



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102018002241-5 A2



(22) Data do Depósito: 01/02/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 20/08/2019

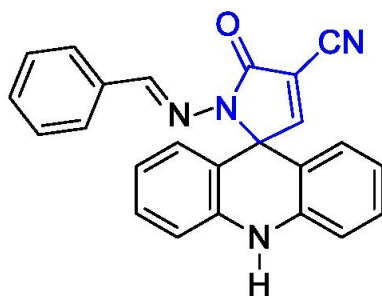
(54) Título: OBTENÇÃO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS BIOTECNOLÓGICAS BASEADOS EM ARQUITETURAS DENDRÍTICAS DE DERIVADO ESPIRO-ACRIDÍNICO

(51) Int. Cl.: A61K 31/15; A61K 47/30; A61K 47/34.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA.

(72) Inventor(es): MARIA DO CARMO ALVES DE LIMA; SEVERINO ALVES JÚNIOR; RICARDO OLIVEIRA DA SILVA; RICARDO OLÍMPIO DE MOURA; SINARA MÔNICA VITALINO DE ALMEIDA; IANE BEZERRA VASCONCELOS ALVES; ANA ROSA GALDINO BANDEIRA; JAMERSON FERREIRA DE OLIVEIRA; CHARLES CHRISTOPHE DU BARRIÈRE MENDES; SANDERSSONILLO DE ALBUQUERQUE DOS SANTOS.

(57) Resumo: A presente invenção se refere a moléculas ativas como sistema de interação de derivado espiro-acridínico AMTAC-01 e o dendrímero bis-MPA com fins de tratamento, profilaxia, paliativa, ou também como diagnóstico de câncer, leishmania, doença de Chagas e malária. O sistema de interação obtido sugere uma melhoria na solubilidade do AMTAC01. No teste em modelos experimentais in vitro o espectro de absorção do sistema de interação AMTAC-01/bis-MPA na presença de DNA sugere maior força de interação entre o DNA e o AMTAC-01/bis-MPA. A inibição enzimática topo IIa humana sugere uma mudança na conformação da estrutura da dupla hélice do DNA, com melhoria da inibição do alvo enzimático.



OBTENÇÃO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS BIOTECNOLÓGICAS BASEADOS EM ARQUITETURAS DENDRÍTICAS DE DERIVADO ESPIRO-ACRIDÍNICO

01. A presente invenção se refere a moléculas ativas como sistema de interação de derivado espiro-acridínico o 3-(acridin-9-il)-*N*-benzylideno-2-cianoacrilohidrazida (AMTAC-01) e o polímero monodisperso sintético Dendrímero (*bis*-MPA) como uma alternativa para incremento de solubilidade em meio aquoso. Em especificamente, o sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA da presente invenção referem-se a sistemas de interação úteis a serem utilizados na saúde humana e/ou animal com fins de tratamento, profilaxia, paliativa, ou também como diagnóstico de câncer, leishmania, doença de Chagas e malária.

02. Os Dendrímeros mostram-se como estruturas promissoras no desenvolvimento e no sistema de distribuição de fármacos, visando a diminuição da dose administrada e uma maior eficácia terapêutica. Dendrímeros são polímeros monodispersos sintéticos com repetidas arquiteturas ramificadas e altamente estruturada, adotando uma forma tridimensional globular.

03. As aplicações dos dendrímeros são muito diversas. Eles podem ser usados em física, orgânica química, aplicações biomédicas, catálise e como agentes solubilizantes. A sua bio-compatibilidade e toxicidade e suas aplicações em nanociências, nanotecnologias, entrega de moléculas ativas e entrega de genes também são importantes (Šebestík, Niederhafner and Ježek, 2011; Šebestík, Reiniš and Ježek, 2012; Chabre and Roy, 2010; Chabre and Roy, 2008; Tomalia, 2005; Astruc, Boisselier and Ornelas, 2010; Tomalia, 2009; Svenson, 2009; Svenson and Chauhan, 2008; Svenson and Tomalia, 2005).

04. Diversos derivados espiro-acridínicos em sistemas de interação a dendrímeros podem servir utilizados como inibidores da topoisomerase II. Os sistemas de interação formados devido a maior solubilidade e semi-vidas prolongadas, são superiores ao correspondente derivado espiro-acridínico AMTAC-01 no tratamento de vários tipos de câncer. Além disso, vários Ação de derivados espiro-acridínicos

AMTAC-01 no sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA aumentam significativamente a atividade biológica (Figura 1).

05. Na preparação do sistema de interação foram utilizados o polímero monodisperso sintético dendrímero *bis*-MPA (*hyperbranched bis-MPA pc generation 4*), adquirido direto da Sigma-Aldrich/Brasil e o derivado espiro-acridínico o 3-(acridin-9-il)-*N*-benzylideno-2-cianoacrilohidrazida (AMTAC-01), obedecendo a uma proporção de 1:1; 2:1 e/ou 3:1 partes da espiro acridina (AMTC01) para do polímero dendrímero (*bis*-MPA), em massa/massa, utilizando como solventes clorofórmio, etanol absoluto, metanol, acetona e/ou acetato de etila da Sigma-Aldrich/Brasil. Os recipientes âmbar contendo as misturas solidas e o respectivo foram mantidos sobre agitação levemente aquecidos a uma temperatura variando entre 25 à 30°C e/ou temperatura ambiente, durante 12; 24; 48; 72; 92 horas.

06. A espectroscopia na região do infravermelho foi utilizada como ferramenta auxiliar na caracterização da espiro acridina (AMTAC01), do dendrímeros (*bis*-MPA) e do sistema molécula/dendrímeros (AMTAC01/*bis*-MPA), através das bandas características dos grupos funcionais presentes. Em 3293 cm⁻¹, podemos observar uma banda de média intensidade característica da deformação axial da ligação N–H de um grupamento amina. Na região de 1707 cm⁻¹ encontramos uma banda de deformação axial da ligação C=O, característica de carbonila. Em 1483 cm⁻¹ observamos uma banda que pode ser atribuída à uma deformação axial da ligação N=C. Em 1335 cm⁻¹ observa-se uma banda característica de uma ligação tripla de C e N. E uma banda em 757cm⁻¹, atribuída à deformação angular C–H fora do plano do anel aromático.

07. No espectro IV do dendrímero *bis*-MPA, na região de 3676cm⁻¹ podemos observar uma banda de baixa intensidade característica da deformação axial da ligação O–H de grupamento hidroxila. Em 2967 cm⁻¹ observa-se uma banda de deformação axial da ligação C–H do grupo metileno. Na região de 1736 cm⁻¹ encontramos uma banda de deformação axial da ligação C=O, característica de carbonila. Na região 1475 cm⁻¹ podemos observar uma banda referente à deformação angular assimétrica do grupamento CH₃. Já em 1046 cm⁻¹, a banda refere-se à deformação axial da ligação C–O, características de álcoois primários.

08. O espectro de IV obtido a partir do sistema de interação AMTAC01/*bis*-MPA, onde pode-se identificar um deslocamento na banda larga, característica da ligação de O–H na região de 3676 cm^{-1} para a região de 3284 cm^{-1} , associada a uma banda na região de 3182 cm^{-1} , característica de uma ligação de N–H, o que pode ser um indicativo de que o AMTAC01 apresenta poucos sítios receptores, sugerindo uma possível interação entre as duas substâncias. Na região de 1716 cm^{-1} encontramos uma banda de média intensidade que pode ser característica de uma ligação dupla entre C e N, e em 1614 cm^{-1} uma banda intensa característica de grupamentos carbonilados. Em aproximadamente 1437 podemos observar ligações característica de C=N. E na região de 803 cm^{-1} , sugerimos ligações em carbonos com hibridação sp^3 (Figura 2).

09. Na microscopia eletrônica de varredura foi avaliado a topografia do AMTAC01, dendrímero *bis*-MPA e do sistema de interação AMTAC01/*bis*-MPA. A superfície do Dendrímero *bis*-MPA. As imagens mostram que o polímero possui uma superfície irregular e rugosa característica de um material amorfo. Já as imagens do AMTAC01 observamos que a superfície se apresenta de forma cristalina e sugere uma morfologia de um sólido organizado, em formato de agulhas, corroborando com os picos obtidos no seu difratograma, característico de um material cristalino. Para os sistemas de interação AMTAC01/*bis*-MPA, foram obtidas imagens para uma mistura física – mistura dos dois componentes, em iguais proporções e sem adição de nenhum solvente – e para o sistema de interação (Figura 3).

10. A avaliação da solubilidade foi realizada usando a espectroscopia UV-Visível com o objetivo de averiguar o aumento da solubilidade em água do AMTAC01 na presença do dendrímero *bis*-MPA, através da absorbância. Durante a análise foram monitorados os comprimentos de onda máximo do AMTAC01, e observamos os comprimentos de onda máximos referentes aos cromóforos do AMTAC01, bem como os valores correspondentes da absorbância. Observa-se os valores dos comprimentos de onda máximos em λ_{max} $2,52\text{ nm}$ com absorbância em $2,63\text{ A}$, em λ 276 nm com absorbância em $1,93\text{ A}$ e em λ 348 nm com absorbância em $0,47\text{ A}$. Com relação ao sistema de interação AMTAC01/*bis*-MPA observamos que no espectro do sistema de interação podemos visualizar uma diminuição da absorbância para os três comprimentos

de onda (λ) indicados e o aparecimento de uma absorção em λ 213 nm com absorbância em 2,71 A característica do dendrimero *bis*-MPA. Sugerindo que o sistema de interação obtido conduz a uma melhorar na solubilidade do AMTAC01 (Figuras 4 e 5).

11. Para a análise das interações com DNA (Sigma-Aldrich SP-Brasil) foi utilizado o solvente DMSO (Sigma-Aldrich SP-Brasil) na preparação das soluções mãe e tampão Tris-HCl (0.01 M, pH 7.6). O DNA (Sigma-Aldrich SP-Brasil) de timo bovino (ctDNA, do inglês *calf tymus*) foi obtido da Sigma-Aldrich (SP-Brasil) e utilizado sem purificação adicional. Os aparelhos aplicados para a análise e obtenção dos espectros de Ultravioleta-visível (UV-vis) e de emissão de fluorescência foram o Espectrofotômetro de UV-vis Ultraspec 3000 PRO e o Espectrofluorímetro de JASCO FP-6300 (Tóquio, Japão).

12. Na Preparação de ct-DNA as titulações de espectros UV-Vis foram realizadas utilizando o tampão Tris 0.01 M, pH 7.6. A solução de ctDNA em tampão Tris foi sonicada durante 5-10 minutos e a concentração determinada através dos coeficientes de extinção molares $6.600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 260 nm (WOLFE et al., 1987). A pureza do DNA (A pureza do DNA (DNA (ctDNA) Saint Louis, MO, USA Sigma-Aldrich SP-Brasil)) foi determinada através da monitorização do valor da relação de A260/A280.

13. O sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA foi dissolvido em DMSO na concentração de 1 mM (solução-mãe) a partir do qual as soluções de trabalho foram elaboradas por diluição utilizando tampão Tris-HCl, com concentrações entre 10 e 80 μM do *bis*-MP AMTAC-01/*bis*-MPA

14. Sob concentração otimizada, o AMTAC-01/*bis*-MPA foi exposto a concentrações crescentes do ctDNA (0-120 μM). Antes das medições, o sistema foi agitado e incubado à temperatura ambiente durante 10 minutos. As medições foram realizadas em uma cubeta de quartzo retangular com comprimento óptico de 1 cm. A constante de ligação intrínseca (K_b) foi obtida por ajuste dos dados à equação (MCGHEE e VON HIPPEL, 1974):

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

15. Onde, ϵ_a é o coeficiente de extinção molar aparente; ϵ_b , o coeficiente de extinção molar do composto ligado ao DNA; e ϵ_f , o coeficiente de extinção molar livre de composto.

16. O gráfico da equação reduzida da reta $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus $[\text{DNA}]$ foi utilizado para obtenção do K_b a partir da razão entre a inclinação (slope) e o intercepto $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus $[\text{DNA}]$. Os dados da ligação com DNA foram obtidos utilizando o software SigmaPlot 10.0®.

17. A medição de fluorescência do sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA foi realizada em solução de concentração 15 μM em tampão Tris 0.01M, pH 7.6. Os espectros de emissão foram registrados na região de 310-700 nm utilizando um comprimento de onda de excitação de 220-320 nm. Todas as medições foram realizadas a 25°C em uma cubeta de quartzo retangular com comprimento óptico de 1 cm. As intensidades de fluorescência foram expressas em unidades arbitrárias. As titulações de fluorescência foram realizadas por adição de quantidades crescentes de ctDNA (0-100 μM) diretamente dentro da solução contendo o composto. As intensidades de fluorescência do derivado exposto a diferentes concentrações de ctDNA foram utilizadas para calcular a constante de Stern-Volmer (K_{sv}), pela seguinte equação (LAKOWICZ, 2006):

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

18. Onde, F_0 e F são as intensidades de fluorescência na ausência e na presença do sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA, respectivamente. K_{sv} é a constante de Stern-Volmer, e $[Q]$ é a concentração do DNA em μM . O gráfico de intensidade de emissão relativa (F_0/F) versus $[Q]$ foi utilizado para obter a constante da regressão linear. Os dados de ligação foram obtidos através do software SigmaPlot 10.0®.

19. Análises por varredura em espectroscopia UV-vis comprovaram da interação do AMTAC-01 ao dendrímero *bis*-MPA. Os resultados de absorção para os sobrenadantes e precipitados em diferentes tempos de sistema de interação em comparação ao dendrímero *bis*-MPA e AMTAC-01 separadamente em concentração massa/volume e/ou mol/mol. O AMTAC-01 absorve luz na faixa de 250 a 400 nm, o

bis-MPA não absorve luz nesta região. O espectro de absorção de luz do sobrenadante após cerca de 24 h de interação (sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA S1D) apresenta intensidade inferior ao composto isolado, enquanto os sobrenadantes em tempos superiores a 72 h de interação apresentaram o mesmo perfil e intensidade de absorção de luz, além de efeito hipercrômico em relação ao AMTAC-01 isolado. A baixa absorção de luz dos precipitados para todas as metodologias de interação utilizadas comprova que o AMTAC-01 em um sistema de interação ao dendrímero *bis*-MPA encontra-se nos sobrenadantes. Baseado nesses resultados, o produto obtido a partir dos sobrenadantes em tempo superior a 72 h (AMTAC-01/*bis*-MPA S1D e AMTAC-01/*bis*-MPA S7D) foram avaliados em testes de ligação ao DNA e albumina por meio de espectroscopia de absorção UV-vis e fluorescência e os resultados foram comparados aos publicados para o AMTAC-01 isolado (ALMEIDA et al., 2016) (Figura 6).

20. O DNA é um alvo bem estabelecido para derivados espiro-acridinas com atividade antiproliferativa e promissores para terapia do câncer (ALMEIDA et al., 2016). Por esse motivo, a capacidade de ligação ao DNA dos produtos sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA foi avaliada para verificar possíveis incrementos da ligação entre esse alvo e o derivado espiro-acridínico do sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA.

21. Nos resultados do sistema de interação entre o DNA e o AMTAC-01/*bis*-MPA, em diferentes concentrações do DNA, foi observado um efeito hipercrômico, ou seja, aumento da intensidade de absorção, na região de 315-350 nm, indicando uma estabilização do derivado espiro-acridínico devido à interação com o DNA. Adicionalmente, na região de 271 nm, um hipercromismo de 71,75% foi proveniente de uma mudança na conformação da estrutura da dupla hélice do DNA, com quebra da estrutura secundária (LAFAYETTE et al., 2013; STREKOWSKI E WILSON, 2007). A força da interação entre DNA e o derivado foi quantificada por meio da constante de ligação (K_b) calculada a partir dos dados da absorbância. A constante de ligação ao DNA do AMTAC-01/*bis*-MPA foi de $7,54 \times 10^5$. Houve aumento da magnitude de 10^4 para 10^5 , quando comparada com a constante de ligação do AMTAC-01 ($2,3 \times 10^4$)

(ALMEIDA et al., 2016). Este valor sugere maior força de interação entre o DNA e o AMTAC-01/*bis*-MPA (Figura 7).

22. Por meio da análise dos espectros de absorção, dois aspectos evidenciam a interação entre DNA e sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA: (1) efeito hiperacrômico na região de 315-350 nm, que indica uma estabilização do derivado espiro-acridínico devido interação com DNA; e (2) hipercromia em 271 nm proveniente de uma mudança na conformação da estrutura dupla hélice do DNA com quebra da estrutura secundária (LAFAYETTE et al., 2013; STREKOWSKI E WILSON, 2007). A força da interação entre DNA e derivado é quantificada por meio da constante de ligação (K_b) calculada a partir dos resultados da absorbância. Além disso, análises da fluorescência do sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA na presença do DNA corroboraram a interação. Os valores de K_b e dados da fluorescência para o AMTAC-01 e AMTAC-01/*bis*-MPA na presença e ausência do DNA.

23. A comparação dos dados de absorbância do AMTAC-01 e AMTAC-01/*bis*-MPA na presença e ausência do DNA demonstram que: (a) houve pouca variação dos máximos de absorção na presença do DNA, 273 e 271 nm para o AMTAC-01 e AMTAC-01/*bis*-MPA, respectivamente. Esse resultado indica que não houve alteração estrutural do AMTAC-01 após interação com o *bis*-MPA, nem tampouco mudança de sua propriedade de interação do DNA; (b) houve uma diminuição no deslocamento do máximo de absorção de 14 nm para 2 nm para os seguintes complexos AMTAC-01:DNA e AMTAC 01/*bis*-MPA:DNA. Este achado deve-se à interação do AMTAC-01 no *bis*-MPA deixando o composto mais imobilizado e a interação com DNA deu-se de modo mais estável confirmado pelo aumento no valor do K_b ; (c) houve um aumento na magnitude da constante de ligação ao DNA de 104 para 109. Esse valor de K_b é atribuído para ligantes ao sulco do DNA (IHLMES e OTTO, 2005). Ou seja, o processo de sistema de interação ao *bis*-MPA levou a uma disposição molecular do AMTAC-01 que otimizou a interação ao DNA; e (d) a menor hipercromicidade para o sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA:DNA atribuída à interação ao *bis*-MPA deixando o AMTAC-01 menos disponível para o processo de absorção de luz UV-vis. Esses dados foram confirmados pela emissão de luz fluorescente que apresentou uma diminuição

entre 463 e 475 nm na presença do DNA.

Tabela 1. Dados de absorção e emissão dos compostos AMTAC-01 e sistema de interação AMTAC 01/*bis*-MPA na presença e ausência de DNA.

Composto	$\lambda_{\max}$ livre (nm)	$\lambda_{\max}$ ligado (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	Hipercro- micidade (%)	Kb M ⁻¹	$\lambda_{\max}$ livre (nm)	$\lambda_{\max}$ ligado (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	λ exc (nm)	λ emi (nm)
AMTAC-01	287	273	14	92,87	$2,3 \times 10^4$	408	471	63	408	471
AMTAC 01/ <i>bis</i> -MPA	269	271	2	71,56	$7,3 \times 10^9$	469	470	1	408	470

24. Para avaliar a atividade inibitória do sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA, foi realizado o teste de relaxamento do plasmídeo que consiste em avaliar a atividade enzimática da topo II α na presença e ausência do AMTAC-01, AMTAC-01/*bis*-MPA e Amsacrina (*m*-AMSA) como padrão seguido da análise do DNA por eletroforese. O resultado do teste de inibição do AMTAC-01/*bis*-MPA e dos controles positivos, AMTAC-01/*bis*-MPA e AMTAC-01, todos na mesma concentração. Efeito do *m*-AMSA sobre a religação do DNA mediada pela topo II α humana: DNA plasmidial pUC19 foi incubado por 30 min, à 37 ° C com 4 unidades da enzima na ausência (linha 2) ou presença do complexo ou controles positivos, *m*-AMSA e AMTAC-01, na concentração de 100 μ M. Em seguida, amostras do DNA foram separadas numa corrida de eletroforese em gel de agarose e corados com brometo de etídio.

25. Os resultados evidenciam que a atividade inibitória topo II α do AMTAC-01 foi mantida após a obtenção do sistema de interação com o dendrímero *bis*-MPA. A inibição é visualizada por meio da formação da banda do DNA pUC19 no formato superhelicoidal, banda não visualizada na ausência dos compostos (pUC19 + Topo II α). Destaca-se o mesmo perfil de inibição para os compostos testados o que evidencia a manutenção da atividade do AMTAC-01e melhoria da inibição do alvo enzimático. Portanto, o processo de sistema de interação não alterou a propriedade biológica do

derivado do AMTAC-01 indicando a estabilização molecular sem perda de atividade (Figura 8).

26. Na figura 1 temos a estrutura química do derivado espiro-acridínico o 3-(acridin-9-il)-*N*-benzylideno-2-cianoacrilohidrazida (AMTAC-01).

27. Na figura 2 o espectro de infravermelho (IV) do sobreposto: AMTAC01, bis-MPA e o sistema de interação AMTAC01/*bis*-MPA.

28. Na figura 3 a microscopia eletrônica de varredura com o objetivo de avaliar a topografia do dendrímero *bis*-MPA A e B, AMTAC01 C e D e do sistema de interação AMTAC01/*bis*-MPA E e D.

29. A figura 4, representa o espectro de absorção de UV do AMTAC01 na presença de água. Encontram-se os comprimentos de onda máximos referentes aos cromóforos do AMTAC01, bem como os valores correspondentes da absorbância. Observa-se os valores dos comprimentos de onda máximos em λ_{max} 2,52 nm com absorbância em 2,63 A, em λ 276 nm com absorbância em 1,93 A e em λ 348 nm com absorbância em 0,47 A.

30. Na figura 5, observamos que no sistema de interação AMTAC01/*bis*-MPA houve mais um aumento da absorbância, o que nos leva a propor que a interação influencia positivamente a solubilidade do AMTAC01.

31. Na figura 6 os espectros de absorção UV-vis do *bis*-MPA (preto), AMTAC-01 (vermelho), sobrenadantes (verde, amarelo e azul) e precipitados (rosa, azul claro e cinza) em diferentes tempos de interação entre composto e polímero.

32. Na figura 7 o espectro de absorção do sistema de interação AMTAC 01/*bis*-MPA (10 μM) na presença de diferentes concentrações de DNA (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 μM).

33. Na figura 8 o efeito do sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA sobre a religação do DNA mediada pela topo II α humana: DNA plasmidal pUC19 (Saint Louis, MO, USA Sigma-Aldrich SP-Brasil) foi incubado por 30 min, à 37 ° C com 4 unidades da enzima na ausência (linha 2) ou presença do complexo ou controles positivos, *m*-AMSA e AMTAC-01. Em seguida, amostras do DNA foram separadas numa corrida de eletroforese em gel de agarose e corados com brometo de etídio.

REIVINDICAÇÕES

1. OBTENÇÃO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS BIOTECNOLÓGICAS BASEADOS EM ARQUITETURAS DENDRÍTICAS DE DERIVADO ESPIRO-ACRIDÍNICO

caracterizada pela obtenção de interação de derivado espiro-acridínico o 3-(acridin-9-il)-*N*-benzylideno-2-cianoacrilohidrazida (AMTAC-01) e o polímero monodisperso sintético Dendrímero (*bis*-MPA) como uma alternativa para incremento de solubilidade em meio aquoso; em especificamente, o sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA da presente invenção referem-se a sistemas de interação úteis a serem utilizados na saúde humana e/ou animal com fins de tratamento, profilaxia, paliativa, ou também como diagnóstico de câncer, leishmania, doença de Chagas e malária.

2. OBTENÇÃO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS BIOTECNOLÓGICAS BASEADOS EM ARQUITETURAS DENDRÍTICAS DE DERIVADO ESPIRO-ACRIDÍNICO

de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo sistema interação de derivado espiro-acridínico o 3-(acridin-9-il)-*N*-benzylideno-2-cianoacrilohidrazida (AMTAC-01) e o polímero monodisperso sintético Dendrímero (*bis*-MPA) serem utilizados individualmente ou em combinação com outros agentes uso profilaxia, paliativa, ou também como diagnóstico de câncer, leishmania, doença de Chagas e malária, testados em modelos experimentais *in vitro* na presença de diferentes concentrações de DNA (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 μ M) frente o espectro de absorção do sistema de interação AMTAC 01/*bis*-MPA (10 μ M).

3. OBTENÇÃO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS BIOTECNOLÓGICAS BASEADOS EM ARQUITETURAS DENDRÍTICAS DE DERIVADO ESPIRO-ACRIDÍNICO

de acordo com a reivindicações 1 e 2, caracterizada pelo sistema interação de derivado espiro-acridínico o 3-(acridin-9-il)-*N*-benzylideno-2-cianoacrilohidrazida (AMTAC-01) e o polímero monodisperso sintético Dendrímero (*bis*-MPA) serem utilizados individualmente ou em combinação com outros agentes uso profilaxia, paliativa, ou também como diagnóstico de câncer, leishmania, doença de Chagas e malária, testados em modelos experimentais *in vitro* para avaliar a atividade enzimática da topo II α do AMTAC-01/*bis*-MPA.

4. OBTENÇÃO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS BIOTECNOLÓGICAS BASEADOS EM ARQUITETURAS DENDRÍTICAS DE DERIVADO ESPIRO-ACRIDÍNICO, de acordo com a reivindicações 1 a 3, caracterizada pelo sistema interação de derivado espiro-acridínico o 3-(acridin-9-il)-*N*-benzylideno-2-cianoacrilohidrazida (AMTAC-01) e o polímero monodisperso sintético Dendrímero (*bis*-MPA) serem utilizados individualmente ou em combinação com outros agentes uso profilaxia, paliativa, ou também como diagnóstico de câncer, leishmania, doença de Chagas e malária, para produção de preparações farmacêuticas e/ou veterinárias sob a forma de: pós, grânulos, comprimidos, comprimidos revestidos, cápsulas, soluções orais e/ou injetáveis, pomadas, cremes, elixires, xarope, emulsões, suspensões, loções, emplastos, géis, sistemas de liberação controlada como micro e nanocápsulas, micro e nanopartículas, complexos de inclusão, micro e nanoemulsões, lipossomas e hidrogéis, juntamente com um ou mais adjuvantes e/ou veículos.

FIGURAS

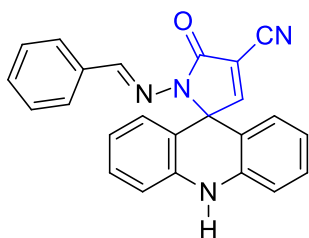


Figura 1

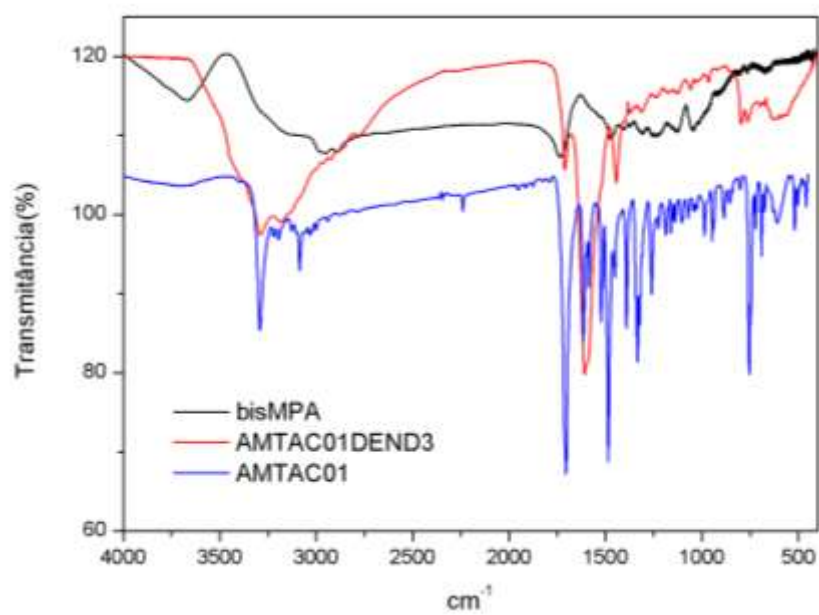


Figura 2

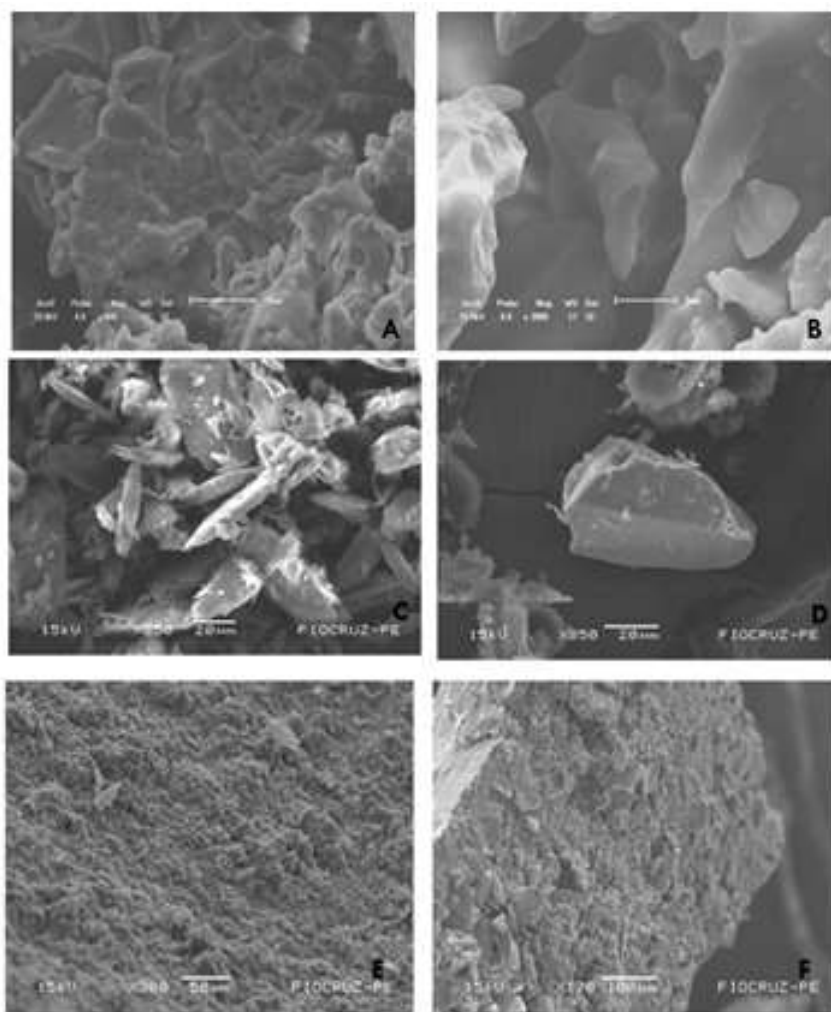


Figura 3

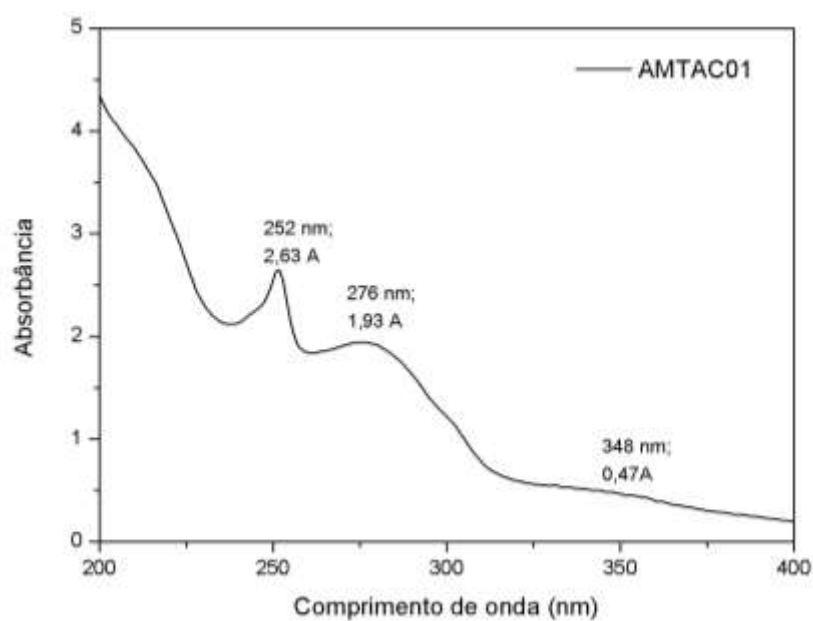


Figura 4

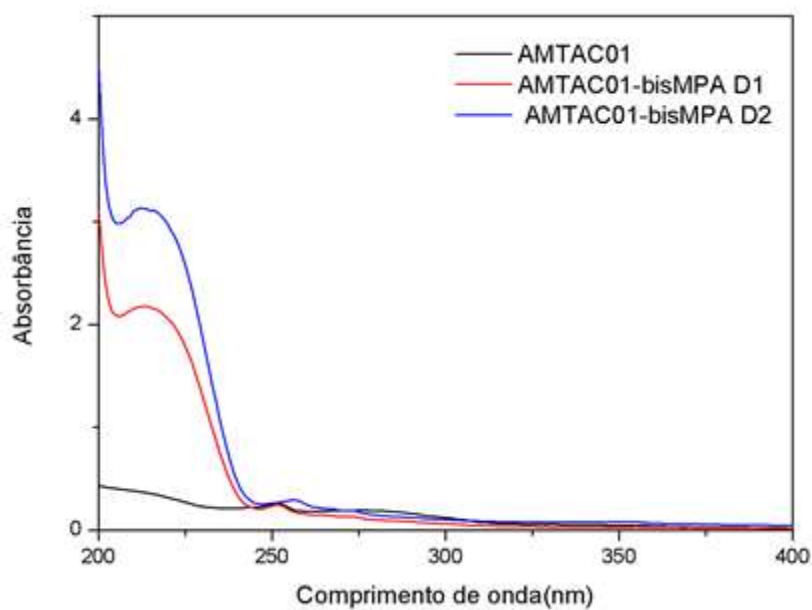


Figura 5

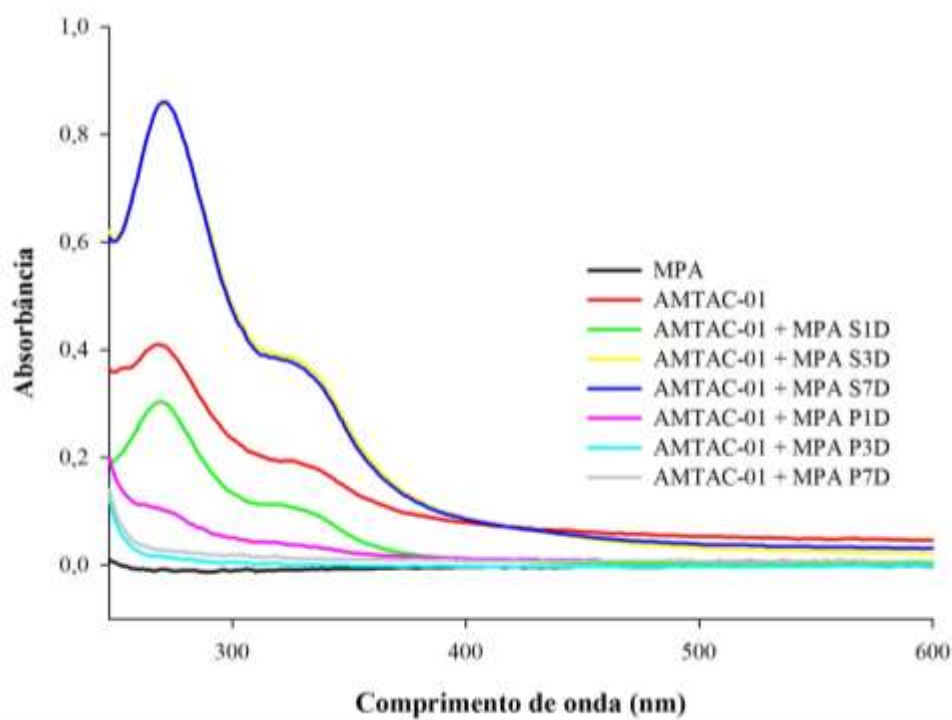


Figura 6

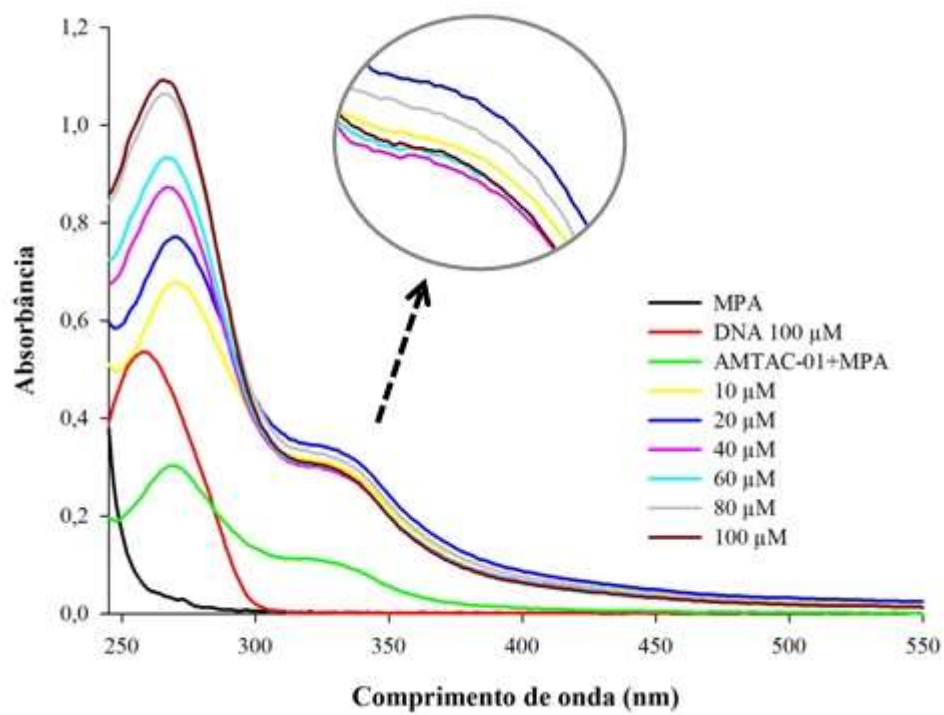


Figura 7

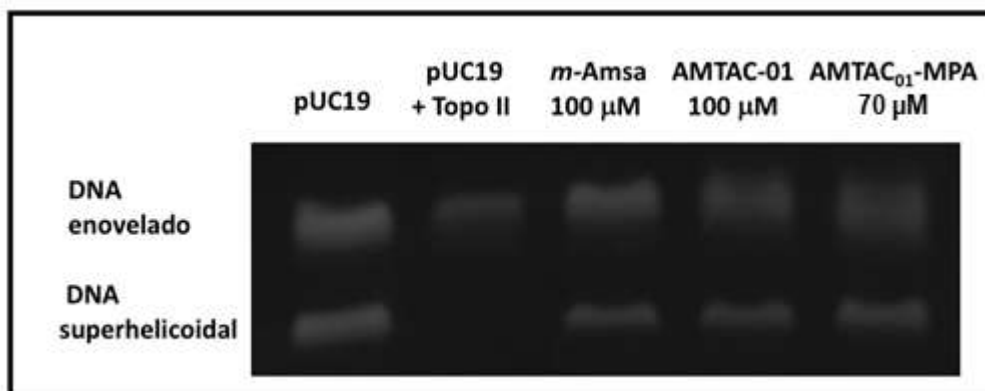


Figura 8

RESUMO**OBTENÇÃO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS BIOTECNOLÓGICAS BASEADOS EM ARQUITETURAS DENDRÍTICAS DE DERIVADO ESPIRO-ACRIDÍNICO**

A presente invenção se refere a moléculas ativas como sistema de interação de derivado espiro-acridínico AMTAC-01 e o dendrímero *bis*-MPA com fins de tratamento, profilaxia, paliativa, ou também como diagnóstico de câncer, leishmania, doença de Chagas e malária. O sistema de interação obtido sugeri uma melhorar na solubilidade do AMTAC01. No teste em modelos experimentais *in vitro* o espectro de absorção do sistema de interação AMTAC-01/*bis*-MPA na presença de DNA sugere maior força de interação entre o DNA e o AMTAC-01/*bis*-MPA. A inibição enzimática topo II α humana sugeri uma mudança na conformação da estrutura da dupla hélice do DNA, com melhoria da inibição do alvo enzimático.