

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

MARCEL LUCAS DE ALMEIDA

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-TUMORAL DE
NOVOS DERIVADOS TIAZACRIDÍNICOS E TIAZOFTALIMÍDICOS**

Recife

2019

MARCEL LUCAS DE ALMEIDA

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-TUMORAL DE
NOVOS DERIVADOS TIAZACRIDÍNICOS E TIAZOFTALIMÍDICOS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Inovação Terapêutica

Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Insumos Essenciais para a Saúde

Orientador: Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta

Coorientadora: Profa. Dr. Marina Galdino da Rocha Pitta

Recife

2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Almeida, Marcel Lucas de

Planejamento, síntese e avaliação da atividade anti-tumoral de novos derivados tiazacridínicos e tiazofalimídicos / Marcel Lucas de Almeida - 2019.

165 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Ivan da Rocha Pitta

Coorientadora: Marina Galdino da Rocha Pitta

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica. Recife, 2019.

Inclui referências, apêndices e anexo.

1. Química Medicinal 2. Acridina 3. Tiazolidina
I. Pitta, Ivan da Rocha (orient.) II. Pitta, Marina Galdino da Rocha (coorient.) III. Título

615.3

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-359

MARCEL LUCAS DE ALMEIDA

PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-TUMORAL DE NOVOS DERIVADOS TIAZACRIDÍNICOS E TIAZOFTALIMÍDICOS

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Inovação Terapêutica

Aprovada em: 26/08/2019

BANCA EXAMINADORA

Professora: Dra. Marina Galdino da Rocha Pitta /Universidade Federal de Pernambuco

Professor: Dr. Antônio Rodolfo de Faria /Universidade Federal de Pernambuco

Professor: Dr. Mardonny Bruno de Oliveira Chagas /Universidade Federal de Pernambuco

Professora: Dra. Michelly Cristiny Pereira /Universidade Federal de Pernambuco

Professor: Dr. Douglas Carvalho Francisco Viana /Universidade Federal de Pernambuco

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meu pai Marcus Antônio Lucas de Almeida e meu irmão Pedro Henrique Lucas de Almeida por toda a dedicação e apoio que tiveram e tem comigo.

A minha mãe Liliane Guerra Barbosa de Almeida que me ajudou muito durante toda a sua vida e sou muito grato a ela por tudo. Infelizmente desde de 2017 ela nos deixou, e foi quem sabe viver uma nova vida.

Aos meus falecidos avôs Lucas Almeida e José Braz e minhas avós Lucióla e Meyber.

A minha tia Margareth, muito prestativa, contribuiu muito comigo nos melhores e piores momentos.

AGRADECIMENTOS

Aos professores Dr. Ivan da Rocha Pitta e Dra. Marina Galdino da Rocha Pitta do Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica Suely Galdino (NUPIT SG) terem me aceitado como seus alunos e me dado a oportunidade de realizar estas pesquisas que irão contribuir para a ciência brasileira.

A Universidade Federal de Pernambuco e ao Programa de pós-graduação em inovação terapêutica (PPGIT) da UFPE por me disponibilizar as instalações e estrutura necessárias para a realização desta tese.

A FACEPE e ao CNPq/INCT_if pelo auxílio financeiro e viabilizar o meu trabalho, em que pude me dedicar integralmente aos estudos e as pesquisas científicas.

A todos os colegas de laboratório do Laboratório de Planejamento de Síntese de Fármacos (LPSF) onde eu fiz meus experimentos pelo apoio e auxílio para manter o laboratório funcionando.

Aos colegas do LINAT pela colaboração nas atividades biológicas dos compostos, especialmente aos professores Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo, Michelly Cristiny Pereira e Maira Galdino da Rocha Pitta.

Ao secretário do PPGIT, Paulo Germano por tirar muitas dúvidas em diversos assuntos, em especial os burocráticos e auxiliar na conclusão do meu curso.

Ao técnico Hernando do NUPIT-SG por ter contribuído nas análises dos compostos sintetizados e na limpeza do laboratório.

E a todos na minha família que me apoiaram, meus amigos e todas as outras pessoas envolvidas que de alguma forma contribuíram para realização desta tese.

Não importa quanto a vida possa ser ruim, sempre existe algo que você pode fazer, e triunfar. Enquanto há vida, há esperança.

Stephen Hawking

RESUMO

No ano de 2018 cerca de 18 milhões de novos casos de câncer ocorreram no mundo. Com o envelhecimento da população, a tendência é o aumento dos casos da doença ano a ano. O Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF) tem focado em pesquisa e desenvolvimento de novos potenciais fármacos contra o câncer, como por exemplo os derivados das acridinas que atuam dentre outras formas intercalando nos sulcos do DNA e nas enzimas DNA topoisomerases. O LPSF iniciou a linha de pesquisa e desenvolvimento focada na síntese de derivados da ftalimida com as tiazolidinas por hibridização. Assim, com o objetivo de combater o câncer, dez novos derivados tiazoftalimídicos (LPSF FT-2, FT-3, FT-4, FT-6, FT-7, FT-8, FT-9, FT-13, FT-15, FT-18) e oito novos derivados tiazacridínicos (LPSF AA-99, AA-100, AA-102, AA-103, AA-104, AA-109, AA-110, AA-111) foram sintetizados. Inicialmente ocorreram reações por *N*-alquilação da tiazolidina-2,4-diona (TZD) com o 9-(bromo-metil)acridina em presença de uma base, formando o intermediário LPSF/AA-1A, enquanto aldeídos aromáticos reagiram com ciano acetato de etila por condensação de Knoevenagel formando os intermediários IPs. A reação de adição de Michael entre estes dois intermediários (AA-1A e IPs) formou os derivados tiazacridínicos finais. Por outro lado, os novos derivados tiazoftalimídicos foram sintetizados por duas rotas: a primeira foi por condensação entre os aldeídos aromáticos e o intermediário FT-1 em presença de ácido e acetato de amônio, enquanto a segunda rota foi por adição de Michael entre o FT-1 e os IPs. As estruturas dos compostos foram comprovadas pelas técnicas de espectrometria de massas, infravermelho e ressonância magnética nuclear. Também foram realizados ensaios de citotoxicidade, sendo os compostos tiazoftalimídicos testados em quatro linhagens celulares tumorais: K-562, HL-60, SK-MEL-28, Miapaca, enquanto os derivados tiazacridínicos foram testados em quatro linhagens celulares tumorais: MM1S, Panc-1, PC-3 e HL-60. Os derivados tiazoftalimídicos tiveram rendimento entre 23% e 95%, enquanto os derivados tiazacridínicos apresentaram rendimentos entre 31% e 82%. Um dos compostos, o LPSF/ FT-9 com presença do radical (3-fenil-1H-pirazol), apresentou atividade citotóxica na linhagem K-562 ($59,11 \pm 4,48 \mu\text{M}$). Dados *in silico* mostraram que os compostos AAs são pouco solúveis em água. Portanto, outros ensaios biológicos podem ser realizados com os novos derivados para averiguar se algum deles tem potencial terapêutico.

Palavras-chave: Química Medicinal. Acridina. Tiazolidina. Ftalimida. Câncer.

ABSTRACT

In the year 2018 about 18 million new cases of cancer occurred in the world. With the new technologies and aging of the population, the tendency is increase of the cases of the disease year by year. The Laboratory of Planning and Synthesis of Pharmaceuticals (LPSF) has focused on research and development of new drugs mainly focused on the fight against cancer, such as the acridine derivatives that act among other ways intercalating in the grooves of the DNA and in the DNA topoisomerases enzymes. LPSF has initiated a research and development line focused on the synthesis of phthalimide derivatives with thiazolidines by hybridization. Thus, in order to combat cancer, ten new thiazophthalimide derivatives (LPSF FT-2, FT-3, FT-4, FT-6, FT-7, FT-8, FT-9, FT-13, FT-15, FT-18) and eight new thiazacridinic derivatives (LPSF AA-99, AA-100, AA-102, AA-103, AA-104, AA-109, AA-110, AA-111) were synthesized. Initially, reactions by N-alkylation of thiazolidine-2,4-dione (TZD) with 9-(bromomethyl)acridine occurred in the presence of a base, forming the intermediate AA-1A, while aromatic aldehydes were reacted with ethyl cyanoacetate by Knoevenagel condensation to form the IPs intermediates. The Michael addition reaction between these two intermediates (AA-1A and IPs) formed the final thiazacridine derivatives. On the other hand, novel thiazophthalimide derivatives were synthesized by two routes: the first was by condensation between the aromatic aldehydes and the FT-1 intermediate, in the presence of acetic acid and ammonium acetate, while the second route was by Michael addition between FT-1 and IPs. The structures of the compounds were proven by mass spectrometry, infrared and nuclear magnetic resonance techniques. Cytotoxicity assays were also performed, and the thiazophthalimides compounds were tested in four different tumor lines: K-562, HL-60, SK-MEL-28, Miapaca, while thiazacridine derivatives were tested in four tumor cell lines: MM1S, Panc-1, PC-3 and HL-60. Thiazophthalimide derivatives yielded between 23% and 95%, while thiazacridine derivatives yielded between 31% and 82%. One of the compounds, LPSF / FT-9 with the presence of the radical (3-phenyl-1H-pyrazole), showed cytotoxic activity in the K-562 strain ($59.11 \pm 4.48 \mu\text{M}$). *In silico* data showed that AAs compounds are poorly soluble in water. Therefore, other biological assays can be performed with the new derivatives to investigate if any of them have therapeutic potential.

Keywords: Medicinal Chemistry. Acridine. Thiazolidine. Phthalimide. Cancer

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes e estimados para 2018	26
Figura 2 – Número de novos casos e mortes em 2018 por câncer para ambos os sexos	27
Figura 3 – Ciclo da imunidade contra o câncer	28
Figura 4 – Tipos de DNA topoisomerase e suas subdivisões	30
Figura 5 – Mecanismos de ação para as enzimas humanas topoisomerases I e II ..	31
Figura 6 – O princípio de sinalização do NF-kB	35
Figura 7 – Acridina	36
Figura 8 – Composto 1: (2-metoxi-acridin-9-il)-[3-(9-{3-[(2-metoxi-acridin-9-ilamino)]-propil}-2,4,8,10-tetraoxa-espiro[5,5]undec-3-il)-propil]-amina	37
Figura 9 – Composto <i>N</i> -[4-(acridin-9-ilamino)-3-metoxifenil]-metanossulfonamida (<i>m</i> -AMSA)	38
Figura 10 – Composto 2: Carbotioamida-2-(acridin-9-ilmetileno)- <i>N</i> -fenil-hidrazina...	38
Figura 11 – Composto 3: 2-(acridin-9-illimino)-3-(difenilamino)tiazolidin-4-ona.....	39
Figura 12 – Composto 4: 2-(3-((4-metilacridin-9-il)amino)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-4-carboxamida.....	39
Figura 13 – Composto 5: <i>N</i> -((1H-benzo[d]imidazol-2-il)metil)-2-(terc-butil)acridina-9-amina	40
Figura 14 – Composto LPSF/AA-29: 3-Acridin-9-ilmetil-5-(5-bromo-1H-indol-3-il-metileno)tiazolidina-2,4-diona.....	41
Figura 15 – Composto 6: 2-Metoxi- <i>N</i> -(2-(tiofen-2-il)etil)acridina-9-amina	41

Figura 16 – Compostos 7: <i>N</i> -(3-(1H-imidazol-1-il)propil)-4-metoxiacridina-9-amina e 8: <i>N</i> -(2-(1H-indol-3-il)etil)-4-metoxiacridina-9-amina	42
Figura 17 – Tiazolidina-2,4-diona	42
Figura 18 – Alvos biológicos da tiazolidina-2,4-diona.....	43
Figura 19 – Glitazonas com ação anti-hiperglicêmica	44
Figura 20 – Derivado da tiazolidina-2,4-diona com atividade antitumoral (composto 9)	45
Figura 21 – Derivado da tiazolidina-2,4-diona com atividade antitumoral (LPSF/SF-13)	46
Figura 22 – Composto 10: 5-(4-(2-(piperidin-1-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona	46
Figura 23 – Ftalimida.....	47
Figura 24 – Talidomida.....	47
Figura 25 – Relação bioisostérica entre a talidomida e as tiossemicarbazonas, tiazolidinonas e tiazoles	48
Figura 26 – Composto 11: 2-((5-(4-clorobenzilideno)-4-oxotiazolidin-2-ilideno)-amino)isoindolina-1,3-diona	49
Figura 27 – Compostos 12: 2-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)etil-ciclo-hexil carbamoditioato e 13: 2-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)etil-piperidina-1-carboditioato	49
Figura 28 – Composto 14: 2-((3,5-dibromo-2-hidroxibenzilideno)amino)isoindolina-1,3-diona	50
Figura 29 – Separação spin-spin.....	52
Figura 30 – Espectro de RMN H ¹ do composto AA-100.....	62
Figura 31 – Espectro de RMN H ¹ do composto FT-9	63

Figura 32 – Espectroscopia no IV do composto FT-9	64
Figura 33 – Espectroscopia no IV do composto AA-100	65
Figura 34 – Espectrometria de massa do composto AA-100	65
Figura 35 – Espectrometria de massa do composto FT-9.....	66
Figura 36 – LPSF/ FT-9.....	79
Figura 37 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF FT-2.....	118
Figura 38 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF FT-2.....	119
Figura 39 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil acetato (LPSF FT-2) (MM=422).....	119
Figura 40 – Espectro de IV do LPSF FT-2.	120
Figura 41 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF FT-3.....	121
Figura 42 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF FT-3.....	122
Figura 43 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do N-(4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-2,4- dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)acetamida (LPSF FT-3) (MM=421)	123
Figura 44 – Espectro de IV do LPSF FT-3.	123
Figura 45 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF FT-4.....	124
Figura 46 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF FT-4.....	125
Figura 47 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-((2,3-di-hidrobenzofuran-6-il)metileno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 4) (MM=406).....	126
Figura 48 – Espectro de IV do LPSF FT- 4.	126
Figura 49 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF FT-6.....	127

Figura 50 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF FT-6.....	128
Figura 51 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-5-(4-(difenilamino)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-6) (MM=531)	129
Figura 52 – Espectro de IV do LPSF FT- 6.	129
Figura 53 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF FT-7.....	130
Figura 54 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-(4-(1H-imidazol-1-il)benzilideno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-7) (MM=430)	131
Figura 55 – Espectro de IV do LPSF FT- 7.	131
Figura 56 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF FT- 8.....	132
Figura 57 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF FT-8.....	133
Figura 58 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-((4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)(metil)amino)propanonitrila (LPSF FT-8) (MM=446).....	134
Figura 59 – Espectro de IV do LPSF FT- 8.	134
Figura 60 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF FT- 9.....	135
Figura 61 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-5-((3-fenil-1H-pirazol-4-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 9) (MM=430).....	136
Figura 62 – Espectro de IV do LPSF FT- 9.	136
Figura 63 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF FT- 13.....	137
Figura 64 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF FT-13.....	138
Figura 65 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-((2-cloro-6-metoxiquinolin-3-il)metileno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 13) (MM=479).....	139
Figura 66 – Espectro de IV do LPSF FT- 13.	139

Figura 67 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF FT- 15.....	140
Figura 68 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-5-(4-(pirimidin-5-il)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 15) (MM=442).....	141
Figura 69 – Espectro de IV do LPSF FT- 15.	141
Figura 70 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF FT- 18.....	142
Figura 71 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-(3-bromobenzilideno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 18) (MM=441.9).....	143
Figura 72 – Espectro de IV do LPSF FT- 18.	143
Figura 73 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF AA- 99	144
Figura 74 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF AA-99	145
Figura 75 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do <i>N</i> -(4-((3-(acridin-9-ilmetil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)acetamida (LPSF AA-99) (MM=453.1)	146
Figura 76 – Espectro de IV do LPSF AA- 99.....	146
Figura 77 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF AA- 100	147
Figura 78 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF AA-100	148
Figura 79 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-(acridin-9-ilmetil)-5-((2,3-dihidrobenzofuran-5-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-100) (MM=438.1) ...	149
Figura 80 – Espectro de IV do LPSF AA- 100.....	149
Figura 81 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF AA- 102	150
Figura 82 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-(acridin-9-ilmetil)-5-(4-(difenilamina) benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-102) (MM=563.1)	151
Figura 83 – Espectro de IV do LPSF AA- 102.....	151
Figura 84 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF AA- 103	152

Figura 85 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-(4-(1H-imidazol-1-il)benzilideno)-3-(acridin-9-ilmetil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-103) (MM=462.1)	153
Figura 86 – Espectro de IV do LPSF AA- 103.....	153
Figura 87 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF AA- 104	154
Figura 88 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF AA-104	155
Figura 89 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-((4-((3-(acridin-9-ilmetil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)(metil)amino)propanonitrila (LPSF AA-104) (MM=478.1)	156
Figura 90 – Espectro de IV do LPSF AA- 104.....	156
Figura 91 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF AA- 109	157
Figura 92 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF AA-109	158
Figura 93 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-(acridin-9-ilmetil)-5-((2-cloro-6-metoxiquinolin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-109) (MM=511)	159
Figura 94 – Espectro de IV do LPSF AA- 109.....	159
Figura 95 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF AA- 110	160
Figura 96 – Espectro Total do RMN ¹ H do LPSF AA-110	161
Figura 97 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-((1H-indol-5-il)metileno)-3-(acridin-9-ilmetil) tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-110) (MM=435.1)	162
Figura 98 – Espectro de IV do LPSF AA- 110.....	162
Figura 99 – Espectro do RMN ¹ H do LPSF AA- 111	163
Figura 100 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-(acridin-9-ilmetil)-5-(4-(pirimidin-5-il)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-111) (MM=474.1)	164
Figura 101 – Espectro de IV do LPSF AA- 111.....	164

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Valores-base para as absorções de alguns grupos funcionais	53
Quadro 2 – Linhagens tumorais utilizadas	58
Quadro 3 – Características físico-químicas da tiazolidina 2,4-diona, dos derivados tiazacridínicos e tiazoftalimídicos sintetizados no LPSF.	60
Quadro 4 – Análise <i>in silico</i> dos compostos finais FTs e AAs	76
Quadro 5 – Valores de IC ₅₀ (concentração inibitória de 50%) realizado pelo método do MTT com os compostos tiazoftalimídicos (FTs) para as linhagens celulares K-562, HL-60, SK-MEL-28, Miapaca e PBMC.	78
Quadro 6 – Valores de IC ₅₀ (concentração inibitória de 50%) realizado pelo método do MTT com os compostos tiazacridínicos (AAs) para as linhagens celulares PC-3, HL-60, Panc-1, MM1S e PBMC.....	80
Quadro 7 – Ésteres de Cope sintetizados.....	92
Quadro 8 – Tiazacridinas sintetizadas	95
Quadro 9 – Derivados Tiazoftalimídicos sintetizados.....	97

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Rota Geral de síntese das Tiazacridinas	55
Esquema 2 – Rota Geral de síntese dos Compostos Tiazofalimídicos por adição de Michael.....	56
Esquema 3 – Rota Geral de síntese dos Compostos Tiazofalimídicos por Condensação de Knoevenagel	57
Esquema 4 – Mecanismo de reação hipotético para obtenção dos Ésteres de Cope (IPs) por condensação de Knoevenagel	67
Esquema 5 – Mecanismo reacional hipotético de síntese para obtenção do intermediário (LPSF/AA-1A).....	68
Esquema 6 – Mecanismo reacional hipotético de síntese para obtenção do intermediário (LPSF/FT-01).....	69
Esquema 7 – Mecanismo reacional hipotético de síntese para obtenção dos compostos finais (LPSF/AAs).....	70
Esquema 8 – Mecanismo reacional hipotético de síntese para obtenção dos compostos finais (LPSF/FTs) por reação de adição de Michael.	71
Esquema 9 – Mecanismo reacional hipotético de síntese para obtenção dos compostos finais (LPSF/FTs) por condensação de Knoevenagel.....	72
Esquema 10 – Rota de síntese para obtenção do composto (LPSF/AC-01) por ciclização.....	74
Esquema 11 – Rota de síntese para obtenção do composto 9-bromo-metilacridina por bromação	75
Esquema 12 – Rota de síntese para obtenção da tiazolidina-2,4-diona.....	91
Esquema 13 – Rota de síntese para obtenção dos Ésteres de Cope (IPs).....	93

Esquema 14 – Rota de síntese para obtenção do intermediário (LPSF/AA-1A).....	94
Esquema 15 – Rota de síntese para obtenção do intermediário (LPSF/FT-01)	95
Esquema 16 – Rota de síntese para obtenção dos produtos finais (LPSF/AAs)	96
Esquema 17 – Rota de síntese para obtenção dos compostos finais (LPSF/FTs) por reação de adição de Michael.	98
Esquema 18 – Rota de síntese para obtenção dos compostos finais (LPSF/FTs) por condensação.....	99

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

APC	Célula apresentadora de antígeno
ATP	Adenosina trifosfato
CCD	Cromatografia em camada delgada
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DC	Células dendríticas
DNA	Ácido desoxirribonucléico
HepG-2	Células de carcinoma hepatocelular
HL-60	Células de leucemia aguda promielocítica
IV	Infravermelho
K-562	Células de leucemia mielóide crônica
Maldi – TOF	Ionização e dessorção a laser assistida por matriz –tempo de voo
MAP quinase	Proteína-quinase ativada por mitógenos
MCF-7	Células de adenocarcinoma de mama
Miapaca	Células de carcinoma de pâncreas
MMP	Potencial de membrana mitocondrial
m-AMSA	Amsacrina
NaOH	Hidróxido de sódio
Nfk β	Fator nuclear de Kappa β
PARP-1	Poli (ADP-ribose) polimerase-1
PPAR	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma
RMN	Ressonância magnética nuclear
RNA	Ácido ribonucléico
SK-MEL-28	Células de melanoma maligno
SNC	Sistema nervosa central
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TZD	Tiazolidina-2,4-diona
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
1.1.	OBJETIVOS.....	24
1.1.1.	Objetivo Geral	24
1.1.2.	Objetivos Específicos	24
2	REVISÃO DA LITERATURA	25
2.1.	O CÂNCER.....	25
2.1.1.	Epidemiologia do câncer e tratamentos atuais	25
2.1.2.	Papel do sistema imune no câncer	27
2.2.	ALVOS BIOLÓGICOS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER E OUTRAS DOENÇAS.....	28
2.2.1.	O ácido desoxirribonucléico (DNA)	28
2.2.2.	DNA Topoisomerases	29
2.2.3.	Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)	33
2.3.	DERIVADOS ACRIDÍNICOS E SUAS FUNÇÕES BIOLÓGICAS.....	36
2.3.1.	A estrutura da acridina	36
2.3.2.	Amsacrina (m-AMSA)	37
2.3.3.	Atividades biológicas dos derivados da acridina	38
2.4.	TIAZOLIDINAS	42
2.4.1.	Funções biológicas dos derivados da Tiazolidina	43
2.4.1.1.	Atividade Hipoglicêmica.....	43

2.4.1.2.	Atividade anti-tumoral das TZDs.....	45
2.5.	DERIVADOS FTALIMÍDICOS.....	47
2.5.1.	Funções biológicas dos derivados ftalimídicos	48
2.6.	TÉCNICAS UTILIZADAS PARA A IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	50
2.6.1.	Ressonância magnética nuclear (RMN)	50
2.6.2.	Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)	52
2.6.3.	Espectrometria de massas (Maldi-Tof)	53
3	MATERIAIS E MÉTODOS	54
3.1.	MATERIAIS, REAGENTES E SOLVENTES.....	54
3.2.	EQUIPAMENTOS.....	54
3.3.	METODOLOGIA SINTÉTICA.....	55
3.3.1.	Rota Geral de Síntese dos derivados tiazacridínicos	55
3.3.2.	Rota Geral de Síntese dos derivados tiazoftalimídicos	56
3.4.	METODOLOGIA ATIVIDADE ANTI-TUMORAL.....	57
3.4.1.	Cultivo e manutenção das linhagens celulares	57
3.4.2.	Ensaio de seletividade e citotoxicidade	58
3.5.	ESTUDO <i>IN SILICO</i>	59
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1.	IDENTIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS DERIVADOS SINTETIZADOS	60
4.2.	MECANISMOS REACIONAIS	66
4.2.1.	Mecanismo reacional dos LPSF/ IPs (Ésteres de Cope)	66

4.2.2.	Mecanismo reacional do LPSF/AA-1A (3-Acridina-9-il-metil-tiazolidina-2,4-diona).....	67
4.2.3.	Mecanismo reacional do 3-((1,3-dioxoisoindolin-2-il)metil) tiazolidina-2,4-diona (LPSF/FT-01)	68
4.2.4.	Mecanismo reacional dos derivados finais LPSF/AAs (Tiazacridinas).....	69
4.2.5.	Mecanismo reacional dos derivados finais LPSF/FTs (Tiazofталimidias).....	70
4.3.	DISCUSSÃO SOBRE AS SÍNTESES REALIZADAS.....	72
4.3.1.	Tiazofталimidias	73
4.3.2.	9-bromo-metilacridina	74
4.3.3.	Tiazacridinas	75
4.4.	ANÁLISE <i>IN SILICO</i>	76
4.5.	ATIVIDADE ANTI-TUMORAL	77
5	CONCLUSÕES.....	82
	REFERÊNCIAS.....	84
	APÊNDICE A - PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	91
	APÊNDICE B - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ANÁLISES ESTRUTURAIS DETALHADAS	100
	APÊNDICE C - ESPECTROS DE RMN ¹ H, MALDI-TOF, E INFRAVERMELHO DAS TIAZOFTALIMIDAS E TIAZACRIDINAS.....	118
	ANEXO A - Patente depositada. Tiazacridinas na terapia anticâncer.....	165

1 INTRODUÇÃO

O avanço da medicina e o conseqüente uso de novos exames mais precisos e capazes de detectar problemas de saúde mais precocemente, como por exemplo exames de imagem por ressonância magnética e novos exames laboratoriais capazes de identificar mutações no ácido desoxirribonucléico (DNA) e proteínas, tem levado a uma maior expectativa de vida. Principalmente a população dos países desenvolvidos estão tendo acesso a novos exames e tendo um tratamento mais eficiente para diversas doenças. Além disto, com esse aumento da expectativa de vida, os casos de câncer têm a tendência de crescer com envelhecimento populacional. Daí a importância da descoberta de novos fármacos para tratar os diversos tipos de câncer, pois muitos ainda não tem um fármaco adequado para o tratamento, e muitos dos fármacos atuais tem efeitos colaterais fortes e tóxicos, principalmente contra tecidos normais (CHANG *et al.*, 2018).

Alvos biológicos importantes para o desenvolvimento de novos fármacos seja contra o câncer ou anti-inflamatório por exemplo, são as DNA topoisomerasas, que já apresentaram resultados promissores na literatura, e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), apresentado aqui na revisão da literatura uma explicação objetiva do seu funcionamento nos organismos (MITOMA *et al.*, 2018; DELGADO *et al.*, 2018). Compostos que tem apresentado atividade nestes alvos são as ftalimidias, que tem mostrado atividades anti-inflamatórias e anti-tumorais promissoras (CARDOSO *et al.*, 2015) e derivados das acridinas, que apresentam atividade inibitória interessante das topoisomerasas I e II (YUAN *et al.*, 2017), bem como atividade citotóxica contra linhagens celulares neoplásicas (SONDHI *et al.*, 2010).

O surgimento de células tumorais resistentes aos medicamentos existentes continua sendo um dos principais problemas hoje, sendo uma causa frequente de fracasso, principalmente nas terapias clínicas de longo prazo. Nesse contexto, as resistências podem ser superadas através da descoberta de fármacos que visem tanto as enzimas topoisomerasas I e II simultaneamente, por exemplo. Além disso, fármacos inovadores com múltiplas propriedades biológicas capazes de abordar múltiplos alvos, podem revelar novos caminhos para o tratamento de patologias graves como os cânceres (SALERMO *et al.*, 2010).

O Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) tem como objetivo a síntese de novos fármacos para o tratamento das enfermidades humanas, como o câncer. O grupo já vem explorando a série das tiazacridinas, inclusive existe uma patente (Anexo A) mostrando o pioneirismo das sínteses destes derivados com núcleos de tiazolidina e núcleos da acridina unidos, tendo como radicais os ésteres de cope (IPs), também estudados no LPSF, unidos a tiazolidina-2,4-diona (TZD) na posição 5 por adição de Michael.

Atualmente o LPSF está estudando e sintetizando derivados das ftalimidas (LAMIE *et al.*, 2015), como mostrado na revisão desse trabalho, ela vem obtendo alguns resultados promissores no combate ao câncer e outras doenças (CARDOSO *et al.*, 2015). Com destaque para a talidomida, é um derivado ftalimídico bem conhecido e estudado (YANG *et al.*, 2015).

A importância e justificativa deste trabalho está na continuação da linha de pesquisa de novos derivados da acridina com tiazolidina que tenham eficácia e menos efeitos colaterais, pois resultados previamente obtidos no nosso grupo de pesquisa foram promissores em inibir algumas linhagens tumorais (CHAGAS *et al.*, 2017). Também é importante destacar, as novas sínteses realizadas com sucesso de derivados da ftalimida, em que primeiro foi realizada a síntese do intermediário FT-1 (união do núcleo da TZD com o ftalimídico) e a posterior síntese dos derivados finais. A partir desse composto FT-1, foi sintetizado por duas rotas de síntese diferentes os derivados finais FTs, uma utilizando os intermediários IPs, e outra rota utilizando os aldeídos diretamente com o FT-1 por condensação.

Assim, a tese teve como objetivo central o desenho, a síntese dos novos derivados tiazacridínicos e tiazoftalimídicos, caracterizar suas estruturas pelas técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , infravermelho e espectrometria de massas. Determinar suas características físicas e otimizar as sínteses para obter um melhor rendimento, pureza e economia de reagentes. Também foi avaliado a atividade anticâncer *in vitro* das tiazoftalimidas nas linhagens de células neoplásicas K-562 (Leucemia mielóide crônica), HL-60 (Leucemia promielocítica aguda), SK-MEL-28 (Melanoma) e Miapaca (Carcinoma de pâncreas), enquanto a atividade anticâncer das tiazacridinas foram testadas nas linhagens de

células neoplásicas MM1S (Mieloma Múltiplo), Panc-1 (Carcinoma de Pâncreas), PC-3 (Carcinoma de próstata) e HL-60.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo Geral

Desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o câncer através da síntese de moléculas tiazacridínicas e tiazoftalimídicas e avaliação da atividade biológica *in vitro* destas moléculas.

1.1.2. Objetivos Específicos

- * Síntese dos novos derivados Tiazacridínicos e Tiazoftalimídicos;
- * Determinação das características físico-químicas por estudos *in silico*;
- * Elucidação das estruturas químicas através de técnicas espectroscópicas no infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono, e espectrometria de massas;
- * Realização de ensaios de seletividade em células polimorfonucleares de indivíduos saudáveis (PBMC) e avaliar a citotoxicidade dos compostos sintetizados LPSF/AAs e LPSF/FTs nas seguintes linhagens de células tumorais: K-562; HL-60; SK-MEL-28; Miapaca; MM1S; Panc-1; PC-3.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1. O CÂNCER

Câncer é o crescimento desordenado e descontrolado de células anormais. As células de trabalho normais ao longo do tempo acumulam mudanças genéticas e epigenéticas que levam a desregulação das vias de sinalização que regulam o comportamento celular e a aquisição das características marcantes do câncer (ZANUDO *et al.*, 2018). Carcinógenos, como os mais de 2000 químicos encontrados no cigarro são metabolizados no corpo e levam também a alterações no Ácido Desoxirribonucléico (DNA). Este estágio da carcinogênese é conhecido como iniciação. Assim, células que carregam o DNA danificado podem sofrer alterações que permitem que elas se desenvolvam em um câncer (TEMPLE, 2017).

No câncer, as células tumorais estimulam a angiogênese (desenvolvimento de novos vasos sanguíneos) em um esforço para manter e permitir a progressão do tumor. Os principais estímulos para essa mudança no organismo são além da privação de oxigênio, a inflamação, mutações oncogênicas e estresse mecânico, todos eles podem desempenhar um papel importante para o desenvolvimento dos tumores (TALAAT *et al.*, 2014). Esta angiogênese é um processo crucial para o crescimento e metástase tumoral, ela regulada pela produção de estimuladores angiogênicos, incluindo o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Sendo o VEGF um fator regulador chave no prognóstico de vários tipos de câncer, a modulação da produção de VEGF é uma abordagem terapêutica promissora para o tratamento do câncer (EL-AARAG *et al.*, 2014). Assim, o câncer se torna tão letal, pois esta neovascularização melhora o suprimento sanguíneo (oxigênio e nutrientes) para as células neoplásicas e, conseqüentemente, favorece o crescimento do tumor (COSTA *et al.*, 2015).

2.1.1. Epidemiologia do câncer e tratamentos atuais

Estima-se para o Brasil, biênio 2018-2019, a ocorrência de 600 mil casos novos de câncer, para cada ano. Excetuando-se o câncer de pele não melanoma (cerca de 170 mil casos novos), ocorrerão 420 mil casos novos de câncer. O câncer de próstata (68 mil) em homens será possivelmente o mais frequente, no mundo ele só fica atrás do câncer de pulmão. Nas mulheres, o de mama (60 mil), será o prevalente (figura 1). De todos estes casos, cerca de 3% (12.500 casos novos de

câncer) ocorrerão em crianças e adolescentes (até os 19 anos), a leucemia é o mais comum na maioria destas populações (26%) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Figura 1 – Distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes e estimados para 2018

Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo, exceto pele não melanoma*

Homens			Mulheres		
Localização Primária	Casos	%	Localização Primária	Casos	%
Próstata	68.220	31,7%	Mama Feminina	59.700	29,5%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	18.740	8,7%	Cólon e Reto	18.980	9,4%
Cólon e Reto	17.380	8,1%	Colo do Útero	16.370	8,1%
Estômago	13.540	6,3%	Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.530	6,2%
Cavidade Oral	11.200	5,2%	Glândula Tireoide	8.040	4,0%
Esôfago	8.240	3,8%	Estômago	7.750	3,8%
Bexiga	6.690	3,1%	Corpo do Útero	6.600	3,3%
Laringe	6.390	3,0%	Ovário	6.150	3,0%
Leucemias	5.940	2,8%	Sistema Nervoso Central	5.510	2,7%
Sistema Nervoso Central	5.810	2,7%	Leucemias	4.860	2,4%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

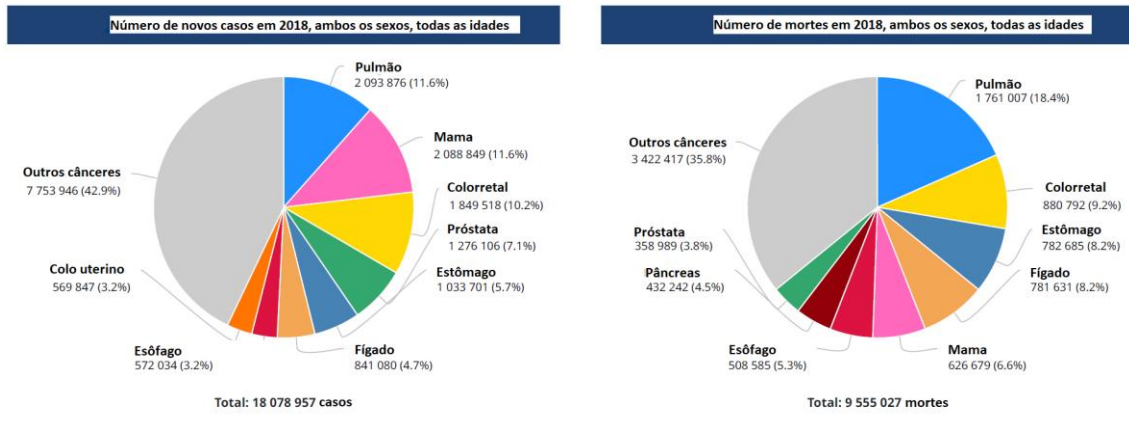
Fonte: Ministério da Saúde, 2018.

Em 2015, ocorreram 14.484 óbitos por câncer de próstata no Brasil, também ocorreram 8.163 óbitos por câncer de cólon e reto em homens, e 8.533 em mulheres, sendo o terceiro tipo de câncer mais prevalente nos homens e o segundo nas mulheres (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Com relação ao câncer de pulmão, em 2015 ocorreram 15.514 óbitos em homens e 10.978 em mulheres, sendo o segundo mais frequente nos homens e o quarto nas mulheres (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

No Brasil, no grupo etário de 0 a 14 anos observam-se os tumores do Sistema Nervoso Central (SNC) como mais comum (16% de todos os tumores nessa faixa). A maior parte dos tumores do SNC se origina no cérebro, nervos cranianos e meninges (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Nessa faixa de idade também é mais presente leucemias e linfomas.

No mundo é estimado para 2018 mais de 18 milhões de novos casos, sendo a maioria de pulmão e mama (11,6%). Já de mortes por câncer a estimativa é de mais de 9,5 milhões de vítimas, principalmente por câncer de pulmão (18,4%), como pode ser visto na figura 2 (WHO, 2018).

Figura 2 – Número de novos casos e mortes em 2018 por câncer para ambos os sexos



Fonte: Adaptado de WHO, 2018

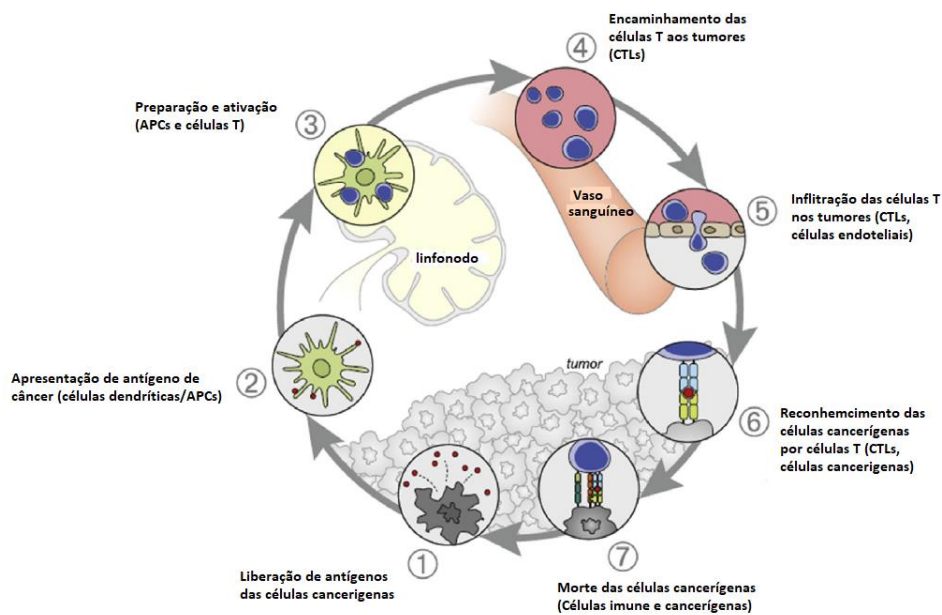
Nos Estados Unidos da América em 2017 cerca de 190 mil mortes por câncer de um total de 601 mil foram causados pelo cigarro (ACS, 2018). E também pode-se dizer que a grande maioria dos casos ocorreram em pessoas com mais de 50 anos (ACS, 2018).

As principais modalidades para o tratamento de câncer são a remoção cirúrgica do tumor, em alguns casos associado com quimioterapia, e quando a cirurgia não é possível é feita quimioterapia e/ou radiação. Estes tratamentos levam a cessação da proliferação das células cancerígenas e induzem a morte celular. O problema é que a maioria dos tratamentos atuais também afetam as células normais, levando-as ao envelhecimento, problemas de saúde como infertilidade, déficit cognitivo e novos cânceres (CHANG *et al.*, 2018).

2.1.2. Papel do sistema imune no câncer

O sistema imune atua impedindo o desenvolvimento de alguns tipos de cânceres através do seguinte ciclo de sete etapas: Nas primeiras etapas os antígenos das células cancerígenas são apresentados as células dendríticas (DCs) e células apresentadoras de antígeno (APCs). Em seguida os linfonodos liberam células T (CTLs) que irão migrar pelos vasos sanguíneos até o tumor e destruí-las. As células tumorais moribundas podem liberar antígenos tumorais adicionais e contribuir para um ambiente pró-inflamatório que tanto amplia quanto aprofunda a resposta imune ao tumor através de ciclos subsequentes de ativação das DCs e células T (PONCE, 2018), como pode ser visto na figura 3. Assim, drogas que possam inibir o sistema imune favorecem o aparecimento de alguns cânceres.

Figura 3 – Ciclo da imunidade contra o câncer



Fonte: Adaptado de Ponce, 2018.

2.2. ALVOS BIOLÓGICOS PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER E OUTRAS DOENÇAS

Novas terapias vêm sendo pesquisadas para o tratamento do câncer, através de fármacos direcionados a um alvo biológico em particular, como por exemplo uma proteína específica dentro de uma via de sinalização crítica das células cancerígenas. Essas células que tem como características a proliferação, evasão de supressão do crescimento e morte celular, além de invasão e metástase. Por isso, o processo de replicação do DNA, apresentado no próximo tópico, e outras proteínas, tem sido alvo de muitos fármacos/quimioterápicos em estudo, pois elas tendem a ser menos tóxicas (ZAÑUDO *et al.*, 2018).

2.2.1. O ácido desoxirribonucléico (DNA)

Estruturalmente o DNA é uma dupla hélice que compreende duas cadeias complementares antiparalelas. O DNA é formado por muitos nucleotídeos, sendo três os componentes que formam o nucleotídeo: a pentose desoxirribose, o fosfato e as bases nitrogenadas. Essas que formam ligações de hidrogênio entre elas, unindo as duas fitas da cadeia, sendo a adenina complementar à timina e guanina

complementar à citosina. No DNA se encontra a informação genética do organismo de caráter hereditário. Os segmentos do DNA que contém informações para a síntese de proteínas e ácidos ribonucléicos (RNAs) são chamados de genes (TRAVERS; MUSKHELISHVILI, 2015).

Uma das formas de atividade biológica dos compostos no DNA é por intercalação. Os intercaladores orgânicos são compostos poli aromáticos que podem se inserir entre dois pares de bases adjacentes nas cadeias duplas de DNA e inibir a síntese de ácido nucléico (DNA e RNA) in vivo. Como por exemplo, estudos mostram que compostos apresentando um conjunto de anéis aromáticos carregados positivamente no sistema de anéis ou em grupos químicos ligados por cadeias laterais como derivados de acridina tem esta capacidade de intercalação (ALMEIDA *et al.*, 2017).

A estrutura molecular das drogas tem um efeito direto sobre sua atividade anticancerígena e, às vezes pequenas mudanças nessa estrutura podem diminuir ou aumentar a sua atividade biológica. Portanto, uma compreensão mais completa das interações físicas e químicas dos ligantes com o DNA, enzimas e outros receptores protéicos tornou-se essencial.

Cada vez mais estudos ligantes-receptor moleculares são feitos por método computacional, conhecido como '*Molecular docking*' ou ancoragem molecular. Esse método consiste em prever o modo de ligação experimental e a afinidade de uma pequena molécula dentro do local de ligação do alvo receptor de interesse (GUEDES *et al.*, 2014). Novas terapias estão sendo pesquisadas para atuar tanto diretamente no DNA quanto em enzimas como as DNA topoisomerases (DELGADO *et al.*, 2018).

2.2.2. DNA Topoisomerases

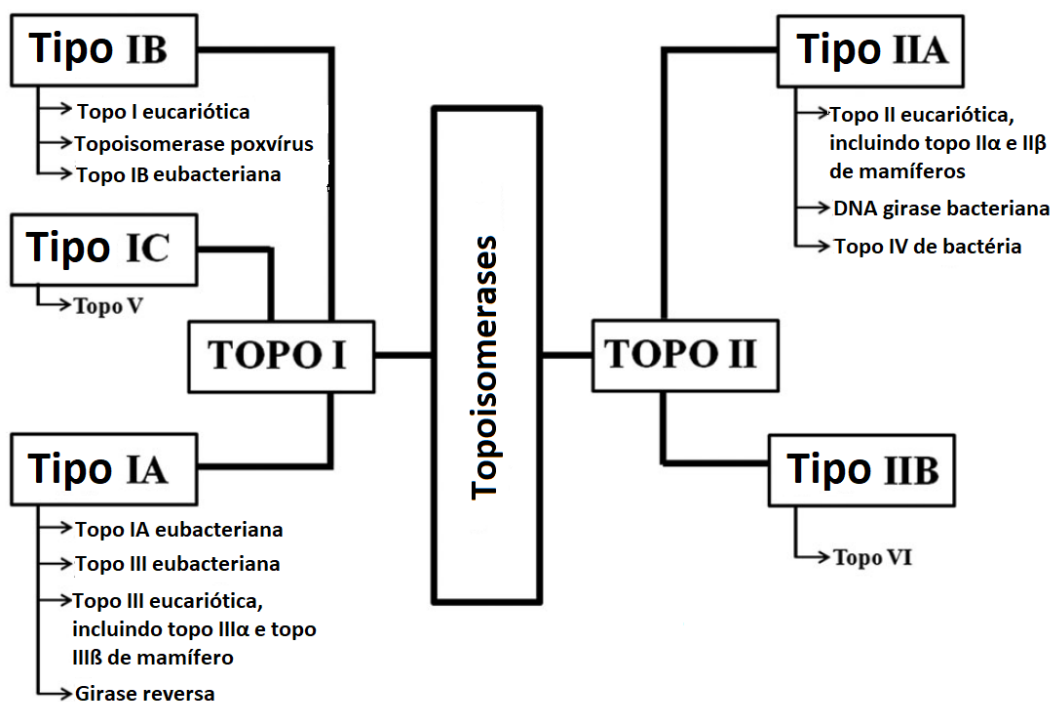
Alvos importantes das acridinas são as DNA topoisomerases, essas são enzimas essenciais que controlam a topologia do DNA durante a replicação, transcrição, recombinação e decatenação cromossômica, o que facilita a segregação cromossômica durante a mitose (JAIN *et al.*, 2017).

Para manter o DNA compactado, as topoisomerases são necessárias para evitar tensões e nós durante o processo replicativo por exemplo. Sem a ação das DNA topoisomerases, o super enrolamento positivo bloqueia rapidamente a

replicação e a transcrição, e o super enrolamento negativo favorece a formação de estruturas anormais de DNA (POMMIER *et al.*, 2010).

Devido a sua capacidade única de manter a topologia do DNA, as topoisomerasas representam alvos atraentes para drogas anticancerígenas e antibacterianas (BANSAL *et al.*, 2017). Na figura 4 é mostrado os dois tipos de topoisomerase existentes, o tipo I (dividida em IB, IC e IA) e o tipo II (IIA e IIB). Sendo a do tipo 1B e IIA presentes no homem.

Figura 4 – Tipos de DNA topoisomerase e suas subdivisões



Fonte: Adaptado de Bansal *et al.*, 2017

A principal função da topoisomerase I é relaxar o DNA super enrolado e aliviar as restrições helicoidais do DNA, esse objetivo é conseguido pela ligação desta Topo I ao DNA super enrolado seguido pela clivagem de uma das fitas do DNA criando uma fenda, assim permitindo que o DNA se desenrole e relaxe (LI; LIU, 2016).

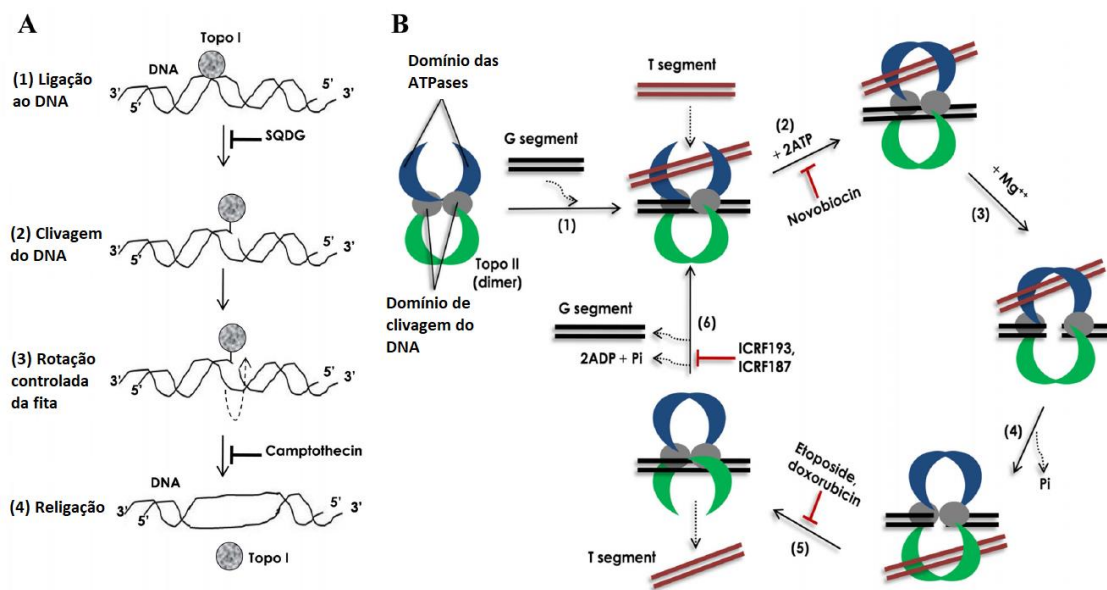
Por outro lado, a DNA topoisomerase II é uma família de enzimas dependentes de adenosina trifosfato (ATP) que catalisa mudanças topológicas no DNA através da quebra de suas duas cadeias. Embora a levedura e a *Drosophila* tenham uma única Topo II, nos vertebrados há duas isoformas de Topo II distintas,

denominadas DNA topoisomerase II α (170 kDa, Topo IIA) e II β (180 kDa, Topo IIB) (VÁVROVÁ; SIMUNEK, 2012).

A topoisomerase II bacterianas como as DNA girases, primeiro identificado em extratos de *E. coli*, introduz super enrolamentos negativos ao DNA na presença de ATP. Enquanto a Topoisomerase IV bacteriana, compartilha 40% de similaridade de sequência com a girase, mas tem um modo de ação diferente. Ambas as enzimas são fundamentais para a regulação da replicação do DNA e divisão celular. Assim, os inibidores das topoisomerases do tipo II bacterianas são de natureza bactericida e importante fonte de pesquisa (BANSAL *et al.*, 2017).

Na figura 5 é mostrado o mecanismo de ação das duas DNA topoisomerases humanas I e II.

Figura 5 – Mecanismos de ação para as enzimas humanas topoisomerases I e II



Fonte: Adaptado de Jain *et al.*, 2017.

Na parte A da figura 5 é visto o mecanismo da topoisomerase I, que apresenta as seguintes etapas: (1) ligação ao DNA: primeiro a enzima liga-se ao seu sítio de ligação preferencial no dsDNA (DNA de dupla cadeia); (2) Clivagem do DNA: a enzima então cliva uma das fitas de DNA de cadeia dupla através de um ataque nucleofílico com formação de uma ligação momentânea 3'-fosfotirosil; (3) Rotação controlada da fita: através da quebra de fita simples gerada pela enzima, a outra fita do DNA (fita não clivada) é passada de maneira controlada; (4) Religação: o filamento clivado é religado e a enzima é liberada.

Na parte B da figura 5 é mostrado o mecanismo da topoisomerase II, o que apresenta as seguintes etapas: (1) ligação ao DNA: a enzima preferencialmente liga-se a segmentos de DNA com presença de nós e super enrolamentos. O segmento de dsDNA que é clivado durante o ciclo de reação enzimática é denominado como "segmento G" ("G" para porta) e o segmento de dsDNA que é passado através do segmento G clivado é denominado como "segmento T" ("T" para transportado). A enzima liga-se primeiro ao segmento G e depois ao segmento T; (2) Ligação de ATP: Ocorre ligação de 2 moléculas de ATP nos domínios da ATPase, o que altera as conformações dos domínios de ATPase de aberto para fechado. A novobiocina por exemplo, inibe a ligação do ATP; (3) Clivagem do DNA: na presença de íons Mg^{++} , por um ataque nucleofílico a enzima cliva transitoriamente o DNA do segmento G e forma duas ligações 5'-fosfotirosil com a espinha dorsal do DNA; (4) Passagem da fita: o segmento T é então passado através do segmento G clivado; (5) Liberação e religação do segmento T: o segmento T é então liberado da enzima e o segmento G clivado é religado. A religação pode ser inibida pelas drogas etoposide e doxorrubicina; (6) Abertura do domínio da ATPase e liberação do segmento G: após a liberação do segmento T, a enzima permanece em forma de grampo fechado. A hidrólise do ATP aciona a abertura do grampo, liberando o segmento G e preparando a enzima para o próximo ciclo de reação enzimática. A atividade ATPásica da enzima é inibida pelos compostos bisdioxopiperazinas (ICRF193 e ICRF187) (JAIN *et al.*, 2017).

Durante o processo de relaxamento da fita de DNA pela Topo I, este pode ser abortado, deixando a enzima presa ao DNA. O que pode causar morte celular, mutações e danos ao DNA. Portanto a atividade da Topo I é uma faca de dois gumes que pode ter consequências positivas e negativas na integridade do genoma e no crescimento celular normal (LI; LIU, 2016).

Para facilitar o crescimento e desenvolvimento do câncer, altos níveis de atividade destas topoisomerasas é favorável, sendo presente em vários casos da doença (VÁVROVÁ; SIMUNEK, 2012). Assim, moléculas capazes de inibir sua atividade é de grande interesse para o combate ao câncer.

Os inibidores das topoisomerasas são categorizados com base em seu modo de ligação e incluem (i) inibidores que se ligam à enzima topoisomerase, e (ii)

inibidores interfaciais que se ligam ao complexo binário DNA-topoisomerase (BANSAL *et al.*, 2017).

De modo geral as drogas anticâncer da classe camptotecina, um composto natural à base de plantas derivado da árvore *Camptotheca* nativa da China, tem sido usado na medicina tradicional chinesa há milhares de anos devido à sua atividade antitumoral, sendo atuante nas topoisomerase I (LI; LIU, 2016). Ela foi descontinuada por conta da toxicidade, mas seus derivados como Topotecan e Irinotecan tem uso clínico hoje (DELGADO *et al.*, 2018).

Esses inibidores da Topo I, inibem a rotação do eixo ou a religação da reação enzimática, e depois estabilizam os complexos covalentes DNA-Topo (ALMEIDA *et al.*, 2017).

Os inibidores da Topo II ou inibidores catalíticos da Topo agem bloqueando duas etapas essenciais no ciclo catalítico enzimático: ligação ao substrato ou clivagem do complexo enzima-DNA durante a formação da ligação covalente (ALMEIDA *et al.*, 2017). Esses complexos covalentes têm efeitos deletérios sobre a fisiologia celular, como bloquear a transcrição, a replicação e a geração de quebras da cadeia de DNA, o que acabam levando à apoptose celular (BOLLIMPELLI *et al.*, 2017).

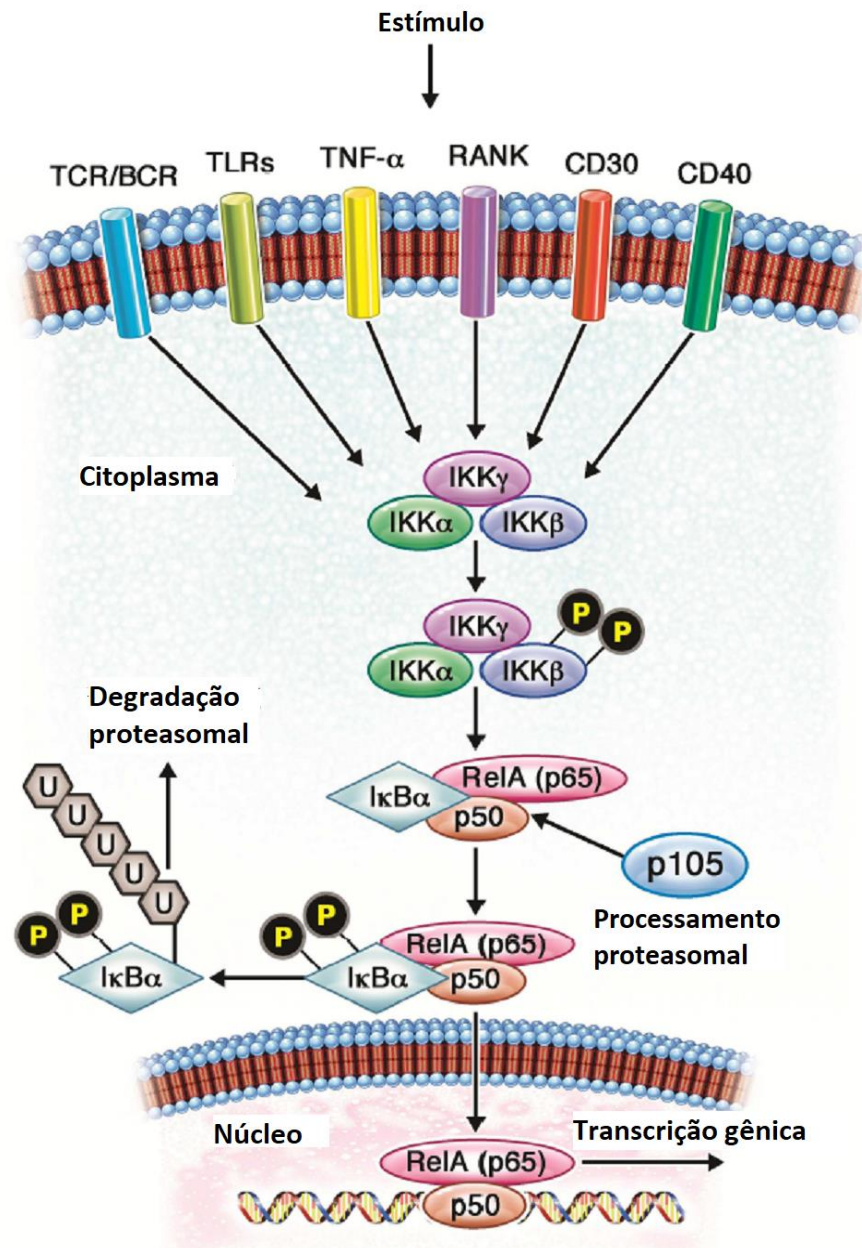
Outro modo de atuação é pela inibição da atividade da ATPase que leva ao bloqueio do *turnover* da enzima (DELGADO *et al.*, 2018). Exemplos das principais drogas já em uso clínico como inibidores de Topo II são doxorubicina e daunorubicina da classe das antraciclinas; etoposídeo e teniposídeo da classe das epipodofilotoxinas; mitoxantrona da classe da antraquinona; *m*-AMSA (amsacrina), um tipo de acridina e amonafide (ALMEIDA *et al.*, 2017; BANSAL *et al.*, 2017). Foi observado que o etoposídeo, mitoxantrona e *m*-AMSA se intercalam entre as bases de pares que cercam os locais de quebra das cadeias, o que impede a religação destas cadeias de DNA clivadas (DELGADO *et al.*, 2018).

2.2.3. Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)

Um dos alvos biológicos conhecidos e estudados com o uso de novos fármacos, como por exemplo os derivados da ftalimida, é o fator de necrose tumoral (TNF). Ele é mais conhecido por sua atividade protetora contra patógenos, sendo um produto de células T CD4 e CD8 efectoras ou células inatas, elas podem até levar a morte de células infectadas (MEHTA *et al.*, 2018).

O TNF- α atua através da ligação a dois receptores: TNF-R1 (CD120a) e TNF-R2 (CD120b). TNF-R 1 e 2 induzem uma ativação forte e rápida por sinalização intracelular do fator nuclear de kappa B (NF- κ B), das Proteína-quinases ativadas por mitógenos (MAP quinase) e caspases (MITOMA *et al.*, 2018). No entanto, TNF-R1 pode efetivamente estimular a morte celular apoptótica e necroptótica, enquanto TNF-R2 não pode (VARFOLOMEEV; VUCIC, 2018). O receptor TNF-R1 é expresso por todo o organismo, enquanto a TNF-R2 é encontrada predominante em células do sistema imune e endotelial. Portanto, o TNF-R1 tem um papel dominante nas vias de sinalização do TNF- α , enquanto o TNF-R2 pode reforçar as respostas do TNF-R1, além de sinalizar nos processos homeostáticos locais (VARFOLOMEEV; VUCIC, 2018).

O TNF- α quando estimulado pode levar a sinalização do NF- κ B dentro da célula (Figura 6), a família NF- κ B consiste em fatores de transcrição que desempenham um papel complexo e essencial na imunidade inata, inflamação, replicação viral e no início e progressão do câncer. Cinco membros foram identificados em mamíferos; p65 (RelA), RelB, c-Rel, NF- κ B1 (p105 / p50) e NF- κ B2 (p100 / p52) (TILBORGHS *et al.*, 2017).

Figura 6 – O princípio de sinalização do NF- κ B

Fonte: Adaptado de Fliegau e Grimbacher, 2018.

Na figura 6 é apresentado a conversão do precursor p105 da NF- κ B em p50 madura, essa se une com RelA (também conhecido como p65) um ativador transcrricional heteromérico. A proteína inibidora I κ B α também está associada aos dímeros p50/RelA citoplásmicos. Por estimulação da via (seja por produtos microbianos e citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF- α e IL-1), ocorre ativação do complexo trimérico de quinase I κ B (IKKs), o que conduz à fosforilação, poliubiquitinação e degradação da I κ B α . Assim, o p50/RelA é liberado de seu

inibidor, logo em seguida este complexo pode translocar-se para o núcleo e ativar seus genes-alvo (FLIEGAUF; GRIMBACHER, 2018; TILBORGHS *et al.*, 2017).

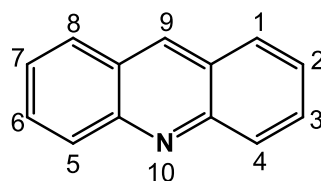
2.3. DERIVADOS ACRIDÍNICOS E SUAS FUNÇÕES BIOLÓGICAS

2.3.1. A estrutura da acridina

Segundo Kumar *et al.* (2012) quimicamente a acridina é um alcalóide do antraceno. Ela tem um odor irritante, cristaliza em forma de agulhas incolores e/ou amarelas claras, com ponto de fusão de 110 °C e ponto de ebulição de 346 °C. Na literatura, relatos demonstram que os seus derivados tem diversas atividades biológicas, como anti-inflamatória, anticancerígeno, anti-helmínticos, fungicidas, antibacterianas entre outras.

A acridina (figura 7) e os seus derivados são uma série de moléculas que se caracterizam pela presença de um sistema tricíclico planar, apresentando três anéis aromáticos, sendo uma piridina (com um nitrogênio no anel central) e outros dois anéis de benzeno fundidos de forma linear. Essa estrutura pode intercalar no DNA e/ou interagir com as Topo I / II (YUAN *et al.*, 2017; SOUIBGUI *et al.*, 2014).

Figura 7 – Acridina



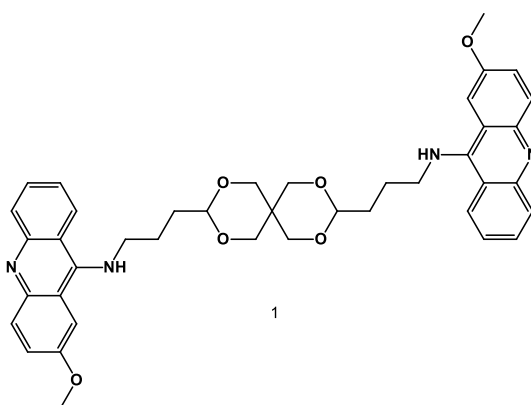
Fonte: Kumar *et al.*, 2012.

Derivados da acridina são bastante promissores para atividade anticancerígena, já que sua estrutura de anel planar fornece estabilidade a suas moléculas, melhorando assim sua interação com o DNA, além de permitir a inibição mais efetiva da atividade das DNA topoisomerases (ALMEIDA *et al.*, 2017).

Outros tipos de derivados da acridina são por exemplo as bis-acridinas (diacridinas), estas têm dois núcleos acridínicos que podem ser conectados por diferentes ligantes, como na figura 8. Enquanto as tetra-bis-acridinas (tetra-acridina) contém quatro acridinas unidas e combinadas por várias cadeias de ligantes. A estrutura e o comprimento da cadeia de ligação e/ou a presença, a natureza e a posição do(s) substituinte(s) no esqueleto da acridina irão determinar as

propriedades químicas e biológicas destas duas classes de compostos. Na literatura, é apresentado alguns derivados das acridinas possuindo diversas atividades biológicas, com destaque para o composto 1 (figura 8) que apresentou atividade anticâncer em cinco linhagens tumorais: Pulmão H-522; Ovário PA1; Mama T47D; Colon HCT-15; Fígado HepG2. Tendo atividade superior aos compostos de referência nas quatro primeiras linhagens citadas (SONDHI *et al.*, 2013; NOWAK, 2017).

Figura 8 – Composto 1: (2-metoxi-acridin-9-il)-[3-(9-{3-[(2-metoxi-acridin-9-ilamino)]-propil]-2,4,8,10-tetraoxa-espiro[5,5]undec-3-il)-propil]-amina

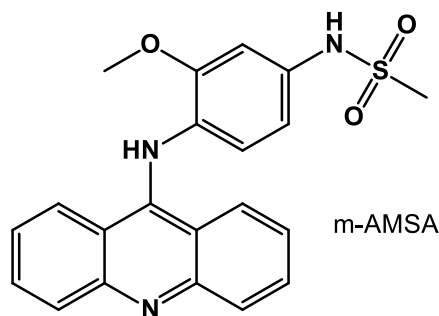


Fonte: Adaptado de Sondhi *et al.*, 2013.

2.3.2. Amsacrina (m-AMSA)

Amsacrina ou *N*-[4-(acridin-9-ilamino)-3-metoxifenil]-metanossulfonamida (*m*-AMSA) (Figura 9), é um composto inibidor da Topo II, em que a cadeia lateral anilina interage com a enzima (KUMAR *et al.*, 2017). É o único agente anticancerígeno de aminoacridina a passar por desenvolvimento clínico completo. Esta *m*-AMSA é ativa no tratamento de leucemias agudas e linfomas, mas é ineficaz para tumores sólidos (ALMEIDA *et al.*, 2016). Ela foi o primeiro medicamento sintético aprovado para uso clínico em 1976 para o tratamento da leucemia (KUMAR *et al.*, 2017).

Figura 9 – Composto *N*-[4-(acridin-9-ilamino)-3-metoxifenil]-metanossulfonamida (*m*-AMSA)



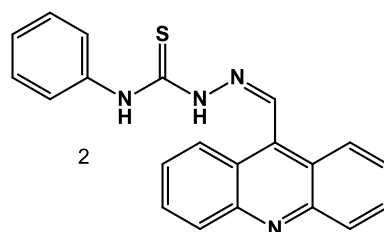
Fonte: Adaptado de Kumar *et al.*, 2017

No entanto, a amsacrina causa um alto risco de cardio-toxicidade em pacientes, bem como náuseas, vômitos e diarreia são efeitos colaterais comuns. Além disso, a *m*-AMSA tem meia-vida curta, de cerca de 20 a 30 minutos, o que limita sua aplicação clínica (FANG *et al.*, 2016). Atualmente vários derivados de *m*-AMSA foram desenvolvidos e estão sendo estudados com o objetivo de apresentar melhor atividade biológica e menos efeitos colaterais (GAO *et al.*, 2015).

2.3.3. Atividades biológicas dos derivados da acridina

Segundo Almeida *et al.* (2015) considerando os valores de LC₅₀ (representa a concentração de droga necessária para matar 50% do número inicial de células), o composto 2 (figura 10) foi letal para as linhagens tumorais de pulmão (NCI-H460), mama (MCF-7), glioma (U251), ovário (NCI-ADR/RES), cólon (HT-29) e próstata (PC-3). O padrão foi semelhante ao controle positivo *m*-AMSA. Os resultados indicam que a junção do anel de acridina e da porção tiossemicarbazida produziu novos derivados de acridina-tiossemicarbazona com promissora ligação ao DNA.

Figura 10 – Composto 2: Carbotioamida-2-(acridin-9-ilmetileno)-*N*-fenil-hidrazina

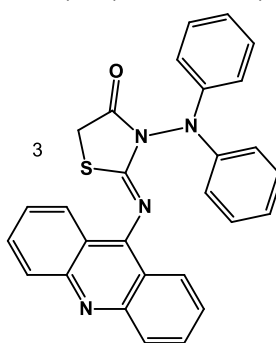


Fonte: Adaptado de Almeida *et al.*, 2015

Um novo derivado sintetizado (3) com presença tanto da tiazolidina quanto da acridina foi estudado e inibiu tanto a topo I quanto a topo II. Já os testes sobre o potencial de membrana mitocondrial (MMP) mostrou que o composto 3 (figura 11)

teve forte efeito sobre a fisiologia mitocondrial em células de leucemia promielocítica humana (HL-60). Estas disfunções mitocondriais têm mostrado desempenhar um papel importante na indução do apoptose e consequente morte das células tumorais (SALEM *et al.*, 2016).

Figura 11 – Composto 3: 2-(acridin-9-illimino)-3-(difenilamino)tiazolidin-4-ona

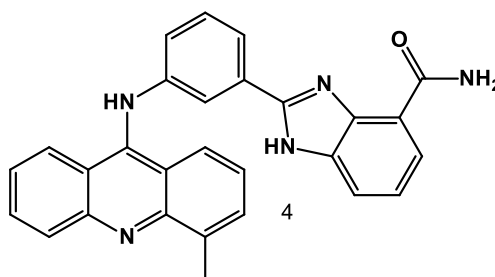


Fonte: Salem *et al.*, 2016

Janocková *et al.* (2015) sintetizaram novos derivados acridínicos que foram muito eficazes contra a linhagem tumoral (HL-60), eles atuaram através da alteração da fisiologia mitocondrial, diminuição no metabolismo celular e perdas de viabilidade celular. Todas observadas a uma concentração de apenas 5 μM . Os compostos também inibiram as enzimas topoisomerases I e II (JANOČKOVÁ *et al.*, 2015).

Mais um derivado acridínico promissor, o 4 (Figura 12), mostrou atividade inibitória em Topo I e II, MCF-7 (linhagem celular de adenocarcinoma da mama) e também na PARP-1 [poli (ADP-ribose) polimerase-1]. Sendo mais citotóxica que as drogas de referência olaparib e *m*-AMSA. Possuindo também, atividade inibitória comparável a camptotecina para Topo I e etoposide para Topo II (YUAN *et al.*, 2017).

Figura 12 – Composto 4: 2-(3-((4-metilacridin-9-il)amino)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-4-carboxamida

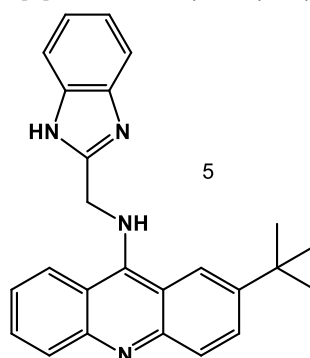


Fonte: Adaptado de Yuan *et al.*, 2017.

O PARP-1 é um sensível sensor de danos ao DNA, desempenhando funções críticas durante o reparo de danos no DNA. A superexpressão de PARP-1 e outras várias proteínas de reparo de dano ao DNA podem contribuir para o reparo de lesões do DNA induzidas por inibidores da Topo I/II, e assim, ajudar as células tumorais a desenvolverem resistência aos fármacos que atuam nas enzimas Topo I / II. Portanto, os compostos que inibem simultaneamente PARP-1 e enzimas topoisomerasas podem ser agentes antitumorais eficazes (YUAN *et al.*, 2017).

Outro exemplo de derivados com boa atividade, são os derivados com a presença da estrutura benzimidazol (formado pela junção do benzeno e do imidazol), que podem ligar-se ao sulco menor do DNA. Gao *et al.* acreditam que a combinação do anel de acridina com o anel de benzimidazol por um ligante apropriado pode aumentar a afinidade de ligação do fármaco ao DNA e assim, aumentar a atividade antitumoral. Por exemplo, o Composto 5 (figura 13) com a presença da butila na posição C2 do anel acridínico apresentou a melhor atividade contra as linhagens de Leucemia mielóide crônica (K562) e carcinoma hepatocelular (HepG-2). A maioria dos compostos apresentou atividade inibitória da enzima topo I em concentrações de 50 μ M, e induziram apoptose na linhagem K562 (GAO *et al.*, 2015).

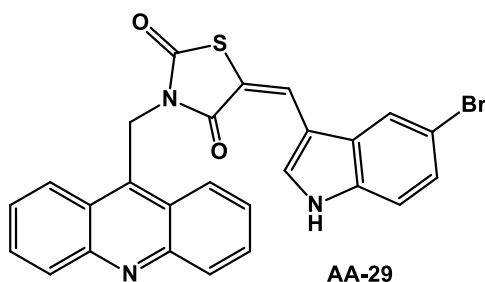
Figura 13 – Composto 5: *N*-((1H-benzo[d]imidazol-2-il)metil)-2-(terc-butil)acridina-9-amina



Fonte: Adaptado de Gao *et al.*, 2015

Derivados tiazacridínicos (hibridização molecular para unir os núcleos das moléculas de acridina e TZD) continuam sendo feitos na UFPE, com alguns deles foram obtidos resultados promissores para o tratamento do câncer (CHAGAS *et al.*, 2017). A tiazacridina LPSF/AA-29 (figura 14), teve melhor índice de seletividade (IS) e indução da apoptose celular que a amsacrina em 4 linhagens celulares neoplásicas (Jurkart, Raji, T47D e NG97) (CHAGAS *et al.*, 2017).

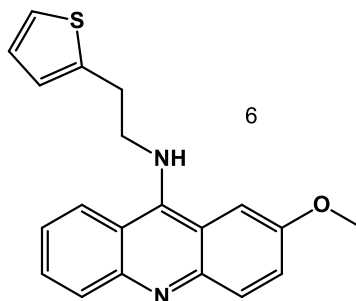
Figura 14 – Composto LPSF/AA-29: 3-Acridin-9-ilmetil-5-(5-bromo-1H-indol-3-il-metileno)tiazolidina-2,4-diona



Fonte: Adaptado de Chagas *et al.*, 2017.

Novos derivados acridínicos promissores com atividade anti-inflamatória e anticâncer foram obtidos por Sondhi *et al.* (2010) a combinação mais bem sucedida com atividade anti-inflamatória foi a presença do grupamento $-OCH_3$ na posição 2 da acridina, e a presença do grupo 2-etiltiofeno em $-NH-$ na posição 9 da acridina (composto 6), esse composto (figura 15) mostrou 41,17% de atividade anti-inflamatória, sendo melhor do que o ibuprofeno (fármaco padrão) mais comumente usado, esse que apresentou atividade de 39% (SONDHI *et al.*, 2010).

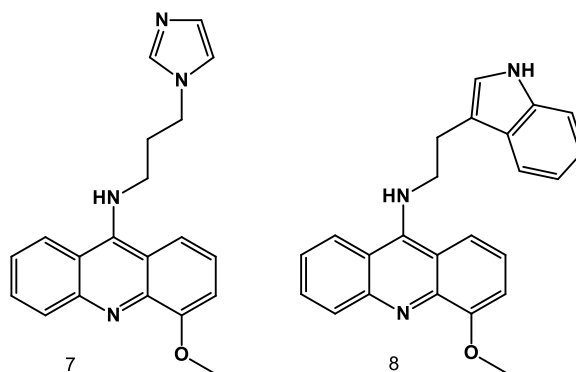
Figura 15 – Composto 6: 2-Metoxi-*N*-(2-(tiofen-2-il)etil)acridina-9-amina



Fonte: Adaptado de Sondhi *et al.*, 2010.

Por fim, as combinações mais bem-sucedidas para atividade anti-tumoral foram as moléculas com a presença do grupo $-OCH_3$ na posição 4 da acridina. Esses compostos têm também os grupos 1-propil-1H-imidazol no $-NH-$ na posição 9 da acridina (composto 7), e 3-etil-1H-indol no $-NH-$ na posição 9 da acridina (composto 8), figura 16, eles exibiram atividade citotóxica promissora contra sete linhagens celulares de câncer humano (SONDHI *et al.*, 2010).

Figura 16 – Compostos 7: *N*-(3-(1H-imidazol-1-il)propil)-4-metoxiacridina-9-amina e 8: *N*-(2-(1H-indol-3-il)etil)-4-metoxiacridina-9-amina

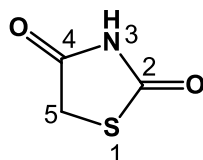


Fonte: Adaptado de Sondhi *et al.*, 2010.

2.4. TIAZOLIDINAS

As tiazolidinas são constituídas de um anel de cinco membros, sendo três carbonos, um enxofre e um nitrogênio. Enquanto as tiazolidinas-2,4-diona (TZDs) tem também dois grupos carbonila nas posições dois e quatro (Figura 17).

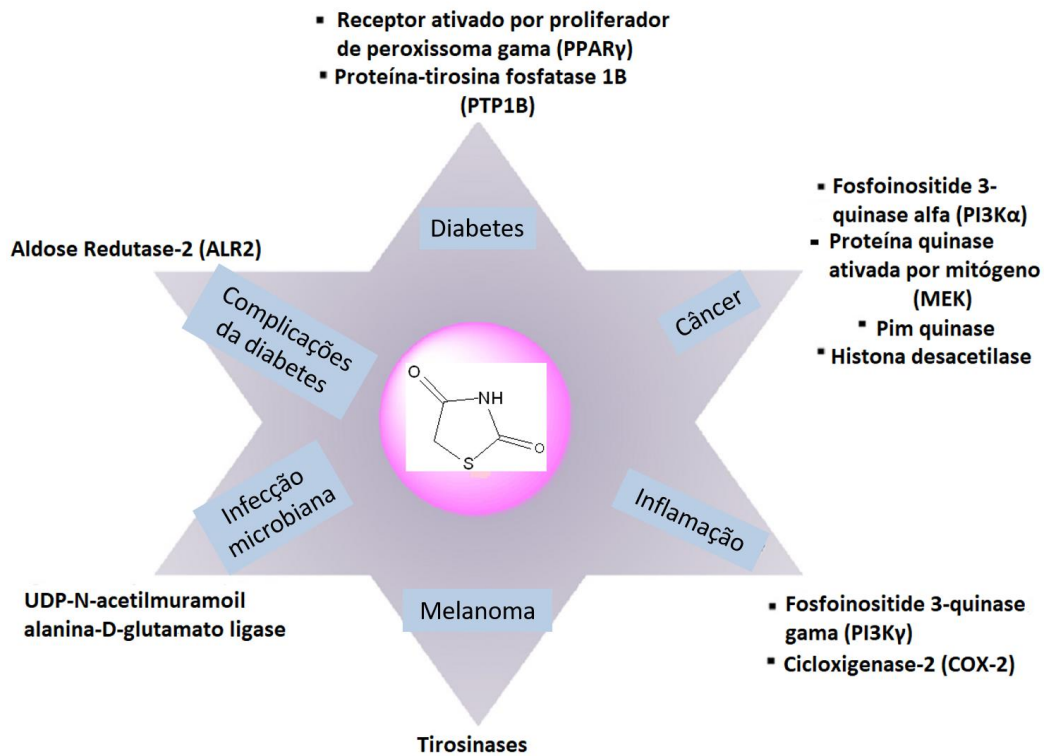
Figura 17 – Tiazolidina-2,4-diona



Fonte: Autor, 2018.

Muitos derivados da TZD possuem substituições nas posições 3 e 5, porções livres -NH e -CH₂ do núcleo da TZD, nelas em que muitas substituições acontecem. Essas regiões são exploradas para desenvolver uma ampla variedade de derivados de TZD, na figura 18 são demonstrados alguns alvos biológicos da TZD que estão em estudo (CHADHA *et al.*, 2015).

Figura 18 – Alvos biológicos da tiazolidina-2,4-diona



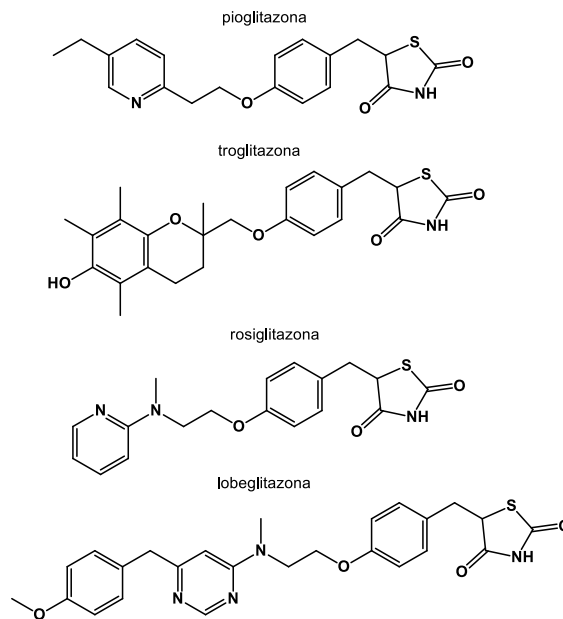
Fonte: Adaptado de Chadha *et al.*, 2015.

2.4.1. Funções biológicas dos derivados da Tiazolidina

2.4.1.1. Atividade Hipoglicêmica

A mais conhecida função das TZDs e seus derivados são sua ação anti-hiperglicêmica, são as chamadas drogas 'glitazonas', tais como: rosiglitazona, pioglitazona, lobeglitazona e troglitazona (figura 19) (CHADHA *et al.*, 2015).

Figura 19 – Glitazonas com ação anti-hiperglicêmica



Fonte: Adaptado de Chadha *et al.*, 2015.

A troglitazona foi aprovada em 1997 pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA. Logo após em 1999, dois outros derivados da TZD também foram aprovados, a rosiglitazona e pioglitazona. Posteriormente em 2010, troglitazona (Rezulin®) foi retirada do mercado devido a toxicidade hepática. Mais recentemente em 2013, a lobeglitazona foi aprovada para uso na Coreia do sul (CHADHA *et al.*, 2015). Já a rosiglitazona foi associada a um aumento significativo de infarto do miocárdio e morte por doenças cardiovasculares, assim a Agência Europeia de Medicamentos retirou a aprovação para este medicamento em 2010 e a FDA restringiu sua prescrição nos Estados Unidos (ALEMÁN-GONZÁLEZ-DUHART *et al.*, 2017).

As tiazolidinadionas (TZDs) são utilizadas para o tratamento da Diabetes, principalmente do tipo 2, com objetivo de diminuir a hiperglicemia, melhorando a secreção de insulina ou reduzindo a resistência à insulina nos tecidos periféricos (ALEMÁN-GONZÁLEZ-DUHART *et al.*, 2017). Outro tratamento disponível é através da enzima aldose redutase. Os inibidores da aldose redutase acabam por prevenir ou retardar o início e o avanço de complicações diabéticas a longo prazo, independente dos níveis glicêmicos. Sendo o Epalrestat o único inibidor da aldose redutase comercializado, ele tem presente o anel tiazolidínico, só que em umas das carbonilas o oxigênio foi substituído por enxofre (NAIM *et al.*, 2017).

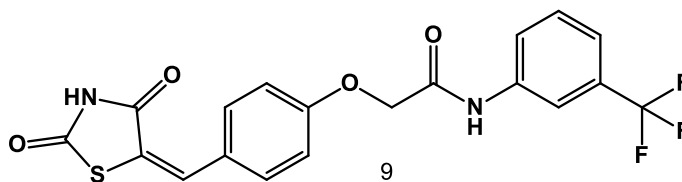
Essas glitazonas atuam através da ativação de PPARs (receptor ativado por proliferador de peroxissoma); são um grupo de receptores nucleares com maior especificidade para PPAR γ (PPAR α , PPAR β & PPAR γ são subtipos de PPAR), ele regula os genes que controlam a homeostase da glicose e o metabolismo lipídico (aumentando a sensibilidade à insulina e promovendo a diferenciação de lipócitos) (NAIM *et al.*, 2017). Esse PPAR γ é expresso principalmente nos tecidos adiposos e em níveis menores no coração, cólon, rim, baço, intestino e musculo esquelético. Assim, algumas TZDs induzem a um aumento na captação de glicose, através do aumento de sensibilidade à insulina de adipócitos, músculos, macrófagos. Bem como, ajuda na inibição da gliconeogênese no fígado, resultando na diminuição dos níveis de glicose no sangue (YASMIN; JAYAPRAKASH, 2017).

Devido a a efeitos desfavoráveis, a aplicação clínica de TZDs tem sido limitada, especialmente para pacientes diabéticos que sofrem de cardiomiopatia (ALEMÁN-GONZÁLEZ-DUHART *et al.*, 2017). Assim, o desenvolvimento de moduladores ou ativadores seletivos do PPAR γ que sejam específicos dos adipócitos devem levar a eficácia do medicamento e, ao mesmo tempo, reduzir os efeitos colaterais (SUGII; EVANS, 2011).

2.4.1.2. Atividade anti-tumoral das TZDs

O anel da TZD continua sendo usado como suporte para desenvolver novas classes de agentes anticancerígenos, sendo encorajado pela literatura que relata que a toxicidade da troglitazona não é devida ao anel tiazolidínico. O composto 9 foi capaz de atuar e inibir a atividade em cinco das sete linhagens celulares tumorais testadas, especialmente na linhagem K562, o qual apresentou melhor atividade que a doxorubicina (Figura 20) (PATIL *et al.*, 2010).

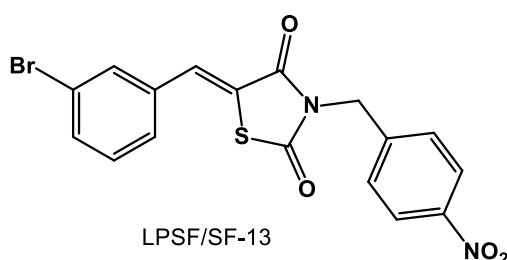
Figura 20 – Derivado da tiazolidina-2,4-diona com atividade antitumoral (composto 9)



Fonte: Adaptado de Patil *et al.*, 2010

Segundo Rêgo *et al.* (2014) o composto dissustituído derivado da TZD, o LPSF/SF-13 (figura 21), com a presença do grupo bromo no anel benzílico, contribuiu para a citotoxicidade nas células cancerígenas de quatro linhagens tumorais (HepG2, NG97, Jukart e Raji).

Figura 21 – Derivado da tiazolidina-2,4-diona com atividade antitumoral (LPSF/SF-13)

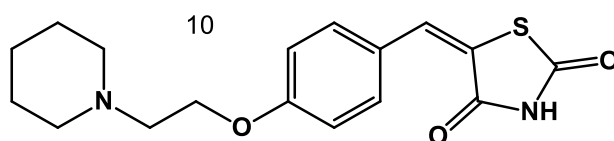


Fonte: Adaptado de Rêgo *et al.*, 2014

Pesquisas mostram que os indivíduos resistentes à insulina são mais propensos a desenvolver diferentes tipos de câncer, e nesses indivíduos, a hiperinsulinemia é uma condição freqüentemente observada. Portanto, níveis mais altos de insulina podem ativar os receptores do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), dessa forma a inibição destes IGF-1 pelas TZDs pode explicar em parte, os efeitos anticancerígenos observados das TZDs (Mughal *et al.*, 2015).

Por fim, Laxmi *et al.* (2016) testaram derivados da TZD em 60 linhagens de células cancerígenas, sendo o composto 10 (figura 22) o que inibiu o crescimento celular mais significativamente, principalmente em nove linhagens tumorais (leucemia SR; câncer de pulmão NCI-H522; câncer de colon COLO 205; câncer do SNC SF-539; melanoma SK-MEL-2; câncer de ovário OVCAR-3; câncer renal RXF 393; câncer de próstata PC-3; e câncer de mama MDA-MB-468). Demonstrando que derivados da TZD podem ser bons candidatos ao tratamento anti-câncer.

Figura 22 – Composto 10: 5-(4-(2-(piperidin-1-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona

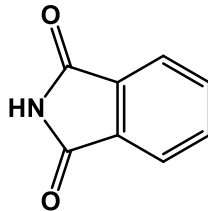


Fonte: Adaptado de Laxmi *et al.*, 2016.

2.5. DERIVADOS FTALIMÍDICOS

O núcleo químico das ftalimidas (-CO-N (R) -CO-) mostra que elas são hidrofóbicas e isso aumenta seu potencial de atravessar membranas biológicas *in vivo* (LAMIE *et al.*, 2015) como pode ser visto na figura 23.

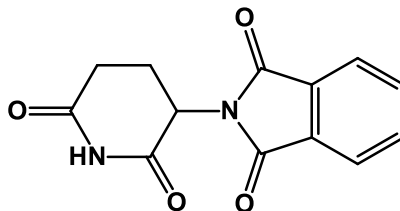
Figura 23 – Ftalimida



Fonte: Autor, 2018.

A talidomida (Thalomid™, Celgene Corp) é um derivado sintético do ácido ftalimido glutâmico contendo dois anéis de imida: a glutarimida e a ftalimida (figura 24), ela é o derivado ftalimídico mais antigo e conhecido.

Figura 24 – Talidomida



Fonte: Autor, 2018.

Ela foi desenvolvida como um agente hipnótico sedativo para tratar vômitos na gravidez. Apesar de seus resultados clínicos iniciais bem-sucedidos, o uso foi interrompido por causa de suas propriedades teratogênicas, pois este composto causou malformações graves nos filhos de mulheres que tomaram a droga durante a gravidez (BRAÑA *et al.*, 2009; EL-AARAG *et al.*, 2014). Mas a *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA aprovou a talidomida em 1998 para o eritema nodoso leproso e em 2006 para o mieloma múltiplo (YANG *et al.*, 2015).

A talidomida é classificada como uma droga imunomoduladora que inibe a produção do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e também pode afetar a produção de interleucina-1b (IL-1b), IL-2, IL-4, IL- 5, IL-6, IL-10 e interferon- γ (IFN- γ) (COSTA

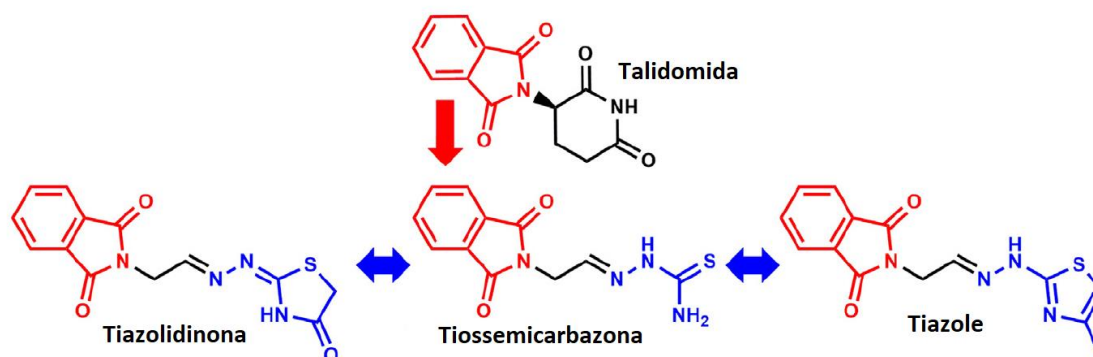
et al., 2015; SANO *et al.*, 2005). Pensa-se que o modo molecular de ação da talidomida na expressão de TNF- α envolve a via de sinalização de NF κ B inflamatória, inibindo especificamente a atividade da quinase I κ B, IKK α (CARDOSO *et al.*, 2015).

2.5.1. Funções biológicas dos derivados ftalimídicos

Vários derivados da ftalimida estudados atuam a nível molecular na expressão da TNF- α . Ela está envolvida na patogênese de uma série de processos fisiológicos que controlam a inflamação, as respostas antitumorais e a homeostase do sistema imunológico (MEHTA *et al.*, 2018).

Na figura 25 pode ser visto alguns derivados da ftalimida possíveis de serem feitos por modificação molecular e bioisosterismo (CARDOSO *et al.*, 2015). Bioisósteros são subunidades estruturais que apresentam propriedades físico-químicas parecidas, inclusive biológicas (LIMA; BARREIRO, 2005).

Figura 25 – Relação bioisostérica entre a talidomida e as tiossemicarbazonas, tiazolidinonas e tiazoles

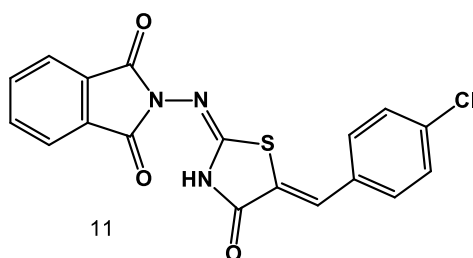


Fonte: Adaptado de Cardoso *et al.*, 2015

Assim, pequenas mudanças estruturais podem ser feitas para tentar obter compostos mais ativos, puros e eficientes biologicamente.

Em ensaios realizados para inibição do TNF- α , os derivados da tiazolidinona com ftalimida, como o composto 11 (figura 26), mostrou boa atividade. Este derivado foi o mais promissor, pois apresentou resultados comparáveis a da doxorrubicina, inclusive contra três linhagens de células tumorais: MDA/MB-435 (melanoma), HCT-8 (colón) e SF-295 (sistema nervoso) (CARDOSO *et al.*, 2015).

Figura 26 – Composto 11: 2-((5-(4-clorobenzilideno)-4-oxotiazolidin-2-ilideno)-amino) isoindolina-1,3-diona

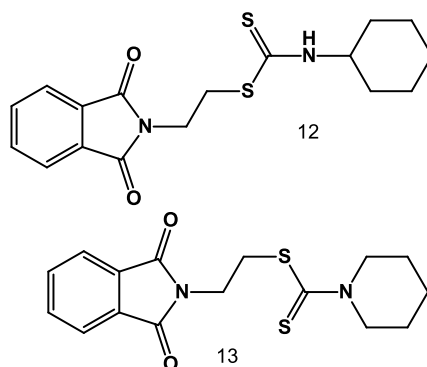


Fonte: Adaptado de Cardoso *et al.*, 2015.

Sendo assim, estudos de acoplamento *in silico* foram feitos com os novos derivados, os quais mostraram que as moléculas com maior afinidade *in silico* para o alvo de IKK β são também as mais citotóxicas nas linhagens celulares tumorais (CARDOSO *et al.*, 2015).

Novos derivados do núcleo ftalimídico foram feitos por Zahran *et al.* (2017) em que eles utilizaram ditiocarbamatos ligados por metileno ou etileno. Os dois compostos com melhor atividade 12 e 13 (figura 27) foram sintetizados em apenas duas etapas sem a necessidade de um tratamento trabalhoso para purificação. Esses dois compostos apresentaram boa atividade antitumoral em três linhagens tumorais testadas (MCF-7, HepG2 e A549), inclusive atividade melhor ou equivalente a da talidomida, utilizada como referência. Assim, novos compostos podem ser sintetizados modificando a ligação (seja o comprimento ou funcionalidade) entre estes dois grupos, o ftalimídico e o ditiocarbamato (ZAHARAN *et al.*, 2017).

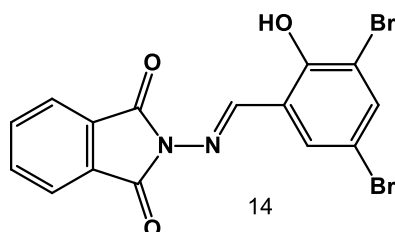
Figura 27 – Compostos 12: 2-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)etil-ciclo-hexil carbamoditioato e 13: 2-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)etil-piperidina-1-carboditioato



Fonte: Adaptado de Zahran *et al.*, 2017.

Por fim, Ahmed *et al.* (2016) sintetizaram uma série de compostos de derivados do anel da ftalimida (isoindolina-1,3-diona) com a introdução de um diferente grupo farmacóforo, as bases Schiff de substituintes aromáticos (um tipo de sub-classe das iminas). Dos compostos sintetizados, o 14 (figura 28) apresentou boa atividade inibitória antimicrobiana e antitumoral (linhagens HCT-116 e MCF-7). Esse composto inibiu principalmente as bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, sua principal diferença para outros derivados foi ele possuir um maior logP, portanto maior lipofilicidade, como visto na figura 28 ele apresenta um anel aromático com dois bromos ligados, além de uma hidroxila (AHMED *et al.*, 2016).

Figura 28 – Composto 14: 2-((3,5-dibromo-2-hidroxibenzilideno)amino)isoindolina-1,3-diona



Fonte: Adaptado de Ahmed *et al.*, 2016.

Assim, existe na literatura vários derivados da ftalimida com resultados promissores para o tratamento de diversas enfermidades que atingem o homem, abrindo novas possibilidades para o desenvolvimento de novos fármacos capazes de trazer conforto e longevidade.

2.6. TÉCNICAS UTILIZADAS PARA A IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

2.6.1. Ressonância magnética nuclear (RMN)

A ressonância magnética nuclear (RMN) ocorre quando núcleos alinhados com um campo magnético aplicado absorvem energia e mudam a orientação do *spin* em relação ao campo (Pavia *et al.*, 2013). Um núcleo de hidrogênio pode ter *spin* no sentido horário (+ $\frac{1}{2}$) ou anti-horário (- $\frac{1}{2}$). Sendo que o *spin* + $\frac{1}{2}$ alinhado com campo possui menor energia, enquanto o estado de *spin* - $\frac{1}{2}$ oposto ao campo aplicado tem maior energia (PAVIA *et al.*, 2013).

Nem todos os prótons de uma molécula tem ressonância magnética exatamente na mesma frequência. Isto ocorre porque estes prótons são rodeados

por elétrons que os blindam. Assim os prótons estão em ambientes eletrônicos (magnéticos) levemente diferentes em relação aos outros. O que resulta em frequência de ressonância levemente diferente (PAVIA *et al.*, 2013).

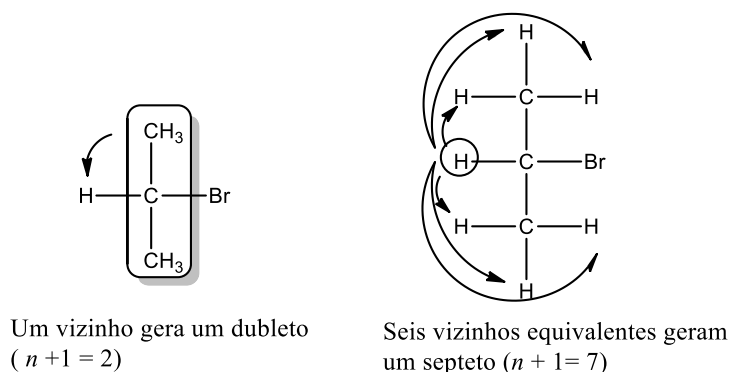
Como é difícil medir as frequências com precisão, é utilizado um composto de referência. Este é colocado na solução da substância a ser medida. Assim é medida diretamente a diferença de frequência. A substância de referência usada universalmente é o tetrametilsilano (TMS). Ele foi escolhido por ter seus prótons mais blindados que a maioria de outros compostos conhecidos. O pico do TMS fica na extrema direita do espectro, correspondendo a 0 ppm. Assim os prótons mais blindados aparecem à direita do espectro e os menos blindados à esquerda (PAVIA *et al.*, 2013).

Assim, o deslocamento químico δ expressa quanto a ressonância de um próton é deslocada em relação ao TMS, dado em partes por milhão (ppm). Esse deslocamento químico é calculado dividindo o deslocamento em Hz de um próton pela frequência em megahertz do espectrômetro utilizado (PAVIA *et al.*, 2013).

A importância do espectro de RMN é informar os picos dos tipos de prótons quimicamente distintos na molécula. Já os prótons de hidrogênio equivalentes por simetria como o benzeno, tem ressonância em um único valor de deslocamento δ . O que gera um único pico de absorção.

Os picos dos sinais do espectro podem ser designados de s - simpleto, quando é visualizado 1 pico para o(s) hidrogênio(s) de cada carbono da molécula analisada; d - duplete, quando é visualizado 2 picos para o(s) hidrogênio(s) de cada carbono da molécula analisada; t - tripleto, quando é visualizado 3 picos para o(s) hidrogênio(s) de cada carbono da molécula analisada; m - multiplete, quando é visualizado vários picos para o(s) hidrogênio(s) de cada carbono da molécula analisada. Esses picos podem ser explicados por um fenômeno chamado de separação spin-spin, em que se aplica a regra conhecida como $n + 1$. Nele cada próton do composto "sente" o número de prótons equivalentes (n), no(s) átomo(s) de carbono vizinho(s). Sendo assim, seu pico de ressonância dividido em $(n + 1)$ componentes (PAVIA *et al.*, 2013). Exemplo: o composto 2-bromopropano apresentará dois picos, um dublete e um septeto, como pode ser visto na figura 29.

Figura 29 – Separação spin-spin



Fonte: Adaptado de Pavia *et al.*, 2013.

2.6.2. Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)

Os espectrômetros mais modernos utilizam uma operação matemática chamada de transformada de Fourier (FT). Este processo é realizado pelo computador que extrai as frequências individuais que foram absorvidas da amostra, e assim, reconstrói e desenha o gráfico (PAVIA *et al.*, 2013).

O infravermelho (IV) está presente na faixa de comprimento de onda entre 2,5 μm – 25 μm . Sendo a preferência na hora de produzir o espectro os números de onda (ν) como unidade, pois é diretamente proporcional a energia, e quanto maior o número de onda maior a energia. Os números de onda (ν) variam entre 4000 a 400 cm^{-1} (PAVIA *et al.*, 2013).

A principal função do IV é fornecer a informação estrutural de uma molécula, pois cada tipo de ligação costuma aparecer em pequenas regiões específicas do IV. Sendo o estiramento e dobramento, os tipos de movimento vibracional em uma molécula que são absorvidos no IV. Desses, os movimentos de dobramento ocorrem em energias mais baixas (PAVIA *et al.*, 2013).



Para entender o espectro de infravermelho (IV), o ideal é consultar tabelas ou quadros de correlação, pois elas contêm os vários grupos funcionais e em que frequência de absorção costumam aparecer no espectro. Como por exemplo o

quadro 1, que apresenta os valores-base de absorção dos grupos funcionais mais comuns (PAVIA *et al.*, 2013).

Quadro 1 – Valores-base para as absorções de alguns grupos funcionais

Classe dos grupos funcionais	Frequência (cm ⁻¹)	Classe dos grupos funcionais	Frequência (cm ⁻¹)
O—H	3400	C≡C	2150
N—H	3400	C=O	1715
C—H	3000	C=C	1650
C≡N	2250	C—O	1100

Fonte: Adaptado de Pavia *et al.*, 2013.

2.6.3. Espectrometria de massas (Maldi-Tof)

É uma técnica de ionização por dessorção. Nela a amostra é dissolvida e dispersa em uma matriz e colocada para ser atingidas por fótons de alta intensidade (Lasers). O Maldi usa um analisador de massa por tempo de voo (ToF), nele os íons são separados de acordo com suas razões massa/carga (m/z) em campos elétricos e magnéticos. Ou mede suas velocidades após aceleração em campos elétricos (KAFKA *et al.*, 2011).

A ideia é que dois íons criados no mesmo instante e mesma energia cinética terão velocidades diferentes de acordo com a massa deles. Sendo o íon mais leve o mais rápido (PAVIA *et al.*, 2013). A velocidade das moléculas é medida pelo tempo que elas viajam da fonte, passam através do tubo de alto vácuo até chegar no detector (KAFKA *et al.*, 2011).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS, REAGENTES E SOLVENTES

✓ Reagentes e solventes utilizados foram das marcas: Sigma/Aldrich, Merck, Vetec e TCI. Foram utilizados os seguintes reagentes e solventes: ácido monocloroacético, água destilada, álcool etílico, metanol, acetonitrila, cianoacetato de etila, hidróxido de sódio, morfina, acetato de amônio, ácido acético glacial, tolueno, tiouréia, hidróxido de sódio, N-(clorometil)ftalimida; 9-bromo-metil-acridina; 3-bromobenzaldeído; 4-acetamidobenzaldeído; 2,3-Di-hidrobenzofuran-5-carboxaldeído; 4-(difenilamino)benzaldeído; 4-(1H-imidazol-1-il)benzaldeído; 4-[(2-cianoetil)metilamino]benzaldeído; 3-fenil-1H-pirazol-4-carboxaldeído; 2-cloro-6-metoxi-3-quinolinacarboxaldeído; Indol-5-carboxaldeído; 5-(4-formilfenil)pirimidina.

Para cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas Merck silicagel 60 F₂₅₄ de 0,25 mm de espessura.

3.2. EQUIPAMENTOS

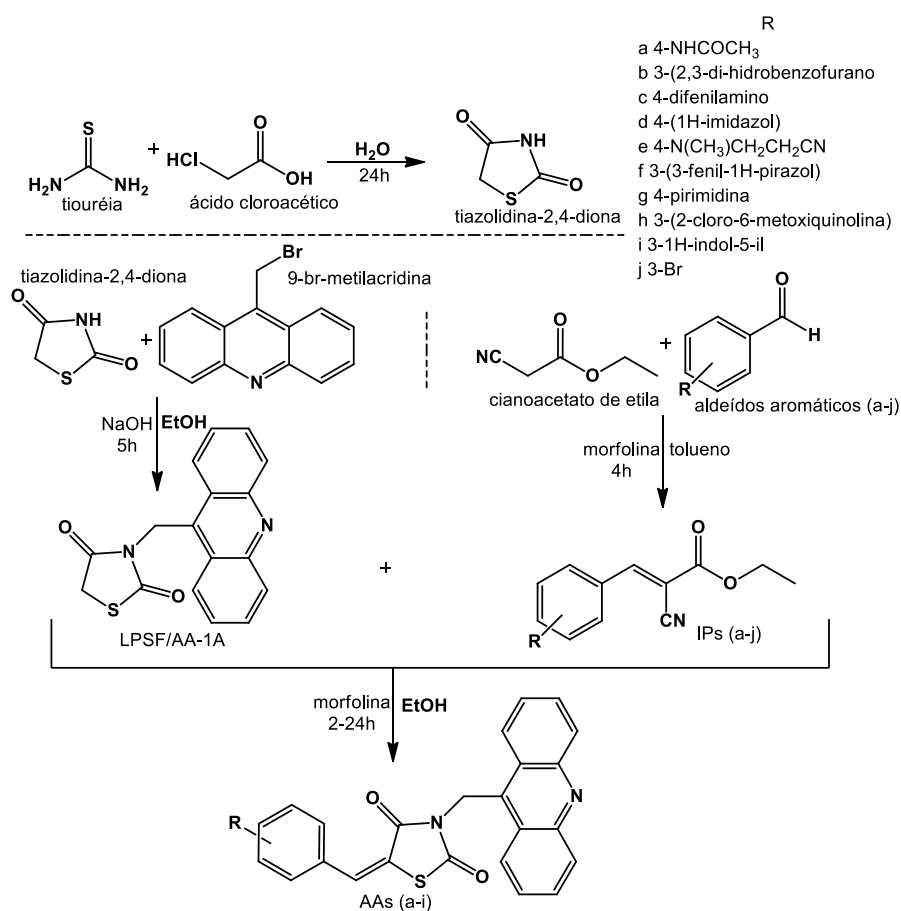
✓ Espectro de massa (Maldi-Tof): Bruker Daltonics, modelo autoflex III smart beam, encontrado no CETENE; HPLC (Shimadzu corp.), modelo LC-20AD do NUPIT-SG; Infravermelho (IR-Prestige-21, Shimadzu), modelo 01801 do NUPIT-SG, com utilização de pastilhas de Brometo de potássio (KBr); Ultravioleta (Baitton instruments, modelo Boit- LUB01) do NUPIT-SG; Ponto de fusão (Buchi, melting point M-565) do NUPIT-SG; Ressonância magnética nuclear de hidrogênio ¹H e ¹³C modelo Varian 300 MHz do Departamento de química fundamental, os picos dos sinais do espectro de RMN foram designados de s - simpleto, quando é visualizado 1 pico para o(s) hidrogênio(s) de cada carbono da molécula analisada; d - duplete, quando é visualizado 2 picos para o(s) hidrogênio(s) de cada carbono da molécula analisada; t - tripleto, quando é visualizado 3 picos para o(s) hidrogênio(s) de cada carbono da molécula analisada; m - multiplete, quando é visualizado vários picos para o(s) hidrogênio(s) de cada carbono da molécula analisada.

3.3. METODOLOGIA SINTÉTICA

3.3.1. Rota Geral de Síntese dos derivados tiazacridínicos

A produção dos derivados tiazacridínicos foi realizada em quatro etapas. A primeira foi a síntese da tiazolidina-2,4-diona. Após isso na segunda etapa, ela foi *N*-alquilada na posição 3, em uma reação com a presença de 9-bromo-metilacridina em temperatura de 65 °C, originando o intermediário 3-acridin-9-il-metil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/ AA-1A). Na terceira etapa, houve formação dos LPSF IPs (ésteres cianoacetato de etila), formados a partir de cianoacetato de etila com aldeídos aromáticos em temperatura de 110 °C, por uma reação chamada de condensação de Knoevenagel. Numa última etapa, os IPs reagiram com a AA-1A, em presença de morfolina como catalisador em temperatura de 65 °C, formando os compostos finais (LPSF AAs), isto ocorreu por uma reação chamada de adição de Michael, como pode ser visto no esquema 1.

Esquema 1– Rota Geral de síntese das Tiazacridinas

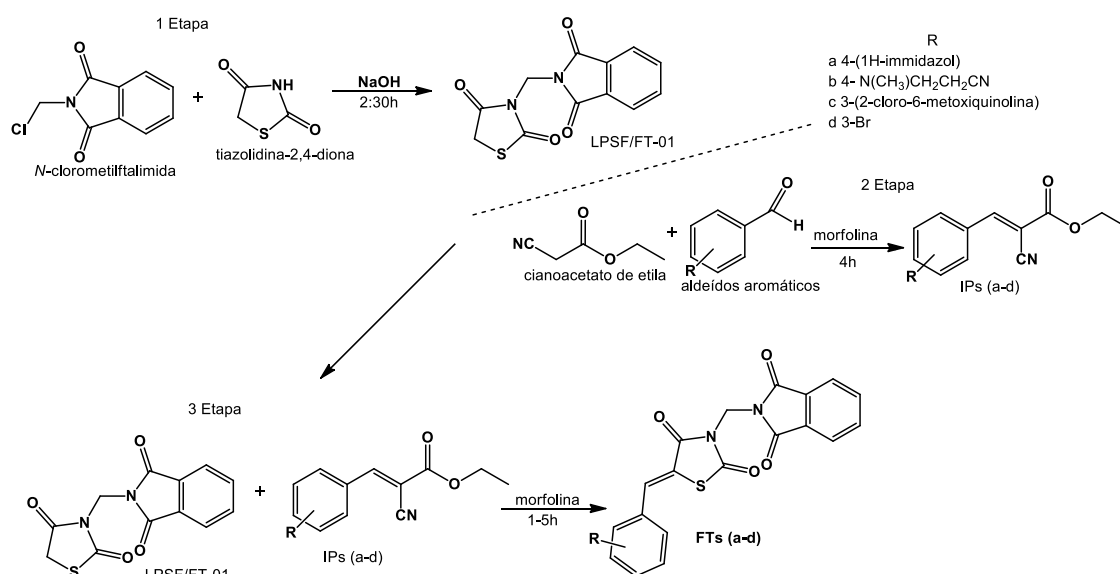


Fonte: Autor, 2018.

3.3.2. Rota Geral de Síntese dos derivados tiazoftalimídicos

Para a síntese dos derivados da ftalimida, foram realizados dois tipos de sínteses diferentes, a primeira síntese vista no esquema 2, é feita com os intermediários IPs sintetizados previamente, como descrito na síntese dos derivados da acridina. Na etapa 1 a tiazolidina-2,4-diona é *N*-alquilada com o *N*-clorometilftalimida em temperatura de 65 °C, originando o intermediário 3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/FT-01). Na segunda etapa os LPSF IPs (ésteres cianoacetato de etila) foram formados a partir de cianoacetato de etila com aldeídos aromáticos, por reação de Knoevenagel. Na terceira etapa, tanto o FT-01 quanto os IPs sintetizados foram colocados para reagir na presença de morfolina (catalisador) em temperatura de 65 °C, formando os compostos finais (LPSF FTs), também por reação de adição de Michael.

Esquema 2 – Rota Geral de síntese dos Compostos Tiazoftalimídicos por adição de Michael

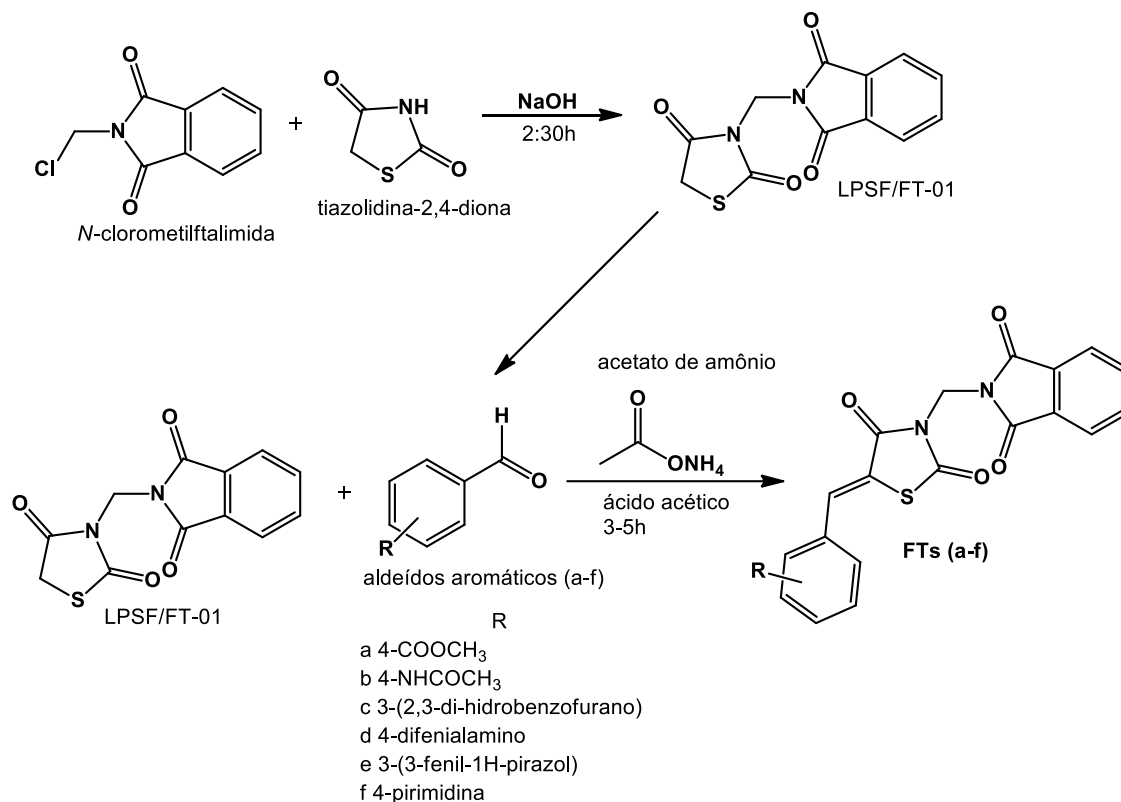


Fonte: Autor, 2018

A segunda rota de síntese foi realizada anteriormente no LPSF, tendo obtido bons resultados com outros compostos. Assim, ela foi adaptada para a ftalimida como pode ser visto no esquema 3. Nesta reação o composto FT-1 sintetizado na primeira etapa é colocado para reagir por condensação com o aldeído específico na

presença de acetato de amônio e ácido acético (solvente), em temperatura por volta de 110 °C, o que forma os compostos finais (FTs).

Esquema 3 – Rota Geral de síntese dos Compostos Tiazoftalimídicos por Condensação de Knoevenagel



Fonte: Autor, 2018

Os procedimentos experimentais destas reações são todas explicadas com mais detalhes no apêndice A.

3.4. METODOLOGIA ATIVIDADE ANTI-TUMORAL

3.4.1. Cultivo e manutenção das linhagens celulares

Existem aproximadamente 1.200 linhagens celulares de câncer humana na ATCC, EUA. Muitas delas com similaridades biológicas, para economizar tempo e recursos, estas células podem ser divididas em grupos de acordo com suas características biológicas, patológicas e terapêuticas (LU *et al.*, 2017). Assim, estes bancos de tumores clínicos são uma solução alternativa e interessante para avaliações de medicamentos pré-clínicos.

Como pode ser visto no quadro 2, foram utilizadas sete linhagens tumorais provenientes do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) e acondicionadas no Banco de células Tumorais do Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT) da UFPE. As linhagens tumorais foram cultivadas em meios específicos e exigidos para cada caso, seja meio RPMI-1640, DMEN ou F12. E suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino, 10 mM de HEPES e 1% U/mL de Penicilina/Estreptomicina. Todas as linhagens foram mantidas em estufa de CO₂ 5% a 37°C de temperatura.

Quadro 2 – Linhagens tumorais utilizadas

Linhagem Tumoral	Nome da doença	Densidade de Inoculação (nº de células/100 µl)	Meio de Cultura
K562	Leucemia mielóide crônica	0,5 x 10 ⁴	RPMI-1640
HL-60	Leucemia Promielocítica Aguda	4 x 10 ⁴	RPMI-1640
SK-MEL-28	Melanoma Maligno	1 x 10 ⁴	DMEN Low Glicose
Miapaca	Carcinoma de Pâncreas	1 x 10 ⁴	DMEN High Glicose
MM1S	Mieloma Múltiplo	1 x 10 ⁴	RPMI-1640
Panc-1	Carcinoma de Pâncreas	1 x 10 ⁴	DMEN Low Glicose
PC-3	Carcinoma de próstata	1 x 10 ⁴	F12

Fonte: Adaptado de NIH, 2015.

3.4.2. Ensaio de seletividade e citotoxicidade

As células neoplásicas foram plaqueadas de acordo com as recomendações do NIH (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2018), a quantidade de células por poço/100 µL pode ser vista no quadro 2. Os derivados tiazofalimídicos e tiazacridínicos foram adicionados nas concentrações de 1, 10, 50 e 100 µM. A citotoxicidade foi avaliada pelo método de MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyl tetrazolium bromide], as placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ e a 37°C de temperatura (MOSMANN, 1983). Em seguida foram adicionados 20 µL da solução de MTT, em que as placas foram novamente incubadas por 3 horas. A absorbância em espectrofotômetro de placa a 570 nm foi lida após dissolução do precipitado com SDS (Dodecil sulfato de sódio). Nesse método as células vivas convertem o MTT num produto de coloração roxa, assim

essa coloração será proporcional ao número de células ainda vivas. Em todos os ensaios foram incluídos controles não tratados contendo apenas dimetilsulfóxido (DMSO). A média da densidade ótica dos poços testes foi comparada com a média do grupo controle veículo para a determinação da viabilidade celular. A partir da média dos resultados de viabilidade adquiridos, foi calculada a concentração de composto necessária para a inibição celular de 50% *in vitro* (IC₅₀). Todos os ensaios foram aprovados pelo certificado de apresentação para apreciação ética (CAAE) de número 74653617.0.000.5208.

3.5. ESTUDO *IN SILICO*

Os compostos sintetizados tiazofalimídicos e tiazacridínicos foram estudadas por simulações de computador através da ferramenta online SwissADME, nela é possível desenhar diversos compostos, ou importar o arquivo com as estruturas desenhados no *Chemdraw*. Neste site é possível obter diversas informações físico-químicas e de farmacocinética dos compostos (SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS, 2019). Para o estudo dos compostos sintetizados a regra de Lipinski, em que é dito que a violação de mais de dois dos quatro critérios da regra pode diminuir a biodisponibilidade e o potencial do fármaco de ser um bom medicamento, foi a metodologia escolhida (LIPINSKI *et al.*, 1997). Também foram analisadas as solubilidades e lipofilicidades dos compostos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. IDENTIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS DERIVADOS SINTETIZADOS

As estruturas dos compostos sintetizados foram comprovadas pelas técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H), espectrofotometria de absorção no IV e espectrometria de massas (Apêndices B e C). No quadro 3 é apresentado a fórmula molecular (F.M), o peso molecular (P.M), o rendimento em porcentagem (Rdt.), o ponto de fusão (P.F) em graus Celsius e o tempo de retenção (RF) em centímetros, dos compostos sintetizados.

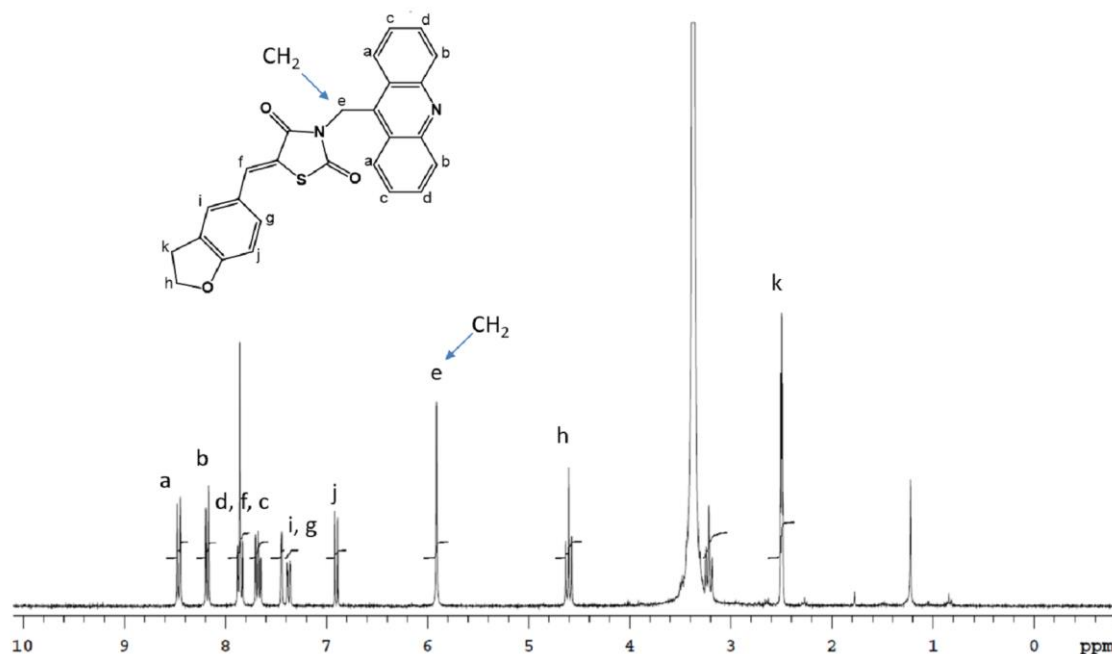
Quadro 3 – Características físico-químicas da tiazolidina 2,4-diona, dos derivados tiazacridínicos e tiazoftalimídicos sintetizados no LPSF.

Produto	F.M	P.M	Rdt. (%)	P.F. (°C)	RF cm^{-1} (hexano/AcOEt)
Tiazolidina-2,4-diona	$\text{C}_3\text{H}_3\text{NO}_2\text{S}$	117,00	70,0	121,0	0,44
LPSF FT-1	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	276,02	67,0	172,0	0,67
LPSF AA-1A	$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$	308,06	68,0	221,0	0,35
LPSF FT-2	$\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$	422,05	57,0	263,0	0,34
LPSF FT-3	$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$	421,07	80,5	277,5	0,14
LPSF FT-4	$\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$	406,06	75,5	255,9	0,46
LPSF FT-6	$\text{C}_{31}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$	531,12	95,3	133,0	0,58
LPSF FT-7	$\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$	430,43	44,2	263,0	0,22
LPSF FT-8	$\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$	446,47	60,5	241,0	0,72
LPSF FT-9	$\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$	430,07	84,4	214,0	0,21
LPSF FT-13	$\text{C}_{23}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_5\text{S}$	479,89	22,5	316,8	0,43

LPSF FT-15	$C_{23}H_{14}N_4O_4S$	442,07	87,4	288,0	0,51
LPSF FT-18	$C_{19}H_{11}BrN_2O_4S$	441,96	68,0	210,0	0,23
LPSF AA-99	$C_{26}H_{19}N_3O_3S$	453,11	66,3	290,0	0,18
LPSF AA-100	$C_{26}H_{18}N_2O_3S$	438,10	62,0	244,5	0,51
LPSF AA-102	$C_{36}H_{25}N_3O_2S$	563,16	56,2	223,8	0,73
LPSF AA-103	$C_{27}H_{18}N_4O_2S$	462,11	77,2	301,0	0,16
LPSF AA-104	$C_{28}H_{22}N_4O_2S$	478,14	30,6	242,7	0,31
LPSF AA-109	$C_{28}H_{18}ClN_3O_3S$	511,07	81,9	256,8	0,67
LPSF AA-110	$C_{27}H_{17}N_3O_2S$	435,10	34,8	304,8	0,42
LPSF AA-111	$C_{28}H_{18}N_4O_2S$	474,11	78,6	294,2	0,25

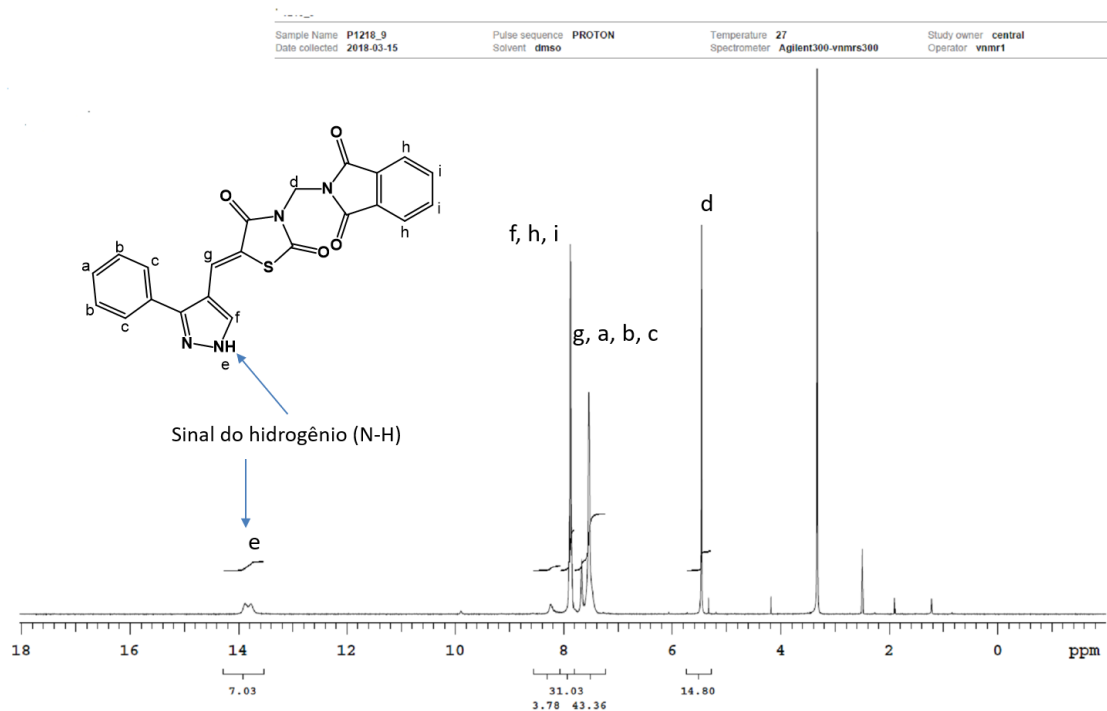
Fonte: Autor, 2018.

- Espectrometria de RMN 1H : Os compostos finais foram comprovados pela presença do simpleto do grupo CH_2 ligado ao átomo de nitrogênio da tiazolidina na faixa de 5,9 ppm de deslocamento para os produtos finais AAs, como por exemplo o composto AA-100 (figura 30) é mostrado esse sinal em destaque. Por sua vez, nas tiazoftalimidas é encontrado esse sinal por volta de 5,6 ppm. E o simpleto da posição 5 do anel tiazolidínico, representando os dois hidrogênios, que costumam aparecer na faixa de 4,2 ppm não estava mais presente, o que mostra que adição de Michael aconteceu.

Figura 30 – Espectro de RMN H^1 do composto AA-100

Fonte: Autor, 2019.

Alguns picos comuns vistos nos espectros de RMN 1H das tiazacridinas e tiazofthalimidas são os hidrogênios aromáticos do anel acridínico e ftalimídico, eles são em geral os mais desblindados na molécula, aparecendo na faixa de 7,9 – 7,7 ppm. No LPSF FT-9 é visto um duplete de baixa intensidade representando o hidrogênio ligado ao nitrogênio do anel aromático na região de 13,8 ppm (figura 31).

Figura 31 – Espectro de RMN H¹ do composto FT-9

Fonte: Autor, 2019.

Por fim, nos compostos LPSF FT-13 e FT-15 alguns hidrogênios aromáticos do radical com presença de um nitrogênio, foram mais desblindados, e apareceram no campo mais baixo que os hidrogênios presentes no anel aromático ftalimídico.

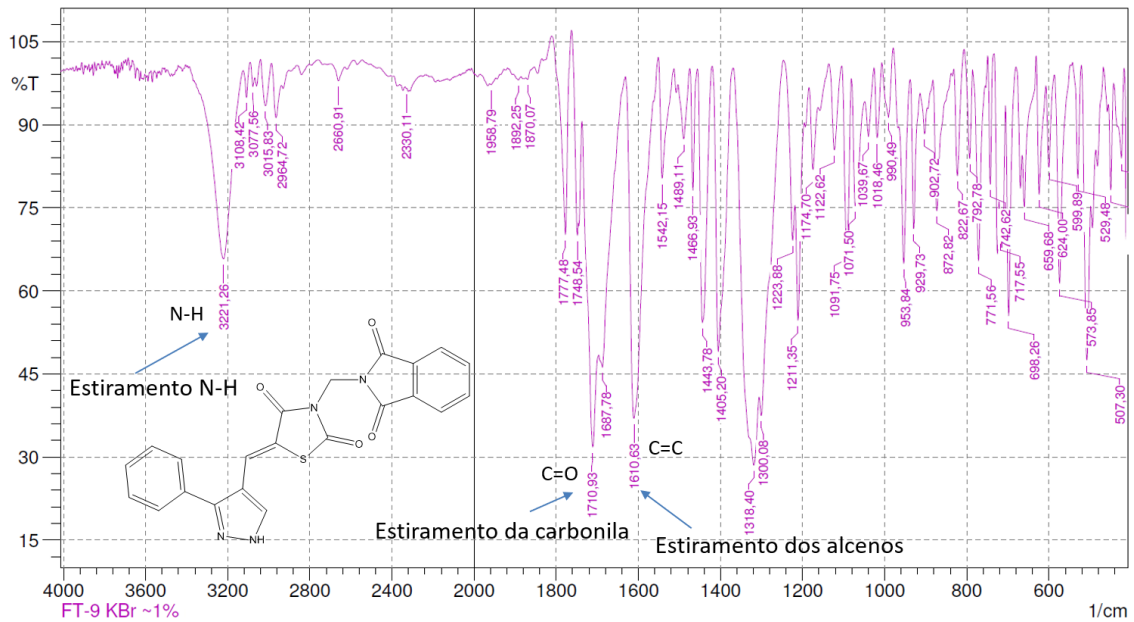
- **Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV):** As bandas observadas principais dos LPSF FTs e das AAs foram de C=C, C-H, C-N, C=O e N-H. A principal observação feita é a da absorção de estiramento C=C de alquenos, encontrada na faixa de 1660 a 1580 cm⁻¹ da região do IV. O que comprova que houve a adição de Michael entre os intermediários FT-1 e AA-1A com os IPs. Bem como a Condensação de Knoevenagel entre o FT-1 e os aldeídos.

O estiramento da carbonila (C=O) é observada entre 1750 a 1715 cm⁻¹, da região do espectro, o qual está presente em todos os compostos sintetizados. Os dobramentos angulares de C-H dos compostos aromáticos na região de 900 a 690 cm⁻¹. O estiramento C-N dos heteroaromáticos e alifáticos são vistos na região de 1350 a 1000 cm⁻¹ (PAVIA *et al.*, 2013).

Especificamente nos compostos FT-3 e 9, como na AA-99 é visto o estiramento N-H, na faixa de 3300 a 3400 cm⁻¹, como pode ser visto na figura 32, o

exemplo do composto FT-9 com suas principais bandas de absorção no infravermelho.

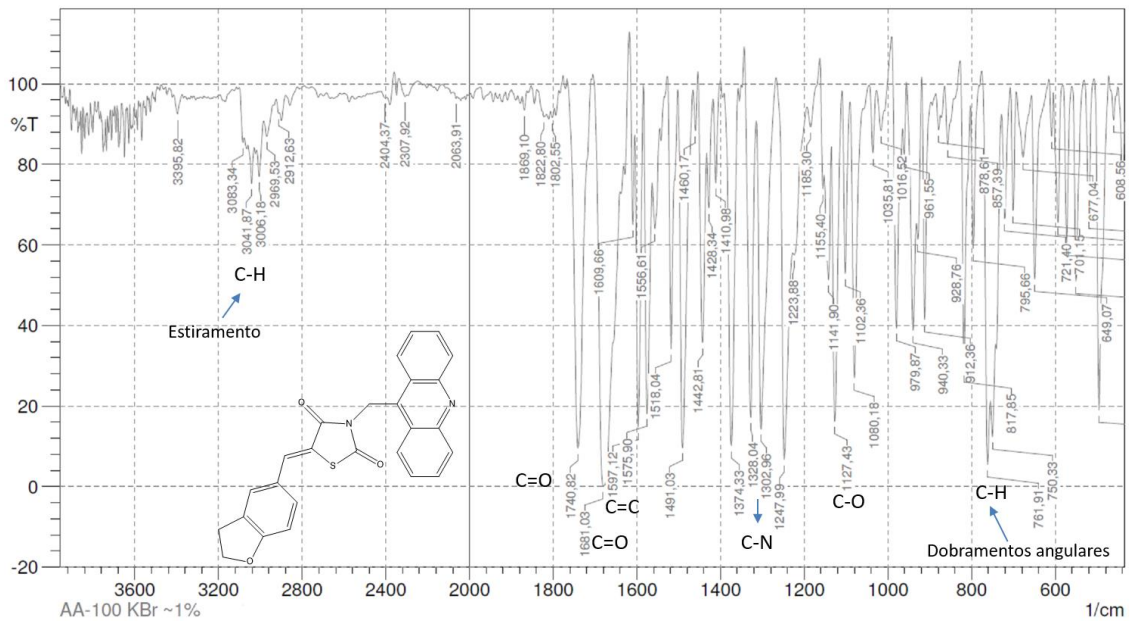
Figura 32 – Espectroscopia no IV do composto FT-9



Fonte: Autor, 2019.

No IV do composto AA-100 está presente o estiramento C-H na faixa de 3041 cm^{-1} , os estiramentos da carbonila (C=O) em 1740 e 1681 cm^{-1} entre outros grupos funcionais, apresentados na figura 33.

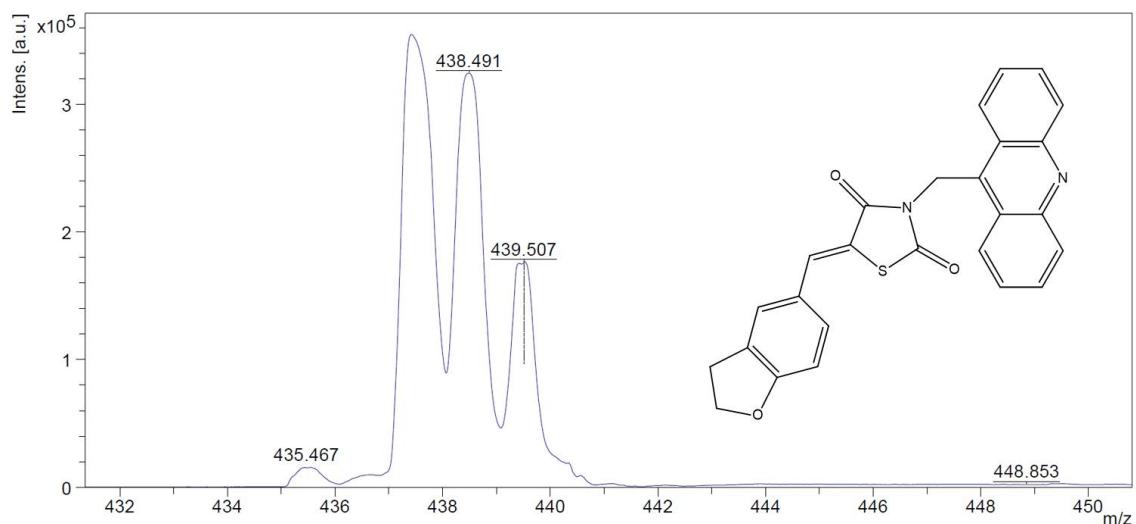
Figura 33 – Espectroscopia no IV do composto AA-100



Fonte: Autor, 2019.

- Espectrometria de massas (maldi-tof): No espectro da figura 34 é visto o exemplo da AA-100, nela é identificado o pico molecular do composto de massa molecular de 438,10.

Figura 34 – Espectrometria de massa do composto AA-100

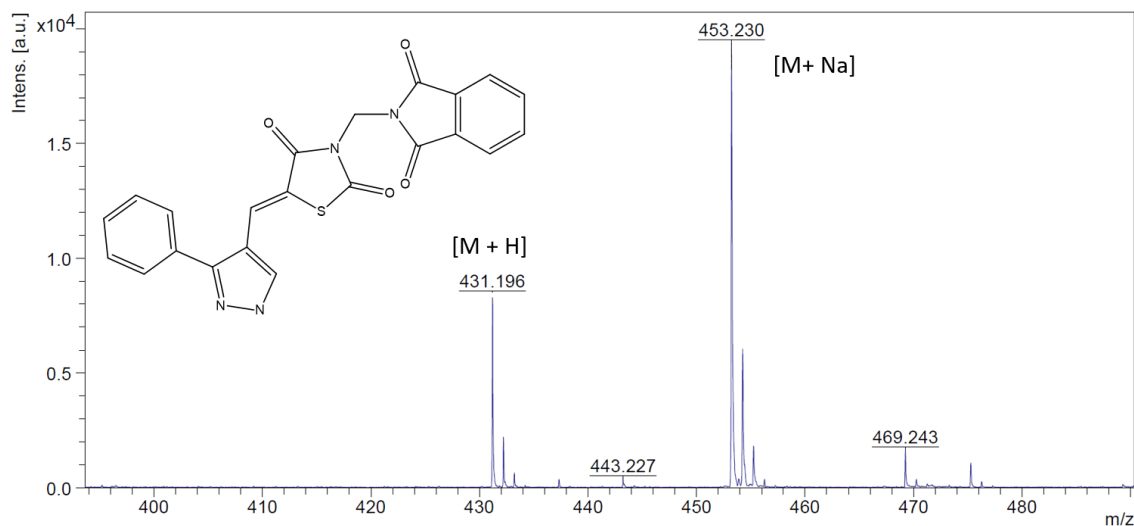


Fonte: Autor, 2019.

Na figura 35 pode ser observado o pico da massa molecular do composto FT-9 (massa de 430,07) com a presença da massa mais um hidrogênio (M+H), bem

como a presença da massa mais o sódio (M+Na), este tipo de associação é comum de ser visto nos espectros de massas.

Figura 35 – Espectrometria de massa do composto FT-9



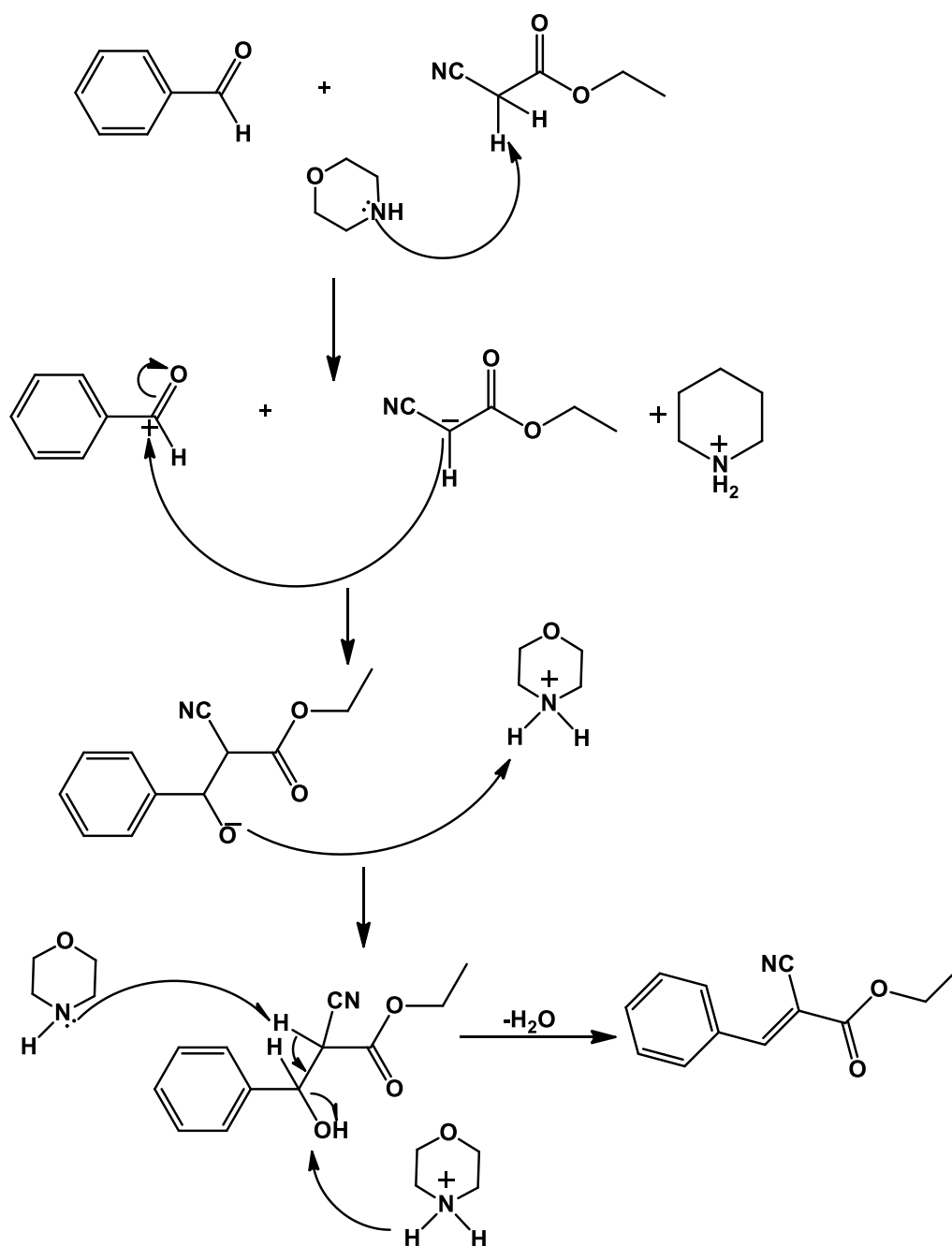
Mais detalhes e características físico-químicas dos compostos sintetizados podem ser observados nos apêndices B e C.

4.2. MECANISMOS REACIONAIS

4.2.1. Mecanismo reacional dos LPSF/ IPs (Ésteres de Cope)

No esquema 4 é apresentado o mecanismo reacional da condensação de Knoevenagel para obtenção dos intermediários IPs, nele ocorre uma adição nucleofílica à carbonila do aldeído, seguida da etapa de eliminação de uma molécula de água, o que forma uma ligação dupla carbono-carbono, geralmente em presença de um catalisador básico como a morfolina (CUNHA; SANTANA, 2012).

Esquema 4 – Mecanismo de reação hipotético para obtenção dos Ésteres de Cope (IPs) por condensação de Knoevenagel



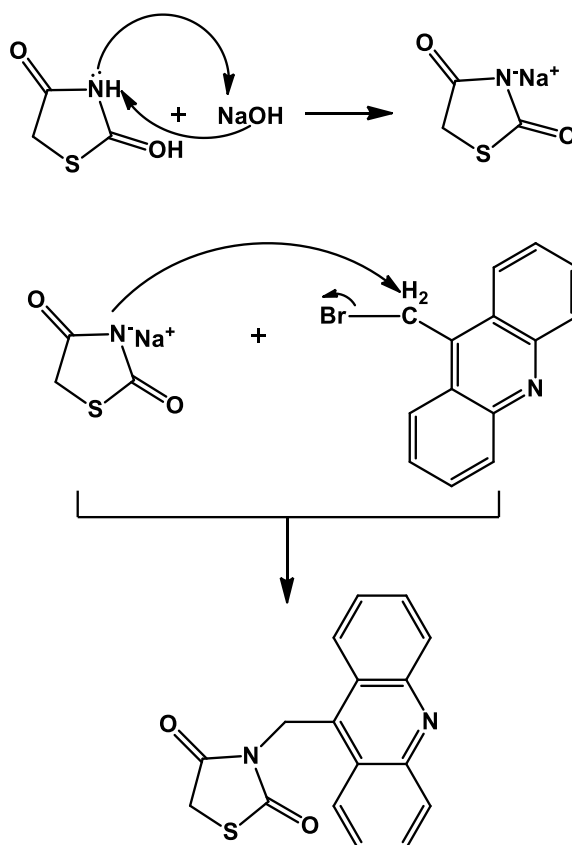
Fonte: Autor, 2018

4.2.2. Mecanismo reacional do LPSF/AA-1A (3-Acrídina-9-il-metil-tiazolidina-2,4-diona)

Nesta síntese ocorre uma reação de *N*-alquilação da Tiazolidina-2,4-diona, através da presença de uma base como o NaOH. Como o hidrogênio ligado ao

nitrogênio é suficientemente ácido, haverá formação de sal através da base. Estes sais irão atuar atacando o haleto de alquila, neste caso a 9-bromo-metil acridina. Como apresentado no esquema 5, na posição 3 da TZD ocorre uma substituição do hidrogênio pela ligação com o carbono da acridina formando o intermediário AA-1A.

Esquema 5 – Mecanismo reacional hipotético de síntese para obtenção do intermediário (LPSF/AA-1A)

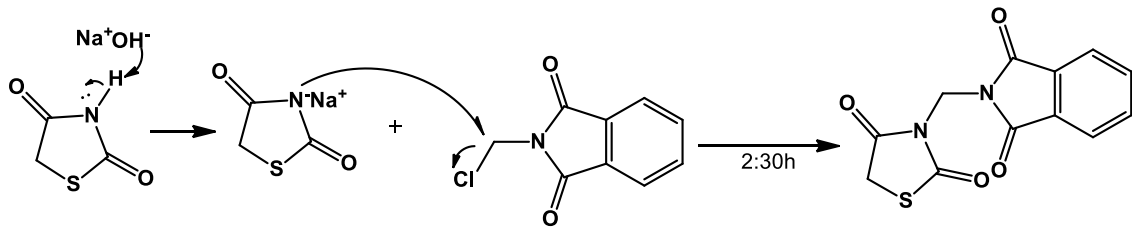


Fonte: Autor, 2018

4.2.3. Mecanismo reacional do 3-((1,3-dioxisoindolin-2-il)metil) tiazolidina-2,4-diona (LPSF/FT-01)

O mecanismo reacional dessa reação é a mesma para a síntese da AA-1A, com a *N*-alquilação da posição 3 da TZD em presença de base (NaOH) e o haleto de alquila, neste caso o *N*-clorometilftalimida (Esquema 6), formando o intermediário FT-01.

Esquema 6 – Mecanismo reacional hipotético de síntese para obtenção do intermediário (LPSF/FT-01)

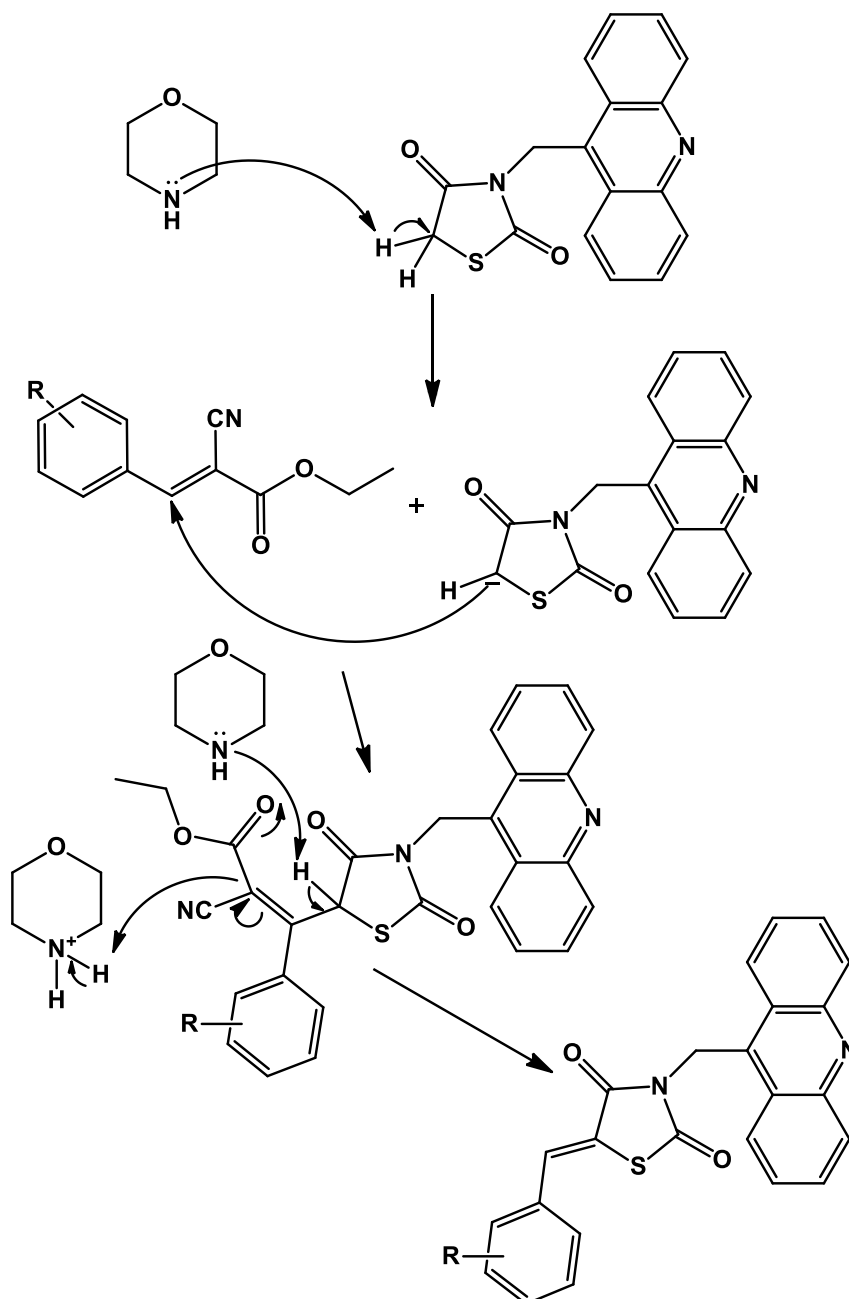


Fonte: Autor, 2018

4.2.4. Mecanismo reacional dos derivados finais LPSF/AAs (Tiazacridinas)

O mecanismo hipotético da reação para formação dos compostos finais tiazacridínicos (AAs) é apresentado no esquema 7, nessa reação é importante utilizar catalisadores como a morfolina. O processo ocorre através da tiazolidina-2,4-diona *N*-alquilada anteriormente, essa tem característica de ânion, principalmente pela presença das duas carbonilas nas posições 2 e 4 o que deixa a molécula mais estável. Por conseguinte, o carbânion na posição 5, irá atacar o carbono α dos ésteres de cope com formação dos compostos finais (AAs). Essa reação é chamada de reação de adição de Michael (MATHER *et al.*, 2006).

Esquema 7 – Mecanismo reacional hipotético de síntese para obtenção dos compostos finais (LPSF/AAs)

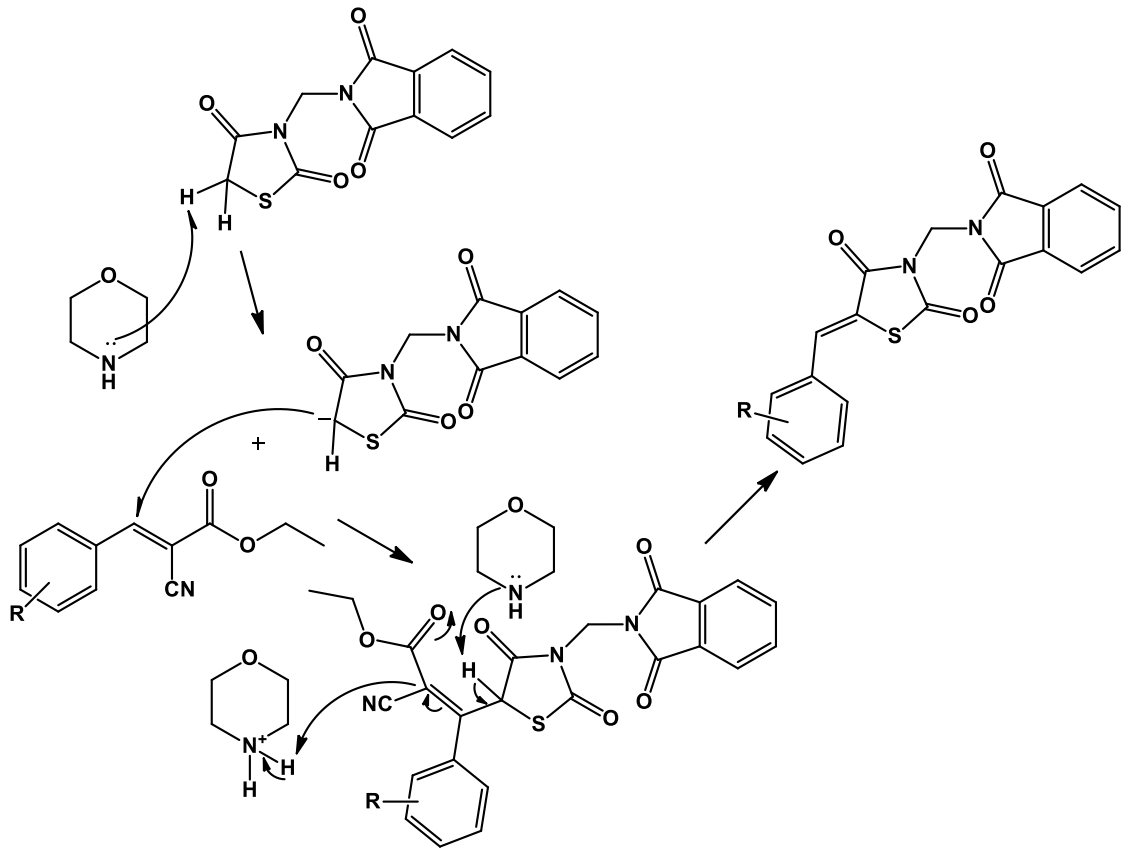


Fonte: Autor, 2019.

4.2.5. Mecanismo reacional dos derivados finais LPSF/FTs (Tiazoftalimidas)

O mecanismo reacional hipotético da reação para formação dos compostos finais tiazoftalimídicos (FTs) por adição de Michael, utilizando os intermediários (IPs), segue o mesmo raciocínio das tiazacridinas (AAs), ambos apresentados nos esquemas 8 e 7.

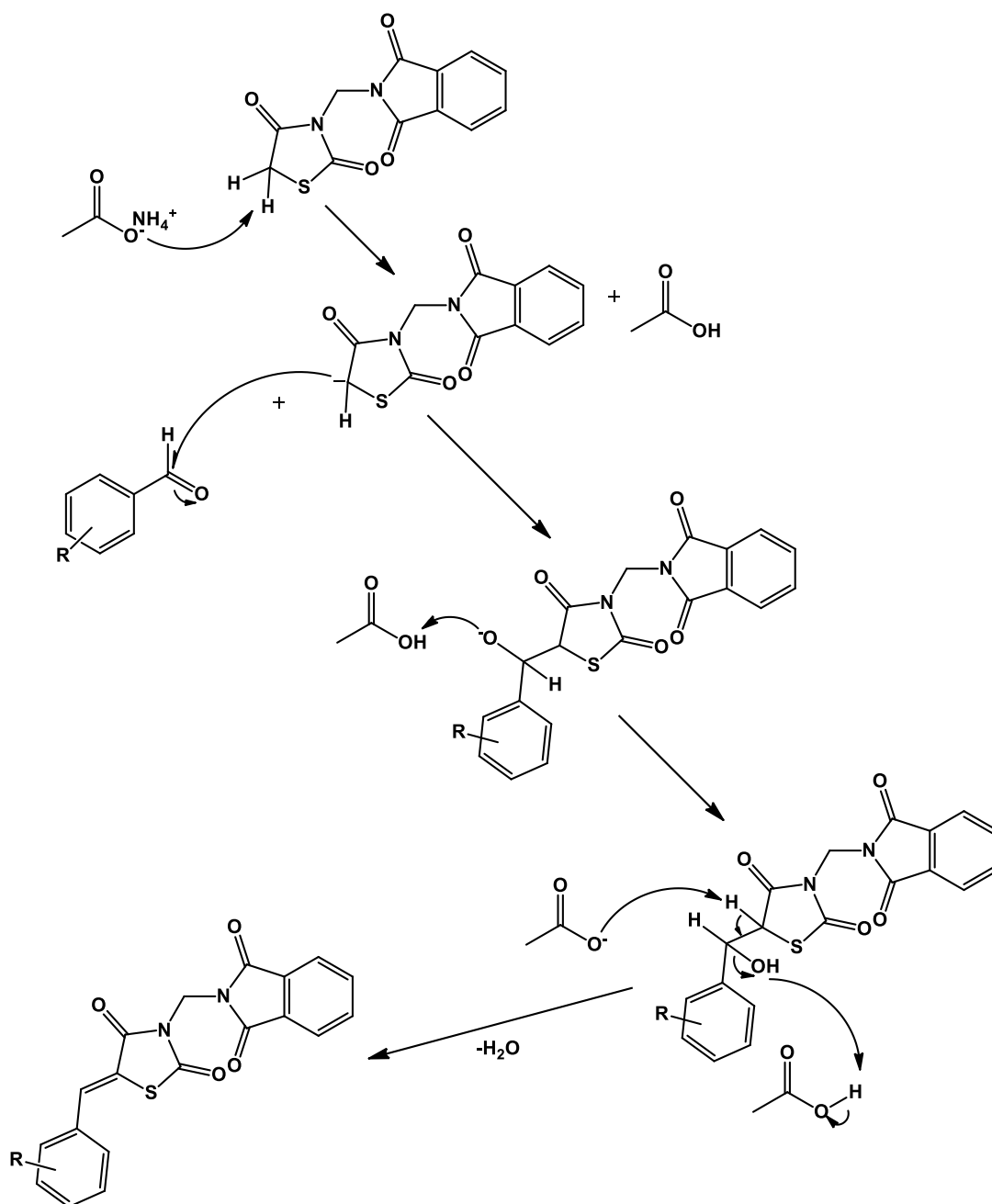
Esquema 8 – Mecanismo reacional hipotético de síntese para obtenção dos compostos finais (LPSF/FTs) por reação de adição de Michael.



Fonte: Autor, 2019.

O mecanismo reacional hipotético da reação para formação dos compostos finais tiazoftalimídicos (FTs) por condensação de Knoevenagel, é apresentado no esquema 9, onde o acetato de amônio atua como promotor da reação, através da formação do carbanion na posição 5 da TZD, este ânion irá atacar a carbonila do aldeído com perda de água no processo (CUNHA; SANTANA, 2012), assim formando os compostos finais (FTs), por um mecanismo semelhante ao da síntese dos IPs (esquema 4).

Esquema 9 – Mecanismo reacional hipotético de síntese para obtenção dos compostos finais (LPSF/FTs) por condensação de Knoevenagel.



Fonte: Autor, 2018.

4.3. DISCUSSÃO SOBRE AS SÍNTESES REALIZADAS

Uma nova série de compostos foi iniciada neste projeto, a produção dos derivados da ftalimida. A reação do intermediário FT-01 foi realizada, e logo nas primeiras reações se obteve rendimentos satisfatórios, entre 62-81%, essa síntese também é relativamente rápida, por volta de 2 horas de reação. Por estas

características, ela foi feita em escala maior de produção obtendo rendimentos equivalentes. A única dificuldade é a formação dos cristais, pois é necessário deixar algumas horas sob refrigeração.

Nem todas as reações dos intermediários (IPs) para os compostos finais deram certo. Quatro dos aldeídos para fazer os IPs (IP-103, IP-106, IP-112, IP-113) deram impurezas e/ou ficaram com uma consistência difícil de manusear, como exemplo o IP-113 que ficou “grudento”. Ele e o IP-112 são bem parecidos estruturalmente, sendo que o IP-113 apresenta um grupo metila (CH_3) a mais. Já os outros IPs (quadro 7) apresentaram rendimentos, entre 58-88%.

4.3.1. Tiazofalimidias

A partir dos dois intermediários expostos acima, foram feitas sínteses seguindo os procedimentos utilizados para a formação das tiazofalimidias (FTs). A principal dificuldade é o fato do FT-1 não ser muito solúvel em etanol, assim foi necessário a utilização de maiores quantidades de solvente, além de algumas reações não terem dado certo.

No total foram obtidos quatro produtos por adição de Michael (FT-7, FT-8, FT-13, FT-18), já pela outra metodologia por condensação de Knoevenagel (Harada *et al.*, 2012) foram obtidos seis compostos (FT-2, FT-3, FT-4, FT-6, FT-9, FT-15), essa metodologia foi utilizada em razão da dificuldade de síntese pela outra metodologia, uma vez que é necessário a síntese de mais um intermediário, os IPs, o que torna a reação mais trabalhosa e custosa.

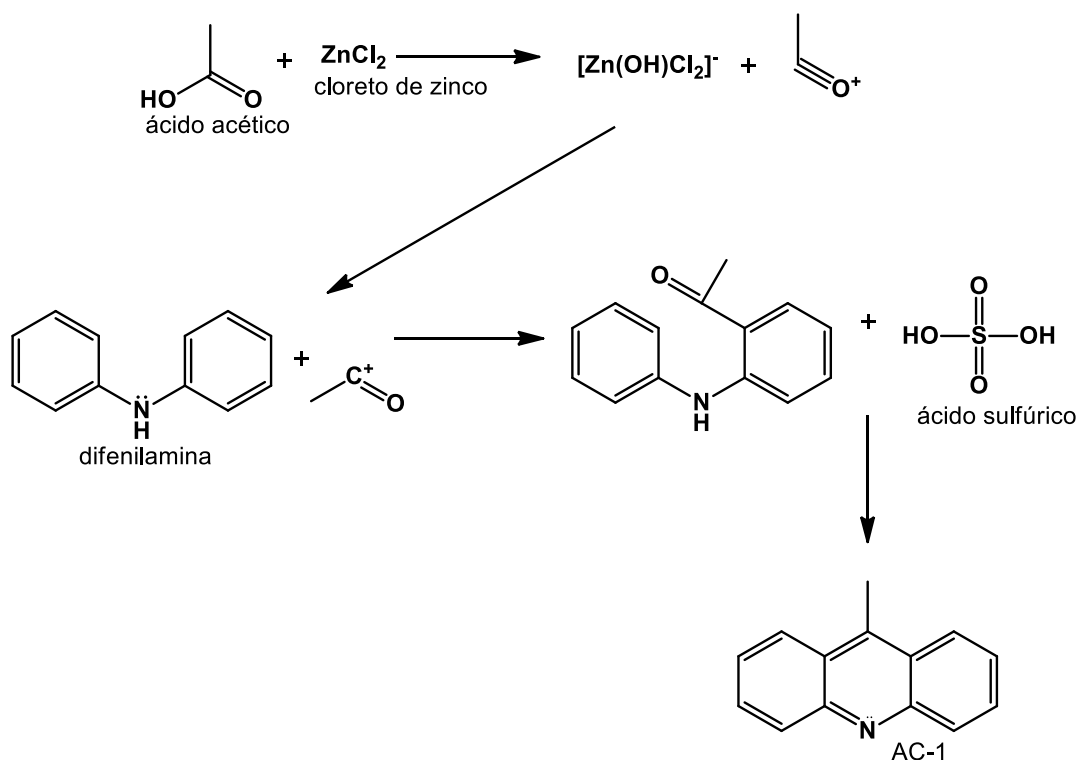
As reações das FTs por condensação deram rendimentos satisfatórios, a maioria das reações não precisou muito tempo de reação, entre 1h e 3h, todas as FTs tiveram rendimento variando 22,5%-95%, essa variação demonstra que os aldeídos, intermediários da reação, influenciam bastante na reatividade dos compostos. Pesquisas feitas no site *SciFinder* não apresentou na literatura compostos com similaridade suficiente para uma boa comparação (CAS, 2019).

Uma outra característica destes compostos é sua dificuldade de solubilização, sendo a maioria solúvel em DMSO (dimetilsulfóxido) e/ou em clorofórmio, esses que são os mais utilizados para a análise por RMN.

4.3.2. 9-bromo-metilacridina

Durante o projeto tentou-se produzir o reagente 9-bromo-metilacridina, pois este composto disponível comercialmente é bastante caro, é a partir dele que se faz o intermediário AA-1A. Para a síntese da acridina (AA-1A), primeiro deve ser feito o composto AC-1, o qual foi previamente sintetizado no nosso grupo de pesquisa. Esse composto AC-1 obteve rendimentos entre 68 – 80%, no esquema 10 é apresentado a sua rota de síntese.

Esquema 10 – Rota de síntese para obtenção do composto (LPSF/AC-01) por ciclização.

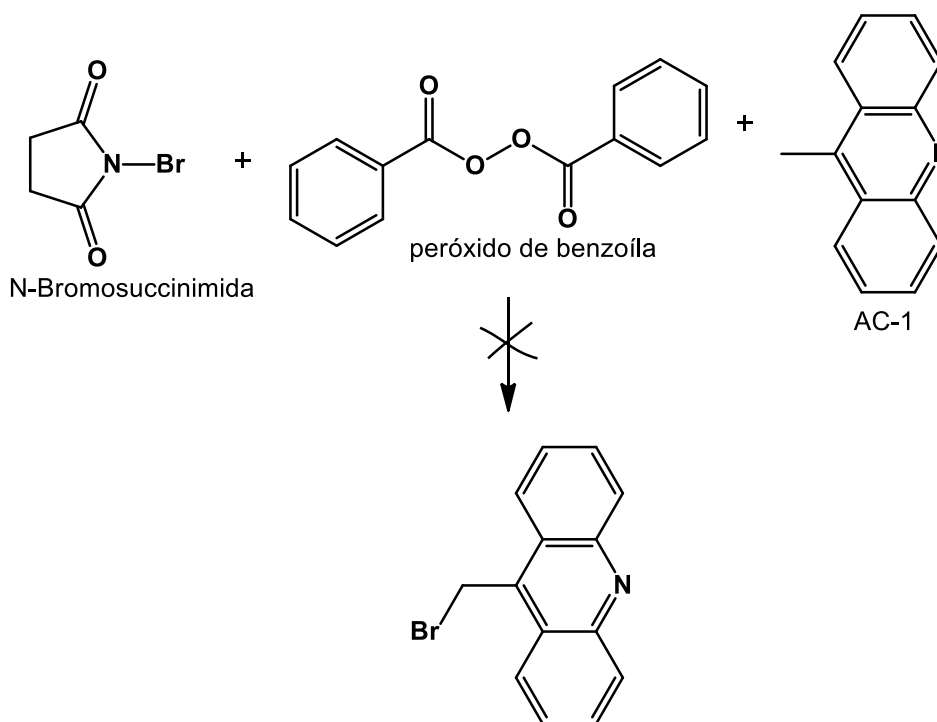


Fonte: Autor, 2018.

A partir da AC-01 foram feitas reações de bromação (adição de um bromo na metila) na tentativa de obter a 9-bromo-metilacridina, seguindo o artigo de Jana *et al.* (2013). Numa primeira tentativa foi utilizado o tolueno junto com *N*-bromo-succimida e peróxido de benzoíla, mas esta reação não funcionou, pois o solvente tolueno reagiu com o composto cedendo uma metila. Outras reações foram feitas com o 1,4-dioxano no lugar do tolueno, os quais se mostraram mais promissoras com cerca de 87% de pureza. Já a síntese realizada com o solvente clorobenzeno apresentou

cerca de 70% de pureza. O problema desta reação é que a síntese de referência utiliza o tetracloreto de carbono (CCl₄) como solvente, sendo que aqui no Brasil a sua venda é proibida, assim foi impossível seguir a mesma metodologia presente na literatura. A rota de síntese pode ser vista no esquema 11.

Esquema 11 – Rota de síntese para obtenção do composto 9-bromo-metilacridina por bromação



Fonte: Autor, 2018.

4.3.3. Tiazacridinas

Assim, como não foi possível obter o composto 9-bromo-metilacridina com a pureza necessária, foi utilizado o produzido pela TCI chemicals. Com ele foi produzido o intermediário AA-1A, todos com pureza de mais 99% e rendimentos entre 62-70%. Por fim, os compostos finais tiazacridínicos (AAs), oito no total, foram feitos a partir do intermediário (AA-1A) com os IPs. Nessas reações se obteve boa pureza e rendimentos satisfatórios, variando entre 52-82%. Apenas o AA-104 (31%) que foi colocado para reagir por 2 vezes, pois na primeira reação sobrou reagente, o que acabou diminuindo ainda mais o seu rendimento, enquanto o AA-110 ficou mais

de 24h e não reagiu muito bem (35% de rendimento). Esses rendimentos foram similares aos das tiazacridinas obtidas durante o mestrado (ALMEIDA, 2015).

4.4. ANÁLISE *IN SILICO*

O quadro 4 apresenta todos os compostos sintetizados que foram analisados com simulações de computador na ferramenta *online* SwissADME, o quadro mostra se os compostos tem solubilidade em água, lipofilicidade (pelos valores do Log P), se tem absorção do trato gastro-intestinal, e se viola ou não a regra de Lipinski.

Quadro 4 – Análise *in silico* dos compostos finais FTs e AAs

Compostos	Solubilidade em água	Lipofilicidade (Log P)	Absorção gastro-intestinal	Regra de Lipinski
FT-2	Moderadamente solúvel	2.37	Elevada	Sem violação
FT-3	Moderadamente solúvel	2.03	Elevada	Sem violação
FT-4	Moderadamente solúvel	2.64	Elevada	Sem violação
FT-6	Pouco solúvel	4.87	Elevada	Duas violações
FT-7	Moderadamente solúvel	2.33	Elevada	Sem violação
FT-8	Moderadamente solúvel	2.40	Elevada	Sem violação
FT-9	Moderadamente solúvel	2.62	Elevada	Sem violação
FT-13	Pouco solúvel	3.26	Elevada	Sem violação
FT-15	Moderadamente solúvel	2.51	Elevada	Sem violação
FT-18	Moderadamente solúvel	3.04	Elevada	Sem violação
AA-99	Pouco solúvel	4.11	Elevada	Sem violação
AA-100	Pouco solúvel	4.60	Elevada	Sem violação
AA-102	Pouco a insolúvel	6.91	Baixa	Duas violações
AA-103	Pouco solúvel	4.31	Elevada	Sem violação
AA-104	Pouco solúvel	4.40	Elevada	Sem violação
AA-109	Pouco a insolúvel	5.38	Baixa	Uma violação

AA-110	Pouco solúvel	4.66	Elevada	Sem violação
AA-111	Pouco solúvel	4.60	Elevada	Sem violação

Fonte: Adaptado de SwissADME

Para que um composto seja eficiente para ser absorvido oralmente, Lipinski estabeleceu quatro características que um bom candidato a medicamento não deve violar, e elas são: Não ter mais que 5 doadores de ligação H (o número total de ligações N-H e O-H); Não possuir peso molecular com mais de 500 g/mol; Não apresentar Log P acima de 5 (ou MLogP acima de 4,15); Não ter mais de 10 aceitadores de ligação H (todos os átomos de O e N) (LIPINSKI *et al.*, 1997).

A maioria dos compostos não violaram a regra de Lipinski, exceto os compostos FT-6 e AA-102 que violam esta regra em dois pontos: o peso molecular maior que 500 g/mol e o MlogP maior que 4.15, enquanto o AA-109 viola apenas o maior peso molecular (LIPINSKI *et al.*, 1997). O que pode ser reparado nessa análise é que a série de compostos tiazacridínicos são pouco solúveis, o que pode ser uma das explicações para os resultados não satisfatórios nos ensaios de citotoxicidade que serão apresentados a seguir.

4.5. ATIVIDADE ANTI-TUMORAL

Os ensaios de citotoxicidade dos novos derivados tiazofalimídicos foram realizados *in vitro* no Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT) que faz parte do Núcleo de Pesquisas em Inovação Terapêutica Suely Galdino (NUPIT-SG), localizado na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Os compostos FTs foram testados pelo método do MTT nas concentrações de 1, 10, 50 e 100 μ M, como dito previamente na metodologia (Quadro 2), nas linhagens tumorais a seguir: K-562 (Leucemia mielóide crônica); HL-60 (Leucemia aguda promielocítica); SK-MEL-28 (Melanoma Maligno); Miapaca (Carcinoma de Pâncreas). Os resultados do teste de citotoxicidade e não toxicidade nas células normais, são apresentados no quadro 5. Todos os compostos FTs não foram citotóxicos em células de indivíduos saudáveis (PBMC), ao contrário da doxorubicina (um fármaco utilizado no tratamento do câncer).

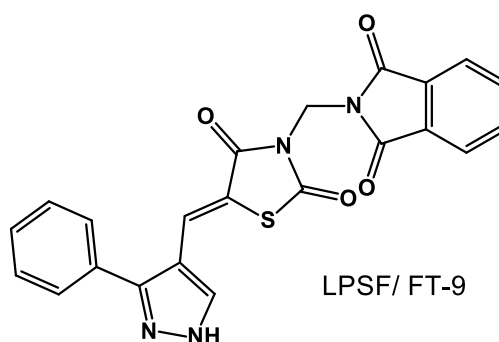
Quadro 5 – Valores de IC₅₀ (concentração inibitória de 50%) realizado pelo método do MTT com os compostos tiazofalimídicos (FTs) para as linhagens celulares K-562, HL-60, SK-MEL-28, Miapaca e PBMC.

IC ₅₀ (µM)					
Compostos	Linhagens				
	SK-mel-28	HL-60	Miapaca	K-562	PBMC
FT-2	>100	>100	>100	>100	>100
FT-3	>100	>100	>100	>100	>100
FT-4	>100	>100	>100	>100	>100
FT-6	>100	>100	>100	>100	>100
FT-7	>100	>100	>100	>100	>100
FT-8	>100	>100	>100	>100	>100
FT-9	>100	>100	>100	59,11±4,48	>100
FT-13	>100	>100	>100	>100	>100
FT-15	>100	>100	>100	>100	>100
FT-18	>100	>100	>100	>100	>100
Doxorrubicina	6,36	0,02	>1	6,52	-

^a Os dados são apresentados como valores IC₅₀ (µg/mL) a partir de dois experimentos independentes e medida pelo ensaio de MTT depois de 72 horas de incubação. ^b Doxorrubicina utilizada como controle positivo – ensaio não realizado. Fonte: Autor, 2018.

Dos compostos testados, o derivado tiazofalimídico LPSF FT-9 (figura 36), foi o que apresentou atividade citotóxica inicial em uma das quatro linhagens tumorais testadas, esse composto teve atividade na linhagem do K-562 (59,11±4,48 µM), na figura 36 é apresentado a sua estrutura.

Figura 36 – LPSF/ FT-9



Fonte: Autor, 2018.

O LPSF FT-9 (Apêndice B e C) é formado pelo núcleo ftalimídico e tiazolidínico mais a presença do radical (3-fenil-1H-pirazol) na posição 5 da TZD. Ele foi o único composto deste trabalho com a presença do anel pentagonal contendo dois nitrogênios nas posições 1 e 2 chamado de pirazol, este anel unido ao anel tiazolidínico e a um anel fenil. Na literatura não é encontrado composto similar ao FT-9 para efeito de comparação, o mais próximo dele é o composto 11 (figura 26), sem presença do pirazol, que apresentou atividade em três linhagens tumorais diferentes das testadas aqui (CARDOSO *et al.*, 2015).

Os compostos AAs também foram testados pelo método do MTT, nas concentrações de 1, 10, 50 e 100 μM , nas seguintes linhagens tumorais: MM1S (Mieloma Múltiplo); Panc-1 (Carcinoma de Pâncreas); PC-3 (Carcinoma de próstata) e PBMC (célula mononuclear do sangue periférico). Os resultados do teste de citotoxicidade são vistos no quadro 6.

Nos testes feitos com os compostos AAs sintetizados, todos eles não foram citotóxicos nas células de indivíduos saudáveis (PBMC) e também não tiveram atividade citotóxica em nenhuma das quatro linhagens tumorais testadas (Quadro 6).

Quadro 6 – Valores de IC₅₀ (concentração inibitória de 50%) realizado pelo método do MTT com os compostos tiazacridínicos (AAs) para as linhagens celulares PC-3, HL-60, Panc-1, MM1S e PBMC.

IC ₅₀ (µM)					
Compostos	Linhagens				
	PC-3	HL-60	Panc-1	MM1S	PBMC
AA-99	>100	>100	>100	>100	>100
AA-100	>100	>100	>100	>100	>100
AA-102	>100	>100	>100	>100	>100
AA-103	>100	>100	>100	>100	>100
AA-104	>100	>100	>100	>100	>100
AA-109	>100	>100	>100	>100	>100
AA-110	>100	>100	>100	>100	>100
AA-111	>100	>100	>100	>100	>100

^a Os dados são apresentados como valores IC₅₀ (µg/mL) a partir de dois experimentos independentes e medida pelo ensaio de MTT depois de 72 horas de incubação. Fonte: Autor, 2019.

Dos oito compostos sintetizados, nenhuma das tiazacridinas apresentou atividade anti-tumoral. Destes oito, sete compostos foram feitos utilizando os mesmos intermediários aldeídos ou IPs, ou seja, o AA-99 tem o mesmo radical que o FT-3, o AA-100 o mesmo do FT-4, o AA-102 o mesmo do FT-6, o AA-103 o mesmo do FT-7, o AA-104 o mesmo do FT-8, o AA-109 o mesmo do FT-13 e o AA-111 o mesmo do FT-15. Destacando que nenhum destes compostos, das duas séries, apresentaram atividade citotóxica. Mas, o que dificulta uma melhor comparação, é que os testes foram realizados em linhagens celulares diferentes com cada uma das duas séries, exceto a linhagem HL-60.

Quando comparamos com a literatura, o composto AA-29 (figura 14), apresentou atividade anti-tumoral em quatro linhagens diferentes das testadas aqui, como diferencial este composto apresenta um radical indol ligado a TZD (CHAGAS *et al.*, 2017). Também pode ser feita uma comparação com os compostos sintetizados anteriormente pelo grupo durante o mestrado (Almeida, 2015), o composto AA-57 (radical 3-trifluoro-metoxibenzaldeído) e o AA-62 (radical

antraceno) apresentaram resultados citotóxicos, em especial na linhagem celular DU 145, demonstrando que as diferenças de radicais encontradas fazem toda a diferença na citotoxicidade.

Portanto, estas séries de compostos tiazofalimídicos e tazacridínicos poderão ser testadas em outras linhagens tumorais, bem como outras atividades biológicas, como antiinflamatório também poderão ser realizadas, para assim descobrir se algum destes compostos tem potencial terapêutico.

5 CONCLUSÕES

Com objetivo de obter novos compostos eficazes contra as células tumorais, nesse trabalho foi realizada a síntese de oito novos compostos tiazacridínicos (AAs) da série 3-(acridin-9-ilmetil)tiazolidina-2,4-diona. Com a metodologia em consolidação foi possível otimizar a reação para obter compostos com alta pureza, acima de 98%, e rendimentos melhores (Quadro 3 e esquema 16).

Também foi realizada a síntese de dez novos derivados tiazoftalimídicos por duas rotas de síntese diferentes. A primeira exigia uma etapa a mais, no caso a síntese dos intermediários IPs, dos quatro compostos feitos por esta rota, três tiveram rendimentos razoáveis, o único que teve menor rendimento foi o FT-13 (Quadro 3), assim foi tentado sintetizar este composto pela outra rota de síntese, mas o resultado foi insatisfatório.

Todas as estruturas foram confirmadas pelas técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e carbono, Infravermelho e espectrometria de Massas.

Ensaio biológicos foram realizados com todos os compostos sintetizados, os experimentos foram realizados em células polimorfonucleares de indivíduos saudáveis (PBMC) e nenhum composto apresentou toxicidade nelas, o que é o desejável, pois se o composto for tóxico em células normais não é eficiente para tratamento de enfermidades. O resultado da atividade de IC_{50} *in vitro* em linhagens celulares neoplásicas tais quais: K-562, HL-60, SK-MEL-28 e Miapaca testados com os compostos tiazoftalimídicos, também não tiveram atividade citotóxica.

Por sua vez os compostos tiazacridínicos foram testados nas linhagens celulares neoplásicas: HL-60, MM1S, Panc-1, PC-3, estes compostos não foram capazes de inibir o seu desenvolvimento celular.

A exceção foi composto LPSF/FT-9 que possui o radical (3-fenil-1H-pirazol) apresentou atividade citotóxica na linhagem celular K-562, sendo portanto a mais promissora para continuar o estudo, seja para sintetizar novos derivados utilizando este como base, seja estudo por docking molecular, e/ou realizar novos ensaios biológicos.

Portanto, o nosso laboratório LPSF da UFPE, iniciou esta nova rota de síntese de moléculas através da hibridização molecular da ftalimida com a

tiazolidina-2,4-diona, com o objetivo de buscar novos derivados ftalimídicos mais eficazes, confiáveis, que tenham boa atividade biológica para auxiliar na busca de novos fármacos para o combate do câncer e outras enfermidades. Bem como, prosseguimos os estudos com os derivados da acridina e tiazolidina, as tiazacridinas, com os mesmos objetivos explicitados acima.

REFERÊNCIAS

ACS (American Cancer Society). Cancer Facts and Figures 2017. Atlanta: **American Cancer Society**; 2017.

AHMED, H. E. A.; ABDEL-SALAM, H. A.; SHAKER, M. A. Synthesis, characterization, molecular modeling, and potential antimicrobial and anticancer activities of novel 2-aminoisoindoline-1,3-dione derivatives. **Bioorganic Chemistry**, v. 66, p. 1-11, 2016.

ALEMÁN-GONZÁLEZ-DUHART, D.; TAMAY-CACH, F.; CORREA-BASURTO, J.; PADILLA-MARTÍNEZ, I. I.; ÁLVAREZ-ALMAZÁN, S.; MENDIETA-WEJEBE, J. E. In silico design, chemical synthesis and toxicological evaluation of 1,3- thiazolidine-2,4-dione derivatives as PPAR γ agonists. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 86, p. 25-32, 2017.

ALMEIDA, M. L. **Síntese, caracterização e atividade biológica de novos derivados e atividade biológica de novos derivados da 3-(acridina-9-imetil) tiazolidina-2,4-diona**. 2015. 143 f. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

ALMEIDA, S. M. V.; LAFAYETTE, E. A.; SILVA, L. P. B. G.; AMORIM, C. A. C.; OLIVEIRA, T. B.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; MOURA, R. O.; BELTRÃO, E. I. C.; LIMA, M. C. A.; JÚNIOR, L. B. C. Synthesis, DNA Binding, and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Thiosemicarbazone Derivatives. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 16, p.13023-13042, 2015.

ALMEIDA, S. M. V.; LAFAYETTE, E. A.; SILVA, W. L.; SERAFIM, V. L.; MENEZES, T. M.; NEVES, J. L.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; MOURA, R. O.; BELTRÃO, E. I. C.; JÚNIOR, L. B. C.; LIMA, M. C. A. New spiro-acridines: DNA interaction, antiproliferative activity and inhibition of human DNA topoisomerases. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 467-475, 2016.

ALMEIDA, S. M. V.; RIBEIRO, A. G.; SILVA, G. C. L.; ALVES, J. E. F.; BELTRÃO, E. I. C.; OLIVEIRA, J. F.; JUNIOR, L. B. C.; LIMA, M. C. A. DNA binding and Topoisomerase inhibition: How can these mechanisms be explored to design more specific anticancer agents?. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1538–1556, 2017.

BANSAL, S.; BAJAJ, P.; PANDEY, S.; TANDON, V. Topoisomerases: Resistance versus Sensitivity, How Far We Can Go?. **Medicinal Research Reviews**, v. 37, nº 2, p. 404-438, 2017.

BRAÑA, M. F.; ACERO, N.; AÑORBE, L.; MINGARRO, D. M.; LLINARES, F.; DOMÍNGUEZ, G. Discovering a new analogue of thalidomide which may be used as

a potent modulator of TNF- α production. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p.3533–3542, 2009.

BOLLIMPELLI, V. S.; DHOLANIYA, P. S.; KONDAPI, A. K. Topoisomerase IIb and its role in different biological contexts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 633, p. 78-84, 2017.

CARDOSO, M. V. O.; MOREIRA, D. R. M.; FILHO, G. B. O.; CAVALCANTI, S. M. T.; COELHO, L. C. D.; ESPÍNDOLA, J. W. P.; GONZALEZ, L. R.; RABELLO, M. M.; HERNANDES, M. Z.; FERREIRA, P. M. P.; PESSOA, C.; SIMONE, C. A.; GUIMARÃES, E. T.; SOARES, M. B. P.; LEITE, A. C. L. Design, synthesis and structure - activity relationship of phthalimides endowed with dual antiproliferative and immunomodulatory activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 96, p. 491-503, 2015.

CAS (American Chemical Society). **SciFinder**, 2019. Disponível em: <<https://scifinder.cas.org>>. Acesso em: 19 ago. 2019.

CHADHA, N.; BAHIA, M. S.; KAUR, M.; SILAKARI, O. Thiazolidine-2,4-dione derivatives: Programmed chemical weapons for key protein targets of various pathological conditions. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 2953–2974, 2015.

CHAGAS, M. B. O.; CORDEIRO, N. C. C.; MARQUES, K. M. R.; PITTA, M. G. R.; RÉGO, M. J. B. M.; LIMA, M. C. A.; PITTA, M. G. R.; PITTA, I. R. New thiazacridine agents: Synthesis, physical and chemical characterization, and in vitro anticancer evaluation. **Human and Experimental Toxicology**, v.36, p. 1059-1070, 2017.

CHANG, L.; WEINER, L. S.; HARTMAN, S. J.; HORVATH, S.; JESTE, D.; MISCHER, P. S.; KADO, D. M. Breast cancer treatment and its effects on aging. **Journal of Geriatric Oncology**, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgo.2018.07.010>

COSTA, P. M.; COSTA, M. P.; CARVALHO, A. A.; CAVALCANTI, S. M. T.; CARDOSO, M. V. O.; FILHO, G. B. O.; VIANA, D. A.; FECHINE-JAMACARU, F. V.; LEITE, A. C. L.; MORAES, M. O.; PESSOA, C.; FERREIRA, P. M. P. Improvement of in vivo anticancer and antiangiogenic potential of thalidomide derivatives. **Chemico-Biological Interactions**, v. 239, p.174-183, 2015.

CUNHA, S.; SANTANA, L. L. B. Condensação de Knoevenagel de aldeídos aromáticos com o ácido de Meldrum em água: uma aula experimental de química orgânica verde. **Quim. Nova**, v. 35, n.3, p. 642-647, 2012.

DELGADO, J. L.; HSIEH, C-H.; CHAN, N-L.; HIASA, H. Topoisomerases as anticancer targets. **Biochemical Journal**, v. 475, p. 373-398, 2018.

EL-AARAG, B. Y. A.; KASAI, T.; ZAHARAN, M. A. H.; ZAKHARY, N. I.; SHIGEHIRO, T.; SEKHAR, S. C.; AGWA, H. S.; MIZUTANI, A.; MURAKAMI, H.; KAKUTA, H.; SENO, M. In vitro anti-proliferative and anti-angiogenic activities of thalidomide dithiocarbamate analogs. **International Immunopharmacology**, v. 21, p.283–292, 2014.

FANG, Y-P.; CHUANG, C-H.; WU, P-C.; HUANG, Y-B.; TZENG, C-C.; CHEN, Y-L.; LIU, Y-T.; TSAI, Y-H.; TSAI, M-J. Amsacrine analog-loaded solid lipid nanoparticle to resolve insolubility for injection delivery: characterization and pharmacokinetics. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 10, p. 1019-1028, 2016.

FLIEGAUF, M.; GRIMBACHER, B. NFkB mutations in humans: The devil is in the details. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.06.050. 2018.

GAO, C.; LI, B.; ZHANG, B.; SUN, Q.; LI, L.; LI, X.; CHEN, C.; TAN, C.; LIU, H.; JIANG, Y. Synthesis and biological evaluation of benzimidazole acridine derivatives as potential DNA-binding and apoptosis-inducing agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 1800-1807, 2015.

GUEDES, I. A.; MAGALHÃES, C. S.; DARDENNE, L. E. Receptor–ligand molecular docking. **Biophys Rev**, v. 6, p. 75-87, 2014.

HARADA, K.; KUBO, H.; ABE, J.; HANETA, M.; CONCEPTION, A.; INOUE, S.; OKADA, S.; NISHIOKA, K. Discovery of potent and orally bioavailable 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p.3242–3254, 2012.

JAIN, C. K.; MAJUMDER, H. K.; ROYCHOUDHURY, S. Natural Compounds as Anticancer Agents Targeting DNA Topoisomerases. **Current Genomics**, v. 18, p. 75-92, 2017.

JANA, A.; SAHA, B.; BANERJEE, D. R.; GHOSH, S. K.; NGUYEN, K. T.; MA, X.; QU, Q.; ZHAO, Y.; SINGH, N. D. P. Photocontrolled Nuclear-Targeted Drug Delivery by Single Component Photoresponsive Fluorescent Organic Nanoparticles of Acridin-9-Methanol. **Bioconjugate Chem.**, v. 24, p. 1828-1839, 2013.

JANOCKOVA, J.; PLŠÍKOVÁ, J.; KAŠPÁRKOVÁ, J.; BRABEC, V.; JENDZELOVSKÝ, R.; MIKEŠ, J.; KOVAL, J.; HAMULAKOVÁ, S.; FEDOROČKO, P.; KUČA, K.; KOZURKOVÁ, M. Inhibition of DNA topoisomerases I and II and growth inhibition of HL-60 cells by novel acridine-based compounds. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 76, p.192-202, 2015.

KAFKA, A. P.; KLEFFMANN, T.; RADES, T.; McDowell, A. The application of MALDI TOF MS in biopharmaceutical research. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 417, p. 70-82, 2011.

KUMAR, R.; SHARMA, A.; SHARMA, S.; SILAKARI, O.; SINGH, M.; KAUR, M. Synthesis, characterization and antitumor activity of 2-methyl-9-substituted acridines. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S956-S963, 2017.

KUMAR, R.; KAUR, M.; KUMARI, M. Acridine: A versatile heterocyclic nucleus. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 69, No. 1 p. 3-9, 2012.

LAMIE, P. F.; PHILOPPES, J. N.; EL-GENDY, A. O.; RAROVA, L.; GRUZ, J. Design, Synthesis and Evaluation of Novel Phthalimide Derivatives as *in Vitro* Anti-Microbial, Anti-Oxidant and Anti-Inflammatory Agents. **Molecules**, v. 20, p.16620-16642, 2015.

LAXMI, S. V.; ANIL, P.; RAJITHA, G.; RAO, A. J.; CROOKS, P. A.; RAJITHA, B. Synthesis of thiazolidine-2,4-dione derivatives: anticancer, antimicrobial and DNA cleavage studies. **J Chem Biol**, v.9, p.97–106, 2016.

LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 23-49, 2005.

LI, M.; LIU, Y. Topoisomerase I in Human Disease Pathogenesis and Treatments. **Genomics Proteomics Bioinformatics**, v. 14, p. 166–171, 2016.

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. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, p. 3-25, 1997.

LU, D-Y.; LU, T-R.; ZHU, H.; DING, J.; XU, B.; WU, H-Y.; WU, S-Y.; YARLA, N. S. Anticancer Drug Development, Getting Out from Bottleneck. **Medicinal chemistry**, v. 7, p. 739- 744, 2017.

MATHER, B. D.; VISWANATHAN, K.; MILLER, K. M.; LONG, T. E. Michael addition reactions in macromolecular design for emerging technologies. **Progress in Polymer Science**, v. 31, p. 487-531, 2006.

MEHTA, A. K.; GRACIAS, D. T.; CROFT, M. TNF activity and T cells. **Cytokine**, v. 101, p. 14-18, 2018.

MITOMA, H.; HORIUCHI, T.; TSUKAMOTO, H.; UEDA, N. Molecular mechanisms of action of anti-TNF- α agents – Comparison among therapeutic TNF- α antagonists. **Cytokine**, v. 101, p. 56-63, 2018.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Estimativa 2018 – Incidência de Câncer no Brasil, (Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), 2018.

MUGHAL, A.; KUMAR, D.; VIKRAM, A. Effects of Thiazolidinediones on metabolism and cancer: Relative influence of PPAR γ and IGF-1 signaling. **European Journal of Pharmacology**, v. 768, p. 217–225, 2015.

NAIM, M. J.; ALAM, M. J.; AHMAD, S.; NAWAZ, F.; SHRIVASTAVA, N.; SAHU, M.; ALAM, O. Therapeutic journey of 2,4-thiazolidinediones as a versatile scaffold: An insight into structure activity relationship. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.129, p.218-250, 2017.

NIH (National Institutes of Health). **Developmental Therapeutics Program**. Disponível em: <https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/cell_list.htm>. Acesso em: 24 nov. 2018.

NOWAK, K. Chemical structures and biological activities of bis- and tetrakisacridine derivatives: A review. **Journal of Molecular Structure**, v. 1146, p.562-570, 2017.

PATIL, V.; TILEKAR, K.; MUNJ, S. M.; MOHAN, R.; RAMAA, C. S. Synthesis and primary cytotoxicity evaluation of new 5-benzylidene-2, 4-thiazolidinedione derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 4539-4544, 2010.

PAVIA, D. L.; Lampman G. M.; Kriz, G. S.; Vyvyan, J. R.; **Introdução à espectroscopia**. 4ª Edição. São Paulo: CENGAGE learning, 2013.

POMMIER, Y.; LEO, E.; ZHANG, H.; MARCHAND, C. DNA Topoisomerases and Their Poisoning by Anticancer and Antibacterial Drugs. **Chemistry & Biology**, v. 17, p.421-433, 2010.

PONCE, R. Immunomodulation and cancer: Using mechanistic paradigms to inform risk assessment. **Current Opinion in Toxicology**, v.10, p.98–110, 2018.

RÊGO, M. J. B. M.; GALDINO-PITTA, M. R.; PEREIRA, D. T. M.; SILVA, J. C.; RABELLO, M. M.; LIMA, M. C. A.; HERNANDES, M. Z.; PITTA, I. R.; GALDINO, S. L.; PITTA, M. G. R. Synthesis, in vitro anticancer activity and in silico study of new disubstituted thiazolidinedione derivatives. **Med Chem Res**, v. 23, p. 3220–3226, 2014.

SALEM, O. M.; VILKOVÁ, M.; JANOCKOVÁ, J.; JENDZELOVSKÝ, R.; FEDOROCKO, P.; ZILECKÁ, E.; KASPÁRKOVÁ, J.; BRABEC, V.; IMRICH, J.; KOZURKOVÁ, M. New spiro tria(thia)zolidine–acridines as topoisomerase inhibitors, DNA binders and cytostatic compounds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p.690–700, 2016.

SALERNO, S.; SETTIMO, F.; TALIANI, S.; SIMORINI, F.; MOTTA, C.; FORNACIARI, G.; MARINI, A. M. Recent Advances in the Development of Dual Topoisomerase I and II Inhibitors as Anticancer Drugs. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 4270-4290, 2010.

SANO, H.; NOGUCHI, T.; TANATANI, A.; HASHIMOTO Y.; MIYACHI, H. Design and synthesis of subtype-selective cyclooxygenase (COX) inhibitors derived from thalidomide. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.13, p.3079-3091, 2005.

SONDHI, S. M.; KUMAR, S.; RANI, R.; Chakraborty, A.; Royb, P. Synthesis of Bis-acridine Derivatives Exhibiting Anticancer and Anti-inflammatory Activity. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 50, p.252-260, 2013.

SONDHI, S. M.; SINGH, J.; RANI, R.; GUPTA, P.P.; AGRAWAL, S.K.; SAXENA, A.K. Synthesis, anti-inflammatory and anticancer activity evaluation of some novel acridine derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 45, p.555–563, 2010.

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**, v. 70, p. 3042-3048, 2014.

SUGII, S.; EVANS, R. M. Epigenetic codes of PPAR γ in metabolic disease. **FEBS Letters**, v. 585, p. 2121–2128, 2011.

SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS. **SwissADME**, 2019. Disponível em: <<http://www.swissadme.ch>>. Acesso em: 15 ago. 2019.

TALAAT, R.; EL-SAYEDA, W.; AGWA, H.; GAMAL-ELDEEN, A.; MOAWIA, S.; ZAHRAN, M. Novel thalidomide analogs: Anti-angiogenic and apoptotic effects on Hep-G2 and MCF-7 cancer cell lines. **Biomedicine & Aging Pathology**, v. 4, p.179–189, 2014.

TEMPLE, N. J. Research on cancer: Why we need to switch the focus from mechanistic research to epidemiology and randomized trials. **Journal of Cancer Research and Practice**, v. 4, p.43-44, 2017.

TRAVERS, A.; MUSKHELISHVILI, G. DNA structure and function. **FEBS Journal**, v. 282, p. 2279-2295, 2015.

TILBORGHES, S.; CORTHOOTS, J.; VERHOEVEN, Y.; ARIAS, D.; ROLFO, C.; TRINH, X. B.; DAM, P. A. V. The role of Nuclear Factor-kappa B signaling in human cervical cancer. **Critical Reviews in Oncology / Hematology**, v.120, p. 141-150, 2017.

VÁVROVÁ, A.; SIMUNEK, T. DNA topoisomerase II β : A player in regulation of gene expression and cell differentiation. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 44, p. 834-837, 2012.

VARFOLOMEEV, E.; VUCIC, D. Intracellular regulation of TNF activity in health and disease. **Cytokine**, v. 101, p. 26-32, 2018.

WHO. CANCER FACT SHEETS. Disponível em: <<http://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers>>. Acesso em: 27 set. 2018.

YANG, M. D. C. S.; KIM, B. S. C.; ANTAYA, M. D. R. J. Review of thalidomide use in the pediatric population. **J AM ACAD DERMATOL**, v. 72, p.703-11, 2015.

YASMIN, S.; JAYAPRAKASH, V. Thiazolidinediones and PPAR orchestra as antidiabetic agents: From past to present. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 126, p. 879-893, 2017.

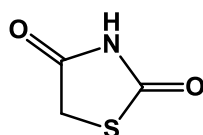
YUAN, Z.; CHEN, S.; CHEN, C.; CHEN, J.; CHEN, C.; DAI, Q.; GAO, C.; JIANG, Y. Design, synthesis and biological evaluation of 4-amidobenzimidazole acridine derivatives as dual PARP and Topo inhibitors for cancer therapy. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 138, p.1135-1146, 2017.

ZAHRAN, M.; AGWA, H.; OSMAN, A.; HAMMAD, S.; EL-AARAG, B.; ISMAIL, N.; SALEM, T.; GAMAL-ELDEEN, A. Synthesis and biological evaluation of phthalimide dithiocarbamate and dithioate derivatives as anti-proliferative and anti-angiogenic agents-I. **European Journal of Chemistry**, v. 8, n^o 4, p. 391-399, 2017.

ZAÑUDO, J. G. T.; STEINWAY, S. N.; ALBERT, R. Discrete dynamic network modeling of oncogenic signaling: Mechanistic insights for personalized treatment of cancer. *Current Opinion in Systems Biology*, v.9, p.1–10, 2018.

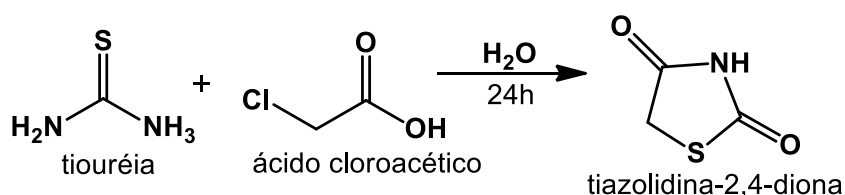
APÊNDICE A - PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Síntese da Tiazolidina-2,4-diona



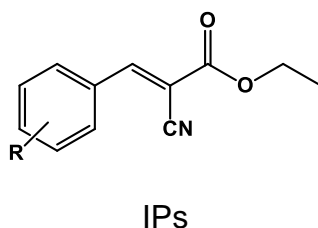
Em balão de fundo redondo de 250ml coloca-se a tiouréia e o ácido cloroacético previamente dissolvido em água destilada, na proporção de 1:1.5 equivalente (eq.), em seguida aquecido a 90 °C por cerca de 28h em agitação. Reação acompanhada por cromatografia de camada delgada (CCD). Nesse tempo ocorre a ciclização entre estes dois reagentes com perda de uma molécula de amônia (esquema 12). Após o fim da reação espera-se esfriar e coloca sob temperatura de cerca de 10 °C para formar precipitado, e após 24h filtra-se com papel filtro. Se necessário lava-se o produto com água destilada e espera secar um pouco antes de colocar no dessecador.

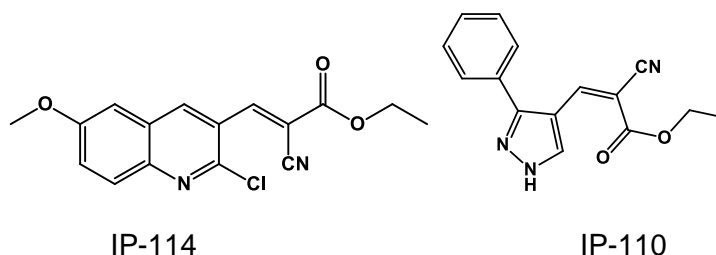
Esquema 12 – Rota de síntese para obtenção da tiazolidina-2,4-diona



Fonte: Autor, 2018

Síntese dos LPSF/IPs (Ésteres de Cope)





No quadro 7 é mostrado todos os Ésteres de Cope sintetizados no projeto.

Quadro 7 – Ésteres de Cope sintetizados.

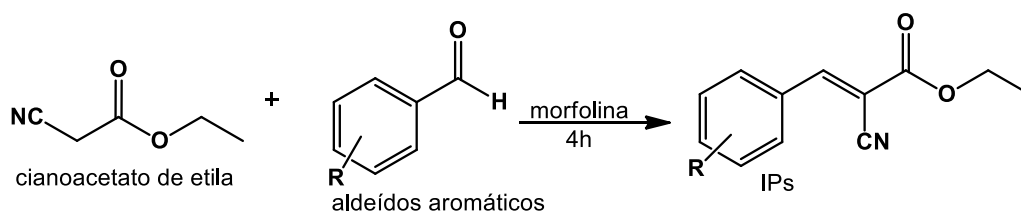
Código LPSF	Aldeído	Radical (R)
IP-25	3-Bromobenzaldeído	3-Br
IP-104	4-Acetamidobenzaldeído	4-NHCOCH ₃
IP- 105	2,3-di-hidrobenzofurano-5 carboxaldeído	3- (2,3-di-hidrobenzofurano)
IP-107	4- (N, N-Difenilamino) benzaldeído	4-difenilamino
IP-108	4- (1H-imidazol-1-il) benzaldeído	4-(1H-imidazol)
IP-109	4 - [(2-cianoetil) metilamino] benzaldeído	4-N(CH ₃)CH ₂ CH ₂ CN
IP-110	3-fenil-1H-pirazol-4-carboxaldeído	3- (3-fenil-1H-pirazol)
IP-111	5- (4-formilfenil) pirimidina	4-pirimidina
IP-114	2-cloro-6-metoxi-3-quinolinacarboxaldeído	3- (2-cloro-6-metoxiquinolina)
IP-115	Indole-5-carboxaldeído	3-1H-indol-5-il

Fonte: Autor, 2018

Esses compostos foram sintetizados em balões de fundo redondo (250ml) de duas ou três bocas, nele foram adicionados: tolueno e os reagentes aldeídos específicos (1 eq.) para cada IP. Quando em agitação através de uma barra magnética é adicionado o cianoacetato de etila (1.5 eq.). Por último é acrescentado o catalisador morfolina (2 eq.) e aquecido à 110°C de temperatura por cerca de 4 horas, acompanhados por CCD. A remoção do solvente sob vácuo pode ser necessária caso não forme cristais. Após filtrados os produtos são lavados com

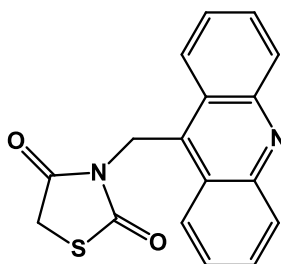
etanol e secos. No esquema 13 é visto a rota desta síntese, onde o éster cianoacetato de etila reage com os aldeídos aromáticos por uma reação chamada de condensação de Knoevenagel.

Esquema 13 – Rota de síntese para obtenção dos Ésteres de Cope (IPs)



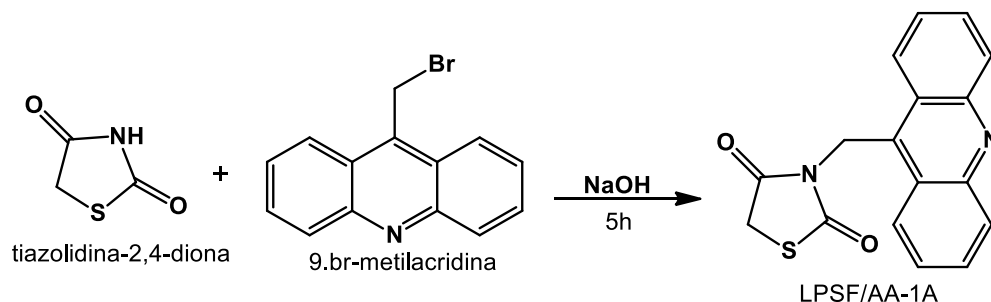
Fonte: Autor, 2018

Síntese do LPSF/AA-1A (3-Acrídina-9-il-metil-tiazolidina-2,4-diona)



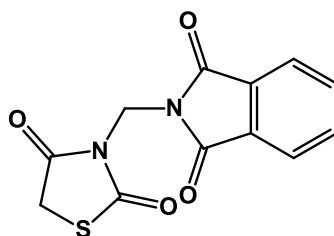
Primeira etapa da síntese: Em um béquer solubiliza-se hidróxido de sódio (NaOH) (1 eq.) macerado em etanol. Na segunda etapa: tiazolidina-2,4-diona (1.5 eq.) é colocada num balão de 250 ml de capacidade com etanol para solubilização. Na terceira etapa: Junta-se os dois conteúdos no balão com barra agitadora e aguarda por cerca de 30 minutos. Na quarta etapa: Adiciona o 9-bromo-metil acridina (1 eq.), em seguida é aquecido por cerca de 65 °C de temperatura, com a reação levando por volta de 5h para reagir por completo, acompanhada por CCD. Após alguns minutos do término da reação observa-se cristais na amostra e o mesmo deve ser filtrado e lavado com etanol, sendo em seguida guardado para secar. Como pode ser visto no esquema 14 a rota de síntese desta reação.

Esquema 14 – Rota de síntese para obtenção do intermediário (LPSF/AA-1A)



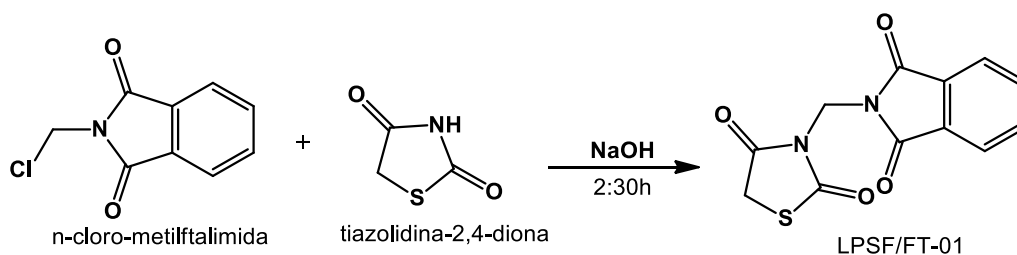
Fonte: Autor, 2018

Síntese do 3-((1,3-dioxisoindolin-2-il)metil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/FT-01)



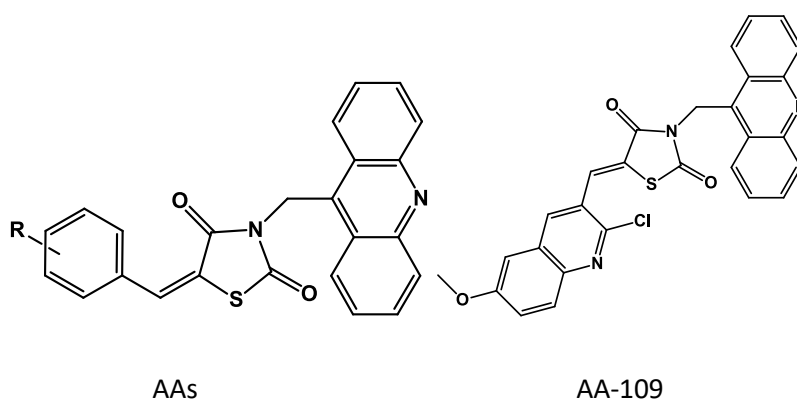
Em balões de fundo redondo com duas ou três bocas de 250 ml de capacidade, a TZD (1.2 eq.) é solubilizada com acetonitrila em um béquer. Em outro béquer o NaOH (1.2 eq.), é após maceração no cadinho de porcelana, solubilizado em metanol e acetonitrila. Em seguida, o balão é colocado para reagir com a TZD por cerca de 30 minutos em agitação. Por último é acrescentada o *N*-cloro-metilftalimida (1 eq.) e mais acetonitrila para solubilizar. A reação ocorre a 65 °C de temperatura por cerca de 2:30h e acompanhada por CCD. Após o término da reação o produto é filtrado, com o sal formado ficando retido no papel. Assim, o produto líquido é colocado na geladeira, onde fica por cerca de 72h para formar os cristais de cor branca em seguida filtrados. A rota de síntese desta reação é vista no esquema 15.

Esquema 15 – Rota de síntese para obtenção do intermediário (LPSF/FT-01)



Fonte: Autor, 2018

Síntese dos derivados finais LPSF/AAs (Tiazacridinas)



No Quadro 8 é mostrado todos os derivados da acridina sintetizadas no projeto.

Quadro 8 – Tiazacridinas sintetizadas

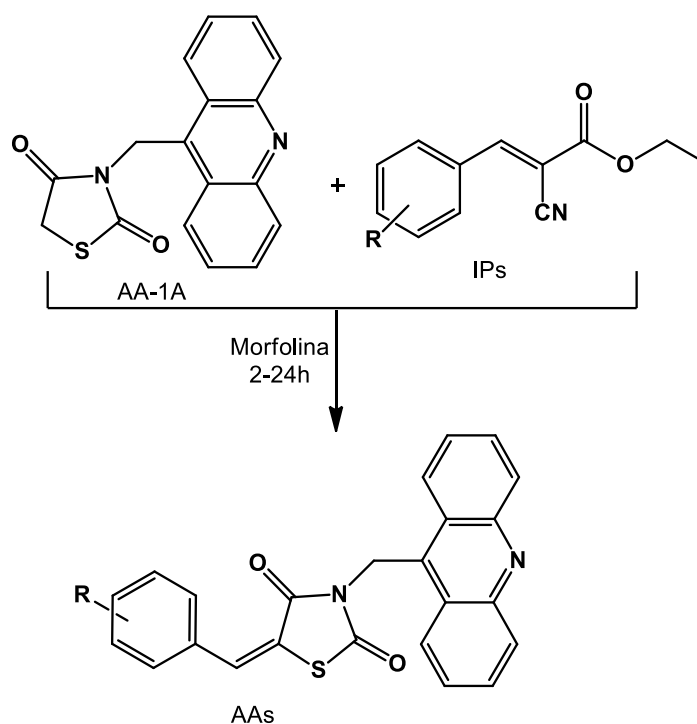
Código LPSF	Intermediário	Molécula
AA-99	IP-104	<i>N</i> -(4-((3-(acridin-9-ilmetil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil) acetamida
AA-100	IP-105	3-(acridin-9-ilmetil)-5-((2,3-di-hidrobenzofuran-5-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona
AA-102	IP-107	3-(acridin-9-ilmetil)-5-(4-(difetilamina) benzilideno) tiazolidina-2,4-diona
AA-103	IP-108	5-(4-(1H-imidazol-1-il) benzilideno)-3-(acridin-9-ilmetil) tiazolidina-2,4-diona
AA-104	IP-109	3-((4-((3-(acridin-9-ilmetil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)(metil)amino) propanonitrila

AA-109	IP-114	3-(acridin-9-ilmetil)-5-((2-cloro-6-metoxiquinolín-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona
AA-110	IP-115	5-((1H-indol-5-il)metileno)-3-(acridin-9-ilmetil) tiazolidina-2,4-diona
AA-111	IP-111	3-(acridin-9-ilmetil)-5-(4-(pirimidin-5-il) benzilideno) tiazolidina-2,4-diona

Fonte: Autor, 2018.

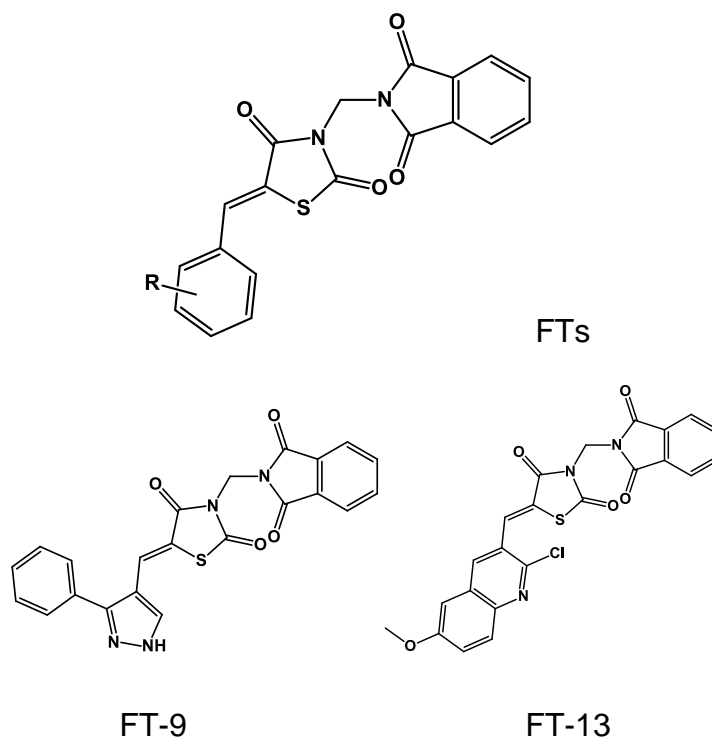
Em balões de fundo redondo (250 ml), o intermediário AA-1A (1 eq.) é adicionado e acrescenta-se etanol até sua solubilização. Em agitação, é adicionado o IP específico para cada reação (1.1 eq.). Por último a morfolina como catalisador (2 eq.), e em seguida o balão é aquecido até atingir a temperatura de 65°C de temperatura. O tempo de síntese varia entre 2h a até 24h, acompanhada através de Cromatografia em camada delgada (CCD) e Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Após o fim da reação espera-se o produto atingir a temperatura ambiente e filtra-se o mesmo com os cristais retidos no papel filtro e lavados com etanol. A rota desta reação pode ser vista no esquema 16.

Esquema 16 – Rota de síntese para obtenção dos produtos finais (LPSF/AAs)



Fonte: Autor, 2018.

Síntese dos derivados finais LPSF/FTs (Tiazoftalimidas)



No quadro 9 é mostrado todos os derivados tiazoftalimídicos sintetizados durante o projeto, todos aqueles que foram sintetizados com sucesso e boa pureza.

Quadro 9 – Derivados Tiazoftalimídicos sintetizados

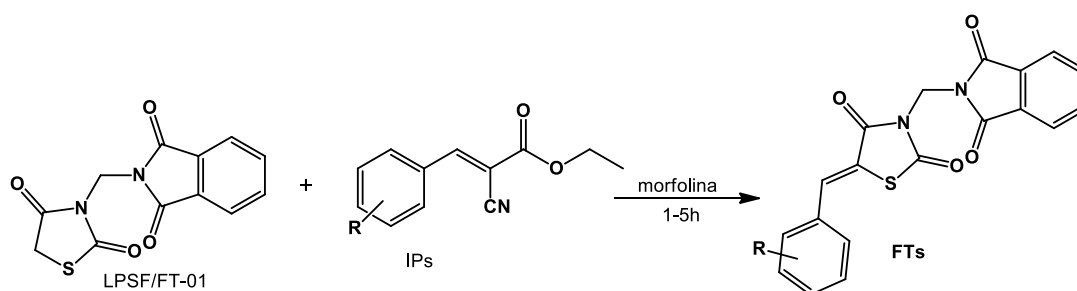
Código	Intermediário	Molécula
FT-2	4-acetoxibenzaldeído	4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno) metil) fenil acetato
FT-3	4-acetamidobenzaldeído	<i>N</i> -4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil) -2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno) metil) fenil) acetamida
FT-4	2,3-di-hidrobenzofurano-5-carboxaldeído	5-((2,3-di-hidrobenzofuran-6-il) metileno) -3-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil) tiazolidina-2,4-diona
FT-6	4- (<i>N,N</i> -Difenilamino) benzaldeído	3-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil) -5-(4- (difenilamino) -benzilideno) tiazolidina-2,4-diona
FT-7	IP-108	5-(4-(1H-imidazol-1-il) benzilideno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil) tiazolidina-2,4-diona
FT-8	IP-109	3-((4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil) -2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno) metil) fenil) (metil) amino)

		propanonitrila
FT-9	3-fenil-1H-pirazol-4-carboxaldeído	3-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil) -5-((3-fenil-1H-pirazol-4-il) metileno) tiazolidina-2,4-diona
FT-13	IP-114	5-((2-cloro-6-metoxiquinolin-3-il) metileno) -3-((1,3-dioxoisindolin-2- il) metil) tiazolidina-2,4-diona
FT-15	5- (4-formilfenil) pirimidina	3-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil) -5-(4-(pirimidin-5- il) benzilideno) tiazolidina-2,4-diona
FT-18	IP-25	5-(3-Bromobenzilideno) -3-((1,3-dioxoisindolin-2-il) metil) tiazolidina-2,4-diona

Fonte: Autor, 2018.

As Tiazoftalimididas foram feitas por duas metodologias diferentes, a primeira delas foi seguindo o modelo da síntese das Tiazacridinas por adição de Michael. Os compostos FTs (7, 8, 13 e 18) foram realizados da seguinte forma: A FT-01 (1eq.) é solubilizada no balão de 250 ml com etanol, em seguida o IP (1.2 eq.) específico de cada reação é adicionado, enquanto os reagentes estão em agitação é acrescentado a morfolina (2 eq.). No momento que a temperatura atingir 65 °C, a reação se mantém por cerca de 1 a 5 horas acompanhado por CCD. O tempo varia um pouco dependendo dos IPs. Por fim o produto é filtrado e lavado com etanol. Como pode ser visto no esquema 17.

Esquema 17 – Rota de síntese para obtenção dos compostos finais (LPSF/FTs) por reação de adição de Michael.

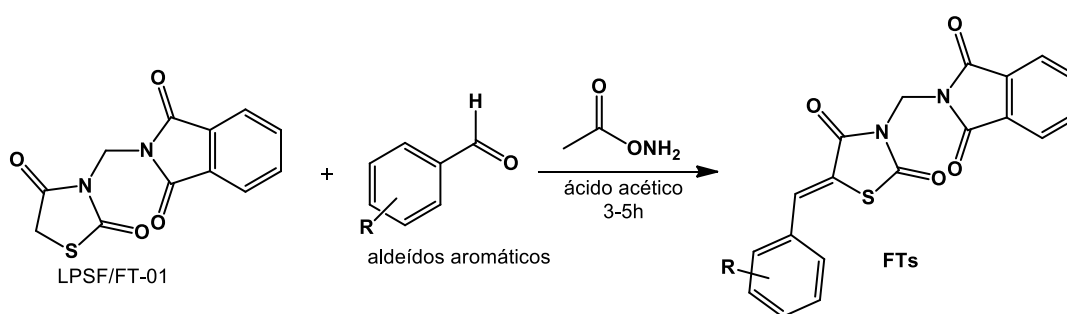


Fonte: Autor, 2018.

A segunda metodologia já foi realizada anteriormente no nosso laboratório com resultados satisfatórios. Neste caso ocorre uma condensação de Knoevenagel, seguindo os processos feitos por Harada *et al.* (2012). Os compostos (FT-2, 3, 4, 6,

9 e 15) foram feitos como se segue: A FT-01 (1eq.) é solubilizada no balão de 250 ml com ácido acético glacial, cerca de 4 ml para cada 1 mmol da FT-01. Em seguida são adicionados o aldeído (1.2 eq.) e o acetato de amônia (2 eq.). Em seguida o balão é aquecido até 110 °C de temperatura sendo a reação acompanhada por CCD. O tempo de reação varia entre 3h e 5h. No final da reação o produto é filtrado e lavado com auxílio de água, como pode ser visto no esquema 18.

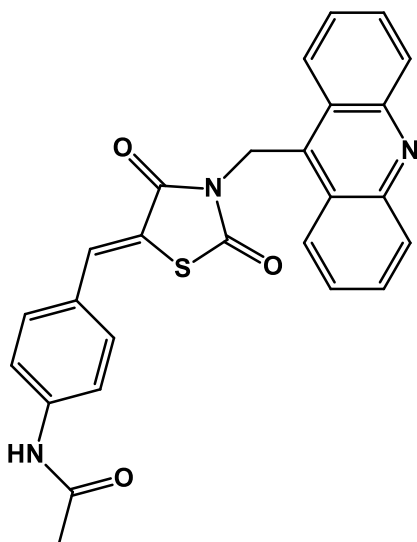
Esquema 18 – Rota de síntese para obtenção dos compostos finais (LPSF/FTs) por condensação.



Fonte: Autor, 2018.

APÊNDICE B - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ANÁLISES ESTRUTURAIS DETALHADAS

N-(4-((3-(acridin-9-ilmetil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)acetamida (LPSF AA-99)



FM = C₂₆H₁₉N₃O₃S

PM = 453.11

PF = 290 °C

RF= 0.18 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = bege

Rendimento = 66%

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

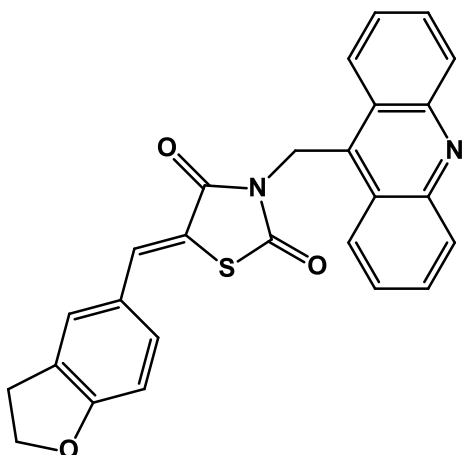
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8,45 (d, 2H, *J*=9 Hz, -AcrH) (a), 8,18 (d, 2H, *J*=9 Hz, -AcrH) (b), 7,85 (m, 3H, *J*=16,5 Hz) (g, f), 7,68 (m, 4H, *J*=25,2 Hz, AcrH) (d, c), 7,52 (d, 2H, *J*=8,7 Hz, ArH) (i), 5,91 (s, 2H, -CH₂) (e), 2,1 (s, 3H, -CH₃) (h).

RMN ¹³C: δ 168.80, 167.38, 165.62, 148.01, 141.62, 137.53, 133.66, 131.40, 129.96, 129.85, 127.04, 126.34, 125.07, 124.59, 119.06, 117.72, 38.65, 24.09.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3302 (N-H), 1741 (C=O), 1678 (C=O), 1598 (C=C), 1378 (C-N), 765 (C-H).

MS (*m/z*): 453.10, encontrado: 453.08.

3-(acridin-9-ilmetil)-5-((2,3-di-hidrobenzofuran-5-il)metileno)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-100)



FM = C₂₆H₁₈N₂O₃S

PM = 438.10

PF = 244.5 °C

RF = 0.5 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo-esverdeado

Rendimento = 62%

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

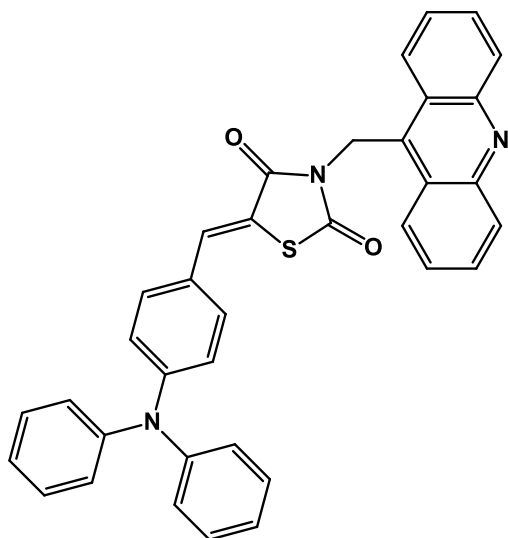
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8,46 (d, 2H, *J*=8,7 Hz, -AcrH) (a), 8,18 (d, 2H, *J*=8,4 Hz, AcrH) (b), 7,85 (m, 3H, *J*=15,3 Hz) (d, f), 7,67 (m, 2H, *J*=16,8 Hz, AcrH) (c), 7,45 (s, 1H, ArH) (i), 7,37 (dd, 1H, *J*=10,5 Hz, ArH) (g), 6,90 (d, 1H, *J*=8,1 Hz, ArH) (j), 5,91 (s, 2H, -CH₂) (e), 4,6 (t, 2H, *J*=17,7 Hz) (h), 3,21 (t, 2H, *J*=17,7 Hz) (k).

RMN ¹³C: δ 167.49, 165.77, 162.31, 148.09, 137.74, 134.52, 132.21, 130.09, 129.89, 129.36, 127.20, 126.43, 125.33, 125.16, 124.70, 116.16, 110.01, 72.11, 38.22, 28.51.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3041 (C-H), 1740 (C=O), 1681 (C=O), 1597 (C=C), 1374 (C-N), 1127 (C-O), 761 (C-H).

MS (*m/z*): 438.10, encontrado: 438.49.

3-(acridin-9-ilmetil)-5-(4-(difenilamina)benzilideno)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-102)



FM = C₃₆H₂₅N₃O₂S

PM = 563.16

PF = 223.8 °C

RF = 0.73 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = laranja-claro

Rendimento = 56,2%

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

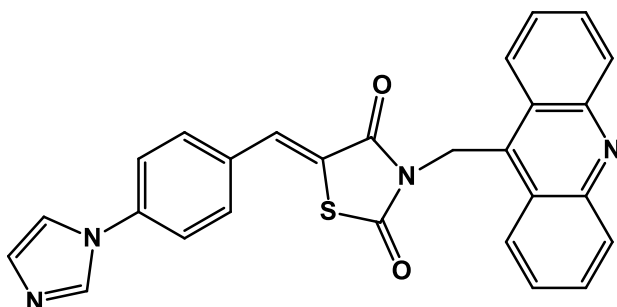
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8,46 (d, 2H, *J*=8,7 Hz, -AcrH) (a), 8,18 (d, 2H, *J*=8,4 Hz, AcrH) (b), 7,85 (m, 3H, *J*=21,3 Hz, =CH, AcrH) (f, d), 7,68 (m, 2H, *J*=16,5 Hz, ArH) (g), 7,41 (m, 6H, *J*=29,4 Hz, ArH) (c, j), 7,16 (m, 6H, *J*=25,2 Hz, ArH) (i, h), 6,89 (d, 2H, *J*=8,7 Hz, ArH) (k), 5,92 (s, 2H, -CH₂) (e).

RMN ¹³C: δ 149.66, 148.04, 145.66, 137.68, 132.05, 130.00, 129.89, 126.34, 125.89, 125.10, 125.02, 124.65, 124.59, 119.58, 116.02, 109.51, 38.65.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3041 (C-H), 1730 (C=O), 1670 (C=O), 1579 (C=C), 1379 (C-N), 761 (C-H).

MS (*m/z*): 563.16, encontrado: 563.16.

**5-(4-(1H-imidazol-1-il)benzilideno)-3-(acridin-9-ilmetil)tiiazolidina-2,4-diona
(LPSF AA-103)**



FM = C₂₇H₁₈N₄O₂S

PM = 462.11

PF = 301 °C

RF = 0.16 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo-claro

Rendimento = 77,2%

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

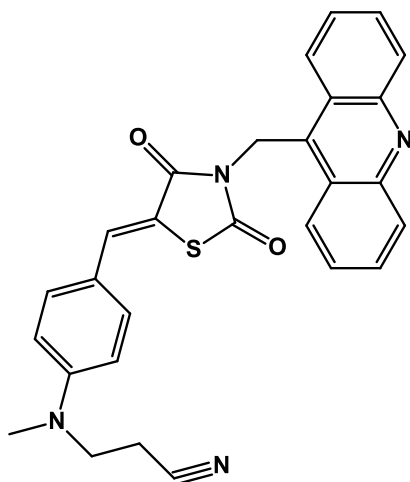
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8,47 (d, 2H, *J*=8,7 Hz, AcrH) (a), 8,38 (s, 1H, =CH) (f), 8,19 (d, 2H, *J*=8,7 Hz, AcrH) (b), 7,99 (s, 1H, ArH) (j), 7,85 (m, 5H, *J*=21,6 Hz, AcrH, ArH) (d, c, h), 7,7 (t, 4H, *J*=17,7 Hz, ArH) (g, i), 7,13 (s, 1H, ArH) (k), 5,94 (s, 2H, -CH₂) (e).

RMN ¹³C: δ 167.20, 148.07, 138.06, 137.45, 131.82, 130.98, 130.32, 130.05, 129.89, 126.41, 125.13, 124.64, 120.53, 109.52, 67.51.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3008 (C-H), 1737 (C=O), 1683 (C=O), 1597 (C=C), 1375 (C-N), 752 (C-H).

MS (*m/z*): 462.11, encontrado: 462.99.

3-((4-((3-(acridin-9-ilmetil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)(metil)amino)propanonitrila (LPSF AA-104)



FM = C₂₈H₂₂N₄O₂S

PM = 478.14

PF = 242.7 °C

RF = 0.31 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo

Rendimento = 30,64%

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

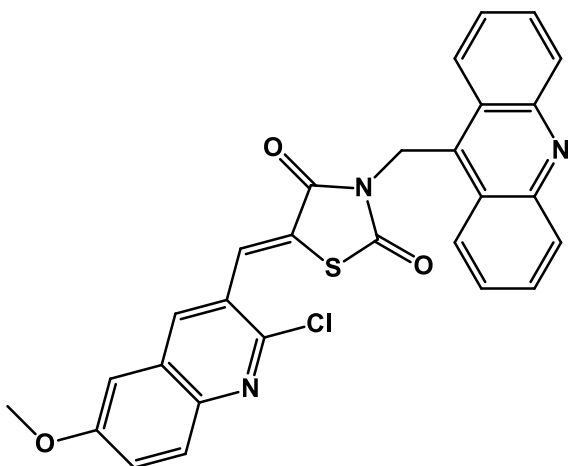
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8,47 (d, 2H, *J*=8,7 Hz, AcrH) (a), 8,18 (d, 2H, *J*=9 Hz, AcrH) (b), 7,85 (t, 2H, *J*=15,3 Hz, AcrH) (d), 7,81 (s, 1H, =CH) (f), 7,67 (t, 2H, *J*=14,7 Hz, AcrH) (c), 7,42 (d, 2H, *J*=9,6 Hz, ArH) (g), 6,88 (d, 2H, *J*=9 Hz, ArH) (i), 5,90 (s, 2H, -CH₂) (e), 3,75 (t, 2H, *J*=13,5 Hz, -CH₂) (h), 3,02 (s, 3H, CH₃) (k), 2,75 (t, 2H, *J*=13,5 Hz, -CH₂) (j).

RMN ¹³C: δ 167.43, 165.66, 149.99, 148.01, 137.80, 134.71, 132.47, 129.94, 129.82, 126.28, 125.07, 124.65, 120.32, 119.24, 112.88, 112.27, 47.06, 38.04, 37.85, 14.96.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 2967 (C-H), 2246 (C≡N), 1731 (C=O), 1681 (C=O), 1579 (C=C), 1375 (C-N), 751 (C-H).

MS (*m/z*): 478.14, encontrado: 477.96.

3-(acridin-9-ilmetil)-5-((2-cloro-6-metoxiquinolin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-109)



FM = $C_{28}H_{18}ClN_3O_3S$

PM = 511.07

PF = 256.8 °C

RF = 0.67 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo-claro

Rendimento = 81,9%

RMN 1H e ^{13}C (300 MHz, δ ppm, DMSO- d_6), MS e IV

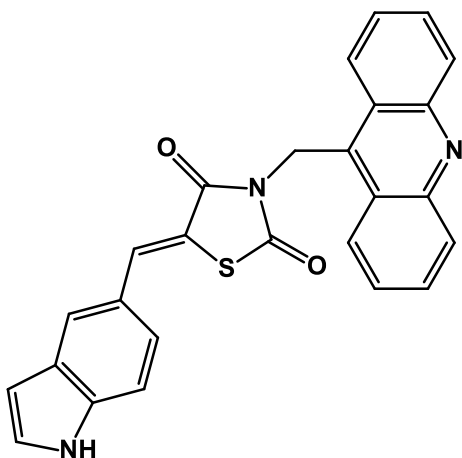
RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8,49 (s, 1H, ArH) (g), 8,46 (d, 2H, $J=2,4$ Hz, AcrH) (a), 8,20 (d, 2H, $J=81$ Hz, AcrH) (b), 8,04 (s, 1H, =CH) (f), 7,88 (m, 3H, $J=16,5$ Hz, ArH) (d, j), 7,7 (m, 3H, $J=27$ Hz, ArH) (c, h), 7,52 (dd, 1H, $J=12,3$ Hz, ArH) (i), 5,96 (s, 2H, -CH $_2$) (e), 3,90 (s, 3H, -CH $_3$) (k).

RMN ^{13}C : δ 150.42, 148.06, 137.17, 130.05, 129.89, 127.81, 126.49, 125.52, 125.13, 124.59, 106.78, 90.06, 55.76.

IV (cm $^{-1}$) em pastilhas de KBr: 3043 (C-H), 1745 (C=O), 1685 (C=O), 1619 (C=C), 1493 (C=C), 1234 (C-O), 762 (C-H).

MS (m/z): 511.07, encontrado: 511.35.

5-((1H-indol-5-il)metileno)-3-(acridin-9-ilmetil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-110)



FM = C₂₆H₁₇N₃O₂S

PM = 435.10

PF = 304.8 °C

RF = 0.42 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo

Rendimento = 34,8%

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

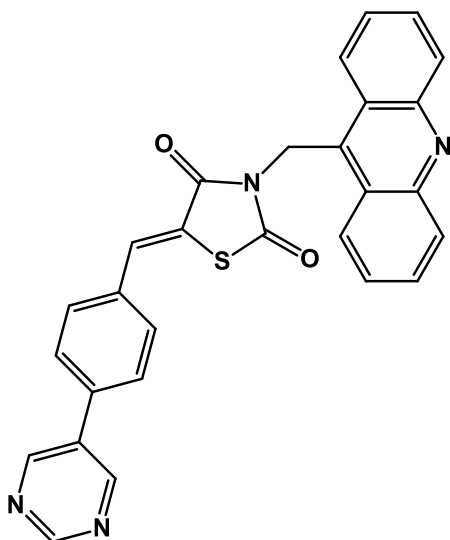
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 11,48 (s, 1H, NH) (k), 8,48 (d, 2H, *J*=8,7 Hz, AcrH) (a), 8,19 (d, 2H, *J*=8,4 Hz, AcrH) (b), 8,02 (s, 1H, =CH) (f), 7,87 (m, 3H, *J*=15 Hz, ArH) (d, g), 7,68 (m, 2H, *J*=15,6 Hz, AcrH) (c), 7,48 (m, 2H, *J*=28,2 Hz, ArH) (i), 7,31 (dd, 1H, *J*=10,5 Hz, ArH) (j), 6,56 (s, 1H, ArH) (h), 5,93 (s, 2H, -CH₂) (e).

RMN ¹³C: δ 148.10, 136.58, 130.14, 129.89, 128.24, 126.48, 125.20, 124.74, 124.28, 123.81, 123.36, 102.55, 38.21.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3087 (C-H), 1736 (C=O), 1676 (C=O), 1595 (C=C), 1376 (C-N), 757 (C-H).

MS (*m/z*): 435.10, encontrado: 435.42.

3-(acridin-9-ilmetil)-5-(4-(pirimidin-5-il)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-111)



FM = C₂₈H₁₈N₄O₂S

PM = 474.11

PF = 294.2 °C

RF = 0.25 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo-claro

Rendimento = 78,6 %

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

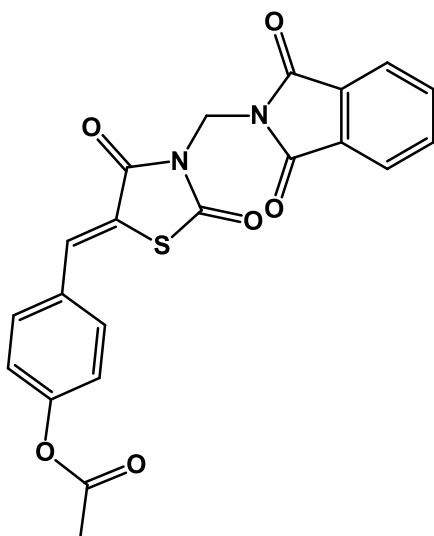
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 9,21 (s, 3H, ArH) (h), 8,48 (d, 2H, *J*=8,7 Hz, AcrH) (a), 8,20 (d, 2H, *J*=8,7 Hz, AcrH) (b), 7,99 (d, 3H, *J*=11,7 Hz) (f, d), 7,87 (t, 2H, *J*=15,9 Hz, AcrH) (c), 7,7 (m, 4H, *J*=22,8 Hz, ArH) (i, g), 5,95 (s, 2H, -CH₂) (e).

RMN ¹³C: δ 167.37, 165.98, 158.06, 154.83, 148.70, 136.21, 135.86, 133.64, 133.24, 133.03, 131.11, 130.57, 129.81, 127.65, 126.69, 125.66, 124.21, 121.86, 38.22.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3050 (C-H), 1742 (C=O), 1684 (C=O), 1597 (C=C), 1375 (C-N), 763 (C-H).

MS (*m/z*): 474.11, encontrado: 473.94.

4-((3-((1,3-dioxoisoindolin-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil acetato (LPSF FT-2)



FM = C₂₁H₁₄N₂O₆S

PM = 422.05

PF = 263 °C

RF = 0,3 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo-claro

Rendimento = 56,7 %

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

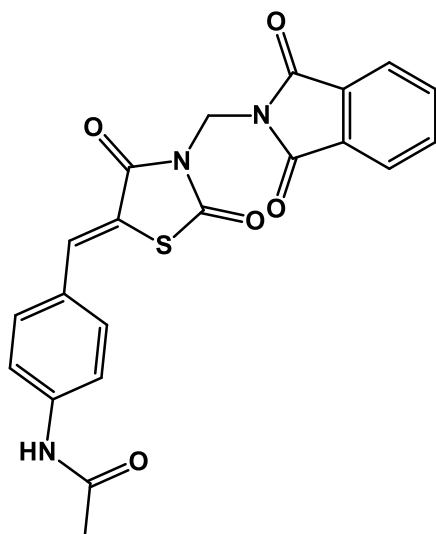
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 7,87 (m, 5H, *J* = 28,2 Hz, CH, FtH) (i,g,h), 7,46 (d, 2H, *J* = 8,4 Hz, ArH) (f), 6,91 (d, 2H, *J* = 9 Hz, ArH) (e), 5,49 (s, 2H, -CH₂) (d), 2,29 (s, 3H, -CH₃) (a).

RMN ¹³C: δ 166.43, 166.36, 164.62, 160.27, 134.81, 133.94, 132.65, 131.18, 123.69, 123.41, 116.41, 115.87, 43.77.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 1745 (C=O), 1722 (C=O), 1585 (C=C), 725 (C-H).

MS (*m/z*): 422.05, encontrado: 423.9 (M+H).

***N*-(4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)acetamida (LPSF FT-3)**



FM = C₂₁H₁₅N₃O₅S

PM = 421.07

PF = 277.5 °C

RF = 0,14 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo

Rendimento = 80,4 %

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

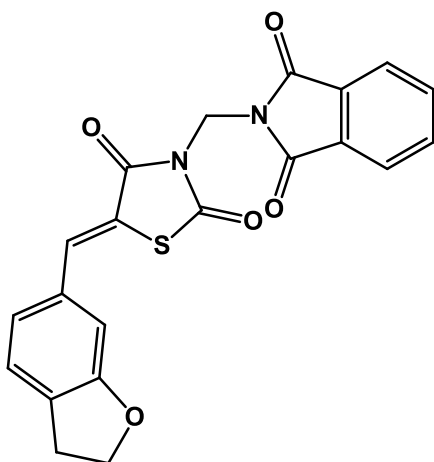
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 7,88 (m, 5H, *J* = 24,3 Hz, CH, FtH) (i,g,h), 7,74 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz, ArH) (f), 7,55 (d, 2H, *J* = 9 Hz, ArH) (e), 5,49 (s, 2H, -CH₂) (d), 2,07 (s, 3H, -CH₃) (a).

RMN ¹³C: δ 168.84, 166.34, 164.55, 141.57, 134.80, 133.20, 131.36, 131.20, 127.15, 123.41, 119.12, 118.05, 43.77, 40.32, 24.11.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3382 (N-H), 1745 (C=O), 1717 (C=O), 1580 (C=C), 726 (C-H).

MS (*m/z*): 421.07, encontrado: 422.02 (M+H).

5-((2,3-di-hidrobenzofuran-6-il)metileno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-4)



FM = C₂₁H₁₄N₂O₅S

PM = 406.06

PF = 255.9 °C

RF = 0,46 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo-claro

Rendimento = 75,5 %

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, CDCl₃), MS e IV

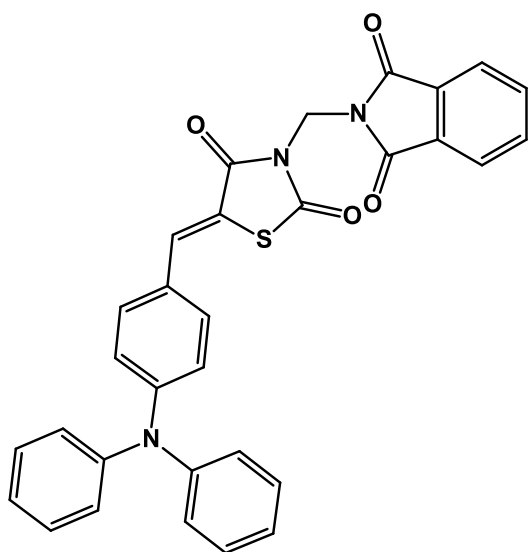
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,88 (m, 3H, *J*= 12,3 Hz, CH, FtH) (g,h), 7,74 (m, 2H, *J*= 8,7 Hz, ArH) (i), 7,30 (dd, 2H, *J*= 9,6 Hz, ArH) (c,f), 6,85 (d, 1H, *J*= 9 Hz, ArH) (e), 5,66 (s, 2H, -CH₂) (d), 4,66 (t, 2H, *J*= 17,7 Hz) (b), 3,26 (t, 2H, *J*= 17,7 Hz) (a).

RMN ¹³C: δ 166.59, 162.67, 135.25, 134.44, 132.40, 131.56, 128.71, 127.02, 125.78, 123.84, 116.47, 110.27, 72.13, 43.36, 29.17.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 1779 (C=O), 1736 (C=O), 1594 (C=C), 710 (C-H).

MS (*m/z*): 406.06, encontrado: 406.11.

3-((1,3-dioxoisoindolin-2-il)metil)-5-(4-(difenilamino)benzilideno) tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-6)



FM = $C_{31}H_{21}N_3O_4S$

PM = 531.12

PF = 133 °C

RF = 0,58 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo

Rendimento = 95,3 %

RMN 1H e ^{13}C (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$), MS e IV

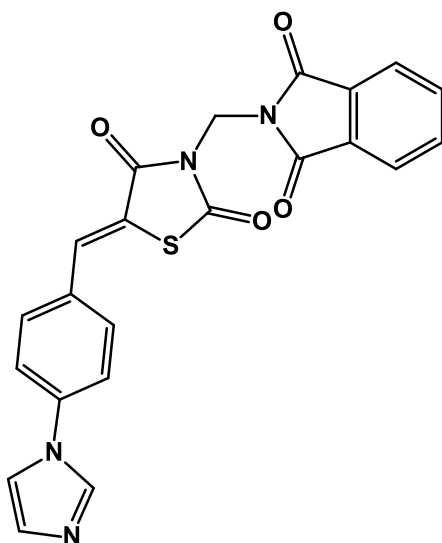
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,88 (m, 2H, $J=9$ Hz, FtH) (h), 7,82 (s, 1H, CH) (g), 7,74 (m, 2H, $J=8,1$ Hz, FtH) (i), 7,32 (m, 6H, $J=24,3$ Hz, ArH) (a,b), 7,15 (m, 6H, $J=22,5$ Hz, ArH) (c,f), 7,01 (d, 2H, $J=8,7$ Hz, ArH) (e), 5,66 (s, 2H, CH_2) (d).

RMN ^{13}C : δ 166.58, 165.32, 150.23, 146.23, 134.73, 134.41, 131.88, 131.58, 131.27, 129.69, 129.63, 129.08, 126.29, 125.95, 125.13, 125.08, 124.79, 123.82, 120.47, 119.32, 116.18, 43.38.

IV (cm^{-1}) em pastilhas de KBr: 3033 (C-H), 1730 (C=O), 1582 (C=C), 1291 (C-N), 725 (C-H).

MS (m/z): 531.12, encontrado: 531.38.

5-(4-(1H-imidazol-1-il)benzilideno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-7)



FM = C₂₂H₁₄N₄O₄S

PM = 430.07

PF = 263 °C

RF = 0,22 (hexano/AcOEt 6:4)

Cor = amarelo-claro

Rendimento = 44,2 %

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

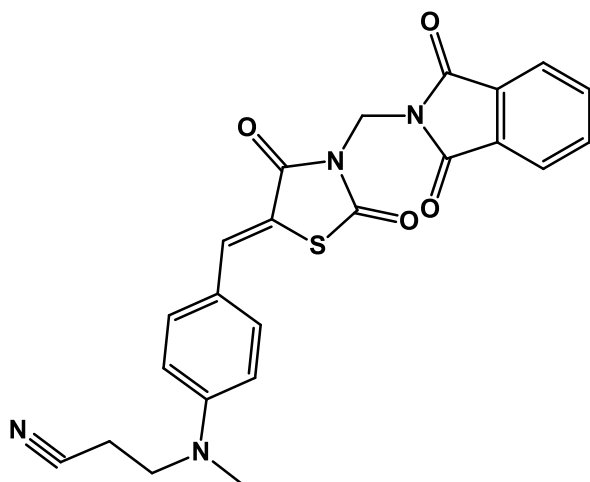
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8,39 (s, 1H, CH) (g), 7,89 (m, 8H, J= 42,3 Hz, ArH) (h,i,e,f), 7,74 (d, 2H, J= 8,1 Hz, ArH) (a,b), 7,14 (s, 1H, ArH) (c), 5,51 (s, 2H, -CH₂) (d).

RMN ¹³C: δ 166.34, 166.06, 164.39, 138.00, 135.63, 134.83, 132.31, 131.76, 131.21, 131.04, 130.31, 123.43, 120.56, 117.69, 43.83.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3136 (C-H), 1732 (C=O), 1598 (C=C), 1320 (C-N), 724 (C-H).

MS (m/z): 430.07, encontrado: 431.03 (M+H).

3-((4-((3-((1,3-dioxoisoindolino-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)(metil)amino)propanonitrila (LPSF FT-8)



FM = C₂₃H₁₈N₄O₄S

PM = 446.10

PF = 241 °C

RF = 0,7 (hexano/AcOEt 1:1)

Cor = laranja

Rendimento = 60,5 %

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

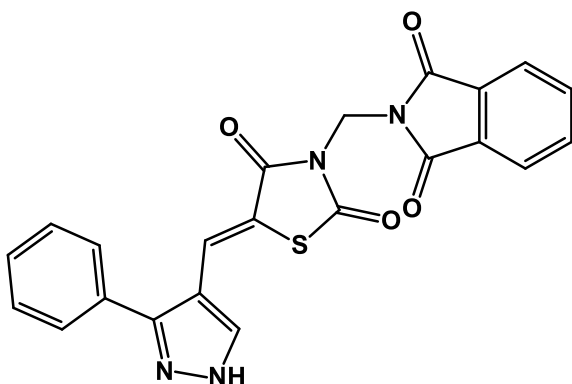
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 7,88 (m, 5H, *J* = 34,2 Hz, CH, FtH) (g,h,i), 7,45 (d, 2H, *J* = 9,6 Hz, ArH) (f), 6,91 (d, 2H, *J* = 9,3 Hz, ArH) (e), 5,48 (s, 2H, -CH₂) (d), 3,77 (t, 2H, *J* = 13,5 Hz, CH₂) (c), 3,04 (s, 3H, CH₃) (a), 2,76 (t, 2H, *J* = 12,9 Hz, CH₂) (b).

RMN ¹³C: δ 170.83, 166.37, 166.28, 164.61, 149.97, 134.80, 134.26, 132.44, 131.17, 123.38, 120.42, 112.33, 47.11, 43.50, 33.49, 14.99.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 2917 (C-H), 2248 (C≡N), 1721 (C=O), 1582 (C=C), 1319 (C-N).

MS (*m/z*): 446.10, encontrado: 446.07.

3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-5-((3-fenil-1H-pirazol-4-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-9)



FM = C₂₂H₁₄N₄O₄S

PM = 430.07

PF = 214 °C

RF = 0,21 (hexano/AcOEt 7:3)

Cor = amarelo-claro

Rendimento = 84,3 %

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆), MS e IV

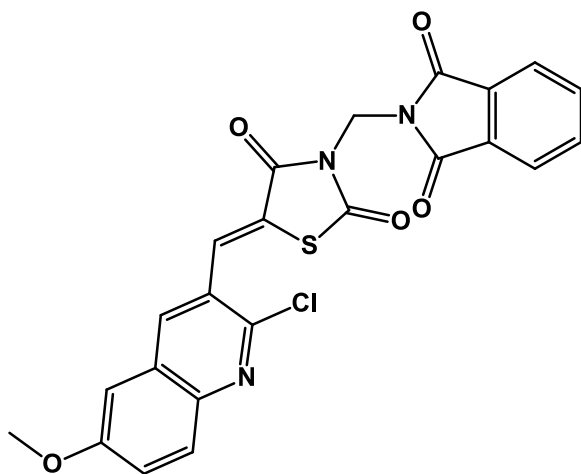
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 13,82 (s, 1H, NH) (e), 8,24 (s, 1H, CH) (f), 7,87 (m, 4H, *J* = 27,9 Hz, ArH) (h,i), 7,61 (t, 6H, *J* = 39 Hz, ArH) (a,b,c,g), 5,46 (s, 2H, CH₂) (d).

RMN ¹³C: δ 166.32, 165.87, 164.34, 134.80, 131.18, 129.01, 128.59, 123.39, 117.18, 112.57, 43.76.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3321 (N-H), 3015 (C-H), 1710 (C=O), 1610 (C=C), 1318 (C-N).

MS (*m/z*): 430.07, encontrado: 431.19 (M+H) e 453.23 (M+Na).

5-((2-cloro-6-metoxiquinolin-3-il)metileno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiatzolidina-2,4-diona (LPSF FT-13)



FM = C₂₃H₁₄ClN₃O₅S

PM = 479.03

PF = 316.8 °C

RF = 0,43 (hexano/AcOEt 7:3)

Cor = amarelo

Rendimento = 22,5 %

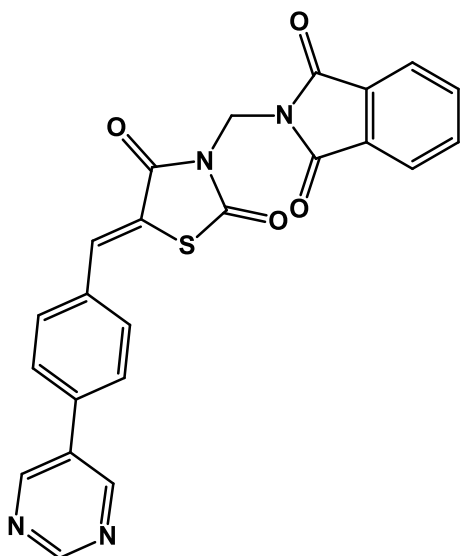
RMN ¹H (300 MHz, δ ppm, CDCl₃), MS e IV

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 8,30 (s, 1H, ArH) (k), 8,13 (s, 1H, CH) (g), 7,91 (m, 3H, J= 12 Hz, j= 2,4 Hz, ArH) (h,j), 7,77 (m, 2H, J= 6,3 Hz, 2,4 Hz, ArH) (i), 7,44 (d, 1H, J= 8,7 Hz, j= 4,5 Hz, ArH) (c), 7,09 (d, 1H, J= 2,1 Hz, ArH) (b), 5,70 (s, 2H, CH₂) (d), 3,95 (s, 3H, CH₃) (a).

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3043 (C-H), 1746 (C=O), 1621 (C=C), 1232 (C-O), 717 (C-H).

MS (*m/z*): 479.03, encontrado: 479.90.

3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-5-(4-(pirimidin-5-il)benzilideno) tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-15)



FM = C₂₃H₁₄N₄O₄S

PM = 442.07

PF = 288 °C

RF = 0,51 (hexano/AcOEt 7:3)

Cor = amarelo

Rendimento = 87,3 %

RMN ¹H e ¹³C (300 MHz, δ ppm, CDCl₃), MS e IV

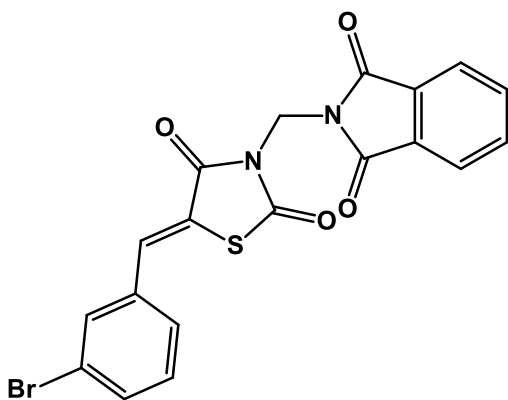
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 9,25 (s, 1H, ArH) (a), 8,99 (s, 2H, ArH) (b), 7,96 (s, 1H, CH) (g), 7,90 (m, 4H, *J* = 8,4 Hz, ArH) (h,i), 7,72 (m, 4H, *J* = 45,3 Hz, ArH) (c,e), 5,69 (s, 2H, CH₂) (d).

RMN ¹³C: δ 166.53, 164.85, 158.04, 154.84, 134.53, 133.67, 133.40, 133.06, 131.50, 131.16, 127.67, 123.88, 121.84, 43.52.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3014 (C-H), 1749 (C=O), 1597 (C=C), 1312 (C-N), 727 (C-H).

MS (*m/z*): 442.07, encontrado: 443.24 (M+H).

**5-(3-bromobenzilideno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiiazolidina-2,4-diona
(LPSF FT-18)**



FM = C₁₉H₁₁BrN₂O₄S

PM = 441.96

PF = 210 °C

RF = 0,23 (hexano/AcOEt 7:3)

Cor = Branco

Rendimento = 68 %

RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, δ ppm, CDCl₃), MS e IV

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,89 (m, 2H, *J* = 8,4 Hz, ArH) (h), 7,82 (s, 1H, CH) (g), 7,75 (m, 2H, *J* = 8 Hz, ArH) (i), 7,61 (t, 1H, *J* = 3,6 Hz, ArH) (e), 7,55 (dt, 1H, *J* = 11,2 Hz, ArH) (c), 7,41 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz, ArH) (a), 7,34 (t, 1H, *J* = 16 Hz, ArH) (b), 5,67 (s, 2H, CH₂) (d).

RMN ¹³C: δ 166.54, 164.72, 135.05, 123.34, 122.32, 43.52.

IV (cm⁻¹) em pastilhas de KBr: 3088 (C-H), 1748 (C=O), 1602 (C=C), 1313 (C-N), 723 (C-H).

MS (*m/z*): 441.96, encontrado: 442.90 (M+H).

APÊNDICE C - ESPECTROS DE RMN ¹H, MALDI-TOF, E INFRAVERMELHO DAS TIAZOFTALIMIDAS E TIAZACRIDINAS

Composto 4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil acetato (LPSF FT-2)

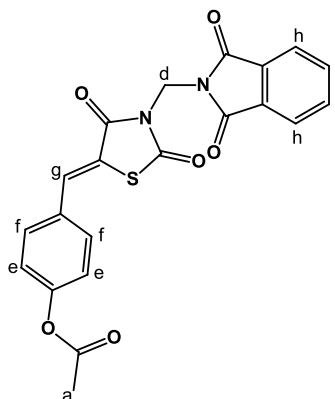


Figura 37 – Espectro do RMN ¹H do LPSF FT-2

Sample Name	Q0209_17	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2018-03-15	Solvent	dmsc	Spectrometer	Agilent300-vnmrs300	Operator	vnmr1

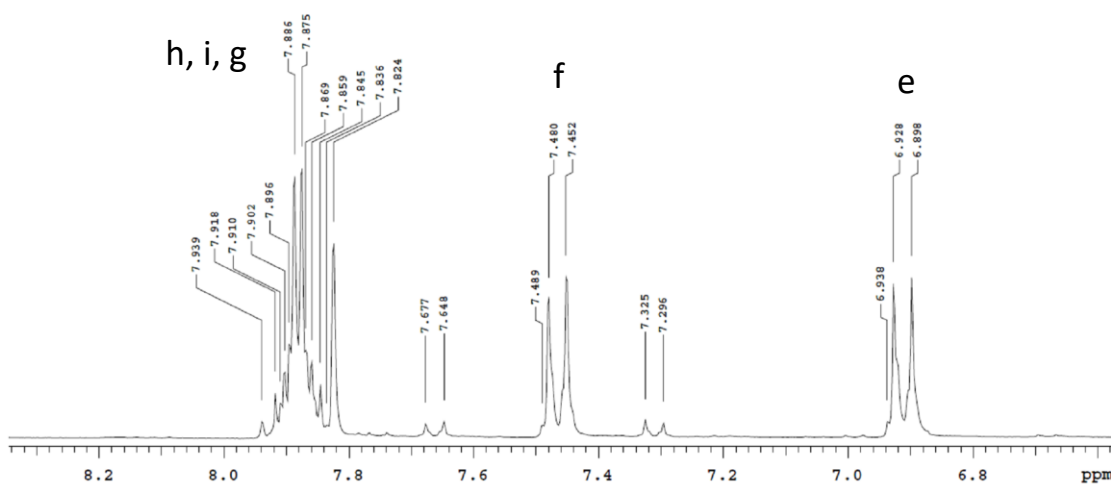
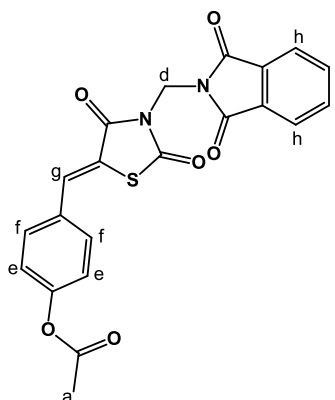


Figura 38 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF FT-2

Sample Name	Q0209_17	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	vmmr1
Date collected	2018-03-15	Solvent	dmsd	Spectrometer	Agilent300-nmrs300	Operator	vmmr1

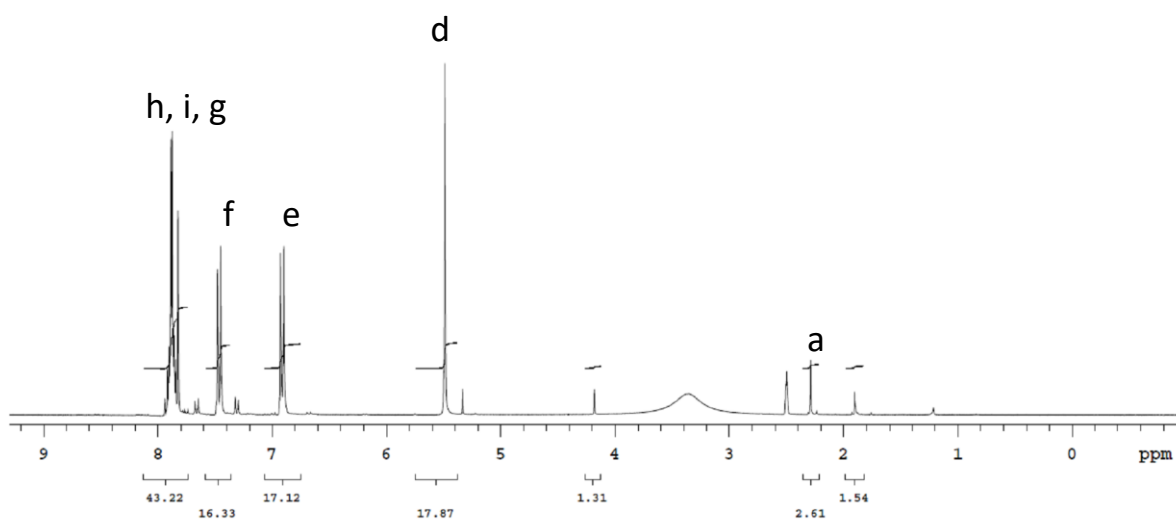


Figura 39 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil acetato (LPSF FT-2) (MM=422)

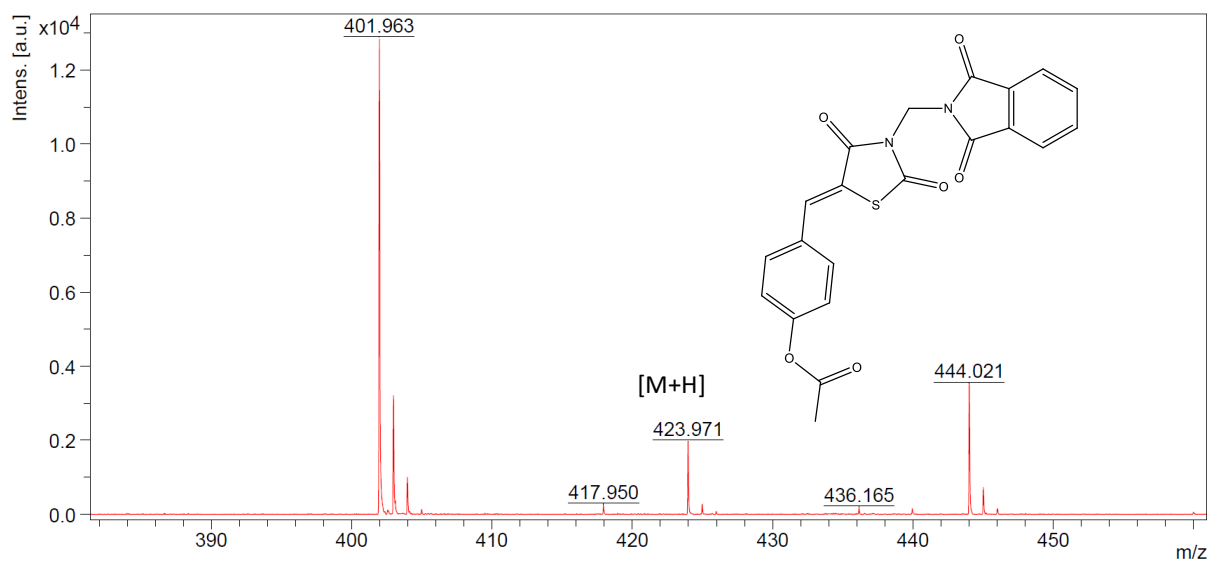
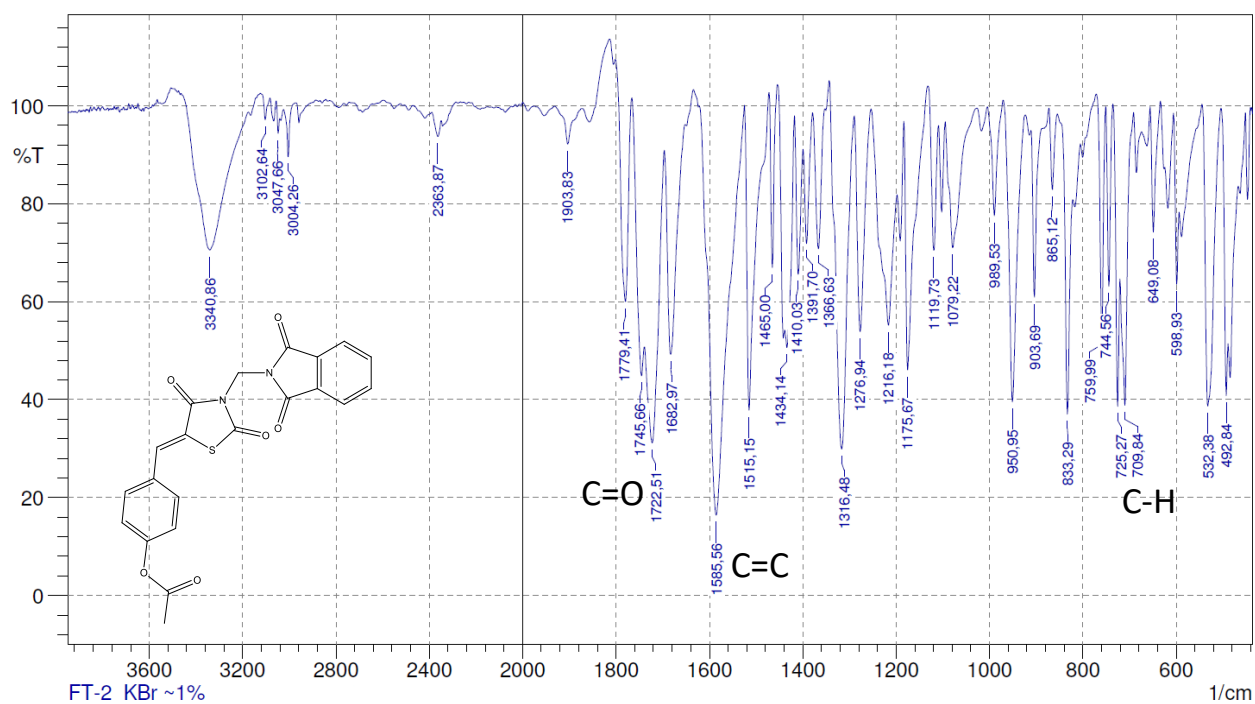


Figura 40 – Espectro de IV do LPSF FT-2.



Estiramento de C=O, 1745 cm⁻¹, 1722 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1585 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 725 cm⁻¹.

Composto *N*-(4-((3-((1,3-dioxoisoindolin-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)acetamida (LPSF FT-3)

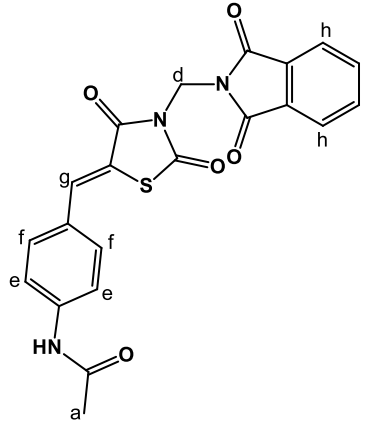


Figura 41 – Espectro do RMN ^1H do LPSF FT-3

Sample Name	P1218_9	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	central
Date collected	2018-01-11	Solvent	dmsd	Spectrometer	Agilent300-nmrs300	Operator	central

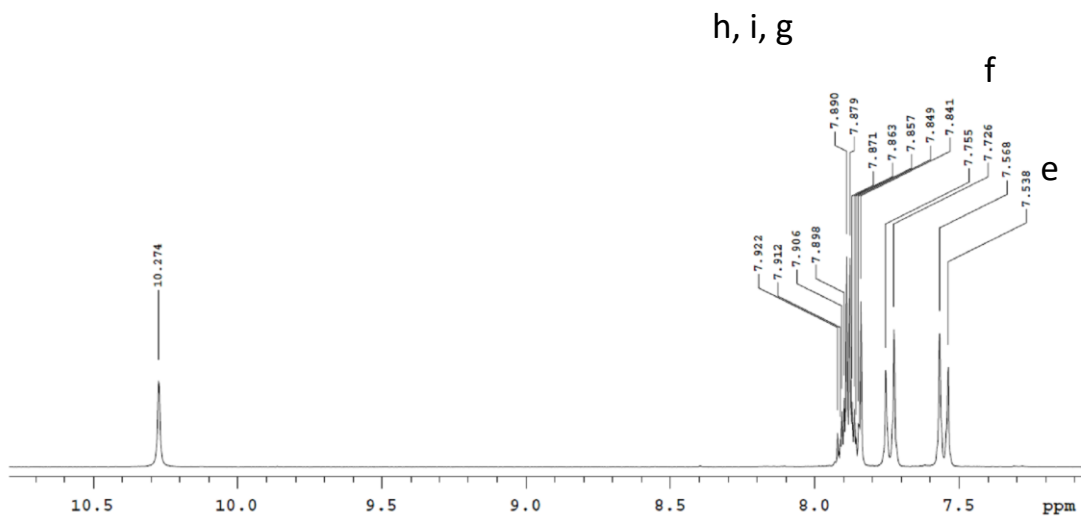
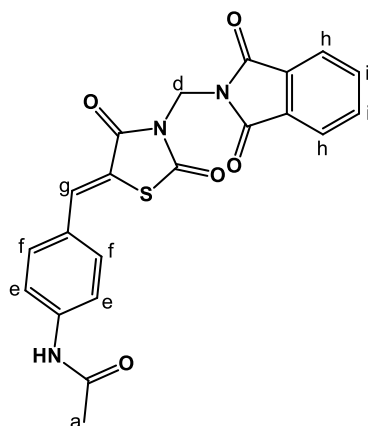


Figura 42 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF FT-3

Sample Name	P1218_9	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	central
Date collected	2018-01-11	Solvent	dmsd	Spectrometer	Agilent300-vnmrs300	Operator	central

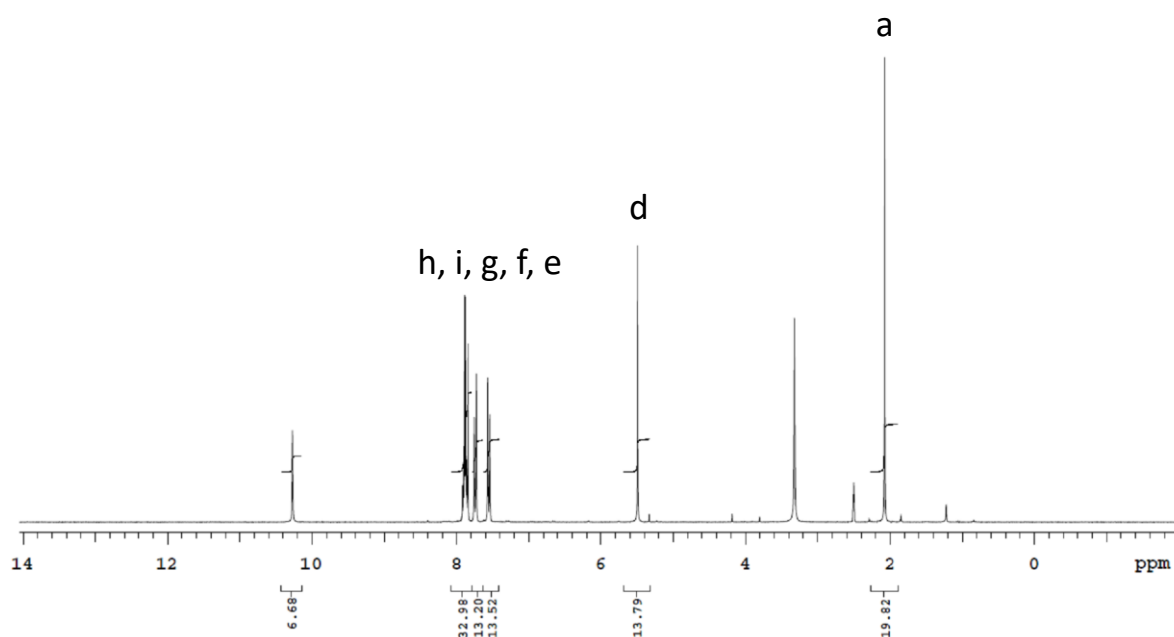


Figura 43 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do *N*-4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)acetamida (LPSF FT-3) (MM=421)

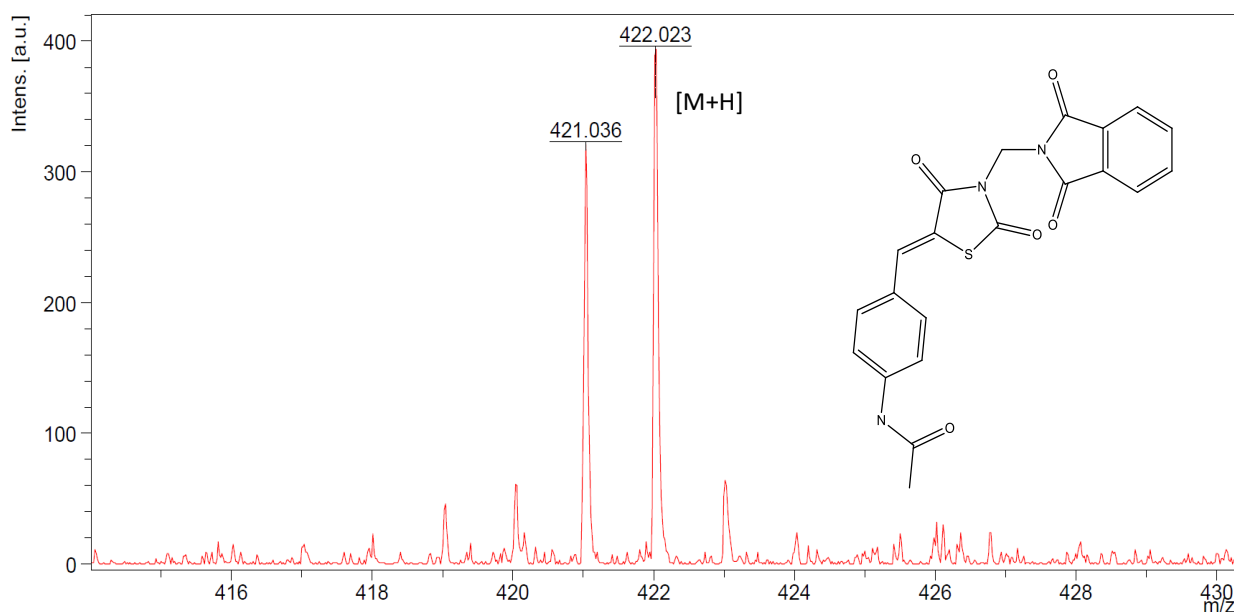
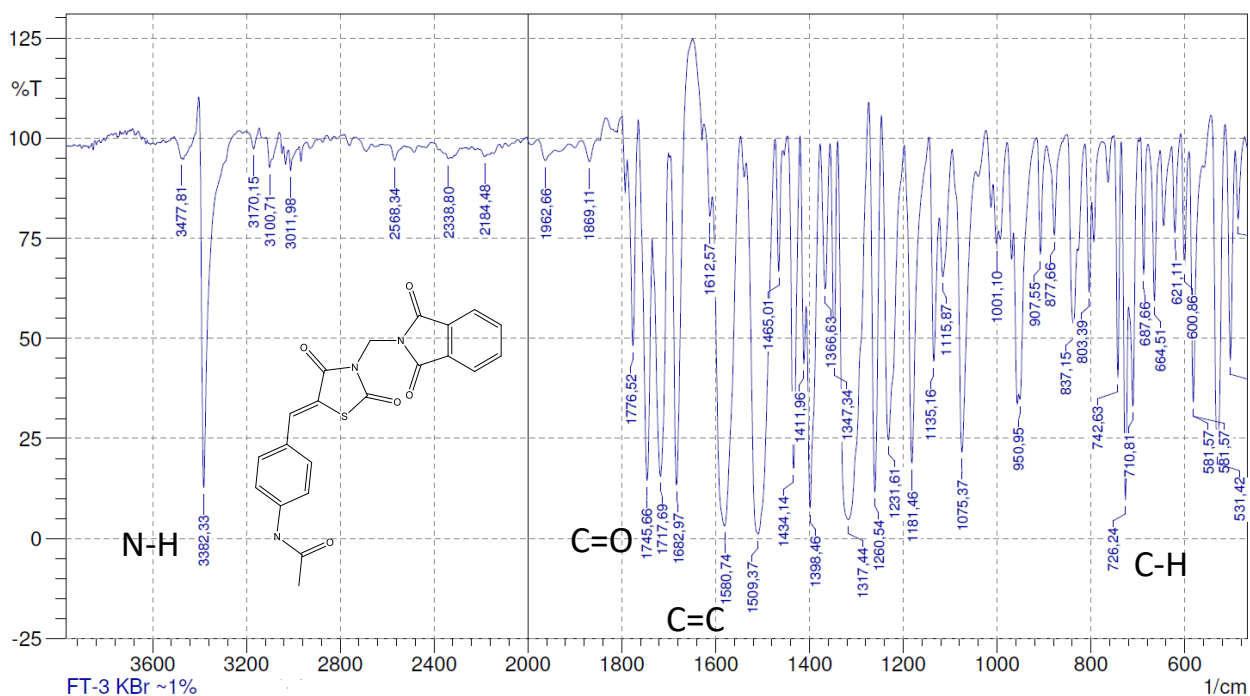


Figura 44 – Espectro de IV do LPSF FT-3.



Estiramento de C=O, 1745 cm^{-1} , 1717 cm^{-1} . Estiramento das ligações C=C do alceno, 1580 cm^{-1} . Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 726 cm^{-1} . Estiramento N-H, 3382 cm^{-1} .

Composto 5-((2,3-di-hidrobenzofuran-6-il)metileno)-3-((1,3- dioxoisindolin-2-il)metil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 4)

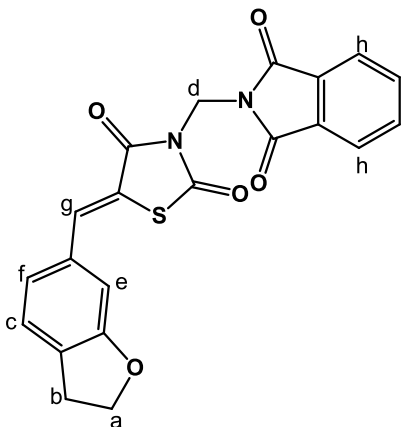


Figura 45 – Espectro do RMN ^1H do LPSF FT-4

Sample Name	P1030_2	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-10-31	Solvent	cdcl3	Spectrometer	Agilent300.vnmrs300	Operator	vnmr1

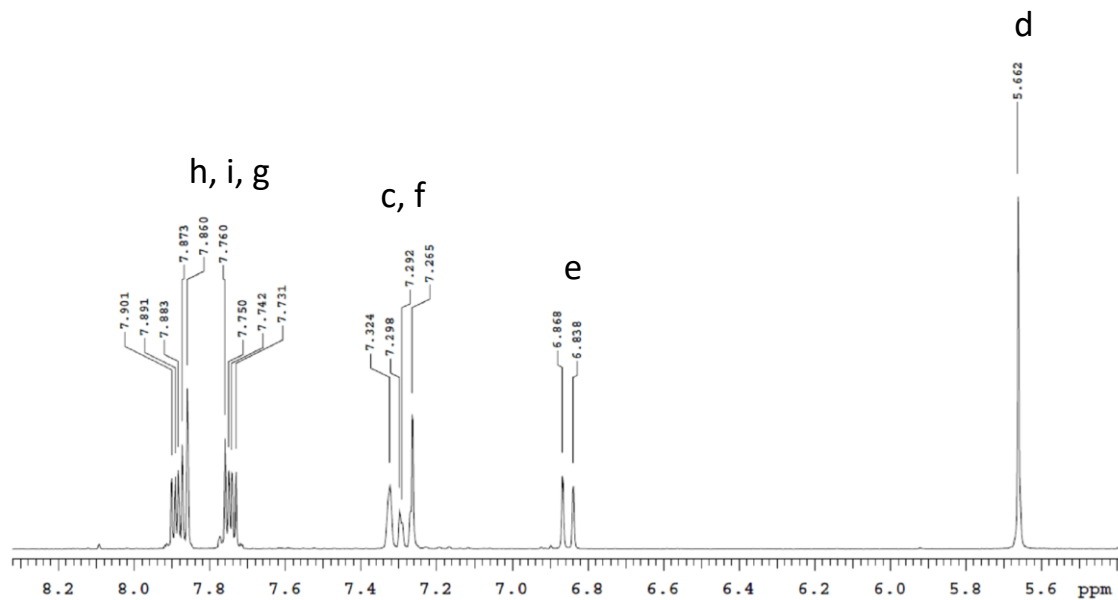


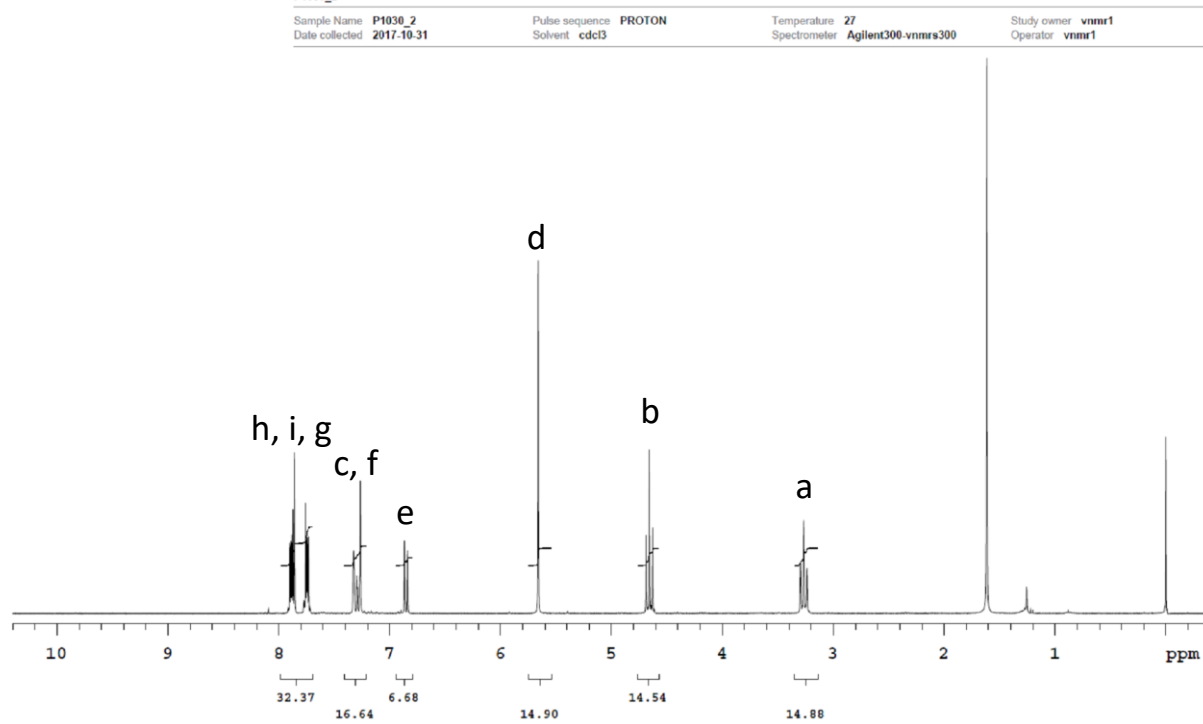
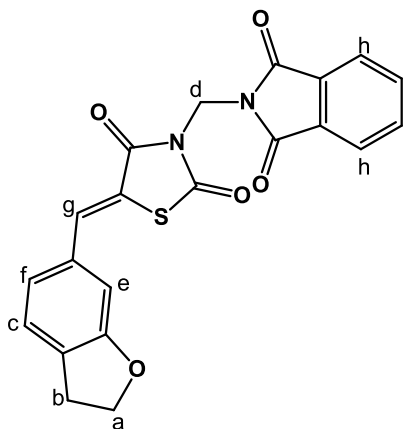
Figura 46 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF FT-4

Figura 47 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-((2,3-di-hidrobenzofuran-6-il)metileno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 4) (MM=406)

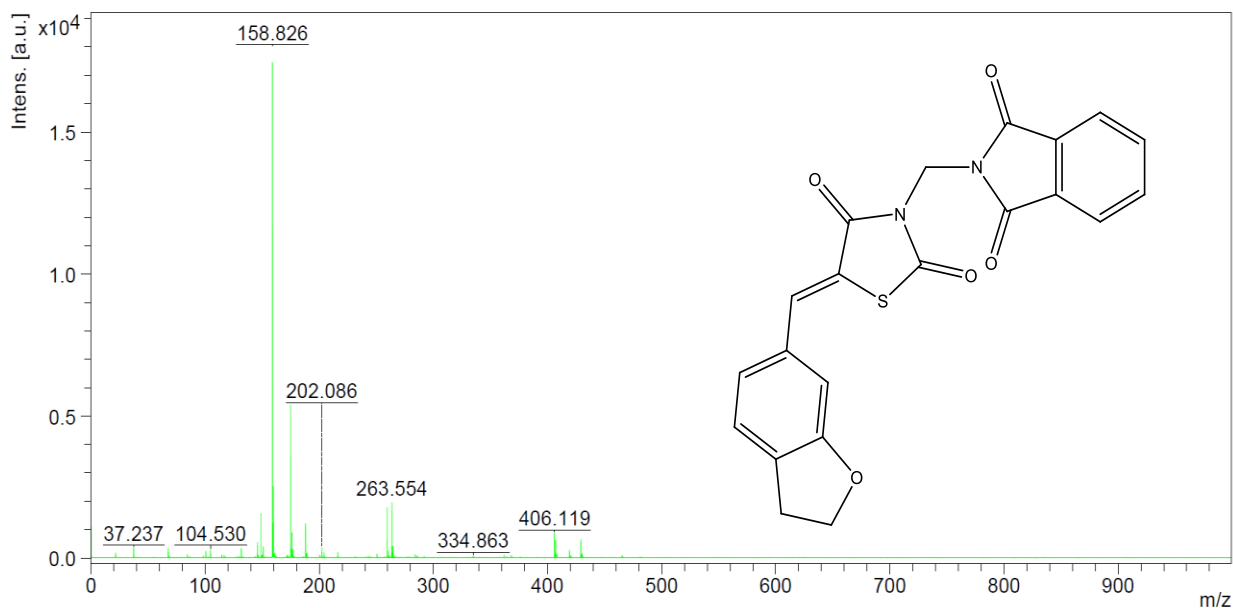
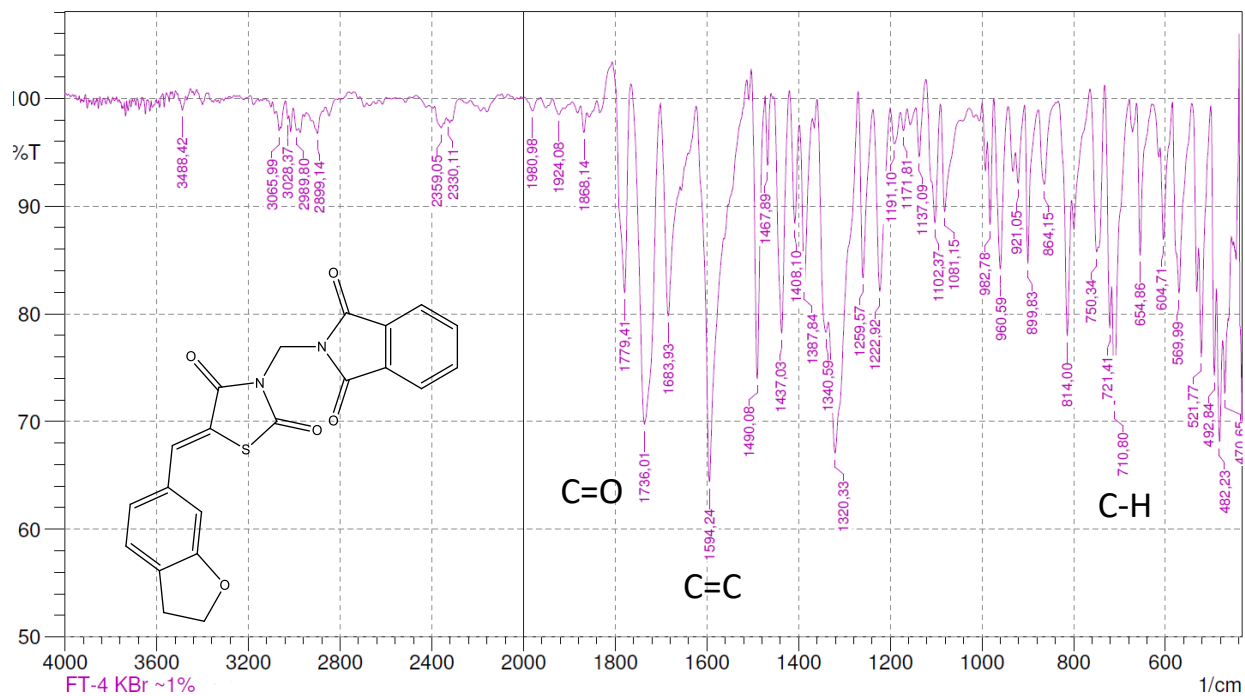


Figura 48 – Espectro de IV do LPSF FT- 4.



Estiramento de C=O, 1779 cm⁻¹, 1736 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1594 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 710 cm⁻¹.

Composto 3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-5-(4-(difenilamino)benzilideno) tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-6)

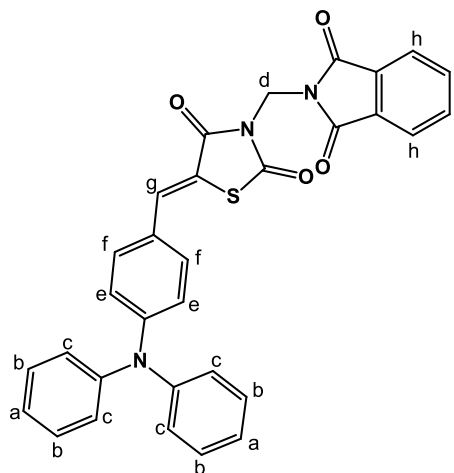


Figura 49 – Espectro do RMN ^1H do LPSF FT-6

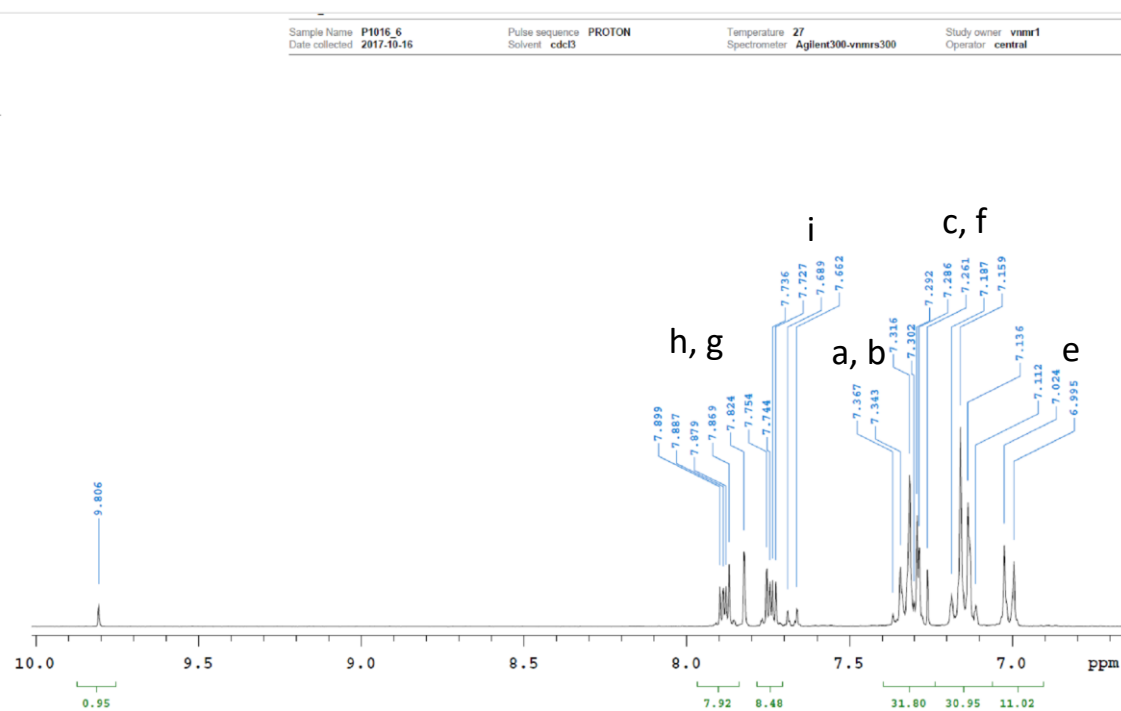
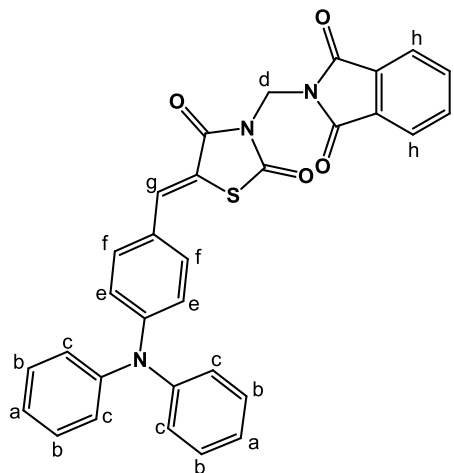


Figura 50 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF FT-6

Sample Name	P1016_6	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	vmmr1
Date collected	2017-10-16	Solvent	cdcl3	Spectrometer	Agilent300-vnmrs300	Operator	central

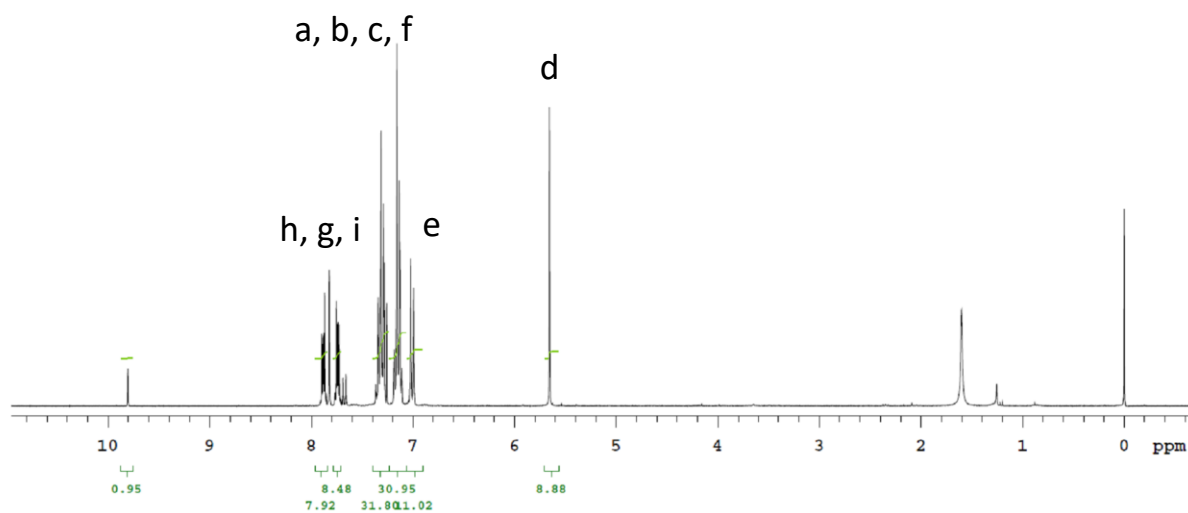


Figura 51 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-5-(4-(difenilamino)benzilideno)thiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-6) (MM=531)

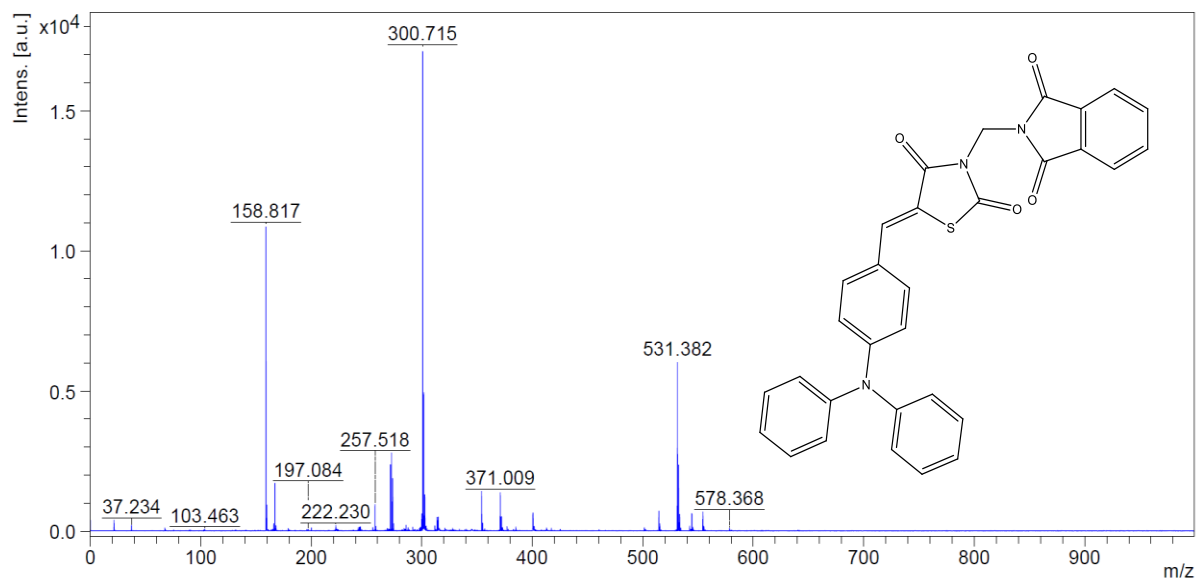
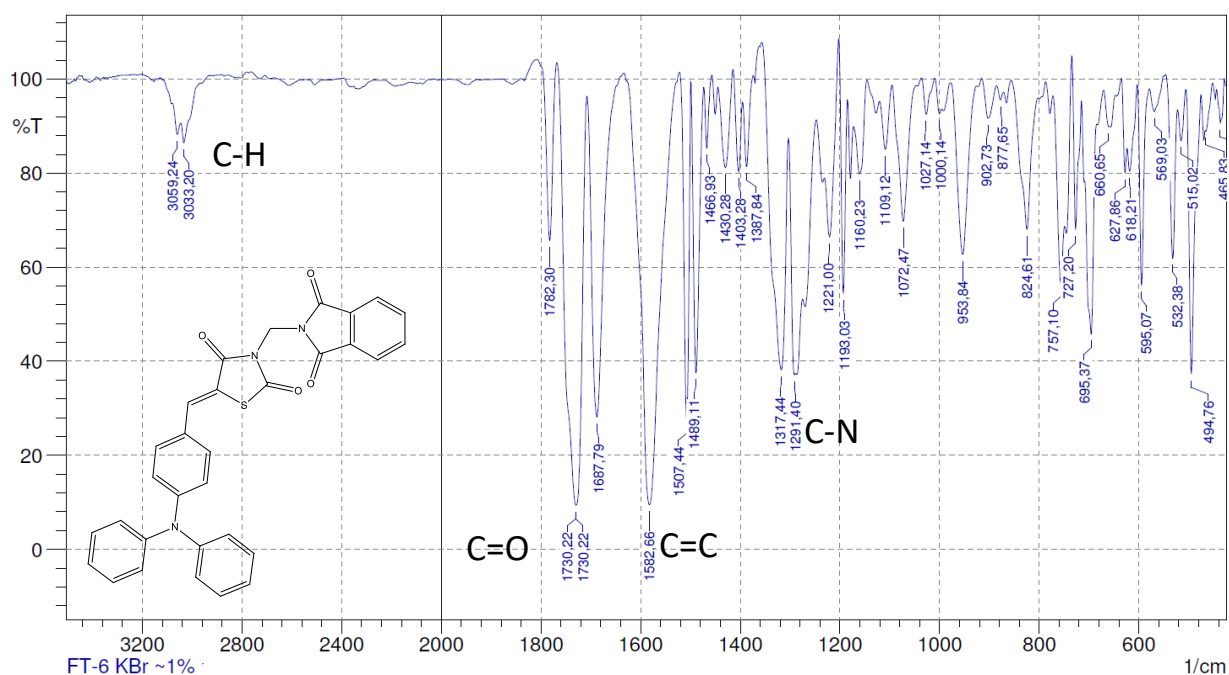


Figura 52 – Espectro de IV do LPSF FT- 6.



Estiramento de C=O, 1730 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1582 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 725 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1291 cm⁻¹. Estiramento C-H aromático, 3033 cm⁻¹.

Composto 5-(4-(1H-imidazol-1-il)benzilideno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-7)

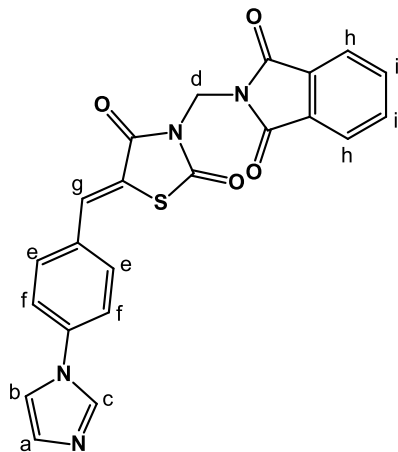


Figura 53 – Espectro do RMN ^1H do LPSF FT-7

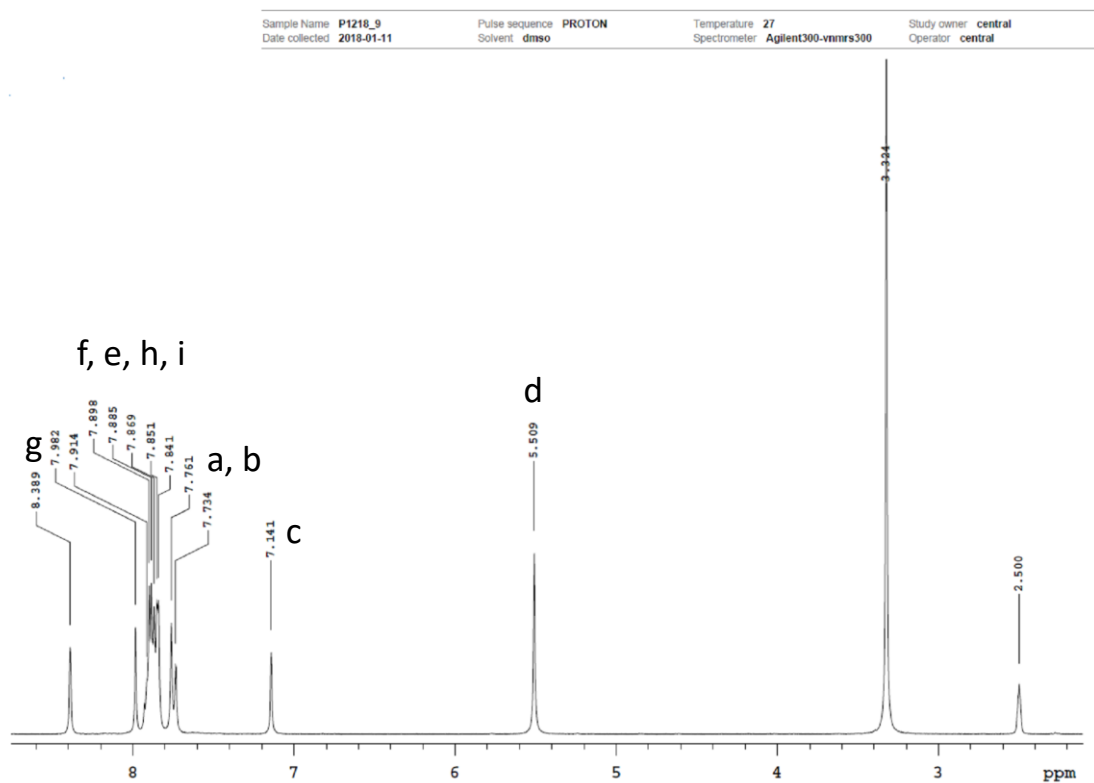


Figura 54 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-(4-(1H-imidazol-1-il)benzilideno)-3-((1,3-dioxisoindolin-2-il)metil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT-7) (MM=430)

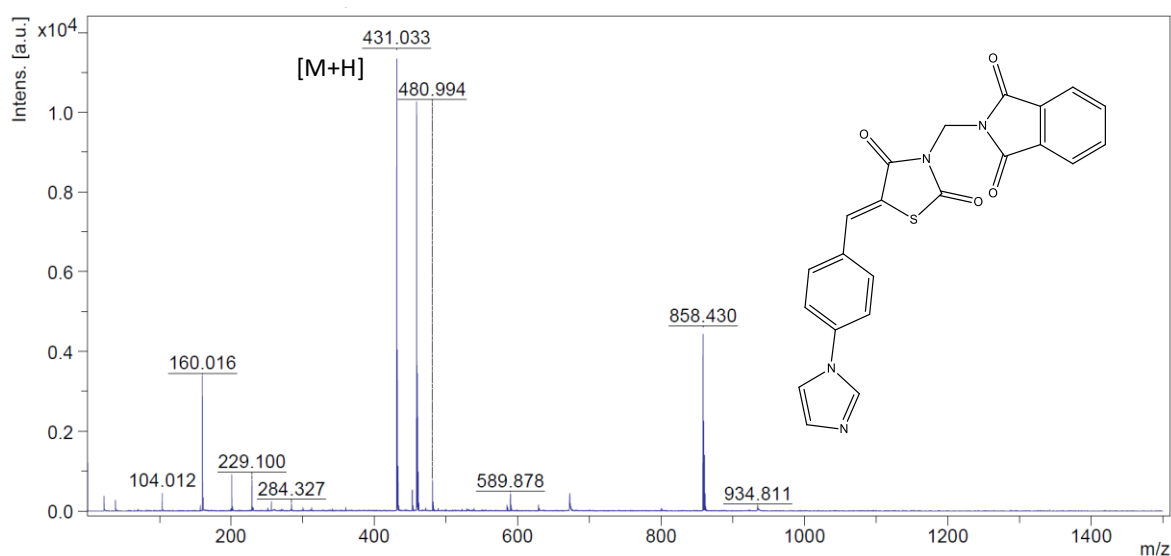
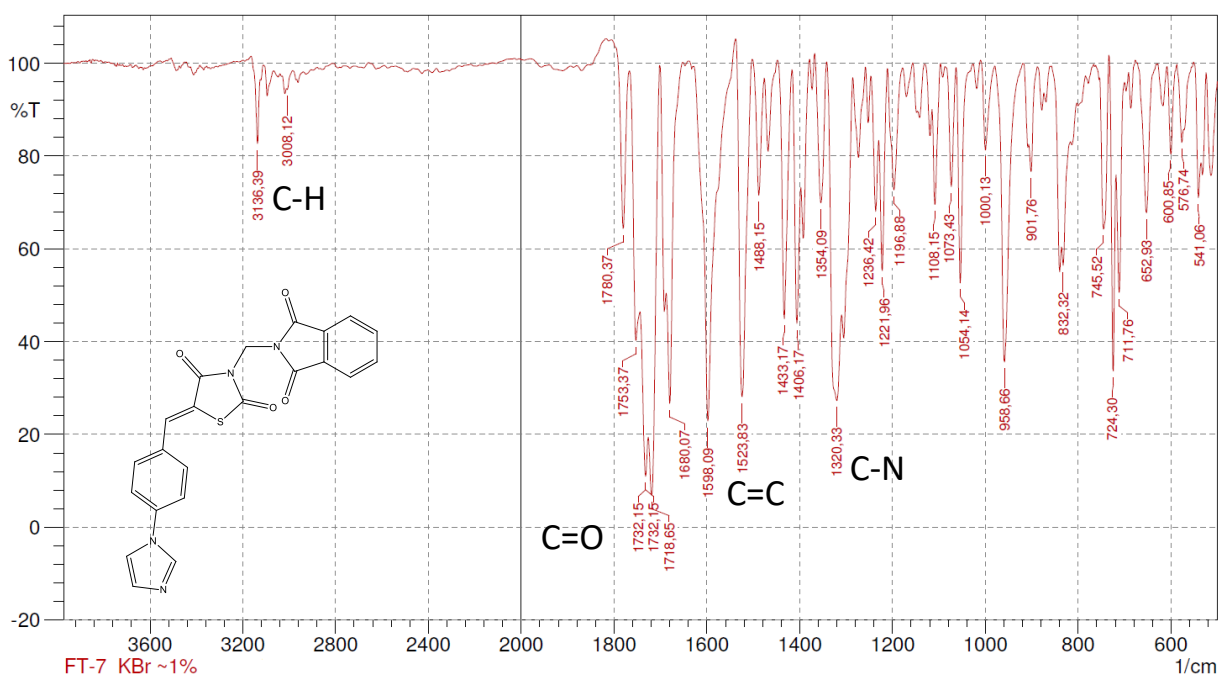


Figura 55 – Espectro de IV do LPSF FT- 7.



Estiramento de C=O, 1732 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1598 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 724 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1320 cm⁻¹. Estiramento C-H do pirazol, 3136 cm⁻¹.

Composto 3-((4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)(metil)amino)propanonitrila (LPSF FT- 8)

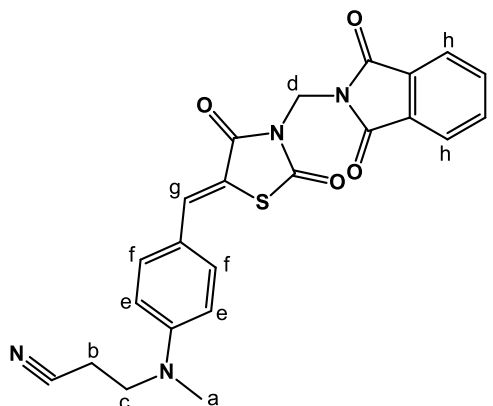


Figura 56 – Espectro do RMN ^1H do LPSF FT- 8

Sample Name	P1218_9	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	central
Date collected	2018.01.12	Solvent	dms0	Spectrometer	Agilent300.vnmrs300	Operator	central

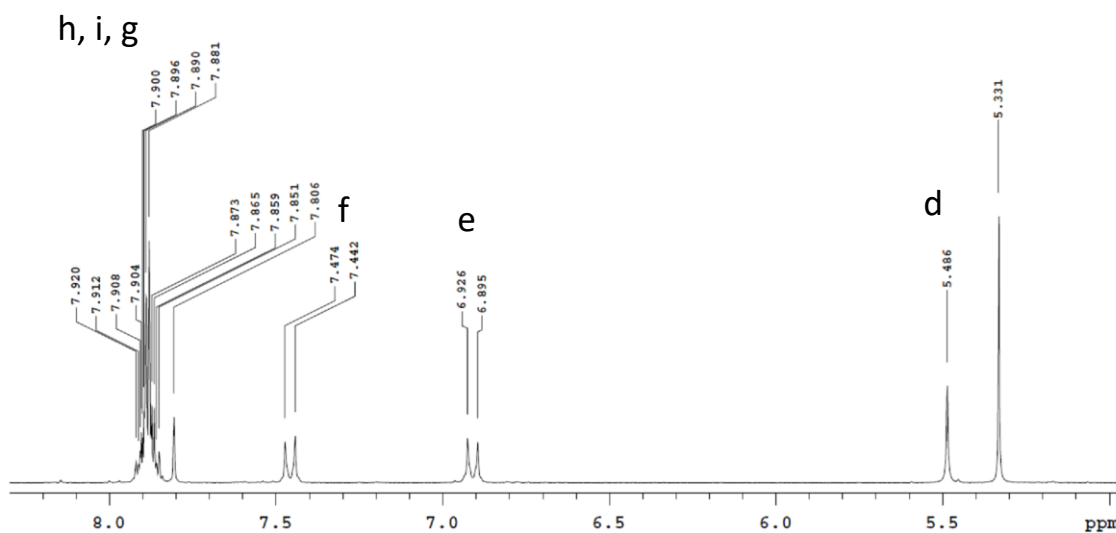


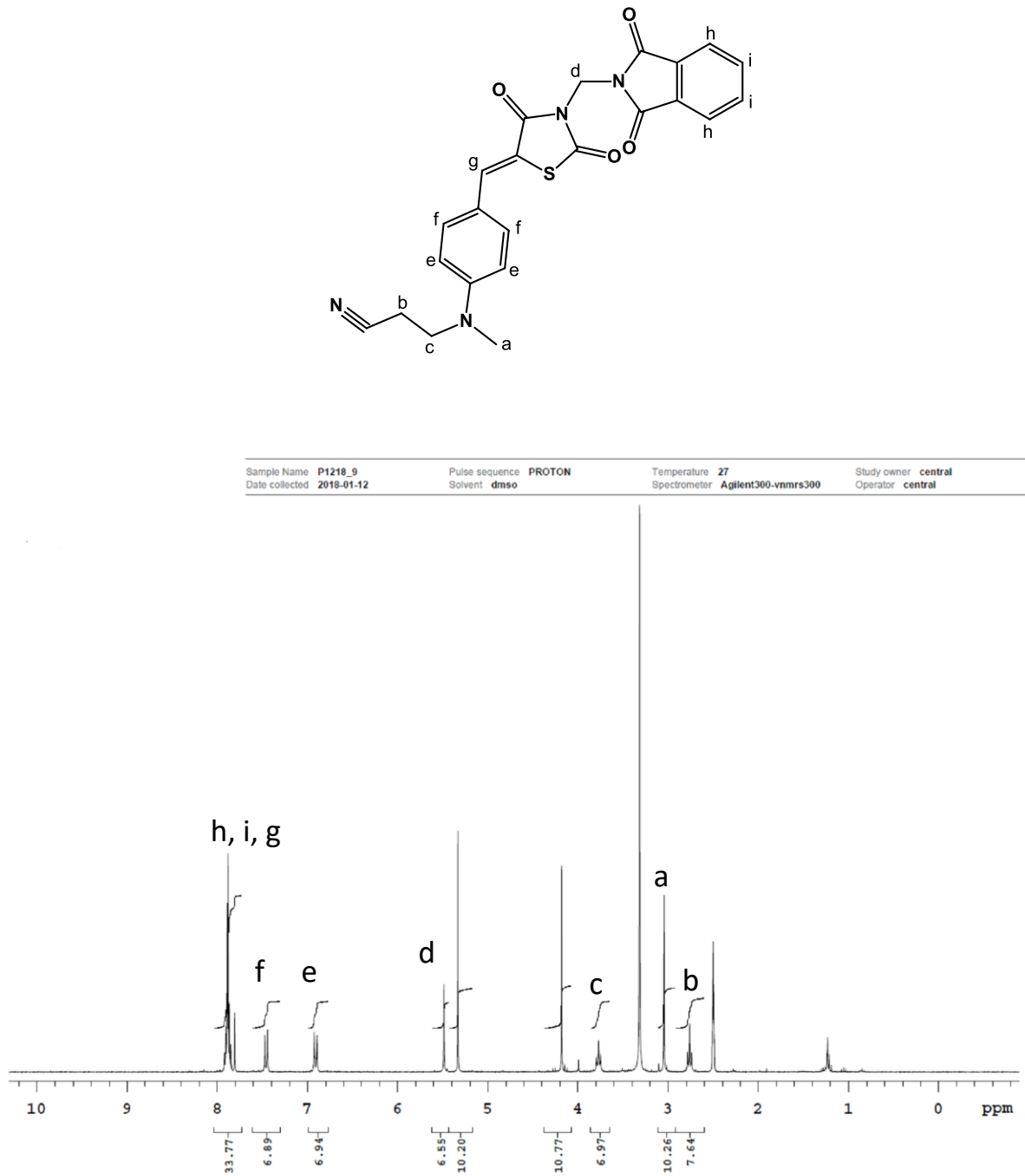
Figura 57 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF FT-8

Figura 58 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-((4-((3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)(metil)amino)propanonitrila (LPSF FT- 8) (MM=446)

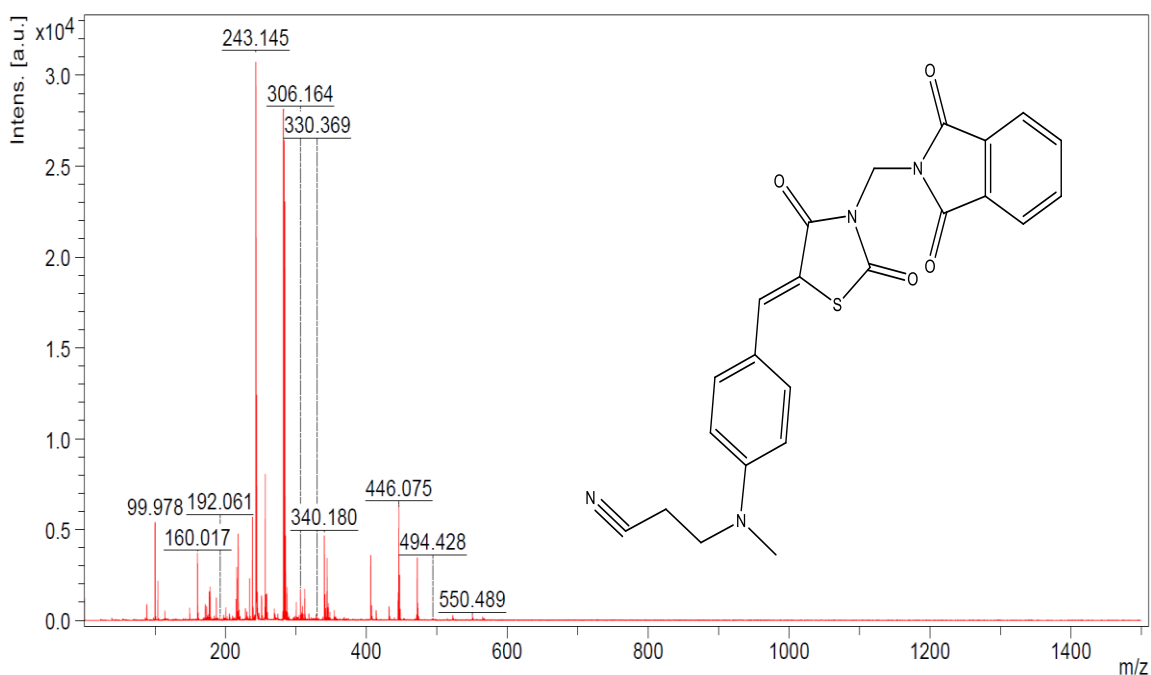
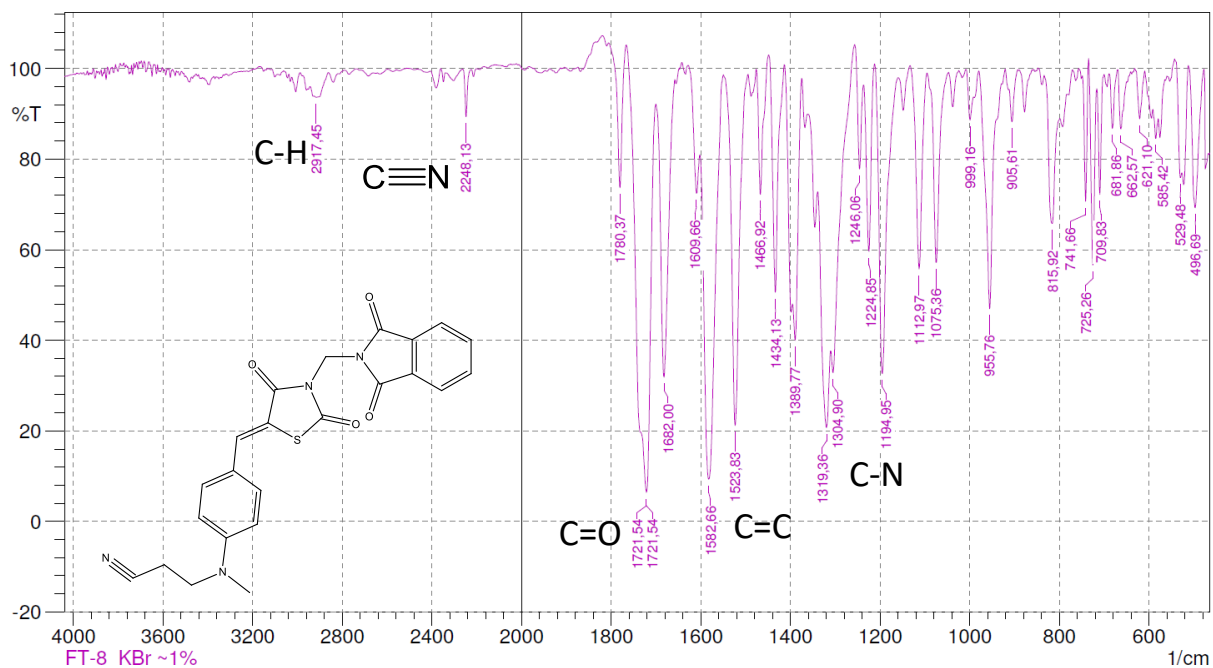


Figura 59 – Espectro de IV do LPSF FT- 8.



Estiramento de C=O, 1721 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do aleno, 1582 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1319 cm⁻¹. Estiramento C-H aromático, 2917 cm⁻¹. Estiramento C≡N em 2248 cm⁻¹.

Composto 3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-5-((3-fenil-1H-pirazol-4-il)metileno)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 9)

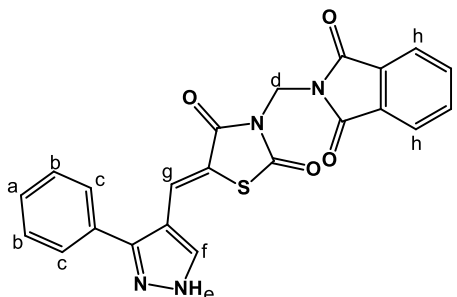


Figura 60 – Espectro do RMN ^1H do LPSF FT- 9

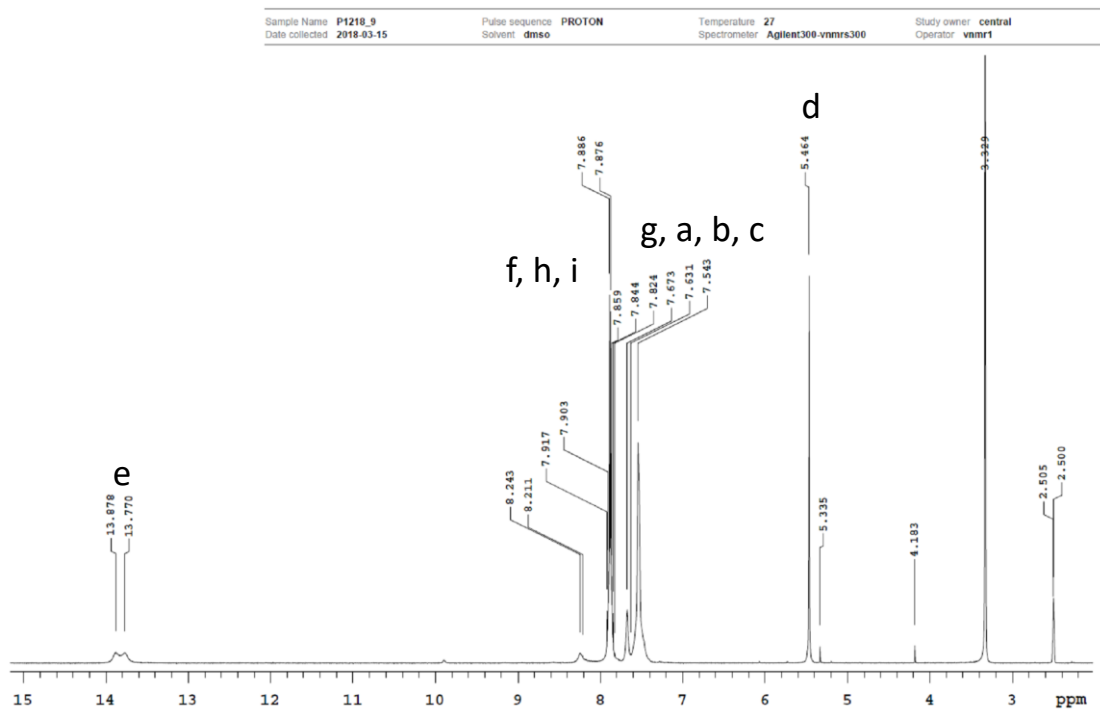


Figura 61 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-5-((3-fenil-1H-pirazol-4-il)metileno)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 9) (MM=430)

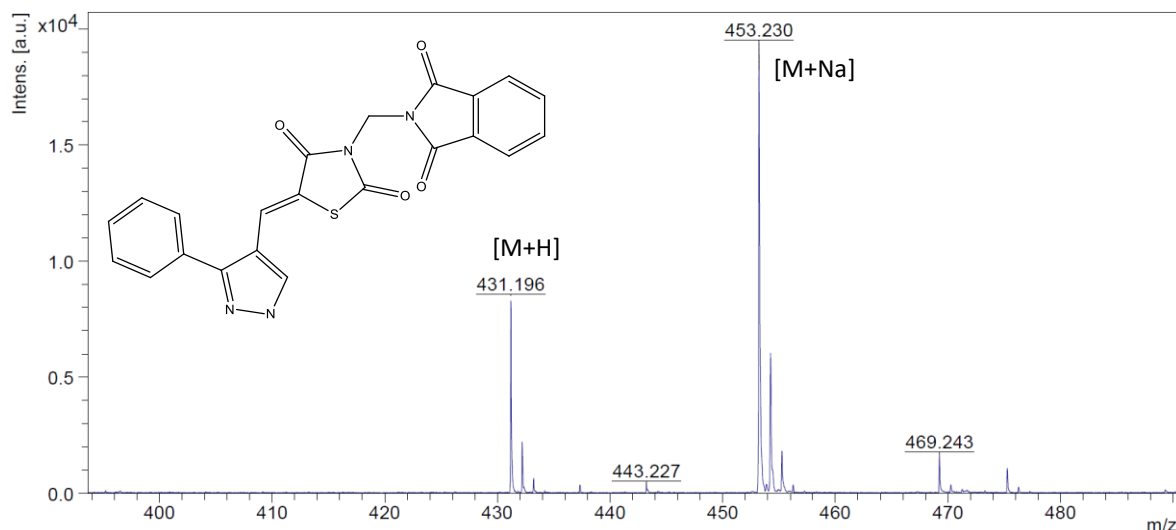
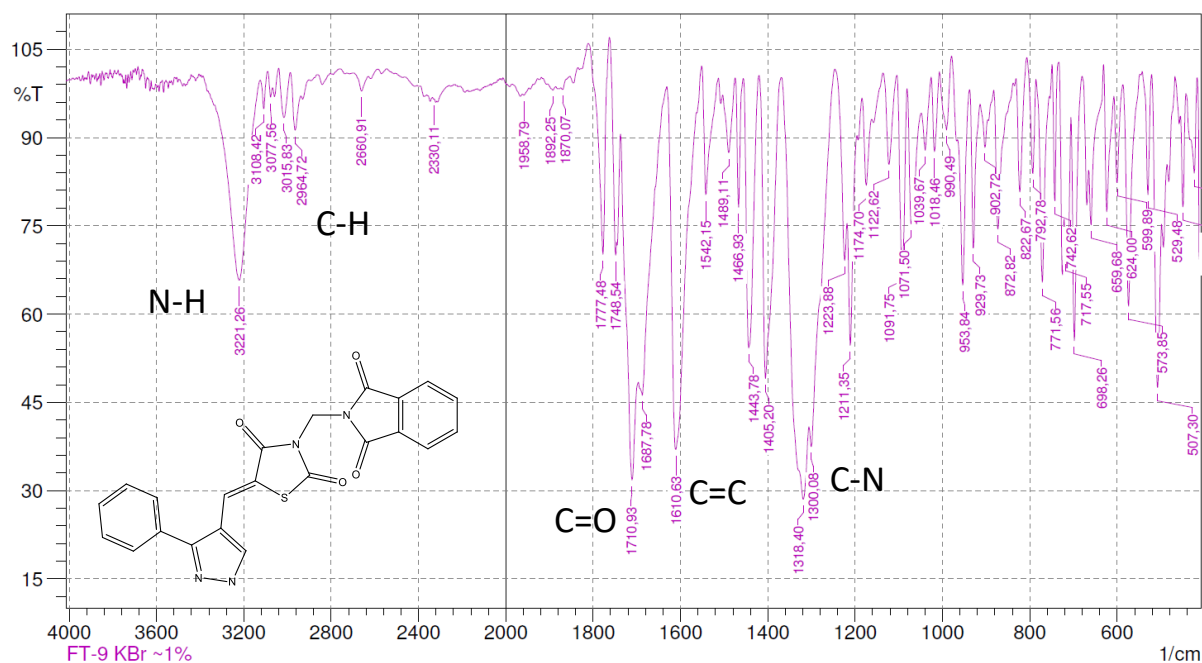


Figura 62 – Espectro de IV do LPSF FT- 9.



Estiramento de C=O, 1710 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1610 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1318 cm⁻¹. Estiramento C-H aromático, 3015 cm⁻¹. Estiramento N-H em 3321 cm⁻¹.

Composto 5-((2-cloro-6-metoxiquinolin-3-il)metileno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 13)

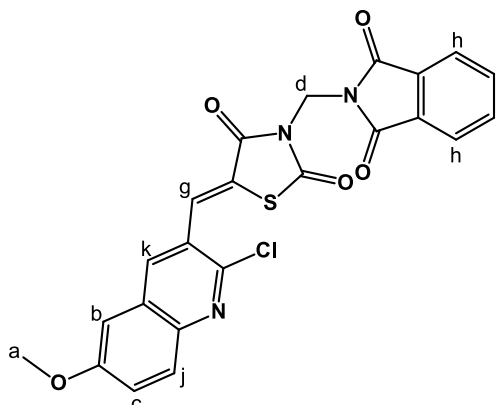


Figura 63 – Espectro do RMN ^1H do LPSF FT- 13

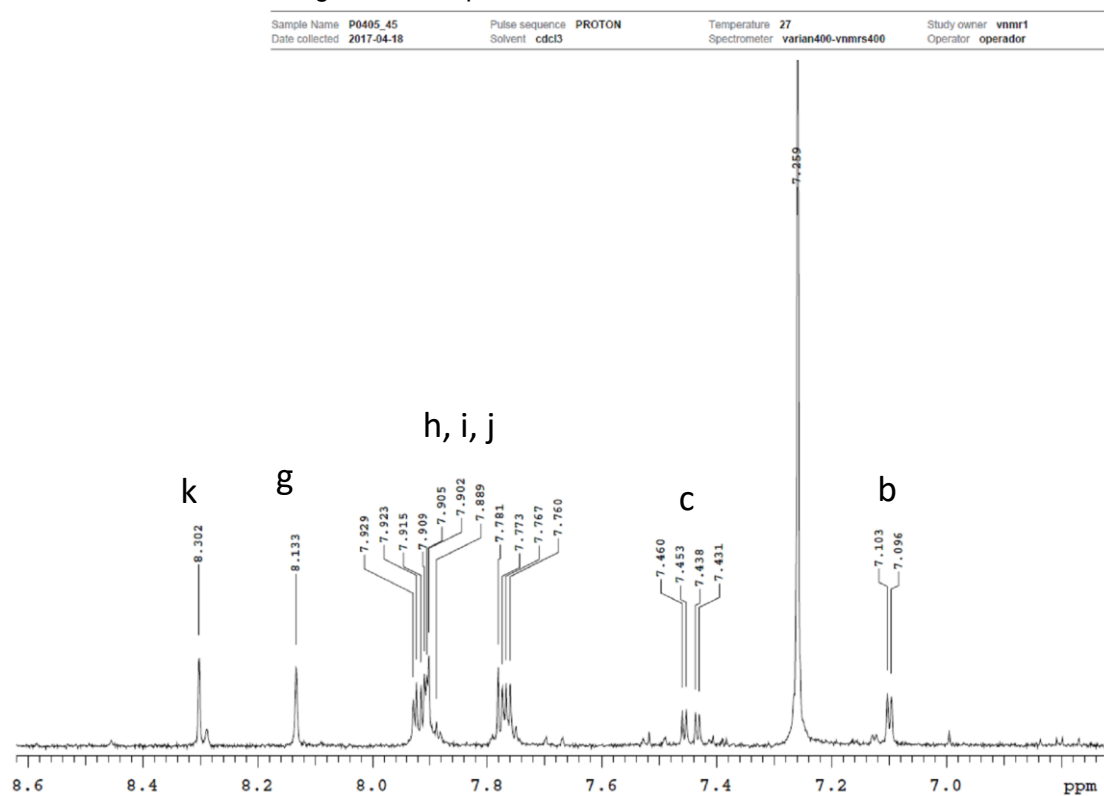


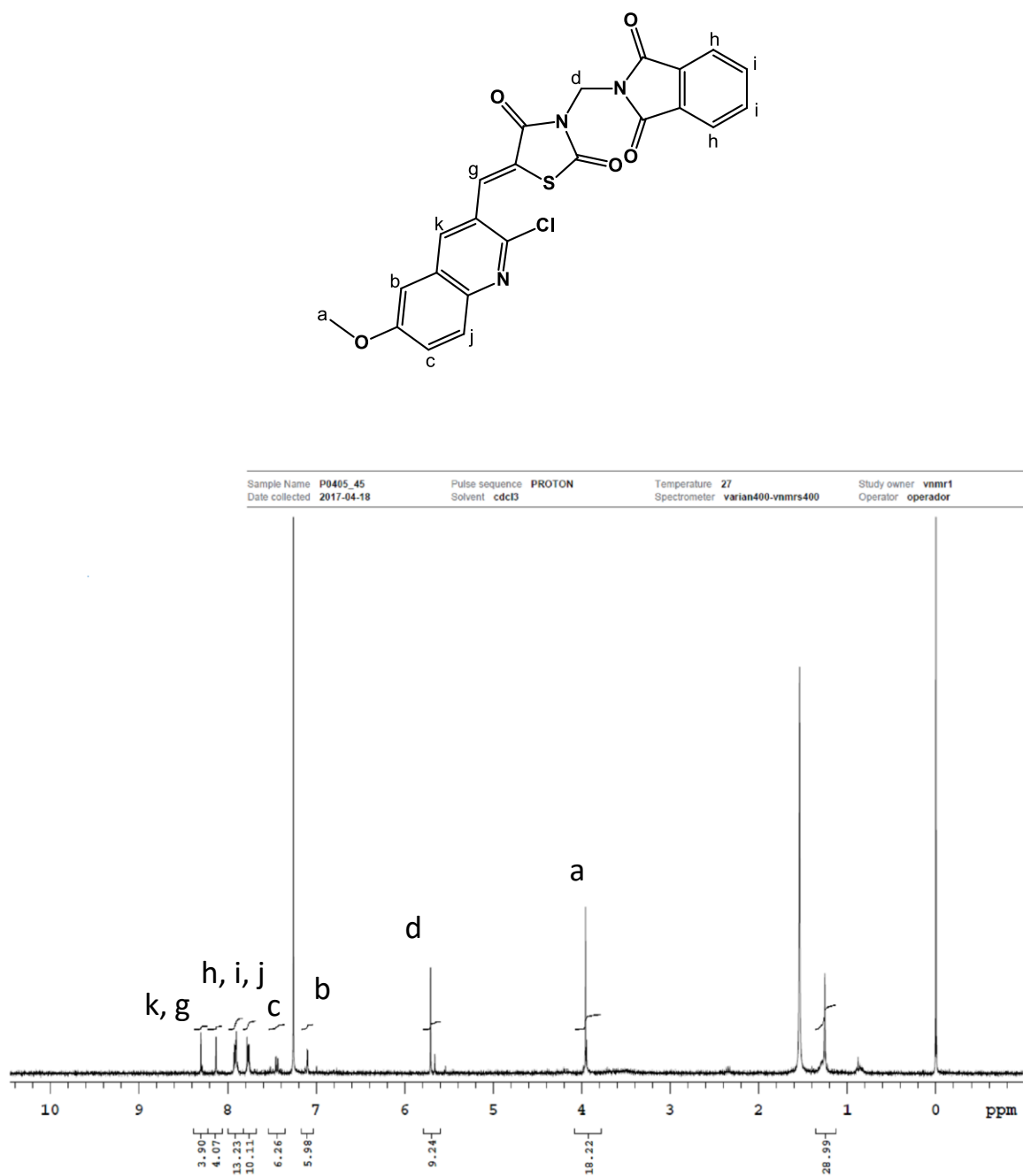
Figura 64 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF FT-13

Figura 65 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-((2-cloro-6-metoxiquinolin-3-il)metileno)-3-((1,3-dioxisoindolin-2-il)metil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 13) (MM=479)

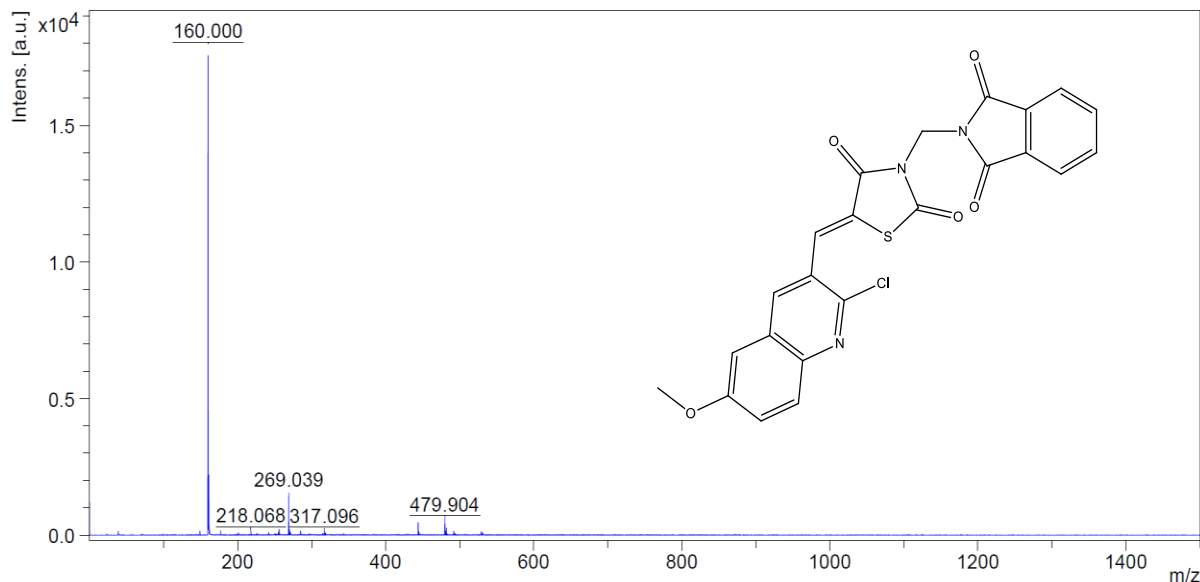
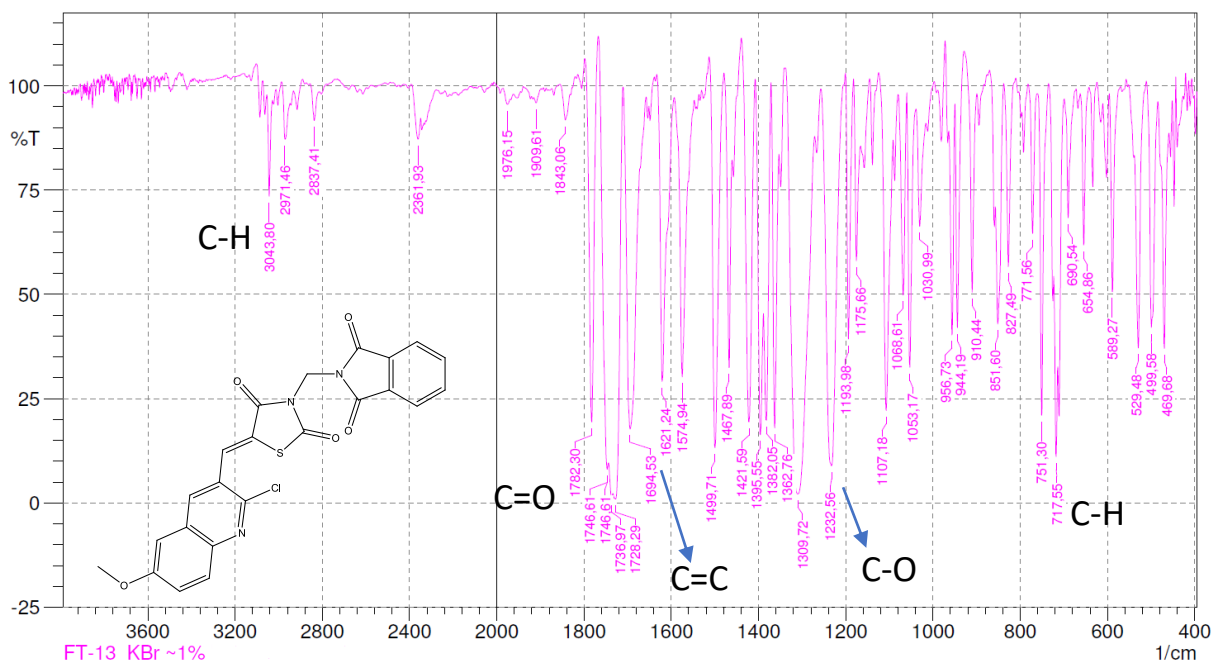


Figura 66 – Espectro de IV do LPSF FT- 13.



Estiramento de C=O, 1746 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1621 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 717 cm⁻¹. Estiramento C-O do éter, 1232 cm⁻¹. Estiramento C-H aromático, 3043 cm⁻¹.

Composto 3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)-5-(4-(pirimidin-5- il)benzilideno) tiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 15)

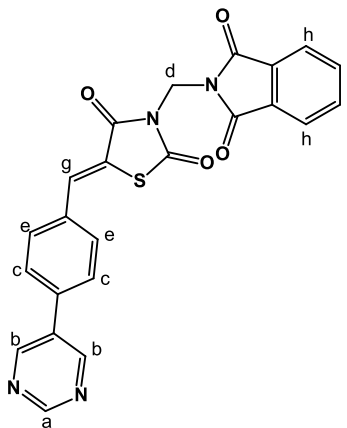


Figura 67 – Espectro do RMN ^1H do LPSF FT- 15

Sample Name	P1030_1	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-10-30	Solvent	cdcl3	Spectrometer	Agilent300-nmrs300	Operator	vnmr1

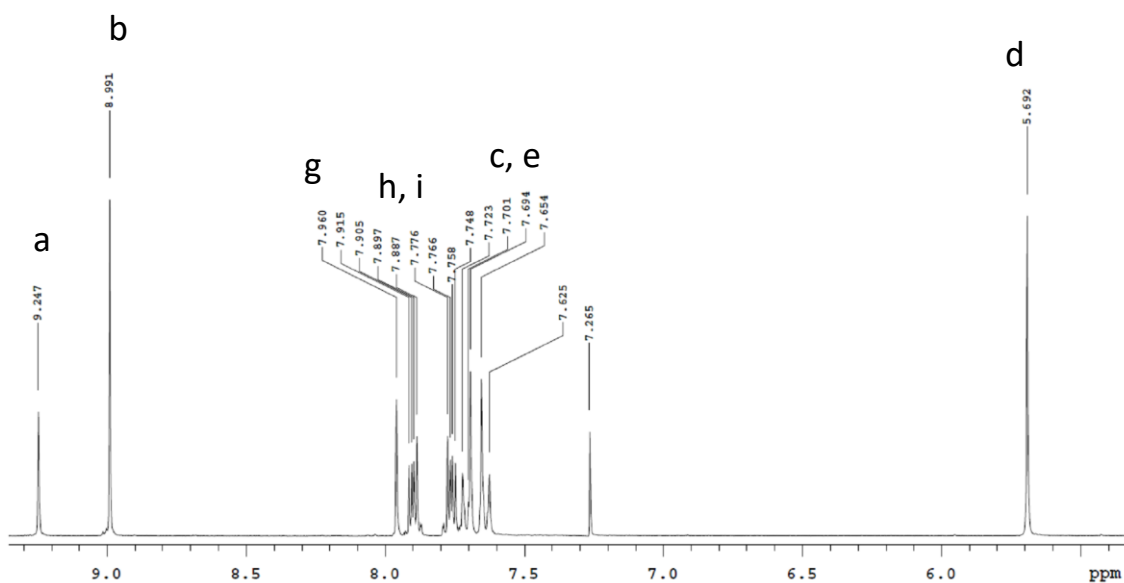


Figura 68 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-((1,3-dioxisoindolin-2-il)metil)-5-(4-(pirimidin-5-il)benzilideno)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 15) (MM=442)

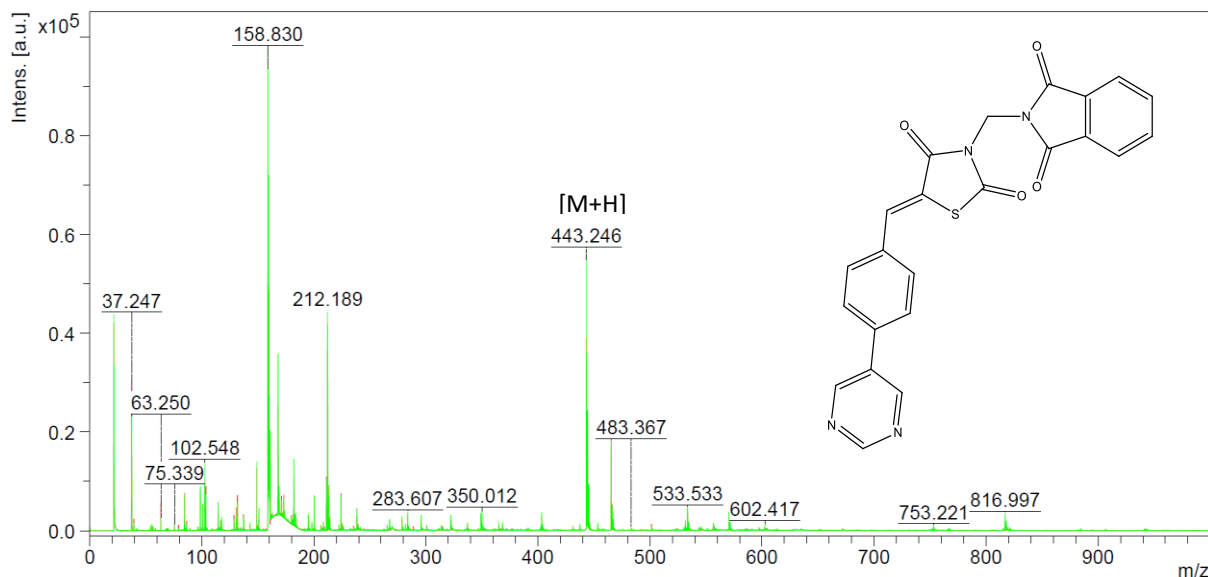
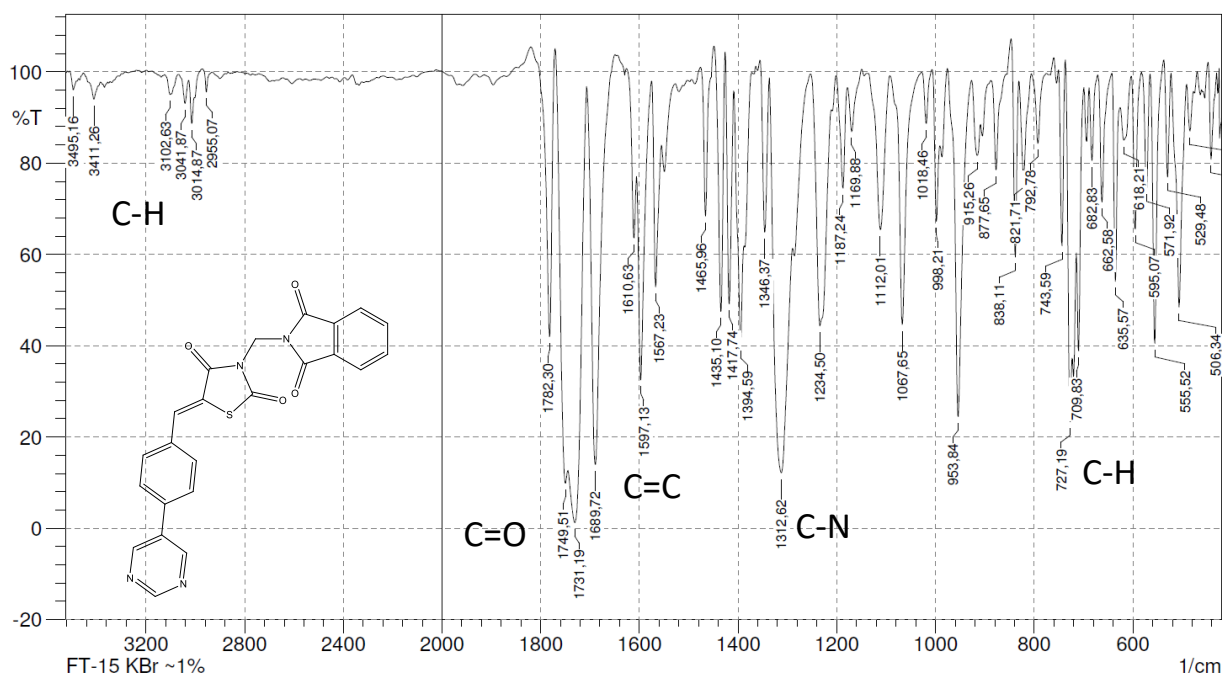


Figura 69 – Espectro de IV do LPSF FT- 15.



Estiramento de C=O, 1749 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1597 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 727 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1312 cm⁻¹. Estiramento C-H aromático, 3014 cm⁻¹.

Composto 5-(3-bromobenzilideno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)thiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 18)

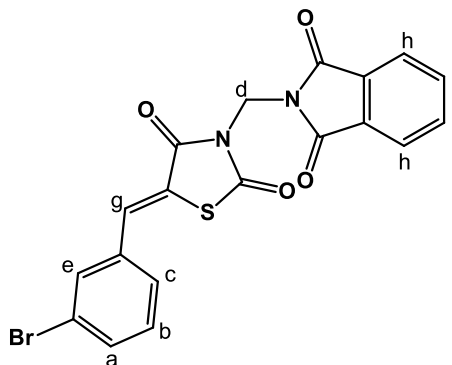


Figura 70 – Espectro do RMN ^1H do LPSF FT- 18

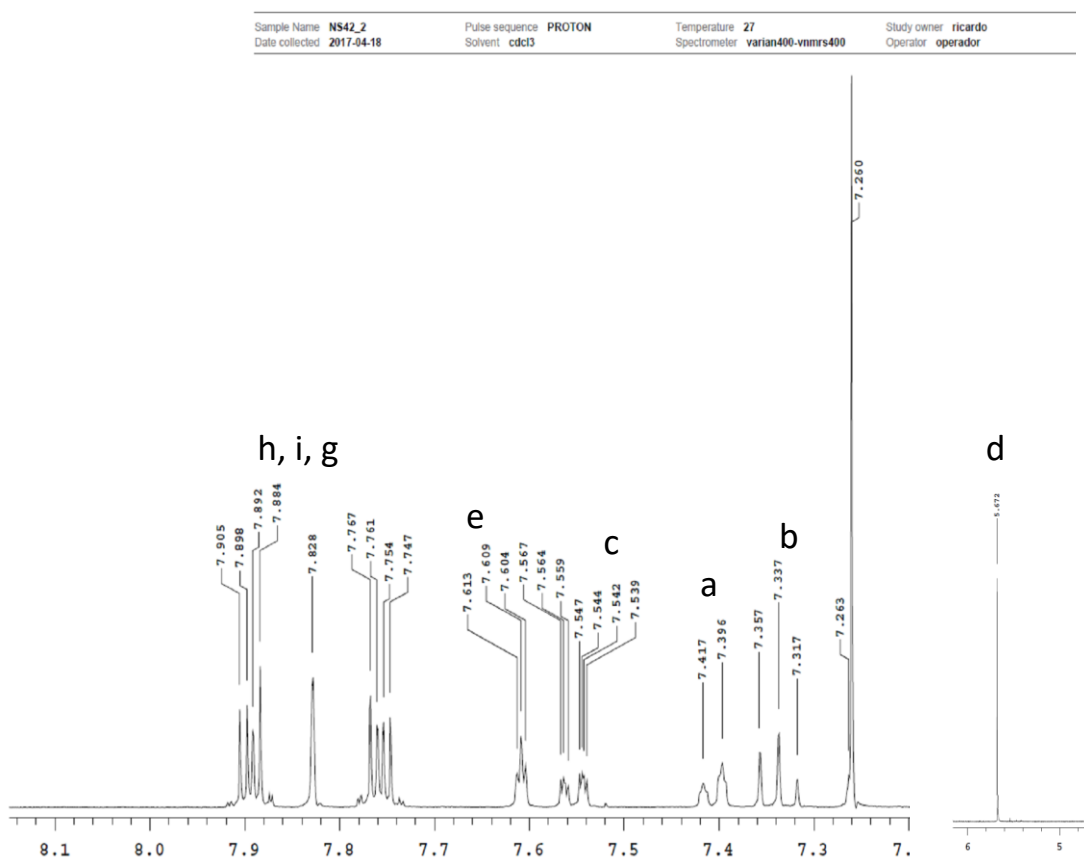


Figura 71 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-(3-bromobenzilideno)-3-((1,3-dioxoisindolin-2-il)metil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF FT- 18) (MM=441.9)

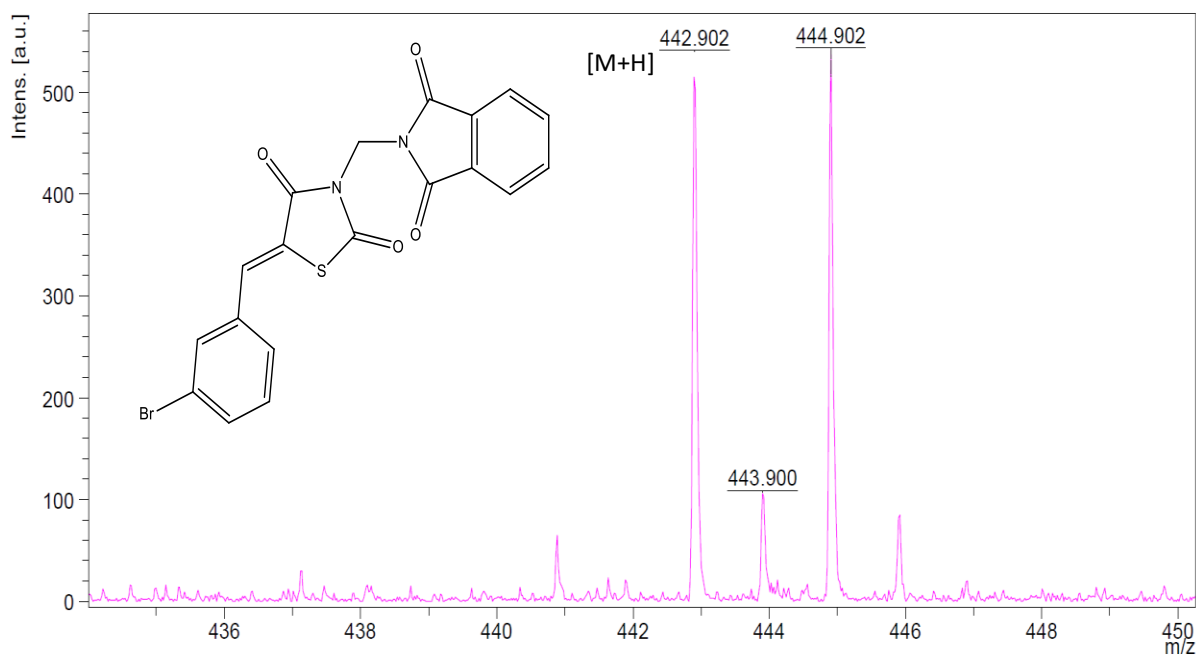
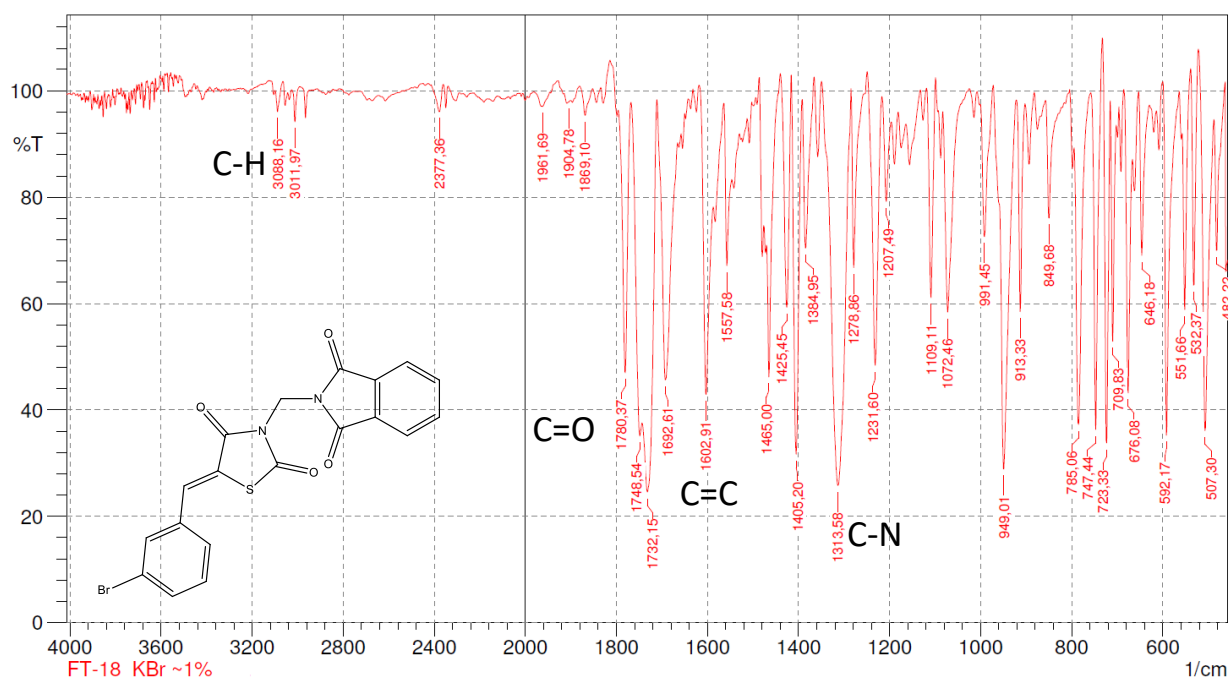


Figura 72 – Espectro de IV do LPSF FT- 18.



Estiramento de C=O, 1748 cm^{-1} . Estiramento das ligações C=C do alceno, 1602 cm^{-1} . Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 723 cm^{-1} . Estiramento C-N alifático, 1313 cm^{-1} . Estiramento C-H aromático, 3088 cm^{-1} .

Composto *N*-4-((3-(acridin-9-ilmetil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)acetamida (LPSF AA-99)

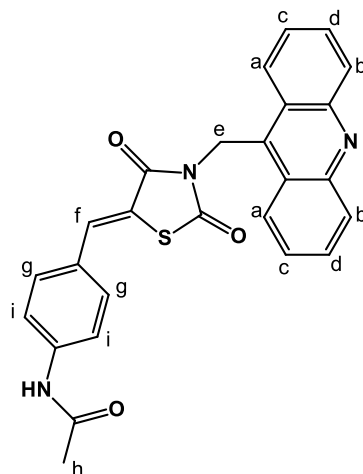


Figura 73 – Espectro do RMN ^1H do LPSF AA- 99

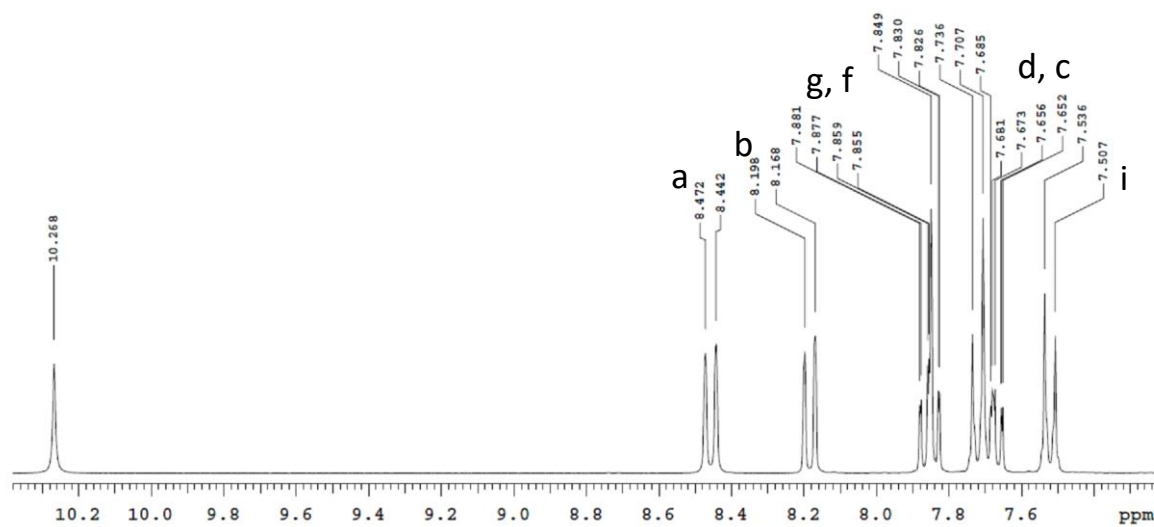


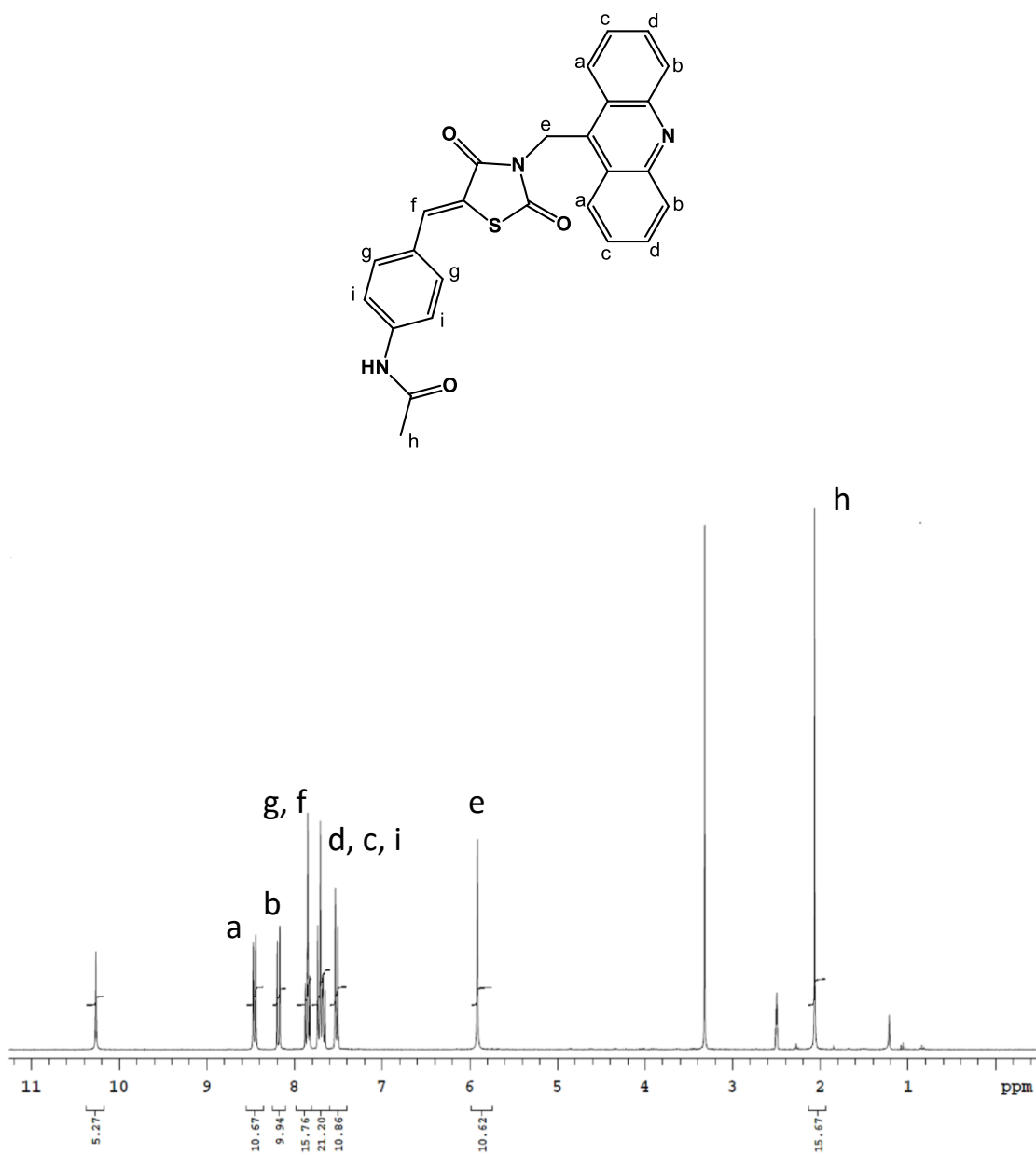
Figura 74 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF AA-99

Figura 75 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do *N*-(4-((3-(acridin-9-ilmetil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)acetamida (LPSF AA-99) (MM=453.1)

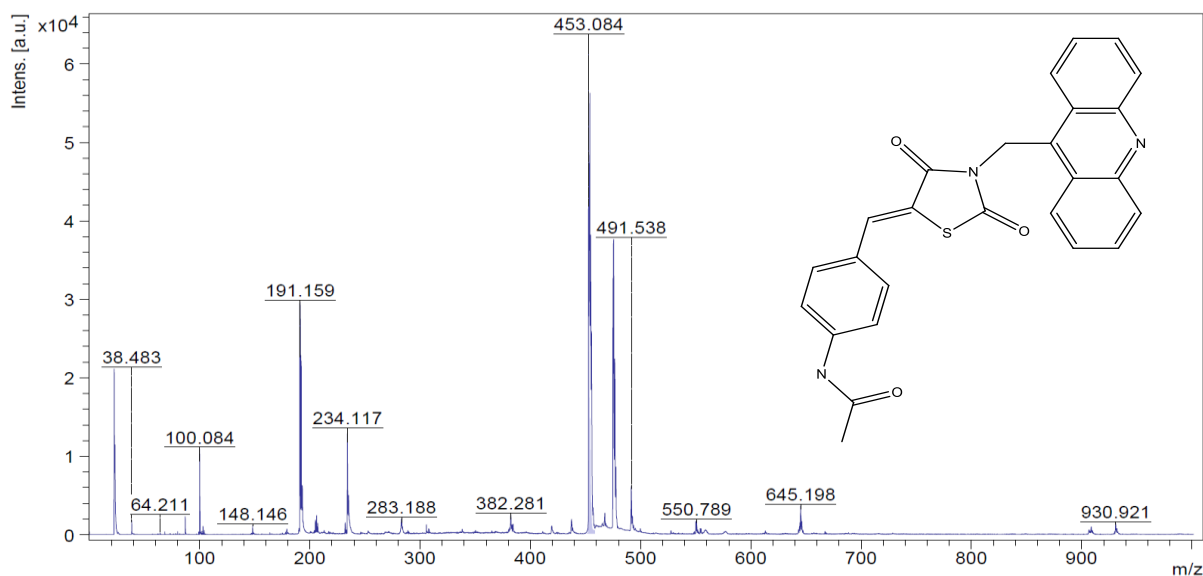
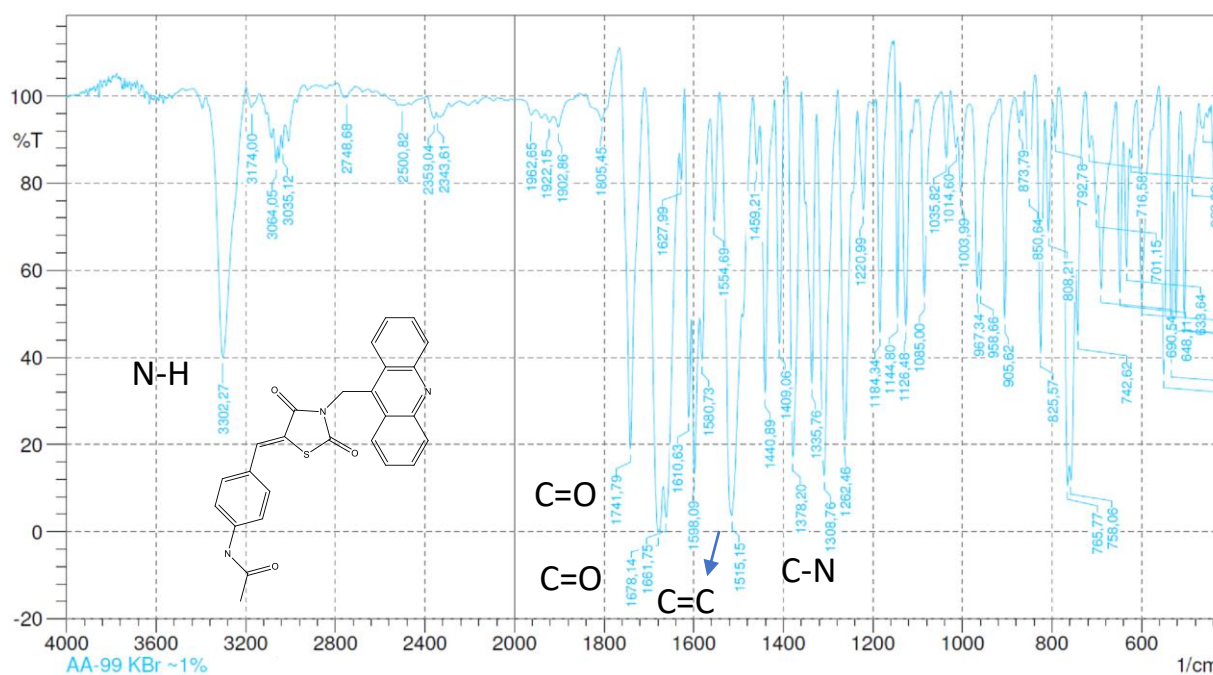


Figura 76 – Espectro de IV do LPSF AA- 99.



Estiramento N-H, 3302 cm⁻¹. Estiramento de C=O, 1741 cm⁻¹, 1678 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1598 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 765 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1378 cm⁻¹.

Composto 3-(acridin-9-ilmetil)-5-((2,3-di-hidrobenzofuran-5-il)metileno) tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-100)

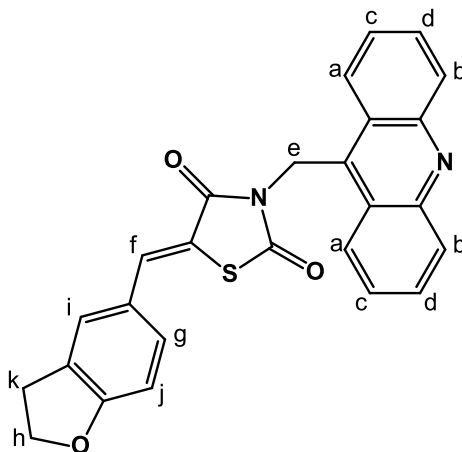


Figura 77 – Espectro do RMN ¹H do LPSF AA- 100

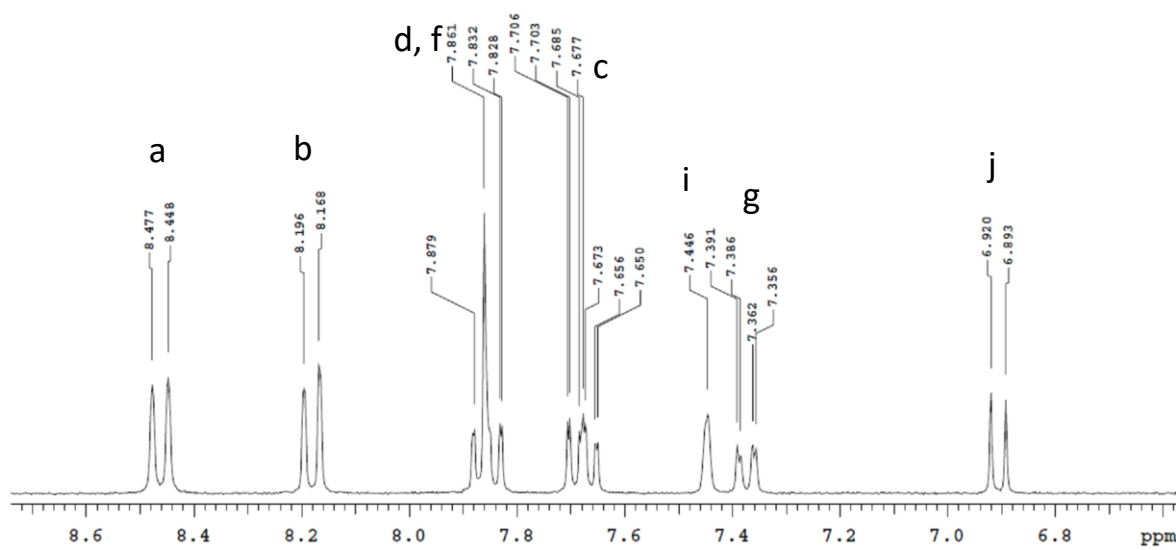


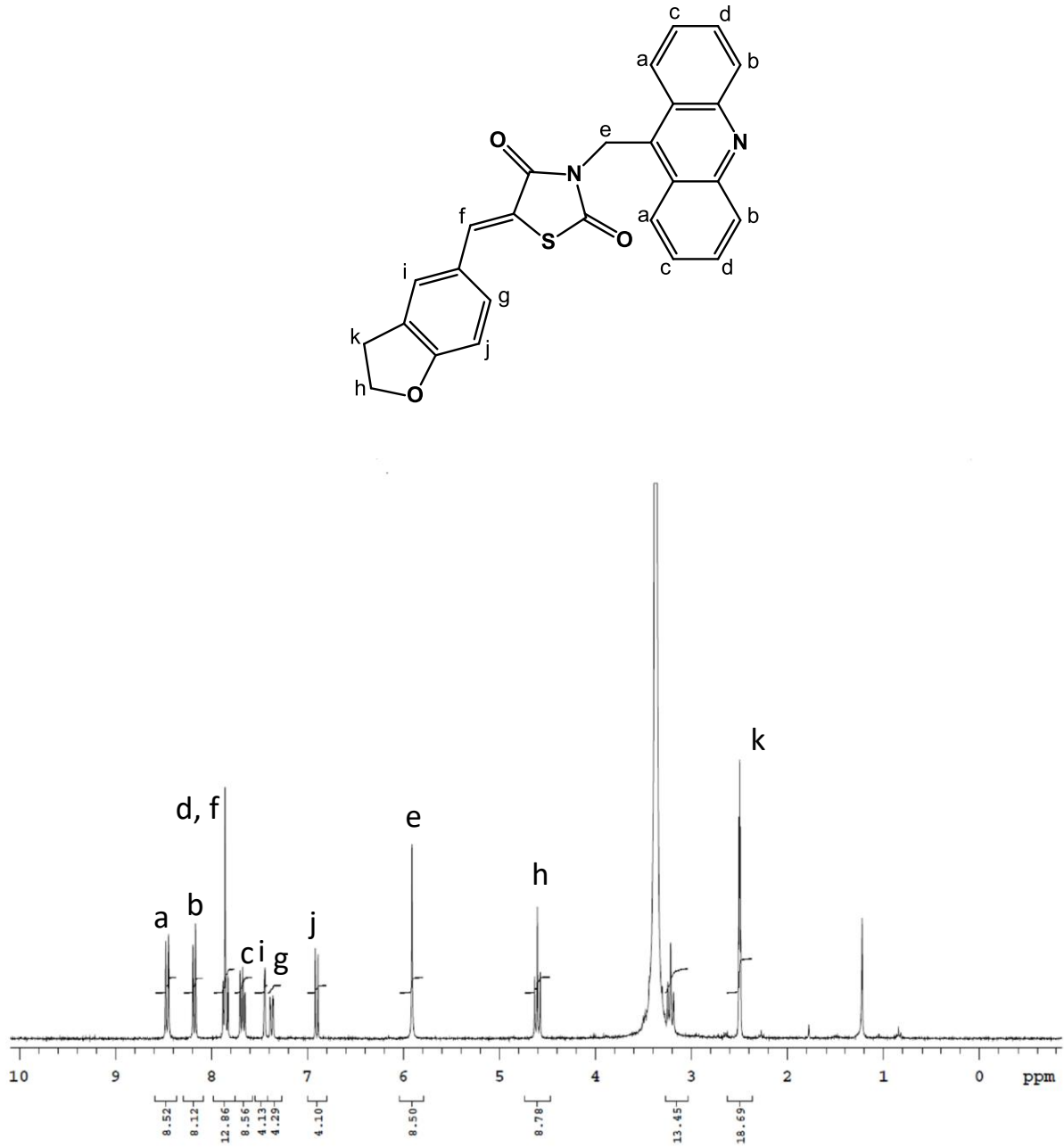
Figura 78 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF AA-100

Figura 79 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-(acridin-9-ilmetil)-5-((2,3-di-hidrobenzofuran-5-il)metileno)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-100) (MM=438.1)

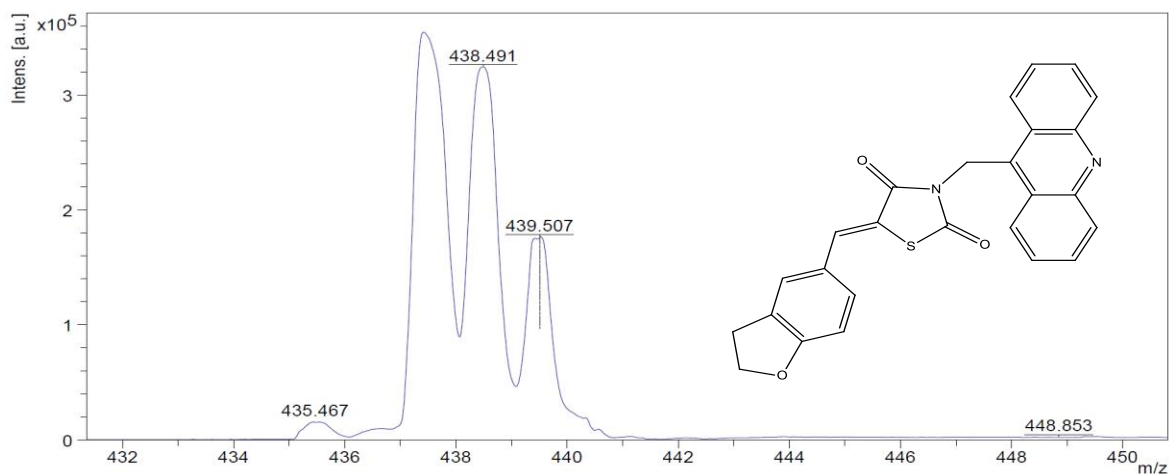
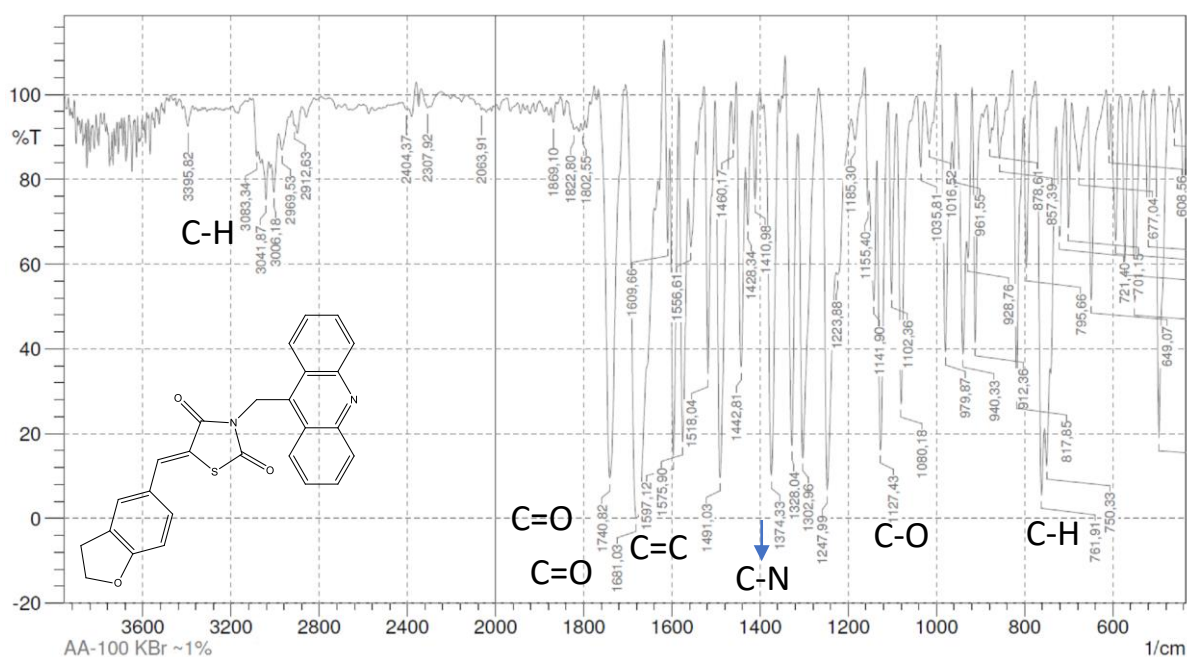


Figura 80 – Espectro de IV do LPSF AA- 100.



Estiramento C-H aromático, 3041 cm⁻¹. Estiramento de C=O, 1740 cm⁻¹, 1681 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1597 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 761 cm⁻¹. Estiramento C-O do anel, 1127 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1374 cm⁻¹.

Composto 3-(acridin-9-ilmetil)-5-(4-(difenilamina)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-102)

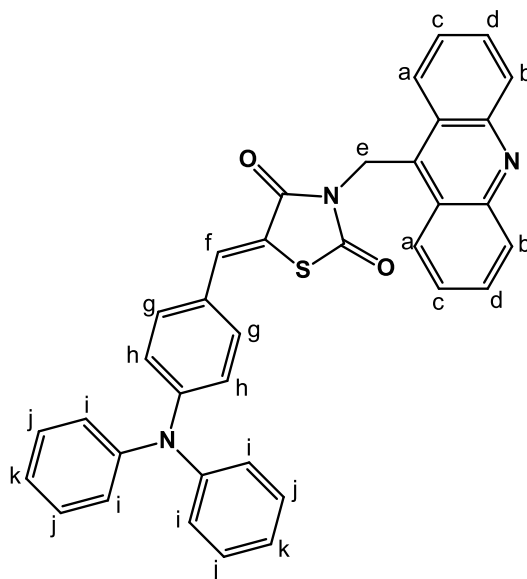


Figura 81 – Espectro do RMN ^1H do LPSF AA- 102

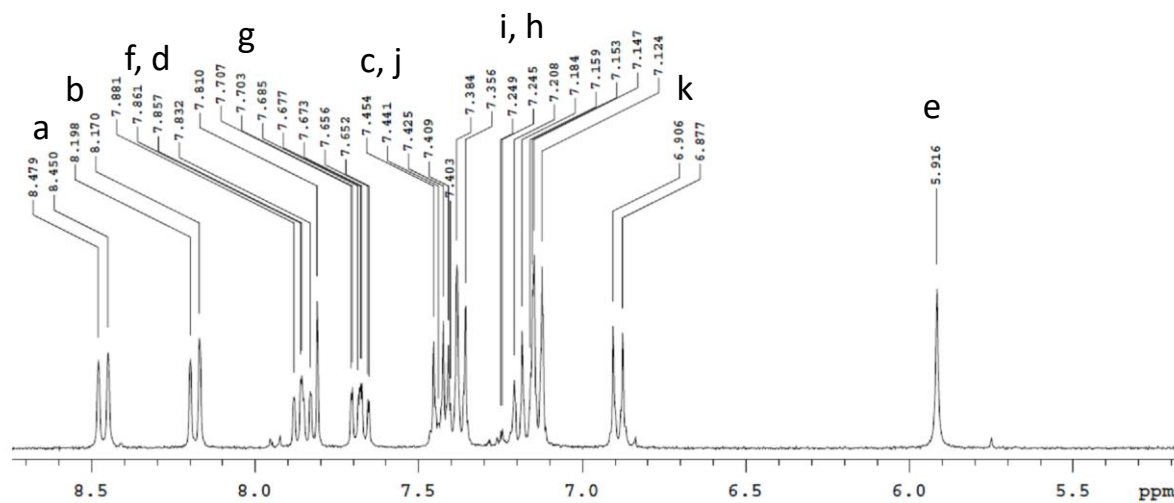


Figura 82 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-(acridin-9-ilmetil)-5-(4-(difenilamina) benzilideno)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-102) (MM=563.1)

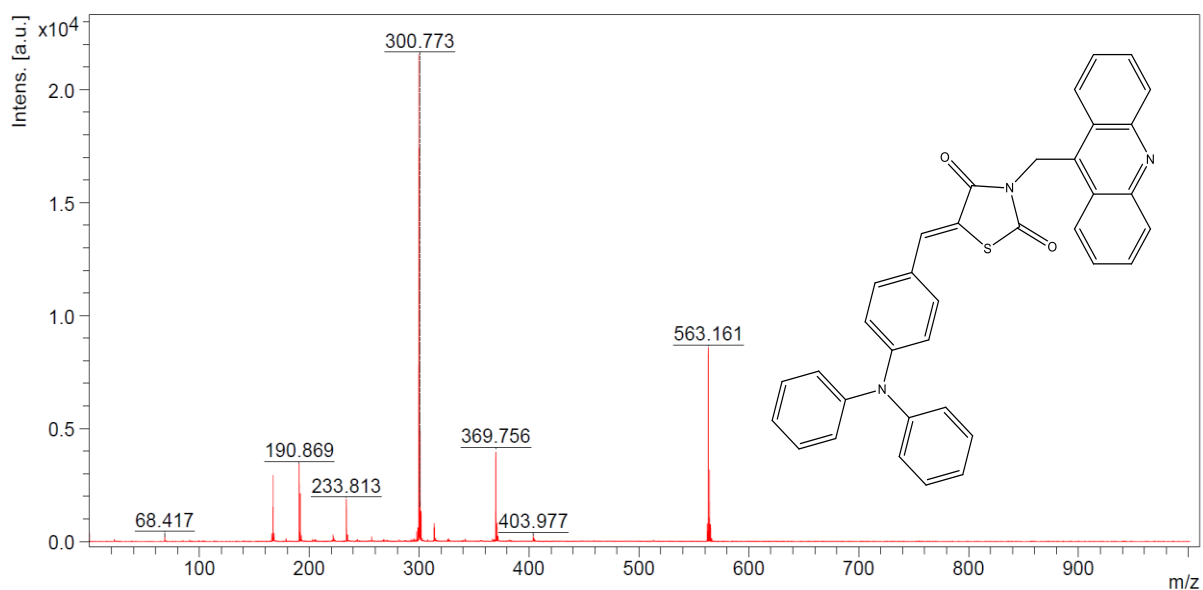
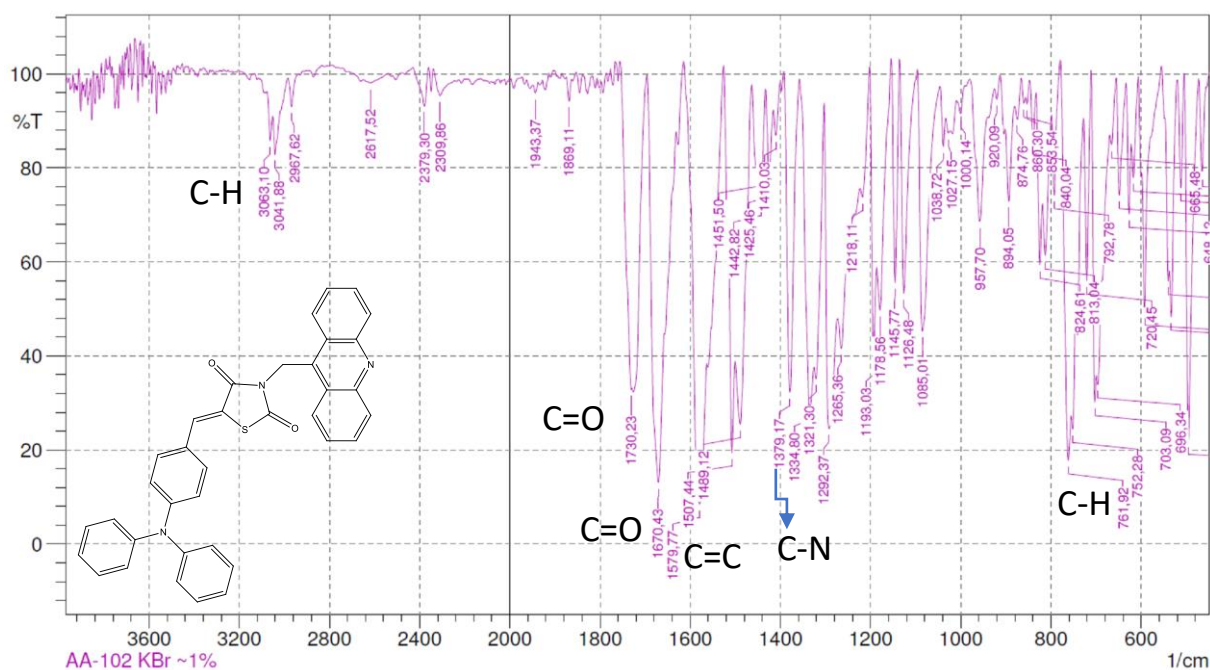


Figura 83 – Espectro de IV do LPSF AA- 102.



Estiramento C-H aromático, 3041 cm⁻¹. Estiramento de C=O, 1730 cm⁻¹, 1670 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1579 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 761 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1379 cm⁻¹.

Composto 5-(4-(1H-imidazol-1-il)benzilideno)-3-(acridin-9-ilmetil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-103)

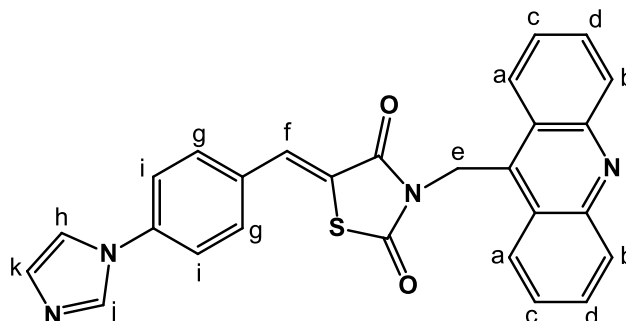


Figura 84 – Espectro do RMN ^1H do LPSF AA- 103

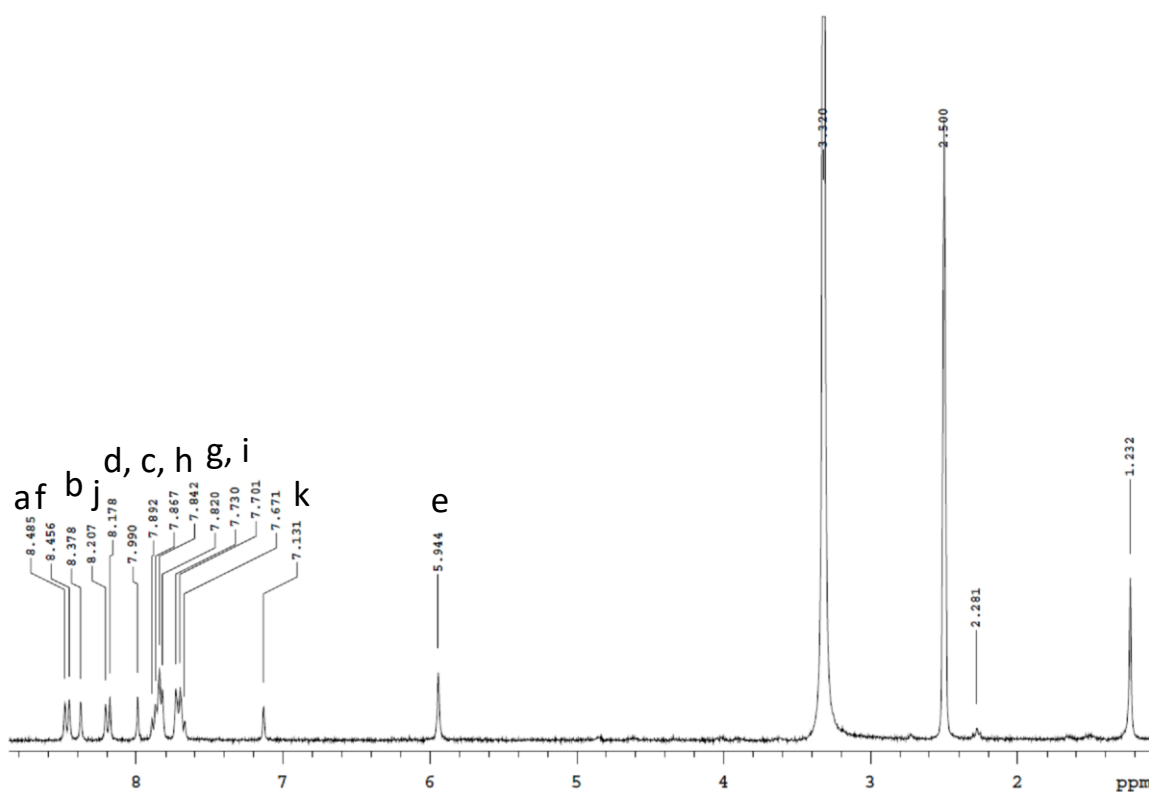


Figura 85 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-(4-(1H-imidazol-1-il)benzilideno)-3-(acridin-9-ilmetil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-103) (MM=462.1)

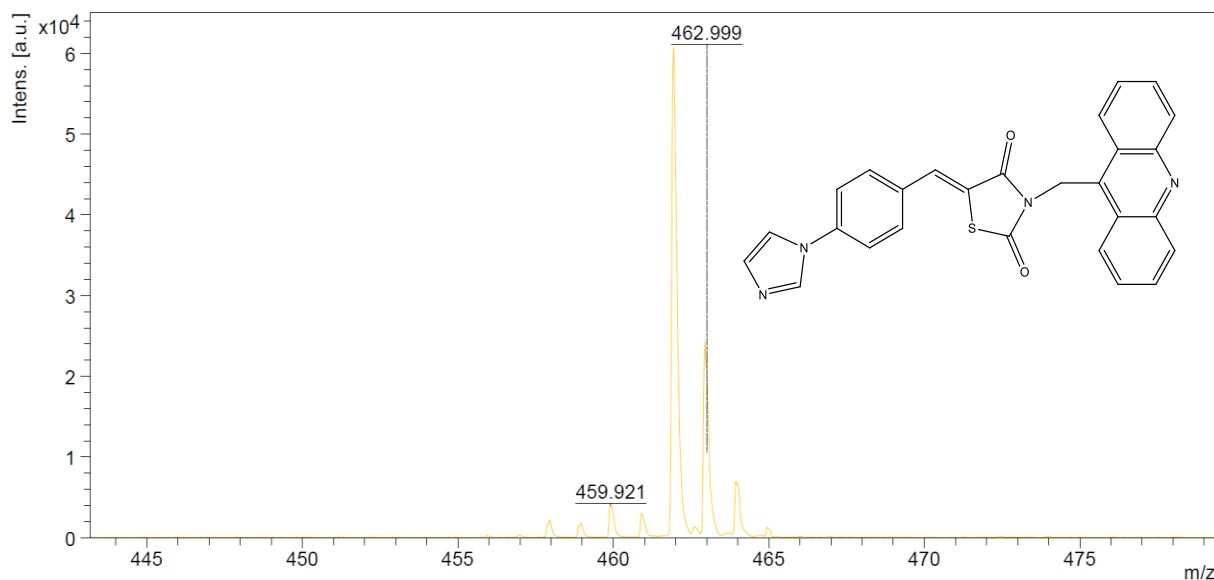
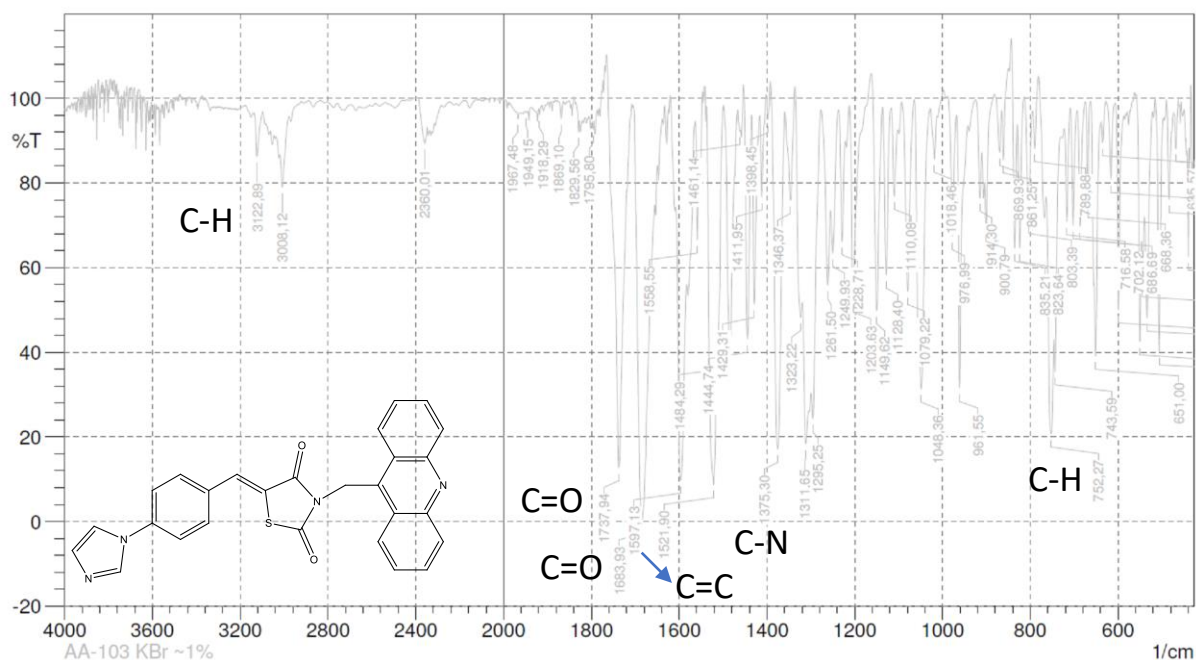


Figura 86 – Espectro de IV do LPSF AA- 103.



Estiramento C-H aromático, 3008 cm⁻¹. Estiramento de C=O, 1737 cm⁻¹, 1683 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1597 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 752 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1375 cm⁻¹.

Composto 3-((4-((3-(acridin-9-ilmetil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)(metil)amino)propanonitrila (LPSF AA-104)

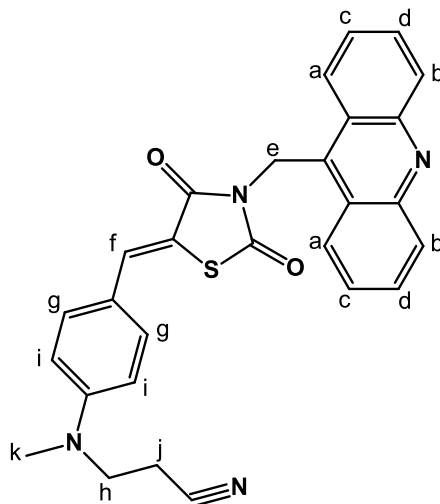


Figura 87 – Espectro do RMN ^1H do LPSF AA- 104

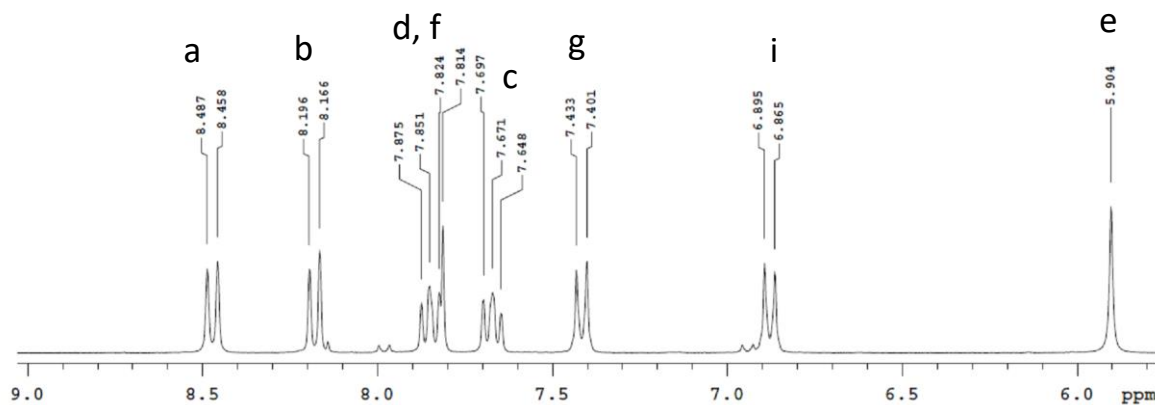


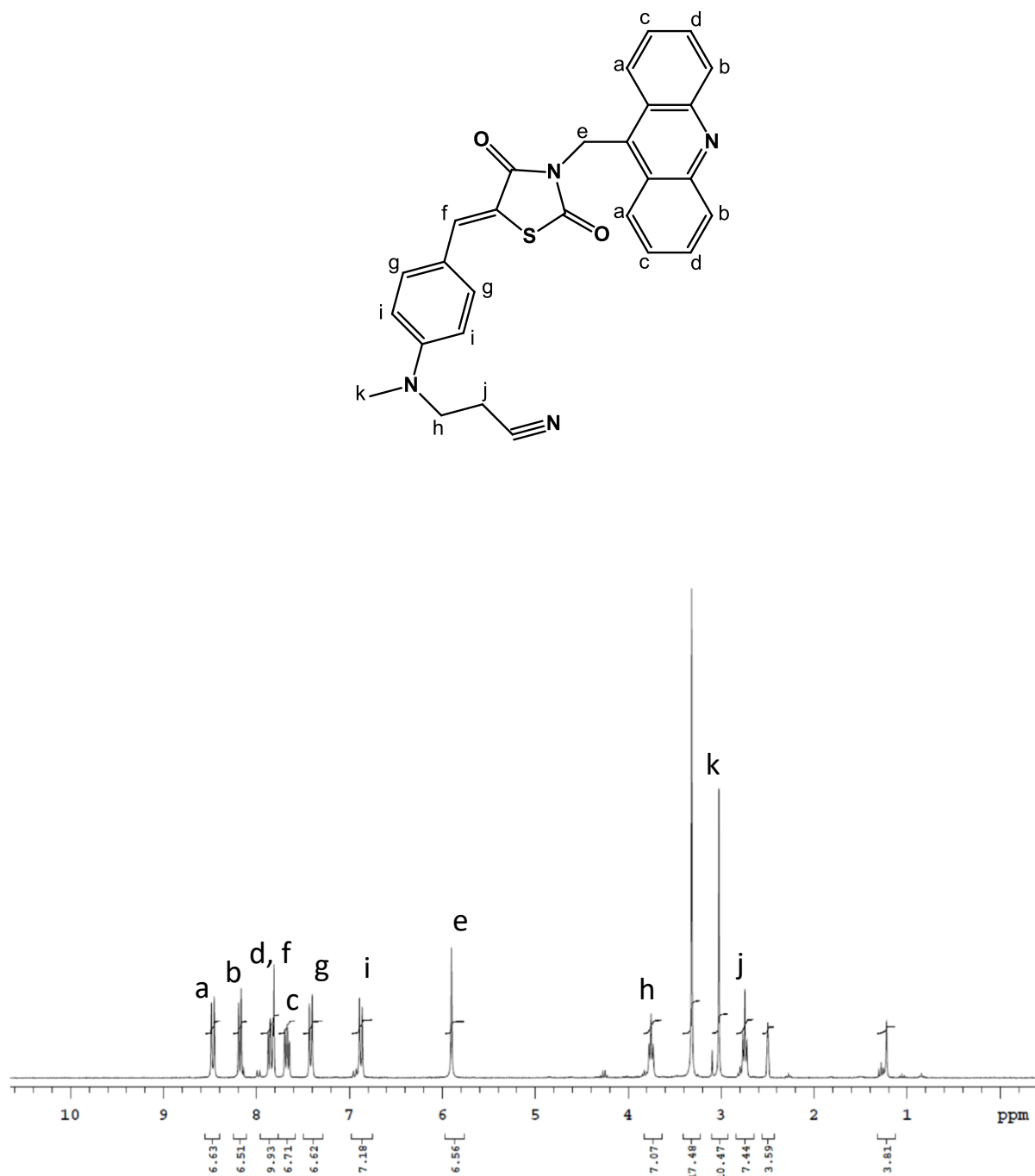
Figura 88 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF AA-104

Figura 89 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-((4-((3-(acridin-9-ilmetil)-2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenil)(metil)amino)propanonitrila (LPSF AA-104) (MM=478.1)

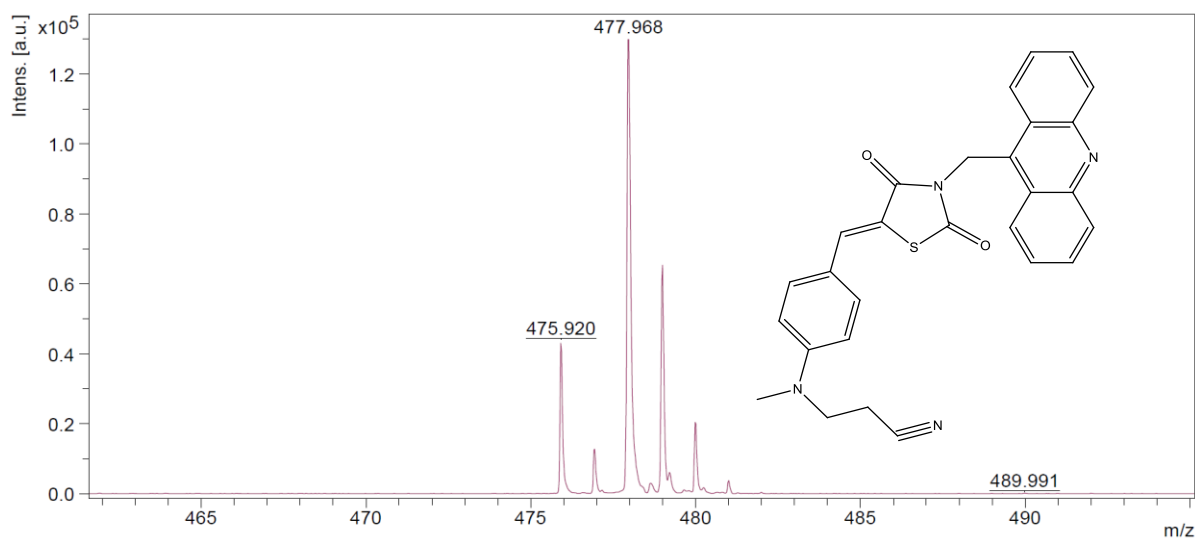
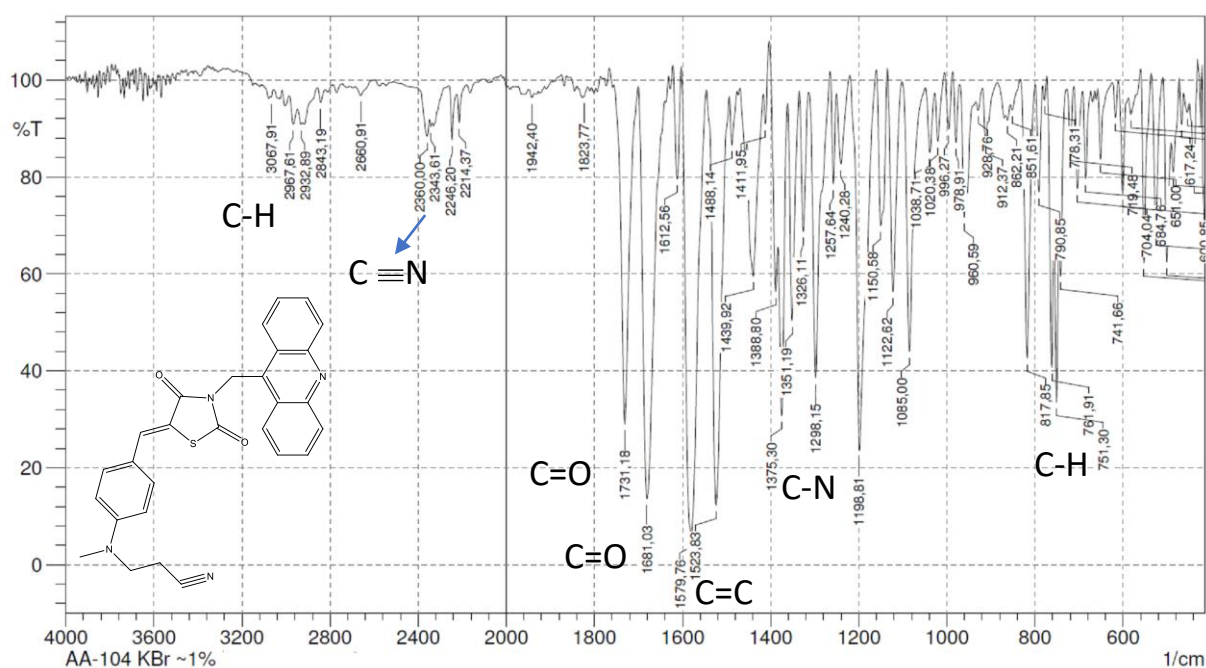


Figura 90 – Espectro de IV do LPSF AA- 104.



Estiramento C-H aromático, 2967 cm⁻¹. Estiramento de C=O, 1731 cm⁻¹, 1681 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1579 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 751 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1375 cm⁻¹. Estiramento C≡N em 2246 cm⁻¹.

Composto 3-(acridin-9-ilmetil)-5-((2-cloro-6-metoxiquinolin-3-il)metileno) tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-109)

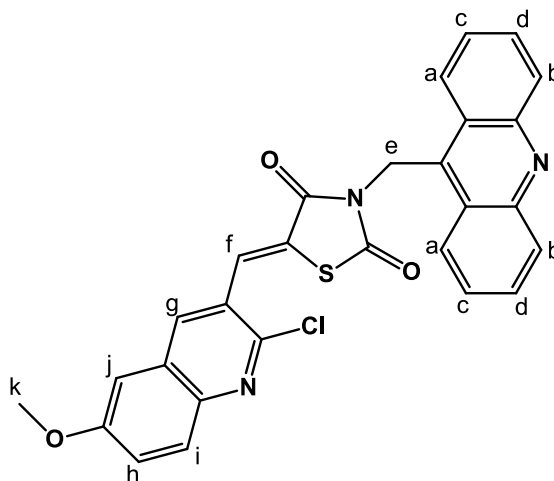


Figura 91 – Espectro do RMN ^1H do LPSF AA- 109

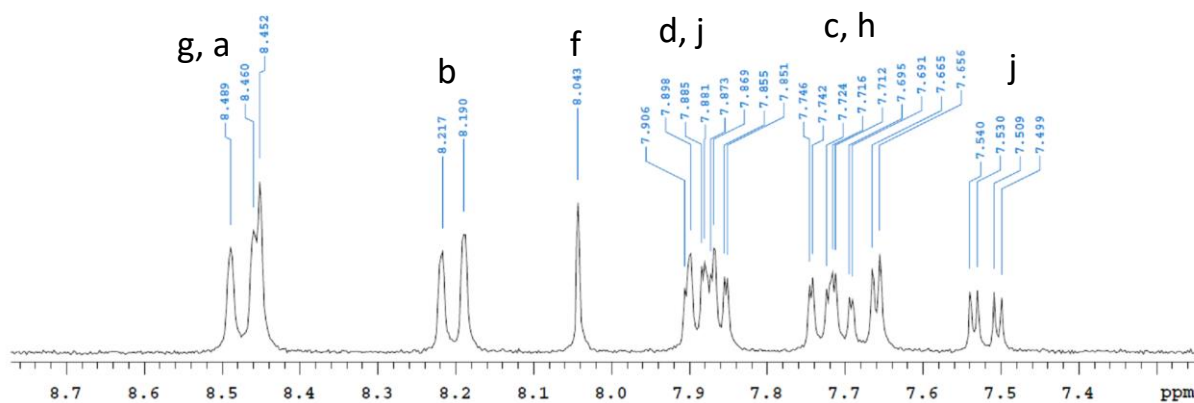


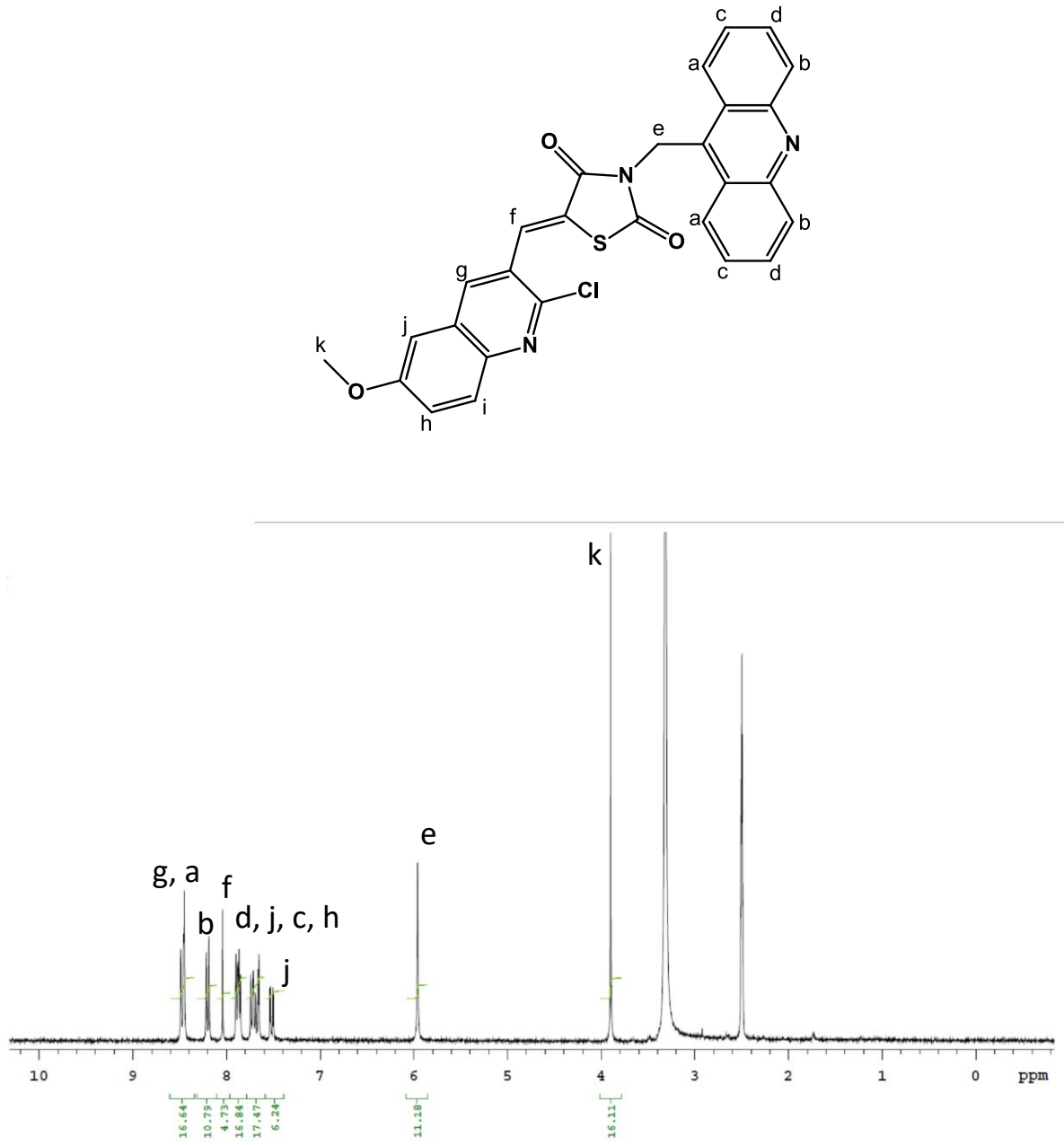
Figura 92 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF AA-109

Figura 93 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-(acridin-9-ilmetil)-5-((2-cloro-6-metoxiquinolin-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-109) (MM=511)

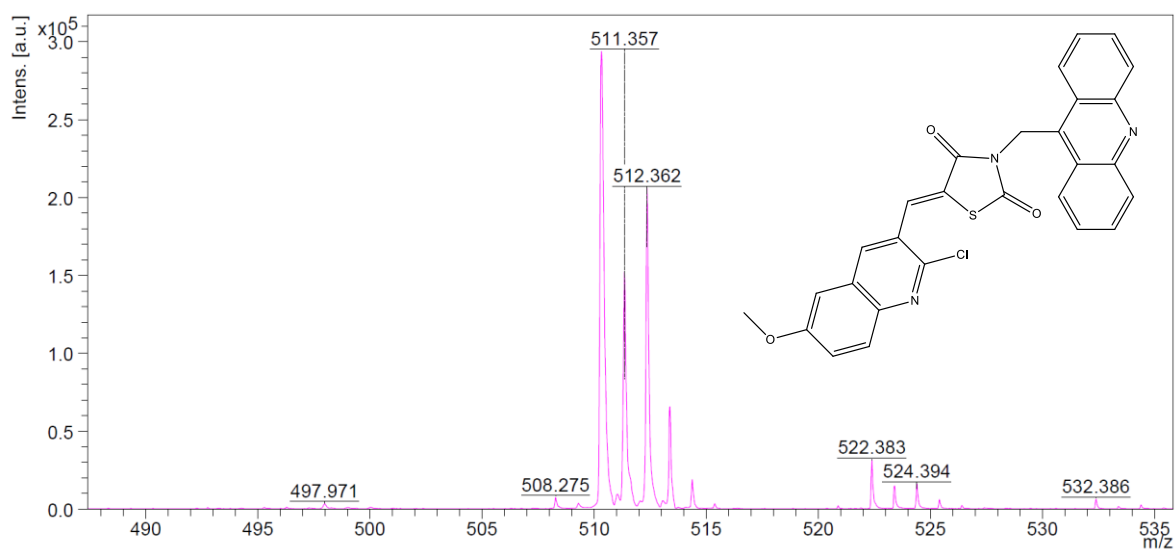
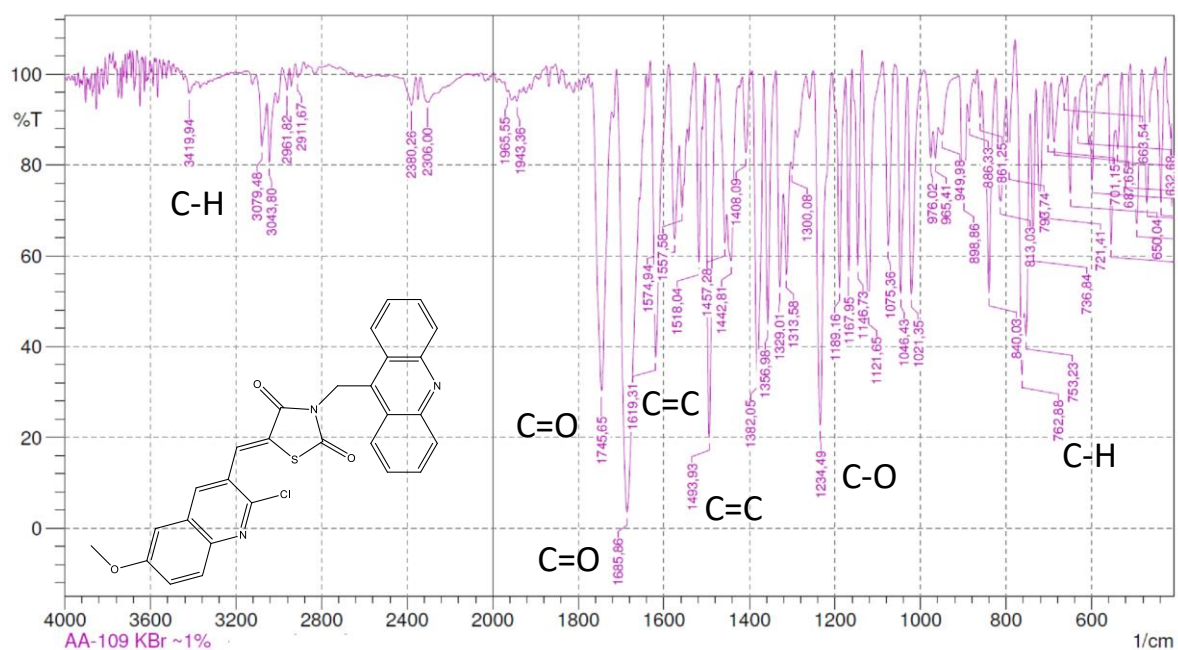


Figura 94 – Espectro de IV do LPSF AA- 109.



Estiramento C-H aromático, 3043 cm⁻¹. Estiramento de C=O, 1745 cm⁻¹, 1685 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1619 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 762 cm⁻¹. Estiramento C=C alifático, 1493 cm⁻¹. Estiramento C-O do éter, 1234 cm⁻¹.

**Composto 5-((1H-indol-5-il)metileno)-3-(acridin-9-ilmetil)tiiazolidina-2,4-diona
(LPSF AA-110)**

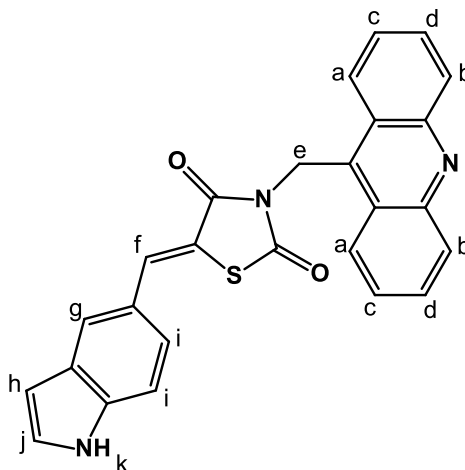


Figura 95 – Espectro do RMN ^1H do LPSF AA- 110

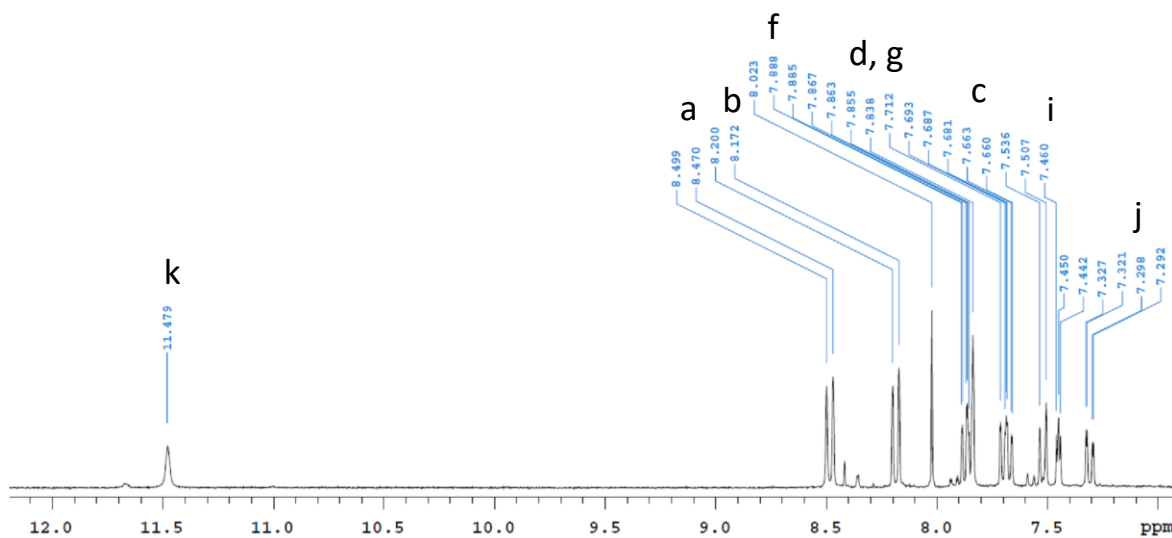


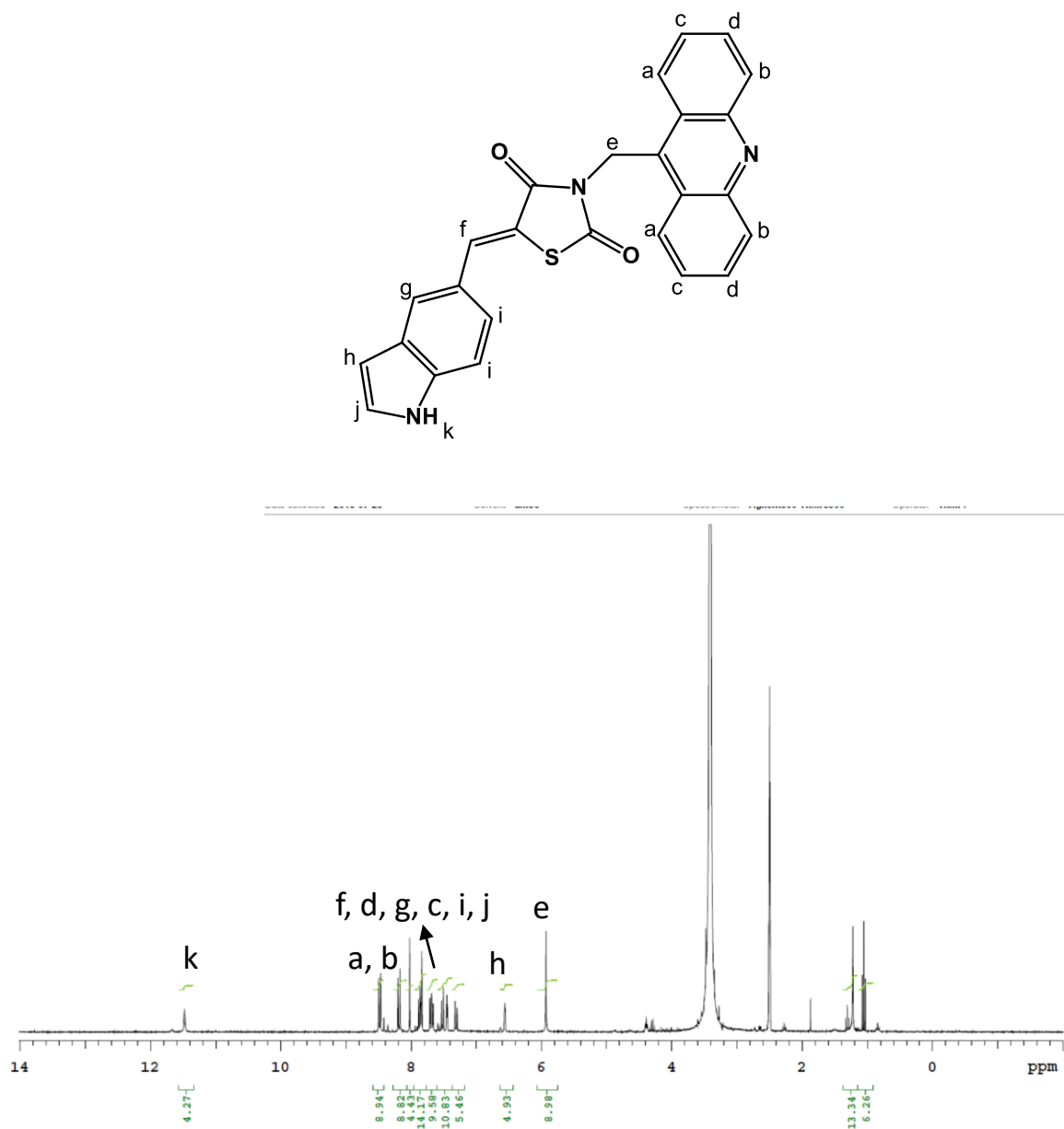
Figura 96 – Espectro Total do RMN ^1H do LPSF AA-110

Figura 97 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 5-((1H-indol-5-il)metileno)-3-(acridin-9-ilmetil) tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-110) (MM=435.1)

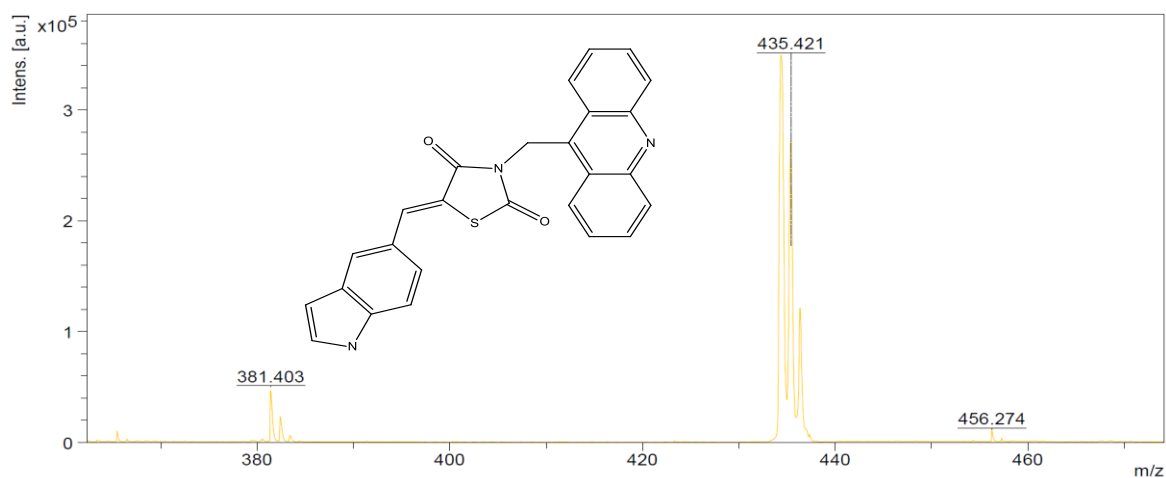
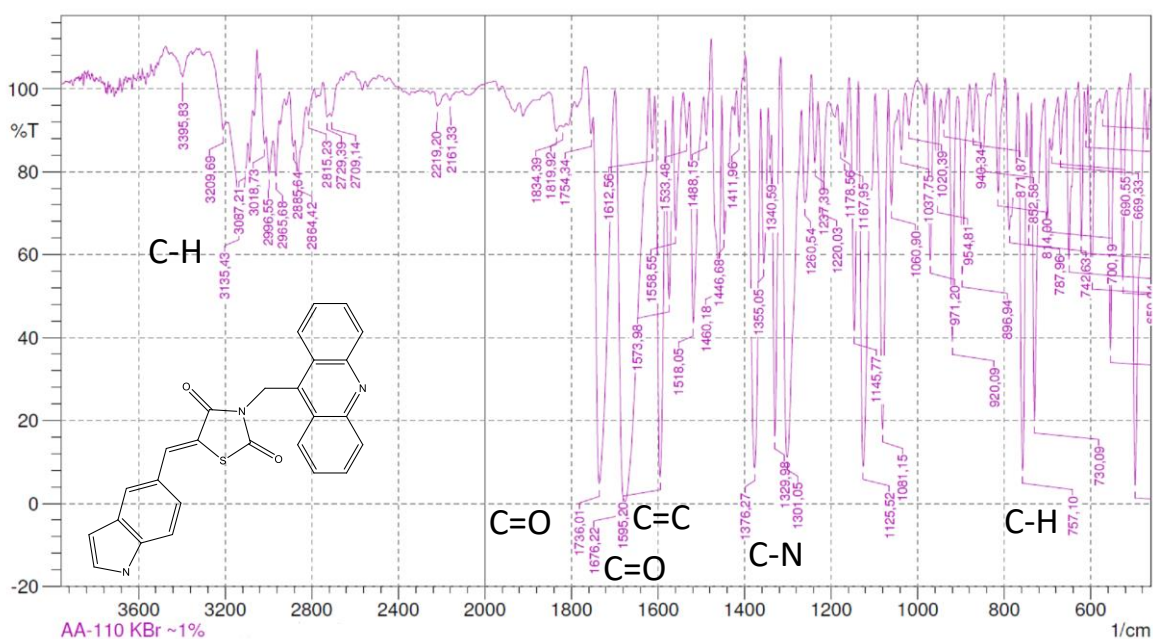


Figura 98 – Espectro de IV do LPSF AA- 110.



Estiramento C-H aromático, 3087 cm^{-1} . Estiramento de C=O, 1736 cm^{-1} , 1676 cm^{-1} . Estiramento das ligações C=C do alceno, 1595 cm^{-1} . Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 757 cm^{-1} . Estiramento C-N alifático, 1376 cm^{-1}

Composto 3-(acridin-9-ilmetil)-5-(4-(pirimidin-5-il)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-111)

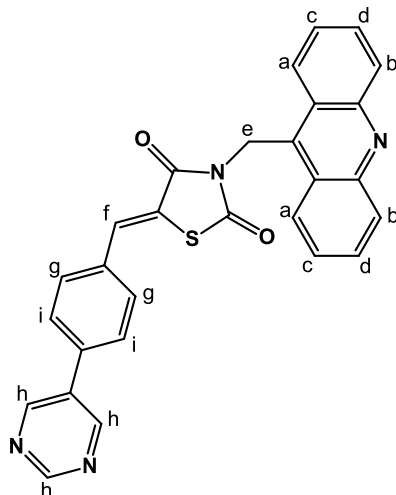


Figura 99 – Espectro do RMN ^1H do LPSF AA- 111

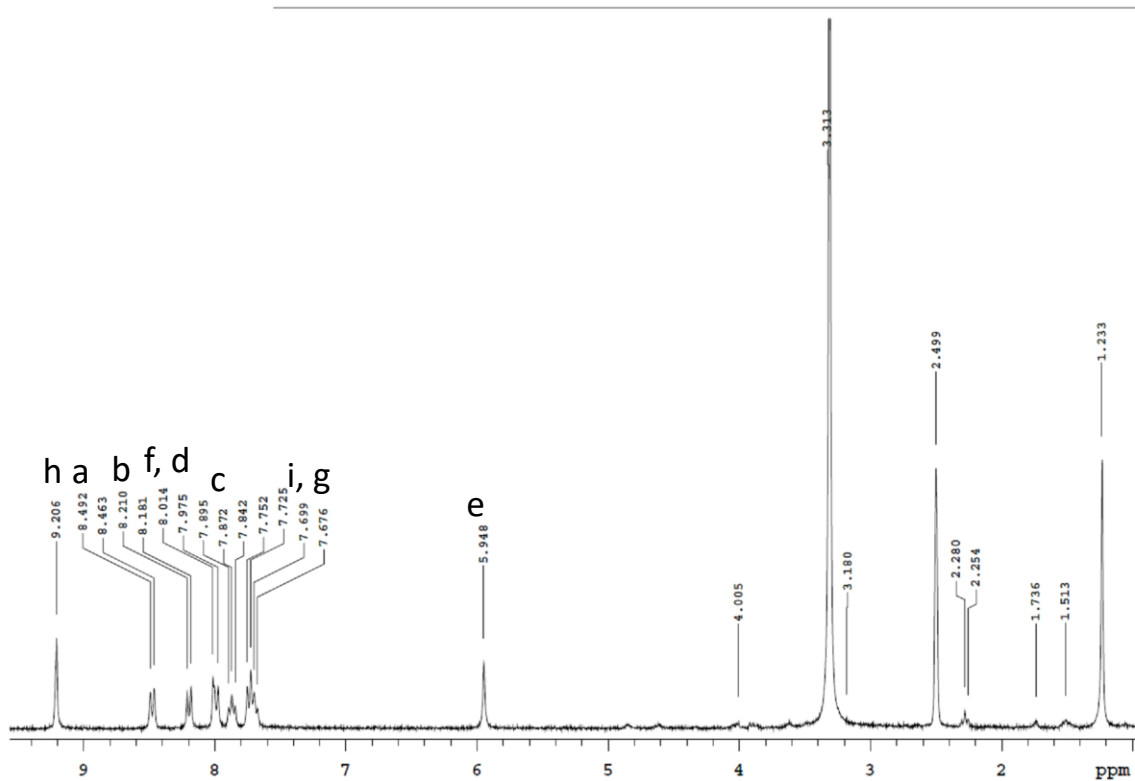


Figura 100 – Espectro de Massas por Maldi-Tof do 3-(acridin-9-ilmetil)-5-(4-(pirimidin-5-il)benzilideno)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF AA-111) (MM=474.1)

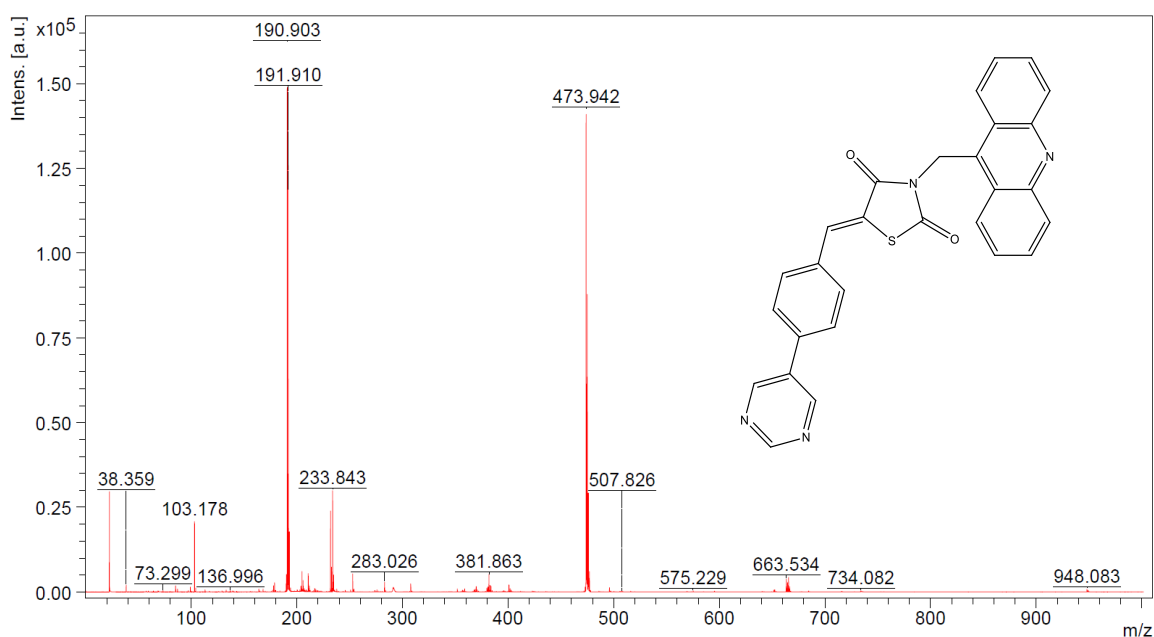
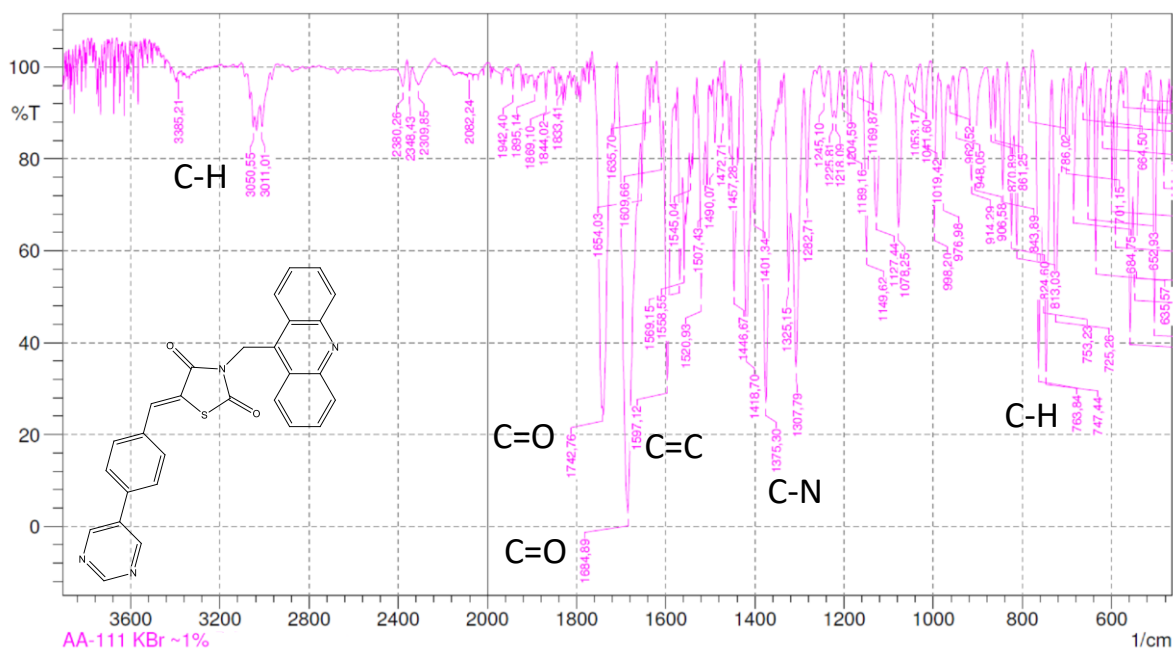


Figura 101 – Espectro de IV do LPSF AA- 111.



Estiramento C-H aromático, 3050 cm⁻¹. Estiramento de C=O, 1742 cm⁻¹, 1684 cm⁻¹. Estiramento das ligações C=C do alceno, 1597 cm⁻¹. Dobramento fora do plano de C-H de aromático, 763 cm⁻¹. Estiramento C-N alifático, 1375 cm⁻¹

ANEXO A - Patente depositada. Tiazacridinas na terapia anticâncer

(12) PEDIDO INTERNACIONAL PUBLICADO SOB O TRATADO DE COOPERAÇÃO EM MATÉRIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organização Mundial da
Propriedade Intelectual
Secretaria Internacional



(43) Data de Publicação Internacional
18 de Abril de 2013 (18.04.2013) WIPO | PCT

(10) Número de Publicação Internacional
WO 2013/053034 A3

- (51) Classificação Internacional de Patentes :
C07D 277/08 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (21) Número do Pedido Internacional :
PCT/BR2012/000421
- (22) Data do Depósito Internacional :
24 de Outubro de 2012 (24.10.2012)
- (25) Língua de Depósito Internacional : Português
- (26) Língua de Publicação : Português
- (30) Dados Relativos à Prioridade :
PI1106333-5
10 de Outubro de 2011 (10.10.2011) BR
- (71) Requerentes (para todos os Estados designados, exceto US) : UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE [BR/BR]; Av. Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP-50670-901 Recife - PE (BR). UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ - UFC [BR/BR]; Av. da Universidade 2853, Benfica, Fortaleza, CE, CEP:60020-181 (BR).
- (72) Inventores; e
- (71) Requerentes (para US unicamente) : LINS GALDINO. Suely [BR/BR]; AV. Boa Viagem, 5554 - Apto. 202, Boa Viagem - Recife - PE, CEP: 51030-000 (BR). DA ROCHA PITTA, Ivan [BR/BR]; Avenida Boa Viagem 5554, Apto 202, Boa Viagem, CEP: 51.030-000 Recife - PE (BR). DO CARMO ALVES DE LIMA, Maria [BR/BR]; Rua Beta, 55, Sucupira - Jaboatão Dos Guararapes -, Pernambuco, CEP: 54280-550 (BR). GALDINO DA ROCHA PITTA, Marina; AV. Boa Viagem, 5554 - Apto. 202, Boa Viagem - Recife - PE, CEP: 51030-000 (BR). ARAUJO BARROS, Francisco Washington [BR/BR]; Rua Gustavo Sampaio, 372, Parque Araxá - Fortaleza - Ceará, CEP: 60450-635 (BR). DO Ó
- PESSOA, Claudia [BR/BR]; Rua Eduardo Garcia, 888 - APTO. 901, Aldeota - Fortaleza - Ceará, CEP: 60150-100 (BR). DE MORAES FILHO, Manoel Odorico [BR/BR]; Rua República Do Líbano, 881/500, Meireles - Fortaleza - Ceará, CEP: 60160-140 (BR). DA ROCHA PITTA, Maira Galdino [BR/BR]; Av. Boa Viagem, 5554 - Apto. 202, Boa Viagem - Recife - Pe, CEP: 51030-000 (BR).
- (81) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção nacional existentes) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção regional existentes) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiático (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), Europeu (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Publicado:
- com relatório de pesquisa internacional (Art. 21(3))
 - a data de depósito do pedido internacional cai dentro do prazo de dois meses a contar da data de expiração do período de prioridade (Regra 26bis.3)

(Continua na página seguinte)

(54) Title : THIAZACRIDINES USED IN ANTI-CANCER THERAPY

(54) Título : THIAZACRIDINAS UTILIZADAS NA TERAPIA ANTICÂNCER

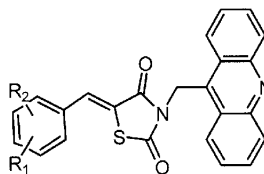


Figura 4

(57) Abstract : The present invention relates to 3-acridinyl-methyl-thiazolidine-2,4-dione-derived compounds, also denominated thiazacridines, and to the related processes for chemically synthesizing same, and also to the therapeutic use thereof for treating cancer.

(57) Resumo : A presente invenção é relativa a compostos derivados da 3-acridinilmetil-tiazolidina- 2,4-diona, também denominados tiazacridinas, bem como aos respectivos processos para sua síntese química, bem como seu uso terapêutico no tratamento do câncer.

WO 2013/053034 A3