345	2	85,18	$1,56 \times 10^4$
LqIT/JF-245	343	343	0	72,86	$0,72 \times 10^4$
LqIT/JF-248	343	346	3	81,78	$0,91 \times 10^4$

^aHipocromismo resultante da formação de complexo entre a albumina e 40 μM dos derivados LqIT/JF em comparação com a albumina livre (20 μM).

Dentre estes, destaca-se o LqIT/JF-74 por apresentar elevada porcentagem de hipocromismo (90,33%), altos valores de $\Delta\lambda$ (41nm) e de K_{sv} ($2,94 \times 10^4 M^{-1}$), o que denota uma afinidade muito significativa pela proteína albumina, corroborando estudos de interação de derivados quinolínicos com a BSA (THIRUNAVUKKARASU et al., 2017; RIBEIRO, 2018) (Figura 66).

Figura 66- Espectro de emissão de fluorescência da albumina do soro bovino (BSA) na presença de quantidades crescentes do composto LqIT/JF-74.



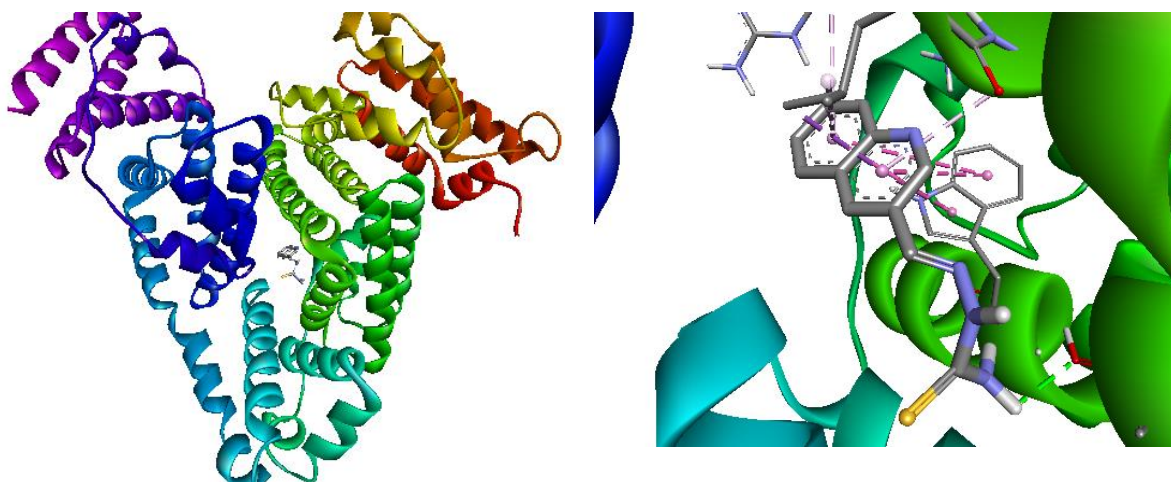
[LqIT/JF-74] = 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 μM . As setas ($\downarrow$) e ($\rightarrow$) são referentes aos efeitos hipocrômico e batocrômico, respectivamente. Inserção: correspondente ao gráfico de F_0/F em função da concentração molar de LqIT/JF-74, conforme determinado a partir dos dados espectrais.

Fonte: Desenvolvido pelo autor no software SigmaPlot 10.0.

Alguns fatores preponderantes para tais resultados são o fato de este ligante poder interagir com energia favorável ($\Delta G = -7,39$ kcal/mol, ver tabela 3) com sítio alvo da BSA (entre os sítios IIA e IIIA), bem como a possibilidade de interação por empilhamento π - π com o resíduo Triptofano-212 (Trp-212). Como relatado anteriormente para a interação deste ligante com o DNA, a posição 3-quinolina favorece a interação ligante receptor devido à restrição de conformações do ligante e melhor acomodação deste no sítio alvo da BSA (Figura 67).

Comportamento semelhante foi observado para todos os derivados indólicos e o derivado pirrólico, com diferentes intensidades de hipocromicidade e desvios do pico máximo de emissão, com exceção para o LqIT/JF-101, que por apresentar um grupo nitro, um forte desativante, que pode desfavorecer a interação do núcleo indólico com os fluoróforos aromáticos da BSA.

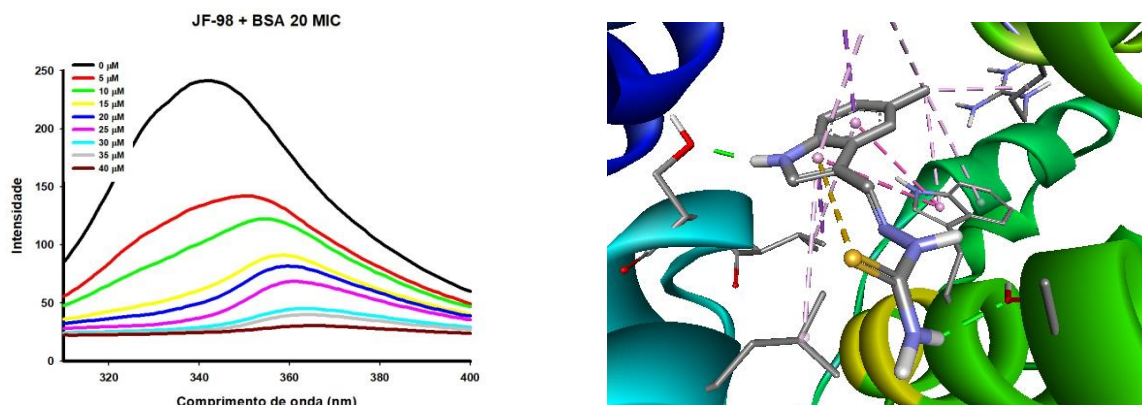
Figura 67- Posição de interação do ligante LqIT/JF-74 entre os sítios IIA (verde) e IIIA (azul escuro) da BSA e interações de empilhamento entre o ligante e o Trp-212.

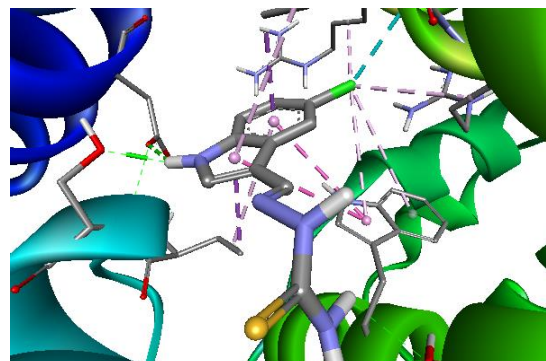
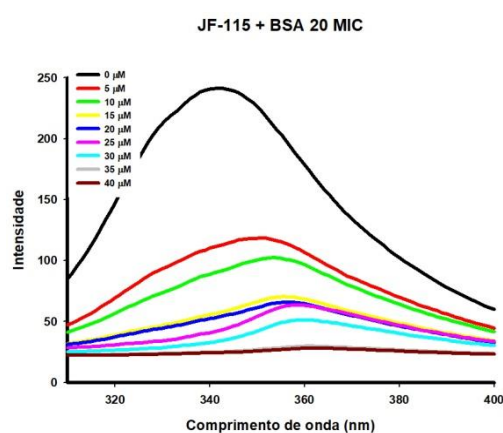
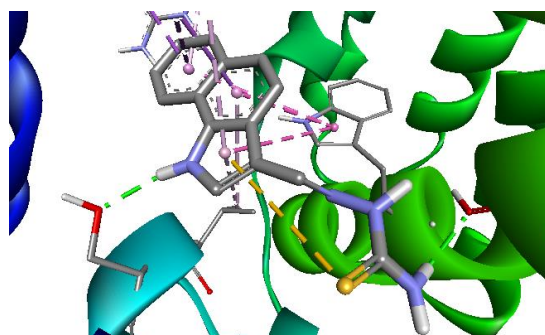
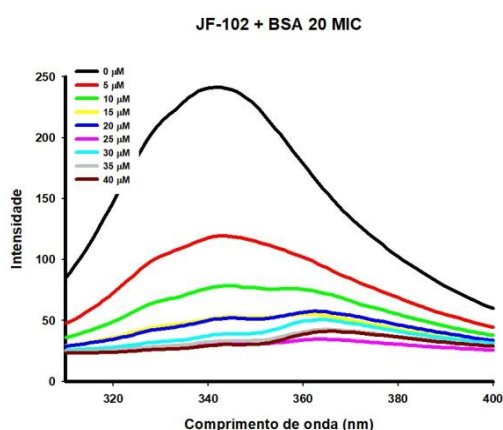
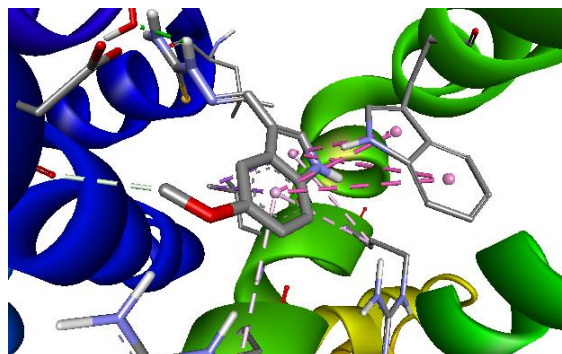
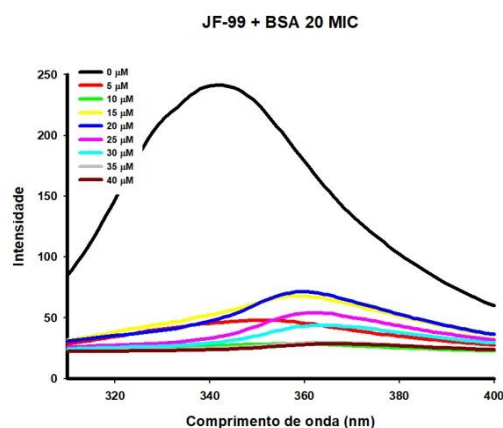


Fonte: Desenvolvido pelo autor no software Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

Os derivados indólicos contendo grupos ativantes ou desativantes fracos na posição 5 foram os que apresentaram os maiores valores, tanto para hipocromicidade como para o K_{sv} e $\Delta\lambda$, características que estão presentes nos ligantes LqIT/JF-98 (5-metil), LqIT/JF-99 (5-metóxi) e LqIT/JF-115 (5-cloro). Para os desativantes fracos, como o halogênio cloro do LqIT/JF-115, a perda eletrônica por efeito indutivo é equilibrada pelo ganho eletrônico por conjugação, o que não prejudica a capacidade do ligante interagir com a BSA. Por outro lado, o ligante LqIT/JF-102 apresenta um anel aromático adicional, o que favorece a interação por empilhamento π - π com o Trp-212 (Figura 68).

Figura 68- Espectro de emissão de fluorescência da albumina do soro bovino (BSA) na presença de quantidades crescentes dos compostos LqIT/JF-98, LqIT/JF-99, LqIT/JF-102 e LqIT/JF-115 e interações de empilhamento entre os ligantes e o Trp-212.



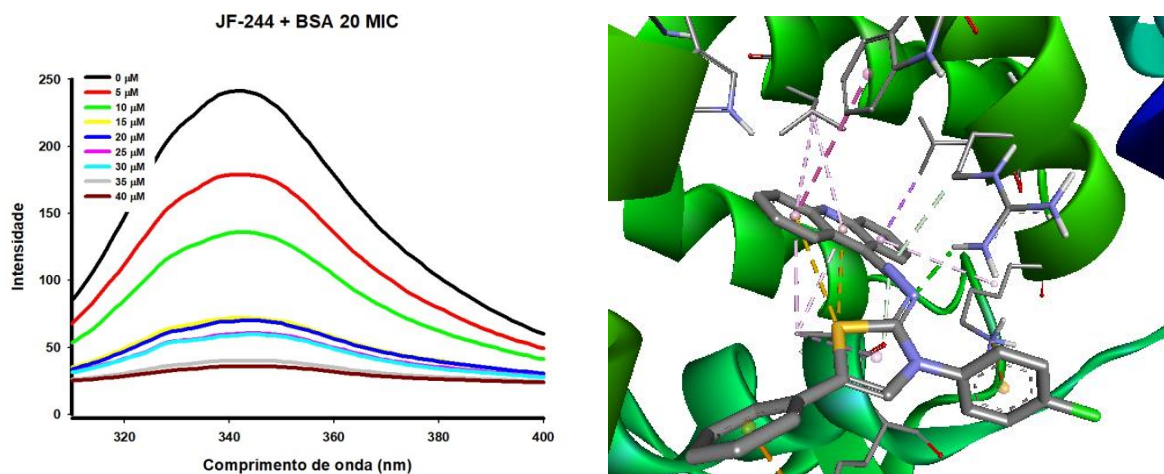


Todos os derivados acridínicos, tiossemicarbazonas e tiazóis, apresentaram valores razoáveis para os parâmetros hipocromismo, $\Delta\lambda$ e K_{sv} , porém sempre inferiores aos valores das quinolinas, indóis e pirrol, excetuando-se a quinolina LqIT/JF-73 e o indol LqIT/JF-101. Coincidentemente ao resultado evidenciado para os ligantes do ctDNA, o LqIT/JF-244 (4-cloro) demonstrou ser um dos mais promissores dentre os derivados acridínicos, no que concerne a hipocromicidade, que alcançou 85,18%, e um valor de K_{sv} de $1,56 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$.

Provavelmente, devido ao baixo valor da área de superfície polar topológica (TPSA) dos derivados acridínicos em relação aos anteriores (ver tabela 10), há apenas uma moderada

interação do ligante com o Trp-212, causando uma razoável acomodação do ligante ao sítio ativo da BSA, por interações de π - π do tipo *T-shaped* (Figura 69).

Figura 69- Espectro de emissão de fluorescência da albumina do soro bovino (BSA) na presença de quantidades crescentes do composto LqIT/JF-244 e interações entre o ligante e o Trp-212.



Fonte: Desenvolvido pelo autor nos softwares SigmaPlot 10.0 e Discovery Studio Visualizer 17.2.0.

5.4 PROPRIEDADES ADME DOS LIGANTES

Em virtude de priorizar compostos com possibilidade de sucesso em fase clínica, é indispensável buscar virtualmente (*in silico*) propriedades que influenciem nas interações entre os compostos e o sistema biológico. Com o intuito de que tais ligantes possam ser eleitos para futuros testes *in vitro* e *in vivo*, torna-se fundamental a previsão de propriedades como solubilidade aquosa, ligações rotacionáveis, superfície polar topológica (VEBER et al., 2002), bem com propriedades farmacocinéticas, tais como absorção, distribuição, metabolização e eliminação (ADME) (DO AMARAL; PICCIRILLO, 2018).

Desta forma, foram verificadas as propriedades que visem atender parâmetros estabelecidos para que um composto tenha o potencial de se tornar um fármaco (*druglikeness*), de acordo com métodos tradicionais de previsão de biodisponibilidade, tais como a regra dos cinco de Lipinski (*Lipinski's rule of five*) (LIPINSKI et al., 1997), bem como suas derivações, como a regra dos quatro (TEAGUE et al., 1999; OPREA et al., 2001), a regras dos três (visando fragmentos) (CONGREVE et al., 2003; MAKARA, 2007) e a regra dos dois (*building blocks*) (GOLDBERG et al., 2015).

Por meio da verificação de propriedades físico-químicas, estruturais e farmacocinéticas dos compostos, pode-se realizar um filtro de modo que eles possuam características desejáveis para um fármaco, tais como solubilidade em água e biodisponibilidade por via oral. Assim, foram estabelecidas por meio das plataformas online SwissADME (ZOETE et al., 2017) e pkCSM (PIRES et al., 2015) as seguintes propriedades: logP, logS, HBA (aceptores de ligação de hidrogênio), HBD (doadores de ligação de hidrogênio), RTB (ligações rotáveis), TPSA, permeabilidade Caco-2, absorção intestinal, VDss (Tabela 10).

Tabela 10- Dados físico-químicos e farmacocinéticos *in silico* calculados nas plataformas SwissADME e pkCSM.

Compostos	MM (g·mol ⁻¹)	MLogP ^a	LogS ^b	HBA/HBD/ RTB ^c	TPSA ^d (Å ²)	Perm. Caco- 2 ^e	Absor. Intest. ^f (%)	VDss ^g	VOLUME de distribuição (Vd) (L/kg)
LqIT/JF-73	230,0626	0,84	-1,29	2 / 2 / 3	95,39	0,507	92,100	-0,077	0,84
LqIT/JF-74	230,0626	0,84	-3,20	2 / 2 / 3	95,39	0,390	92,689	-0,066	0,86
LqIT/JF-75	230,0626	0,84	-1,77	2 / 2 / 3	95,39	0,368	91,803	-0,071	0,85
LqIT/JF-97	218,0626	0,59	-3,00	1 / 3 / 3	98,29	0,725	89,572	0,029	1,07
LqIT/JF-98	232,0783	0,88	-3,37	1 / 3 / 3	98,29	0,687	92,104	0,05	1,12
LqIT/JF-99	248,0732	0,32	-3,16	2 / 3 / 4	107,52	0,841	97,582	0,061	1,15
LqIT/JF-100	295,9731	1,29	-3,71	1 / 3 / 3	98,29	0,982	88,003	0,005	1,01
LqIT/JF-101	263,0477	-0,38	-3,78	3 / 3 / 4	144,11	-0,35	75,948	0,023	1,05
LqIT/JF-102	268,0783	1,51	-4,29	1 / 3 / 3	98,29	0,856	89,501	0,223	1,67
LqIT/JF-114	243,0579	-0,03	-3,20	2 / 3 / 3	122,08	0,785	57,537	-0,084	0,82
LqIT/JF-115	252,0236	1,15	-3,64	1 / 3 / 3	98,29	0,987	88,070	-0,009	0,98
LqIT/JF-116	168,0470	-0,78	-1,95	1 / 3 / 3	98,29	0,754	82,126	-0,084	0,82
LqIT/JF-242	401,0946	3,32	-6,99	4 / 2 / 6	127,22	1,334	96,928	-0,313	0,49
LqIT/JF-243	374,1001	3,84	-6,31	3 / 2 / 5	81,40	1,094	91,095	0,032	1,08
LqIT/JF-244	490,1019	5,61	-9,11	3 / 0 / 4	70,78	1,080	96,879	-0,265	0,54
LqIT/JF-245	474,1314	5,51	-8,56	4 / 0 / 4	70,78	1,053	95,330	-0,589	0,26
LqIT/JF-248	456,1409	5,15	-8,46	3 / 0 / 4	70,78	1,014	95,396	-0,505	0,31

^aSwissADME log do coeficiente de partição octanol/água; ^bSwissADME log de solubilidade aquosa; ^cSwissADME HBA – Hydrogen-Bond acceptors; HBD – Hydrogen-Bond donors; RTB – Rotatable bonds; ^dSwissADME Cálculo do da Área de Superfície Polar Topológica (TPSA); ^ePredição de pkCSM da permeabilidade das células Caco-2 como estimativa de absorção na mucosa intestinal humana; ^fPredição de pkCSM da proporção de absorção de composto pelo intestino delgado humano; ^gPredição pkCSM do log do volume de distribuição em estado estacionário (VDss).

Dentre os parâmetros de caráter estrutural e de biodisponibilidade relatados por Lipinski (LIPINSKI et al. 1997), são preconizados: massa molar ≤ 500 g/mol; LogP ≤ 5 (MLogP $\leq 4,15$); aceptores de ligações de hidrogênio ($HBA \leq 10$); doadores de ligações de hidrogênio ($HBD \leq 5$). Além destes, parâmetros como o número de ligações rotacionáveis (RTB ≤ 10) e a área de superfície polar topológica (TPSA $\leq 140\text{\AA}^2$), devem ser considerados (VEBER et al., 2002).

De acordo com as propriedades recomendadas por Lipinski (1997) e Veber (2002) para uma aceitável biodisponibilidade oral dos compostos, tais como LogP, massa molar (MM), HBA, HBD e TPSA, praticamente todos os fármacos se enquadram nos parâmetros, com exceção dos tiazóis acridínicos (LqIT/JF-244, LqIT/JF-245 e LqIT/JF-248) por apresentarem altos valores de logP e o composto indólico LqIT/JF-101 (4-nitro), que apresenta elevada área de superfície polar topológica (TPSA), o que categorizam os primeiros como demasiadamente apolares, e o segundo como altamente polar.

Tais características podem ser corroboradas pelo parâmetro logS, que indica a solubilidade aquosa dos compostos. Neste quesito, apenas os derivados indólicos e quinolínicos se enquadram, visto que, o aceitável é que o composto apresente logS acima de -6, o que categoriza os derivados acridínicos como pouco solúveis, e os quinolínicos e indólicos como moderadamente solúveis ($-6 < \log S < -4$), solúveis ($-4 < \log S < -2$) e muito solúveis ($-2 < \log S < 0$). A quantidade superior de anéis aromáticos dos derivados acridínicos, principalmente os tiazólicos, promovem uma alta lipofilicidade (logP), baixa de hidrofiliabilidade (logS) e uma baixa superfície polar topológica (TPSA) (LAMBERTUCCI et al. 2018).

A monocamada de células Caco-2 é utilizada como um modelo *in vitro* da mucosa intestinal humana para prever a absorção de drogas administradas oralmente. Os coeficientes são expressos em logaritmo da permeabilidade aparente ($\log P_{app}$), onde compostos que apresentem valores acima de 0,9 são considerados como altamente permeáveis às células Caco-2, e valores próximos são considerados moderadamente permeáveis ou pouco permeáveis.

Já a absorção intestinal humana propriamente dita do composto é evidenciada em termos de porcentagem (Absor. Intest.), sendo considerados moderadamente ou altamente absorvíveis os compostos que apresentem essa propriedade acima dos 30%, já os que estão abaixo desse limiar são considerados pobremente absorvíveis (PIRES et al., 2015). Com base em ambos os parâmetros, todos os compostos, com exceção do LqIT/JF-101 (4-nitro) que exibiu baixo valor para a permeabilidade em Caco-2, se adéquam ao preconizado, de modo

que todos podem ser classificados como moderadamente a altamente permeáveis, ou absorvíveis, pelas células intestinais humanas.

O volume de distribuição (VD_{ss}) é o volume teórico representado pelo volume de líquido necessário para conter a quantidade total do fármaco absorvido no corpo, numa concentração uniforme equivalente à do plasma no estado de equilíbrio dinâmico (GOLAN, et al., 2016). Quanto mais alto o VD, maior a concentração em que o fármaco se distribui nos tecidos. Na plataforma pkCSM, os valores são atribuídos na forma do logaritmo do VD_{ss} (logVD_{ss}), assim para obtermos o volume de distribuição por quilograma, devemos lançar mão da seguinte relação: $10^{\log D_{ss}} = V_d$. Para este parâmetro, a baixa distribuição do composto nos tecidos é denotada por valores abaixo de 0,71 L/kg, já uma moderada distribuição é expressa em valores entre 0,71 e 2,81 L/kg. Desta forma, todos os compostos se delimitam neste intervalo, com exceção dos tiazóis acridínicos e a tiossemicarbazona acridínica LqIT/JF-242, por consequência de seus logP muito elevados e logS muito baixos.

Em vista de tais considerações, todos os compostos quinolínicos, indólicos e pirrólico se harmonizam com as regras estruturais e físico-químicas supracitadas (LIPINSKI et al., 1997; VEBER et al., 2002), bem como para os descritores farmacocinéticos (ZOETE et al., 2017; PIRES et al., 2015), o que as tornam aptas a demonstrarem biodisponibilidade oral desejável.

Apesar dos resultados de ADME menos satisfatórios para os compostos acridínicos, estudos recentes mostram compostos com estruturas similares sendo utilizados com sucesso em ensaios para atividade antiproliferativa, como ligantes de DNA e inibição da topoisomerase I (LAFAYETTE et al., 2013; ALMEIDA et al., 2015). Além destes, os resultados de ligação dos ligantes ao ctDNA por espectroscopia de absorção eletrônica, bem como os resultados para ligação com a BSA por espectroscopia de fluorescência, obtidos para os ligantes deste trabalho, impulsionam ensaios semelhantes futuros para estes compostos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio de técnicas espectroscópicas, espectrofotométricas, espectrofluorimétricas e de modelagem molecular foi possível identificar, elucidar estruturalmente e traçar perfis de interação molecular entre os derivados do estudo e as macromoléculas ctDNA e albumina do soro bovino.

A síntese dos derivados tiossemicarbazônicos e tiazolínicos evidenciou a versatilidade química destes compostos, visto que seus processos de obtenção são exequíveis em questão de minutos a poucas horas, o que torna atraente a busca por novos derivados destas séries de moléculas. Com um alcance de rendimentos que variam de 22% a 85%, é evidente que alguns processos de síntese já se encontram otimizados, porém outros demandam aperfeiçoamento, almejando uma melhor desempenho nos processos de síntese.

Pelo fato de consistirem em compostos com sistemas aromáticos conjugados, ligações sigma rotáveis, bem como ligações duplas que permitem a obtenção de moléculas apresentando conformações *E* e *Z*, estudos conformacionais por meio da metodologia semi-empírica MOPAC e do algoritmo genético no *docking* molecular, foram indispensáveis para determinação de parâmetros que são utilizados para estipular calor de formação, momentos dipolares e geometria molecular dos compostos.

Através do estudo de *docking* foi possível verificar que todos os ligantes do estudo se inter-relacionam com o ctDNA e a albumina do soro bovino, principalmente por meio de interações não covalentes, tais como, empilhamentos π - π (*T-shaped*; *sandwich*; *parallel displaced*), π -alquil, π -enxofre, π -sigma e ligações de hidrogênio com as bases nitrogenadas do DNA, bem como com os aminoácidos que compõem as proteínas. Tal condição é fundamental para candidatos a intercaladores com atividade antiproliferativa.

Os estudos de espectrofotometria e espectrofluorimetria permitiram determinar a interação dos ligantes com o ctDNA e a albumina, visto que foram evidenciados relevantes resultados de hiper/hipocromicidade, bato/hipsocromicidade, K_b e K_{sv} para a maioria dos compostos, com destaque para os ligantes LqIT/JF-73, LqIT/JF-74, LqIT/JF-75, LqIT/JF-97, LqIT/JF-98, LqIT/JF-99, LqIT/JF-102, LqIT/JF-115, LqIT/JF-116, LqIT/JF-244, LqIT/JF-245 e LqIT/JF-248.

Em vista disso, a elucidação molecular e estudos de interação dos compostos em estudo por meio das técnicas supramencionadas foram satisfatoriamente alcançados, fomentando o presente trabalho a abarcar estudos mais rebuscados que promoverão a aplicabilidade dos compostos como potenciais agentes intercaladores de DNA, visando à

atividade antiproliferativa, bem como ligantes eficientes da proteína albumina, almejando perfis farmacocinéticos satisfatórios.

6.1 PERSPECTIVAS

- Realizar estudos de ligação com o ctDNA, por meio de espectroscopia de emissão de fluorescência para analisar as propriedades de ligação dos derivados com o ctDNA;
- Efetuar estudo de espectroscopia de dicroísmo circular para averiguar mudanças na estrutura secundária do ctDNA na presença dos derivados;
- Verificar a capacidade de inibição da atividade das enzimas topoisomerase IIa humana dos derivados mais ativos em testes proliferativos, bem como seu potencial citotóxico em células não transformadas;
- Avaliar as alterações ultramorfológicas causadas pelo tratamento com derivados acridina tiossemicarbazonas sobre linhagem tumoral de mama (MCF-7);
- Analisar o tipo de morte celular programada, se por apoptose (tipo I) ou autofágica (tipo II).

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, C.; COOP, A.; POLLI, J. E.; MACKERELL, A. D., JR. Recent advances in ligand-based drug design: Relevance and utility of the conformationally sampled pharmacophore approach. *Curr. Comput. Aided Drug Des.*, 7: 10–22, 2011.
- ALAJARÍN, M.; CABRERA, J.; PASTOR, A.; SÁNCHEZ-ANDRADA, P.; BAUTISTA, D. (2006). On the [2+2] Cycloaddition of 2-Aminothiazoles and Dimethyl Acetylenedicarboxylate. Experimental and Computational Evidence of a Thermal Disrotatory Ring Opening of Fused Cyclobutenes. *J. Org. Chem.* 71(14): 5328-5339, 2006.
- ALBERT, A. The Long Search for Valid Structure-Action Relationships in Drugs *J. Med. Chem.*, 25: 1, 1982.
- ALMEIDA, S. M. V.; LAFAYETTE, E. A.; DA SILVA, L. P. B.; AMORIM, C. A. C.; OLIVEIRA, T. B.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; MOURA, R. O.; CARNEIRO BELTRÃO, E. I.; DE LIMA, M. C. A.; CARVALHO JÚNIOR, L. B. Synthesis, DNA Binding, and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Thiosemicarbazone Derivatives *Int. J. Mol. Sci.* 16: 13023-13042, 2015.
- ANDERSON, A. C. The Process of Structure-Based Drug Design. *Chemistry & Biology*, 10: 787–797, 2003.
- ANDREANI, A.; BURNELLI, S.; GRANAIOLO, M.; LEONI, A.; LOCATELLI, A.; MORIGI, R.; RAMBALDI, M.; VAROLI, L.; LANDI, L.; PRATA, C.; BERRIDGE, M. V.; GRASSO, C.; FIEBIG, H.-H.; KELTER, G.; BURGER, A. M.; KUNKEL, M. W. Antitumor activity of bis-indole derivatives. *J. Med. Chem.*, 51: 4563-4570, 2008.
- ARANCIBIA, R. ; KLAHN, A. H.; LAPIER, M. ; MAYA, J. D.; IBAÑEZ, A.; GARLAND, M. T.; CARRÈRE-KREMER, S.; KREMER, L.; BIOT, C. Synthesis, characterization and *in vitro* anti-*Trypanosoma cruzi* and anti-*Mycobacterium tuberculosis* evaluations of cyrhetrenyl and ferrocenyl thiosemicarbazones. *J. Organomet. Chem.* 755: 1-6, 2014.

ARANCIBIA, R.; QUINTANA, C.; BIOT, C.; MEDINA, M. E.; CARRÈRE- KREMER, S.; KREMER, L.; KLAHN, A. H. Palladium (II) and platinum (II) complexes containing organometallic thiosemicarbazone ligands: Synthesis, characterization, X-ray structures and antitubercular evaluation. *Inorg. Chem. Commun.*, 55: 139-142, 2015.

ARSHAD, N.; ZAFRAN, M.; ASHRAF, Z; PERVEEN, F. Synthesis, characterization of amide substituted dexibuprofen derivatives and their spectral, voltammetric and docking investigations for DNA binding interactions. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 169: 134–147, 2017.

ARYA, S.; KUMAR, A.; KUMAR, N.; ROY, P.; SONDHI, S. M. Synthesis and anticancer activity evaluation of some acridine derivatives. *Med Chem Res.* 24: 1942–1951, 2015.

ASHOK, P.; LU, C.-L.; CHANDER, S.; ZHENG, Y.-T.; MURUGESAN, S. Design, synthesis, and biological evaluation of 1-(thiophen-2-yl)-9H-pyrido[3,4-b]indole derivatives as anti-HIV-1 agents. *Chem.Biol. Drug Des.*, 85: 722-728, 2015.

ASHTON, W. T.; CANTONE, C. L.; CHANG, L. L.; HUTCHINS, S. M.; STRELITZ, R. A.; MACCOSS, M.; CHANG, R. S. L.; LOTTI, V. J.; FAUST, K. A.; CHEN, T.; BUNTING, P.; SCHORN, T. W.; KIVLIGHN, S. D.; SIEGL, P. K. S. Nonpeptide angiotensin II antagonists derived from 4H-1,2,4-triazoles and 3H-imidazo[1,2-b][1,2,4]triazoles. *J. Med. Chem.*, 36(5): 591-609, 1993.

AYATI, A.; EMAMI, S.; ASADIPOUR, A.; SHAFIEE, A.; FOROUMADI, A. Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery. *Eur J Med Chem.* 97: 699-718, 2015.

BACILIERI, M.; MORO, S. Ligand-based drug design methodologies in drug discovery process an overview. *Curr. Drug Discov. Technol.* 3: 155–165, 2006.

BAILLY, C.; CHAIRES, J. B. Sequence-Specific DNA Minor Groove Binders. Design and Synthesis of Netropsin and Distamycin Analogues. *Bioconjugate Chem.* 9(5): 513-538, 1998.

BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Interações entre Complexos Antitumorais e o DNA e suas Ferramentas de Análise: um Enfoque nos Metalintercaladores. *Rev. Virtual Quim.*, 7(6): 1998-2016, 2015.

BARREIRO, E. J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 6B, 1172-1180, 2002.

BARUAH, H.; WRIGHT, M. W.; BIERBACH, U. Solution Structural Study of a DNA Duplex Containing the Guanine-N7 Adduct Formed by a Cytotoxic Platinum–Acridine Hybrid Agent. *Biochemistry*, 44: 6059–6070, 2005.

BATTAGLIA, S.; BOLDRINI, E.; SETTIMO, F. D.; DONDIO, G.; MOTTA, C. L.; MARINI, A. M.; PRIMOFIORE, G. Indole amide derivatives: synthesis, structure-activity relationships and molecular modelling studies of a new series of histamine H1-receptor antagonists. *Eur. J. Med. Chem.*, 34: 93-105, 1999.

BENNER, K.; IHMELS, H.; KÖLSCH, S.; PITHAN, P.M. Targeting a basic site-containing DNA with annelated quinolizium derivatives: the influence of size, shape and substituents. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 12: 1725-1734, 2014.

BERNTHSEN, A. Die Acridine. *Annalen der Chemie*, 224: 1, 1884.

BERNTHSEN, A.; BENDER, F. Ueber die Bildung von Nitrilbasen aus organischen Säuren und Aminen; Synthese der Acridine. *Chem. Ber.*, 16: 1802, 1883.

BERRYMAN, O. B., HOF, F., HYNES, M. J.; JOHNSON, D. W. Anion– π interaction augments halide binding in solution. *Chem. Commun.* 5: 506–508, 2006.

BHARTI, N.; HUSAIN, K.; GARZA, M. T. G.; VEGA, D. E. C.; GARZA, J. C.; CARDENAS, B. D. M.; NAQVI, F.; Synthesis and in vitro antiprotozoal activity of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 12: 3475 3478, 2002.

BHARTI, N.; ATHAR, F.; MAURYA, M. R.; AZAM, A. Synthesis, characterization and *in-vitro* anti-amoebic activity of new palladium(II) complexes with 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde N(4)-substituted thiosemicarbazones. *Bio. Org. Med. Chem.* 12: 4679–84, 2004.

BISSANTZ, C., KUHN, B., STAHL, M. A medicinal chemist's guide to molecular interactions. *J. Med. Chem.* 53(14): 5061-5084, 2010.

BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. *Quim. Nova*, 32(3): 679-688, 2009.

BÖGEMANN, M.; PETERSEN, S.; SCHULTZ, O.-E.; SÖLL, H. Methoden zur Herstellung und Umwandlung von schwefelhaltigen Kohlensäurederivaten in Houben-Weyl: Methoden der Organischen Chemie, Band 9, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1955, Seiten 773–915, dort Seite 831.

BRAGA, S. F. P.; FONSECA, N. C.; RAMOS, J. P.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; OLIVEIRA, R. B. Synthesis and citotoxicity evaluation of thiosemicarbazones and their thiazole derivatives. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 52 (2): 2016.

BUJACZ, A.; ZIELINSKI, K.; SEKULA, B. Structural studies of bovine, equine, and leporine serum albumin complexes with naproxen. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics* 82 (9): 2199-2208, 2014.

BURGER, A. *Medicinal chemistry*, Wiley-Interscience, New York Press, 1970.

CARTER, D.; HO, J. X.; Structure of Serum Albumin. *Adv. Protein Chem.* 45: 153, 1994.

CARTER, D. C.; HE, X. M.; Structure of human serum albumin. *Science* 249: 302, 1990.

CASAS, J. S.; GARCÍA-TASENDE, M. S.; SORDO, J. Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review. *Coordination Chemistry Reviews*, 209: 197–261, 2000.

CHEN, Y. L.; LU, C. M.; CHEN, I. L.; TSAO, L. T.; WANG, J. P. Synthesis and Anti-inflammatory Evaluation of 9-Anilinoacridine and 9-Phenoxyacridine Derivatives. *J. Med. Chem.*, 45: 4689, 2002.

CHHABRIA M. T.; PATEL, S.; MODI, P.; BRAHMKSHATRIYA, P. S. Thiazole: A Review on Chemistry, Synthesis and Therapeutic Importance of its Derivatives. *Curr Top Med Chem.*16 (26): 2841–2862, 2016.

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

COATES, A.; HU, Y.; BAX, R.; PAGE, C. The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 1: 895, 2002.

CONGREVE, M.; CARR, R.; MURRAY, C.; JHOTI, H. A 'rule of three' for fragment-based lead discovery? *Drug Discov. Today*. 8 (19): 876–877, 2003.

DADASHPOUR, S.; EMAMI, S. Indole in the target-based design of anticancer agents: A versatile scaffold with diverse mechanisms. *Eur J Med Chem.*, 150: 9-29, 2018.

DAVE, S. S.; GHATOLE, A. M.; RAHATGAONKAR, A. M.; CHORGHADE, M. S.; CHAUHAN, P. M. S.; SRIVASTAVA, K. *Indian J Chem.* 48B, 1780, 2009.

DAVIS, A. M.; TEAGUE, S. J. Hydrogen Bonding, Hydrophobic Interactions, and Failure of the Rigid Receptor Hypothesis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 38: 736–749, 1999.

DAWSON, R. E., HENNIG, A., WEIMANN, D. P., EMERY, D., RAVIKUMAR, V., MONTENEGRO, J., TAKEUCHI, T., GABUTTI, S., MAYER, M., MAREDA, J., SCHALLEY, C. A.; MATILE, S. Experimental evidence for the functional relevance of anion- π interactions. *Nat. Chem.* 2: 533–538, 2010.

DE SOUZA, M. V. N.; PAIS, K. C.; KAISER, C. R.; PERALTA, M. A.; FERREIRA, M. L.; LOURENÇO, M. C. S. Synthesis and in vitro antitubercular activity of a series of quinoline derivatives. *Bioorg Med Chem* 17: 1474-1480, 2009.

DE SOUZA, V. R.; MOREIRA, M. B.; FRANCISCATO, D. S.; TOLEDO, K. C. F.; DE SOUZA, J. R. B.; NAKATANI, H. S. Investigação da supressão de fluorescência de soro albumina bovina e humana por complexo de rutênio. *Quim. Nova* 38 (2): 227-232, 2015.

DELAERE, D.; RASPOET, G.; NGUYEN, M. T. Thiol–Thione Tautomerism in Thioformic Acid: Importance of Specific Solvent Interactions. *J. Phys. Chem. A*, 103(1): 171–177, 1999.

DEMESHKO, S., DECHERT, S. & MEYER, F. Anion– π Interactions in a Carousel Copper(II)–Triazine Complex. *J. Am. Chem. Soc.* 126: 4508–4509, 2004.

DERONIC, A.; HELMERSSON, S.; LEANDERSON, T.; IVARS, F. The quinoline-3-carboxamide paquinimod (ABR-215757) reduces leukocyte recruitment during sterile inflammation: leukocyte- and context-specific effects. *Int Immunopharmacol* 18: 290, 2014.

DERONIC, A.; TAHVILI, S.; LEANDERSON, T.; IVARS, F. The anti-tumor effect of the quinoline-3-carboxamide tasquinimod: blockade of recruitment of CD11b(+) Ly6C(hi) cells to tumor tissue reduces tumor growth. *BMC Cancer*. 16: 440, 2016.

DESAI, N. C.; RAJPARA, K. M.; JOSHI, V. V. Synthesis and characterization of some new quinoline based derivatives endowed with broad spectrum antimicrobial potency. *Bioorg Med Chem Lett*. 22: 6871, 2012.

DI GIORGIO, C.; DE MEO, M.; CHIRON, J.; DELMAS, F.; NIKOYAN, A.; JEAN, S.; DUMENIL, G.; TIMON-DAVID, P.; GALY, J. P. Synthesis and antileishmanial activities of 4,5-di-substituted acridines as compared to their 4-mono-substituted homologues. *Bioorg. Med. Chem.*, 13: 5560, 2005.

DIMMOCK, J.R.; MCCOLL, J.M.; WONKO, S.L.; THAYER, R.S.; HANCOCK, D.S. Evaluation of the thiosemicarbazones of some aryl alkyl ketones and related compounds for anticonvulsant activities. *J. Med. Chem.* 26(5): 529-534, 1991.

DO AMARAL, A. T.; PICCIRILLO, E. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. *Quim. Nova*, Vol. XY, No. 00, 1-16, 2018.

DONALD, P. R.; MCILLERON, H. *Chapter 59 - Antituberculosis drugs*. In: *Tuberculosis*. Edinburgh: W.B. Saunders; 608-617, 2009.

DONG, Y.; LIANG, C.; ZHANG, B.; MA, J. ; HE, X.; CHEN, S.; ZHANG, X., CHEN, W. Bortezomib enhances the therapeutic efficacy of dasatinib by promoting c-KIT internalization-induced apoptosis in gastrointestinal stromal tumor cells. *Cancer Letters*, 361: 137, 2015.

DRWAL, M. N.; GRIFFITH, R. Combination of ligand-and structure-based methods in virtual screening. *Drug Discov. Today Technol.*10: 395–401, 2013.

DUFFY K. J.; SHAW A. N.; DELORME, E.; DILLON, S. B.; ERICKSON-MILLER, C.; GIAMPA, L.; HUANG, Y.; KEENAN, R. M.; LAMB, P.; LIU, N.; MILLER, S. G.; PRICE, A. T.; ROSEN, J.; SMITH, H.; WIGGALL, K. J.; ZHANG, L.; LUENGO, J. I. Identification of a Pharmacophore for Thrombopoietic Activity of Small, Non-Peptidyl Molecules. 1. Discovery and Optimization of Salicylaldehyde Thiosemicarbazone Thrombopoietin Mimics. *J. Med. Chem.*, 45(17): 3573–3575, 2002.

EFTINK, M. R., ROSS, J. B. A., LUCK, L. A., ROUSSLANG, K. W., SUBRAMANIAM, V., STELL D. G., GAFNI, A.; *Topics in Fluorescence Spectroscopy: Protein Fluorescence*; J. R. Lakowicz, ed.; Kluwer Academic Publishers, New York, vol. 6, cap. 1 – 3, 2000.

ELBASIOUNY S.M; MOROZ D.; BAKR M.M.; MUSHAHWAR, V. K. Management of spasticity after spinal cord injury: current techniques and future directions. *Neurorehabil Neural Repair*. 24(1): 23-33, 2010.

ELDERFIELD, R. C. *Heterocyclic compounds*. John-Wiley & Sons:New York, 1960, Vol. 4. pp. 6-59.

EL-GENDY ADEL, A.; ABDOU NAIDA, A.; EL-TABER, Z. S.; EL-BANNA HOSNY, A. Synthesis and biological activity of functionalized indole-2-carboxyates, triazino and pyridazino indoles. *Alex. J. Pharm. Sci.*, 7: 99-103, 1997.

ELIADIS, A.; PHILLIPS, D. R.; REISS, J. A.; SKOROBOGATY, A. The synthesis and DNA footprinting of acridinellinked netropsin and distamycin bifunctional mixed ligands. *J. Chem. SOC., Chem. Commun.* 15: 1049-1052, 1988.

EL- SAIED, F. A. SALEM, T. A.; SHAKDOFA, M. M. E.; AL- HAKIMI, A. N. Anti- neurotoxic evaluation of synthetic and characterized metal complexes of thiosemicarbazone derivatives. *Appl Organometal Chem.* 32(4): e4215, 2018.

ERGUC, A.; ALTINTOP, M. D.; ATLI, O.; SEVER, B.; ISCAN, G.; GORMUS, G.; OZDEMIR, A. Synthesis and Biological Evaluation of New Quinoline-Based Thiazolyl Hydrazone Derivatives as Potent Antifungal and Anticancer Agents. *Letters in Drug Design & Discovery*, 15(2): 193-202, 2018.

ERLENMEYER, H.; LEO, M. *Helv. Chim. Acta.* 15: 1171-1186, 1932.

FAVRE, H. A.; POWELL, W. H. *Nomenclature of Organic Chemistry: IUPAC Recommendations and Preferred Names 2013 (Blue Book)*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. 211-214, 2014.

FERREIRA, L. G.; DOS SANTOS; R. N.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules* 20: 13384-13421, 2015.

FRIEDMAN, H. L. Influence of isosteric replacements upon biological activity. In: First Symposium on Chemical-biological Correlation, May 26-27, 1950, NAS-NRS Publication No. 206, Washington, D.C., pp. 295-362, 1951.

FUREDI, A.; TOTH, S.; SZEKENYI, K.; PAPE, V. F.; TURK, D.; KUCSMA, N.; CERVENAK, L.; TOVARI, J.; SZAKACS, G. Identification and Validation of Compounds Selectively Killing Resistant Cancer: Delineating Cell Line-Specific Effects from P-Glycoprotein-Induced Toxicity. *Mol Cancer Ther* 16: 45-56, 2017.

GALANTINI, L.; LEGGIO, C.; KONAREV, P. V.; PAVEL, N. V.; Human serum albumin binding ibuprofen: a 3D description of the unfolding pathway in urea. *Biophys. Chem.* 147: 111, 2010.

GAO, C.; LI, S.; LANG, X.; LIU, H.; LIU, F.; TAN, C.; JIANG, Y. Synthesis and evaluation of 10-(3, 5-dimethoxy)benzyl-9 (10H)-acridone derivatives as selective telomeric G-quadruplex DNA ligands. *Tetrahedron*, 68: 7920, 2012.

GARCÍA, C.; LEÓN, L. G.; PUNGITORE, C. R.; RÍOS-LUCI, C.; DARANAS, A. H.; MONTERO, J. C.; PANDIELLA, A.; TONN, C. E.; MARTÍN, V. S.; PADRÓN, J. M. Enhancement of antiproliferative activity by molecular simplification of catalpol. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18: 2515–2523, 2010.

GAUDELLI, N. M.; LONG, D. H.; TOWNSEND, C. A. β -Lactam formation by a non-ribosomal peptide synthetase during antibiotic biosynthesis. *Nature*, 520: 383, 2015.

GENSICKA-KOWALEWSKA, M.; CHOLEWINSKI, G.; DZIERZBICKA, K. Recent developments in the synthesis and biological activity of acridine/acridone analogues. *RSC Adv.*, 7: 15776, 2017.

GHOSH, J.; SWARUP, V.; SAXENA, A.; DAS, S.; HAZRA, A.; PAIRA, P.; BANERJEE, S.; MONDAL, N. B.; BASU, A. Therapeutic effect of a novel anilidoquinoline derivative, 2-(2-methyl-quinoline-4ylamino)-N-(2-chlorophenyl)-acetamide, in Japanese encephalitis: correlation with in vitro neuroprotection. *Int J Antimicrob Agents*, 32: 349, 2008.

GIROUD, M.; IVKOVIC, J.; MARTIGNONI, M.; FLEUTI, M.; TRAPP, N.; HAAP, W.; KUGLSTATTER, A.; BENZ, J.; KUHN, B.; SCHIRMEISTER, T.; DIEDERICH F. Inhibition of the Cysteine Protease Human Cathepsin L by Triazine Nitriles: Amide...Heteroarene π -Stacking Interactions and Chalcogen Bonding in the S3 Pocket. *Chem Med Chem*. 12(3): 257-270, 2017.

GOGOI, S.; SHEKARRAO, K.; DUARAH, A.; BORA, T. C.; GOGOI, S.; BORUAH, R. C. A microwave promoted solvent-free approach to steroidal quinolines and their in vitro evaluation for antimicrobial activities. *Steroids*. 77(13): 1438-1445, 2012.

GOLAN, D. E.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy: 4. Ed. Wolters Kluwer/ Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2016.

GOLDBERG, F. W.; KETTLE, J. G.; KOGEJ, T.; PERRY, M. W. D.; TOMKINSON, N. P. Designing novel building blocks is an overlooked strategy to improve compound quality. *Drug Discovery Today*, 20(1): 11-17, 2015.

GONEC, T.; BOBAL, P.; SUJAN, J.; PESKO, M.; GUO, J.; KRALOVA, K.; PAVLACKA, L.; VESELY, L.; KRECKOVA, E.; KOS, J.; COFFEY, A.; KOLLAR, P.; IMRAMOVSKY, A.; PLACEK, L.; JAMPILEK, J. Investigating the Spectrum of Biological Activity of Substituted Quinoline-2-Carboxamides and Their Isosteres *Molecules*, 17: 613, 2012.

GONZALEZ-SANCHEZ, I.; SOLANO, J. D.; LOZA-MEJIA, M. A.; OLVERA-VÁZQUEZ, S.; RODRÍGUEZ-SOTRES, R.; MORÁN, J.; LIRA-ROCHA, A. CERBÓN, M. A. Antineoplastic activity of the thiazolo[5,4-b]quinoline derivative D3CLP in K-562 cells is mediated through effector caspases activation *Eur. J. Med. Chem.*, 46: 2102, 2011.

GOODSELL, D.; DICKERSON, R. E. Isohelical analysis of groove-binding drugs. *J. Med. Chem.* 29: 727-733, 1986.

GUPTA, H. C.; JAISWAL, V. Synthesis and antiviral activity of some acridin-9-yl arylidithiocarbamates. *Indian J. Heterocycl. Chem.* 19: 409, 2010.

GÜRSOY, A.; TERZIOGLU, N.; ÖTUK, G. Synthesis of some new hydrazide-hydrazones, thiosemicarbazides and thiazolidinones as possible antimicrobials. *Eur. J. Med. Chem.* 32(9): 753-757, 1997.

HALDER, S.; DEY, S.; ROY, P. A quinoline based Schiff-base compound as pH sensor. RSC advances, doi: DOI: 10.1039/C5RA07538F, 2015.

HAMEED, A.; AL-RASHIDA, M.; UROOS, M.; ABID ALI, S.; KHAN, K. M. Schiff bases in medicinal chemistry: a patent review (2010–2015). *Expert. Opin. Ther. Pat.* 27: 63–79, 2017.

HANTSCHHEL, O.; RIX, U.; SUPERTI-FURGA, G. Target spectrum of the BCR-ABL inhibitors imatinib, nilotinib and dasatinib. *Leukemia & Lymphoma*, 49 (4): 615–619, 2008.

HANTZSCH, A.; WEBER, J. H. Ueber Verbindungen des Thiazols (Pyridins der Thiophenreihe). *Chemische Berichte*, 20: 3118, 1887.

HARDER, M.; KUHN, B.; DIEDERICH, F. Efficient stacking on protein amide fragments. *Chem Med Chem*. 8(3):397-404, 2013.

HASSAN, M. F.; RAUF, A. Synthesis and multi-spectroscopic DNA binding study of 1,3,4-oxadiazole and 1,3,4-thiadiazol derivatives of fatty acid. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153: 510-516, 2016.

HE, X. M.; CARTER, D. C.; Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature*, 358: 209, 1992.

HEROVEN, C; GEORGI, V; GANOTRA, G. K.; BRENNAN, P.; WOLFREYS, F.; WADE, R. C.; FERNÁNDEZ- MONTALVÁN, A. E.; CHAIKUAD, A.; KNAPP, S. Halogen–Aromatic π Interactions Modulate Inhibitor Residence Times. *Angewandte Chemie*, 57(24): 7220-7224, 2018.

HIARI, Y. M. A.; QAISI, A. M.; ABADELAH, M. W.; VOELTER, W. Synthesis and antibacterial activity of some substituted 3-(aryl) and 3-(heteroaryl)indoles. *Monatshefte Fur. Chemie*, 137: 243-248, 2006.

HIENTZ, K.; MOHR, A.; BHAKTA-GUHA, D.; EFFERTH, T. The role of p53 in cancer drug resistance and targeted chemotherapy. *Oncotarget* 8: 8921-8946, 2017.

HILL, A. P.; YOUNG, R. J. Getting physical in drug discovery: a contemporary perspective on solubility and hydrophobicity. *Drug Discov Today* 15: 648-655, 2010.

HOOG, P. DE, GAMEZ, P., MUTIKAINEN, I., TURPEINEN, U. & REEDIJK, J. An aromatic anion receptor: anion- π interactions do exist. *Angew. Chem. Int. Ed.* 43: 5815–5817, 2004.

HORI, A.; INOUE, Y. YUGE, H. The effect of $\text{Cl}\cdots\pi$ interactions on the conformations of 4-chloro-5-(2-phenoxyethoxy)phthalonitrile and 4-chloro-5-[2-(pentafluorophenoxy)ethoxy]phthalonitrile. *Acta Crystallographica Section C*, 67(5): 154-156, 2011.

HUANG, S.-M.; HSU, P.-C.; CHEN, M.-Y.; LI, W.-S.; MORE, S. V.; LU, K.-T.; WANG, Y.-C. The novel indole compound SK228 induces apoptosis and FAK/Paxillin disruption in tumor cell lines and inhibits growth of tumor graft in the nude mouse. *Int. J. Cancer*, 131: 722-732, 2012.

HUGHES, J. P.; REES, S.; KALINDJIAN, S. B.; PHILPOTT, K. L. Principles of early drug discovery. *British Journal of Pharmacology*. 162 (6): 1239–1249, 2011.

HUSSEIN, W.; TURAN-ZITOUNI, G. Synthesis of new thiazole and thiazolyl derivatives of medicinal significant-a short review. *MOJ Biorg Org Chem*. 2(2): 53–56, 2018.

IBRAHIM, F. A.; SAYED, I. E. T. E. Synthesis and antiproliferative activity of acridine-sulfonamide conjugates. *Eur J Pharm Med Res*. 5 (5): 59-65, 2018.

IHMELS, H.; OTTO, D. Intercalation of organic dye molecules into double-stranded DNA general principles and recent developments, *Top Curr Chem*. 258: 161-204, 2005.

IMAI, Y. N.; INOUE, Y.; NAKANISHI, I.; KITaura, K. Amide– π Interactions Between Formamide and Benzene. *J Comp Chem*. 30(14): 2267-2276, 2009.

JAMES, D. A.; KOYA, K.; LI, H.; CHEN, S.; XIA, Z.; YING, W.; WU, Y.; SUN, L. Conjugated indole-imidazole derivatives displaying citotoxicity against multidrug resistant cancer cell lines. *Bioorg. Med.Chem. Lett.*, 16: 5164-5168, 2006.

JIN, G.; LEE, S.; CHOI, M.; SON, S.; KIM, G.-W.; OH, J.-W.; LEE, C.; LEE, K. Chemical genetics-based discovery of indole derivatives as HCV NS5B polymerase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 75: 413-425, 2014.

JOSEPH, J.; KURUVILLA, E.; ACHUTHAN, A. T.; RAMAIAH, D.; SCHUSTER, G. B. Tuning of Intercalation and Electron-Transfer Processes between DNA and Acridinium Derivatives through Steric Effects. *Bioconj. Chem.*, 15: 1230, 2004.

KALYAANAMOORTHY, S.; CHEN, Y. P. Structure-based drug design to augment hit discovery. *Drug Discov. Today*, 16: 831–839, 2011.

KATEGAONKAR, A. H.; SHINDE, P. V.; KATEGAONKAR, A. H.; PASALE, S. K.; SHINGATE, B. B.; SHINGARE, M. S. Synthesis and biological evaluation of new 2-chloro-3-((4-phenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)quinoline derivatives via click chemistry approach. *Eur J Med Chem*. 45: 3142, 2010.

KATZUNG, B. G. Basic & Clinical Pharmacology: 14. Ed. McGraw-Hill Education: New York, 2018.

KAYA, M.; YILDIRIR, Y.; GELIK, G. Y. Synthesis and antimicrobial activities of novel bisacridine-1,8-dione derivatives *Med. Chem. Res.*, 20, 293, 2011.

KIDWAI, M.; BHUSHAN, K. R.; SAPRA, P.; SAXENA, R. K.; GUPTA, R. *Bioorg. Med. Chem.* 8: 69, 2000.

KOSHIMA, H.; KUTSUNAI, K. Rapid Synthesis of Acridines Using Microwave. *Heterocycles*, 57: 1299, 2002.

KUMAR, A.; ARCHANA, SHARMA, S.; MALIK, N.; SHARMA, P.; KUSHIK, K.; SAXENA, K. K.; SRIVASTAVA, V. K. Synthesis of anti-inflammatory, analgesic and COX-II inhibitory activities of indolylpyrazolines. *Indian J. Chem. B.*, 43: 1532-1536, 2004.

KUMAR, A.; SRIVASTAVA, K.; KUMAR, S. R.; PURI S. K.; CHAUHAN, M. S. Synthesis of 9-anilinoacridine triazines as new class of hybrid antimalarial agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 19: 6996, 2009.

KUMAR, D.; KUMAR, N.M.; CHANG, K.-H.; SHAH, K. Synthesis and anticancer activity of 5-(3-indolyl)-1,3,4-thiadiazoles. *Eur. J. Med. Chem.*, 45: 4664-4668, 2010.

KUMAR, K.; SCHNIPER, S.; GONZÁLEZ- SARRÍAS, A.; HOLDER, A. A.; SANDERS, N.; SULLIVAN, D.; JARRETT, W. L.; DAVIS, K.; BAI, F.; SEERAM, N. P.; KUMAR, V. Highly potent anti-proliferative effects of a gallium(III) complex with 7-chloroquinoline thiosemicarbazone as a ligand: synthesis, cytotoxic and antimalarial evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* 86: 81-86, 2014.

KUMAR, R.; BHARGAVA, P.; SRIVASTAVA, R.; TYAGI, P. Synthesis and electroluminescence properties of tris-[5-chloro-8-hydroxyquinoline] aluminum $\text{Al}(\text{5-Clq})_3$. *Journal of semiconductors*, 36 (6): 2015.

KUMAR, S., BAWA, S., DRABU, S., PANDA, B. P., Design and synthesis of 2-chloroquinoline derivatives as non-azoles antimycotic agents. *Med. Chem. Res.* 20: 1340–1348, 2011.

KUNOS, C. A.; CHU, E.; BEUMER, J. H.; SZNOL, M.; IVY, S. P. Phase I trial of daily triapine in combination with cisplatin chemotherapy for advanced-stage malignancies. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 79: 201-207, 2017.

KUZNETSOVA, I. M.; SULATSKAYA, A. I.; POVAROVA, O. I.; TUROVEROV, K. K. Reevaluation of ANS Binding to Human and Bovine Serum Albumins: Key Role of Equilibrium Microdialysis in Ligand – Receptor Binding Characterization. *PLoS ONE* 7(7): e40845, 2012.

LAFAYETTE, E. A.; ALMEIDA, S. M. V.; PITTA, M. G.; CARNEIRO BELTRÃO, E. I.; DA SILVA, T. G.; MOURA, R. O.; PITTA, I. R.; DE CARVALHO, L. B.; DE LIMA, M. C. A. Synthesis, DNA binding and topoisomerase I inhibition activity of thiazacridine and imidazacridine derivatives. *Molecules*. 18(12): 15035-50, 2013.

LAFAYETTE, E. A. Síntese de derivados indólicos/acridínicos e avaliação da interação com DNA através de técnicas de espectroscopia utilizando brometo de etídio como sonda fluorescente. Tese de Doutorado, 2016.

Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/18709>

LA GUARDIA, C., STEPHENS, D. E.; DANG, H. T.; QUIJADA, M.; LARIONOV, O. V.; LLEONART, R. Antiviral Activity of Novel Quinoline Derivatives against Dengue Virus Serotype 2. *Molecules* 23: 672, 2018.

LAI, M.-J.; HUANG, H.-L.; PAN, S.-L.; LIU, Y.-M.; PENG, C.-Y.; LEE, H.-Y.; YEH, T.-K.; HUANG, P.-H.; TENG, C.-M.; CHEN, C.-S.; CHUANG, H.-Y.; LIOU, J.-P. Synthesis and biological evaluation of 1-arylsulfonyl-5-(hydroxyacrylamide)indoles as potent histone deacetylase inhibitors with antitumor activity *in vivo*. *J. Med. Chem.*, 55: 3777-3791, 2012.

LAKOWICZ, J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3. ed. Springer: New York, NY, USA, 2006.

LAMBERTUCCI, C.; MARUCCI, G.; DAL BEN, D.; BUCCIONI, M.; SPINACI, A.; KACHLER, S; KLOTZ, K. N.; VOLPINI, R. New potent and selective A1 adenosine receptor antagonists as potential tools for the treatment of gastrointestinal diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 151: 199-213, 2018.

LANG, X.; LI, L.; CHEN, Y.; SUN, Q.; WU, Q.; LIU, F.; TAN, C.; LIU, H.; GAO, C.; JIANG, Y. Novel synthetic acridine derivatives as potent DNA-binding and apoptosis-inducing antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 21: 4170, 2013.

LANGMUIR, I. The arrangement of electrons in atoms and molecules. *J. Am.Chem. Soc.*, 41: 868, 1919.

LANGMUIR, I. Isomorphism, isosterism and covalence. *J. Am. Chem. Soc.*, 41: 1543, 1919.

LEE, H. H.; BOYD, M.; GRAVATT, G. L.; DENNY, W. A. Pyrazole analogues of the bispyrrolecarboxamide anti-tumor antibiotics: synthesis, DNA binding and anti-tumour properties. *Anti-Cancer Drug Design* 6:501-517, 1991.

LI, D.; WANG, H.; DING, Y.; ZHANG, Z.; ZHENG, Z.; DONG, J.; KIM, H.; MENG, X.; ZHOU, Q.; ZHOU, J.; FANG, L.; SHEN, Q. Targeting the NRF-2/RHOA/ROCK signaling pathway with a novel aziridonin, YD0514, to suppress breast cancer progression and lung metastasis. *Cancer Lett* 424: 97-108, 2018.

LIÃO, L. M.; CASTELO BRANCO, F. S.; SILVA, B. V.; RIO, G. F.; SANTAMA, M. J.; QUEIROZ JÚNIOR, L. H. K.; PINTO, A. C.; BOECHAT, N. Ressonância magnética nuclear de substâncias organofluoradas: um desafio no ensino de espectroscopia. *Quim. Nova*, Vol. 38, No. 9, 1237-1246, 2015.

LIMA, L. M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 6, 1456-1468, 2007.

LIN, H. H.; ZHANG, L. L.; YAN, R.; LU, J. J.; HU, Y. J. Network analysis of drug-target interactions: a study on FDA-approved new molecular entities between 2000 to 2015. *Sci Rep.* 7: 12230, 2017.

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 Deliv. Rev.* 23(1-3): 3-25, 1997.

LIU, Y.; LI, F.; WU, L.; WANG, W.; ZHU, H.; ZHANG, Q.; ZHOU, H.; YAN, B. Improving both aqueous solubility and anti-cancer activity by assessing progressive lead optimization libraries. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25: 1971, 2015.

LIU, Y.; SHENG, J.; FOKINE, A.; MENG, G.; SHIN, W.; LONG, F.; KUHN, R. J.; KIHARA, D.; ROSSMANN, M. G. Structure and inhibition of EV-D68, a virus that causes respiratory illness in children. *Science*, 347: 71, 2015.

LOWN, J. W. Lexitropsins: rational design of DNA sequence reading agents as novel anti-cancer agents and potential cellular probes. *Anti-Cancer Drug Design* 3: 25-40, 1988.

LUAN, X. D.; GAO, C. M.; ZHANG, N. N.; CHEN, Y.; SUN, Q.; TAN, C.; LIU, H.; JIN, Y.; JIANG, Y. Exploration of acridine scaffold as a potentially interesting scaffold for discovering novel multi-target VEGFR-2 and Src kinase inhibitors *Bioorg. Med. Chem.*, 19: 3312, 2011.

LUNNISS, C. J., COOPER, A. W. J., ELDRED, C. D., KRANZ, M., LINDVALL, M., LUCAS, F. S., NEU, M., PRESTON, A. G. S., RANSHAW, L. E., REDGRAVE, A. J., ROBINSON, J. E., SHIPLEY, T. J., SOLANKE, Y. E., SOMERS, D. O., WISEMAN, J. O. Quinolines as a novel structural class of potent and selective PDE4 inhibitors: optimisation for oral administration. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19: 1380–1385, 2009.

MA, J.; BAO, G.; WANG, L.; LI, W.; XU, B.; DU, B.; LV, J.; ZHAI, X.; GONG, P. Design, synthesis, biological evaluation and preliminary mechanism study of novel benzothiazole derivatives bearing indole-based moiety as potent antitumor agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 96: 173-186, 2015.

MAI, A.; ROTILI, D.; TARANTINO, D.; NEBBIOSO, A. ; CASTELLANO, S.; SBARDELLA, G.; TINI, M.; ALTUCCI, L. Identification of 4-hydroxyquinolines inhibitors of p300/CBP histone acetyltransferases, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19: 1132-1135, 2009.

MAKARA, G. M. On sampling of fragment space. *J. Med. Chem.* 50(14): 3214-3221, 2007.

MARELLA, A.; TANWAR, O. P.; SAHA, R.; ALI, M. R.; SRIVASTAVA, S.; AKHTER, M.; SHAQUIQUZZAMAN, M.; ALAM, M. M. *Saudi Pharm J.* 21: 1, 2013.

MANSKE, R. H. The chemistry of quinolines. *Chem. Rev.*, 30: 113-144, 1942.

McCONNAUGHIE, A. W.; JENKINS, T. C. Novel Acridine-Triazenes as Prototype Combilexins: Synthesis, DNA Binding, and Biological Activity. *J. Med. Chem.* 38: 3488-3501, 1995.

McGAUGHEY, G.; PATRICK WALTERS, W.; Modeling & Informatics at Vertex Pharmaceuticals Incorporated: our philosophy for sustained impact. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* 31(3): 293-300, 2017.

McGAUGHEY, G. B.; GAGNÉS, M.; RAPPÉ, A. K. π -Stacking Interactions. *The journal of biological chemistry.* 273 (25): 15458-15463, 1998.

McGHEE, J. D.; VON HIPPEL, P. H. Theoretical aspects of DNA-Protein interactions: Co-operative and non-cooperative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *J. Mol. Biol.* 86: 469–489, 1974.

MIGNANI, S.; RODRIGUES, J.; TOMAS, H.; JADAL, R.; SINGH, P. P.; MAJORAL, J. P.; VISHWAKARMA, R. A. Present drug-likeness filters in medicinal chemistry during the hit and lead optimization process: how far can they be simplified? *Drug Discovery Today* 23(3): 605-615, 2018.

MILLER, L. M.; MAYER, S. C.; BERGER, D. M.; BOSCHELLI, D. H.; BOSCHELLI, F.; DI, L.; DU, X.; DUTIA, M.; FLOYD, M. B.; JOHNSON, M.; KENNY, C. H.; KRISHNAMURTHY, G.; MOY, F.; PETUSKY, S.; TKACH, D.; TORRES, N.; WU, B.; XU, W. Lead identification to generate 3-cyanoquinoline inhibitors of insulin-like growth factor receptor (IGF-1R) for potential use in cancer treatment. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19: 62-66, 2009.

MINOTTI, G. MENNA, P.; SALVATORELLI, E.; CAIRO, G.; GIANNI, L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol. Rev.* 56: 185, 2004.

MISHRA, M., MISHRA, V. K., KASHAW, V., IYER, A. K., KASHAW, S. K. Comprehensive review on various strategies for antimalarial drug discovery. *Eur. J. Med. Chem.* 125: 1300–1320, 2017.

MONTANARI, C. A. A química medicinal na próxima década. *Quím. Nova*, 23(1): 2000.

MOORTHY, N. S.; CERQUEIRA, N. M.; RAMOS, M. J.; FERNANDES, P. A. Development of ribonucleotide reductase inhibitors: a review on structure activity relationships. *Mini Rev Med Chem* 13: 1862-72, 2013.

MOREIRA, D. R. M.; OLIVEIRA, A. D. T.; GOMES, P. A. T. M.; SIMONE, C. A.; VILLELA, F. S.; FERREIRA, R. S.; SILVA, A. C.; SANTOS, T. A. R.; CASTRO, M. C. A. B.; PEREIRA, V. R. A.; LEITE, A. C. L. Conformational restriction of aryl

thiosemicarbazones produces potent and selective anti-*Trypanosoma cruzi* compounds which induce apoptotic parasite death. *Eur. J. Med. Chem.* 75: 467-478, 2014.

MOSHER, M. D.; NATALE, N. R. The preparation of intercalating isoxazoles via a nitrile oxide cycloaddition. *J. Heterocycl. Chem.*, 32: 779–781, 1995.

MUHAMMAD, N.; GUO, Z. Metal-based anticancer chemotherapeutic agents. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 19: 144, 2014.

MUKHERJEE, A.; SASIKALA, W. D. Chapter One - Drug–DNA Intercalation: From Discovery to the Molecular Mechanism. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 92: 1-62, 2013.

NAVEENRAJ, S.; ANANDAN, S.; Binding of serum albumins with bioactive substances – Nanoparticles to drugs *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* 14: 53, 2013.

OLGEN, S. Recent development of new substituted indole and azaindole derivatives as anti-HIV agents. *Mini-Rev. Med. Chem.* 13: 1700-1708, 2013.

OLIVEIRA, R.B.; SOUZA-FAGUNDES, E.M.; SOARES, R.P.; ANDRADE, A.A.; KRETTLI, A.U.; ZANI, C.L. Synthesis and antimalarial activity of semicarbazone and thiosemicarbazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 43(9): 1983-1988, 2008.

OLIVEIRA, J. F.; LIMA, T. S.; VENDRAMINI-COSTA, D. B.; LACERDA PEDROSA, S. C. B.; LAFAYETTE, E. A.; SILVA, R. M. F.; ALMEIDA, S. M. V.; MOURA, R. O.; RUIZ, A. L. T. G; CARVALHO, J. E.; LIMA, M. D. C. A. Thiosemicarbazones and 4-Thiazolidinones Indole-based derivatives: synthesis, evaluation of antiproliferative activity, cell death mechanisms and topoisomerase inhibition assay. *Eur. J. Med. Chem.* 136: 305-314, 2017.

OPREA, T.; TEAGUE, S. J.; DAVIS, A. M.; LEESON, P. D. Is there a difference between leads and drugs? A historical perspective. *J Chem Inf Comput Sci.* 41(5): 1308-1315, 2001.

O'SULLIVAN, D. G.; SADLER, P. W.; WEBLEY, C. A Study of the Chemotherapeutic Activity of Isatin β -4',4'-Dialkylthiosemicarbazones against Ectromelia Infection. *Chemotherapia*, 7: 17-26, 1963.

OTAGIRI, M.; YAMASAKI, K.; CHUANG, V. T. G.; MARUYAMA, T. Albumin–drug interaction and its clinical implication. *Biochimica et Biophysica Acta* 1830: 5435-5443, 2013.

OZDEMIR, A.; ALTINTOP, M. D.; TURAN-ZITOUNI, G.; CIFTCI, G. A.; ERTORUN, I.; ALATASC, O.; KAPLANCIKLI, Z. A. Synthesis and evaluation of new indole-based chalcones as potential anti-inflammatory agents. *Eur. J. Med. Chem.* 89: 304-309, 2015.

PAKRAVAN, P.; MASOUDIAN, S. Study on the Interaction between Isatin- β -Thiosemicarbazone and Calf Thymus DNA by Spectroscopic Techniques. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14: 111-123, 2015.

PANDEYA, S. N.; SRIRAM, D.; NATH, G.; DECLERCQ, E. Synthesis, antibacterial, antifungal and anti-HIV activities of Schiff and Mannich bases derived from isatin derivatives and N-[4-(4'-chlorophenyl)thiazol-2-yl] thiosemicarbazide. *Eur. J. Med. Chem.* 9: 25, 1999.

PAPASTAIKOUDI, T. S.; TSOTINIS, A.; RAPTOPOULOU, C.; SAMBANI, C.; THOMOU, H. Synthesis of new alkylaminoalkyl thiosemicarbazones of 3-acetylindole and their effect on DNA synthesis and cell proliferation. *Eur. J. Med. Chem.* 30(2): 107-114, 1995.

PATIL, P. O.; BARI, S. B. Synthesis, characterization and screening for antidepressant and anticonvulsant activity of 4,5-dihydropyrazole bearing indole derivatives. *Arabian Journal of Chemistry* 9: 588–595, 2016.

PAVAN F. R.; MAIA, P. I. D.; LEITE, S. R. A.; DEFLON, V. M.; BATISTA, A. A.; SATO, D. N.; FRANZBLAU, S. G.; LEITE, C. Q. F. Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: Anti-Mycobacterium tuberculosis activity and cytotoxicity. *European Journal of Medicinal Chemistry* 45: 1898-1905, 2010.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. Introduction to Spectroscopy. 5ed. Cengage Learning, Stamford, 2015.

PERIN, N.; NHILI, R.; ESTER, K.; LAINE, W. ; KARMINSKI-ZAMOLA, G.; KRALJ, M.; DAVID-CORDONNIER, M. H.; HRANJE, M. Synthesis, antiproliferative activity and DNA binding properties of novel 5-aminobenzimidazo[1,2-a]quinoline-6-carbonitriles, *Eur. J. Med. Chem.* 80: 218-227, 2014.

PETERS JR., T.; *All About Albumin; Biochemistry, Genetics and Medical Applications*, Academic Press: San Diego, 1995.

PETERS JR, T.; STEWART, A. J.; Albumin research in the 21st century. *Biochim. Biophys. Acta*, 1830(12): 5351-5353, 2013.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J Med Chem.* 58(9): 4066-4072, 2015.

POHLMANN, A. R.; QUIRION, J-C.; GUILLAUME, D.; HUSSON, H-P. Peptídeos de conformação restrita induzida pela incorporação de unidades (aza)lactâmicas. *Quím Nova*, 22(6): 828-837, 1999.

PRAJAPATI, S. M.; PATEL, K. D.; VEKARIYA, R. H., PANCHAL, S. N.; PATEL, H. D. Recent advances in the synthesis of quinolines: a review. *RSC Adv.*4: 24463–24476, 2014.

PRZHEVALSKII, N. M.; MAGEDOV, I. V.; DROZD, V. N. New derivatives of indole. Synthesis of s-(indolyl-3) diethyl dithiocarbamates. *Chem. Heterocycl. Comp.* 33: 1475-1476, 1997.

QUENELLE, D. C.; KEITH, K. A.; KERN, E. R. *In-vitro* and *in-vivo* evaluation of isatin- β -thiosemicarbazone and marboran against vaccinia and cowpox virus infections. *Antiviral Res.* 71: 24–30, 2006.

QUIÑONERO, D., GARAY, C., ROTGER, C., FRONTERA, A., BALLESTER, P., COSTA, A. & DEYÀ, P. M. Anion- π Interactions: do they exist? *Angew. Chem. Int. Ed.* 41: 3389–3392, 2002.

RAMSAY, R. R.; POPOVIC-NIKOLIC, M. R., NIKOLIC, K.; ULIASSI, E.; BOLOGNESI, M. L. A perspective on multi- target drug discovery and design for complex diseases. *Clin. Trans. Med.* 7: 3, 2018.

RAZA, A.; JACOBSON, B.A.; BENOIT, A.; PATEL, M. R.; JAY-DIXON, J.; HIASA, H.; FERGUSON, D.M.; KRATZKE, R. A. Novel acridine-based agents with topoisomerase II inhibitor activity suppress mesothelioma cell proliferation and induce apoptosis. *Invest. New Drugs*, 30: 1443-8, 2012.

REHA, D.; KABELÁČ, M.; RYJÁČEK, F.; SPONER, J.; SPONER, J. E.; ELSTNER, M.; SUHAI, S.; HOBZA, P. Intercalators. 1. Nature of stacking interactions between intercalators (ethidium, daunomycin, ellipticine, and 4',6-diaminide-2-phenylindole) and DNA base pairs. Ab initio quantum chemical, density functional theory, and empirical potential study. *J. Am. Chem. Soc.* 124:3366-76, 2003.

RIBEIRO, A. G. Design e elucidação estrutural de novos derivados 4-quinolinas-tiossemicarbazonas potenciais agentes anticâncer. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

RODRIGUEZ, V.; VALENTE, S.; ROVIDA, S.; ROTILI, D.; STAZI, G.; LUCIDI, A.; CIOSSANI, G.; MATTEVI, A.; BOTRUGNO, O.A.; DESSANTI, P.; MERCURIO, C.; VIANELLO, P.; MINUCCI, S.; VARASID, DE M.; MAI, A. Pyrrole and indole-containing tranylcypromine derivatives as novel lysine-specific demethylase 1 inhibitors active on cancer cells. *Med. Chem. Commun.*, 6: 665-670, 2015.

ROSSITER, S., PERON, S. J., WHITFIELD, P. J., JONES, K., Synthesis and anthelmintic properties of arylquinolines with activity against drug-resistant nematodes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15: 4806–4808, 2005.

SABOLOVA, D.; KOZURKOVA, M.; KRISTIAN, P.; DANIHEL, I.; PODHRADSK, D.; IMRICH, J. Determination of the binding affinities of plasmid DNA using fluorescent intercalators possessing an acridina skeleton. *Int. J. Biol. Macromol.* 38: 94–98, 2006.

SALEM, O. M.; VILKOVÁ, M.; JANOČKOVÁ, J.; JENDŽELOVSKÝ, R.; FEDOROČKO, P.; ŽILECKÁ, E.; KAŠPÁRKOVÁ, J.; BRABEC, V.; IMRICH, J.; KOŽURKOVÁ, M. New spiro tria(thia)zolidine-acridines as topoisomerase inhibitors, DNA binders and cytostatic compounds *Int. J. Biol. Macromol.* 86: 690-700, 2016.

SARODNICK, G.; HEYDENREICH, M.; LINKER, T.; KLEINPETER, E. Quinoxalines. Part 12: Synthesis and structural study of 1-(thiazol-2-yl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]quinoxalines—the dehydrogenative cyclization with hydroxylamine hydrochloride. *Tetrahedron* 59(33): 6311-6321, 2003.

SAYED, M.; EL-DEAN, A. M. K.; AHMED, M.; HASSANIEN R. Synthesis of some heterocyclic compounds derived from indole as antimicrobial agents. *Synth Commu.* 48(4): 413-421, 2018.

SCHIFF, H. Mittheilungen aus dem Universitäts-laboratorium in Pisa: Eine neue Reihe organischer Basen. *Annalen der Chemie und Pharmacie.* 131: 118–119, 1864.

SCOTT, D. A.; BALLIET, C. L.; COOK, D. J.; DAVIES, A. M.; GERO, T. W.; OMER, C. A.; POONDRU, S.; THEOCLITOU, M. E.; TYURIN, B.; ZINDA, M. J. Identification of 3-amido-4-anilinoquinolines as potent and selective inhibitors of CSF-1R kinase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19: 697-700, 2009.

SEIJAS, J. A.; VÁUQUEZ-TATO, M. P.; MARTÍNEZ, M. M.; RODRÍGUEZ-PARGA, J. *Green Chem.* 4: 390, 2002.

SENS, L.; OLIVEIRA, A. S.; MASCARELLO, A.; BRIGHENTE, M. C. YUNES, R. A.; NUNES, R. J. Synthesis, Antioxidant Activity, Acetylcholinesterase Inhibition and Quantum Studies of Thiosemicarbazones. *J. Braz. Chem. Soc.*, 29(2): 343-352, 2018.

SHALINI; VILJOEN, A.; KREMER, L.; KUMAR, V. Alkylated/aminated nitroimidazoles and nitroimidazole-7-chloroquinoline conjugates: Synthesis and anti-mycobacterial evaluation. *Bioorg & Med Chem Lett* 28(8): 1309-1312, 2018.

SHARMA, S.; ATHAR, F.; MAURYA, M. R.; NAQVI, F.; AZAM, A. Novel bidentate complexes of Cu (II) derived from 5-nitrofuran-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones with antiamoebic activity against *E. histolytica*. *Eur. J. Med. Chem.* 40: 557–62, 2005.

SHAVETA, SINGH, A.; KAUR, M.; SHARMA, S.; BHATTI, R.; SINGH, P. Rational design, synthesis and evaluation of chromone-indole and chromone-pyrazole based conjugates: Identification of a lead for anti-inflammatory drug. *Eur. J. Med. Chem.*, 77: 185-192, 2014.

SHI, Y.; XUE, Y.; HOU, K.; MENG, G.; WANG, K.; CHI, R.; CHEN, F.; REN, H.; PANG, M.; HAO, C. Molecular Structure Simplification of the Most Common Hole Transport Material in Perovskite Solar Cells. *RSC Adv.*, DOI: 10.1039/C6RA21448G, 2016.

SHIVARAJ, Y.; NAVEEN, M. H.; VIJAYAKUMAR, G. R.; ARUNA KUMAR, D. B. Design, Synthesis and Antibacterial Activity Studies of Novel Quinoline Carboxamide Derivatives. *J Korean Chem Soc.* 57: 241, 2013.

SILVA, T. F. Abordagens da Química Medicinal para o Desenho de Protótipos de Fármacos. *Rev. Virtual Quim.* 5(5): 921-933, 2013.

SINGH, P.; KAUR, M.; VERMA, P. Design, synthesis and anticancer activities of hybrids of indole and barbituric acids-identification of highly promising leads. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 19: 3054-3058, 2009.

SINGH, S.; BHARTI, N.; NAQVI, F.; AZAM, A. Synthesis, characterization and *in-vitro* antiamoebic activity of 5 nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones and their Palladium(II) and Ruthenium(II) complexes. *Eur. J. Med. Chem.* 39: 459–65, 2004.

SINGH, S. K.; DAS, A. The $n \rightarrow \pi^*$ interaction: a rapidly emerging non-covalent interaction. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17: 9596-9612, 2015.

SINNOKROT, M. O.; VALEEV, E. F.; SHERRILL, C. D. Estimates of the Ab Initio Limit for π - π Interactions: The Benzene Dimer. *J. Am. Chem. Soc.* 124 (36): 10887-10893, 2002.

SLEEP, D.; CAMERON, J.; EVANS, L. R. Albumin as a versatile platform for drug half-life extension. *Biochim. Biophys. Acta* 1830 (12): 5526-5534, 2013.

SONG, Y.-L.; WU, F.; ZHANG, C.-C.; LIANG, G.-C.; ZHOU, G.; YU, J.-J. Ionic liquid catalyzed synthesis of 2-(indole-3-yl)-thiochroman-4-ones and their novel antifungal activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25: 259-261, 2015.

SOUIBGUI, A.; GAUCHER, A.; MARROT, J.; BOURDREUX, F.; ALOUI, F.; HASSINE, B. B.; PRIM, D. New series of acridines and phenanthrolines: synthesis and characterization. *Tetrahedron*, 70: 3042-3048, 2014.

SOUZA, M.A.; JOHANN S.; LIMA, L.A.R.S.; CAMPOS, F.F.; MENDES, I.C.; BERALDO, H.; SOUZA-FAGUNDES, E.M.; CISALPINO, P.S.; ROSA, C.A.; ALVES, T.M.; SÁ, N.P.; ZANI, C.L. The antimicrobial activity of lapachol and its thiosemicarbazone and semicarbazone derivatives. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 108(3): 342-351, 2013.

SRIRAM, D.; YOGESWARI, P.; THIRUMURUGAN, R. Discovery of newer antitubercular oxazolyl thiosemicarbazones. *J. Med. Chem.* 49: 3448-3450, 2006.

STENSTRÖM, M.; NYHLÉN, H. C.; TÖRNGREN, M.; LIBERG, D.; SPARRE, B.; TUVESON, H.; ERIKSSON, H.; LEANDERSON, T. Paquinimod reduces skin fibrosis in tight skin 1 mice, an experimental model of systemic sclerosis. *J Dermatol Sci.* 83: 52, 2016.

STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *Journal of Molecular Modeling*, 13, (12): 1173-1213, 2007.

STOYANOV, S.; PETKOV, I.; ANTONOV, L.; STOYANOVA, T; KARAGIANNIDIS, P.; ASLANIDIS, P. Thione-thiol tautomerism and stability of 2- and 4-mercaptopyridines and 2-mercaptopyrimidines. *Canadian Journal of Chemistry*, 68(9): 1482-1489, 1990.

SUBASHINI, G.; VIDHYA, K.; ARASAKUMAR, T.; ANGAYARKANNI, J.; MURUGESH, E.; SARAVANAN, A.; SHANMUGHAVEL, P.; MOHAN, P. S. Quinoline- Based Imidazole Derivative as Heme Oxygenase- 1 Inhibitor: A Strategy for Cancer Treatment. 3 (13): 3680-3686, 2018.

SURYAWANSHI, V. D.; WALEKAR, L. S.; GORE, A. H.; ANBHULE, P. V.; KOLEKAR, G. B. Spectroscopic analysis on the binding interaction of biologically active pyrimidine derivative with bovine serum albumin. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6: 56-63, 2016.

SUZEN, S.; BUYUKBINGOL, E. Evaluation of anti-HIV activity of 5-(2-phenyl-3'-Indolyl)-2-thiohydantoin. *Il Farmaco*, 53: 525-527, 1998.

SRIVASTAVA, A.; NIZAMUDDIN, A. Synthesis and fungicidal activity of some acridine derivatives. *Indian J. Heterocycl. Chem.*, 13: 261, 2004.

SU, W.; TANG, Z.; XIAO, Q.; LI, P.; WANG, G.; LI, Y.; HUANG, S.; GU, Y.; LAI, Z.; ZHANG, Y. New dinuclear ruthenium arene complexes containing thiosemicarbazone ligands: synthesis, structure and cytotoxic studies. *Dalton Trans.*, 45: 19329-19340, 2016.

TAN, D. X.; CHEN, L. D.; POEGGELER, B.; MANCHESTER, L. C.; REITER, R. J. Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr. J.*, 1: 57-60, 1993.

TANG, K.; HUANG, J.; PAN, J.; ZHANG, X.; LU, W. Design, synthesis and biological evaluation of C(6)-indole celastrol derivatives as potential antitumor agents. *RSC Adv.*, 5: 19620-19623, 2015.

TEAGUE, S. J.; DAVIS, A. M.; LEESON, P. D.; OPREA, T. The Design of Leadlike Combinatorial Libraries. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 38(24): 3743-3748, 1999.

TENÓRIO, R. P.; CARVALHO, C. S.; PESSANHA, C. S. Synthesis of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives and their in vitro anti-*Toxoplasma gondii* activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 15(10): 2575-2578, 2005.

TENÓRIO, R. P.; GÓES, A. J. S.; LIMA, G. J.; FARIA, R. A.; ALVES, A. J.; AQUINO, T. M. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. *Química Nova*, v. 28 n. 6, p. 1030-1037, 2005.

THIRUNAVUKKARASU, T.; SPARKES H. A.; NATARAJAN, K.; GNANASOUDARI, V.G. Synthesis, DNA/protein binding, molecular docking and *in vitro* anticancer activity of quinoline based palladium (II) complexes. *Inorganica Chimica Acta*, v. 17, doi: doi.org/10.1016/j.ica.2017.09.033, 2017.

THORNBUR, C. W. Isosterism and molecular modification in drug design. *Progress in Drug Research*, 37: 563-580, 1979.

TOMAR, V.; BHATTACHARJEE, G.; KAMALUDDIN; RAJAKUMAR, K.; SRIVASTAVA, K.; PURI, S. K. Synthesis of new chalcone derivatives containing acridinyl moiety with potential antimalarial activity. *Eur. J. Med. Chem.*, 45, 745, 2010.

TONELLI, M.; VETTORETTI, G.; TASSO, B.; NOVELLI, F.; BOIDO, V.; SPARATORE, F.; BUSONERA, B.; OUHTIT, A.; FARCI, P.; BLOIS, S.; GILIBERTI G.; LA COLLA, P. Acridine derivatives as anti-BVDV agents. *Antiviral Res.* 91(2): 133-41, 2011.

TRIPATHI, R. P.; VERMA, S. S.; PANDEY, J.; AGARWAL, K. C.; CHATURVEDI, V.; MANJU, Y. K.; SRIVASTVA, A. K.; GAIKWAD A.; SINHA, S. Search of antitubercular activities in tetrahydroacridines: synthesis and biological evaluation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 16, 5144, 2006.

TROSSINI, G. H. G.; GUIDO, R. V. C.; OLIVA, G.; FERREIRA, E. I.; ANDRICOPULO, A.D. Quantitative structure-activity relationships for a series of inhibitors of cruzain from *Trypanosoma cruzi*: Molecular modeling, CoMFA and CoMSIA studies. *J. Mol. Graph. Model.*, 28: 3–11, 2013.

TSUGE, O.; NISHINOHARA, M.; TASHIRO, M. B. Compounds related to acridine. I. Condensation of acridine derivatives having active methyl group and aromatic nitroso compounds. *Bull. Chem. Soc.* 36: 1477–1485, 1963.

VALASANI, K. R.; VANGAVARAGU, J. R.; DAY, V. W.; YAN, S. S. Structure based design, synthesis, pharmacophore modeling, virtual screening, and molecular docking studies for identification of novel cyclophilin D inhibitors. *J. Chem. Inf. Mod.* 54: 902–912, 2014.

VALLEY, C. C.; CEMBRAN, A.; PERLMUTTER, J. D.; LEWIS, A. K.; LABELLO, N. P.; GAO, J.; SACHS, J. N. The methionine-aromatic motif plays a unique role in stabilizing protein structure. *J. Biol. Chem.*, 287: 34979–34991, 2012.

VAN BERGEN, L. A. H.; ALONSO, M.; PALLÓ, A.; NILSSON, L.; DE PROFT, F.; MESSENS, J. Revisiting sulfur H-bonds in proteins: The example of peroxiredoxin AhpE. *Nature: Scientific Reports*, 6: 30369, 2016.

VEBER, D. F.; JOHNSON, S. R.; CHENG, H. Y.; SMITH, B. R.; WARD, K. W.; KOPPLE, K. D. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.* 45(12): 2615-2623, 2002.

VENKATACHALAM, T. K.; BERNHARDT, P. V.; PIERENS, G. K.; REUTENS, D. C. Synthesis and X-ray Crystal Structure of 2 and 4-Trifluoromethyl Substituted Phenyl Semicarbazone and Thiosemicarbazone. *J. Chem. Crystallogr.* 47:30–39, 2017.

VENKATESWARLU, Y.; KUMAR, S. R.; LEELAVATHI, P. A simple and efficient protocol for the synthesis of quinolines catalyzed by chloramine-T. *Org. Commun.* 5: 120, 2012.

VEVERKOVÁ, E.; NOSKOVÁ, M.; TOMA, S. *Synth. Commun.* 32: 729, 2002.

WANG, X.; SU, H.; CHEN, C.; CAO, X. Synthesis and biological evaluation of peptidomimetics containing the tryptamine moiety as a potential antitumor agent. *RSC Adv.*, 5: 15597-15602, 2015.

WANG, Y. R.; CHEN, S. F.; WU, C. C.; LIAO, Y. W.; LIN, T. S.; LIU, K. T.; CHEN, Y. S.; LI, T. K.; CHIEN, T. C.; CHAN, N. L. Producing irreversible topoisomerase II-mediated DNA breaks by site-specific Pt(II)-methionine coordination chemistry. *Nucleic Acids Research*, 45(18): 10861-10871, 2017.

WERMUTH, C. G. *The Practice of Medicinal Chemistry*: 3. ed., Elsevier/Academic Press: London, 2008.

WHEELER, S. E.; BLOOM, J. W. G. Toward a More Complete Understanding of Noncovalent Interactions Involving Aromatic Rings. *J. Phys. Chem. A*. 118: 6133–6147, 2014.

WIEDER, M.; GARON, A.; PERRICONE, U.; BORESCH, S.; SEIDEL, T.; ALMERICO, A. M.; LANGER, T. Common Hits Approach: Combining Pharmacophore Modeling and Molecular Dynamics Simulations. *J. Chem. Inf. Model.* 57: 365–385, 2017.

WOLFE, A.; SHIMER, G. H.; MEEHAN, T. Polycyclic aromatic hydrocarbons physically intercalate into duplex regions of denatured DNA. *Biochemistry*, 26: 6392–6396, 1987.

WOLKENBERG, S. E., ZHAO, Z., THUT, C., MAXWELL, J. W., MCDONALD, T. P., KINOSE, F., REILLY, M., LINDSLEY, C. W., HARTMAN, G. D. Design, synthesis, and evaluation of novel 3,6-diaryl-4-aminoalkoxyquinolines as selective agonists of somatostatin receptor subtype 2. *J. Med. Chem.* 54: 2351–2358, 2011.

WYNN, T. A.; In J. J. LI, editor: *Name Reactions for Heterocyclic Chemistry II*, Hoboken: New Jersey, 2011.

XIE, Y.-Q.; HUANG, Z.-L.; YAN, H.-D.; LI, J.; YE, L.-Y.; CHE, L.-M.; TU, S. Design, synthesis, and biological activity of oxime ether strobilurin derivatives containing indole moiety as novel fungicide. *Chem. Biol. Drug Des.*, 85: 743-755, 2015.

YARTSEVA, L.V.; ISAYEVAND, S. G.; SVECHNIKOVA, O. M. *Farm Zh.* 3 60, 2003.

YU, X. M.; RAMIANDRASOA, F.; GUETZOYAN, L.; PRADINES, B.; QUINTINO, E.; GADELLE, D.; FORTERRE, P.; CRESTEIL, T.; MAHY, J. P.; PETHE, S. Synthesis and biological evaluation of acridine derivatives as antimalarial agents. *Chem. Med. Chem*, 7: 587, 2012.

YURTTAŞ, L.; ÖZKAY, Y.; GENÇER, H. K.; ACAR, U. Synthesis of Some New Thiazole Derivatives and Their Biological Activity Evaluation. *Journal of Chemistry*. 2015:1–7, 2015.

YVETTE, O. M.; MALAN, S. F.; TAYLOR, D.; KAPP, E.; JOUBERT, E. Adamantane amine-linked chloroquinoline derivatives as chloroquine resistance modulating agents in *Plasmodium falciparum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 28 (8): 1287-1291, 2018.

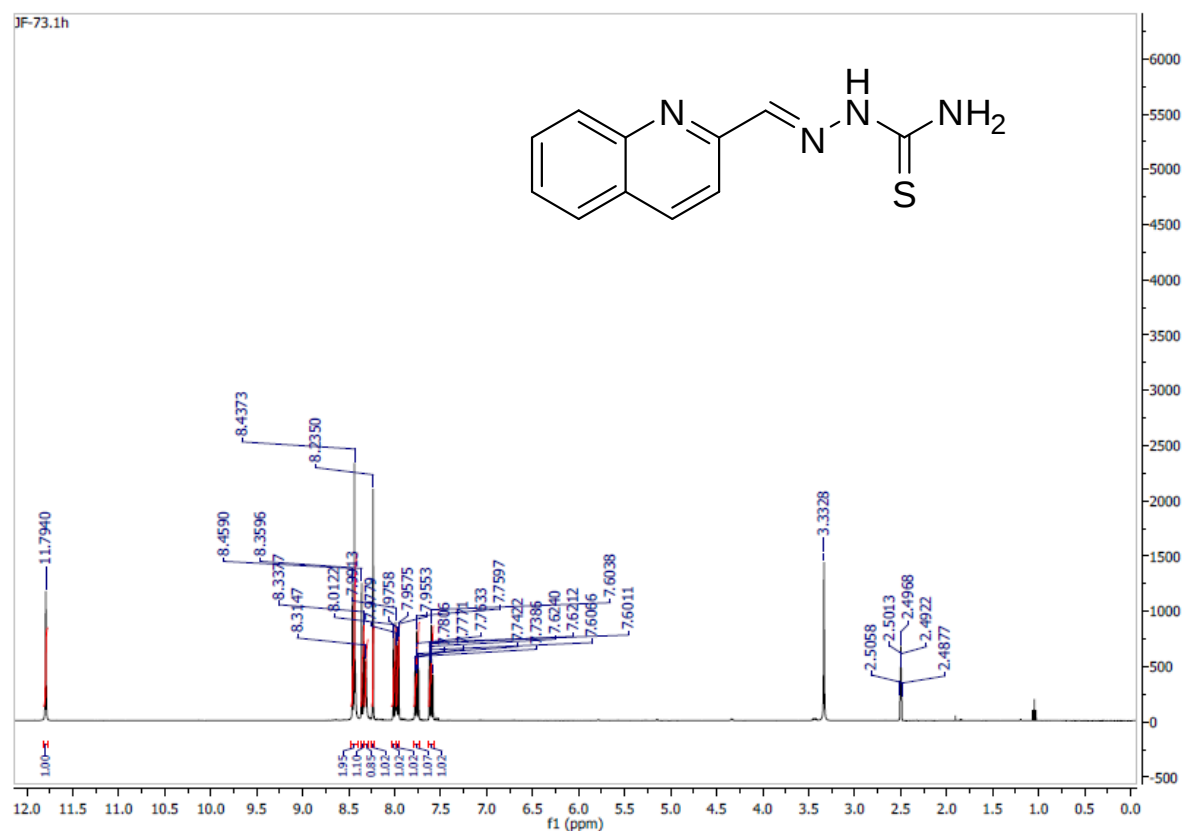
ZHANG, M.-Z.; CHEN, Q.; YANG, G.-F. A review on recent developments of indole-containing antiviral agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 89, 421-441, 2015.

ZOETE, V.; MICHIELIN, O; DAINA, A. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Nature: Scientific Reports*, 7, 42717, 2017.

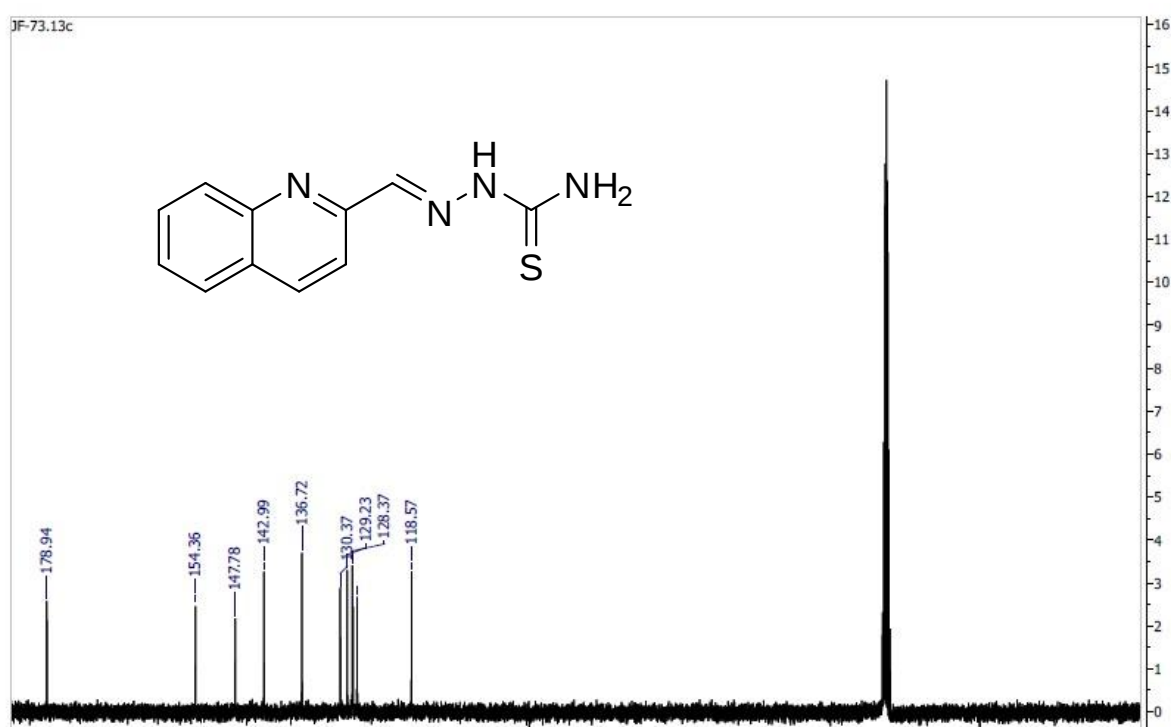
ZOGRAFOS, A. L., MITSOS, C. A., MARKOPOULOU, O. I. One step synthesis for the preparation of quinoline alkaloid analogues. *Org. Lett.* 1: 1953–1955, 1999.

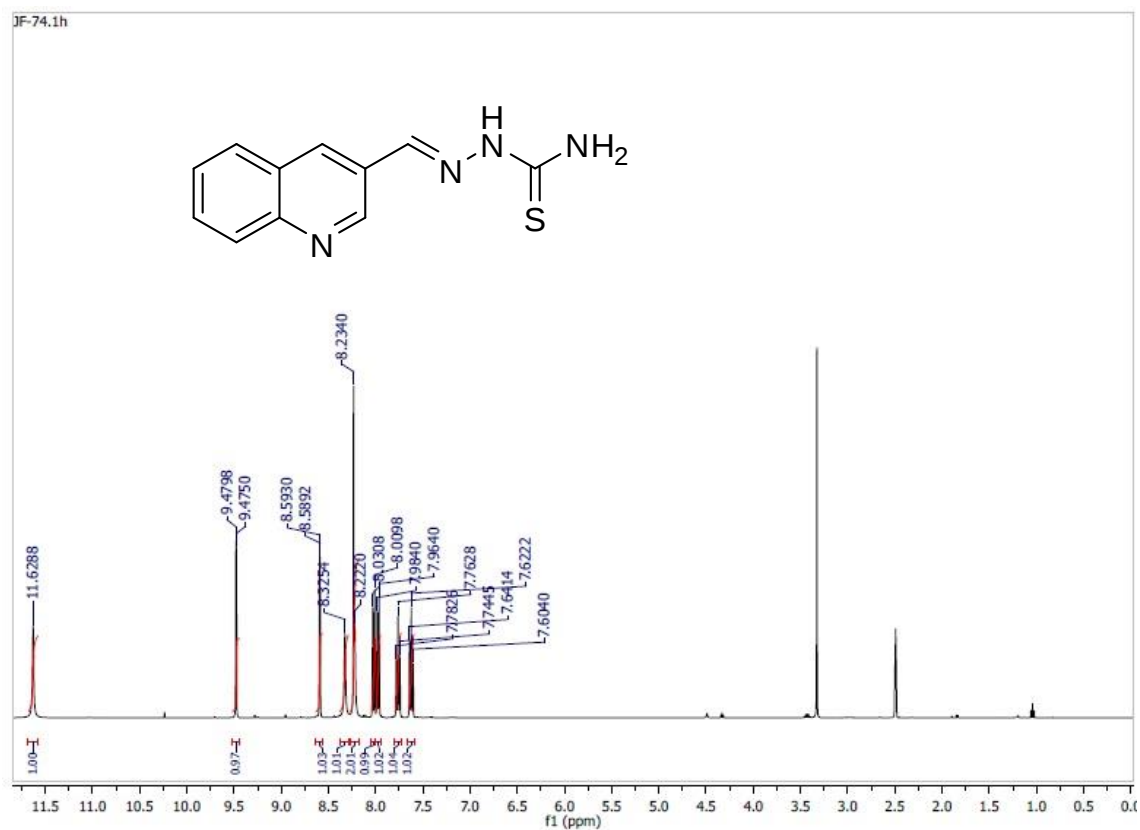
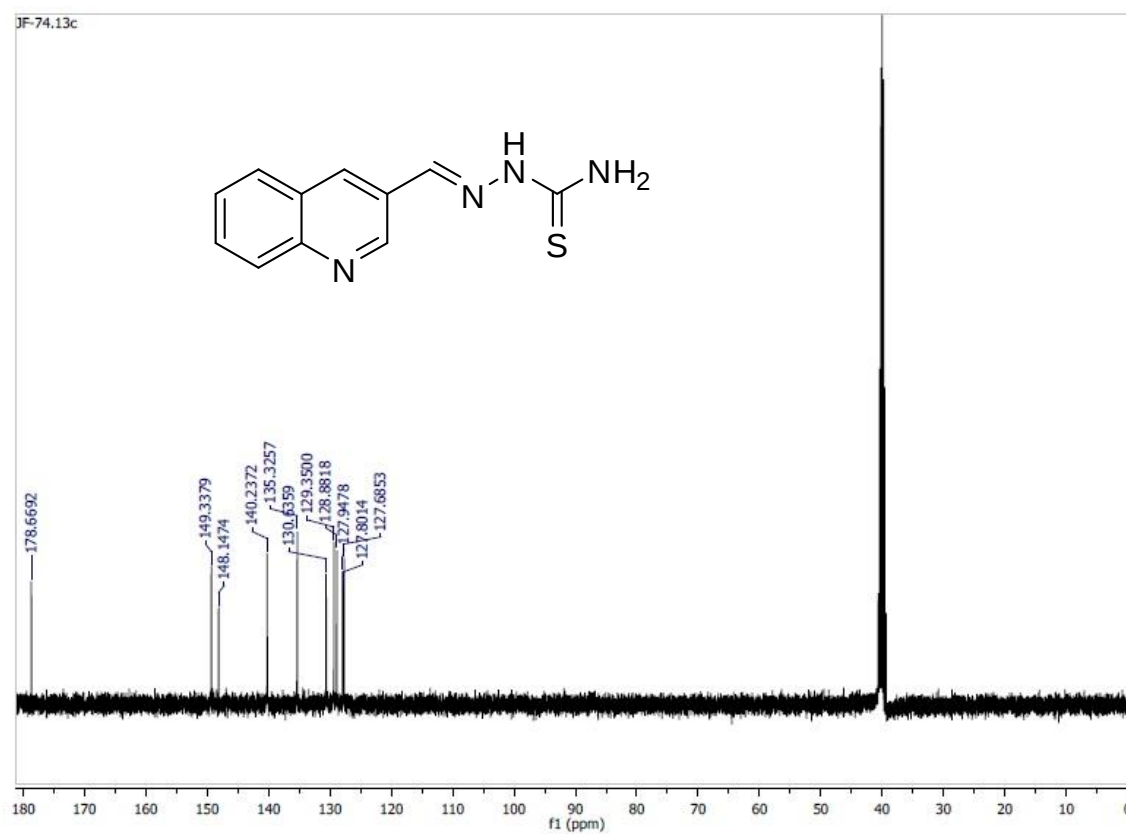
APÊNDICE A - ESPECTROS DE RMN ^1H E ^{13}C , COSY, HSQC, DEPT,
INFRAVERMELHO E MALDI-TOF DOS DERIVADOS LQIT/JF

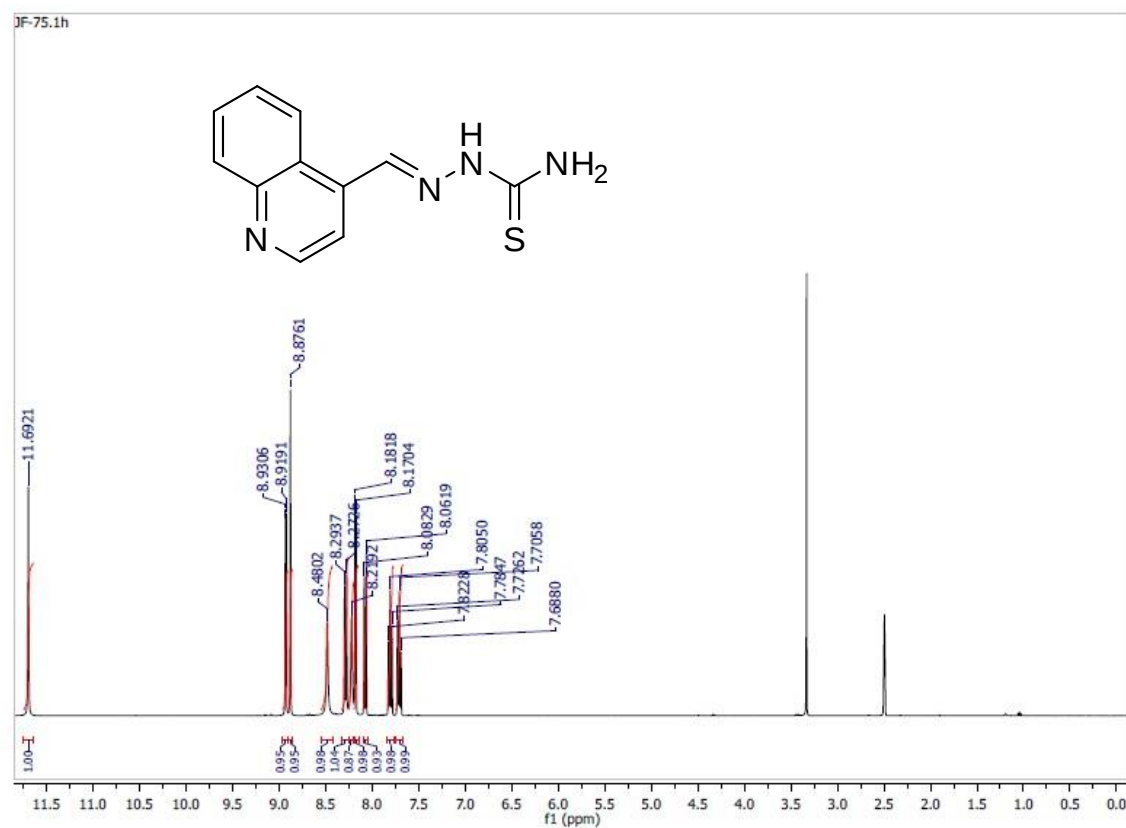
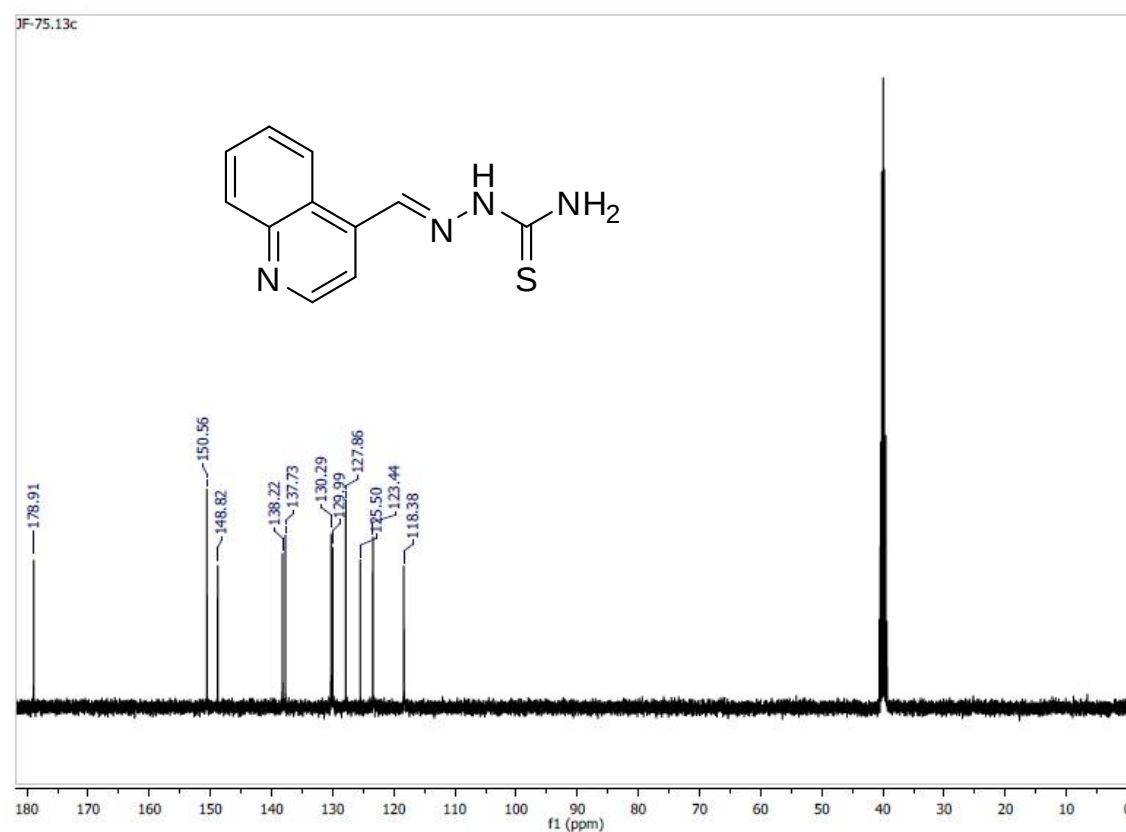
RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-73



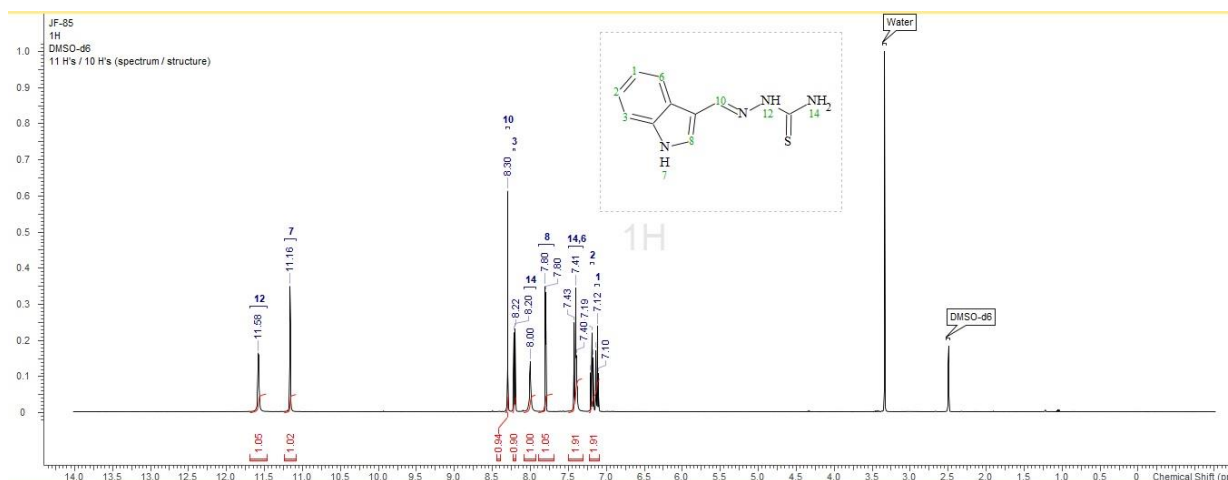
RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-73



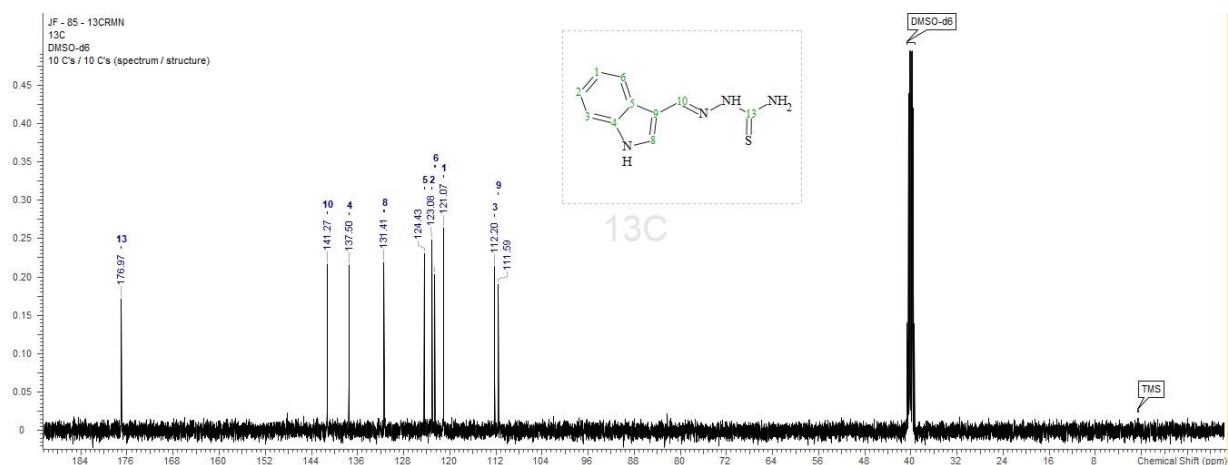
RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-74RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-74

RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-75RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-75

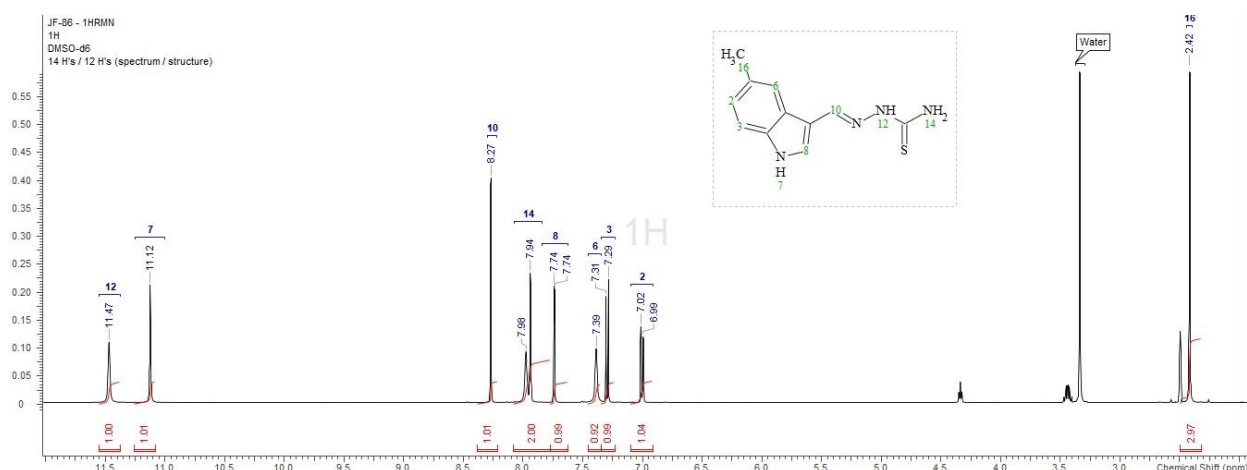
RMN ¹H DO COMPOSTO LQIT/JF-97



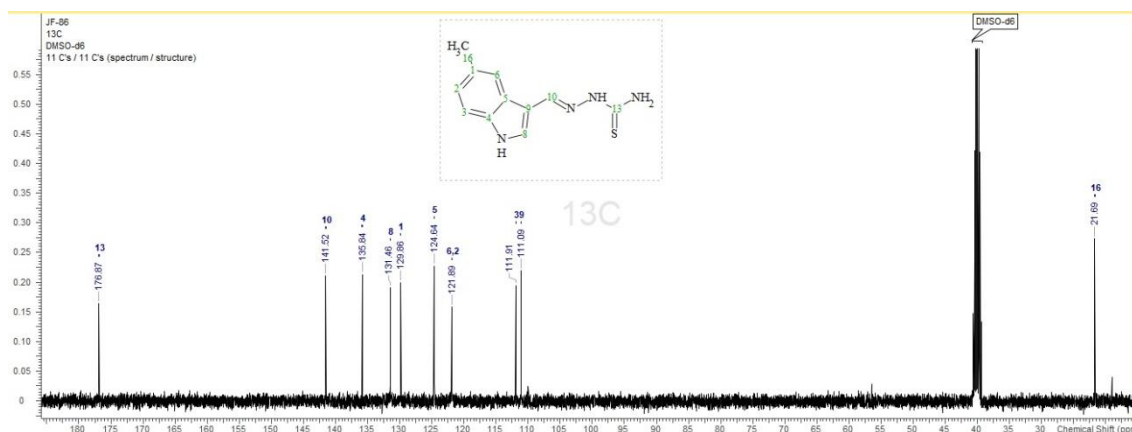
RMN ¹³C DO COMPOSTO LQIT/JF-97



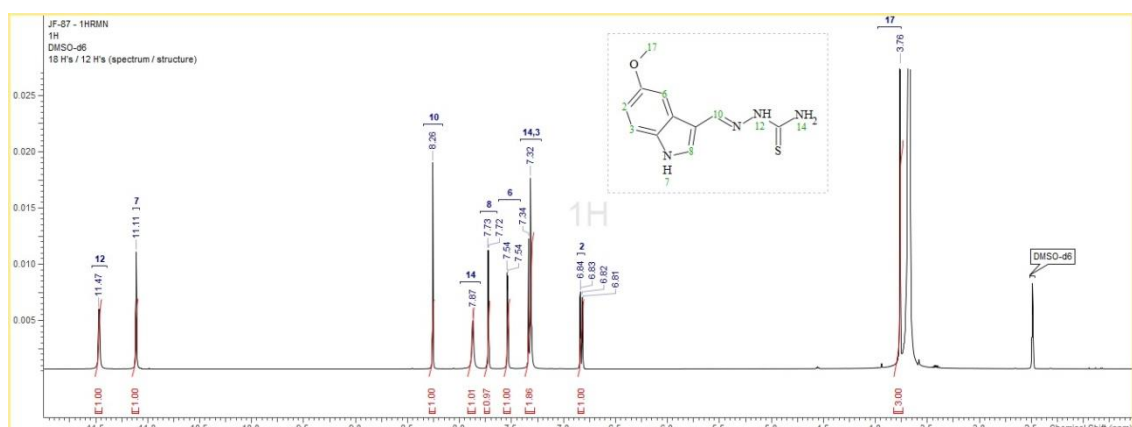
RMN ¹H DO COMPOSTO LQIT/JF-98



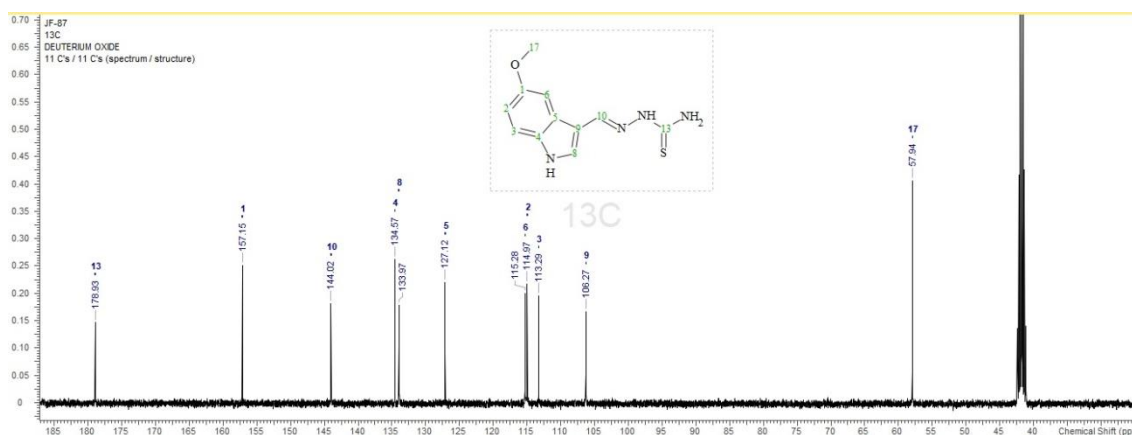
RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-98



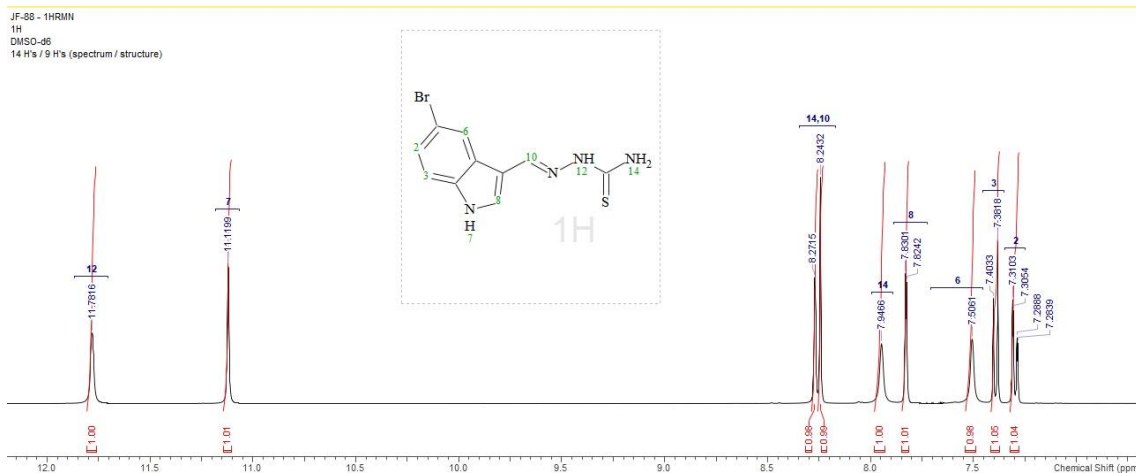
RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-99



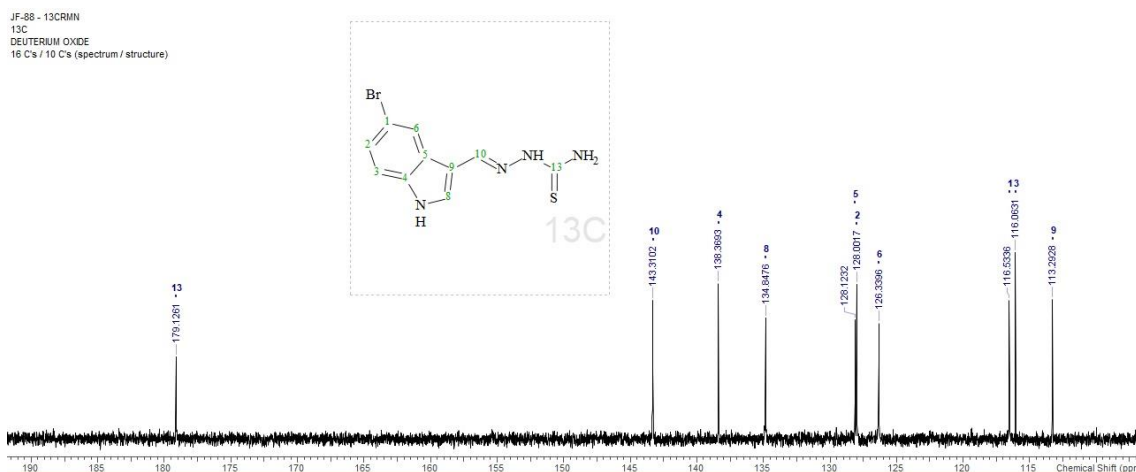
RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-99



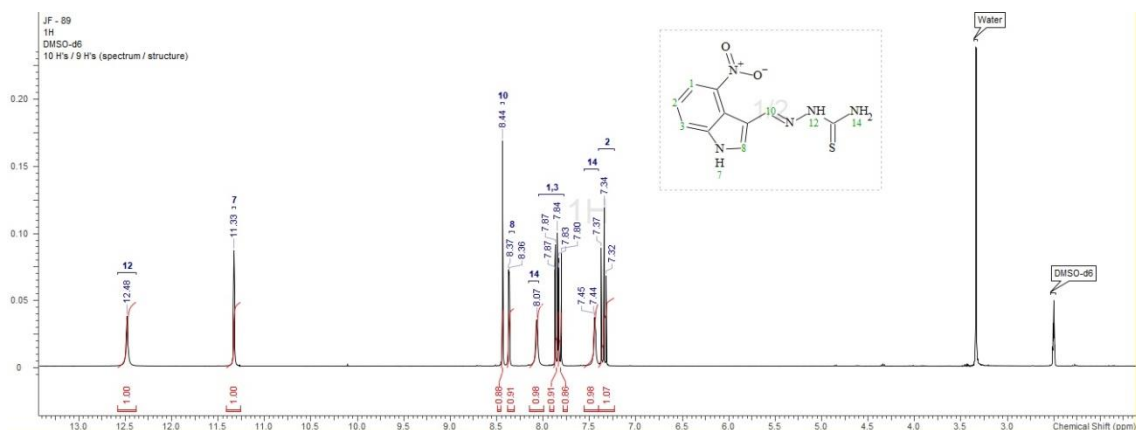
RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-100



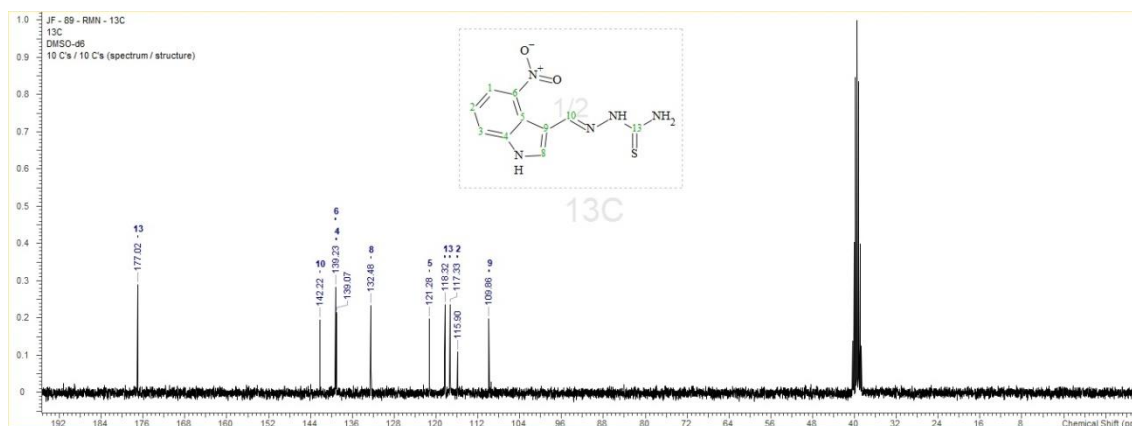
RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-100



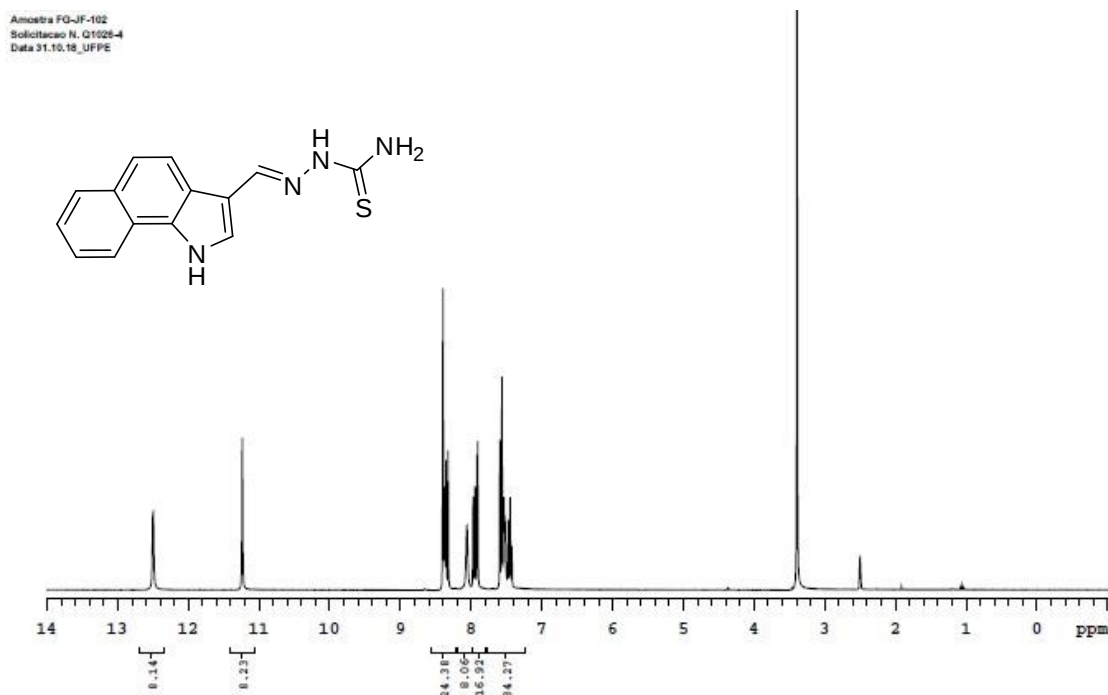
RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-101



RMN ¹³C DO COMPOSTO LQIT/JF-101

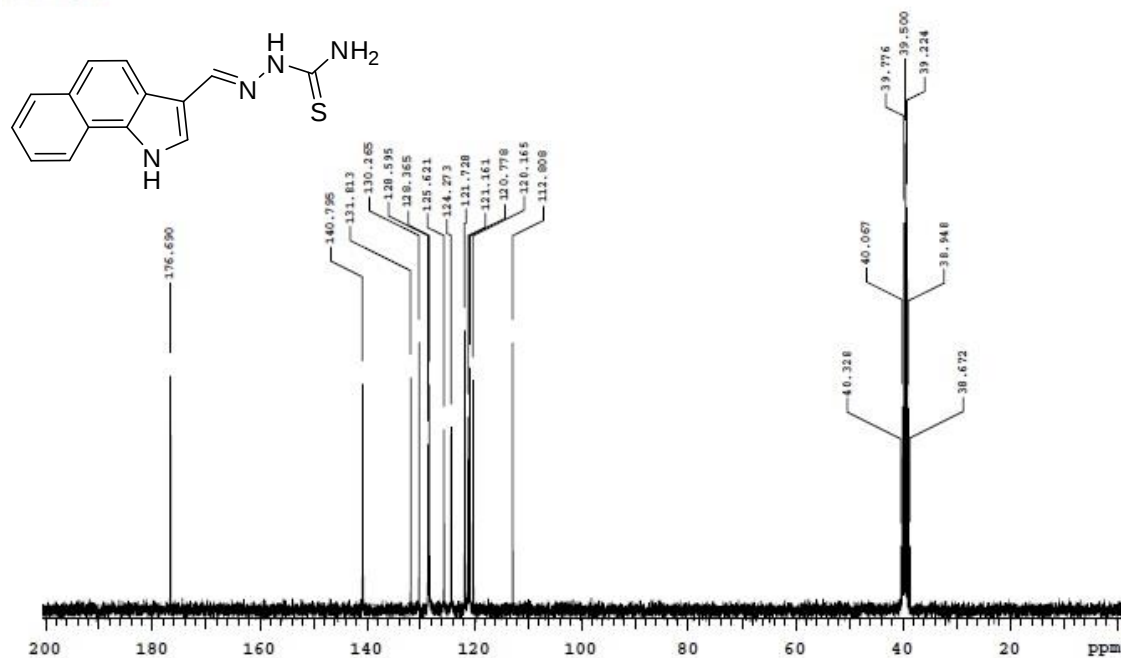


RMN ¹H DO COMPOSTO LQIT/JF-102



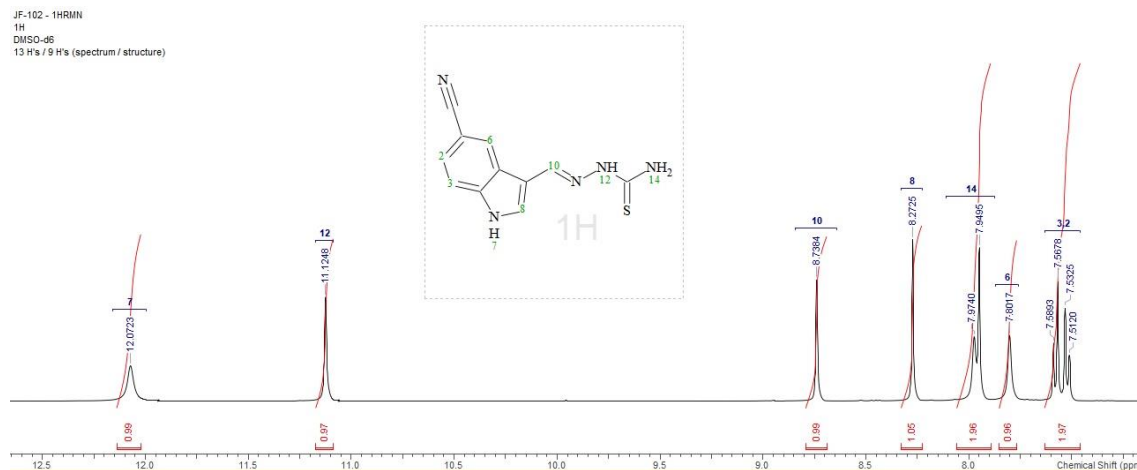
RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-102

Amostra JF-JF-102
Solicitação N. Q102S-4
Data 31.10.18_UFPE

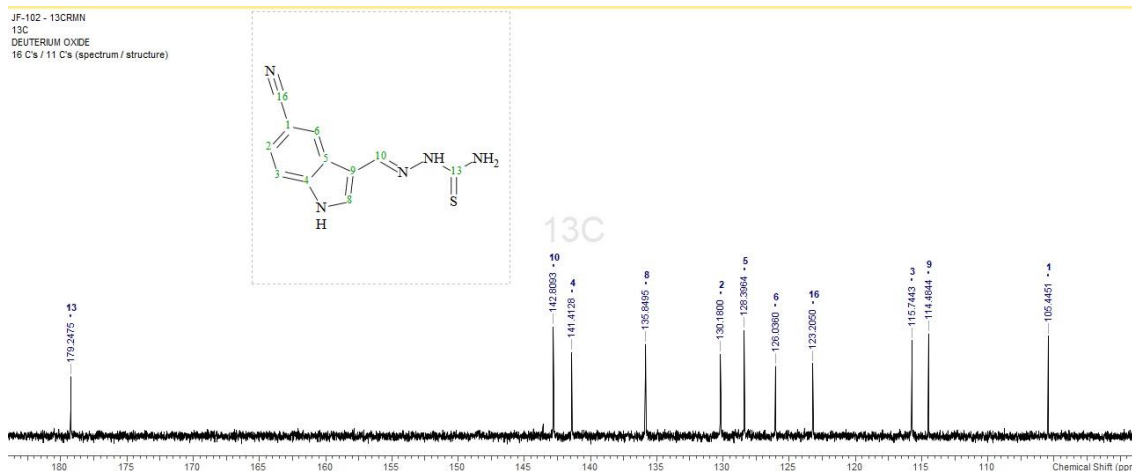


RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-114

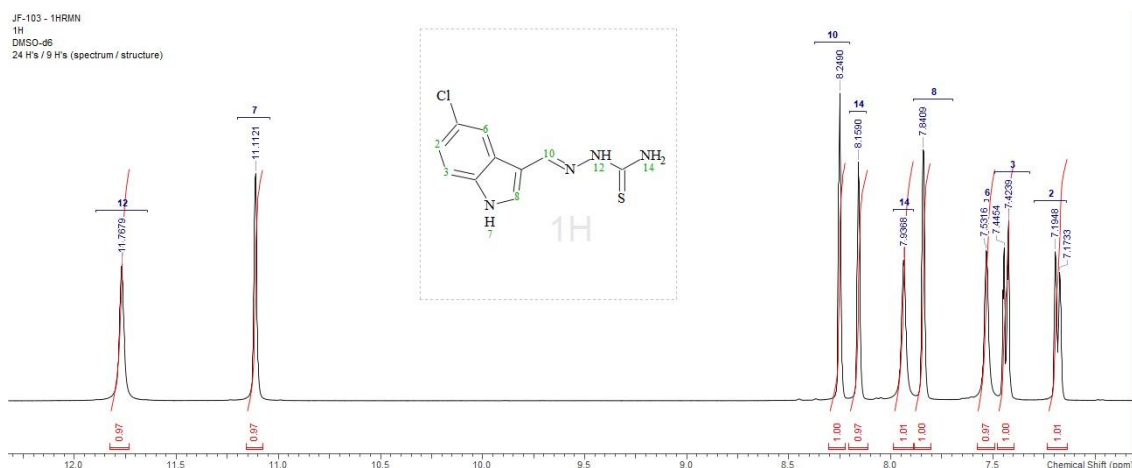
JF-102 - ^1H RMN
 ^1H
DMSO- d_6
 ^{13}H 's / ^9H 's (spectrum / structure)



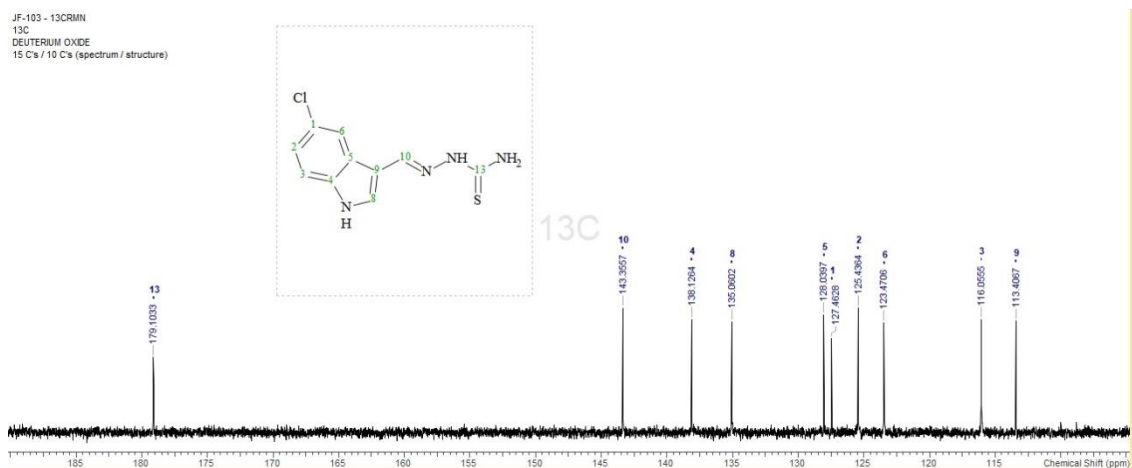
RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-114

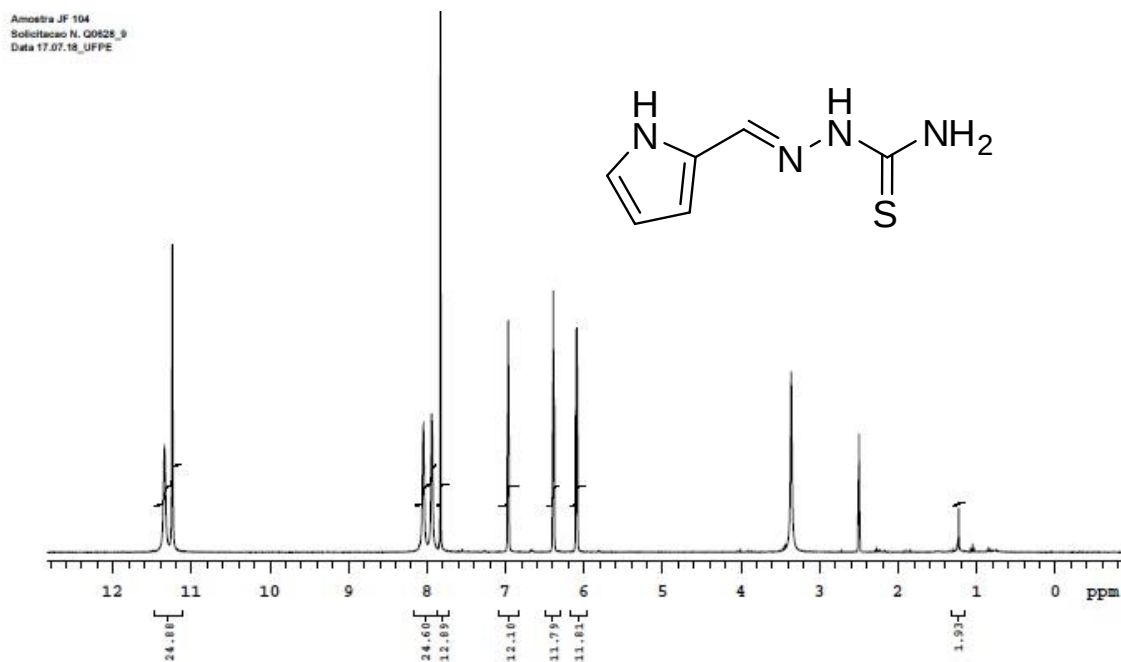
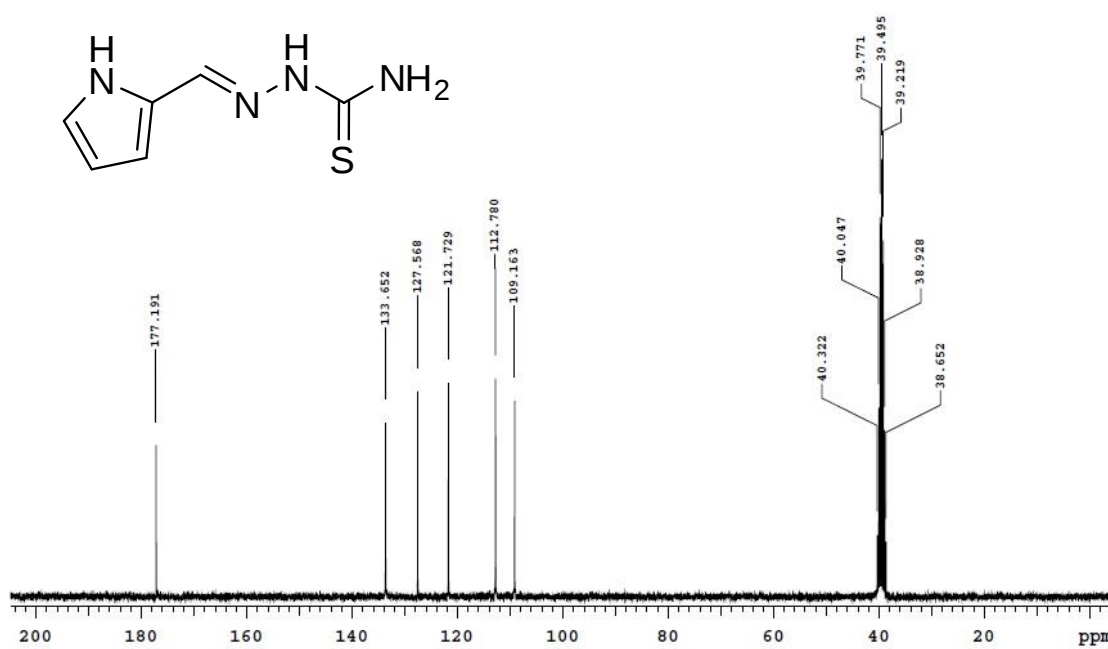


RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-115

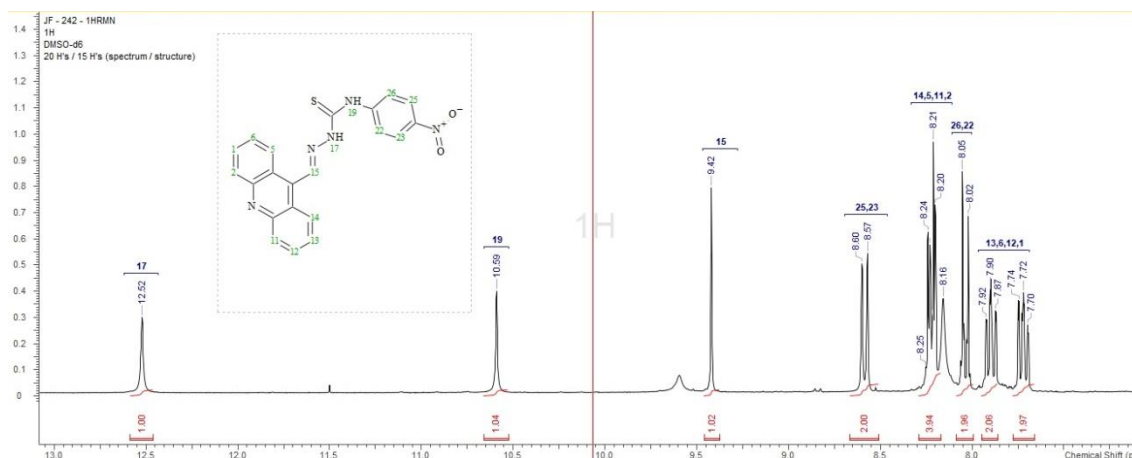


RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-115

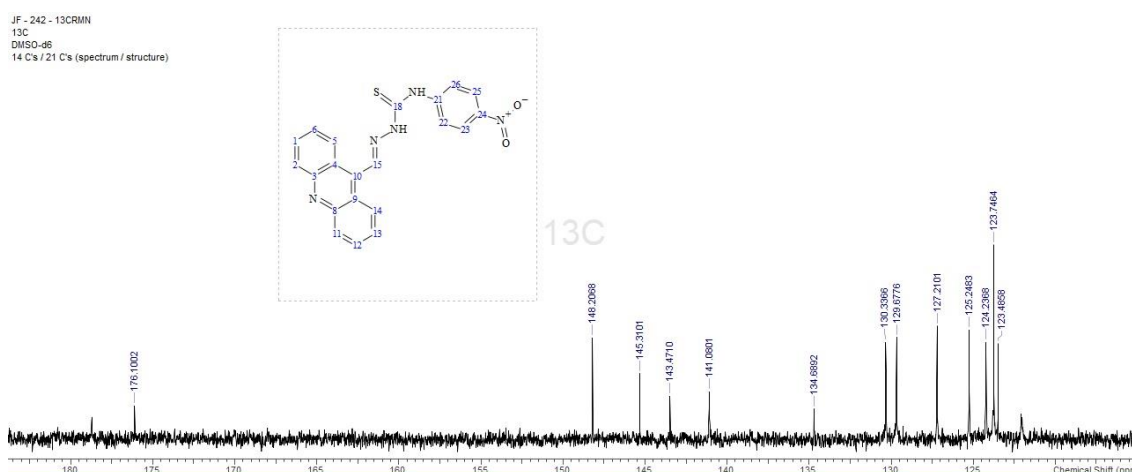


RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-116RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-116

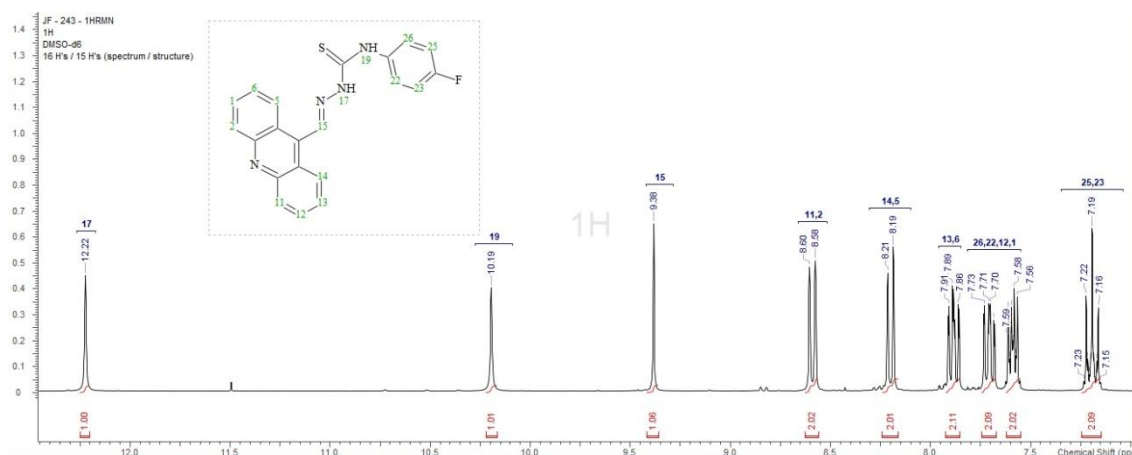
RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-242



RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-242

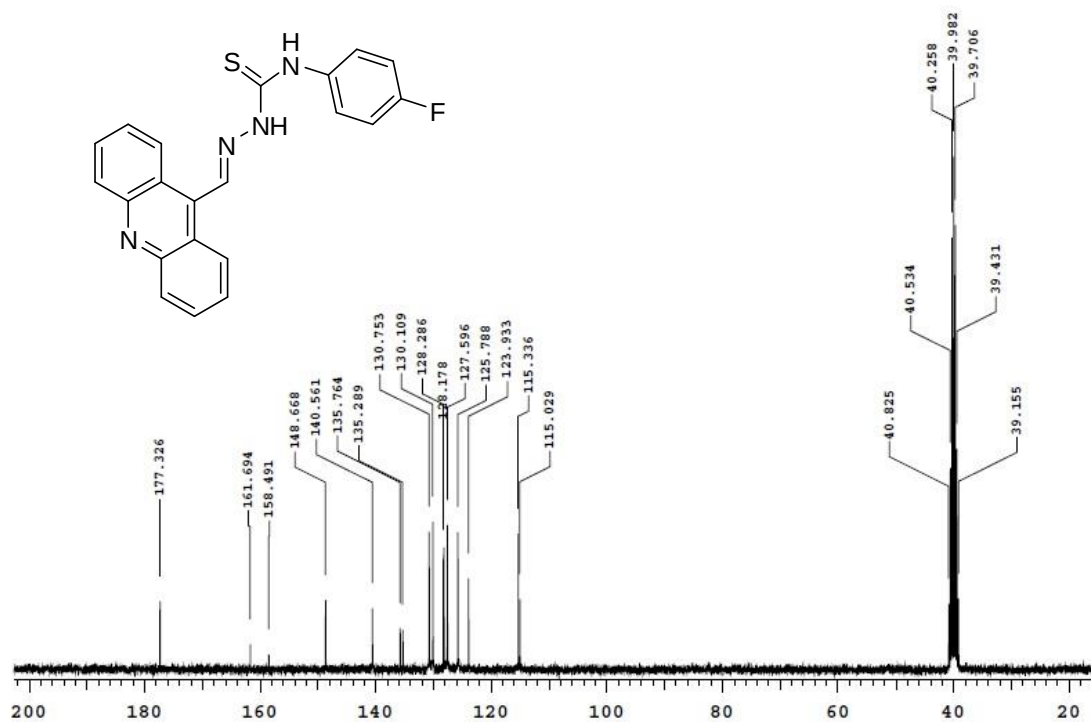


RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-243



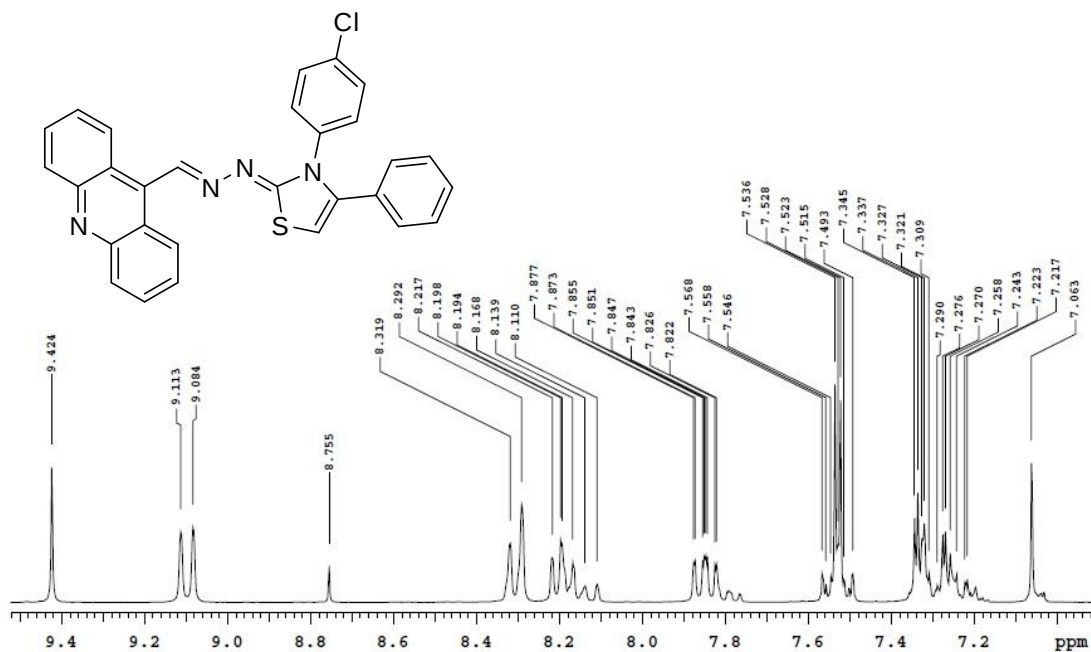
RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-243

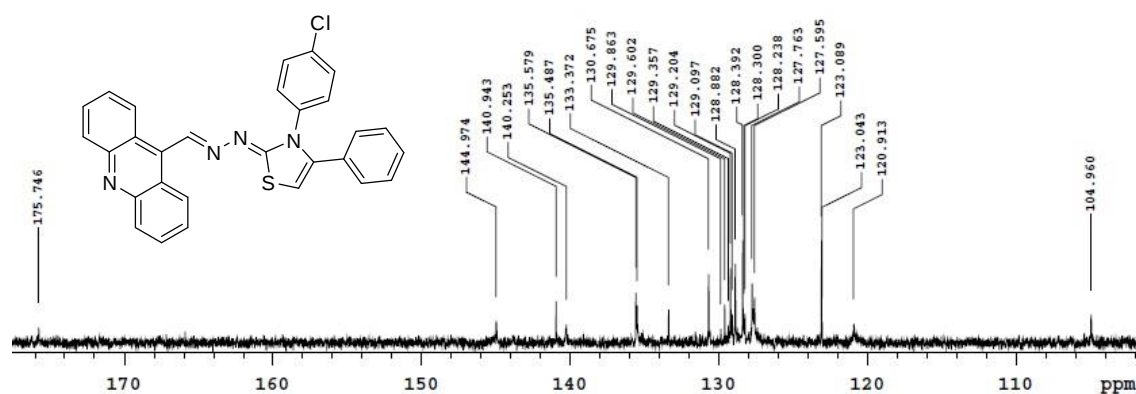
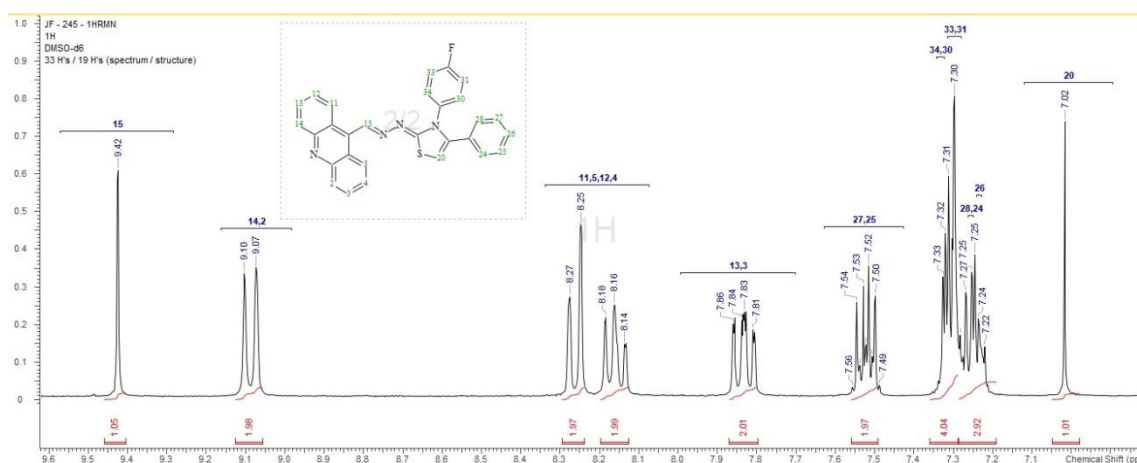
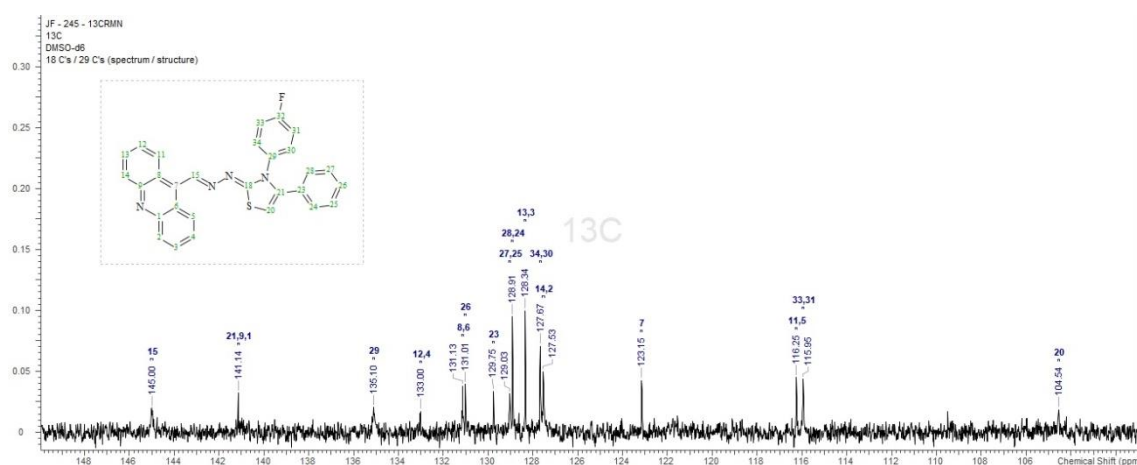
Amostra LT F- AC-2
Solicitacao N. Q0628_11
Data 06.07.18_UFPE



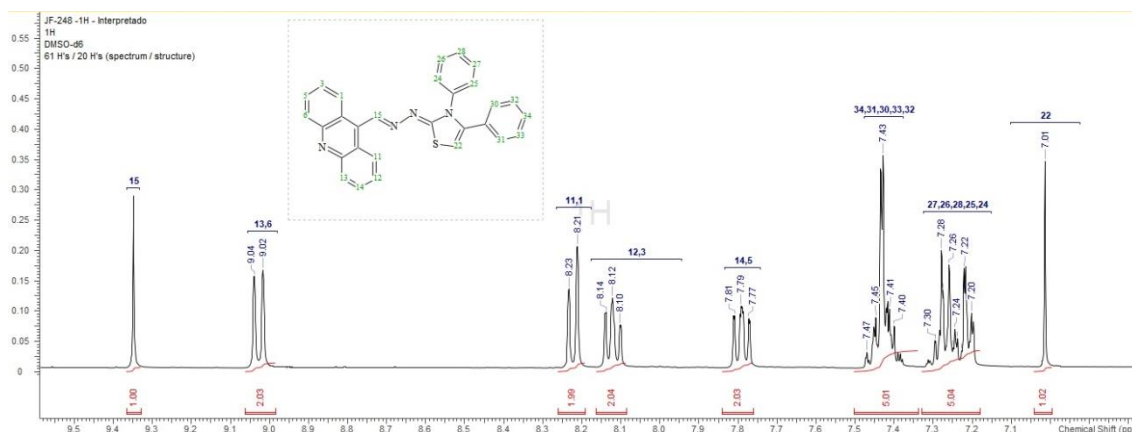
RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-244

Amostra JF 244
Solicitacao N. Q0628_10
Data 06.07.18_UFPE

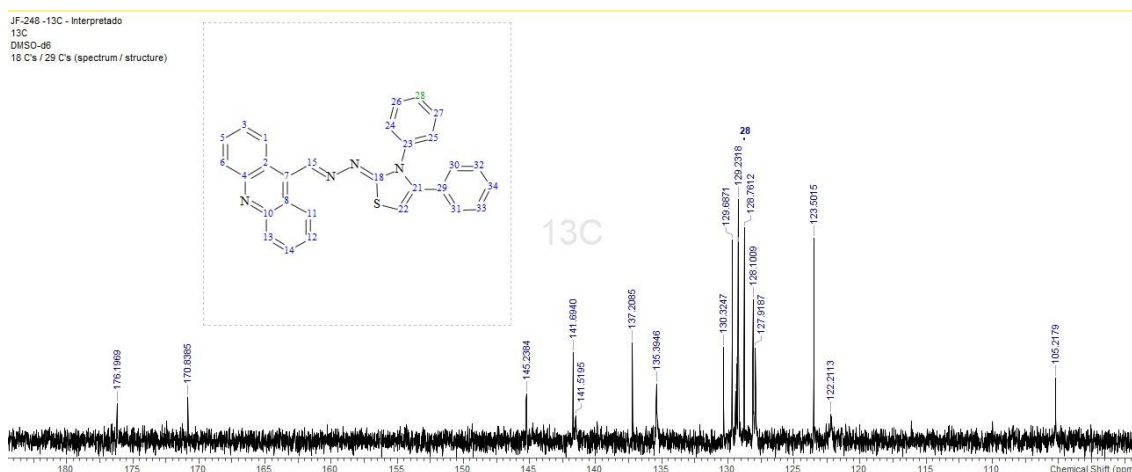


RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-244RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-245RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-245

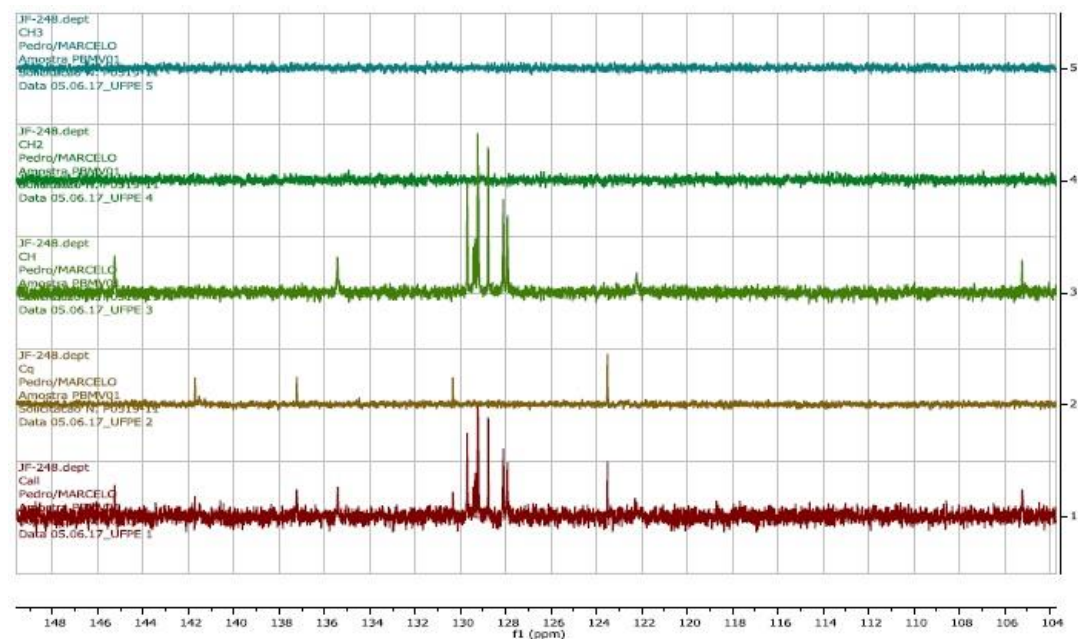
RMN ^1H DO COMPOSTO LQIT/JF-248



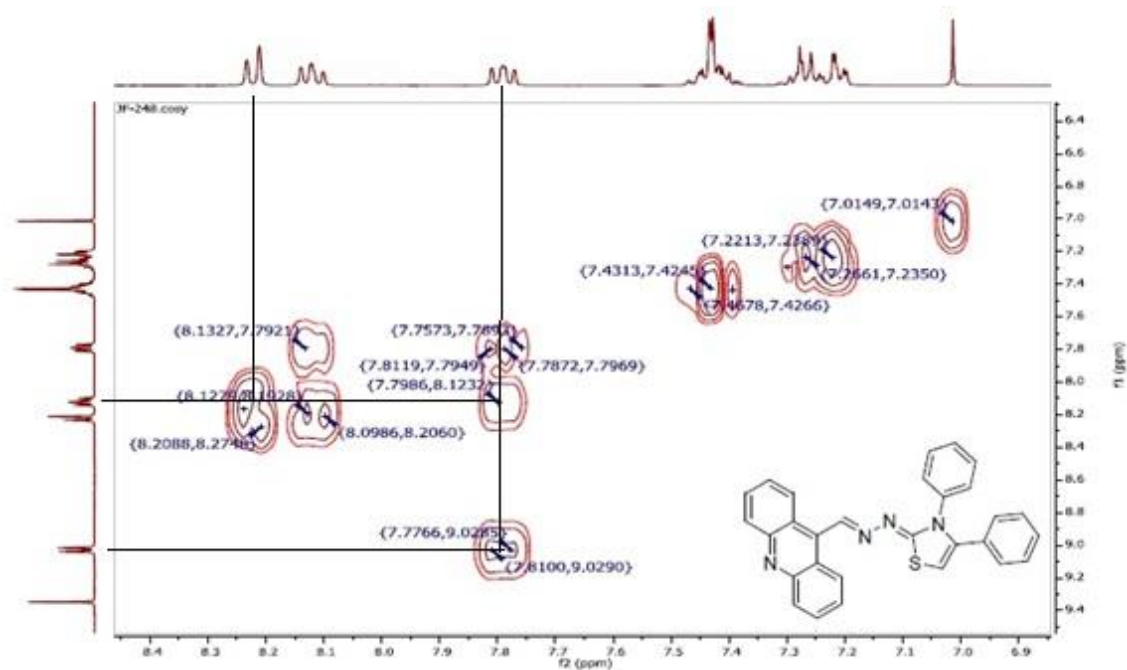
RMN ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/JF-248



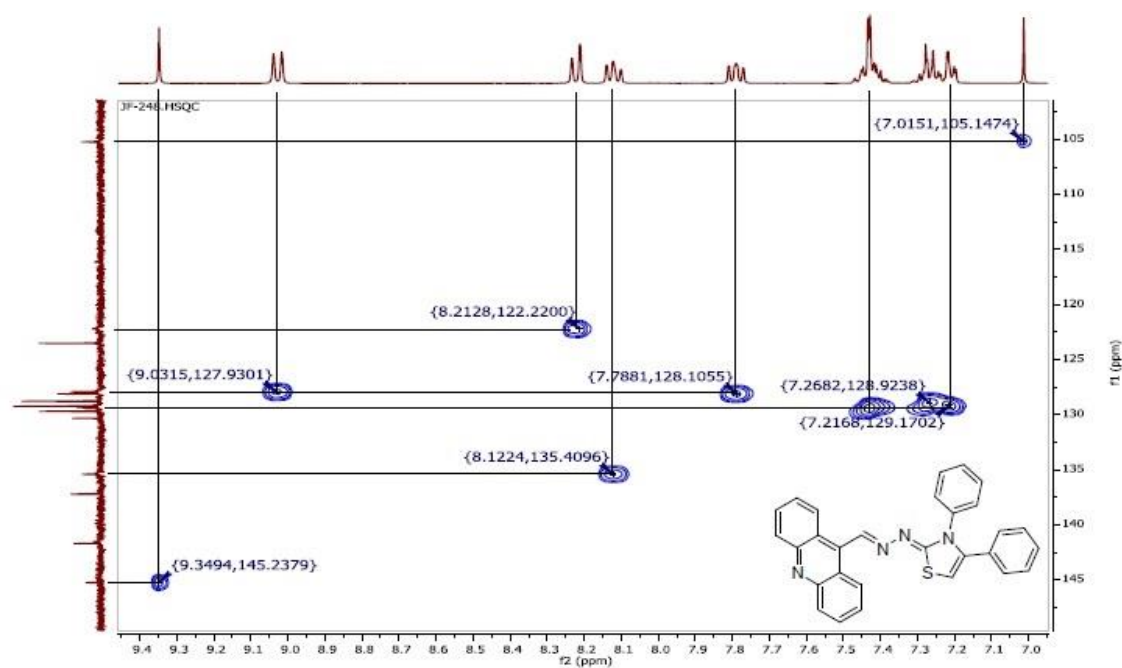
DEPT DO COMPOSTO LQIT/JF-248

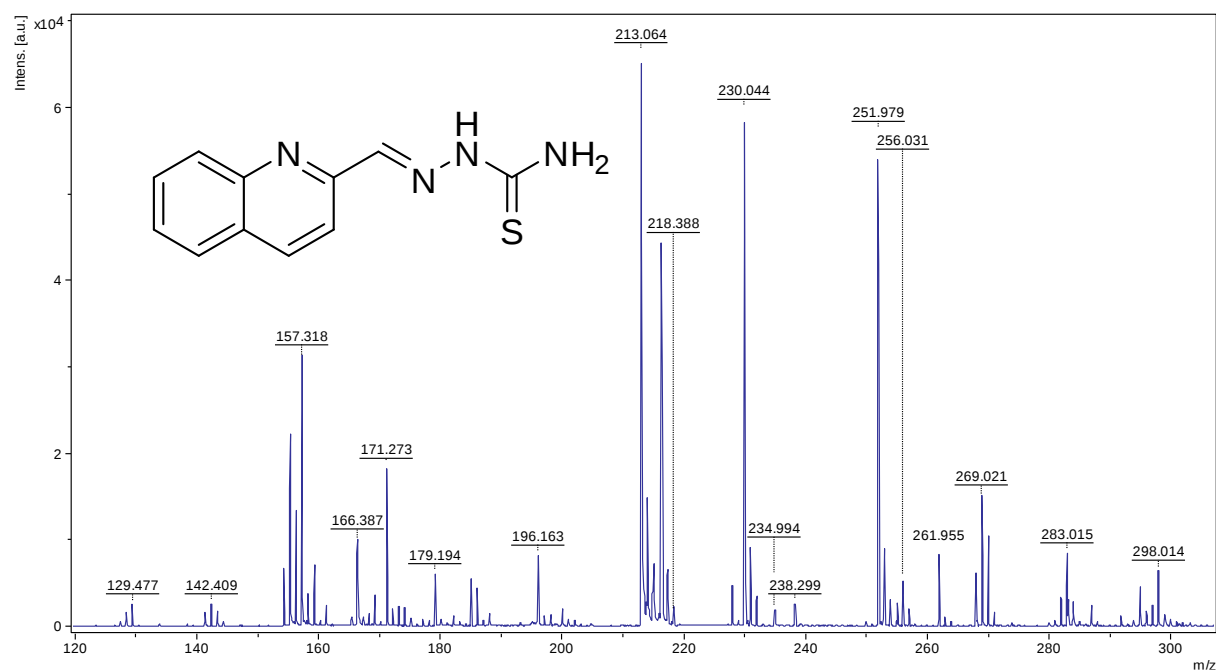
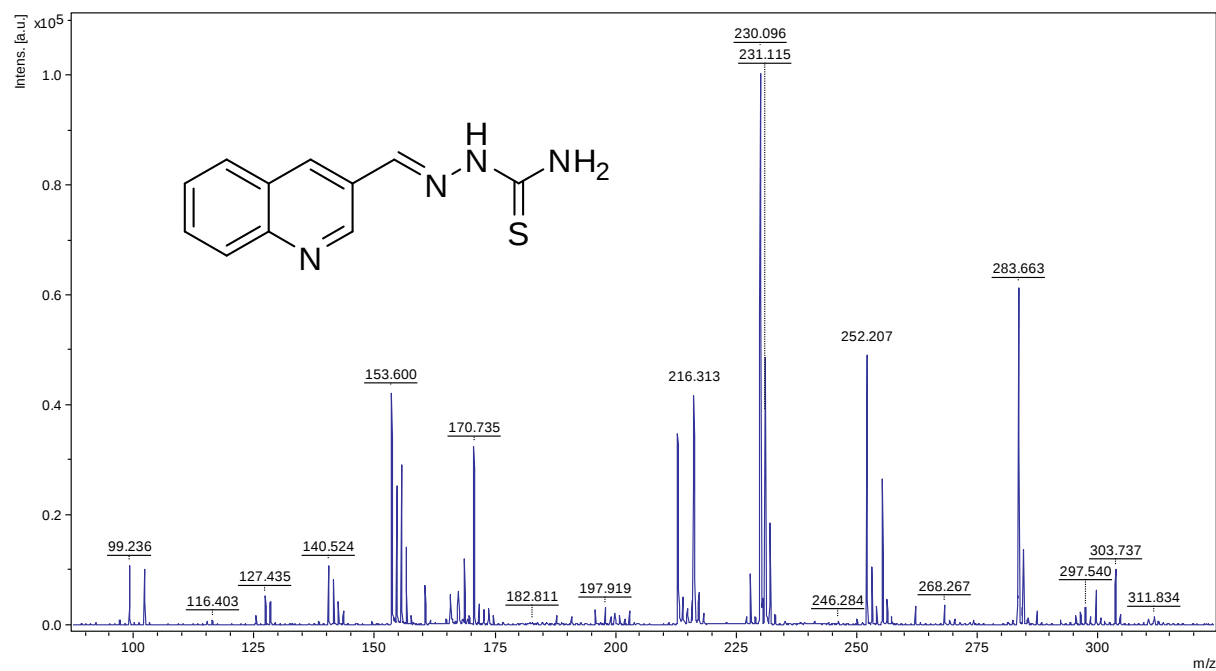


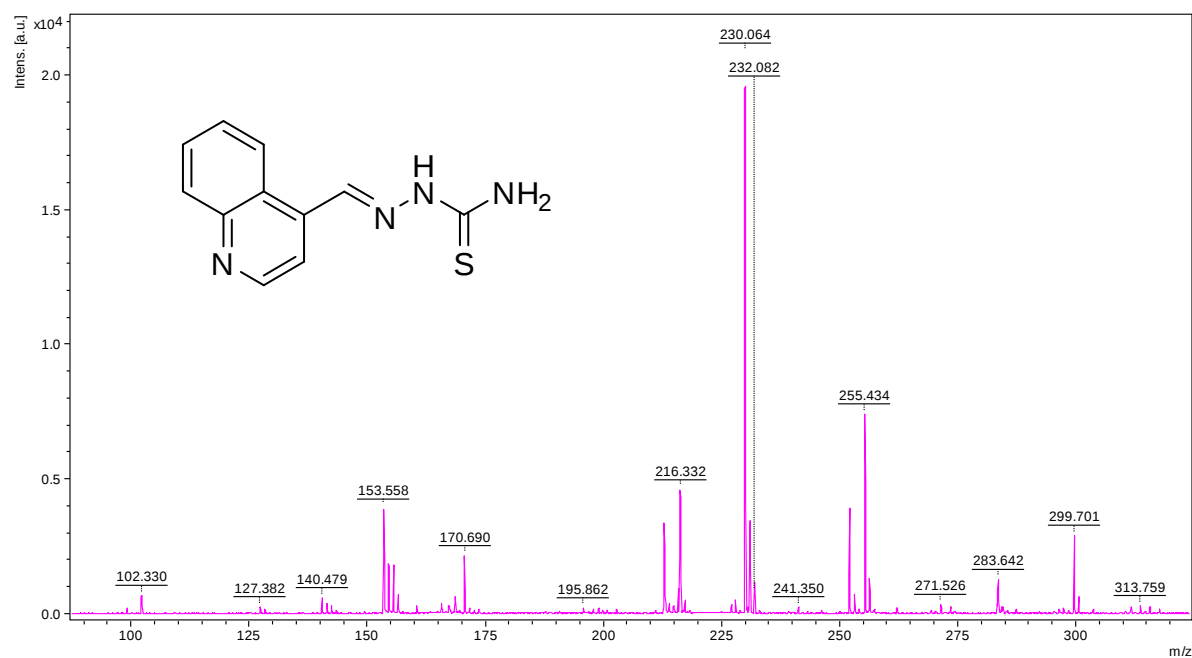
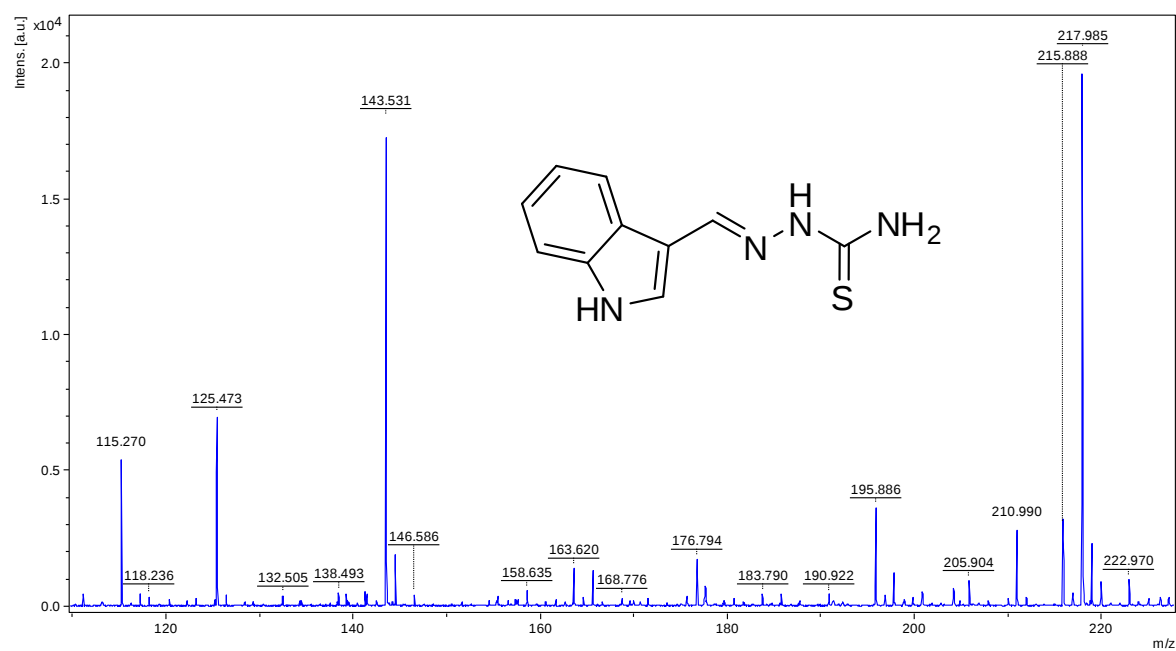
COSY DO COMPOSTO LQIT/JF-248

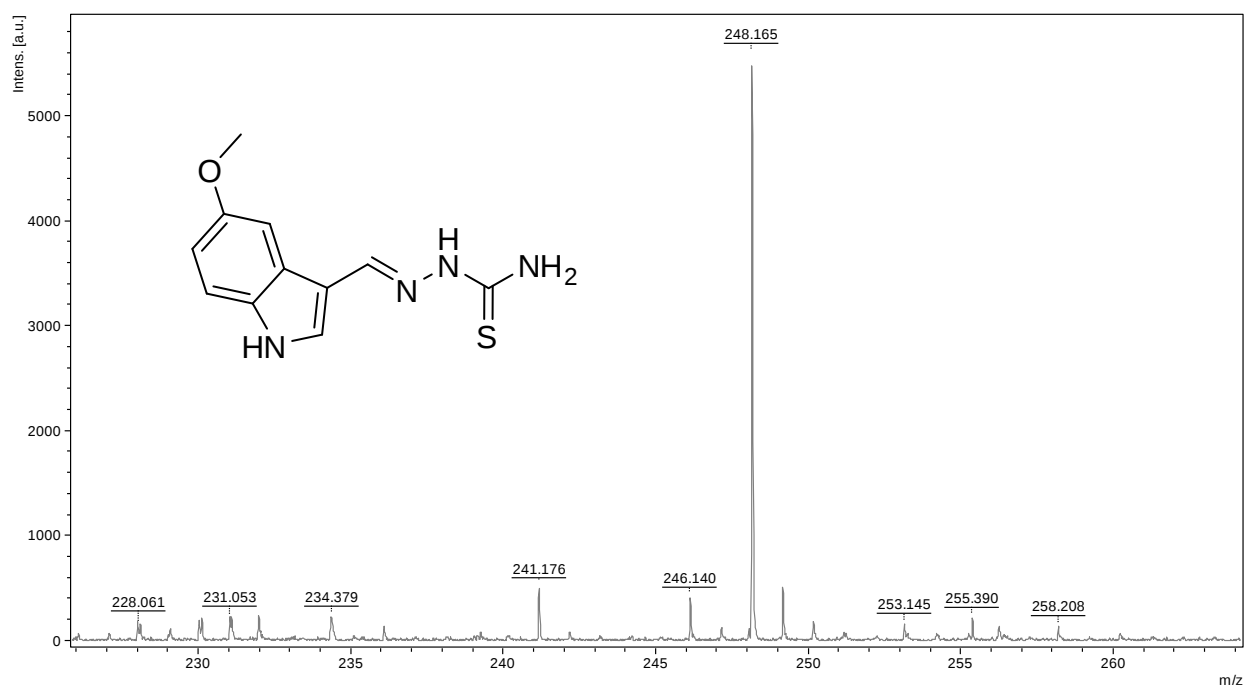
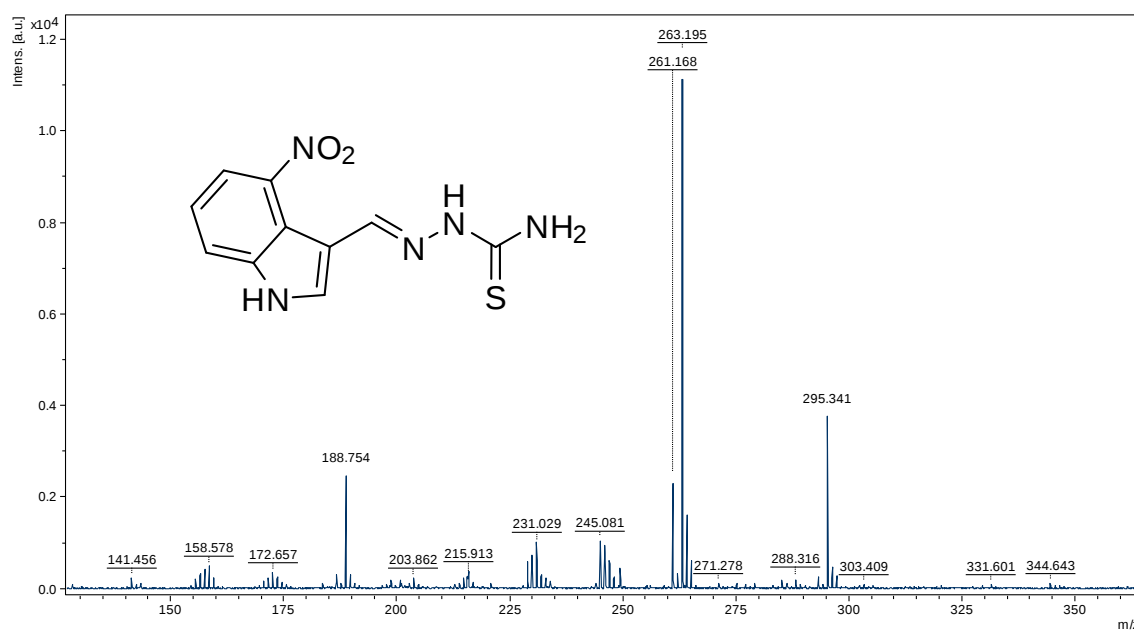


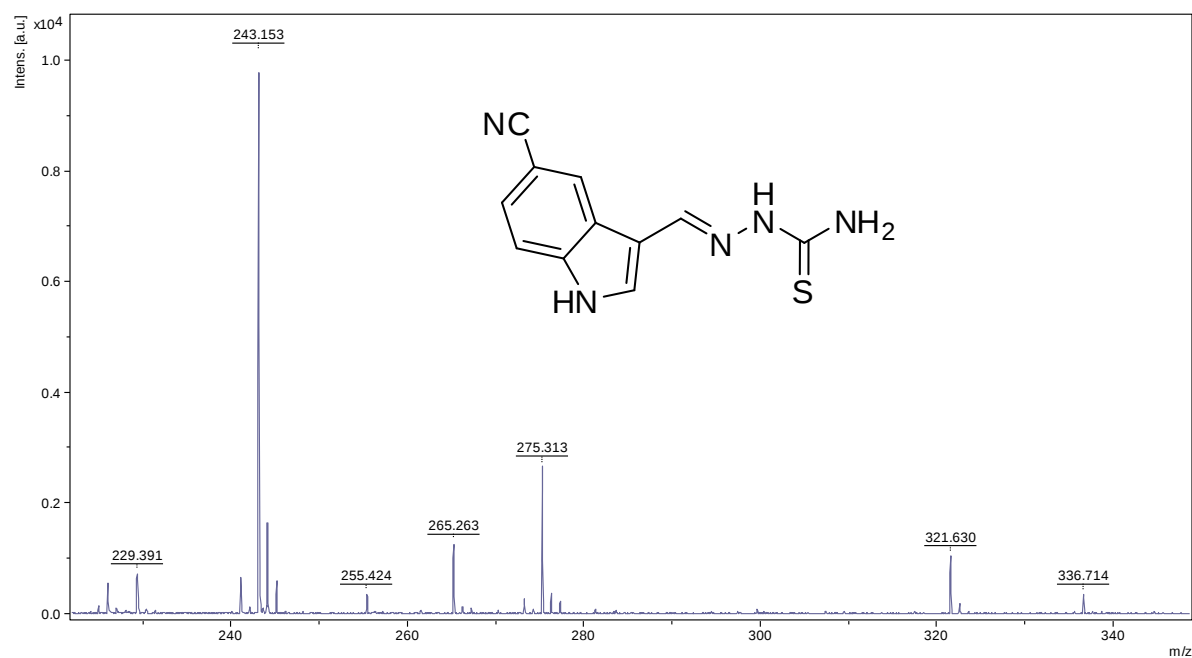
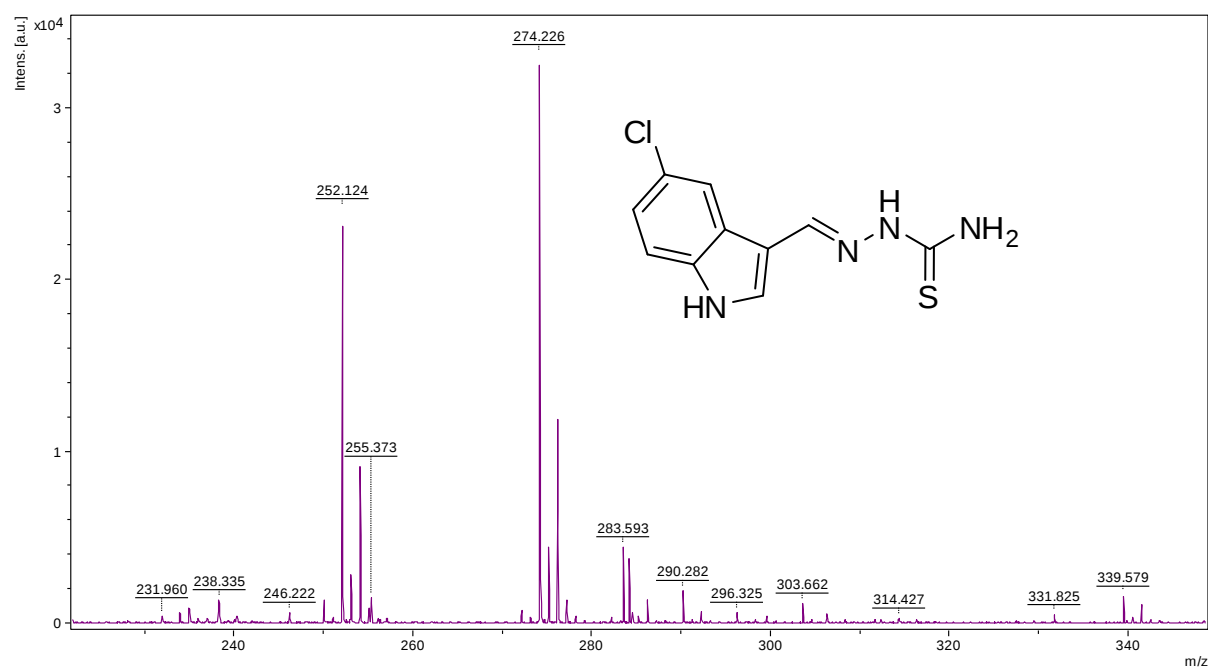
HSQC DO COMPOSTO LQIT/JF-248

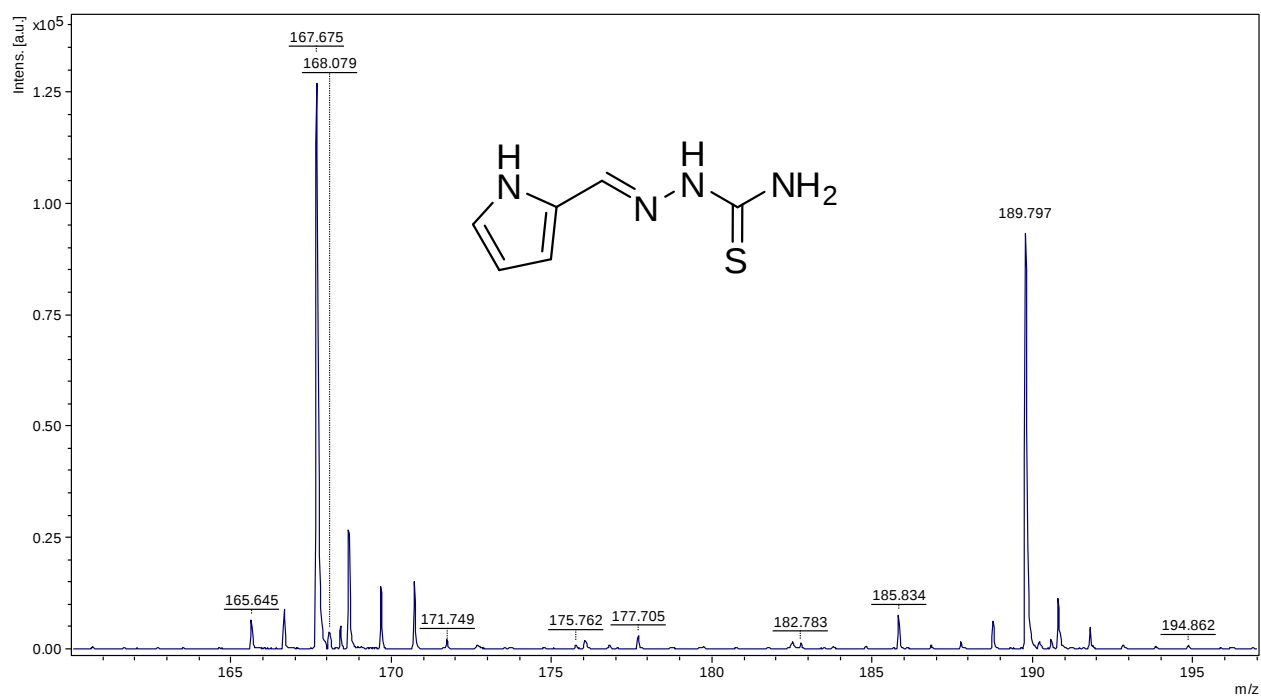
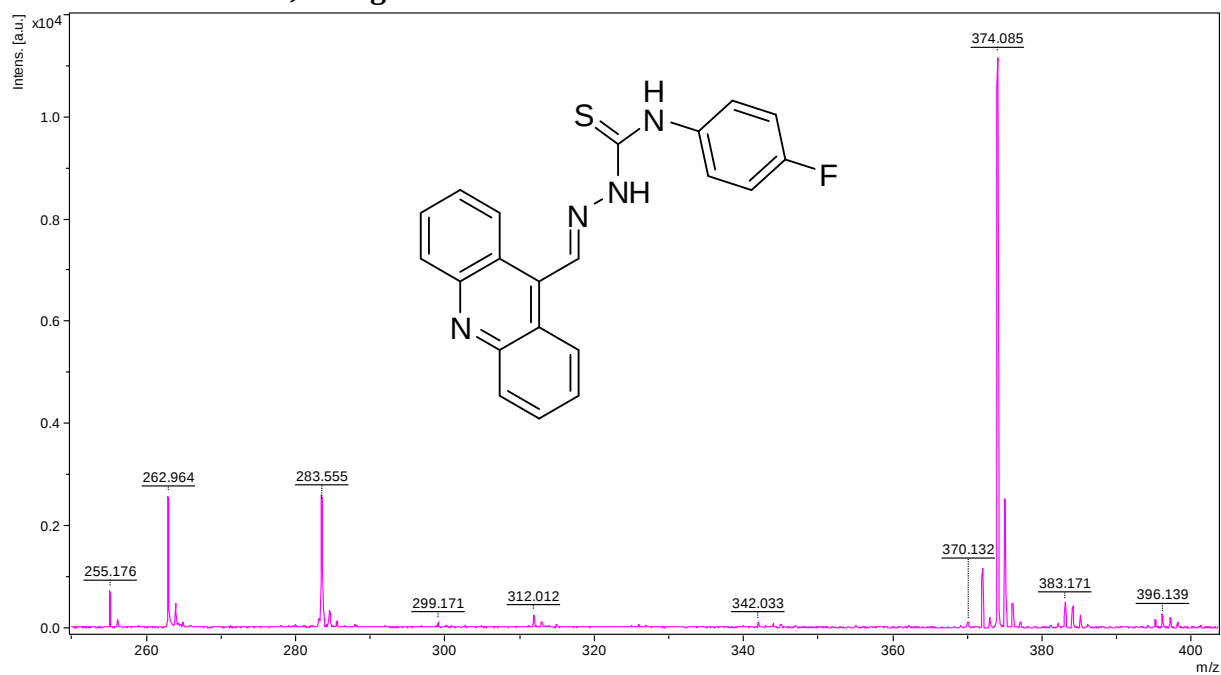


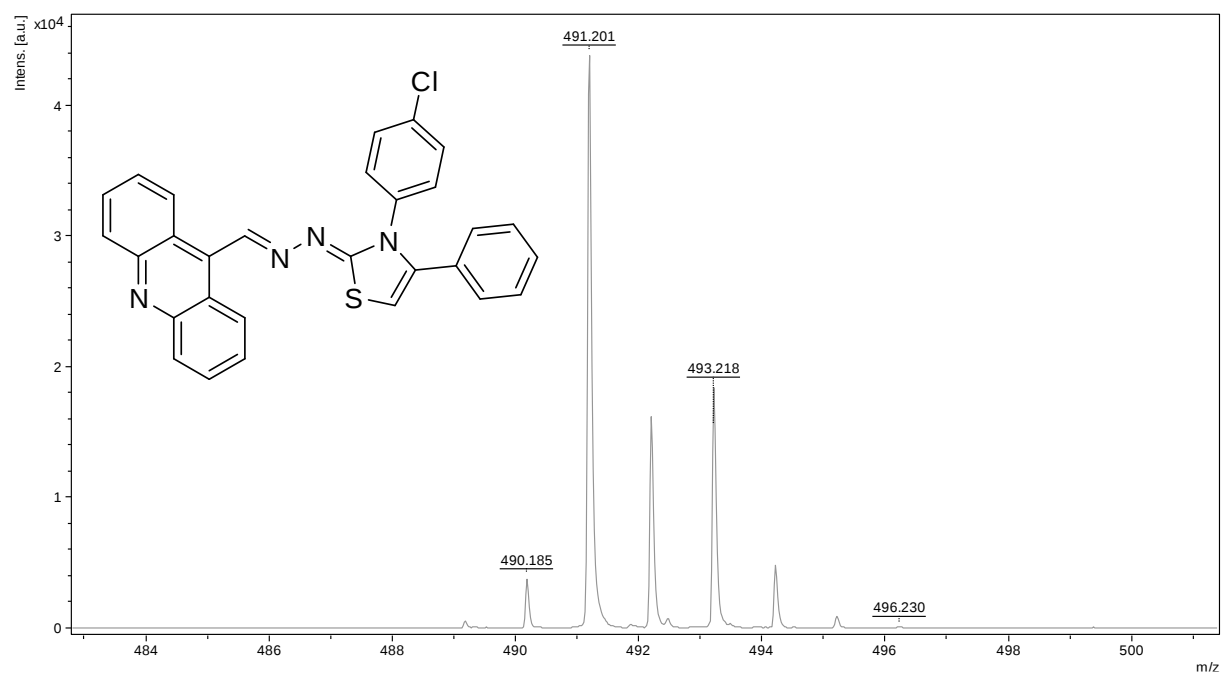
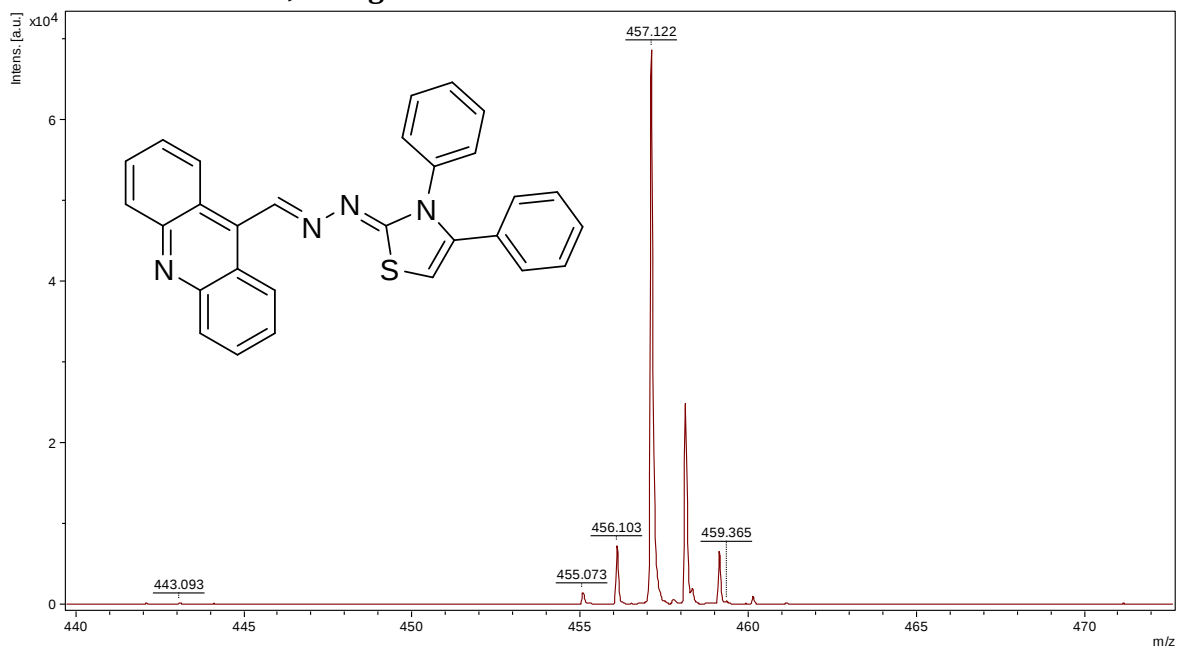
MALDI-TOF-LqIT/JF-73**EXACT MASS: 230,0626 g·mol⁻¹****MALDI-TOF-LqIT/JF-74****EXACT MASS: 230,0626 g·mol⁻¹**

MALDI-TOF-LqIT/JF-75**EXACT MASS: 230,0626 g·mol⁻¹****MALDI-TOF-LqIT/JF-97****EXACT MASS: 218,0626 g·mol⁻¹**

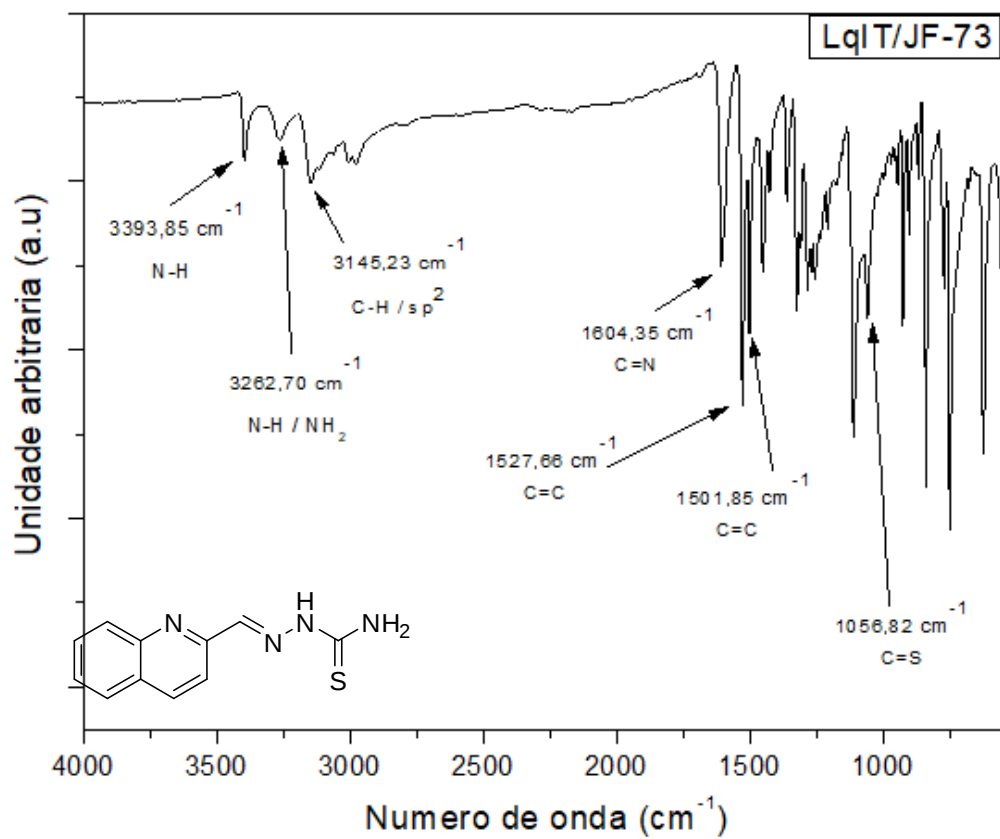
MALDI-TOF-LqIT/JF-99**EXACT MASS: 248,0732 g·mol⁻¹****MALDI-TOF-LqIT/JF-101****EXACT MASS: 263,0477 g·mol⁻¹**

MALDI-TOF-LqIT/JF-114**EXACT MASS: 243,0579 g·mol⁻¹****MALDI-TOF-LqIT/JF-115****EXACT MASS: 252,0236 g·mol⁻¹**

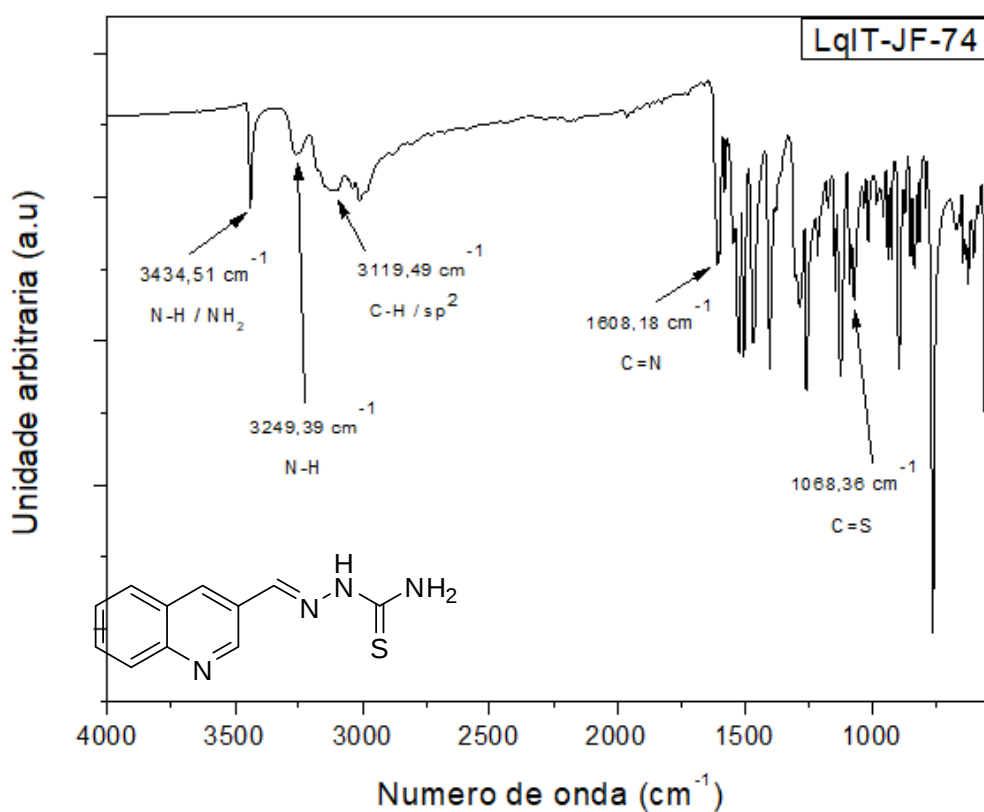
MALDI-TOF-LqIT/JF-116**EXACT MASS: 168,0470 g·mol⁻¹****MALDI-TOF-LqIT/JF-243****EXACT MASS: 374,1001 g·mol⁻¹**

MALDI-TOF-LqIT/JF-244**EXACT MASS: 490,1019 g·mol⁻¹****MALDI-TOF-LqIT/JF-248****EXACT MASS: 456,1409 g·mol⁻¹**

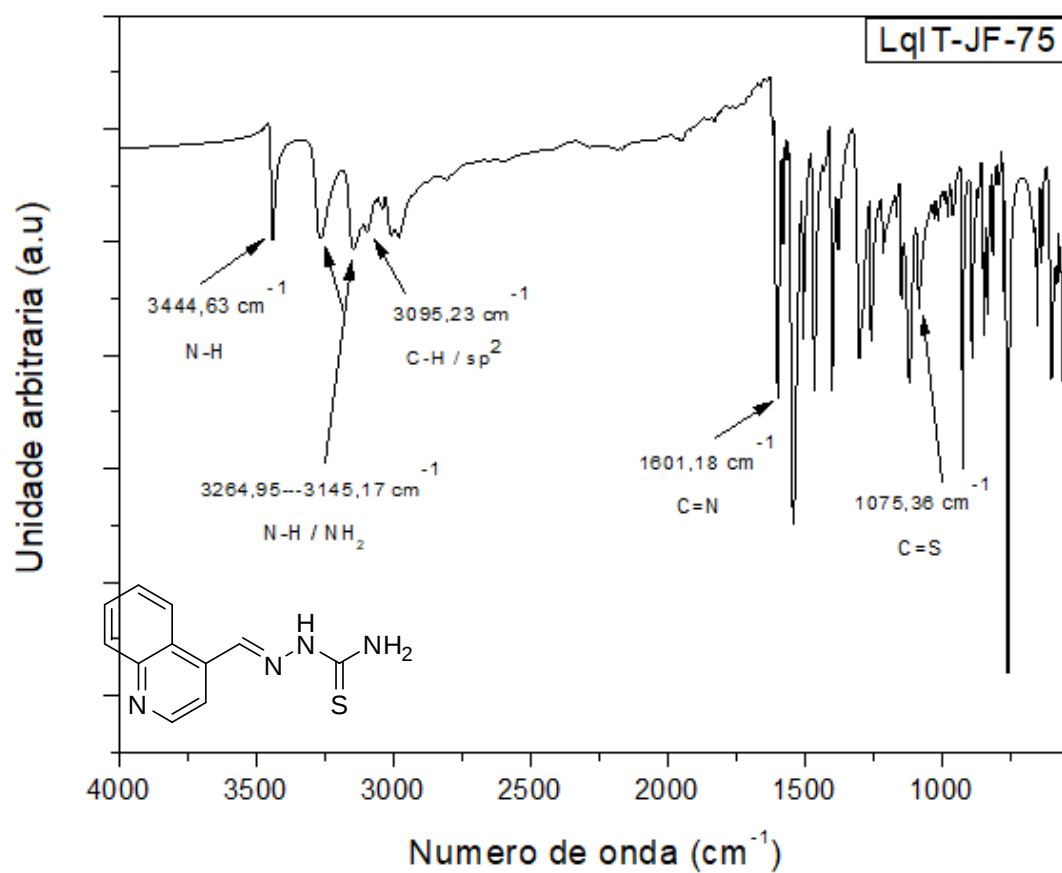
INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-73



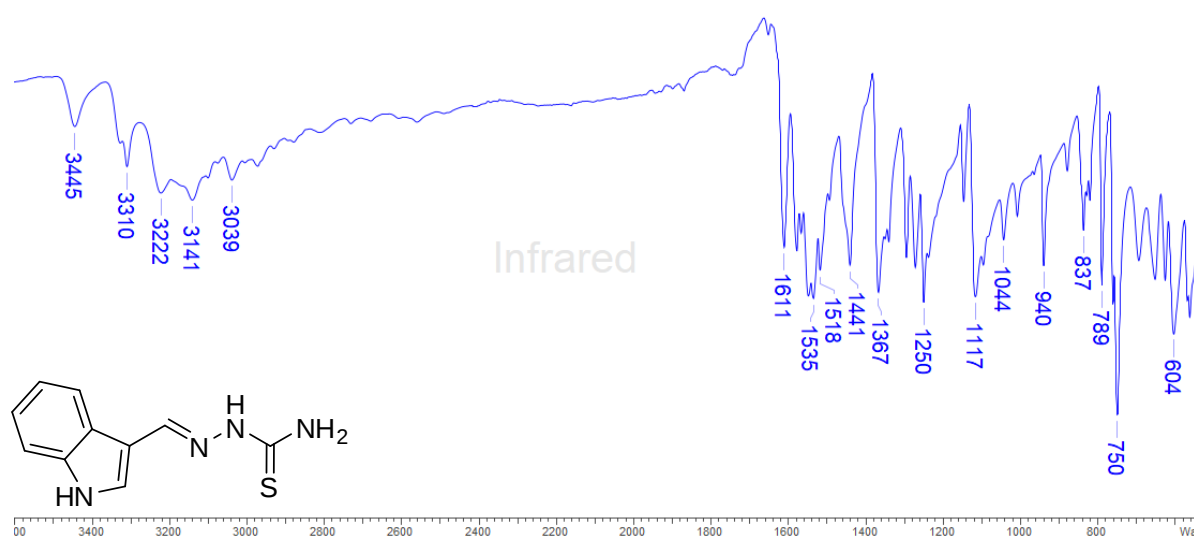
INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-74

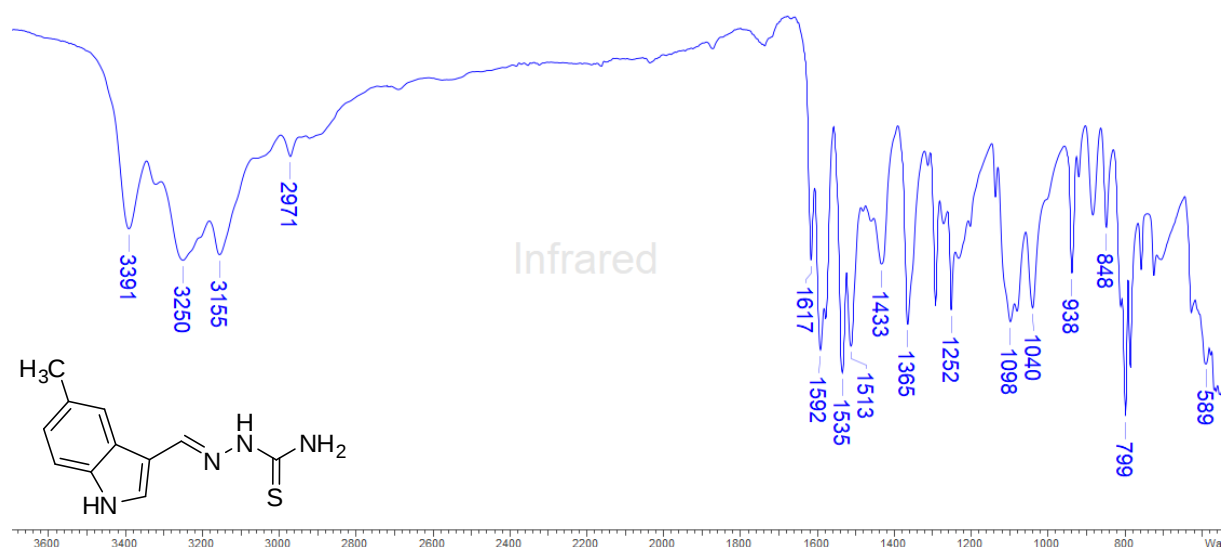
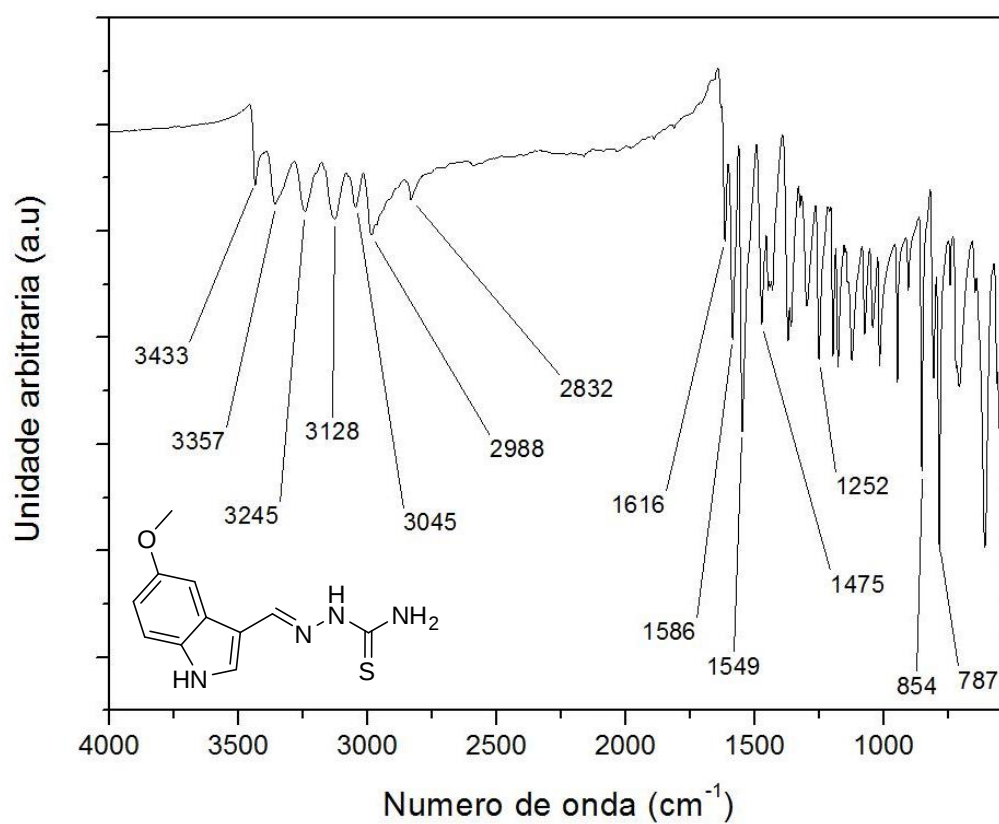


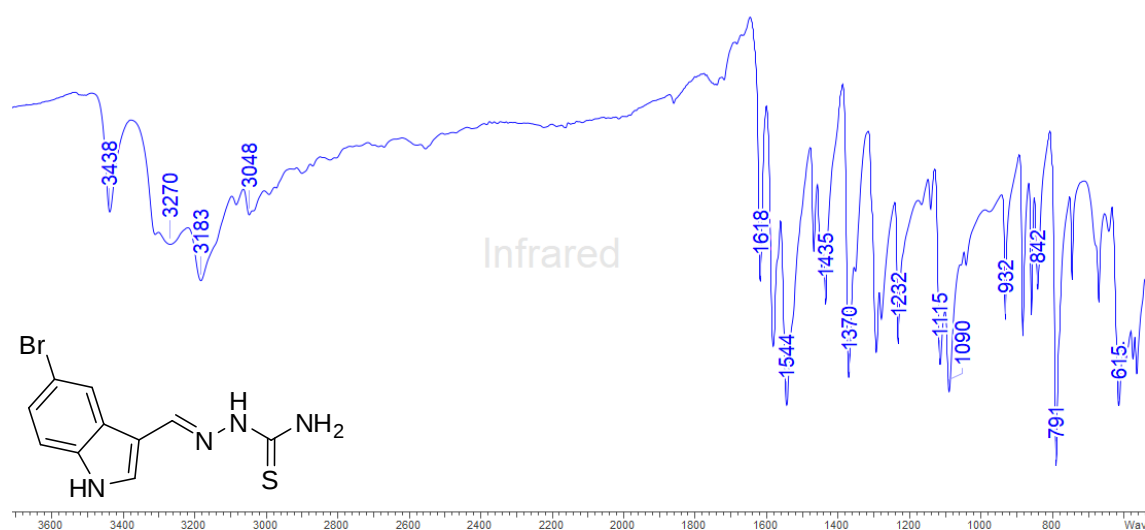
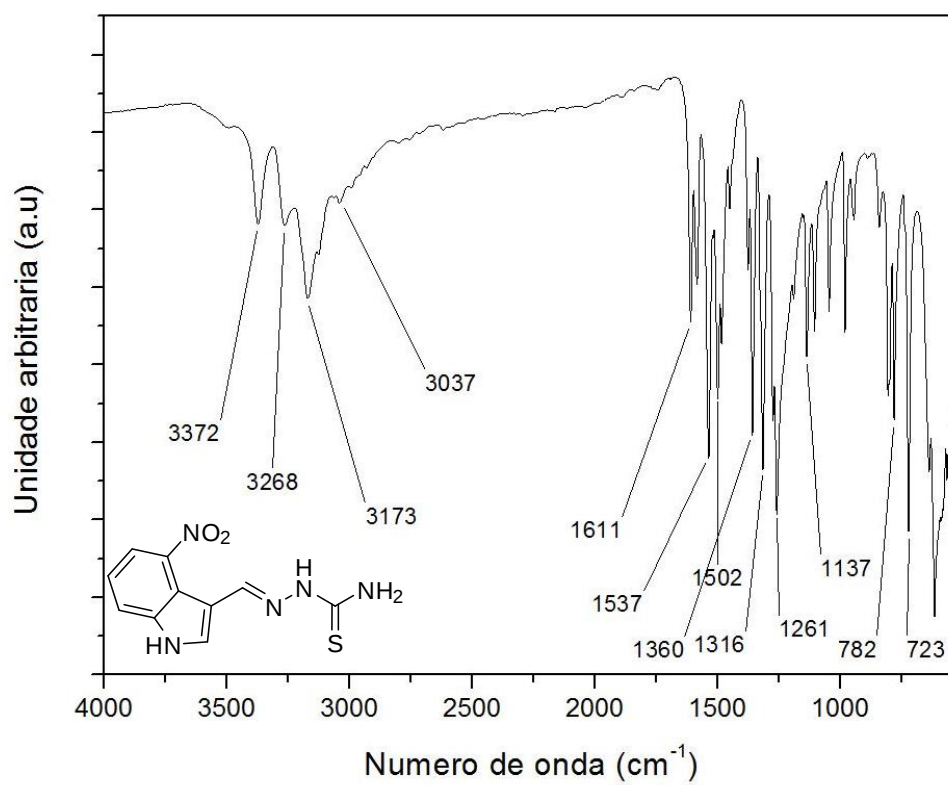
INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-75

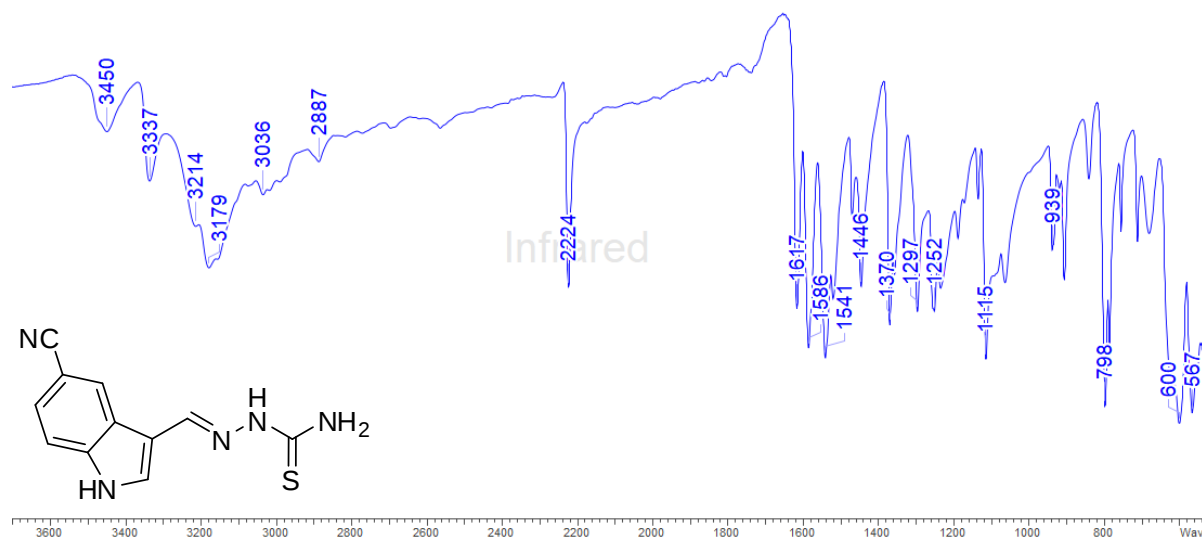
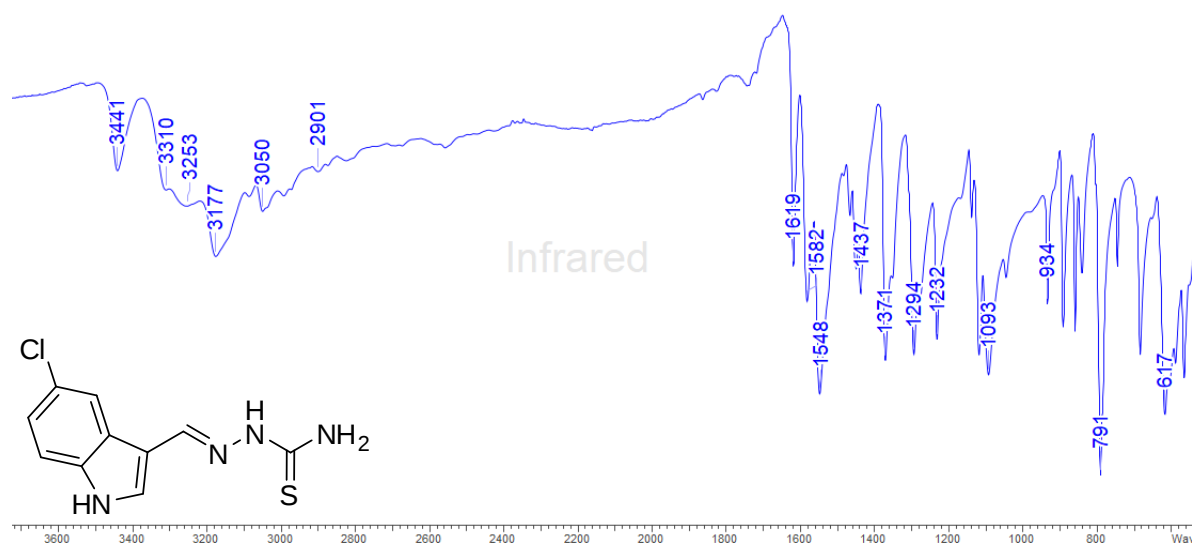


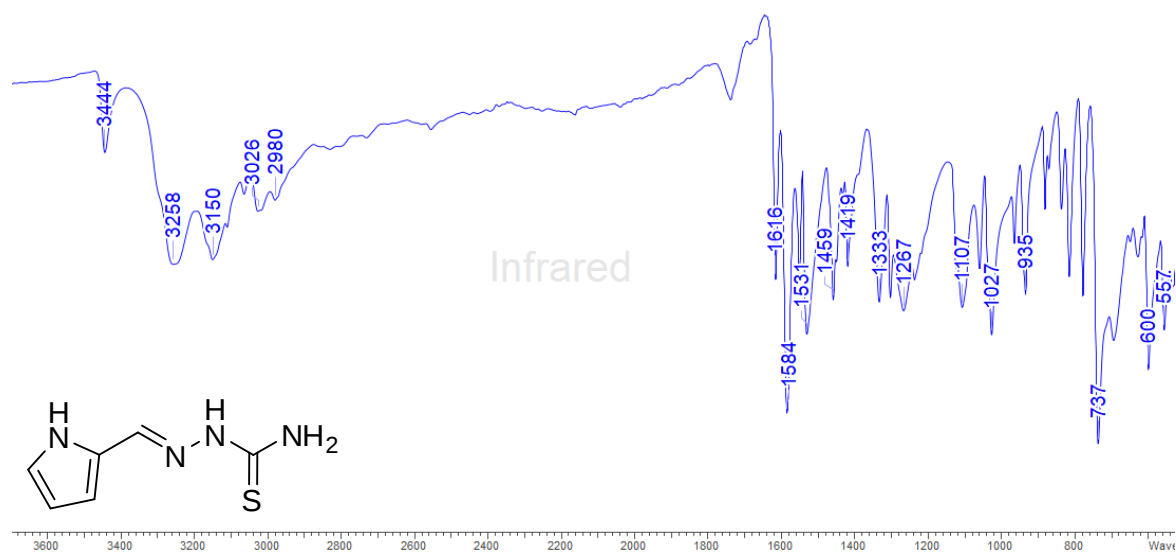
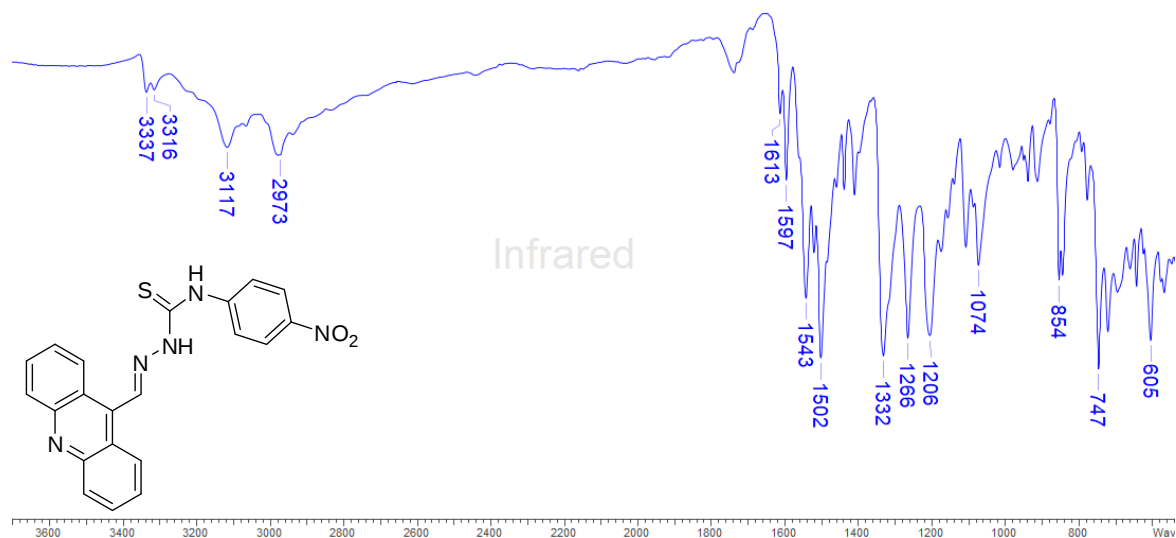
INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-97

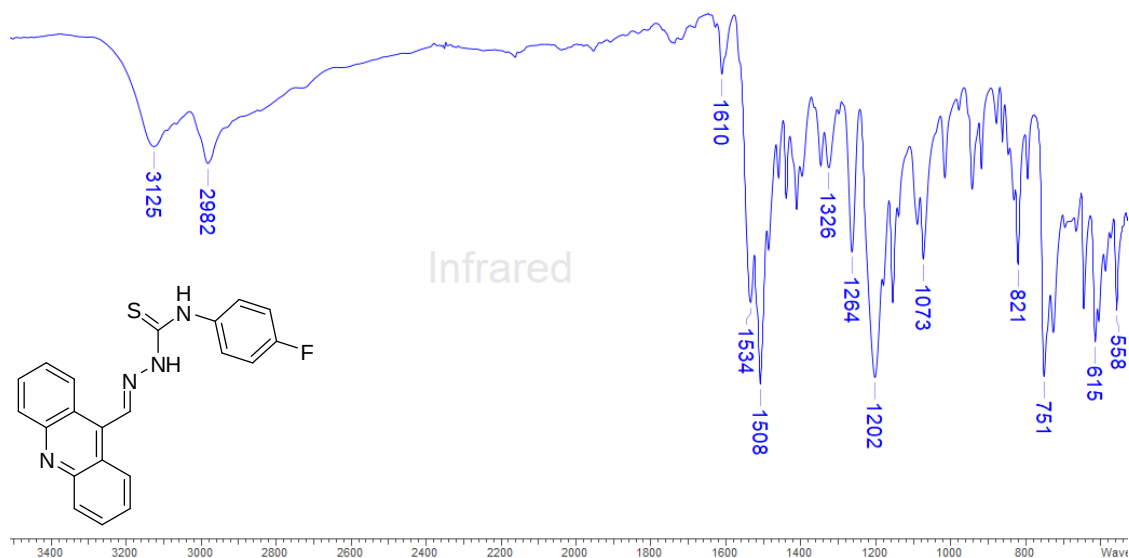
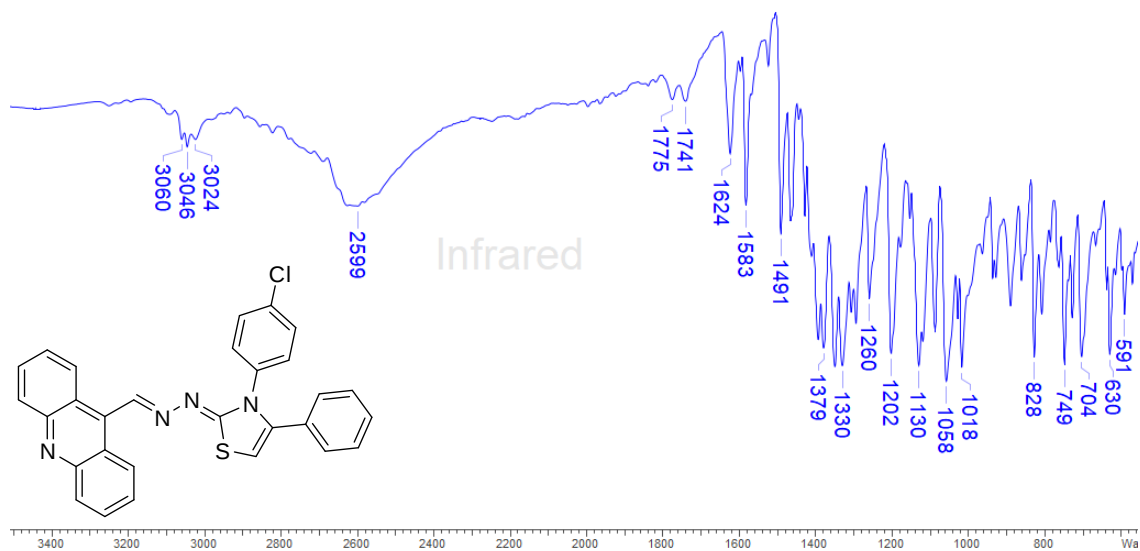


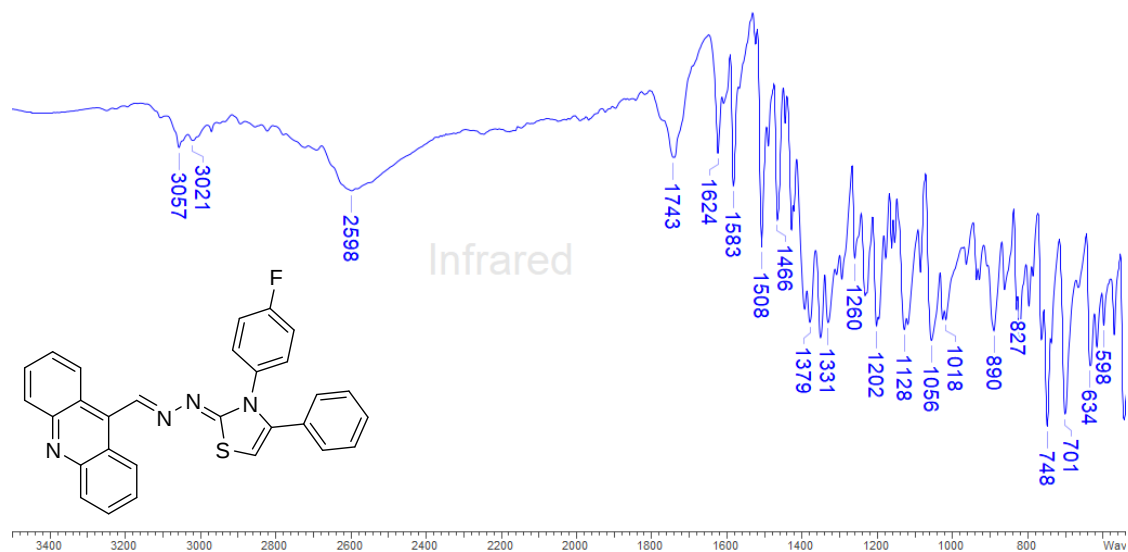
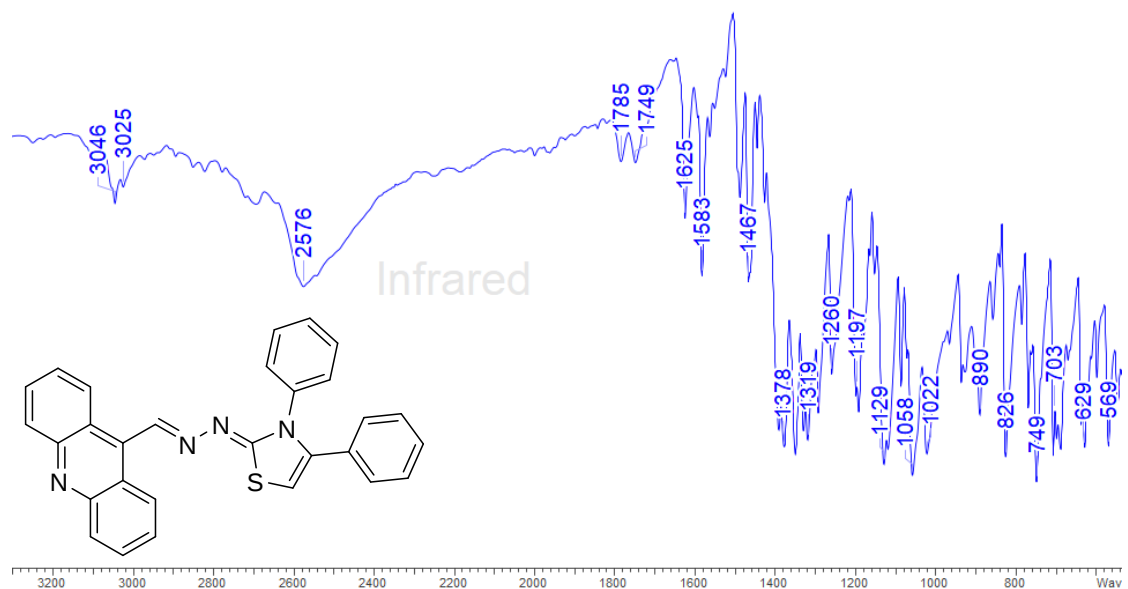
INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-98**INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-99**

INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-100**INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-101**

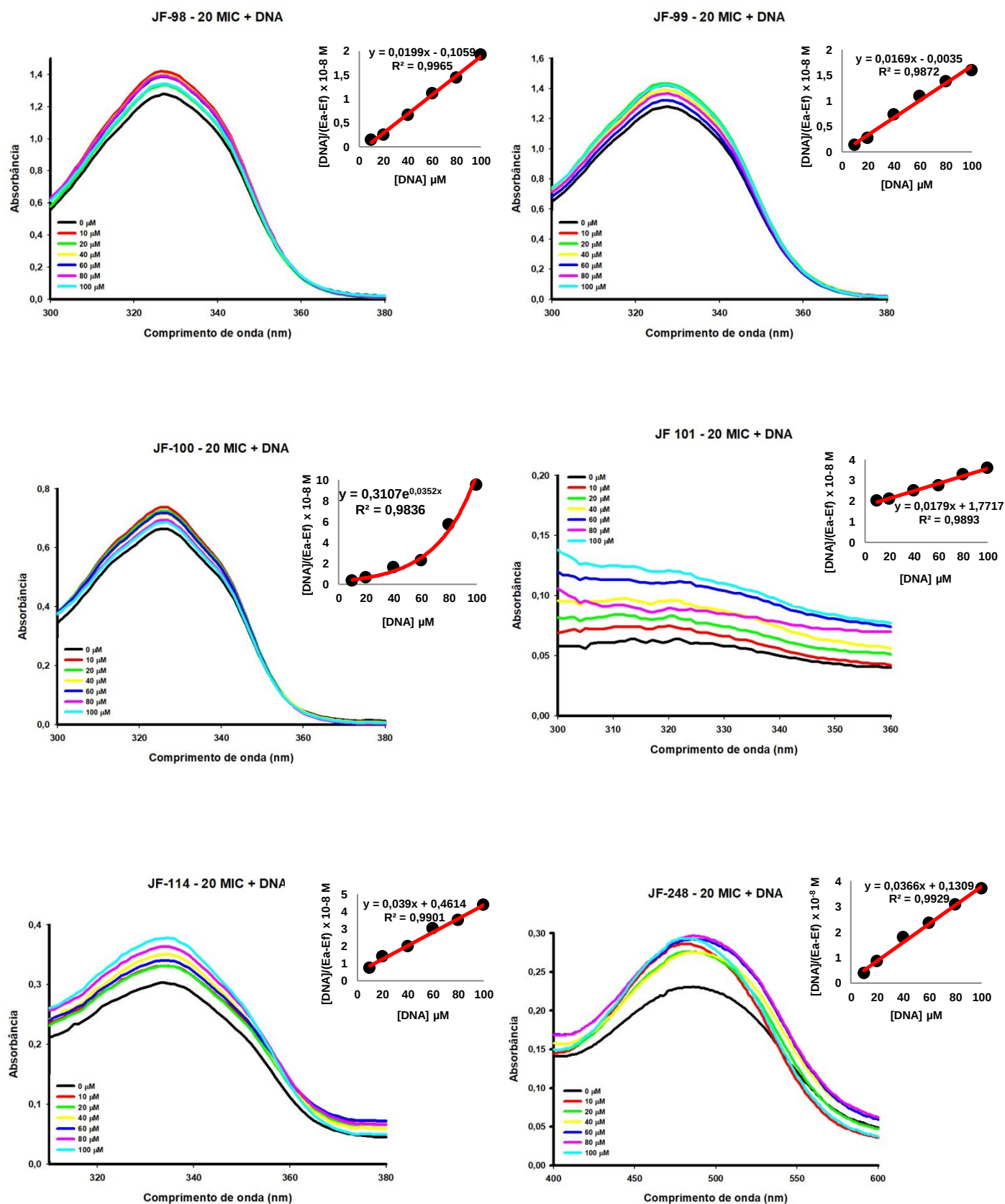
INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-114**INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-115**

INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-116**INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-242**

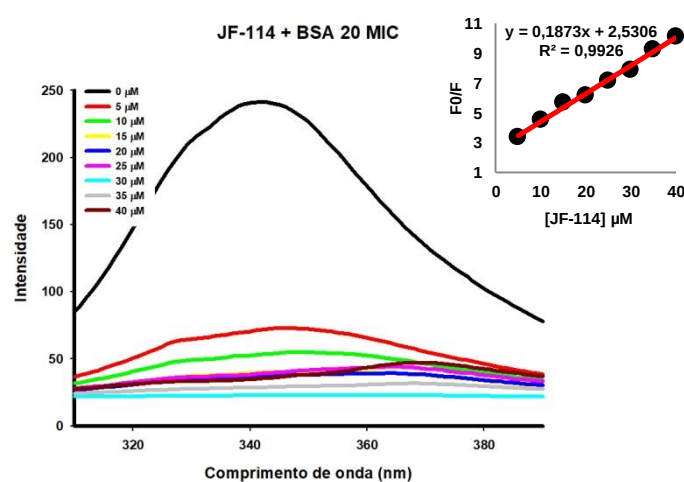
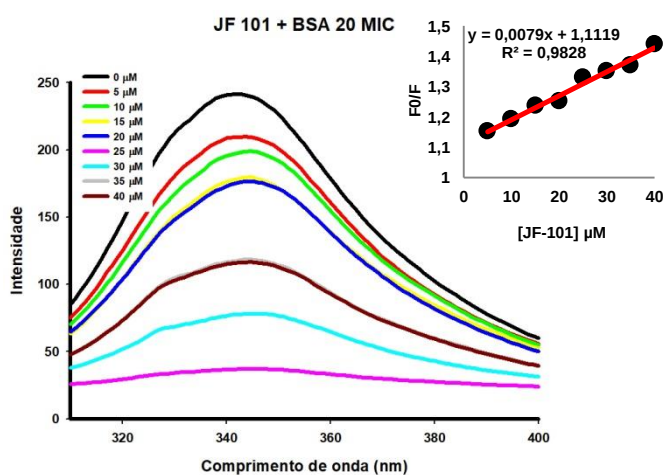
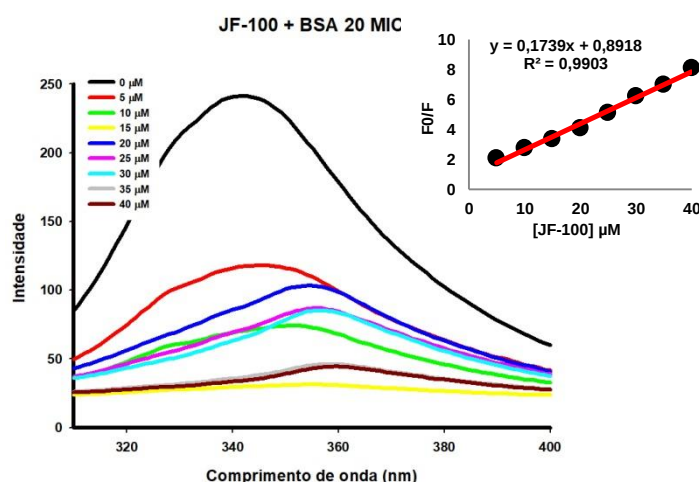
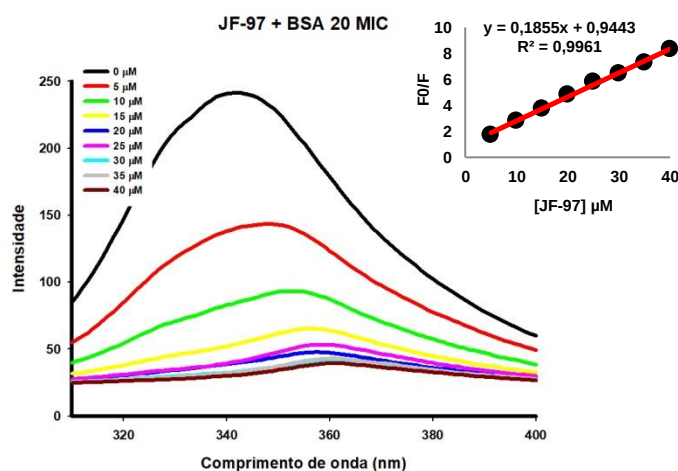
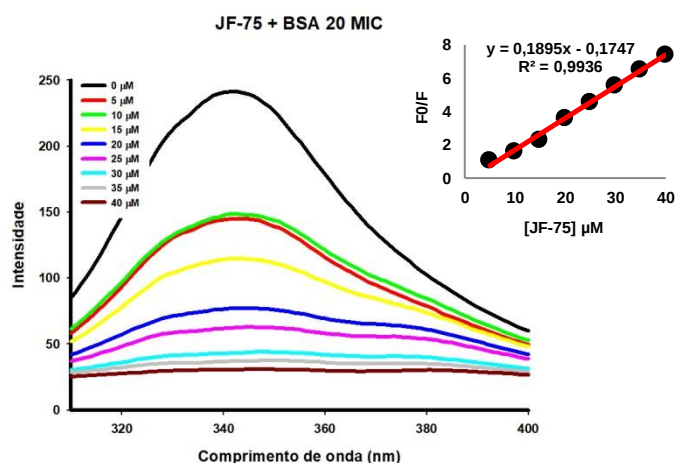
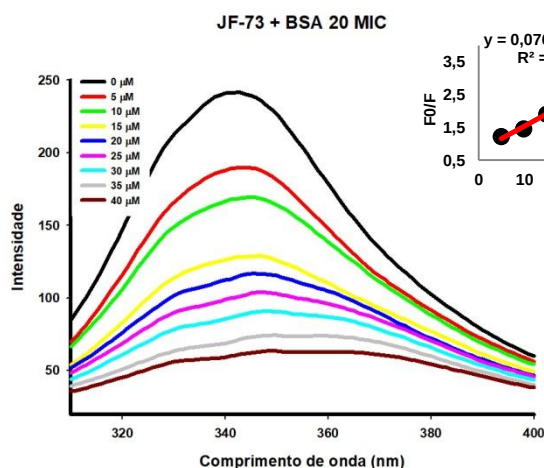
INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-243**INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-244**

INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-245**INFRAVERMELHO DO COMPOSTO LqIT/JF-248**

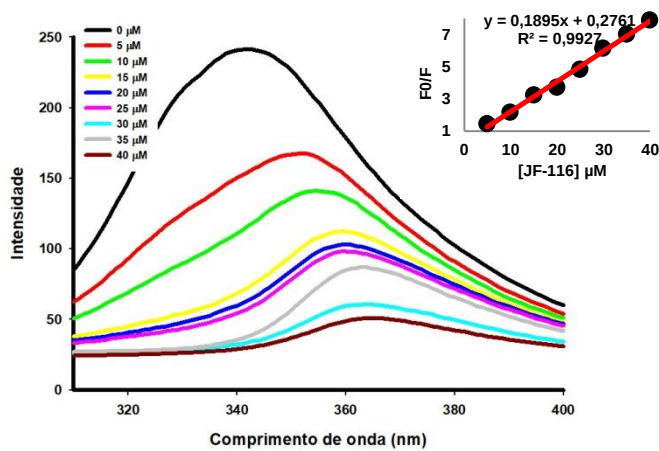
**APÊNDICE B - ESPECTROS DE ABSORÇÃO DOS LIGANTES LQIT/JF-98,
LQIT/LT-99, LQIT/LT-100, LQIT/LT-101, LQIT/LT-114 E LQIT/LT-248 NA
PRESENÇA DE QUANTIDADES CRESCENTES DO ctDNA**



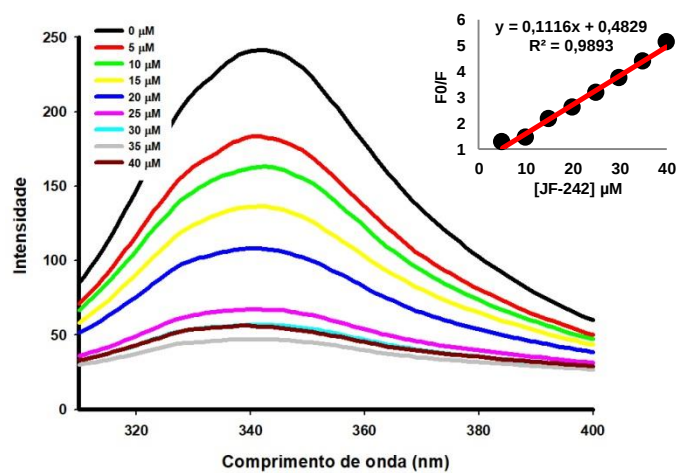
APÊNDICE C - ESPECTROS DE EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA DA ALBUMINA DO SORO BOVINO (BSA) NA PRESENÇA DE QUANTIDADES CRESCENTES DOS COMPOSTOS LQIT/JF-73, LQIT/JF-75, LQIT/JF-97, LQIT/JF-100, LQIT/JF-101, LQIT/JF-114, LQIT/JF-116, LQIT/JF-242, LQIT/JF-243, LQIT/JF-245 E LQIT/JF-248



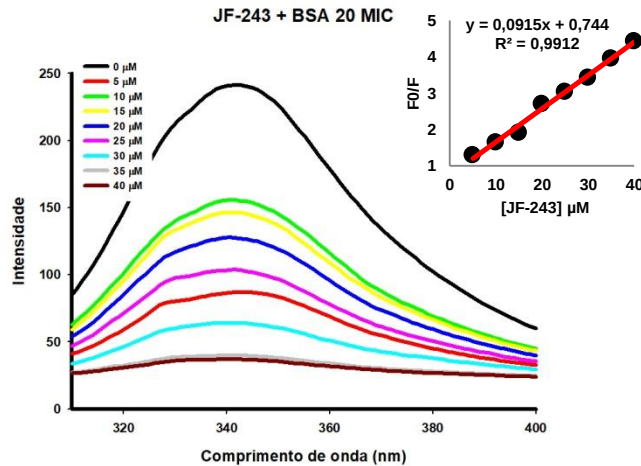
JF-116 + BSA 20 MIC



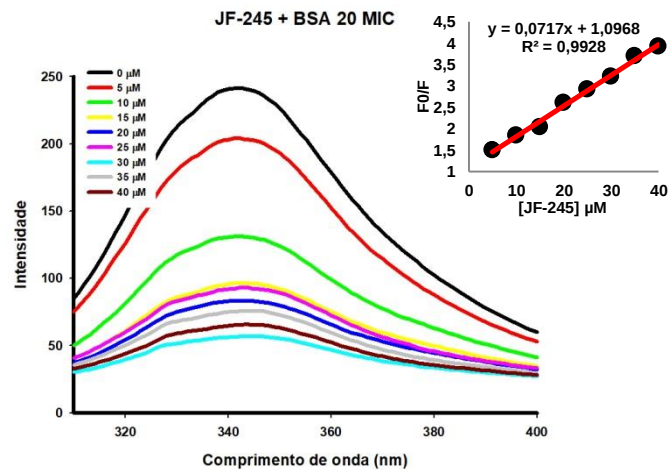
JF-242 + BSA 20 MIC



JF-243 + BSA 20 MIC



JF-245 + BSA 20 MIC



JF-248 + BSA 20 MIC

