



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

KERIOLAINE LIMA DOS SANTOS

**DERIVADOS TIAZÓLICOS: SÍNTESE, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTITUMORAL *IN VITRO* E ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA E  
ALBUMINA SÉRICA BOVINA**

Recife

2020

KERIOLAINE LIMA DOS SANTOS

**DERIVADOS TIAZÓLICOS: SÍNTESE, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTITUMORAL *IN VITRO* E ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA E  
ALBUMINA SÉRICA BOVINA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas na área de Síntese e Planejamento de Fármacos.

**Área de concentração:** Fármacos e medicamentos.

**Orientadora:**

Profa. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima

**Co-orientadora:**

Profa. Dra. Sinara Mônica Vitalino de Almeida

Recife

2020

Catálogo na Fonte  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S237d Santos, Keriolaine Lima dos.  
Derivados tiazólicos: síntese, avaliação da atividade antitumoral *in vitro* e estudos de interação com DNA e albumina sérica bovina / Keriolaine Lima dos Santos. – 2020.  
123 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Maria do Carmo Alves de Lima.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2020.  
Inclui referências e apêndices.

1. Tiazol. 2. DNA. 3. Albumina. 4. Atividade antitumoral. I. Lima, Maria do Carmo Alves de (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (20.ed.) UFPE (CCS2020-066)

KERIOLAINE LIMA DOS SANTOS

**DERIVADOS TIAZÓLICOS: SINTESE, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTITUMORAL *IN VITRO* E ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA E  
ALBUMINA SÉRICA BOVINA.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, na área de Síntese e Planejamento de Fármacos.

**Área de concentração:** Fármacos e medicamentos.

**Aprovada em:** 19/02/2020.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura (Presidente)  
Departamento de Antibióticos – UFPE

---

Profª. Dra. Fabiana Oliveira dos Santos Gomes (Examinador externo)  
Medicina – UNICAP

---

Prof. Dra. Anekécia Lauro da Silva (Examinador externo)  
Medicina - UNIVASF

À minha mãe Zenilda por todo incentivo e esforço diário para me proporcionar a realização de meus sonhos, por enfrentar tantos obstáculos sem medir esforços para me ajudar. Serei eternamente grata, Te amo!

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, sou imensamente grata a Deus, que me deu a oportunidade de construir minha vida acadêmica na UFPE e por poder concluir a primeira etapa da pós-graduação, por ter me fortalecido diante de todos os obstáculos que tive que enfrentar, por sempre me guiar, me dar discernimento, paciência e saúde. Por todas as graças diárias, sem ele nada disso seria possível.

À minha orientadora Profa. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima, que acreditou em mim desde quando iniciei minha caminhada na graduação, por me incentivar a continuar na pós-graduação me dando todo o apoio necessário, por toda compreensão, pelos ensinamentos passados e pelos laços de amizade firmados.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Sinara Mônica Vitalino de Almeida, a quem tenho muita admiração, por toda a contribuição e ajuda que foram necessárias para a conclusão deste trabalho, bem como por todos os encontros e conselhos compartilhados.

Aos meus pais Zenilda e José Felipe, que são minha base, de onde vem toda a força e incentivo diários na caminhada da vida, por me educarem e me incentivarem a estudar e lutar por aquilo que acredito, por todo esforço que eles fazem para me ajudar a conquistar meus sonhos, por compreenderem minhas ausências e mesmo assim mostrar o quanto me amam e o quanto acreditam em mim. Vocês são meu maior incentivo, amo vocês!

À minha irmã Maria Karina, por todo o apoio que sempre me deu e por ter compartilhado comigo tantos momentos únicos, seja me incentivando, seja me acalmando com palavras e ações. Estar com você durante todos esses anos de caminhada acadêmica, tornou a caminhada mais leve e mais cheia de amor, obrigada por tudo.

À minha prima/irmã Rafaela Lima, por compreender minhas ausências e por sempre ter acreditado no meu potencial, por todos os momentos de descontração em família, que com certeza, me fortaleceram para chegar até aqui.

À minha família que sempre me incentivou, me deu apoio e amor nos momentos que mais precisei, por todas as palavras positivas, por todas orações e momentos que me ajudaram a continuar a caminhada, meu muito obrigada!

Aos meus amigos do grupo TopsBio, Íris, Amélia e Emanuel, por todos os ensinamentos, por acreditaram em mim, me incentivarem e serem as pessoas que eu sempre poderia contar para o que precisasse. Pelos momentos de descontração e força quando mais precisei, vocês certamente tornaram a rotina mais leve e feliz. Amo vocês e sou grata por tudo!

Aos meus amigos do laboratório de Química e Inovação Terapêutica, dos quais posso citar: Paula, Cleberson, César, Allana, Ariany, Cristiane, Rosanna, Natanael, Tiago, Suellen, Hanna, Tamires, Miguel, Rubinho, Denise. Por todos os momentos compartilhados desde que iniciei no meio científico e por todos os conhecimentos adquiridos com vocês. Meu muito obrigada!

Em especial ao meu amigo Pedro Bomfim, que está nessa caminhada comigo desde a graduação e também no LQIT, por todos os ensinamentos, pela parceria, pelos momentos de descontração, por me ouvir e ajudar nos momentos que mais precisei. Obrigada por tudo!

Aos amigos do laboratório que me ajudaram na construção deste trabalho, compartilhando seus conhecimentos e me auxiliando nas minhas dúvidas e dificuldades, Natanael, César e o Prof. Jamerson.

Aos técnicos do DQF-UFPE e do LAC-UFPE pela contribuição nas análises dos meus produtos, que foram cruciais para a realização deste trabalho.

Ao professor Luiz Carvalho, pelo espaço concedido no Laboratório de Bioquímica do LIKA-UFPE, e em especial à sua aluna Aurenice, que me recebeu de braços abertos e se tornou uma amiga.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro, essencial à conclusão desta pesquisa.

A todos que contribuíram de forma direta e indireta para a conclusão deste trabalho, meu muito obrigada!

## RESUMO

O câncer é considerado um grave problema de saúde, estimativas indicam o surgimento de 625 mil novos casos a cada ano do triênio 2020-2022 no Brasil. As terapias disponíveis para o tratamento do câncer apresentam algumas limitações como falta de seletividade e indução de efeitos colaterais. Neste sentido, a busca por novas alternativas terapêuticas torna-se relevante. O DNA e a albumina sérica são biomoléculas investigadas para o tratamento do câncer, o DNA atua no controle das funções celulares, e a albumina sérica desempenha funções no transporte de substâncias no organismo. Moléculas que possuem a porção tiazol têm sido amplamente investigadas, esse núcleo apresenta inúmeras atividades descritas na literatura, com promissoras atividades antitumorais. Nessa perspectiva, este trabalho propôs a síntese, caracterização estrutural, estudos de interação e avaliação da atividade antitumoral de novos derivados tiazólicos. Foram sintetizados dez derivados tiazólicos inéditos que se diferenciam pelas substituições nas porções R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> da molécula, ambas tiveram suas estruturas químicas confirmadas pelas técnicas espectroscópicas de RMN <sup>1</sup>H, RMN C<sup>13</sup>, e infravermelho (IV). A investigação das interações com as biomoléculas foi realizada por meio de técnicas espectroscópicas de absorção UV-vis e fluorescência. Nos ensaios de interação com o ssDNA foram observados diferentes efeitos espectroscópicos como hipercrômico, hipocrômico e hipsocrômico, as constantes de afinidade (K<sub>b</sub>) obtidas variaram entre 1.0 x 10<sup>7</sup> e 1.55 x 10<sup>4</sup>, nos ensaios de fluorescência foram observados os efeitos hipocrômico, hipercrômico, hipsocrômico e batocrômico e os valores da constante de supressão fluorescente (K<sub>sv</sub>) variaram entre 0.3 x 10<sup>4</sup> e 1.01 x 10<sup>4</sup>, sugerindo que os compostos se ligam ao DNA pelos modos intercalativos e por ligação ao sulco. Na interação com a BSA no teste de absorção UV-vis foram observados os efeitos hipercrômico e hipsocrômico e os valores de K<sub>b</sub> variaram entre 9.70 x 10<sup>4</sup> e 1.49 x 10<sup>5</sup>, nos ensaios de emissão fluorescente os efeitos observados foram hipocrômico e hipsocrômico, e os valores de K<sub>sv</sub> variaram entre 11.34 x 10<sup>4</sup> e 0.88 x 10<sup>4</sup>, indicando que todos os compostos interagiram à BSA. Se destacaram nas interações os LQIT-KLT'S 01, 03 e 06 que são substituídos na porção R<sub>1</sub> pelos grupamentos CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub> e OCF<sub>3</sub> respectivamente e na porção R<sub>2</sub> pelo grupamento Br (KLT'S 01 e 03). A atividade antiproliferativa foi avaliada frente a linhagem celular de câncer de mama (MCF-7) e a linhagem não transformada de macrófago (J774), por meio da técnica de MTT. Neste ensaio os derivados KLT'S 01, 03 e 06 apresentaram os melhores valores de IC<sub>50</sub> frente a linhagem celular MCF-7 com 0,29, 0,52 e 0,60 μM respectivamente. No ensaio de citotoxicidade frente aos macrófagos, os melhores derivados foram os compostos KLT-02 e KLT-08, com valores de

viabilidade celular de 100% e 60,16% respectivamente. O destaque deste estudo foi o derivado KLT-01, com valores satisfatórios de interação ao DNA e de citotoxicidade, frente a linhagem tumoral MCF-7, todavia, os resultados mostram que os derivados tiazólicos são promissores agentes antitumorais e que o padrão de substituição influencia de forma positiva nos resultados.

**Palavras-chave:** Tiazol. DNA. Albumina. Atividade antitumoral.

## ABSTRACT

Cancer is considered a serious health problem, estimates indicate the emergence of 625 thousand new cases each year of the 2020-2022 triennium in Brazil. The therapies available for the treatment of cancer have some limitations such as lack of selectivity and induction of side effects. In this sense, the search for new therapeutic alternatives becomes relevant. DNA and serum albumin are biomolecules investigated for the treatment of cancer, DNA acts to control cellular functions, and serum albumin plays a role in the transport of substances in the body. Molecules that have the thiazole portion have been extensively investigated, this nucleus has numerous activities described in the literature, with promising antitumor activities. In this perspective, this work proposed the synthesis, structural characterization, interaction studies and evaluation of the antitumor activity of new thiazolic derivatives. Ten unpublished thiazolic derivatives were synthesized that differ by substitutions in the R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> portions of the molecule, both had their chemical structures confirmed by <sup>1</sup>H NMR, C<sup>13</sup> NMR, and infrared (IV) spectroscopic techniques. The investigation of interactions with biomolecules was performed using UV-vis and fluorescence spectroscopic techniques. In the assays of interaction with the ssDNA different spectroscopic effects were observed, such as hyperchromic, hypochromic and hypsochromic, the affinity constants (K<sub>b</sub>) obtained varied between 1.0 x 10<sup>7</sup> and 1.55 x 10<sup>4</sup>, in the fluorescence tests the hypochromic, hyperchromic, hypsochromic effects were observed and bathochromic and the values of the fluorescent suppression constant (K<sub>sv</sub>) varied between 0.3 x 10<sup>4</sup> and 1.01 x 10<sup>4</sup>, suggesting that the compounds bind to DNA by intercalative and groove binding methods. In the interaction with the BSA in the UV-vis absorption test, the hyperchromic and hypsochromic effects were observed and the K<sub>b</sub> values varied between 9.70 x 10<sup>4</sup> and 1.49 x 10<sup>5</sup>, in the fluorescent emission tests the observed effects were hypochromic and hypsochromic, and the values of K<sub>sv</sub> varied between 11.34 x 10<sup>4</sup> and 0.88 x 10<sup>4</sup>, indicating that all compounds interacted with BSA. The LQIT-KLT'S 01, 03 and 06 stood out in the interactions, which are replaced in the R<sub>1</sub> portion by the CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub> and OCF<sub>3</sub> groups respectively and in the R<sub>2</sub> portion by the Br (KLT'S 01 and 03) group. The antiproliferative activity was evaluated against the breast cancer cell line (MCF-7) and the non-transformed macrophage line (J774), using the MTT technique. In this assay, the KLT'S derivatives 01, 03 and 06 showed the best IC<sub>50</sub> values compared to the MCF-7 cell line with 0.29, 0.52 and 0.60 μM respectively. In the cytotoxicity assay against macrophages, the best derivatives were compounds KLT-02 and KLT-08, with cell viability values of 100% and 60.16% respectively. The highlight of this study was the KLT-01 derivative, with satisfactory

values of DNA interaction and cytotoxicity, compared to the tumor line MCF-7, however, the results show that thiazolic derivatives are promising antitumor agents and that the substitution pattern influences positively in the results.

**Keywords:** Thiazole. DNA. Albumin. Antitumor activity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo .....	22
Figura 2 - <i>Hallmarks</i> do câncer, Características apresentadas por células tumorais .....	24
Figura 3 - Fármacos utilizados na terapia do câncer que atuam no DNA .....	25
Figura 4 - Representação dos modos de ligação não covalente com o DNA .....	27
Figura 5 - Representação dos efeitos espectroscópicos observados nos ensaios de interação .....	29
Figura 6 - Estrutura terciária da HSA e BSA, e seus respectivos resíduos de triptofano .....	32
Figura 7 - Estrutura molecular do núcleo tiazol .....	34
Figura 8 - Fármacos que possuem o anel tiazol em sua estrutura .....	36
Figura 9 - Estrutura molecular do composto 3d .....	38
Figura 10 - Estrutura molecular do composto 13f .....	38
Figura 11 - Estrutura molecular dos compostos TAP-07 e TP-07.....	39
Figura 12 - Estrutura molecular dos compostos 5g e 1d .....	40
Figura 13 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H do KLT-03 e seus respectivos sinais diagnósticos .....	54
Figura 14 - RMN <sup>1</sup> H do KLT-03 e seus respectivos sinais diagnósticos .....	55
Figura 15 - RMN <sup>13</sup> C do composto KLT-03.....	57
Figura 16 - Espectro de infravermelho do KLT-03.....	58
Figura 17 - Espectros de absorção do LQIT/KLT-01 e do LQIT/KLT-07 na presença de concentrações crescentes de ssDNA .....	68
Figura 18 - Espectros de absorção do LQIT/KLT-03 na presença de concentrações crescentes de ssDNA .....	69
Figura 19 - Espectros de fluorescência do LQIT/KLT-06 e 09 na presença de concentrações crescentes de ssDNA .....	72
Figura 20 - Espectros de fluorescência do LQIT/KLT-07 e 08 na presença de concentrações crescentes de ssDNA .....	73

Figura 21 - Espectros de absorção dos LQIT/KLT-10 e LQIT/KLT-05 na presença de concentrações crescentes de BSA .....	76
Figura 22 - Espectros de supressão fluorescente da BSA (20 $\mu$ M) na ausência e na presença dos derivados LQIT/KLT-10 e 07.....	80

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Obtenção do anel tiazol pela síntese de Hantzsch .....	35
Esquema 2 - Esquema reacional para obtenção do derivado 4-metoxifenil-hidrazina-carbotioamida (LQIT/KL-01) .....	42
Esquema 3 - Esquema reacional para obtenção dos derivados Tiossemicarbazonas substituídos (LQIT/KL) .....	42
Esquema 4 - Esquema reacional para obtenção dos derivados Tiazóis substituídos (LQIT/KLT) .....	44
Esquema 5 - Rota sintética empregada na preparação dos compostos tiazólicos .....	50
Esquema 6 - Mecanismo reacional da tiossemicarbazida (LQIT/KL-001) .....	51
Esquema 7 - Mecanismo reacional da tiossemicarbazona .....	52
Esquema 8 - Mecanismo reacional dos derivados tiazólicos .....	53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Principais deslocamentos químicos observados no RMN $^1\text{H}$ dos derivados LQIT/KLT .....	56
Tabela 2 -	Principais deslocamentos químicos observados no RMN $^{13}\text{C}$ dos derivados LQIT/KLT.....	57
Tabela 3 -	Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para os compostos da série LQIT/KLT .....	59
Tabela 4 -	Compostos da série tiazol e suas respectivas características físico-químicas .....	65
Tabela 5 -	Dados espectroscópicos de absorção UV-vis dos compostos livres e ligados ao ssDNA .....	66
Tabela 6 -	Dados espectroscópicos de emissão dos derivados LQIT/KLTs na presença e ausência do ssDNA .....	71
Tabela 7 -	Dados espectroscópicos de absorção UV-vis dos compostos livres e ligados a BSA .....	75
Tabela 8 -	- Dados espectroscópicos de emissão de fluorescência da BSA livre e ligada aos derivados tiazólicos .....	78
Tabela 9 -	Valores de viabilidade celular (%) para as linhagens celulares MCF-7 e J774 após exposição a 50 $\mu\text{M}$ dos derivados tiazólicos .....	82
Tabela 10 -	Valores de $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ) para a linhagem celular MCF-7 após exposição a diferentes concentrações dos derivados tiazólicos .....	82

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOH	Ácido acético
AMSA	Amsacrina
BE	Brometo de etídio
BSA	Albumina do soro bovino (do inglês Bovine Serum Albumin)
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
DC	Dicroísmo circular
CCD	Cromatografia em camada delgada
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
EtOH	Etanol
FF	Faixa de fusão
HIV	Vírus da imunodeficiência humana (do inglês Human Immunodeficiency vírus)
IC <sub>50</sub>	Concentração mínima inibitória de 50% do crescimento celular
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IV	Infravermelho
J774	Linhagem celular não tumoral de macrófagos
K <sub>b</sub>	Constante de ligação intrínseca
KBr	Brometo de potássio
K <sub>sv</sub>	Constante de Stern-Volmer
LQIT	Laboratório de Química e Inovação Terapêutica
HSA	Albumina do soro humano (do inglês Human Serum Albumin)
MCF-7	Células de adenocarcinoma mamário
MHz	Megahertz
MTT	3-(4,5-Dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium, 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
PBS	Solução tamponada de fosfato
Phe	Fenilalanina
ppm	Partes por milhão
RF	Fator de retenção

RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono treze
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
ssDNA	Ácido desoxirribonucleico de salmão
Trip	Triptofano
Tris	Tris(hidroximetil)aminometano
Tyr	Tirosina
UV-Vis	Ultravioleta-visível
OMS	Organização Mundial da Saúde

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	21
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	21
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>22</b>
3.1	CÂNCER: ASPECTOS GERAIS .....	22
<b>3.1.1</b>	<b>DNA como alvo biológico</b> .....	<b>26</b>
3.2	ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM A BSA .....	30
3.3	COMPOSTOS HETEROCICLOS .....	33
<b>3.3.1</b>	<b>O núcleo tiazol</b> .....	<b>34</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Atividade antitumoral de derivados tiazóis</b> .....	<b>37</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>41</b>
4.1	SEÇÃO QUÍMICA .....	41
<b>4.1.1</b>	<b>Materiais e equipamentos</b> .....	<b>41</b>
4.2	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS .....	41
<b>4.2.1</b>	<b>Obtenção do derivado Tiossemicarbazida (LQIT/KL-001)</b> .....	<b>41</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Obtenção dos derivados Tiossemicarbazonas substituídos (LQIT/KL)</b> .....	<b>42</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Obtenção dos derivados Tiazólicos (LQIT/KLT)</b> .....	<b>43</b>
4.3	SEÇÃO BIOLÓGICA .....	45
<b>4.3.1</b>	<b>Estudos de interação dos derivados Tiazólicos com o ssDNA BSA</b> .....	<b>45</b>
4.3.1.1	Materiais e equipamentos .....	46
4.3.1.2	Preparação das soluções de ssDNA e BSA .....	46
<b>4.3.2</b>	<b>Espectroscopia de absorção eletrônica</b> .....	<b>46</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Espectroscopia de emissão de fluorescência</b> .....	<b>47</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Atividade antiproliferativa <i>in vitro</i></b> .....	<b>48</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>50</b>
5.1	ESTUDO QUÍMICO .....	50
<b>5.1.1</b>	<b>Mecanismo de reação para obtenção do derivado Tiossemicarbazida (LQIT/KL-001)</b> .....	<b>51</b>

5.1.2	Mecanismo de reação para obtenção dos derivados Tiossemicarbazonas (LQIT/KL) .....	51
5.1.3	Mecanismo de reação para obtenção dos derivados Tiazóis (LQIT/KLT) .....	52
5.1.4	Análise espectroscópica dos Derivados Tiazólicos .....	53
5.1.5	Características físico químicas dos derivados tiazólicos .....	64
5.2	ESTUDOS DE INTERAÇÃO .....	65
5.2.1	Estudo de interação com o DNA .....	65
5.2.1.1	Espectroscopia de absorção eletrônica .....	65
5.2.1.2	Espectroscopia de emissão de fluorescência .....	70
5.2.2	Estudo de interação com a BSA .....	74
5.2.2.1	Espectroscopia de absorção eletrônica .....	74
5.2.2.2	Espectroscopia de emissão de fluorescência .....	77
5.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA <i>IN VITRO</i> .....	81
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	86
6.1	PERSPECTIVAS .....	88
	REFERÊNCIAS .....	89
	APÊNDICE A - ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS DE RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C E INFRAVERMELHO (IV) DOS DERIVADOS LQIT/KLT'S .....	101
	APÊNDICE B - ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VIS DE INTERAÇÃO ENTRE OS DERIVADOS LQIT/KLT'S E O SSDNA ...	116
	APÊNDICE C - ESPECTROS DE EMISSÃO FLUORESCENTE DA INTERAÇÃO ENTRE OS DERIVADOS LQIT/KLT'S E O SSDNA ...	118
	APÊNDICE D - ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VIS DA INTERAÇÃO ENTRE OS DERIVADOS LQIT/KLT'S E A BSA .....	120
	APÊNDICE E - ESPECTROS DE EMISSÃO FLUORESCENTE DA INTERAÇÃO ENTRE OS DERIVADOS LQIT/KLT'S E A BSA .....	122

## 1 INTRODUÇÃO

Câncer, neoplasia ou tumor maligno são termos atribuídos a um conjunto de doenças que podem acometer todos os órgãos e tecidos do corpo em qualquer faixa etária de idade. A principal característica dessas células é a capacidade de se proliferar rapidamente e invadir diferentes tecidos, além de seus limites usuais, podendo levar a ocorrência de metástase. Essas neoplasias representam a segunda principal causa de morte em todo o mundo, sendo responsável por cerca de 9,6 milhões de óbitos em 2018, ou seja, 1 em cada 6 mortes foram atribuídas ao câncer (WHO, 2020). No Brasil, estimou-se para o triênio 2019-2022 a ocorrência de 625 mil novos casos para cada ano, sendo neste país os tipos mais incidentes os cânceres de pele não melanoma, mama, próstata, cólon, reto, pulmão e estômago (INCA, 2020).

O tratamento do câncer geralmente é realizado por meio de cirurgia, quimioterapia ou radioterapia. No entanto, a utilização da quimioterapia tem apresentado muitas limitações, como falta de seletividade e surgimento de resistência a múltiplas drogas, esses fatos têm contribuído para o surgimento de muitos efeitos colaterais e uma baixa qualidade de vida dos pacientes, desencadeando em impedimentos que dificultam a eficácia do tratamento (TURAN-ZITOUNI et al., 2016; WHO, 2020).

Muitos fármacos utilizados no tratamento do câncer têm como alvo o DNA, como é o caso da Oxaliplatina, cisplatina e 5-fluorouracil, inclusive muitos medicamentos atuam por meio de ligação a essa biomolécula (BAI et al., 2020; PALCHAUDHURI; HERGENROTHER, 2009). Em vista disso, o DNA é um alvo terapêutico consolidado na investigação de novos protótipos a fármacos (IQBAL et al., 2019). Essa biomolécula é muito importante e está presente nas células de todos os seres vivos, desempenhando papéis essenciais no organismo como na reprodução, desenvolvimento e crescimento, além de participar dos processos de mutação e carcinogênese (LONG et al., 2018)

Neste sentido, o estudo do DNA é uma área de pesquisa muito significativa, principalmente no estudo do câncer. A ligação de fármacos ao DNA pode alterar sua estrutura, e prejudicar seu funcionamento, podendo levar a uma interrupção do ciclo celular e até a morte celular (OLIVEIRA et al., 2017; GHOSH et al., 2017). Um composto pode interagir com o DNA de forma covalente e não covalente. A segunda forma pode ocorrer por meio de intercalação, interação ao sulco maior ou menor ou por atração eletrostática (ALI et al., 2017). Todos os modos de interação são importantes e são dependentes das características estruturais de cada composto. As investigações sobre os modos de interação entre biomoléculas e

compostos orgânicos pode ser realizada por meio de técnicas espectroscópicas de absorção e fluorescência, por meio de análises de alterações em seus espectros (RIBEIRO et al., 2019).

Para melhorar a ação desses fármacos é interessante a investigação da capacidade de interação com as albuminas séricas. Essa interação pode contribuir para o conhecimento de propriedades de distribuição, metabolismo e excreção, uma vez que essas proteínas desempenham funções específicas no transporte de substâncias endógenas e exógenas no sangue, ou seja, uma maior afinidade de ligação de medicamentos a proteínas pode melhorar sua eficácia no tratamento (AMITHA et al., 2020; TOPALA et al., 2020). A albumina sérica bovina (BSA) é um análogo estrutural da albumina sérica humana (HSA) e tem sido amplamente utilizada na investigação da interação entre compostos e proteínas (MANIKANDAMATHAVAN et al., 2017). Dessa forma, investigações sobre a ligação de compostos bioativos a BSA, fornecem informações importantes sobre as características estruturais que favorecem a eficácia terapêutica e farmacológica de um medicamento (ĆOĆIĆ et al., 2018).

Os derivados tiazólicos são compostos orgânicos amplamente estudados na química medicinal por causa de seu potencial biológico e facilidade de obtenção. A estrutura do anel tiazol está presente em diversos compostos biologicamente ativos, tais como produtos naturais e farmacêuticos (TURAN-ZITOUNI et al., 2016). Muitos fármacos utilizados na clínica possuem o anel tiazol em sua estrutura, tais como sulfatiazol (antimicrobiano) bleomicina, tiazofurina (antineoplásicos) e ritonavir (antirretroviral), além de possuírem inúmeras atividades biológicas relatadas (KASHYAP et al., 2012; ANURADHA et al., 2019).

Embora muitos agentes antitumorais já sejam descritos na literatura e comercialmente disponíveis, a busca por novas alternativas antitumorais se faz necessária devido aos altos níveis de citotoxicidade e falta de seletividade dos medicamentos já disponíveis. Os derivados tiazólicos são descritos com promissoras atividades anticâncer e podem atuar em diferentes alvos biológicos, tais como via mitocondrial, interrupção do ciclo celular, atividade antiproliferativa, antimetastática e inibidores de quinases (MORIGI et al., 2015; SANTANA et al., 2018).

Nesta perspectiva, o objetivo do presente trabalho foi o desenvolvimento de novos derivados tiazólicos com diferentes substituições e avaliação de suas capacidades de interação com o DNA e a BSA, bem como atividade antiproliferativa frente a linhagem celular MCF-7 e J774 visando a investigação de um possível mecanismo de ação pelo qual os derivados tiazólicos podem atuar como agentes anticâncer.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver novas alternativas terapêuticas que sejam potenciais agentes anticâncer por meio da síntese dos novos derivados Tiazóis substituídos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e determinar as características físico-químicas de 10 novos derivados tiazóis substituídos;
- Elucidar as estruturas químicas por meio de técnicas espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e de Carbono (RMN  $^{13}\text{C}$ ) e espectroscopia no infravermelho (IV);
- Avaliar a atividade antiproliferativa dos derivados tiazólicos sintetizados frente a linhagem de célula tumoral MCF-7 (mama), e a linhagem de célula não transformada J774 (macrófagos).
- Avaliar a interação dos derivados sintetizados com o DNA e albumina sérica bovina (BSA) por meio de técnicas espectroscópicas de absorção UV-visível e fluorescência;

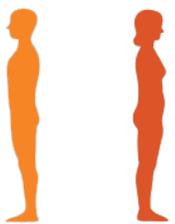
### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 CÂNCER: ASPECTOS GERAIS

Câncer ou neoplasia maligna são termos análogos utilizados para descrever um conjunto de doenças que podem afetar diferentes partes do corpo. As principais características desse conjunto de doenças são a capacidade de proliferação rápida e descontrolada, anti-apoptose e angiogênese, podendo se espalhar para outros órgãos no corpo, processo denominado de metástase (WHO, 2019; MOHAN et al., 2019; TANTAWY et al., 2017).

Segundo a Organização mundial de saúde (WHO, 2019), o câncer representa um grave problema de saúde, sendo a segunda causa mais comum de morte em todo o mundo, responsável por cerca de 9,6 milhões de mortes em 2018. No Brasil estimativas indicam o surgimento de 625 milhões de novos casos de câncer a cada ano para o triênio 2020-2022 (INCA, 2020). Sendo os tipos de câncer mais comuns: pele não melanoma (177 mil casos novos), mama, próstata (66 mil cada), cólon, reto (41 mil), pulmão (30 mil), e estômago (21 mil) (WHO, 2020). No Brasil estimou-se para o biênio 2018-2019 o surgimento de 600 mil novos casos por ano (figura 1). Os casos mais prevalentes em homens e mulheres são o câncer de próstata e o câncer de mama, respectivamente (INCA, 2018).

**Figura 1-** Distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo.

Localização primária	Casos	%			Localização primária	Casos	%
Próstata	68.220	31,7%		<b>Homens</b> <b>Mulheres</b>	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%

Fonte: INCA, (2020)

O surgimento dessas neoplasias pode ser influenciado por fatores externos (presentes no meio ambiente), fatores internos (hormônios, condições imunológicas e mutações genéticas) e ambos os fatores (INCA, 2019). A maior parte dos casos de câncer está associada a fatores externos, dentre os quais podemos citar: obesidade, bebidas alcoólicas, uso de tabaco, exposição

à radiação, poluentes ambientais, infecções crônicas e dietas hipercalóricas (SIVEEN, et al., 2014).

A carcinogênese é o processo pelo qual uma célula saudável se transforma em maligna, o processo de desenvolvimento do câncer ocorre por meio de mutações genéticas cumulativas, ou seja, alterações no DNA da célula que vão desencadear na desregulação de enzimas e proteínas que controlam a divisão e proliferação celular, ocasionando um mal funcionamento da célula (INCA, 2019; KERRU, et al., 2017). Esse processo pode ocorrer por meio de mutações gênicas, translocação e deleção cromossômicas, e mecanismos epigenéticos, sendo os principais genes envolvidos nesse processo os proto-oncogenes, genes supressores de tumor e genes relacionados ao reparo do DNA (DANTAS, et al., 2009; KLESZCZ; PALUSZCZAK; BAER-DUBOWSK, 2015).

Segundo Hanahan e Weinberg (2000), as células cancerígenas apresentam seis características biológicas em comum, que consistem em alterações na fisiologia celular e em conjunto levam ao surgimento de tumores malignos. Ou seja, na medida em que uma célula normal se transforma em uma célula tumoral, ocorre a aquisição de características específicas tais como: 1) Auto-suficiência em sinais de crescimento; 2) Insensibilidade a sinais de crescimento; 3) Evasão de morte celular programada; 4) Potencial replicativo ilimitado; 5) Angiogênese; 6) Invasão e metástase de tecidos. Essas capacidades funcionais são adquiridas por diferentes tipos de tumores, por meio de variados mecanismos durante todo o processo da tumorigênese. Algumas marcas foram descritas mais recentemente e foram classificadas como características facilitadoras e marcas emergentes, que também atuam para a progressão do câncer, são elas: desenvolvimento de instabilidade genômica, estado inflamatório de lesões pré-malignas, metabolismo energético alterado e evasão das células do sistema imune (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Essas características são denominadas de Hallmarks do câncer e são descritos na figura abaixo (figura 2).

**Figura 2-** *Hallmarks* do câncer - Características apresentadas por células tumorais



Fonte: Adaptado de HANAHAN; WEINBERG (2011)

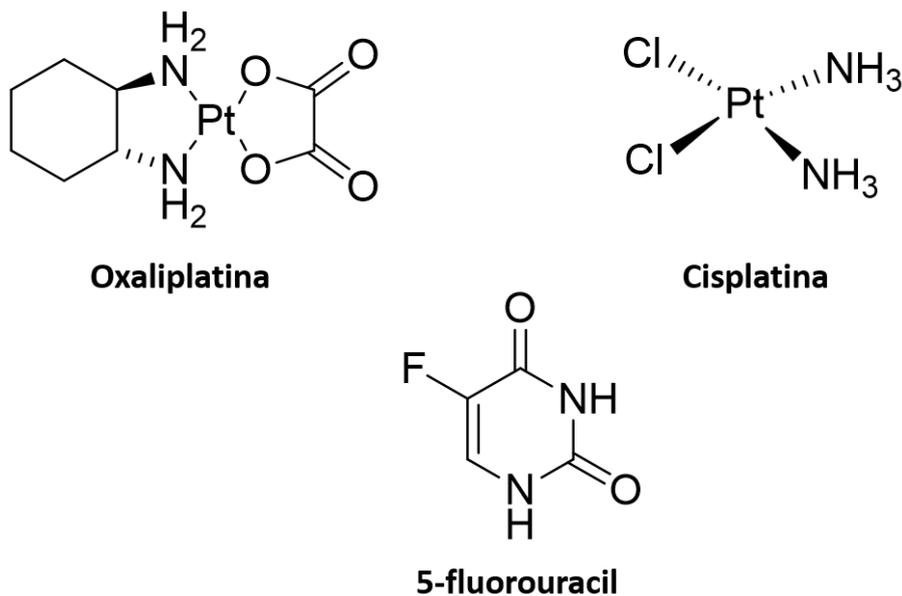
O conhecimento do microambiente tumoral também é fundamental no estudo e compreensão da tumorigênese. Esse ambiente é formado por uma variedade de células não cancerígenas como células do sistema imune (linfócitos, macrófagos), células endoteliais, fibroblastos, adipócitos, juntamente com os componentes da matriz extracelular, que constituem um ambiente complexo e dinâmico, podendo afetar diretamente no crescimento do tumor (HANAHAN; WEINBERG, 2011; DIAS et al., 2019).

O microambiente tumoral é fundamental no processo de invasão e metástase do câncer, uma vez que, ao se alojar em um novo local, o órgão-alvo apresentará um conjunto de fatores microambientais diferentes do tecido tumoral de origem, e as células cancerígenas estabelecerão novos mecanismos para se instalar e induzir o microambiente à cooperar com o crescimento do tumor no novo local (ZHUANG; ZHANG; HU, 2019).

Desta forma, o microambiente tumoral pode contribuir diretamente na busca por novas alternativas para o tratamento do câncer. Diversos estudos têm destacado a importância dos componentes desse ambiente na progressão do tumor, principalmente em relação aos componentes imunes, que são considerados alvos terapêuticos importantes (ZHANG et al., 2019; ZHANG<sup>b</sup> et al., 2019).

Um alvo biológico bastante investigado e considerado muito promissor no tratamento do câncer é o DNA. A atividade de muitos compostos que interagem com o DNA está relacionada ao modo e a força de ligação entre os compostos e essa biomolécula (ZHOU et al., 2018). Além disso muitos medicamentos que já são utilizados no tratamento de algumas neoplasias têm como alvo terapêutico o DNA, como é o caso da Oxaliplatina, cisplatina e 5-fluorouracil (figura 3), ambos atuam causando danos ao DNA e conseqüentemente inibindo o ciclo celular (BAI et al., 2020).

**Figura 3-** Fármacos utilizados na terapia do câncer que atuam no DNA



Fonte: Elaboração própria do autor.

A terapia do câncer geralmente é realizada por meio de cirurgia, quimioterapia, e radioterapia. Todavia, embora a quimioterapia seja uma das mais utilizadas, essa alternativa tem apresentado muitas limitações (ZHOU, et al., 2019). Em muitos casos, a baixa seletividade de medicamentos antineoplásicos pode ocasionar o surgimento de efeitos colaterais como anemia, e resposta imunológica reduzida, além do surgimento a longo prazo de resistência ao medicamento, diminuindo a eficácia do tratamento. Nesse sentido, a constante busca por novos compostos capazes de atuar como quimioterápicos mais potentes e mais seletivos, visando a melhora na qualidade de vida dos pacientes é de extrema importância (HENDOUEI et al., 2019; KLEIN-JÚNIOR et al., 2019; ZHOU et al., 2019).

### 3.1.1 DNA como alvo biológico

O DNA é uma biomolécula formada por uma hélice de fita dupla que pode adotar diferentes conformações tridimensionais, sendo a mais comum a forma B, cada cadeia dessa fita é constituída por quatro nucleotídeos, sendo eles: adenina (A), timina (T), citosina (C) e guanina (G). Esses nucleotídeos são interligados por meio de ligações fosfodiéster, e as duas fitas são unidas por ligações de hidrogênio, de forma que A-T forma duas ligações de hidrogênio e G-C formam três ligações de hidrogênio. Essas ligações formam sulcos entre as fitas, que são denominados sulco maior e sulco menor (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013; RESCIFINA et al., 2014).

Essa biomolécula desempenha funções importantes nos processos biológicos, controlando direta e indiretamente funções celulares, uma vez que ela atua no processo de armazenamento, cópia e transmissão de mensagens genéticas, necessárias para a síntese de proteínas e enzimas, por meio do processo de transcrição e replicação de informações genéticas (REHMAN, et al., 2015; DEVI; PACHWANIA, 2018).

Diante das importantes funções desempenhadas pelo DNA, ele tem sido amplamente investigado, sendo um dos receptores biológicos atraentes na busca por novos agentes terapêuticos anticancerígenos. Nessa perspectiva, a busca por novos compostos que interajam com o DNA e alterem sua conformação são de grande interesse. As interações entre ligantes e DNA podem ocasionar, rigidez, alongamento e desenrolamento da hélice, e assim interferir na sua atividade frente à regulação de funções celulares na expressão gênica, na síntese proteica e nos processos de replicação, que estão diretamente ligados as etapas de crescimento e divisão celular (REHMAN, et al., 2015; SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013; HASSAN et al., 2019).

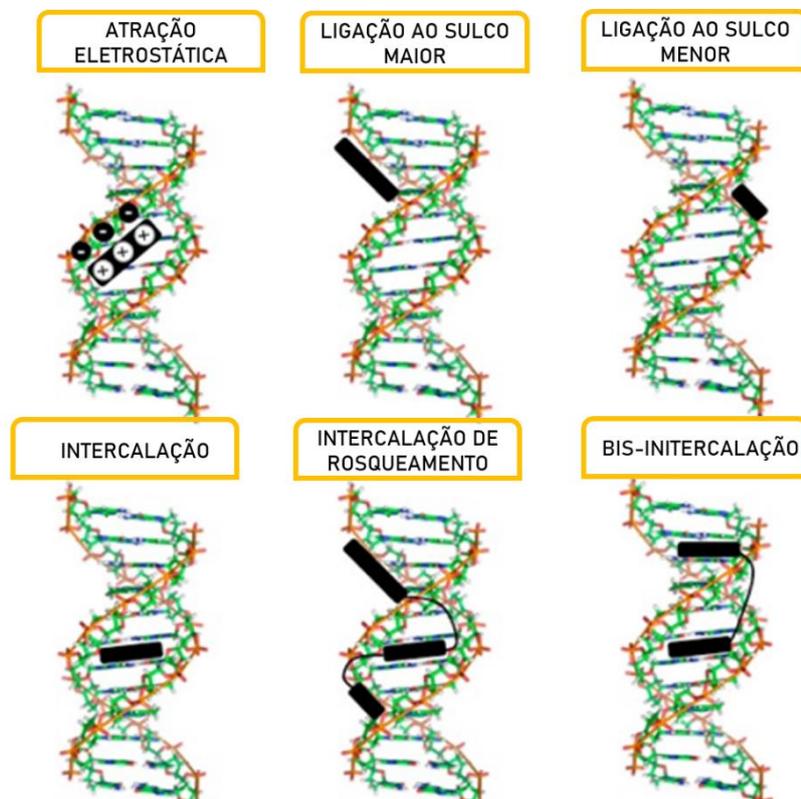
Existem duas formas de ligação pelas quais um fármaco pode se ligar ao DNA, de forma covalente e não covalente. O modo covalente de ligação é irreversível, geralmente ocasiona inibição completa das funções do DNA e conseqüentemente morte celular. Já as ligações não covalentes são reversíveis, podem ocasionar alterações na conformação do DNA, alterar a tensão da torção, impedir a interação proteína-DNA e conseqüentemente levar a quebras na fita do DNA (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013).

Mediante as funções estabelecidas pelo DNA fica evidente a importância da busca de novos fármacos que atuem nesse alvo. Porém, essa busca deve ser cada vez mais seletiva, levando em consideração que esses protótipos à fármacos se liguem de forma seletiva ao DNA e também de forma reversível. Visto que as ligações covalentes podem acarretar efeitos

secundários indesejáveis devido à natureza de ligação irreversível desse modo de ligação. Desta forma, as ligações não covalentes reversíveis são preferíveis (IQBAL, 2019).

Segundo Almeida et al., (2017), as formas de ligação não covalente podem ser divididas em seis tipos: (1) atração eletrostática (2) interações com o sulco maior do DNA; (3) interações com o sulco menor no DNA; (4) intercalação através do sulco principal do DNA; (5) intercalação de pares de bases através do sulco menor de DNA; e (6) intercalação de rosqueamento (figura 4).

**Figura 4-** Representação dos modos de ligação não covalente com o DNA.



Fonte: Adaptado de Almeida et al., (2017)

Os modos de ligação entre uma molécula e o DNA são determinados de acordo com as características químicas da molécula. A atração eletrostática ocorre por meio do grupamento fosfato do DNA carregado negativamente e as extremidades positivas do composto submetido a interação. As ligações ao sulco maior e menor do DNA ocorrem por meio de ligações de hidrogênio ou interações de van der Waals, envolvendo moléculas que possuem anéis aromáticos não fundidos e que apresentam maior facilidade de torção, geralmente esses fármacos não promovem muitas perturbações no rearranjo de sua estrutura. A intercalação é o

modo de ligação mais forte, uma vez que a molécula é encaixada entre os pares de base do DNA. Nas interações por intercalação moléculas aromáticas planares intercalam entre os pares de bases adjacentes do ácido nucleico, ocasionando o desenrolamento e alongamento da hélice do DNA. Desta maneira, o complexo droga-DNA pode ser estabilizado por diferentes ligações não covalentes como ligações de hidrogênio, interação de van der Waals e forças hidrofóbicas (NETO; LAPIS, 2009; WILLIAMS et al., 2012; TEMERK et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017).

Diversas técnicas espectroscópicas e hidrodinâmicas são utilizadas na investigação de possíveis modos de ligação entre compostos orgânicos e o DNA, das quais podemos citar a espectroscopia de absorção UV-Visível, espectroscopia de emissão de fluorescência, o dicroísmo circular e a viscosidade (EL-ASMY et al., 2016).

A espectroscopia eletrônica de absorção (UV-vis) é uma técnica bastante utilizada na investigação dessas possíveis interações. O DNA apresenta um perfil de absorção já caracterizado, com uma banda de absorção em 260 nm devido a presença de grupos cromofóricos localizados nas bases nitrogenadas (BARRA, 2015). Desta forma, ao expor o DNA a concentrações diferentes de um possível agente de ligação, são observadas mudanças em seu espectro de absorção, o mesmo pode ocorrer para o padrão de absorção do composto em estudo.

Por meio dessa técnica podemos obter dados sobre a constante de ligação ( $K_b$ ) entre o ligante e o DNA (KOMAL et al., 2019). O cálculo dessa constante pode ser determinado utilizando a equação de McGee e Von Hippel (1974), a partir da análise de mudanças no espectro de absorbância, o valor de  $K_b$  é obtido a partir da razão da inclinação e da interceptação (LAFAYETTE et al., 2017; THAMILARASAN et al., 2016; SHAHABADI; HEIDARI., 2012). A literatura descreve valores de constante de ligação no intervalo  $10^4$  a  $10^6$   $M^{-1}$ , como possíveis intercaladores, já os valores de constante que variam entre  $10^5$  a  $10^9$   $M^{-1}$ , geralmente são indicadores de ligantes ao suco (ALMEIDA et al., 2017).

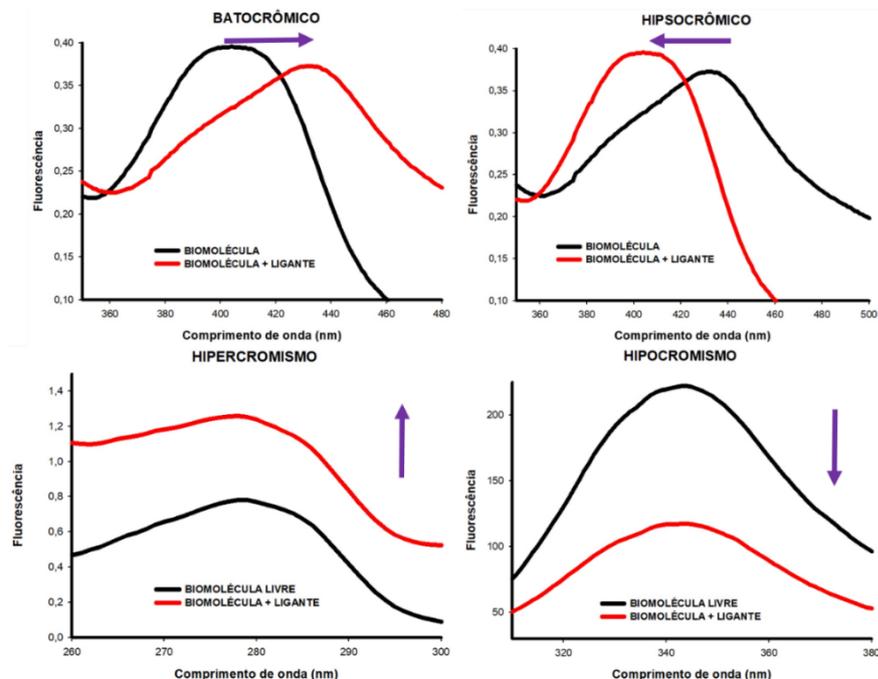
A espectroscopia de emissão de fluorescência é uma técnica também muito utilizada nos estudos de interação entre ligante-DNA. É sabido que essa biomolécula quase não apresenta emissão de fluorescência, porém, neste caso é possível recorrer a utilização do brometo de etídio (BE), que apesar de também apresentar pouca emissão de fluorescência livre em solução aquosa, quando em contato com o DNA emite forte fluorescência em função à intercalação hidrofóbica nos pares de bases de DNA (LAFAYETTE et al., 2017). Desse modo, o teste de competição com o BE é amplamente utilizado, visto que a presença de outro grupo intercalador

pode diminuir a emissão de fluorescência do sistema BE-DNA, por causa da competição pelos sítios do biopolímero (JOKSIMOVIĆ et al., 2019; BARRA, 2015).

Por meio dessa técnica podemos obter dados quantitativos ( $K_{sv}$ ) sobre a supressão fluorescente, utilizando a equação de Stern-Volmer. O  $K_{sv}$ , é obtido pelo coeficiente angular da reta de um gráfico  $I_0/I$  em função de  $r$  (BARRA, 2015).

Utilizando as técnicas espectroscópicas mencionadas anteriormente, podemos observar nos espectros de absorção e fluorescência alguns efeitos relacionados a interação entre o DNA e o ligante (figura 5), como: (1) efeito hiperacrômico, caracterizado pelo aumento da emissão ou absorção de luz emitida; (2) efeito hipocrômico, refere-se a uma diminuição da luz emitida ou absorvida; (3) efeito batocrômico, correspondente ao desvio máximo de absorção ou emissão para um comprimento de onda maior (região do vermelho); (4) efeito hipsocrômico, referente ao desvio do máximo de absorção para um comprimento de onda menor (região do azul), (ALMEIDA et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017).

**Figura 5** - Representação dos efeitos espectroscópicos que podem ser observados nos ensaios de interação.



Fonte: Elaboração própria do autor.

As propriedades de ligação ao DNA e a proteínas também podem ser analisadas por meio da técnica de dicroísmo circular (DC), nessa técnica é possível medir a diferença na absorção da luz circularmente polarizada à esquerda e a direita. Sendo empregada para avaliar alterações na estrutura secundária do DNA e de proteínas na presença de um ligante (RIBEIRO et al., 2019; WEI et al., 2016). No dicroísmo circular, o DNA apresenta duas bandas na região UV, a banda positiva aparece em 275 nm por causa da interação de empilhamento de bases e a banda negativa aparece em 245 nm, sendo essas características indicativas de sua conformação B direita, ou seja, avaliações de mudanças nesses comprimentos de onda podem indicar um possível modo de intercalação com o DNA (ZAREI et al., 2020).

Técnicas hidrodinâmicas, como a medição de viscosidade também são utilizadas na determinação dos possíveis modos de interação entre ligantes e DNA, investigando alterações no perfil de viscosidade, como o aumento ou diminuição da viscosidade relativa ( $\eta$ ) do complexo ligante-DNA (RIBEIRO et al., 2019). O aumento da viscosidade está relacionado a ligações por intercalação ao DNA, que resultam em um aumento no comprimento da dupla hélice, ocasionado pelo aumento nas separações dos pares de bases. Já a diminuição da viscosidade está relacionada a ligações no sulco ou interação eletrostática, ocasionadas por uma diminuição no comprimento da hélice, promovida pela formação de dobras na cadeia de DNA (SAKATHI; RAMU, 2017).

As diferentes técnicas que podem ser utilizadas para determinar os possíveis modos de interação com o DNA são cada vez mais utilizadas em investigações na terapêutica do câncer. Muitos fármacos utilizados na clínica atuam por meio desse mecanismo de ação e apresentam diferentes efeitos farmacológicos como antitumoral, antiviral e antiprotozoário (OZLUER; KARA, 2014; OLIVEIRA et al., 2017). Portanto, moléculas que possuem a propriedade de ligação ao DNA são cada vez mais investigadas como agentes anticancerígenos, inclusive, de acordo com as características desta molécula, elas podem apresentar mais de um tipo de interação, o que pode acarretar em efeitos importantes para esta atividade, tornando a investigação desse alvo valiosa na busca por novas alternativas terapêuticas para o tratamento do câncer (STREKOWSKI; WILSON, 2007; WEI et al., 2016).

### 3.2 ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM A BSA

As proteínas séricas desempenham papéis fundamentais em uma grande variedade de organismos, atuam no controle da pressão sanguínea osmótica, no controle das funções celulares e como transportadoras de plasma, enzimas e hormônios. Desta forma, essas

biomoléculas são amplamente estudadas na busca por novas alternativas terapêuticas, inclusive na terapia anticancerígena (FILHO et al., 2019; BOSE, 2016).

A compreensão da interação entre ligantes e proteínas plasmáticas é de suma importância no desenvolvimento de novos candidatos à fármacos, uma vez que essa ligação pode contribuir positivamente na atividade do fármaco. A albumina sérica é a principal proteína extracelular presente no sistema circulatório e desempenha diversas funções como, transporte de aminoácidos, ácidos graxos, esteroides, íons metálicos e medicamentos (FILHO et al., 2019; SAKTHI; RAMU, 2017).

Estudos de interação envolvendo albuminas e medicamentos são importantes porque essa interação pode contribuir para uma melhor distribuição do medicamento, favorecendo na determinação de propriedades como biodisponibilidade, concentração livre, metabolismo e toxicidade, conseqüentemente levando a uma melhora na eficácia do tratamento. Alguns estudos apontam que um medicamento ligado à albumina apresenta melhor solubilidade, menor toxicidade, maior tempo de meia vida, além de proteção contra a degradação (FILHO et al., 2019; SAKTHI; RAMU, 2017; EBRAHIMIPOUR et al., 2017).

A albumina sérica humana (HSA), é a principal proteína presente no sistema circulatório humano, ela é um polipeptídeo globular de cadeia única que possui peso molecular de 66,8 kDa. Sua estrutura é composta por 586 aminoácidos, dobrados em estrutura de três dimensões, formando três domínios homólogos (I, II, III), onde cada domínio é dividido em subdomínios (A e B). Dentro desses domínios existem duas regiões onde geralmente ocorrem as interações entre ligantes e a albumina, chamados de sudlow IIA e IIIA. No subdomínio IIA existem bolsões hidrofóbicos onde é encontrado o resíduo de triptofano Trip-214 (JAHANBAN-ESFAHLAN et al., 2019; FILHO et al., 2019; CAMARGO et al., 2018).

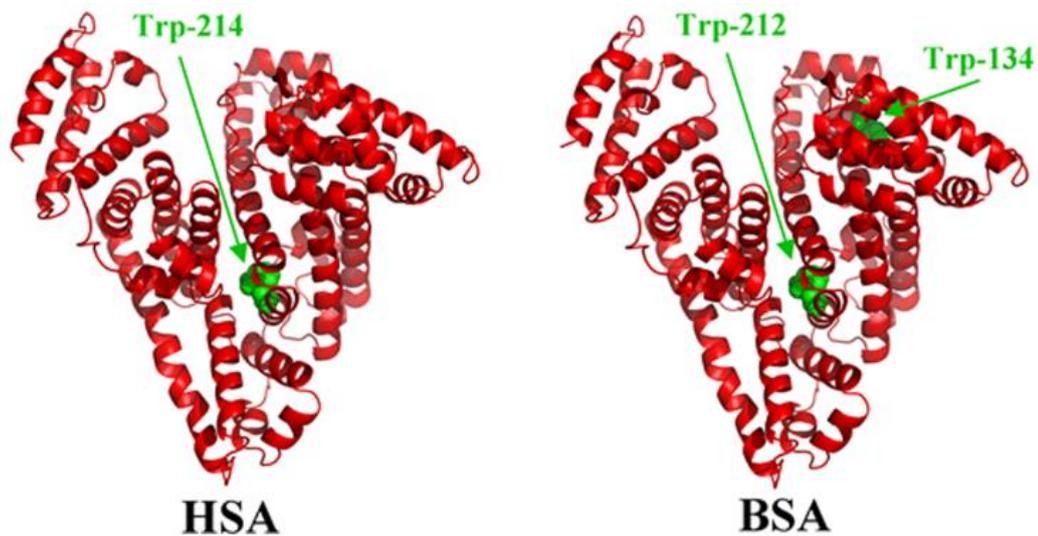
A albumina sérica bovina (BSA) tem sido extensivamente estudada devido a sua homologia estrutural com a albumina sérica humana (HSA). A BSA apresenta 88% de similaridade das sequências de aminoácido com a HSA, é altamente disponível e de menor custo, sendo considerada uma alternativa apropriada para ensaios comparativos de interação (EBRAHIMIPOUR et al., 2017).

Essa biomolécula apresenta uma cadeia polipeptídica com 583 aminoácidos, pesando aproximadamente 66,8 kDa. A estrutura da BSA apresenta três domínios (I,II,III), esses domínios formam nove voltas (L1 a L9), contendo 17 ligações dissulfeto que contribuem para a estabilização de sua estrutura, os domínios são divididos em subdomínios (A e B), nesses subdomínios são encontrados os resíduos do aminoácido triptofano, Trp-134 e Trp-212,

localizados mais especificamente nos subdomínios IB e IIA (FILHO et al., 2019; JAHANBAN-ESFAHLAN et al., 2019; BELATIK et al., 2012).

Na BSA o resíduo de triptofano Trp-212 está localizado no subdomínio IIA, e na HSA o único resíduo de triptofano existente (Trp-214) também está localizado no subdomínio IIA, ambos dentro de um bolsão hidrofóbico. Essa característica permite a investigação de alterações na estrutura destas biomoléculas, já que as interações ocorrem no mesmo sítio de ligação (BELATIK et al., 2012).

**Figura 6** – Estrutura terciária da HSA e BSA, e seus respectivos resíduos de triptofano.



Fonte: BELATIK et al., (2012)

Várias técnicas são utilizadas para avaliar possíveis interações entre essas macromoléculas e derivados químicos. Os ensaios de fluorescência são bastante empregados, uma vez que a BSA apresenta a capacidade de emissão de fluorescência, característica atribuída a presença dos resíduos de triptofano, outras técnicas espectroscópicas também podem ser utilizadas como espectroscopia de absorção e dicroísmo circular (RIBEIRO et al., 2019; GOUVEIA et al., 2018). Portanto, diante das capacidades fisiológicas e importância biológica atribuídas à albumina, seu estudo no desenvolvimento de novos fármacos tem ganhado destaque dentro da química medicinal, na investigação de muitas doenças, incluindo o câncer.

### 3.3 COMPOSTOS HETEROCICLOS

Os compostos heterociclos são compostos orgânicos com estrutura de anel que contém em seu ciclo átomos de carbono e pelo menos um outro elemento como nitrogênio (N), oxigênio (O) ou enxofre (S). Os anéis heterociclos podem ser aromáticos ou não aromáticos e o número de átomos presentes nos anéis pode variar entre três, quatro, cinco, seis, sete e até mais, porém, os mais prevalentes são os anéis de cinco ou seis membros (MOLDOVEANU et al., 2019).

Essa classe de compostos constitui a maior família de compostos orgânicos, por causa disto é cada vez mais comum estudos referentes à síntese, propriedades e aplicações de compostos heterociclos dentro da química orgânica. Eles estão presentes em quase todas as áreas de pesquisa, sejam elas na química medicinal, na indústria, agroquímica, dispositivos moleculares, química combinatória e produtos naturais (VICENTE; MATA et al., 2018).

Os heterociclos são uma classe de compostos de bastante relevância nos processos da vida e podem ser encontrados em vitaminas, enzimas, coenzimas DNA, RNA, atuando, por exemplo, no fornecimento de energia, na transmissão de impulsos nervosos, metabolismo e na transferência hereditária de informações (MISHRA et al., 2015).

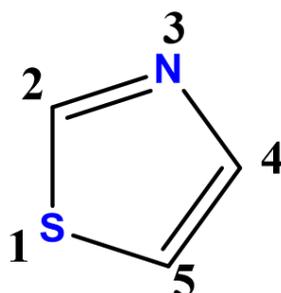
Um fato importante é que 75% dos medicamentos do mercado possuem em sua estrutura química anéis heterociclos, e inúmeras pesquisas demonstram a importância desses compostos como candidatos a fármacos que apresentam diversas propriedades biológicas, tais como antibiótico, anti-tumoral, anti-inflamatório, antiviral, antimicrobiano, antifúngico e antidiabético. Ademais, a presença do heterociclo em uma molécula pode contribuir para alteração de propriedades físico-químicas, como absorção, distribuição, metabolismo e excreção (MANJAL et al., 2017; SRIBALAN et al., 2019).

Sendo assim, o interesse pelo planejamento de fármacos que possuam em sua estrutura anéis heterociclos, tem sido cada vez mais crescente. Uma vez que, a presença de heteroátomos dentro da estrutura cíclica denota mudanças notáveis nas atividades relatadas por esses grupos, por causa da presença de pares de elétrons livres e a diferença de eletronegatividade entre os heteroátomos e o carbono do anel. Ou seja, a presença de heterociclos na estrutura de protótipos a fármaco que possuam substituições em posições apropriadas são consideradas estruturas privilegiadas para muitas atividades farmacológicas (KERI et al., 2017).

### 3.3.1 O núcleo Tiazol

O núcleo tiazol foi descrito primeiramente por Hantzsch e Waber em 1887 e sua estrutura foi estabelecida por Popp em 1889. O Tiazol é um aromático heterocíclico de 5 membros, cuja fórmula molecular é denominada  $C_3H_3SN$  (figura 7). Este núcleo apresenta em sua estrutura molecular os heteroátomos enxofre (S) e nitrogênio (N). O enxofre é caracterizado como um domínio de ligação de hidrogênio e o nitrogênio um potente doador de elétrons (JAIN et al., 2018). Assim, o heterociclo tiazol pode se apresentar de duas formas isoméricas, o 1,3-tiazol, denominado tiazol e o 1,2-tiazol conhecido como isotiazol. O 1,3-tiazol pode ser encontrado dissustituído ou trissustituído, essas ramificações podem estar em posições orto, meta ou para dirigentes, e em sua maioria são substituídos por grupamentos arila ou heteroarila (FRIJA et al., 2016).

**Figura 7-** Estrutura molecular do núcleo tiazol

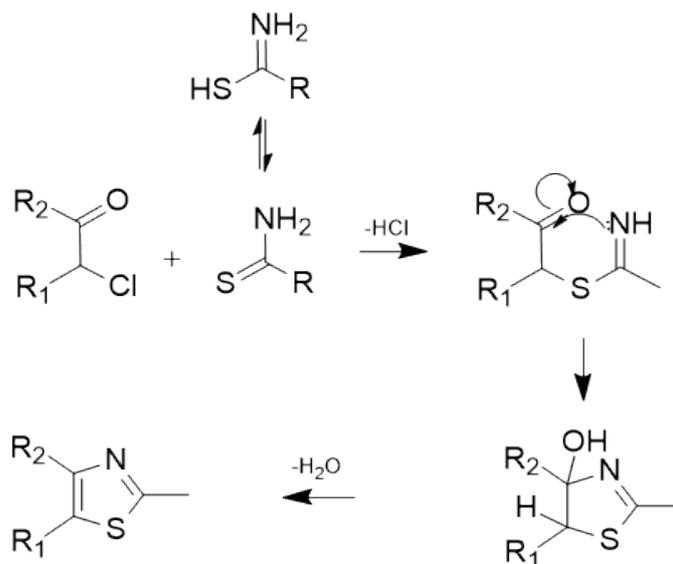


Fonte: Elaboração própria do autor.

O núcleo tiazol pode ser obtido por diferentes rotas sintéticas, seja pela funcionalização de um tiazol preexistente, ou pela ciclização de moléculas acíclicas. A forma mais comum de obtenção desse núcleo se dá pela síntese de Hantzsch, que ocorre por meio da ciclização e condensação de halocetonas com tioamidas. Esta reação inicia-se com um ataque nucleofílico do enxofre da tioamida ao átomo de carbono da  $\alpha$ -halocetona, levando a formação de um intermediário  $\alpha$ -tioacetona e, por fim, uma desidratação formando os tiazóis de interesse (esquema 1). Porém, outras formas de obtenção são descritas na literatura como a reação de Cook-Heilborn por meio da reação de  $\alpha$ -aminonitrilas com dissulfeto de carbono, ditoácidos ou ésteres, formando 5-aminotiazóis, e a síntese de Gabriel que envolve o tratamento de  $\alpha$ -acilaminocetonas com quantidade estequiométrica de  $P_2S_5$ , amplamente utilizado para

obtenção de tiazóis substituídos (MISHRA; KUMARI; TIWARI, 2015; FRIJA et al., 2016; BUENO, et al., 2016).

**Esquema 1** - Obtenção do anel tiazol pela síntese de Hantzsch.



Fonte: MISHRA; KUMARI; TIWARI, (2015)

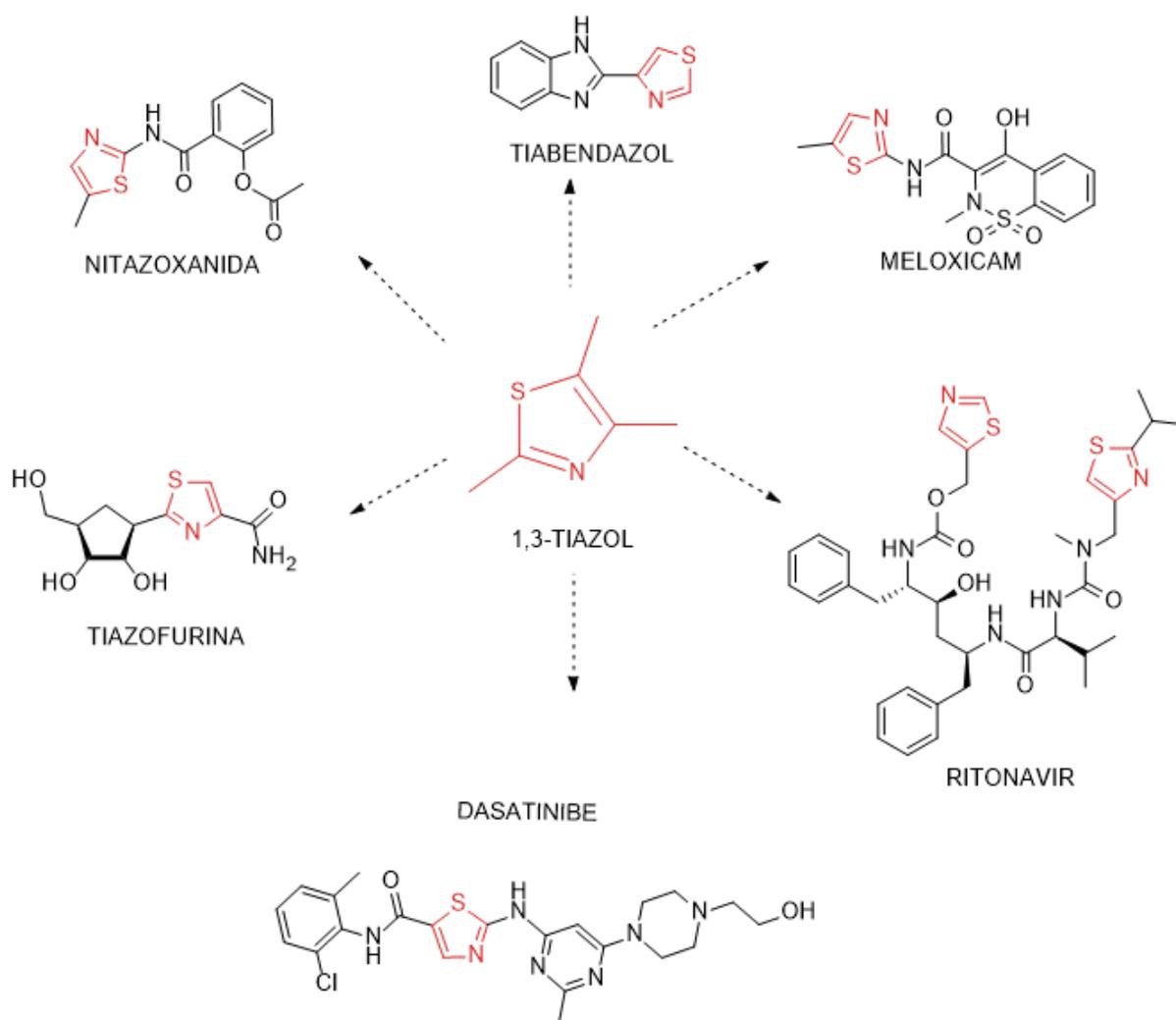
Um dos métodos de obtenção de tiazóis envolve a utilização de derivados de tiossemicarbazona, uma vez que essa classe de compostos é bastante estudada na química medicinal, devido às suas particularidades de facilidade de obtenção, rendimentos satisfatórios, baixo custo, e possibilidade de obtenção de diferentes derivados. Além disso, as tiossemicarbazonas apresentam muitas atividades biológicas descritas na literatura, tais como atividade antitumoral, antiviral e antiparasitária (OLIVEIRA et al., 2015; PACCA et al., 2016; MOREIRA et al., 2012).

O anel tiazol é uma estrutura de destaque dentre os anéis heterociclos de 5 membros, uma vez que muitas pesquisas têm apresentado as aplicações do núcleo tiazol na concepção de drogas e em muitos fármacos já utilizados na clínica. Esse núcleo pode atuar como um grupamento farmacofórico, bioisósteros e espaçadores, além do mais, a presença do anel tiazol pode ser determinante nas propriedades físico-químicas e farmacocinéticas de um fármaco.

São inúmeros os medicamentos que possuem o anel tiazol em sua estrutura, bem como, as diversas doenças tratadas com esses fármacos, dentre os quais podemos citar, tiazofurina e o dasatinibe (antineoplásicos), ritonavir (anti-HIV), nitazoxanida (antiparasitário), meloxicam

(anti-inflamatório) tiabendazol (antifúngico), entre outros (AYATI et al., 2015; PATHANIA; NARANG; RAWAL, 2015). A estrutura química dos fármacos citados pode ser observada na figura 8.

**Figura 8** - Fármacos que possuem o anel tiazol em sua estrutura.



Fonte: Elaboração própria do autor.

Este núcleo tem sido extensivamente estudado e testado com boas perspectivas na química medicinal, atuando como um andaime de diversos alvos, em numerosos compostos sintéticos e naturais (SIQUEIRA et al., 2019). Esse interesse por derivados tiazólicos também está atrelado a facilidade de obtenção de seu núcleo, bem como às diversas atividades biológicas e farmacológicas que estão descritas na literatura (figura 9). Das quais podemos citar, atividade antiparasitária (FILHO et al., 2017; BUENO et al., 2016), anti-inflamatória (SINHA; DOBLE;

MANJU, 2018; KAMBLE, et al., 2016), antimicrobiana (GOUDA et al., 2010; BHARTI et al., 2010), anti-HIV (KASRALIKAR et al., 2019), antituberculose (ANDREANI et al., 2001; KARALE et al., 2019) e anticancer (EL-MESSERY et al., 2012; SANTOS et al., 2016; SANTANA et al., 2018).

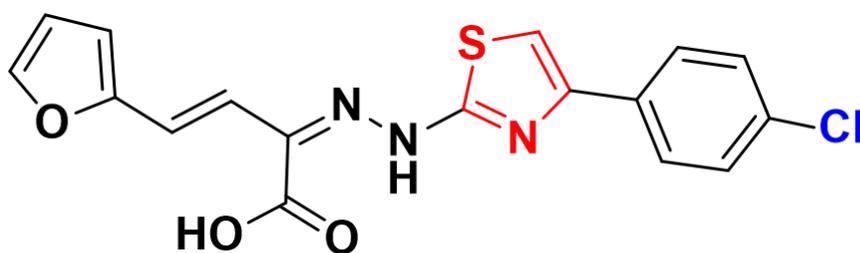
### 3.3.2 Atividade antitumoral de derivados tiazóis

O núcleo tiazólico é considerado um grupamento farmacofórico privilegiado, uma vez que apresenta propriedades farmacológicas notáveis, além de ser uma classe bastante estudada na química medicinal. As características químicas do núcleo tiazólico são fundamentais para as atividades relatadas por esses derivados, a presença de ligações C-F contribui com efeitos positivos em propriedades como lipofilicidade, permeabilidade da membrana, pKa, e propriedades farmacocinéticas (SANTANA et al., 2018).

Avaliações biológicas e estudos de mecanismo de ação demonstram que essa classe química atua por diferentes vias em células cancerígenas (SIQUEIRA et al., 2019). Alguns estudos sobre a atividade antitumoral de derivados tiazólicos, apontam que moléculas que possuem este anel podem atuar através da inibição de metaloproteinases da matriz (MMPs), inibição de quinases e inibição de proteínas da família BCL2 (MORIGI et al., 2015).

Um estudo realizado com vinte e dois compostos híbridos de tiazol e 1,2,4-triazinas mostrou que após uma triagem contra um painel de diferentes linhagens celulares tumorais foi observado que o composto **3d** (figura 9) apresentou atividade antitumoral promissora, com GI<sub>50</sub> de 0,842 µM, mostrando-se equipotente ao composto de referência 5-fluoracil. Estudos computacionais mostraram seu potencial como agente de ligação e causa de dano ao DNA, o que pôde ser confirmado com ensaios de fluorescência. Os ensaios de absorção UV-vis também indicaram interação entre o composto **3d** e o DNA por meio de mudanças em seu espectro de absorção com efeito hipercrômico, que pode ser causado por um empilhamento nos pares de bases do DNA. Confirmando que o composto **3d** pode ser considerado um potencial precursor de drogas (EL-WAKIL et al., 2019).

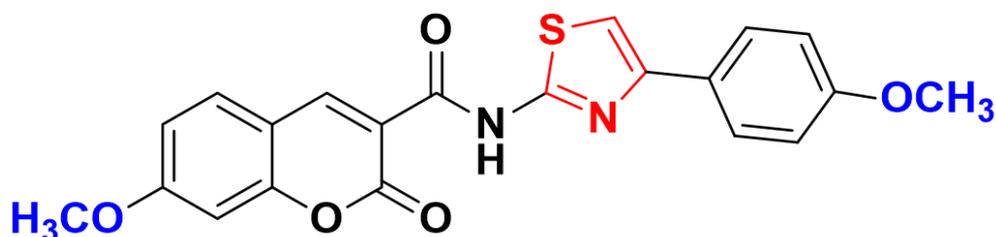
**Figura 9** - Estrutura molecular do composto 3d



Fonte: adaptado de EL-WAKIL et al., (2019)

Estudos *in vivo* em modelos de camundongos também comprovam que compostos com a porção tiazol podem atuar na diminuição do volume tumoral. Em um desses estudos, o derivado 13f foi mais promissor da série (figura 10), além de apresentar resultados positivos nos ensaios *in vitro* frente as linhagens celulares de carcinoma ascítico de Ehrlich (EAC) e linfoma de Dalton (DLA), promovendo uma diminuição do volume do tumor ascítico de Ehrlich, secreção de ascites e um aumento na taxa de sobrevivência dos animais tratados. Inclusive os ensaios de investigação de mecanismo de ação, indicaram morte celular por apoptose, por meio de degradação do DNA. Destaca-se neste estudo a importância dos padrões de substituição, visto que o composto 13f é substituído com um grupamento metoxi no anel fenil diretamente ligado ao anel tiazol, bem como com outro grupo metoxi na sétima posição no anel cumarina, ambos doadores de elétrons (PRASHANTH et al., 2019).

**Figura 10** - Estrutura molecular do composto 13f

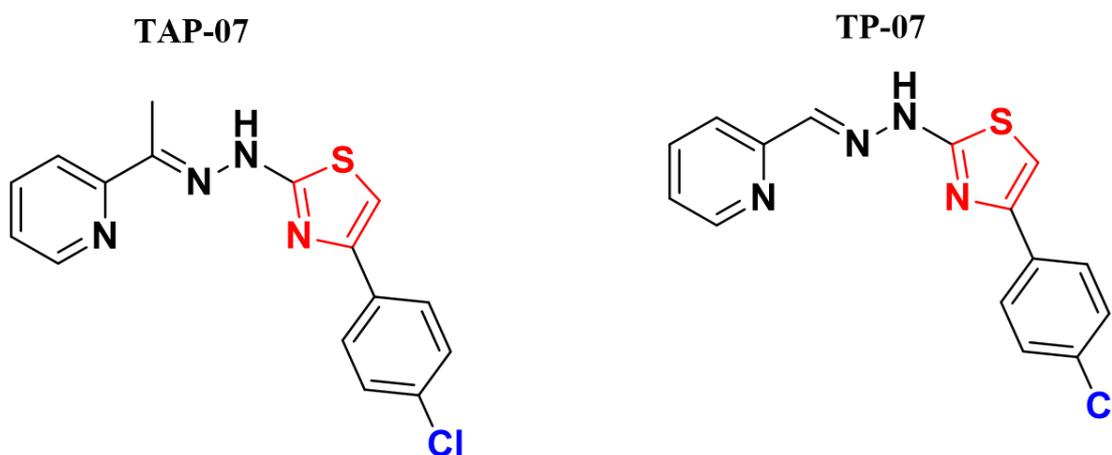


Fonte: adaptado de PRASHANTH et al., (2019)

Silva et al., (2017) desenvolveram um estudo com uma série de compostos sintéticos denominada 2-piridil 2,3-tiazole, onde os compostos TAP-07 e TP-07 (figura 11) se destacaram com ótimos valores de IC<sub>50</sub> (0,98 e 3,5 μM). Foram observados redução do volume celular,

fragmentação do núcleo celular, e aumento na fragmentação do DNA internucleossômico, promovendo morte por apoptose. Nos ensaios *in vivo* houve uma diminuição do volume tumoral, ganho de peso corporal nos animais tratados, e os parâmetros bioquímicos avaliados estavam normais, principalmente nas células tratadas com o derivado TAP-07. Confirmando a atividade promissora dos compostos em evidência.

**Figura 11** - Estrutura molecular dos compostos TAP-07 e TP-07



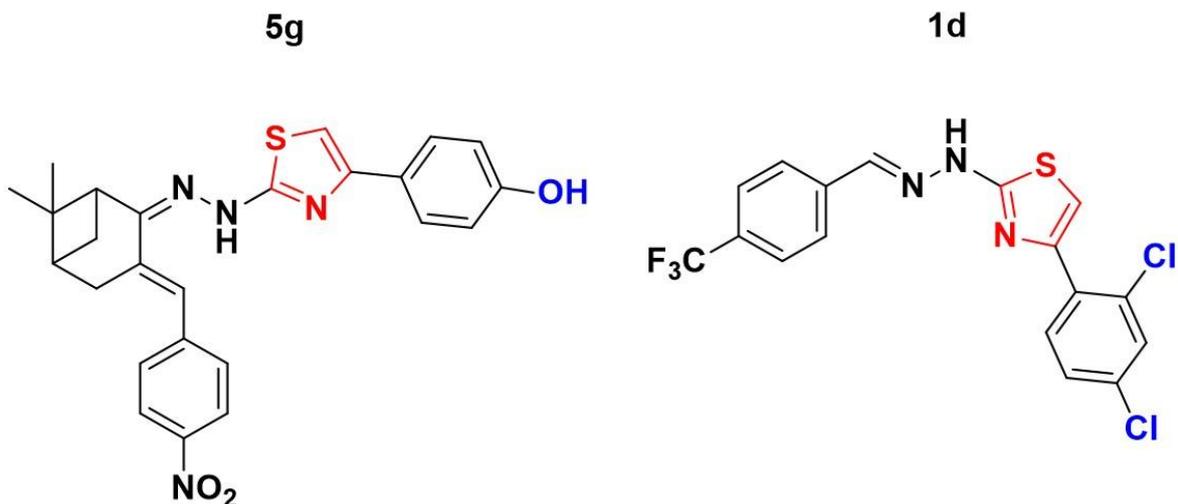
Fonte: adaptado de Silva et al., (2017)

São inúmeras as pesquisas que apresentam resultados promissores no desenvolvimento de compostos para o tratamento do câncer. Dentre as diferentes vias de estudo para compreensão de mecanismo de ação, a investigação da morte de células cancerígenas por apoptose é bastante relatada. Recentemente, Wang et al., (2019) desenvolveram um estudo em que foi constatado que o composto 5g (figura 13) induziu morte por apoptose de maneira dose dependente em células HELA. Outro fato importante é que no composto 5g a presença de grupo fortemente doador de elétrons na posição *para* ( $R_2=OH$ ), pode estar diretamente relacionada ao resultado positivo apresentado.

Outro estudo realizado por Santana et al., (2018), também confirmou que o mecanismo de ação pelo qual o composto 1d (figura 12) de sua série agiu nas células cancerígenas foi por meio de morte apoptótica. Aqui destaca-se a presença de anel di-substituído, nas posições *orto* e *para*. Ambos estudos utilizaram de alguns métodos em comum para a confirmação desses resultados, como investigação do ciclo celular, onde foi possível determinar que a parada do

ciclo ocorreu na fase G1/mitose, além de fragmentação do DNA e alteração no potencial de membrana mitocondrial.

**Figura 12** - Estrutura molecular dos compostos 5g e 1d



Fonte: adaptado de Wang et al., (2019) e Santana et al., (2018)

A influência positiva do núcleo tiazol na atividade antitumoral pode ser confirmada mediante apresentação de resultados de trabalhos que enfocam diferentes mecanismo de ação em que compostos tiazólicos podem atuar, tais como, atividade antiproliferativa de linhagens celulares tumorais, interação com o DNA, diminuição do volume tumoral, morte apoptótica, parada do ciclo celular e alteração no potencial de membrana mitocondrial. A gama de pesquisas relatadas na literatura sobre candidatos à fármacos que apresentam o núcleo tiazol em sua estrutura, evidencia a importância desse grupo farmacofórico como potencial agente anticancerígeno e impulsiona a proposição e estudos antitumorais de novos derivados tiazólicos, como os relatados neste trabalho.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 SEÇÃO QUÍMICA

#### 4.1.1 Materiais e equipamentos

Os reagentes e solventes utilizados para a síntese dos derivados tiazólicos foram: hidrazina, 4-metoxibenzeno-isotiocianato, 4-metilsufonil-benzaldeído, 4-trifluorometil-benzaldeído, 4-metoxi-benzaldeído, 4-trifluorometoxi-benzaldeído, 4-dimetilamino-benzaldeído, 2,4-dibromoacetofenona, 2-bromoacetofenona, diclorometano, etanol absoluto, ácido acético glacial, acetato de etila, *n*-hexano, metanol. Os reagentes foram obtidos da *Sigma Aldrich*, e os solventes foram fornecidos pela Dinâmica, Quimex e Química moderna.

Na cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas placas de sílica gel da Merk 60 F254 (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), de 0,25 mm de espessura, que foram reveladas na câmara de luz UV (254 ou 366 nm) CN-15LC (Vilber Lourmat, Collégien, França). A análise das faixas de fusão dos compostos obtidos foi realizada por meio do aparelho fusímetro Fisatom modelo 431D (Fisatom, São Paulo, Brasil), em tubos capilares e visualizados em sistema ótico com aumento de 4x.

A caracterização estrutural dos derivados tiazólicos foi realizada por meio de Espectroscopia de Infravermelho (IV) registrados num espectrofotômetro FTIR Bruker (Bruker Daltonics, Billerica, EUA), utilizando pastilhas de KBr, com bandas de absorção expressas em  $\text{cm}^{-1}$ . As espectroscopias de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e de Carbono (RMN  $^{13}\text{C}$ ) foram realizadas em aparelhos Varian UnityPlus 300 MHz para  $^1\text{H}$  e 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ , utilizando como solvente DMSO- $d_6$ .

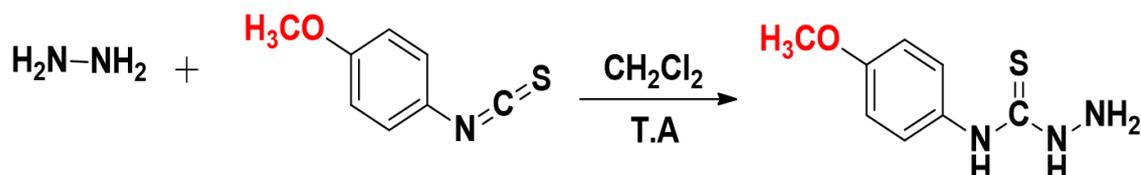
### 4.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

#### 4.2.1 Obtenção do derivado Tiossemicarbazida (LQIT/KL-001)

Em um balão de fundo redondo com capacidade para 100 mL, foram adicionados o diclorometano (10 mL) e 1 mol do 4-metoxibenzeno-isotiocianato, após solubilização foram adicionados 2 mols da hidrazina (50%), cerca de 5 minutos após a adição dos reagentes houve formação de precipitado. A reação durou aproximadamente 60 minutos, sob agitação magnética, temperatura ambiente e foi acompanhada pela realização de CCD. Ao término a

reação foi lavada com *n*-hexano para indução de maior precipitação, e esse precipitado foi filtrado, lavado com diclorometano e secado a temperatura ambiente (esquema 2).

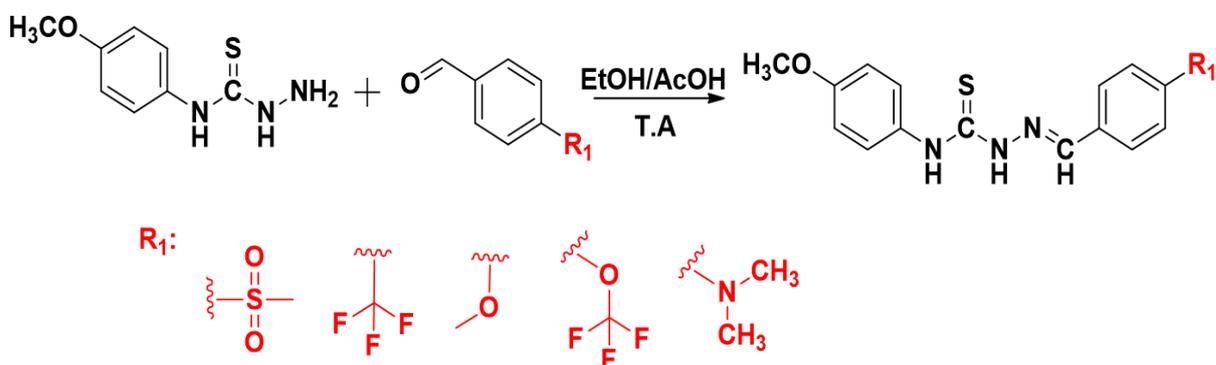
**ESQUEMA 2-** Esquema reacional para obtenção do derivado 4-metoxifenil-hidrazina-carbotioamida (LQIT/KL-01)



#### 4.2.2 Obtenção dos derivados Tiossemicarbazonas substituídos (LQIT/KL)

Em um balão de fundo redondo com capacidade para 250 mL, foram adicionadas quantidades equimolares da 4-metoxifenil-tiossemicarbazida anteriormente sintetizada e do benzaldeído substituído, em 10 mL do solvente etanol na presença de 10 gotas do ácido acético como catalizador. A reação foi mantida sob agitação magnética, em temperatura ambiente por cerca de duas horas, e foi acompanhada por CCD. O precipitado foi então lavado com água destilada e filtrado (esquema 3).

**ESQUEMA 3 –** Esquema reacional para obtenção dos derivados Tiossemicarbazonas substituídos (LQIT/KL).



**Obtenção do N-(4-metoxifenil)-2-(4-(metilsulfonyl)-benzilideno)-hidrazina-carbotioamida (KL-01):** A mistura reacional do 4-metilsulfonyl-benzaldeído (0.186 g, 1.013 mmol), e do 4-metoxibenzeno-isotiocianato (0.2g), em 10 mL de etanol e 10 gotas do catalizador ácido acético glacial, em temperatura ambiente e agitação magnética, por 2 horas.

**Obtenção do N-(4-metoxifenil)-2-(4-(trifluorometil)benzilideno)-hidrazina-carbotioamida (KL-02):** A mistura reacional do 4- trifluorometil-benzaldeído (0.176 g, 1.013 mmol), e do 4-metoxibenzeno-isotiocianato (0.2 g), em 10 mL de etanol, sob a catalização de 10 gotas do ácido acético glacial, em temperatura ambiente e agitação magnética por 2 horas.

**Obtenção do N-(4-metoxifenil)-2-(4-(trifluorometoxi)benzilideno)-hidrazina-carbotioamida (KL-03):** A mistura reacional do 4-trifluorometoxi-benzaldeído (0.0963 g, 0.506 mmol), e do 4-metoxibenzeno-isotiocianato (0.1 g), em 10 mL de etanol, sob a catalização de 10 gotas do ácido acético glacial, em temperatura ambiente e agitação magnética por 2 horas.

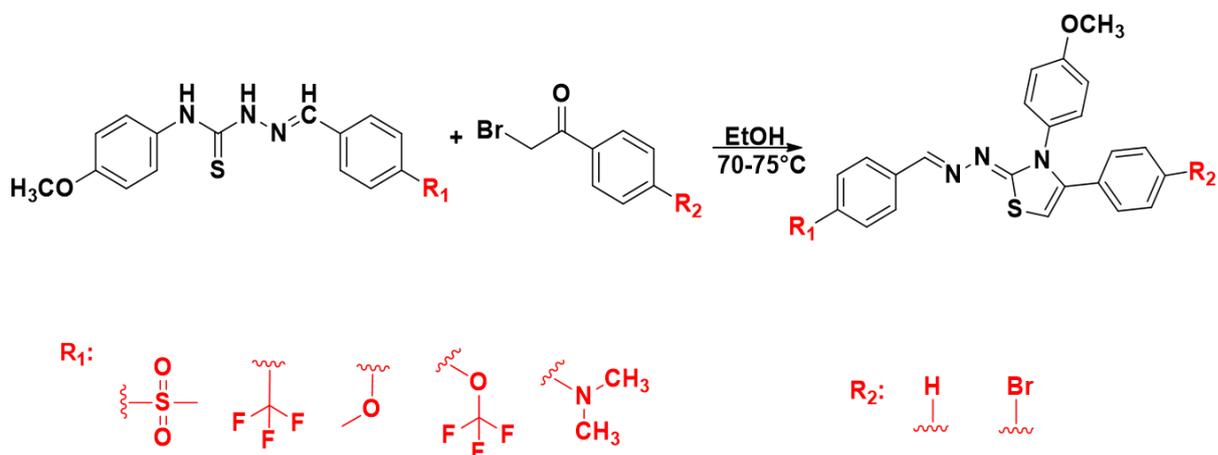
**Obtenção do 2-(4-(dimetilamino)benzilideno)-N-(4-metoxifenil)-hidrazina-carbotiamida (KL-04):** A mistura reacional do 4-dimetilamino-benzaldeído (0.226 g, 1.520 mmol), e do 4-metoxibenzeno-isotiocianato (0.3 g), em 10 mL de etanol, sob a catalização de 10 gotas do ácido acético glacial, em temperatura ambiente e agitação magnética por 2 horas.

**Obtenção do 2-(4-metoxibenzilideno)-N-(4-metoxifenil)-hidrazina-carbotioamida (KL-05):** A mistura reacional do 4-metoxi-benzaldeído (0.138 g, 1.013 mmol), e do 4-metoxibenzeno-isotiocianato (0.2 g), em 10 mL de etanol, sob a catalização de 10 gotas do ácido acético glacial, em temperatura ambiente e agitação magnética por 2 horas.

#### 4.2.3 Obtenção dos derivados Tiazólicos (LQIT/KLT)

A síntese dos derivados tiazólicos foi realizada de acordo com o esquema 4. Em um balão de fundo redondo com capacidade para 50 mL, foram adicionadas quantidades equimolares da tiossemicarbazona substituída, e da acetofenona, em 10 mL de etanol. O sistema reacional foi acoplado a um condensador, sob a temperatura de 65°C e agitação magnética. A reação foi acompanhada por CCD, e durou aproximadamente 2 horas e 30 minutos. O precipitado foi filtrado e lavado com etanol.

ESQUEMA 4 – Esquema reacional para obtenção dos derivados Tiazóis substituídos (LQIT/KLT).



**Obtenção do 4- (4-bromofenil) -3- (4-metoxifenil) -2 - (4- (metilsulfonyl) - benzilideno) hidrazono) -2,3-di-hidrotiazol (KLT-01):** A mistura do 4-metoxifenil-4-metilsulfonyl-benzilideno-hidrazina-carbotioamida (0.05 g, 0.137 mmol), com a 2,4-dibromoacetofenona (0.038 g), em meio etanólico, sob agitação magnética e faixa de aquecimento entre 60-65°C, por aproximadamente 2hs.

**Obtenção do 3- (4-metoxifenil) -2 - (4- (metilsulfonyl) benzilideno) - hidrazono) -4-fenil-2,3-di-hidrotiazole (KLT-02):** A mistura do 4-metoxifenil-4-metilsulfonyl-benzilideno-hidrazina-carbotioamida (0.05 g, 0.137 mmol), com a 2-bromoacetofenona (0.027 g), em meio etanólico, sob agitação magnética e faixa de aquecimento entre 60-65°C, por aproximadamente 2hs.

**Obtenção do 4- (4-bromofenil) -3- (4-metoxifenil) -2 - (4- (trifluorometil) - benzilideno) hidrazono) -2,3-di-hidrotiazol (KLT-03):** A mistura do 4-metoxifenil-4-trifluorometil-benzilideno-hidrazina-carbotioamida (0.05 g, 0.141 mmol), com a 2,4-dibromoacetofenona (0.039 g), em meio etanólico, sob agitação magnética e faixa de aquecimento entre 60-65°C, por aproximadamente 2hs.

**Obtenção do 3- (4-metoxifenil) -4-fenil-2 - (4- (trifluorometil) - benzilideno) hidrazono) -2,3-di-hidrotiazol (KLT-04):** A mistura do 4-metoxifenil-4-trifluorometil-benzilideno-hidrazina-carbotioamida (0.05 g, 0.141 mmol), com a 2-bromoacetofenona (0.028 g), em meio etanólico, sob agitação magnética e faixa de aquecimento entre 60-65°C, por aproximadamente 2hs.

**Obtenção do 4- (4-bromofenil) -3- (4-metoxifenil) -2 - (4- (trifluorometoxi) benzilideno) - hidrazono) -2,3-di-hidrotiazol (KLT-05):** A mistura do 4-metoxifenil-4-trifluorometoxi-benzilideno-hidrazina-carbotioamida (0.05 g, 0.135 mmol), com a 2,4-dibromoacetofenona (0.037 g), em meio etanólico, sob agitação magnética e faixa de aquecimento entre 60-65°C, por aproximadamente 2:30 min.

**Obtenção do 3- (4-metoxifenil) -4-fenil-2 - (4- (trifluorometoxi) benzilideno) - hidrazono) -2,3-di-hidrotiazol (KLT-06):** A mistura do 4-metoxifenil-4-trifluorometoxi-benzilideno-hidrazina-carbotioamida (0.05 g, 0.135 mmol), com a 2-bromoacetofenona (0.026 g), em meio etanólico, sob agitação magnética e faixa de aquecimento entre 60-65°C, por aproximadamente 2:30 min.

**Obtenção do 4- (4- (4-bromofenil) -3- (4-metoxifenil) tiazol-2 (3H) - ilideno) hidrazono) metil) -N, N-dimetilamina (KLT-07):** A mistura do 4-dimetilamino-benzilideno-4-metoxifenil-hidrazina-carbotiamida (0.1 g, 0.304 mmol), com a 2,4-dibromoacetofenona (0.084 g), em meio etanólico, sob agitação magnética e faixa de aquecimento entre 60-65°C, por aproximadamente 2:30 min.

**Obtenção do 4 - (3- (4-metoxifenil) -4-feniltiazol-2 (3H) - ilideno) hidrazono) metil) -N, N-dimetilamina (KLT-08):** A mistura do 4-dimetilamino-benzilideno-4-metoxifenil-hidrazina-carbotiamida (0.1 g, 0.304 mmol), com a 2-bromoacetofenona (0.06 g), em meio etanólico, sob agitação magnética e faixa de aquecimento entre 60-65°C, por aproximadamente 2:30 min.

**Obtenção do 4- (4-bromofenil) -2 - (4-metoxibenzilideno) hidrazono) -3- (4-metoxifenil) -2,3-di-hidrotiazol (KLT-09):** A mistura do 4-metoxibenzilideno-4-metoxifenil-hidrazina-carbotioamida (0.05 g, 0.158 mmol), com a 2,4-dibromoacetofenona (0.044 g), em meio etanólico, sob agitação magnética e faixa de aquecimento entre 60-65°C, por aproximadamente 2:40 min.

**Obtenção do 2 -(4-metoxibenzilideno) hidrazono) -3- (4- metoxifenil) -4-fenil-2,3-di-hidrotiazol (KLT-10):** A mistura do 4-metoxibenzilideno-4-metoxifenil-hidrazina-carbotioamida (0.05 g, 0.158 mmol), com a 2-bromoacetofenona (0.031 g), em meio etanólico, sob agitação magnética e faixa de aquecimento entre 60-65°C, por aproximadamente 2:40 min.

## 4.3 SEÇÃO BIOLÓGICA

### 4.3.1 Estudos de interação dos derivados Tiazólicos com o ssDNA e BSA

#### 4.3.1.1 Materiais e equipamentos

O DNA de esperma de salmão (ssDNA) e a albumina de soro bovino (BSA), foram obtidos da Sigma Aldrich. As amostras dos derivados foram preparadas em solvente DMSO e diluídas em tampão Tris HCl (0,1M; pH 7,5). Os equipamentos utilizados para obtenção dos espectros ultravioleta-visível (UV-vis) e emissão de fluorescência foram: Espectrofotômetro de UV-vis Ultraspec 3000 PRO, Espectrofluorímetro de JASCO FP-6300 (Tóquio, Japão).

#### 4.3.1.2 Preparação das soluções de ssDNA e BSA

Na preparação da solução estoque de ssDNA, foi utilizado o tampão Tris HCl (0,1 M; pH 8.0) e o DNA de esperma de salmão adquirido da Sigma Aldrich. A solução contendo o ssDNA em tampão Tris HCl, foi armazenada durante 24 horas, à temperatura de 8° C. Posteriormente, a solução foi sonicada durante 30 minutos e sua concentração foi calculada por meio do coeficiente de extinção molar  $6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  a 260 nm (WOLFE; SHIMER; MEEHAN, 1987). O grau de pureza da solução de ssDNA foi determinado pelo valor das razões dos valores de absorção em 260/280 nm, respectivamente.

Na preparação da solução estoque de BSA, foi utilizado o tampão Tris HCl (0,1 M; pH 7,5) e a BSA adquirida da Sigma Aldrich. A solução contendo a BSA em tampão Tris HCl foi preparada numa concentração de 1mM e mantida sob refrigeração a -20°C.

### 4.3.2 Espectroscopia de absorção eletrônica

Primeiramente, foram preparadas as soluções estoque de cada composto com a concentração de 1mM em DMSO. Em seguida, foram preparadas as soluções de trabalho em tampão Tris-HCl (0,1 M, pH 7.5) nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 45, e 50  $\mu\text{M}$ . Esses compostos foram analisados em aparelho espectrofotômetro *Ultraspec 3000 PRO* por varredura na faixa de comprimento de onda de 200-600 nm, utilizando uma cubeta de quartzo com 1 cm caminho óptico, à temperatura ambiente. Os dados coletados foram processados no software Sigma Plot 10.0, onde foram analisados os picos de absorção de cada composto para posterior escolha da melhor banda e concentração específica para os estudos de interação com as biomoléculas.

Para análise de interação com o ssDNA, os derivados foram diluídos em tampão Tris-HCl (0,1 M, pH 7.5) em concentração fixa de 30  $\mu\text{M}$ . Essas soluções foram expostas a

concentrações crescentes do ssDNA de 10, 20, 40, 60, 80, e 100  $\mu\text{M}$ , posteriormente foram homogeneizadas e deixadas em repouso por aproximadamente 10 minutos em temperatura ambiente, para estabilização no tampão. Todos os testes foram feitos em duplicata.

Na análise de interação com a BSA, os compostos foram diluídos em concentrações que variaram de 5 a 40  $\mu\text{M}$  em tampão Tris HCl (0,1 M; pH 7,5). Neste teste a BSA foi fixada em 20  $\mu\text{M}$  e exposta as concentrações crescentes dos compostos, que foram preparadas em duplicata, homogeneizadas e deixadas em repouso por 10 minutos para estabilização no tampão.

A verificação de mudanças no perfil absorptivo da BSA, DNA, e dos derivados tiazólicos, bem como as análises das possíveis formas de interações foram realizadas por varredura na faixa de comprimento de onda de 200 a 600 nm, numa cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico, à temperatura ambiente. A constante de ligação intrínseca ( $K_b$ ), foi determinada por meio da equação de McGee e Von Hippel (1974):

$$[\text{KLTs}] / (\epsilon_a - \epsilon_f) = [\text{KLTs}] / (\epsilon_b - \epsilon_f) + 1 / K_b (\epsilon_b - \epsilon_f)$$

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

Nos quais,  $E^a$ ,  $E^b$  e  $E^f$  são os coeficientes de extinção aparente, ligado e livre, respectivamente. Os gráficos da  $[\text{KLTs}] / (E_a - E_f)$  versus  $[\text{KLTs}]$  e  $[\text{DNA}] / (E_a - E_f)$  versus  $[\text{DNA}]$  foram utilizados para obtenção dos  $K_b$ s a partir da razão entre a inclinação e o intercepto. Os dados de ligação foram obtidos utilizando o software SigmaPlot 10.0.

### 4.3.3 Espectroscopia de emissão de fluorescência

Inicialmente, foi realizada a varredura dos derivados tiazólicos com soluções de análise nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, e 40  $\mu\text{M}$ , essas soluções foram preparadas em tampão Tris HCl 0,1M, pH 7,5 em duplicata. As leituras foram realizadas na faixa de 220 a 700 nm com bandas excitação/emissão de 5nm/5nm, 10nm/5nm e 5nm/10nm com sensibilidade alta e velocidade de 100nm/min.

Na análise de interação com a BSA, a biomolécula foi fixada em 20  $\mu\text{M}$  e exposta a concentrações crescentes dos derivados, que variaram entre 5-40  $\mu\text{M}$  em tampão Tris HCl (0,1 M, pH 7,5), as soluções foram homogeneizadas e mantidas em repouso por cerca de 10 minutos e em seguida foram analisadas no espectrofluorímetro. A faixa de análise escolhida foi de 310-

400 nm, sendo o comprimento de onda de excitação de 280 nm, e as bandas de excitação/emissão de 2,5nm/2,5nm respectivamente.

Para o estudo de interação com o DNA, a concentração de 10 µM dos compostos foi escolhida e exposta a concentrações crescentes do ssDNA (0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 µM) em tampão Tris HCl (0,1 M, pH 8.0). As amostras foram homogeneizadas e mantidas em repouso por aproximadamente 10 minutos, para estabilização no tampão, e em seguida foram analisadas. Os parâmetros utilizados nesta etapa foram os adquiridos na varredura dos derivados tiazólicos, sendo a faixa de análise entre 350-650 nm e as bandas de excitação e emissão foram 5nm/10nm, 10nm/5nm e 5nm/5nm.

Todas as medições foram realizadas em temperatura ambiente, em uma cubeta de quartzo retangular com comprimento de 1cm de caminho óptico. Os valores de aumento ou supressão da emissão de fluorescência foram obtidos pela equação de Stern-Volmer (K<sub>sv</sub>) (LAKOWICZ, 2006):

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

Onde  $F_0$  e  $F$  são as intensidades de fluorescência na ausência e na presença das biomoléculas e dos derivados,  $K_{sv}$  é a constante de Stern-Volmer, e  $[Q]$  é a concentração de inibidor. Os dados de ligação foram obtidos a partir do software de SigmaPlot 10.0.

#### **4.3.4 Atividade antiproliferativa *in vitro***

Os testes foram realizados frente à duas linhagens celulares: A linhagem celular humana não transformada, macrófagos (J774) e a linhagem transformada, adenocarcinoma mamário (MCF-7). Estas células foram adquiridas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). As células foram mantidas em garrafas de poliestireno de 75 cm<sup>2</sup>, em estufa úmida à temperatura de 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>, em meio RPMI-1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de antibiótico.

A atividade antiproliferativa *in vitro* foi realizada em duas etapas para a linhagem celular MCF-7 e em uma etapa para a linhagem celular não transformada J774. Inicialmente, ambas as linhagens citadas foram testadas em uma concentração única de 50 µM dos derivados tiazólicos sintetizados. Após análise destes resultados foram escolhidos os melhores compostos frente a linhagem celular MCF-7, para serem testados em diferentes concentrações (50, 25, 12,5, 6,75, e 3,125 µM).

A avaliação da citotoxicidade foi determinada por meio do método colorimétrico 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT). Trara-se de uma análise colorimétrica que detecta a viabilidade celular a partir do estado metabólico da célula. A análise é baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas desidrogenases mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas (SYLVESTER, 2011).

Para o ensaio, as células foram distribuídas em placas de 96 poços, cada poço recebeu a concentração de  $1 \times 10^5$  de células, que foram então cultivadas por 24 horas em estufa úmida à 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub> com meio RPMI sem fenol. Após as 24 horas, foi adicionado em cada poço a concentração de 50 µM dos compostos, em triplicata. Como controle positivo foi utilizado o composto Amsacrina (m-Amsa), na mesma concentração. Mais uma vez as células foram encubadas em estufa nas mesmas condições citadas anteriormente por 48 horas para ambas as linhagens.

Após o período de incubação foram adicionados em cada poço 20 µL da solução de MTT na concentração de 5 mg/mL diluído em PBS, em seguida as placas foram protegidas da luz e incubadas mais uma vez em estufa úmida a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub> por aproximadamente 3 horas. Por conseguinte, as placas foram retiradas da estufa, e foram removidos de todos os poços o meio acrescido do MTT, para posterior adição de 20 µL de DMSO filtrado, que foram utilizados para a solubilização dos cristais que foram observados no fundo dos poços. Por fim, as placas foram lidas em leitor de microplacas no comprimento de onda de 590 nm.

O potencial citotóxico dos compostos foi calculado em relação ao controle negativo tratado apenas com meio RPMI. O IC<sub>50</sub> (concentração mínima inibitória de 50% do crescimento celular) foi calculado com o auxílio do programa OriginPro 8 (Originlab Corporation®, Northampton, MA, EUA).

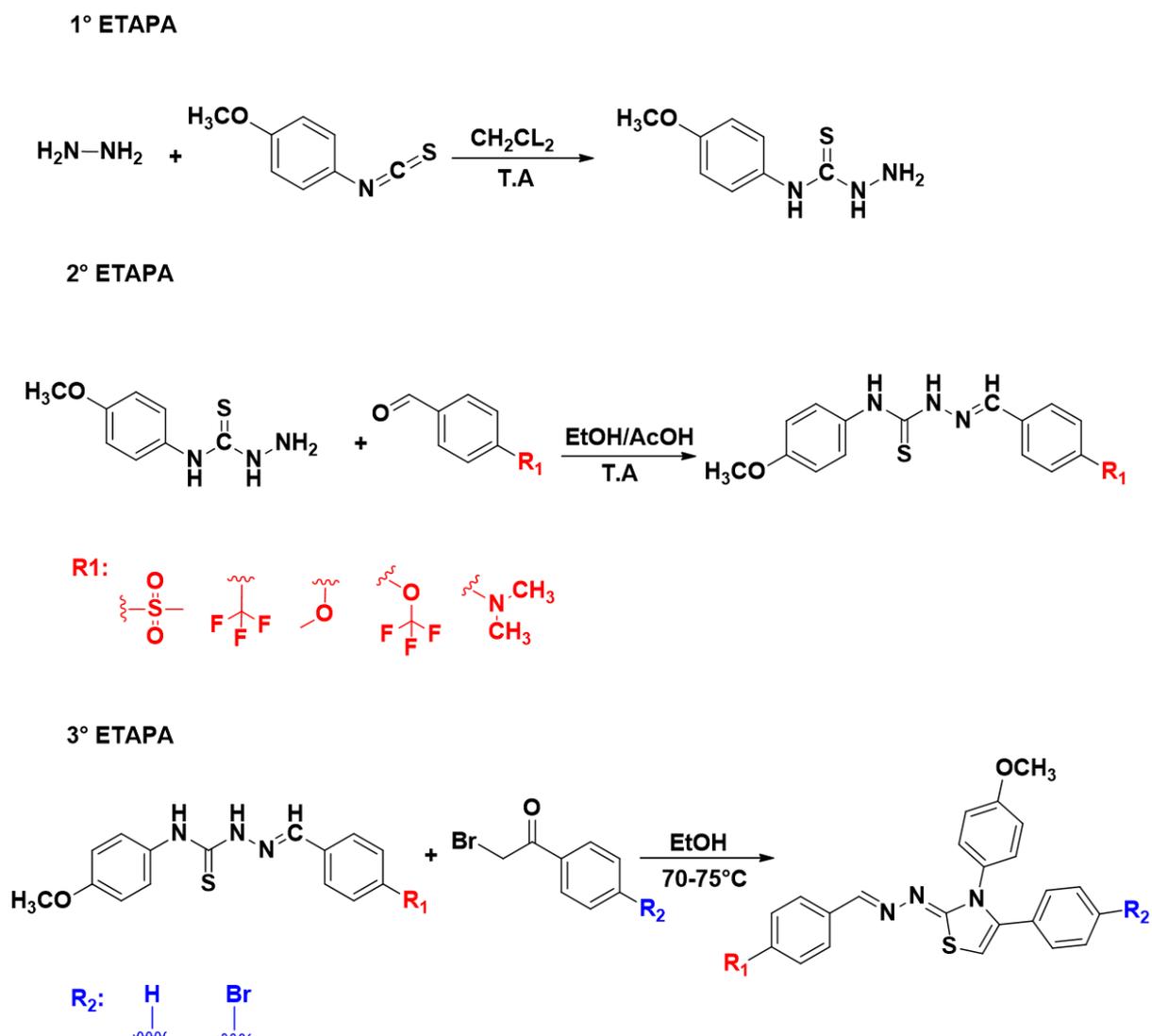
Um segundo experimento foi realizado nas mesmas condições que o citado anteriormente, só para a linhagem tumoral MCF-7, com os melhores compostos do primeiro ensaio. Porém, para obtenção dos valores de IC<sub>50</sub>. Dessa forma o controle positivo m-Amsa também foi utilizado nas mesmas concentrações que os derivados tiazólicos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ESTUDO QUÍMICO

As rotas sintéticas empregadas para obtenção dos derivados tiazólicos (LQIT/KLT) foram eficientes e apresentaram rendimentos satisfatórios, sendo necessário apenas métodos de lavagem e purificação com água destilada, etanol, diclorometano e *n*-hexano. O esquema geral de síntese para obtenção dos derivados tiazólicos é apresentado no esquema abaixo (esquema 5).

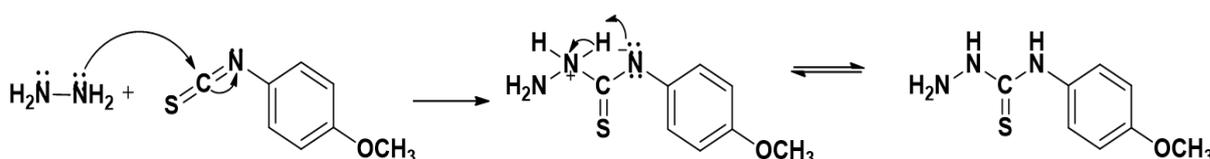
**ESQUEMA 5** - Rota sintética empregada na preparação dos compostos tiazólicos



### 5.1.1 Mecanismo de reação para obtenção do derivado Tiossemicarbazida (LQIT/KL-001)

Nesta etapa de síntese o hidrato de hidrazina reage com o 4-metoxi-benzo-isotiocianato. Inicialmente ocorre um ataque nucleofílico dos pares de elétrons livres do nitrogênio da hidrazina ao carbono parcialmente positivo da tiocarbonila no isotiocianato, desencadeando uma quebra da ligação pi ( $\pi$ ) e posterior deslocalização dos elétrons para o nitrogênio próximo. Em seguida, o nitrogênio carregado positivamente é desprotonado pelo nitrogênio com carga negativa, levando assim a formação da tiossemicarbazida. Este mecanismo reacional de obtenção das tiossemicarbazidas apresenta rendimentos de aproximadamente 70-90% (TENÓRIO et al., 2005).

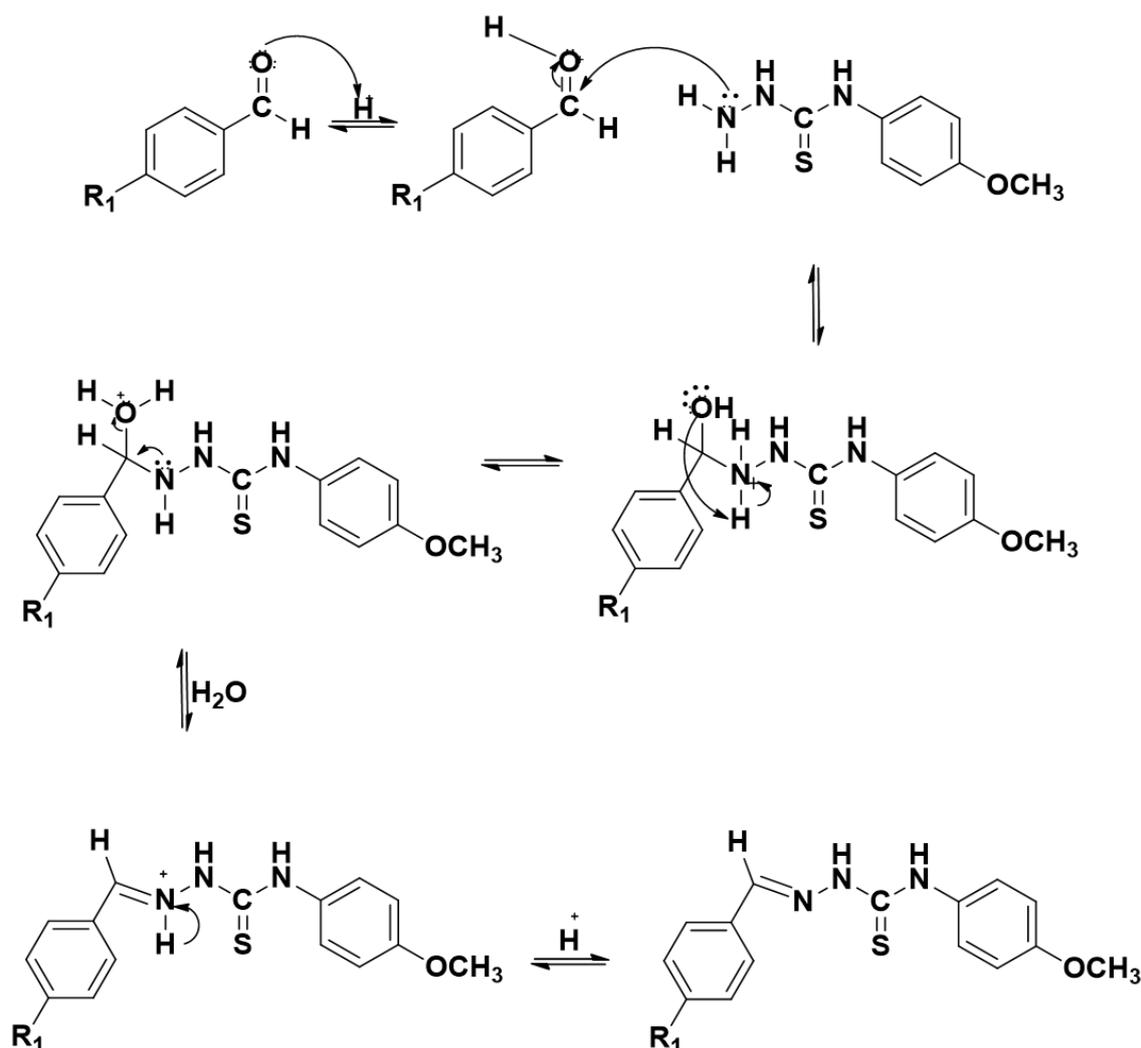
ESQUEMA 6 - Mecanismo reacional da tiossemicarbazida (LQIT/KL-001)



### 5.1.2 Mecanismo de reação para obtenção dos derivados Tiossemicarbazonas (LQIT/KL)

Esta etapa ocorreu por meio de uma reação de condensação, envolvendo a tiossemicarbazida obtida na etapa anterior, e diferentes benzaldeídos substituídos, como mostrado no esquema 7. Inicialmente ocorreu uma protonação do oxigênio do benzaldeído pelo ácido acético (catalizador), levando a formação do íon oxônio. Em seguida, o carbono do benzaldeído protonado sofreu um ataque nucleofílico do nitrogênio  $N^1$  da tiossemicarbazida, levando a uma quebra da ligação pi ( $\pi$ ) e deslocamento do próton do nitrogênio para o oxigênio. Por fim, ocorre uma deslocalização dos elétrons do nitrogênio levando a uma desidratação e posterior formação da tiossemicarbazona, caracterizada pela formação da ligação imina ( $C=N$ ).

**Esquema 7-** Mecanismo reacional da tiossemicarbazona (LQIT/KL)



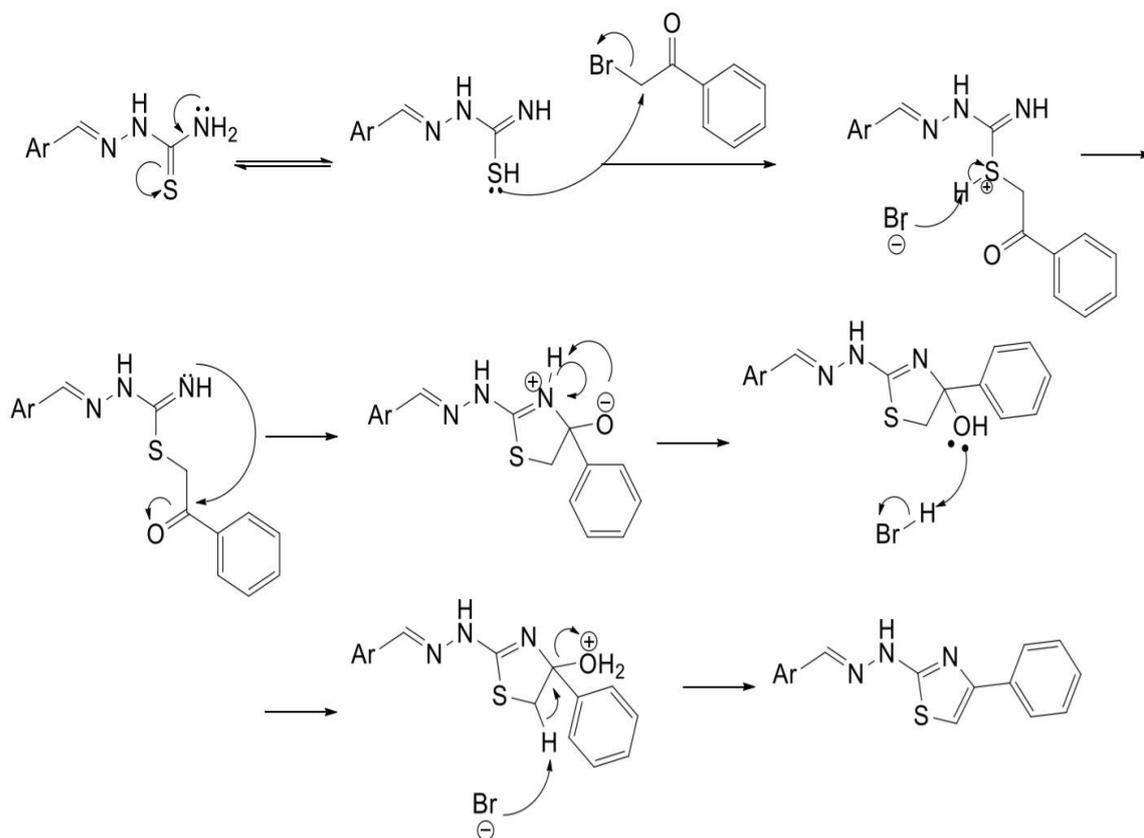
### 5.1.3 Mecanismo de reação para obtenção dos derivados Tiazóis (LQIT/KLT)

O mecanismo reacional para obtenção dos derivados tiazólicos foi descrito inicialmente por Hantzsch em 1887 (SOUZA et al., 2005). Um dos métodos de obtenção ocorre por meio de uma reação de ciclização intramolecular utilizando compostos  $\alpha$ -halocarbonílicos com tiossemicarbazonas substituídas (CARDOSO et al., 2014). A reação inicia-se por meio de um tautomerismo da tiocarbonila, levando a formação de uma imina. Posteriormente houve um ataque nucleofílico dos pares de elétrons livres do enxofre da tioamida ao carbono  $\alpha$ -halogenado da acetofenona, o que desencadeou na saída do halogênio, funcionando como grupo abandonador que logo abstrai o próton ligado ao enxofre.

Em seguida, os pares de elétrons livres do nitrogênio promovem um ataque nucleofílico à carbonila, levando a formação do anel de cinco membros. O oxigênio carregado

negativamente atrai os hidrogênios ligados ao nitrogênio que se apresentava com carga positiva e do HBr formado na etapa anterior. Por fim, ocorre uma desidratação, conduzindo a formação do tiazol de interesse.

**Esquema 8 - Mecanismo reacional dos derivados tiazólicos (LQIT/KLT)**

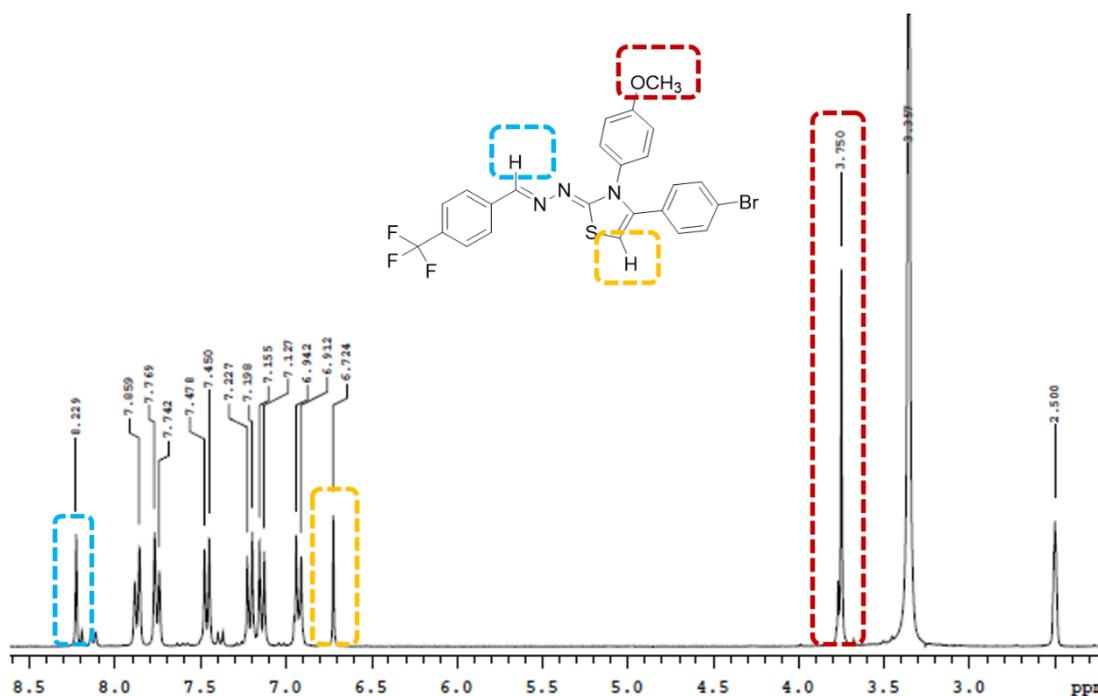


#### 5.1.4 Análise espectroscópica dos Derivados Tiazólicos.

Na elucidação das estruturas químicas dos derivados sintetizados foram realizadas a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ), espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono (RMN  $^{13}\text{C}$ ), e infravermelho (IV). Na espectroscopia de RMN os deslocamentos químicos são expressos em ppm, as constantes de acoplamento (J) estão descritas em Hertz (Hz), e a multiplicidade de sinais está expressa da seguinte forma: simpleto (s), duplete (d), duplo duplete (dd), tripleto (t), e multiplete (m). Por meio destas análises foi possível determinar as regiões características dos hidrogênios e carbonos presentes nos derivados. Na espectroscopia de IV, os resultados são descritos por meio de bandas e estiramentos característicos dos grupamentos presentes nos derivados tiazólicos sintetizados.

O composto KLT-03 foi escolhido para uma descrição mais detalhada dos principais sinais observados nas técnicas de análises espectroscópicas dos derivados. No RMN  $^1\text{H}$ , foi possível identificar algumas regiões características dos derivados propostos, como a presença de um singlete em campo baixo que integra para três hidrogênios em 3.75  $\delta$  ppm, este sinal foi atribuído aos hidrogênios do grupamento metoxi ( $-\text{OCH}_3$ ) que se encontram mais blindados que os demais. Em um campo mais alto foi possível observar um singlete em 8.22  $\delta$  ppm, que confirma a presença do hidrogênio da ligação azometínica ( $-\text{N}=\text{CH}$ ), este sinal já foi encontrado em outros trabalhos como o de Oliveira et al. (2017). Além disso, o hidrogênio da porção tiazol ( $\text{S}-\text{CH}$ ) aparece como um singlete em 6.72  $\delta$  ppm, como já descrito nos trabalhos de GOMES et al., (2016) e LINO et al., (2018), (figura 13).

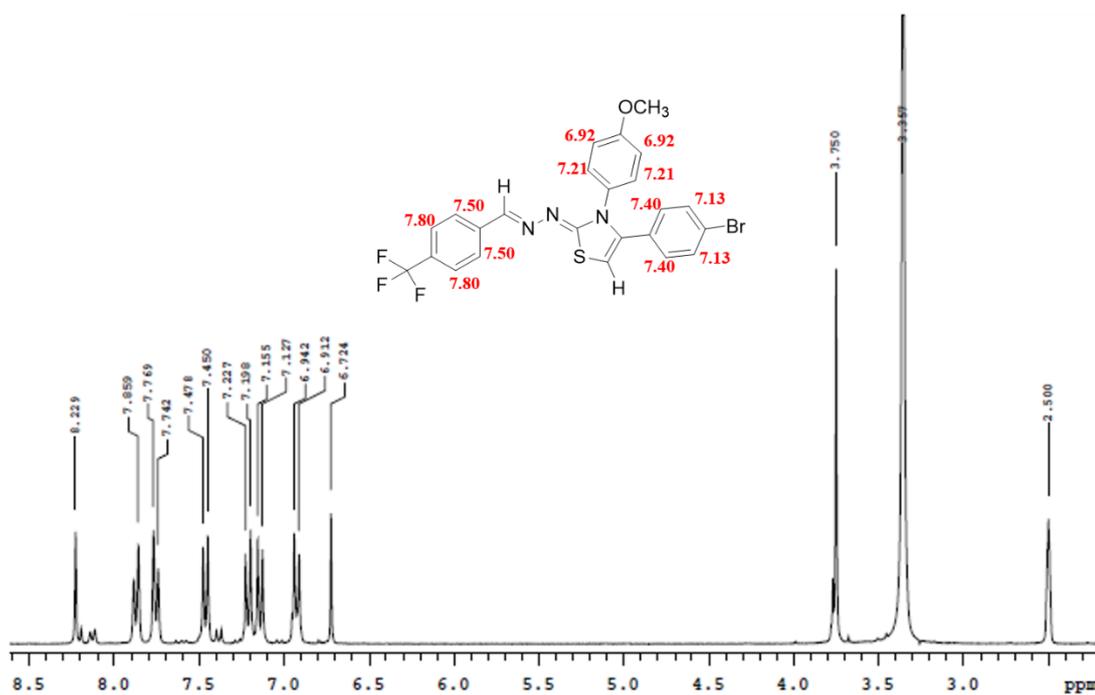
**Figura 13** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do KLT-03



A presença de seis dubletos em campo alto, foi atribuída aos hidrogênios dos anéis aromáticos, eles aparecem geralmente entre 7.0 e 8.0 ppm (EL-METWALY et al., 2019). Esses anéis possuem *para* substituições que justificam o acoplamento dos hidrogênios do mesmo anel, levando ao aparecimento de dubletos que integram para dois hidrogênios. Desta forma, os dubletos em 6.92 e 7.21  $\delta$  ppm foram atribuídos aos hidrogênios presentes no anel fenil que contém uma *para* substituição pelo grupamento metoxi, os sinais em 7.13 e 7.40  $\delta$  ppm foram

relacionados aos hidrogênios do anel fenil *para* substituído com o halogênio bromo (-Br), e os sinais em 7.5 e 7.8  $\delta$  ppm foram atribuídos aos hidrogênios do anel fenil *para* substituído com o grupo trifluorometil (-CF<sub>3</sub>), como representado na figura abaixo (figura 14).

**Figura 14** – RMN <sup>1</sup>H do KLT-03.



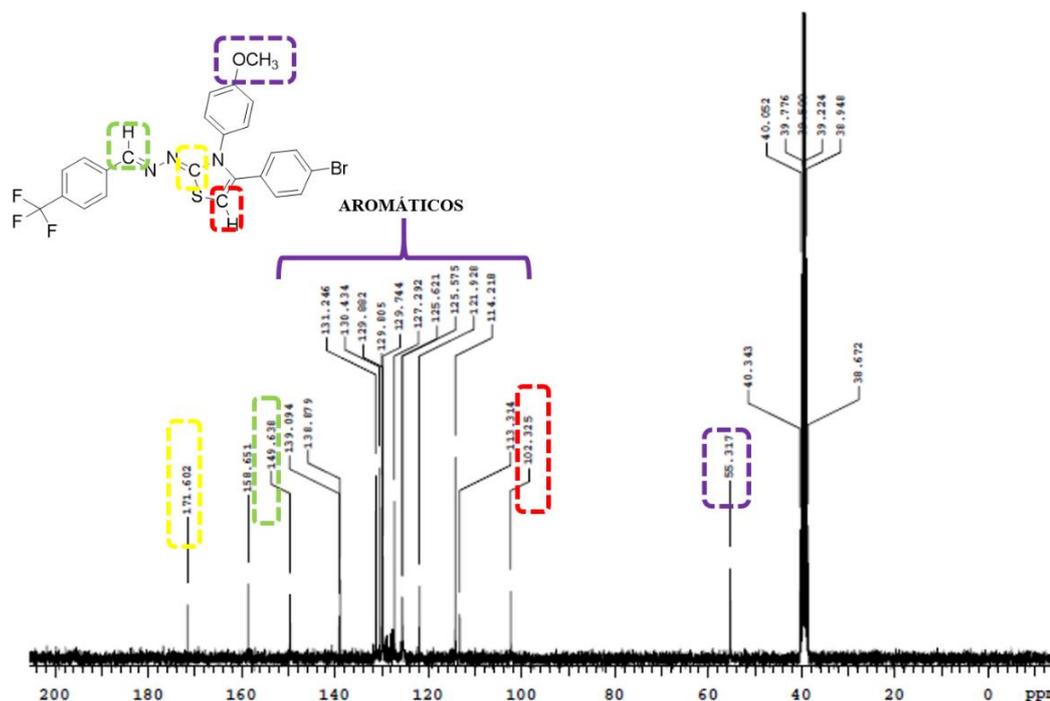
Os deslocamentos químicos do RMN <sup>1</sup>H para as regiões diagnósticas dos derivados LQIT/KLT, estão descritos na tabela abaixo:

**Tabela 1** – Principais deslocamentos químicos observados no RMN  $^1\text{H}$  dos derivados LQIT/KLT.

DERIVADOS	(-OCH <sub>3</sub> )	(-N=CH)	(S-CH)
KLT-01	3.75	8.23	6.74
KLT-02	3.73	8.22	6.67
KLT-03	3.75	8.22	6.72
KLT-04	3.74	8.22	6.64
KLT-05	3.75	8.18	6.69
KLT-06	3.73	8.10	6.62
KLT-07	3.75	8.01	6.61
KLT-08	3.74	8.01	6.53
KLT-09	3.74	8.0	6.63
KLT-10	3.73	8.09	6.55

Com a técnica de RMN  $^{13}\text{C}$  também foi possível confirmar a estrutura do derivado KLT-03. Podemos observar no espectro a presença de sinais que podem ser atribuídos aos 24 carbonos presentes em nossa molécula. Destes sinais, alguns picos são característicos da formação do anel tiazol, como o sinal em  $\delta$  171.6 ppm, atribuído ao carbono C2 do anel tiazol (N-C-S), e o sinal em  $\delta$  102.3 ppm atribuído ao carbono C5 do anel (H-C-S). Além disso, o carbono da porção azometínica (HC=N) foi identificado em 149.6 ppm, e o carbono do grupo  $\text{CF}_3$ , foi atribuído ao sinal em 125,5 ppm, sinais também descritos em regiões similares nos trabalhos de FILHO et al., (2017); SANTANA et al., (2018). Os demais sinais encontrados no espectro foram atribuídos aos carbonos aromáticos e ao carbono do grupamento metoxi (figura 15).

Figura 15 – RMN  $^{13}\text{C}$  do composto KLT-03.



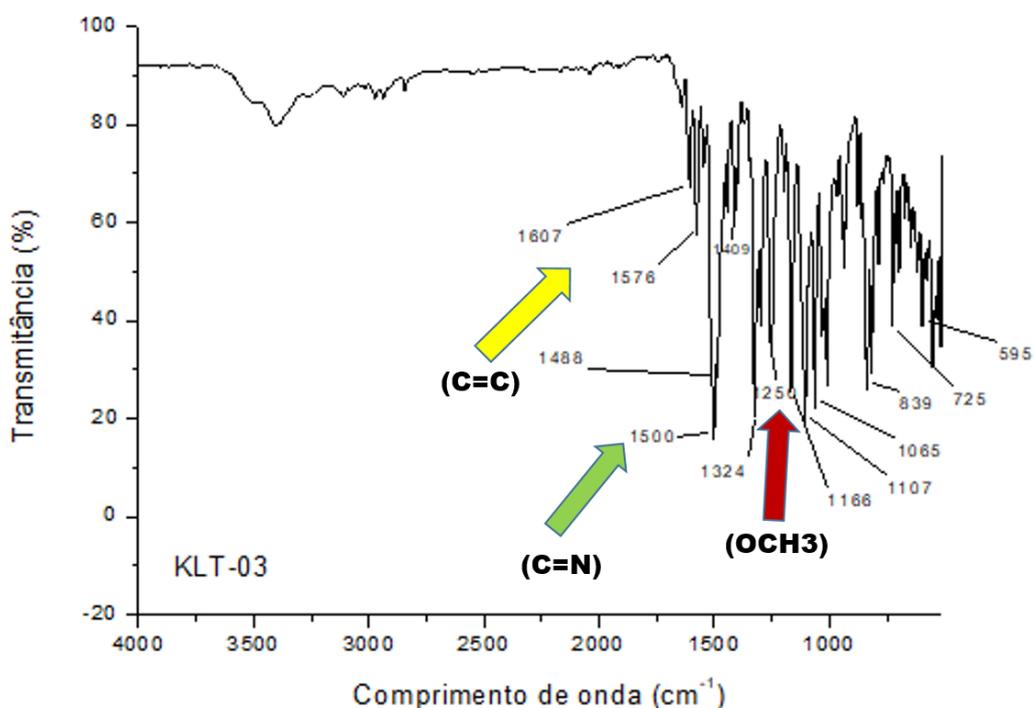
A tabela 2 apresenta os valores dos principais deslocamentos químicos do RMN  $^{13}\text{C}$  para todos os compostos da série LQIT/KLT.

Tabela 2 – Principais deslocamentos químicos observados no RMN  $^{13}\text{C}$  dos derivados LQIT/KLT.

DERIVADOS	(N-C-S)	(S-C-H)	(HC=N)	(-OCH <sub>3</sub> )
KLT-01	171.8	102.4	149.3	55.3
KLT-02	172.07	101.7	149.1	55.3
KLT-03	171.6	102.3	149.6	55.3
KLT-04	171.7	101.5	149.4	55.2
KLT-05	170.8	102.0	149.7	55.3
KLT-06	171.0	101.2	149.5	55.2
KLT-07	168.2	101.9	152.6	55.7
KLT-08	168.5	101.1	151.73	55.7
KLT-09	169.1	101.6	151.2	55.2
KLT-10	169.4	100.8	151.1	55.2

De forma complementar também foi realizada a espectroscopia de absorção no IV, onde é possível observar estiramentos característicos das funções orgânicas presentes nos derivados LQIT/KLT. Conforme demonstrado na figura 16, foram observados alguns estiramentos de intensidade forte, os quais foram atribuídos a diferentes grupos funcionais encontrados nas moléculas, em destaque o estiramento em  $1500\text{ cm}^{-1}$  foi identificado e atribuído ao grupamento funcional imina ( $\text{C}=\text{N}$ ) (OLIVEIRA et al., 2017); outras bandas entre  $1607$  e  $1576\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídas as vibrações de grupamento  $\text{C}=\text{C}$  aromáticos (BRAGA et al., 2016). Por fim, outro estiramento em  $1250\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao grupamento metoxi, *para* substituído no anel aromático. A tabela 3 apresenta os resultados das principais frequências de absorção observadas nos espectros de absorção no IV para os compostos da série.

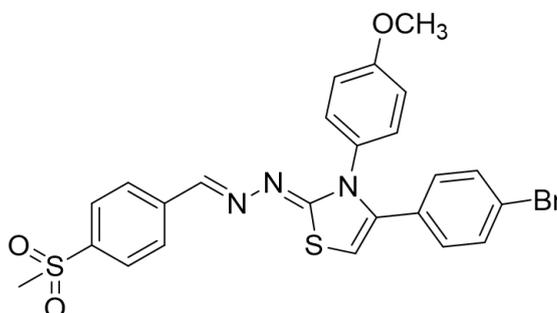
**Figura 16** – Espectro de infravermelho do KLT-03



**Tabela 3** – Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para os compostos da série LQIT/KLT

DERIVADOS	(C=N)	(C=C)	(O-CH <sub>3</sub> )
<b>KLT-01</b>	1505	1607 e 1564	1253
<b>KLT-02</b>	1485	1602 e 1566	1249
<b>KLT-03</b>	1500	1607 e 1576	1250
<b>KLT-04</b>	1509	1606 e 1572	1252
<b>KLT-05</b>	1506	1611 e 1585	1248
<b>KLT-06</b>	1500	1611 e 1583	1212
<b>KLT-07</b>	1504	1599 e 1554	1244
<b>KLT-08</b>	1507	1596 e 1565	1247
<b>KLT-09</b>	1506	1603 e 1572	1240
<b>KLT-10</b>	1502	1601 e 1573	1240

**4-(4-bromophenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-2-(4-(methylsulfonyl) benzylidene) hydrazono)-2,3-dihydrothiazole (LQIT/KLT-01)**



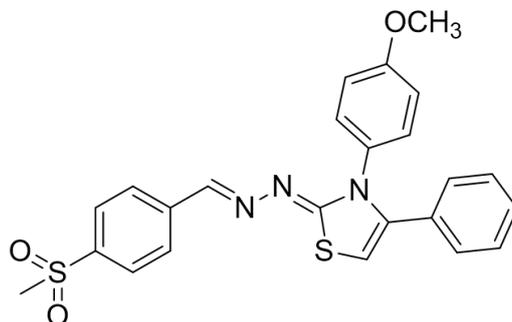
**Fórmula Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>

**Massa molecular:** 542,47 **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO d<sub>6</sub>):** δ ppm: 3,21 (s, 3H, metílico), 3,75 (s, 3H, metoxi), 6,74 (s, 1H, tiazolínico), 6,93 (d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 7,14 (d, 2H, J= 8,4 Hz, fenílico), 7,22 (d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 7,46 (d, 2H, J= 8,1 Hz, fenílico), 7,91 (m, 4H, fenílico), 8,23 (s, 1H, imínico).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ ppm: 55.34 (CH<sub>3</sub>), 102.47 (Cq), 149.37 (Cq), 171.89 (Cq).

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 1505 (C=N), 1607 e 1564 (C=C), 1253 (O-CH<sub>3</sub>).

**3-(4-methoxyphenyl)-2-(4-(methylsulfonyl)benzylidene)hydrazono)-4-phenyl-2,3-dihydrothiazole (LQIT-KLT-02)**



**Fórmula Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>

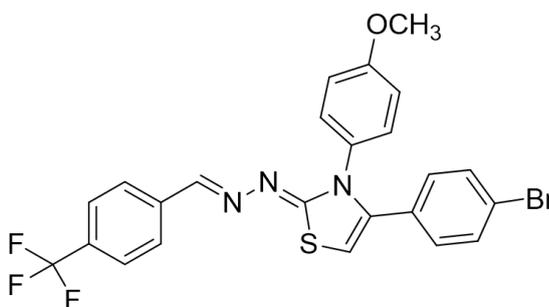
**Massa molecular:** 463,57

**RMN <sup>1</sup>H:** δ ppm: 3,21 (s, 3H, metílico), 3,73 (s, 3H, metoxi), 6,67 (s, 1H, tiazolínico), 6,91 (d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 7,22 (m, 7H, fenílico), 7,91 (m, 4H, fenílico), 8,22 (s, 1H, imínico).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ ppm: 55.33 (CH<sub>3</sub>), 101.7 (Cq), 149.1 (Cq), 172.0 (Cq).

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 1485 (C=N), 1602 e 1566 (C=C), 1249 (O-CH<sub>3</sub>).

**4-(4-bromophenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-2-(4-(trifluoromethyl)benzylidene)hydrazono)-2,3-dihydrothiazole (LQIT/KLT-03)**



**Fórmula Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>17</sub>BrF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OS

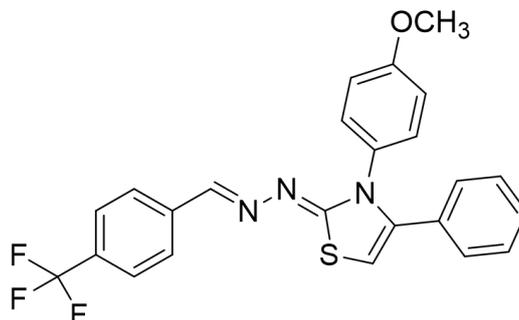
**Massa molecular:** 532,38

**RMN <sup>1</sup>H:** δ ppm: 3,75 (s, 3H, metoxi), 6,72 (s, 1H, tiazolínico), 6,92 (d, 2H, J= 9 Hz, fenílico), 7,13 (d, 2H, J= 8,4 Hz, fenílico), 7,21 (d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 7,4 (d, 2H, J= 8,4 Hz, fenílico), 7,50 (d, 2H, J= 8,1 Hz, fenílico), 7,8 (d, 2H, J= 9 Hz, fenílico), 8,22 (s, 1H, imínico).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ ppm: 55.31 (CH<sub>3</sub>), 102.32 (CH), 149.3 (Cq), 171.60 (Cq).

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 1500 (C=N), 1607 e 1576 (C=C), 1250 (O-CH<sub>3</sub>).

**3-(4-methoxyphenyl)-4-phenyl-2-(4-(trifluoromethyl)benzylidene)hydrazono)-2,3-dihydrothiazole (LQIT/KLT-04)**



**Fórmula Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OS

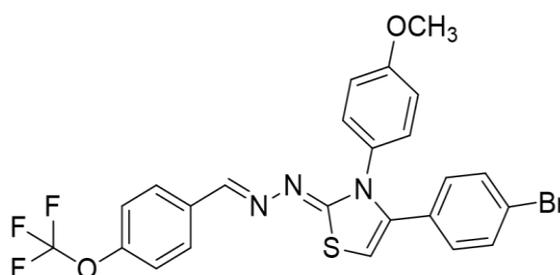
**Massa molecular:** 453,48

**RMN <sup>1</sup>H:** δ ppm: 3,74 (s, 3H, metoxi), 6,64 (s, 1H, tiazolínico), 6,85 (d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 7,22 (m, 7H, fenílico), 7,5 (d, 2H, J= 8,1 Hz, fenílico), 7,8 (d, 2H, J= 8,1 Hz, fenílico), 8,22 (s, 1H, imínico).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ ppm: 55.2 (CH<sub>3</sub>), 101.5 (Cq), 149.4 (Cq), 171.7 (Cq).

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 1509 (C=N), 1606 e 1572 (C=C), 1252 (O-CH<sub>3</sub>).

**4-(4-bromophenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-2-(4-(trifluoromethoxy)benzylidene)hydrazono)-2,3-dihydrothiazole (LQIT/KLT-05)**



**Fórmula Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>17</sub>BrF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

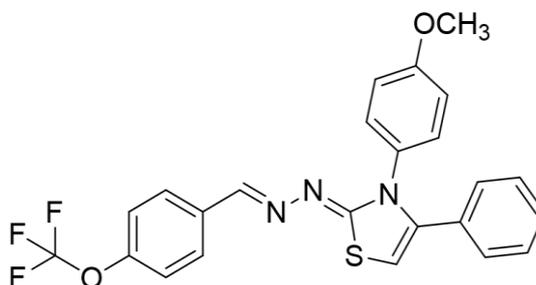
**Massa molecular:** 548,37

**RMN <sup>1</sup>H:** δ ppm: 3,75 (s, 3H, metoxi), 6,69 (s, 1H, tiazolínico), 6,91 (d, 2H, J= 9,6 Hz, fenílico), 7,13 (d, 2H, J= 8,4 Hz, fenílico), 7,20 (d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 7,40 (d, 2H, J= 8,1 Hz, fenílico), 7,46 (d, 2H, J= 9 Hz, fenílico), 7,79 (d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 8,18 (s, 1H, imínico).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ ppm: 55.3 (CH<sub>3</sub>), 102.0 (Cq), 149.7 (Cq), 170.8 (Cq).

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 1506 (C=N), 1611 e 1585 (C=C), 1248 (O-CH<sub>3</sub>).

**3-(4-methoxyphenyl)-4-phenyl-2-4-(trifluoromethoxy)benzylidene)hydrazono)-2,3-dihydrothiazole (LQIT/KLT-06)**



**Fórmula Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

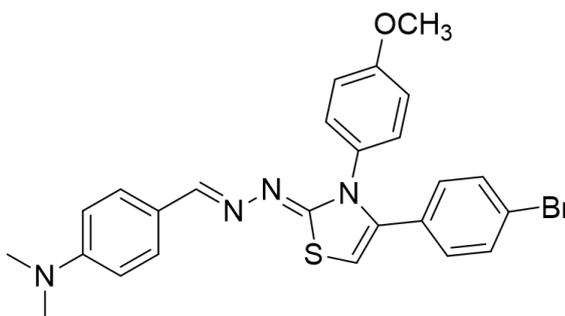
**Massa molecular:** 469,48

**RMN <sup>1</sup>H:** δ ppm: 3,73 (s, 3H, metoxi), 6,62 (s, 1H, tiazolínico), 6,90 (d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 7,20 (m, 7H, fenílicos), 7,40 (d, 2H, J= 8,1 Hz, fenílico), 7,80 (d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 8,18 (s, 1H, imínico).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ ppm: 55.2 (CH<sub>3</sub>), 101.2 (Cq), 149.5 (Cq), 171.0 (Cq).

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 1500 (C=N), 1611 e 1583 (C=C), 1212 (O-CH<sub>3</sub>).

**4-(4-(4-bromophenyl)-3-(4-methoxyphenyl)thiazol-2(3H)-ylidene) hydrazono) methyl)-N,N-dimethylaniline (LQIT/KLT-07)**



**Fórmula Molecular:** C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>BrN<sub>4</sub>OS

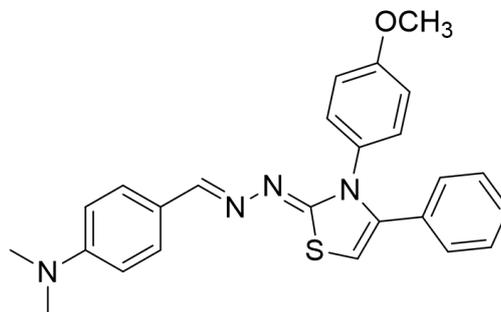
**Massa molecular:** 507,45

**RMN <sup>1</sup>H:** δ ppm: 2,96 (s, 6H, amina), δ ppm: 3,75 (s, 3H, metoxi), 6,61 (s, 1H, tiazolínico), 6,73 (d, 2H, J= 6 Hz, fenílico), 6,93 (d, 2H, J=12 Hz, fenílico), 7,14 (d, 2H, J= 6 Hz, fenílico), 7,19 (d, 2H, J= 6 Hz, fenílico), 7,47 (d, 2H, J=6 Hz, fenílico), 7,51 (d, 2H, J=12 Hz, fenílico), 8,01 (s, 1H, imínico).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ ppm: 55.7 (CH<sub>3</sub>), 101.9 (Cq), 152.6 (Cq), 168.2 (Cq).

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 1504 (C=N), 1599 e 1554 (C=C), 1249 (O-CH<sub>3</sub>).

**4-(3-(4-methoxyphenyl)-4-phenylthiazol-2(3H)-ylidene)hydrazono)methyl)-N,N-dimethylaniline (LQIT/KLT-08)**



**Fórmula Molecular:** C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>OS

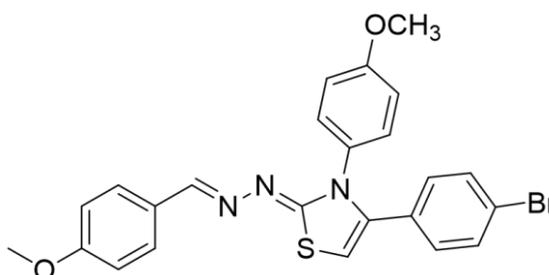
**Massa molecular:** 428,55

**RMN <sup>1</sup>H:** δ ppm: 2,95 (s, 6H, amina), δ ppm: 3,74 (s, 3H, metoxi), 6,53 (s, 1H, tiazolínico), 6,73 (d, 2H, J= 6 Hz, fenílico), 6,90 (d, 2H, J=12 Hz, fenílico), 7,16 (m, 4H, fenílico), 7,24 (t, 3H, fenílico), 7,52 (d, 2H, J=12 Hz, fenílico), 8,01 (s, 1H, imínico).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ ppm: 55.7 (CH<sub>3</sub>), 101.1 (Cq), 151.7 (Cq), 168.0 (Cq).

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 1507 (C=N), 1596 e 1565 (C=C), 1247 (O-CH<sub>3</sub>).

**4-(4-bromophenyl)-2-(4-methoxybenzylidene)hydrazono)-3-(4-methoxyphenyl)-2,3-dihydrothiazole (LQIT/KLT-09)**



**Fórmula Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

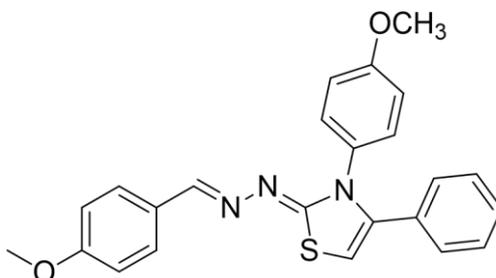
**Massa molecular:** 494,40

**RMN <sup>1</sup>H:** δ ppm: 3,74 (s, 3H, metoxi), 3,78 (s, 3H, metoxi), 6,63 (s, 1H, tiazolínico), 6,91 (d, 2H, J= 9 Hz, fenílico), 6,97 (d, 2H, J= 8,7, fenílico), 7,14 (d, 2H, J= 8,7, fenílico), 7,20 (d, 2H, J= 9 Hz, fenílico), 7,46 (d, 2H, J= 9Hz, fenílico), 7,62 ( d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 8,0 (s, 1H, imínico).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ ppm: 55.2 (CH<sub>3</sub>), 101.6 (Cq), 151.2 (Cq), 169.1 (Cq).

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 1506 (C=N), 1603 e 1572 (C=C), 1240 (O-CH<sub>3</sub>).

**2-((E)-(4-methoxybenzylidene)hydrazono)-3-(4-methoxyphenyl)-4-phenyl-2,3-dihydrothiazole (LQIT/KLT-10)**



**Fórmula Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

**Massa molecular:** 415,51

**RMN <sup>1</sup>H:** δ ppm: 3,73 (s, 3H, metoxi), 3,78 (s, 3H, metoxi), 6,55 (s, 1H, tiazolínico), 6,89 (d, 2H, J= 8,7, fenílico), 6,97 (d, 2H, J= 8,7 fenílico), 7,20 (m, 7H, fenílicos), 7,62 (d, 2H, J= 8,7 Hz, fenílico), 8,09 (s, 1H, imínico).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ ppm: 55.2 (CH<sub>3</sub>), 100.8 (Cq), 151.1 (Cq), 169.4 (Cq).

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 1502 (C=N), 1601 e 1573 (C=C), 1240 (O-CH<sub>3</sub>).

### 5.1.5 Características físico químicas dos derivados tiazólicos

Os compostos sintetizados foram obtidos na forma de pó sólido, em sua maioria de coloração amarelada. As faixas de fusão apresentaram oscilação de 2 a 5 °C, o sistema utilizado para obtenção do fator de retenção foi o Hexano/acetato, e os rendimentos foram satisfatórios, variando entre 37,95 e 95,68%.

**Tabela 4** – Compostos da série tiazol e suas respectivas características físico-químicas.

COMPOSTO	COR	FF (°C)	Sistema Rf	RENDIMENTO (%)
LQIT/KLT-01	Sólido amarelo	261-266	<i>n</i> -Hex/Acoet 6:4	65,15
LQIT/KLT-02	Sólido amarelo	205-209	<i>n</i> -Hex/Acoet 4:6	61,15
LQIT/KLT-03	Sólido amarelo	192-196	<i>n</i> -Hex/Acoet 8:2	62,39
LQIT/KLT-04	Sólido amarelo	158-162	<i>n</i> -Hex/Acoet 8:2	84,15
LQIT/KLT-05	Sólido bege	195-198	<i>n</i> -Hex/Acoet 8:2	67,35
LQIT/KLT-06	Sólido bege	166-170	<i>n</i> -Hex/Acoet 8:2	67,65
LQIT/KLT-07	Sólido amarelo	212-215	<i>n</i> -Hex/Acoet 7:3	72,82
LQIT/KLT-08	Sólido amarelo	175-179	<i>n</i> -Hex/Acoet 7:3	63,84
LQIT/KLT-09	Sólido bege	214-217	<i>n</i> -Hex/Acoet 8:2	95,68
LQIT/KLT-10	Sólido bege	167-169	<i>n</i> -Hex/Acoet 8:2	37,95

F.F. – Faixa de fusão, Rf – Fator de retenção

## 5.2 ESTUDOS DE INTERAÇÃO

### 5.2.1 Estudo de interação com o DNA

A investigação de possíveis modos de ligação entre compostos orgânicos e o DNA são cada vez mais utilizados na pesquisa por novos agentes antitumorais, uma vez que esta biomolécula já é um alvo estabelecido para muitos fármacos antineoplásicos. Desta forma, investigações sobre como ocorrem as interações entre ligantes e o DNA podem ser cruciais para o entendimento de possíveis mecanismos de ação de um protótipo a fármaco (ALI et al., 2017).

#### 5.2.1.1 Espectroscopia de absorção eletrônica

Na espectroscopia de absorção UV-vis foram obtidos resultados da varredura dos compostos livres em concentrações crescentes (5-40  $\mu$ M), onde foi observado que a faixa de absorção dos compostos variou entre 300 a 460 nm. Posteriormente, a concentração de 30  $\mu$ M

dos derivados foi exposta a concentrações crescentes do ssDNA (0-100  $\mu\text{M}$ ) o que permitiu a observação de alterações espectrais no perfil absorptivo dos derivados. Essas mudanças indicam que os derivados testados se ligaram a dupla hélice do DNA, provavelmente afetando o empilhamento dos pares de bases (HASSAN et al., 2019; EL-WAKIL et al., 2019). Os modos de ligação podem ser indicados de acordo com os tipos de mudanças observadas nos espectros. Em nossos estudos, as principais mudanças notadas foram o efeito hipercrômico caracterizado por um aumento da intensidade de absorção, o efeito hipocrômico que se caracteriza pela diminuição da intensidade de absorção e hipsocrômico que representa um desvio do máximo de absorção para a esquerda (ĆOĆIĆ et al., 2018).

Os valores dos comprimentos de onda de máxima absorção dos compostos livres e ligados ao ssDNA, assim como os dados das constantes de ligação ( $K_b$ ), estão descritos na tabela 5.

**Tabela 5** – Dados espectroscópicos de absorção UV-vis dos compostos livres e ligados ao ssDNA.

PROPRIEDADES ABSORTIVAS								
Composto	$\lambda_{\text{max}}$ livre (nm)	$\lambda_{\text{max}}$ ligado (nm)	$\lambda$	Hiper <sup>a</sup>	Hipo <sup>b</sup>	$K_b$ ( $\text{M}^{-1}$ )	$R_1/R_2$	
KLT-01	415	414	1	-	12.52%	$7.82 \times 10^5$	$\text{CH}_3\text{SO}_2/\text{Br}$	
KLT-02	415	414	1	-	8.37%	$1.23 \times 10^5$	$\text{CH}_3\text{SO}_2/\text{H}$	
KLT-03	389	388	1	-	8.06%	$1.0 \times 10^7$	$-\text{CF}_3/\text{Br}$	
KLT-04	431	404	27	12.62%	-	$3.61 \times 10^4$	$-\text{CF}_3/\text{H}$	
KLT-05	375	375	0	30.05%	-	$1.33 \times 10^6$	$-\text{OCF}_3/\text{Br}$	
KLT-06	415	399	16	3.26%	-	$5.70 \times 10^5$	$-\text{OCF}_3/\text{H}$	
KLT-07	420	392	28	63.48%	-	$4.89 \times 10^4$	$(\text{CH}_3)_2\text{N}-$ $/\text{Br}$	
KLT-08	424	419	5	11.30%	-	$1.55 \times 10^4$	$(\text{CH}_3)_2\text{N}-/\text{H}$	
KLT-09	351	352	1	22.85%	-	$1.85 \times 10^5$	$\text{OCH}_3/\text{Br}$	
KLT-10	415	411	4	12.97%	-	$5.60 \times 10^4$	$\text{OCH}_3/\text{H}$	

<sup>a</sup>Hipercromismo resultante da formação de complexo entre 30  $\mu\text{M}$  dos derivados LQIT/KLTs e 100  $\mu\text{M}$  de ssDNA em comparação com os ligantes livres.

<sup>b</sup>Hipocromismo resultante da formação de complexo entre 30  $\mu\text{M}$  dos derivados LqIT/KLTs e 100  $\mu\text{M}$  de ssDNA em comparação com os ligantes livres.

As diferenças encontradas nos dados dos resultados após adição de DNA aos derivados sintetizados confirmam a formação de complexo (KLT-DNA), essas mudanças podem ser atribuídas aos vários substituintes presentes nas extremidades das moléculas, que podem afetar os efeitos cinéticos e termodinâmicos de ligação ao DNA (LAFAYETTE et al., 2013), conforme dados da tabela 5.

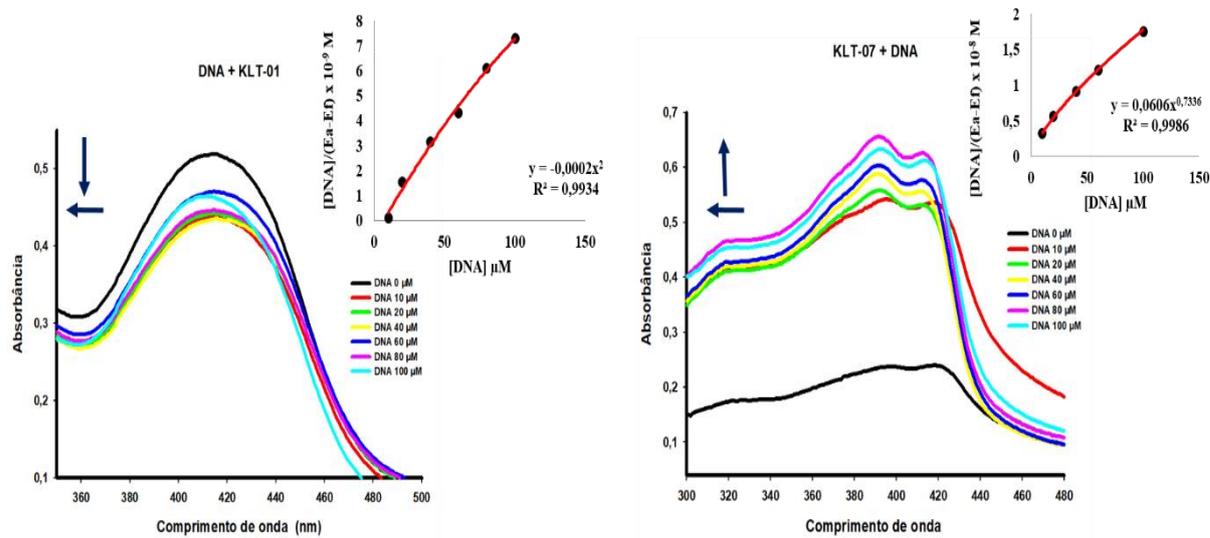
Três compostos apresentaram o efeito hipocrômico, além de um sucinto desvio para o azul ( $\Delta\lambda=1$ ), foram eles o KLT-01, KLT-02 e KLT-03. Esse efeito é resultante de contração e de alterações conformacionais no eixo da hélice do DNA (ALI et al., 2014). A mudança hipocrômica geralmente caracteriza a ligação por intercalação aos pares de bases do DNA, o que ocasiona a diminuição da intensidade de absorção observada (MANIKANDAMATHAVAN et al., 2017; TOPALA et al., 2020). A intercalação é decorrente da diminuição da energia de transição  $\pi - \pi^*$ , que ocorre quando o orbital  $\pi^*$  do ligante se acopla ao orbital  $\pi$  dos pares de base do DNA (CORREIA et al., 2015).

A maior porcentagem de hipocromicidade foi encontrada para o KLT-01 com 12,52 %. A presença do substituinte metilsulfonil ( $\text{CH}_3\text{SO}_2$ ) na posição  $\text{R}_1$  da molécula e do *p*-bromo (Br) na posição  $\text{R}_2$ , podem ter contribuído para esse resultado. Além disso, a presença de anéis aromáticos na estrutura dos compostos geralmente resulta no modo intercalativo de ligação, causado por interações de empilhamento entre os anéis aromáticos do composto e os pares de bases do DNA (ALI et al., 2014).

Já para os demais derivados KLT-04 ao KLT-10, foram observados o efeito hiperacrômico e desvios mais acentuados para a região do azul ( $\Delta\lambda=1-28$  nm), o aumento da intensidade do máximo de absorção indica possíveis quebras na estrutura secundária do DNA, que pode ser um indicativo de um possível modo de ligação ao sulco do DNA ou atrações eletrostáticas (BALTAZAR et al., 2018; LAFAYETTE, et al., 2017; GHOSH et al., 2017; LAFAYETTE, et al., 2013).

O hiperacromismo mais acentuado foi observado para o KLT-07, que apresenta na substituição em  $\text{R}_1$  do anel aromático o grupamento dimetilamina ( $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ ) e em  $\text{R}_2$  o grupamento bromo (Br). Provavelmente a atividade deste derivado está relacionada à substituição em  $\text{R}_1$ , uma vez que o KLT-01, também apresenta o grupamento bromo, porém, ocasionando um efeito de interação oposto ao que ocorre com o KLT-7. As imagens dos espectros UV-Vis do KLT-01 e KLT-07 podem ser observados na figura 17.

**Figura 17** – Espectros de absorção do LQIT/KLT-01 e do LQIT/KLT-07 na presença de concentrações crescentes de ctDNA. [DNA] = 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100  $\mu\text{M}$ . As setas ( $\downarrow$ ), ( $\uparrow$ ), ( $\leftarrow$ ) e são referentes aos efeitos hipocrômico, hipercrômico e hipsocrômico, respectivamente. Inserção: correspondente ao gráfico de  $[\text{DNA}]/(\text{E}_a - \text{E}_f)$  em função da concentração de DNA, conforme determinado a partir dos dados espectrais.

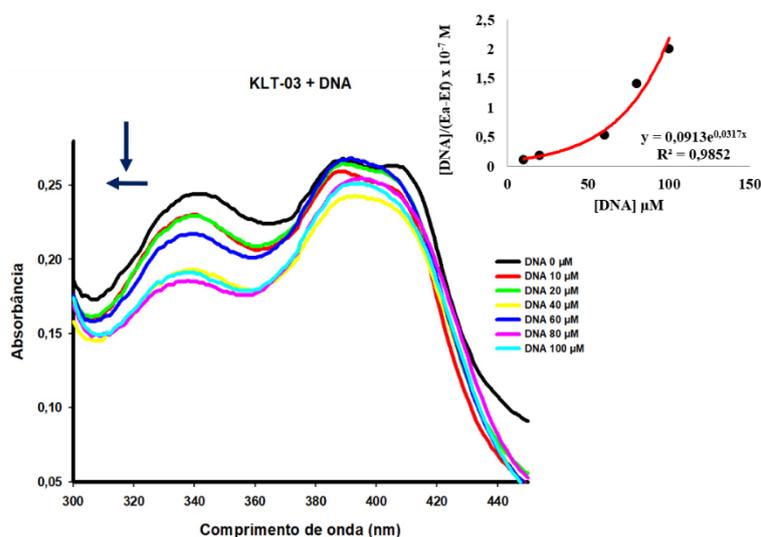


As constantes de ligação intrínseca ( $K_b$ ) também foram determinadas, elas indicam de forma quantitativa a afinidade de ligação entre o composto e o DNA (TOPALA et al., 2020). Os valores das constantes foram obtidos por meio da equação de McGhee e von Hippel (1974), por meio dos dados dos espectros de absorção. As constantes de ligação dos derivados sintetizados variaram entre  $10^4$  e  $10^7$ . O maior valor da constante relatado foi para o KLT-03, seguidos dos KLT-S'  $05 > 01 > 06 > 09 > 02 > 10 > 07 > 04 > 08$ . Quanto maior a constante de ligação, maior a afinidade do ligante com a biomolécula, neste caso o KLT-03 ganha destaque, uma vez que possui  $K_b = 1.0 \times 10^7$ , vale ressaltar que esse composto apresentou efeito hipocrômico no espectro de absorção na presença do ssDNA (figura 18).

O KLT-03 apresenta como principal diferencial a presença do substituinte *p*-trifluorometil ( $-\text{CF}_3$ ) na posição  $R_1$  em um dos anéis aromáticos da extremidade da molécula, e a presença de um substituinte *p*-bromo ( $-\text{Br}$ ) na porção  $R_2$  de outro anel aromático da estrutura. Provavelmente a presença do grupamento bromo contribuiu para essa maior afinidade de ligação observada para o KLT-03, uma vez que o seu análogo estrutural o KLT-04 se diferencia pela ausência de substituição na posição  $R_2$  (H) do anel aromático, exibindo uma constante de ligação na magnitude de  $3,61 \times 10^4$ , bastante inferior. Em outros estudos, a presença de halogênios também contribuiu para maiores valores de força de ligação, como no estudo de ALI

et al., (2017) por exemplo, onde a presença de grupamentos halogênicos em derivados de oxopirrolidina contribuíram para valores de constantes de ligação mais altos.

**Figura 18** – Espectros de absorção do LQIT/KLT-03 na presença de concentrações crescentes de ctDNA. [DNA] = 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100  $\mu\text{M}$ . As setas ( $\downarrow$ ), ( $\leftarrow$ ) são referentes aos efeitos hipocrômico, e hipsocrômico. Inserção: correspondente ao gráfico de  $[\text{DNA}]/(E_a - E_f)$  em função da concentração de DNA, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



O KLT-01 já mencionado anteriormente, com o maior valor de hipocromicidade, também apresentou um valor de  $K_b$  significativo, na magnitude de  $7,82 \times 10^5$ , o terceiro maior valor de força de ligação encontrado para os derivados. Esses valores podem ser justificados pela presença dos substituintes deste composto, na posição  $R_1$  há a presença do grupamento metilsulfonil, e na posição  $R_2$  o grupamento bromo. Mais uma vez o *p*-bromo é fundamental na justificativa do valor de  $K_b$  encontrado, uma vez que o KLT-02 que se diferencia do KLT-01 apenas pela ausência do grupamento bromo, possui um valor de  $K_b$  menor, na magnitude de  $1.23 \times 10^5$ . Além disso, a presença do grupamento metilsulfonil provavelmente corroborou para esse resultado, por causa da contribuição do efeito eletrônico que induz no anel aromático, como o efeito indutivo/mesomérico negativo.

É importante ressaltar que os três compostos com maiores valores de constante de ligação (KLT'S 03, 05, 01), bem como os compostos que apresentaram maior porcentagem de hipocromismo e hipercromismo, KLT-S' 01 e 07 respectivamente, contém o mesmo substituinte na posição  $R_2$  (*para*-bromo). A presença desse substituinte aumenta as propriedades lipofílicas dessas moléculas, e essa característica afetou de forma positiva a atividade de interação com o

DNA. Além disso a presença do átomo de Br, leva a um dipolo levemente alterado do ligante, influenciando as interações dipolo-dipolo no local de ligação (ALMEIDA et al., 2015).

#### 5.2.1.2 Espectroscopia de emissão de fluorescência

Os resultados iniciais da varredura fluorescente em concentrações crescentes dos derivados tiazólicos livres permitiu conhecer suas propriedades emissivas com identificação de emissão de fluorescência em comprimentos de onda que variaram na faixa de 400 a 650 nm. Em seguida, foram analisadas as capacidades de ligação dos compostos com o ssDNA com os compostos em uma concentração fixa de 10  $\mu\text{M}$  e expostos a concentrações crescentes do ssDNA (0-100  $\mu\text{M}$ ) constatando que não houve mudança da faixa de emissão de fluorescência após interação. A análise quantitativa da extinção de fluorescência foi realizada utilizando o gráfico da intensidade relativa da fluorescência versus a concentração de ssDNA, a obtenção da constante de supressão de fluorescência ( $K_{sv}$ ) foi realizada por meio da equação de Stern-Volmer. Os dados espectroscópicos de emissão de fluorescência dos derivados LQIT/KLT, estão descritos na tabela 6.

**Tabela 6** - Dados espectroscópicos de emissão dos derivados LQIT/KLTs na presença e ausência do ssDNA.

PROPRIEDADES EMISSIVAS								
KLT'S	Bandas exc_emi (nm)	$\lambda_{\max}$ livre (nm)	$\lambda_{\max}$ ligado (nm)	$\Delta\lambda$	Hiper <sup>a</sup>	Hipo <sup>b</sup>	Ksv (M <sup>-1</sup> )	R1/R2
KLT-01	5_5	511	514	3	7.11%	-	-	CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> /Br
KLT-02	5_5	505	503	2	28.80%	-	-	CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> /H
KLT-03	5_5	458	471	13	13.01 %	-	-	-CF <sub>3</sub> /Br
KLT-04	5_5	471	473	2	20.80 %	-	-	-CF <sub>3</sub> /H
KLT-05	5_5	453	465	12	15.42 %	-	-	-OCF <sub>3</sub> /Br
KLT-06	5_5	458	424	34	-	88.24 %	1.01 x 10 <sup>4</sup>	-OCF <sub>3</sub> /H
KLT-07	5_10	455	433	22	-	49.46 %	0.54 x 10 <sup>4</sup>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N/Br
KLT-08	5_5	453	438	15	-	37.69 %	0.3 x 10 <sup>4</sup>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N-/H
KLT-09	5_5	444	429	15	38.53 %	-	-	OCH <sub>3</sub> /Br
KLT-10	5_10	443	429	14	25.01 %	-	-	OCH <sub>3</sub> /H

<sup>a</sup>Hipercromismo resultante da formação de complexo entre 10  $\mu$ M dos derivados LQIT/KLTs e 100  $\mu$ M de ssDNA em comparação com os ligantes livres.

<sup>b</sup>Hipocromismo resultante da formação de complexo entre 10  $\mu$ M dos derivados LqIT/KLTs e 100  $\mu$ M de ssDNA em comparação com os ligantes livres.

Inicialmente, é possível observar que a adição de concentrações crescentes de DNA aos derivados tiazólicos causou mudanças acentuadas nos seus espectros de emissão de fluorescência. Os efeitos encontrados em nossos testes foram: diferenças nas faixas de emissão com desvios para o vermelho ou azul (efeito batocrômico e hipsocrômico) e mudanças do pico máximo de emissão de fluorescência para cima e para baixo (hipercrômico e hipocrômico). De forma geral, três compostos sofreram o efeito hipocrômico, em ordem decrescente foram eles: KLT-06 > KLT-07 > KLT-08, da mesma forma esses mesmos compostos também sofreram desvio do pico máximo para a região do azul, variando entre ( $\Delta\lambda=15$  e 34 nm).

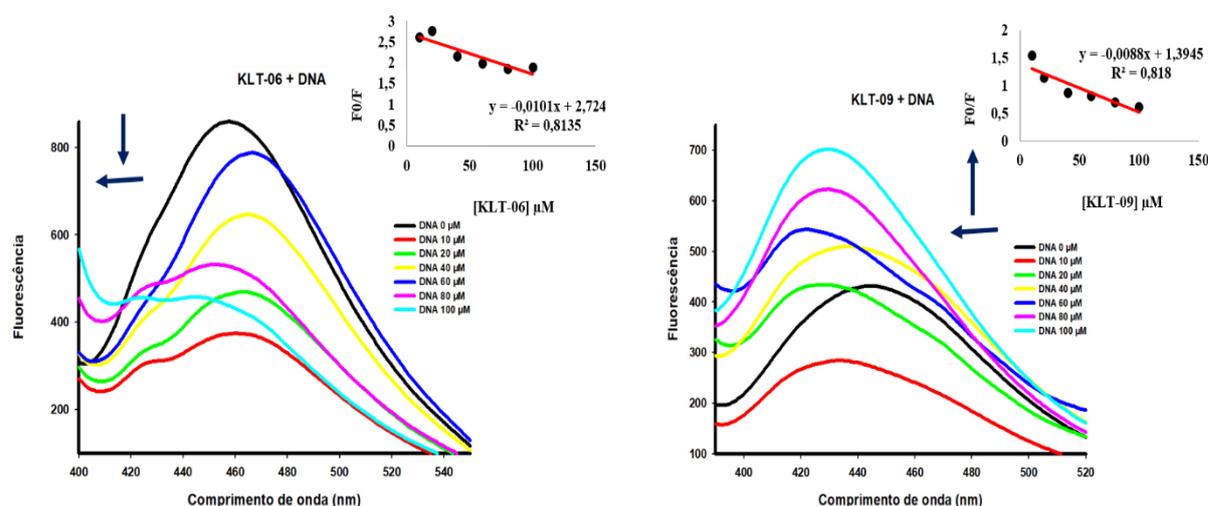
Entre todos os derivados tiazólicos analisados, para sete deles prevaleceu o efeito hipercrômico após adição do DNA. Em ordem decrescente os compostos que tiveram maior efeito hipercrômico foram os KLT'S: 09 > 02 > 10 > 04 > 05 > 03 > 01 >. Provavelmente esse efeito pode estar relacionado à uma redução da flexibilidade conformacional do derivado no complexo DNA-ligante. A presença de pares de elétrons livres nas porções R1 e R2 da maioria desses compostos, influenciam o efeito hipercrômico (RIBEIRO et al., 2019). Para esses

compostos também foram observados desvios para a região do azul e do vermelho, que variaram na faixa de ( $\Delta\lambda=2-15$  nm).

De acordo com a tabela 6 no quesito efeitos espectroscópicos mais acentuados, o composto que apresentou a maior mudança em relação ao efeito hipocrômico foi o KLT-06 (88.24 %), com o desvio para a região do azul mais acentuado ( $\Delta\lambda=34$ ) também para este derivado. O KLT-06 apresenta o mesmo esqueleto central que os demais da série, porém com mudanças nas porções distais, onde na posição R<sub>1</sub> encontra-se a substituição pelo grupamento *p*-trifluorometoxi e a posição R<sub>2</sub> não apresenta substituição. Em contrapartida, o derivado com maior efeito hiperocrômico foi o KLT-09 (38.53%), que também apresentou desvio para a região do azul ( $\Delta\lambda=15$ ), o mesmo se diferencia do KLT-06 pelos substituintes nas porções R1 e R2, no qual se encontram os grupamentos *p*-metoxi e *p*-bromo, respectivamente. A presença desses grupamentos provavelmente influenciou nos efeitos distintos observados.

Ambos os efeitos indicam a formação de complexo entre o DNA e os derivados analisados. O efeito hiperocrômico pode ser decorrente da supressão da flexibilidade conformacional do derivado, no complexo DNA-ligante (RIBEIRO et al., 2019; ALMEIDA et al., 2015). Vale salientar, contudo, que o efeito hipocrômico pode estar relacionado a ocorrência de ligação ao sulco, ou a ocorrência de atração eletrostática, ligações de hidrogênio ou interações hidrofóbicas. Os efeitos descritos para o KLT-06 e o KLT-09 podem ser observados na figura 19.

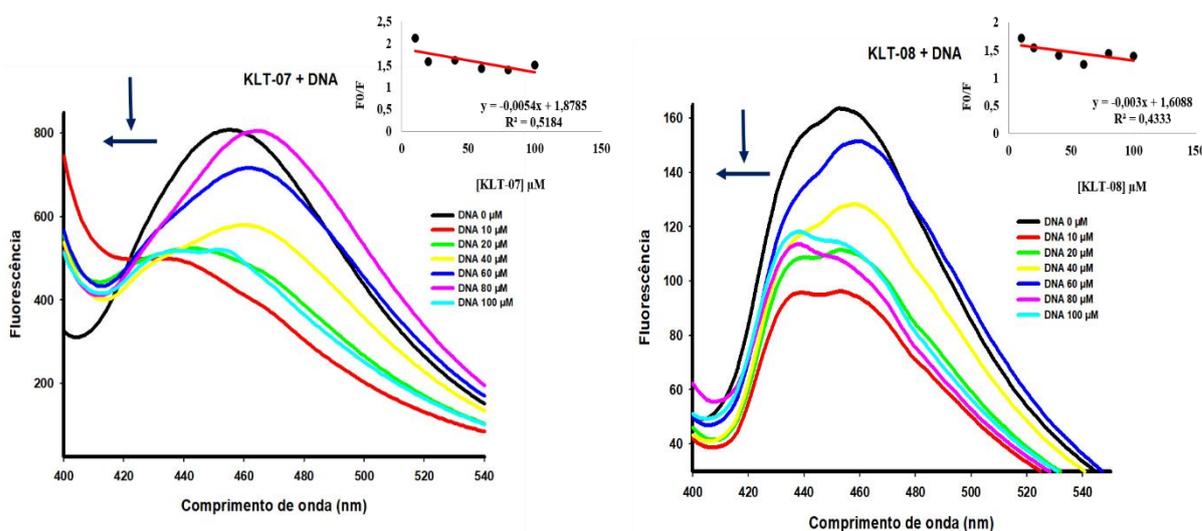
**Figura 19** – Espectros de fluorescência do LQIT/KLT-06 e 09 na presença de concentrações crescentes de ctDNA. [DNA] = 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100  $\mu$ M. As setas ( $\uparrow$ ), ( $\downarrow$ ), ( $\leftarrow$ ) e são referentes aos efeitos hiperocrômico, hipocrômico e hipsocrômico. Inserção: Gráfico da Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa (F<sub>0</sub>/F) em função da concentração do derivado, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



As constantes de supressão fluorescente  $K_{sv}$  foram calculadas para todos os derivados que sofreram redução do pico máximo de emissão de fluorescência após adição de concentrações crescentes do DNA. Os derivados que apresentaram esse efeito foram em ordem decrescente de força: KLT-06 ( $1.01 \times 10^4$ ) > KLT-07 ( $0.54 \times 10^4$ ) > KLT-08 ( $0.3 \times 10^4$ ). O gráfico do KLT-06 pode ser visualizado na figura 19 já mencionado, e os gráficos do KLT-07 e KLT-08 podem ser vistos na figura 20.

Os derivados KLT'S 07 e 08 são análogos estruturais, eles apresentam a mesma substituição na posição R1, pelo grupamento *p*-dimetilamina, e na posição R2 a presença do radical *p*-bromo para o KLT-07 e a ausência de substituição na mesma posição para o KLT-08. A presença desses substituintes pode ter corroborado para o efeito hipocrômico observado, bem como para os valores de  $K_{sv}$  obtidos. Portanto, pode-se sugerir que os efeitos eletrônicos mesoméricos doadores causados pelos substituintes contribuíram de forma positiva para os efeitos observados. Os efeitos para esses compostos podem ser observados na figura 20.

**Figura 20** – Espectros de fluorescência do LQIT/KLT-07 e 08 na presença de concentrações crescentes de ssDNA. [DNA] = 0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100  $\mu\text{M}$ . As setas ( $\downarrow$ ), ( $\leftarrow$ ) são referentes aos efeitos hipocrômico, e hipsocrômico. Inserção: Gráfico da Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do derivado, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



Já o KLT-06 (espectro ilustrado na figura 19) possui na posição R1 a presença do substituinte *p*-trifluorometoxi e a posição R2 é ausente de substituição. Os efeitos eletrônicos

induzidos pelo trifluorometoxi no anel aromático em que está diretamente ligado, são indutivos retirador e mesomérico retirador, portanto não existe relação entre os efeitos eletrônicos que envolvem o KLT-06, 07 e 08. Porém, comparando esse resultado ao encontrado para as constantes de ligação ( $K_b$ ) na espectroscopia de absorção, o KLT-05, análogo estrutural do KLT-06, apresentou o segundo maior valor de constante ( $1.33 \times 10^6$ ), ou seja, podemos presumir que a presença do trifluorometoxi é importante na interação com o DNA.

### **5.2.2 Estudo de interação com a BSA**

As albuminas séricas são as proteínas mais abundantes do sistema circulatório. Podemos compreender o mecanismo de transporte de fármacos no organismo por meio de estudos de interação entre compostos químicos e proteínas (BOSE, 2016). Por causa de sua vasta gama de funções no organismo as proteínas também têm sido alvo biológico bastante estudados na terapia anticancerígena (KARAMI et al., 2018). Neste estudo, realizamos a investigação da capacidade de formação de complexo entre os derivados tiazólicos sintetizados e a BSA para compreender se a ligação dos compostos a esta biomolécula pode contribuir para as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos compostos.

#### **5.2.2.1 Espectroscopia de absorção eletrônica**

Para a análise de interação dos derivados tiazólicos com a BSA, a proteína foi fixada em uma concentração de 20  $\mu\text{M}$ , e exposta a concentrações crescentes dos compostos (5-40  $\mu\text{M}$ ). A partir dos resultados encontrados foi constatada mudança no perfil absorptivo da BSA, sendo observado o efeito hipercrômico por todos os derivados testados. Os dados espectroscópicos das mudanças no padrão absorptivo da BSA ligada e livre, bem como os valores de  $K_b$ , referentes a afinidade de ligação entre os derivados e a BSA, estão descritos na tabela 7.

**Tabela 7** - Dados espectroscópicos de absorção UV-vis dos compostos livres e ligados a BSA.

PROPRIEDADES ABSORTIVAS							
Composto	$\lambda_{\text{max}}$ livre (nm)	$\lambda_{\text{max}}$ ligado (nm)	$\Delta\lambda$	Hiper <sup>a</sup>	Hipo <sup>b</sup>	Kb(M <sup>-1</sup> )	R <sub>1</sub> /R <sub>2</sub>
KLT-01	278	277	1	61.0%	-	1.34 x 10 <sup>5</sup>	CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> /Br
KLT-02	278	278	0	47.32%	-	1.26 x 10 <sup>5</sup>	CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> /H
KLT-03	278	278	0	35.36%	-	9.70 x 10 <sup>4</sup>	-CF <sub>3</sub> /Br
KLT-04	278	278	0	40.19%	-	1.10 x 10 <sup>5</sup>	-CF <sub>3</sub> /H
KLT-05	278	278	0	53.69%	-	1.31 x 10 <sup>5</sup>	-OCF <sub>3</sub> /Br
KLT-06	279	278	1	27.32%	-	9.77 x 10 <sup>4</sup>	-OCF <sub>3</sub> /H
KLT-07	279	278	1	40.93%	-	1.16 x 10 <sup>5</sup>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N-/Br
KLT-08	279	278	1	22.65%	-	9.92 x 10 <sup>4</sup>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N-/H
KLT-09	279	278	1	40.16%	-	1.09 x 10 <sup>5</sup>	OCH <sub>3</sub> /Br
KLT-10	279	278	1	63.49%	-	1.49 x 10 <sup>5</sup>	OCH <sub>3</sub> /H

<sup>a</sup>Hipercromismo resultante da formação de complexo entre a BSA e 40  $\mu$ M dos derivados LQIT/KLTs em comparação com a albumina livre.

<sup>b</sup>Hipocromismo resultante da formação de complexo entre a BSA e 40  $\mu$ M dos derivados LQIT/KLTs em comparação com a albumina livre.

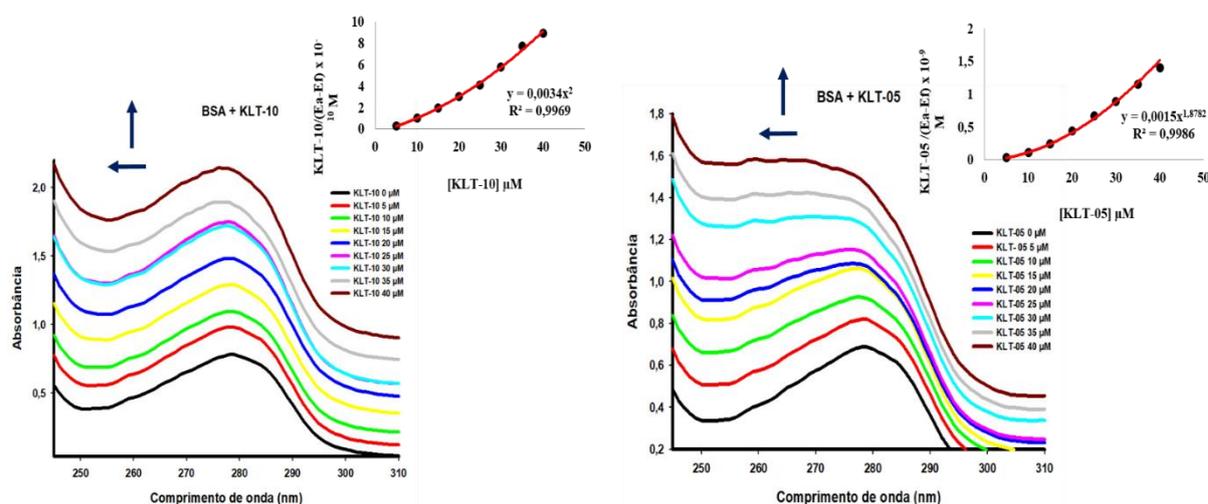
Em estudos espectroscópicos de UV-vis com a BSA, podemos observar a presença de um pico máximo de absorção na região de 280 nm (ZAREI et al., 2020). Este pico absorptivo é atribuído a presença dos aminoácidos aromáticos presentes em sua estrutura, são eles triptofano (Trp), tirosina (Tyr) e fenilalanina (Phe) (KARAMI et al., 2018, ADAM et al., 2014). Em nosso estudo, o pico máximo absorptivo da BSA foi observado nos comprimentos de onda de 278 e 279 nm, região similar à encontrada em outros estudos.

Após adição de diferentes concentrações dos derivados tiazólicos à BSA, foi constatado um aumento do pico máximo de absorção da BSA (efeito hipercrômico) bastante significativo para os dez derivados testados. Um leve desvio para o azul (efeito hipsocrômico) foi observado para os derivados KLT-S' 01, 06, 07, 08, 09, e 10. As mudanças observadas nos espectros da BSA indicam que houve a formação de complexo entre os derivados tiazóis e a proteína (RIBEIRO et al., 2019; FILHO et al., 2019).

Podemos observar em ordem decrescente os compostos que apresentaram as maiores porcentagens de hipercromismo: KLT-10 > KLT-01 > KLT-05 > KLT-02 > KLT-07 > KLT-04 > KLT-09 > KLT-03 > KLT-06 > KLT-8. Também foram determinadas as constantes de ligação ( $K_b$ ) para a interação entre os compostos e a BSA, os valores variaram na magnitude de  $9.70 \times 10^4$  e  $1.49 \times 10^5$  o que indica a ocorrência de uma forte ligação entre os derivados e a biomolécula. Em ordem decrescente os compostos que apresentaram as maiores constantes de ligação foram: KLT-10 > KLT-01 > KLT-05 > KLT-02 > KLT-07 > KLT-04 > KLT-09 > KLT-08 > KLT-06 > KLT-03.

Podemos observar que as porcentagens de hipercromismo e as constantes de ligação corroboram entre si, à medida que os melhores resultados se repetem nas duas análises. Portanto, escolhemos os três melhores resultados para realizar uma análise mais detalhada sobre a contribuição dos grupos funcionais presentes nas estruturas dos compostos para esse resultado, o gráfico desses compostos pode ser visualizado na figura abaixo.

**Figura 21** – Espectros de absorção dos LQIT/KLT-10 e LQIT/KLT-05 na presença de concentrações crescentes de BSA. [BSA] = 20  $\mu\text{M}$ . As setas ( $\uparrow$ ), ( $\leftarrow$ ) são referentes aos efeitos hipercrômico, e hipsocrômico. Inserção: correspondente ao gráfico de [LQIT/KLT]/(Ea - Ef) em função da concentração do derivado, conforme determinado a partir dos dados espectrais



O KLT-10 promoveu o maior grau de hipercromicidade com 63,49 %, e a constante de ligação no valor de  $1,49 \times 10^5$ . Pode-se inferir que a presença do substituinte *para*-metoxi-fenil na posição R<sub>1</sub> e a não substituição no anel aromático ligado a posição 4 do tiazol contribuíram para essa melhor atividade, vale ressaltar que as substituições presentes nesta molécula

conferem a ela a característica de ser menos lipofílica em comparação as demais substituições dos tiazóis em questão.

O KLT-01 apresentou o segundo melhor resultado, com porcentagem de hipercromismo no valor de 61 % e o valor de  $K_b$  na magnitude de  $1,34 \times 10^5$ . Esse derivado possui em sua estrutura a presença do grupamento metilsulfonil na posição  $R_1$ , e na posição  $R_2$  o grupamento bromo. Esses grupamentos também conferem a essa molécula a característica de ser menos lipofílica em comparação aos demais compostos.

Já o KLT-05, terceiro melhor resultado, ocasionou 56,69 % de hipercromismo e apresenta um valor de  $K_b$  na magnitude de  $1,35 \times 10^5$ . Este dispõe do grupamento trifluorometoxi na posição  $R_1$  de sua estrutura e o grupamento bromo na posição  $R_2$ . O trifluorometoxi é o grupo funcional com característica mais lipofílica entre os 10 derivados, portanto sua atividade pode estar relacionada a essa característica físico química.

A hipótese levantada para justificar os efeitos hipercrômicos observados para todos os dez derivados é de que, embora os grupos funcionais tenham características físico-químicas diferentes, os compostos se ligaram de modo efetivo a BSA, porém em sítios de ligação distintos. Provavelmente os compostos com características lipofílicas tiveram como sítios preferenciais os sulcos hidrofóbicos da proteína formando complexos com os resíduos de triptofano, e contribuindo para o aumento do pico de absorção. Já as moléculas com características menos lipofílicas, possivelmente formaram complexo com a BSA em outros sítios de ligação, o que mudou a conformação da BSA e expôs os bolsões hidrofóbicos favorecendo o aumento do pico de absorção. Testes futuros para análises estruturais da BSA, como o dicroísmo circular e estudos *in silico* permitirão a confirmação da hipótese aventada.

De forma geral, as mudanças observadas no pico máximo de absorção da BSA ao adicionar quantidades crescentes dos compostos podem indicar que os derivados tiazóis afetam de forma mais significativa a  $\alpha$ -hélice da estrutura da proteína, alterando o microambiente dos aminoácidos aromáticos (PROTAS et al., 2018). Desta forma, quando os compostos formam complexos com a BSA no seu estado fundamental, se caracteriza a ocorrência de um mecanismo de ligação estático, o que justifica as mudanças observadas nos espectros de absorção (ZAREI et al., 2020).

#### 5.2.2.2 Espectroscopia de emissão de fluorescência

A capacidade de ligação entre compostos orgânicos e a BSA pode ser investigada por meio da espectroscopia de fluorescência, devido as características estruturais dessa proteína.

As propriedades de fluorescência da BSA estão relacionadas a presença dos resíduos de aminoácidos, triptofano, fenilalanina e tirosina (TOPALA et al., 2020; KARAMI et al., 2018). Nesta etapa, a BSA foi excitada no comprimento de onda de 280 nm em concentração fixa de 20  $\mu\text{M}$ , em seguida foi exposta a concentrações crescentes dos derivados tiazólicos (0-40  $\mu\text{M}$ ). Foram observadas mudanças na intensidade e na posição do pico máximo de fluorescência da BSA, indicadas pelos efeitos hipocrômicos e hipsocrômicos. A extinção da fluorescência foi analisada pelo diagrama linear de Stern-Volmer, e foi determinada usando a equação de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ). As mudanças no perfil fluorescente da BSA e os valores de  $K_{sv}$  referentes a força de ligação dos complexos podem ser observadas na tabela 8.

**Tabela 8** - Dados espectroscópicos de emissão de fluorescência da BSA livre e ligada aos derivados tiazólicos.

PROPRIEDADES EMISSIVAS								
Composto	Bandas Exc_Emi (nm)	$\lambda_{\text{max}}$ livre (nm)	$\lambda_{\text{max}}$ ligado (nm)	$\Delta\lambda$	Hiper <sup>a</sup>	Hipo <sup>b</sup>	$K_{sv}$ ( $\text{M}^{-1}$ )	$R_1/R_2$
KLT-01	2.5_2.5	343	343	0	-	129.12%	$4.07 \times 10^4$	$\text{CH}_3\text{SO}_2/\text{Br}$
KLT-02	2.5_2.5	343	342	1	-	79.45%	$2.47 \times 10^4$	$\text{CH}_3\text{SO}_2/\text{H}$
KLT-03	2.5_2.5	343	343	0	-	14.80%	$0.88 \times 10^4$	$-\text{CF}_3/\text{Br}$
KLT-04	2.5_2.5	343	343	0	-	43.22%	$1.97 \times 10^4$	$-\text{CF}_3/\text{H}$
KLT-05	2.5_2.5	343	343	0	-	78.82%	$2.85 \times 10^4$	$-\text{OCF}_3/\text{Br}$
KLT-06	2.5_2.5	344	343	1	-	217.04%	$4.1 \times 10^4$	$-\text{OCF}_3/\text{H}$
KLT-07	2.5_2.5	344	343	1	-	182.34%	$5.4 \times 10^4$	$(\text{CH}_3)_2\text{N}-$ $/\text{Br}$
KLT-08	2.5_2.5	344	343	1	-	68.12%	$1.5 \times 10^4$	$(\text{CH}_3)_2\text{N}-/\text{H}$
KLT-09	2.5_2.5	344	343	1	-	121.78%	$3.24 \times 10^4$	$\text{OCH}_3/\text{Br}$
KLT-10	2.5_2.5	344	341	3	-	452.13%	$11.34 \times 10^4$	$\text{OCH}_3/\text{H}$

<sup>a</sup>Hipercromismo resultante da formação de complexo entre a BSA e 40  $\mu\text{M}$  dos derivados LQIT/KLTs em comparação com a albumina livre.

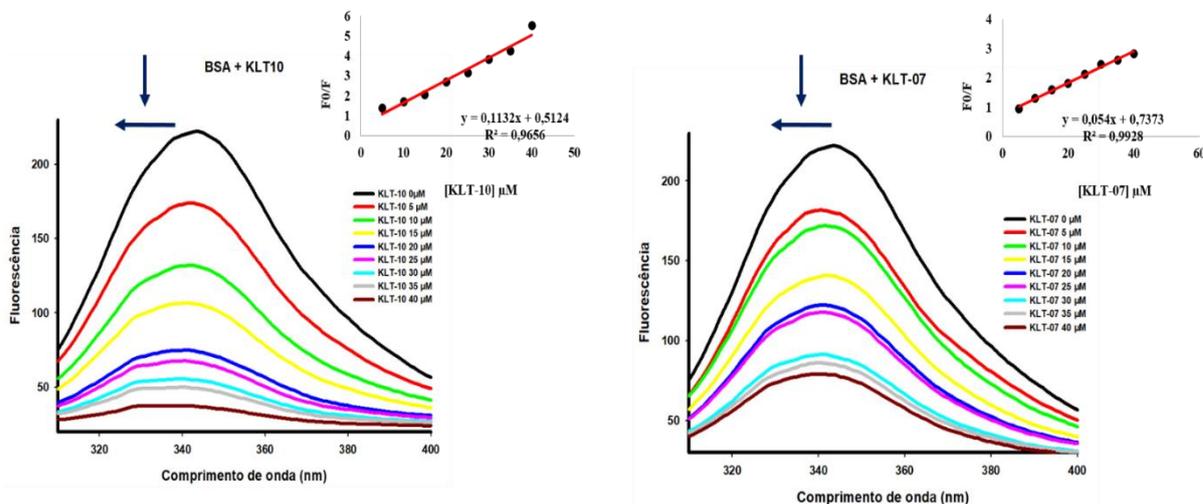
<sup>b</sup>Hipocromismo resultante da formação de complexo entre a BSA e 40  $\mu\text{M}$  dos derivados LQIT/KLTs em comparação com a albumina livre.

O comprimento de onda de maior emissão de fluorescência da BSA foi identificado entre 341 e 344 nm, esse padrão de emissão foi atribuído ao aminoácido triptofano (AMITHA; VASUDEVAN., 2020). Após adição de concentrações crescentes dos compostos, foi observada uma diminuição da emissão de fluorescência para todos os derivados tiazólicos e para alguns compostos também foi observada a ocorrência de um desvio para a região do azul (efeito hipsocrômico). A ocorrência dessas mudanças nos espectros de fluorescência da BSA confirma a interação entre os tiazóis e a proteína, provavelmente decorrente de mudanças em sua estrutura e consequente mudanças no ambiente dos resíduos de triptofano (KARAMI et al., 2018).

Os compostos que apresentaram maior porcentagem de hipocromismo serão descritos em ordem decrescente de efeito, a seguir: KLT-10 > KLT-06 > KLT-07 > KLT-01 > KLT-09 > KLT-02 > KLT-05 > KLT-08 > KLT-04 > KLT-03. Para as constantes de supressão fluorescente ( $K_{sv}$ ) os resultados também serão descritos em ordem decrescente: KLT-10 > KLT-07 > KLT-06 > KLT-01 > KLT-09 > KLT-05 > KLT-02 > KLT-04 > KLT-08 > KLT-03. O composto que apresentou maior variação de efeito hipsocrômico foi o KLT-10 ( $\Delta\lambda = 03$  nm), para os KLT'S 02, 06, 07, 08, 09, esse efeito foi menor ( $\Delta\lambda = 01$  nm).

Podemos observar que para a maioria dos compostos testados, os valores de porcentagem de hipocromismo e de  $K_{sv}$  se equivalem, porém, alguns compostos sofreram algumas diferenças na ordem de posição. Todavia, podemos confirmar que, de forma geral, os melhores resultados foram observados para os KLT'S 10, 07, 06. As imagens relativas aos gráficos de emissão de fluorescência da BSA em exposição a concentrações crescentes dos derivados KLT-10 e KLT- 07 podem ser observados na figura 22.

**Figura 22** – Espectros de supressão fluorescente da BSA (20  $\mu\text{M}$ ) na ausência e na presença dos derivados LQIT/KLT-10 e 07. As setas ( $\downarrow$ ) e ( $\leftarrow$ ) indicam os efeitos hipocrômico e hipsocrômico respectivamente. Inserido: Gráfico da Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do derivado ( $Q$ ), conforme determinado a partir dos dados espectrais.



Mais uma vez, o derivado tiazólico KLT-10 foi o melhor composto da série no que diz respeito a interação com a proteína BSA. Este derivado apresentou hipocromicidade de 452,13%, o valor de  $K_{sv}$  foi encontrado na magnitude de  $11.34 \times 10^4$ , e o efeito hipsocrômico foi o mais acentuado ( $\Delta\lambda = 03 \text{ nm}$ ). Este resultado pode ser atribuído aos efeitos eletrônicos e de lipofilicidade devido a presença do substituinte *p*-metoxifenil no anel aromático. Este grupo funcional ( $\text{OCH}_3$ ) e a não substituição na posição R2 da molécula (H) contribuem para um caráter menos lipofílico em comparação aos substituintes dos demais derivados, além disso induzem efeitos eletrônicos indutivos doadores, ou seja, promovem uma maior contribuição eletrônica no anel, o que desencadeou maior interação com a BSA.

O KLT-07 também promoveu mudanças mais significativas na diminuição da intensidade de fluorescência em relação aos demais derivados. O hipocromismo para este derivado foi de 182,34%, o valor de  $K_{sv}$  foi de  $5.4 \times 10^4$ , e o efeito hipsocrômico foi de ( $\Delta\lambda = 1 \text{ nm}$ ). Este derivado possui em sua estrutura a presença do grupamento dimetilamina na posição *para* do anel aromático, já sua segunda substituição é pelo grupamento bromo (R2), também na posição *para* do anel aromático. Esses grupos possuem características semelhantes ao KLT-10, quando se trata da lipofilicidade e das contribuições dos efeitos eletrônicos que os substituintes causam à molécula. O grupamento dimetilamino é menos lipofílico em relação aos demais substituintes inclusive ao metoxi, presente no KLT-10, mas que por sua vez possui um

grupamento bromo, que causa aumento da lipofilia. Além disso, tanto o bromo quanto o dimetilamino também promovem efeitos indutivos doadores na molécula.

A extinção da fluorescência observada para todos os compostos está dentro da faixa considerada ótima:  $10^4 - 10^6 \text{ M}^{-1}$  (PROTAS et al., 2018). Os resultados sugerem a formação de complexos entre os derivados e a BSA que causam modificações no microambiente onde se situa os resíduos de triptofano, os quais são responsáveis pela emissão de fluorescência. Essa diminuição pode estar atrelada a uma ligação mais precisa a estrutura terciária dessa proteína, que conseqüentemente levou a mudanças no ambiente hidrofóbico em questão (RIBEIRO et al., 2019; FILHO et al., 2019).

As mudanças observadas nos gráficos das espectroscopias de absorção e de emissão de fluorescência corroboram para a ocorrência da formação de complexos entre os derivados tiazóis e BSA, por meio do mecanismo de ligação estático. Estes resultados indicam que os compostos se ligam a proteína e causam modificações em sua estrutura à medida que concentrações crescentes dos compostos foram adicionados, levando ao surgimento das mudanças nos espectros e dos valores descritos de  $K_{sv}$ .

### 5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA *IN VITRO*

Os derivados tiazólicos LQIT/KLT'S foram avaliados quanto a sua atividade antiproliferativa *in vitro* frente a duas linhagens celulares, o adenocarcinoma mamário (MCF-7) e a linhagem celular não transformada, macrófago (J774). A análise das propriedades antiproliferativas dos compostos foi realizada na fase exponencial do crescimento celular, após exposição das células anteriormente citadas a concentrações previamente determinadas dos compostos sintetizados. Na primeira etapa de investigação, as células MCF-7 e J774 foram expostas a concentração de  $50 \mu\text{M}$  de todos os compostos sintetizados, por meio do qual foram obtidos os valores de viabilidade celular após 48 de tratamento das células. Os dados obtidos neste experimento estão descritos na tabela 9.

**Tabela 9** – Valores de viabilidade celular (%) para as linhagens celulares MCF-7 e J774 após exposição a 50  $\mu$ M dos derivados tiazólicos.

DERIVADOS LQIT/KLT											
LINHAGEM CELULAR	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	m- Amsa
MCF-7	8,41	100	35,16	29,98	35,46	27,80	52,52	100	14,95	89,07	19,358
J774	4,58	100	19,14	16,32	19,30	15,13	28,59	60,16	8,14	48,49	10,55

m-Amsa: Controle positivo

Os compostos que apresentaram viabilidade celular abaixo de 50% foram selecionados para a segunda etapa da avaliação da atividade antiproliferativa referente a um novo ensaio onde a linhagem celular MCF-7 foi exposta a diferentes concentrações dos compostos selecionados (50, 25, 12,5, 6,25, 3,125  $\mu$ M) que permitiu a obtenção dos valores de IC<sub>50</sub> (concentração molar do composto capaz de inibir 50% do crescimento celular). Os valores obtidos são descritos na tabela 10.

**Tabela 10** – Valores de IC<sub>50</sub> ( $\mu$ M) para a linhagem celular MCF-7 após exposição a diferentes concentrações dos derivados tiazólicos.

DERIVADOS LQIT/KLT						
LINHAGEM CELULAR	01	03	04	05	06	09
MCF-7	0,29	0,52	0,53	0,43	0,60	0,35

Dentre os dez derivados analisados frente a linhagem celular MCF-7, seis apresentaram a melhor potência em relação a diminuição da viabilidade celular, foram eles o KLT'S 01, 03, 04, 05, 06, e 09. Todos os derivados apresentam a mesma estrutura central com a presença do anel tiazólico, possuindo diferentes substituintes nas porções distais de sua estrutura. Podemos classificar os cinco melhores compostos em ordem decrescente em: KLT'S 01 > 09 > 06 > 04 > 03 > 05.

Podemos observar que o KLT-01 apresentou o menor valor de viabilidade celular (8,41%), este apresenta em sua estrutura a substituição na porção R<sub>1</sub> pelo grupamento *p*-metilsulfonil e na porção R<sub>2</sub> a presença do substituinte *p*-bromo-fenil. Vale ressaltar que o seu análogo o KLT-02, que se diferencia pela ausência de substituinte na posição R<sub>2</sub>, apresentou um valor de viabilidade celular de 100%, indicando que não possui atividade antiproliferativa frente a linhagem celular utilizada. Este resultado indica a importância do grupamento bromo na porção R<sub>2</sub> da molécula para a atividade antiproliferativa.

O segundo melhor resultado encontrado foi para o KLT-09, que exibiu um valor de viabilidade celular de 14,95%, o mesmo apresenta em sua estrutura a presença do grupamento *p*-metoxi-fenil, e *p*-bromo-fenil, nas posições R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> respectivamente. Notavelmente a presença do grupamento bromo foi fundamental para o resultado apresentado por este composto, uma vez que o seu análogo estrutural o KLT-10, exibiu um valor de viabilidade de 89,07%, que por sua vez sugere que não foi citotóxico para a linhagem MCF-7.

O terceiro melhor valor de viabilidade celular foi obtido para o KLT-06 (27,80%), este composto possui a presença dos substituintes *p*-trifluorometoxi na porção R<sub>1</sub> e não contém substituintes na porção R<sub>2</sub>. O seu análogo estrutural o KLT-05 foi o sexto melhor composto com viabilidade inferior a 50%, ele se diferencia pela presença do grupamento *p*-bromo na posição R<sub>2</sub>, e apresentou viabilidade celular de 35,46%, que por sua vez é bastante próximo para o resultado observado para o KLT-06. Neste caso, a atividade relatada para esses compostos possivelmente está relacionada ao grupamento trifluorometoxi, e é pouco influenciada pela presença do bromo.

Seguindo a análise dos resultados observados para os seis melhores resultados de viabilidade celular, o quarto e quinto melhor efeito observado foi para os KLT'S 04 e 03, com porcentagens de viabilidade de 29,98% e 35,16% respectivamente. Os substituintes presentes nestes compostos são o *p*-trifluorometil na posição R<sub>1</sub> de ambos os compostos, e o *p*-bromo na posição R<sub>2</sub> do KLT-03, uma vez que o KLT-04 não possui substituintes nesta posição. Desta forma, os resultados observados para esses derivados sugerem que a presença do substituinte trifluorometil e bromo são importantes para o efeito citotóxico observado. Vale destacar que ausência do halogênio bromo influenciou muito pouco no referido resultado.

Estes seis compostos que apresentaram os melhores potenciais na diminuição da viabilidade celular, tiveram seus resultados confirmados no teste de IC<sub>50</sub>, o qual descreve mudanças sucintas em relação a ordem dos melhores efeitos observados. Os melhores valores de IC<sub>50</sub> são em ordem decrescente para os KLT'S 01 > 09 > 05 > 03 > 04 > 06. É importante

ressaltar que todos os valores verificados sugerem que os cinco derivados são citotóxicos para a linhagem celular testada.

Todavia, de forma mais detalhada, podemos analisar como os substituintes e seus efeitos eletrônicos podem contribuir para os resultados dispostos aqui. Destacando a posição R<sub>1</sub> dos derivados KLT-01, KLT-03, KLT-04, KLT-05 e KLT-06, eles são substituídos pelos seguintes grupamentos: metilsulfonyl (KLT-01), trifluorometil (KLT-03/04), e trifluorometoxi (KLT-05/06). Esses grupamentos possuem características eletrônicas semelhantes, ambos são fortemente retirados de elétrons, causando um forte efeito indutivo retirador (I) e mesomérico retirador (M<sup>-</sup>) no anel fenil diretamente ligado. No estudo de Sadashiva et al., (2017), também foi observado que a presença de grupamentos retiradores de elétrons na posição *para*, como o (Cl) e (F), apresentaram uma melhor atividade inibidora para a linhagem celular MCF-7.

O grupamento trifluorometil presente nos KL'S 03 e 04, também foi investigado num estudo realizado por HE et al., (2016) que avaliaram a presença de diferentes substituintes nas porções R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> de seus derivados 1,3-tiazóis contendo a porção hidrazida-hidrazona e carboxamida. Os resultados obtidos permitiram concluir que a presença do substituinte trifluorometil (CF<sub>3</sub>) foi fundamental na atividade citotóxica observada para o derivado T38, inclusive que a presença desse radical em diferentes porções melhora a atividade.

Migrando para a análise da posição R<sub>2</sub> dos seis compostos testados, podemos observar para os KLT'S 01, 05, 09 e 03 a presença do substituinte bromo. Apesar de também possuir a característica de ser um elemento eletronegativo que induz ao efeito indutivo retirador, contribui de forma mais forte com o efeito mesomérico doador, neste lado da porção do composto. Um estudo realizado por Turan-Zitouni et al., (2016), mostrou que a presença do grupamento bromo na *para* substituição do anel fenil de derivados bis-tiazóis também apresentou uma melhor atividade citotóxica frente a linhagem tumoral. A presença do elemento Br também foi relatada como potenciadora da atividade antitumoral frente a linhagem MCF-7 no estudo realizado por WANG et al., (2018), no qual foi constatado que a substituição por halogênios como Br e F em posições específicas desencadeou em melhores valores de IC<sub>50</sub>, como nos resultados observados para os compostos E2 (IC<sub>50</sub>=2,14), E8 (IC<sub>50</sub>=1,24) e E6 (IC<sub>50</sub>=3,5). Os autores concluíram que a presença de elementos fortemente retiradores de elétrons melhoraram a atividade dos seus derivados.

O KLT-09 é o mais diferenciado desses cinco compostos, por apresentar na posição R<sub>1</sub> a presença de um grupamento fortemente doador de elétrons, o *p*-metoxi. Esse substituinte contribui com um efeito mesomérico doador (M<sup>+</sup>). Além disso, a presença do grupamento bromo na posição R<sub>1</sub> dessa molécula contribui também com um efeito mesomérico positivo.

Em um estudo realizado por SANTANA et al., (2018), foi observado que a presença do substituinte metoxi em derivados tiazólicos apresentou atividades significativas frente a 3 linhagens celulares, com melhor atividade frente a linhagem de leucemia promielocítica humana (HL-60) com  $IC_{50}$  de 3,67  $\mu$ M. A presença do substituinte metoxi também contribui de forma positiva para outras classes de derivados químicos. Um estudo realizado por LACZOWSKI et al., (2016) demonstrou que a substituição pelo grupamento metoxi em mostardas de nitrogênio foi promissora na atividade citotóxica frente a linhagem celular de câncer de mama (MCF-7), com  $IC_{50}$  de 4,18  $\mu$ g/ml. Dessa forma, podemos concluir que o metoxi atua de forma positiva na atividade antiproliferativa desses compostos.

Já os resultados de viabilidade celular verificados para a linhagem J774 (macrófagos), indicam que os derivados KLT'S 02, 08 e 10 foram os melhores da série, com os respectivos valores de 100%, 60,16% e 48,49% de células viáveis, embora a maioria dos derivados testados tenham sido melhores que o controle positivo a m-Amsa (10,55%). Os substituintes encontrados na posição  $R_1$  desses compostos são para o KLT-02 o grupamento p-metilsulfonil, para o KLT-08 o grupamento p-dimetilamina, e para o KLT-10 o grupamento p-metoxi. Na posição  $R_2$ , ambos os derivados são ausentes de substituição. Os resultados mostram que os derivados tiazólicos são promissores agentes antitumorais e que o padrão de substituição diferenciado pode influenciar de forma positiva nos resultados obtidos. Além disso, é importante realizar esse experimento frente a outras linhagens celulares não transformadas, a fim de calcular o índice de seletividade e testar os compostos para outros tipos de células.

Em resumo podemos observar que os compostos que apresentaram atividade antiproliferativa mais significativa frente à linhagem MCF-7, apresentam-se substituídos nas porções  $R_1$  e  $R_2$ , por grupamentos contendo halogênios como flúor (F) e bromo (Br). É sabido que esses grupos aumentam as características lipofílicas de compostos e conseqüentemente permitem uma melhor permeação em membranas celulares (SANTANA et al., 2018). Porém no ensaio realizado frente à linhagem J744, os compostos que se destacaram apresentam-se substituídos nas mesmas porções por grupamentos mais hidrodílicos. Indicando que possivelmente esses compostos não atravessaram as membranas celulares em quantidade suficiente para causar um efeito antiproliferativo mais acentuado.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram sintetizados 10 derivados tiazólicos inéditos, esses compostos foram obtidos por meio de rotas sintéticas eficientes, apresentando rendimentos reacionais satisfatórios. Todos os compostos tiveram suas estruturas químicas determinadas por meio de técnicas espectroscópicas de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IV e suas características físico-químicas também foram determinadas.

Nos ensaios de interação com ssDNA foi observado a ocorrência de diferentes efeitos espectroscópicos, indicando diferentes modos de ligação a esta biomolécula, os efeitos foram se modificando à medida que compostos com diferentes padrões de substituição eram analisados. Após análise dos resultados de força de ligação ( $K_b$ ), os compostos que melhor se ligaram ao DNA foram os KLT'S 03, 05 e 01. Para os derivados KLT-03 ( $K_b = 1.0 \times 10^7$ ) e KLT-01 ( $7.82 \times 10^5$ ), o mecanismo mais provável de interação é o modo intercalativo, e para o KLT-05 ( $K_b = 1.33 \times 10^6$ ), a interação por ligação ao sulco. Na análise de extinção fluorescente o composto que apresentou maior constante de extinção fluorescente foi o KLT-06 ( $K_{sv} = 1.01 \times 10^4$ ). Esses resultados apontam que os padrões de substituição desses compostos nas posições  $R_1$  e  $R_2$  ( $R_1 = \text{CF}_3$  ou  $\text{OCF}_3$  ou  $\text{CH}_3\text{SO}_2$  /  $R_2 = \text{Br}$ ) contribuíram para os resultados observados.

No ensaio de interação com a BSA foi confirmado que todos os compostos se ligavam a essa biomolécula. No ensaio de absorção UV-Vis, os dados da constante de ligação ( $K_b$ ) sugerem que os compostos que se ligaram de forma mais forte a BSA foram os KLT'S 10, 01 e 05, esses derivados possuem em sua estrutura a presença dos seguintes substituintes nas porções  $R_1 = \text{OCH}_3$  ou  $\text{CH}_3\text{SO}_2$  ou  $\text{OCF}_3$ , e nas porções  $R_2 = \text{Br}/\text{H}$ . Já no ensaio de emissão de fluorescência os derivados que causaram maior extinção fluorescente de acordo com os valores de  $K_{sv}$  foram os KLT'S 10, 07 e 06, os substituintes presentes nas posições  $R_1$  são ( $\text{OCH}_3$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ ,  $\text{OCF}_3$ ) e na porção  $R_2$  ( $\text{H}$  ou  $\text{Br}$ ). Os resultados indicam que diferentes substituintes contribuem para a ligação dos derivados com a BSA e que isso pode influenciar nos locais de ligação, principalmente quando analisamos as características lipofílicas dos compostos.

Nos ensaios de atividade antiproliferativa frente a linhagem celular MCF-7 (adenocarcinoma mamário), os compostos que apresentaram melhores valores de  $\text{IC}_{50}$  foram os KLT'S 01, 09, 05 e 03. Esses derivados possuem na porção  $R_1$  a presença dos substituintes  $\text{CH}_3\text{SO}_2$ ,  $\text{OCH}_3$ ,  $\text{OCF}_3$  e  $\text{CF}_3$ , respectivamente. Na porção  $R_2$ , os três compostos possuem a presença do grupamento  $\text{Br}$ . Podemos observar a contribuição dos diferentes substituintes na

melhora da atividade citotóxica, bem como a presença do grupamento bromo, que provavelmente influenciou bastante nos resultados obtidos.

Os derivados também foram analisados frente a linhagem celular J774 (macrófagos), a fim de avaliar a citotoxicidade frente a linhagem celular não transformada. Os compostos que causaram maior viabilidade celular na concentração de 50 $\mu$ M foram os KLT'S 02 (100%), 08 (60,16%) e 10 (48,49%). Vale ressaltar que em comparação ao nosso controle positivo a m-Amsa com viabilidade de 10,35%, apenas os compostos KLT-01 e KLT-09 não superaram o controle positivo. Porém, outros testes devem ser realizados, frente a outras linhagens celulares não transformadas.

Em resumo, todos os derivados sintetizados são capazes de interagir com as biomoléculas analisadas, bem como induzir efeitos importantes na atividade antitumoral proposta. Desta forma, sugerimos que derivados KLT'S 01, 03, 06 se destacam entre os compostos sintetizados, uma vez que apresentaram os melhores resultados para interação com DNA, BSA e atividade antiproliferativa. Além disso, podemos concluir que a presença dos diferentes substituintes presentes nesses derivados em conjunto, com nosso grupo farmacofórico, foram relevantes para os resultados observados. Sendo assim, estudos mais específicos devem ser realizados com os derivados em questão para confirmar a atividade antitumoral proposta.

## 6.1 PERSPECTIVAS

- ✓ Realizar estudos *in silico* como o docking molecular para compreender melhor quais os sítios de ligação entre os derivados sintetizados e as biomoléculas;
- ✓ Realizar estudos de Dicroísmo circular e viscosidade para confirmar os modos de ligação entre as biomoléculas e os derivados tiazólicos;
- ✓ Avaliar a capacidade de ligação entre os derivados e a HSA (albuma sérica humana);
- ✓ Realizar o ensaio de inibição das topoisomerasas I e II $\alpha$  com os melhores derivados;
- ✓ Avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos derivados sintetizados pelo método do MTT, utilizando linhagens de células não transformadas e linhagens tumorais de câncer de mama e próstata: MCF-7, T47D, MDA-MB-231, PC-3, LNCaP;
- ✓ Avaliar o tipo de morte celular (necrose ou apoptose) e as alterações causadas nas diferentes fases do ciclo celular.

## REFERÊNCIAS

- ADAM, R.; BILBAO-RAMOS, P.; LÓPEZ-MOLINA, S.; ABARCA, B.; BALLESTEROS, R.; GONZÁLEZ-ROSENDE, M. E.; DEA-AYUELA, M. A.; ALZUET-PIÑA, G.; Triazolopyridyl ketones as a novel class of antileishmanial agents. DNA binding and BSA interaction. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, p. 4018-4027, 2014
- ALI, A. Q.; TEOH, S. G.; SALHIN, A.; ELTAYEB, N. E.; AHAMED, M. B. K.; MAJID, A. M. S. A.; Synthesis of isatin thiosemicarbazones derivatives: In vitro anti-cancer, DNA binding and cleavage activities. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 125, p. 440-448, 2014.
- ALI, I.; LONE, M. N.; ALOTHMAN, Z. A.; ALWARTHAN, A.; Insights into the pharmacology of new heterocycles embedded with oxopyrrolidine rings: DNA binding, molecular docking, and anticancer studies. **Journal of Molecular Liquids**, v. 234, p. 391-402, 2017.
- 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.; LIMA, M. C. A.; CARVALHO-JUNIOR, L. B.; Synthesis, DNA Binding, and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Thiosemicarbazone Derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 13023-13042, 2015.
- ALMEIDA, S. M. V.; RIBEIRO, A. G.; SILVA, G. C. L.; ALVES, J. E. F.; BELTRÃO, E. I. C.; OLIVEIRA, J. F.; CARVALHO-JUNIOR, L. B.; 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.
- AMITHA, G. S.; VASUDEVAN, S.; DNA/BSA binding studies of peripherally tetra substituted neutral azophenoxy zinc phthalocyanine. **Polyhedron**, v. 175, 114208, 2020.
- ANDREANI A.; GRANAIOLA, M.; LEONI, A.; LOCATELLI, A.; MORIGI, R.; RAMBALDI, M.; Synthesis and antitubercular activity of imidazo[2,1-*b*]thiazoles. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, p. 743-746, 2001.
- ANURADHA.; PATEL, S.; PATLE, R.; PARAMESWARAN, P.; JAIN, A.; SHARD, A.; Design, computational studies, synthesis and biological evaluation of thiazole-based molecules as anticancer agentes. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 134, p. 20-30, 2019.
- AYATI, A.; EMAMI, S.; ASADIPOUR, A.; SHAFIEE, A.; FOROUMADI, A.; Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug Discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 699-718, 2015.

BAI, Z.; LIU, X.; GUAN, Q.; DING, N.; WEI, Q.; TONG, B.; ZHAO, M.; ZHANG, W.; MA, L.; 5-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)-4-methyl-2-(p-tolyl) imidazol (BZML) targets tubulin and DNA to induce anticancer activity and overcome multidrug resistance in colorectal cancer cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 315, 2020.

BALTAZAR, C. J.; MUN, R.; TAJMIR-RIahi, H. A.; BARIYANGA, J.; Spectroscopic studies on the interaction of mimosine with BSA and DNA. **Journal of Molecular Structure**, v. 1161, p. 273-278, 2018.

BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G.; Interações entre Complexos Antitumorais e o DNA e suas Ferramentas de Análise: um Enfoque nos Metalintercaladores. **Revista virtual de química**, v. 7, p. 1998-2016, 2015.

BELATIK, A.; HOTCHANDANI, S.; CARPENTIER, R.; TAJMIR-RIahi, H.; Locating the Binding Sites of Pb(II) Ion with Human and Bovine Serum Albumins. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, 2012.

BHARTI, S. K.; NATH, G.; TILAK, R.; SINGH, S. K.; Synthesis, anti-bacterial and anti-fungal activities of some novel Schiff bases containing 2,4-disubstituted thiazole ring. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 651-660, 2010.

BOSE, A.; Interaction of teapolyphenols with serum albumins: A fluorescence spectroscopic analysis. **Journal of Luminescence**, v. 169, p. 220-226, 2016.

BRAGA, S. F. P.; FONSECA, N. C.; RAMOS, J. P.; FAGUNDES, E. M. S.; OLIVEIRA, R. B.; Synthesis and cytotoxicity evaluation of thiosemicarbazones and their thiazole derivatives. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52 n. 2, 2016.

BUENO, J. M.; CARDA, M.; CRESPO, B.; CUÑAT, A. C.; COZAR, C.; LEÓN, M. L.; MARCO, J. A.; RODA, N.; SANZ-CERVERA, J. F.; **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, p. 3938-3944, 2016.

CAMARGO, C. R.; CARUSO, I. P.; GUTIERREZ, S. J. C.; FOSSEY, M. A.; FILHO, J. M. B.; CORNÉLIO, M. L.; Spectral and computational features of the binding between riparins and human serum albumin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 190, p. 81-88, 2018.

CARDOSO, M. V. O.; SIQUEIRA, L. R. P.; SILVA, E. B.; COSTA, L. B.; HERNANDES, M. Z.; RABELLO, M. M.; FERREIRA, R. S.; CRUZ, L. F.; MOREIRA, D. R. M.; PEREIRA, V. R. A.; CASTRO, M. C. A. B.; BERNHARDT, P. V.; LEITE, A. C. L.; 2-Pyridyl thiazoles as novel anti-Trypanosoma cruzi agents: Structural design, synthesis and pharmacological evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 86, p. 48-59, 2014.

ĆOČIĆ, D.; JOVANOVIĆ, S.; RADISAVLJEVIĆ, S.; KORZEKWA, J.; SCHEURER, A.; PUCHTA, R.; BASKIĆ, D.; TODORVIĆ, D.; POPOVIĆ, S.; MATIĆ, S.; PETROVIĆ, B.; New monofunctional platinum(II) and palladium(II) complexes: Studies of the nucleophilic substitution reactions, DNA/BSA interaction, and cytotoxic activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 189, p. 91-102, 2018.

CORREIA, I.; ROY, S.; MATOSS, C. P.; BOROVIC, S.; BUTENKO, N.; CAVACO, I.; MARQUES, F.; LORENZO, J.; RODRÍGUEZ, A.; MORENO, V.; PESSOA, J. C.; Vanadium(IV) and copper(II) complexes of salicylaldimines and aromatic heterocycles: Cytotoxicity, DNA binding and DNA cleavage properties. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 147, p. 134-146, 2015.

DANTAS, E. L. R.; SÁ, F. H. L.; CARVALHO, S. M. F.; ARRUDA, A. P.; RIBEIRO, E. M.; RIBEIRO, E. M.; Genética do Câncer Hereditário. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 3, p. 263-269, 2009.

DEVI, J.; PACHWANIA, S.; Recent advancements in DNA interaction studies of organotin (IV) complexes. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 91, p. 44-62, 2018.

DIAS, A. S.; ALMEIDA, C. R.; HELGUERO, L. A.; DUARTE, I. F.; Metabolic crosstalk in the breast câncer microenvironment. **European Journal of Cancer**, v. 121, p. 154-171, 2019.

EBRAHIMIPOUR, S. Y.; MOHAMADI, M.; MAHANI, M. T.; SIMPSON, J.; MAGUE, J. T.; SHEIKHSHOAEI, I.; Synthesis and structure elucidation of novel salophen-based dioxouranium(VI) complexes: In-vitro and in-silico studies of their DNA/ BSA-binding properties and anticancer activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 140, p. 172-186, 2017.

EL-ASMY, H. A.; BUTLER, I. S.; MOUHRI, Z. S.; JEAN-CLAUDE, B. J.; EMMAM, M.; MOSTAFA, S. I.; Synthesis, characterization and DNA interaction studies of new complexes containing 2-mercaptobenzothiazole and different dinitrogen or phosphorous aromatic donos. **Inorganica Chimica Acta**, v. 441, p. 20-33, 2016.

EL-MESSERY, S. M.; HASSAN, G. S.; AL-OMARY, F. A. M.; EL-SUBBAGH, H. I.; Substituted thiazoles VI. Synthesis and antitumor activity of new 2-acetamido- and 2 or 3-propanamido-thiazole analogs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 615-625, 2012.

EL-METWALY, N.; ALTHAGAFI, I.; KHEDR, A. M.; AL-FAHEMI, J. H.; KATOUAH, H. A.; HOSSAN, A. S.; AL-DAWOOD, A. Y.; HAZMI, G. A.; Synthesis and characterization for novel Cu(II)-thiazole complexesdyes and their usage in dyeing cotton to be special bandage for cancerous wounds. **Journal of Molecular Structure**, v. 1194, p. 86-103, 2019.

EL-WAKIL, M. H.; EL-YAZBI, A. F.; ASHOUR, H. M. A.; KHALIL, M. A.; ISMAIL, K. A.; LABOUTA, I. M.; Discovery of a novel DNA binding agent via design and synthesis of new thiazole hybrids and fused 1,2,4-triazines as potential antitumor agents: Computational, spectrometric and in silico studies. **Bioorganic Chemistry**, v. 90, 103089, 2019.

FILHO, G. B. O.; CARDOSO, M. V. O.; ESPÍNDOLA, J. W. P.; SILVA, D. A. O.; FERREIRA, R. S.; COELHO, P. L.; ANJOS, P. S.; SANTOS, E. S.; MEIRA, C. S.; MOREIRA, D. R. M.; SOARES, M. B. P.; LEITE, A. C. L.; Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 141, p. 346-361, 2017.

FILHO, F. A. D.; SOUZA, T. F.; RIBEIRO, A. G.; ALVES, J. E. F.; OLIVEIRA, J. F.; SOUZA, T. R. C. L.; MOURA, R. O.; LIMA, M. C. A.; CARVALHO-JUNIOR, L. B.; ALMEIDA, S. M. V.; Topoisomerase inhibition and albumin interaction studies of acridinethiosemicarbazone derivatives. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 138, p. 582-589, 2019.

FRIJA, L. M. T.; POMBEIRO, A. J. L.; KOPYLOVICH, M. N.; Coordination chemistry of thiazoles, isothiazoles and thiadiazoles. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 308, p. 32-55, 2016.

GOMES, P. A. T. M.; OLIVEIRA, A. R.; CARDOSO, M. V. O.; SANTIAGO, E. F.; BARBOSA, M. O.; SIQUEIRA, L. R. P.; MOREIRA, D. R. M.; BASTOS, T. M.; BRAYNER, F. A.; SOARES, M. B. P.; MENDES, A. P. O.; CASTRO, M. C. A. B.; PEREIRA, V. R. A.; LEITE, A. C. L.; Phthalimido-thiazoles as building blocks and their effects on the growth and morphology of *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 111, p. 46-57, 2016.

GOUDA, M. A.; BERGHOT, M. A.; EL-GHANI, G. E. A.; KHALIL, A. M.; Synthesis and antimicrobial activities of some new thiazole and pyrazole derivatives based on 4,5,6,7-tetrahydrobenzothiophene moiety. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 1338-1345, 2010.

GHOSH, D.; BASU, S.; SINGHA, M.; DAS, J.; BHATTACHARYA, P.; BASAK, A.; Synthesis of crescent shaped heterocycle-fused aromatics via Garratt-Braverman cyclization and their DNA-binding studies. **Tetrahedron Letters**, v. 58, p. 2014-2018, 2017.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A.; Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-74, 2011.

HASSAN, A. A.; ALY, A. A.; MOHAMED, N. K.; SHAIEB, K. M. E.; MAKHLOUF, M. M.; ABDELHAFEZ, E. M. N.; BRASE, S.; NIEGER, M.; DALBY, K. N.; KAOUD, T. S.; Design, synthesis, and DNA interaction studies of furo-imidazo[3.3.3] propellane derivatives: Potential anticancer agentes. **Bioorganic Chemistry**, v. 85, p. 585-599, 2019.

HENDOUEI, N.; SAGHAFLI, F.; SHADFAR, F.; HOSSEINIMEHR, S. J.; Molecular mechanisms of anti-psychotic drugs for improvement of cancer treatment. **European Journal of Pharmacology**, v. 856,2019.

IQBAL, Z.; ASHRAF, Z.; ABAS, M.; TAHIR, M. N.; JABEEN, E.; PARACHA, R. Z.; NISAR, M.; AHMAD, S.; Synthesis, crystal structure and DNA binding interactions of ethyl 2-(2-acetamidothiazol-4-yl) acetate: Theoretical and experimental investigations. **Journal of Molecular Structure**, v. 1198, 126903, 2019.

JAHANBAN-ESFAHLAN, A.; OSTADRAHIMI, A.; JAHANBAN-ESFAHLAN, R.; ROUFEGARINEJAD, L.; TABIBIAZAR, M.; AMAROWICZ, R.; Recent developments in the detection of bovine serum albumin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 138, p. 602-617, 2019.

JAIN, S.; PATTNAIK, S.; PATHAK, K.; KUMAR, S.; PATHAK, D.; JAIN, S.; VAIDYA, A.; Anticancer Potential of Thiazole Derivatives: A Retrospective Review. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 640-655, 2018.

JOKSIMOVIĆ, N.; PETRONIJEVIĆ, J.; JANKOVIĆ, N.; BASKIĆ, D.; POPOVIĆ, S.; TODOROVIĆ, D.; MATIĆ, S.; BOGDANOVIĆ, G. A.; VRANEŠ, M.; TOT, A.; BUGARČIĆ, Z.; Synthesis, characterization, anticancer evaluation and mechanisms of cytotoxic activity of novel 3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones bearing thenoyl fragment: DNA, BSA interactions and molecular docking study. **Bioorganic Chemistry**, v. 88,2019.

KAMBLE, R. D.; MESHARAM, R. J.; HESE, S. V.; MORE, R. A.; KAMBLE, S. S.; GACCHE, R. N.; DAWANE, B. S.; Synthesis and in silico investigation of thiazoles bearing pyrazoles derivatives as anti-inflammatory agentes. **Computational Biology and Chemistry**, v. 61, p. 86-96, 2016.

KARALE, U. B.; KRISHNA, V. S.; KRISHNA, E. V.; CHOUDHARI, A. S.; SHUKLA, M.; GAIKWAD, V. R.; MAHIZHAVENI, B.; CHOPRA, S.; MISRA, S.; SARKAR, D.; SRIRAM, D.; DUSTHACKEER, V. N. A.; RODE, H. B.; Synthesis and biological evaluation of 2,4,5-trisubstituted thiazoles as antituberculosis agents effective against drug-resistant tuberculosis. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 178, p. 315-328, 2019.

KARAMI, K.; ALINAGHI, M.; AMIRGHOFAN, Z.; LIPKOWSKI, J.; Synthesis and characterization of two new trans palladium (II) complexes containing benzylamine ligand: DNA/BSA interactions, molecular docking and in vitro cytotoxic activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 471, p. 797-807, 2018.

KASHYAP, S. J.; GARG, V. K.; SHARMA, P. K.; KUMAR, N.; DUDHE, R.; GUPTA, J. K.; Thiazoles: having diverse biological activities. **Medicinal chemistry research**, v. 21, p. 2123-2132, 2012.

KASRALIKAR, H. M.; JADHAVAR, S. C.; GOSWAMI, S. V.; KAMINWAR, S. S.; BHUSARE, S. R.; Design, synthesis and molecular docking of pyrazolo [3,4d] thiazole hybrids as potential anti-HIV-1 NNRT inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, v. 86, p. 437-444, 2019.

KERI, R. S.; CHAND, K.; BUDAGUMPI, S.; SOMAPPA, S. B.; PATIL, S. A.; Nagaraja, B. M.; An overview of benzo[b]thiophene-based medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 138, p. 1002-1033, 2017.

KERRU, N.; SINGH, P.; KOORBANALLY, N.; RAJ, R.; KUMAR, V.; Recent advances (2015e2016) in anticancer hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 142, p. 179-212, 2017.

KLEIN-JUNIOR, L. C.; CORRÊA, R.; HEYDEN, Y. V.; FILHO, V. C.; All that glitters is not gold: Panning cytotoxic natural products and derivatives with a fused tricyclic backbone by the estimation of their leadlikeness for cancer treatment. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 166, p. 1-10, 2019.

KLESZCZ, R.; PALUSZCZAK, J.; BAER-DUBOWSKA, W.; Targeting aberrant cancer metabolism – The role of sirtuins. **Pharmacological Reports**, v. 67, p. 1068-1080, 2015.

KOMAL.; SONIA.; KUKRETI, S.; KAUSHIK, M.; Exploring the potential of environment friendly silver nanoparticles for DNA interaction: Physicochemical approach. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 194, p. 158-165, 2019.

LAFAYETTE, E. A.; ALMEIDA, S. M. V.; PITTA, M. G. R.; BELTRÃO, E. I. C.; SILVA, T. G.; MOURA, R. O.; PITTA, I. R.; CARVALHO-JUNIOR, L. B.; LIMA, M. C. A.; Synthesis, DNA Binding and Topoisomerase I Inhibition Activity of Thiazacridine and Imidazacridine Derivatives. **Molecules**, v. 18, p. 15035-15050, 2013.

LAFAYETTE, E. A.; ALMEIDA, S. M. V.; SANTOS, R. V. V.; OLIVEIRA, J. F.; AMORIM, C. A. C.; SILVA, R. M. F.; PITTA, M. G. R.; PITTA, I. R.; MOURA, R. O.; CARVALHO-JUNIOR, L. B.; RÊGO, M. J. B. M.; LIMA, M. C. A.; Synthesis of novel indole derivatives as promising DNA-binding agents and evaluation of antitumor and antitopoisomerase I activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 136, p. 511-522, 2017.

ŁACZKOWSKI, K. Z.; SWITALSKA, M.; BARANOWSKA-ŁACZKOWSKA, A.; PLECH, T.; PANETH, A.; MISIURA, K.; WIETRZYK, J.; CZAPLINSKA, B.; MROZEK-WILCZKIEWICZ, A.; MALARZ, K.; MUSIOŁ, R.; GRELA, I.; Thiazole-based nitrogen mustards: Design, synthesis, spectroscopic studies, DFT calculation, molecular docking, and antiproliferative activity against selected human cancer cell lines. **Journal of Molecular Structure**, v. 1119, p. 139-150, 2016.

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

LINO, C. I.; SOLZA, I. G.; BORELLI, B. M.; MATOS, T. T. S.; TEIXEIRA, I. N. S.; RAMOS, J. P.; FAGUNDES, E. M. S.; FERNANDES, P. O.; MALTAROLLO, V. G.; JOHANN, S.; OLIVEIRA, R. B.; Synthesis, molecular modeling studies and evaluation of antifungal activity of a novel series of thiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 151, p. 248-260, 2018.

LONG, W.; LU, Y.; ZHANG, K.; HUANG, X.; HOU, J.; CAI, S.; LI, Y.; DU, X.; LUYT, L. G.; WONG, W.; CHOW, C.; Boosting the turn-on fluorescent signaling ability of thiazole orange dyes: The effectiveness of structural modification site and its unusual interaction behavior with nucleic acids. **Dyes and Pigments**, v. 159, p. 449-456, 2018.

MANIKANDAMATHAVAN, V. M.; THANGARAJ, M.; WEYHERMULLER, T.; PARAMESWARI, R. P.; PUNITHA, V.; MURTHY, N. N.; NAIR, B. U.; Novel mononuclear Cu (II) terpyridine complexes: Impact of fused ring thiophene and thiazole head groups towards DNA/BSA interaction, cleavage and antiproliferative activity on HepG2 and triple negative CAL-51 cell line. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 135, p. 434-446, 2017.

MANJAL, S. K.; KAUR, R.; BHATIA, R.; KUMAR, K.; SINGH, V.; SHANKAR, R.; KAUR, R.; RAWAL, R. K.; Synthetic and medicinal perspective of thiazolidinones: A review. **Bioorganic Chemistry**, v. 75, p. 406-426, 2017.

MCGHEE, J. D.; HIPPEL, P. H. VON. Theoretical Aspects of DNA-Protein Interactions : Co-operative and Non-co-operative Binding of Large Ligands to a One-dimensional Homogeneous Lattice. **Journal of Molecular Biology**, v. 86, n. 2, p. 469-489, 1974.

MISHRA, C. B.; KUMARI, S.; TIWARI, M.; Thiazole: A promising heterocycle for the development of potent CNS active agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 92, p. 1-34, 2015.

MOHAN, C. D.; HARI, S.; PREETHAM, H. D.; Rangappa, S.; Barash, U.; Ilan, N.; Nayak, S. C.; Gupta, V. K.; BASAPPA.; Vlodaysky, I.; Rangappa, K. S.; Targeting Heparanase in Cancer: Inhibition by Synthetic, Chemically Modified, and Natural Compounds. **iScience**, v. 15, p. 360-390, 2019.

MOLDOVEANU, S. C.; Chapter 16 - Pyrolysis of Aromatic Heterocyclic Compounds. **Pyrolysis of Organic Molecules**, p. 715-762, 2019.

MOREIRA, D. R. M.; COSTA, S. P. M.; HERNANDES, M. Z.; RABELLO, M. M.; FILHO, G. B. O.; MELO, C. M. L.; ROCHA, L. F.; SIMONE, C. A.; FERREIRA, R. S.; FRADICO, J. R. B.; MEIRA, C. S.; GUIMARÃES, E. T.; SRIVASTAVA R. M.; PEREIRA, V. R. A.; SOARES, M. B. P.; LEITE, A. C. L.; Structural Investigation of Anti-Trypanosoma cruzi

2- Iminothiazolidin-4-ones Allows the Identification of Agents with Efficacy in Infected Mice. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 55, p. 10918-10936, 2012.

MORIGI, R.; LOCATELLI, A.; LEONI, A.; RAMBALDI, M.; Recent Patents on Thiazole Derivatives Endowed with Antitumor Activity. **Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery**, v. 10, p. 280-297, 2015.

NETO, B. A. D.; LAPIS, A. A. M.; Recent Developments in the Chemistry of Deoxyribonucleic Acid (DNA) Intercalators: Principles, Design, Synthesis, Applications and Trends. **Molecules**, v. 14, p. 1725-1746, 2009.

OLIVEIRA, J. F.; LIMA, T. S.; COSTA, D. B. V.; PEDROSA, S. C. B. L.; LAFAYETTE, E. A.; SILVA, R. M. F.; ALMEIDA, S. M. V.; MOURA, R. O.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; LIMA, M. C. A.; Thiosemicarbazones and 4-thiazolidinones indole-based derivatives: Synthesis, evaluation of antiproliferative activity, cell death mechanisms and topoisomerase inhibition assay. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 136, p. 305–314, 2017.

OLIVEIRA, J. F.; SILVA, A. L.; COSTA, D. B. V.; AMORIM, C. A. C.; CAMPOS, J. F.; RIBEIRO, A. G.; MOURA, R. O.; NEVES, J. L.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; LIMA, M. C. A.; Synthesis of thiophene-thiosemicarbazone derivatives and evaluation of their in vitro and in vivo antitumor activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 104, p. 148-156, 2015.

OZLUER, C.; KARA, H. E. S.; In vitro DNA binding studies of anticancer drug idarubicin using spectroscopic techniques. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 138, p. 36-42, 2014.

PACCA, C. C.; MARQUES, R. E.; ESPINDOLA, J. W. P.; FILHO, G. B. O. O.; LEITE, A. C. L.; TEIXEIRA, M. M.; NOGUEIRA, M. L.; Thiosemicarbazones and Phthalyl-Thiazoles compounds exert antiviral activity against yellow fever virus and Saint Louis encephalitis virus. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 87, p. 381-387, 2016.

PALCHAUDHURI, R.; HERGENROTHER, P. J.; DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action. **Current Opinion in Biotechnology**, V. 18, P. 497-503, 2007.

PATHANIA, S.; NARANG, R. K.; RAWAL, R. K.; Role of sulphur-heterocycles in medicinal chemistry: An update. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 180, p. 486-508, 2019.

PRASHANTH, T.; AVIN, B. R. V.; THIRUSANGU, P.; RANGANATHA, V. L.; PRABHAKAR, B. T.; CHANDRA, J. N. N. S.; KHANUM, S. A.; Synthesis of coumarin analogs appended with quinoline and thiazole moiety and their apoptogenic role against murine ascitic carcinoma. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 112, 2019.

PROTAS, A. V.; POPOVA, E. A.; MIKOLAICHUK, O. V.; POROZOV, Y. B.; MEHTIEV, A. R.; OTT, I.; ALEKSEEV, G. V.; KASYANENKO, N. A.; TRIFONOV, R. E.; Synthesis, DNA and BSA binding of Pd(II) and Pt(II) complexes featuring tetrazolylacetic acids and their esters. **Inorganica Chimica Acta**, v. 473, p. 133-144, 2018.

REHMAN, S. U.; SARWAR, T.; HUSAIN, M. A.; ISHQI, H. M.; TABISH, M.; Studying non-covalent drug–DNA interactions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 576, p. 49-60, 2015.

RESCIFINA, A.; ZAGNI, C.; VARRICA, M. G.; PISTARÀ, V.; Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: Synthesis, activity, and modeling. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 74, p. 95-115, 2014.

RIBEIRO, A. G.; ALMEIDA, S. M. V.; OLIVEIRA, J. F.; SOUZA, T. R. C. L.; SANTOS, K. L.; ALBUQUERQUE, A. P. B.; NOGUEIRA, M. C. B. L.; CARVALHO JUNIOR, L. B.; MOURA, R. O.; SILVA, A. C.; PEREIRA, V. R. A.; CASTRO, M; C; A; B.; LIMA, M. C. A.; Novel 4-quinoline-thiosemicarbazone derivatives: Synthesis, antiproliferative activity, in vitro and in silico biomacromolecule interaction studies and topoisomerase inhibition. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 182, 111592, 2019.

SADASHIVA, R.; NARAL, D.; KUDVA, J.; KUMAR, S. M.; BYRAPPA, K.; SHAFEEULLA, R. M.; KUMSI, M.; Synthesis, structure characterization, in vitro and in silico biological evaluation of a new series of thiazole nucleus integrated with pyrazoline scaffolds. **Journal of Molecular Structure**, v. 1145, p. 18-31, 2017.

SAKTHI, M.; RAMU, A.; Synthesis, structure, DNA/BSA binding and antibacterial studies of NNO tridentate Schiff base metal complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 1149, p. 727-735, 2017.

SANTANA, T. I.; BARBOSA, M. O.; GOMES, P. A. T. M.; CRUZ, A. C. N.; SILVA, T. G.; LEITE, A. C. L.; Synthesis, anticancer activity and mechanism of action of new Thiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 144, p. 874-886, 2018.

SANTOS, T. A. R.; SILVA, A. C.; SILVA, E. B.; GOMES, P. A. T. M.; ESPÍNDOLA, J. W. P.; CARDOSO, M. V. O.; MOREIRA, D. R. M.; LEITE, A. C. L.; PEREIRA, V. R. A.; Antitumor and immunomodulatory activities of thiosemicarbazones and 1,3-Thiazoles in Jurkat and HT-29 cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 82, p. 555-560, 2016.

SHAHABADI, N.; HEIDARI, L.; Binding studies of the antidiabetic drug, metformin to calf thymus DNA using multispectroscopic methods. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 97, p. 406-410, 2012.

SINHA, S.; DOBLE, M.; MANJU, S. L.; Design, synthesis and identification of novel substituted 2-amino thiazole analogues as potential anti-inflammatory agents targeting 5-lipoxygenase. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 158, p. 34-50, 2018.

SILVA, T. D. S.; BOMFIM, L. M.; RODRIGUES, A. C. B. C.; DIAS, R. B.; SALES, C. B. S.; ROCHA, C. A. G.; SOARES, M. B. P.; BEZERRA, D. P.; CARDOSO, M. V. O.; LEITE, A. C. L.; MILITÃO, G. C. G.; Anti-liver cancer activity in vitro and in vivo induced by 2-pyridyl 2,3-thiazole derivatives. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 329, p. 212-223, 2017.

SIQUEIRA, L. R. P.; GOMES, P. A. T. M.; FERREIRA, L. P. L.; RÊGO, M. J. B. M.; LEITE, A. C. L.; Multi-target compounds acting in cancer progression: Focus on thiosemicarbazone, thiazole and thiazolidinone analogues. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 170, p. 237-260, 2019.

SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A.; Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. 124, p. 1-19, 2013.

SIVEEN, K. S.; SIKKA, S.; SURANA, R.; DAI, X.; ZHANG, J.; KUMAR, A. P.; TAN, B. K. H.; SETHI, G.; BISHAYEE, A.; Targeting the STAT3 signaling pathway in cancer: Role of synthetic and Natural inhibitors. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1845, p. 136-154, 2014.

SOUZA, M. V. N.; FERREIRA, S. B.; MENDONÇA, J. S.; COSTA, M.; REBELLO, F. R.; Métodos de obtenção e aplicações sintéticas de tiazóis, uma importante classe de compostos heterocíclicos. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 77-84, 2005.

SRIBALAN, R.; BANUPPRIYA, G.; KIRUBAVATHI, M.; PADMINI, V.; Synthesis, biological evaluation and in silico studies of tetrazoleheterocycle hybrids. **Journal of Molecular Structure**, v. 1175, p. 577-586, 2019.

STREKOWSKI, L.; WILSON, B.; Noncovalent interactions with DNA: An overview. **Mutation Research**, v. 623, p. 3-13, 2007.

SYLVESTER P. Optimization of the tetrazolium dye (mtt) colorimetric assay for cellular growth and viability. **Drug Design and Discovery**, v. 716, p. 157-68, 2011.

TANTAWY, M. A.; NAFIE, M. S.; ELMEGEED, G. A.; ALI, I. A. I.; Auspicious role of the steroidal heterocyclic derivatives as a platform for anti-cancer drugs. **Bioorganic Chemistry**, v. 73, p. 128-146, 2017.

TEMERK, Y.; IBRAHIM, M.; IBRAHIM, H.; KOTB, M.; Interactions of an anticancer drug Formestane with single and double stranded DNA at physiological conditions. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 149, p. 27-36, 2015.

TENÓRIO, R. P.; GÓES, A. J. S.; Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1030–1037, 2005.

THAMILARASAN, V.; SENGOTTUVELAN, N.; STALIN, N.; SRINIVASAN, P.; CHAKKARAVARTHI, G.; Synthesis, interactions, molecular structure, biological properties and molecular docking studies on Mn, Co, Zn complexes containing acetylacetonate and pyridine ligands with DNA duplex. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 160, p. 110-120, 2016.

TURAN-ZITOUNI, G.; ALTINTOP, M. D.; OZDEMIR, A.; KAPLANCIKLI, Z. A.; ÇİFTÇİ, G. A.; TEMEL, H. E.; Synthesis and evaluation of bis-thiazole derivatives as new anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 107, p. 288-294, 2016.

TOPALA, T.; PASCUAL-ALVAREZ, A.; MOLDES-TOLOSA, M. Á.; BODOKI, A.; CASTINEIRAS, A.; TORRES, J.; POZO, C. D.; BORRÁS, J.; ALZUET-PINA, G.; New sulfonamide complexes with essential metal ions [Cu (II), Co (II), Ni (II) and Zn (II)]. Effect of the geometry and the metal ion on DNA binding and nuclease activity. BSA protein interaction. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 202, 110823, 2020.

VICENTE, R.; MATA, S.; Chapter 7 - Zinc-Mediated Synthesis of Heterocycles. **Advances in Transition-Metal Mediated Heterocyclic Synthesis**, p. 285-310, 2018.

WANG, Z.; SHEN, F.; YANG, M.; YOU, L.; CHEN, L.; ZHU, H.; LU, Y.; KONG, F.; WANG, M.; Dihydropyrazothiazole derivatives as potential MMP-2/MMP-8 inhibitors for cancer therapy. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 28, p. 3816-3821, 2018.

WANG, Y.; WU, C.; ZHANG, Q.; SHAN, Y.; GU, W.; WANG, S.; Design, synthesis and biological evaluation of novel  $\beta$ -pinene-based thiazole derivatives as potential anticancer agents via mitochondrial-mediated apoptosis pathway. **Bioorganic Chemistry**, v. 84, p. 468-477, 2019.

WEI, Q.; DONG, J.; ZHAO P.; LI, M.; CHENG, F.; KONG, J.; LI, L.; DNA binding, BSA interaction and SOD activity of two new nickel(II) complexes with glutamine Schiff base ligands. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 161, p. 355-367, 2016.

WILLIAMS, A. K.; DASILVA, S. C.; BHATTA, A.; RAWAL, B.; LIU, M.; KOROBKOVA, E. A.; Determination of the drug-DNA binding modes using fluorescence-based assays. **Analytical Biochemistry**, v. 422, p. 66-73, 2012.

WOLFE, A.; SHIMER, G. H.; MEEHAN, T. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Physically Intercalate into Duplex Regions of Denatured DNA. **Biochemistry**, v. 26, n. 20, p. 6392–6396, 1987.

ZAREI, L.; ASADI, Z.; EIGNER, V.; DUSEK, M.; Crystal structure of a supramolecular dimer of Co(III) complex and evaluation of the DNA /BSA interaction. **Journal of Molecular Structure**, v. 1200, 2020.

ZHANG, Y.; SONG, J.; ZHAO, Z.; YANG, M.; CHEN, M.; LIU, C.; JI, J.; ZHU, D.; single-cell transcriptome analysis reveals tumor immune microenvironment heterogeneity and granulocytes enrichment in colorectal cancer liver metastases. **Cancer Letters**, 2019.

ZHANG, Y.; XU, J.; ZHANG, N.; CHEN, M.; Wangf, H.; ZHU, D.; Targeting the tumour immune microenvironment for cancer therapy in human gastrointestinal malignancies. **Cancer Letters**, v. 458, p. 123-135, 2019.

ZHOU, K.; LIU, J.; XIONG, X.; CHENG, M.; HU, X.; NARVA, S.; ZHAO, X.; WU, Y.; ZHANG.; Design, synthesis of 4,5-diazafluorene derivatives and their anticancer activity via targeting telomeric DNA G-quadruplex. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 178, p. 484-499, 2019.

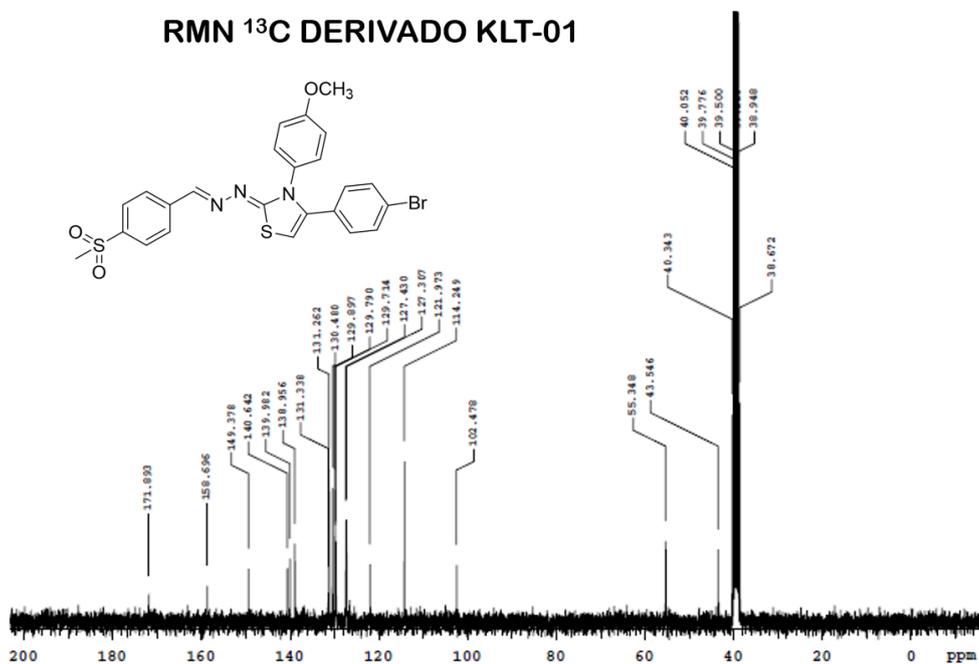
ZHOU, Q.; YOU, C.; ZHENG, C.; GU, Y.; GU, H.; ZHANG, R.; WU, H.; SUN, B.; 3-Nitroacridine derivatives arrest cell cycle at G0/G1 phase and induce apoptosis in human breast cancer cells may act as DNA-target anticancer agents. **Life Sciences**, v. 206, p. 1-9, 2018.

ZHUANG, X.; ZHANG, H.; HU, G.; Cancer and Microenvironment Plasticity: Double-Edged Swords in Metastasis. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 40, n. 6, p. 419-429, 2019.

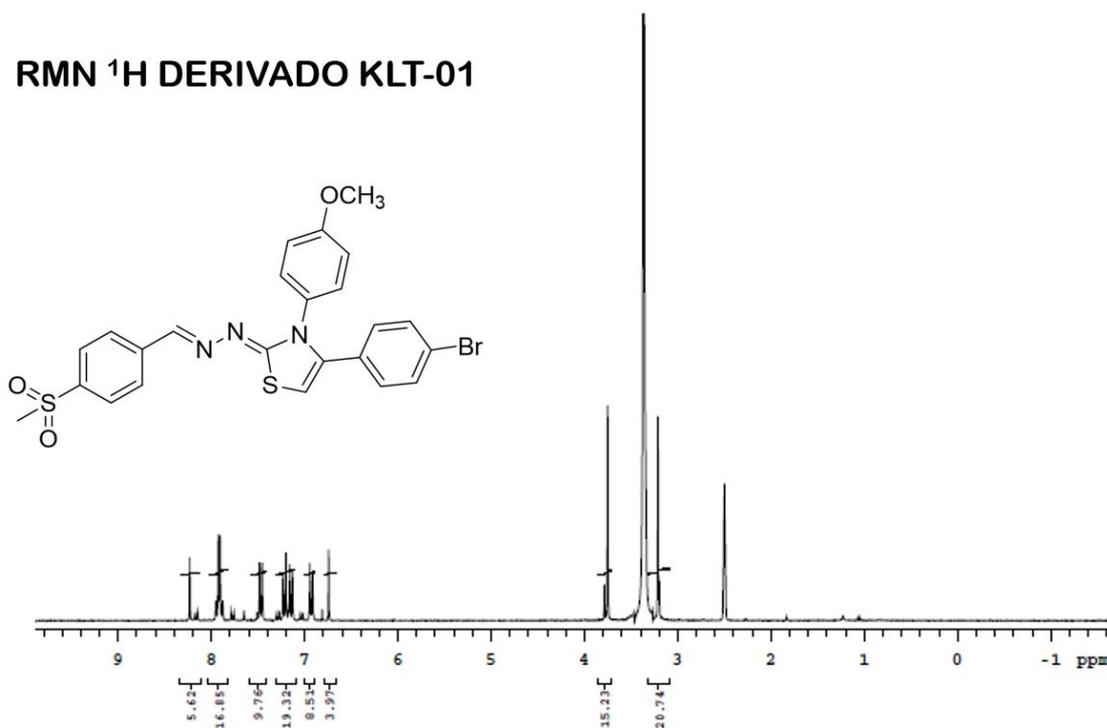
APÊNDICE A - ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS DE RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  E  
INFRAVERMELHO (IV) DOS DERIVADOS LQIT/KLT'S

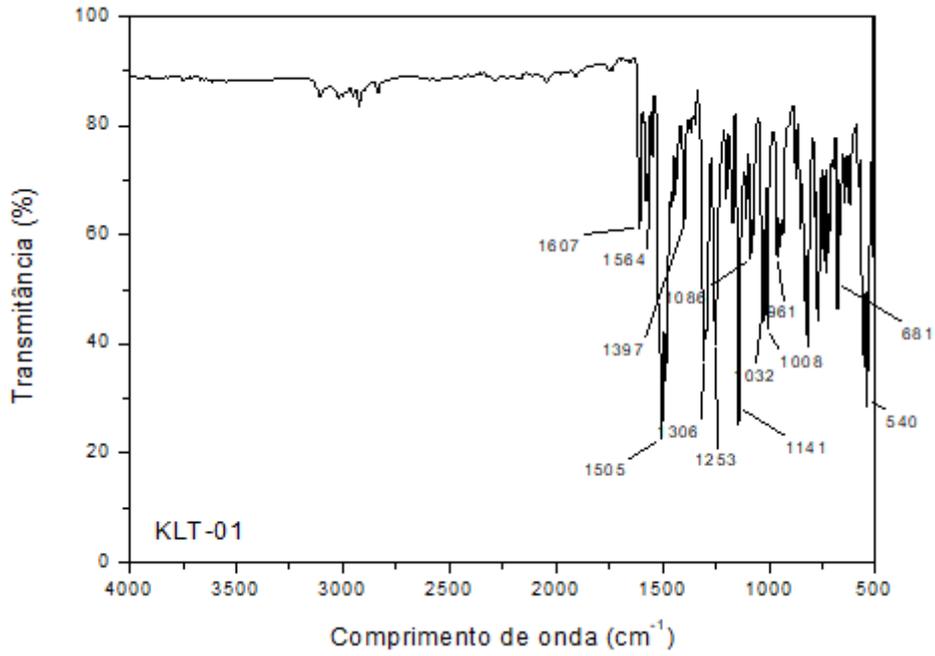
LQIT/KLT-01

RMN  $^{13}\text{C}$  DERIVADO KLT-01



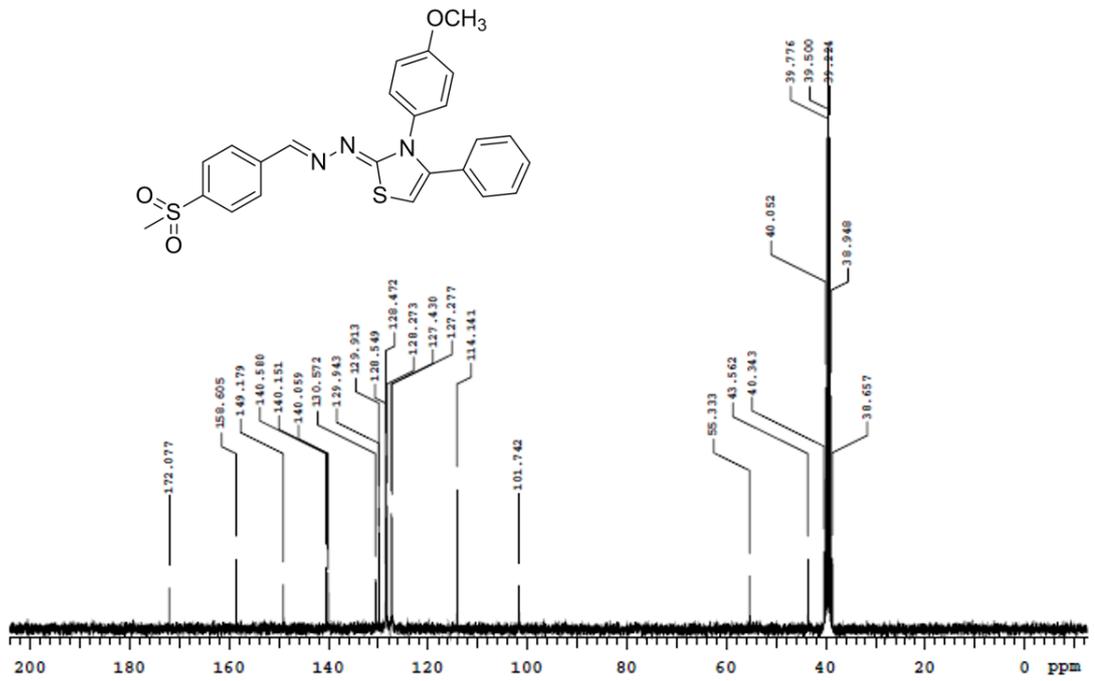
RMN  $^1\text{H}$  DERIVADO KLT-01



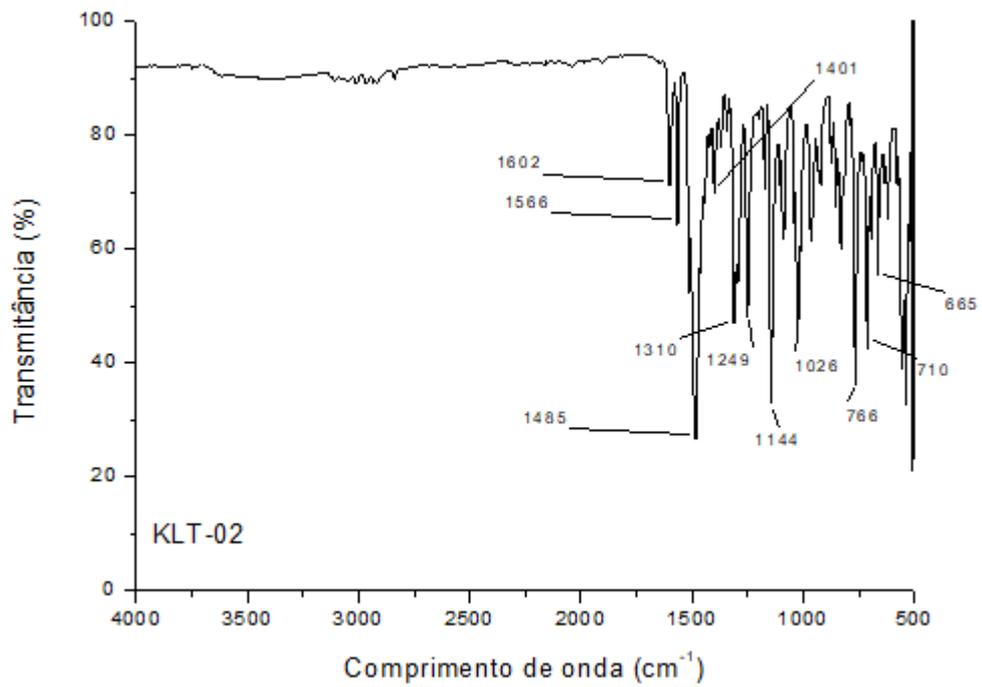
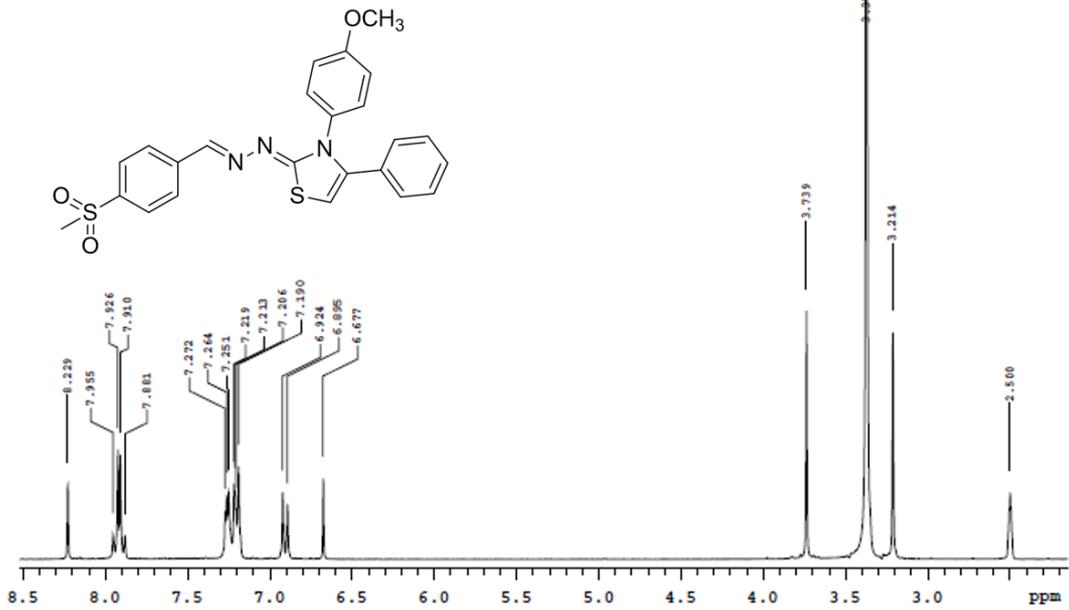


LQIT/KLT-02

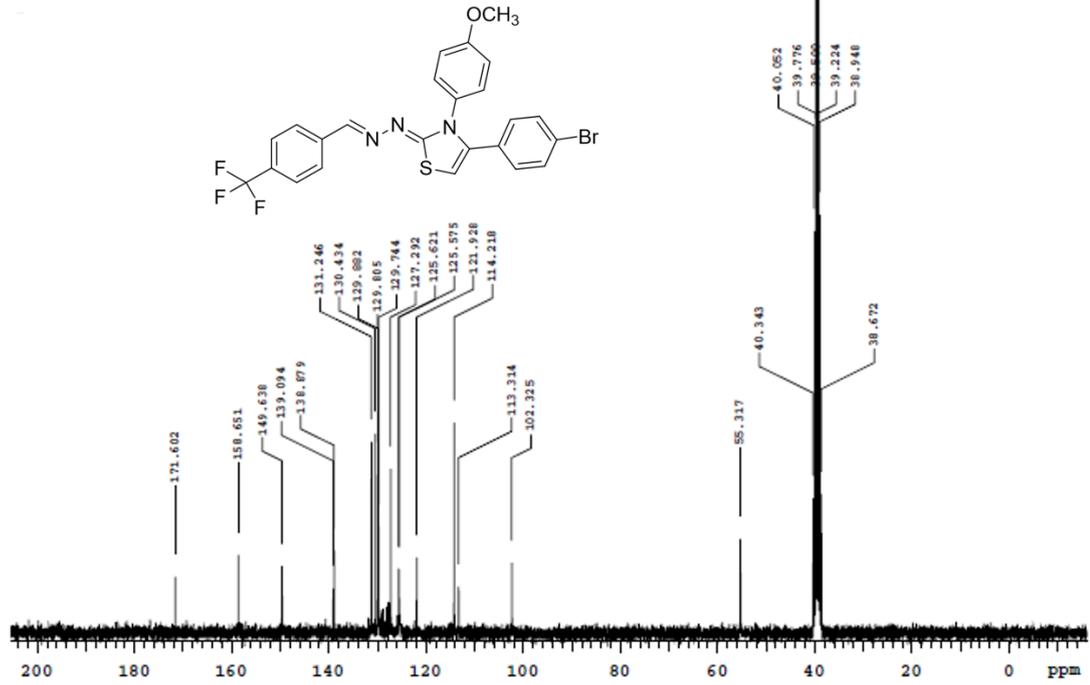
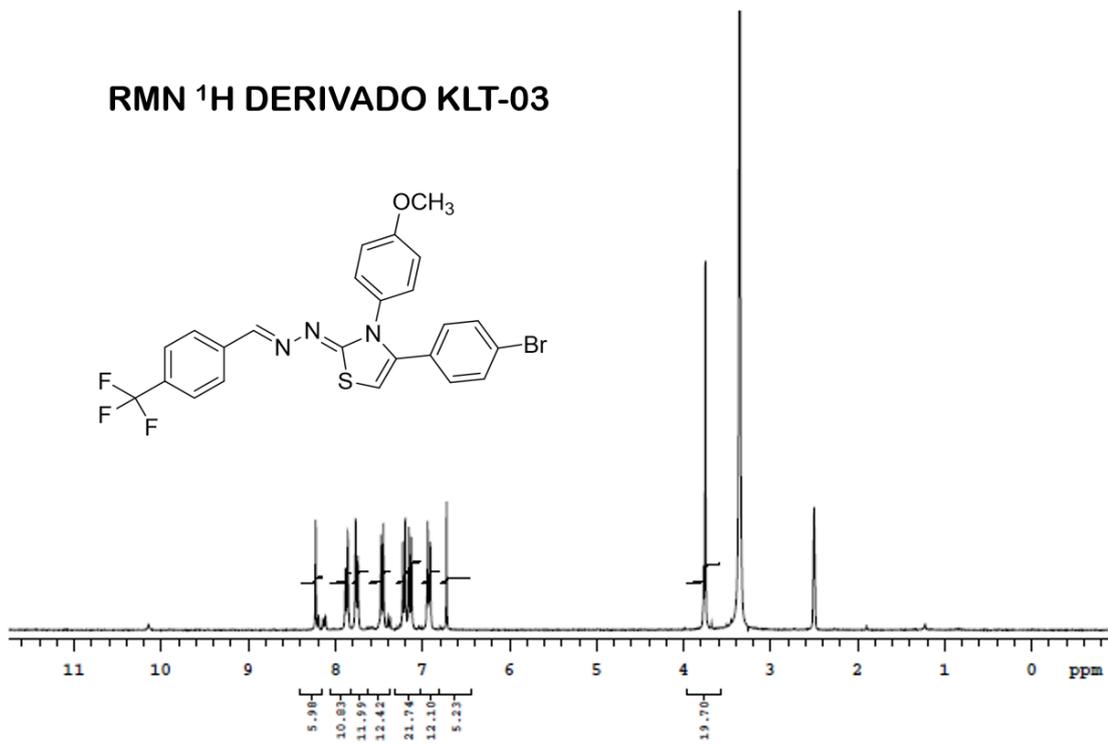
RMN <sup>13</sup>C DERIVADO KLT-02

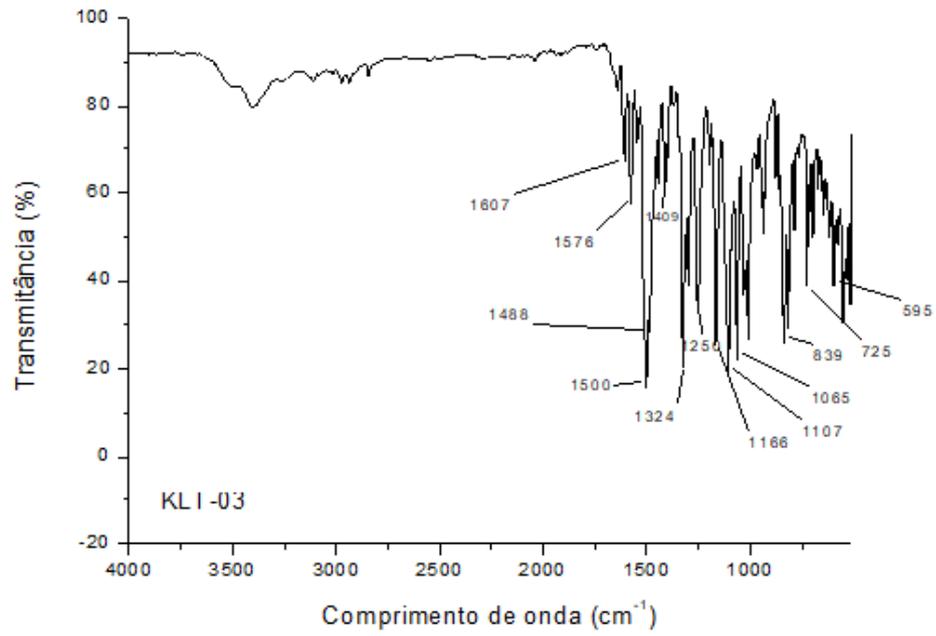


### RMN $^1\text{H}$ DERIVADO KLT-02



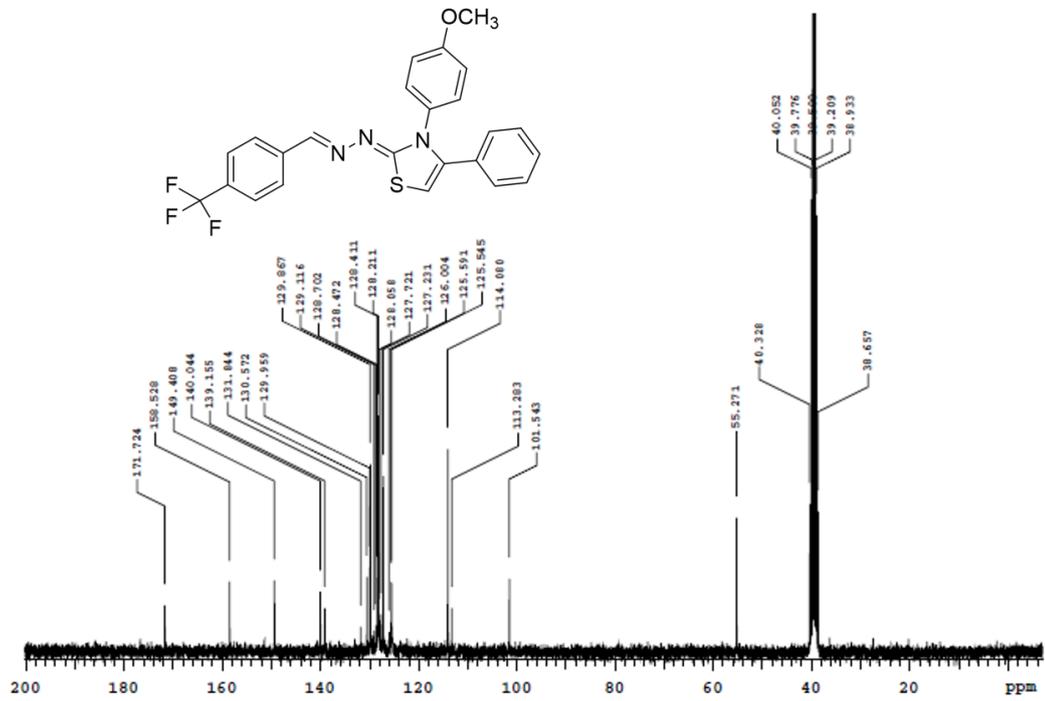
## LQIT/KLT-03

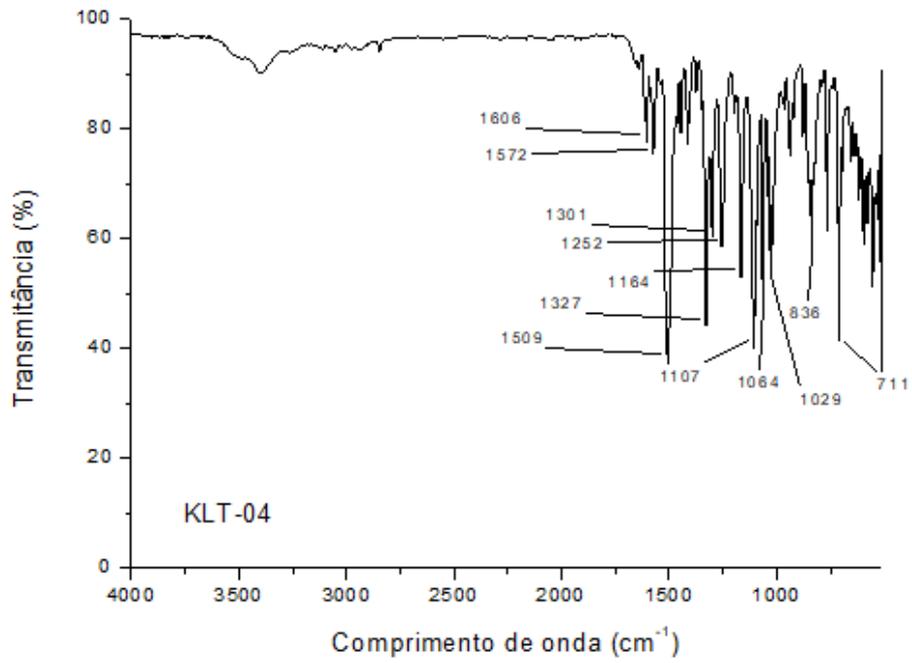
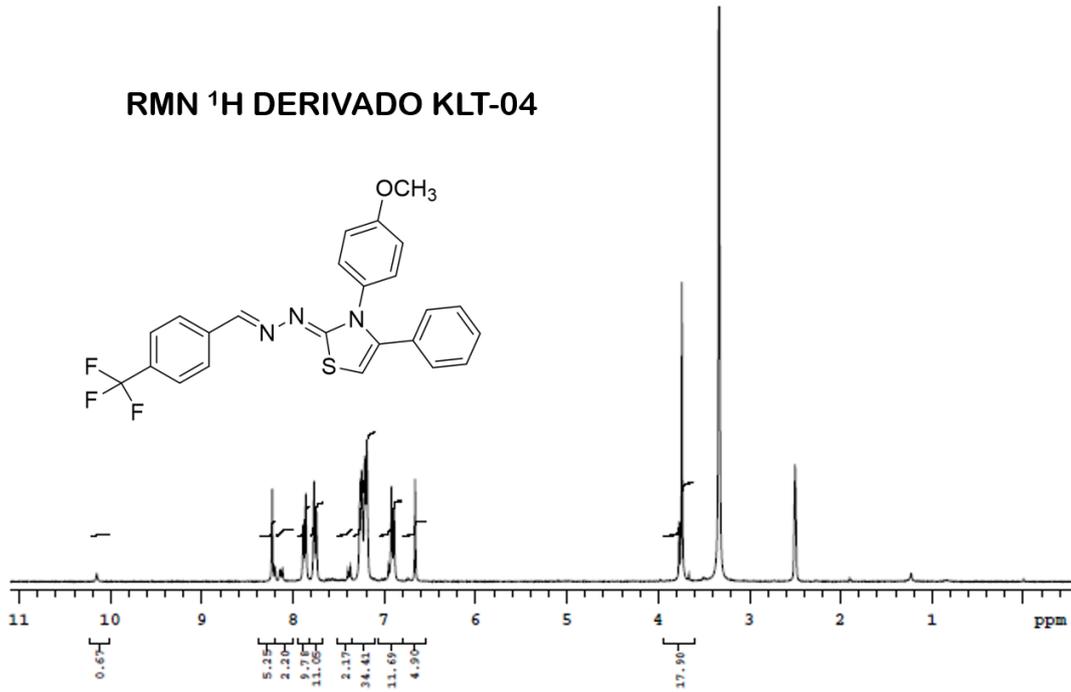
RMN <sup>13</sup>C DERIVADO KLT-03RMN <sup>1</sup>H DERIVADO KLT-03



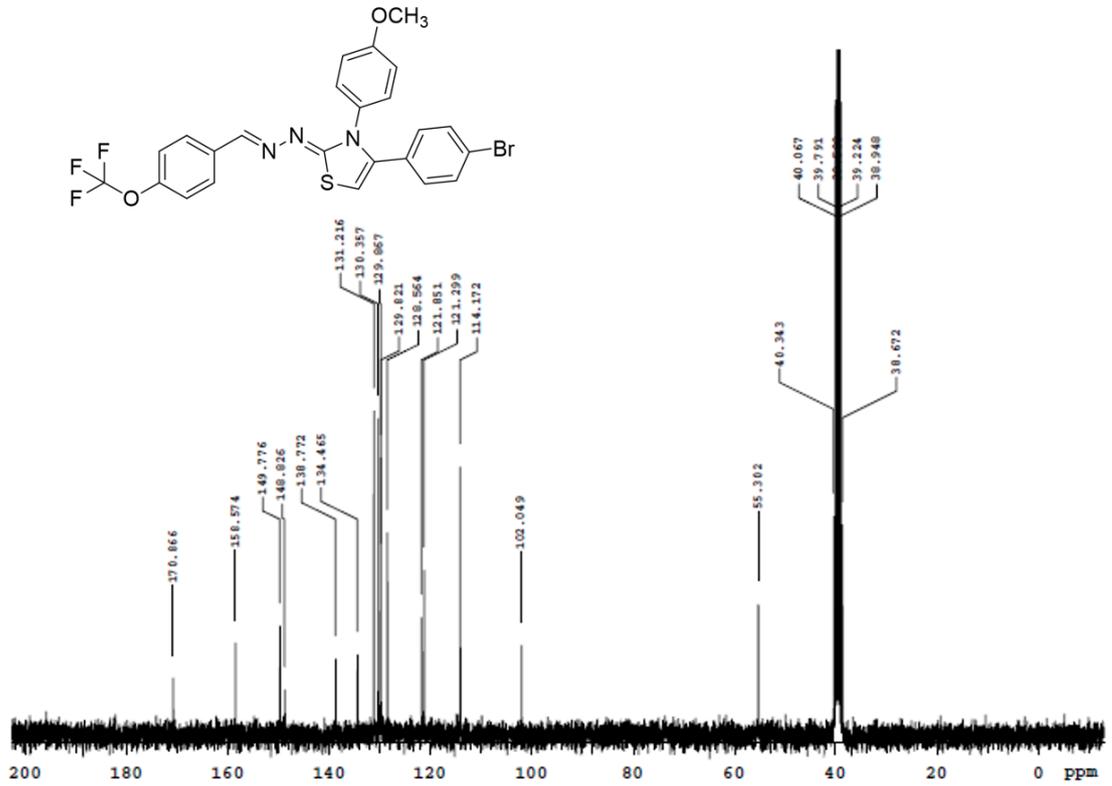
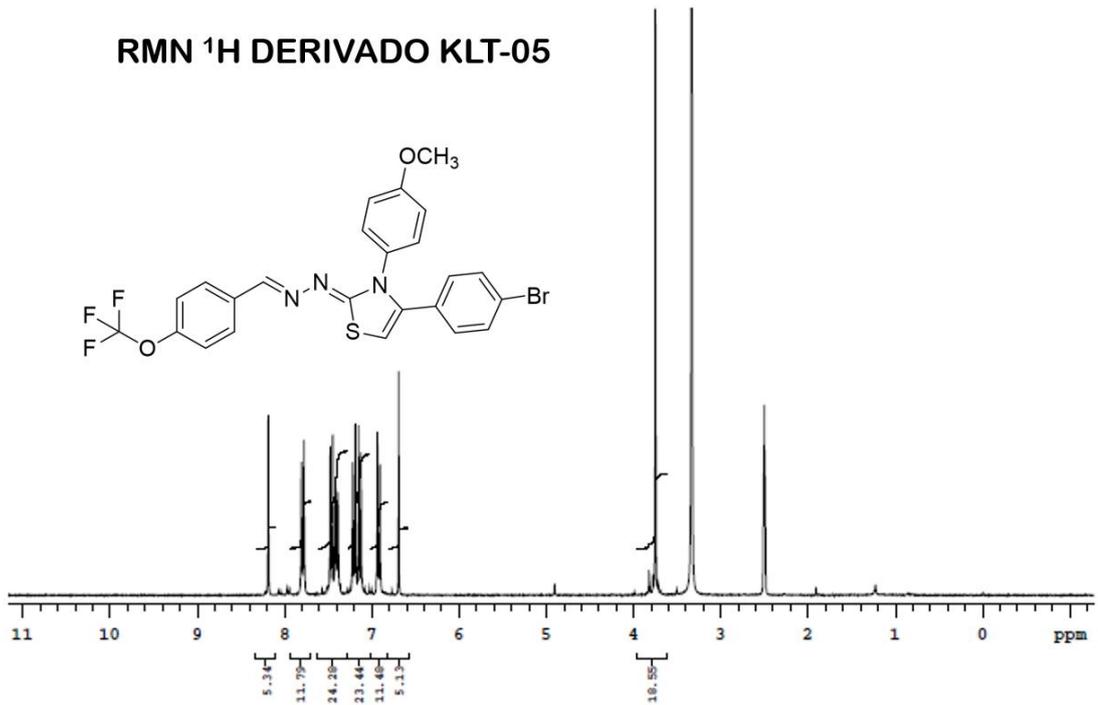
**LQIT/KLT-04**

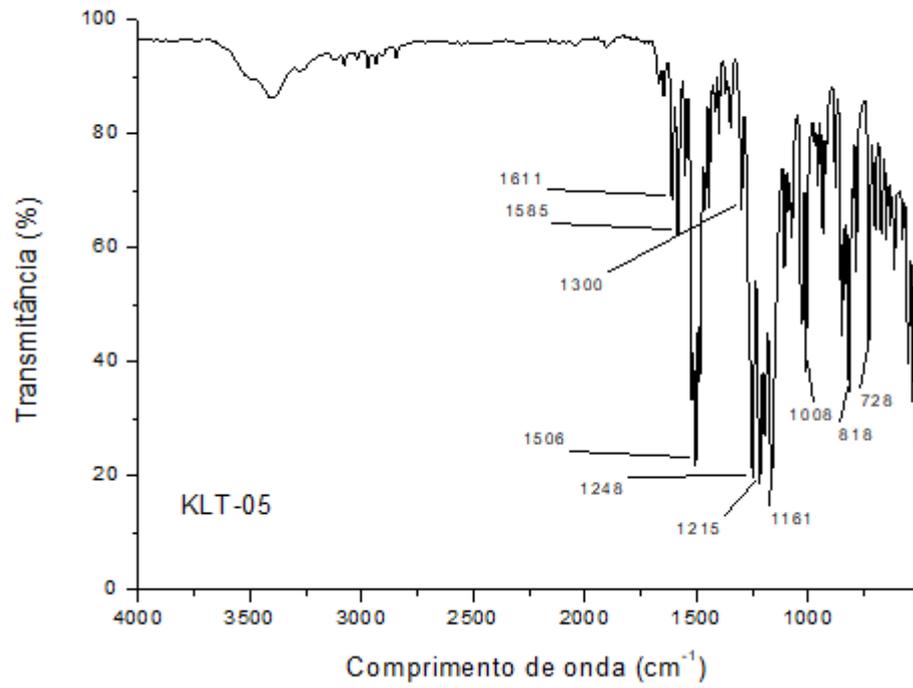
**RMN <sup>13</sup>C DERIVADO KLT-04**



RMN  $^1\text{H}$  DERIVADO KLT-04

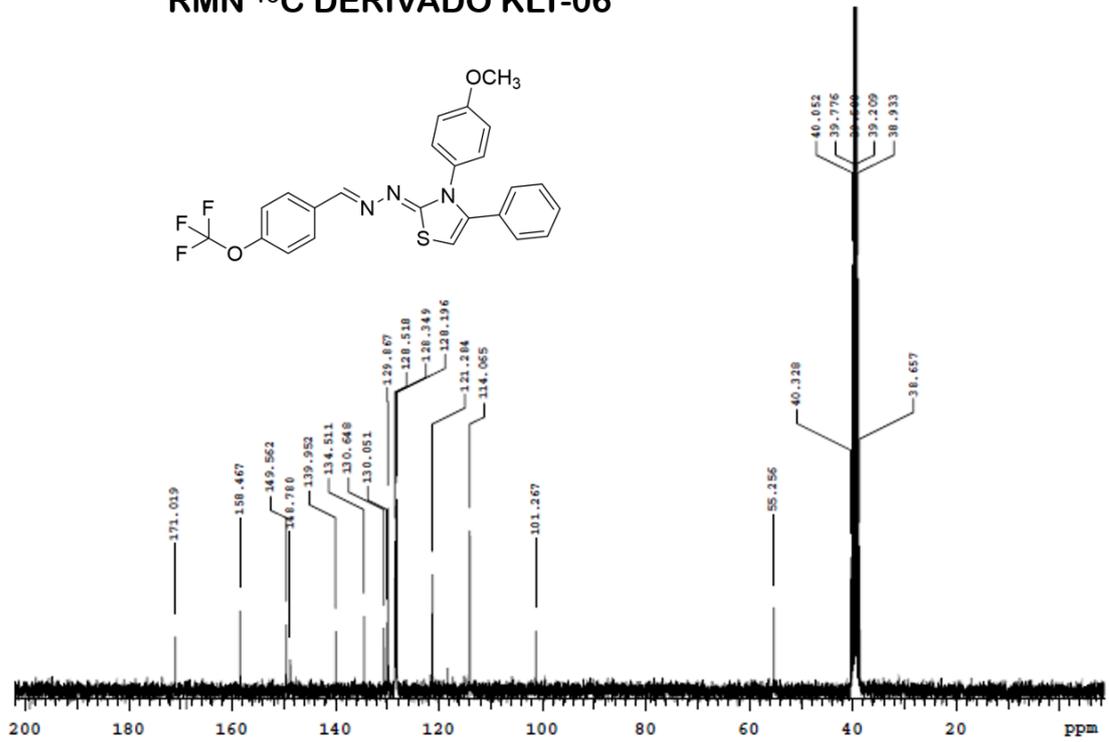
## LQIT/KLT-05

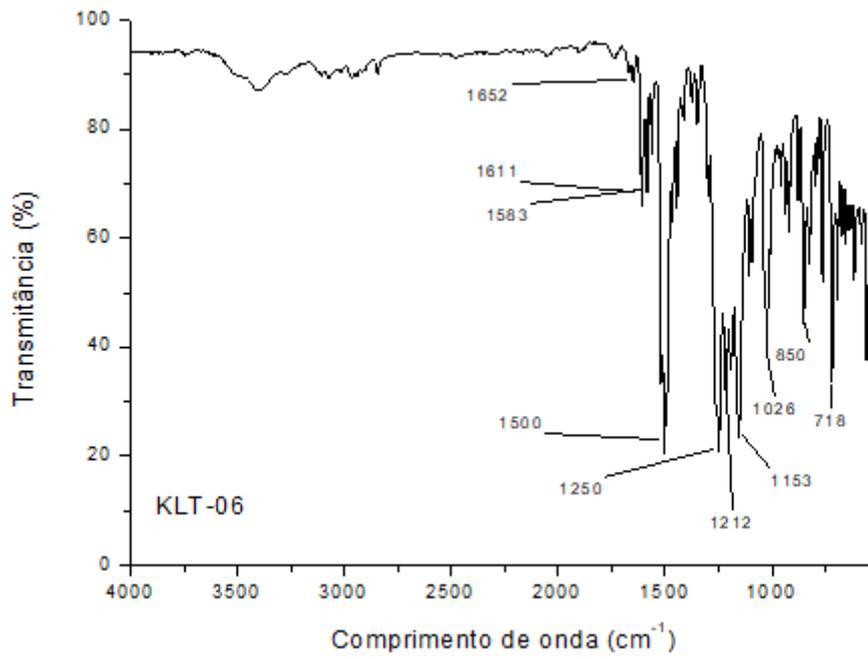
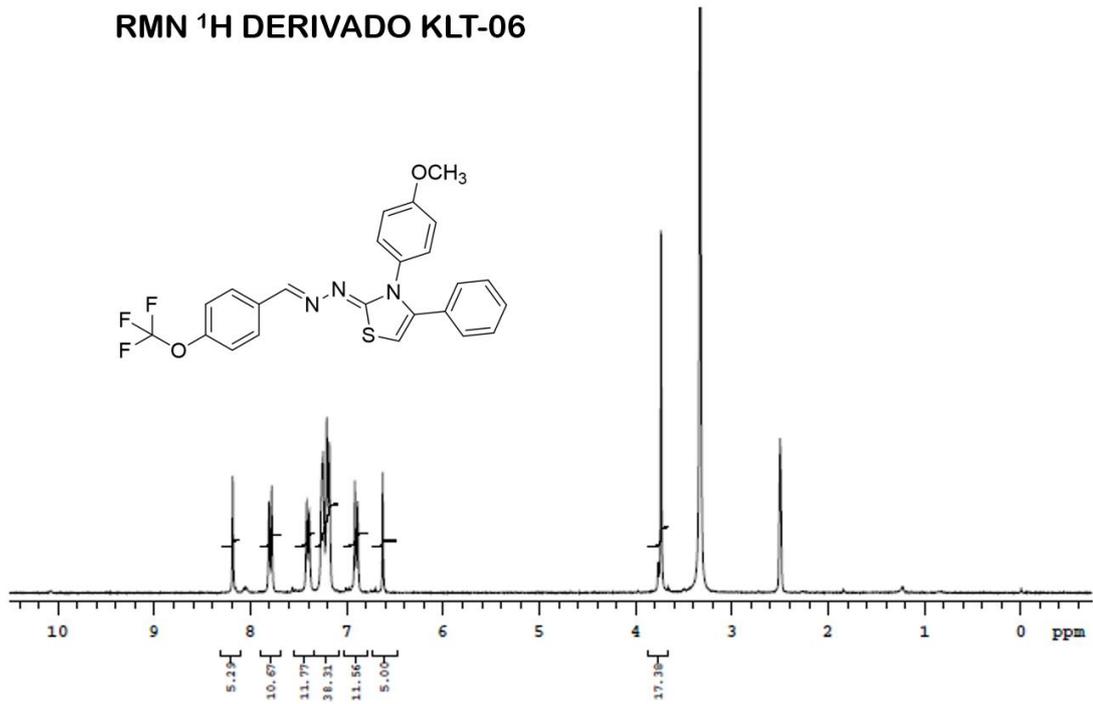
RMN  $^{13}\text{C}$  DERIVADO KLT-05RMN  $^1\text{H}$  DERIVADO KLT-05



### LQIT/KLT-06

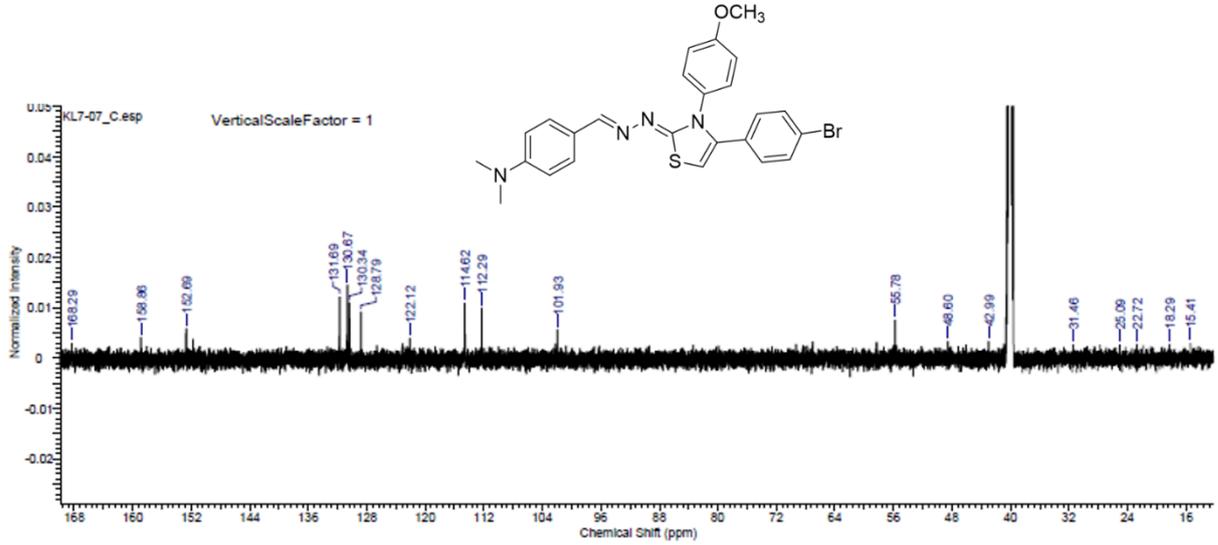
#### RMN <sup>13</sup>C DERIVADO KLT-06



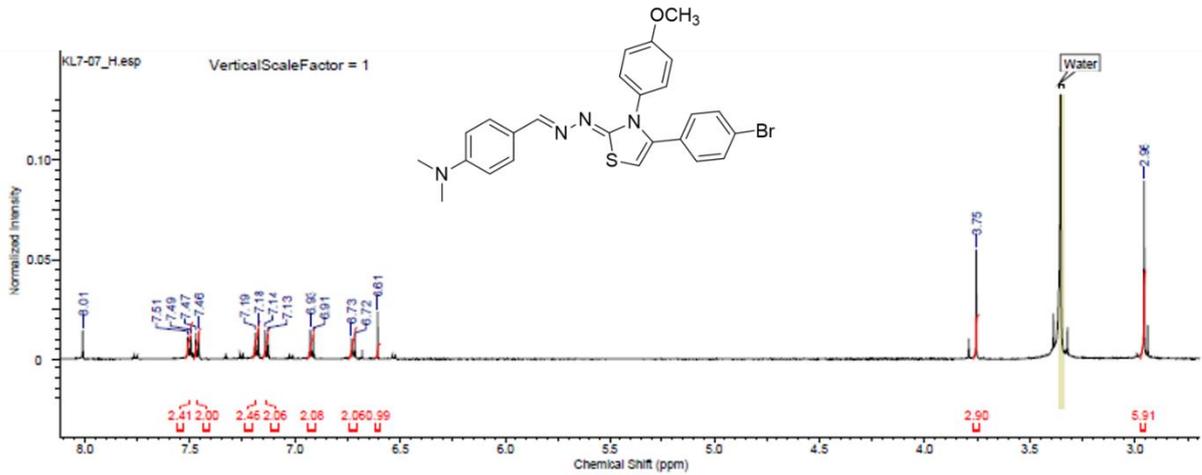
RMN <sup>1</sup>H DERIVADO KLT-06

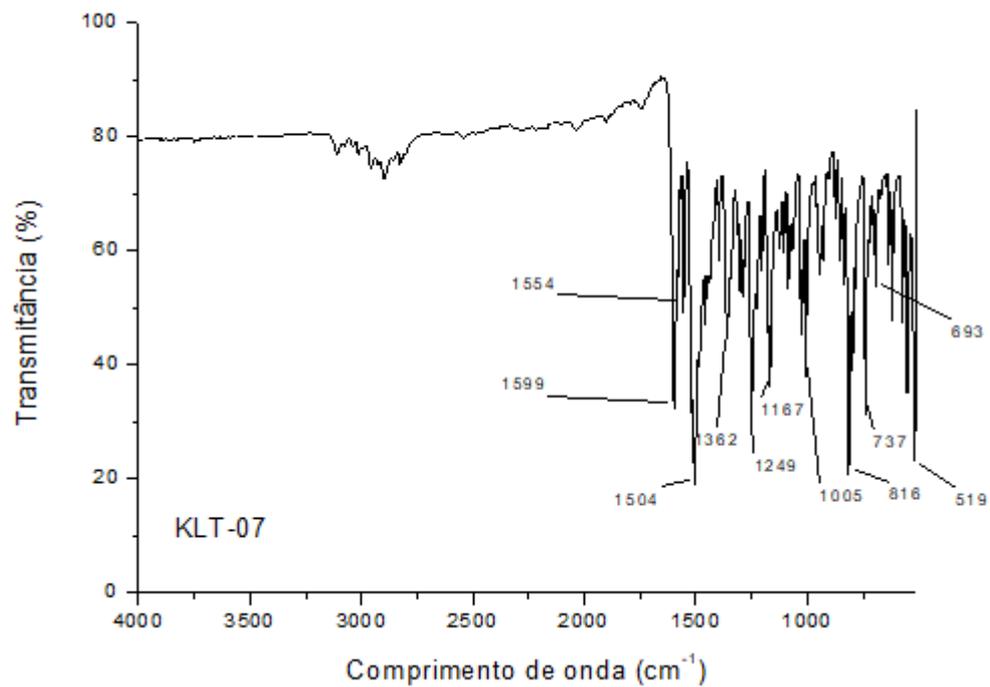
# LQIT/KLT-07

## RMN <sup>13</sup>C DERIVADO KLT-07



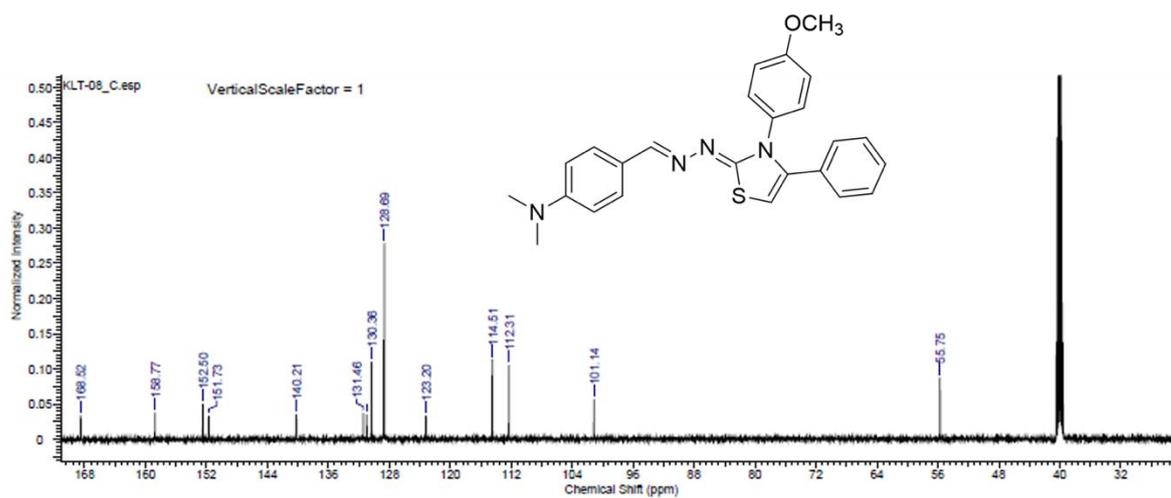
## RMN <sup>1</sup>H DERIVADO KLT-07

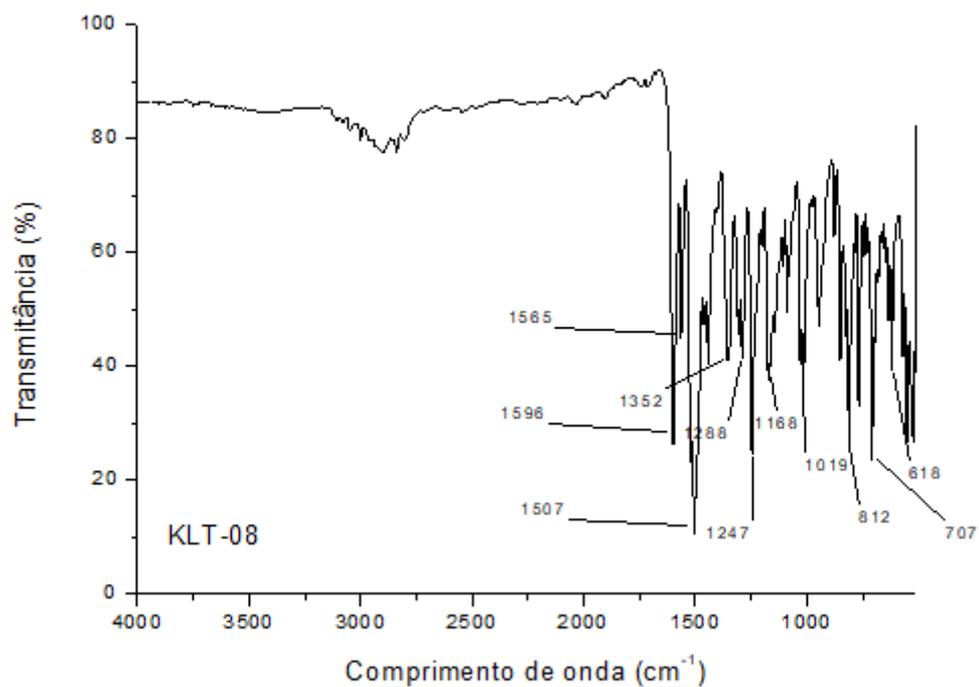
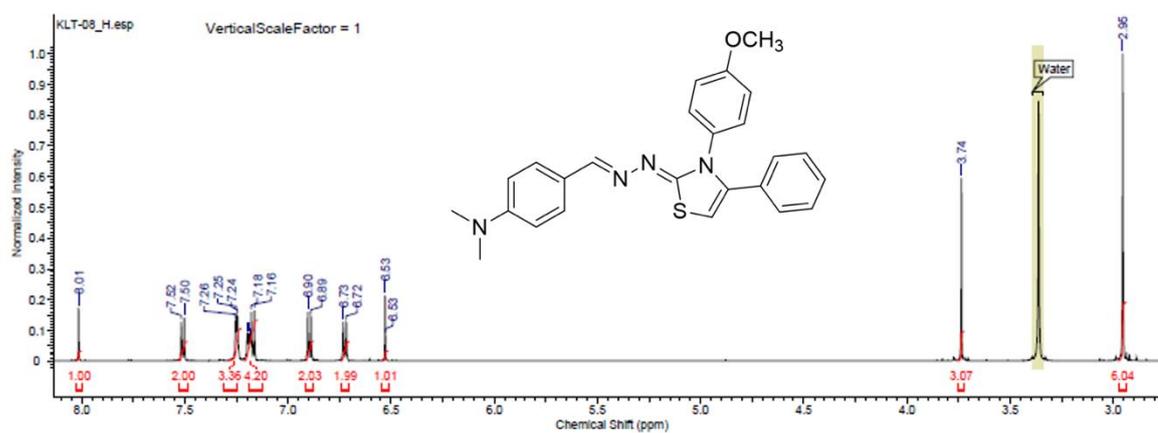




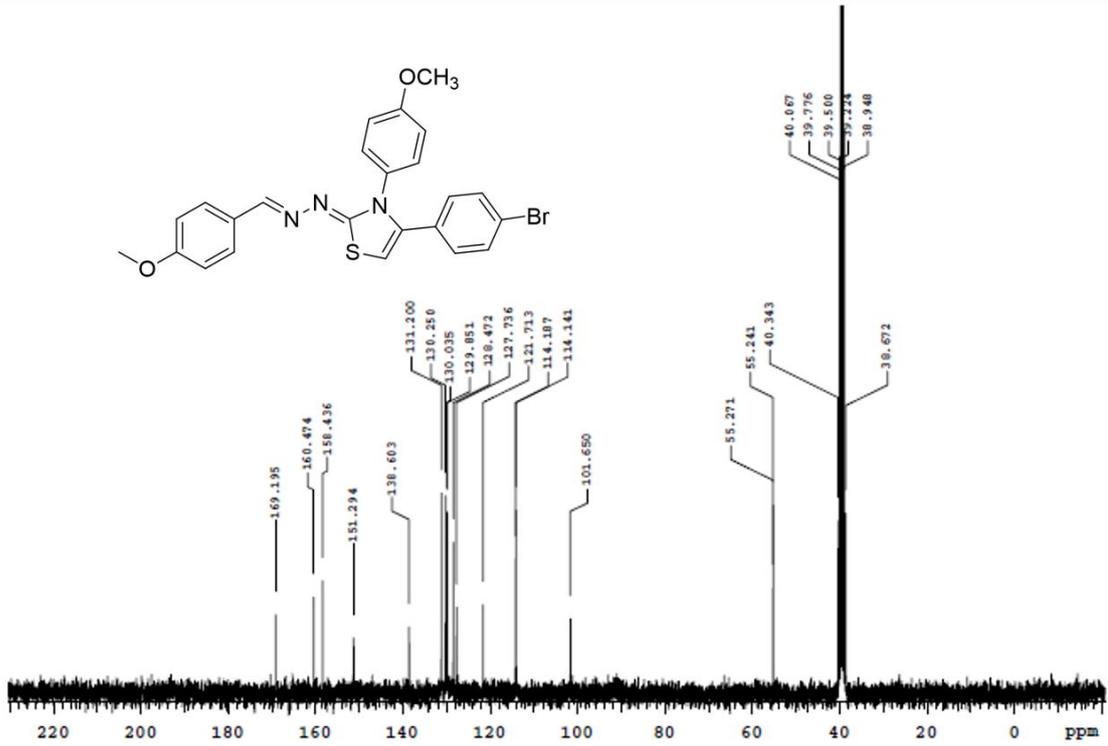
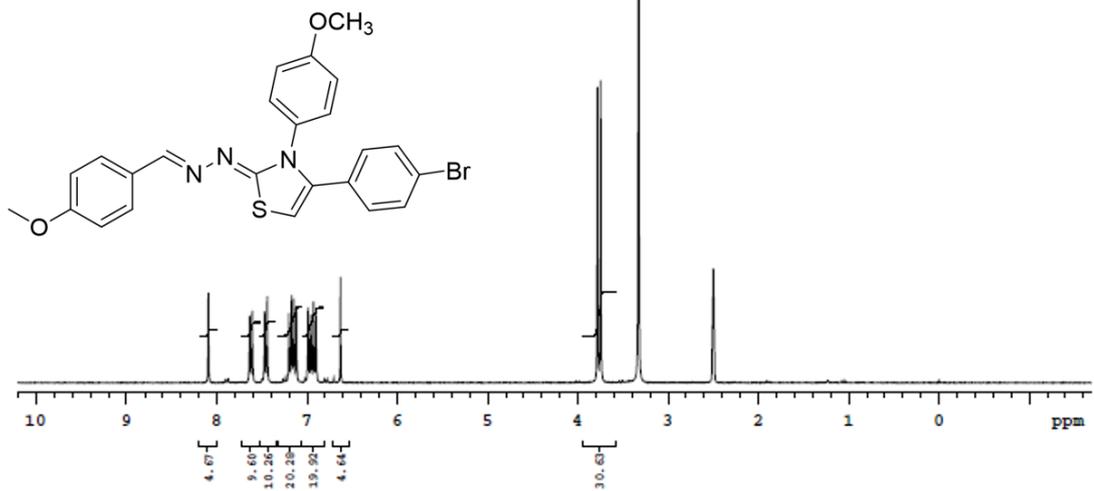
## LQIT/KLT-08

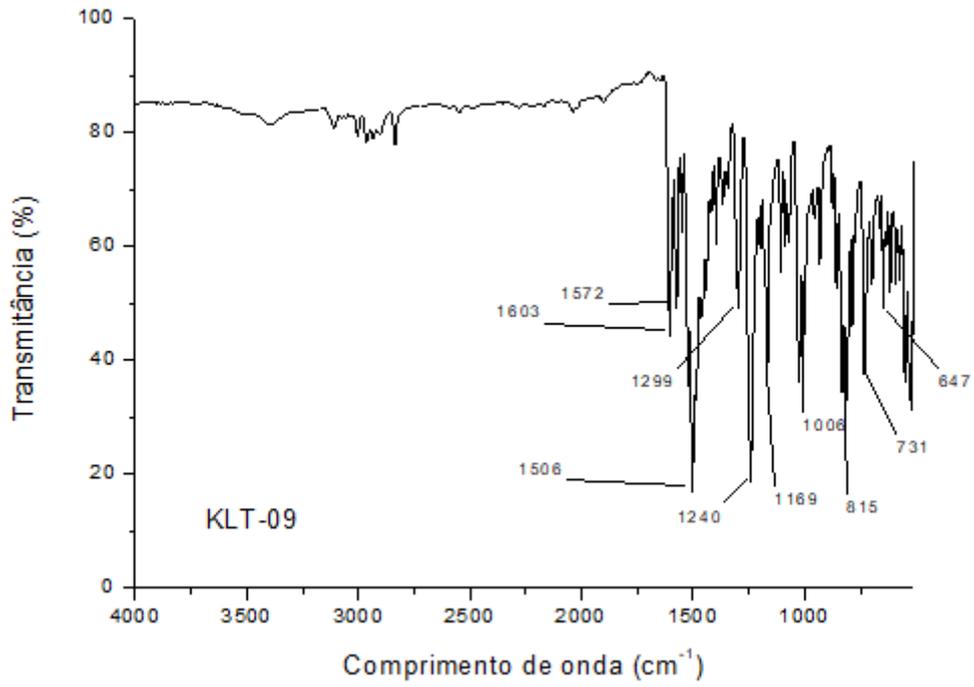
### RMN <sup>13</sup>C DERIVADO KLT-08



RMN  $^1\text{H}$  DERIVADO KLT-08

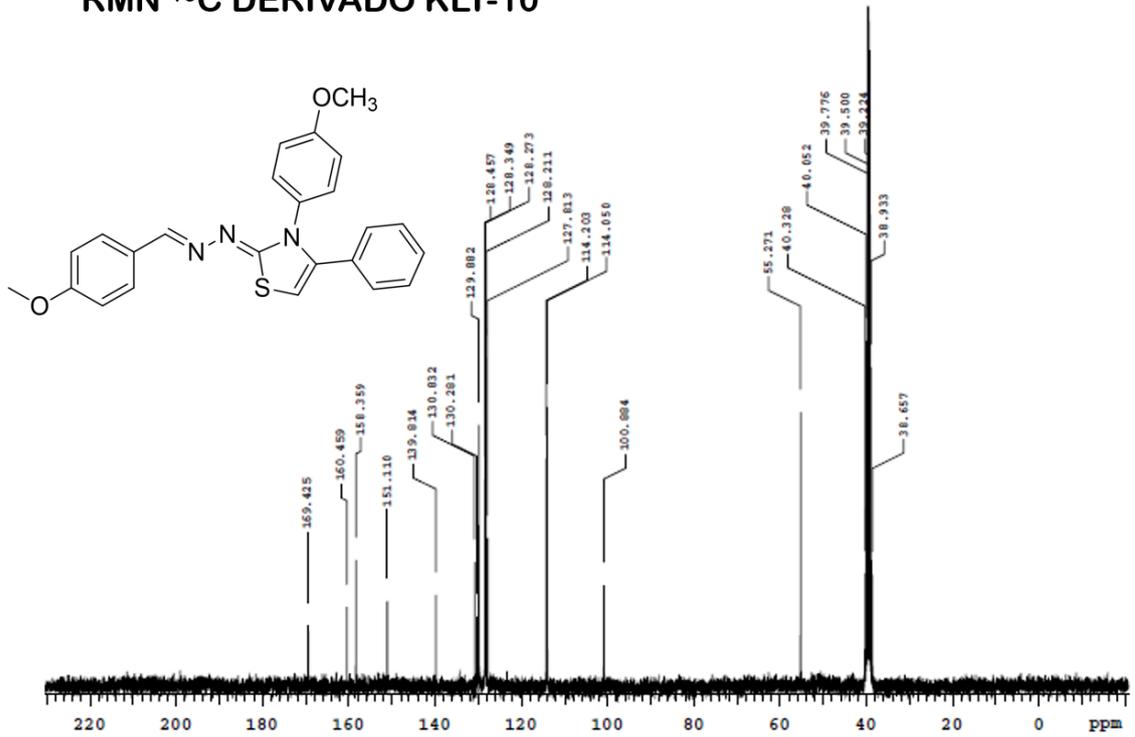
## LQIT/KLT-09

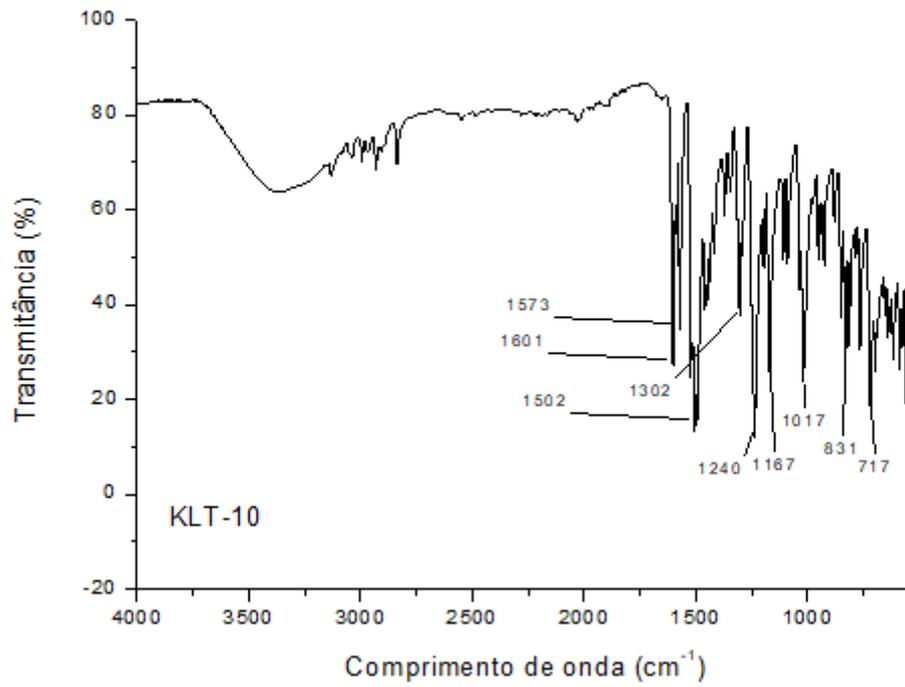
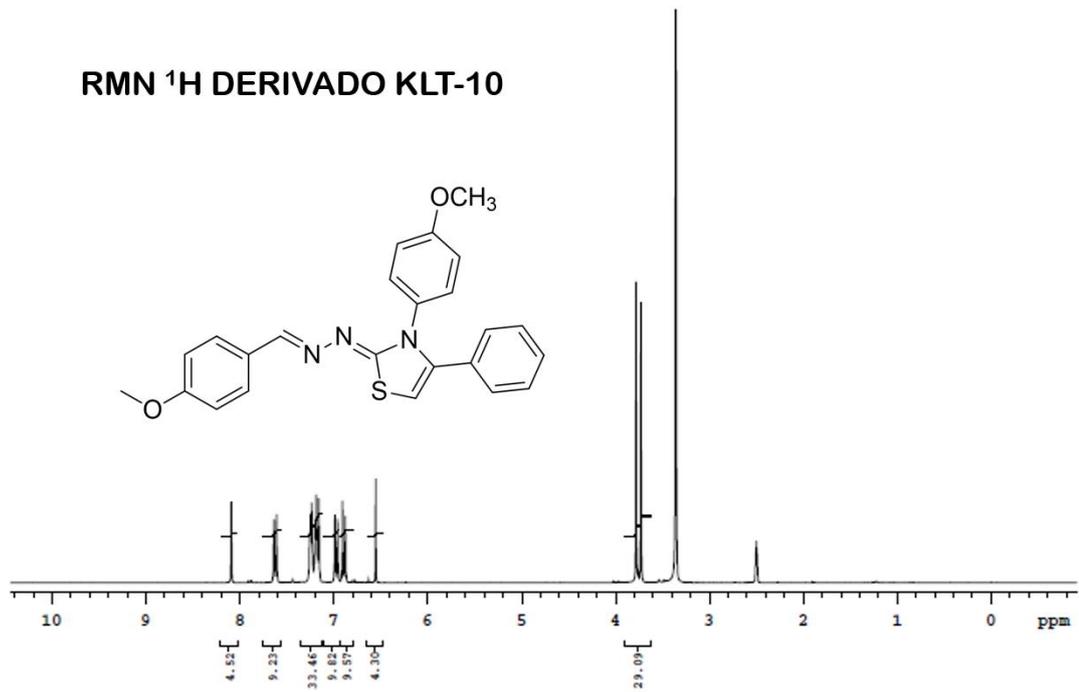
RMN  $^{13}\text{C}$  DERIVADO KLT-09RMN  $^1\text{H}$  DERIVADO KLT-09



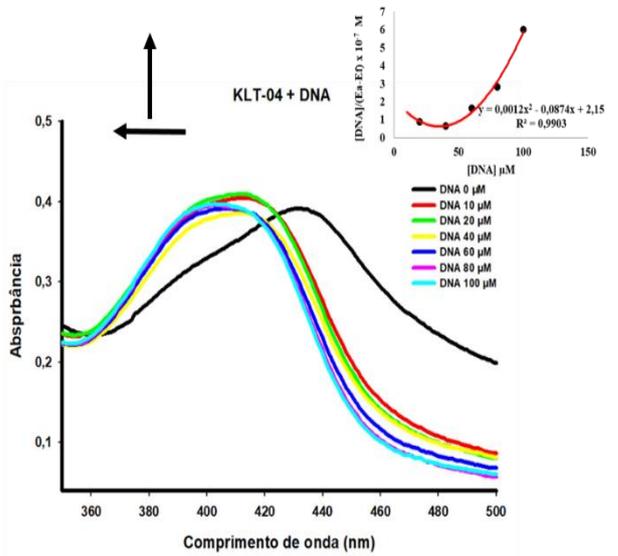
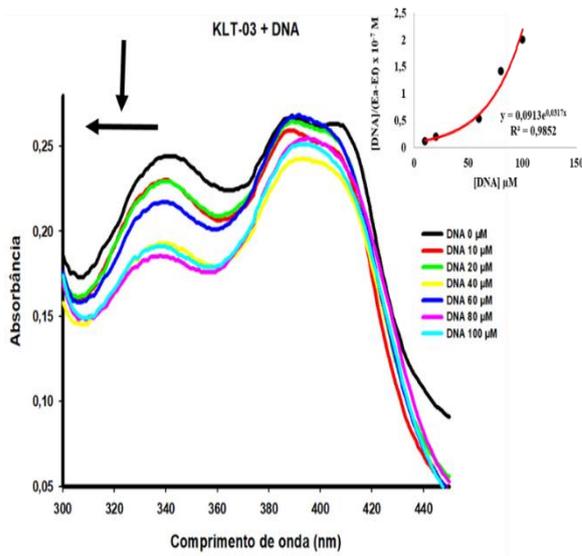
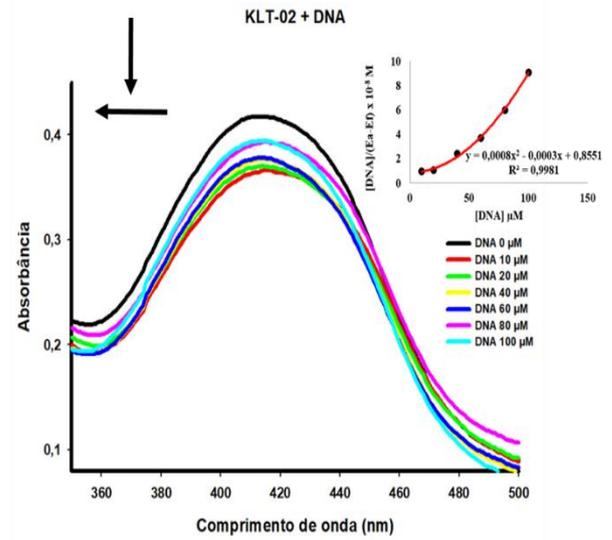
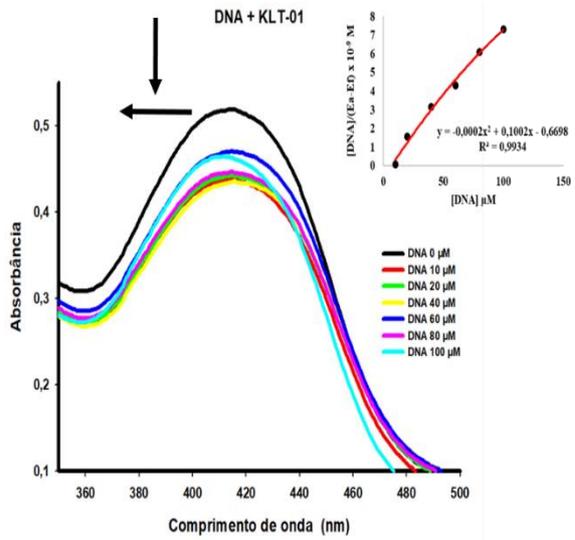
**LQIT/KLT-10**

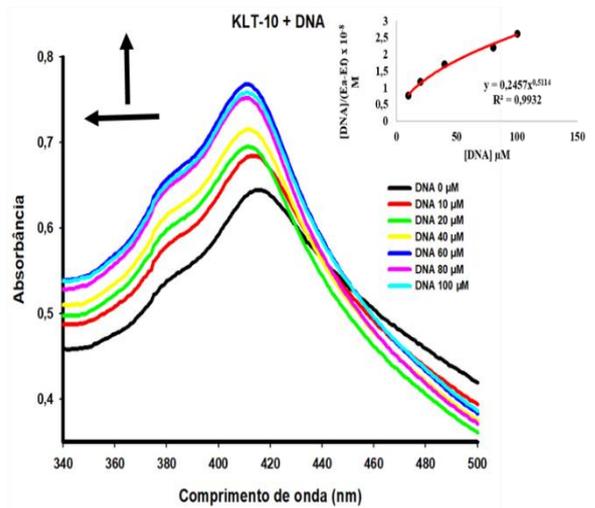
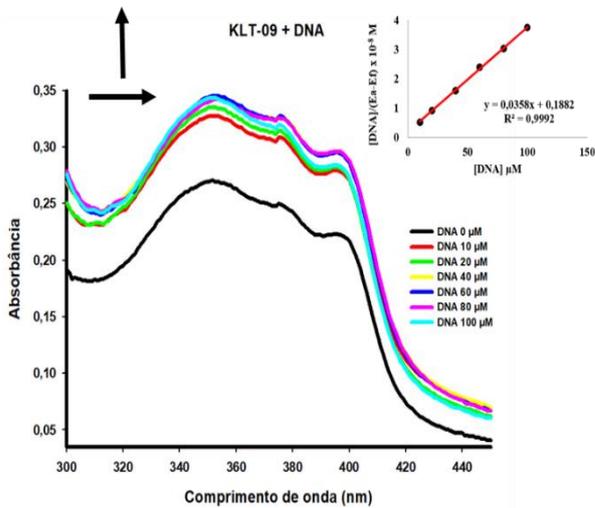
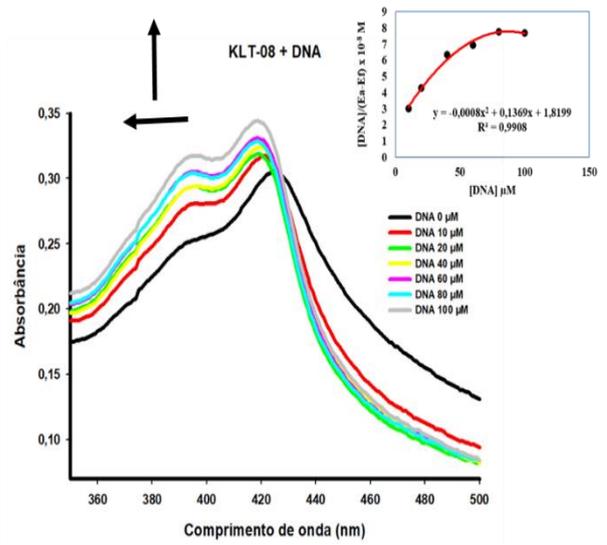
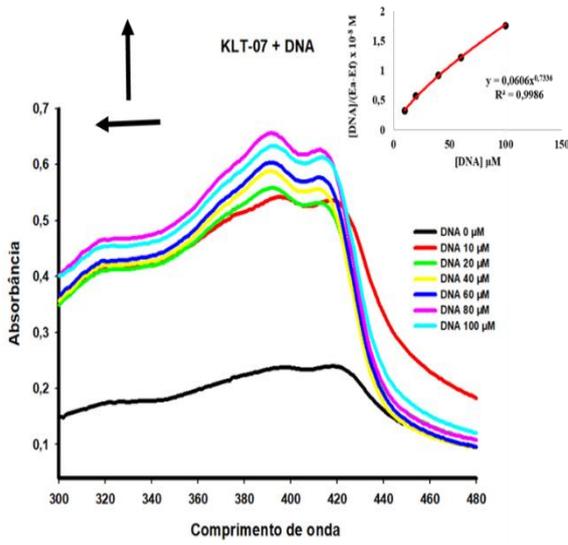
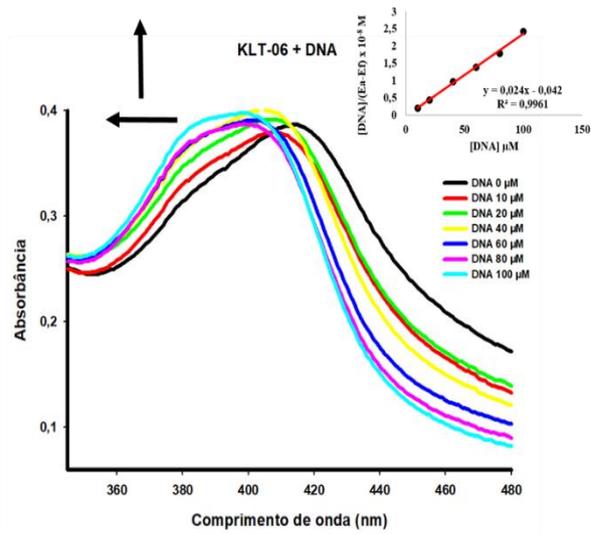
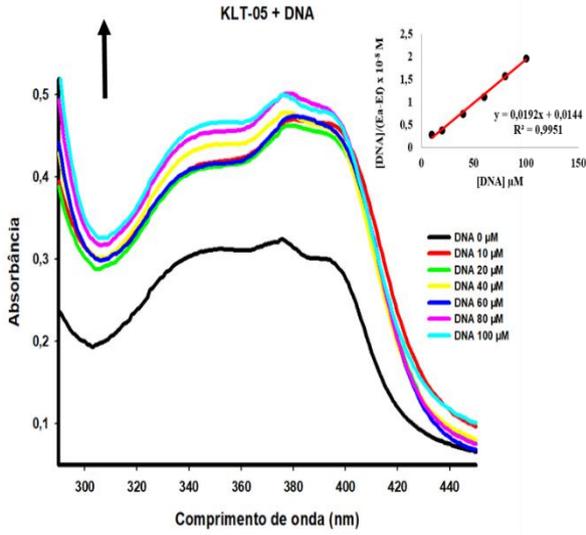
**RMN <sup>13</sup>C DERIVADO KLT-10**



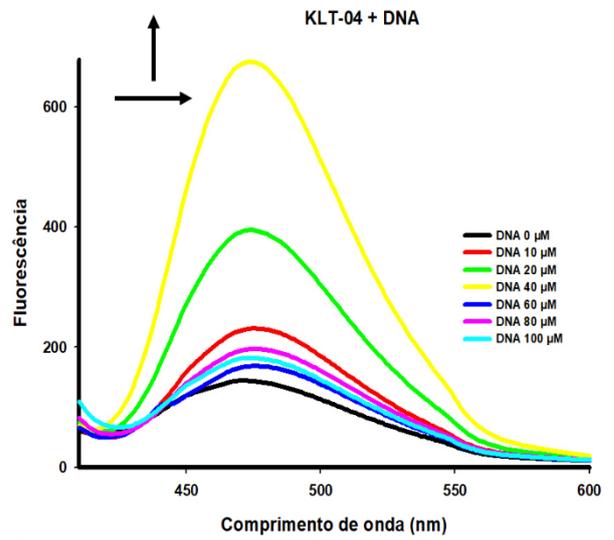
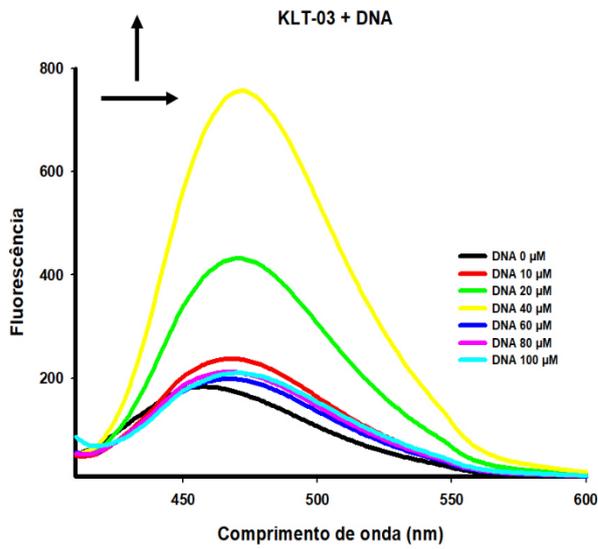
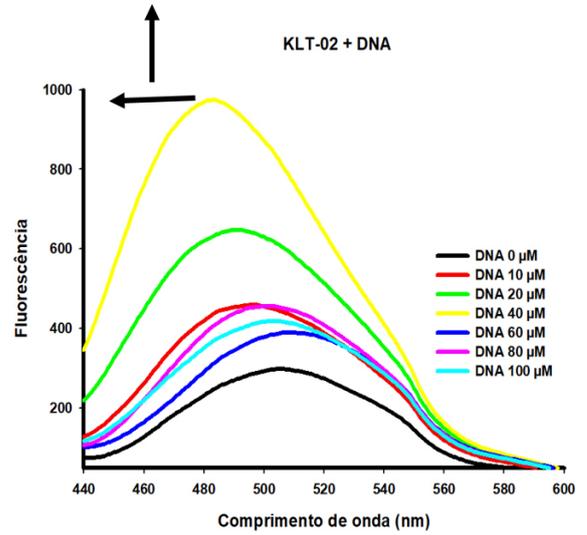
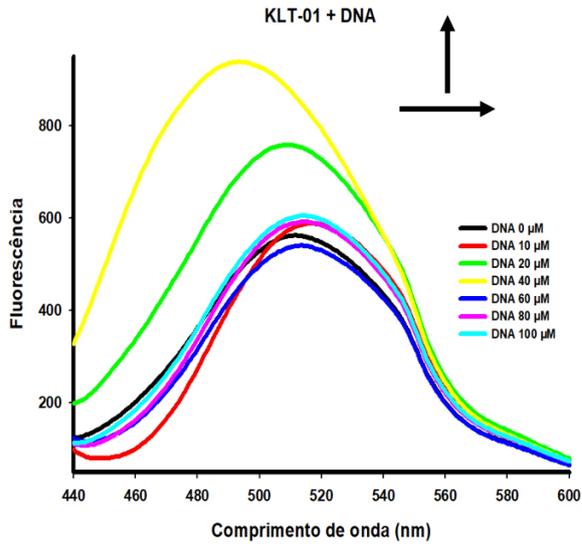
RMN  $^1\text{H}$  DERIVADO KLT-10

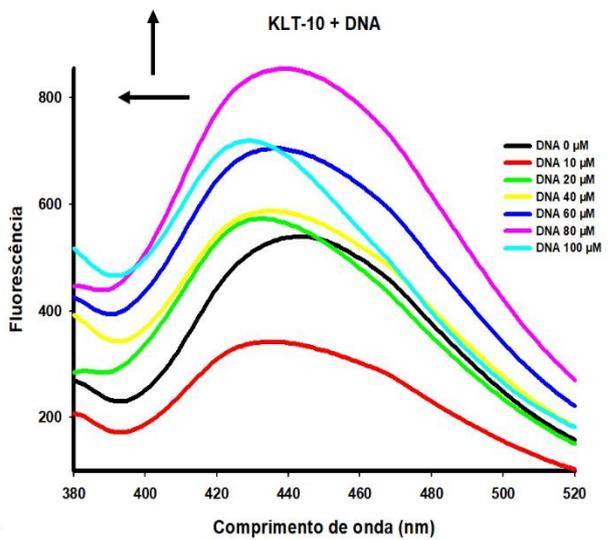
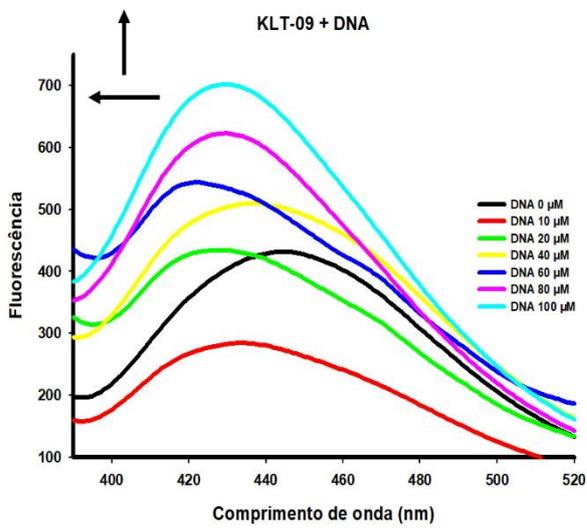
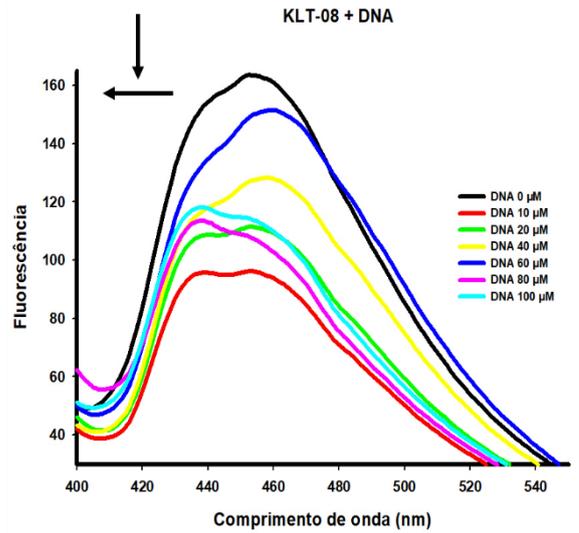
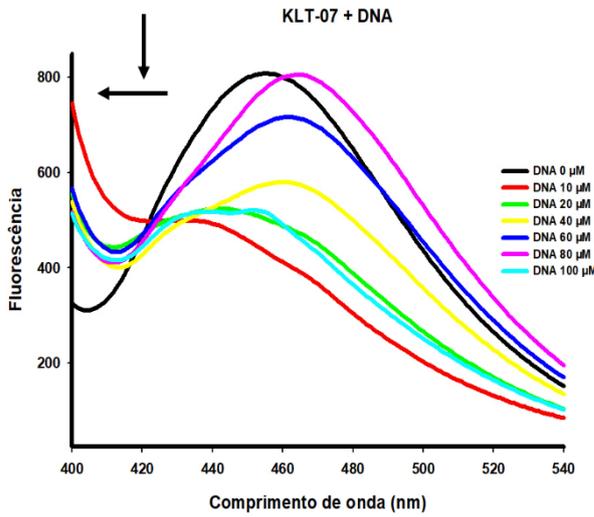
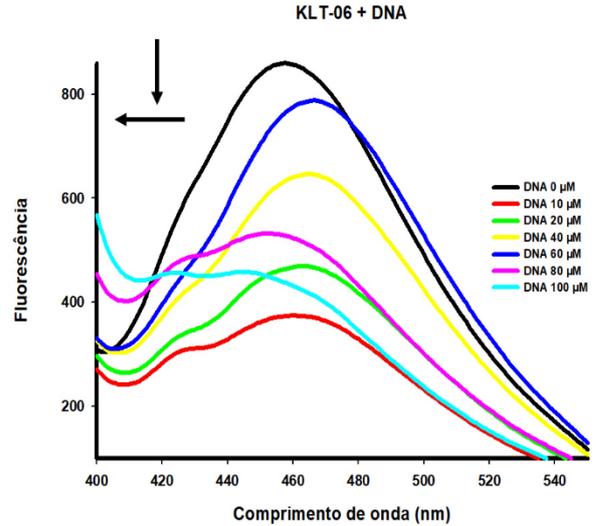
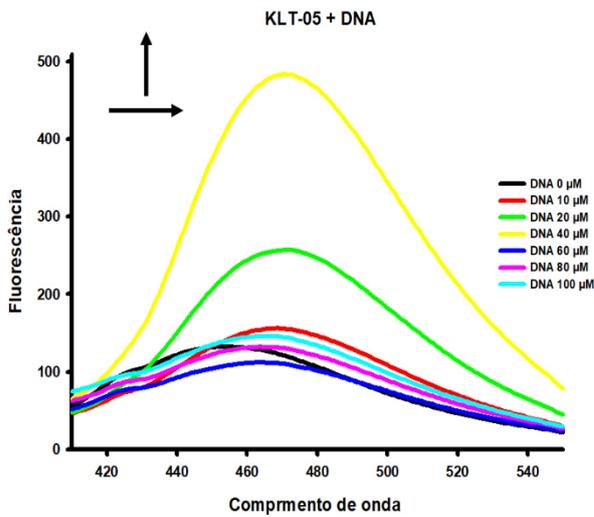
## APÊNDICE B - ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VIS DE INTERAÇÃO ENTRE OS DERIVADOS LQIT/KLT'S E O SSDNA



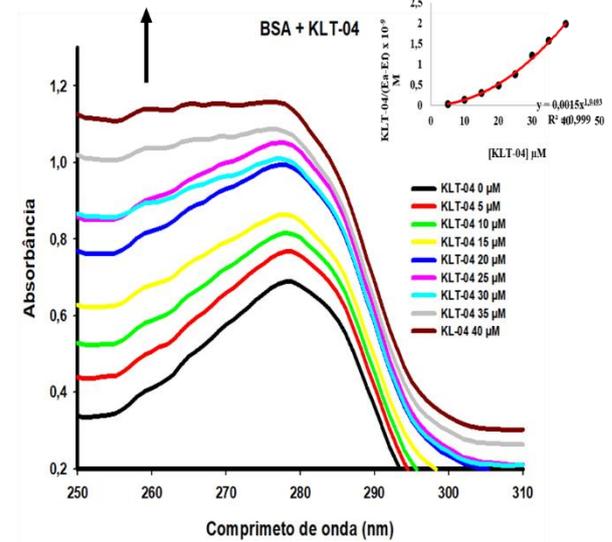
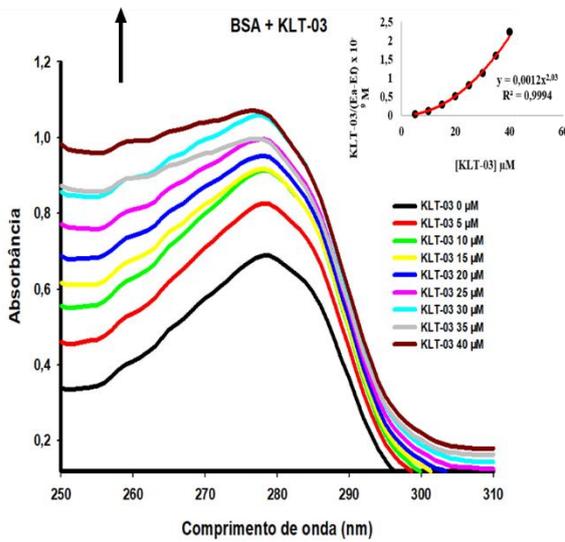
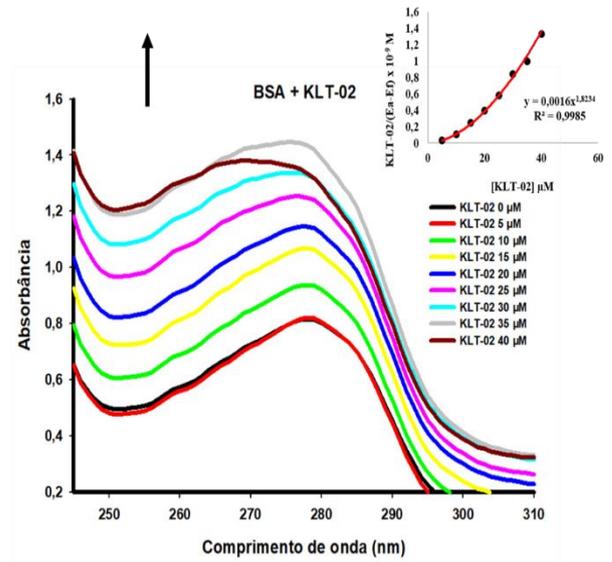
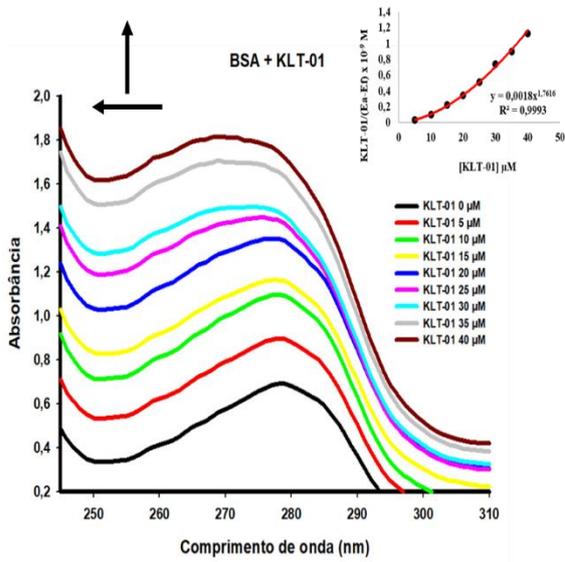


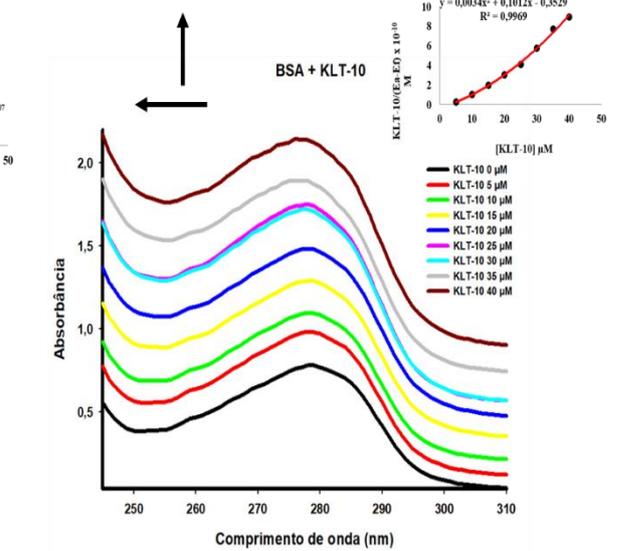
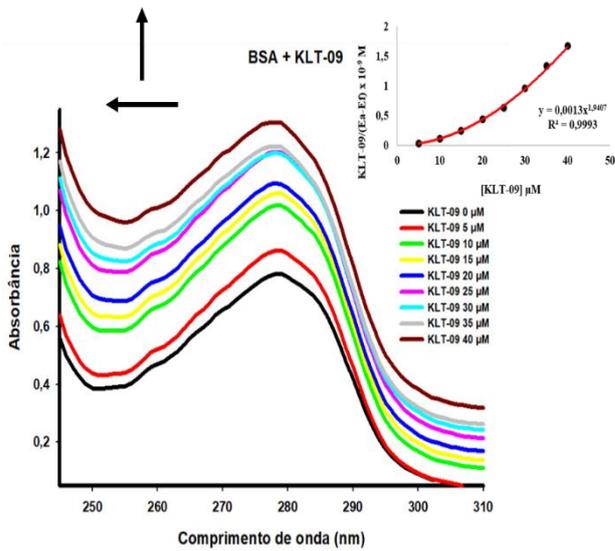
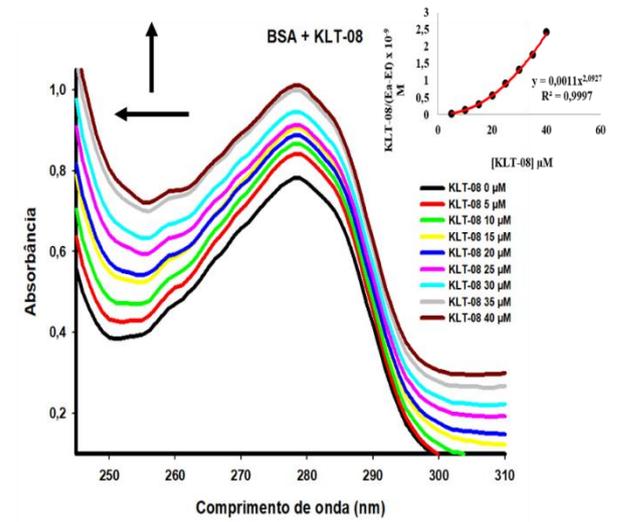
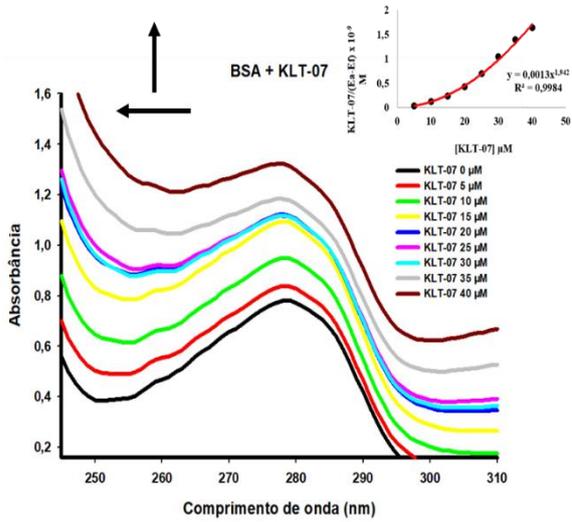
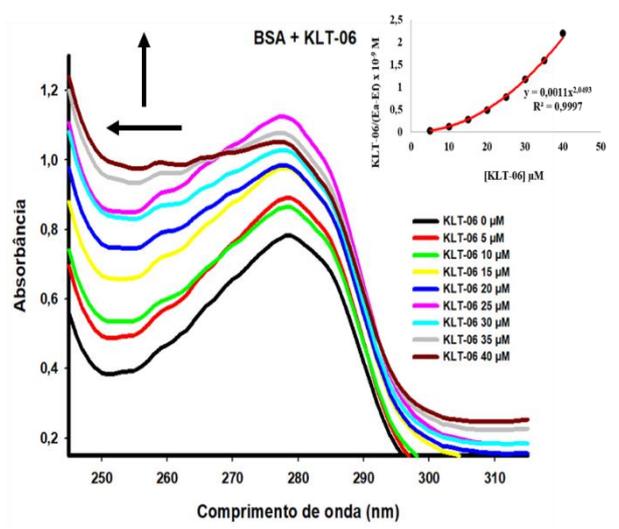
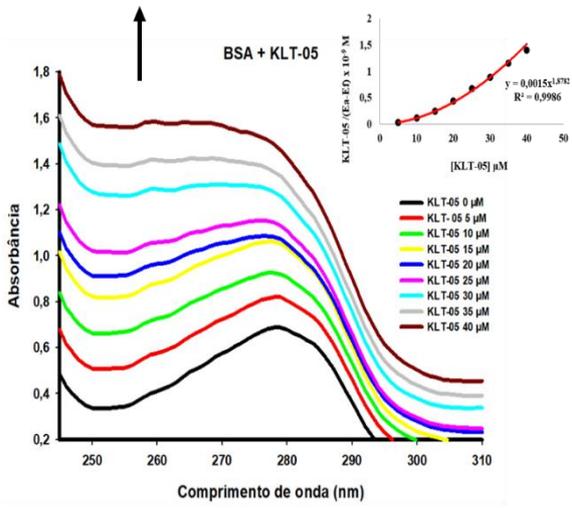
**APÊNDICE C - ESPECTROS DE EMISSÃO FLUORESCENTE DA  
INTERAÇÃO ENTRE OS DERIVADOS LQIT/KLT'S E O SSDNA**





## APÊNDICE D - ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VIS DA INTERAÇÃO ENTRE OS DERIVADOS LQIT/KLT'S E A BSA





## APÊNDICE E - ESPECTROS DE EMISSÃO FLUORESCENTE DA INTERAÇÃO ENTRE OS DERIVADOS LQIT/KLT'S E A BSA

