



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

SONALY LIMA ALBINO

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO PERFIL QUIMIOTERÁPICO DE
DERIVADOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS HIBRIDIZADOS A NÚCLEOS
HETEROCÍCLICOS**

CAMPINA GRANDE

2020

SONALY LIMA ALBINO

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO PERFIL QUIMIOTERÁPICO DE
DERIVADOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS HIBRIDIZADOS A NÚCLEOS
HETEROCÍCLICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Química Medicinal

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura

CAMPINA GRANDE

2020

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A336p Albino, Sonaly Lima.

Planejamento, síntese e avaliação do perfil quimioterápico de derivados tiosemicarbazônicos hibridizados a núcleos heterocíclicos [manuscrito] / Sonaly Lima Albino. - 2020.

251 p. : il. colorido.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde , 2020.

"Orientação : Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura , Departamento de Farmácia - CCBS."

1. Atividade antitumoral. 2. Atividade antileishmania. 3. Modificação molecular. 4. Docking molecular. I. Título

21. ed. CDD 615.1

Sonaly Lima Albino

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO PERFIL QUIMIOTERÁPICO DE
DERIVADOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS HIBRIDIZADOS A NÚCLEOS
HETEROCÍCLICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 02 / 03 / 2020

BANCA EXAMINADORA




Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura (Orientador)

Universidade Estadual da Paraíba



Profª. Dra. Vanda Lucia dos Santos (Avaliadora)

Universidade Estadual da Paraíba



Prof. Dr. Rodrigo Santos Aquino de Araújo (Avaliador)

Universidade Estadual da Paraíba

DEDICATÓRIA

À Deus, por me abençoar com mais do que mereço.

Aos meus pais, Solange e Udenilson, por todo amor incondicional a mim transmitidos através do apoio, incentivo e confiança que sempre me deram.

À minha irmã, Suilanny, por todo companheirismo, afeto e cumplicidade em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter sempre regido o meu caminho, dando-me forças e coragem para alcançar este objetivo.

Aos meus pais, Solange e Udenilson, por todo amor e cuidado demonstrados em todos e quaisquer momentos da minha vida, por todo apoio e incentivo dados constantemente, por todos os ensinamentos e confiança depositados em mim que me tornaram quem sou hoje. Obrigado por serem meus alicerces.

À minha irmã, Suilanny, por todas as vezes que me fez sorrir e me alegrar mesmo nos momentos de maior tensão, pelo companheirismo, cumplicidade, afeto e amizade que sempre tivemos.

Aos meus familiares, agradeço por todo apoio e carinho. Em especial às minhas avós, Berenice e Marina, minhas tias, Sandra e Vilma, e meus primos e amigos, Débora, Arthur e Miqueias.

Ao meu orientador, Dr. Ricardo Olímpio de Moura, pelo brilhante exemplo de profissional que é. Agradeço pela oportunidade, confiança, apoio, paciência e inúmeros ensinamentos que tanto me acrescentam, inspiram e impulsionam a crescer academicamente cada vez mais.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Desenvolvimento e Síntese de Fármacos, que sempre tornaram a rotina laboratorial mais leve e prazerosa, agradeço por todo companheirismo e auxílio.

A todos integrantes do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em especial aos professores que contribuíram imensamente para meu crescimento profissional, e aos meus amigos e colegas de mestrado, com quem compartilhei vários momentos e aprendizagens.

Por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para esse fim, agradeço.

*“Into the light may you fall.
Into the light may you follow.
Into the light may you know.
Truth alone.”*

Alter Bridge – Words Darker Than Their Wings

RESUMO

O câncer e a leishmaniose são doenças associadas a altos índices de morbidade e mortalidade, com lacunas no arsenal terapêutico que ressaltam a progressiva necessidade de novos fármacos quimioterápicos. A pesquisa e o desenvolvimento de fármacos que contenham núcleos heterocíclicos nitrogenados em sua estrutura são crescentemente visados na Química Medicinal devido à potencialidade inerente a eles. Assim, esse trabalho propôs planejar e sintetizar doze derivados tiossemicarbazônicos hibridizados a diferentes núcleos heterocíclicos, caracterizá-los físico-química e estruturalmente, avaliar o perfil de interação com potenciais alvos *in silico*, delinear seu perfil farmacocinético *in silico*, avaliar a atividade antiproliferativa frente à linhagens tumorais e normais, determinar seu potencial antileishmania frente cepas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum*, bem como a toxicidade frente a hemácias humanas *in vitro*. Os compostos planejados foram avaliados *in silico*, por meio do *docking* molecular, frente aos alvos topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK), DNA (PDB ID: 1BNA e 1G3X) e topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S), evidenciando uma maior afinidade do composto acridínico, SOL-AC2, com as diferentes isoformas da enzima topoisomerase e com o modelo de DNA apropriado para compostos intercaladores, enquanto que a molécula SOL-PR2 demonstrou um melhor perfil ao interagir com os sulcos do DNA. Esses foram experimentalmente obtidos por uma reação de condensação entre os intermediários tiossemicarbazídicos e os aldeídos de acridina, quinolina, indol, piridina, fenilpiridina e fenilpiperidina, obtendo-se rendimentos reacionais variando de 56,95% a 98,99%. A identificação estrutural dos compostos foi realizada por meio de técnicas espectroscópicas de IV, RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . Os estudos de atividade antiproliferativa *in vitro* foram realizados pelo método do MTT utilizando-se cinco linhagens tumorais (HCT 116, MCF-7, HeLa, SKMEL e PC-3) e duas linhagens normais (L929 e HaCaT), nos quais o composto SOL-AC2 apresentou uma melhor atividade antiproliferativa, destacando-se devido ao percentual de inibição de $75.20 \pm 0.80\%$ frente a linhagem de melanoma, SKMEL, corroborando com os resultados *in silico* frente aos alvos 5GWK e 1BNA. Quando avaliados em relação a sua atividade antipromastigota, evidenciando a maior potencialidade dos compostos indólicos, em especial o composto SOL-II ($\text{IC}_{50} L. amazonensis = 12,16 \mu\text{g mL}^{-1}$; $\text{IC}_{50} L. infantum = 14,64 \mu\text{g mL}^{-1}$). Para esses, propuseram-se possíveis mecanismos de ação *in silico* pela interação com as enzimas de *Leishmania*: piruvato quinase (PDB ID: 3PP7) e tripanotiona redutase (PDB ID: 2JK6). A partir dos resultados obtidos, observou-se que mantendo a porção tiossemicarbazônica e modificando-se o núcleo heterocíclico, resulta-se na alteração no perfil quimioterápico. Esses foram também avaliados quanto sua atividade hemolítica, de modo que todos os compostos apresentaram baixa toxicidade às hemácias humanas. Os estudos farmacocinéticos *in silico* concluíram que todos os compostos foram condizentes com critérios de *druglikeness* estabelecidos por Lipinski, Ghose e Egan, além de evidenciar uma boa absorção gastrointestinal. Tendo obtido o perfil molecular mais desejável para cada atividade biológica, propuseram-se novos compostos análogos baseando-se na árvore de decisão de Topliss, avaliando-os nos alvos cristalizados supracitados. Os mesmos apresentaram, majoritariamente, melhor afinidade que os compostos protótipos e propriedades farmacocinéticas desejáveis, viabilizando a síntese e continuidade dos estudos envolvendo esses.

Palavras-chave: Atividade antitumoral. Atividade antileishmania. Modificação molecular. Docking molecular.

ABSTRACT

Cancer and leishmaniasis are diseases associated with high rates of morbidity and mortality, with gaps in the therapeutic arsenal that underscore the progressive need for new chemotherapy drugs. The research and development of drugs that contain nitrogenous heterocyclic nuclei in their structure are increasingly targeted in Medicinal Chemistry due to their inherent potential. Therefore, this work proposed to design and synthesize twelve thiosemicarbazonic derivatives hybridized to different heterocyclic nuclei, to characterize them physically-chemically and structurally, to evaluate the interaction profile with potential *in silico* targets, to outline their *in silico* pharmacokinetic profile, to evaluate the antiproliferative activity against the tumoral and normal strains, determine their potential antileishmania against promastigote strains of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania infantum*, as well as toxicity against human red blood cells *in vitro*. The designed compounds were evaluated *in silico*, through molecular docking, against the targets: topoisomerase II α complexed with DNA (PDB ID: 5GWK), DNA (PDB ID: 1BNA and 1G3X) and topoisomerase I of *L. donovani* complexed with DNA (PDB ID: 2B9S), exhibiting a greater affinity of the acridinic compound, SOL-AC2, with the different isoforms of the topoisomerase enzyme and the appropriate DNA model for intercalator compounds, while the SOL-PR2 molecule showed a better profile when interacting with the DNA grooves. These derivatives were experimentally obtained by a condensation reaction between the thiosemicarbazide intermediates and the acridine, quinoline, indole, pyridine, phenyl-pyridine and phenyl-piperidine aldehydes, obtaining reaction yields ranging from 56.95% to 98.99%. These structures were confirmed by IR, ^1H NMR and ^{13}C NMR spectroscopic techniques. *In vitro* antiproliferative activity studies were performed through the MTT method, using five tumor lines (HCT 116, MCF-7, HeLa, SKMEL and PC-3) and two normal lines (L929 and HaCaT), in which the compound SOL-AC2 presented better antiproliferative activity, standing out due to the inhibition percentage of $75.20 \pm 0.80\%$ against the melanoma strain SKMEL, corroborating with the results *in silico* against the 5GWK and 1G3X targets. When evaluated in relation to their antipromastigote activity, indole compounds presented greater potential, especially the compound SOL-II (IC_{50} *L. amazonensis* = $12.16 \mu\text{g mL}^{-1}$; IC_{50} *L. infantum* = $14.64 \mu\text{g mL}^{-1}$). Therefore, possible mechanisms of action *in silico* have been proposed by the interaction with *Leishmania* targets: pyruvate kinase (PDB ID: 3PP7) and trypanothione reductase (PDB ID: 2JK6). From the results obtained, it was observed that maintaining the thiosemicarbazonic portion and modifying the heterocyclic nucleus, results in changes in the chemotherapy profile. These were also evaluated for their hemolytic activity, demonstrating that all compounds were non-toxic to red blood cells. *In silico* pharmacokinetic studies concluded that all compounds were consistent with druglikeness criteria established by Lipinski, Ghose and Egan, and showed good gastrointestinal absorption. Having obtained the most desirable molecular profile for each biological activity, novel analogous compounds were proposed based on the Topliss decision tree, evaluating them on the aforementioned crystallized targets. Most of them showed better affinity than the prototype compounds and desirable pharmacokinetic properties, enabling the synthesis and continuity of studies involving these.

Keywords: Antitumor activity. Antileishmania activity. Molecular modification. Molecular docking.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Modos de ligação com o DNA por interações não-covalentes.....	24
Figura 2– Compostos intercaladores de DNA.....	25
Figura 3 – Compostos que se ligam aos sulcos.....	26
Figura 4 – Processo de simplificação molecular.....	29
Figura 5 – Exemplos práticos da aplicação da estratégia de hibridação molecular.....	30
Figura 6 – Estrutura geral das tiossemicarbazonas.....	36
Figura 7 – Formas tautoméricas das tiossemicarbazonas.....	37
Figura 8 - Mecanismo de relaxamento desempenhado pela topoisomerase I sobre a fita de DNA.....	38
Figura 9 – Estrutura geral dos derivados acridínicos-tiossemicarbazônicos.....	39
Figura 10 - Estrutura química da triapina.....	40
Figura 11 – Estrutura química do composto 2-(3-(4-metóxi-benzilideno)-6,6-dimetilbicyclo[3.1.1]heptan-2-ilideno)- <i>N</i> -fenilhidrazina-1-carbotioamida (4i).....	41
Figura 12 – Compostos híbridos fenoxidiol-tiossemicarbazona.....	41
Figura 13 - Compostos derivados tiossemicarbazônicos 2 e 10a.....	42
Figura 14 - Estrutura geral dos derivados tiossemicarbazonas arílicas.....	43
Figura 15 – Núcleo acridínico.....	43
Figura 16 – Estrutura química da amsacrina.....	44
Figura 17 – Processo de ciclização espontânea em derivados espiro-acridínicos.....	45
Figura 18 - Compostos híbridos tiofênico-acridínicos.....	46
Figura 19 - Derivado <i>N</i> -[6-(benzoamino)-3-acridinil]benzamida (3a).....	47
Figura 20 – Estrutura geral da quinolina.....	47
Figura 21 - Estrutura do 6,7-metilenedioxi-4-(2,4-dimetoxifenil)quinolin-2(1 <i>H</i>)-ona (12e) ..	48
Figura 22 – Compostos 4-oxoquinolinícos.....	49
Figura 23 - Estrutura química do derivado quinolínico QuinDer1.....	50
Figura 24 - Moléculas quinolínicas sintetizadas com ação antileishmania e antitripanossoma.....	50
Figura 25 – Núcleo indólico.....	51
Figura 26 – Estruturas químicas dos derivados 3-tiocianato-indol mais promissores para atividade antiproliferativa.....	52
Figura 27 – Derivados indólicos acoplados a subunidades de sulfonamida.....	53

Figura 28 - Híbrido aminotiofênico-indol TN8-7.....	54
Figura 29 - Estratégia de hibridação molecular desenvolvida para obtenção de um derivado indol gem-ditioacetilado.....	55
Figura 30 – Estrutura geral da piridina.....	55
Figura 31 – Reação de redução para obtenção da piperidina	56
Figura 32 – Derivado piridínico, 5b, sintetizado por Abdelaziz e colaboradores (2018).....	57
Figura 33 – Derivado piridínico, 13d, inibidor de c-Met	58
Figura 34 – Estrutura geral dos derivados piperidinícos	58
Figura 35 - Enantiômeros e seus efeitos sobre a cepa resistente de <i>L. tropica</i>	59
Figura 36 - Alcaloides piperidinícos isolados das flores de <i>Senna spectabilis</i>	60
Figura 37– <i>Redocking</i> do etoposídeo para validação do método	75
Figura 38 – <i>Docking</i> da molécula SOL-AC2 (A) e da Amsacrina (B) com o complexo Topoisomerase II α /DNA	77
Figura 39 - <i>Docking</i> molecular do Etoposídeo com o complexo Topoisomerase II α /DNA	79
Figura 40 – <i>Docking</i> das moléculas SOL-AC2 (A) e SOL-P1 (B) com o complexo Topoisomerase II α /DNA	80
Figura 41 – Interação entre a molécula SOL-PR2 e o alvo DNA (PDB ID: 1BNA)	82
Figura 42 - Interação entre a molécula SOL-PP2 e o alvo DNA (PDB ID: 1BNA)	83
Figura 43 – Interações da molécula SOL-AC2 (A) e da Amsacrina (B) com o DNA (PDB ID: 1G3X)	85
Figura 44 - <i>Docking</i> das moléculas SOL-AC2 (A) e Camptotecina (B) com o complexo Topoisomerase I/DNA.....	88
Figura 45 - Representação das possíveis formas tautoméricas da molécula SOL-P1	103
Figura 46 – Espectro de infravermelho da molécula SOL-PP2.....	104
Figura 47 – Compostos mono e <i>para</i> -dissubstituídos, respectivamente	106
Figura 48 - RMN de ¹ H da molécula SOL-PP2.....	110
Figura 49 – Espectro aproximado de RMN de ¹ H da molécula SOL-PR1	111
Figura 50 – Estrutura tridimensional das moléculas SOL-PR1 e SOL-PR2, respectivamente	112
Figura 51 – Estrutura de derivado <i>N</i> -acilhidrazônico e seu espectro de RMN de ¹ H à 20° C (A) e 80° C (B).	113
Figura 52 – Possíveis conformeros das moléculas SOL-PR1 e SOL-PR2.....	114
Figura 53 – RMN de ¹³ C da molécula SOL-PP2.....	118

Figura 54 - Estratégias de modificação molecular empregadas nos anéis heterocíclicos	129
Figura 55 - <i>Docking</i> das moléculas SOL-I1 (A) e SOL-I2 (B) no alvo Piruvato Quinase.....	134
Figura 56 - Relação bioisostérica entre os anéis indólico e purínico	136
Figura 57 - <i>Docking</i> das moléculas SOL-I1 (A) e SOL-I2 (B) no alvo Tripanotiona Redutase	137
Figura 58 - Modelo <i>Boiled-Egg</i> dos compostos sintetizados	140
Figura 59 – Proposta para obtenção de um análogo mais potente para atividade antitumoral	147
Figura 60 - <i>Docking</i> da molécula proposta (A) e a SOL-AC2 (B) no alvo TopoII α /DNA (PDB ID: 5GWK).....	149
Figura 61 - Interações da molécula proposta (A) e da SOL-AC2 (B) com o DNA (PDB ID: 1G3X).....	150
Figura 62 - Proposta para obtenção de um análogo mais potente para atividade antileishmania frente cepas de <i>L. amazonensis</i>	151
Figura 63 - <i>Docking</i> da molécula proposta (A) e a SOL-I2 (B) no alvo Piruvato Quinase (PDB ID: 3PP7).....	152
Figura 64 - Proposta para obtenção de um análogo mais potente para atividade antileishmania frente cepas de <i>L. infantum</i>	153
Figura 65 - <i>Docking</i> da molécula proposta (A) e a SOL-I2 (B) no alvo Tripanotiona Redutase (PDB ID: 2JK6).....	154
Figura 66 - Modelo <i>boiled-egg</i> para os compostos propostos.....	155

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros utilizados no docking molecular para cada alvo farmacológico	61
Tabela 2 - Resultados do <i>docking</i> molecular entre as estruturas propostas, os compostos controle e a TopoII α /DNA (PDB ID: 5GWK)	76
Tabela 3 - Resultados do <i>docking</i> molecular entre as estruturas propostas, o composto controle e o DNA (PDB ID: 1BNA)	81
Tabela 4 - Resultados do <i>docking</i> molecular entre as estruturas propostas, o composto controle e o DNA (PDB ID: 1G3X)	84
Tabela 5 - Resultados do <i>docking</i> molecular entre as estruturas propostas, composto controle e a enzima topoisomerase I de <i>L. donovani</i> complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)	87
Tabela 6 - Características físico-químicas dos intermediários tiossemicarbazídicos	90
Tabela 7 - Características físico-químicas dos compostos acridínicos	95
Tabela 8 - Derivados tiossemicarbazônicos hibridizados a heterocíclicos sintetizados	97
Tabela 9 - Propriedades físico-químicas dos compostos sintetizados	98
Tabela 10 - Solubilidade dos compostos sintetizados	99
Tabela 11 - Valores de absorção obtidos pela espectroscopia de infravermelho	100
Tabela 12 - Resultados da análise por IV dos compostos previamente sintetizados e publicados	106
Tabela 13 - Resultados da análise por RMN de ^1H dos compostos sintetizados	107
Tabela 14 - Resultados da análise por RMN de ^1H dos compostos previamente sintetizados e publicados	114
Tabela 15 - Resultados da análise por RMN de ^{13}C dos compostos sintetizados	115
Tabela 16 - Resultados da análise por RMN de ^{13}C dos compostos previamente sintetizados e publicados	119
Tabela 17 - Efeito das amostras na viabilidade das células após 72 h de tratamento	120
Tabela 18 - Atividade proliferativa de compostos acridínicos-tiossemicarbazônicos realizada por Almeida et al. (2015)	125
Tabela 19 - Atividade proliferativa de compostos quinolínicos-tiossemicarbazônicos realizada por Ribeiro et al. (2019)	126
Tabela 20 - Comparação entre as metodologias utilizadas para avaliação da atividade antiproliferativa	126

Tabela 21 - Avaliação da atividade antipromastigota desenvolvida pelos derivados sintetizados	128
Tabela 22 - <i>Redocking</i> para validação dos métodos em alvos de <i>Leishmania</i>	132
Tabela 23 - Resultados do <i>docking</i> molecular entre os compostos indólicos, ligantes co-cristalizados e os alvos selecionados de <i>Leishmania</i>	133
Tabela 24 - Atividade hemolítica dos compostos sintetizados na concentração 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$	138
Tabela 25 - Relação das moléculas analisadas com a glicoproteína P	141
Tabela 26 - Parâmetros de <i>druglikeness</i>	143
Tabela 27 - Valores de Log Kp dos compostos analisados	145
Tabela 28 - Interação das moléculas analisadas com as isoformas de CYP450.....	146
Tabela 29 - Resultados do <i>docking</i> molecular entre a estrutura proposta, molécula SOL-AC2 e TopoII α /DNA	148
Tabela 30 - Resultados do <i>docking</i> molecular entre a estrutura proposta, molécula SOL-AC2 e DNA (PDB ID: 1G3X)	149
Tabela 31 - Resultados do <i>docking</i> molecular entre o composto proposto, SOL-I2 e o alvo Piruvato Quinase (PDB ID: 3PP7)	151
Tabela 32 - Resultados do <i>docking</i> molecular entre o composto proposto, SOL-I2 e o alvo Tripanotiona Redutase (PDB ID: 2JK6).....	153
Tabela 33 - Capacidade de inibição dos compostos propostos frente as isoformas de CYP450	157

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 -	Estágios da descoberta de fármacos.....	32
Esquema 2 -	Análise retrossintética de compostos tiosemicarbazônicos.....	36
Esquema 3 -	Rota sintética para obtenção dos derivados tiosemicarbazídicos....	64
Esquema 4 -	Rota sintética do núcleo aldeído de acridina.....	66
Esquema 5 -	Esquema reacional para obtenção dos derivados tiosemicarbazônicos hibridizados a núcleos heterocíclicos.....	67
Esquema 6 -	Mecanismo reacional de obtenção dos derivados tiosemicarbazídicos.....	90
Esquema 7 -	Mecanismo reacional de obtenção da 9-metil-acridina.....	92
Esquema 8 -	Mecanismo reacional de obtenção do intermediário ACN-01.....	93
Esquema 9 -	Mecanismo reacional de obtenção da acridina-9-carboxaldeído.....	94
Esquema 10 -	Mecanismo reacional de obtenção dos compostos finais.....	96
Esquema 11 -	Estratégias de modificação molecular empregadas, associadas ao resultado de atividade antiproliferativa para linhagem SKMEL.....	122
Esquema 12 -	Árvore de Topliss.....	123
Esquema 13 -	Amostra da árvore de decisão de Topliss com base nos dados da atividade antileishmania.....	130

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Diagrama de Craig.....	131
Gráfico 2 -	Valores de Log P dos compostos analisados.....	143
Gráfico 3 -	Valores de Log S dos compostos analisados.....	144
Gráfico 4 -	Valores de Log P dos compostos propostos.....	156

LISTA DE ABREVIATURAS

ADME	Absorção, distribuição, metabolização e excreção
ADT	AutoDockTools
CADD	<i>Computer-Assisted Drug Design</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
F.F.	Faixa de Fusão
IC ₅₀	Concentração capaz de inibir de 50% de crescimento
IV	Espectroscopia de infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
K _i	Constante de inibição estimada
Log P	Coefficiente de partição
<i>m</i> -AMSA	Amsacrina
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2H-brometo de tetrazólio
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
Rend.	Rendimento
R _f	Fator de Retenção
RMN de ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN de ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
Topo II α	Topoisomerase II α humana
δ ppm	Deslocamento químico em parte por milhão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVOS	22
2.1	Objetivo geral	22
2.2	Objetivos específicos	22
3	REFERENCIAL TEÓRICO	23
3.1	Química medicinal	23
3.1.1	<i>Planejamento de fármacos</i>	23
3.1.2	<i>Estratégias de modificação molecular</i>	27
3.1.2.1	<i>Bioisosterismo</i>	28
3.1.2.2	<i>Simplificação molecular</i>	28
3.1.2.3	<i>Hibridação molecular</i>	29
3.1.3	<i>Estratégias computacionais aplicadas à química medicinal</i>	31
3.1.3.1	<i>Modelagem molecular</i>	32
3.1.3.2	<i>Predição farmacocinética in silico</i>	33
3.2	Tiossemicarbazonas	35
3.3	Compostos acridínicos	43
3.4	Compostos quinolínicos	47
3.5	Compostos indólicos	50
3.6	Compostos piridínicos e piperidínicos	55
4	METODOLOGIA	61
4.1	<i>Docking molecular</i>	61
4.1.1	<i>Preparação da enzima</i>	62
4.1.2	<i>Preparação dos ligantes</i>	62
4.1.3	<i>Estudos de ancoramento molecular para validação (redocking)</i>	63
4.2	<i>Predições farmacocinéticas in silico</i>	63
4.3	Metodologia de síntese dos compostos obtidos	63
4.3.1	<i>Síntese dos intermediários tiossemicarbazídicos</i>	64
4.3.1.1	<i>Síntese do N-fenil-hidrazina-carbotioamida (RFH01)</i>	64
4.3.1.2	<i>Síntese do N-(4-clorofenil)hidrazina-carbotioamida (RFH02)</i>	64
4.3.2	<i>Síntese da acridina-9-carboxaldeído (AC-02)</i>	65
4.3.2.1	<i>Síntese da 9-metilacridina (AC-01)</i>	65

4.3.2.2	<i>Síntese do N-(acridina-9-ilmetileno)-N,N-dimetilbenzeno-1,4-diamino (ACN-01)</i>	65
4.3.2.3	<i>Síntese do produto final: acridina-9-carboxaldeído (AC-02)</i>	65
4.3.3	<i>Síntese dos compostos híbridos finais</i>	66
4.4	Caracterizações físico-químicas dos compostos sintetizados	68
4.4.1	<i>Aparência</i>	68
4.4.2	<i>Solubilidade aparente</i>	68
4.4.3	<i>Fator de retenção</i>	68
4.4.4	<i>Faixa de fusão</i>	68
4.4.5	<i>Rendimento da reação</i>	69
4.4.6	<i>Coefficiente de partição</i>	69
4.5	Caracterização estrutural dos compostos sintetizados	69
4.5.1	<i>Espectroscopia de infravermelho</i>	69
4.5.2	<i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear</i>	70
4.6	Atividade antiproliferativa	70
4.7	Atividade antileishmania	71
4.8	Avaliação do potencial hemolítico	72
4.9	Proposta de compostos mais ativos	73
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
5.1	Docking molecular	74
5.1.1	<i>Docking molecular da interação dos derivados propostos com topoisomerase IIa complexada com DNA</i>	74
5.1.2	<i>Docking molecular da interação dos derivados propostos com DNA</i>	80
5.1.3	<i>Docking molecular da interação dos derivados propostos com topoisomerase I de L. donovani complexada com DNA</i>	86
5.2	Síntese e caracterização físico-química	89
5.2.1	<i>Mecanismo reacional e caracterização físico-química dos intermediários tiossemicarbazídicos</i>	89
5.2.2	<i>Mecanismo reacional e caracterização físico-química do núcleo acridina-9-carboxaldeído</i>	91
5.2.3	<i>Mecanismo reacional e caracterização físico-química dos compostos finais</i>	95
5.3	Caracterização estrutural dos compostos sintetizados	100
5.3.1	<i>Análise por espectroscopia no infravermelho</i>	100
5.3.2	<i>Identificação dos compostos por ressonância magnética nuclear</i>	106
5.4	Atividade antiproliferativa	119

5.5	Avaliação da atividade leishmanicida dos compostos sintetizados	127
5.5.1	<i>Proposta de mecanismo de ação antileishmania desenvolvido pelos compostos mais promissores</i>	132
5.5.1.1	<i>Docking molecular da interação dos derivados indólicos com Piruvato Quinase</i>	133
5.5.1.2	<i>Docking molecular da interação dos derivados indólicos com Tripanotiona Redutase ..</i>	135
5.6	Avaliação do potencial hemolítico dos compostos sintetizados	137
5.7	Predições farmacocinéticas	139
5.8	Perspectiva dos quimioterápicos mais ativos para o tratamento de câncer e leishmaniose	147
5.8.1	<i>Proposta de composto mais ativo para atividade antitumoral.....</i>	147
5.8.2	<i>Proposta de composto mais ativo para atividade antileishmania frente L. amazonensis</i>	150
5.8.3	<i>Proposta de composto mais ativo para atividade antileishmania frente L. infantum ...</i>	152
5.8.4	<i>Avaliação farmacocinética in silico dos compostos propostos</i>	154
6	CONCLUSÃO.....	158
7	PERSPECTIVAS.....	160
	REFERÊNCIAS.....	161
	ANEXOS.....	179

1 INTRODUÇÃO

Na avaliação e busca de moléculas com potencial biológico, os compostos heterocíclicos ocupam um lugar de destaque na atenção de vários grupos de pesquisa em todo o mundo. Uma variedade de heteroátomos podem fazer parte da constituição desses heterociclos, fornecendo-lhes propriedades únicas, como interferência em suas reatividades químicas e propriedades físico-químicas, e na criação de novos locais de interação entre esses compostos e o alvo biológico (BOZOROV; ZHAO; AISA, 2019).

Os fármacos de origem sintética representam significativa parcela do mercado farmacêutico. Constatou-se que 90% dos fármacos sintéticos empregados na terapêutica são heterocíclicos, no qual 95% desses apresentam o átomo de nitrogênio e 28% apresentam o átomo de enxofre (DAI et al., 2017; MENEGATTI; FRAGA; BARREIRO, 2001; VITAKU; SMITH; NJARDARSON, 2014).

Assim, é atribuído a química medicinal o emprego de estratégias racionais de desenvolvimento de fármacos que otimizem o processo de descoberta, tanto do aspecto biológico, quanto do aspecto químico. Seguindo esse conceito, propõe-se a viabilidade do emprego da estratégia de hibridação molecular de compostos heterocíclicos a unidade tiossemicarbazônica, adicionalmente a estratégias racionais de bioisosterismo, simplificação e expansão molecular. Essa, por sua vez, apresenta amplo espectro de ação biológica, desenvolvendo suas atividades por uma diversidade de mecanismos de ação, os quais envolvem, dentre outros, interferência na atividade de proteínas e enzimas essenciais para a proliferação celular (MROZEK-WILCZKIEWICZ et al., 2019).

Tais mecanismos de ação os caracterizam como promissores agentes quimioterápicos, podendo-se dar ênfase a potencialidade como antitumorais e/ou antiparasitários, devido à semelhança entre os alvos presentes em ambos. As similaridades entre células cancerígenas e parasitárias são inúmeras: ambos são autônomos, não sujeitos a mecanismos regulares de sinalização, capazes de estabelecer um microambiente tecidual que permita a evasão imunológica e, conseqüentemente, refletir alterações funcionais de várias células inatas (NARASIMHAN et al., 2018; OLIVEIRA, 2014).

A exemplo da viabilidade dessa percepção, Hoof van Huijsduijnen e colaboradores (2013) avaliaram cinco classes de compostos antimaláricos com potencial ação anticâncer, utilizando um painel de 91 linhagens celulares cancerígenas. Seus estudos confirmaram que

três classes (artemisininas, peróxidos sintéticos e inibidores de dihidrofolato redutase) apresentaram potente atividade antiproliferativa, com valores de IC₅₀ na faixa nM. Além disso, em determinados casos, observou-se uma atividade sinérgica com outros fármacos anticâncer utilizados na clínica.

A partir dessa premissa, além de ressaltar o câncer como uma patologia multifatorial caracterizada pelo crescimento e proliferação desordenada de células, apresentando-se como a principal causa de morte em países desenvolvidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019), pode-se destacar a leishmaniose como uma parasitose de importância clínica e social. Essa esta associada a altos níveis de morbimortalidade e é ocasionada pela infecção ao macrófago pelos protozoários do gênero *Leishmania*, assumindo três principais formas clínicas (leishmaniose cutânea, mucocutânea e visceral) a depender da espécie do parasita infectante, que variam em função do tipo de lesão causada, características imunológicas e moleculares (CAMARGO; BARCINSKI, 2003; READY, 2013; UPADHAYAY et al., 2018).

A quimioterapia atual associada a ambas as doenças apresenta-se limitada devido a diferentes fatores, tais como a complexidade dos mecanismos moleculares do câncer e dos parasitas, surgimento de resistência de células e cepas a medicamentos quimioterápicos, altos custos, manifestação de reações adversas, alta toxicidade, entre outros (FORMARIZ et al., 2004; SUNIL; KAMATH, 2017; UPADHAYAY et al., 2019). Nesse sentido, destaca-se como prioridade, o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos quimioterápicos que apresentem maior eficácia contra células tumorais e/ou parasitas, associada a uma menor toxicidade.

Durante esse processo, as ferramentas computacionais biotecnológicas associadas aos métodos de química medicinal ganham papel destacado no desenvolvimento de novos fármacos. O emprego dessas técnicas auxilia nesse processo desde seu uso na triagem virtual até os estudos não clínicos na predição *in silico* do ADMET, tornando o processo de descoberta e desenvolvimento de fármaco mais ágil, acessível e menos laborioso (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010; TANG et al., 2006).

Desse modo, a partir dessa premissa, levando-se em consideração a potencialidade de compostos com esse perfil químico, esse trabalho propõe o desenvolvimento de compostos híbridos pela junção de derivados tiossemicarbazônicos a diferentes anéis heterocíclicos nitrogenados, visando o esclarecimento da sua ação *in silico* e *in vitro* para possível aplicação na quimioterapia anticâncer e/ou antiparasitária.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Planejar novos derivados tiossemicarbazônicos hibridizados a diferentes núcleos heterocíclicos nitrogenados, avaliar seus possíveis mecanismos de ação por meio de estudos *in silico*, realizar a síntese desses e avalia-los *in vitro*, propondo um provável perfil quimioterápico como potenciais antitumorais e/ou antileishmania.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos desse trabalho envolverão:

- a) planejar compostos híbridos e realizar estudos de *docking* molecular com potenciais alvos anticâncer e antileishmania;
- b) sintetizar e determinar as características físico-químicas dos novos compostos híbridos;
- c) elucidar a estrutura química dos compostos sintetizados por meio de técnicas espectroscópicas de infravermelho e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C .
- d) avaliar a atividade antiproliferativa *in vitro* frente a diferentes linhagens celulares tumorais;
- e) avaliar a atividade leishmanicida frente formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum*;
- f) determinar a citotoxicidade dos compostos frente células humanas normais;
- g) realizar estudos de predição farmacocinética *in silico*;
- h) propor quimioterápicos mais ativos baseando-se nos resultados *in silico* e *in vitro*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Química medicinal

3.1.1 Planejamento de fármacos

O processo de planejamento de fármacos refere-se a uma estratégia racional empregada pela Química Medicinal para o desenho de novas entidades químicas biologicamente ativas se baseando, originalmente, no conhecimento prévio da estrutura e da relevância do alvo-terapêutico durante processos fisiopatológicos, estratégia essa denominada de desenho de drogas baseado na estrutura do receptor (SBDD, do inglês, *structure-based drug design*) e, posteriormente, avançando para utilização do conhecimento da estrutura do ligante para o desenho racional da nova estrutura química ativa, estratégia conhecida como desenho baseado na estrutura do ligante (LBDD, do inglês, *ligand-based drug design*), ou desenho racional baseado na estrutura farmacofórica de fármacos com estrutura e mecanismo de ação elucidados, como no desenho de fármacos baseado no fragmento (FBDD, do inglês, *fragmente-based drug design*) (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

A primeira estratégia citada, SBDD, objetiva a obtenção de moléculas ligantes com atributos eletrostáticos e estereoquímicos necessários para realização de uma interação fármaco-receptor de alta afinidade. Para tal, é fundamental a compreensão da estrutura-alvo, cujo arranjo tridimensional pode ser obtida por meio de técnicas como cristalografia de raio X, espectroscopia de ressonância magnética nuclear, ou até mesmo por técnicas computacionais de homologia molecular a partir de uma proteína análoga, caso haja uma indisponibilidade da estrutura-alvo visada. Dessa forma, é possível identificar e analisar o sítio ativo enquanto a suas propriedades eletrostáticas e sua topologia, incluindo a presença de fendas, cavidades e bolsões (FERREIRA et al., 2015; KUMAR; JHA, 2017).

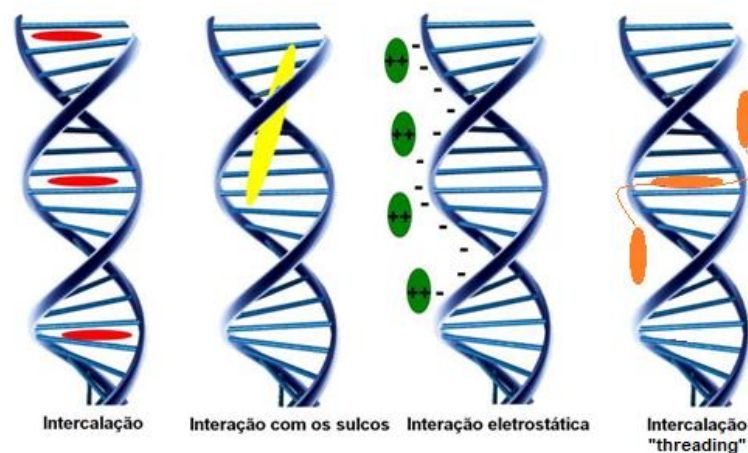
Os alvos envolvidos nesse processo geralmente são proteínas e ácidos nucleicos (MONTANARI; GAUDIO, 2011). Em doenças causadas por uma má função nas proteínas humanas, moléculas desenhadas para agir sobre receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) representam pelo menos 25% dos fármacos encontrados no mercado, enquanto que compostos que agem modulando canais iônicos, proteases, quinases e receptores nucleares correspondem a 22%. Fármacos que visam esses alvos humanos objetivam modular a função desses, em contrapartida, fármacos com atividade antimicrobiana, visam usualmente à inibição total do

patógeno ao se ligar a alvos essenciais para sobrevivência do mesmo, levando-o subsequentemente a morte (ANDERSON, 2003).

Um dos potenciais alvos envolvidos na farmacologia quimioterápica é o DNA. Esse pode ser definido como uma biomacromolécula organizada na forma de dupla hélice, compreendendo fitas antiparalelas complementares compostas por fosfatos de açúcares e bases nitrogenadas ligadas entre si por pontes de hidrogênio. O enrolamento causado pela conformação assumida pelo DNA, é ocasionado pela tendência da cadeia açúcar-fosfato aniônica se manter em contato com a solução aquosa do meio intracelular, enquanto que as bases nitrogenadas, de natureza mais hidrofóbica, orientam-se para o interior, levando a formação de sulcos maiores e menores, que servem como alvos para reconhecimento de proteínas e ligação com pequenas moléculas (ALI; BHATTACHARYA, 2014; BARRA; NETO, 2015).

O conhecimento dessa estrutura favorece o planejamento e desenvolvimento de fármacos que possam agir sobre ela, tendo-se estabelecido um perfil eletrônico e estrutural ideal para interação fármaco-alvo. As consequências desse tipo de mecanismo de ação de um fármaco envolvem as alterações nas propriedades estruturais da biomacromolécula, afetando a sua transcrição, replicação, expressão de informações genéticas nas células e, conseqüentemente, sua função fisiológica, impedindo o crescimento celular adequado (ALMEIDA et al., 2017). A exemplo disso, temos os compostos capazes de interagir com a molécula de DNA por meio de ligações não-covalentes (Figura 1).

Figura 1 - Modos de ligação com o DNA por interações não-covalentes

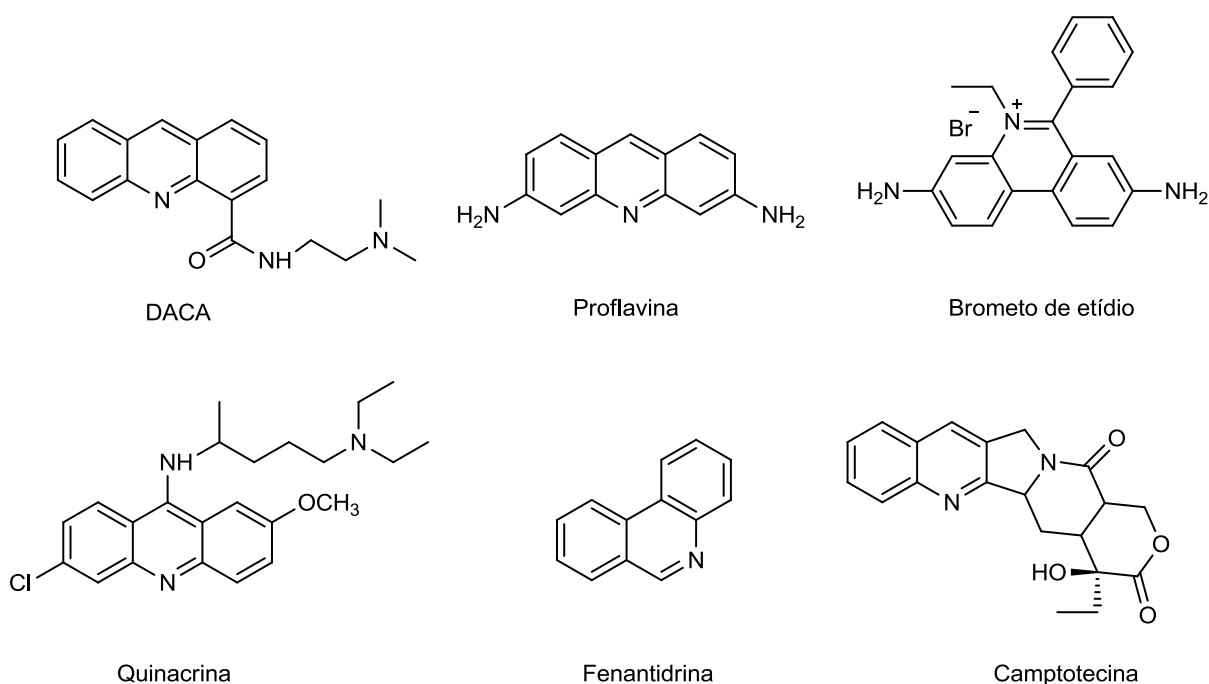


Fonte: Adaptado de Barra e Neto (2015).

Assim como demonstrado na figura 1, esses compostos podem ser classificados de acordo com o seu modo de interação detalhado em: (i) intercalação entre os pares de base pelo sulco maior ou menor do DNA; (ii) interações com os sulcos menor ou maior do DNA; (iii) atrações eletrostáticas com o esqueleto aniônico fosfato-açúcar; (v) intercalação *threading* (RESCIFINA et al., 2014). Dentre esses mecanismos citados, podemos destacar as intercalações entre as bases e as interações aos sulcos como as mais elucidadas e abordadas.

Moléculas capazes de se intercalarem entre as bases de DNA apresentam, comumente, uma estrutura poliaromática planar com um heteroátomo de carga positiva inserido no sistema de anéis ou na cadeia lateral (Figura 2). Sua estrutura planar de característica mais hidrofóbica terá a tendência de se deslocar para o centro do DNA por influência da polaridade do meio, interpondo-se entre o arranjo coplanar das bases nitrogenadas, e dessa forma, haverá a estabilização do complexo fármaco-DNA por meio de interações do tipo eletrostáticas, dipolo-dipolo, dispersão de London e, especialmente, por emparelhamento de ligações π . Essa estabilização resulta numa modificação nos ângulos de torção entre os grupos açúcar-fosfato, causando alongamento (de aproximadamente 3.4 Å), enrijecimento e desenrolamento da hélice do DNA (IHMELS; OTTO, 2005; WHEATE et al., 2007).

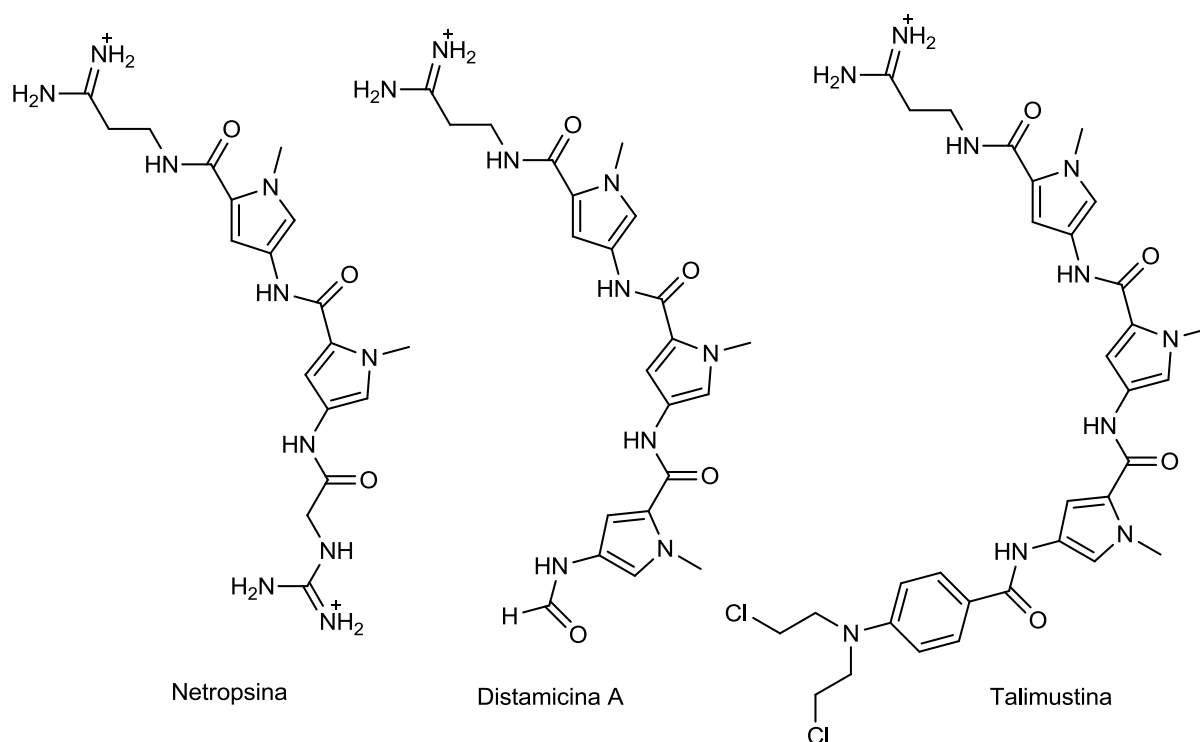
Figura 2– Compostos intercaladores de DNA



Fonte: Rescifina et al. (2014).

Enquanto isso, espécies químicas que interagem com os sulcos do DNA são preferencialmente compostas por pelo menos dois anéis, aromáticos ou heteroaromáticos, não fundidos, geralmente na forma de meia-lua, que favoreçam a modificação da conformação da molécula para que a mesma possa se adaptar às curvaturas dos sulcos, associado à presença de grupos que se protonem em pH fisiológico para formação de interações mais fortes com as bases nitrogenadas (Figura 3). Esses compostos apresentam tropismo pela região dos sulcos com maiores sequencias de adenina e timina, sendo que, moléculas maiores tendem a se ligar aos sulcos maiores, enquanto que moléculas menores tendem a se ligar aos sulcos menores. As interações envolvidas nesse tipo de mecanismo são, no geral, ligações de hidrogênio ou eletrostáticas e, diferentemente dos compostos intercaladores, esses não induzem grandes mudanças na conformação do DNA, entretanto, se demonstraram importantes na clínica como agentes antitumorais e antibacterianos (ALMEIDA et al., 2017; IHMELS; OTTO, 2005; KHAN et al., 2012; LAFAYETTE, 2016).

Figura 3 – Compostos que se ligam aos sulcos



Fonte: Ali e Bhattacharya (2014).

Na ausência da estrutura tridimensional do alvo elucidada, recorre-se ao conhecimento das moléculas capazes de se ligar a estrutura biológica de interesse, a exemplo do LBDD.

Estudos de relação estrutura atividade quantitativa 3D (3D QSAR) são largamente empregados nesse propósito, no qual se utiliza de várias características geométricas, físicas e descritores químicos quânticos para descrever as propriedades tridimensionais dos ligantes. Essa técnica possibilita a modelagem do farmacóforo, que pode ser definido como a orientação espacial tridimensional de várias características importantes para interação fármaco-receptor, tais como doadores ou aceptores de ligação de hidrogênio, que são essenciais para a atividade biológica desejada (ACHARYA et al., 2011; APAROY; REDDY; REDDANNA, 2012).

Frequentemente, faz-se o uso de ambas as técnicas integradas para reunir informações úteis no planejamento de novas entidades químicas, utilizando-se de sinergia e complementariedade de conhecimentos entre as estratégias (ANDRICOPULO; SALUM; ABRAHAM, 2009; GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2008; GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

Adicionalmente, é válido ressaltar o FBDD como uma estratégia promissora que têm surgido como uma alternativa para descoberta e otimização de novos *leads*. Essencialmente, a estratégia FBDD visa descrever e desenvolver ligantes de alta afinidade se baseando em fragmentos que compreendem um composto com atividade elucidada. Assim, esse processo é realizado ao identificar e otimizar os fragmentos individualmente, seguido de ligação ou fusão sintética para produzir a estrutura proposta de alta afinidade (HAJDUK, 2006).

Assim, partindo-se dessas ideias de planejamento do fármaco baseado numa estrutura previamente descrita, é possível o desenvolvimento e a realização de modificações moleculares do mesmo que possam favorecer suas propriedades farmacodinâmicas e/ou farmacocinéticas.

3.1.2 Estratégias de modificação molecular

Dentre as etapas desenvolvidas pela Química Medicinal para eleição de um novo composto protótipo, apresentam-se como cruciais as estratégias de modificação molecular, que incluem: bioisosterismo, homologação, simplificação e hibridação molecular (LIMA, 2007). Essas estratégias introduzem a possibilidade do desenho de análogos, os quais podem produzir avanços terapêuticos pela possibilidade de obtenção de fármacos com melhores perfis de ação farmacológicas e/ou de toxicidade (SILVA, 2013). Aqui destacamos três estratégias importantes que nortearam o desenvolvimento da proposta dos desenhos dos candidatos a fármacos.

3.1.2.1 Bioisosterismo

Bioisosterismo é uma estratégia de modificação molecular desempenhada pela Química Medicinal, no desenho racional de novos compostos químicos candidatos a fármacos, que ocupa um lugar de destaque devido a sua grande versatilidade (BARREIRO; FRAGA, 2008).

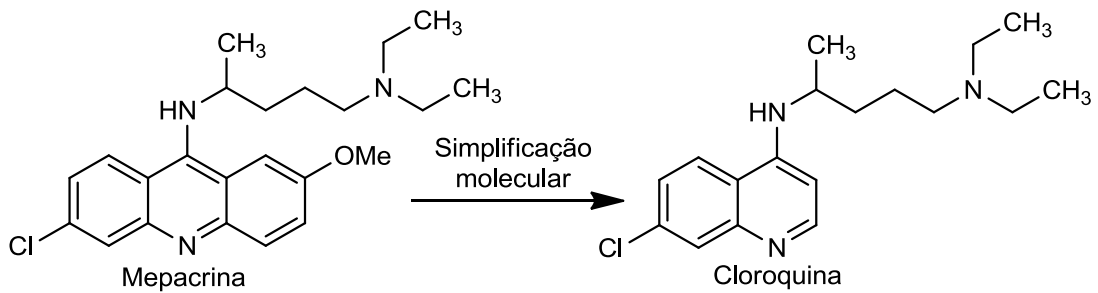
A estratégia baseia-se na substituição de um átomo ou subunidade molecular por outro átomo ou grupamento que apresente propriedades físico-químicas semelhantes, de forma que o composto substituído possa desempenhar uma atividade biológica similar ao composto de partida. Assim, as motivações envolvidas para o emprego do bioisosterismo podem estar visando uma melhoria farmacocinética, ao modular as propriedades de absorção, distribuição, metabolismo e eliminação, ou melhoria farmacodinâmica, visando maximizar sua ação, ao aumentar sua seletividade e/ou potência (BARREIRO; FRAGA, 2008).

3.1.2.2 Simplificação molecular

Inicialmente idealizada e empregada no intuito de tornar a obtenção de compostos de origem natural mais acessível, por meio do desenho de estruturas mais simples que mantivessem a atividade farmacológica desejada, a simplificação molecular trata-se de uma estratégia racional baseada no estudo da relação estrutura-atividade do composto-protótipo, que permite a preservação das subunidades farmacofóricas previamente identificadas no mesmo. Assim, essa estratégia visa diminuir ou simplificar as rotas sintéticas, ao mesmo tempo que mantém ou aumenta a atividade do composto inicial (BARREIRO, 2002; CRISÓSTOMO et al., 2005).

Um exemplo clássico do emprego dessa estratégia encontra-se no planejamento do fármaco antimalárico cloroquina (Figura 4). A partir da mepacrina, antimalárico da classe das 9-aminoacridinas, realizou-se a simplificação pela diminuição do sistema aromático, resultando na obtenção da cloroquina (BARREIRO, 2002).

Figura 4 – Processo de simplificação molecular

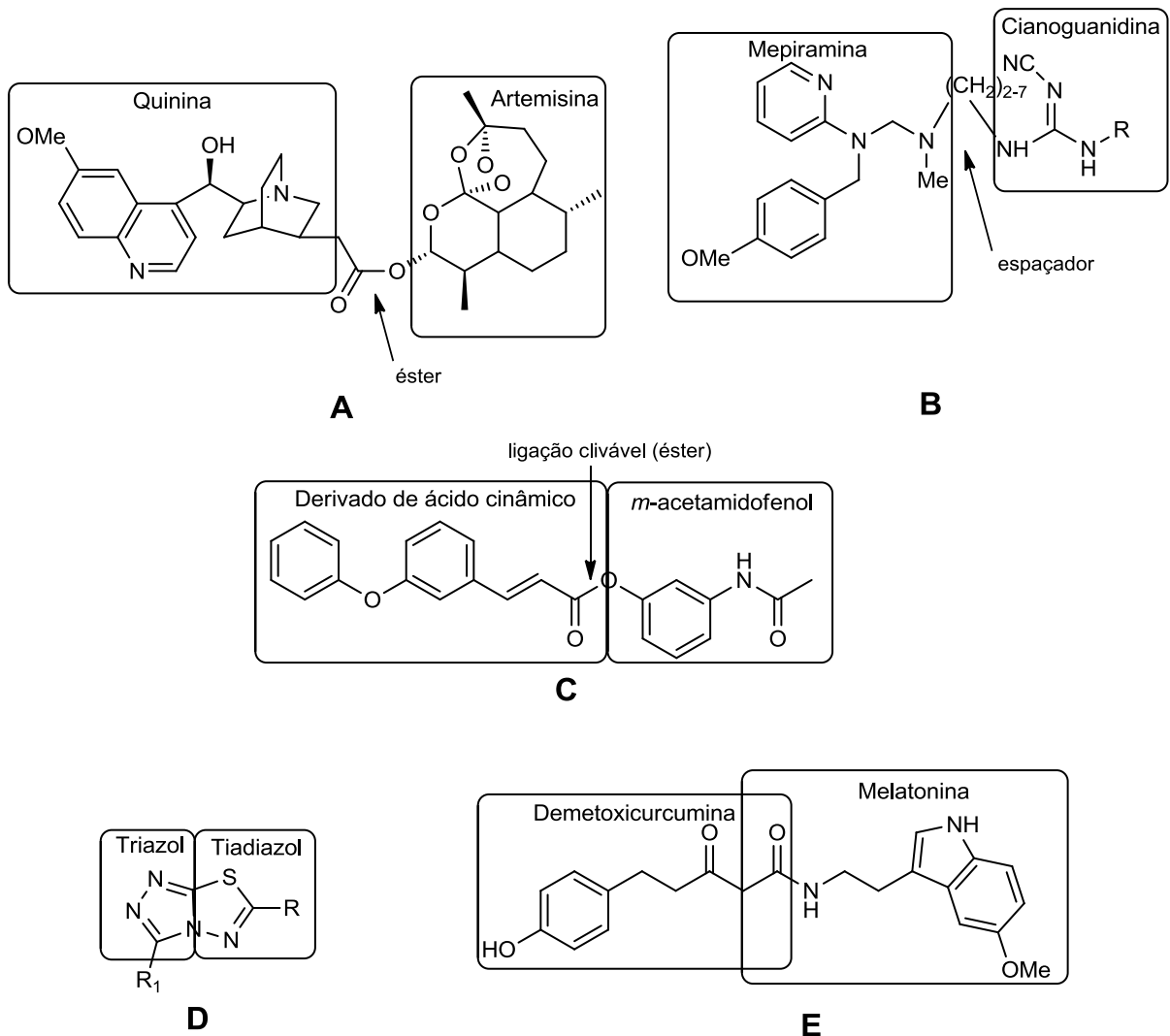


Fonte: Barreiro (2002).

3.1.2.3 Hibridação molecular

A hibridação molecular é uma estratégia racional de planejamento de fármacos no qual a nova entidade química é baseada no reconhecimento e fusão de subunidades farmacofóricas de dois ou mais fármacos conhecidos com atividades e características pré-selecionadas (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007). Essas moléculas híbridas poderão ser classificadas de acordo com o ligante entre as subunidades, como: híbridos diretamente ligados, híbridos com ligantes espaçados, híbridos fundidos e híbridos mesclados ou sobrepostos (Figura 5) (PEDROSA et al., 2017).

Figura 5 – Exemplos práticos da aplicação da estratégia de hibridação molecular



Fonte: Pedrosa et al. (2017). (A) Híbrido dihidroartemisinina-quinina ligados diretamente um ao outro; (B) Híbrido éster cinâmico unido por ligação clivável; (C) Híbrido metilmepiramina-cianoguanidina ligado por ligação não-clivável; (D) Híbrido fundido tiazol-tiadiazol; (E) Híbrido sobreposto 5-(4-hidroxfenil)-3-oxo-ácido pentanoico [2-(5-metoxi-1H-indol-3-il)-etil]-amida.

A estratégia em questão é utilizada com os seguintes objetivos: (a) sinergismo de ação farmacológica, onde o híbrido apresenta em sua estrutura unidades farmacofóricas ou de fármacos inteiros que apresentam a mesma atividade farmacológica, mas atuam em alvos bioquímicos distintos ou semelhantes; (b) terapia de dupla ação farmacológica, em que as subunidades unidas no híbrido apresentam atividades farmacológicas distintas, mas que desempenham funções sinérgicas no quadro patológico em questão, podendo também o híbrido ser chamado de agente simbiótico; (c) modulação de efeitos secundários indesejáveis, no qual há a união de um fármaco ou unidade farmacofórica, que irá desempenhar a ação

farmacológica e produzir uma ação secundária indesejável, com o segundo fármaco ou unidade farmacofórica, que agirá no intuito de minimizar ou anular o efeito secundário indesejado provocado pelo primeiro (ARAÚJO et al., 2015; NEPALI et al., 2014).

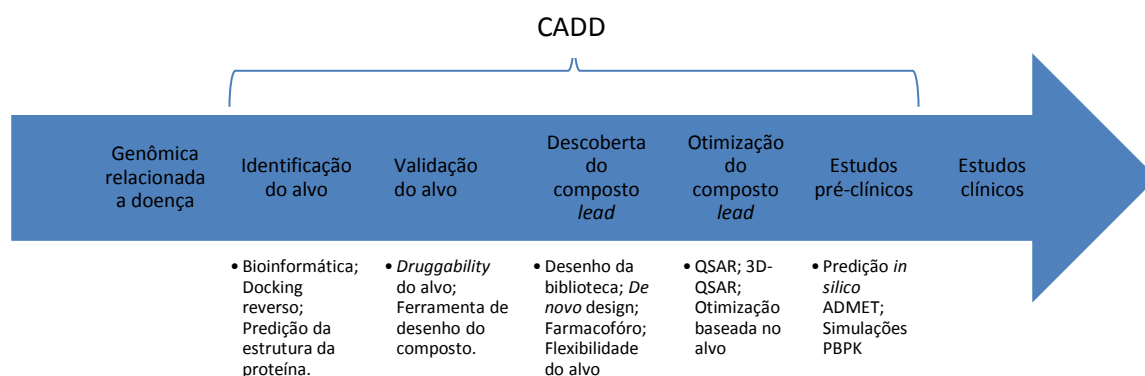
Assim, ao fazer uso dessa estratégia, considerando que os compostos ou subunidades utilizados já apresentam propriedades físico-químicas, farmacológica, toxicológica e mecanismo de ação conhecidos, é possível a obtenção de uma quimioteca de estruturas híbridas homologas, tornando o processo de desenvolvimento de fármacos mais eficaz e mais rápido (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007).

3.1.3 *Estratégias computacionais aplicadas à química medicinal*

O processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos é laborioso, especialmente se o tempo e dinheiro forem levados como principais fatores influenciadores. De acordo com Prasad e Mailankody (2017), a quantidade de investimento aplicado na obtenção de um novo fármaco varia de 320 milhões a 2.7 bilhões de dólares americanos durante um período de tempo que varia de 6 a 15 anos. Estima-se que 55% desse investimento seja utilizado durante os testes clínicos, entretanto muitos candidatos a fármacos se mostram ineficientes nos estágios finais do teste, de forma que há uma perda considerável dos recursos. Assim, a utilização de novas tecnologias se torna imprescindível nos processos de descoberta de novos fármacos, visando reduzir o tempo, os custos e evitar os riscos de falhas (SHEKHAR, 2008; XIANG et al., 2012).

O desenho de fármacos assistido por computador (CADD, *computer-aided drug design*) utiliza de ferramentas computacionais para descobrir, desenvolver e analisar fármacos e moléculas biologicamente ativas (KUMAR; JHA, 2017). Essa estratégia pode ser utilizada em várias etapas do desenvolvimento de novos fármacos, desde a identificação do alvo até a descoberta do composto *lead*, de forma que as informações obtidas pelo estudo computacional permitem uma análise rápida da atividade biológica *versus* propriedades físico-químicas de uma série de compostos, bem como da otimização do composto *lead* até os testes pré-clínicos ou clínicos (Esquema 1) (CARVALHO et al., 2003; XIANG et al., 2012).

Esquema 1 – Estágios da descoberta de fármacos



Fonte: Adaptado de Tang et al. (2006).

Dentre as estratégias mais utilizadas nos estágios iniciais do desenvolvimento de novos fármacos, encontram-se a utilização de ferramentas que delineiam o perfil farmacodinâmico da molécula frente a determinados alvos biológicos bi e tridimensionais, e que predizem o comportamento farmacocinético da mesma.

3.1.3.1 Modelagem molecular

Segundo a IUPAC, modelagem molecular compreende a investigação das estruturas e das propriedades moleculares por meio da química computacional e as técnicas de visualização gráfica, fornecendo uma representação tridimensional, sob um dado conjunto de circunstâncias (SANT'ANNA, 2002). Assim, de uma perspectiva mais detalhada, a modelagem molecular pode ser definida como um conjunto de técnicas computacionais que utilizam das leis da física, associadas a dados experimentais, que podem ser usados para analisar moléculas, incluindo número e tipos de átomos, natureza das ligações, comprimentos de ligação, ângulos e ângulos diédricos, energia molecular, otimização de geometria, entalpia, frequência vibracional de sistemas moleculares, nucleofilia e eletrofilia, potenciais eletrostáticos e previsão de propriedades moleculares e biológicas para entender as relações estrutura-atividade durante o processo de desenho de fármacos (SALEH; ELHAES; IBRAHIM, 2017).

Desse modo, partindo da ideia inicial do planejamento do fármaco, ressaltado anteriormente (tópico 3.1.1), essas ferramentas computacionais se mostram totalmente

relevantes. A estratégia de planejamento SBDD, originando-se da estrutura tridimensional do alvo, permite, durante os estudos *in silico*, a obtenção e identificação de potenciais ligantes por meio das suas características eletrostáticas e estereoquímicas que proporcionam alta afinidade com o receptor. Esses processos são seguidos da síntese e avaliação biológica, por meio de diversas plataformas, dos compostos mais promissores de acordo com o estudo *in silico* (FERREIRA et al., 2015).

Dentre as técnicas inclusas na modelagem molecular, podemos ressaltar o *docking* molecular. Trata-se de um método, utilizado tanto no processo de planejamento como desenvolvimento de novos fármacos, que objetiva simular o processo de interação fármaco-receptor, antecipando a orientação favorável do ligante frente ao alvo durante a formação de um complexo estável, a partir da qual é realizada a quantificação por meio de funções de pontuação ou *scores*, baseando-se na força ou afinidade de ligação entre o ligante e o alvo (CHAUDHARY; MISHRA, 2016).

A afinidade do ligante com o sítio ativo do alvo ocorre por complementariedade química, envolvendo influências entrópicas e entálpicas, tais como: flexibilidade das estruturas químicas envolvidas; efeito do ambiente proteico na distribuição eletrônica ao redor do ligante; interação de ambos com as moléculas de água do ambiente, dentre outros (ALONSO; BLIZNYUK; GREASY, 2006).

Os *softwares* mais utilizados atualmente para executar essa ferramenta são: DOCK, FlexX, GOLD, GLIDE e AutoDock. Esse último é um programa que combina o campo de força de energia livre empírica com o algoritmo genérico Lamarquiano, proporcionando uma predição rápida das conformações do ligante capazes de se ligar ao alvo com maior eficiência por meio das energias livres de ligação obtidas (ALONSO; BLIZNYUK; GREASY, 2006; MORRIS et al., 2009).

3.1.3.2 Predição farmacocinética *in silico*

Assim como a predição das propriedades farmacodinâmicas, a predição das propriedades farmacocinéticas por meio de ferramentas *in silico* tem sido utilizada como uma alternativa válida para os procedimentos experimentais de predição do ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção), especialmente nos estágios iniciais do desenvolvimento do fármaco, tendo em vista que a realização desses estudos inicialmente reduz drasticamente as falhas associadas à farmacocinética durante as fases clínicas finais (DAINA; MICHERLIN; ZOETE, 2017; HAY et al., 2014).

O uso de modelos *in silico* ADME fornecem uma alternativa de caracterização do potencial dos compostos *lead* em um espaço de tempo mais curto e com uma menor utilização de recursos financeiros, quando comparado às alternativas de ensaios *in vitro* e *in vivo*. Esses modelos são úteis no desenvolvimento de correlações adequadas entre estruturas químicas e propriedades de ADME para aumentar a solubilidade, absorção, distribuição, metabolismo, excreção e, conseqüentemente, parâmetros clínicos, como meia-vida, estabilidade e eficácia terapêutica. Neste contexto, modelos *in silico* devem ser projetados permitindo que a triagem de compostos seja baseada em seu provável comportamento farmacocinético e eliminando candidatos a fármacos não viáveis (HONÓRIO; MODA; ANDRICOPULO, 2013).

Assim, uma grande variedade de métodos *in silico* compartilha o objetivo de prever parâmetros ADME a partir da estrutura molecular do candidato a fármaco. Destaca-se o trabalho pioneiro de Lipinski e colaboradores (1997), que envolveu o exame de compostos oralmente ativos para definir as faixas de valores de propriedades físico-químicas favoráveis para uma alta probabilidade desses se tornarem medicamentos orais. Os autores propuseram valores ideais de quatro parâmetros: peso molecular ($\leq 500 \text{ g mol}^{-1}$), coeficiente de partição octanol/água (LogP) (≤ 5), número de doadores de ligação de hidrogênio (≤ 5) e número de aceptores de ligação de hidrogênio (≤ 10). Essa é denominada como regra dos cinco e delinea a relação entre os parâmetros farmacocinéticos e físico-químicos (DAINA; MICHERLIN; ZOETE, 2017).

De acordo com Tian e colaboradores (2015), dentre 1543 fármacos aprovados pelo FDA e depositados no *Drugbank*, 1318 (85,4%) obedecem à regra dos cinco. Desde então, uma variedade de “regras práticas” com um intuito semelhante a “regra dos cinco” foram desenvolvidas. Por exemplo, analisando as 6.304 moléculas do banco de dados *Comprehensive Medicinal Chemistry* (CMC), Ghose e colaboradores (1999) descobriram que mais de 80% dos compostos satisfazem as seguintes faixas de qualificação: AlogP entre -0,4 e 5,6; peso molecular entre 160 e 480 g mol^{-1} ; refratividade molar variando entre 40 e 130; número total de átomos entre 20 e 70. Adicionalmente, dentre as regras desenvolvidas, encontra-se a regra de REOS, que utiliza de seis parâmetros: peso molecular de 200 a 500 g mol^{-1} ; logP entre -5 a 5; número de doadores de ligação de hidrogênio de 0 a 5; número de aceptores de ligação de hidrogênio variando entre 0 a 10; número de cargas formais de -2 a 2; número de ligações rotativas de 0 a 8. Além disso, o REOS também permite que os usuários removam compostos com fragmentos reativos, tóxicos e indesejáveis, usando mais de 200

filtros de grupamentos funcionais (LAW et al., 2014; WALTERS; STAHL; MURCKO, 1998).

Além desses parâmetros inclusos nas regras, também é realizado um enfoque em relação ao metabolismo dos fármacos. Essa etapa envolvida na farmacocinética do fármaco consiste, geralmente, em um processo de duas fases. Na fase I, as moléculas são funcionalizadas no fígado humano (metabolismo hepático) através de reações de oxidação, redução e hidrólise catalisadas por enzimas pertencentes à superfamília do citocromo P450 (CYP). Em humanos, esta superfamília de enzimas heme-tiolato compreende 14 famílias conhecidas contendo aproximadamente 57 isoformas diferentes, em particular, as enzimas CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9 e CYP2C19, que são responsáveis pela maioria do metabolismo de todos os fármacos (ESTABROOK, 2003; GUENGERICH, 2004; LI, 2001). Assim, o metabolismo envolvendo as enzimas do CYP é extensamente estudado em estudos *in silico*.

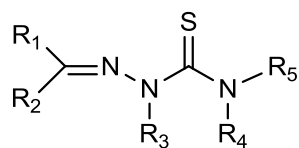
Já na fase II, os metabolitos gerados na fase I sofrem reações de conjugação com pequenos grupos endógenos polares (por exemplo, ácido glicurônico, sulfato, metionina, cisteína ou glutatona) para produzir metabolitos solúveis em água que são facilmente excretados na urina e na bile. As enzimas envolvidas na fase II incluem a glicuronosil transferase (UGT) dependente de UDP, fenol sulfotransferase (PST), sulfotransferase estrogênica (EST) e glutatona-S-transferase (GST) (HONÓRIO; MODA; ANDRICOPULO, 2013; YENGI; LEUNG; KAO, 2007).

Embora sejam técnicas excepcionalmente úteis, tanto do ponto de vista farmacocinético como farmacodinâmico, elas são apenas auxiliares e não podem substituir totalmente os ensaios *in vitro* e *in vivo*.

3.2 Tiossemicarbazonas

As tiossemicarbazonas constituem uma classe de moléculas, também designadas como bases de Schiff, de notável interesse químico e biológico. Apresentam, em sua estrutura, grupamentos doadores de elétrons (átomo de enxofre e nitrogênio, principalmente imínico), o que lhes confere uma grande característica de compostos ligantes. A figura 6 mostra a estrutura geral desses compostos (MATSA et al., 2019; MROZEK-WILCZKIEWICZ et al., 2019).

Figura 6 – Estrutura geral das tiossemicarbazonas

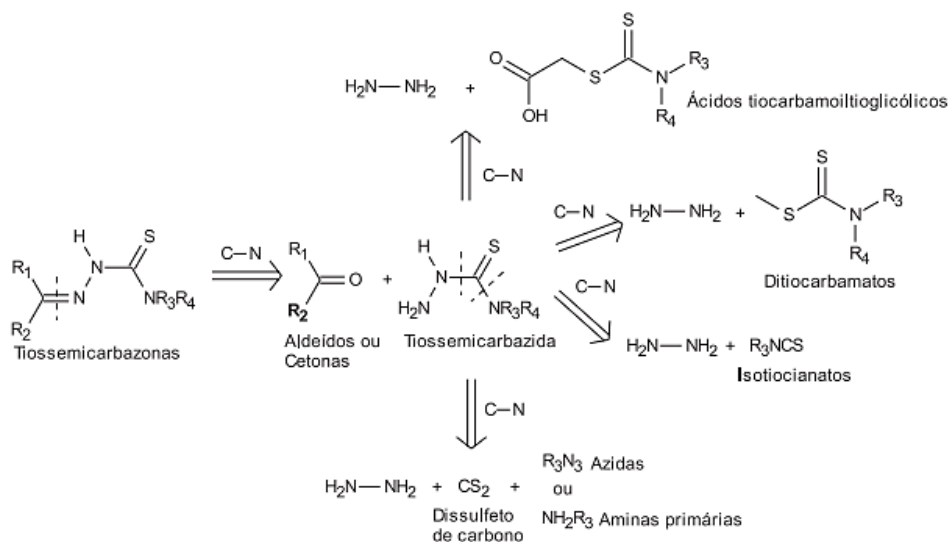


R1-R5 = H, grupos alquila ou arila

Fonte: Sousa-Pereira et al. (2013).

A reação de obtenção desse composto comumente é realizada por meio de uma condensação quimiosseletiva de tiossemicarbazidas com aldeídos e/ou cetonas, em meio alcoólico sob refluxo e quantidades catalíticas de ácido. Assim, apresentam-se como vantagens dessa reação a alta quimiosseletividade, versatilidade e rapidez, apresentando geralmente altos rendimentos. O esquema 2 apresenta uma análise retrossintética que expõe os métodos de preparação das tiossemicarbazonas, levando-se em consideração os métodos de obtenção indireta, onde há a preparação prévia das tiossemicarbazidas, utilizando hidrazina ($\text{NH}_2\text{-NH}_2$) e diferentes reagentes (TENÓRIO et al., 2005).

Esquema 2 – Análise retrossintética de compostos tiossemicarbazônicos



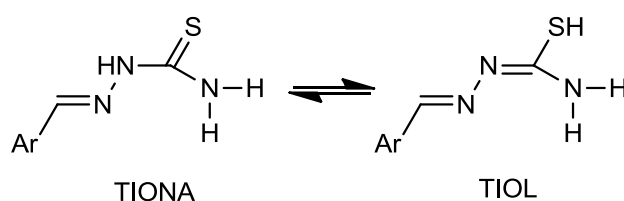
Fonte: Tenório et al. (2015).

A estrutura básica das tiossemicarbazidas e das tiossemicarbazonas é semelhante, principalmente ao considerar que ambas apresentam em sua estrutura átomos dos mesmos elementos químicos. Entretanto, a tiossemicarbazona diferencia-se da tiossemicarbazida

devido à presença do grupamento azometino (C=N), formado durante a reação de condensação com compostos carbonilados (SOUSA-PEREIRA et al., 2013).

Assim como as tiossemicarbazidas, as tiossemicarbazonas apresentam-se como sistemas com alta deslocalização eletrônica, especialmente quando há grupamentos aromáticos ligados ao carbono da imina. Desse modo, podem coexistir na forma tiona ou tiol em equilíbrio tautomérico (Figura 7) (TENÓRIO et al., 2005).

Figura 7 – Formas tautoméricas das tiossemicarbazonas



Fonte: Tenório et al. (2015).

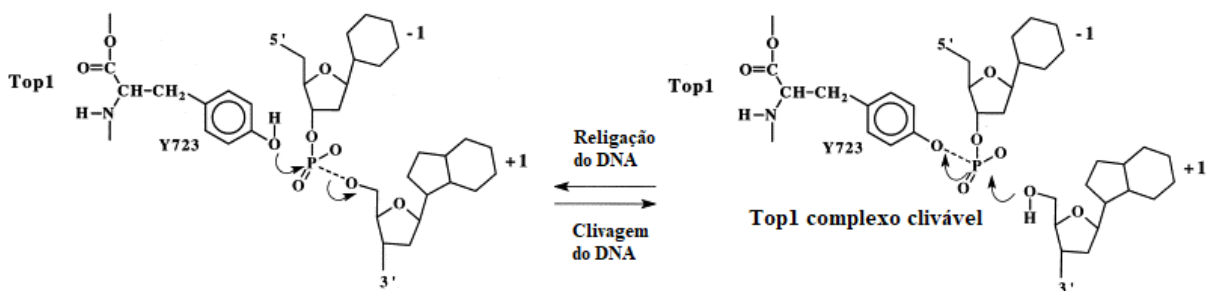
Os compostos derivados tiossemicarbazônicos apresentam um amplo espectro de ação biológica, sendo conhecidos como promissores fármacos com atividade antitumoral (SOARES et al., 2012; WANG et al., 2017), antimicrobiana (AQUINO et al., 2008; SENS et al., 2018), antiviral (SANTACRUZ et al., 2017; SEBASTIAN et al., 2008), antifúngica (THANH et al., 2016) e antiparasitária (MATSA et al., 2019).

O mecanismo de ação desempenhado por esses compostos químicos ainda não é totalmente elucidado, devido à variedade de mecanismos que possam estar envolvidos, como: desativação da enzima ribonucleotídeo redutase (RR), inibição do ciclo celular, geração de espécies reativas de oxigênio, quelação de íons de metais essenciais e interferência na ação das proteínas que são cruciais no processo de vida e morte da célula, como a topoisomerase II. Propõe-se que seu mecanismo de ação envolvendo a topoisomerase seja pela estabilização do complexo entre topoisomerase II e DNA pela alquilação do grupamento tiol no complexo topo II-DNA (MROZEK-WILCZKIEWICZ et al., 2019; SIQUEIRA et al., 2019).

Nesse sentido, realizando-se um enfoque na atividade inibitória de topoisomerase, é possível compreender a importância dessas num contexto fisiopatológico. Essas são enzimas presentes durante os processos que requerem o desenrolamento das fitas de DNA, sendo responsáveis pela quebra transitória da mesma, promovendo um consequente relaxamento da cadeia de dupla hélice. As topoisomerases podem se diferenciar, primariamente, de acordo com o mecanismo de ação desempenhado em: topoisomerases I, responsáveis pela quebra de

uma fita de DNA, e topoisomerasas II, que promovem a clivagem de ambas as fitas (POMMIER et al., 2010). Essas são capazes de manipular as fitas de DNA com grande velocidade e fidelidade, realizando sua atividade catalítica por meio de um ataque nucleofílico do resíduo catalítico tirosil a ligação fosfodiéster existente entre os nucleotídeos da fita de DNA, resultando em uma ligação covalente entre o fosfato e a tirosina (Figura 8) (POMMIER, 2009).

Figura 8 - Mecanismo de relaxamento desempenhado pela topoisomerase I sobre a fita de DNA



Fonte: Adaptado de Pommier et al. (1998).

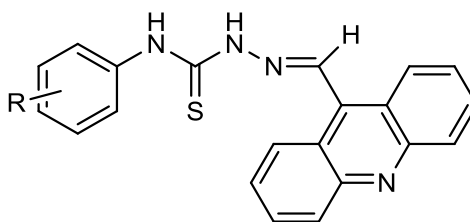
Devido sua notável importância fisiológica durante os processos a nível celular, essas enzimas tornaram-se potenciais alvos quimioterápicos. A alteração na atividade padrão dessas resulta em significantes efeitos genó e citotóxicos, sejam eles pelo mecanismo de ação desempenhado pelos “venenos de topoisomerase”, que induzem a formação de intermediários prejudiciais ao metabolismo celular pelo aumento exacerbado de quebras sucessivas às fitas, induzindo eventos mutagênicos e letais; ou pelo mecanismo desenvolvido pelos inibidores catalíticos, que inibem a ação da topoisomerase, causando uma consequente quebra das fitas de DNA pela supertorção e superhelicoidização (ALMEIDA et al., 2017; DEWEESE et al., 2009; DEWEESE; OSHEROFF, 2009).

Assim, esses fármacos podem se tornar mais seletivos às células cancerígenas, parasitárias ou bacterianas devido a três fatores: (i) as células citadas apresentam alto nível de replicação, o que as tornam mais suscetíveis ao ataque de fármacos que visam a topoisomerase, havendo um favorecimento na conversão da clivagem causada pela topoisomerase em uma clivagem permanente; (ii) as células cancerígenas possuem uma maior concentração de topoisomerasas I (mais incidentes em linhagens celulares de câncer de colo) e II α (mais incidentes em linhagens celulares de câncer de mama e de ovário), o que implica num maior aporte de enzimas para serem atacadas pelos “venenos de topoisomerase”; (iii) as

células cancerígenas, diferentemente das células normais, apresentam checkpoints defeituosos, tornando-as também mais sensíveis aos efeitos dos “venenos de topoisomerasas” (DEWEESE et al., 2009; MOURA, 2009).

Atualmente, a atividade antitumoral das tiossemicarbazonas têm sido a mais investigada. Nesse sentido, Almeida e colaboradores (2015) realizaram a síntese e avaliação do perfil antitumoral e intercalador de DNA de derivados acridínicos-tiossemicarbazônicos (Figura 9). Os resultados evidenciaram o potencial desses compostos com essa atividade farmacológica, evidenciando o DNA como um dos alvos envolvidos nessa ação. Posteriormente, Silva Filho e colaboradores (2019) realizaram a avaliação *in silico* e *in vitro* da atividade inibitória de compostos desses frente a enzima topoisomerase II α humana. As moléculas avaliadas apresentaram a capacidade de inibir a enzima em ambos os modelos experimentais, com valores comparáveis a amsacrina, fármaco intercalador de DNA e inibidor de topoisomerase II α , posteriormente comentada no tópico 3.3. Os resultados detalhados desses artigos são posteriormente comentados detalhadamente durante os resultados e discussões (tópico 5), tendo em vista que essas moléculas acridínicas-tiossemicarbazônicas serviram como compostos-protótipos para o desenvolvimento desse trabalho.

Figura 9 – Estrutura geral dos derivados acridínicos-tiossemicarbazônicos

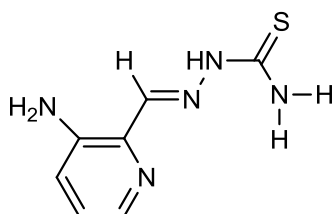


Fonte: Almeida et al. (2015)

Vários candidatos a fármacos tiossemicarbazônicos com atividade antitumoral estão iniciando a fase clínica (NCT02688101, NCT00004213, NCT02433626). A título de exemplo, o composto Triapina (3-AP) (Figura 10) foi investigado enquanto a sua atividade anticâncer no tratamento de leucemia, câncer de pulmão, rins, próstata, pancreático, entre outros, durante as fases de testes clínicos I e II. Esse composto foi sintetizado e testado como um potente inibidor de RR. Resultados *in vitro* mostraram a capacidade desse composto em inibir o crescimento de linhagens cancerígenas sensíveis e resistentes a hidroxiureia, incluindo linhagens de leucemia L1210 (IC₅₀ = 1.3 μ M), associado a uma baixa toxicidade, mostrando-se assim mais ativo que a hidroxiureia, fármaco já utilizado na quimioterapia do câncer.

Adicionalmente, os resultados clínicos indicaram que esse composto sozinho, ou em combinação (com gencitabina, cisplatina ou radiação), inibe o crescimento de diferentes tipos de tumores (NSC #663249, IND # 68338) (FINCH et al., 1999; MROZEK-WILCZKIEWICZ et al., 2019; PUBCHEM, 2019; SIQUEIRA et al, 2019).

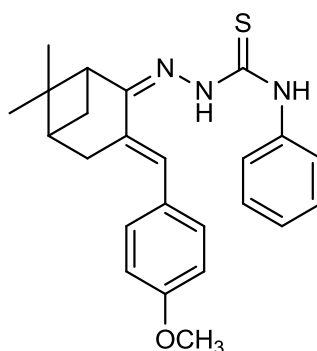
Figura 10 - Estrutura química da triapina



Fonte: PubChem (2019).

Uma série de novos derivados tiossemicarbazônicos baseados na nopinona foram desenvolvidos, sintetizados e avaliados quanto a sua atividade antitumoral frente a linhagens celulares de câncer de mama (MDA-MB-231), carcinoma cervical (HeLa) e hepatocarcinoma (SMMC-7721) por Wang e colaboradores (2017). Desse modo, 18 compostos foram testados *in vitro* frente às três linhagens de células cancerígenas e frente a fibroblastos de pulmão embrionário normal humano (Hlf-1). Entre esses, o composto 4i (Figura 11) se apresentou como o composto mais ativo, com valores de IC_{50} de 2.79 ± 0.38 (MDA-MB-231), 2.64 ± 0.17 (SMMC-7721) e 3.64 ± 0.13 μ M (HeLa), além de não manifestar toxicidade frente a linhagem Hlf-1 (>40 μ M). Ademais, a análise de ciclo celular indicou que o composto 4i é capaz de causar parada no ciclo celular da linhagem MDA-MB-231 na fase G2/M, indicando que a ação do composto ocorre preferencialmente durante a fase mitótica ou durante o período que a antecede. O ensaio duplo de coloração, anexina V-FITC/7-AAD, também revelou que o composto 4i induziu a apoptose precoce de células MDA-MB-231.

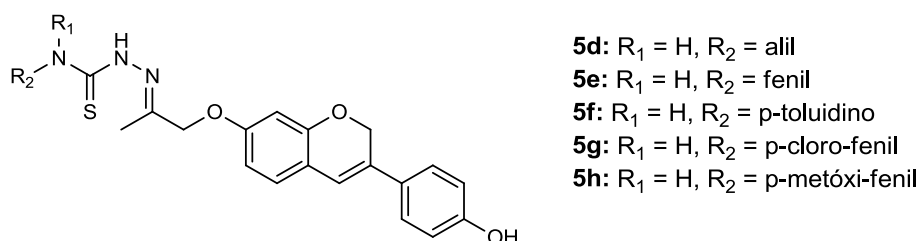
Figura 11 – Estrutura química do composto 2-(3-(4-metóxi-benzilideno)-6,6-dimetilbicyclo[3.1.1]heptan-2-ilideno)-*N*-fenilhidrazina-1-carbotioamida (4i)



Fonte: Wang et al. (2017).

Yee e colaboradores (2017) objetivaram o desenvolvimento de uma série de novos derivados híbridos fenoxodiol mono e dissustituídos com tiossemicarbazonas (Figura 12). Esses compostos foram avaliados frente a células de neuroblastoma (SKN-BE(2)C), câncer de mama (MDS-MB-231) e glioblastoma (U87). Os compostos monossustituídos mostraram resultados mais promissores em todas as linhagens celulares, destacando-se o composto 5g frente a linhagem SKN-BE(2)C, com valor de GI_{50} de 1.9 μ M. Dessa forma, cinco desses compostos (5d-5h) foram escolhidos para avaliar sua toxicidade frente a fibroblastos de pulmão normal humano (MRC-5) e, dois desses híbridos (5d, 5e) apresentaram seletividade superior a células cancerígenas quando comparadas ao fenoxodiol, sendo os valores de IS = 3.5, 2.9 e <1, respectivamente. Os resultados sugerem que a estratégia de hibridação molecular aplicada no planejamento dessas moléculas foi viável, demonstrando a obtenção de promissores fármacos antitumorais.

Figura 12 – Compostos híbridos fenoxidol-tiossemicarbazona

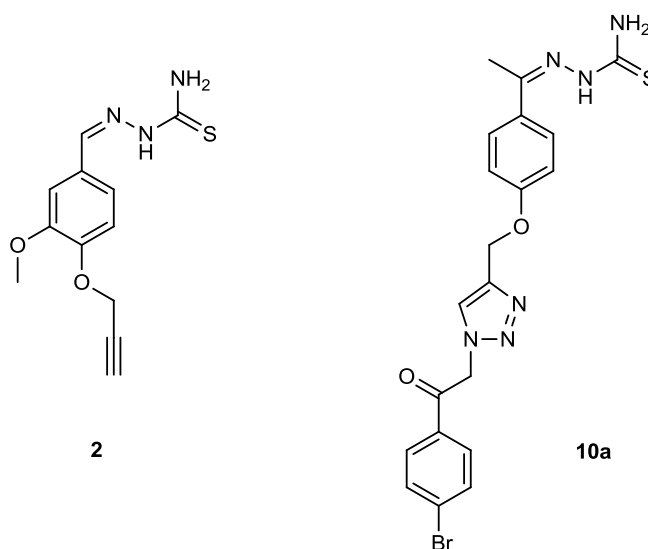


Fonte: Yee et al. (2017).

Visando a obtenção de compostos tiossemicarbazônicos com atividade antileishmania, Temraz e colaboradores (2018) realizaram a síntese de uma série de compostos

tiosemicarbazônicos hibridizados ao núcleo triazol. Esses foram avaliados frente a formas promastigotas de *Leishmania major* e a grande maioria das moléculas apresentaram-se mais ativas que o fármaco de referência, o miltefosine ($IC_{50} = 7.8 \mu M$). Os compostos 2 e 10a (Figura 13), especialmente, apresentaram valores de IC_{50} de 227.4 e 140.3 nM, respectivamente. Realizou-se, para essas moléculas, a avaliação da atividade anti-amastigota, apresentando IC_{50} de 1.4 e 1 μM , sendo assim 6 e 8 vezes mais ativos que o miltefosine ($IC_{50} = 8.09 \mu M$), respectivamente. Eles mostraram ser seguros em um representante de linhagens celulares de mamíferos (linhagem celular VERO) com índices de seletividade superior a 3000.

Figura 13 - Compostos derivados tiosemicarbazônicos 2 e 10a

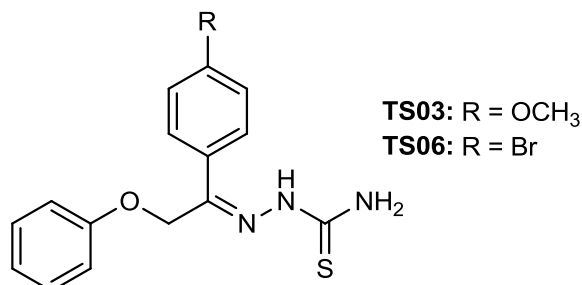


Fonte: Temraz et al. (2018).

Ainda visando essa atividade farmacológica, Da Silva e colaboradores (2017) avaliaram o perfil antileishmania e imunomodulador de moléculas tiosemicarbazonas arílicas. Os valores de IC_{50} em formas promastigotas de *L. amazonensis* variaram de 3.5 a 87.5 μM , e de 18.3 a 40.3 μM em formas amastigotas de *L. amazonensis*, sendo os compostos TS03 e TS06 os mais ativos para as respectivas formas biológicas do parasita (Figura 14). No entanto, diferentemente da anfotericina B, fármaco de referência utilizado durante o experimento, estes compostos exibiram baixa citotoxicidade em relação às células hospedeiras. Além da atividade antiparasitária observada, os compostos exibiram propriedades moduladoras na secreção de citocinas e no teor de nitrito a partir de macrófagos não infectados e infectados por *L. amazonensis*. Dessa forma, os resultados obtidos nesse

estudo confirmam a importância dos compostos tiossemicarbazônicos como potenciais fármacos antiparasitários.

Figura 14 - Estrutura geral dos derivados tiossemicarbazonas arílicas

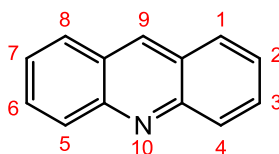


Fonte: Da Silva et al. (2017).

3.3 Compostos acridínicos

As acridinas, benzo[*b*]quinolina, dibenzo[*b,e*]piridina, 2,3,5,6-dibenzo-piridina ou 10-azaantraceno, compreendem moléculas planares contidas em um sistema policíclico, com um heteroátomo de nitrogênio em sua estrutura, consideradas como promissores agentes quimioterápicos (Figura 15) (LAFAYETTE et al., 2013; SCHMIDT et al., 2015).

Figura 15 – Núcleo acridínico



Fonte: Sánchez et al. (2006).

Os derivados acridínicos têm sido largamente estudados em relação à vários aspectos, incluindo estratégias de síntese, caracterização físico-química, caracterização estrutural e avaliação da atividade biológica frente a diferentes patologias e patógenos (GOOCH; BEAL, 2004; KUMAR; KUMAR; PRASAD, 2013).

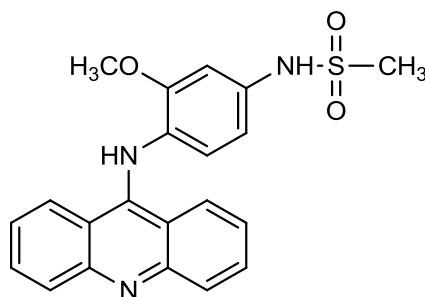
Com características físico-químicas como ponto de fusão de 110°C, ponto de ebulição de 346°C, característica levemente básica e pKa de 5,6, esses compostos apresentam estrutura que os fornece um amplo espectro de ação biológico, caracterizando-os como potenciais agentes antitumorais, antibacterianos, antiparasitários, antifúngicos, entre outros

(CHOLEWINSKI; DZIERZBICKA; KOŁODZIEJCZYK, 2011; GIRAULT et al., 2000; GUETZYOYAN et al., 2009; KAYA; YILDIRIR; ÇELIK, 2015; KUMAR; KAUR; KUMARI, 2012).

Essas atividades são atribuídas a diversos mecanismos de ação, como inibição de topoisomerase, telomerase, glicoproteína-P, proteínas quinase, entre outros. Entretanto, esse núcleo heterocíclico destaca-se quanto a sua capacidade de interação com DNA, principalmente pelo mecanismo de intercalação, que ocorre por meio da inserção dos seus anéis planares entre as bases de DNA (ALMEIDA et al., 2015; BELMONT et al., 2007).

Derivados acridínicos, tais como a amsacrina (*m*-AMSA) (Figura 16), derivado da 9-anilinoacridina, exibem potente atividade citotóxica. De acordo com Sánchez et al. (2006), esse composto em questão é considerado uma das primeiras drogas intercaladoras de DNA a ser considerada com inibidora de topoisomerase II.

Figura 16 – Estrutura química da amsacrina



Fonte: Ketron et al. (2012).

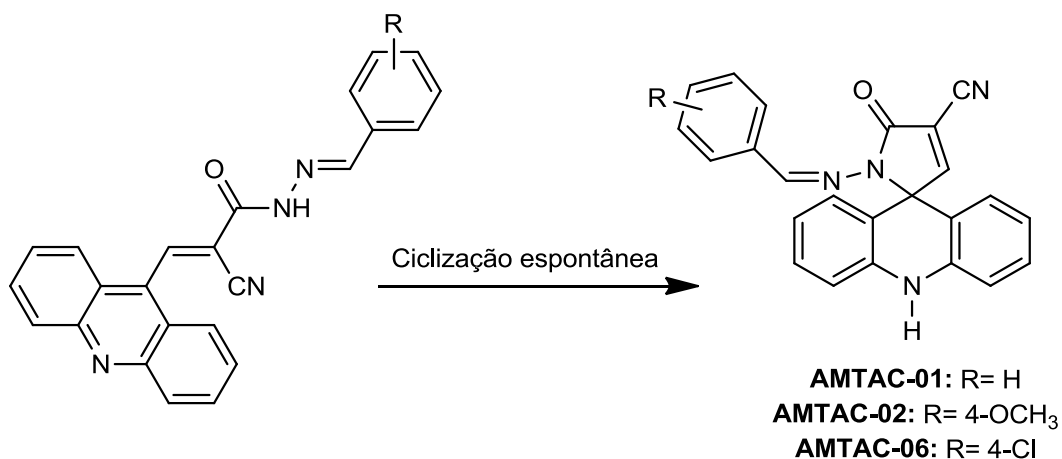
A *m*-AMSA tem sido utilizada na clínica desde 1976 como um agente antileucêmico, sendo empregada no tratamento de leucemias linfocíticas e não linfocíticas, a exemplo de linfomas de Hodgkin's e não Hodgkin's. Além disso, está incluída em diversos ensaios clínicos visando seu uso no tratamento de cânceres hematológicos. Entretanto, seu uso apresenta limitações, tais como: efeitos adversos, estando associado ao desenvolvimento de radicais livres; desenvolvimento de resistência medicamentosa e baixa biodisponibilidade. Tais limitantes impulsionam estudos envolvendo a modificação molecular desse composto, objetivando obter novos derivados acridínicos com perfil farmacológico mais satisfatório (BELMONT et al., 2007; KETRON et al., 2012; SÁNCHEZ et al., 2006).

Desse modo, visando a obtenção de novas moléculas baseadas na estrutura da *m*-AMSA, Almeida e colaboradores (2016) realizaram a síntese de compostos espiro-acridínicos

inéditos, por meio de uma reação de condensação dos intermediários *N*-acilidrazônicos com o núcleo acridina-9-carboxaldeído, seguidos de um processo de ciclização espontânea (Figura 17). Duas moléculas foram obtidas e avaliadas quanto a sua atividade antiproliferativa, interação com ctDNA e inibição de topoisomerase I e II α . A atividade antiproliferativa foi realizada utilizando-se 10 linhagens celulares, onde os compostos AMTAC-01 e AMTAC-02 apresentaram-se mais ativos frente à linhagem celular de câncer de próstata e melanoma, com valores de GI₅₀ = 6.03 e 0.77 μ M, respectivamente (Figura 17). Estudos de interação com DNA resultaram em Kb= 10⁴ M⁻¹, valor característico de compostos intercalantes de DNA, de acordo com os parâmetros apresentados por Ihmels e Otto (2005). Além disso, ambos, especialmente a AMTAC-02, apresentaram inibição a topo II α comparável a *m*-AMSA. Embora não tenham apresentado perfil inibidor de topo I, essas moléculas apresentaram-se como promissoras candidatas a fármacos antitumorais.

Dando seguimento aos estudos com os compostos espiro-acridínicos, Gouveia e colaboradores (2018) realizaram a síntese de nove novos derivados espiro-acridínicos e avaliaram suas propriedades como agentes intercalantes de DNA, inibidores de topoisomerase II α e sua interação com albumina de soro bovino (BSA). Os resultados evidenciaram o composto AMTAC-06 como uma entidade promissora e deve servir como um composto *lead* no desenvolvimento de novas entidades químicas capazes de se ligar ao DNA e a proteínas plasmáticas, bem como inibir a topoisomerase II humana, mecanismo no qual a molécula em questão provocou 84,34% de inibição em comparação aos controles positivos utilizados (Figura 17).

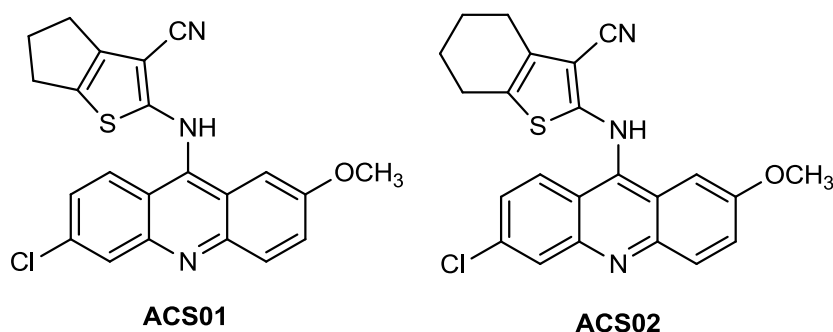
Figura 17 – Processo de ciclização espontânea em derivados espiro-acridínicos



Fontes: Almeida et al. (2016); Gouveia et al. (2018).

Visando a obtenção de derivados acridínicos com potencial atividade antileishmania, Serafim e colaboradores (2018) realizaram a síntese de duas séries de novos derivados híbridos tiofênicos-acridínicos (ACT₀₁ e ACS₀₁-ACS₀₇) e os avaliaram frente a formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Os resultados mostraram uma boa atividade antipromastigota dos compostos da série ACS, associado a um alto índice de hemólise > 1000 µM, em especial os compostos ACS01 e ACS02 (Figura 18), cujo apresentaram resultados melhores do que os fármacos de controle positivo (antimonais tri e pentavalentes), com valores de IC₅₀ de 9.60±3.19 e 10.95±3.96 µM, respectivamente. Esses foram selecionados para posterior avaliação da atividade em cepas resistentes de *L. amazonensis*, resultando em IC₅₀s de 14.83±0.44 e 16.36±1.72 µM, comprovando a efetividade desses compostos sob cepas sensíveis e resistentes aos antimoniais trivalentes. Quando avaliados quanto à interação com DNA, os compostos apresentaram $K_b = 10^4 \text{ M}^{-1}$. Além disso, o estudo de *docking* molecular evidenciou a interação da molécula com a enzima piruvato quinase de *L. mexicana*, principalmente entre os resíduos de aminoácido Asp 152 e o anel tiofênico, bem como uma correlação entre os valores de pIC₅₀ e a inibição da enzima em questão. Desse modo, esse estudo certifica a relevância do uso de compostos acridínicos na busca por novos agentes quimioterápicos para o tratamento da leishmaniose.

Figura 18 - Compostos híbridos tiofênico-acridínicos

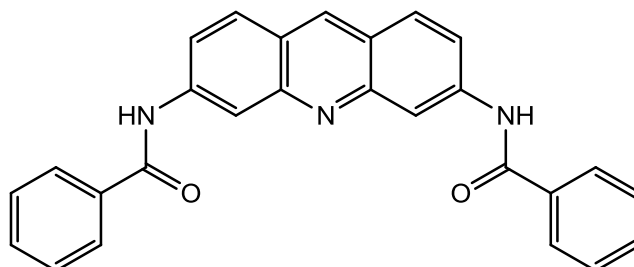


Fonte: Serafim et al (2018).

Duas novas séries de compostos acridínicos obtidas partindo da reação de acilação da proflavina foram sintetizadas por Di Giorgio e colaboradores (2007). A atividade antileishmania desses compostos foi mensurada frente a formas amastigotas e promastigotas de *L. infantum*. O composto 3a (Figura 19) destacou-se por apresentar uma notória atividade

antipromastigota ($IC_{50} = 1.1 \mu M$) e antiamebíscito ($IC_{50} = 4.3 \mu M$) associado a uma baixa toxicidade contra monócitos ($IC_{50} = 110.3 \mu M$). Os compostos foram avaliados frente DNA, entretanto o mecanismo de interação com DNA não pareceu estar envolvido com a atividade antileishmaniana desempenhada por esses.

Figura 19 - Derivado *N*-[6-(benzoamino)-3-acridinil]benzamida (3a)

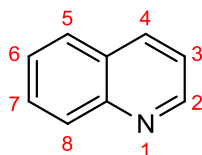


Fonte: Di Giorgio et al. (2007).

3.4 Compostos quinolínicos

A quinolina (Figura 20), também chamada de 1-aza-naftaleno ou benzo[*b*]piridina, é uma molécula caracterizada por conter um benzeno fundido com uma piridina em dois átomos de carbonos adjacentes, possuindo a fórmula molecular de C_9H_7N . Apresenta-se como um líquido amarelo oleoso, com características higroscópicas, ligeiramente solúvel em água e solúvel em álcool, éter e outros solventes orgânicos. Além disso, são características dessa molécula apresentar um peso molecular de 129.16, log P de 2.04, pK_b de 4.85 e pK_a de 9.5 (JAIN et al., 2016; MARELLA et al., 2012).

Figura 20 – Estrutura geral da quinolina



Fonte: Kumar, Bawa, Gupta (2009).

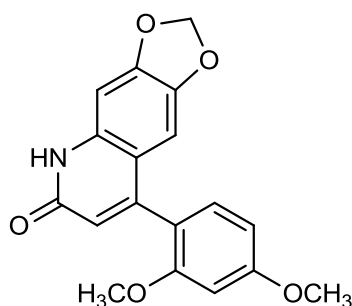
Assim como no aspecto químico, o interesse pela atividade biológica dessas estruturas é preeminente. Seu esqueleto apresenta várias propriedades farmacológicas, motivo pelo qual tem atraído o interesse da química medicinal para obtenção de compostos análogos adicionais

para realização de pesquisas do seu desempenho contra diversas patologias e patógenos (JAIN et al., 2016).

Sua relevância farmacológica é refletida quali e quantitativamente ao levar-se em consideração, por exemplo, fármacos quinolínicos que são encontrados no mercado, que incluem: fármacos antimaláricos (quinona, quinidina, cloroquina, meflorquina, etc), antibacterianos (ciprofloxacina, levofloxacina, ofloxacina, etc), antivirais (saquinavir), antihelmínticos (oxamniquina), anestésicos locais (biducaína), antiasmáticos (montelukaste), antitumorais (camptotecina, irinotecano, topotecano, entre outros), antipsicóticos (aripirazolan, brexpiprazolan), antiglaucomas (cartirolol) e cardioprotetores (vesnarinona) (AFZAL et al., 2014).

Dessa forma, Chen e colaboradores (2013) desenvolveram e sintetizaram 14 novos derivados fenil-quinolin-2-ona (12a-n) caracterizados pela ocorrência de uma reação de ciclização intramolecular. Realizou-se a avaliação *in vitro* do perfil antiproliferativo desses compostos frente a oito linhagens celulares de câncer. Nesta série, a molécula 12e (Figura 21) demonstrou atividade antitumoral significativa e superior aos controles positivos (etoposídeo e 5-fluorouracil), com valores de IC₅₀ de 0,4, 0,4, 0,4 e 0,9 µM contra as linhagens celulares 2774 (carcinoma ovariano), SKOV-3 (carcinoma ovariano), HL-60 (leucemia) e H460 (câncer de pulmão), respectivamente. Além disso, avaliações adicionais foram realizadas com a molécula em questão para elucidação do seu mecanismo de ação, onde resultados da análise de separação de células ativadas por fluorescência (FACS) sugeriram que 12e induziu parada do ciclo celular na fase G2/M acompanhada de apoptose em células HL-60 e H460.

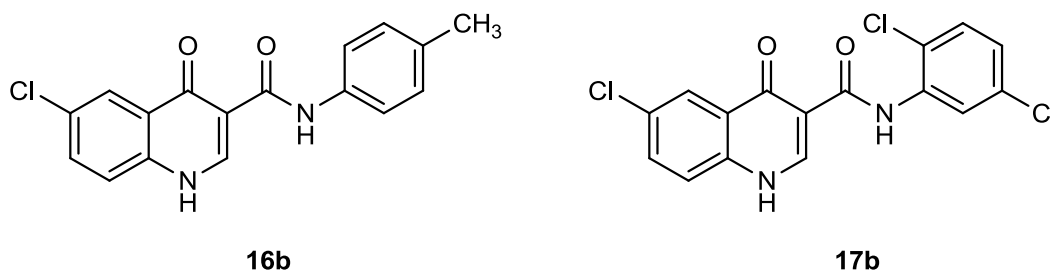
Figura 21 - Estrutura do 6,7-metilenedioxi-4-(2,4-dimetoxifenil)quinolin-2(1H)-ona (12e)



Fonte: Chen et al. (2013).

Forezi e colaboradores (2014) relataram a atividade inibitória dos compostos 10-18 frente às linhagens cancerígenas ACP-03 (câncer gástrico), HCT-116 (carcinoma colorretal) e MDAMB-231 (câncer de mama). Os compostos 16b e 17b (Figura 22) demonstraram significativa atividade citotóxica contra células de câncer gástrico, apresentando valores de IC_{50} de 1.92 e 5.18 μM , respectivamente. Além disso, ambos se apresentaram menos tóxicos que o controle positivo, doxorubicina, frente a células normais (MRC-5) e não tóxicos frente a eritrócitos. Ademais, experimentações de elucidação de mecanismo de ação realizadas *in silico* e *in vitro* indicaram a capacidade do composto 16b em inibir topoisomerase II.

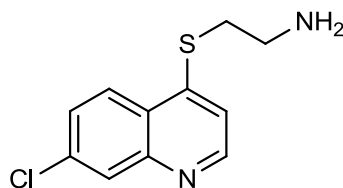
Figura 22 – Compostos 4-oxoquinolinícos



Fonte: Forezi et al. (2014).

Novos derivados quinolinícos (QuinDer) com potencial atividade antileishmania foram desenvolvidos, sintetizados e avaliados frente *L. amazonensis* e *L. braziliensis* por Coimbra e colaboradores (2016). O composto QuinDer1 (Figura 23) apresentou atividade antipromastigota frente às duas cepas ($IC_{50} = 52.9 \pm 4.2$ e 39.9 ± 0.01 μM , respectivamente), associado a geração elevada de níveis de ROS com poucas alterações na membrana mitocondrial e manutenção da integridade da membrana do parasita em *L. amazonensis*. Esse exibiu alta inibição da proliferação de formas amastigotas de *L. amazonensis* ($IC_{50} = 0.0911$ μM), sendo 139 vezes mais ativo que o composto controle positivo, miltefosine ($IC_{50} = 12.7$ μM). Adicionalmente, QuinDer1 apresentou baixa citotoxicidade em macrófagos de murinho e eritrócitos humanos, o que sugere que esse seja um potencial agente antileishmania eficaz e seletivo.

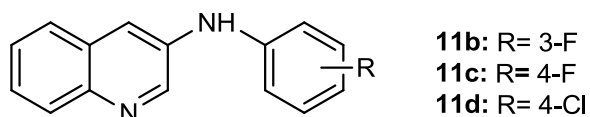
Figura 23 - Estrutura química do derivado quinolínico QuinDer1



Fonte: Coimbra et al. (2016).

Do mesmo modo, Chanquia e colaboradores (2019) desenvolveram uma nova série de 2- e 3-amilaminoquinolinas para o combate às doenças negligenciadas: leishmaniose e tripanossomíase. Derivados contendo flúor, 11b e 11c, foram mais do que duas vezes mais potentes que a geneticina contra a forma promastigota intracelular de *Leishmania mexicana* exibindo valores de IC₅₀ de 41,9 μM. Além disso, que os compostos clorados e fluorados, 11b-11d (Figura 24), apresentaram valores comparáveis ao controle positivo, benzonidazol, para forma epimastigota de *Trypanosoma cruzi*. Com relação ao provável modo de ação, os derivados de quinolina analisados interagiram com a hemina, inibindo sua degradação e gerando estresse oxidativo que não é neutralizado pelo sistema de defesa antioxidante do parasita. As moléculas não apresentaram toxicidade em células Vero. Assim, esses derivados da quinolina são exemplos interessantes de agentes antiparasitários eficazes com excelente potencial, não apenas como compostos *leads*, mas também para realização de estudos posteriores *in vivo*.

Figura 24 - Moléculas quinolínicas sintetizadas com ação antileishmania e antitripanossoma



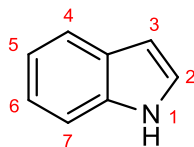
Fonte: Chanquia et al. (2019).

3.5 Compostos indólicos

Identificado em meados de 1860 por Bayer e colaboradores durante a análise estrutural do índigo, o núcleo indólico se caracteriza como uma estrutura planar bicíclica na qual o anel

benzênico se encontra fusionado ao anel pirrólico nas posições 2 e 3 (Figura 25) (CHADHA; SILAKARI, 2017; SRAVANTHI; MANJU, 2016).

Figura 25 – Núcleo indólico



Fonte: Dadashpour e Emami (2018).

O núcleo indólico (C_8H_7N), também conhecido como *1H*-benzo[*b*]pirrol, apresenta-se como um sólido cristalino transparente, com faixa de fusão de 52-54°C e ponto de ebulição em 254°C. A massa molecular do mesmo é de 117,15 g mol⁻¹ e apresenta a densidade de 1.17 g cm⁻³. Além disso, como representado na figura 25, sua estrutura contém 10 elétrons π , sendo oito elétrons π das ligações duplas e dois elétrons π do par de elétrons livres do átomo de nitrogênio. Devido à deslocalização de elétrons π , o núcleo indólico é passível a sofrer reações de substituição eletrofílica, especialmente na posição 3, caracterizada por apresentar maior densidade eletrônica e reatividade. Ademais, também é característico do núcleo indólico se apresentar como uma base fraca, protonando-se apenas na presença de um ácido forte, sendo então susceptível à reações de *N*-substituição em condições básicas (CHADHA; SILAKARI, 2017).

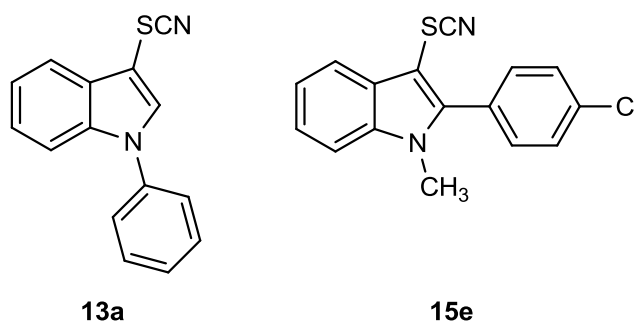
Dessa forma, a estrutura básica do indol foi introduzida como uma estrutura privilegiada no processo de planejamento e desenvolvimento de fármacos (DADASHPOUR; EMAMI, 2018). Os compostos contendo indol caracterizam-se por sua versatilidade e amplitude de atividades farmacológicas desempenhadas, incluindo atividade antibacteriana (PANCHAL et al., 2009), antitumoral (KUMAR et al., 2012; MACDONOUGH et al., 2013), antifúngica (LEBOHO et al., 2009), anti-inflamatória e analgésica (KUMAR et al., 2004), anti-histamínico (SHAIK et al., 2010), antioxidante (ESTEVÃO et al., 2010), antidiabético (LI et al., 2007), antiviral (ABDEL-GAWAD et al., 2010), anticolinesterase (GHANEI-NASAB et al., 2016), antipirético (SRIDHAR et al., 1999), anticonvulsivante (GITTO et al., 2009), entre outros.

Diversos alvos biológicos estão envolvidos na ação biológica desses compostos, a depender da sua estrutura e sua atividade farmacológica. Tendo como exemplo as avaliações biológicas e estudos de mecanismos de ação anticancerígenos desempenhados por compostos

indólicos que revelaram que estes compostos visam diversas vias em células de câncer, como as histonas desacetilases, sirtuínas, serina/treonina quinases oncogênicas, DNA topoisomerasas e receptores σ (DADASHPOUR; EMAMI, 2018).

A síntese de uma nova série de vinte derivados 3-tiocianato-indol, apresentando diversificações nas posições 1, 2 e 5 do anel indólico, foi realizada por Fortes e colaboradores (2016). Realizou-se a avaliação do perfil antiproliferativo desses compostos frente a quatro linhagens celulares de câncer: HL60 (leucemia), HEP-2 (câncer cervical), NCI-H292 (câncer adrenocortical) e MCF-7 (câncer de mama). Os resultados indicaram a potência desses compostos associado à ausência de hemólise em concentrações $>500 \mu\text{M}$, sendo as moléculas 13a ($\text{IC}_{50} = 1.43, 2.79, 2.07, 3.95 \mu\text{M}$, respectivamente) e 15e ($\text{IC}_{50} = 1.10, 2.80, 2.07, 4.05 \mu\text{M}$, respectivamente) as mais ativas (Figura 26). Os compostos indol, *N*-metil-indol e 2-(4-clorofenil)-*N*-metil-indol foram testados juntamente e não foram ativos, o que sugere que a presença do grupamento tiocianato é essencial para atividade. Contra HL60, os compostos 3-tiocianato-indólicos foram 55-71,5 vezes menos potentes que a doxorrubicina, entretanto, nas outras linhagens celulares, os compostos mais ativos foram apenas 2,2-6,8 vezes menos potentes que o fármaco de referência. No geral, os resultados sugerem que os derivados 3-tiocianato-indólicos podem ser utilizados como *scaffolds* para obtenção de substâncias altamente citotóxicas, representando um importante avanço nessa área.

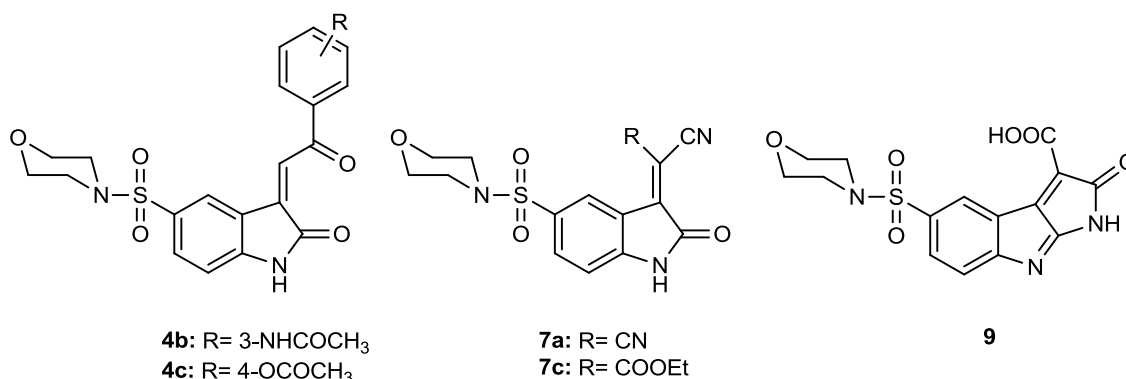
Figura 26 – Estruturas químicas dos derivados 3-tiocianato-indol mais promissores para atividade antiproliferativa



Fonte: Fortes et al. (2016).

Novas séries de compostos indólicos acoplados a estrutura da sulfonamida foram sintetizados e avaliados frente às linhagens de células cancerígenas HepG-2 (câncer hepático), HCT-116 (adenocarcinoma colorretal) e MCF-7 (câncer de mama), por El-Sharief e colaboradores (2019). Os compostos 4b, 4c, 7a, 7c e 9 (Figura 27) mostraram atividade antitumoral de largo espectro nas três linhagens celulares testadas com valores de IC_{50} inferiores a 10 μM . A análise do ciclo celular foi realizada para os derivados mais promissores, os compostos 4b e 7c causaram aprisionamento das células HepG-2 na fase G2-M, enquanto os compostos 7a e 9 acumularam células na fase G0-G1, todos induziram apoptose na fase priG1 na faixa de 11,32 a 19,17%. Os compostos 4b, 7a e 9, em especial, mostraram atividade mais potente contra o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) do que o Lapatinibe ($IC_{50} = 0,028 \mu\text{M}$), com valores de IC_{50} de 0,019 a 0,026 μM .

Figura 27 – Derivados indólicos acoplados a subunidades de sulfonamida

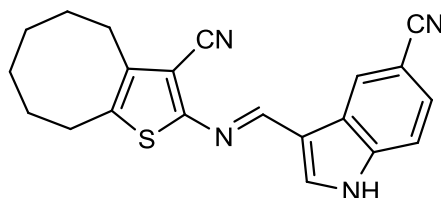


Fonte: El-Sharief et al. (2019).

Félix e colaboradores (2016) realizaram a síntese de 32 compostos híbridos aminotiofênicos-indólicos e avaliaram sua ação frente formas promastigotas de *L. amazonensis*, citotoxicidade contra células sanguíneas, e seu mecanismo de ação através da morte por fragmentação de DNA. Observou-se que muitas das substâncias avaliadas, cujos valores de IC_{50} foram menores que 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, demonstraram maior atividade que os fármacos de referência (antimonial penta e trivalente). Os compostos mais ativos foram TN8-7, TN6-1 e TN7 com valores de IC_{50} respectivos de 2,1, 2,3 e 3,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Nenhum dos derivados híbridos testados apresentou citotoxicidade contra eritrócitos humanos até a concentração mais alta avaliada (400 $\mu\text{g mL}^{-1}$). A molécula TN8-7 (Figura 28) foi selecionada para estudos subsequentes em cepas parasitárias resistentes a antimonial trivalente, obtendo resultado similar (2,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$) ao obtido em cepa sensível (2,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Além disso, sua

ação foi associada a fragmentação de DNA. Adicionalmente, estudos quimiométricos foram realizados e destacaram que os descritores relacionados à hidrofobicidade e à forma molecular estão intimamente relacionados à atividade antileishmania.

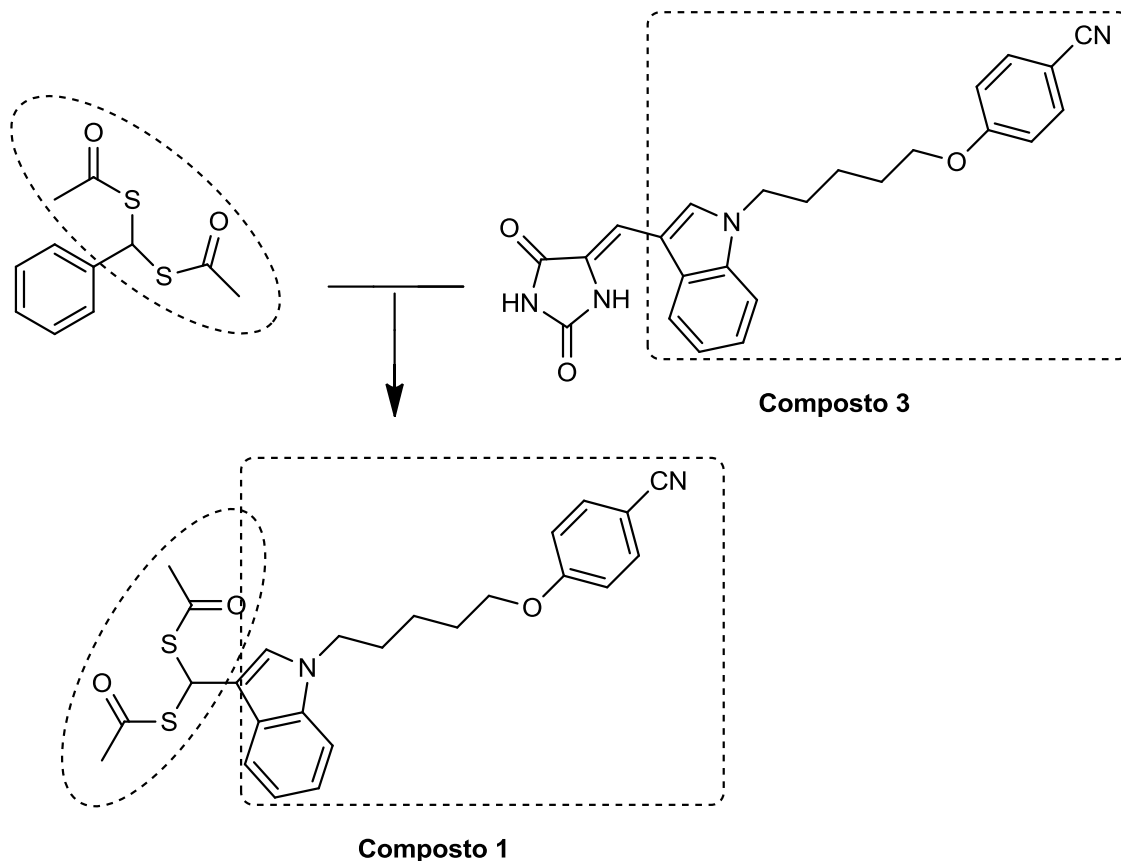
Figura 28 - Híbrido aminotiofênico-indol TN8-7



Fonte: Félix et al. (2016).

Porwal, Gupta e Chauhan (2017) desenvolveram um composto híbrido (1) a partir da estrutura 3 (molécula com atividade antileishmania *in vivo*) com a inserção de uma unidade doadora H₂S (conhecido pelo comportamento bimodal de citoproteção e apoptose) (Figura 29). O híbrido desenvolvido suprimiu 99,82% da parasitemia em macrófagos infectados por *L. donovani* numa concentração de 12,5 µg mL⁻¹ sem causar deformação nos mesmos (CC₅₀ > 100 µg mL⁻¹). Dessa forma, o composto apresentou ação citotóxica para formas amastigotas intracelulares de *L. donovani* e citoprotetora para os macrófagos do hospedeiro. O conceito pode ser utilizado para desenvolver novas entidades químicas de alto índice terapêutico para outras doenças mediadas por macrófagos, como tuberculose e câncer.

Figura 29 - Estratégia de hibridação molecular desenvolvida para obtenção de um derivado indol gem-ditioacetilado



Fonte: Adaptado de Porwal et al. (2017).

3.6 Compostos piridínicos e piperidínicos

A piridina é um composto aromático análogo ao benzeno, caracterizado por possuir em sua estrutura um heteroátomo de nitrogênio endocíclico (Figura 30). Primeiramente descrita por Anderson, em meados de 1840, pela obtenção do 2-metilpiridina (beta-picolina) por meio de destilação do óleo de Dippel, seguida da extração da piridina e outros compostos dimetilpiridínicos (lutidinas) (MURUGAN; SCRIVEN, 2013).

Figura 30 – Estrutura geral da piridina

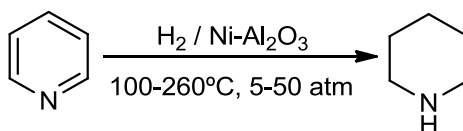


Fonte: Sherman et al. (2015).

Apresentando massa molar de $79,11 \text{ g mol}^{-1}$ e fórmula molecular $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, a piridina se apresenta como um líquido transparente inflamável, com ponto de ebulição em $115,3^\circ\text{C}$ e ponto de fusão em $-41,5^\circ\text{C}$. A mesma é uma base fraca, útil como solvente de eliminação de ácido ou como catalisador, especialmente para reações de condensação, desalogenação, halogenação e acilação (SHERMAN et al., 2015).

Atualmente, a piridina apresenta várias aplicações terapêuticas. De acordo com Henry (2004), na indústria farmacêutica, a piridina forma o núcleo de mais de 7000 fármacos existentes. Dentre eles, podemos citar: isoniazida (antituberculose), sulfapiridina (antibacteriano), pralidoxima (antídoto de organofosforados), entre outros (HENRY, 2004). Adicionalmente, a piridina pode ser utilizada na síntese do seu análogo, piperidina. De acordo com Dumancas et al. (2014), 20% da piridina produzida é direcionada para produção da piperidina. Varganyan (2017) relata a síntese da piperidina pela hidrogenação catalítica dos correspondentes derivados de piridina sobre catalisadores de níquel, paládio ou rutênio a $170\text{-}200^\circ\text{C}$ (Figura 31). Outros agentes redutores são sódio em etanol ou estanho em ácido clorídrico.

Figura 31 – Reação de redução para obtenção da piperidina



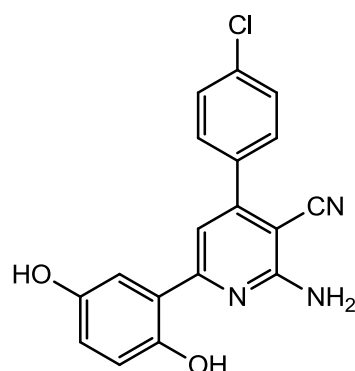
Fonte: Varganyan (2017).

Assim como a piridina, a piperidina apresenta um amplo espectro de ação biológica, agindo como: anti-hipertensivos (PETIT et al., 1991), antibacterianos (ZHOU et al., 2007), antimaláricos (MISRA et al., 2009), anti-inflamatórios e analgésicos (GANGAPURAM; REDDA, 2006; RAO et al., 1995), antioxidantes (RAVINDERNATH; REDDY, 2017) e antitumoral (AELURI et al., 2012; DAS et al., 2018).

Visando a obtenção de moléculas com potencial ação antitumoral, Abdelaziz e colaboradores (2018) realizaram a síntese e estudo de *docking* molecular de derivados da piridina e tieno[2,3-*b*]piridina como potenciais agentes anticâncer inibidores da quinase PIM-1. Trinta e sete compostos foram selecionados para serem testados inicialmente em uma dose única ($10 \mu\text{M}$) no painel de 60 linhagens celulares tumorais do NCI (*National Cancer*

Institute). O composto 5b (Figura 32) mostrou uma potente atividade anticâncer e foi testado duas vezes no ensaio de cinco doses que confirmou a sua potente atividade antitumoral, apresentando valores de GI_{50} de 0,302 a 3,57, contra todas as linhagens celulares tumorais testadas, exceto em seis linhagens, onde o composto apresentou atividade moderada. Adicionalmente, esse composto foi testado quanto a sua capacidade de inibir quinase PIM-1 e apresentou um valor de $IC_{50} = 0,044 \mu M$. Os resultados do *docking* molecular foram condizentes com os resultados *in vitro*, o composto apresentou um *score* de $-6.33 \text{ kcal mol}^{-1}$, próximo ao valor do composto de referência, VRV ($-6.43 \text{ kcal mol}^{-1}$).

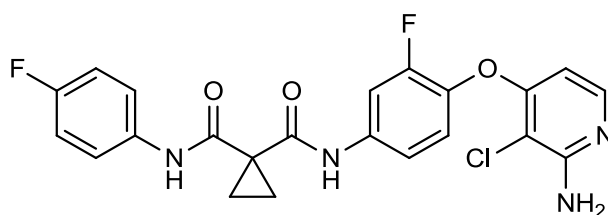
Figura 32 – Derivado piridínico, 5b, sintetizado por Abdelaziz e colaboradores (2018)



Fonte: Abdelaziz et al. (2018).

Zhao e colaboradores (2017) objetivaram a obtenção de moléculas inibidoras do tipo II de c-Met, afim de ocasionar uma resposta biológica antiproliferativa. Compostos piridínicos e pirimidínicos foram sintetizados e avaliados frente ao alvo, no qual metade dos compostos apresentaram inibição moderada a potente, com valores de IC_{50} variando de 17 a 457 nM. O composto aminopiridínico 13d (Figura 33), que se apresentou como o composto com ação inibitória de c-Met mais potente, também apresentou excelente atividade antiproliferativa frente a linhagem EBC-1 (câncer de pulmão), com $IC_{50} = 127 \text{ nM}$. Além disso, o ensaio western blot indicou que 13d inibiu fosforilação de c-Met em células EBC-1 de uma maneira dose-dependente, com inibição completa a 0,1 mM. Todos esses resultados experimentais sugerem que o 13d pode ser utilizado como um promissor composto *lead* para o desenvolvimento de agentes antineoplásicos.

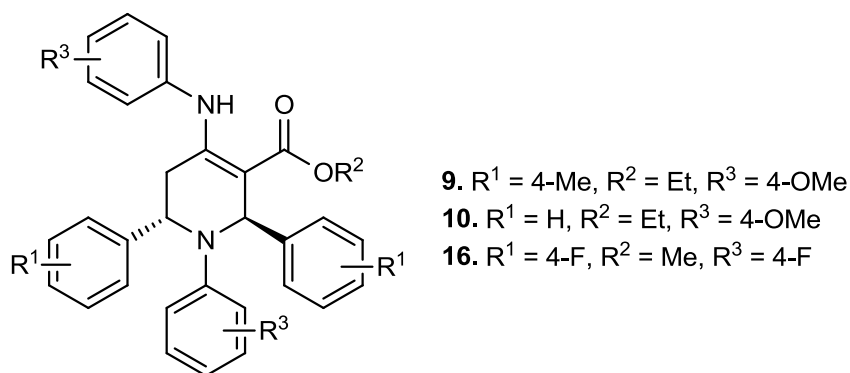
Figura 33 – Derivado piridínico, 13d, inibidor de c-Met



Fonte: Zhao et al. (2017).

O estudo desenvolvido por Das e colaboradores (2018) objetivou a avaliação da atividade antitumoral, interação com DNA e capacidade de capturar radicais livres de compostos piperidínicos. Assim, vinte e cinco piperidinas foram avaliadas frente a sete linhagens celulares de câncer e apresentaram-se mais ativas contra as linhagens 786-O (câncer renal) e PC-3 (câncer de próstata), apresentando valores de GI_{50} a partir de $0,4 \mu\text{g mL}^{-1}$ (composto 16 frente a linhagem 786-O). Todos os compostos foram mais seletivos as células tumorais em relação a linhagem celular de queratinócitos HaCaT. Nos estudos de interação com ctDNA, foi verificado que os derivados de piperidina avaliados interagem com o modelo de DNA e levam à formação de complexo supramolecular, onde os valores de K_b variaram de $0,10$ a $8,00 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. Além disso, estudos adicionais sugeriram o modo de interação como por intercalação. Quanto a atividade antioxidante, a piperidina 9 foi a mais potente depuradora de radical DPPD (capturou 44% desse radical quando usado em $64 \mu\text{mol L}^{-1}$), enquanto a mais eficaz para a captura de O_2^- foi a piperidina 10 (capturou 42% de O_2^- quando usada a $80 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Figura 34).

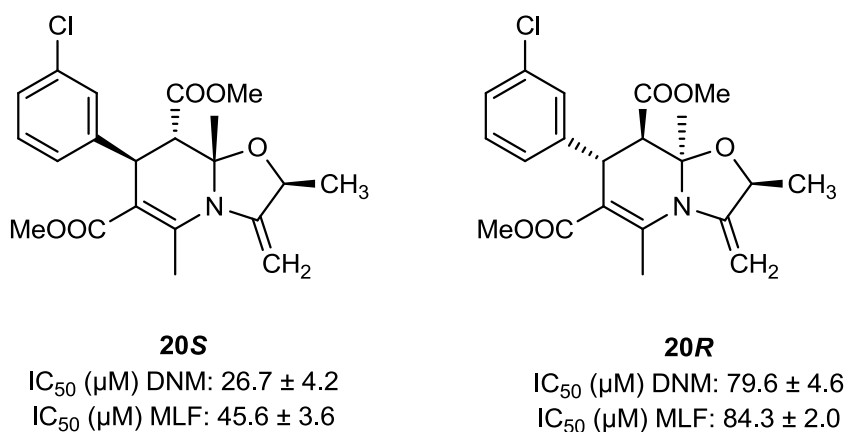
Figura 34 – Estrutura geral dos derivados piperidínicos



Fonte: Das et al. (2018).

Compostos oxazolo[3,2- α]piridina foram avaliados a cepas resistentes de *Leishmania tropica* quanto a sua capacidade de reverter a resistência a daunomicina e miltefosine. Os resultados apresentados por Caballero e colaboradores (2012) demonstraram que os compostos apresentaram significantes índices de reversão de resistência, de 6,7 vezes e 8,7 vezes, respectivamente. Além disso, foi possível se avaliar que o enantiômero puro 20S apresentou-se mais ativo que o seu enantiômero, 20R (Figura 35).

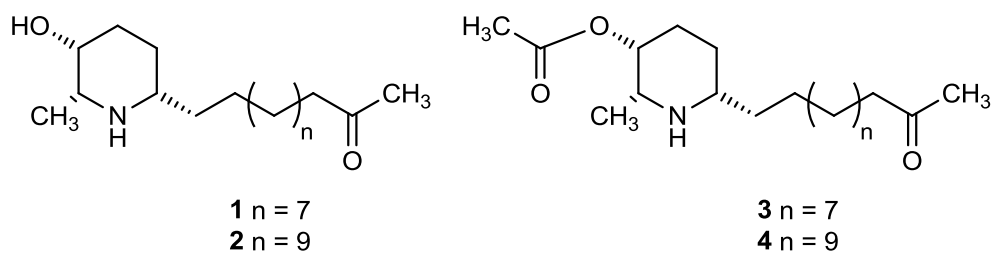
Figura 35 - Enantiômeros e seus efeitos sobre a cepa resistente de *L. tropica*



Fonte: Adaptado de Caballero et al. (2012).

O isolamento, avaliação da atividade antileishmania e realização do estudo de *docking* molecular de alcaloides piperidínicos obtidos de *Senna spectabilis*, foi realizado por Lacerda e colaboradores (2018) (Figura 36). Nesse estudo, os alcaloides de piperidina (-)-cassina (1), (-)-spectalina (2), (-)-3-*O*-acetilcassina (3) e (-)-3-*O*-acetilspectalina (4) foram isolados das flores de *Senna spectabilis*. Compostos com a cadeia lateral maior (2, 4) apresentaram-se mais ativos contra formas promastigotas de *L. amazonensis*, em especial a piperidina 2 (IC₅₀ = 15.81 μg mL⁻¹). Entretanto, quando avaliados quanto a toxicidade frente a células Vero, o composto 2 apresentou o menor valor de CC₅₀. Os resultados do *docking* frente a enzima arginase (PDB ID: 5HJ9) foram condizentes com os resultados *in vitro*, sugerindo que o resíduo Asn143 é importante para atividade.

Figura 36 - Alcaloides piperidínicos isolados das flores de *Senna spectabilis*



Fonte: Lacerda et al. (2018).

Desse modo, esses *scaffolds*, em conjunto com os demais citados, se apresentam como promissoras estruturas com perfil quimioterápico, impulsionando o desenvolvimento de estudos com essa finalidade, a fim de obter novos fármacos antitumorais e/ou antiparasitários potentes e eficazes. Nesse sentido, esse trabalho se propôs a sintetizar e avaliar a ação quimioterápica de compostos tiossemicarbazônicos hibridizados aos núcleos heterocíclicos nitrogenados apresentados, utilizando de estratégias de simplificação molecular, expansão molecular e bioisosterismo, para melhor compreensão das propriedades inerentes a cada núcleo na estrutura a qual foi inserido.

4 METODOLOGIA

4.1 Docking molecular

Para realização do estudo *in silico* de *docking* molecular, as estruturas cristalográficas da topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK), DNA (PDB ID: 1BNA; 1G3X) e topoisomerase I de *L. donovani* (PDB ID: 2B9S) foram obtidos do Research Collaboratory of Structure Bioinformatics Protein Data Bank para triagem inicial das moléculas. Do mesmo banco de dados, foram obtidas as estruturas cristalográficas de tripanotiona redutase de *L. infantum* (PDB ID: 2JK6) e piruvato quinase de *L. mexicana* (PDB ID: 3PP7) para predição do mecanismo de ação leishmanicida. O *docking* molecular dos compostos no sítio ativo dos alvos foi realizado utilizando o programa AutoDock Tools (ADT) 1.5.6.

Para identificação do sítio ativo e realização dos cálculos do *docking*, foram gerados os mapas de energia eletrostática, afinidade atômica específica e desolvatação, representando as energias de interação entre os vários tipos de átomos do inibidor e os átomos de resíduos de aminoácidos no sítio ativo da enzima, usando o programa Autogrid 4.2 através do ADT, com os centros do grid, dimensões e espaçamento dispostas na tabela 1 para o respectivo alvo cristalizado:

Tabela 1 - Parâmetros utilizados no docking molecular para cada alvo farmacológico

PDB ID	Centro do Gridbox	Dimensões	Espaçamento
5GWK	23,766; -38.695 e -60.34 Å	60 x 60 x 60 Å	0,375 Å
1BNA	14,780; 20,976 e 8,807 Å	96 x 96 x 126 Å	0,375 Å
1G3X	58,632; 52,878 e 58,27 Å	60 x 60 x 60 Å	0,375 Å
2B9S	35.616; 48.634; 10.171	40 x 60 x 60 Å	0,375 Å
2JK6	32,051; 55,534; -6,76	60 x 60 x 60 Å	0,375 Å
3PP7	29,482; 21,949; 45,944	60 x 60 x 60 Å	0,375 Å

Fonte: Autoria (2020).

Em seguida foram gerados os cálculos de interação utilizando o algoritmo genético Lamarckiano (LGA) (MORRIS et al., 1998) para busca global e local nas simulações de

docking, através do Autodock4.2 do ADT, gerando escore baseado na Energia Livre de Ligação (ΔG), e também simulando uma Constante de Inibição Estimada (K_i).

Os resultados do *docking* foram analisados através do programa Discovery Studio 2017 R2 Client, o qual pode-se identificar as regiões que ocorrem as interações, os tipos de interação, energia e resíduos de aminoácidos do sítio ativo da enzima envolvidos nessas interações (SINGH; JANA, 2017).

Em geral, a confiabilidade dos resultados de *docking* depende da similaridade entre o modo de ligação experimental e a solução de menor energia. Um valor de RMSD (*Root Mean Square Deviation*) $\leq 2,0$ Å é amplamente aceito como a distinção entre o sucesso e o fracasso em reproduzir um modo de ligação conhecido (YUSUF et al., 2008). Neste trabalho, foi aceito como metodologia validada, todo resultado que apresentar valor de RMSD $\leq 2,0$ Å.

4.1.1 Preparação da enzima

Os ligantes co-cristalizados, as moléculas de solvente e os cofatores foram removidos através do PyMol para a realização do *docking*. Usando o ADT, átomos de hidrogênio polares foram adicionados geometricamente à estrutura do receptor proteico e os átomos de hidrogênio não-polares foram mesclados com os respectivos átomos de carbono, e cargas atômicas parciais foram adicionadas utilizando o método de Gasteiger Marsili (GASTEIGER; MARSILI, 1980; MORRIS et al., 1998).

4.1.2 Preparação dos ligantes

Os ligantes tiveram suas estruturas desenhadas no ChemDraw 12.0 e, em seguida, foram submetidos, no programa Chem3D 12.0, a análise conformacional através do cálculo de mecânica molecular mínima e dinâmica (MM2) para se obter a conformação com menor energia. Por fim as estruturas foram salvas no formato MOL2.

As estruturas dos ligantes tiveram a adição dos hidrogênios polares no PyMol. Em seguida as estruturas foram carregadas no ADT e aplicadas a função de ligante as quais o ADT atribuiu automaticamente a mesclagem dos hidrogênios não-polares e adição das cargas atômicas parciais pelo método de Gasteiger (KUMAR; BORA, 2014).

4.1.3 Estudos de ancoramento molecular para validação (redocking)

Visto que as estruturas cristalográficas da topoisomerase II α (PDB ID: 5GWK), tripanotona redutase (PDB ID: 2JK6) e piruvato quinase (PDB ID: 3PP7) estão co-cristalizadas com as moléculas ligantes, foi realizada, para cada estrutura, a redocagem como método de validação. Este método consiste em submeter o mesmo ligante co-cristalizado com o biorreceptor em questão aos estudos de ancoramento molecular e observar se as interações com os resíduos de aminoácidos chave e a orientação espacial do ligante são preservados, ou seja, que o RMSD (*root-mean-square deviation*) entre o ligante cristalográfico e a proteína ou enzima seja o menor possível, de modo a comprovar a capacidade preditiva do modelo *in silico*.

4.2 Predições farmacocinéticas *in silico*

As predições farmacocinéticas se deram com a utilização de algumas plataformas online, disponibilizadas de maneira gratuita e, que apresentam graficamente resultados mais propícios para discussões e correlações.

Os programas utilizados para predizer propriedades de absorção, log P, log S, alguns inibidores de CYP450, como também, comparações de *druglikeness* foram: o SwissADME, desenvolvido pela Swiss Institute of Bioinformatics na Suíça, com referências disponibilizadas no artigo de Daina, Michielin e Zoete (2017); e o pkCSM, descrito por Pires, Blundell e Ascher (2015).

4.3 Metodologia de síntese dos compostos obtidos

A rota sintética empregada para obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos hibridizados a núcleos heterocíclicos nitrogenados foi uma via plena e, em alguns casos, convergente. A síntese dos intermediários tiossemicarbazídicos (Esquema 3) e do núcleo acridínico (Esquema 4) foram obtidos de forma paralela, enquanto que os demais núcleos (aldeídos quinolínico, indólico, piridínico e derivados do benzaldeído) foram obtidos comercialmente pela Sigma-Aldrich. A metodologia geral de síntese segue no esquema 5, representando reações de condensação para formação das séries de produtos finais.

4.3.1 Síntese dos intermediários tiossemicarbazídicos

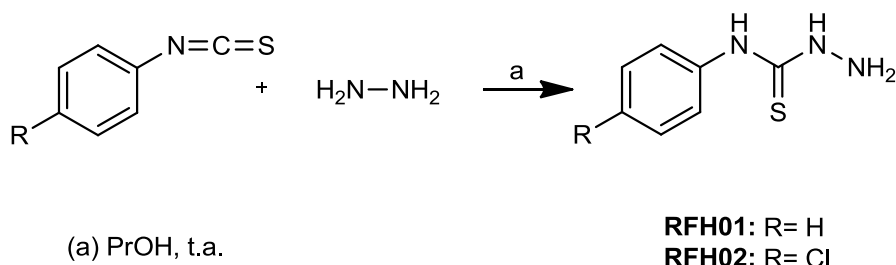
4.3.1.1 Síntese do *N*-fenil-hidrazina-carbotioamida (RFH01)

Em um balão redondo de 50 mL, adicionou-se 1,6 mL hidrazina 50% hidratada gelada, na equivalência molar de 20:1 de fenil-isotiocianato. Adicionou-se também, 10 mL de diclorometano e o sistema foi deixado em agitação por aproximadamente 5 minutos. Em seguida, adicionou-se o equivalente de 0,3000 g fenil-isotiocianato. O sistema reacional foi deixado a temperatura ambiente. Ao final da reação, a precipitação do produto foi promovida pela adição de hexano ao meio reacional. Após precipitação, o produto foi filtrado.

4.3.1.2 Síntese do *N*-(4-clorofenil)hidrazina-carbotioamida (RFH02)

Em um balão redondo de 50 mL, adicionou-se 0,68 mL hidrazina 50% hidratada gelada, na equivalência molar de 12:1 de 4-cloro-fenil-isotiocianato. Adicionou-se também, 10 mL de propanol e o sistema foi deixado em agitação por aproximadamente 5 minutos. Em seguida, adicionou-se o equivalente de 0,3000 g 4-cloro-fenil-isotiocianato. O sistema reacional foi deixado a temperatura ambiente. Ao fim da reação, a mesma foi filtrada e purificada com sucessivas lavagens com água destilada gelada.

Esquema 3 – Rota sintética para obtenção dos derivados tiossemicarbazídicos



Fonte: Autoria (2020).

4.3.2 Síntese da acridina-9-carboxaldeído (AC-02)

4.3.2.1 Síntese da 9-metilacridina (AC-01)

Em um balão de fundo redondo de 250 mL, foram adicionados 5 g de difenilamina, 5 mL de ácido acético e aproximadamente 10 g de cloreto de zinco (CRQ, BR). A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo, a uma temperatura de aproximadamente 220°C, durante 8 horas. Após esse período, a reação aquecida foi tratada com uma solução recém-preparada de ácido sulfúrico a 20% e, em seguida, alcalinizada com a adição de hidróxido de amônio concentrado até pH 8. A reação foi, em seguida, filtrada. O retido foi purificado por solubilização em acetato de etila e posterior processo de rotaevaporação (50°C), obtendo-se o AC-01 (Esquema 4).

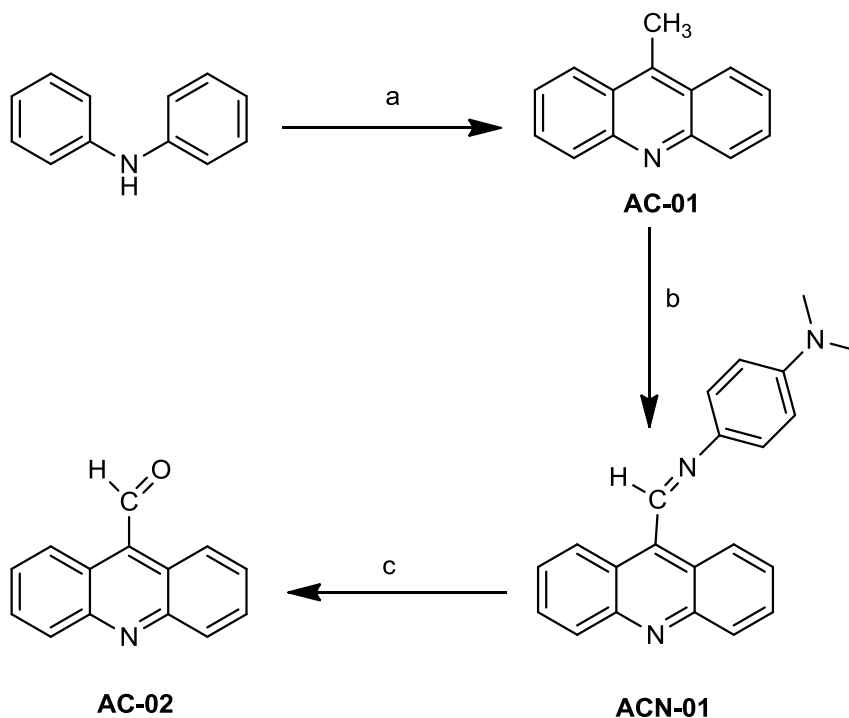
4.3.2.2 Síntese do *N*-(acridina-9-ilmetileno)-*N,N*-dimetilbenzeno-1,4-diamino (ACN-01)

Em um balão redondo de 250 mL, foram adicionados 0,9 g do produto obtido na etapa anterior, o AC-01, e 1,7646 g de *N,N*-dimetil-4-nitrosoanilina, na presença de 20 mL de EtOH. O sistema reacional foi deixado em agitação magnética e aquecimento, a uma temperatura de 78°C, durante 8 horas. Ao fim da reação, essa foi filtrada e lavada sucessivamente com etanol aquecido, obtendo-se o ACN-01 (Esquema 4).

4.3.2.3 Síntese do produto final: acridina-9-carboxaldeído (AC-02)

Em um balão de fundo redondo de 250 mL, foram adicionados 3 g do produto obtido na etapa anterior, o ACN-01 e 60 mL de ácido clorídrico a 6 M, durante 6 horas, em agitação magnética e aquecimento, a uma temperatura de 75-78°C. O produto AC-02 (Esquema 4) foi resfriado a temperatura ambiente, filtrado e o seu precipitado lavado com 50 mL de uma solução de ácido clorídrico a 2M, sendo novamente o precipitado solubilizado em uma solução de HCl/H₂O até pH 2. A solução foi filtrada e na fase aquosa foi adicionado NaHCO₃ até elevação do pH até 8, ocorrendo a precipitação dos cristais de AC-02. Os cristais obtidos apresentaram aparência amarela.

Esquema 4 – Rota sintética do núcleo aldeído de acridina



- (a) $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, ZnCl_2 , 220 °C;
 (b) EtOH, N,N-dimetil-nitrosoanilina, 78 °C;
 (c) HCl, 75-78 °C.

Fonte: Aatoria (2020).

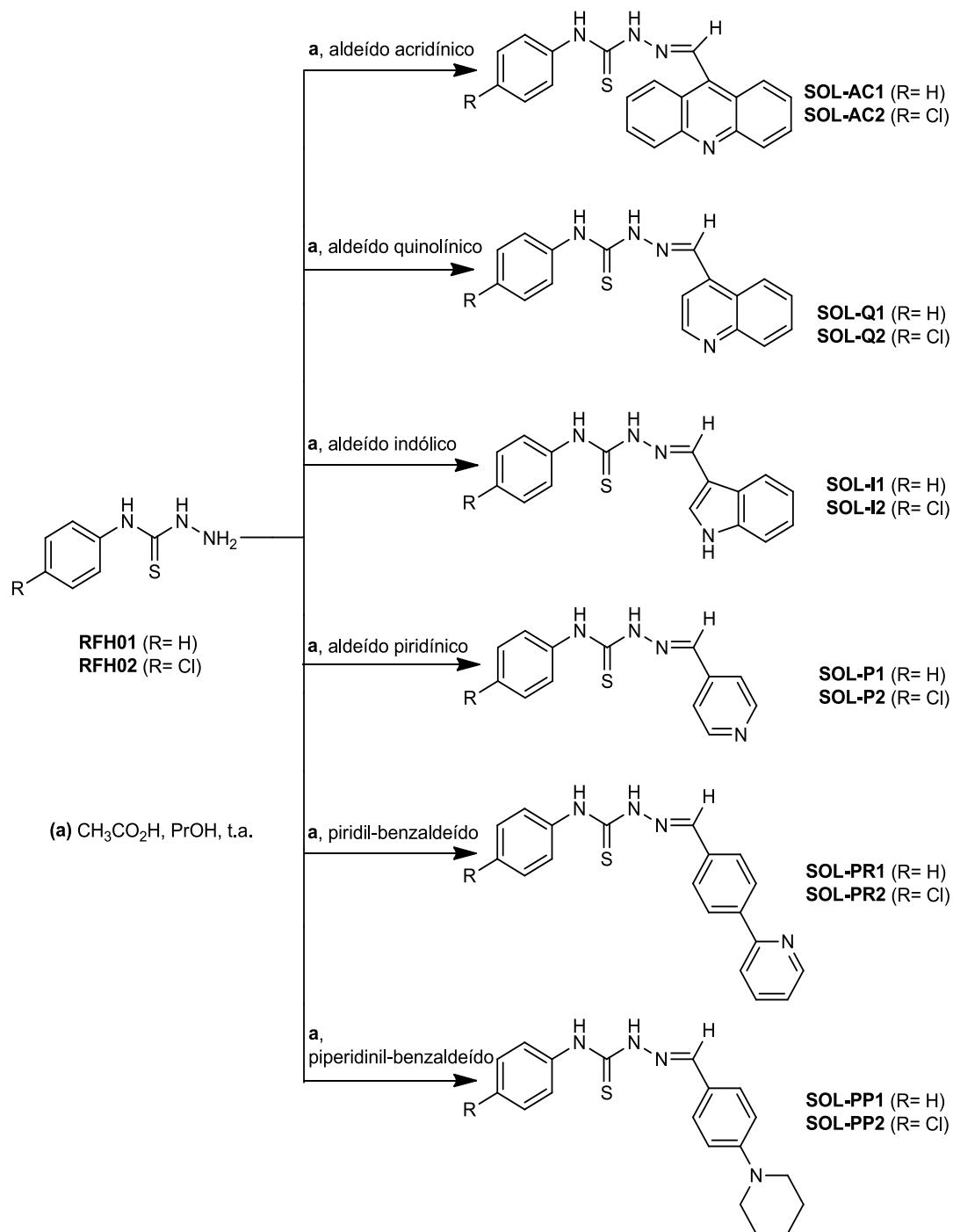
4.3.3 Síntese dos compostos híbridos finais

A síntese dos derivados tiossemicarbazônicos hibridizados aos núcleos heterocíclicos nitrogenados foi realizada em um balão de fundo redondo, de 100 mL, partindo-se de 0,1000 g do aldeído em questão, derivado tiossemicarbazídico, (substituído ou não) na equivalência molar de 1:1, 6 mL de propanol, 5 gotas de ácido acético, sob agitação em temperatura ambiente até a finalização da reação. A mesma foi acompanhada por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA). Após a finalização, a mesma foi filtrada e lavada sucessivamente com água destilada (Esquema 5).

Os compostos SOL-AC1 e SOL-AC2 foram previamente sintetizados e publicados por Almeida e colaboradores (2015), sendo denominados como 3a e 3f, respectivamente. Da mesma forma, os compostos SOL-Q1 e SOL-Q2 foram desenvolvidos por Ribeiro e colaboradores (2019), denominados como JF-96 e JF-88, respectivamente. Adicionalmente, a

molécula SOL-I1 foi previamente sintetizada e apresentada na tese de Pedrosa (2017), como LqIT/LT-98. As demais moléculas da série são inéditas.

Esquema 5 – Esquema reacional para obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos hibridizados a núcleos heterocíclicos



Fonte: Autoria (2020).

4.4 Caracterizações físico-químicas dos compostos sintetizados

As moléculas sintetizadas foram avaliadas quanto à aparência, solubilidade aparente, fator de retenção (R_f), faixa de fusão (F.F.), rendimento (%), peso molecular (P.M.) e coeficiente de partição ($\log P$).

4.4.1 Aparência

A avaliação da aparência dos compostos sintetizados foi realizada de forma macroscópica dando-se enfoque a cor e textura apresentada pelas moléculas.

4.4.2 Solubilidade aparente

Realizou-se a avaliação da solubilidade aparente para as moléculas sintetizadas frente a solventes orgânicos, em especial: clorofórmio (Dinâmica), acetato de etila (Química Moderna), metanol (REATEC), acetonitrila (Êxodo) e dimetilsulfóxido (Dinâmica).

4.4.3 Fator de retenção

A mensuração do fator de retenção dos compostos sintetizados foi realizada por intermédio de CCDA em placas FLUKA Analytical Sílica Gel com espessura de 0,2mm, a partir da comparação das medidas obtidas para os compostos com o sistema eluente predeterminado. As revelações foram realizadas por meio de câmara de emissão de radiação ultravioleta, Boitton®, em comprimentos de onda ultravioleta 254 e 365 nm.

4.4.4 Faixa de fusão

As faixas de fusão das moléculas sintetizadas foram estabelecidas por meio da utilização de uma pequena amostra do produto, em um capilar, analisadas através do aparelho Quimis® Modelo Q-340M.

4.4.5 *Rendimento da reação*

Realizou-se o cálculo do rendimento da reação por intermédio da pesagem dos compostos em uma balança analítica, obtendo-se o valor em gramas, com seguinte conversão do valor para mols. A partir desse, realizou-se a relação entre o número de mols do produto em relação ao número de mols do reagente de partida, dando-se o resultado em porcentagem. Seguem as fórmulas (1) (2):

$$\text{número de mols}_{\text{produto}} = \frac{m_{\text{produto}}}{MM_{\text{produto}}} \quad (1)$$

$$\frac{\text{número de mols do produto obtido}}{\text{número de mols do reagente de partida}} \times 100 = \text{rendimento (\%)} \quad (2)$$

4.4.6 *Coefficiente de partição*

Calculou-se o coeficiente de partição teórico pelo programa ChemDraw 12.0, por meio do desenho das respectivas moléculas.

4.5 **Caracterização estrutural dos compostos sintetizados**

Realizou-se a caracterização estrutural para os compostos sintetizados através das técnicas de espectroscopia de infravermelho (IV) e espectroscopia de ressonância magnética (RMN ^1H e ^{13}C).

4.5.1 *Espectroscopia de infravermelho*

A caracterização por espectroscopia de infravermelho foi realizada utilizando-se pastilhas de KBr em Espectrofotômetro de FTIR, IRPrestige-21, da Shimadzu®. As frequências foram medidas em cm^{-1} . Os dados obtidos foram posteriormente tratados com auxílio do software Origin 8.0.

A avaliação foi realizada em parceria com a Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

4.5.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Em parceria com a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), foram obtidos os espectros de RMN de ^1H em espectrômetro Bruker Avance, Ultrashield®, de 300 ou 500 MHz, enquanto que os espectros de RMN de ^{13}C foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance, Ultrashield®, de 75 ou 125 MHz. Os solventes deuterados empregados foram escolhidos de acordo com a solubilidade das moléculas, dando-se preferência a DMSO- d_6 . O tratamento dos espectros foi posteriormente realizado pelo software MestReNova.

4.6 Atividade antiproliferativa

Em parceria com a Universidade Federal da Paraíba (UFPB), sob supervisão da Prof. Dra. Marianna Vieira Sobral, para a avaliação da citotoxicidade foram utilizadas as linhagens de células tumorais humanas HCT 116 (câncer de cólon), MCF-7 (câncer de mama), HeLa (câncer cervical), SKMEL (melanoma humano), PC-3 (câncer de próstata), e as linhagens de célula não tumorais L929 (fibroblasto murino) e HaCaT (queratinócitos humanos) mantidas em meio de cultura RPMI-1640. O meio foi suplementado com 10% de soro bovino fetal (SBF) e 1% de solução de antibiótico (penicilina e estreptomicina). As células foram mantidas em estufa a 37 °C em atmosfera úmida enriquecida com 5% de CO_2 .

A citotoxicidade foi avaliada por meio do ensaio de redução do MTT, brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MOSMANN, 1983).

As células foram plaqueadas em placas de 96 poços, na concentração de 3×10^5 células. mL^{-1} . Em seguida, foram preparadas soluções estoque de 20 mM das amostras, dissolvidas em DMSO (100%), da qual foram produzidas soluções de trabalho na concentração de 25 ou 50 μM , diluídas em meio RPMI-1640, não ultrapassando a concentração final de 0,5% de DMSO. O DMSO (20%) foi utilizado como controle positivo. Após 72 h de incubação, as placas foram centrifugadas (500 g, 5 min, 25 °C), foi removido 110 μL do sobrenadante, sendo adicionado 10 μL de MTT (5 mg mL^{-1}) (Sigma-aldrich). As placas foram incubadas por 3 h em estufa de 5% de CO_2 , a 37 °C, para redução do sal e formação dos cristais de formazan. Após o período de incubação, foi adicionado 100 μL de Dodecil Sulfato de Sódio (10% HCl 0,01 N), para a solubilização dos cristais de formazan. As

placas foram cobertas com papel alumínio e deixadas overnight em um agitador. A absorvância foi medida em um leitor de placa, no comprimento de onda de 570 nm.

O experimento foi realizado em quadruplicata e a percentagem de inibição foi calculada no programa GraphPad Prism 7.0, realizando o teste ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey.

4.7 Atividade antileishmania

Em parceria com a Universidade Federal da Paraíba (UFPB), sob supervisão da Prof. Dra. Tatjana Keesen de Souza Lima Clemente, realizou-se a avaliação da atividade antileishmania dos compostos frente as cepas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum*. As formas promastigotas dessas espécies de *Leishmania* foram mantidas *in vitro* em meio Schneider com pH 7 (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), suplementado com 20% de soro fetal bovino (SFB – Cultilab, São Paulo, BRA), 1% de antibiótico (penicilina 200 U mL⁻¹ e estreptomicina 0.1 mg mL⁻¹ - Gibco, BR) e 1% de urina masculina humana, denominado neste trabalho de meio Schneider suplementado. As culturas foram mantidas a uma temperatura de 26 ± 1 °C em estufa de demanda biológica de oxigênio (DBO) e repicadas semanalmente, não ultrapassando vinte repiques, para manutenção da viabilidade celular.

A atividade antipromastigota foi realizada utilizando o teste do MTT. Esse método é baseado na atividade de enzimas desidrogenases citosólicas e mitocondriais, que são capazes de reduzir o MTT (coloração amarela) e formar um produto de coloração azul, insolúvel em água, o sal formazan. Em placa de 96 poços foram adicionados 100 µL de meio Schneider suplementado e cerca de 1 x 10⁶ promastigotas por poço. Posteriormente, foram adicionados os derivados sintetizados em triplicata, previamente diluídas em meio Schneider suplementado para um volume final de 100 µL para cada poço nas concentrações de 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56 e 0,78 µg mL⁻¹; e de 10 a 0,078 µg para a Anfotericina B como controle positivo.

Em seguida, incubadas por 72 h em estufa de demanda biológica de oxigênio (B.O.D.) à temperatura de 26°C. Ao final da incubação, foi adicionado 10 µL de MTT diluído em tampão fosfato-salino a uma concentração final de 5 mg mL⁻¹. Sendo incubados por mais 4 h em estufa de demanda biológica de oxigênio a 26°C, e em seguida adicionado 50 µL de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 10%. A placa permaneceu em overnight para dissolução do formazan e por último, foi realizada leitura a 550 nm em leitora de placa (Biotek modelo ELx800).

Os resultados foram expressos em valores de concentração inibitória de 50% do crescimento de formas promastigotas (IC_{50}), sendo o controle negativo realizado em meio Schneider suplementado a 0,5% de DMSO e considerado como 0% de inibição do crescimento dos parasitos.

4.8 Avaliação do potencial hemolítico

O ensaio de hemólise foi realizado em eritrócitos humanos do tipo O+, disponibilizados do material de rejeito do laboratório de análises clínicas (LAC) da Universidade Estadual da Paraíba. Inicialmente foi preparada a suspensão de eritrócitos, onde o sangue coletado em tubos contendo anticoagulante (EDTA) foi lavado com solução fisiológica 0,9% e centrifugado três vezes, durante 5 minutos. A cada processo de centrifugação, o sobrenadante foi descartado. Após centrifugação, preparou-se a solução eritrocitária dos eritrócitos sedimentados a 10% em solução fisiológica.

O preparo da suspensão dos compostos sintetizados seguiu-se a partir da pesagem de cada composto, de acordo com a concentração desejada para avaliação, solubilização em 500 μ L de DMSO (correspondente a 5% da solução), em uma solução final de 10 mL de solução salina, obtendo-se uma concentração final de 250 μ g mL⁻¹. Os tubos contendo as suspensões foram deixados no ultrassom por um período de 10 minutos.

Após o preparo das suspensões, realizou-se o preparo da solução contendo 2 mL da suspensão eritrocitária e 2 mL da suspensão de cada molécula, em tubos de ensaio diferentes. As soluções preparadas foram deixadas em repouso durante 1 hora e, após tempo transcorrido, foram submetidas a centrifugação por 5 minutos. Em seguida, os sobrenadantes foram submetidos a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm. Para tal, utilizou-se como branco a solução salina e como solução hemolisante Triton X-100 a 0,1%. O ensaio foi realizado em triplicata.

O cálculo do potencial hemolisante das substâncias seguiu a seguinte equação (3):

$$Ph = \frac{Ae - Ab}{At} \times 100 \quad (3)$$

Ph = Potencial Hemolisante (em porcentagem);

Ae = Absorvância da molécula;

Ab = Absorvância do branco (controle negativo);

At = Absorvância do Triton-X 100 (controle positivo).

4.9 Proposta de compostos mais ativos

A partir dos resultados obtidos para ambas às atividades farmacológicas *in silico* e *in vitro*, visa-se obter perfis estruturais que sejam mais desejáveis para cada ação farmacológica, selecionando-se o composto mais ativo para atividade anticâncer e o composto mais ativo para atividade antileishmania. Assim, novos análogos baseados nesses compostos mais ativos e na árvore de decisão de Topliss foram dados como proposta, com a finalidade de obter compostos mais potentes para suas respectivas atividades farmacológicas. A esses compostos foram realizados estudos *in silico* visando avaliar a afinidade e potencialidade desses frente ao alvo e atividade farmacológica às quais foram propostos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

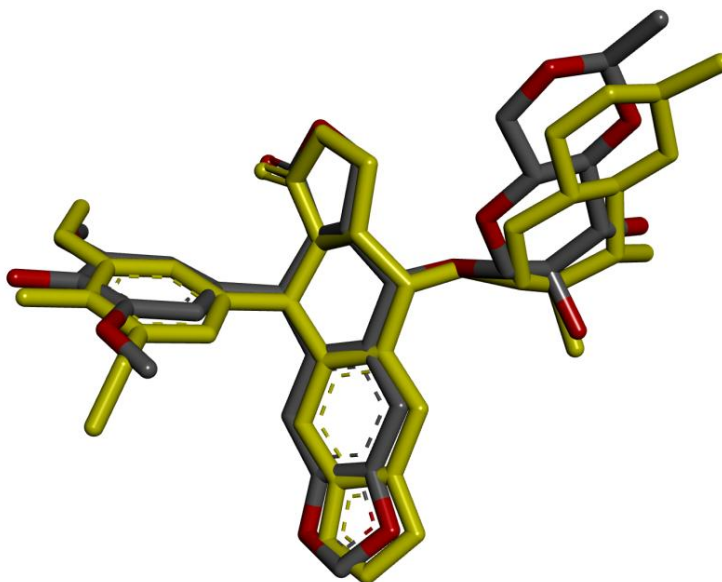
5.1 *Docking* molecular

Visando a viabilidade da realização dos estudos *in silico*, em especial como forma de predição farmacodinâmica, estudos de *docking* molecular foram realizados envolvendo a estrutura química proposta dos doze compostos desse trabalho frente a potenciais alvos quimioterápicos.

5.1.1 *Docking* molecular da interação dos derivados propostos com topoisomerase II α complexada com DNA

Levando-se em consideração os prováveis mecanismos de ação atribuídos aos *scaffolds* presentes na estrutura dos compostos propostos, realizou-se o *docking* molecular desses frente à topoisomerase II α complexada com DNA (PDB: 5GWK) a fim de determinar uma possível atividade antitumoral, utilizando-se como ligantes de referência os potentes fármacos venenos de topoisomerase: Etoposídeo (ligante co-cristalizado) e Amsacrina.

O etoposídeo, ligante co-cristalizado da topoisomerase II α , foi utilizado para realização do *redocking*. Esse procedimento tem como finalidade validar o método utilizado, visando-se obter, a partir da realização do *docking* entre o ligante co-cristalizado e bioreceptor em questão, a preservação da orientação espacial do ligante. Conforme é visualizado na figura 37, há uma semelhança espacial entre o ligante co-cristalizado (amarelo) em relação ao ligante redocado (cinza). O valor do RMSD de referência, utilizado como parâmetro para validação, foi de 0.8 Å, sendo 2.0 Å o valor máximo desejável, como descrito na metodologia.

Figura 37– *Redocking* do etoposídeo para validação do método

Fonte: Aatoria (2020).

Ao observá-la de forma mais detalhada, a figura 37 evidencia algumas diferenças entre o ligante co-cristalizado e o ligante redocado, estando essas discrepâncias presentes principalmente nas ligações dos carbonos sp^3 dessa estrutura. Diferentemente das ligações dos carbonos sp^2 e sp , onde há a sobreposição de orbitais p que dificultam a rotação livre da ligação e tornam a estrutura mais rígida. As ligações sp^3 , formadas apenas pelo compartilhamento de elétrons, possuem rotação livre, possibilitando uma ligeira variação na posição espacial. Assim, como é ressaltado por Moura (2019), o modelo computacional é eficiente em suas previsões, mas possui limitações que devem ser avaliadas cuidadosamente para cada ligante.

Tendo sido validado o método, realizou-se o *docking* com as moléculas propostas, obtendo-se os resultados expostos na tabela 2. Para determinação das melhores afinidades, utilizaram-se como parâmetros a Energia Livre de Ligação (ΔG), na qual, quanto menor o resultado em kcal mol^{-1} , mais favorecida e mais estável é a interação entre o ligante e o alvo; e a Constante de Inibição Estimada (K_i), que assim como o parâmetro anterior, fornece valores inversamente proporcionais à afinidade observada durante a docagem em unidade molar.

Tabela 2 - Resultados do *docking* molecular entre as estruturas propostas, os compostos controle e a TopoII α /DNA (PDB ID: 5GWK)

MOLÉCULA	Energia Livre de Ligação (kcal mol ⁻¹)	Constante de Inibição Estimada (Ki) (nM)
SOL-AC1	-10.03	44.72
SOL-AC2	-10.54	18.95
SOL-Q1	-8.95	273.39
SOL-Q2	-9.30	151.39
SOL-I1	-8.17	1030.0
SOL-I2	-7.98	1420.0
SOL-P1	-6.91	8620.0
SOL-P2	-7.40	3740.0
SOL-PR1	-8.77	372.28
SOL-PR2	-9.87	58.68
SOL-PP1	-8.68	433.58
SOL-PP2	-10.27	29.52
ETOPOSÍDEO	-12.15	1.25
AMSACRINA	-10.47	21.16

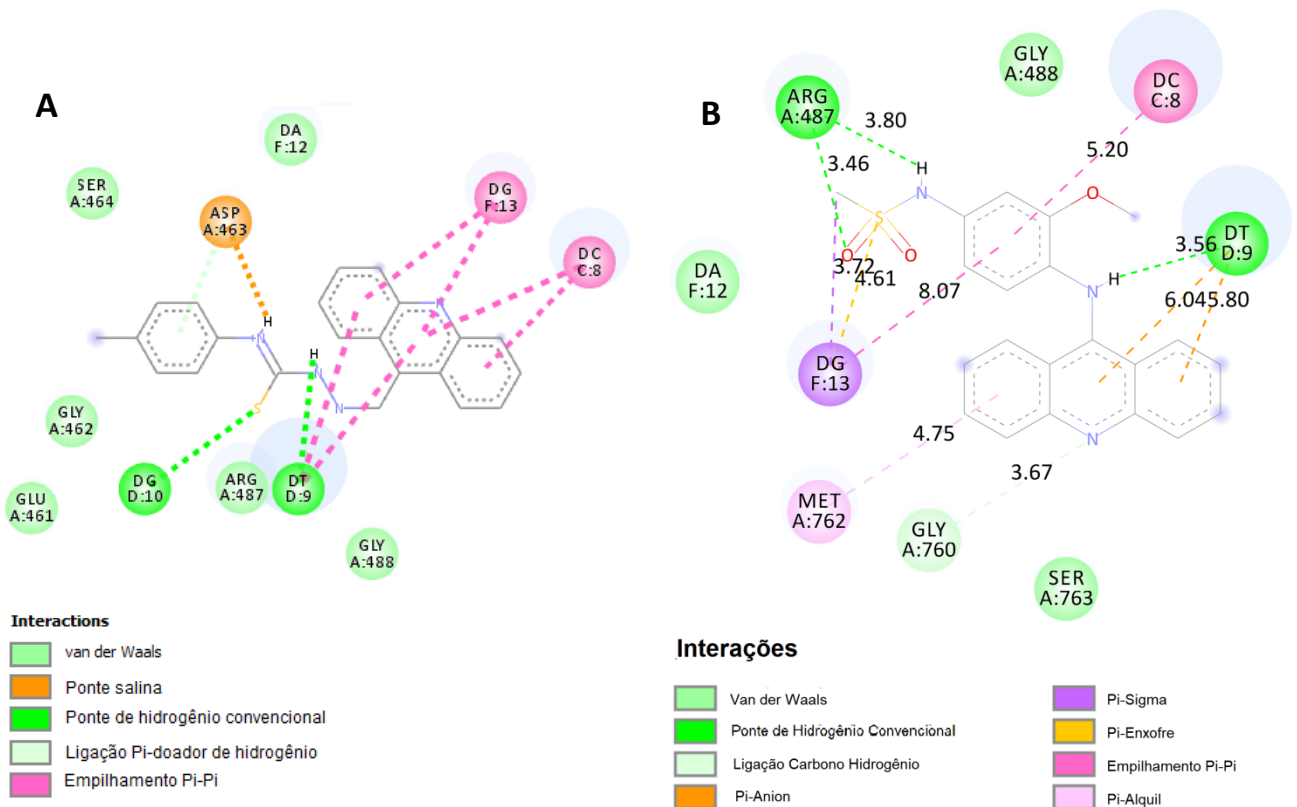
Fonte: Autoria (2020).

A partir dos resultados obtidos, observou-se com clareza a influência da extensão do sistema aromático e do substituinte halogenado sobre a interação ligante-alvo. O composto SOL-AC2, caracterizado por apresentar em sua estrutura um anel acridínico e um substituinte cloro na porção tiossemicarbazônica, apresentou os melhores resultados frente à enzima em questão, com valores de $\Delta G = -10.54$ kcal mol⁻¹ e $K_i = 18.95$ nM, valores esses superiores aos obtidos para interação Amsacrina-TopoII ($\Delta G = -10.47$ kcal mol⁻¹ e $K_i = 21.16$ nM).

A Amsacrina, como apresentada anteriormente (tópico 3.3), é um fármaco acridínico caracterizado por inibir topoisomerase II α e intercalar DNA. Embora os estudos *in silico* não reflitam com acurácia as condições intrínsecas e extrínsecas envolvidas na relação ligante-alvo, os valores obtidos por meio desse são indicativos da potencialidade da molécula frente a determinado alvo. Nesse caso, os resultados obtidos para molécula SOL-AC2 são atrativos e podem corresponder a um possível mecanismo de ação desenvolvido pelo composto.

Na figura 38, é realizado um comparativo entre as interações realizadas pela molécula SOL-AC2 (A) e *m*-AMSA (B). É possível observar, em comum, interações às bases nitrogenadas timina-9 (DT D:9), citosina-8 (DC C:8) e guanina-13 (DG F:13), sendo as duas últimas do tipo empilhamento de ligações π em ambos complexos. Esse tipo de interação é característico de compostos intercaladores de DNA e ocorre devido à presença do anel acridínico em ambas as estruturas, que tendem a estabilizar o complexo ligante-DNA se interpondo na estrutura coplanar das bases nitrogenadas e realizando, principalmente, interações hidrofóbicas entre os anéis aromáticos. Observa-se que o composto SOL-AC2 apresentou uma maior quantidade de interações por empilhamento de ligações π , fator que pode ter favorecido para que essa molécula tenha apresentado um menor valor de energia livre de ligação (ΔG). Adicionalmente, nota-se uma diferenciação da posição espacial dos compostos no alvo cristalizado, favorecendo com que esses interajam com diferentes resíduos de aminoácidos.

Figura 38 – *Docking* da molécula SOL-AC2 (A) e da Amsacrina (B) com o complexo Topoisomerase II α /DNA



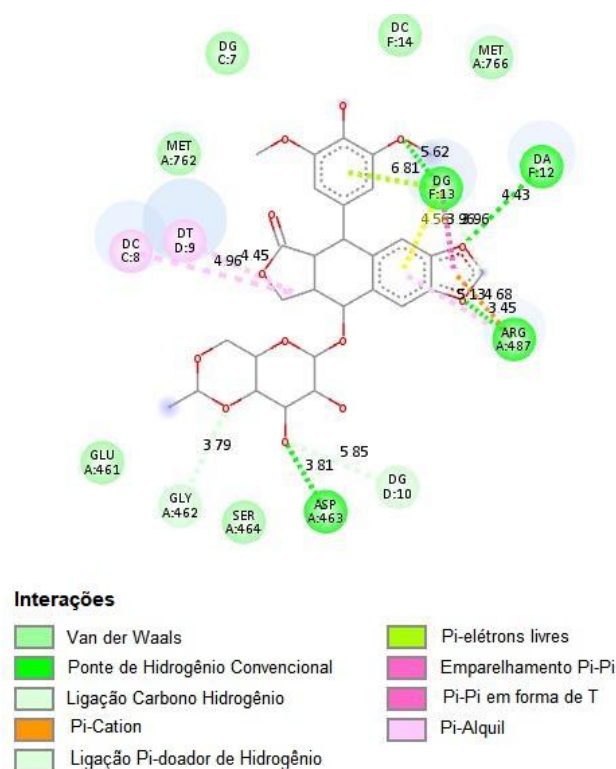
Fonte: Aurtoria (2020).

Entretanto, ainda em uma relação comparativa, esses compostos se diferem quanto às interações realizadas com os aminoácidos referentes à estrutura da topoisomerase II α . Na molécula SOL-AC2, as interações realizadas com a topoisomerase II são atribuídas à porção tiossemicarbazônica. Portanto, é válido ressaltar a interação de caráter iônico que ocorre entre a amina terciária e o aminoácido Asp 463, e a ausência do mesmo tipo de interação no fármaco de referência.

Componente do estudo realizado por Silva Filho e colaboradores (2019), a molécula SOL-AC1, previamente sintetizada por Almeida e colaboradores (2015) e denominada como composto 3a, foi avaliada *in silico* e *in vitro* quanto a sua capacidade de inibir topoisomerase II α . A molécula em questão difere do derivado SOL-AC2 apenas pela ausência do substituinte cloro na porção tiossemicarbazônica. O estudo *in silico* foi realizado em condições experimentais semelhantes às utilizadas nesse trabalho, e resultou em um valor de $\Delta G = -9.12$ kcal mol⁻¹ para o alvo 5GWK. Dessa forma, esse composto foi selecionado para estudos *in vitro* frente DNA plasmidial pUC19 numa concentração de 100 μ M, utilizando-se como controle positivo a Amsacrina, na mesma concentração. A molécula SOL-AC1 apresentou inibição a topoisomerase comparável a Amsacrina, sendo denominado como o melhor composto da série.

Em contrapartida, nenhum dos compostos apresentou valores superiores aos obtidos para o ligante co-cristalizado, etoposídeo ($\Delta G = -12.15$ kcal mol⁻¹ e $K_i = 1.25$ nM). Podem-se visualizar, a partir da figura 39, importantes interações realizadas para formação do complexo fármaco-alvo. Dentre essas, podemos evidenciar a interação por ligação de hidrogênio convencional entre o radical hidroxila e o aminoácido Asp 463, reproduzida anteriormente pela molécula SOL-AC2 (figura 38) na forma de interação iônica, o que sugere uma possível relevância do aminoácido referente a topoisomerase II α para sua inibição. Além dessa, apresentam-se como interações importantes, as realizadas com os resíduos de aminoácidos Arg 487, através de ponte de hidrogênio, pi-cátion e pi-par de elétrons livres, e Gly 462, por interação carbono hidrogênio. De acordo com Montecucco, Zanetta e Biamonti (2015), o etoposídeo promove e estabiliza um complexo ternário fármaco-topoisomerase-DNA, entretanto, apresenta baixa afinidade ao DNA isolado e é um intercalador de DNA de baixa potência. Dessa forma, é possível observar determinadas interações com as bases nitrogenadas do DNA, ocorrendo majoritariamente por pontes de hidrogênio.

Figura 39 - *Docking* molecular do Etoposídeo com o complexo Topoisomerase II α /DNA



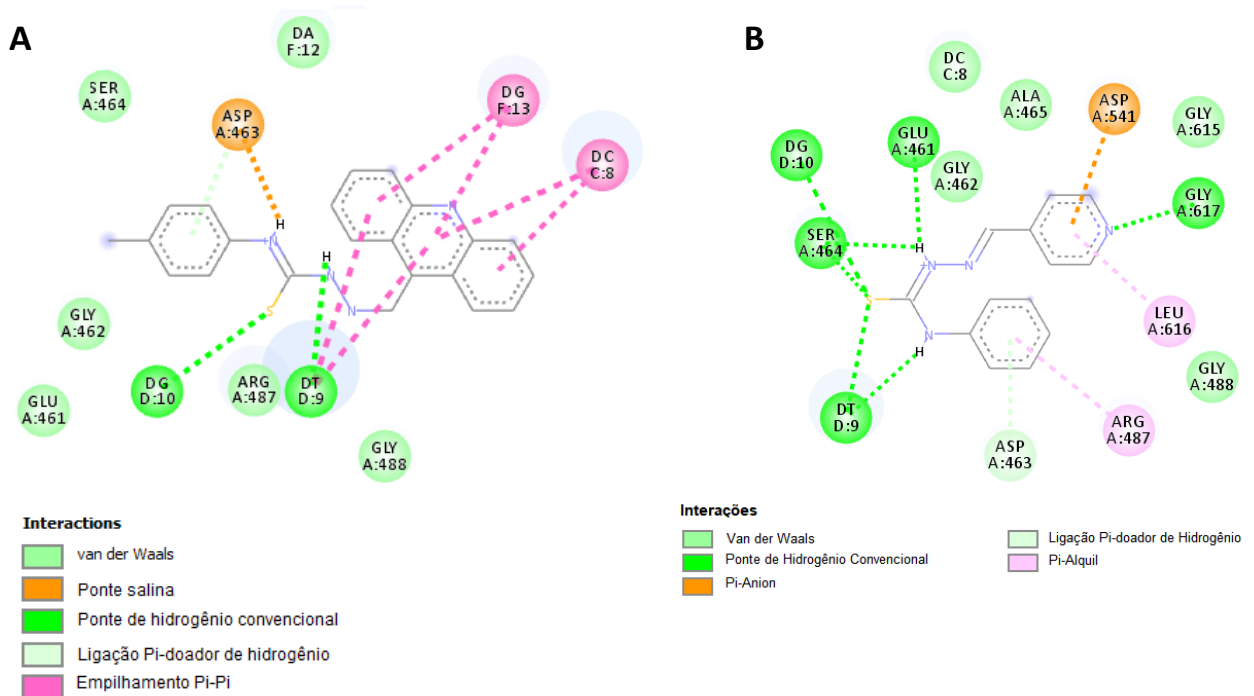
Fonte: Autoria (2020).

Ao analisar as moléculas idealizadas, é possível iniciar um delineamento do perfil farmacofórico favorável para atividade desses compostos como possíveis inibidores de topoisomerase II α . Como mencionado anteriormente, a extensão do sistema aromático e a presença/ausência do cloro parecem ser importantes fatores para o estabelecimento da relação estrutura-atividade desses compostos. De acordo com os valores obtidos, sistemas aromáticos fusionados mais extensos e a presença do cloro na estrutura auxiliam para uma melhor interação composto-alvo.

Realizando-se um comparativo entre as interações realizadas pela molécula mais promissora, SOL-AC2 ($\Delta G = -10.54 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $K_i = 18.95 \text{ nM}$, Figura 40A), com a menos promissora, SOL-P1 ($\Delta G = -6.91 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $K_i = 8620.0 \text{ nM}$, Figura 40B), nota-se que poucas interações foram realizadas entre o composto SOL-P1 e as bases nitrogenadas de DNA, com ausência de interações hidrofóbicas, sendo suas interações realizadas predominantemente com os resíduos de aminoácido da topoisomerase II α , além da mudança na posição espacial dos aromáticos. Com base nisso e nos valores obtidos, acredita-se que o DNA possa desempenhar um papel importante na provável atividade desses compostos. Dessa

forma, estudos envolvendo o DNA isoladamente foram realizados no sentido de elucidar *in silico* o provável mecanismo de ação desses compostos.

Figura 40 – *Docking* das moléculas SOL-AC2 (A) e SOL-P1 (B) com o complexo Topoisomerase II α /DNA



Fonte: Autoria (2020).

5.1.2 Docking molecular da interação dos derivados propostos com DNA

O *docking* molecular utilizando a biomacromolécula de DNA isolada foi realizado utilizando-se duas estruturas cristalizadas de DNA distintas: a estrutura do B-DNA dodecâmero (PDB ID: 1BNA), utilizada para avaliação do perfil de interação das moléculas aos sulcos do DNA; e a estrutura o DNA dodecâmero intercalada com aldeído de acridina (PDB ID: 1G3X), utilizado como modelo de avaliação de perfil intercalador de DNA.

Como comentado anteriormente no referencial teórico (tópico 3.1.1), a estrutura da molécula em questão influencia diretamente no seu modo de interação com o DNA. Nesse estudo, há uma variabilidade estrutural nas moléculas propostas que permite a visualização do perfil estrutural mais favorável para cada um dos modelos e auxilia na definição do provável modo de ação desempenhado por cada molécula.

Na tabela 3, seguem os resultados obtidos pelo *docking* das moléculas propostas com estrutura de DNA modelo para interação aos sulcos maior e menor (PDB ID: 1BNA). Na ausência de um ligante co-cristalizado, não foi realizado o *redocking* para validação desse método, utilizando a Amsacrina como composto controle. Para esse, utilizaram-se como parâmetros de avaliação os mesmos usados anteriormente na avaliação dos resultados do *docking* com topoisomerase II α /DNA.

Tabela 3 - Resultados do *docking* molecular entre as estruturas propostas, o composto controle e o DNA (PDB ID: 1BNA)

MOLÉCULA	Energia Livre de Ligação (kcal mol ⁻¹)	Constante de Inibição Estimada (Ki) (nM)
SOL-AC1	-11.83	2.12
SOL-AC2	-12.13	1.29
SOL-Q1	-10.90	10.27
SOL-Q2	-11.04	8.10
SOL-I1	-9.59	94.19
SOL-I2	-9.49	111.03
SOL-P1	-8.83	337.25
SOL-P2	-9.65	84.99
SOL-PR1	-11.52	3.62
SOL-PR2	-12.21	1.12
SOL-PP1	-10.96	9.26
SOL-PP2	-12.15	1.24
AMSACRINA	-9.96	50.26

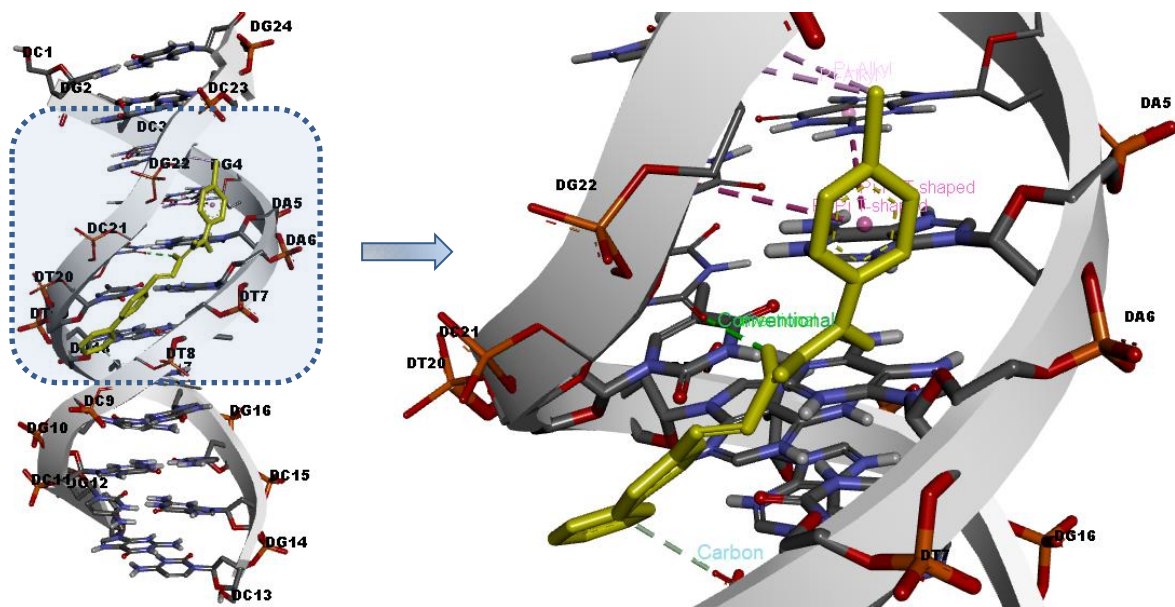
Fonte: Aatoria (2020).

De acordo com os resultados visualizados acima, observa-se que a molécula SOL-PR2 apresentou melhores resultados, com valores de $\Delta G = -12.21$ kcal mol⁻¹ e $K_i = 1.12$ nM, sendo seguida pela molécula SOL-PP2 ($\Delta G = -12.15$ kcal mol⁻¹ e $K_i = 1.24$ nM). Tais resultados podem ser justificados pela flexibilidade inerente a essas moléculas que, diferentemente das demais, não apresentam em sua estrutura anéis aromáticos fundidos. Por consequência, esses

compostos apresentam a estrutura ideal para assumir diferentes conformações e se adaptar a curvatura dos sulcos do DNA.

Na figura 41 é possível visualizar a interação da molécula SOL-PR2 ao sulco maior do DNA, estabilizando a seguinte interação por meio de ligações pi-alquil, pi-pi em forma de T, ponte de hidrogênio convencional e ligação de carbono, aos nucleotídeos Guanina 4, Guanina 22, Citosina 21, Timina 8 e Timina 20.

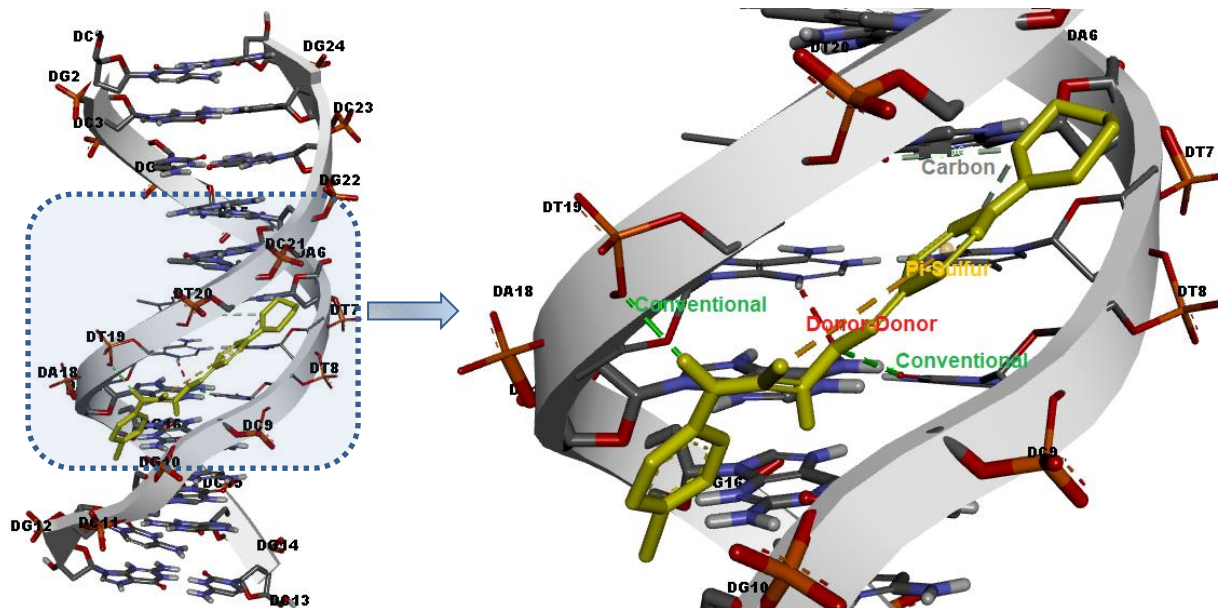
Figura 41 – Interação entre a molécula SOL-PR2 e o alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



Fonte: Aatoria (2020).

Assim como a molécula SOL-PR2, a molécula SOL-PP2 (Figura 42) interage com o sulco maior do DNA, sendo capaz de se estabilizar por interações distintas à molécula anterior, realizando interações convencionais, doador-doador e ligações de carbono, com os nucleotídeos Adenina 18, Timina 7, Timina 8, Timina 18 e Timina 19, evidenciando-se então uma provável afinidade à estrutura da base nitrogenada timina, em especial às suas carbonilas, que se apresentaram relacionadas a maioria das interações. Além das interações descritas, também é evidenciado uma interação intramolecular do tipo pi-enxofre, que por sua vez favorece determinada conformação molecular que, de acordo com o resultado obtido, pode ser a conformação mais desejável para atividade da molécula.

Figura 42 - Interação entre a molécula SOL-PP2 e o alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



Fonte: Aatoria (2020).

A Amsacrina, por sua vez, embora possua o mecanismo elucidado de interação com o DNA, não apresenta a flexibilidade necessária para interagir com os sulcos, contendo, na realidade, um sistema aromático fundido que torna a molécula propensa a se deslocar para as áreas mais lipofílicas da cadeia do DNA, realizando, dessa forma, a sua interação com o DNA por meio de intercalação, como comentado anteriormente. Dessa forma, os resultados obtidos no *docking* para esse modelo de DNA não foram tão satisfatórios ($\Delta G = -9.96 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $K_i = 50.26 \text{ nM}$), sendo superior a apenas quatro moléculas da série (SOL-I1, SOL-I2, SOL-P1, SOL-P2).

Portanto, como uma forma de avaliar o perfil intercalador desses compostos, os mesmos foram avaliados frente ao modelo cristalizado de DNA para intercalação (PDB ID: 1G3X), com resultados demonstrados na tabela 4.

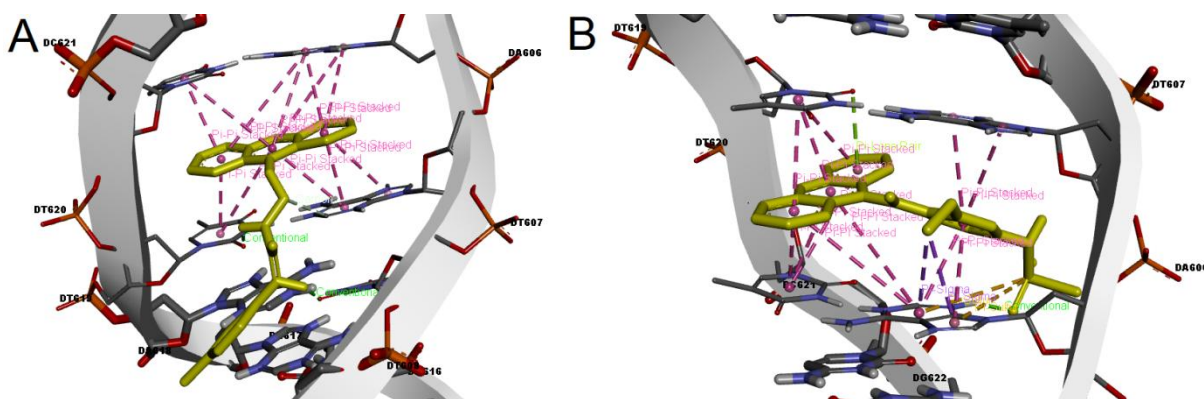
Tabela 4 - Resultados do *docking* molecular entre as estruturas propostas, o composto controle e o DNA (PDB ID: 1G3X)

MOLÉCULA	Energia Livre de Ligação (kcal mol ⁻¹)	Constante de Inibição Estimada (Ki) (nM)
SOL-AC1	-10.18	34.37
SOL-AC2	-10.41	23.38
SOL-Q1	-9.02	243.57
SOL-Q2	-9.06	228.87
SOL-I1	-8.26	874.80
SOL-I2	-8.18	1000.0
SOL-P1	-6.62	1409.0
SOL-P2	-7.41	3720.0
SOL-PR1	-8.79	357.86
SOL-PR2	-9.82	63.85
SOL-PP1	-8.29	844.34
SOL-PP2	-9.60	91.87
AMSACRINA	-9.91	54.21

Fonte: Autoria (2020).

A molécula SOL-AC2 apresentou o melhor resultado dentre os compostos analisados ($\Delta G = -10.41$ kcal mol⁻¹ e $K_i = 23.38$ nM), sendo esse superior à Amsacrina ($\Delta G = -9.91$ kcal mol⁻¹ e $K_i = 54.21$ nM). Assim como mencionado anteriormente na interação de ambos com o complexo topoisomerase II α /DNA, a molécula SOL-AC2 demonstrava uma maior quantidade de interações do tipo empilhamento de ligações π , principal tipo de interação desempenhada por compostos intercaladores de DNA, em relação ao composto de referência Amsacrina. De acordo com a figura 43, a molécula SOL-AC2 apresenta 12 interações do tipo empilhamento de ligações π desempenhadas pela presença do anel acridínico e, em contrapartida, a Amsacrina apresenta 7 interações desse tipo advindas do anel acridínico. Assim, embora a Amsacrina apresente uma maior quantidade e variabilidade de interações ao alvo, a presença abundante de interações hidrofóbicas por empilhamento π - π parecem favorecer e estabilizar o complexo ligante-alvo.

Figura 43 – Interações da molécula SOL-AC2 (A) e da Amsacrina (B) com o DNA (PDB ID: 1G3X)



Fonte: Aatoria (2020).

A partir de um comparativo entre os resultados obtidos para ambas as estruturas cristalográficas de DNA, nota-se que todas as moléculas, com exceção do composto controle, apresentaram menor energia livre de ligação frente ao alvo 1BNA, o que sugere que alguns dos compostos analisados podem, preferencialmente, interagir com os sulcos. Tal característica pode ser favorecida devido à presença da subunidade tiossemicarbazônica, que confere às moléculas flexibilidade conformacional para adequarem-se aos sulcos do DNA, além de realizarem interações convencionais de hidrogênio com os nucleotídeos capazes de estabilizarem o complexo. Para comprovação e elucidação do mecanismo de ação desses compostos, indica-se a realização do estudo *in vitro* com o DNA isolado.

Almeida e colaboradores (2015), por sua vez, investigaram a capacidade intercaladora de DNA dos compostos tiossemicarbazônicos-acridínicos *in vitro*. Dentre os compostos sintetizados e analisados, estavam inclusas as moléculas SOL-AC1, referida como 3a, e SOL-AC2, referida como 3f. A molécula SOL-AC1, avaliada numa concentração de 50 μM , na ausência ou presença de ctDNA (0-120 μM), apresentou significativo efeito hiperacrômico (92,58% em 120 μM de ctDNA) e um sutil efeito batocrômico ($\Delta\lambda$ 6 nm) com o aumento da concentração de ctDNA, indicando a formação do complexo ligante-DNA. O derivado SOL-AC2, por sua vez, destacou-se como o composto a apresentar maior efeito hipocrômico (39,59% em 120 μM de ctDNA). Esses compostos apresentaram constantes de ligação (K_b) de 3.77×10^5 e $1.0 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$, respectivamente, o que os categoriza como compostos intercaladores de DNA, de acordo com os parâmetros apresentados por Ihmels e Otto (2005). Ademais, é válido ressaltar que o composto SOL-AC2 apresentou o maior valor de K_b dentre

os compostos da série, fator que, de acordo com os autores, indica que o substituinte de cloro afeta positivamente a capacidade do composto em se ligar ao ctDNA, uma vez que pode aumentar as propriedades hidrofóbicas do ligante. Além disso, o átomo de cloro leva a um ligeiro momento dipolo no ligante, aumentando assim as interações dipolo-dipolo no sítio ativo, possibilitando também a intervenção desse átomo como um acceptor de ligações de hidrogênio.

5.1.3 Docking molecular da interação dos derivados propostos com topoisomerase I de L. donovani complexada com DNA

Tendo em vista a provável interação dos compostos propostos com DNA e topoisomerase II α humana, é viável a avaliação desses frente à isoforma I de topoisomerase de *Leishmania donovani*, a fim de determinar uma possível atividade leishmanicida.

A estrutura cristalográfica da topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S) é obtida pelo Protein Data Bank com a presença do íon vanadato e ausência de ligante co-cristalizado, de modo que não é possível a realização do *redocking* para validação do método. Entretanto, para determinação das coordenadas e dimensões do *gridbox*, utilizou-se como referência o estudo realizado por Almeida (2018), realizando-se esta análise em condições semelhantes.

De acordo com Das e colabores (2004), as topoisomerases de parasitas são suficientemente distintas das enzimas análogas de humanos, o que as torna alvos farmacológicos viáveis e que possam promover a seletividade de determinado fármaco. Primeiramente isolada por Broccoli e colaboradores (1999) em parasitas da espécie *L. donovani*, estudos demonstraram a sensibilidade da topoisomerase I ao fármaco antitumoral camptotecina, caracterizado pela capacidade de inibição de topoisomerase IB humana. Entretanto, a sensibilidade desses protozóios a esse fármaco é inferior à apresentada pelas células cancerígenas, evidenciando a existência de diferenças moleculares entre ambas as enzimas. Tais diferenças incluem desde a variância no C-terminal do núcleo central da topoisomerase, até a codificação da enzima, que no parasita é realizada pela união de dois genes para formação de uma enzima heterodimérica (DAS; GANGULY; MAJUMDER, 2008).

Assim, na ausência de ligante co-cristalizado à estrutura do alvo farmacológico, utilizou-se a camptotecina como composto controle. Os resultados obtidos para os compostos propostos e composto controle encontram-se na tabela 5.

Tabela 5 - Resultados do *docking* molecular entre as estruturas propostas, composto controle e a enzima topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)

MOLÉCULA	Energia Livre de Ligação (kcal mol ⁻¹)	Constante de Inibição Estimada (Ki) (nM)
SOL-AC1	-10.81	12.00
SOL-AC2	-11.56	3.38
SOL-Q1	-9.75	71.05
SOL-Q2	-9.32	147.27
SOL-I1	-9.09	217.41
SOL-I2	-8.75	386.33
SOL-P1	-8.00	1370.0
SOL-P2	-8.27	864.70
SOL-PR1	-9.82	63.77
SOL-PR2	-10.48	20.83
SOL-PP1	-8.71	413.35
SOL-PP2	-9.82	63.41
CAMPTOTECINA	-8.82	340.80

Fonte: Aatoria (2020).

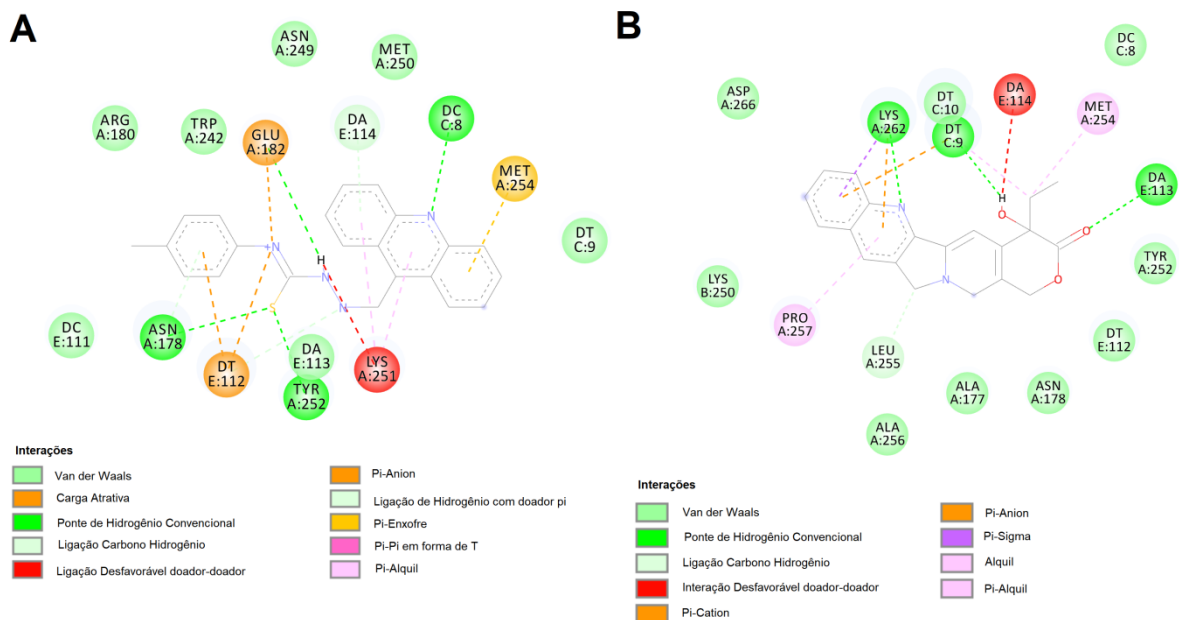
A partir dos resultados apresentados, pode-se notar que a maioria dos compostos, com exceção das moléculas SOL-I2, SOL-P1, SOL-P2 e SOL-PP1, apresentaram valores de energia de livre de ligação menores, ou seja, mais desejáveis, que o fármaco camptotecina ($\Delta G = -8,82 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $K_i = 340,80 \text{ nM}$). Como comentado anteriormente, embora a topoisomerase I de leishmania não seja tão sensível ao fármaco como a isoforma IB humana, esse pode ainda apresentar-se como um parâmetro para determinar a possível potencialidade desses compostos propostos frente ao alvo selecionado.

De acordo com os valores obtidos pelo estudo de *docking* molecular, a molécula SOL-AC2 apresentou maior afinidade com o alvo topoisomerase I de *Leishmania*, similarmente aos resultados obtidos frente aos alvos topoisomerase II α complexada com DNA e com o modelo de DNA para intercalação. Realizando-se uma análise da imagem bidimensional da interação

ligante-sítio ativo formada entre a molécula acridínica e a topoisomerase I (Figura 44A), nota-se interações por carga atrativa realizadas pelo nitrogênio carregado positivamente com a base nitrogenada Timina 112 e o resíduo de aminoácido Glu 182; interações do tipo convencionais de hidrogênio entre os heteroátomos presentes na estrutura e os aminoácidos Asn 178, Tyr 252, Glu 182 e nucleotídeo Citosina 8; interações com o aminoácido Lys 251 do tipo empilhamento de ligações π em forma de T e desfavoráveis doador-doador, entre outros.

Em uma relação comparativa entre o complexo formado pela molécula SOL-AC2 (Figura 44A) e pela camptotecina (Figura 44B), constata-se que as moléculas interagem com apenas um aminoácido em comum, a Met 254, por meio de interações distintas, sendo elas dos tipos pi-enxofre e pi-alquil, respectivamente. Adicionalmente, nota-se que o composto SOL-AC2 apresenta um número maior de interações com o alvo, sendo estabilizado majoritariamente por interações favoráveis, em comparação com o fármaco em questão, de modo a justificar os melhores valores obtidos para o composto acridínico nessa análise.

Figura 44 - *Docking* das moléculas SOL-AC2 (A) e Camptotecina (B) com o complexo Topoisomerase I/DNA



Fonte: Autoria (2020).

Comparando ao alvo anterior, topoisomerase II α complexada com DNA, no alvo em questão houveram menos interações com o DNA. Utilizando-se o composto SOL-AC2 como exemplo, esse apresentou em estudos anteriores múltiplas interações com o DNA,

predominantemente do tipo empilhamento de ligações π (Figura 38A, figura 43A). Entretanto, no alvo topoisomerase I complexada com DNA, as interações concentram-se principalmente com a enzima, sendo repetido esse padrão para as demais moléculas propostas. Porém, na ausência de um ligante co-cristalizado, não é possível afirmar se a configuração do alvo cristalizado permite interações com o DNA, especialmente por intercalação.

Tendo em vista os resultados obtidos pelo *docking* molecular, as moléculas propostas, em especial as moléculas acridínicas, apresentam uma possível ação antitumoral e/ou antileishmania pela afinidade apresentada pelos alvos selecionados. Nesse sentido, foi dada continuidade aos estudos envolvendo-as, através da síntese e avaliação *in vitro* desses compostos.

5.2 Síntese e caracterização físico-química

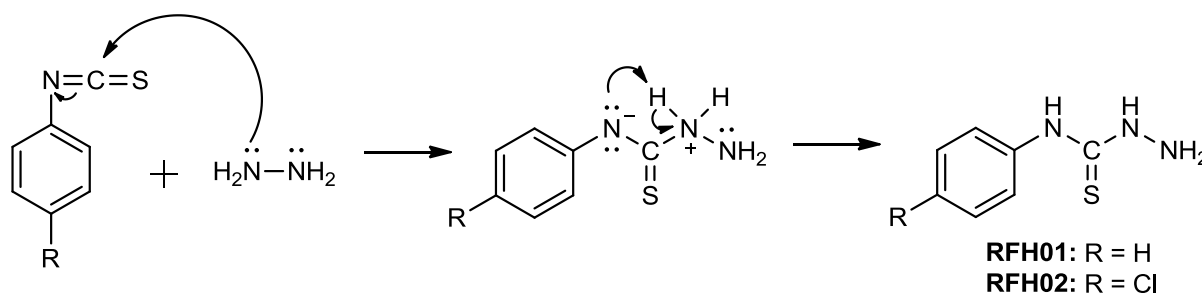
5.2.1 Mecanismo reacional e caracterização físico-química dos intermediários tiossemicarbazídicos

O método para obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos seguiu uma rota de obtenção indireta, através da preparação prévia de derivados tiossemicarbazídicos pela reação entre a hidrazina ($\text{NH}_2\text{-NH}_2$) e derivados isotiocianatos. De acordo com Tenório (2005), essa reação geralmente apresenta rendimentos entre 70 e 90%.

As tiossemicarbazidas possuem potencial tóxico, em virtude da presença do grupamento NH_2 , sendo preferencialmente utilizadas como intermediárias na síntese de derivados tiossemicarbazônicos (PEDROSA, 2017).

O mecanismo reacional envolvido na obtenção desses derivados inicia-se com o ataque nucleofílico do nitrogênio hidrazínico ao carbono da aminotiocarbonila que, devido ao átomo de nitrogênio presente nesse grupamento, o qual exerce um efeito elétron-retirador, apresenta uma carga parcialmente positiva e, conseqüentemente, maior predisposição aos ataques nucleofílicos. O ataque é seguido, simultaneamente, de uma deslocalização dos elétrons π para o nitrogênio vizinho, que passa a apresentar um excesso de elétrons. Para estabilização da estrutura, o nitrogênio em questão realiza um ataque nucleofílico intramolecular, efetuando a captura do hidrogênio ligado ao nitrogênio com carga formal positiva, obtendo-se por fim o produto final (Esquema 6).

Esquema 6 – Mecanismo reacional de obtenção dos derivados tiossemicarbazídicos



Fonte: Aatoria (2020).

As características físico-químicas dos dois compostos sintetizados encontram-se dispostas na tabela 6. Como se pode observar, os compostos intermediários RFH01 e RFH02 apresentaram rendimentos de 77,99 e 79,66%, respectivamente, o que afirma a viabilidade da rota sintética utilizada. Para o composto RFH01, inicialmente sintetizado utilizando-se diclorometano como solvente, desenvolveu-se outro método de síntese, utilizando-se propanol como solvente, no mesmo volume utilizado previamente. Essa modificação de solvente favoreceu a precipitação do produto ao fim da reação sem necessária adição de solventes orgânicos, anteriormente alcançada pela adição de hexano a fim de alterar a polaridade do meio reacional e forçar a precipitação. Entretanto, o uso do propanol como solvente causou uma diminuição no rendimento reacional (43,19%).

Tabela 6 - Características físico-químicas dos intermediários tiossemicarbazídicos

COMPOSTO	Aparência	P.M.	Rend%	F.F. (°C)	R _f	F.M.	LogP
RFH01	Pó branco	167,23	77,99	140-143	0.64	C ₇ H ₉ N ₃ S	1,45
RFH02	Pó branco	201,68	79,66	210-211	0.56	C ₇ H ₈ ClN ₃ S	2,01

Fonte: Aatoria (2020). Legenda: PM – Peso molar (g mol⁻¹), Rend% – Rendimento (%).F.F. – Faixa de fusão, R_f – Fator de retenção (Hexano/Acetato 6:4), FM – Fórmula molecular, LogP – Coeficiente de partição octanol-água.

Ainda abordando as características evidenciadas na tabela 6, é válido ressaltar a faixa de fusão dos compostos variando de 1 a 3°C, indicando um grau de pureza desejável e viável para continuidade da síntese para obtenção dos compostos finais (BRITAIN, 2009).

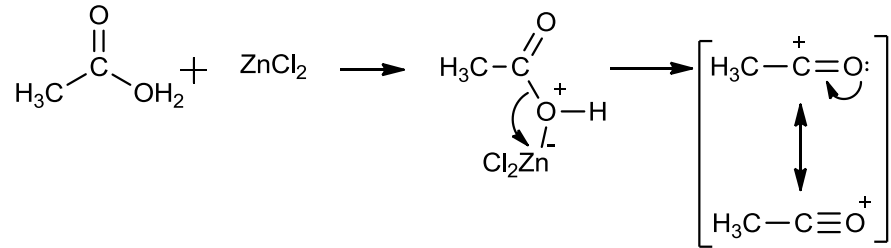
5.2.2 Mecanismo reacional e caracterização físico-química do núcleo acridina-9-carboxaldeído

A síntese do núcleo acridina-9-carboxaldeído foi realizada para utilização do mesmo como intermediário para síntese dos compostos finais. Sua síntese consistiu em três etapas: (i) síntese da 9-metil-acridina (Esquema 7); (ii) síntese do ACN-01 (Esquema 8); e por fim, (iii) síntese da acridina-9-carboxaldeído (Esquema 9).

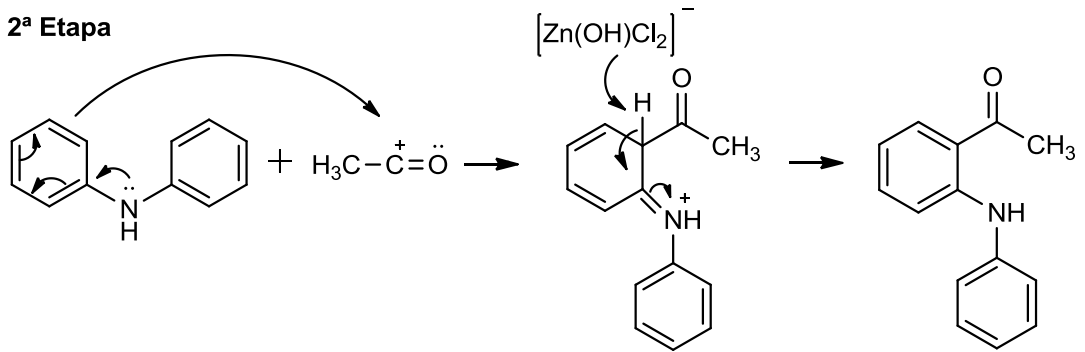
O mecanismo reacional para obtenção da 9-metilacridina (AC-01) segue conforme o esquema 7. A 1ª etapa caracteriza-se pela reação ocorrida no ácido acético na presença de cloreto de zinco, com consequente formação de um complexo, ocasionado devido ao ataque nucleofílico do oxigênio da hidroxila ao zinco, que se estabiliza pela saída da hidroxila e formação do intermediário íon acílio. A 2ª etapa consiste em uma reação de Friedel Crafts à posição orto do radical amínico da difenilamina. Durante o processo de finalização da reação, a mesma é tratada com uma solução de ácido sulfúrico a 20% que fornece prótons ao meio reacional que, por sua vez, são abstraídos pelos elétrons livres da carbonila cetônica, promovendo a ciclização e consequente estabilização da estrutura, com auxílio da ação do hidróxido de amônio ao abstrair prótons da estrutura acridínica, obtendo-se o núcleo acridínico metilado.

Esquema 7 – Mecanismo reacional de obtenção da 9-metil-acridina

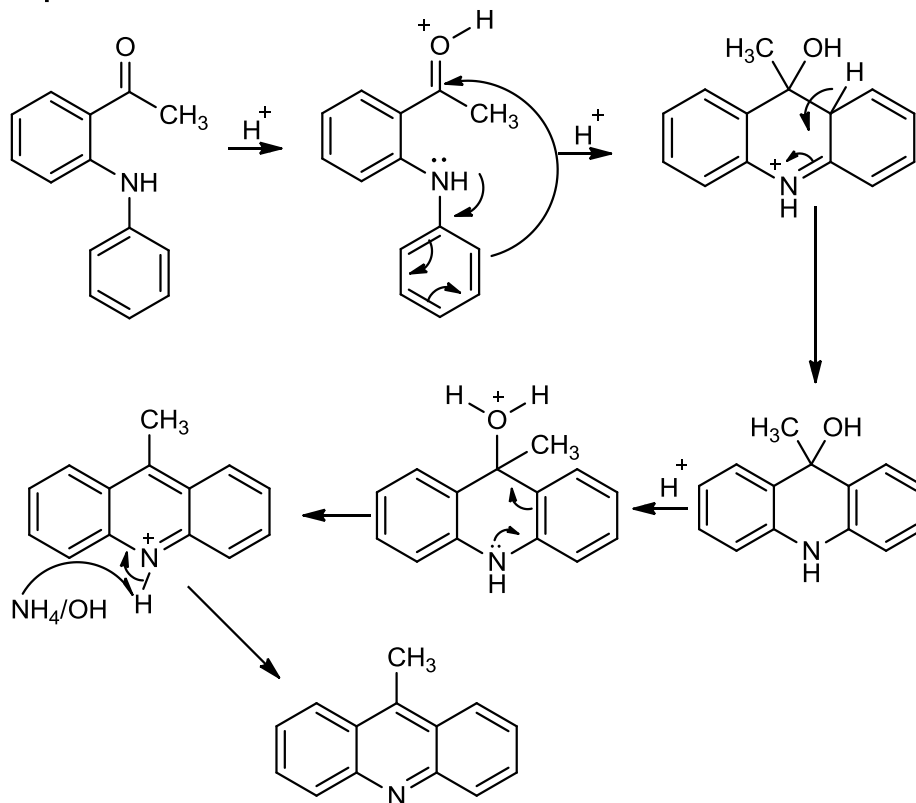
1ª Etapa



2ª Etapa



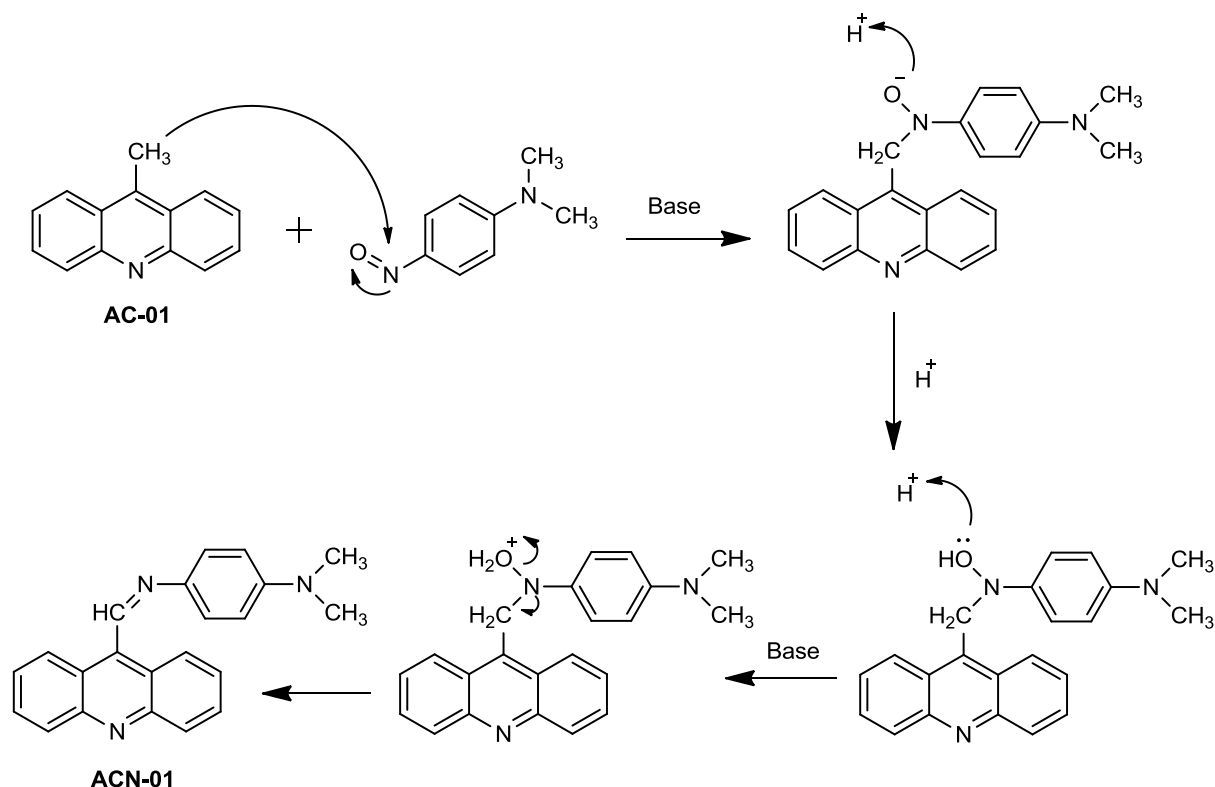
3ª Etapa



Fonte: Moura (2009).

A etapa seguinte consiste na obtenção do intermediário ACN-01 por meio da reação entre o AC-01, obtido na etapa anterior, com *N,N*-dimetil-4-nitrosoanilina. De acordo com Silva (2018), o mecanismo reacional associado a essa etapa não é bem elucidado. Segundo Zuman e Shah (1994), quando a adição nucleofílica de nitrosobenzenos envolve carbânion derivado de compostos ativos de metileno, a reação é denominada reação de Ehrlich-Sachs, conforme é visualizado no esquema 8. Entretanto, essa ocorre em meio básico, e na metodologia utilizada nesse trabalho, não há adição de base ao meio reacional, consistindo apenas da adição de etanol e aquecimento a 78°C. A abstração de um próton do grupamento metila do AC-01 para transformá-lo em um carbânion, na ausência de um meio básico, parece pouco provável.

Esquema 8 – Mecanismo reacional de obtenção do intermediário ACN-01

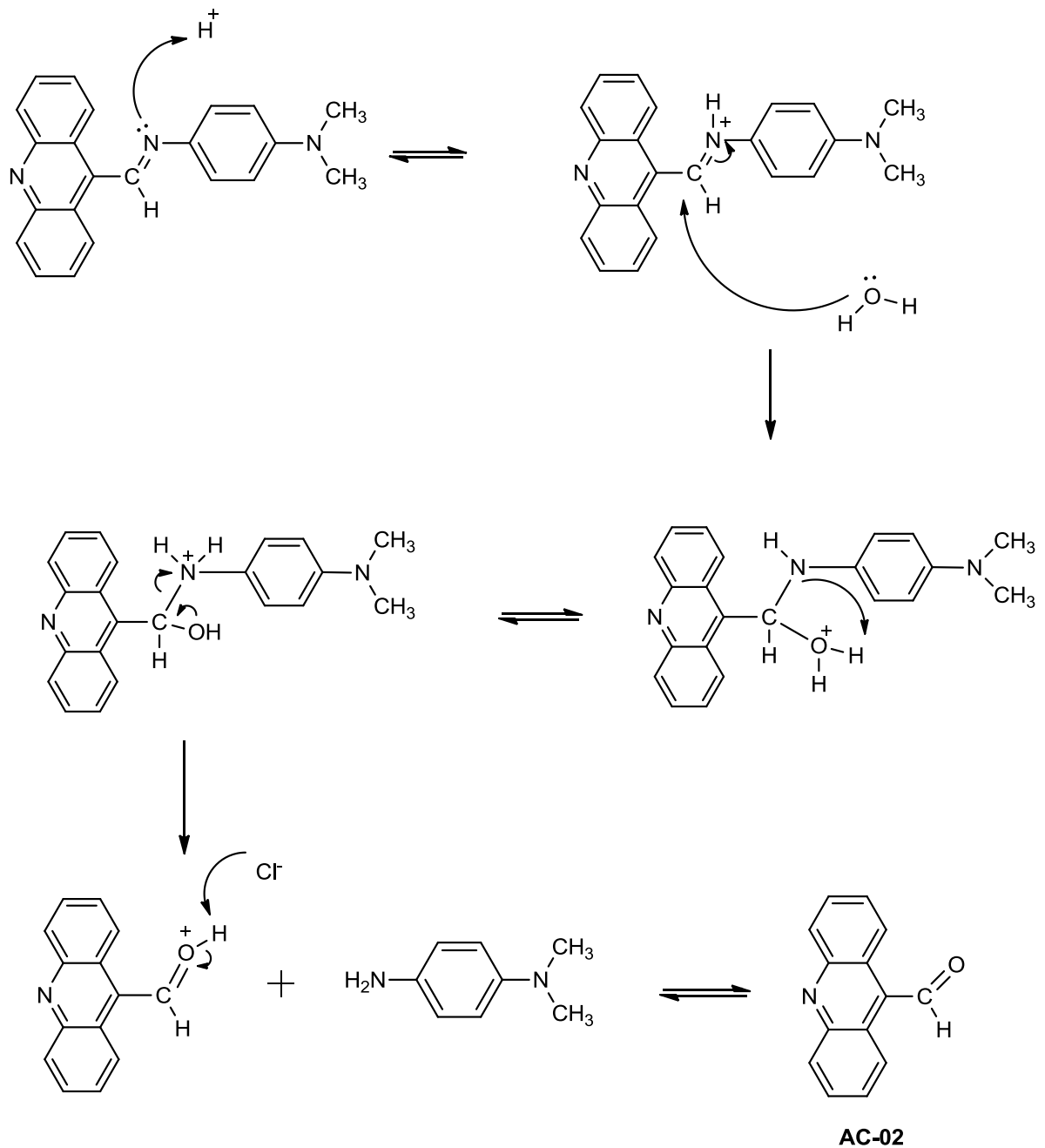


Fonte: Silva (2018).

A última etapa consiste na obtenção do núcleo acridina-9-carboxaldeído (AC-02). Para tal, adicionou-se o produto obtido na etapa anterior, ACN-01, a um meio ácido (ácido clorídrico). O mecanismo reacional compreende a abstração de um próton do meio reacional

ácido, pelo nitrogênio imínico, com conseqüente formação de um complexo onde o carbono imínico apresenta deficiência de elétrons e é suscetível ao ataque nucleofílico pelas moléculas de água presentes no meio. Por prototropismo, a hidroxila transfere seu próton ao nitrogênio, favorecendo a saída do grupamento 4-amino-*N,N*-dimetilanelina, obtendo-se, após a liberação do próton, a formação do produto final (Esquema 9).

Esquema 9 – Mecanismo reacional de obtenção da acridina-9-carboxaldeído



Fonte: Moura (2009).

Dessa forma, os compostos em questão, obtidos em cada uma das etapas, foram caracterizados físico-quimicamente para avaliação da viabilidade dos mesmos para posteriores reações. Os resultados encontram-se na tabela 7 e evidenciam rendimentos satisfatórios, bem como os valores de faixa de fusão com variação igual ou inferior a 3°C.

Tabela 7 - Características físico-químicas dos compostos acridínicos

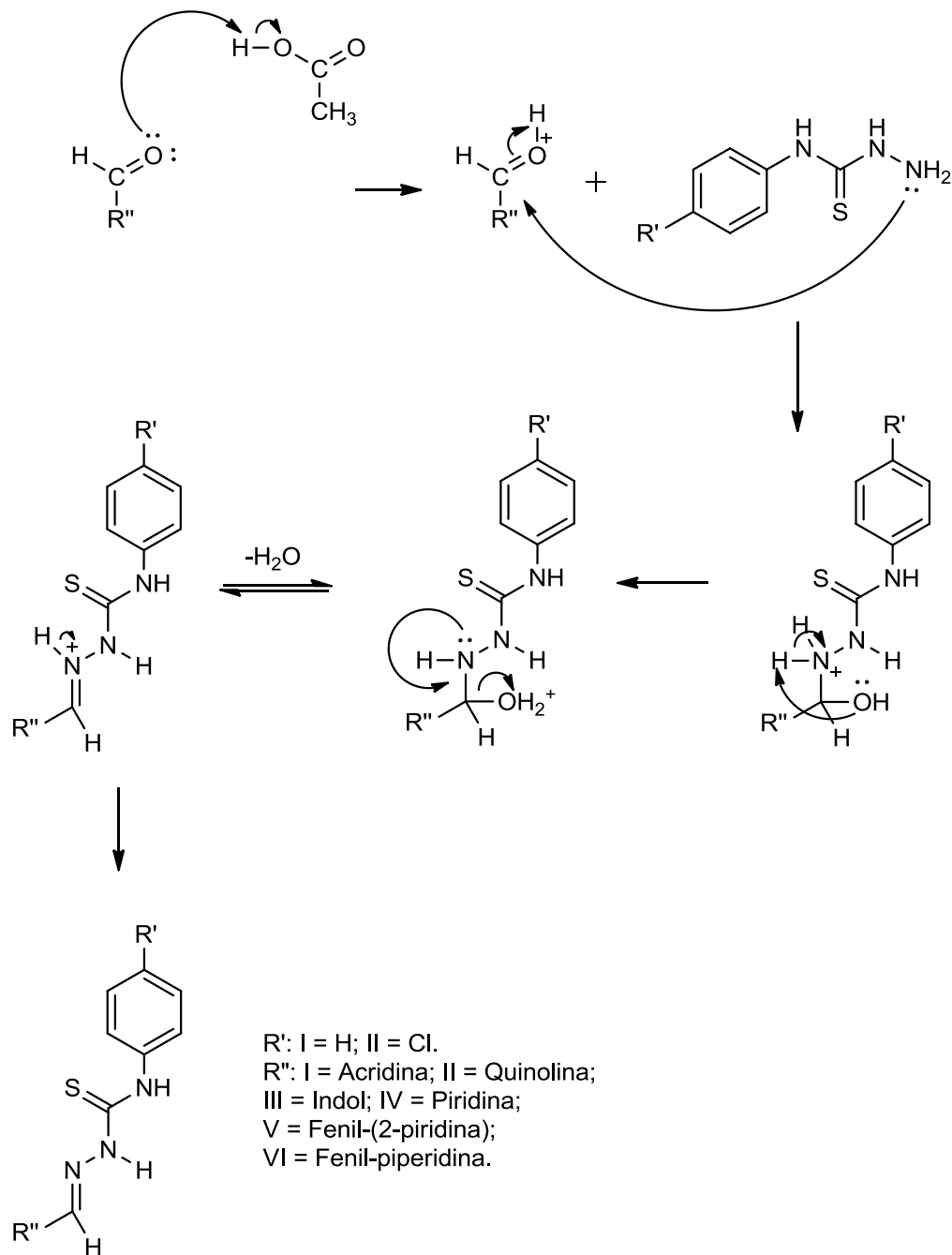
COMPOSTO	Aparência	P.M.	Rend%	F.F. (°C)	R _f	F.M.	LogP
AC-01	Pó amarelo	193,09	68	115-118	0.68	C ₁₄ H ₁₁ N	4,03
ACN-01	Pó vermelho	325,16	74	271-272	0.64	C ₂₂ H ₁₉ N ₃	5,69
AC-02	Pó amarelo	207,23	90	144-147	0.74	C ₁₄ H ₉ NO	3,29

Fonte: Autoria (2020). Legenda: PM – Peso molar (g mol⁻¹), Rend% – Rendimento (%).F.F. – Faixa de fusão, R_f – Fator de retenção (Hexano/Acetato 6:4), FM – Fórmula molecular, LogP – Coeficiente de partição octanol-água.

5.2.3 Mecanismo reacional e caracterização físico-química dos compostos finais

A obtenção dos compostos finais seguiu conforme o mecanismo reacional evidenciado no esquema 10. A síntese desses compostos caracteriza-se como uma reação de condensação, iniciando-se com a ação do ácido acético como ativador de carbonila, formando um íon oxônio. Esse, por sua vez, devido à deficiência de elétrons do carbono da carbonila, torna-se suscetível ao ataque nucleofílico do N1 do derivado tiossemicarbazídico, formando um hemiaminal protonado, seguido de um processo de prototropismo, pela transferência do próton do nitrogênio para o oxigênio. Devido à instabilidade da hidroxila protonada na estrutura química em questão, a mesma é liberada no meio na forma de água, formando um intermediário carbocátion que se estabiliza por ressonância, até abstração do próton ligado ao nitrogênio pelo meio, gerando, por fim, o respectivo composto final.

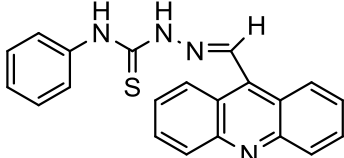
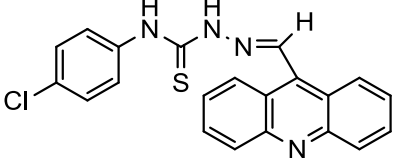
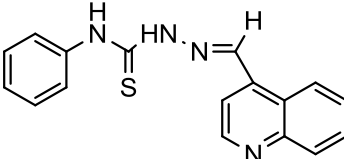
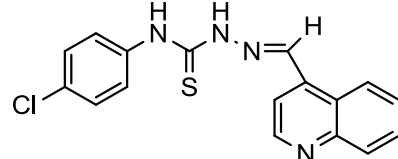
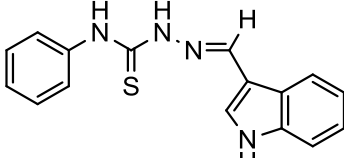
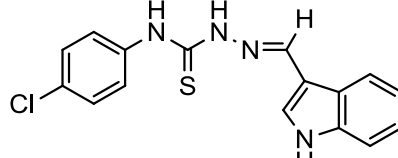
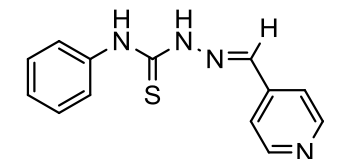
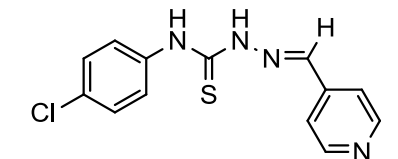
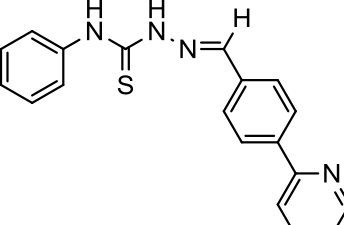
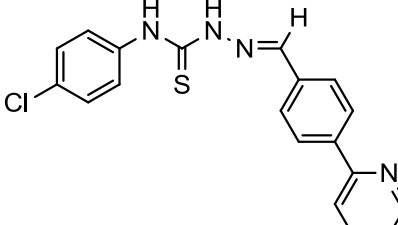
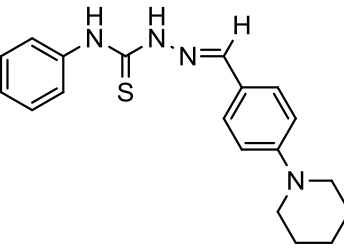
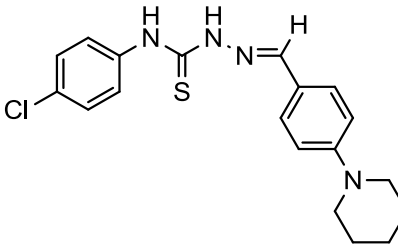
Esquema 10 – Mecanismo reacional de obtenção dos compostos finais



Fonte: Autoria (2020).

Dessa forma, para facilitar a visualização dos doze compostos sintetizados, estes seguem conforme a tabela 8.

Tabela 8 - Derivados tiossemicarbazônicos hibridizados a heterocíclicos sintetizados

COMPOSTO	ESTRUTURA	COMPOSTO	ESTRUTURA
SOL-AC1		SOL-AC2	
SOL-Q1		SOL-Q2	
SOL-I1		SOL-I2	
SOL-P1		SOL-P2	
SOL-PR1		SOL-PR2	
SOL-PP1		SOL-PP2	

Fonte: Autoria (2020).

Esses foram caracterizados físico-quimicamente, conforme dados apresentados os dados na tabela 9. Todos os compostos foram sintetizados satisfatoriamente, apresentando rendimentos variando entre 56,95% (SOL-Q1) e 98,99% (SOL-PP1), comprovando a viabilidade da rota sintética escolhida, associada a uma simples metodologia de purificação, por meio da filtração e lavagem com água destilada. As faixas de fusão oscilaram entre 1 e 4 °C, indicando um grau de pureza aceitável.

Tabela 9 - Propriedades físico-químicas dos compostos sintetizados

COMPOSTO	Aparência	P.M.	Rend%	F.F. (°C)	R _f	F.M.
SOL-AC1	Pó amarelo	356,44	76,82	216-217	0,49 ^a	C ₂₁ H ₁₆ N ₄ S
SOL-AC2	Pó amarelo	390,89	84,83	224-225	0,45 ^b	C ₂₁ H ₁₅ ClN ₄ S
SOL-Q1	Pó amarelo	306,38	56,95	200-202	0,36 ^b	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ S
SOL-Q2	Pó amarelo	340,83	81,37	241-242	0,16 ^b	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄ S
SOL-I1	Pó amarelo	294,37	79,20	222-224	0,59 ^b	C ₁₆ H ₁₄ N ₄ S
SOL-I2	Pó branco	328,82	83,44	209-212	0,66 ^a	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₄ S
SOL-P1	Pó branco	256,33	95,31	223-224	0,49 ^a	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ S
SOL-P2	Pó branco	290,77	87,51	225-228	0,45 ^b	C ₁₃ H ₁₁ ClN ₄ S
SOL-PR1	Pó branco	332,42	92,26	212-215	0,38 ^b	C ₁₉ H ₁₆ N ₄ S
SOL-PR2	Pó branco	366,87	89,55	250-253	0,14 ^b	C ₁₉ H ₁₅ ClN ₄ S
SOL-PP1	Pó amarelo	338,47	98,99	209-213	0,63 ^b	C ₁₉ H ₂₂ N ₄ S
SOL-PP2	Pó amarelo	372,92	93,40	191-193	0,68 ^a	C ₁₉ H ₂₁ ClN ₄ S

Fonte: Aatoria (2020). Legenda: PM – Peso molar (g mol⁻¹), Rend% – Rendimento (%). F.F. – Faixa de fusão, R_f – Fator de retenção (^aHexano/Acetato 7:3; ^bHexano/Acetato 6:4), FM – Fórmula molecular.

De acordo com os resultados obtidos, os pesos moleculares dos compostos sintetizados variaram entre 256,33 e 390,89 g mol⁻¹. Ao realizar-se uma correlação desses valores com a regra dos 5 de Lipinski, os compostos apresentam-se dentro dos parâmetros quanto ao peso

molecular, que deve ser menor ou igual a 500 g mol^{-1} . Esses resultados são posteriormente comentados com maior detalhe nos estudos farmacocinéticos *in silico*.

Adicionalmente, os compostos sintetizados foram avaliados quanto sua solubilidade frente variados solventes com diferentes polaridades, a fim de determinar as melhores solubilidades para análises posteriores. Para tal, utilizaram-se os solventes: metanol, acetonitrila, acetato de etila, dimetilsulfóxido e clorofórmio. A solubilidade em água não foi verificada, tendo em vista que todos os compostos precipitaram na presença da mesma (Tabela 10).

Tabela 10 – Solubilidade aparente dos compostos sintetizados

COMPOSTO	Metanol	Acetonitrila	Acetato de Etila	Dimetilsulfóxido	Clorofórmio
SOL-AC1	I	I	PS	S	PS
SOL-AC2	PS	PS	PS	PS	PS
SOL-Q1	PS	S	I	S	I
SOL-Q2	I	PS	I	S	I
SOL-I1	S	I	S	S	I
SOL-I2	S	I	S	S	I
SOL-P1	S	I	PS	S	I
SOL-P2	PS	PS	S	S	PS
SOL-PR1	PS	I	PS	S	I
SOL-PR2	S	I	S	S	I
SOL-PP1	S	S	S	S	S
SOL-PP2	PS	S	S	S	S

Fonte: Aatoria (2020). Legenda: S – solúvel; PS – parcialmente solúvel; I – insolúvel.

5.3 Caracterização estrutural dos compostos sintetizados

5.3.1 Análise por espectroscopia no infravermelho

A caracterização estrutural pela técnica de infravermelho foi realizada para as doze moléculas finais sintetizadas, possibilitando a identificação de bandas de absorção características da porção tiossemicarbazônica e dos diferentes núcleos heterocíclicos nitrogenados. Os resultados seguem conforme a tabela 11.

Tabela 11 - Valores de absorção obtidos pela espectroscopia de infravermelho

MOLÉCULA	IV (valores em cm^{-1})
SOL-AC1	3118,97 (estiramento N-H de amina secundária); 2967,34 e 2920,68 (estiramento C-H de carbono sp^2); 1595,64 (estiramento C=N); 1517,88 e 1486,78 (estiramento C=C aromático); 1204,51 (estiramento C=S); 1074,65 (estiramento C-N).
SOL-AC2	3123,05 (estiramento N-H de amina secundária); 2965,01 (estiramento C-H de carbono sp^2); 1597,06 (estiramento C=N); 1519,91 e 1514,12 (estiramento C=C aromático); 1207,44 (estiramento C=S); 1089,78 (estiramento C-N).
SOL-Q1	3302,14 e 3265,49 (estiramento N-H de amina secundária); 3022,34 (estiramento C-H de carbono sp^2); 1586,83 (estiramento C=N); 1521,83 e 1483,26 (estiramento C=C aromático); 1246,74 (estiramento C=S); 1176,58 (estiramento C-N).
SOL-Q2	3296,34 (estiramento N-H de amina secundária); 3073,59 (estiramento C-H de carbono sp^2); 1592,85 (estiramento C=N); 1523,76 e 1488,92 (estiramento C=C aromático); 1257,69 (estiramento C=S); 1184,29 (estiramento C-N).
SOL-I1	3370,35 (estiramento N-H de amina secundária de anel indólico); 3301,81 (estiramento N-H de amina secundária de cadeia alifática), 3145,89 (estiramento C-H de carbono sp^2); 1594,36 (estiramento C=N); 1549,17 e 1497,96 (estiramento C=C aromático); 1244,88 (estiramento C=S); 1196,69 (estiramento C-N).
SOL-I2	3404,36 (estiramento N-H de amina secundária de anel indólico); 3309,84 (estiramento N-H de amina secundária de cadeia alifática), 3165,18 (estiramento C-H de carbono sp^2); 1618,27 (estiramento C=N); 1535,33 e 1489,04 (estiramento C=C aromático); 1195,86 (estiramento C=S); 1091,01 (estiramento C-N).
SOL-P1	3296,27 (estiramento N-H de amina secundária); 3124,42 e 2962,67 (estiramento C-H de carbono sp^2); 1595,64 (estiramento C=N); 1502,33 e 1444,8 (estiramento C=C).

	aromático); 1256,61 (estiramento C=S); 1184,30 (estiramento C-N), 745,72 e 695,95 (dobramento C-H fora do plano de aromático monossustituído).
SOL-P2	3296,34 (estiramento N-H de amina secundária); 3113,11 (estiramento C-H de carbono sp ²); 1587,41 (estiramento C=N); 1524,69 e 1487,11 (estiramento C=C aromático); 1253,17 (estiramento C=S); 1184,29 (estiramento C-N).
SOL-PR1	3300 (estiramento N-H de amina secundária); 3132,49 e 2979,62 (estiramento C-H de carbono sp ²); 1581,08 (estiramento C=N); 1537,93, 1505,01 e 1461,85 (estiramento C=C aromático); 1270,95 (estiramento C=S); 1199,27 (estiramento C-N).
SOL-PR2	3327,8 (estiramento N-H de amina secundária); 3146,4 e 2974,5 (estiramento C-H de carbono sp ²); 1585,47 (estiramento C=N); 1537,93 e 1490,39 (estiramento C=C aromático); 1275,34 (estiramento C=S); 1203,66 (estiramento C-N).
SOL-PP1	3304,82 (estiramento N-H de amina secundária); 3135,35 e 2983,99 (estiramento C-H de carbono sp ²); 2927,48, 2853,16 e 2804,71 (estiramento C-H de carbono sp ³); 1601,9 (estiramento C=N); 1549,92 e 1503,22 (estiramento C=C aromático); 1446,74 (dobramento CH ₂); 1229,07 (estiramento C=S); 1182,37 (estiramento C-N).
SOL-PP2	3313,9 (estiramento N-H de amina secundária); 3127,38 e 2975,24 (estiramento C-H de carbono sp ²); 2932,08, 2850,89 e 2812,85 (estiramento C-H de carbono sp ³); 1595 (estiramento C=N); 1537,93 e 1494,8 (estiramento C=C aromático); 1405,35 (dobramento CH ₂); 1232,18 (estiramento C=S); 1175,13 (estiramento C-N), 817,45 (dobramento C-H fora do plano de aromático para-dissubstituído).

Fonte: Autoria (2020).

Inicialmente, analisando a estrutura da subunidade tiossemicarbazônica, espera-se a identificação de bandas de estiramento características dos grupamentos funcionais: N-H, S-H, C=S, C=N, C-N e C-S. Dessa forma, determinadas bandas de absorção foram observadas nas moléculas analisadas.

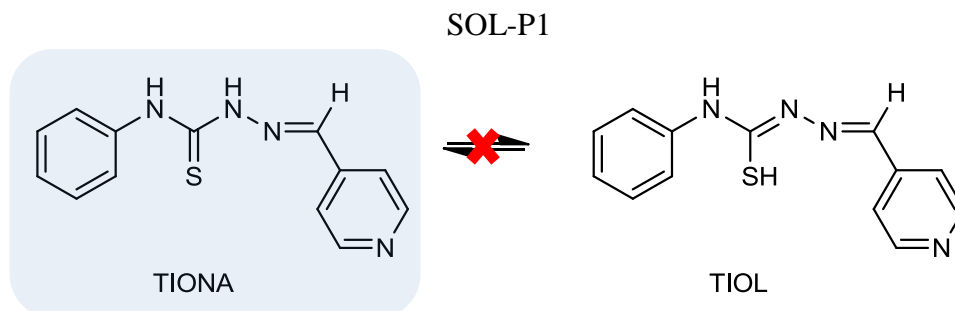
Nas estruturas analisadas, foram observadas bandas de absorção estreitas de baixa intensidade, entre as regiões de 3327,8 a 3118,97 cm⁻¹, sugestivas de ligação N-H de aminas secundárias (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015). Essa informação mostra-se importante, não apenas na identificação da presença desse grupamento funcional nas estruturas sintetizadas e avaliadas, mas também como uma forma de comprovação da efetividade da rota sintética utilizada na formação do produto final, tendo em vista que

durante os processos de síntese, houve o consumo total do reagente tiossemicarbazídico para formação dos produtos finais. A ineficácia da síntese seria refletida no espectro pelo aparecimento de duas bandas de absorção características de amina primária, presente no reagente intermediário reacional. Ademais, a região de absorção, observada em algumas moléculas, que se encontram abaixo do referenciado, podem ser justificadas devido ao extenso sistema conjugado presente na estrutura das moléculas, que podem favorecer indiretamente a absorção desses grupamentos em regiões mais baixas.

Adicionalmente, nos compostos derivados indólicos (SOL-I1 e SOL-I2) foram identificadas duas bandas sugestivas de ligação N-H, uma pertencente ao anel indólico e a outra pertencente a cadeia alifática da porção tiossemicarbazônica. Os valores de absorção de estiramento N-H de amina secundária de anel indólico foram de 3370,35 e 3404,36 cm^{-1} , respectivamente. Segundo Silverstein, Webster e Kiemle (2015), compostos heteroaromáticos que contenham o grupo N-H mostram absorção de deformação axial de N-H entre 3500 e 3220 cm^{-1} , ou seja, em uma região de absorção ligeiramente mais alta do que a encontrada para grupamentos amina secundários de cadeia alifática.

Adiante no espectro, a possível presença de uma banda de estiramento de fraca intensidade na faixa de 2600 a 2550 cm^{-1} confirmaria a presença do grupamento S-H, tendo em vista que poucas absorções ocorrem nessa região (PAVIA et al., 2009). Entretanto, absorções nessa região não foram observadas nos espectros analisados. Essa afirmação sugere a estabilização da estrutura tiossemicarbazônica na forma tautomérica tiona, descartando a possibilidade de um equilíbrio tautomérico entre a forma tiona e tiol, conforme ilustrado na figura 45. Nesse mesmo raciocínio, segundo Silverstein, Webster e Kiemle (2015), a presença da banda de absorção de deformação axial de ligação C-S na região de 700 a 600 cm^{-1} contribuiria para a confirmação da existência da forma tautomérica tiol, embora essa banda apresente pouco valor na determinação de estruturas devido sua baixa intensidade e considerável variação de posição no espectro. Semelhantemente, a banda não foi identificada nos espectros das moléculas sintetizadas, corroborando para a alegação da ausência de formas tautoméricas em equilíbrio nas estruturas dos compostos sintetizados.

Figura 45 - Representação das possíveis formas tautoméricas da molécula



Fonte: Aatoria (2020).

A ligação imínica C=N caracteriza-se por apresentar um padrão semelhante a ligações C=C, demonstrando intensidade de absorção variável na região de 1690 a 1640 cm^{-1} . Sua presença, nas estruturas sintetizadas, pode corresponder tanto à posição da subunidade tiossemicarbazídica onde ocorre a reação de condensação, transformando o grupamento amínico em imínico, quanto ao grupamento imínico presente nos anéis heterocíclicos nitrogenados. As bandas de estiramento observadas nos espectros, sugestivas de ligação C=N, variaram de 1618,27 a 1581,08 cm^{-1} . O efeito de conjugação presente em anéis aromáticos, que se estende até o nitrogênio terminal da porção tiossemicarbazônica, aumenta o caráter de ligação simples desses grupamentos, favorecendo uma diminuição na força da constante K e, conseqüentemente, diminuição na frequência de vibração (PAVIA et al., 2009).

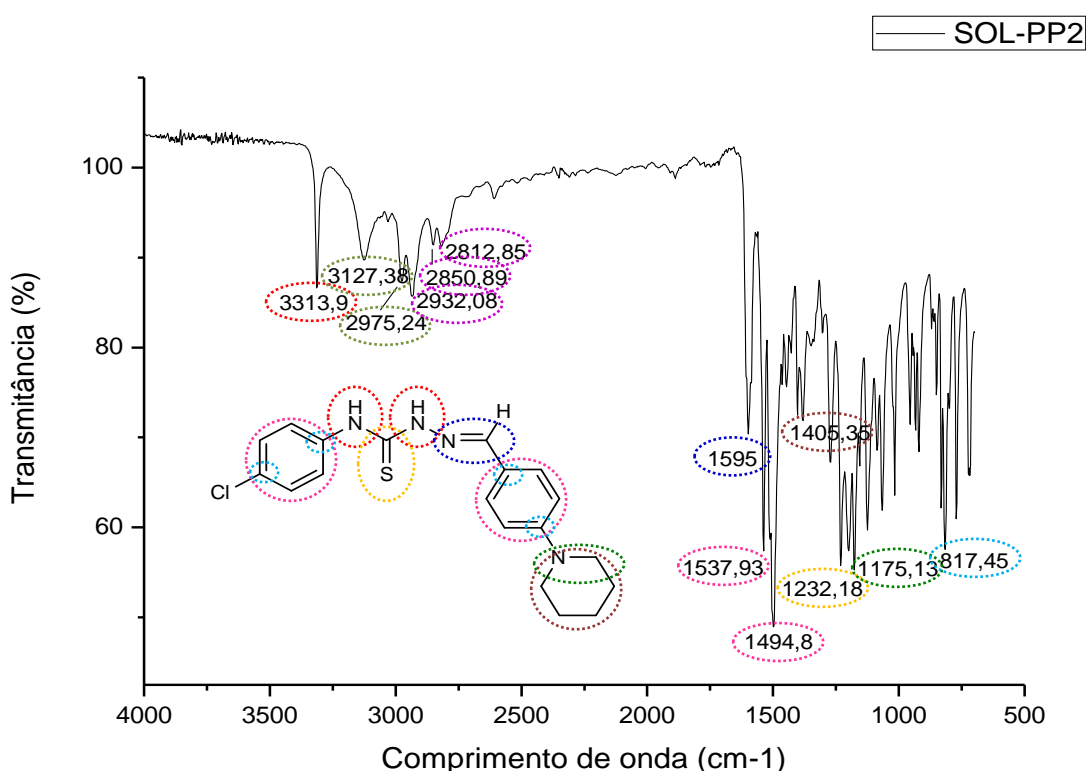
A presença da ligação C=S, característica de compostos tiocarbonilados, é evidenciada pela absorção na região de 1250 a 1020 cm^{-1} . Essa ligação é comparável a C=O, porém, diferencia-se devido a menor diferença de eletronegatividade existente entre o átomo de enxofre e o carbono (2,58 e 2,55, respectivamente), em comparação ao átomo de oxigênio e o carbono (3,44 e 2,55, respectivamente). Essa diferença torna o grupo C=S menos polar que o grupo C=O, conseqüentemente, a banda apresenta-se em regiões mais baixas que a carbonila (1850-1650 cm^{-1}) e com menor intensidade, tornando sua identificação frequentemente difícil e incerta (PAVIA et al., 2009; SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2015). Para todas as moléculas finais sintetizadas, foram identificadas, nas regiões dos espectros entre 1275,34 e 1204,51 cm^{-1} , bandas de absorção de média a alta intensidade sugestivas de ligação C=S.

Frequentemente, segundo Silverstein, Webster e Kiemle (2015), os espectros de moléculas nas quais o grupamento C=S está ligado a um átomo de nitrogênio (N-C=S) apresentam uma banda de absorção característica do estiramento de C=S e várias outras na

região ampla de 1563 a 700 cm^{-1} , que são atribuídas às interações entre as deformações axiais de C=S e C-N. Nesse sentido, identificaram-se bandas de média a alta intensidade sugestivas de deformações axiais de ligação C-N entre 1203,66 e 1091,01 cm^{-1} , apresentando-se em concordância com os valores estabelecidos pela literatura (1350-1000 cm^{-1}) (PAVIA et al., 2009).

A figura 46 representa o espectro de infravermelho do composto híbrido SOL-PP2. A partir dessa, é possível a visualização das bandas de absorção citadas anteriormente, que são comuns a todas as moléculas, em conjunto com bandas particulares do grupamento fenil-piperidina.

Figura 46 – Espectro de infravermelho da molécula SOL-PP2



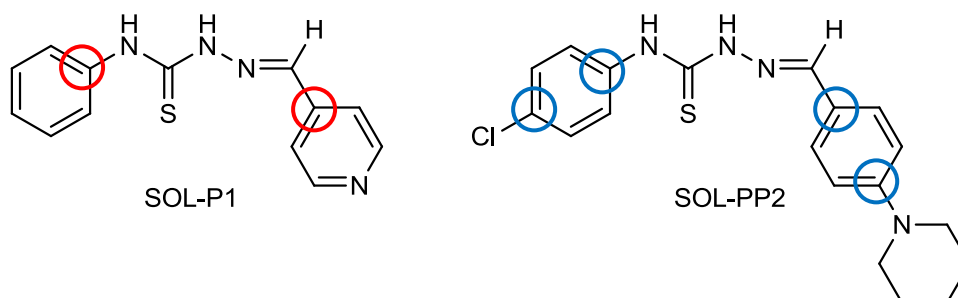
Fonte: Autoria (2020).

Realizando-se um enfoque nos diferentes núcleos heterocíclicos, é comum a esses o aparecimento de bandas de estiramento de ligação C=C característica de compostos aromáticos. A deformação axial referente a esse tipo de ligação em anéis aromáticos promove a formação de duas bandas de absorção, em aproximadamente 1600-1585 e 1500-1400 cm^{-1} (SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2015). Os mesmos foram identificados nas estruturas sintetizadas entre 1502,33 a 1549,92 e 1514,12 a 1444,8 cm^{-1} . Juntamente,

podemos ressaltar as vibrações de deformação axial de C-H de carbonos sp^2 , em especial os pertencentes ao sistema aromático. De acordo com Pavia e colaboradores (2009), esses aparecem comumente em regiões acima de 3000 cm^{-1} , tendo sido identificados entre $3165,18$ e $2920,68\text{ cm}^{-1}$.

Excepcionalmente, as moléculas contendo a porção fenil-piperidina (SOL-PP1 e SOL-PP2), apresentaram também deformações axiais de C-H de carbonos sp^3 e deformações angulares de carbono metileno (CH_2), tendo em vista que esses dois compostos são os únicos a apresentarem carbono saturado em suas estruturas. As absorções de estiramento de $\text{Csp}^3\text{-H}$ variaram de $2932,08$ a $2804,71\text{ cm}^{-1}$. Enquanto que a absorção de dobramento de CH_2 , comumente visualizada em aproximadamente 1465 cm^{-1} , foi observada entre $1446,76$ e $1405,35\text{ cm}^{-1}$. De acordo com Silverstein, Webster e Kiemle (2015), a ciclização diminui a frequência da vibração de deformação angular simétrica no plano CH_2 , justificando, portanto, os valores de frequência abaixo do descrito na literatura (Figura 46).

Ademais, as deformações angulares fora do plano de ligação C-H de aromáticos fornecem importantes informações quanto ao padrão de substituição desses compostos. Devido à diversidade de padrões de substituição em determinados compostos, torna-se complexa a identificação das bandas de absorção de forma correta. Dessa forma, foram especificadas apenas as vibrações em compostos que possuem apenas um padrão de substituição: SOL-P1 (monossustituído) e SOL-PP2 (*para*-dissustituído) (Figura 47). De acordo com Pavia e colaboradores (2009), compostos aromáticos monossustituídos caracterizam-se por apresentar duas absorções de alta intensidade em aproximadamente 690 e 750 cm^{-1} , desse modo, na molécula SOL-P1 foram identificados duas bandas estreitas de absorção de baixa e alta intensidade, respectivamente, em $695,95$ e $745,75\text{ cm}^{-1}$, sugestivas de deformação de C-H de anel aromático. Semelhantemente, compostos aromáticos *para*-dissustituídos apresentam uma banda de absorção de alta intensidade entre 800 a 850 cm^{-1} , tendo sido identificado no composto SOL-PP2 a presença de uma banda estreita de absorção de média-alta intensidade em $817,45\text{ cm}^{-1}$, sugestiva de dobramento C-H fora do plano de aromático *para*-dissustituído, assim como pode ser visualizado na figura 47.

Figura 47 – Compostos mono e *para*-dissubstituídos, respectivamente

Fonte: Autoria (2020).

Dessa forma, os resultados obtidos por meio da espectroscopia de infravermelho para as moléculas não inéditas apresentaram-se em concordância com os resultados previamente publicados por Almeida e colaboradores (2015), Ribeiro e colaboradores (2019) e Pedrosa (2017). Seguem na tabela 12.

Tabela 12 - Resultados da análise por IV dos compostos previamente sintetizados e publicados

MOLÉCULA	IV (valores em cm^{-1})
SOL-AC1 (3a)	3114 (C-H), 3500 (NH), 1202 (C=S).
SOL-AC2 (3f)	3114 (C-H), 3500 (NH), 1202 (C=S).
SOL-Q1 (JF-96)	3136 e 2973 (NH), 1502 (C=N), 1091 (C=S).
SOL-Q2 (JF-88)	3330, 3140 e 2992 (NH), 1539 (C=N), 1092 (C=S).
SOL-I1 (LqIT/LT-98)	3413 (NH), 1556 (C=N), 1499 (N-CS-N), 1247 (C=S).

Fonte: Almeida et al. (2015), Ribeiro et al. (2019) e Pedrosa (2017).

5.3.2 Identificação dos compostos por ressonância magnética nuclear

A ressonância magnética nuclear (RMN) trata-se de uma técnica espectroscópica de absorção, semelhante à espectroscopia de infravermelho, na qual a amostra em questão absorve em radiação eletromagnética na região de radiofrequências em uma frequência regida pelas características estruturais da amostra em função de determinados núcleos da molécula,

dando-se ênfase aos hidrogênios e carbonos nessa presentes (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015).

O RMN de ^1H forneceu importantes informações quanto ao perfil químico dos hidrogênios presentes nas estruturas sintetizadas, permitindo a elucidação estrutural das moléculas pela identificação dos principais picos, mais precisamente, os referentes aos hidrogênios de: N-H, H-C=N e C-H aromáticos. Seguem na tabela 13 os resultados obtidos pela análise.

Tabela 13 - Resultados da análise por RMN de ^1H dos compostos sintetizados

MOLÉCULA	RMN de ^1H (valores em ppm)
SOL-AC1	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d6): δH 12.22 (s, 1H, NH hidrazina), 10.17 (s, 1H, NH-Ar), 9.40 (s, 1H, CH=N), 8.63 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, CH acridina), 8.22 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, CH acridina), 7.94 – 7.87 (m, 2H, CH acridina), 7.77 – 7.70 (m, 2H, CH acridina), 7.60 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH fenil), 7.37 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH fenil), 7.24 – 7.17 (m, 1H, CH fenil).
SOL-AC2	RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d6): δH 12.31 (s, 1H, NH hidrazina), 10.43 (s, 1H, NH-Ar), 9.48 (s, 1H, CH=N), 8.73 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, CH aromático), 8.21 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, CH aromático), 7.93 – 7.86 (m, 3H, CH aromático), 7.78 – 7.71 (m, 2H, CH aromático), 7.56 (d, $J = 1.1$ Hz, 2H, CH aromático), 7.41 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, CH aromático).
SOL-Q1	RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d6): δH 12.08 (s, 1H, NH hidrazina), 10.36 (s, 1H, NH-Ar), 9.03 (s, 1H, CH=N), 8.97 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.39 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.27 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.10 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, CH quinolina), 7.87 – 7.80 (m, 1H), 7.78 – 7.71 (m, 1H), 7.59 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.40 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.24 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H).
SOL-Q2	RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d6): δH 12.16 (s, 1H, NH hidrazina), 10.38 (s, 1H, NH-Ar), 9.03 (s, 1H, CH=N), 8.98 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.36 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.27 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.10 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, CH quinolina), 7.86 – 7.79 (m, 1H, CH quinolina), 7.73 (td, $J = 7.6, 6.9, 1.3$ Hz, 1H, CH quinolina), 7.68 – 7.61 (m, 2H, CH fenil), 7.48 – 7.42 (m, 2H, CH fenil).
SOL-I1	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d6): δH 11.70 (s, 1H, NH hidrazina), 11.62 (s, 1H, NH indol), 9.63 (s, 1H, NH-Ar), 8.43 (s, 1H, CH=N), 8.25 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, CH indol), 7.93 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, CH indol), 7.67 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH fenil), 7.46 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, CH indol) 7.39 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH fenil), 7.21 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, CH indol), 7.19 – 7.14 (m, 1H, CH fenil).
SOL-I2	RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d6): δH 11.68 (s, 1H, NH

	hidrazina), 11.65 (s, 1H, NH indol), 9.67 (s, 1H, NH-Ar), 8.42 (s, 1H, CH=N), 8.24 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, CH indol), 7.92 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H, CH indol), 7.76 – 7.64 (m, 2H, CH fenil), 7.49 – 7.36 (m, 3H, CH fenil e CH indol), 7.27 – 7.09 (m, 2H, CH indol).
SOL-P1	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d6): δH 12.10 (s, 1H, NH hidrazina), 10.30 (s, 1H, NH-Ar), 8.63 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H, CH piridina), 8.12 (s, 1H, CH=N), 7.90 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H, CH piridina), 7.55 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH fenil), 7.40 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH fenil), 7.24 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, CH fenil).
SOL-P2	RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d6): δH 12.16 (s, 1H, NH hidrazina), 10.30 (s, 1H, NH-Ar), 8.63 (dd, $J = 24.8, 0.1$ Hz, 2H, CH piridina), 8.12 (s, 1H, CH=N), 7.87 (dd, $J = 5.8, 1.5$ Hz, 2H, CH piridina), 7.60 (dt, $J = 4.5, 3.0, 2.8$ Hz, 2H, CH fenil), 7.44 (dt, $J = 4.7, 3.0, 3.0$ Hz, 2H, CH fenil).
SOL-PR1	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d6): δH 11.92 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H, NH hidrazina), 10.21 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H, NH-Ar), 8.70 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, CH=N), 8.23 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, CH Ar), 8.17 (dd, $J = 8.6, 4.9$ Hz, 2H, CH Ar), 8.09 – 8.01 (m, 3H, CH Ar), 7.91 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, CH Ar), 7.59 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH Ar), 7.40 (q, $J = 7.7, 6.8$ Hz, 3H, CH Ar), 7.23 (q, $J = 7.2, 6.6$ Hz, 1H, CH Ar).
SOL-PR2	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d6): δH 12.00 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, NH hidrazina), 10.24 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, NH-Ar), 8.70 (dt, $J = 4.5, 2.0$ Hz, 1H, CH=N), 8.23 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, CH Ar), 8.17 (dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, 2H, CH Ar), 8.04 (dt, $J = 8.5, 5.1$ Hz, 3H, CH Ar), 7.91 (tt, $J = 7.7, 2.0$ Hz, 1H, CH Ar), 7.64 (dt, $J = 8.7, 2.5$ Hz, 2H, CH Ar), 7.49 – 7.41 (m, 2H, CH Ar), 7.39 (ddd, $J = 7.3, 4.9, 2.0$ Hz, 1H, CH Ar).
SOL-PP1	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d6): δH 11.63 (s, 1H, NH hidrazina), 9.96 (s, 1H, NH-Ar), 8.05 (s, 1H, CH=N), 7.70 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, CH fenil), 7.59 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, CH fenil-piperidina), 7.36 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH fenil), 7.19 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, CH fenil), 6.94 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, CH fenil-piperidina), 3.33 – 3.19 (m, 4H, CH fenil-piperidina), 1.70 – 1.50 (m, 6H, CH fenil-piperidina).
SOL-PP2	RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d6): δH 11.71 (s, 1H, NH hidrazina), 10.01 (s, 1H, NH-Ar), 8.05 (s, 1H, CH=N), 7.70 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, CH fenil), 7.64 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, CH fenil-piperidina), 7.41 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, CH fenil), 6.94 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, CH fenil-piperidina), 3.27 (d, $J = 9.4$ Hz, 4H, CH fenil-piperidina), 1.59 (d, $J = 7.0$ Hz, 6H, CH fenil-piperidina).

Fonte: Aatoria (2020).

Hidrogênios de grupamentos amínicos apresentam deslocamentos químicos variáveis, pois são influenciados por fatores intrínsecos à estrutura química da molécula e extrínsecos (PAVIA et al., 2009). Nas estruturas analisadas, três ligações N-H, de ambientes químicos

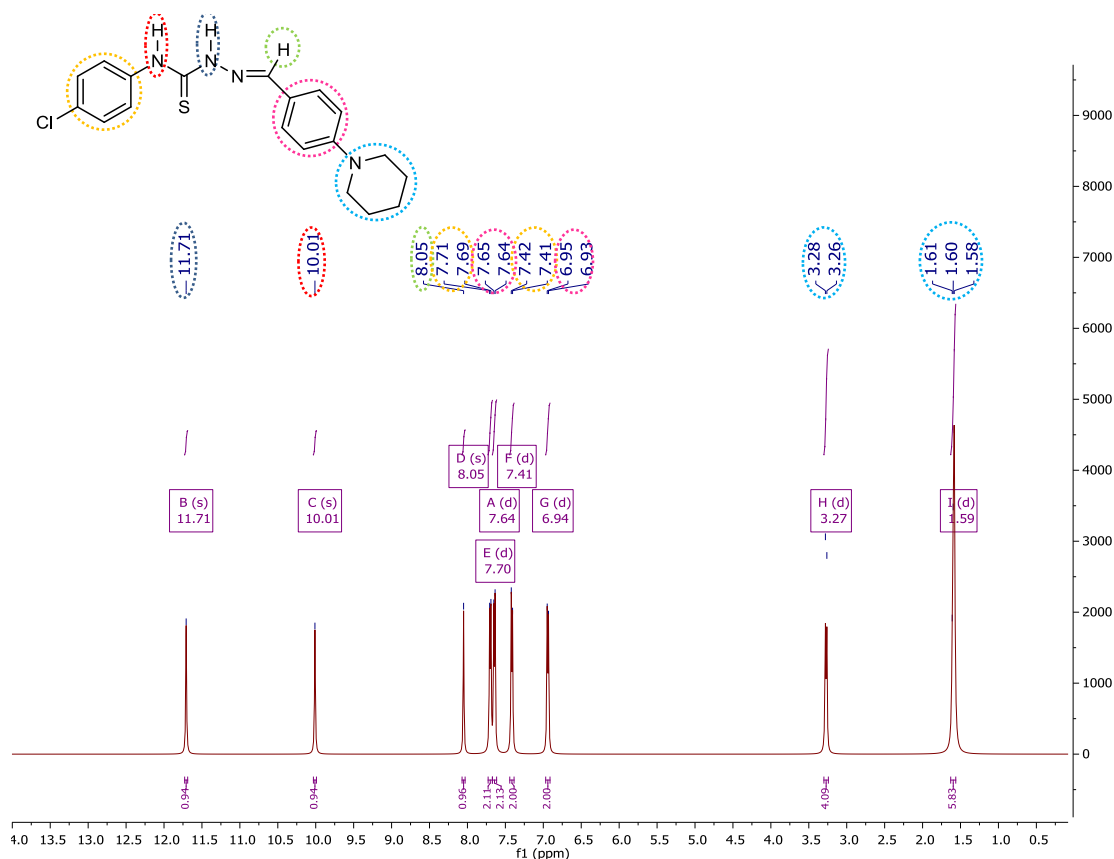
diferentes, foram identificadas: duas referentes à subunidade tiossemicarbazônica e uma referente ao anel indólico, sendo presente exclusivamente nas moléculas SOL-I1 e SOL-I2.

O hidrogênio hidrazínico apresenta um deslocamento químico em faixas mais altas em estruturas tiossemicarbazônicas (TENÓRIO, 2005), apresentando-se, nesse estudo, como um singlete na faixa de 11.63 a 12.30 ppm. O outro hidrogênio amínico contido na subestrutura tiossemicarbazônica, ligado diretamente ao sistema aromático, apresenta-se como um singlete na faixa de 9.63 a 10.43 ppm. Embora seja uma região de deslocamento químico mais baixo em relação ao anterior, o átomo de hidrogênio em questão apresenta-se desblindado devido à anisotropia do anel fenólico e à ressonância que remove a densidade de elétrons do nitrogênio e altera sua hibridação (PAVIA et al., 2009). A ligação N-H presente no núcleo indólico das moléculas SOL-I1 e SOL-I2, por apresentar-se inclusive em um sistema aromático, é diretamente influenciada por efeitos de ressonância que aparentam aumentar a força da ligação por modificação na hibridação da mesma, de forma que os hidrogênios dessa amina aromática se apresentaram como singletos em 11.62 e 11.65 ppm, respectivamente.

Sinais na forma de singlete, sugestivo de hidrogênio azometina (CH=N) foram identificados entre 8.05 e 9.48 ppm, apresentando-se desblindados, em relação aos demais hidrogênios vinílicos ou ligados a um anel aromático, devido não apenas a anisotropia adjacente a ligação dupla, mas também devido a eletronegatividade do nitrogênio presente na ligação.

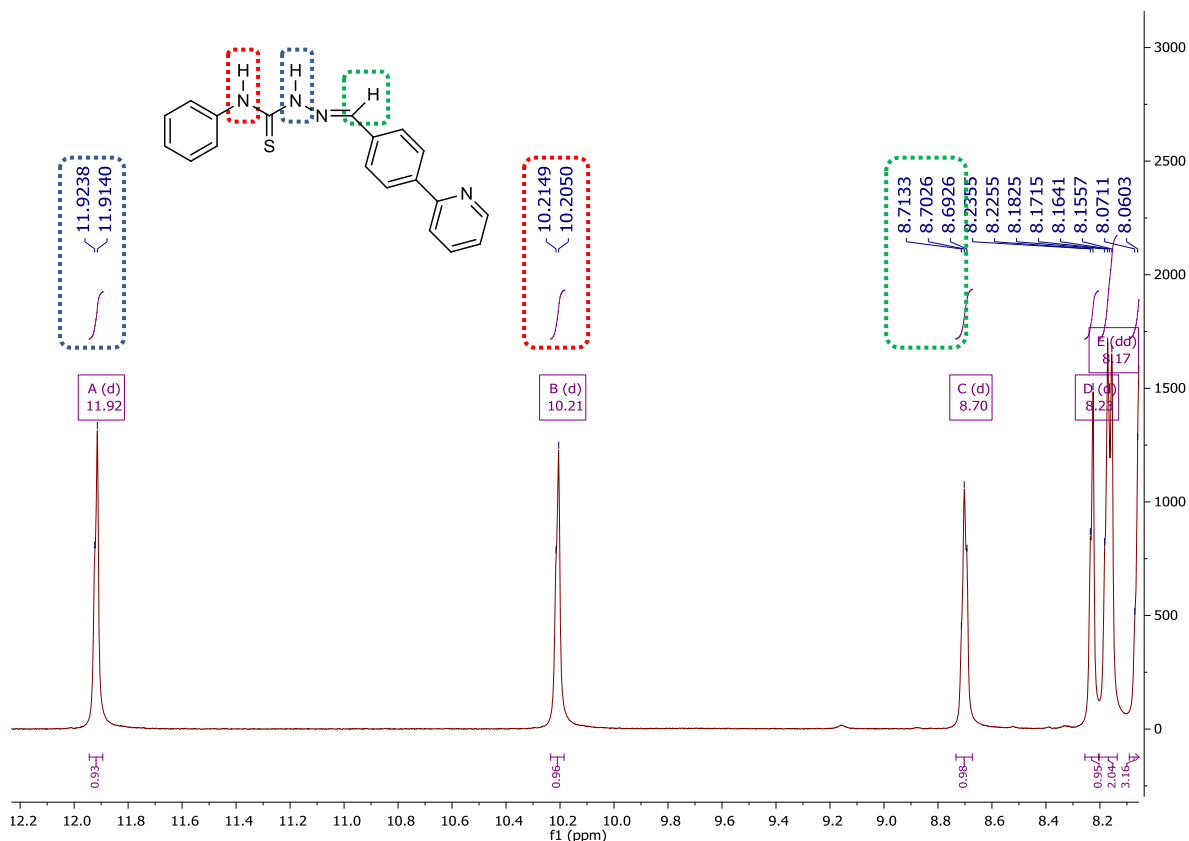
Em relação aos hidrogênios ligados a um anel aromático (benzenoide), esses apresentam, segundo a literatura, deslocamento químico de 6.5 a 8.0 ppm, ocasionado pelo grande campo anisotrópico gerado pela circulação de elétrons π do anel (PAVIA et al., 2009). Os mesmos foram identificados nos espectros na faixa de 6.94 a 8.98 ppm, sendo esses pertencentes tanto ao anel fenílico, quanto aos anéis heterocíclicos. Os picos encontrados em regiões acima de 8.0 ppm corresponderam aos hidrogênios de carbonos ligados diretamente ao heteroátomo dos anéis heterocíclicos nitrogenados.

Excepcionalmente, nas moléculas SOL-PP1 e SOL-PP2, é possível a identificação de hidrogênios referentes à ligação C-H com carbono de hibridização sp^3 . Os hidrogênios α da ligação carbono-nitrogênio apresentaram-se como dubletos ou multipletos entre 3.19 a 3.33 ppm, enquanto que os hidrogênios de carbonos metilênicos (CH_2), que totalizam em 6 átomos, apresentaram-se como dubletos ou multipletos entre 1.50 a 1.70 ppm. Desse modo, segue, na figura 48, o espectro de RMN de 1H obtido para molécula SOL-PP2.

Figura 48 - RMN de ^1H da molécula SOL-PP2

Fonte: Aatoria (2020).

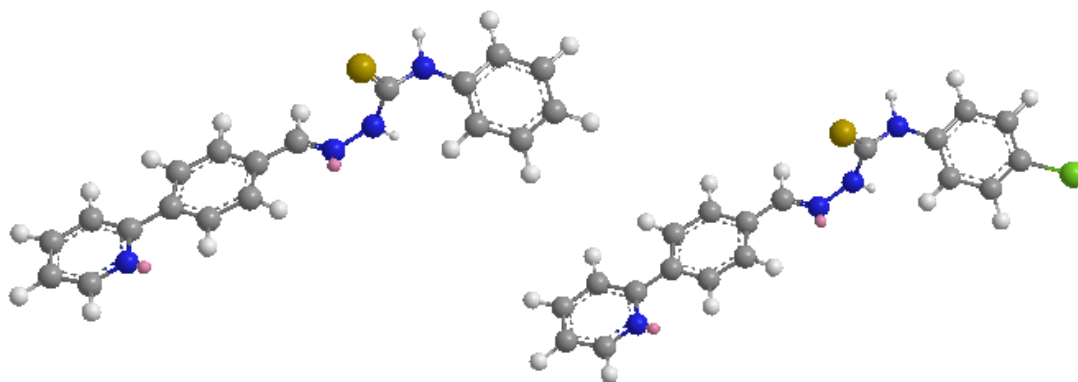
Nos espectros das moléculas substituídas com o núcleo fenil-piridina (SOL-PR1 e SOL-PR2) foram observadas duplicidade de sinais em picos referentes aos átomos de hidrogênio ligados a nitrogênio, hidrogênio azometina e hidrogênios aromáticos, até então não presentes nas demais moléculas. Realizando-se um enfoque nos hidrogênios aminícos, de acordo com a Pavia e colaboradores (2009), não é comum observar um acoplamento direto entre um hidrogênio e um nitrogênio, embora esse seja um elemento *spin*-ativo. Desse modo, descartando-se a possibilidade do surgimento de sinais duplos devido a acoplamento de *spins*, acredita-se que a duplicidade de sinais esteja relacionada à presença de conformeros anti- e syn-periplanar. Segue para visualização, o espectro de RMN de ^1H aproximado da molécula SOL-PR1 (Figura 49).

Figura 49 – Espectro aproximado de RMN de ^1H da molécula SOL-PR1

Fonte: Autoria (2020).

Como mencionado anteriormente (tópico 3.2), a liberdade conformacional em torno da ligação C-N do grupamento tioamida dependerá da substituição do nitrogênio terminal. As moléculas SOL-PR1 e SOL-PR2 apresentam substituintes que permitem a formação de uma estrutura linear até o carbono da azometina. Na figura 50 podem ser visualizadas as estruturas das moléculas após uma minimização da energia molecular, evidenciando que os substituintes das porções tiossemicarbazônica apresentam-se no mesmo plano, provavelmente favorecendo o giro da molécula em torno das ligações $\text{sp}^3\text{-sp}^2$.

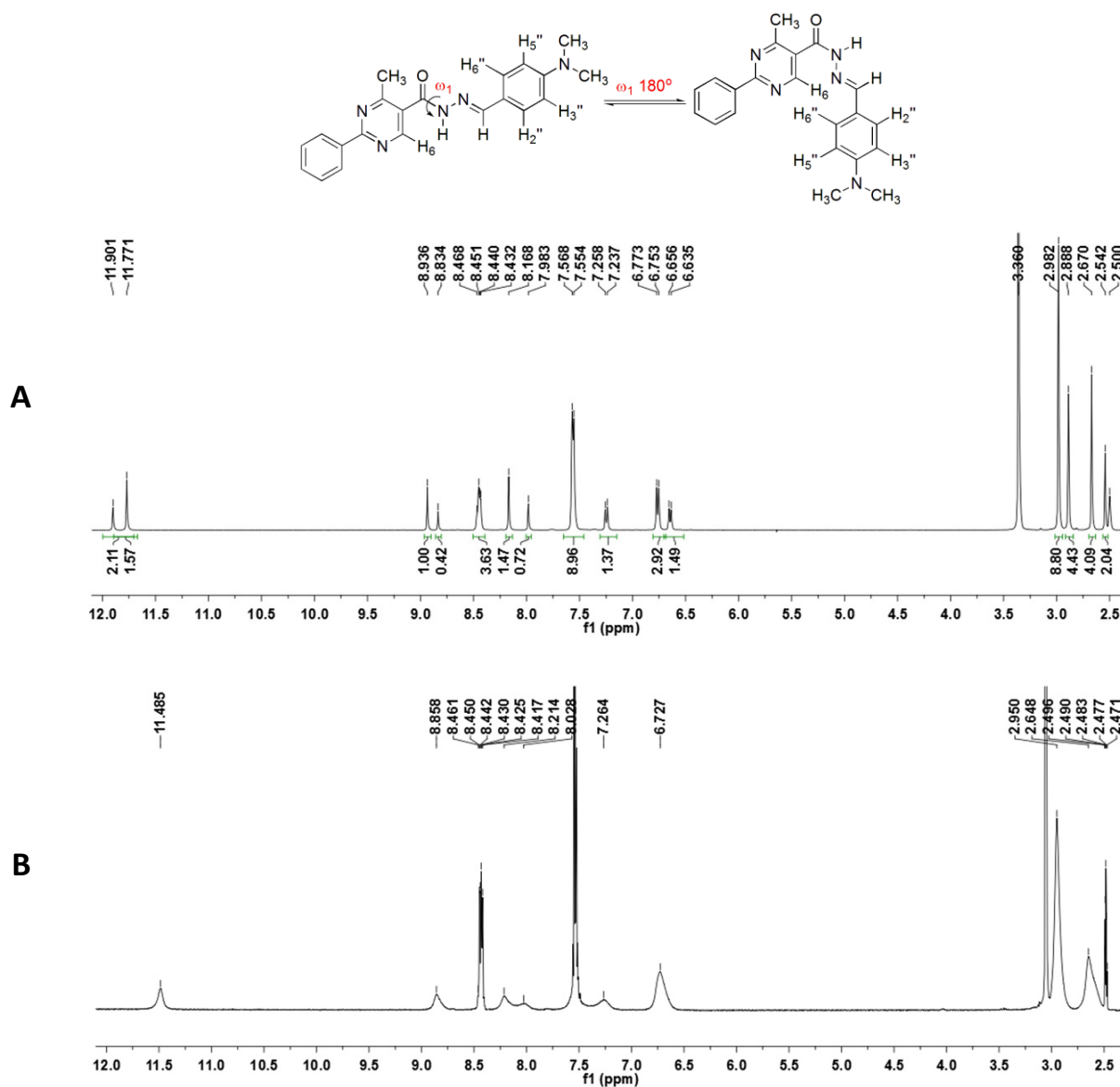
Figura 50 – Estrutura tridimensional das moléculas SOL-PR1 e SOL-PR2, respectivamente



Fonte: Autoria (2020).

Estudos realizados por Lopes e colaboradores (2013) evidenciam a presença de isômeros conformacionais em compostos *N*-acilhidrazônicos que, por sua vez, apresentam uma estrutura semelhante às tiossemicarbazonas, por conter as funções amida e imina em sua estrutura básica. De acordo com os autores, a conversão de um conformero em outro requer rotação em torno da ligação C-N que, conseqüentemente, altera a hibridação do nitrogênio sp^2 em um arranjo piramidal. Na geometria piramidal, o único par de elétrons do nitrogênio é colocado em um orbital com alto caráter de *s* para estabilização, aumentando a barreira rotacional. Assim, os autores reportam a realização do RMN de 1H , em DMSO- d_6 , a uma temperatura de 80°C, para determinar se a coalescência de sinais duplicados seria observada, corroborando com a hipótese de que a energia necessária para superar mais rapidamente a barreira rotacional é alcançada com o aumento da temperatura, levando a uma rápida conversão entre os conformeros. Como resultado, ao realizar a comparação do espectro de RMN de 1H realizado a 20°C com o realizado a 80°C, é possível visualizar a coalescência dos picos, como visto na figura 51.

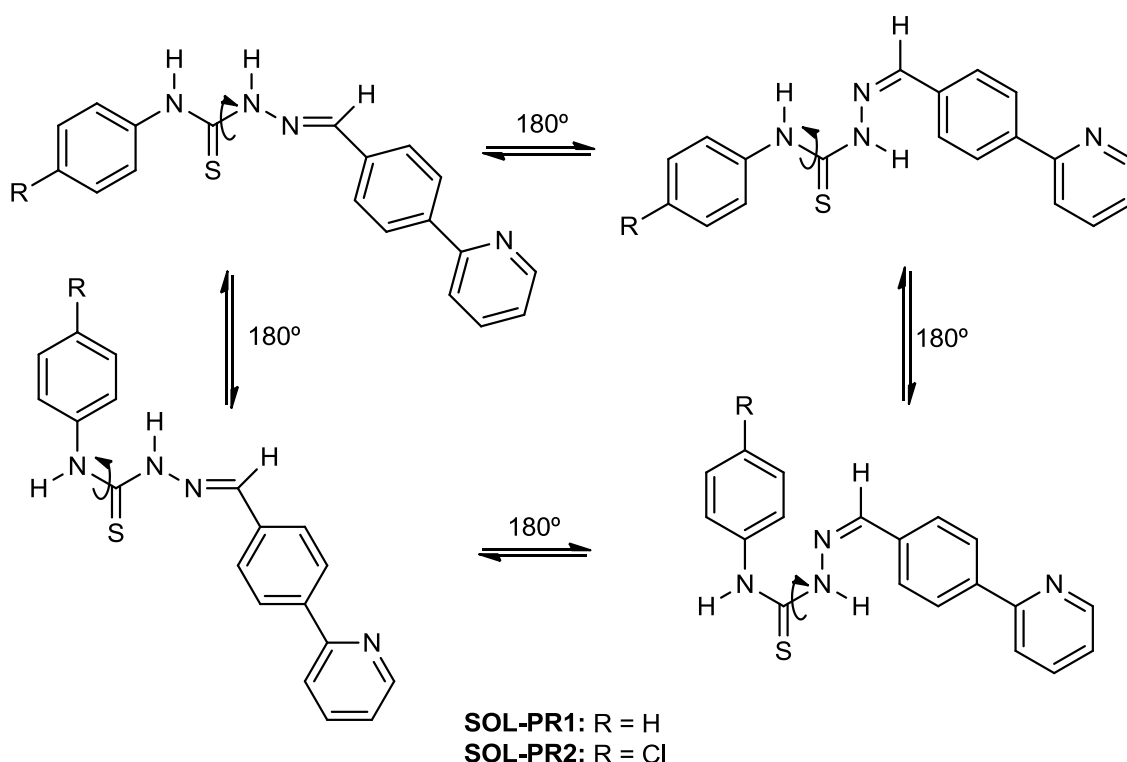
Figura 51 – Estrutura de derivado *N*-acilhidrazônico e seu espectro de RMN de ^1H à 20°C (A) e 80°C (B).



Fonte: Lopes e colaboradores (2013).

Desse modo, a realização de espectros de RMN de ^1H com variação de temperatura para os compostos SOL-PR1 e SOL-PR2 apresenta-se como uma proposta viável para determinar a existência de confôrmeros. Segue na figura 52 os possíveis confôrmeros obtidos pela rotação 180° das ligações C-N.

Figura 52 – Possíveis conformeros das moléculas SOL-PR1 e SOL-PR2



Fonte: Aatoria (2020).

Ademais, os resultados apresentaram-se em concordância com os resultados referentes à elucidação estrutural por RMN de ^1H fornecidos por Almeida e colaboradores (2015), para as moléculas SOL-AC1 e SOL-AC2, Ribeiro e colaboradores (2019), para as moléculas SOL-Q1 e SOL-Q2, e Pedrosa (2017), para molécula SOL-I1. Esses podem ser visualizados na tabela 14.

Tabela 14 - Resultados da análise por RMN de ^1H dos compostos previamente sintetizados e publicados

MOLÉCULA	RMN de ^1H (valores em ppm)
SOL-AC1 (3a)	RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δH 7.19 (t, 1H, fenil, $J = 7.5$ Hz), 7.36 (t, 2H, fenil, $J = 7.8$ Hz), 7.60 (d, 2H, fenil, $J = 7.8$ Hz), 7.72 (t, 2H, acridina, $J = 8.4$ Hz), 7.89 (t, 2H, acridina, $J = 8.4$ Hz), 8.20 (d, 2H, acridina, $J = 8.7$ Hz), 8.61 (d, 2H, acridina, $J = 8.7$ Hz), 9.39 (s, 1H, =CH), 10.23 (s, 1H, NH), 12.27 (s, 1H, NH).
SOL-AC2 (3f)	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δH 7.40 (d, 2H, fenil, $J = 6.8$ Hz), 7.63 (d, 2H, fenil, $J = 7.6$ Hz), 7.72 (t, 2H, acridina, J

	= 7.2 Hz), 7.89 (t, 2H, acridina, $J = 7.2$ Hz), 8.21 (d, 2H, acridina, $J = 9.2$ Hz), 8.59 (d, 2H, acridina, $J = 8.4$ Hz), 9.39 (s, 1H, =CH-), 10.23 (s, 1H, NH), 12.27 (s, 1H, NH).
SOL-Q1 (JF-96)	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δH 7.24 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, CH fenil), 7.40 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH fenil), 7.59 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH fenil), 7.74 (dd, $J_1 = 8.0$ Hz/ $J_2 = 7.2$ Hz, 1H, CH quinolina) 7.83 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.10 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H CH quinolina), 8.28 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.37 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.97 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, CH quinolina), 9.02 (s, 1H, HC=N), 10.33 (s, 1H, NH), 12.06 ppm (s, 1H, NH).
SOL-Q2 (JF-88)	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δH 7.45 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH fenil), 7.63 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH fenil), 7.74 (dd, $J_1 = 8$ Hz/ $J_2 = 7.2$ Hz, 1H, CH quinolina), 7.83 (dd, $J_1 = 8$ Hz/ $J_2 = 7.2$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.10 (d, $J = 8$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.27 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.36 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, CH quinolina), 8.97 (d, $J = 4$ Hz, 1H, CH quinolina), 9.02 (s, 1H, HC=N), 10.38 (s, 1H, NH), 12.14 ppm (s, 1H, NH).
SOL-I1 (LqIT/LT-98)	RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δH 11.69 (s, 1H, NH), 11.60 (s, 1H, NH-indol), 9.62 (s, 1H, NH-Ar), 8.43 (s, 1H, CH=N), 8.23 (d, 1H, pos. 4 indol, $J=7.6\text{Hz}$), 7.91 (d, 1H, pos. 2 indol, $J=2.8\text{Hz}$), 7.66 (d, 2H, pos. 5,6 fenil, $J=8\text{Hz}$), 7.44 (d, 1H, pos. 7 indol, $J=7.6\text{Hz}$), 7.38 (t, 2H, pos. 5,6 indol, $J= 7.6$ Hz), 7.23-7.14 (m, 3H, pos. 3,4,5 fenil).

Fonte: Almeida et al. (2015), Ribeiro et al. (2019) e Pedrosa (2017).

Do mesmo modo, a realização da análise por RMN de ^{13}C forneceu importantes informações quanto ao perfil dos átomos de carbono da estrutura, permitindo identificar os principais picos de absorção de: C=S, C=N e C=C aromático. Segue a tabela 15 com os resultados da análise.

Tabela 15 - Resultados da análise por RMN de ^{13}C dos compostos sintetizados

MOLÉCULA	RMN de ^{13}C (valores em ppm)
SOL-AC1	RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO): δH 176.9207 (C=S), 148.6821 (Cq acridina), 140.4344 (C=N), 139.4199 (Cq fenil), 133.3837 (Cq acridina), 130.8400 (C-H acridina), 130.1259 (C-H acridina), 129.1707 (C-H acridina), 128.5861 (C-H fenil), 127.6754 (C-H fenil), 125.8795 (C-H fenil), 124.6336 (C-H acridina), 123.9640 (C-H acridina).
SOL-AC2	RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO): δH 178.1978 (C=S), 148.2602 (Cq acridina), 140.0146 (C=N), 135.3398 (Cq fenil), 133.6972 (Cq acridina), 130.3594 (C-H acridina), 129.6669 (C-H acridina), 128.0837 (Cq fenil), 127.1990

	(C-H fenil), 126.9355 (Cq acridina), 126.0575 (C-H fenil), 125.4712 (C-H acridina), 123.5200 (C-H acridina), 122.9902 (Cq acridina).
SOL-Q1	RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO): δH 176.4423 (C=S), 150.0899 (C-H quinolina), 148.3662 (Cq quinolina), 138.9117 (Cq fenil), 137.8883 (C=N), 137.1397 (Cq quinolina), 129.8759 (C-H quinolina), 129.5537 (C-H quinolina), 128.1402 (C-H fenil), 127.3893 (C-H quinolina), 126.0122 (C-H fenil), 125.5998 (C-H fenil), 125.1773 (Cq quinolina), 122.6790 (C-H quinolina), 117.7473 (C-H quinolina).
SOL-Q2	RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO): δH 176.4494 (C=S), 150.0518 (C-H quinolina), 148.3515 (Cq quinolina), 138.2566 (C=N), 137.8969 (Cq fenil), 137.0494 (Cq quinolina), 129.8577 (C-H quinolina), 129.5836 (Cq fenil), 129.5401 (C-H quinolina), 128.0222 (C-H fenil), 127.5763 (C-H fenil), 127.3781 (C-H quinolina), 125.1567 (Cq quinolina), 122.6719 (C-H quinolina), 117.7693 (C-H quinolina).
SOL-I1	RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO): δH 174.8813 (C=S), 141.7318 (C=N), 139.7494 (Cq fenil), 137.5260 (Cq indol), 131.8073 (C-H indol), 128.6136 (C-H fenil), 125.5065 (C-H fenil), 125.3869 (C-H fenil), 124.5262 (Cq indol), 123.1541 (C-H indol), 122.3125 (C-H indol), 121.1824 (C-H indol), 112.3455 (C-H indol), 111.4238 (Cq indol).
SOL-I2	RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO): δH 174.3964 (C=S), 141.5305 (C=N), 138.3137 (Cq fenil), 137.0153 (Cq indol), 131.3531 (C-H indol), 128.7963 (C-H fenil), 127.9139 (C-H fenil), 126.7201 (C-H fenil), 124.0324 (Cq indol), 122.6470 (C-H indol), 121.8800 (C-H indol), 120.6503 (C-H indol), 111.8136 (C-H indol), 110.8820 (Cq indol)..
SOL-P1	RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO): δH 177.0429 (C=S), 150.4901 (C-H piridina), 141.7354 (Cq fenil), 140.4693 (C=N), 139.3776 (Cq piridina), 128.5927 (C-H fenil), 126.6928 (C-H fenil), 126.1054 (C-H fenil), 121.8504 (C-H piridina).
SOL-P2	RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO): δH 176.5636 (C=S), 149.9878 (C-H piridina), 141.1643 (Cq fenil), 140.3335 (C=N), 137.8673 (Cq fenil), 129.6138 (Cq piridina), 128.0002 (C-H fenil), 127.7718 (C-H fenil), 121.3814 (C-H piridina).
SOL-PR1	RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO): δH 176.5193 (C=S), 155.6665 (Cq fenil-piridina), 150.1079 (C-H fenil-piridina), 142.7843 (C=N), 140.2827 (Cq fenil), 139.5462 (Cq fenil-piridina), 137.6996 (C-H fenil-piridina), 135.1029 (Cq fenil-piridina), 128.5188 (C-H fenil), 128.5071 (C-H fenil-piridina), 127.1096 (C-H fenil-piridina), 126.5004 (C-H fenil), 125.8510 (C-H fenil), 123.3894 (C-H fenil-piridina), 120.9718 (C-H fenil-piridina).

SOL-PR2	RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO): δH 176.5029 (C=S), 155.6468 (Cq fenil-piridina), 150.1139 (C-H fenil-piridina), 143.1368 (C=N), 140.3715 (Cq fenil), 138.5412 (Cq fenil-piridina), 137.7800 (C-H fenil-piridina), 135.0034 (Cq fenil-piridina), 129.8316 (Cq fenil), 128.5415 (C-H fenil), 128.4126 (C-H fenil-piridina), 128.1049 (C-H fenil), 127.1167 (C-H fenil-piridina), 123.4055 (C-H fenil-piridina), 120.9844 (C-H fenil-piridina).
SOL-PP1	RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO): δH 175.5468 (C=S), 152.8841 (Cq fenil-piperidina), 144.0366 (C=N), 139.6441 (Cq fenil), 129.4234 (C-H fenil-piperidina), 128.4430 (C-H fenil), 126.0411 (C-H fenil), 125.5016 (C-H fenil), 123.4280 (Cq fenil-piperidina), 114.8932 (C-H fenil-piperidina), 48.8627 (C-H fenil-piperidina), 48.8619 (C-N fenil-piperidina), 25.4524 (C-H fenil-piperidina), 24.3909 (C-H fenil-piperidina).
SOL-PP2	RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO): δH 175.4982 (C=S), 152.9278 (Cq fenil-piperidina), 144.2808 (C=N), 138.6615 (Cq fenil), 129.4388 (C-H fenil-piperidina), 129.4386 (Cq fenil), 128.3115 (C-H fenil), 127.6552 (C-H fenil), 123.3110 (Cq fenil-piperidina), 114.8616 (C-H fenil-piperidina), 48.8392 (C-N fenil-piperidina), 25.4519 (C-H fenil-piperidina), 24.3887 (C-H fenil-piperidina).

Fonte: Autoria (2020).

O carbono da carbotionila (C=S) apresentou-se nos espectros das moléculas analisadas na faixa de 174.3964 a 178.1978 ppm. Embora o átomo de enxofre não apresente um efeito retirador de elétrons sob o carbono, esse último se apresenta ligado a dois átomos de nitrogênio secundários que se caracterizam por possuir uma eletronegatividade superior ao do carbono (3,04 e 2,55, respectivamente), fato esse que torna, portanto, o carbono parcialmente eletropositivo e, conseqüentemente, desblindado.

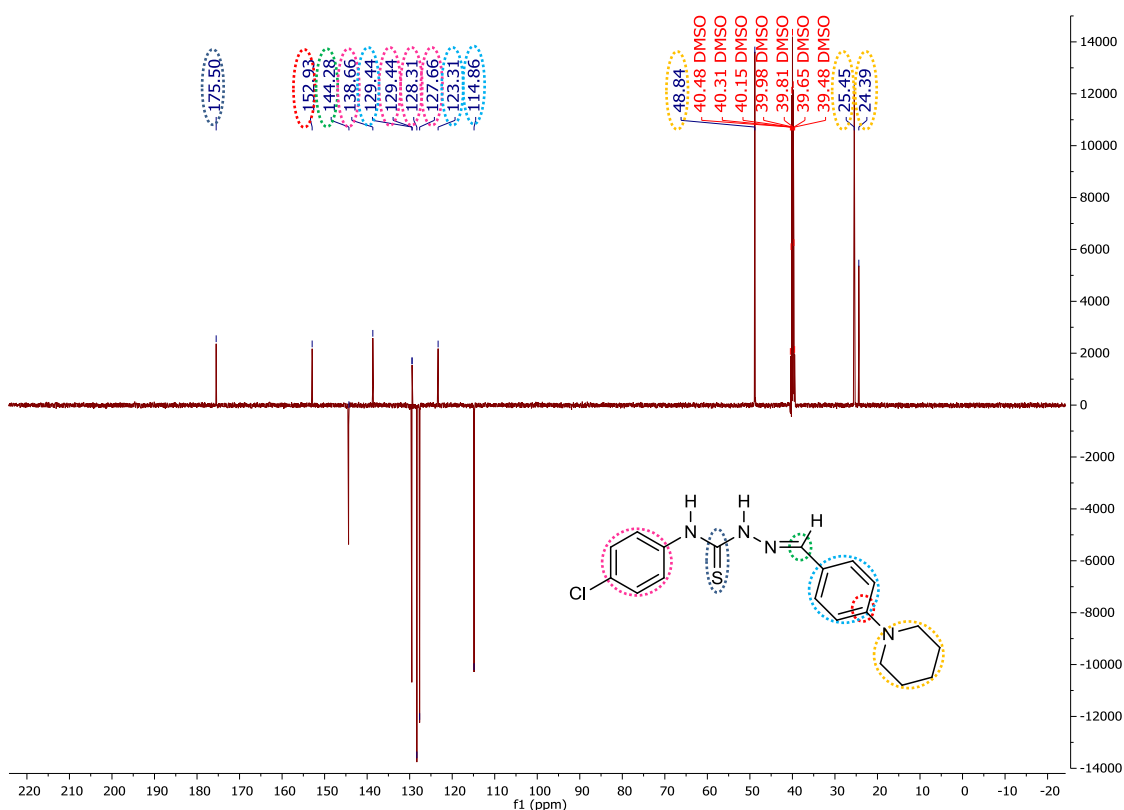
O carbono imínico (C=N), por sua vez, foi identificado nos espectros avaliados entre 137.8883 e 144.0366 ppm. Sua presença em altas regiões de deslocamento químico nos espectros pode ser justificada devido à ligação sp^2 do carbono com um átomo elétron-retirador, somado a ligação do mesmo a um anel aromático. Desse modo, o carbono imínico encontra-se, nessa estrutura, afetado por efeitos de eletronegatividade, hibridização e anisotropia.

De acordo com Pavia e colaboradores (2009), carbonos insaturados pertencentes a sistemas aromáticos caracterizam-se por apresentar o deslocamento químico de 110 a 175 ppm. Esses, por sua vez, foram identificados nos espectros das moléculas sintetizadas

variando de 110.8882 a 155.6665 ppm, apresentando-se, dessa forma, em conformidade com a literatura.

Adicionalmente, como discutido anteriormente, as moléculas SOL-PP1 e SOL-PP2 apresentam sinais referentes a carbonos saturados. Nos espectros de ambas as moléculas são identificados picos de absorção sugestivos de ligação C-N em 48.8392 e 48.8619 ppm, respectivamente. Ambos se apresentam em concordância com os valores de referência fornecidos por Pavia e colaboradores (2009), de 30 a 65 ppm. Complementarmente, picos de absorção referentes a carbonos metilênicos, comumente visualizados entre 15 e 55 ppm (PAVIA et al., 2009), foram observados na faixa de 25.4524 a 24.3887 ppm. Segue na figura 53 o espectro de RMN de ^{13}C obtido para molécula sintetizada SOL-PP2.

Figura 53 – RMN de ^{13}C da molécula SOL-PP2



Fonte: Autoria (2020).

Do mesmo modo, como esperado, os resultados obtidos nesse estudo estão em conformidade com os resultados previamente apresentados para as moléculas não inéditas, conforme podem ser visualizados na tabela 16.

Tabela 16 - Resultados da análise por RMN de ^{13}C dos compostos previamente sintetizados e publicados

MOLÉCULA	RMN de ^{13}C (valores em ppm)
SOL-AC1 (3a)	RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d6): δH 123.3, 123.9, 124.9, 125.1, 126.9, 127.9, 128.4, 129.5, 130.8, 130.2, 134.6, 138.8, 139.8, 148.1, 176.3.
SOL-AC2 (3f)	RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d6): δH 123.3, 123.9, 124.9, 125.1, 126.9, 127.9, 128.4, 129.5, 130.8, 130.2, 134.6, 138.8, 139.8, 148.1, 176.3.
SOL-Q1 (JF-96)	RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d6): δH 117.74 (CH quinolina), 122.67 (CH quinolina), 125.14 (Cq quinolina), 125.52 (CH fenil), 125.88 (CH fenil), 127.33 (CH quinolina), 128.08 (CH fenil), 129.49 (CH quinolina), 129.83 (CH quinolina), 137.11 (Cq quinolina), 137.92 (HC=N), 138.89 (Cq fenil), 148.34 (Cq quinolina), 150.04 (CH quinolina), 176.44 ppm (C=S).
SOL-Q2 (JF-88)	RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d6): δH 117.80 (CH quinolina), 122.70 (CH quinolina), 125.17 (Cq quinolina), 127.42 (CH quinolina), 127.60 (CH fenil) 128.04 (CH fenil), 129.59 (Cq fenil), 129.59 (CH quinolina), 129.87 (CH quinolina), 137.08 (Cq quinolina), 137.91 (Cq fenil), 138.29 (HC=N), 148.36 (Cq quinolina), 150.09 (CH quinolina), 176.49 ppm (C=S).
SOL-I1 (LqIT/LT-98)	RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d6): δH 174.4, 141.2, 139.2, 137.0, 1.31.3, 128.1, 124.9, 124.8, 124.0, 122.6, 121.8, 120.7, 111.8, 110.9

Fonte: Almeida et al. (2015), Ribeiro et al. (2019) e Pedrosa (2017).

5.4 Atividade antiproliferativa

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas: amostra sem atividade (1 a 20% de inibição), com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70%) e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100%) (Tabela 17).

Tabela 17 - Efeito das amostras na viabilidade das células após 72 h de tratamento

Produtos teste/ linhagens celulares	% de inibição							
	HCT-116*	MCF-7		HeLa	SKMEL	PC-3	L929*	HaCaT
		25 μ M	50 μ M					
SOL-AC1	22.93 \pm 3.44%	24.07 \pm 0.67%	27.17 \pm 1.04%	25.55 \pm 0.67%	22.13 \pm 1.35%	15.82 \pm 0.79%	N.T.	N.T.
SOL-AC2	45.23* \pm 1.57%	28.12 \pm 0.88%	1.17 \pm 1.30%	14.5 \pm 0.96%	75.20 \pm 0.80%	42.84 \pm 0.85%	49.03* \pm 3.42%	34.65 \pm 0.32%
SOL-Q1	25.61* \pm 2.39%	16.93 \pm 1.50%	2.75 \pm 1.39%	N.T.	8.92 \pm 0.37%	26.89 \pm 0.60%	14.04* \pm 2.52%	N.T.
SOL-Q2	42.19* \pm 1.17%	23.54 \pm 1.33%	15.83* \pm 0.70%	7.11 \pm 1.68%	18.14 \pm 1.21%	22.04 \pm 1.80%	29.32* \pm 0.43%	N.T.
SOL-II1	26.02 \pm 0.92%	23.23 \pm 1.21%	10.1 \pm 1.23%	49.25 \pm 0.30%	15.1 \pm 1.55%	20.82 \pm 1.92%	N.T.	N.T.
SOL-I2	47.86* \pm 4.16%	17.92 \pm 1.35%	15.6* \pm 1.43%	41.46 \pm 4.91%	18.54 \pm 2.36%	19.26 \pm 1.88%	22.57* \pm 1.78%	N.T.
SOL-P1	0%	30.68 \pm 1.93%	28.45 \pm 3.33%	6.2 \pm 0.90%	0.00 \pm 3.64%	24.88 \pm 1.62%	N.T.	N.T.
SOL-P2	3.62 \pm 1.59%	11.91 \pm 0.30%	11.25* \pm 1.21%	12.24 \pm 1.38%	18.91 \pm 1.27%	17.28 \pm 2.77%	16.72* \pm 1.30%	N.T.
SOL-PR1	38.03 \pm 6.49%	24.77 \pm 0.98%	57.95 \pm 2.23%	22.54 \pm 1.44%	28.61 \pm 3.00%	20.21 \pm 0.53%	N.T.	N.T.
SOL-PR2	49.74 \pm 4.81%	18.74 \pm 0.83%	65.52 \pm 4.28%	N.T.	24.06 \pm 0.52%	31.58 \pm 0.96%	N.T.	N.T.
SOL-PP1	41.59 \pm 1.85%	30.68 \pm 1.93%	44.17 \pm 1.72%	6.72 \pm 1.10%	16.84 \pm 1.49%	26.73 \pm 3.98%	N.T.	N.T.
SOL-PP2	28.58 \pm 0.87%	25.27 \pm 1.36%	35.98 \pm 2.35%	7.95 \pm 1.90%	17.14 \pm 1.57%	25.45 \pm 0.37%	N.T.	N.T.

Fonte: Aatoria (2020). Legenda: HCT 116 (câncer de cólon), MCF-7 (câncer de mama), HeLa (câncer cervical), SKMEL (melanoma humano), PC-3 (câncer de próstata), e as linhagens de célula não tumorais L929 (fibroblasto murino) e HaCaT (queratinócitos humanos). N.T. = não testado. Os resultados são expressos como média \pm erro padrão de um experimento em quadruplicata, testado na concentração de 25 μ M, com exceção para as linhagens HCT-116, MCF-7 e L929, testadas na concentração de 50 μ M. Os dados foram analisados por ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ em relação ao controle não tratado.

Como explicitado na tabela 17, a maioria dos compostos testados não apresentaram valores de inibição iguais ou acima de 70% para as cinco linhagens celulares tumorais selecionadas, com exceção da molécula SOL-AC2, que apresentou muita atividade na concentração de 25 μ M, com um percentual de inibição de $75.20 \pm 0.80\%$, para a linhagem celular de melanoma, SKMEL. Para esse composto, será realizado posteriormente o cálculo do IC₅₀.

No esquema 11 são apresentadas as estratégias de modificação molecular realizadas durante o planejamento e desenvolvimento dessa série de moléculas híbridas, associada aos resultados obtidos para linhagem celular SKMEL, a fim de estabelecer uma relação estrutura-atividade. As estratégias utilizadas compreenderam a simplificação molecular dos anéis aromáticos desde a acridina, composto-protótipo inicial, até a piridina, a partir da qual foi realizada a modificação por meio de expansão molecular pela inserção de benzílogos entre núcleos bioisósteros não-clássicos. De acordo com o que é visualizado, o processo de simplificação molecular a partir dos derivados acridínicos não demonstra viabilidade para essa linhagem celular, em particular, tendo em vista a diminuição da percentagem de inibição do crescimento das células cancerígenas.

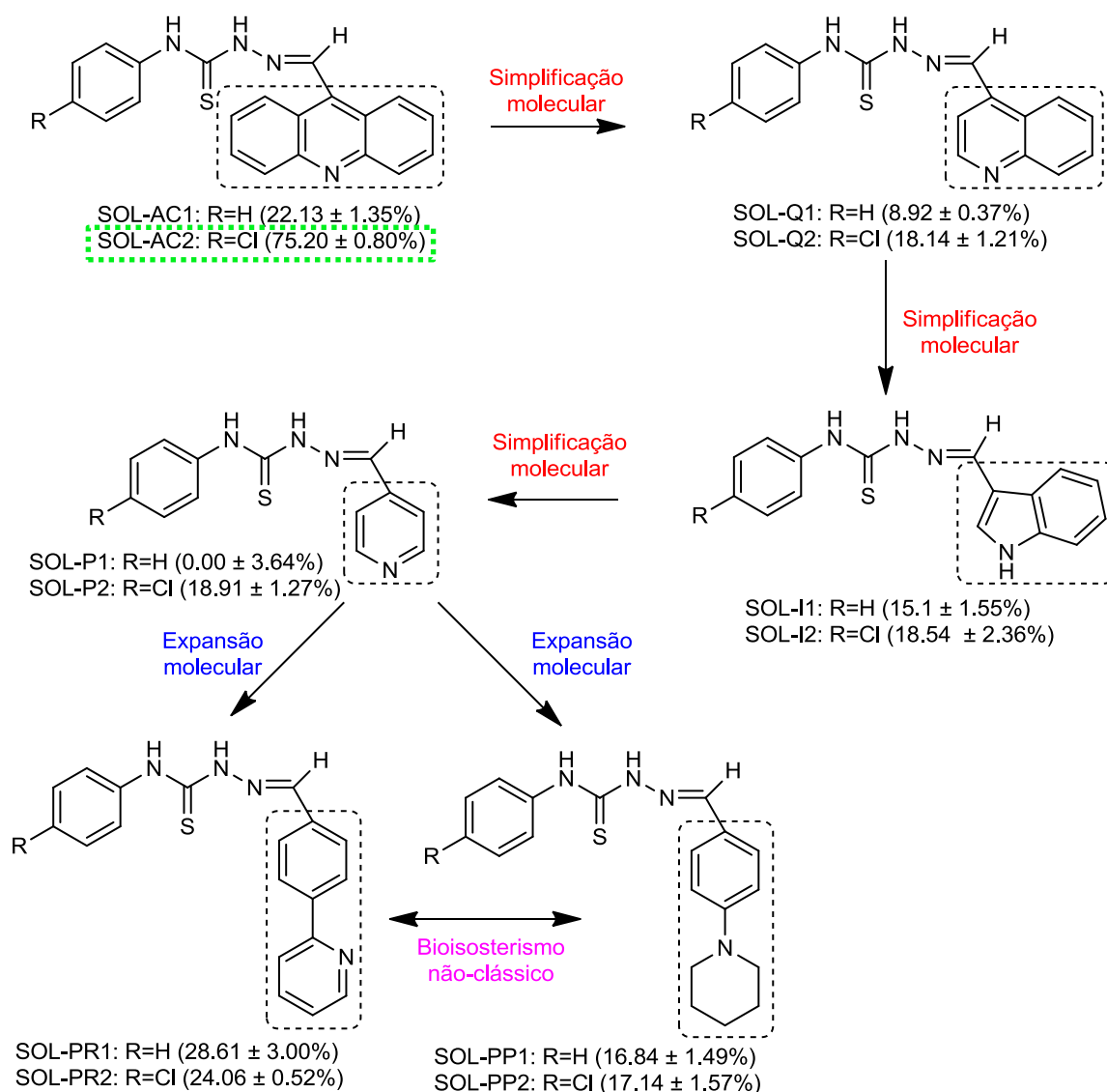
Adicionalmente, o processo de expansão molecular realizado partindo dos derivados piridínicos beneficiou a atividade farmacológica para linhagem em questão, em especial para os compostos contendo o grupamento fenil-piridina, cuja inserção de um benzílogo aumentou a porcentagem de inibição e sugere que o sistema aromático do anel piridínico é importante para atividade farmacológica.

Dessa forma, esses resultados, para essa linhagem tumoral, corroboram com os previamente descritos no estudo *in silico* de *docking* molecular (tópico 5.1), que ressalta a importância do extenso sistema aromático fundido, associado à presença do cloro na posição *para* do fenil tiossemicarbazônico para o mecanismo de ação proposto, tendo sido esse baseado no que havia sido publicado e discutido anteriormente por Almeida e colaboradores (2015) e Silva Filho e colaboradores (2019) para os compostos acridínico-tiossemicarbazônicos. Para esses, foi elucidado *in silico* e *in vitro* o provável mecanismo de ação inerente a esses derivados, pela intercalação de DNA e inibição de topoisomerase II α .

Do mesmo modo, os resultados que mostram os compostos SOL-PR1 e SOL-PR2 como derivados a causar maior inibição, após os compostos acridínicos, estão em concordância com os obtidos pelo *docking* molecular, que propõe essas moléculas como

potenciais compostos a interagirem com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA), em conjunto com a inibição de topoisomerase II α .

Esquema 11 – Estratégias de modificação molecular empregadas, associadas ao resultado de atividade antiproliferativa para linhagem SKMEL

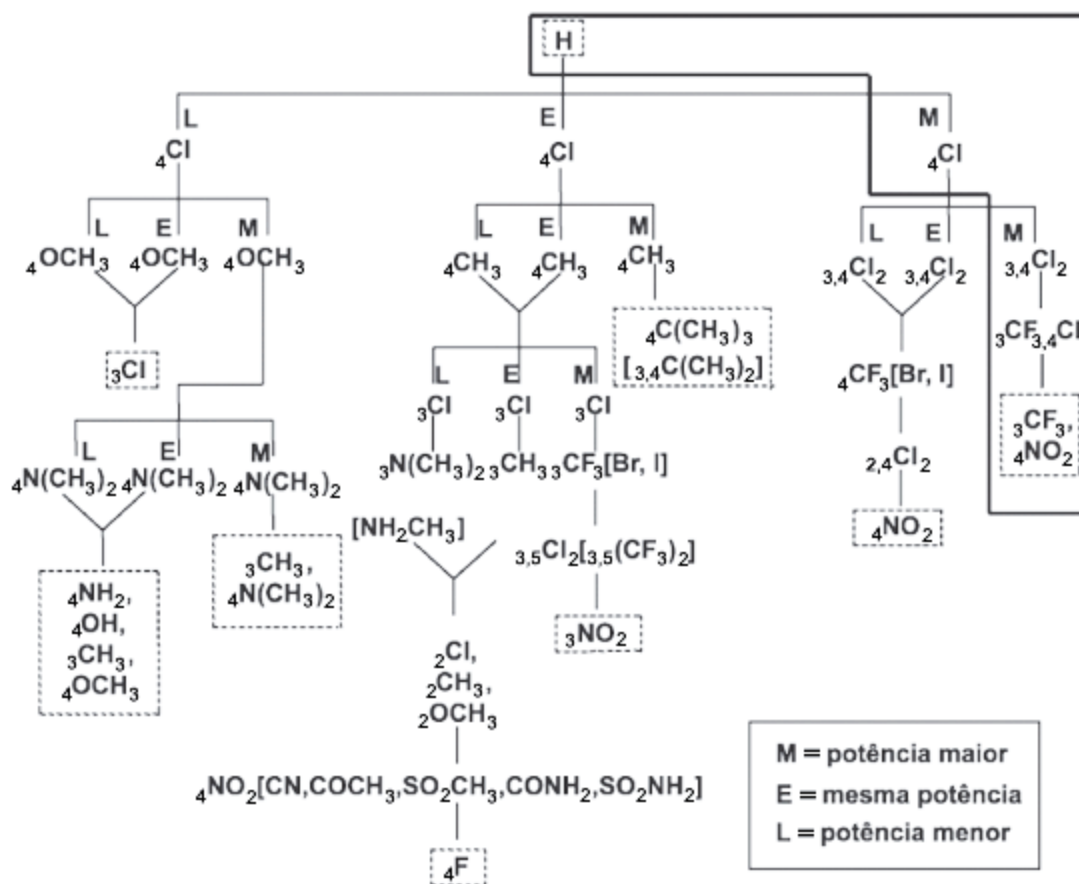


Fonte: Aatoria (2020).

Além disso, a substituição no anel fenil pertencente a porção tiossemicarbazônica aparenta influenciar sob a ação dos compostos avaliados, não apenas na linhagem SKMEL, como também em outras linhagens, como na HCT-116. A presença do cloro na estrutura causa um aumento na lipofilia, bem como um aumento da densidade eletrônica atribuído ao

efeito mesomérico positivo exercido por esse halogênio. Dessa forma, é possível iniciar a realizar uma correlação desses resultados com a árvore de topliss. Esse método foi desenvolvido para maximizar as chances de sucesso na síntese de compostos mais potentes, considerando-se a lipofilia e/ou efeito eletrônico do substituinte como elementos fundamentais para alteração da atividade biológica (TOPLISS, 1972; 1977). Dessa forma, utiliza-se do fluxograma, presente no esquema 12, para seguir um padrão de substituição para otimização de um composto bioativo. A partir dos resultados obtidos, que evidenciam que, majoritariamente, há um aumento da potencialidade do composto com a presença do cloro, seguem as etapas a serem seguidos para uma possível otimização desses compostos.

Esquema 12 – Árvore de Topliss



Fonte: Masunari e Tavares (2006).

Entretanto, é válido ressaltar que o composto SOL-AC2 apresentou atividade moderada frente à linhagem celular não tumoral de fibroblastos de camundongo L929 na

concentração de 50 μM , com percentual de inibição de $49.03 \pm 3.42\%$, e pouca atividade frente à linhagem celular não tumoral de queratinócitos humanos HaCaT na concentração de 25 μM , com inibição de $34.65 \pm 0.32\%$. Por meio dos resultados obtidos para HaCaT é possível a realização do cálculo do índice de seletividade (IS) da molécula para linhagem cancerígena SKMEL, que resultou em 2.17. Não é possível o cálculo do IS em relação a linhagem L929 devido a diferença de concentração testadas, entretanto o resultado indica uma possível baixa seletividade a células cancerígenas e, conseqüente, citotoxicidade a células normais. Os demais compostos apresentaram pouca ou nenhuma atividade nessas linhagens.

Adicionalmente, pode-se evidenciar a atividade moderada desempenhada pelas moléculas SOL-I2 e SOL-PR2 para linhagem celular de câncer de cólon (HCT-116), com percentuais de inibição de $47.86 \pm 4.16\%$ e $49.74 \pm 4.81\%$, respectivamente; pelos compostos SOL-PR1 e SOL-PR2 frente à linhagem celular de adenocarcinoma mamário (MCF-7), com valores de $57.95 \pm 2.23\%$ e $65.52 \pm 4.28\%$, respectivamente; e pela molécula SOL-I1 frente à linhagem celular de câncer cervical (HeLa), com inibição de $49.25 \pm 0.30\%$. Esse fato enfatiza a possível atividade desses compostos como antitumorais e a viabilidade da avaliação do mesmo frente a outras linhagens celulares tumorais.

Salientando o fato de que alguns desses compostos não são inéditos, os estudos realizados por Almeida e colaboradores (2015) e Ribeiro e colaboradores (2019) oferecem resultados adicionais em relação à atividade antiproliferativa dos compostos SOL-AC1, SOL-AC2, SOL-Q1 e SOL-Q2.

Inicialmente, os compostos acridínicos avaliados por Almeida e colaboradores (2015), referenciados no artigo como 3a (SOL-AC1) e 3f (SOL-AC2), foram avaliados frente nove linhagens celulares tumorais e uma linhagem não tumoral, nas quais três convergem com as testadas nesse trabalho: MCF-7, PC-3 e HaCaT. Os resultados podem ser visto conforme a tabela 18.

Tabela 18 - Atividade proliferativa de compostos acridínicos-tiossemicarbazônicos realizada por Almeida et al. (2015)

LINHAGENS CELULARES		3a (SOL-AC1) (μM)	3f (SOL-AC2) (μM)
U251	GI ₅₀	8.74	>100
	TGI	33.75	n.a.
MCF-7	GI ₅₀	6.85	27.19
	TGI	12.92	>100
NCI-ADR	GI ₅₀	6.35	73.15
	TGI	17.24	>100
786-O	GI ₅₀	7.99	>100
	TGI	41.66	n.a.
NCI-H460	GI ₅₀	6.97	28.36
	TGI	10.58	n.a.
PC-3	GI ₅₀	6.30	40.33
	TGI	18.88	n.a.
OVCAR-3	GI ₅₀	4.41	62.41
	TGI	21.13	>100
HT-29	GI ₅₀	7.54	>100
	TGI	29.28	n.a.
K-562	GI ₅₀	9.26	64.64
	TGI	>100	>100
HaCaT	GI ₅₀	4.17	>100
	TGI	51.42	n.a.

Fonte: Adaptado de Almeida et al. (2015). Legenda: U251 (glioma, SNC); MCF-7 (adenocarcinoma da mama); NCI-ADR / RES (ovário, fenótipo de resistência a múltiplas drogas); 786-O (rim); NCI-H460 (adenocarcinoma de células não pequenas do pulmão); PC-3 (próstata); OVCAR-3 (ovário); HT-29 (côlon); K-562 (leucemia mielóide crônica); HaCaT (queratinócitos humanos). n.a. = inativos na concentração mais alta testada (600 μM). GI₅₀ = concentração que inibe 50% da proliferação celular. TGI = inibição total de crescimento.

Do mesmo modo, o estudo realizado por Ribeiro e colaboradores (2019) visou a determinação da atividade antitumoral dos compostos quinolínicos sintetizados ao avaliá-los em duas linhagens distintas de câncer de mama: MCF-7 e T-47D. Os resultados, em conjunto com o obtido para citotoxicidade desses para macrófagos, segue na tabela 19.

Tabela 19 - Atividade proliferativa de compostos quinolínico-tiossemicarbazônicos realizada por Ribeiro et al. (2019)

LINHAGENS CELULARES	JF-96 (SOL-Q1) (μM)	JF-88 (SOL-Q2) (μM)
Macrófagos RAW 264.7	118.00	63.47
MCF-7	1.07 ± 0.2	1.07 ± 0.0
T-47D	1.38 ± 0.1	1.27 ± 0.2

Fonte: Adaptado de Ribeiro et al. (2019).

Conforme visualizado nas tabelas anteriores (17, 18 e 19), os resultados obtidos pelo estudo divergem dos resultados publicados nos artigos citados, em especial para linhagem celular MCF-7, encontrada em todos os estudos. Tendo sido realizada a caracterização estrutural desses compostos e comprovada a concordância entre os valores espectrais esperados e os obtidos, acredita-se que essas divergências decorram das desigualdades encontradas entre as metodologias empregadas, em especial em relação a concentração de células por mL em cada poço, que foi uma casa decimal maior no método realizado nesse trabalho. Além disso, por se tratarem de unidades de medida distintas, a comparação entre os resultados não é exato. Essas são expostas na tabela 20.

Tabela 20 - Comparação entre as metodologias utilizadas para avaliação da atividade antiproliferativa

METODOLOGIAS	Metodologia utilizada	Almeida et al. (2015)	Ribeiro et al. (2019)
Método colorimétrico	MTT	Sulforodamina B	MTT
Concentração de células mL^{-1}	3×10^5	Aprox. 10^4	1×10^4 (MCF-7) 2×10^4 (T-47D)
Tempo de incubação	72 h	48 h	48 h
Parâmetro avaliado	Porcentagem de inibição	GI_{50} , TGI	IC_{50}
Unidade adotada	%	μM	μM

Fonte: Aatoria (2020).

5.5 Avaliação da atividade leishmanicida dos compostos sintetizados

Após a avaliação do potencial antileishmania dos compostos sintetizados *in silico* por meio do *docking* molecular, os compostos foram avaliados *in vitro* frente a formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum*.

Primeiramente, é válido ressaltar que os protozoários pertencentes ao gênero *Leishmania* existem em duas formas durante seu ciclo de vida (amastigota e promastigota), e são capazes de se apresentar em três formas clínicas principais, como: leishmaniose cutânea, leishmaniose mucocutânea e leishmaniose visceral (também conhecida como calazar) (HUSSAIN et al., 2014).

As espécies *L. amazonensis* e *L. infantum* diferenciam-se quanto à manifestação clínica desenvolvida no hospedeiro mamífero. A primeira caracteriza-se por desenvolver leishmaniose do tipo cutânea, podendo essa ser localizada, disseminada, difusa ou, menos frequentemente, localizada nas mucosas (ANVERSA et al., 2018; DORVAL et al., 2006). Em contrapartida, a espécie *L. infantum* é responsável por causar a leishmaniose visceral, potencialmente fatal quando não tratada, e distingue-se por acometer desde as células do sistema imunológico até as vísceras do hospedeiro (GONTIJO; MELO, 2004).

Assim, considerando a relevância clínica e epidemiológica dessas espécies, ambas foram selecionadas para os estudos *in vitro*, de modo a determinar a concentração capaz de inibir 50% do crescimento dos protozoários frente aos compostos sintetizados, utilizando-se o fármaco de referência Anfotericina B como controle positivo. Os resultados obtidos por esse ensaio seguem na tabela 21.

Tabela 21 - Avaliação da atividade antipromastigota desenvolvida pelos derivados sintetizados

MOLÉCULA	<i>Leishmania amazonensis</i> IC ₅₀ em µg mL ⁻¹	<i>Leishmania infantum</i> IC ₅₀ em µg mL ⁻¹
SOL-AC1	>100	>100
SOL-AC2	>100	>100
SOL-Q1	>100	>100
SOL-Q2	>100	>100
SOL-I1	12,16 (±0,93)	14,64 (±1,52)
SOL-I2	>100	14,76 (±3,57)
SOL-P1	>100	>100
SOL-P2	>100	>100
SOL-PR1	>100	>100
SOL-PR2	>100	>100
SOL-PP1	>100	>100
SOL-PP2	>100	>100
Anfotericina B	0,88 (±0,04)	0,90 (±0,11)

Fonte: Aatoria (2020). Legenda: A tabela representa à média ± erro padrão da média de no mínimo três experimentos independentes realizados em triplicata. Utilizou-se regressão não-linear com intervalo de confiança de 95%.

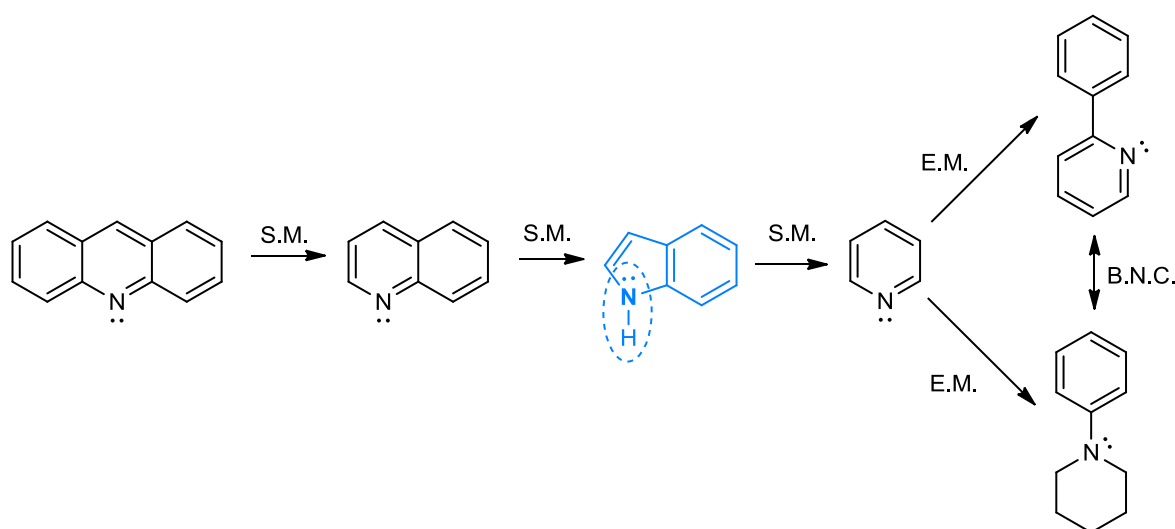
Os resultados obtidos demonstram uma maior potencialidade dos compostos indólicos (SOL-I1 e SOL-I2) frente às cepas de *Leishmania*. Os demais compostos apresentaram IC₅₀ acima de 100 µg mL⁻¹, não havendo sido calculado o valor exato.

Realizando-se um enfoque no núcleo indólico e na sua influência positiva sob a atividade antipromastigota dos compostos SOL-I1 e SOL-I2, pode-se evidenciar propriedades físico-químicas e estruturais inerentes a esse núcleo que possam torná-lo mais interessante para essa atividade biológica. Diferentemente do que foi observado na avaliação da atividade antitumoral desses compostos, a maior extensão do sistema aromático fundido e, consequentemente, o maior efeito estérico, não se apresentam como fatores determinantes para ação antileishmania dos compostos em questão. Como se pode observar na tabela 21, os compostos acridínicos não apresentaram atividade capaz de inibir 50% do crescimento das

cepas até a concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, bem como os compostos quinolínicos. Por sua vez, o anel indólico, intermediário frente aos processos de simplificação molecular e expansão molecular utilizados no planejamento desse trabalho (figura 54), foi majoritariamente ativo.

Ao realizar o comparativo entre os anéis heterocíclicos presentes nas estruturas sintetizadas, é ainda possível observar que o anel indólico é o único que possui em sua estrutura um grupamento aceptor e doador de ligação de hidrogênio (-NH-), enquanto que os demais átomos de nitrogênio presentes nos outros heterociclos possuem apenas um par de elétrons livres disponíveis para doação ao interagir com o sítio ativo. Desse modo, pode-se sugerir que a característica de doação de ligação de hidrogênio na porção heterocíclica dos derivados híbridos sintetizados é desejável para a ação leishmanicida.

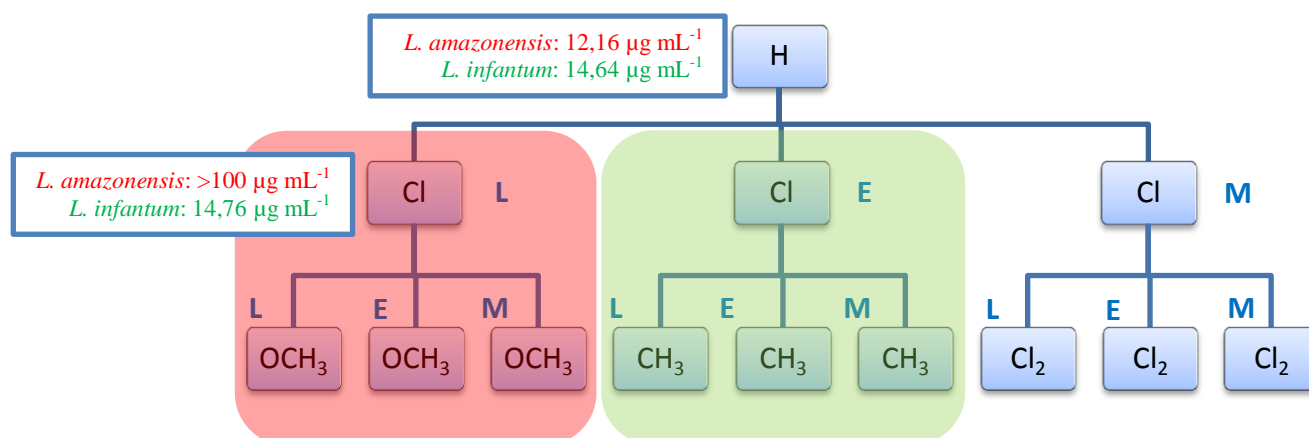
Figura 54 - Estratégias de modificação molecular empregadas nos anéis heterocíclicos



Fonte: Aatoria (2020). Legenda: S.M. = Simplificação molecular; E.M. = Expansão molecular; B.N.C.= Bioisosterismo não-clássico.

É possível observar não somente a importância do anel indólico para a atividade farmacológica, mas também a diferente influência do substituinte cloro para cada uma das espécies de *Leishmania*. Assim, baseando-se nos dados obtidos e na árvore de Topliss, anteriormente exposta por completo (Esquema 12), pode-se observar com maior clareza o impacto do efeito do substituinte e como o mesmo fornece diferentes direcionamentos para uma possível futura modificação molecular para otimização das estruturas de acordo com a espécie de *Leishmania* em questão (Esquema 13).

Esquema 13 – Amostra da árvore de decisão de Topliss com base nos dados da atividade antileishmania



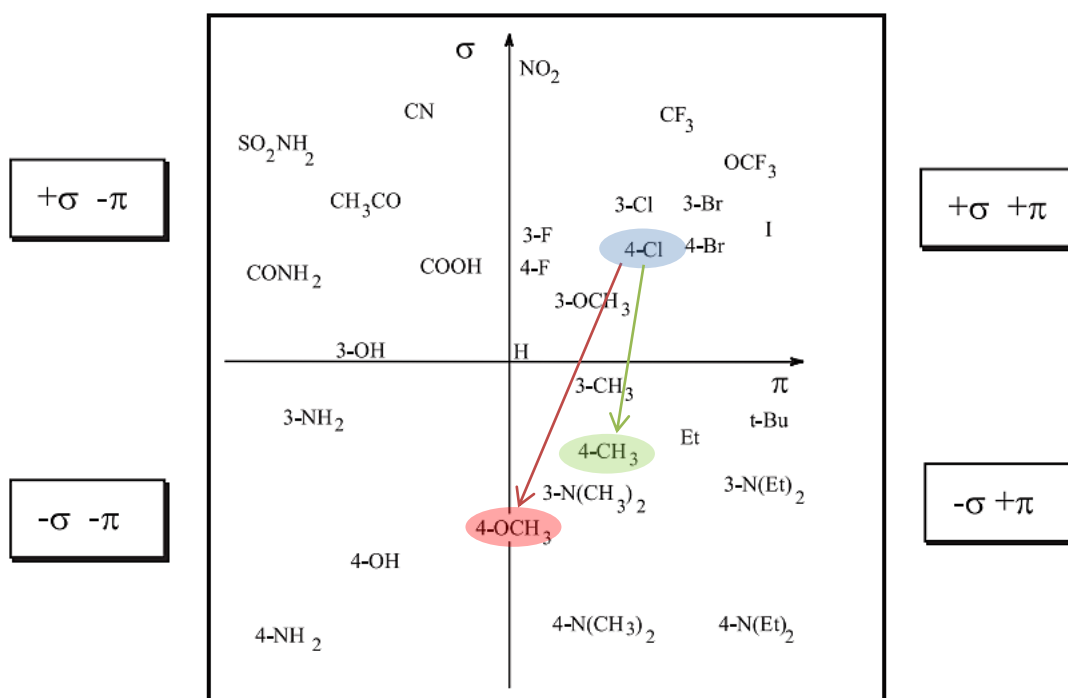
Fonte: Aatoria (2020). Legenda: L = menor potência; E = potência similar; M = maior potência.

Primeiramente, evidenciando os resultados obtidos na cepa de *L. amazonensis*, observa-se que o composto não substituído (SOL-I1), apresentou um IC₅₀ de 12,16 µg mL⁻¹, enquanto que o composto clorado (SOL-I2) não apresentou atividade até a concentração de 100 µg mL⁻¹. Dessa forma, pode-se inferir que a substituição levou a uma perda da atividade antipromastigota e, de acordo com a árvore de decisão de Topliss, a qual sugere vias para obtenção de análogos provavelmente mais potentes, a próxima etapa seria a síntese do análogo com substituição 4-metóxi. A substituição do cloro pelo grupamento metóxi trará modificações como: alteração do LogP, tendo em vista que o -OCH₃ apresenta uma constante lipofílica inferior ao -Cl; alteração nos parâmetros eletrônicos, pois o -OCH₃ apresenta efeito eletrônico negativo, diferentemente do -Cl; adicionalmente, fornece a molécula um novo centro para formação de pontes de hidrogênio (THOMAS, 2000).

Os dados obtidos pela avaliação da atividade leishmanicida em *L. infantum* mostram a potencialidade semelhante de ambos derivados indólicos (SOL-I1 e SOL-I2), portanto, de acordo com a árvore de decisão de Topliss, a próxima etapa seria a substituição do substituinte clorado por uma metila. Essa substituição mantém os parâmetros lipofílicos, porém modifica os efeitos eletrônicos inerentes a cada átomo no intuito de obter uma resposta biológica superior.

As alterações nos substituintes aromáticos e seus efeitos sob os parâmetros físico-químicos da molécula podem ser visto com maior clareza a partir do diagrama de Craig (Gráfico 1). Esse é extensamente utilizado em estudos de QSAR e está fundamentado na análise de intercorrelação de parâmetros físico-químicos como a constante de hidrofobicidade (π) e efeito eletrônico (σ) em *para*-substituição aromática (TAVARES, 2004).

Gráfico 1 – Diagrama de Craig



Fonte: Adaptado de Tavares (2004).

Entretanto, os resultados obtidos pelo estudo *in vitro* não são compatíveis com os estudos *in silico* na topoisomerase I de *L. donovani*, o qual sugere que os compostos acridínicos apresentam maior afinidade com o alvo cristalizado em questão, embora nesses estudos o composto SOL-I1 tenha apresentado melhor afinidade ao alvo ($\Delta G = -9,09 \text{ kcal mol}^{-1}$) que o composto SOL-I2 ($\Delta G = -8,75 \text{ kcal mol}^{-1}$), fato que está em concordância para o estudo *in vitro* na cepa de *L. amazonensis*.

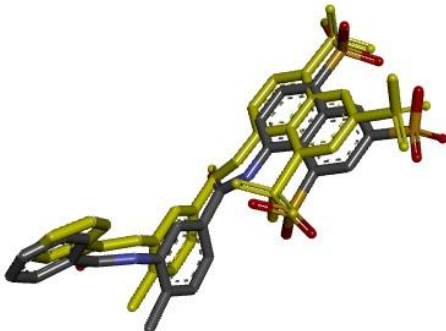
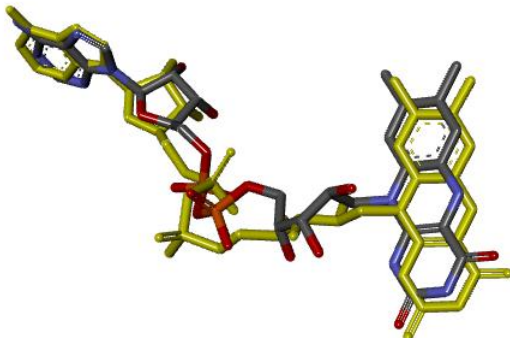
Assim, no propósito de sugerir mecanismos de ação que possam justificar a ação antipromastigota dos compostos híbridos indólicos, realizou-se um estudo complementar de *docking molecular* envolvendo alvos biológicos de *Leishmania* responsáveis por diferentes processos essenciais para sobrevivência do parasita e progressão da parasitose.

5.5.1 Proposta de mecanismo de ação antileishmania desenvolvido pelos compostos mais promissores

A fim de compreender a ação leishmanicida dos compostos indólicos *in silico*, os alvos piruvato quinase de *L. mexicana* (PDB ID: 3PP7) e tripanotona redutase (TryR) de *L. infantum* (PDB ID: 2JK6) foram selecionados. É válido ressaltar que para uma doença negligenciada, tal como a leishmaniose, existem apenas algumas estruturas representativas de enzimas na base de dados Protein Data Bank (SERAFIM et al., 2018).

Similarmente ao procedimento realizado com a enzima topoisomerase II α complexada com DNA (Tópico 5.1.1), realizou-se o procedimento do *redocking* como modo de validar o método desenvolvido. Assim, conforme a tabela 22, utilizaram-se os ligantes co-cristalizados, flavina-adenina dinucleótido (FAD) da enzima tripanotona redutase e suramina (SVR) da piruvato quinase, realizando-se a comparação espacial entre esses e os ligantes redocados do respectivo alvo.

Tabela 22 - *Redocking* para validação dos métodos em alvos de *Leishmania*

LIGANTE (PDB do alvo)	<i>Redocking</i>	RMSD de referência
SURAMINA (PDB ID: 3PP7)		0,93 Å
FLAVINA-ADENINA DINUCLEÓTIDO (PDB ID: 2JK6)		1,10 Å

Fonte: Aatoria (2020). Legenda: ligante co-cristalizado em amarelo e ligante redocado em cinza.

Assim como comentado anteriormente (Tópico 5.1.1), a rotação livre característica de carbonos com hibridação sp^3 permitem uma maior diferenciação entre os ligantes em questão, devido ao grau de liberdade inerente às mesmas. Entretanto, apesar das discrepâncias, os valores de RMSD de referência obtidos para esses procedimentos de redocagem apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos ($\leq 2,0 \text{ \AA}$), conseqüentemente validando o método.

Havendo validado os métodos de tratamento das estruturas cristalizadas selecionados, a docagem molecular foi realizada para avaliar a interação dos compostos indólicos com os mesmos, utilizando como controle os ligantes co-cristalizados dos respectivos alvos. Os resultados seguem na tabela 23.

Tabela 23 - Resultados do *docking* molecular entre os compostos indólicos, ligantes co-cristalizados e os alvos selecionados de *Leishmania*

ALVO	MOLÉCULA	Energia Livre de Ligação (kcal mol ⁻¹)	Constante de Inibição Estimada (Ki) (nM)
Piruvato Quinase de <i>L. mexicana</i>	SOL-I1	-6.53	16300.0
	SOL-I2	-5.90	47280.0
	SVR	-9.60	91.39
Tripanotona Redutase de <i>L. infantum</i>	SOL-I1	-8.62	476.71
	SOL-I2	-8.99	257.55
	FAD	-13.73	0.08589

Fonte: Aatoria (2020).

5.5.1.1 Docking molecular da interação dos derivados indólicos com Piruvato Quinase

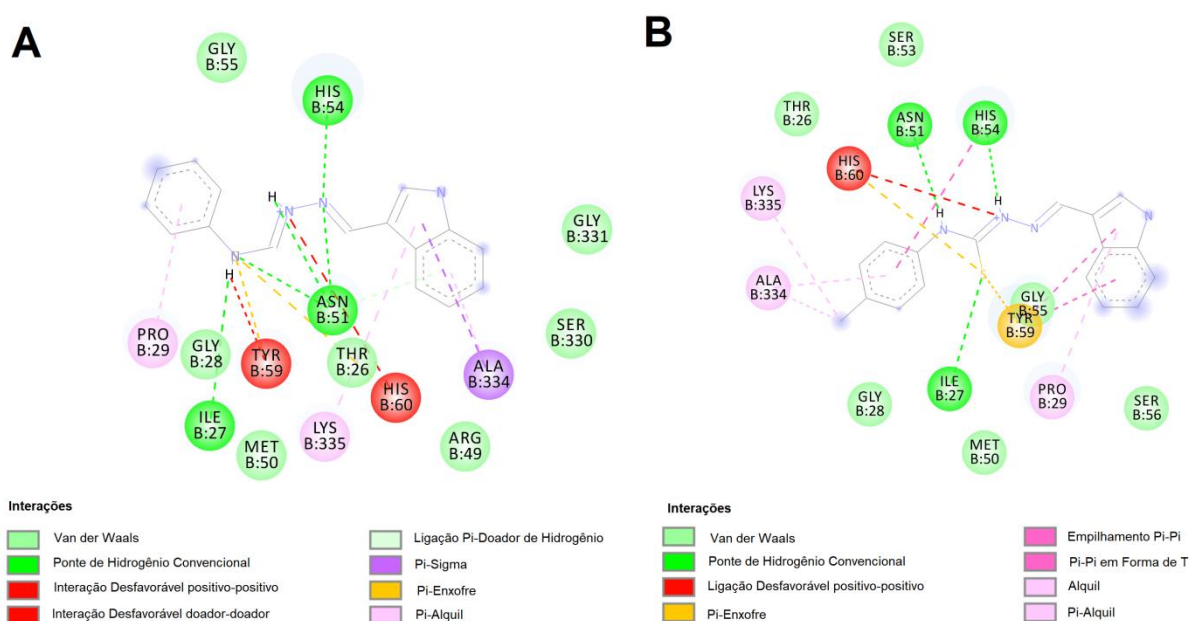
A glicólise ocupa um papel central no metabolismo celular, sendo importante na produção catabólica de ATP em protozoários, tal como a *Leishmania*. Uma das enzimas bem caracterizadas na cascata é a piruvato quinase, que têm sido extensivamente estudada como um candidato a alvo farmacológico. Assim, as piruvato quinases são enzimas homotetraméricas que desempenham um papel importante no metabolismo de carboidratos e aminoácidos, catalisando a reação final da glicólise na qual o fosfoenolpiruvato e ADP são convertidos em piruvato e ATP (FOTHERGILL-GILMORE et al., 2000; MORGAN et al.,

2010). Desse modo, a inibição dessa cascata metabólica causa uma depleção de ATP ao parasita, prejudicando o desenvolvimento dos parasitas e progressão da doença.

Assim, as moléculas SOL-I1 e SOL-I2 apresentaram ΔG de -6,53 e -5,90 kcal mol⁻¹, respectivamente, sendo valores superiores ao obtido pela suramina, de -9,60 kcal mol⁻¹. Ressaltando que a estrutura cristalizada desse alvo é pertencente a *L. mexicana* e que essa apresenta diversas similaridades genóticas com a *L. amazonensis* (SERAFIM et al., 2018), pode-se fazer um comparativo entre os resultados *in silico* e *in vitro*. Em ambos os casos, o composto SOL-I1 apresentou melhor interação/atividade, enquanto que a molécula 4-Cl substituída apresentou menor interação ou perda da atividade. Por conseguinte, o alvo proposto pode estar associado à ação leishmanicida dos compostos indólicos.

A estabilização do complexo fármaco-receptor foi obtida por meio de interações intermoleculares do tipo convencional de hidrogênio entre os nitrogênios secundários e os resíduos de aminoácidos His 54 e Asn 51; interações do tipo pi-aquil entre os carbonos aromáticos e o resíduo Pro 29, entre outros. As imagens bidimensionais podem ser observadas na figura 55. Embora o composto SOL-I1 apresente um número maior de interações desfavoráveis (positivo-positivo e doador-doador), o mesmo apresenta também um maior número de interações do tipo convencional de hidrogênio e de van de Waals, que favorecem o estabelecimento do complexo e, conseqüentemente, uma menor energia de interação.

Figura 55 - *Docking* das moléculas SOL-I1 (A) e SOL-I2 (B) no alvo Piruvato Quinase



Fonte: Aurtoria (2020).

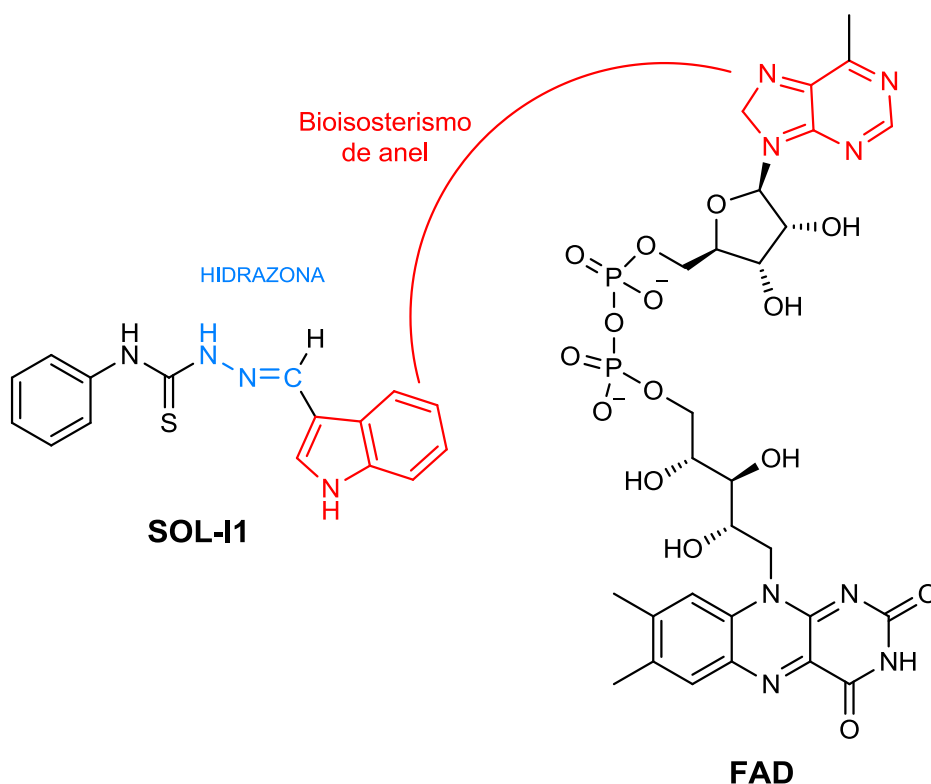
Levando-se em consideração os valores obtidos pela suramina referentes a sua interação com o alvo cristalizado, esse fármaco realiza ligações intermoleculares com aminoácidos em comum aos dois compostos indólicos (His54, Lys335, Thr26, Asn51, Ala334, Tyr59 e Pro29). Entretanto, observam-se interações com o aminoácido Thr26 realizadas pela suramina e composto SOL-I1, ausentes na molécula SOL-I2 que, por sua vez, apresentou menor estabilidade ao atuar no alvo. Adicionalmente, esse composto, unicamente, liga-se ao resíduo de aminoácido Arg49 por interação do tipo pi-ânion, podendo-se sugerir a importância desse para inibição do alvo (Anexo 53).

5.5.1.2 Docking molecular da interação dos derivados indólicos com *Tripanotiona Redutase*

A tripanotiona redutase é um importante alvo de drogas em tripanossomatídeos, como a *Leishmania*, pois é essencial para sobrevivência do parasita, estando envolvido no balanço de óxido-redução. Esta enzima é dependente de NADPH e catalisa um metabolismo de tiol baseado na tripanotiona, que tem parte no equilíbrio redox regulado e também no desencadeamento de vários eventos responsáveis pela neutralização de espécies reativas ao oxigênio. Desse modo, a TryR exerce um papel na proteção dos parasita contra espécies reativas de oxigênio e nitrogênio produzidas pelo hospedeiro (LIMA et al., 2015; ROMÃO, 2007).

O ligante em questão trata-se de um co-fator enzimático capaz de sofrer essa ação redox. Ao avaliá-lo, pode-se ressaltar a relação bioisostérica de anéis entre a porção purínica e o anel indólico. Essa relação bioisostérica fornece uma base para o planejamento e desenho de fármacos que possam ser mais potentes e seletivos para o alvo em questão, sugerindo uma possível potencialidade dos compostos indólicos. Adicionalmente, de acordo com Romero (2017), moléculas como hidrazonas foram desenhadas e utilizadas como potenciais inibidores de TryR de *Leishmania*. Através dessa afirmação, pode-se evidenciar a presença da subunidade hidrazona, comum a todos os compostos sintetizados, como demonstrado na figura 56.

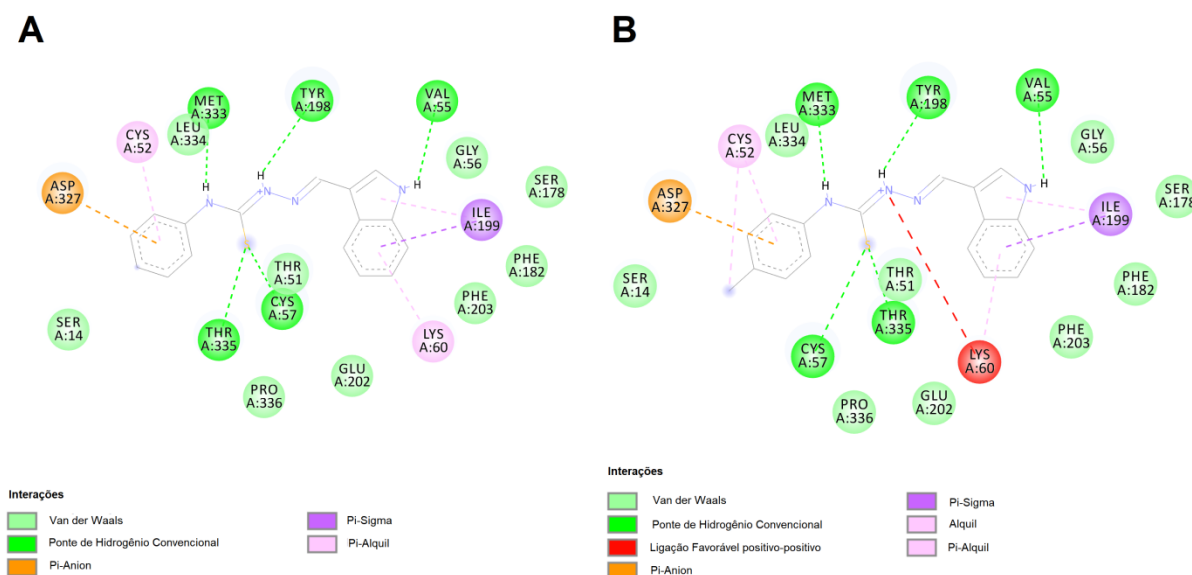
Figura 56 - Relação bioisostérica entre os anéis indólico e purínico



Fonte: Aatoria (2020).

Os compostos SOL-I1 e SOL-I2 apresentaram valores de energia de interação semelhantes com o alvo (-8,62 e -8,99 kcal mol⁻¹, respectivamente). Tais resultados podem decorrer da semelhança na posição espacial dos compostos no alvo cristalizado, demonstrado na figura 57. Desse modo, interações em comum são realizadas no sítio ativo, como: interação do tipo pi-anion entre os carbonos aromáticos com o resíduo de aminoácido Asp 327; interações convencionais de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Met 333, Tyr 198, Thr 335, Cys 57 e Val 55; interações do tipo pi-sigma e pi-alkil com o aminoácido Ile 199; interação do tipo pi-alkil entre os carbonos aromáticos e o resíduo Cys 52. Essas, entretanto, diferenciam-se pela interação do tipo desfavorável positiva-positiva realizada entre o nitrogênio secundário hidrazinico da molécula SOL-I2 e a Lys 60, entre outros. As imagens bidimensionais da interação entre esses compostos e a estrutura cristalizada da tripanotona redutase seguem na figura 57.

Figura 57 - Docking das moléculas SOL-I1 (A) e SOL-I2 (B) no alvo Tripanotonia Redutase



Fonte: Autoria (2020).

Contudo, nenhum dos compostos apresentou interação comparável ao ligante co-cristalizado Flavina-adenina dinucleotídeo, o qual apresentou uma energia de interação de $-13,73 \text{ kcal mol}^{-1}$. Por tratar-se de um co-fator enzimático com estrutura molecular extensa e flexível, esse desenvolveu interações com diversos resíduos de aminoácidos do sítio catalítico, majoritariamente do tipo convencionais de hidrogênio e de van der Waals, tornando o complexo estável (Anexo 56).

Todavia, é válido ressaltar novamente que ambos compostos apresentaram interações e energias de interações semelhantes em um alvo biológico de *L. infantum*, similarmente aos resultados de atividade antipromastigota *in vitro*. Desse modo, o alvo em questão apresenta-se como uma possibilidade viável para o esclarecimento do(s) mecanismo(s) de ação envolvido na ação antileishmania desses compostos.

5.6 Avaliação do potencial hemolítico dos compostos sintetizados

A exposição do organismo a fármacos que apresentem um potencial citotóxico a hemácias pode originar complicações causadas pelo processo hemolítico. Esse pode se dar por oxidação da hemoglobina, com defeitos intrínsecos dos eritrócitos em pacientes com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), ou naqueles com doença de hemoglobina instável, onde ocorre lesão das hemácias diretamente pela droga; ou por hemólise imune, que ocorre pelos quatro mecanismos propostos: formação de

imunocomplexo, adsorção do fármaco, adsorção de proteína não imunológica e anemia hemolítica autoimune (GONÇALVES, 2018; OLIVEIRA, 2018).

Desse modo, o ensaio do potencial hemolítico permite avaliar *in vitro*, por meio de espectrofotometria, a toxicidade dos compostos em questão por meio da quantificação de hemoglobinas liberadas durante o processo hemolítico, através da absorbância resultante. Esse foi realizado para todos os compostos sintetizados, na concentração de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, em triplicata.

Os resultados são expostos na tabela 24, evidenciando que todos os compostos apresentaram-se viáveis frente à hemácias na concentração testada, não apresentando toxicidade considerável (>30%).

Tabela 24 - Atividade hemolítica dos compostos sintetizados na concentração $250 \mu\text{g mL}^{-1}$

MOLÉCULA	Porcentagem de hemólise
SOL-AC1	3,45%
SOL-AC2	1,20%
SOL-Q1	0,32%
SOL-Q2	2,69%
SOL-I1	2,89%
SOL-I2	9,60%
SOL-P1	0,22%
SOL-P2	1,55%
SOL-PR1	1,72%
SOL-PR2	1,56%
SOL-PP1	14,66%
SOL-PP2	10,33%

Fonte: Aatoria (2020).

O composto SOL-AC2, apresentado nos estudos de atividade antitumoral *in vitro* como a molécula mais ativa para linhagem celular SKMEL, apresentou pouca toxicidade às células sanguíneas na concentração avaliada de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, com o valor de 1,20%. Similarmente, o composto SOL-I1, composto mais promissor para atividade antileishmania, demonstrou baixa toxicidade na concentração testada, igual a 2,89%.

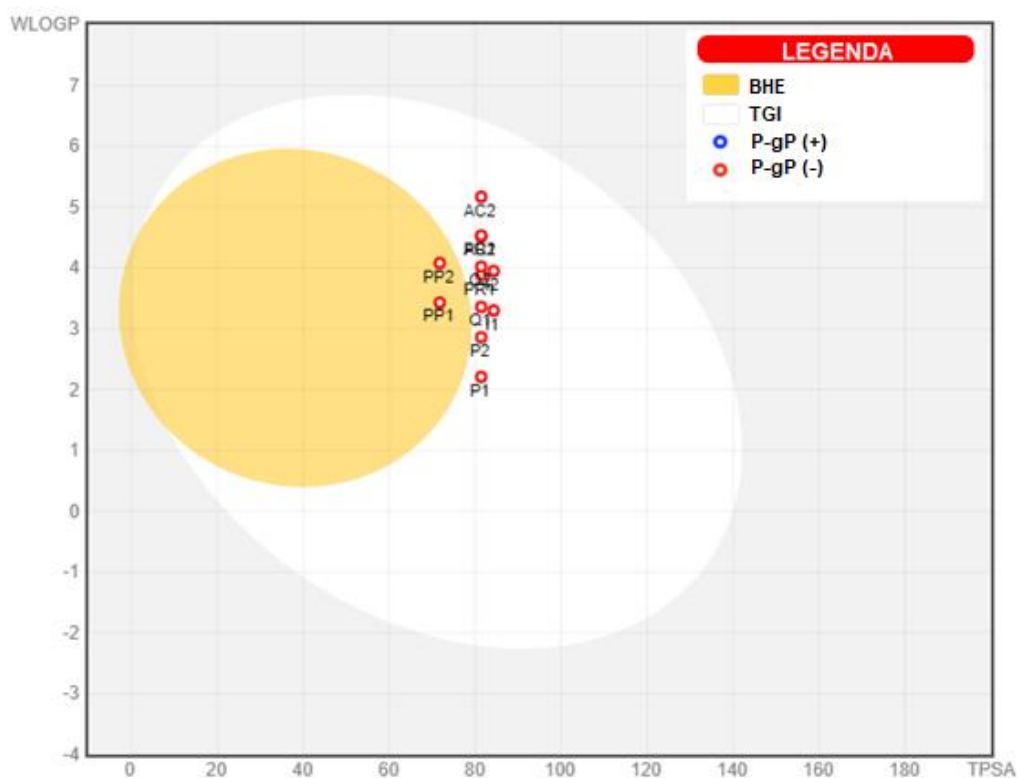
Os derivados sintetizados que apresentaram valores de toxicidade às hemácias mais significativos foram os fenil-piperidínicos, SOL-PP1 e SOL-PP2, com valores de 14,66% e 10,33%, respectivamente. Nos estudos de atividade antiproliferativa, esses compostos apresentaram pouca ou nenhuma toxicidade às linhagens cancerígenas, não havendo sido avaliados para as linhagens de células normais L929 e HaCaT.

De acordo com a estrutura dos compostos SOL-PP1 e SOL-PP2, nota-se que esse apresenta em sua estrutura um nitrogênio terciário pertencente ao anel piperidínico, diferentemente dos demais nitrogênios contidos nos demais sistemas de anel. Essa característica fortalece seu caráter básico em relação aos demais e, a depender do pH do meio, esse pode ser protonado com maior facilidade. A protonação da molécula pode favorecer sua ação como um detergente, semelhante ao controle positivo utilizado, favorecendo assim a hemólise causada (SHALEL; STREICHMAN; MARMUR, 2002).

5.7 Predições farmacocinéticas

As predições farmacocinéticas *in silico* foram realizadas para todas as moléculas finais planejadas e desenvolvidas, como estratégia preliminar de associar as propriedades estruturais e físico-químicas dessas às suas possíveis performances de ordem cinética, ou seja, absorção, distribuição, metabolização e eliminação.

Nesse sentido, o primeiro parâmetro que pode ser avaliado trata-se do método de permeação do cérebro ou do intestino, chamado de *Boiled-Egg*, que propõe um modelo preditivo baseado em dois descritores físico-químicos, polaridade (área de superfície polar topológica, TPSA) e lipofilia (coeficiente de partição n-octanol/água de Wildman e Crippen, WlogP), que são diretamente traduzidos em um *design* molecular, devido à velocidade, precisão e simplicidade conceitual do modelo (DAINA; ZOETE, 2016). A informação fornecida por esse avalia o padrão de absorção dos compostos desenvolvidos de acordo com os parâmetros citados, de modo a auxiliar nas possíveis vias de administração e, até mesmo, alvos moleculares planejados para o fármaco. Na figura 58 é ilustrado o modelo obtido para os compostos analisados, que se apresentam com o nome abreviado para melhor visualização do perfil dos mesmos.

Figura 58 - Modelo *Boiled-Egg* dos compostos sintetizados

Fonte: adaptado de *SwissADME* (2020). Legenda: BHE = barreira hematoencefálica; TGI = trato gastrointestinal; P-gP (+) = substrato da glicoproteína P; P-gP (-) = não substrato da glicoproteína P.

Conforme observado na figura 58, todos os compostos apresentam uma alta probabilidade de serem absorvidos pelo trato gastrointestinal (TGI), representado no gráfico como a área branca. Tal característica favorece uma possível administração por via oral, que é comumente preferível por pacientes em contraste com a via parenteral.

Excepcionalmente, os compostos SOL-PP1 e SOL-PP2, além de apresentarem-se capazes de serem absorvidos pelo TGI, também apresentam a possibilidade de permearem a barreira hematoencefálica (BHE), representado no gráfico como a área amarela. Essa, por sua vez, age como uma barreira física e impõe vários obstáculos que ocasionam na obstrução da passagem de vários fármacos, incluindo agentes antineoplásicos e antibióticos (UPADHYAY, 2014). Dessa forma, essa propriedade inerente a essas moléculas pode auxiliar no tratamento de doenças onde a permeação da BHE seja necessária, como em tumores intracranianos, caso esses compostos sejam ativos.

Além dessas informações, o *Boiled-Egg* fornece noções quanto à possibilidade desses compostos serem substrato da glicoproteína P (P-gp). Essa se trata de uma proteína

transmembrana permeável P que funciona especificamente como um carreador mediado pelo transportador de efluxo ativo primário, de forma que diversos agentes terapêuticos vitais tornam-se substratos para P-gp e, conseqüentemente, têm suas biodisponibilidades reduzidas ou há o desenvolvimento de resistência induzida devido ao efluxo de proteínas (SRIVALLI; LAKSHMI, 2012).

Esse mecanismo de efluxo tem sido um dos principais limitantes no tratamento anticâncer, a partir da superexpressão de bombas de efluxo ATP-dependentes em alguns tumores, sendo responsável pela remoção dos fármacos do meio intracelular para o meio extracelular, tais como taxanos, inibidores de topoisomerase e antimetabólitos. Esse fenômeno causa uma diminuição na concentração do fármaco na célula cancerígena e conseqüente falha no tratamento, estando associado principalmente aos cânceres de rins, cólon, fígado, leucemias, linfomas e, mais recentemente, câncer de próstata, pulmão e mama (BAGULEY, 2010; HOLOHAN et al. 2013; MISRA et al., 2014; NOOTER et al., 1997; SERES et al., 2011; TRILLER et al., 2006; ZALCBURG et al., 2000). A partir desses dados, fornecidos pela ferramenta SwissADME, em conjunto com informações obtidas pela ferramenta pkCSM sobre possível inibição da proteína, construiu-se a tabela 25 contendo as informações pertinentes a ação dos compostos sob essa glicoproteína.

Tabela 25 - Relação das moléculas analisadas com a glicoproteína P

MOLÉCULA	Substrato P-gP	Inibidor P-gP I	Inibidor P-gP II
SOL-AC1	Não	Sim	Sim
SOL-AC2	Não	Sim	Sim
SOL-Q1	Não	Não	Sim
SOL-Q2	Não	Sim	Sim
SOL-I1	Não	Não	Sim
SOL-I2	Não	Não	Sim
SOL-P1	Não	Não	Não
SOL-P2	Não	Não	Não
SOL-PR1	Não	Sim	Sim
SOL-PR2	Não	Sim	Sim
SOL-PP1	Não	Sim	Não
SOL-PP2	Não	Sim	Sim

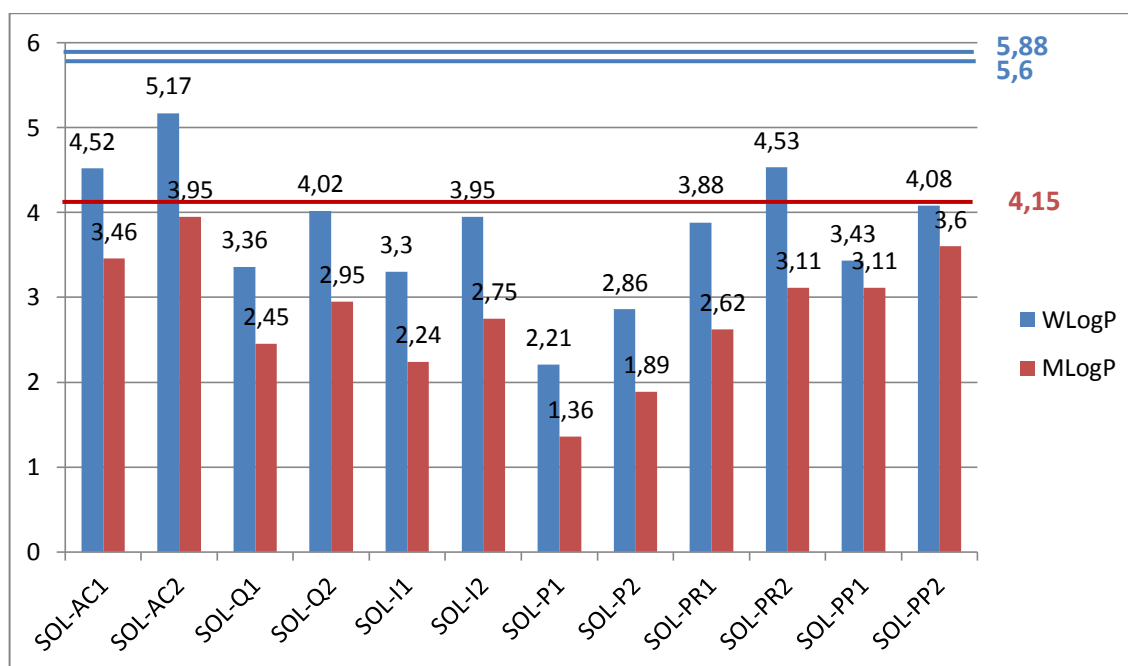
Fonte: Autoria (2020).

Como pode ser observado na figura 58 e na tabela 25, os compostos não se apresentam como possíveis substratos da glicoproteína P. De acordo com Srivalli e Lakshmi (2012), os substratos da P-gp variam em relação a tamanho, estrutura e propriedades químicas, uma vez que o critério principal que submete um substrato ao efluxo pela P-gp é a sua interação com a bicamada lipídica, uma ampla gama de fármacos catiônicos, lipofílicos e planares se tornam os substratos proteicos, apesar de sua dissimilaridade estrutural.

Adicionalmente, determinados compostos apresentam-se como potenciais inibidores das isoformas I e II da P-gp. Essas isoformas estão relacionadas ao efluxo de fármacos e exportação de fosfatidilcolina para bÍlis, respectivamente. Da mesma forma que os substratos, os inibidores de P-gp apresentam uma ampla gama de diversidade estrutural, e apresentam-se de extrema importância no tratamento do câncer (AMIN, 2013).

O parâmetro Log P é avaliado por múltiplos preditores (iLogP, xLogP3, WLogP, MLogP, Silicos-IT), obtendo-se posteriormente um valor de Log P consensual com base nesses parâmetros. Entretanto, pode-se realizar um ressaltado aos parâmetros: WLogP, utilizado para determina o de *druglikeness* por Ghose e Egan, foi apresentado por Wildman e Crippen (1999) no artigo “*Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions*”, onde aplicado em uma extensa cole o de 9920 moléculas, com $r^2 = 0,918$ e $\sigma = 0,677$ (dado estatístico), apresentou um método que acrescentou 68 parâmetros ajustáveis ao cáculo de log P; MLogP, utilizada na determina o de *druglikeness* por Lipinski, foi apresentada por Moriguchi (1994) no artigo “*Comparison of Reliability of Log P Values for Drugs Calculated by Several Methods*” e considera 7 parâmetros, como átomos lipofílicos, átomos hidrofílicos, liga es insaturadas, hidrogênios livres, rigidez da estrutura, entre outras. Dessa forma, o gráfico 2 traz os resultados de log P obtidos para as moléculas analisadas, de modo que   possível observar que o maior valor de WLogP foi de 5,17 (SOL-AC2) e o menor foi 2,21 (SOL-P1), não havendo extrapola o do máximo estabelecido pelo *druglikeness* de Ghose, Viswanadhan e Wendoloski (1999) ($-0,4 \leq WLogP \leq 5,6$) e Egan, Merz e Baldwin (2000) ($WLogP \leq 5,88$), enquanto que o maior valor obtido de MLogP foi 3,95 (SOL-AC2) e o menor foi 1,36 (SOL-P1), também não extrapolando o valor estabelecido por Lipinski e colaboradores (2001) ($MLogP \leq 4,15$ ou $CLogP \leq 5$).

Gráfico 2 – Valores de Log P dos compostos analisados



Fonte: Autoria (2020).

Desse modo, os resultados de Log P, aliados a valores de outros parâmetros particulares de cada método, tais como peso molecular, número de átomos, número de aceptores e doadores de ligação de hidrogênio, área de superfície polar topológica e refratividade molar, concluíram que todos os compostos foram condizentes com critérios de *druglikeness* estabelecidos por Lipinski, Ghose e Egan. Esses, previamente citados no tópico 3.1.3.2, seguem na tabela 26 para melhor visualização.

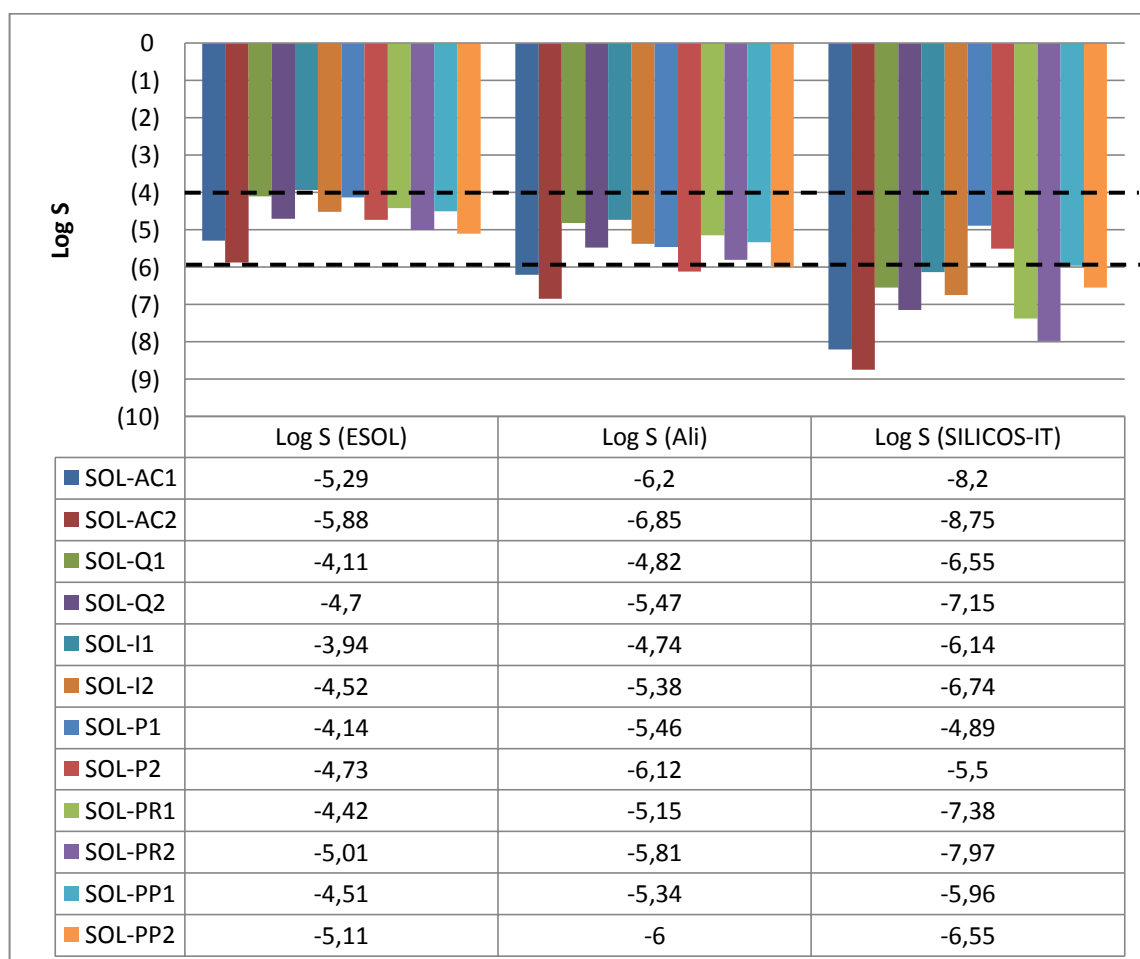
Tabela 26 - Parâmetros de *druglikeness*

DRUGLIKENESS	Parâmetros
Lipinski	Peso molecular ≤ 500 MLogP $\leq 4,15$ Aceptores de ligações de hidrogênio ≤ 10 Doadores de ligações de hidrogênio ≤ 5
Ghose	$160 \leq$ Peso molecular ≤ 480 $-0,4 \leq$ WLogP $\leq 5,6$ $40 \leq$ Refratividade molar ≤ 130 $20 \leq$ Átomos ≤ 70
Egan	WLogP $\leq 5,88$ Área de superfície polar topológica $\leq 131,6$

Fonte: Adaptado de SwissADME (2020).

O SwissADME também fornece informações sobre a solubilidade em água (Log S) dos compostos analisados. Do mesmo modo que o Log P, a solubilidade aquosa de um medicamento é um fator importante que afeta sua biodisponibilidade. Inúmeros métodos computacionais foram desenvolvidos para a previsão de solubilidade aquosa a partir da estrutura de um composto, e três são disponibilizados pelo SwissADME: ESOL, Ali e SILICOS-IT. Os resultados são expostos no gráfico 3, de modo que a solubilidade é definida de acordo com o seguinte parâmetro, por meio do resultado de Log S: insolúvel $< -10 <$ pouco solúvel $< -6 <$ solubilidade moderada $< -4 <$ solúvel $< -2 <$ muito solúvel $< 0 <$ altamente solúvel. Como se pode observar no mesmo, a maioria dos compostos apresentaram-se como moderadamente solúveis ou pouco solúveis, com exceção da molécula SOL-I1 que se apresentou solúvel em água de acordo com o Log S (ESOL), com o valor de 3,94.

Gráfico 3 – Valores de Log S dos compostos analisados



Fonte: Aatoria (2020).

Adicionalmente, outra informação relevante é o Log K_p . Esse, apresentado por Potts e Guy (1992), visa prever o coeficiente de permeabilidade do fármaco sobre a epiderme por meio de um modelo que se baseia no peso molecular e no log P do composto. De acordo com os autores, o valor de log K_p está diretamente relacionado a capacidade de permeação do composto. Os resultados para as moléculas seguem na tabela 27, de modo que é possível observar que os compostos provavelmente apresentariam baixa permeabilidade na pele, apresentando valores variando de -5.76 cm s^{-1} (SOL-I1) a -4.75 cm s^{-1} (SOL-P2).

Tabela 27 - Valores de Log K_p dos compostos analisados

MOLÉCULA	Log K_p (cm s^{-1})
SOL-AC1	-5.09
SOL-AC2	-4.86
SOL-Q1	-5.73
SOL-Q2	-5.50
SOL-I1	-5.76
SOL-I2	-5.53
SOL-P1	-4.99
SOL-P2	-4.75
SOL-PR1	-5.67
SOL-PR2	-5.43
SOL-PP1	-5.43
SOL-PP2	-5.09

Fonte: Aatoria (2020).

Por fim, como modo de prever a possível metabolização desses compostos, os mesmos foram avaliados *in silico* frente a cinco isoformas das enzimas citocromo P450 (CYP) quanto sua capacidade de inibição, por meio do SwissADME, e frente a duas isoformas quanto a probabilidade de agir como substrato, por intermédio do pkCSM. Embora diversas famílias do CYP450 humano sejam conhecidas, apenas as famílias CYP1, CYP2 e CYP3 são importantes na biotransformação de drogas. Dentro dessas famílias, as isoenzimas 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 e 3A3/4 são reconhecidas como as mais importantes para o metabolismo de drogas (AUDI; PUSSI, 2000). Assim, os resultados são expostos na tabela 28.

Tabela 28 - Interação das moléculas analisadas com as isoformas de CYP450

MOLÉCULAS	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6		CYP3A4	
	Inibidor	Inibidor	Inibidor	Substrato	Inibidor	Substrato	Inibidor
SOL-AC1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
SOL-AC2	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
SOL-Q1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
SOL-Q2	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
SOL-I1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
SOL-I2	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
SOL-P1	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não
SOL-P2	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim
SOL-PR1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
SOL-PR2	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
SOL-PP1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
SOL-PP2	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

Fonte: Autoria (2020).

Certas substâncias podem induzir expressão aumentada de CYPs via ligação a receptores nucleares, alguns exemplos de indutores do CYP3A4 são, por exemplo, atorvastatina, efavirenz e tamoxifeno. Por outro lado, os fármacos podem bloquear os CYPs específicos como inibidores competitivos e, assim, causar interações medicamentosas. Por exemplo, sabe-se que a naringina, um ingrediente da toranja, inibe tanto o CYP1A2 como o CYP3A4. Assim, as substâncias podem exercer diferentes funções em CYPs como substratos, não-substratos, inibidores, não-inibidores e indutores com sobreposição mútua (HUTTER, 2009). De acordo com os resultados, a maioria dos compostos apresenta a possibilidade de agir como substrato ou inibidor das isoformas de CYPs.

As CYP1A2, 2C19 e 2C9 são enzimas responsáveis por realizar reações de oxidação sobre seus substratos e são possivelmente inibidas por todos os compostos analisados. A CYP2D6, a isoenzima mais estudada dentre todas as que compõem o sistema CYP450, está envolvida nas reações de hidroxilação, *O*-desmetilação e possivelmente, *N*-desalquilação, e apresentou potencialidade de interagir com a maioria das moléculas, com exceção dos derivados piridínicos SOL-P1 e SOL-P2, e os compostos clorados SOL-AC2 e SOL-Q2. Por fim, a isoenzima CYP3A4, que é responsável por aproximadamente 50% do metabolismo de xenobióticos em humanos e está envolvida em reações de *O*- e *N*-desalquilação e

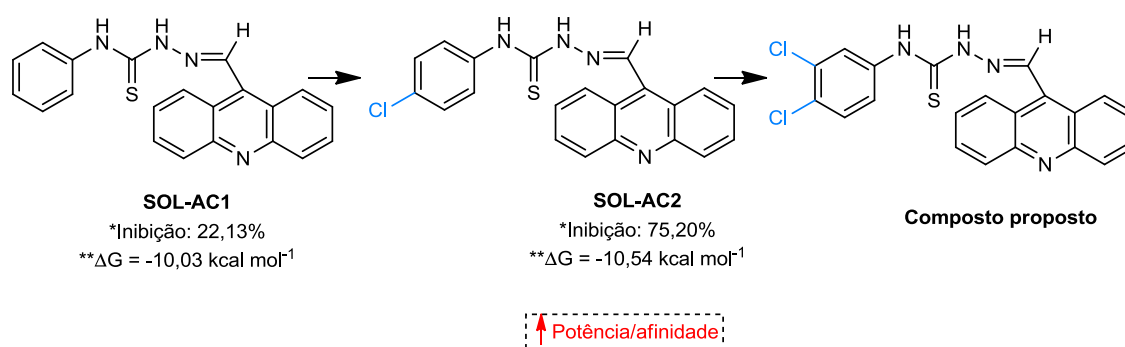
desmetilação, apresenta a probabilidade de interagir com a maior parte dos compostos analisados, com exceção das moléculas SOL-P1 e SOL-P2 (AUDI; PUSSI, 2000; HONÓRIO; MODA; ANDRICOPULO, 2013).

5.8 Perspectiva dos quimioterápicos mais ativos para o tratamento de câncer e leishmaniose

5.8.1 Proposta de composto mais ativo para atividade antitumoral

Baseando-se nos resultados obtidos para atividade antitumoral *in vitro* frente a linhagem celular SKMEL, a molécula SOL-AC2, 4-Cl substituída, apresentou 75,20% de inibição no crescimento das células, enquanto que a molécula SOL-AC1, não substituída, desempenhou uma inibição inferior frente a essa linhagem, igual a 22,13%. O contraste entre a ação de ambas moléculas é evidenciado também nos estudos *in silico*, onde pode-se ressaltar os resultados obtidos frente a enzima topoisomerase II α /DNA. Tendo em vista a melhoria da atividade farmacológica devido a substituição com cloro, a próxima etapa, de acordo com a árvore de Topliss, seria a di-substituição com cloro nas posições 3 e 4, assim como explicitado anteriormente (Tópico 5.4) (Figura 59).

Figura 59 – Proposta para obtenção de um análogo mais potente para atividade antitumoral



Fonte: Aatoria (2020). Legenda: *percentual de inibição na linhagem de melanoma SKMEL. **energia livre de ligação frente o alvo topoisomerase II α /DNA.

Desse modo, o composto di-substituído proposto foi avaliado frente à enzima topoisomerase II α complexada com DNA através do *docking* molecular, a fim de avaliar suas

interações e realizar um comparativo entre esse e a molécula SOL-AC2. Seguem na tabela 29 os resultados obtidos para ambos.

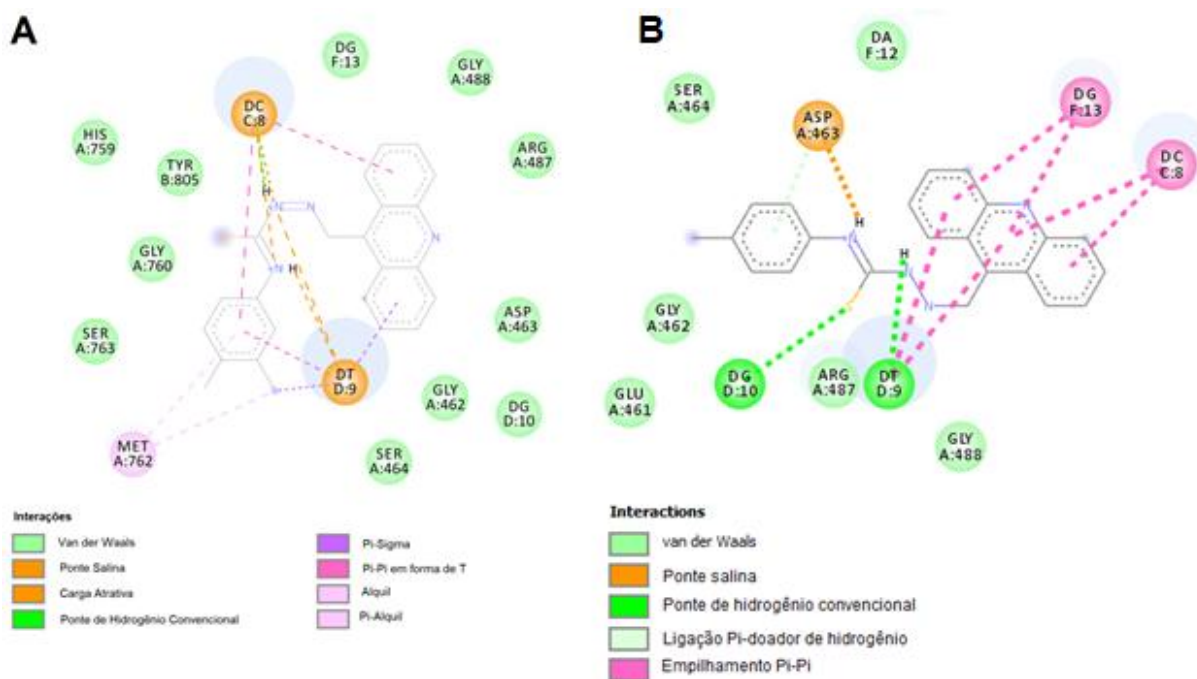
Tabela 29 - Resultados do *docking* molecular entre a estrutura proposta, molécula SOL-AC2 e TopoII α /DNA

MOLÉCULA	Energia Livre de Ligação (kcal mol ⁻¹)	Constante de Inibição Estimada (Ki) (nM)
Composto proposto	-11.08	7.61
SOL-AC2	-10.54	18.95

Fonte: Aatoria (2020).

A partir dos resultados explicitados na tabela 29, observa-se que a adição de um átomo de cloro à posição 3 do anel fenílico foi favorável para interação com o alvo topoisomerase II α . Na figura 60, é realizado um comparativo entre as interações realizadas pelo composto proposto e pela molécula SOL-AC2. Observa-se uma diminuição no número de interações do tipo empilhamento de ligações π realizadas entre o anel acridínico e as bases nitrogenadas do DNA, entretanto, a estrutura da molécula proposta assume uma conformação em que o anel fenil da subunidade tiossemicarbazônica estabiliza-se pela formação de interações desse tipo com o nucleotídeo citosina 8 (DC C:8), diferentemente da molécula SOL-AC2. Adicionalmente, a conformação e configuração adotadas pelo composto proposto proporcionaram a formação de interações por ponte salina e carga atrativa entre os nitrogênios carregados positivamente e as bases citosina 8 (DC C:8) e timina (DT C:9), que na estrutura do SOL-AC2 atuam por meio de interações do tipo empilhamento pi-pi. Tendo em vista que as interações intermoleculares por carga são mais fortes que as interações hidrofóbicas, esse fato justifica a melhor interação do composto protótipo com o alvo em relação a molécula SOL-AC2. Ademais, o átomo de cloro adicional apresentou-se apto a formar interação do tipo pi-alquil com o aminoácido Met 762.

Figura 60 - *Docking* da molécula proposta (A) e a SOL-AC2 (B) no alvo TopoII α /DNA (PDB ID: 5GWK)



Fonte: Aatoria (2020).

Tendo em vista a redução na quantidade das principais interações responsáveis por estabilizar a intercalação do composto entre as bases do DNA, ou seja, interações hidrofóbicas, realizou-se o *docking* com o modelo de DNA que permite intercalação (PDB ID: 1G3X) para determinar se houve comprometimento na propriedade intercaladora que os compostos acridínicos (SOL-AC1 e SOL-AC2) demonstraram. Seguem os resultados na tabela 30.

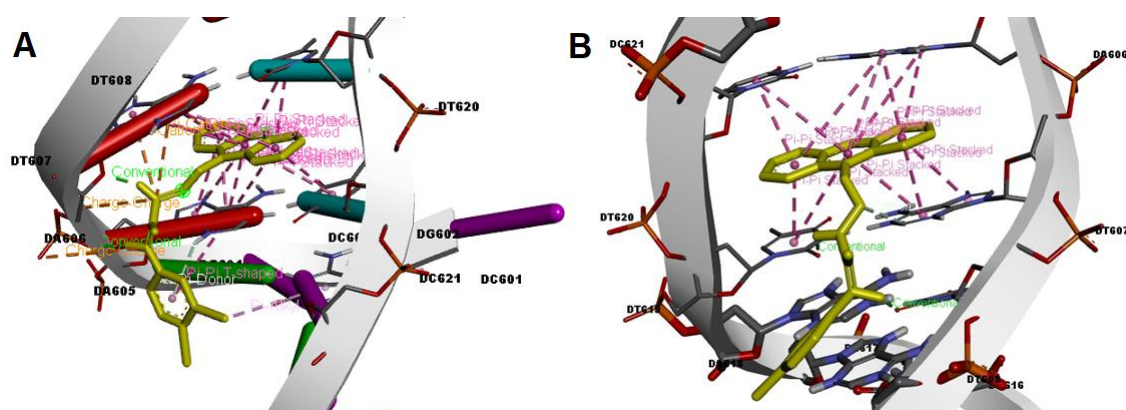
Tabela 30 - Resultados do docking molecular entre a estrutura proposta, molécula SOL-AC2 e DNA (PDB ID: 1G3X)

MOLÉCULA	Energia Livre de Ligação (kcal mol ⁻¹)	Constante de Inibição Estimada (K _i) (nM)
Composto proposto	-10.70	14.34
SOL-AC2	-10.41	23.38

Fonte: Aatoria (2020).

Observa-se então que, quando na presença apenas do DNA, não há implicação na capacidade intercaladora do composto acridínico, sendo esse capaz de apresentar uma energia livre de ligação mais estável que o composto SOL-AC2. A partir das imagens bidimensionais da interação realizada por ambos, pode-se notar que as 12 interações entre as bases nitrogenadas e o anel acridínico do tipo empilhamento pi-pi são mantidas, em adição a outras interações realizadas pelo composto proposto, incluindo a interação do tipo pi-alquil que ocorre entre o átomo de cloro na posição 3 e a base nitrogenada citosina 621 (Figura 61).

Figura 61 - Interações da molécula proposta (A) e da SOL-AC2 (B) com o DNA (PDB ID: 1G3X)

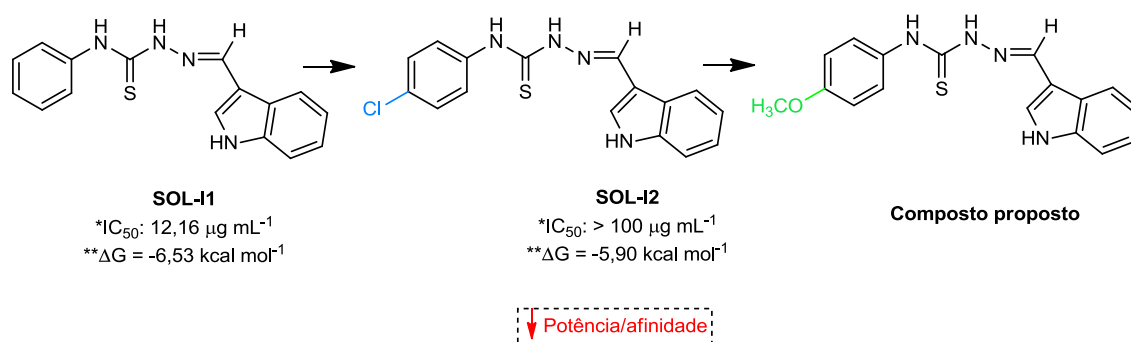


Fonte: Aatoria (2020).

5.8.2 Proposta de composto mais ativo para atividade antileishmania frente *L. amazonensis*

Similarmente a proposta anterior, tendo como embasamento os resultados *in vitro* para atividade antipromastigota frente cepa de *L. amazonensis*, concluiu-se que a *para*-substituição do anel fenílico por um átomo de cloro foi desfavorável para atividade farmacológica. Desse modo, como explanado com detalhes previamente (Tópico 5.5), a substituição no composto protótipo envolve a modificação do cloro por um radical metoxila (Figura 62). Para tal, utilizou-se também como parâmetro os resultados *in silico* frente à enzima piruvato quinase de *L. mexicana*, empregando-a também na avaliação da potencial ação do composto protótipo.

Figura 62 - Proposta para obtenção de um análogo mais potente para atividade antileishmania frente cepas de *L. amazonensis*



Fonte: Aatoria (2020). Legenda: *concentração capaz de inibir o crescimento de 50% dos parasitas da cepa de *L. amazonensis*. **energia livre de ligação frente o alvo piruvato quinase de *L. mexicana*.

Dessa forma, os resultados do *docking* molecular, expostos na tabela 31, apresentam-se em concordância com o que é sugerido pela árvore de decisão de Topliss para obtenção de compostos mais potentes. O composto indólico proposto apresentou uma melhor interação ao alvo que a molécula SOL-I2, e ligeiramente maior que o composto SOL-I1 (ΔG = -6,53 kcal mol^{-1} e K_i = 16300 nM).

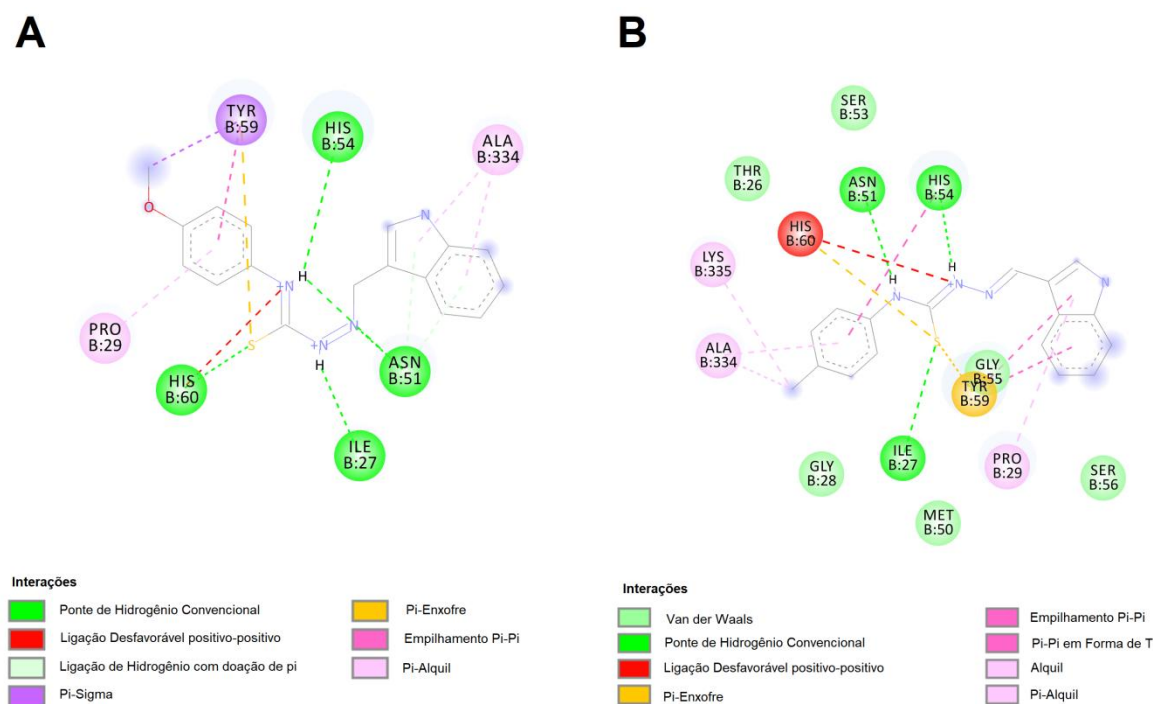
Tabela 31 - Resultados do docking molecular entre o composto proposto, SOL-I2 e o alvo Piruvato Quinase (PDB ID: 3PP7)

MOLÉCULA	Energia Livre de Ligação (kcal mol^{-1})	Constante de Inibição Estimada (K_i) (nM)
Composto proposto	-6.66	13100
SOL-I2	-5.90	47280

Fonte: Aatoria (2020).

Realizando-se um comparativo entre as interações realizadas por ambos compostos indólicos, percebe-se que ambos mantêm interações do tipo convencional de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos His 54, Asn 51 e Ile 27; interações desfavoráveis positivo-positivo com o aminoácido His 60; interações pi-alkil com o resíduo de aminoácido Pro 29, entre outros. O composto proposto, entretanto, apresenta um maior número de interações mais fortes com o sítio ativo, destacando que a presença do radical $-\text{OCH}_3$ promoveu a formação de uma interação adicional com o aminoácido Tyr 59 (Figura 63).

Figura 63 - Docking da molécula proposta (A) e a SOL-I2 (B) no alvo Piruvato Quinase (PDB ID: 3PP7)

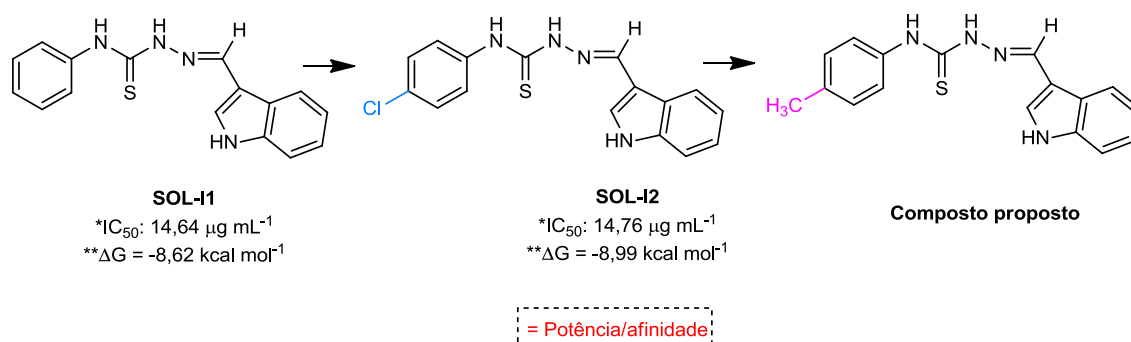


Fonte: Aatoria (2020).

5.8.3 Proposta de composto mais ativo para atividade antileishmania frente *L. infantum*

Dando continuidade à busca de um composto mais ativo para atividade antileishmania, utilizou-se como base para essa proposta os resultados *in silico* e *in vitro* obtidos para espécie *L. infantum*. Em ambos os experimentos, a afinidade/atividade demonstrada pelos compostos indólicos foram semelhantes entre si, de modo que a adição do átomo de cloro entre a molécula SOL-I1 e SOL-I2 não foi benéfica para o aumento da atividade farmacológica antileishmania, mantendo-a estável. Portanto, de acordo com a árvore de Topliss, a estratégia para aumento da potência desse composto envolve a substituição do átomo de cloro por um radical metila, assim como detalhado anteriormente (Tópico 5.5). Segue na figura 64 o esquema para construção do composto proposto.

Figura 64 - Proposta para obtenção de um análogo mais potente para atividade antileishmania frente cepas de *L. infantum*



Fonte: Aatoria (2020). *concentração capaz de inibir o crescimento de 50% dos parasitas da cepa de *L. infantum*.

**energia livre de ligação frente o alvo tripanotona redutase de *L. infantum*.

Desse modo, utilizando-se da técnica de *docking* molecular na estrutura cristalográfica da tripanotona redutase de *L. infantum*, avaliou-se a afinidade do composto proposto frente ao alvo, comparando-o com o resultado obtido para o mesmo antes da modificação molecular, ou seja, para o composto SOL-I2. Seguem os resultados na tabela 32.

Tabela 32 - Resultados do docking molecular entre o composto proposto, SOL-I2 e o alvo Tripanotona Redutase (PDB ID: 2JK6)

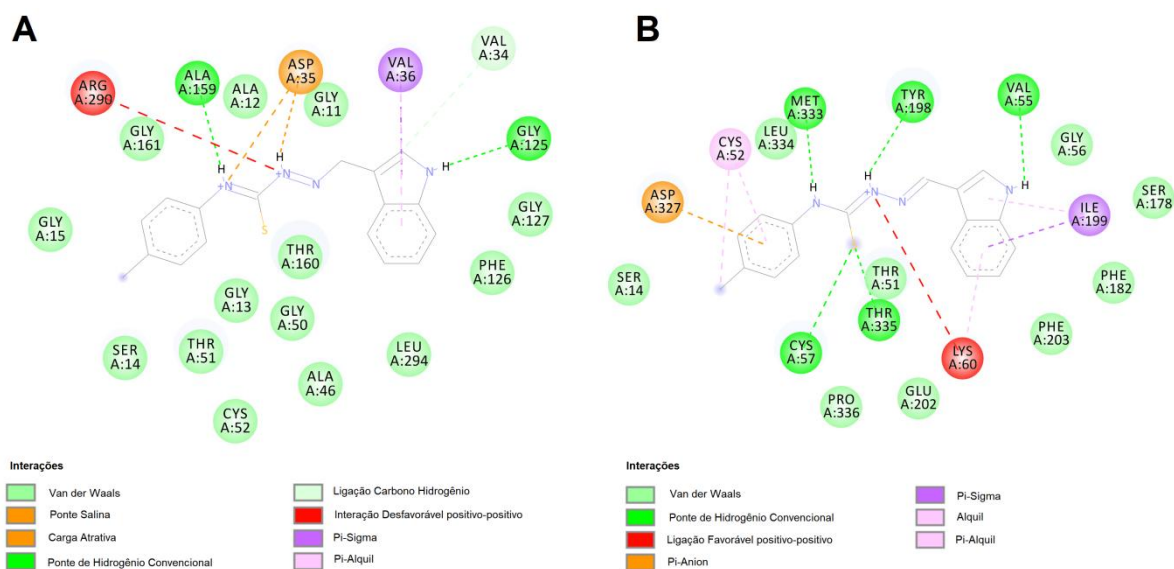
MOLÉCULA	Energia Livre de Ligação (kcal mol ⁻¹)	Constante de Inibição Estimada (K _i) (nM)
Composto proposto	-9.01	249.58
SOL-I2	-8.99	257.55

Fonte: Aatoria (2020).

Como visualizado na tabela 32, houve uma diminuição nos valores de energia livre de ligação e na constante de inibição estimada do composto SOL-I2 para o composto proposto, porém não considerável. Observando as imagens bidimensionais das interações ligante-alvo de ambos compostos, nota-se que os aminoácidos envolvidos na interação são distintos entre si, bem como os tipos de interações responsáveis por estabilizá-lo (Figura 65). Embora o composto SOL-I2 apresente um número maior de interações com o alvo em questão, ligando-se majoritariamente por meio de ligações convencionais de hidrogênio, o composto proposto

estabiliza-se através de pontes salinas e interações por carga atrativa, tornando-o então igualmente estável.

Figura 65 - *Docking* da molécula proposta (A) e a SOL-I2 (B) no alvo Tripanotiona Redutase (PDB ID: 2JK6)



Fonte: Aurtoria (2020).

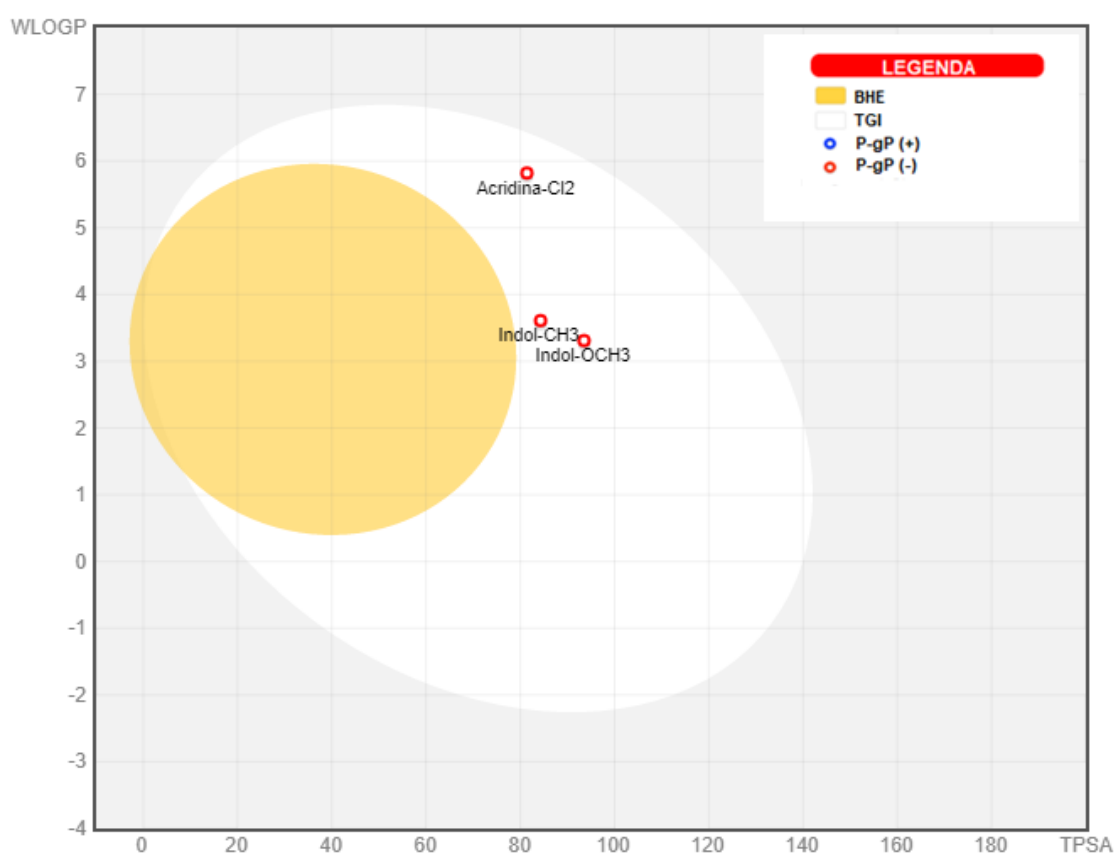
Levando-se em consideração apenas esse resultado *in silico*, de acordo com a árvore de Topliss (Esquema 12), a próxima etapa para otimização do composto proposto seria a exclusão do grupamento $-CH_3$ e a adição de um átomo de cloro na posição 3.

5.8.4 Avaliação farmacocinética *in silico* dos compostos propostos

Adicionalmente, determinadas propriedades farmacocinéticas preliminares dos compostos propostos foram avaliadas para determinar a viabilidade do mesmo como um candidato a fármaco. Para facilitar a compreensão, os compostos nesse tópico serão referidos como acridina-Cl₂, indol-OCH₃ e indol-CH₃, para os compostos propostos para atividade antitumoral, antileishmania para *L. amazonensis* e antileishmania para *L. infantum*, respectivamente.

De acordo com o modelo *boiled-egg*, ao serem administrados por via oral, os compostos propostos apresentam a alta capacidade de serem absorvidos pelo trato gastrointestinal, porém não possuem a propensão a permear a barreira hematoencefálica (Figura 66). Complementarmente, o modelo fornece informações sobre a capacidade dos compostos em serem substratos da glicoproteína P, entretanto nenhum desses apresenta características estruturais que os tornem suscetíveis. Portanto, essas propriedades são mantidas em relação aos compostos protótipos SOL-AC2 e SOL-I1 (Figura 58).

Figura 66 - Modelo *boiled-egg* para os compostos propostos

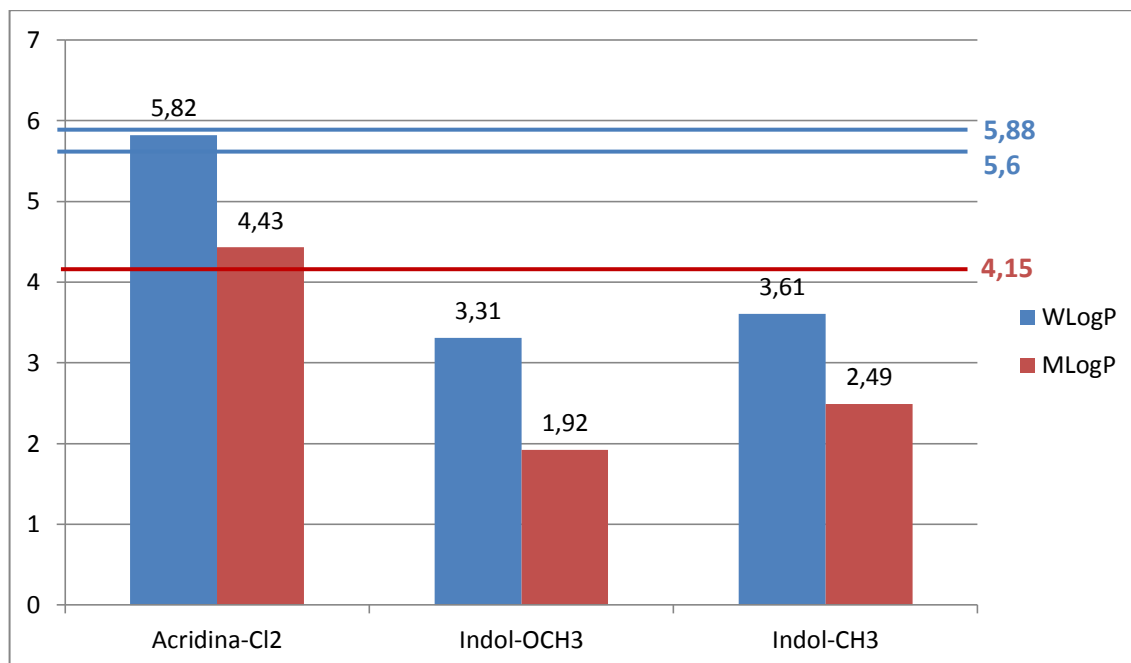


Fonte: adaptado de *SwissADME* (2020). Legenda: BHE = barreira hematoencefálica; TGI = trato gastrointestinal; P-gP (+) = substrato da glicoproteína P; P-gP (-) = não substrato da glicoproteína P.

Em relação ao Log P dos compostos propostos, de acordo com os parâmetros de *druglikeness* estabelecidos por Lipinski, Ghose e Egan, os valores de MLogP e WLogP foram levados em consideração. Os compostos indólicos apresentaram-se dentro dos valores estabelecidos pelos critérios de *druglikeness* supracitados. O composto acridínico, entretanto, pela adição de um átomo lipofílico a sua estrutura, apresentou um aumento considerável nos seus valores de LogP, de modo que houve extrapolação do valor máximo definido por Ghose,

Viswanadhan e Wendoloski (1999) ($-0,4 \leq WLogP \leq 5,6$) e por Lipinski e colaboradores (2001) ($MLogP \leq 4,15$) (Gráfico 4). Assim, a acridina-Cl₂ apresenta como limitação sua lipofilia, embora as outras características estruturais inerentes a esse composto estejam de acordo com os critérios de *druglikeness* estabelecidos (Tabela 26).

Gráfico 4 – Valores de Log P dos compostos propostos



Fonte: Aatoria (2020).

Por intermédio do SwissADME e do pkCSM, os compostos propostos foram avaliados quanto a sua provável via metabólica de acordo com a sua ação como provável inibidor e/ou substrato frente a cinco isoformas das enzimas CYP450. De acordo com os resultados obtidos e expostos na tabela 33, os compostos apresentam a possibilidade de agir como inibidores e substratos da maior parte das isoformas de CYPs, com exceção da molécula acridina-Cl₂ frente à enzima CYP2D6.

Tabela 33 - Capacidade de inibição dos compostos propostos frente as isoformas de CYP450

MOLÉCULAS	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6		CYP3A4	
	Inibidor	Inibidor	Inibidor	Substrato	Inibidor	Substrato	Inibidor
Acridina-Cl ₂	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim	Sim
Indol-OCH ₃	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Indol-CH ₃	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

Fonte: Autoria (2020).

Em um comparativo com os compostos protótipos SOL-AC2 e SOL-I1 (Tabela 28), as propriedades metabólicas dos compostos indólicos em relação ao SOL-I1 são mantidas, enquanto que a molécula acridínica e o protótipo SOL-AC2 se diferenciam pela possibilidade de agir como um substrato para enzima CYP2D6. Ressaltando que a adição de um átomo de cloro entre a molécula SOL-AC1 e SOL-AC2 diminuiu as possibilidades da molécula SOL-AC2 apresentar-se como um inibidor da CYP2D6, o mesmo padrão é repetido nesse caso, diminuindo a possibilidade do composto acridina-Cl₂ apresentar-se como um substrato da mesma.

6 CONCLUSÃO

Visando a obtenção de potenciais fármacos quimioterápicos, esse trabalho propôs a síntese e avaliação biológica de compostos híbridos de tiossemicarbazonas e classes de heterociclos. Utilizando-se de métodos de modificação molecular inerentes à Química Medicinal, as estruturas desses compostos basearam-se no composto-protótipo acridínico-tiossemicarbazônico publicado por Almeida e colaboradores (2015), a partir do qual, realizando-se o enfoque no anel acridínico, foram aplicadas as estratégias de simplificação molecular, expansão molecular e bioisosterismo.

Para os compostos planejados, realizou-se o *docking* molecular frente a alvos previamente descritos como potenciais alvos para os derivados acridínico-tiossemicarbazônico. Desse modo, as moléculas foram avaliadas frente aos alvos topoisomerase II α , DNA e topoisomerase I de *L. donovani*, de modo que foi possível estabelecer uma correlação dos resultados obtidos com os resultados previamente descritos, e com os perfis de moléculas pertinentes a esses alvos descritas na literatura. Assim, a molécula SOL-AC2, por apresentar em sua estrutura um sistema aromático fundido de maior extensão, em relação às demais, apresentou uma maior interação com o DNA por meio de intercalação, enquanto que as moléculas SOL-PR2 e SOL-PP2, por apresentarem uma maior liberdade conformacional, foram capazes de interagir com os sulcos do DNA. Ademais, os resultados sugerem que a porção tiossemicarbazônica seja a principal responsável pela interação com topoisomerase II α , de modo que a molécula SOL-AC2 apresentou um complexo ternário fármaco-topoisomerase-DNA mais estável. Quanto à ação frente topoisomerase I/DNA de *Leishmania*, o composto SOL-AC2 desempenhou mais uma vez a formação de um complexo mais estável, interagindo majoritariamente com os aminoácidos da enzima, ao invés do DNA.

Realizou-se a síntese de doze compostos híbridos, sendo sete inéditos, por via plena convergente, para os compostos acridínicos, ou plena linear, para os demais compostos com aldeídos obtidos comercialmente. O mecanismo reacional envolvido na obtenção desses fármacos consiste em uma reação de condensação em meio ácido. Esses apresentaram bons rendimentos reacionais, variando de 56,95 a 98,99% e baixa variação do ponto de fusão (1 a 4°C).

A caracterização estrutural por infravermelho e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C confirmou a estrutura esperada dos compostos planejados,, além de corroborarem com os resultados de espectroscopia dos compostos previamente sintetizados, validando o método e a rota sintética empregada. Entretanto, para as moléculas substituídas com fenil-piridina, serão

necessárias as realizações de RMN de ^1H com variação de temperatura para confirmação da presença de confôrmeros.

Os resultados de atividade antiproliferativa identificaram, no geral, que a maioria dos compostos apresentaram pouca inibição de crescimento celular (variando de 20 a 50%), entretanto, é destacada a atividade da molécula SOL-AC2 na linhagem SKMEL, de melanoma. Os resultados corroboram com os obtidos no *docking*, sendo possível o estabelecimento de uma relação estrutura-atividade levando-se em consideração os resultados obtidos para essa linhagem, que concluem a importância do sistema de anel fundido, no caso da acridina, associado a presença do cloro na posição *para* do fenil da tiossemicarbazona. Ressalta-se que o mecanismo de inibição de topoisomerase II α e intercalação com DNA pode não ser o único e responsável pela atividade desempenhada, podendo haver mecanismos específicos para cada tipo de câncer devido a sua vasta heterogeneidade. Desse modo, os resultados não inviabilizam as demais moléculas em serem testadas em outras linhagens tumorais.

A avaliação da atividade antileishmania frente cepas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum* evidenciou os compostos indólicos como *scaffolds* para ação leishmanicida. Os resultados não se apresentaram em concordância com o estudo *in silico* frente topoisomerase I, de modo que dois novos alvos (piruvato quinase e tripanotiona redutase) foram propostos para auxílio da elucidação do mecanismo de ação envolvido.

Os estudos ADME *in silico* corroboram com a conclusão de que esses compostos enquadram-se nas regras para obtenção de compostos que possam ser administrados por via oral, evidencia a absorção e permeação desses pelo TGI e BHE, a função de selecionados compostos como possíveis inibidores de glicoproteína P e serem substratos ou inibidores do CYP450 e suas isoformas.

Por fim, tendo sido obtidos *scaffolds* desejáveis para cada atividade biológica proposta, propuseram-se novos compostos mais potentes baseando-se nos resultados biológicos e na árvore de decisão de Topliss, avaliando-os *in silico*. Os resultados evidenciaram compostos com maior afinidade aos alvos para câncer e *L. amazonensis*, e majoritariamente dentro dos parâmetros desejáveis de ADME, viabilizando uma futura síntese e avaliação farmacológica dos mesmos.

7 PERSPECTIVAS

As perspectivas futuras para esse trabalho envolverão:

- a) finalizar a caracterização estrutural dos compostos por meio de espectrometria de massas;
- b) realizar a análise por RMN de ^1H com variação de temperatura para os compostos SOL-PR1 e SOL-PR2;
- c) avaliar *in vitro* a capacidade de interação com DNA dos compostos inéditos por meio de espectroscopia de absorção em UV-visível, emissão de fluorescência e viscosidade;
- d) dar continuidade às sínteses no objetivo de obter compostos mais ativos;
- e) publicação de artigos científicos.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-GAWAD, H.; MOHAMED, H. A.; DAWOOD, K. M.; BADRIA, F. A. Synthesis and antiviral activity of new indole-based heterocycles. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 58, n. 11. p. 1528-1531, 2010.
- ABDELAZIZ, M. E.; MILIGY, M. M. M.; FAHMY, S. M.; MAHRAN, M. A.; HAZZAA, A. A. Design, synthesis and docking study of pyridine and thieno[2,3-b] pyridine derivatives as anticancer PIM-1 kinase inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, New York, v. 80, p. 674-692, 2018.
- ACHARYA, C.; COOP, A.; POLLI, J. E.; MACKERELL JR, A. D. Recent advances in ligand-based drug design: relevance and utility of the conformationally sampled pharmacophore. **Current Computer-Aided Drug Design**, Sharjah, v. 7, n. 1, p. 10-22, 2011.
- AELURI, R.; ALLA, M.; BOMMENA, V. R.; MURTHY, R.; JAIN, N. Synthesis and antiproliferative activity of polysubstituted tetrahydropyridine and piperidin-4-one-3-carboxylate derivatives. **Asian Journal of Organic Chemistry**, v. 1, p. 71-79, 2012.
- AFZAL, O.; KUMAR, S.; HAIDER, R.; ALI, R.; KUMAR, R.; JAGGI, M.; BAWA, S. A review on anticancer potential of bioactive heterocycle quinoline. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 97, p. 871-910, 2015.
- ALI, A.; BHATTACHARYA, S. DNA binders in clinical trials and chemotherapy. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 22, n. 16, p. 4506-4521, 2014.
- ALONSO, H.; BLIZNYUK, A. A.; GREASY, J. E. Combining docking and molecular dynamic simulation in drug design. **Medicinal Research Reviews**, v. 26, n. 5, p. 531-568, 2006.
- ALMEIDA, F. S. **Estudo *in silico* com possíveis alvos terapêuticos e *in vitro* anti-leishmania de derivados espiro-acridínicos**. 2018. 117f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2018.
- ALMEIDA, S. M. V.; LAFAYETTE, E. A.; DA SILVA, L. P. B. G.; AMORIM, C. A. D. C.; DE OLIVEIRA, T. B.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; MOURA, R. O.; BELTRÃO, E. I. C.; DE LIMA, M. C. A.; JÚNIOR, L. B. D. C. Synthesis, DNA binding, and antiproliferative activity of novel acridine-thiosemicarbazone derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 16, n. 6, p. 13023-13042, 2015.
- ALMEIDA, S. M. V. LAFAYETTE, E. A.; SILVA, W. L.; SERAFIM, V. L.; MENEZES, T. M.; NEVES, J. L.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; MOURA, R. O.; BELTRÃO, E. I. C.; CARVALHO JÚNIOR, L. B.; LIMA, M. C. A. New spiro-acridines: DNA interaction, antiproliferative activity and inhibition of human DNA topoisomerases. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 92, p. 467-475, 2016.
- ALMEIDA, S. M. V.; RIBEIRO, A. G.; SILVA, G. C. L.; ALVES, J. E. F.; BELTRÃO, E. I. C.; OLIVEIRA, J. F.; 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**, Paris, v. 96, p. 1538-1556, 2017.

AMIN, M. L. P-glycoprotein inhibition for optimal drug delivery. **Drug Target Insights**, Auckland, v. 7, p. 27-34, 2013.

ANDRICOPULO, A. D.; SALUM, L. B.; ABRAHAM, D. J. Structure-based drug design strategies in medicinal chemistry. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, Hilversum, v.9, n.9, p.771-790, 2009.

ANDERSON, A. C. The processo of structure-based drug design. **Chemistry & Biology**, Cambridge, v. 10, p. 787-797, 2003.

ANVERSA, L.; TIBURCIO, M. G. S.; RICHINI-PEREIRA, V. B.; RAMIREZ, L. E. Human leishmaniasis in Brazil: A general review. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 64, n. 3, p. 281-289, 2018.

APAROY, P.; REDDY, K. K. REDDANNA, P. Structure and Ligand Based Drug Design Strategies in the Development of Novel 5-LOX Inhibitors. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 19, p. 3763-3778, 2012.

AQUINO, T. M.; LIESEN, A. P.; DA SILVA, R. E.; LIMA, V. T.; CARVALHO, C. S.; DE FARIA, A. R.; DE ARAÚJO, J. M.; DE LIMA, J. G.; ALVES, A. J.; DE MELO, E. J.; GÓES, A. J. Synthesis, anti-*Toxoplasma gondii* and antimicrobial activities of benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazones and 2-[(phenylmethylene)hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 446-456, 2008.

ARAÚJO, C. R. M.; LEITE FILHO, C. A.; SANTOS, V. L. A.; MAIA, G. L. A.; GONSALVES, A. A. Desenvolvimento de fármacos por hibridação molecular: uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfadiazina e a ferramenta virtual. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 6, p. 868-873, 2015.

AUDI, E. A.; PUSSI, F. D. Isoenzimas do CYP450 e biotransformação de drogas. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 22, p. 599-604, 2008.

BAGULEY, B.C. Multiple drug resistance mechanisms in cancer. **Molecular Biotechnology**, Totowa, v. 46, n. 3, p. 308-316, 2010.

BARRA, C. V.; NETO, A. V. G. Interações entre complexos antitumorais e o dna e suas ferramentas de análise: um enfoque nos metalointercaladores. **Revista Virtual de Química**, São Paulo, v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.

BARREIRO, E. J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6B, p. 1172-1180, 2002.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 536 p.

BELMONT, P.; BOSSON, J.; GODET, T.; TIANO, M. Acridine and acridone derivatives, anticancer properties and synthetic methods: where are we now? **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, San Francisco, v. 7, n. 2, p. 139-169, 2007.

BLATTMAN, J. N.; GREENBERG, P. D. Cancer immunotherapy: a treatment for the masses. **Science**, Washington, v. 305, n. 5681, p. 200-205, 2004.

BOZOROV, K.; ZHAO, J.; AISA, H. A. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 27, n. 16, p. 3511-3531, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2018**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2018. 126 p.

BRITTAİN, C. G. Using Melting Point to Determine Purity of Crystalline Solids. **The University of Rhode Island**, 18 maio 2009. Disponível em: <https://www.chm.uri.edu/mmcgregor/chm228/use_of_melting_point_apparatus.pdf>. Acesso em: 23 de maio de 2019.

BROCCOLI, S.; MARQUIS, J.; PAPADOPOULOU, B.; OLIVIER, M. DROLET, M. Characterization of a *Leishmania donovani* gene encoding a protein that closely resembles a type IB topoisomerase. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 27, p. 2745–2752, 1999.

CARVALHO, I.; PUPO, M. T.; BORGES, A. D. L.; BERNARDES, L. S. C. Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 428-438, 2003.

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

CHADHA, N.; SILAKARI, O. Indoles as therapeutics of interest in medicinal chemistry: bird's eye view. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 134, p. 159-184, 2017.

CHAUDHARY, K. K.; MISHRA, N. A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. **JSM Chemistry**, Allahabad, v. 4, n. 3, p. 1-4, 2016.

CHEN, Y.; LIN, Y.; HUANG, P.; CHAN, H.; KUO, S.; LEE, K. HUANG, L. Design and synthesis of 6,7-methylenedioxy-4-substituted phenylquinolin-2(1H)-one derivatives as novel anticancer agents that induce apoptosis with cell cycle arrest at G2/M phase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 21, n. 17, p. 5064-5075, 2013.

CHOLEWIŃSKI, G.; DZIERZBICKA, K.; KOŁODZIEJCZYK, A. M. Natural and synthetic acridines/acridones as antitumor agents: their biological activities and methods of synthesis. **Pharmacological Reports**, Wrocław, v. 63, n. 2, p. 305-336, 2011.

CRISÓSTOMO, F. R. P.; CARRILLO, R.; LÉON, L. G.; MARTÍN, T.; PADRÓN, J. M.; MARTÍN, V. S. Molecular simplification in bioactive molecules: formal synthesis of (+)-muconin. **The Journal of Organic Chemistry**, Columbus, v. 71, n. 6, p. 2339-2345, 2006.

DADASHPOUR, S.; EMAMI, S. Indole in the target-based design of anticancer agents: a versatile scaffold with diverse mechanisms. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 150, p. 9-29, 2018.

DAI, Y.; ZHANG, T.; YIANG'AI, P.; ZHANG, X.; HU, Y.; ZHANG, L.; JIA, S.; HE, H. Computational study on fused five membered heterocyclic compounds containing tertiary oxygen. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1129, p. 98-104, 2017.

DAINA, A.; MICHELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, London, v. 7, p. 42717, 2017.

DAINA, A.; ZOETE, V. A BOILED-Egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. **ChemMedChem**, Weinheim, v. 11, n. 11, p. 1117-1121, 2016.

DANG, N. L.; HUGHES, T. B.; KRISHNAMURTHY, V.; SWAMIDASS, S. J. A simple model predicts UGT-mediated metabolism. **Bioinformatics**, Oxford, v. 32, n. 20, p. 3183-3189, 2016.

DAS, A.; DASGUPTA, A.; SENGUPTA, T.; MAJUMDER, H. K. Topoisomerases of kinetoplastid parasites as potential chemotherapeutic targets. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 20, n. 8, p. 381-387, 2004.

DAS, B. B.; GANGULY, A.; MAJUMDER, H. K. DNA topoisomerases of leishmania: the potential targets for anti-leishmanial therapy. In: MAJUMDER, H. K. **Drug Targets in Kinetoplastid Parasites**. Berlin: Landes Bioscience and Springer Science+Business Media, 2008. cap. 9.

DAS, S.; DA SILVA, C. J.; SILVA, M. M.; DANTAS, M. D. A.; DE FÁTIMA, Â.; GÓIS RUIZ, A. L. T.; DA SILVA, C. M.; DE CARVALHO, J. E.; SANTOS, J. C. C.; FIGUEIREDO, I. M.; DA SILVA-JÚNIOR, E. F.; DE AQUINO, T. M.; DE ARAÚJO-JÚNIOR, J. X.; BRAHMACHARI, G; MODOLO, L. V. Highly functionalized piperidines: free radical scavenging, anticancer activity, DNA interaction and correlation with biological activity. **Journal of Advanced Research**, Giza, v. 9, p. 51-61, 2018.

DEWEESE, J. E.; OSHEROFF, N. The DNA cleavage reaction of topoisomerase II: Wolf in sheep's clothing. **Nucleic Acids Research**, Nashville, v.37, n. 3, p. 738-748, 2009.

DEWEESE, J. E.; OSHEROFF, M. A.; OSHEROFF, N. DNA Topology and Topoisomerases: Teaching a "knotty" subject. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, Tennessee, v. 37, n. 1, p. 2-10, 2009.

DORVAL, M. E. M. C.; OSHIRO, E. T.; CUPOLLILO, E.; CASTRO, A. C. C. C.; ALVES, T. P. Ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Estado do Mato Grosso do Sul associada à infecção por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 43-46, 2006.

DUMANCAS, G. G.; KORALEGE, R. S. H.; MOJICA, E. R. E.; MURDIANTI, B. S.; PHAM, P. J. Pyridine. **Encyclopedia of Toxicology**, v. 3, p. 1159-1161, 2014.

EGAN, W. J.; MERZ, K. M.; BALDWIN, J. J. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 43, n. 21, p. 3867-3877, 2000.

EL-SHARIEF, A. M. S.; AMMAR, Y. A.; BELAL, A.; EL-SHARIEF, M. A. M. S.; MOHAMED, Y. A.; MEHANY, A. B. M.; ALI, G. A. M. E.; RAGAB, A. Design, synthesis, molecular docking and biological activity evaluation of some novel indole derivatives as potent anticancer active agents and apoptosis inducers. **Bioorganic Chemistry**, New York, v. 85, p. 399-412, 2019.

ESTABROOK, R. W. A passion for P450s (remembrances of the early history of research on cytochrome P450). **Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals**, Bethesda, v. 31, n. 12, p. 1461-1473, 2003.

ESTEVIÃO, M. S.; CARVALHO, L. C.; RIBEIRO, D.; COUTO, D.; FREITAS, M.; GOMES, A.; FERREIRA, L.M.; FERNANDES, E.; MARQUES, M. M. Antioxidant activity of unexplored indole derivatives: synthesis and screening. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 45, n. 11, p. 4869- 4878, 2010.

FERREIRA, L. G.; DOS SANTOS, R. N.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Molecular docking and structure-based drug design strategies. **Molecules**, Basel, v. 20, p. 13384-13421, 2015.

FINCH, R. A.; LIU, M. C.; CORY, A. H.; CORY, J. G.; SARTORELLI, A. C. Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone; 3-AP): an inhibitor of ribonucleotide reductase with antineoplastic activity. **Advances in Enzyme Regulation**, Oxford, v. 39, p. 3-12, 1999.

FOREZI, L. S. M.; TOLENTINO, N. M. C.; DE SOUZA, A. M. T.; CASTRO, H. C.; MONTENEGRO, R. C.; DANTAS, R. F.; OLIVEIRA, M. E. I. M.; SILVA, F. P.; BARRETO, L. H.; BURBANO, R. M. R.; ABRAHIM-VIEIRA, B.; OLIVEIRA, R.; FERREIRA, V. F.; CUNHA, A. C.; BOECHAT, F. C. S.; DE SOUZA, M. C. B. V. Synthesis, cytotoxicity and mechanistic evaluation of 4-oxoquinoline-3-carboxamide derivatives: finding new potential anticancer drugs. **Molecules**, Basel, v. 19, p. 6651-6670, 2014.

FORMARIZ, T. P.; WANCZINSKI, B. J.; SILVA JÚNIOR, A. A.; SCARPA, M. V.; OLIVEIRA, A. G. Biotecnologia de sistemas coloidais aplicável na otimização do efeito terapêutico de fármacos usados no tratamento do câncer. **Infarma**, Brasília, v. 16, n. 1-2, p. 44-57, 2004.

FORTES, M. P.; DA SILVA, P. B. N.; DA SILVA, T. G.; KAUFMAN, T. S.; MILITÃO, G. C. G.; SILVEIRA, C. C. Synthesis and preliminary evaluation of 3-thiocyanato-1*H*-indoles as potential anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 118, p. 21-26, 2016.

FRAGA, C. A. M.; LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. O paradigma atual da química medicinal: descoberta racional do composto-protótipo. In: MONTANARI, C. A. (Org.).

Química medicinal: métodos e fundamentos em planejamento de fármacos. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2011. cap. 2.

FOTHERGILL-GILMORE, L. A.; RIGDENT, D. J.; MICHELS, P. A. M.; PHILLIPS, S. E. V. *Leishmania* pyruvate kinase: the crystal structure reveals the structural basis of its unique regulatory properties. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 28, n. 2, p. 186-190, 2000.

GANGAPURAM, M.; REDDA, K. K. Synthesis of 1-(substituted phenylcarbonyl/sulfonylamino)-1,2,3,6-tetrahydropyridine-5-carboxylic acid diethylamides as potential anti-inflammatory agents. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, Hoboken, v. 43, p. 709-718, 2006.

GASTEIGER, J.; MARSILI, M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity—a rapid access to atomic charges. **Tetrahedron**, Oxford, v. 36, n. 22, p. 3219-3228, 1980.

GHANEI-NASAB, S.; KHOABI, M.; HADIZADEH, F.; MARJANI, A.; MORADI, A.; NADRI, H.; EMAMI, S.; FOROUMADI, A.; SHAFIEE, A. Synthesis and anticholinesterase activity of coumarin-3-carboxamides bearing tryptamine moiety. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 121, p. 40-46, 2016.

GIRAULT, S.; GRELLIER, P.; BERECIBAR, A.; MAES, L.; MOURAY, E.; LEMIÈRE, P.; DEBREU, M. A.; DAVIOUD-CHARVET, E.; SERGHERAERT, C. Antimalarial, antitrypanosomal, and antileishmanial activities and cytotoxicity of bis (9-amino-6-chloro-2-methoxyacridines): influence of the linker. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 43, n. 14, p. 2646-2654, 2000.

GITTO, R.; DE LUCA, L.; FERRO, S.; CITRARO, R.; DE SARRO, G.; COSTA, L.; CIRANNA, L.; CHIMIRRI, A. Development of 3-substituted-1H-indole derivatives as NR2B/NMDA receptor antagonists. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 17, n. 4, p. 1640-1647, 2009.

GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. **Journal of Combinatorial Chemistry**, Washington, v. 1, p. 55-68, 1999.

GOOCH, B. D.; BEAL, P. A. Recognition of duplex RNA by helix threading peptides. **Journal of the American Chemical Society**, Columbus, v. 126, n. 34, p. 10603-10610, 2004.

GONÇALVES, F. A. M. **Padronização da investigação laboratorial de anticorpos dirigidos contra fármacos em doadores de sangue e pacientes com anemia hemolítica imune**. 2018. 77 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Hemoterapia e Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2018.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

GOUVEIA, R. G.; RIBEIRO, A. G.; SEGUNDO, M. A. S. P.; OLIVEIRA, J. F.; LIMA, M. C. A.; SOUZA, T. R. C. L.; ALMEIDA, S. M. V.; MOURA, R. O. Synthesis, DNA and protein interactions and human topoisomerase inhibition of novel spiro-acridine derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 26, n. 22, p. 5911-5921, 2018.

GUETZOYAN, L.; YU, X. M.; RAMIANDRASOA, F.; PETHE, S.; ROGIER, C.; PRADINES, B.; CRESTEIL, T.; PERRÉE-FAUVET, M.; MAHY, J. P. Antimalarial acridines: synthesis, *in vitro* activity against *P. falciparum* and interaction with hematin. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 17, n. 23, p. 8032-8039, 2009.

GUENGERICH, F. P. Cytochrome P450: what have we learned and what are the future issues? **Drug Metabolism Reviews**, London, v. 36, p. 159-197, 2004.

GUIDO, R.V.C.; ANDRICOPULO, A.D.; OLIVA, G. Virtual screening and its integration with modern drug design technologies. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v.15, n.1, p. 37-46, 2008.

GUIDO, R.V.C.; ANDRICOPULO, A.D.; OLIVA, G. Drug design, biotechnology and chemistry: applications to infectious diseases. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 24, p. 81-98, 2010.

HAJDUK, P. J. Fragment-based drug design: how big is too big?. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 49, p. 6972-6976, 2006.

HAY, M.; THOMAS, D. W.; CRAIGHEAD, J. L.; ECONOMIDES, C.; ROSENTHAL, J. Clinical development success rates for investigational drugs. **Nature Biotechnology**, New York, v. 32, p. 40-51, 2014.

HENRY, G. D. De novo synthesis of substituted pyridines. **Tetrahedron**, Oxford, v. 60, p. 6043-6061, 2004.

HONÓRIO, K. M.; MODA, T. L.; ANDRICOPULO, A. D. Pharmacokinetic properties and in silico ADME modeling in drug discovery. **Medicinal Chemistry**, Amsterdam, v. 9, p. 163-176, 2013.

HOLOHAN, C.; VAN SCHAEYBROECK, S.; LONGLEY, D. B.; JOHNSTON, P. G. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. **Nature Reviews Cancer**, London, v. 13, n. 10, p. 714-726, 2013.

HUTTER, M. C. In Silico Prediction of Drug Properties. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 16, p. 189-202, 2009.

HUSSAIN, H.; AL-HARRASI, A.; AL-RAWAHI, A.; GREEN, I. R.; GIBBONS, S. Fuitful decade for antileishmanial compounds from 2002 to late 2011. **Chemical Reviews**, Maryland, v. 114, n. 20, p. 10369-10428, 2014.

IHMELS, H.; OTTO, D. Intercalation of organic dye molecules into double-stranded DNA – general principles and recent developments. **Topics in Current Chemistry**, Berlin, v. 258, p. 161-204, 2005.

JADHAV, A. K.; KARUPPAYIL, S. M. Molecular docking studies on thirteen fluoroquinolones with human topoisomerase II a and b. **In Silico Pharmacology**, Heidelberg, v. 5, n. 1, p. e4, 2017.

JAIN, S.; CHANDRA, V.; JAIN, P. K.; PATHAK, K.; PATHAK, D.; VAIDYA, A. Comprehensive review on current developments of quinoline-based anticancer agents. **Arabian Journal of Chemistry**, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.10.009>>.

KAYA, M.; YILDIRIR, Y.; ÇELIK, G. Y. Synthesis, characterization, and *in vitro* antimicrobial and antifungal activity of novel acridines. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, New York, v. 48, n. 11, p. 724-728, 2015.

KETRON, A. C.; DENNY, W. A.; GRAVES, D. E.; OSHEROFF, N. Amsacrine as a topoisomerase II poison: importance of drug-DNA interactions. **Biochemistry**, Washington, v. 51, n. 8, p. 1730-1739, 2012.

KHAN, G. S.; SHAH, A.; REHMAN, Z.; BARKER, D. Chemistry of DNA minor groove binding agents. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 115, p. 105-118, 2012.

KUMAR, A.; ARCHANA, SHARMA, S.; MALIK, N.; SHARMA, P.; KUSHIK, K.; SAXENA, K.K.; SRIVASTAVA, V.K. Synthesis of anti-inflammatory, analgesic and COX-II inhibitory activities of indolylpyrazolines. **Indian Journal of Chemistry B**, New Delhi, v. 43, p. 1532-1536, 2004.

KUMAR, A.; BORA, U. Molecular docking studies of curcumin natural derivatives with DNA topoisomerase I and II-DNA complexes. **Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences**, Heidelberg, v. 6, n. 4, p. 285-291, 2014.

KUMAR, A.; JHA, A. Drug Development Strategies. In: KUMAR, A.; JHA, A. **Anticandidal Agents**. Cambridge: Academic Press, 2017. cap. 7.

KUMAR, D.; KUMAR, N. M.; NOEL, B.; SHAH, K. A series of 2-arylamino-5-(indolyl)-1, 3, 4-thiadiazoles as potent cytotoxic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 55, p. 432-438, 2012.

KUMAR, P.; KUMAR, R.; PRASAD, D. N. Synthesis and anticancer study of 9-aminoacridine derivatives. **Arabian Journal of Chemistry**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 79-85, 2013.

KUMAR, R.; KAUR, M.; KUMARI, M. Acridine: a versatile heterocyclic nucleus. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, Warszawa, v. 69, n. 1, p. 3-9, 2012.

KUMAR, S.; BAWA, S.; GUPTA, H. Biological activities of quinoline derivatives. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, Hilversum, v. 9, p. 1648-1654, 2009.

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

fluorescente. 2016. 167 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas)–Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2016.

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 JÚNIOR, L. B.; LIMA, M. C. A. Synthesis, DNA binding and topoisomerase I inhibition activity of thiazacridine and imidazacridine derivatives. **Molecules**, Basel, v. 18, n. 12, p. 15035-15050, 2013.

LAL, S.; SNAPE, T. J. 2-Arylindoles: a privileged molecular scaffold with potent, broad-ranging pharmacological activity. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 19, p. 4828-4837, 2012.

LAW, V.; KNOX, C.; DJOUMBOU, Y.; JEWISON, T.; GUO, A. C.; LIU, Y.; MACIEJEWSKI, A.; ARNDT, D.; WILSON, M.; NEVEU, V.; TANG, A.; GABRIEL, G.; LY, C.; ADAMJEE, S.; DAME, Z. T.; HAN, B.; ZHOU, Y.; WISHART, D. S. DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism, **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 42, D1091-D1097, 2014.

LEBOHO, T. C.; MICHAEL, J. P.; CAN OTTERLO, W. A.; VAN VUUREN, S. F.; KONING, C. B. The synthesis of 2-and 3-aryl indoles and 1,3,4,5-tetrahydropyrano[4,3-b] indoles and their antibacterial and antifungal activity. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 19, p. 4948-4951, 2009.

LEMKE, T. L.; WILLIAMS, D. A.; ROCHE, V. F.; ZITO, S. W. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**. 7. ed. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013. 1520 p.

LI, A. P. Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. **Drug Discovery Today**, Kidlington, 2001, v. 6, n. 7, p. 357-366, 2001.

LI, Y. Y.; WU, H. S.; TANG, L.; FENG, C. R.; YU, J. H.; LI, Y.; YANG, Y. S.; YANG, B.; HE, O. J. The potential insulin sensitizing and glucose lowering effects of a novel indole derivative *in vitro* and *in vivo*. **Pharmacological Research**, Amsterdam, v. 56, p. 335-343, 2007.

LIMA, G. S.; CASTRO-PINTO, D. B.; MACHADO, G. C.; MACIEL, M. A. M.; ECHEVARRIA, A. Antileishmanial activity and trypanothione reductase effects of terpenes from the Amazonian species *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae). **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 22, p. 1133-1137, 2015.

LIMA, L. M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 6, p. 1456-1468, 2007.

LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. Bioisosterism: a useful strategy for molecular modification and drug design. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 12, p. 23-49, 2005.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 23, p. 3-25, 1997.

- LIPINSKI, C.A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B.W.; FEENEY, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced drug delivery reviews**, Amsterdam, v. 46, p. 3-26, 2001.
- LOPES, A. B.; MIGUEZ, E.; KUMMERLE, A. E.; RUMJANEK, V. M.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. Characterization of amide bond conformers for a novel heterocyclic template of n-acylhydrazone derivatives. **Molecules**, Basel, v. 18, p. 11683-11704, 2013.
- MACDONOUGH, M. T.; STRECKER, T. E.; HAMEL, E.; HALL, J. J.; CHAPLIN, D. J.; TRAWICK, M. L.; PINNEY, K. G. Synthesis and biological evaluation of indole-based, anti-cancer agents inspired by the vascular disrupting agent 2-(3'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-3-(3'',4'',5''-trimethoxybenzoyl)-6-methoxyindole (OXi8006). **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 21, n. 21, p. 6831-6843, 2013.
- MARELLA, A.; TANWAR, O. P.; SAHA, R.; ALI, M. R.; SRIVASTAVA, S.; AKHTER, M.; SHAQUIQUZZAMAN, M.; ALAM, M. M. Quinoline: a versatile heterocyclic. **Saudi Pharmaceutical Journal**, Riyadh, v. 21, p. 1-12, 2013.
- MASUNARI, A.; TAVARES, L. C. Aplicação de estudos de QSAR-2D em derivados 5-nitro-2-tiofilidênicos com atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* multiresistente (MRSA). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 2, p. 203-214, 2006.
- MATSA, R.; MAKAM, P.; KAUSHIK, M.; HOTI, S. L.; KANNAN, T. Thiosemicarbazone derivatives: design, synthesis and *in vitro* antimalarial activity studies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 137, p. 104986, 2019.
- MENEGATTI, R.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. A. Importância da síntese de fármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 3, p. 16-22, maio 2001.
- MISRA, M.; PANDEY, S. K.; PANDEY, V. P.; PANDEY, J.; TRIPATHI, R.; TRIPATHI, R. P. Organocatalyzed highly atom economic one pot synthesis of tetrahydropyridines as antimalarials. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 17, p. 625-633, 2009.
- MISRA, R.; DAS, M.; SAHOO, B. S.; SAHOO, S. K. Reversal of multidrug resistance in vitro by co-delivery of MDR1 targeting siRNA and doxorubicin using a novel cationic poly(lactide-co-glycolide) nanoformulation. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 475, n. 1-2, p. 372-384, 2014.
- MONTANARI, C. A.; CAUDIO, A. C. Estratégias e princípios do planejamento molecular de fármacos. In: MONTANARI, C. A. (Org.). **Química medicinal: métodos e fundamentos em planejamento de fármacos**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2011. cap. 8.
- MONTECUCCO, A.; ZANETTA, F.; BIAMONTI, G. Molecular mechanisms of etoposide. **Experimental and clinical sciences journal**, Mainz, v. 14, p. 95-108, 2015.
- MORGAN, H. P.; MCNAE, I. W.; NOWICKI, M. W.; HANNAERT, V.; MICHELS, P. A. M.; FOTHERGILL-GILMORE, L. A.; WALKINSHAW, M. D. Allosteric Mechanism of

Pyruvate Kinase from *Leishmania mexicana* Uses a Rock and Lock Model. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 17, p. 12892-12898, 2010.

MORIGUCHI, I.; HIRONO, S.; NAKAGOME, I.; HIRANO, H. **Comparison of Reliability of Log P Values for Drugs Calculated by Several Methods**. 1994.

MORRIS, G. M.; GOODSELL, D. S.; HALLIDAY, R. S.; HUEY, R.; HART, W. E.; BELLEW, R. K.; OLSON, A. J. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. **Journal of Computational Chemistry**, New York, v. 19, n. 14, p. 1639-1662, 1998.

MORRIS, G. M.; HUEY, R.; LINDSTROM, W.; SANNER, M. F.; BELEW, R. J.; GOODSELS, D. S.; OLSON, A. J. Autodock4 and autodocktools4: Automated *Docking* with Selective Receptor Flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, Nova York, v. 30, n. 16, p.2785-2791, 2009.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, Amsterdam, v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 1983.

MOURA, R. O. **Síntese e avaliação *in vitro* de novos derivados isoquinolínicos, quinazolínicos, pirimidínicos e piridínicos acridínicos**. 2009. 238 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2009.

MOURA, W. C. S. **Estudo *in silico*, síntese e avaliação *in vitro* de novos derivados acridínicos com possível ação antitumoral**. 2019. 145 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande. 2019.

MROZEK-WILCZKIEWICZ, A.; MALARZ, K.; REJMUND, M.; POLANSKI, J.; MUSIOL, R. Anticancer activity of the thiosemicarbazones that are based on di-2-pyridine ketone and quinoline moiety. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 171, p. 180-194, 2019.

MURUGAN, R.; SCRIVEN, E. F. V. Chapter 1: Introduction. In: SCRIVEN, E. F. V. **Pyridines: from lab to production**. Cambridge: Academic Press, 2013.

NAIR, M.; SANDHU, S. S.; SHARMA, A. K. Cancer molecular markers: a guide to cancer detection and management. **Seminars in Cancer Biology**, London, 2018. doi: 10.1016/j.semcancer.2018.02.002.

NASIM, A.; BRYCHCY, T. Genetic Effects of Acridine Compounds. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 65, p. 261-288, 1979.

NEPALI, K.; SHARMA, S.; SHARMA, M.; BEDI, P. M. S.; DHAR, K. L. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 77, p. 422-487, 2014.

NOOTER, K; BRUTEL DE LA RIVIERE, G.; LOOK, M. P.; VAN WINGERDEN, K. E.; HENZEN-LOGMANS, S. C.; SCHEPER, R. J.; FLENS, M. J.; KLIJN, J. G.; STOTER, G.;

- FOEKENS, J. A. The prognostic significance of expression of the multidrug resistance-associated protein (MRP) in primary breast cancer. **British Journal of Cancer**, London, v. 76, n. 4, p. 486-493, 1997.
- OLIVEIRA, K. S. V. Anemias induzidas por fármacos. **Academia de Ciência e Tecnologia**, v. 1, n. 1, 2013.
- PANCHAL, R. G. ULRICH, R. L.; LANE, D.; BUTLER, M. M.; HOUSEWEART, C.; OPPERMAN, T.; WILLIAMS, J. D.; PEET, N. P.; MOIR, D. T.; NGUYEN, T.; GUSSIO, R.; BOWLIN, T.; BAVARI, S. Novel broad-spectrum bis-(imidazolinyndole) derivatives with potent antibacterial activities against antibiotic-resistant strains. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 53, n. 10, p. 4283–4291, 2009.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introduction to spectroscopy**. 4 ed. Belmont: Brooks/Cole, Cengage Learning, 2009.
- PEDROSA, M. O.; CRUZ, R. M. D.; VIANA, J. O.; MOURA, R. O.; ISHIKI, H. M.; BARBOSA FILHO, J. M.; DINIZ, M. F. F. M.; SCOTTI, M. T.; SCOTTI, L. MENDONÇA JUNIOR, F. J. B. Hybrid compounds as direct multitarget ligands: a review. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 17, p. 1044-1079, 2017.
- PEDROSA, S. C. B. L. **Síntese, caracterização estrutural e estudos do mecanismo de ação antitumoral de derivados indólicos**. 2017. 205 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas)–Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2017.
- PETIT, S.; NALLET, J. P.; GUILLARD, M.; DREAUX, J.; CHERMAT, R.; PONCELET, M.; BULACH, C.; SIMON, P.; FONTAINE, C.; BARTHELMEBS, M.; IMBS, J. L. Synthèses et activités psychotropes de 3,4-diarylpipéridines. Corrélation structure-activité et recherche d'une activité antihypertensive. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 26, n. 1, p. 19-32, 1991.
- PIRES, D. E.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 58, n. 9, p. 4066-4072, 2015.
- PRAJAPATI, S. M.; PATEL, K. D.; VEKARIYA, R. H.; PANCHAL, S. N.; PATEL, H. D. Recent advances in the synthesis of quinolines: a review. **RSC Advances**, Cambridge, v. 4, p. 24463-24476, 2014.
- PRASAD, V.; MAILANKODY, S. Research and development spending to bring a single cancer drug to market and revenues after approval. **JAMA International Medicine**, Chicago, v. 177, n. 11, p. 1569-1575, 2017.
- POMMIER, Y. DNA Topoisomerase I inhibitors: chemistry, biology and interfacial inhibition. **Chemical Reviews**, Maryland, v. 109, n. 7, p. 2894-2902, 2009.
- POMMIER, Y.; LEO, E.; ZHANG, H.; MARCHAND, C. DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. **Chemistry & Biology Review**, Bethesda, v. 17, p. 421-433, 2010.

POMMIER, Y.; POURQUIER, P.; FAN, Y.; STRUMBERG, D. Mechanism of action of eukaryotic DNA topoisomerase I and drugs targeted to the enzyme. **Biochimica et biophysica acta**, Amsterdam, v. 1400, n. 1-3, p. 83,105, 1998.

POTTS, R. O.; GUY, R. H. Predicting Skin Permeability. **Pharmaceutical. Research**, Berlin, v. 09, n. 5, p. 663–669, 1992.

PUBCHEM. National Center for Biotechnology Information. Triapine, CID=9571836. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Triapine>>. Acesso em 4 de agosto de 2019.

RAO, K. N.; REDDA, K. K.; ONAYEMI, F. Y.; MELLES, H.; CHOI, J. Synthesis of some N-[pyridyl (phenyl)carbonylamino]hydroxyalkyl-(benzyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridines as potential anti-inflammatory agents. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, Hoboken, v. 32, p. 307-315, 1995.

RAVINDERNATH, A.; REDDY, M. S. Synthesis and evaluation of anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial activities of densely functionalized novel benzo [d] imidazolyl tetrahydropyridine carboxylates. **Arabian Journal of Chemistry**, Amsterdam, v. 10, p. S1172-S1179, 2017.

RESCIFINA, A.; ZAGNI, C.; VARRICA, M.G.; PISTARA, V.; CORSARO, A. Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: synthesis, activity and modeling, **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, 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**, Paris, v. 182, p. 111592, 2019.

ROMÃO, P. R. T. Leishmaniose: resposta imune e mecanismos antioxidantes de escape. **Revista de Pesquisa e Extensão em Saúde**, v. 3, n. 1, 2007.

ROMERO, A. H.; LÓPEZ, S. E. *In silico* molecular docking studies of new potential 4-phthalazinyl-hydrazones on selected *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* enzyme targets. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, New York, v. 76, p. 313-329, 2017.

SALEH, N. A.; ELHAES, H.; IBRAHIM, M. Design and development of some viral protease inhibitors by QSAR and molecular modeling studies. In: GUPTA, S. P. **Viral Proteases and Their Inhibitors**. Cambridge: Academic Press, 2017. cap. 2.

SÁNCHEZ, I.; RECHES, R.; CAIGNARD, D. H.; RENARD, P.; PUJOL, M. D. Synthesis and biological evaluation of modified acridines: the effect of N-and O-substituent in the nitrogenated ring on antitumor activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 41, n. 3, p. 340-352, 2006.

SANTACRUZ, M. C. S.; FABIANI, M.; CASTRO, E. F.; CAVALLARO, L. V.; FINKIELSZTEIN, L. M. Synthesis, antiviral evaluation and molecular docking studies of N4-aryl substituted/unsubstituted thiosemicarbazones derived from 1-indanones as potent anti-bovine viral diarrhea virus agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 25, n. 15, p. 4055-4063, 2017.

SANT'ANNA, C. M. R. Glossário de termos usados no planejamento de fármacos (recomendações da IUPAC para 1997). **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 505-512, 2002.

SCHMIDT, A.; LIU, M. Chapter Four-Recent Advances in the Chemistry of Acridines. **Advances in Heterocyclic Chemistry**, New York, v. 115, p. 287-353, 2015.

SEBASTIAN, L.; DESAI, A.; SHAMPUR, M. N.; PERUMAL, Y.; SRIRAM, D.; VASANTHAPURAM, R. N-methylisatin-beta-thiosemicarbazone derivative (SCH 16) is an inhibitor of Japanese encephalitis virus infection *in vitro* and *in vivo*. **Virology Journal**, London, v. 5, p. 64, 2008.

SERAFIM, V. L.; FÉLIX, M.B.; FRADE SILVA, D. K.; RODRIGUES, K. A. D. F.; ANDRADE, P. N.; DE ALMEIDA, S. M. V.; SANTOS, S. A.; DE OLIVEIRA, J. F.; DE LIMA, M. D. C. A.; MENDONÇA-JUNIOR, F. J. B.; SCOTTI, M. T.; OLIVEIRA, M. R.; MOURA, R. O. New thiophene-acridine compounds: Synthesis, antileishmanial activity, DNA binding, chemometric, and molecular docking studies. **Chemical Biology & Drug Design**, Oxford, v. 91, n. 6, p. 1141-1155, 2018.

SEREŠ, M.; CHOLUJOVÁ, D.; BUBENČÍKOVÁ, T.; BREIER, A.; SULOVÁ, Z. Tunicamycin depresses p-glycoprotein glycosylation without an effect on its membrane localization and drug efflux activity in L1210 cells. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 12, n. 11, p. 7772-7784, 2011.

SENS, L.; DE SOUZA, A. C. A.; PACHECO, L. A.; MENEGATTI, A. C. O.; MORI, M.; MASCARELLO, A.; NUNES, R.; TERENCEZI, H. Synthetic thiosemicarbazones as a new class of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase A inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 26, p. 5742-5750, 2018.

SHALEL, S.; STRICHMAN, S.; MARMUR, A. The mechanism of hemolysis by surfactants: effect of solution composition. **Journal of Colloid and Interface Science**, Orlando, v. 252, p. 66-76, 2002.

SILVA, A. P. MARTINI, M. V.; DE OLIVEIRA, C. M. A.; CUNHA, S.; DE CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; SILVA, C. C. Antitumor activity of (α)-a-bisabolol-based thiosemicarbazones against human tumor cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 45, p. 2987-2993, 2010.

SILVA, J. M. **Planejamento e desenvolvimento de novos derivados acridínico, quinolínico, indólicos e piridínicos com potencial atividade antitumoral**. 2018. 211 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande. 2018.

SILVA, T. F. Abordagens da química medicinal para o planejamento de protótipos de fármacos. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 5, n. 5, p. 921-933, 2013.

SILVA FILHO, F. A.; 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 acridine-thiosemicarbazone derivatives. *International Journal of Biological Macromolecules*, Amsterdam, v. 138, p. 582-589, 2019.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7 ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos – LTC, 2015. 490 p.

SINGH, A.; JANA, N. K. Discovery of potential Zika virus RNA polymerase inhibitors by docking-based virtual screening. *Computational Biology and Chemistry*, Oxford, v. 71, p. 144-151, 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*, Paris, v. 170, p. 237-260, 2019.

SHAIK, A. R.; PRASAD, Y. R.; BHUVANESWARI, K.; KOLA, P. K. Synthesis and antihistaminic activity of novel pyrazoline derivatives. *International Journal of ChemTech Research*, Mumbai, v. 2, n. 1, p. 16-20, 2010.

SHEKHAR, C. *In silico* pharmacology: computer-aided methods could transform drug development. *Chemistry & Biology* Cambridge, v. 15, p. 413-414, 2008.

SHERMAN, A. R.; GENOVINO, J. Pyridine. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, 2015. Disponível em: <doi:10.1002/047084289X.rp280.pub2>.

SOARES, M. A.; LESSA, J. A.; MENDES, I. C.; DA SILVA, J. G.; DOS SANTOS, R. G.; SALUM, L. B.; DAGHESTANI, H.; ANDRICOPULO, A. D.; DAY, B. W.; VOGT, A.; PESQUERO, J. L.; ROCHA, W. R.; BERALDO, H. N4-Phenyl-substituted 2-acetylpyridine thiosemicarbazones: Cytotoxicity against human tumor cells, structure–activity relationship studies and investigation on the mechanism of action. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Oxford, v. 20, n. 11, p. 3396-3409, 2012.

SOLOMONS, T. W. G., FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 2001.

SOUSA-PEREIRA, D.; GOULART, C. M.; DOS REIS, C. M.; ECHEVARRIA, A. Síntese e avaliação da atividade anticorrosiva de tiossemicarbazida e tiossemicarbazona 4-N-(p-metóxfenil) substituídas. *Revista Virtual de Química*, Niterói, v. 5, n. 4, p. 770-785, 2013.

SRAVANTHI, T. V.; MANJU, S. L. Indoles - A promising scaffold for drug development. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Amsterdam, v. 91, p. 1-10, 2016.

SRIDHAR, S. K.; PANDEYA, S. N.; BAJPAI, S. K.; MANJULA, H. Synthesis antibacterial and antiviral activities of isatin derivatives. *Indian Drugs*, v. 36, n. 6, p. 412-414, 1999.

SRIVALLI, K. M. R.; LAKSHMI, P. K. Overview of P-glycoprotein inhibitors: a rational outlook. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 48, n. 3, 2012.

SUNIL, D.; KAMATH, P. R. Multi-target directed indole based hybrid molecules in cancer therapy: an up-to-date evidence-based review. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, Hilversum, v. 17, n. 9, p. 959-985, 2017.

TANG, Y.; ZHU, W.; CHEN, K.; JIANG, H. New technologies in computer-aided drug design: toward target identification and new chemical entity discovery. **Drug Discovery Today: Technologies**, Kidlington, v. 3, n. 3, p. 307-313, 2006.

TAVARES, L. C. QSAR: A Abordagem de Hansch. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 631-639, 2004.

TENÓRIO, R. P.; GÓES, A. J. S.; DE LIMA, J. G.; DE FARIA, A. R.; ALVES, A. J.; DE AQUINO, T. M. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 6, p. 1030-1038, 2005.

THANH, N. D.; GIANG, N. T. K.; QUYEN, T. H.; HUONG, D. T.; TOAN, V. N. Synthesis and evaluation of *in vivo* antioxidant, *in vitro* antibacterial, MRSA and antifungal activity of novel substituted isatin N-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -d-glucopyranosyl)thiosemicarbazones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 123, p. 532-543, 2016.

THOMAS, G. **Química Medicinal: uma introdução**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

TIAN, S.; WANG, J.; LI, Y.; LI, D.; XU, L.; HOU, T. The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 86, p. 2-10, 2015.

TOPLISS, J. G. Utilization of operational schemes for analog synthesis in drug design. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 15, n. 10, p. 1006-1011, 1972.

TOPLISS, J. G. A manual method for applying the Hansch approach to drug design. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 20, n. 4, p. 463-469, 1977.

TRILLER, N.; KOROSÉC, P.; KERN, I.; KOSNIK, M.; DEBELJAK, A. Multidrug resistance in small cell lung cancer: expression of P-glycoprotein, multidrug resistance protein 1 and lung resistance protein in chemo-naive patients and in relapsed disease. **Lung Cancer**, Limerick, v. 54, n. 2, p. 235-240, 2006.

UPADHYAY, R. K. Drug delivery systems, CNS protection, and the blood brain barrier. **BioMed Research International**, New York, p. 869269, 2014.

VARDANYAN, R. Chapter 1 – Introduction. In: VARDANYAN, R. Piperidine-Based Drug Discovery - Heterocyclic Drug Discovery. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 1-82.

VIEGAS-JUNIOR, C.; DANUELLO, A.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, Hilversum, v. 14, n. 17, p. 1829-1852, 2007.

VITAKU, E.; SMITH, D. T.; NJARDARSON, J. T. Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among U.S. FDA approved pharmaceuticals. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 57, n. 24, p. 10257-10274, 2014.

WAINWRIGHT, M. Acridine – a neglected antibacterial chromophore. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 47, p. 1-13, 2001.

WALTERS, W. P.; STAHL, M. T.; MURCKO, M. A.; Virtual screening - an overview. **Drug Discovery Today**, Kidlington, v. 3, p. 160-178, 1998.

WANG, Y.; GU, W.; SHAN, Y.; LIU, F.; XU, X.; YANG, Y.; ZHANG, Q.; ZHANG, Y.; KUANG, H.; WANG, Z.; WANG, S. Design, synthesis and anticancer activity of novel nopinone-based thiosemicarbazone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 27, n. 11, p. 2360-2363, 2017.

WILDMAN, S. A.; CRIPPEN, G. M. Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 39, n. 5, p. 868-873, 1999.

WHEATE, N. J.; BRODIE, C. R.; COLLINS, G.; KEMP, S.; ALDRICH-WRIGHT, R. DNA intercalators in cancer therapy: organic and inorganic drugs and their spectroscopic tools of analysis. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, Hilversum, v. 7, p. 627-648, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guide to cancer early diagnosis. Geneva, 2017. Resenha de: DA SILVA, R. C. F. Guide to cancer early diagnosis. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Salvador, v. 63, n. 1, p. 41-42, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health topics: cancer**. Geneva, 2019. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/cancer/en/>>. Acesso em: 01 maio 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The global burden of disease: 2004 update**. Geneva, 2008. 146 p.

YEE, E. M. H.; BRANDL, M. B.; BLACK, D. S.; VITTORIO, O.; KUMAR, N. Synthesis of isoflavene-thiosemicarbazone hybrids and evaluation of their anti-tumor activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Oxford, v. 27, p. 2454-2458, 2017.

YENGI, L. G.; LEUNG, L.; KAO, J. The evolving role of drug metabolism in drug discovery and development. **Pharmaceutical Research**, New York, v. 24, p. 842-858, 2007.

YUSUF, D.; DAVIS, A. M.; KLEYWEGT, G. J.; SCHMITT, S. An alternative method for the evaluation of docking performance: RSR vs RMSD. **Journal of Chemical Information and Modeling**, Washington, v. 48, n. 7, p. 1411-1422, 2008.

XIANG, M.; CAO, Y.; FAN, W.; CHEN, L.; MO, Y. Computer-aided drug design: lead discovery and optimization. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, Hilversum, n. 15, p. 328-337, 2012.

ZALCBERG, J.; HU, X. F.; SLATER, A.; PARISOT, J.; EL-OSTA, S.; KANTHARIDIS, P.; CHOU, S. T.; PARKIN, J. D. MRP1 not MDR1 gene expression is the predominant mechanism of acquired multidrug resistance in two prostate carcinoma cell lines. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, Houndmills, v. 3, n. 2, p. 66-75, 2000.

ZARETZKI, J.; MATLOCK, M.; SWAMIDASS, S. J. XenoSite: Accurately Predicting CYP-Mediated Sites of Metabolism with Neural Networks. **Journal of Chemical Information and Modeling**, Washington, v. 53, n. 12, p. 3373-3383, 2013.

ZHAO, Y.; ZHANG, J.; ZHUANG, R.; HE, R.; XI, J.; PAN, X.; SHAO, Y.; PAN, J.; SUN, J.; CAI, Z.; LIU, S.; HUANG, W.; LV, X. Synthesis and evaluation of a series of pyridine and pyrimidine derivatives as type II cMet inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 25, n. 12, p. 3195-3205, 2017.

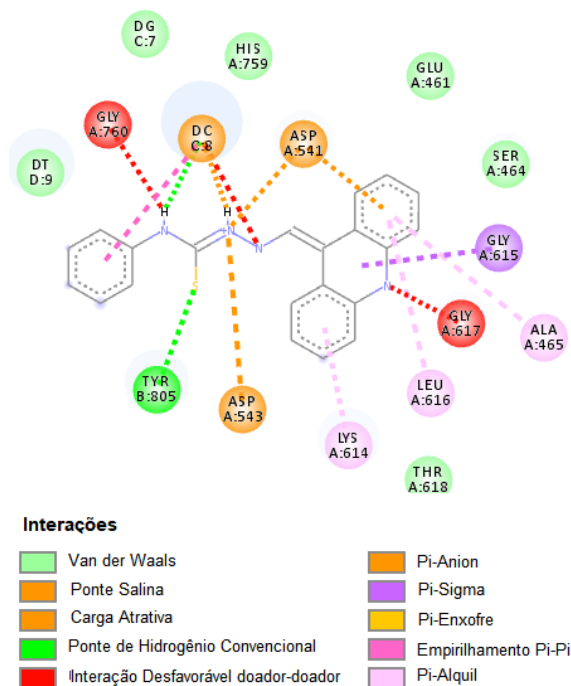
ZHOU, Y.; GREGOR, V. E.; AYIDA, B. K.; WINTERS, G. C.; SUN, Z.; MURPHY, D.; HALEY, G.; BAILEY, D.; FROELICH, J. M.; FISH, S.; WEBBER, S. E.; HERMANN, T.; WALL, D. Synthesis and SAR of 3,5-diamino-piperidine derivatives: novel antibacterial translation inhibitors as aminoglycoside mimetics. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Oxford, v. 17, p. 1206-1210, 2007.

ZUMAN, P.; SHAH, B. Addition, reduction, and oxidation reactions of nitrosobenzene. **Chemical Reviews**, Maryland, v. 94, n. 6, p. 1621-1641, 1994.

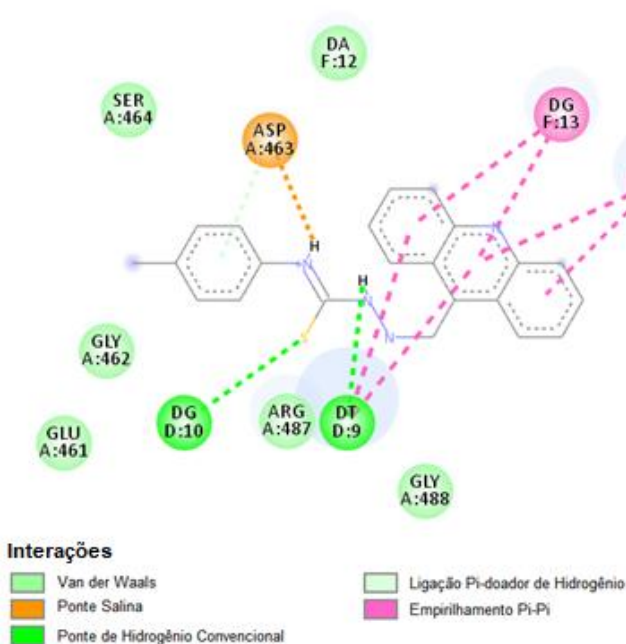
ANEXOS

DOCKING MOLECULAR

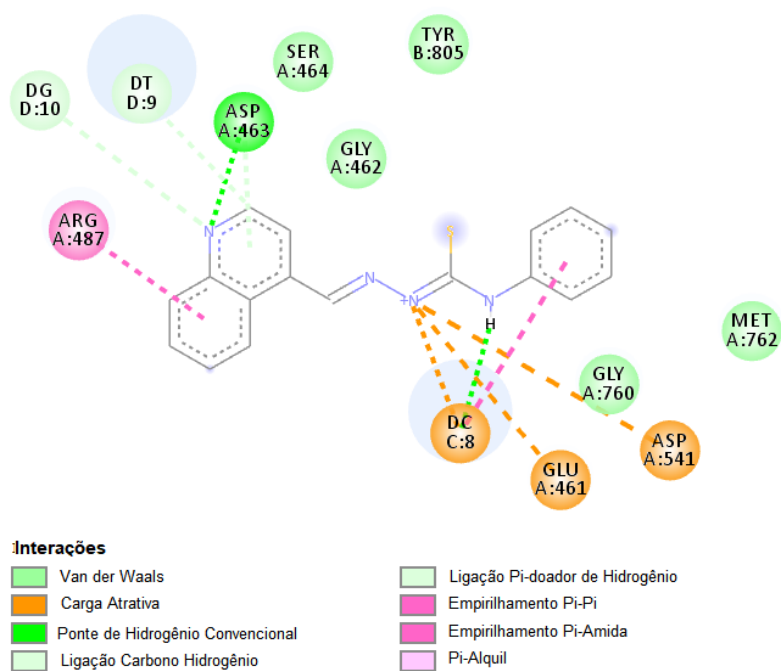
Anexo 1 - Docking molecular da molécula SOL-AC1 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



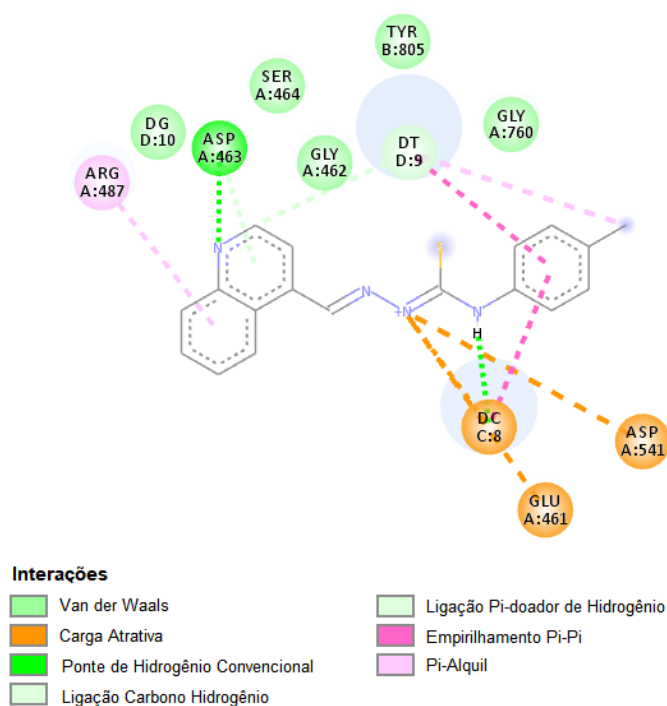
Anexo 2 - Docking molecular da molécula SOL-AC2 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



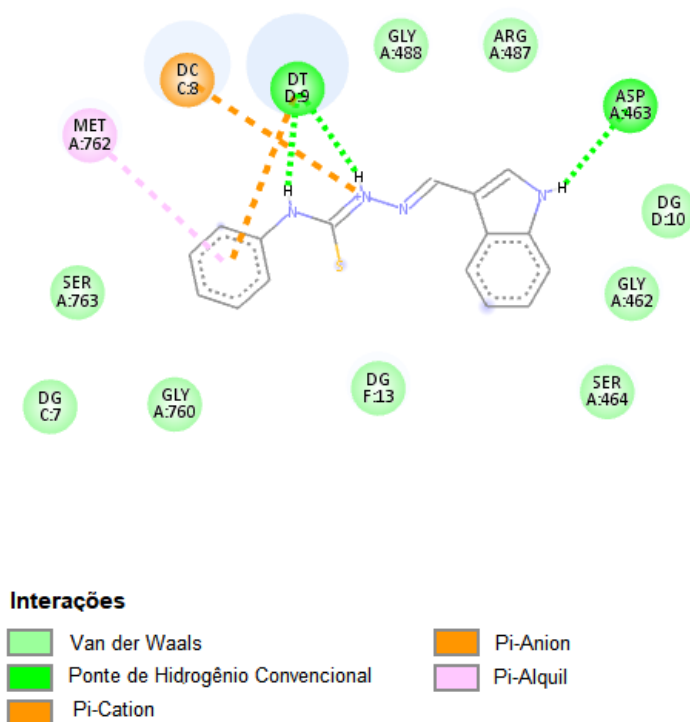
Anexo 3 - Docking molecular da molécula SOL-Q1 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



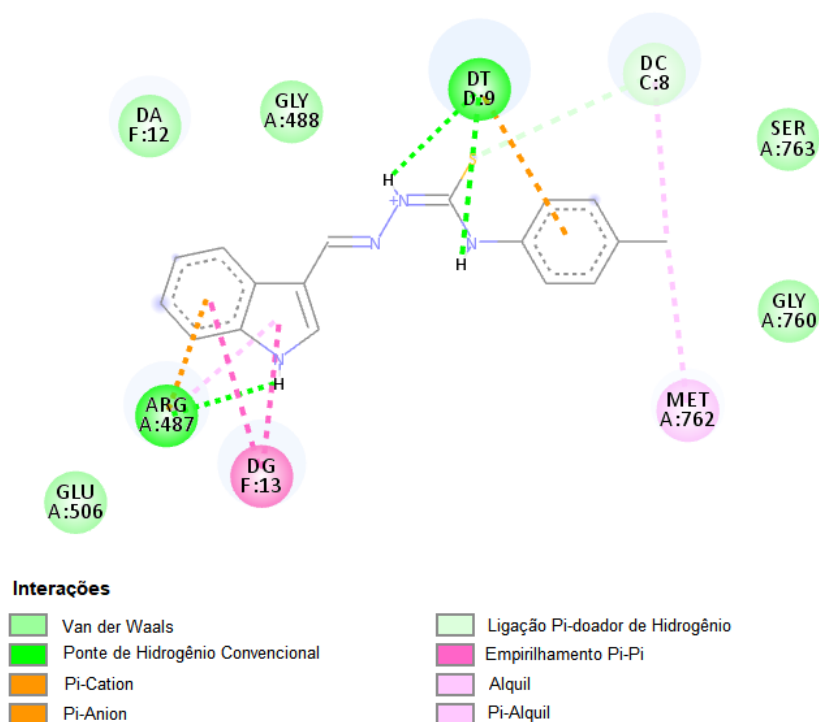
Anexo 4 - Docking molecular da molécula SOL-Q2 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



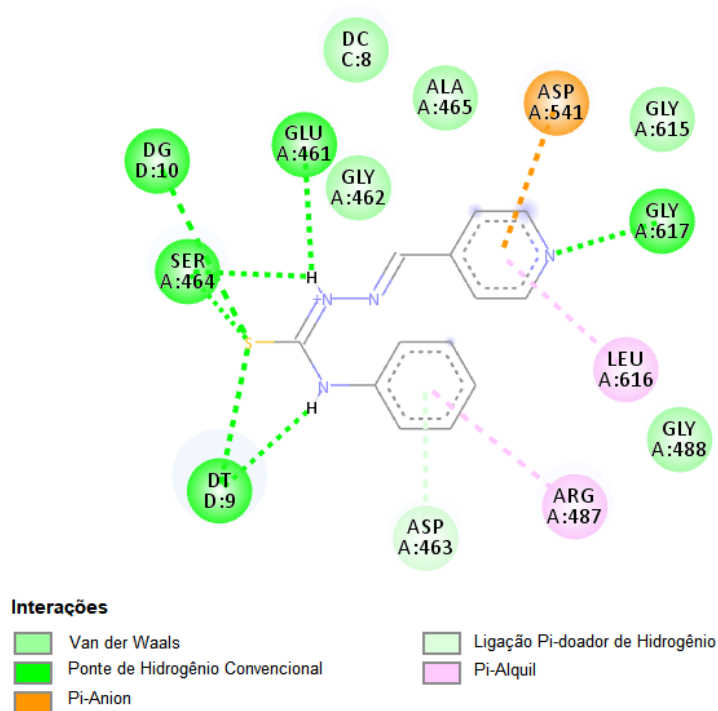
Anexo 5 - Docking molecular da molécula SOL-I1 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



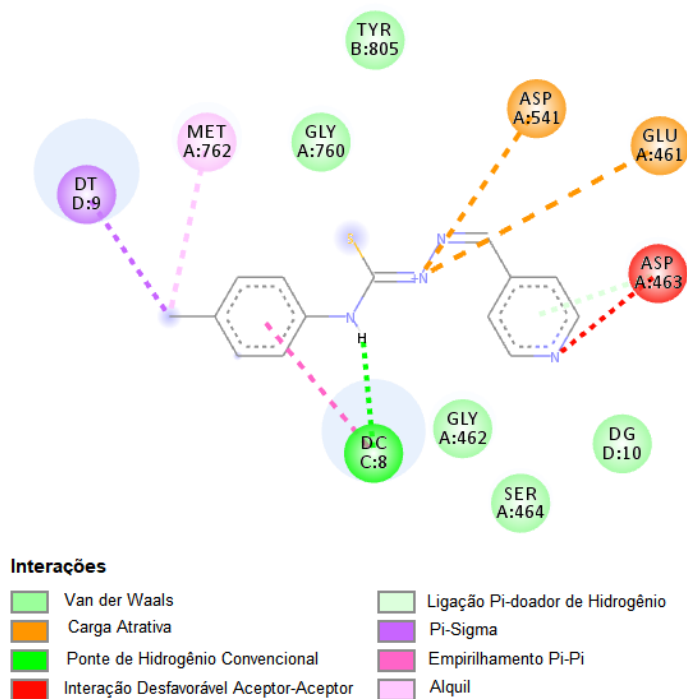
Anexo 6 - Docking molecular da molécula SOL-I2 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



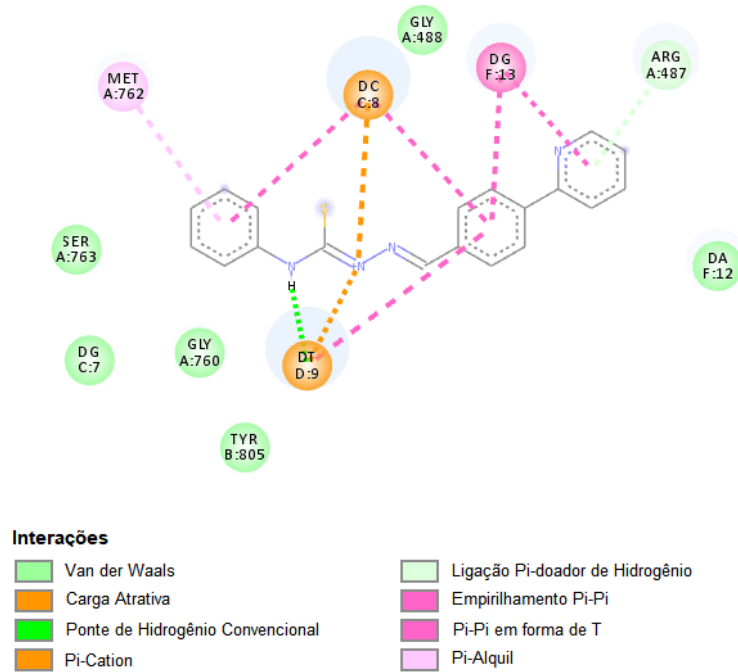
Anexo 7 - Docking molecular da molécula SOL-P1 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



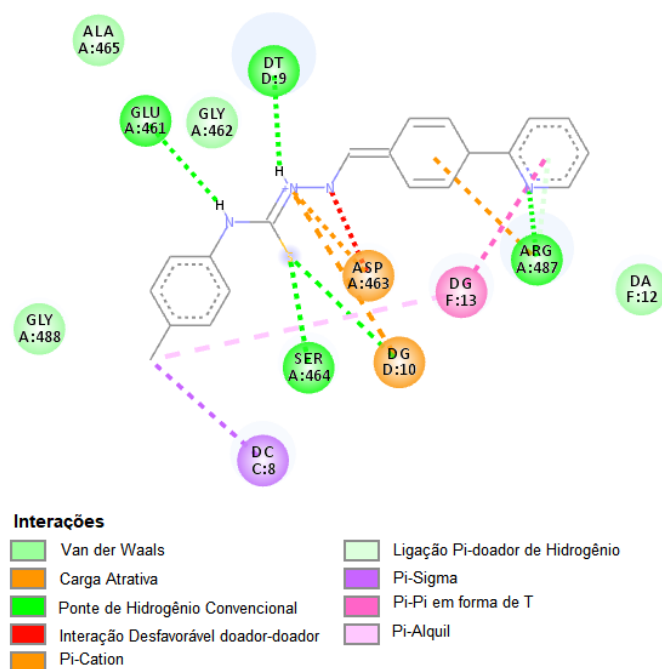
Anexo 8 - Docking molecular da molécula SOL-P2 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



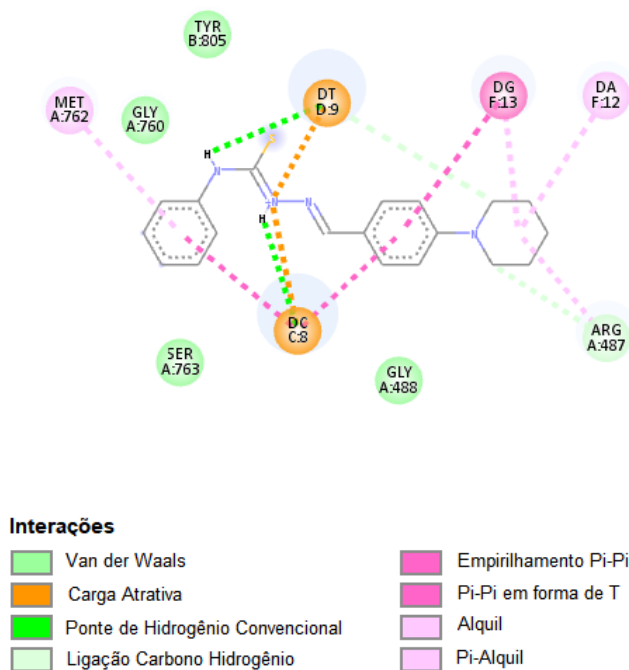
Anexo 9 - Docking molecular da molécula SOL-PR1 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



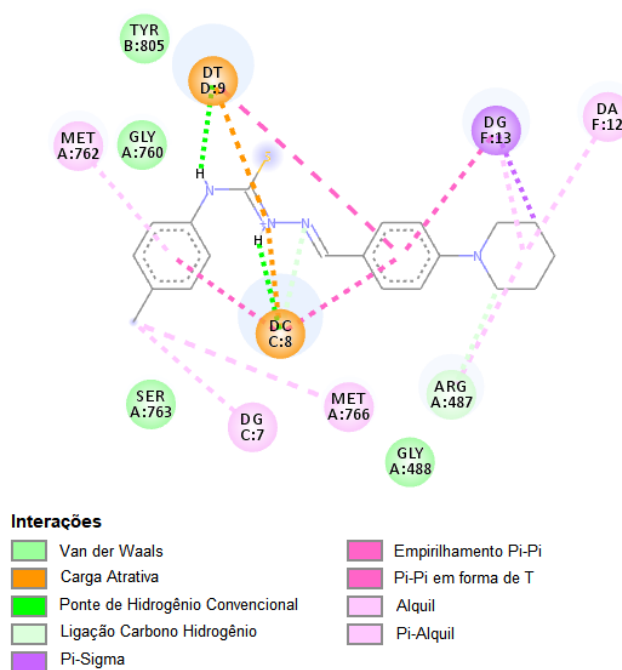
Anexo 10 - Docking molecular da molécula SOL-PR2 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



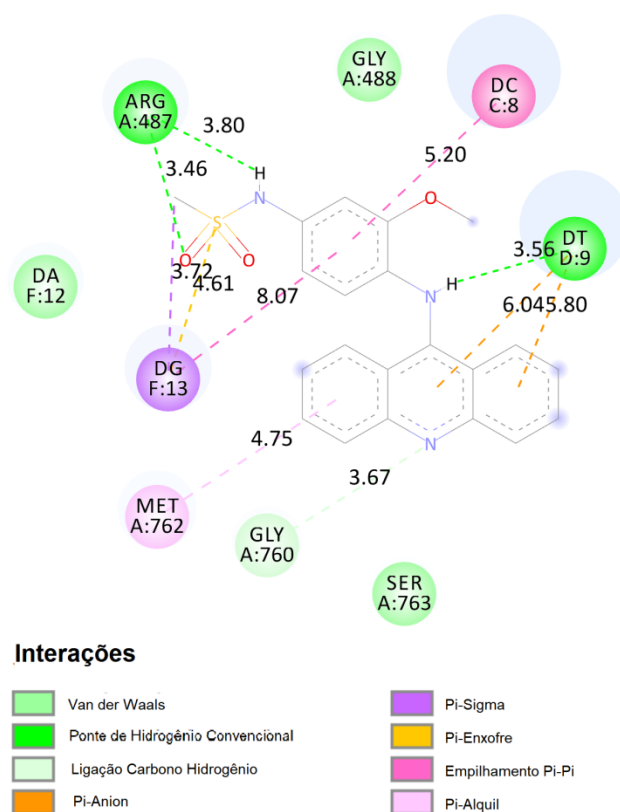
Anexo 11 - Docking molecular da molécula SOL-PP1 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



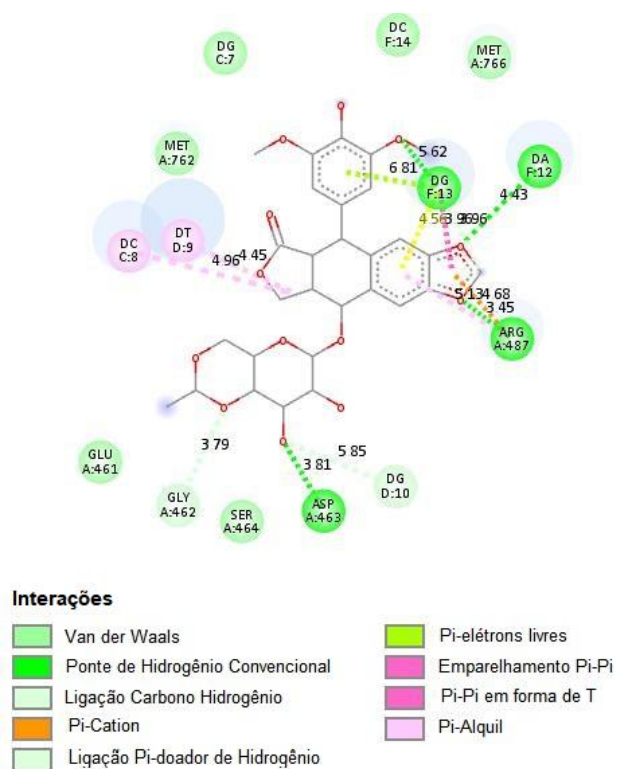
Anexo 12 - Docking molecular da molécula SOL-PP2 no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



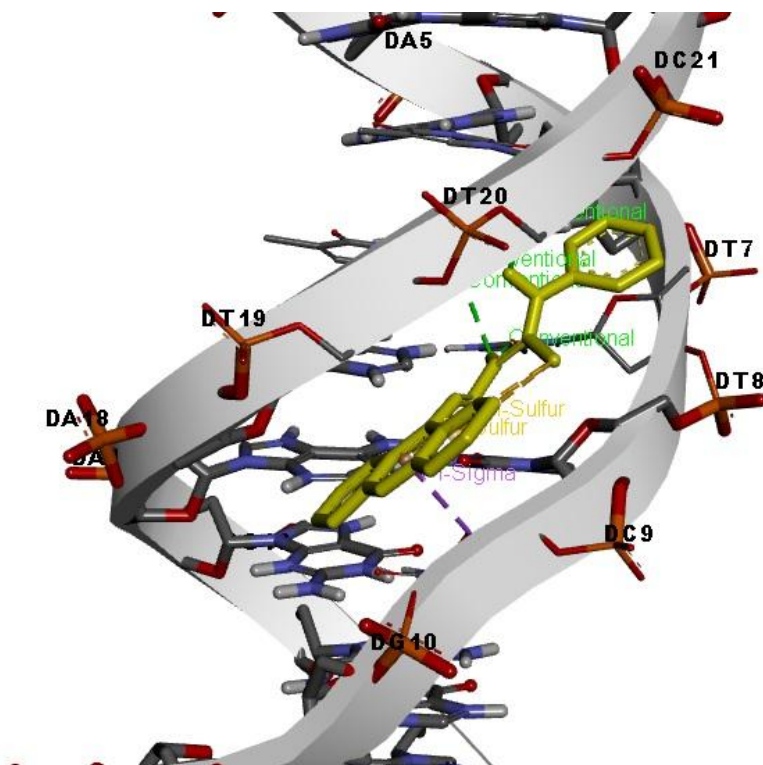
Anexo 13 - Docking molecular da amsacrina no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



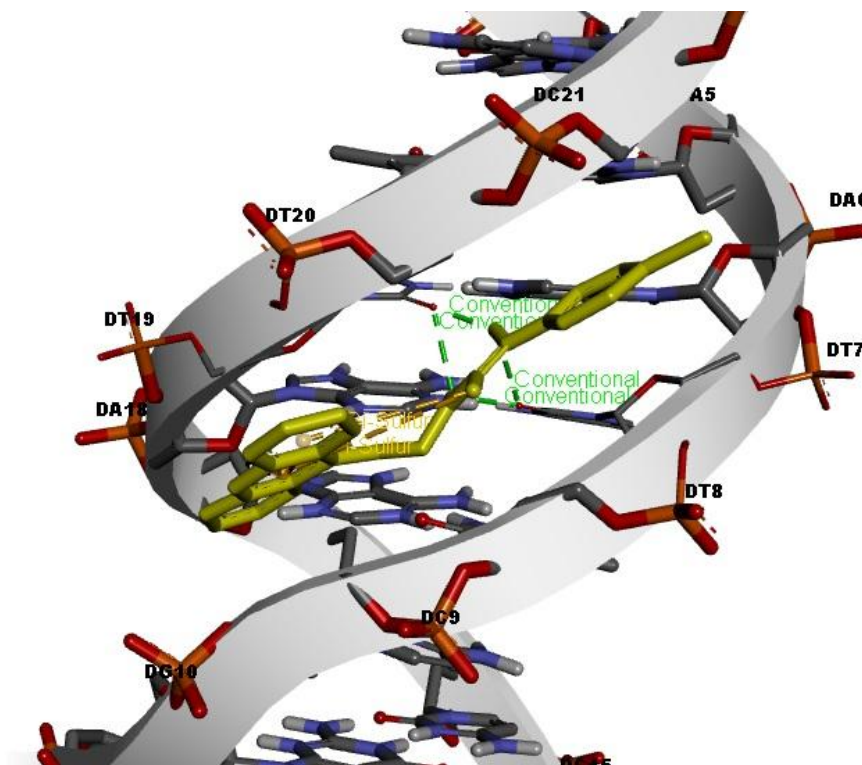
Anexo 14 - Docking molecular do etoposídeo no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



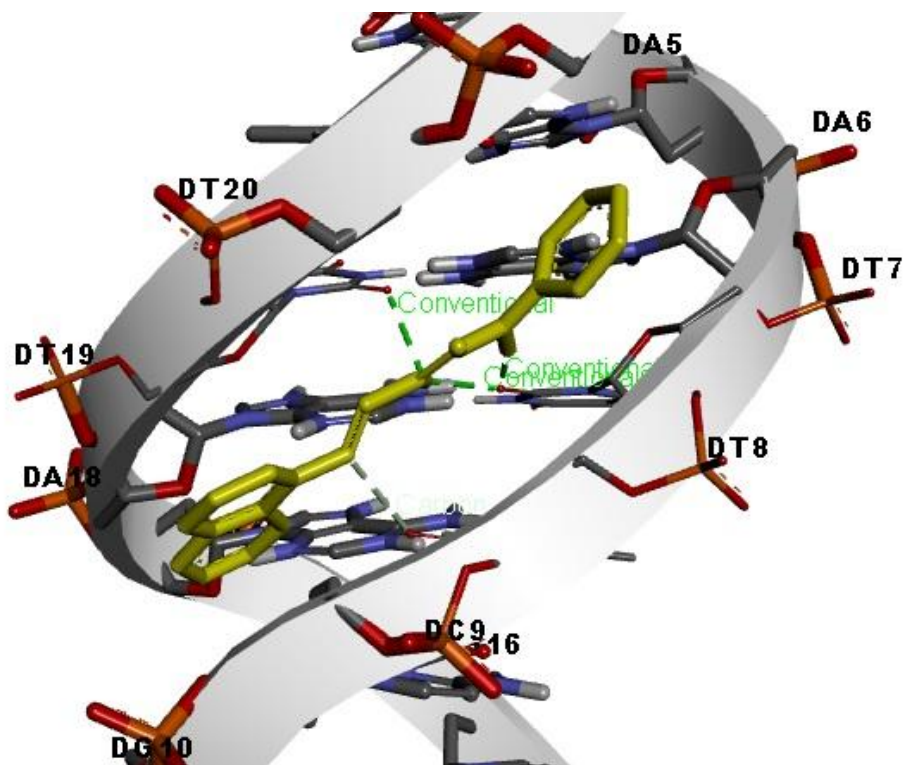
Anexo 15 – *Docking* molecular da molécula SOL-AC1 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



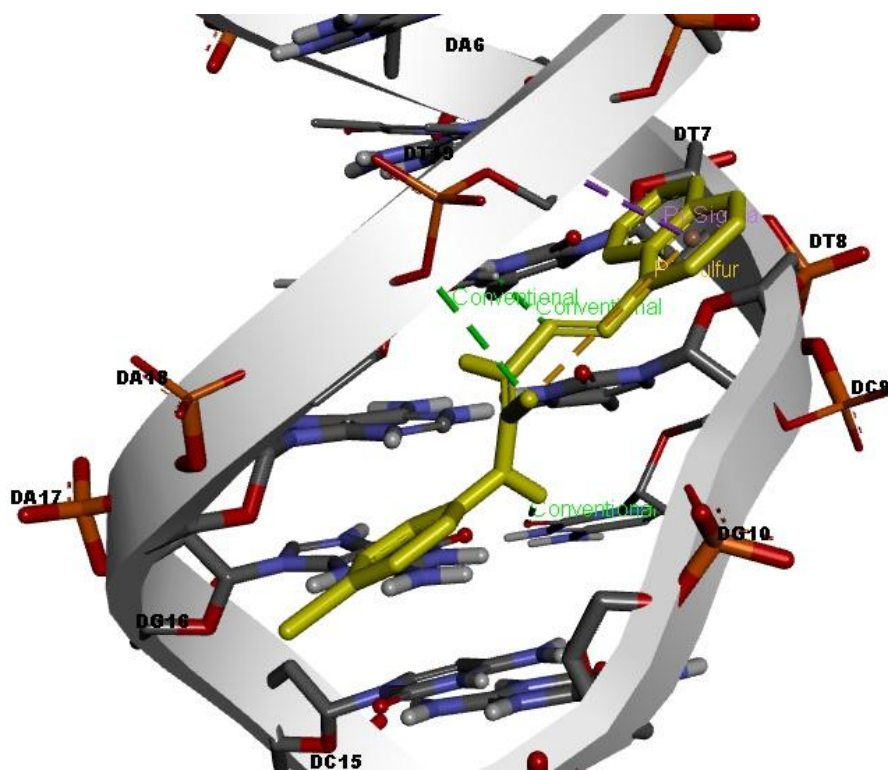
Anexo 16 – *Docking* molecular da molécula SOL-AC2 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



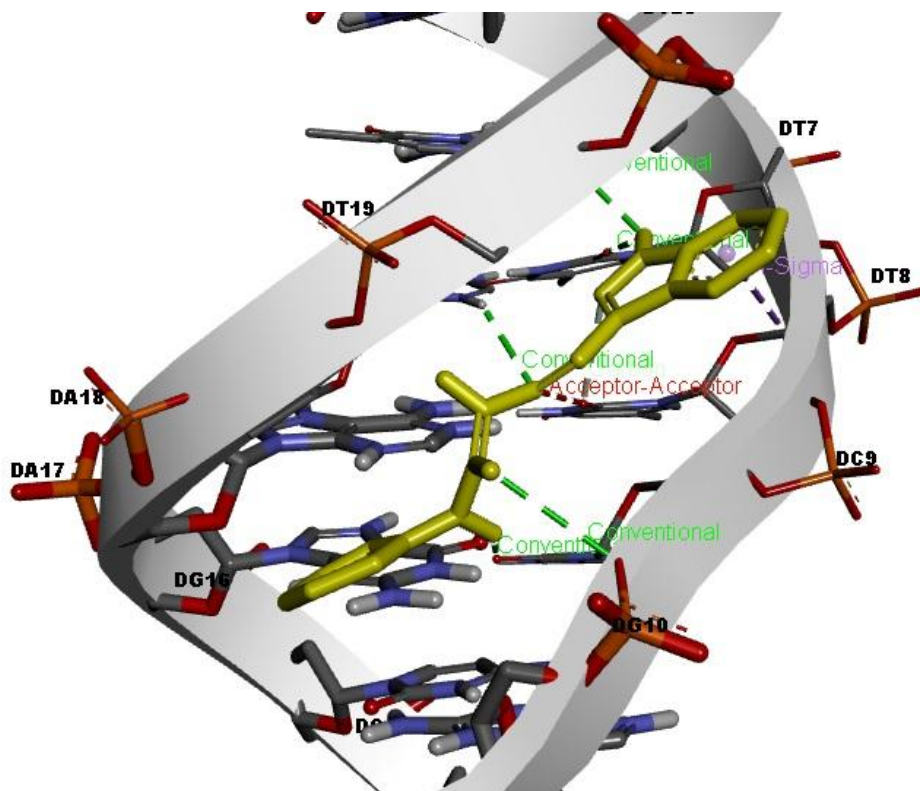
Anexo 17 – Docking molecular da molécula SOL-Q1 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



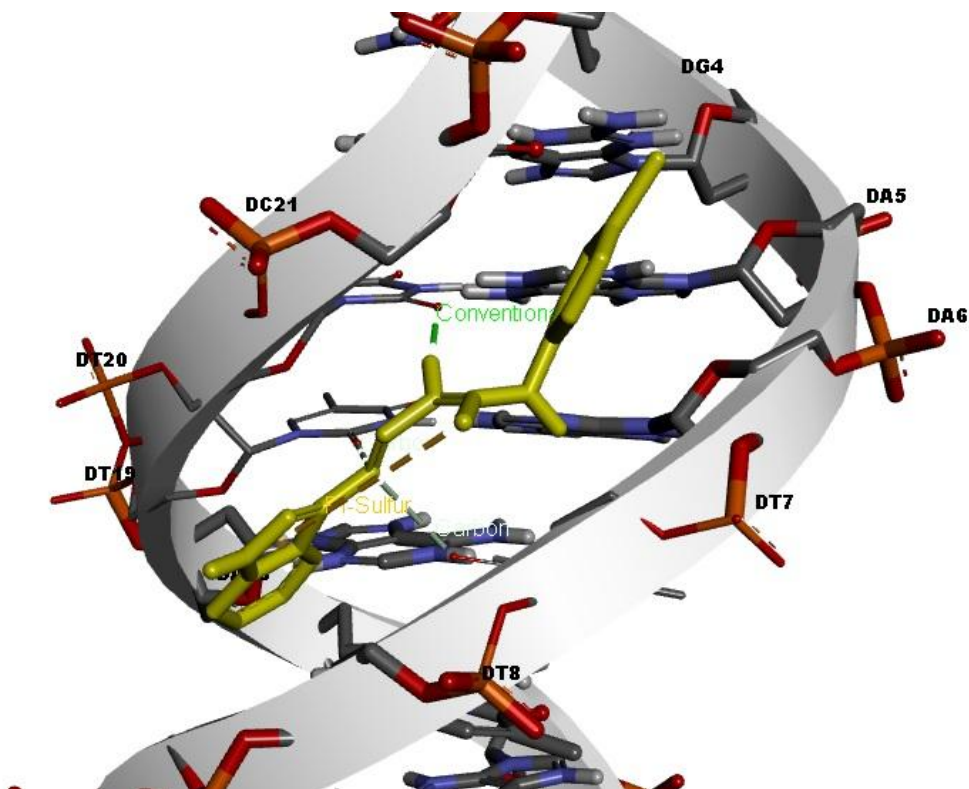
Anexo 18 – Docking molecular da molécula SOL-Q2 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



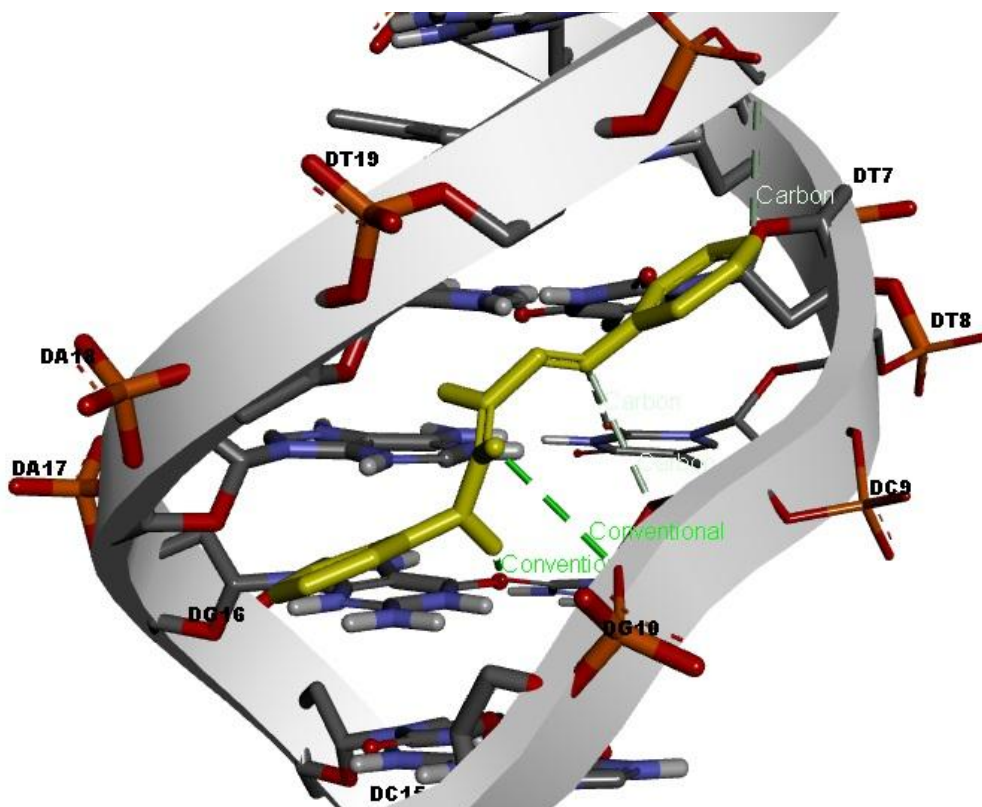
Anexo 19 – Docking molecular da molécula SOL-I1 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



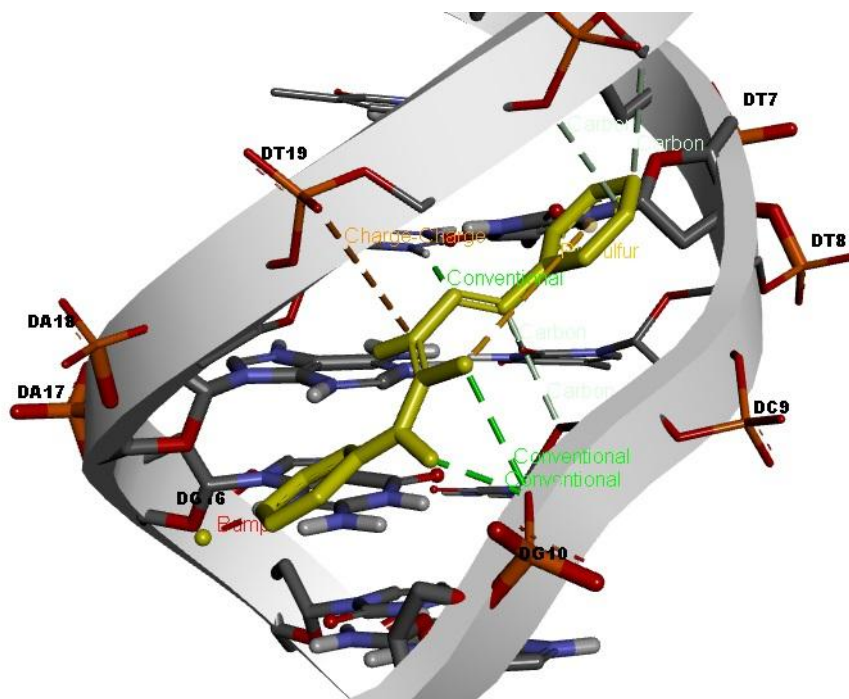
Anexo 20 – Docking molecular da molécula SOL-I2 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



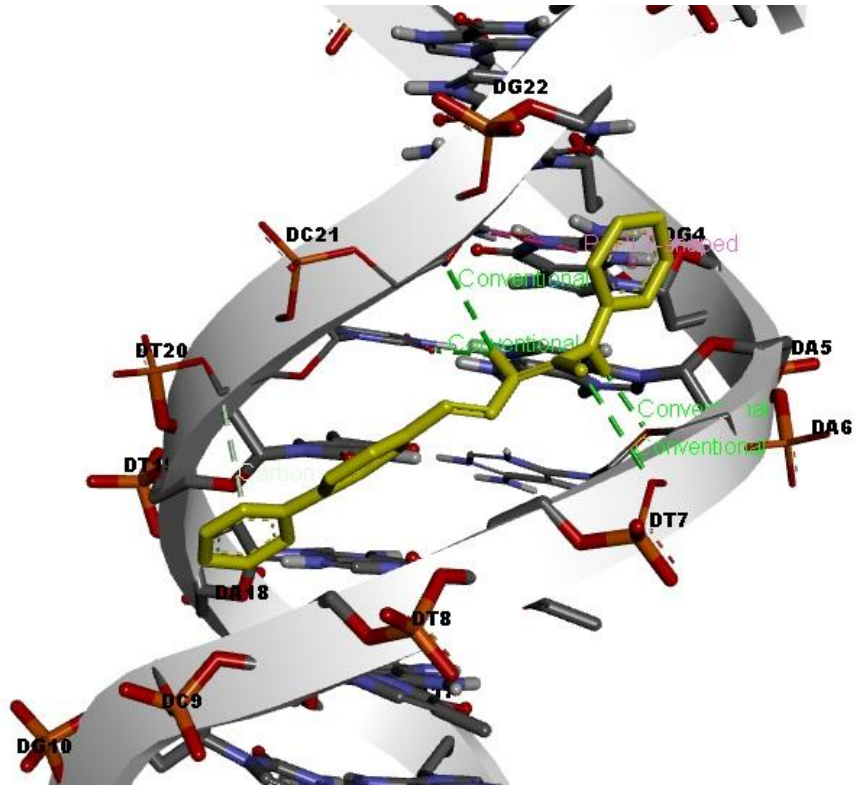
Anexo 21 – *Docking* molecular da molécula SOL-P1 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



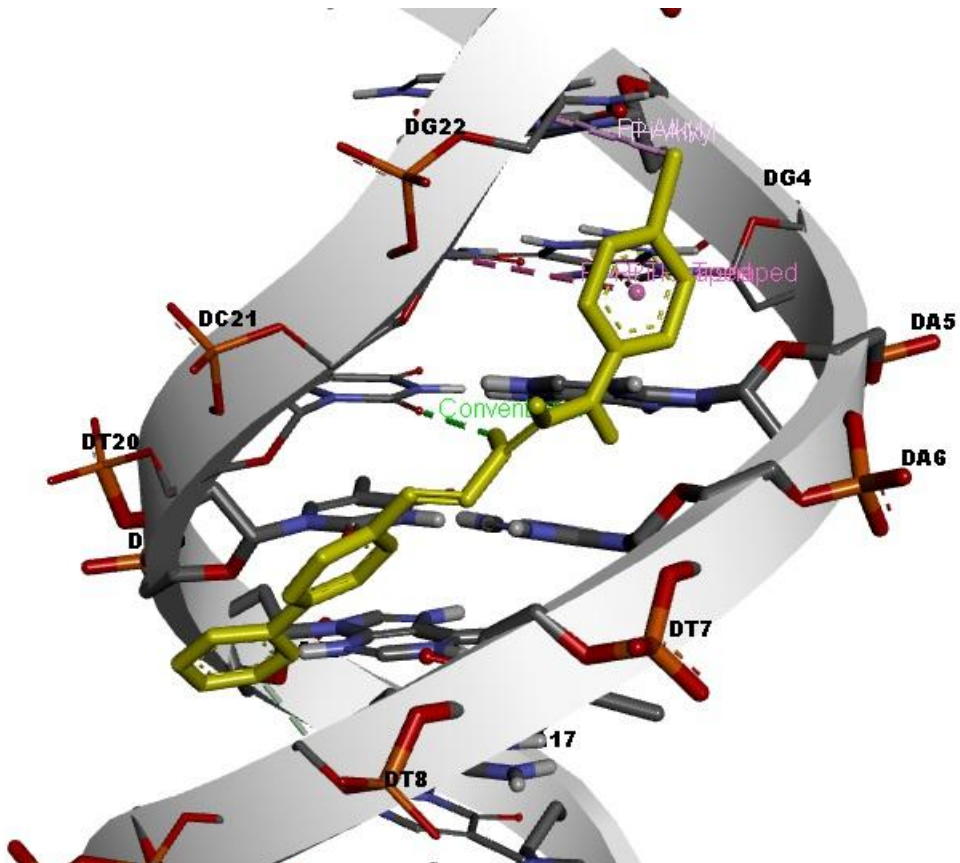
Anexo 22 – *Docking* molecular da molécula SOL-P2 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



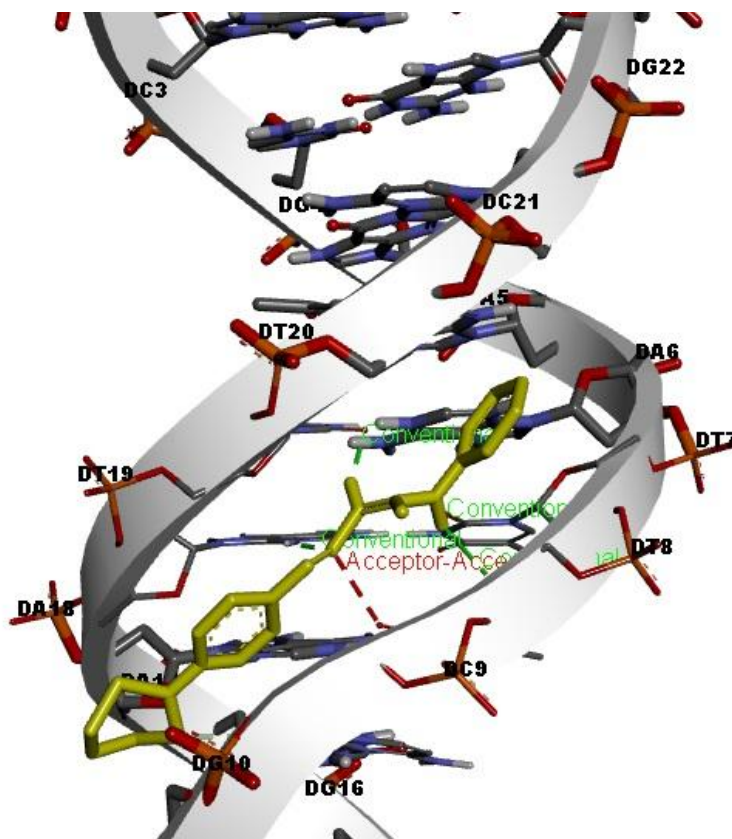
Anexo 23 – Docking molecular da molécula SOL-PR1 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



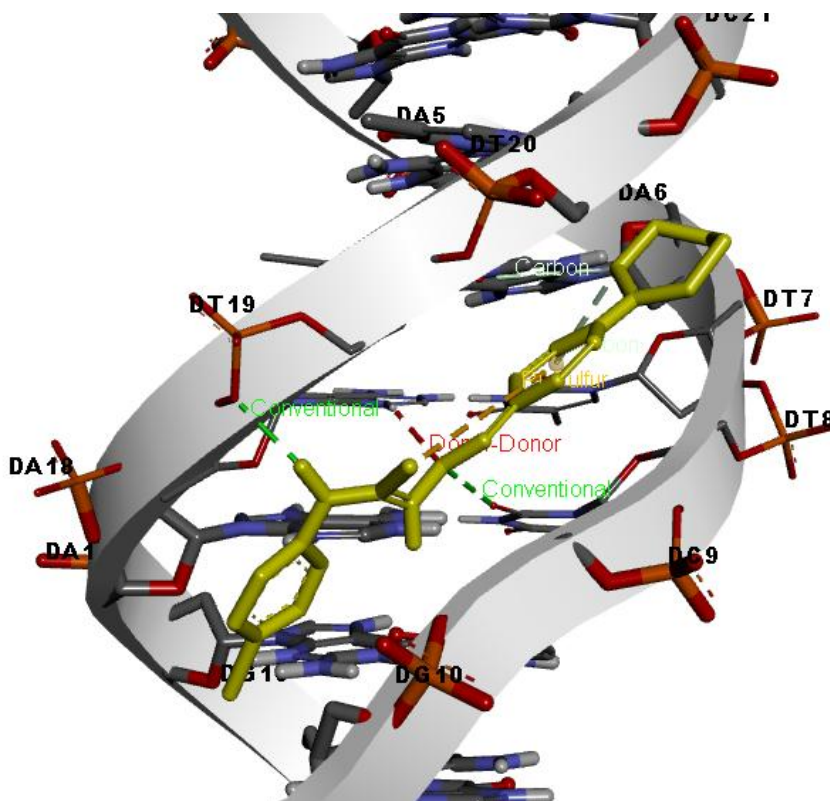
Anexo 24 – Docking molecular da molécula SOL-PR2 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



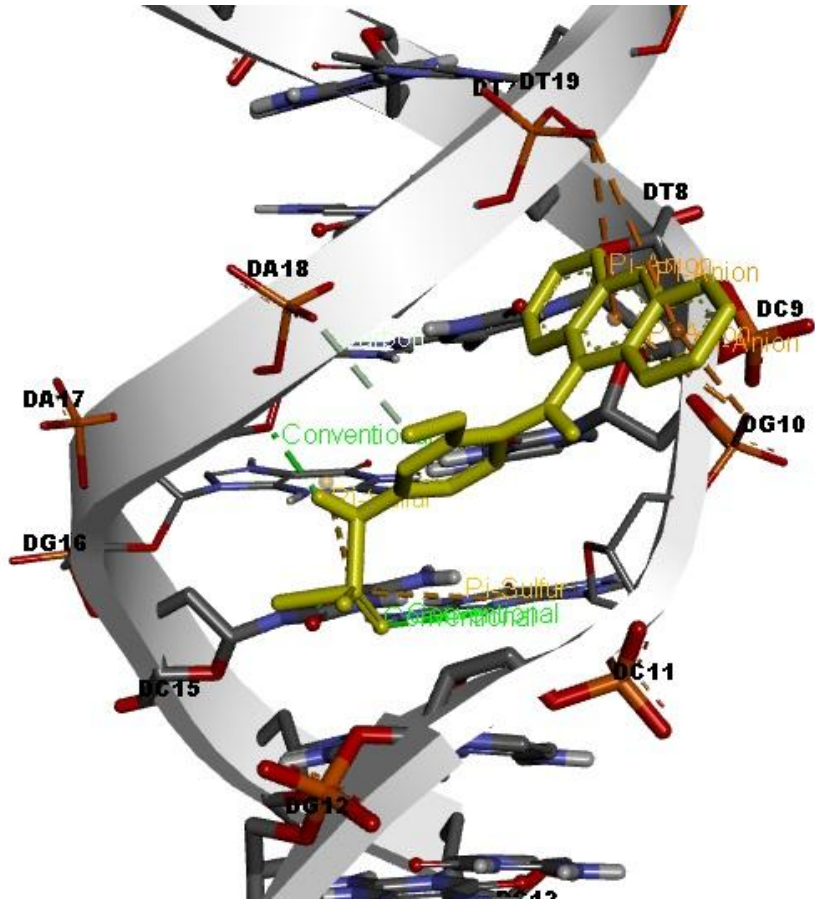
Anexo 25 – Docking molecular da molécula SOL-PP1 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



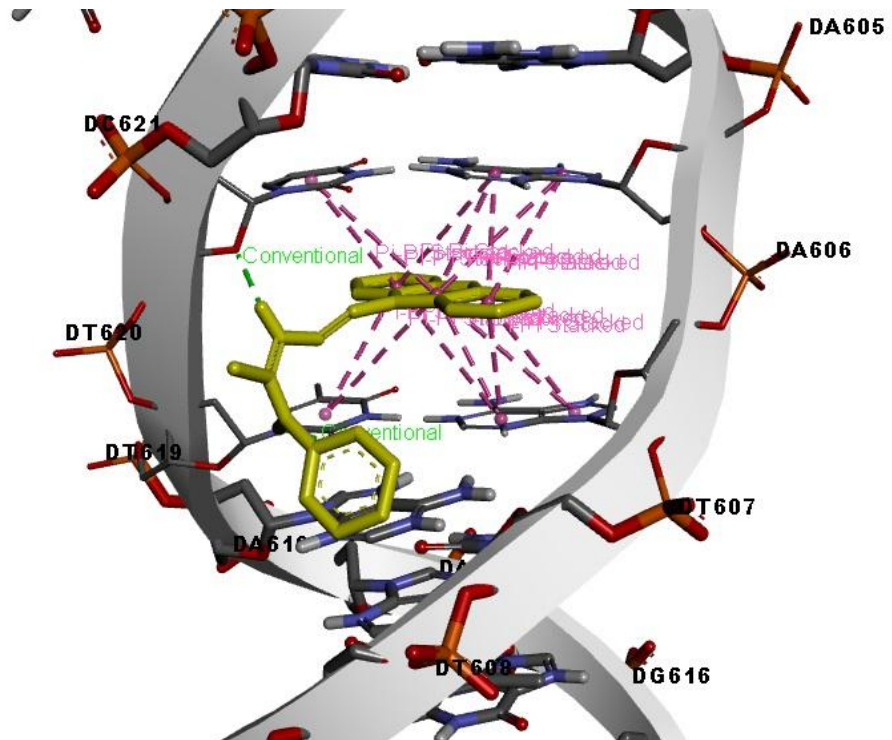
Anexo 26 – Docking molecular da molécula SOL-PP2 no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



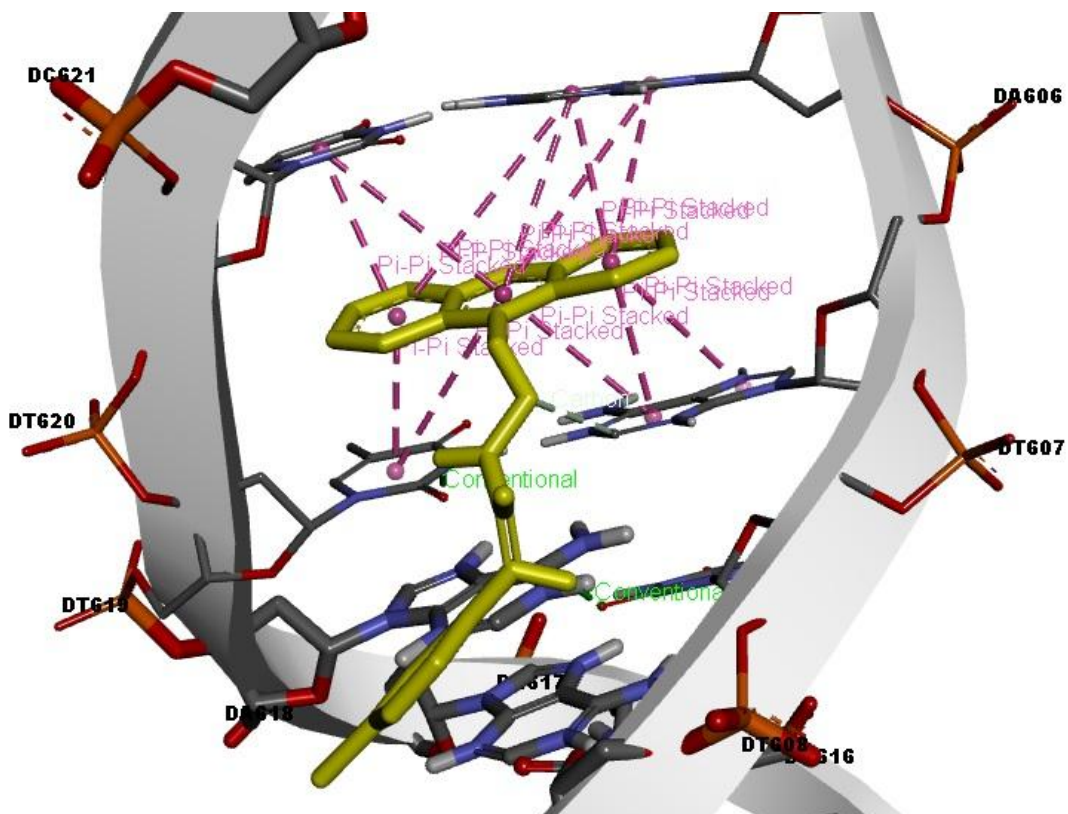
Anexo 27 – Docking molecular da Amsacrina no alvo DNA (PDB ID: 1BNA)



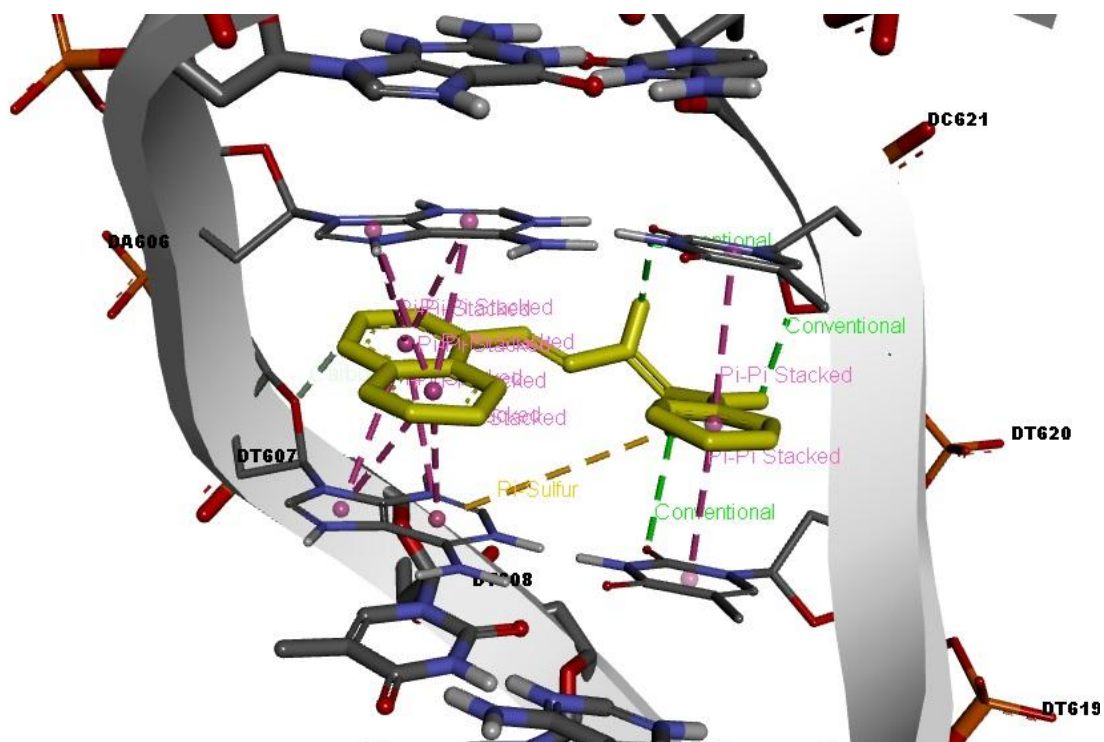
Anexo 28 – Docking molecular da molécula SOL-AC1 no alvo DNA (PDB ID: 1G3X)



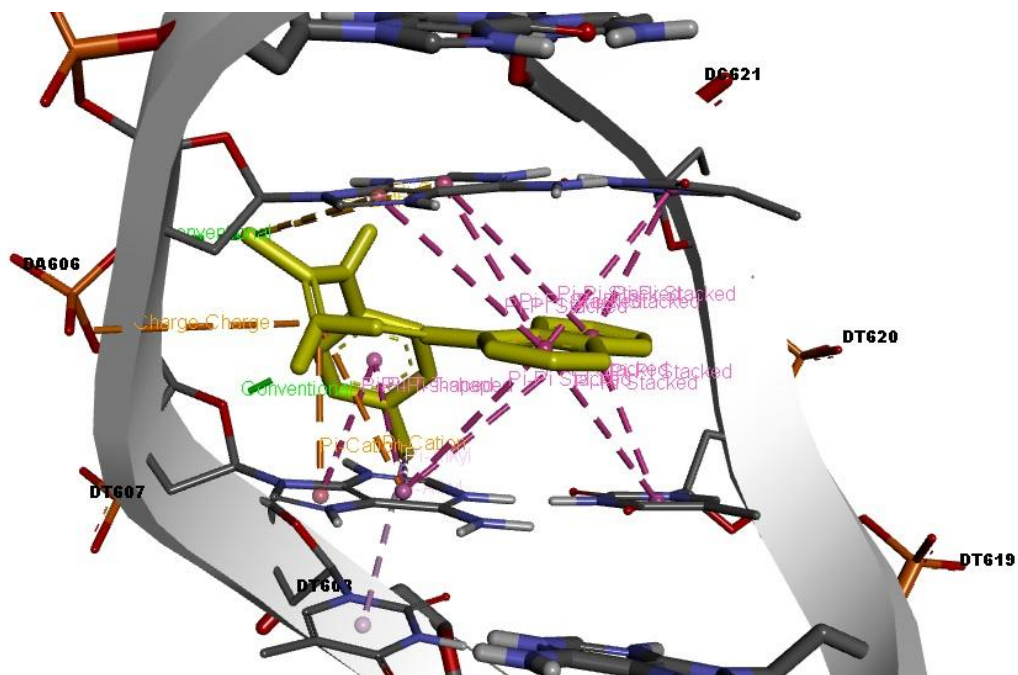
Anexo 29 – Docking molecular da molécula SOL-AC2 no alvo DNA (PDB ID: 1G3X)



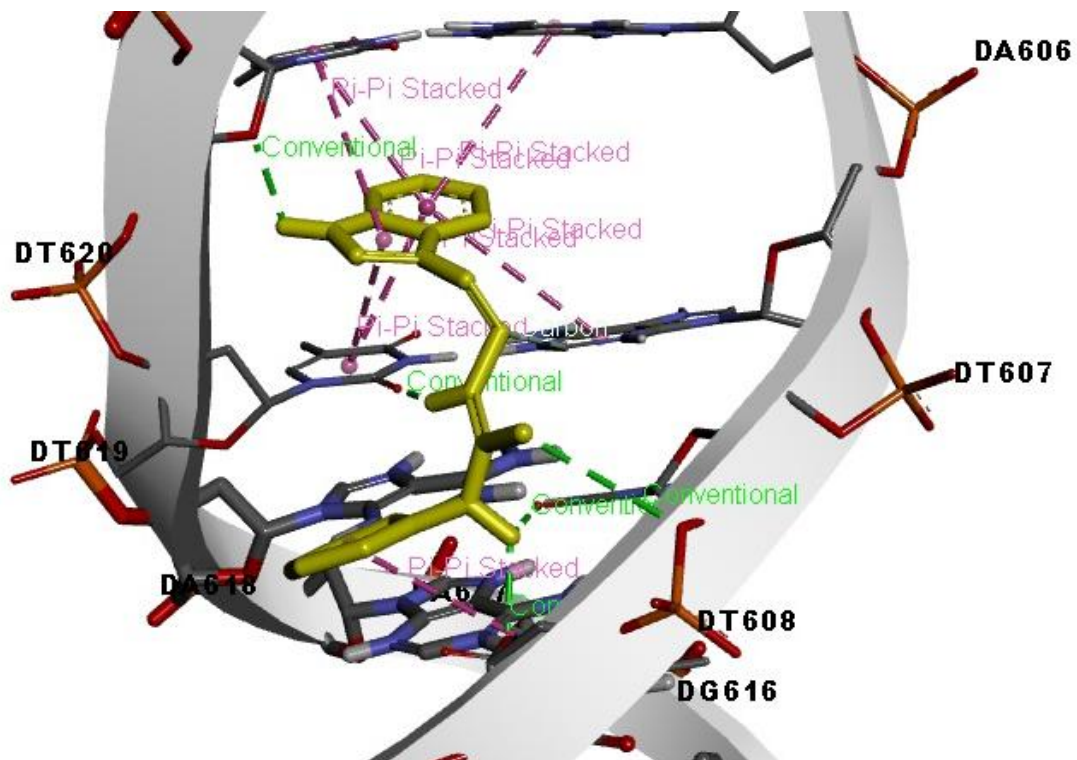
Anexo 30 – Docking molecular da molécula SOL-Q1 no alvo DNA (PDB ID: 1G3X)



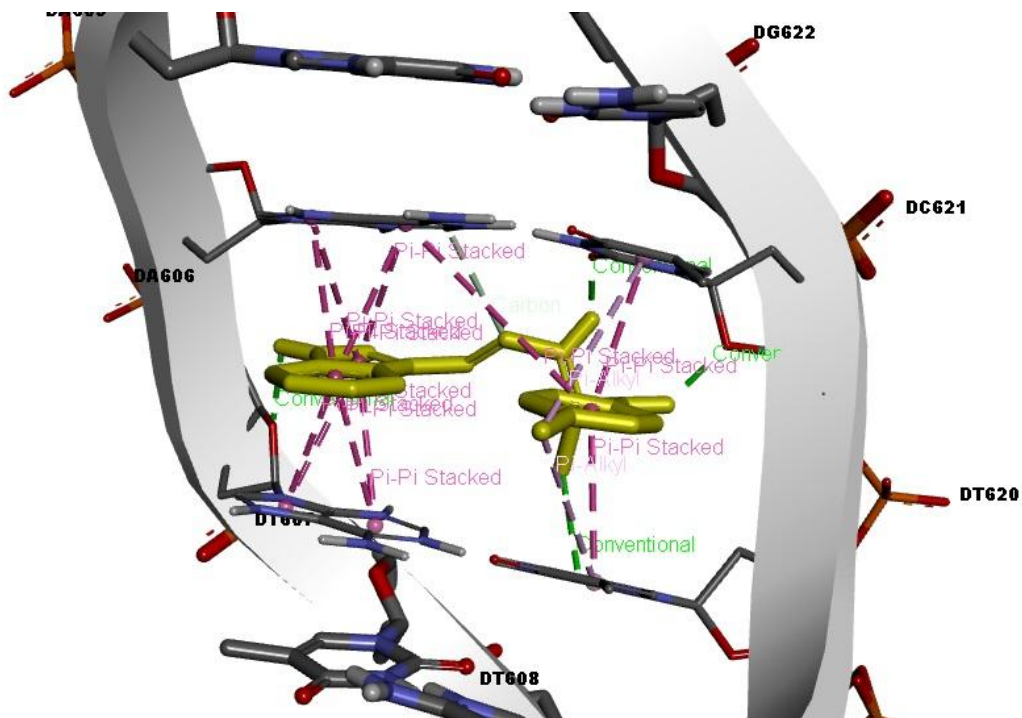
Anexo 31 – Docking molecular da molécula SOL-Q2 no alvo DNA (PDB ID: 1G3X)



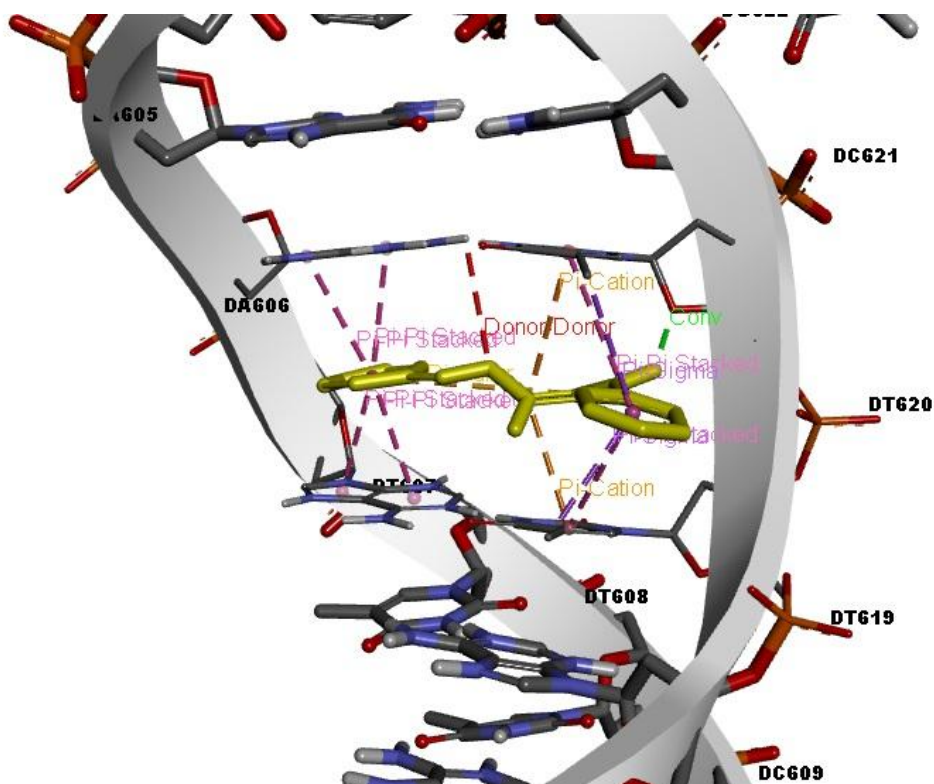
Anexo 32 – Docking molecular da molécula SOL-I1 no alvo DNA (PDB ID: 1G3X)



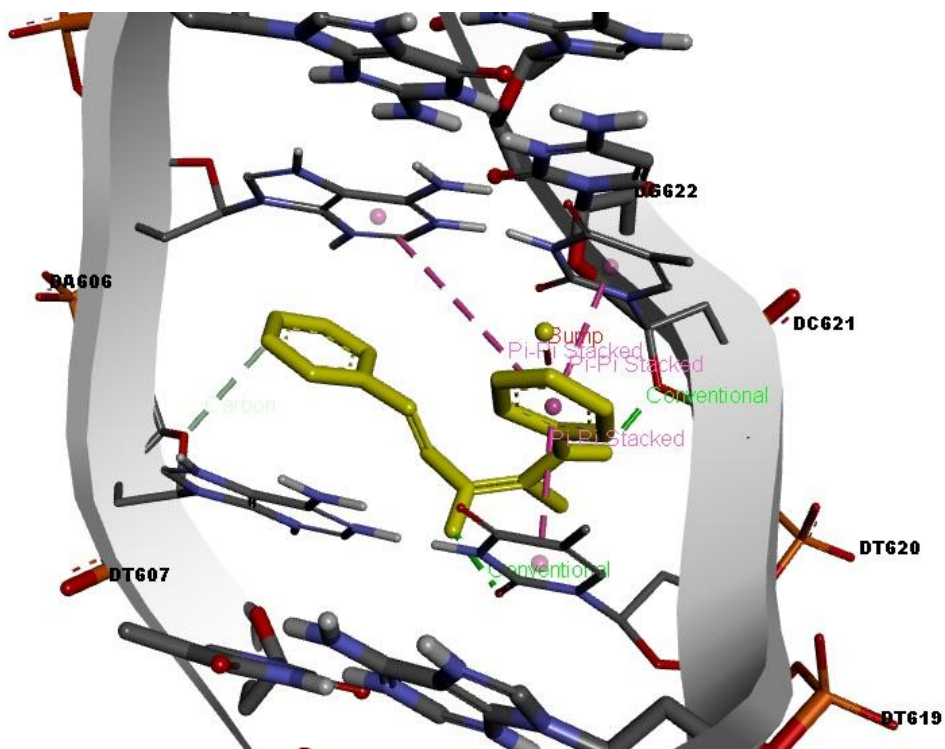
Anexo 33 – Docking molecular da molécula SOL-I2 no alvo DNA (PDB ID: 1G3X)



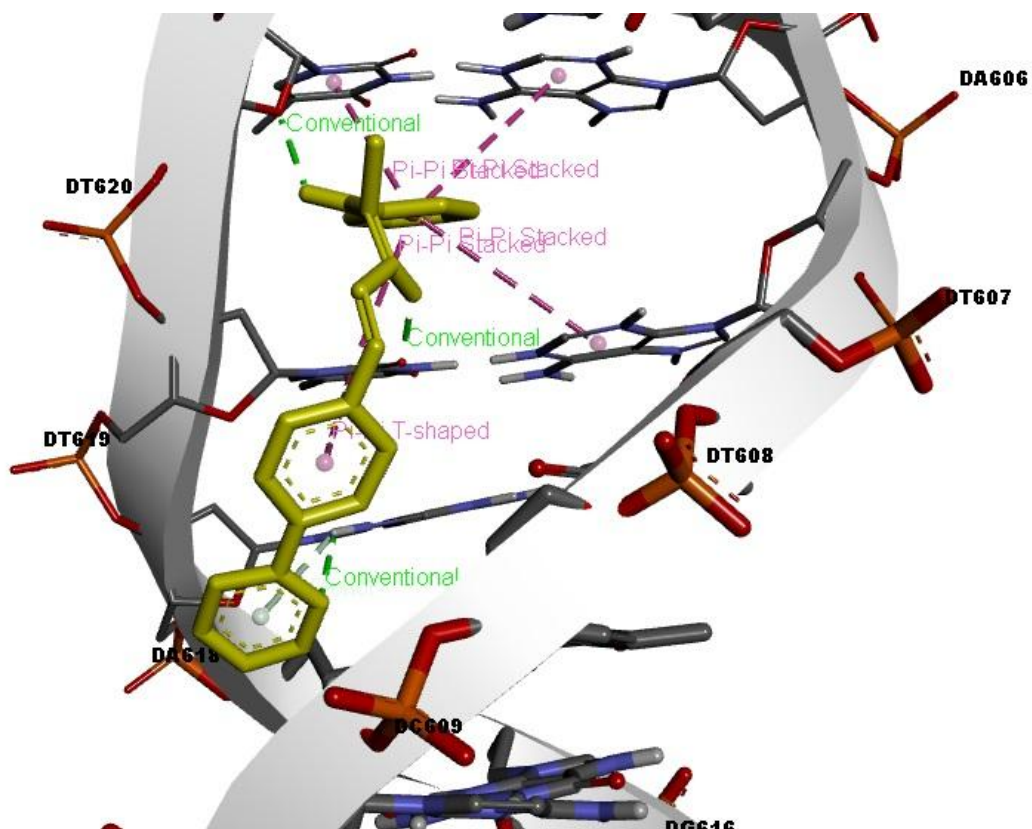
Anexo 34 – Docking molecular da molécula SOL-P1 no alvo DNA (PDB ID: 1G3X)



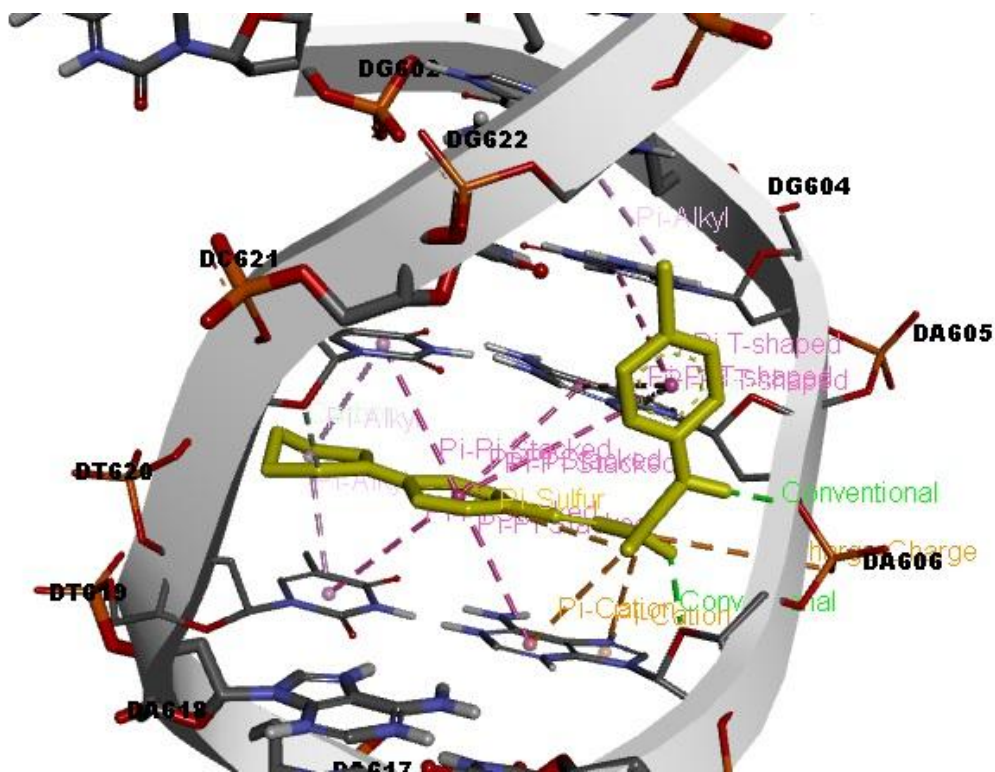
Anexo 35 – Docking molecular da molécula SOL-P2 no alvo DNA (PDB ID: 1G3X)



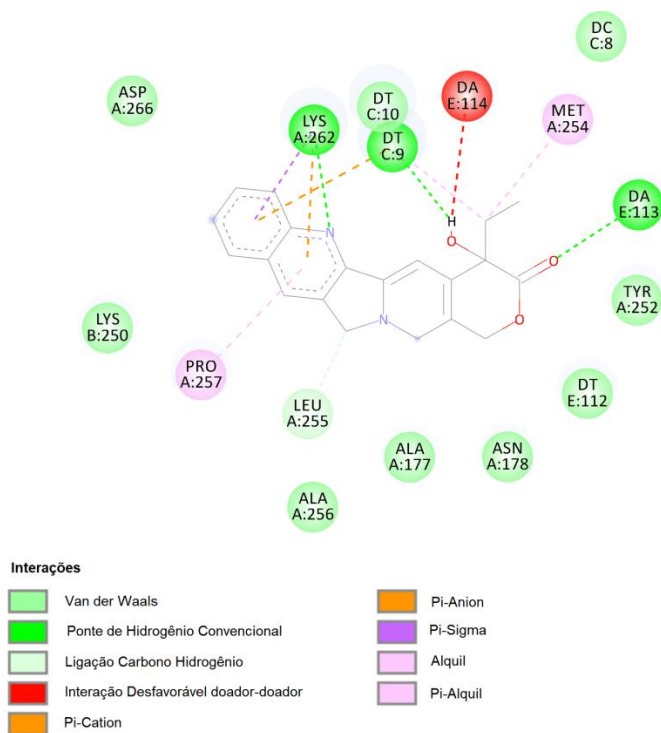
Anexo 36 – Docking molecular da molécula SOL-PR1 no alvo DNA (PDB ID: 1G3X)



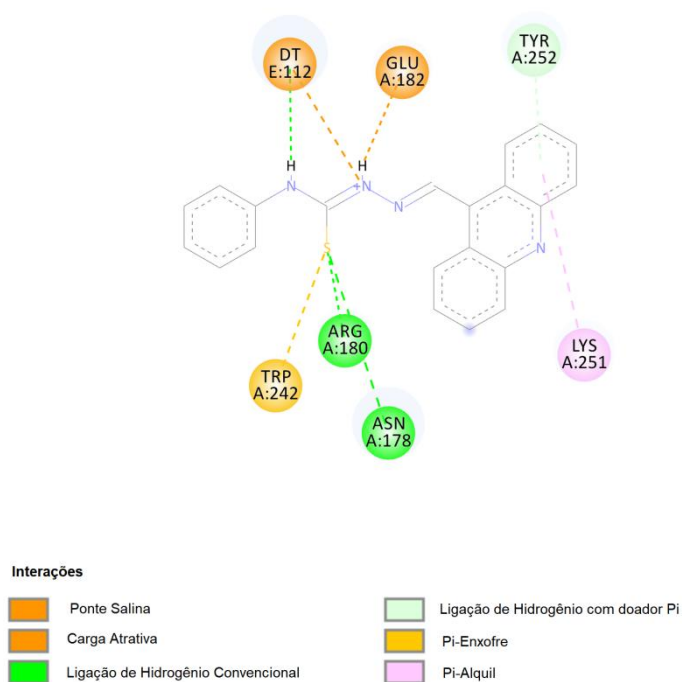
Anexo 39 – Docking molecular da molécula SOL-PP2 no alvo DNA (PDB ID: 1G3X)



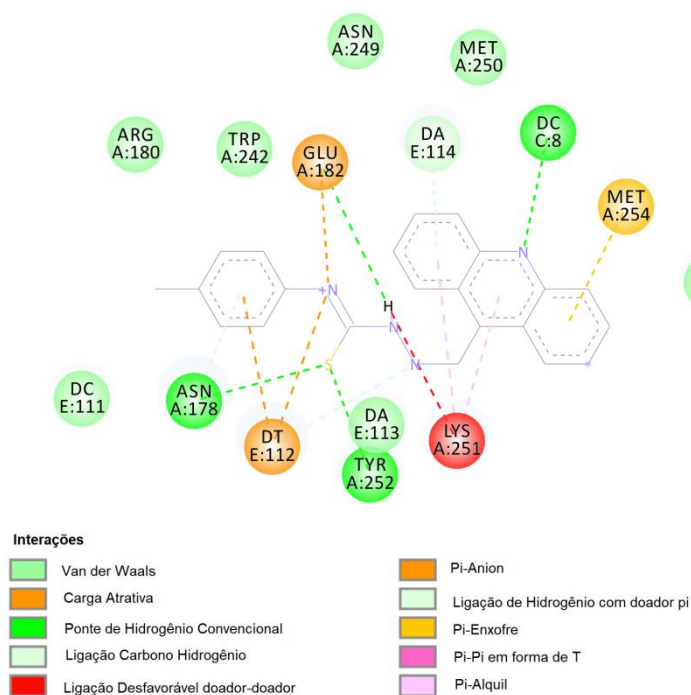
Anexo 40 – Docking molecular do fármaco camptotecina no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



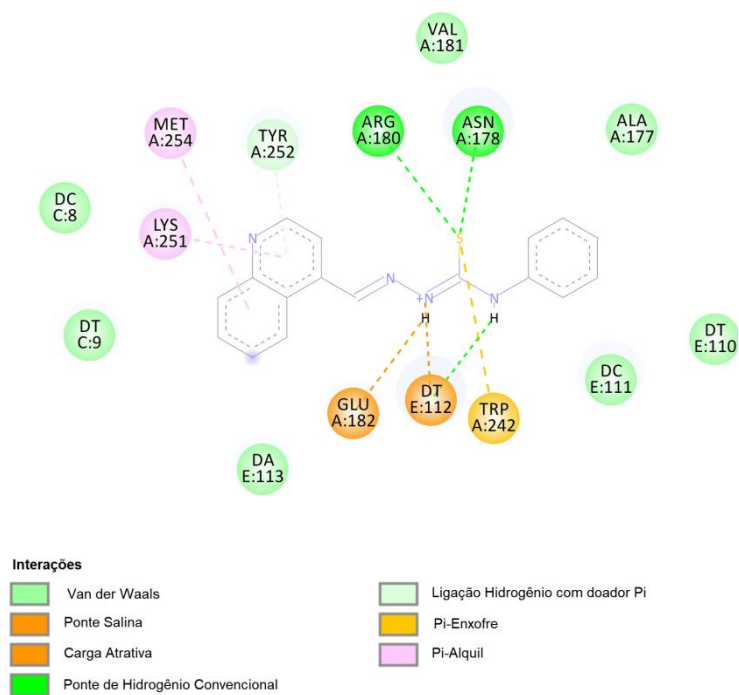
Anexo 41 – *Docking* molecular da molécula SOL-AC1 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



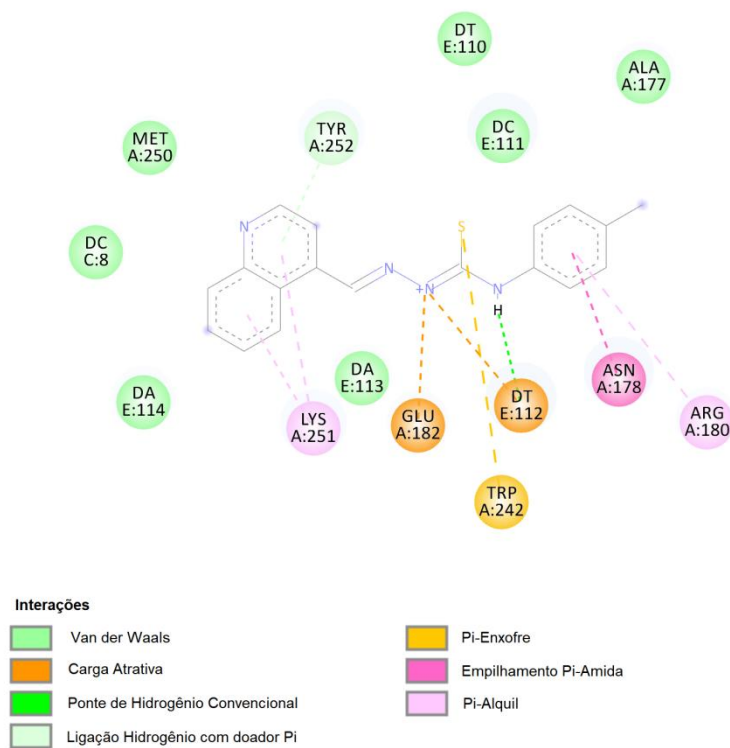
Anexo 42 - *Docking* molecular da molécula SOL-AC2 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



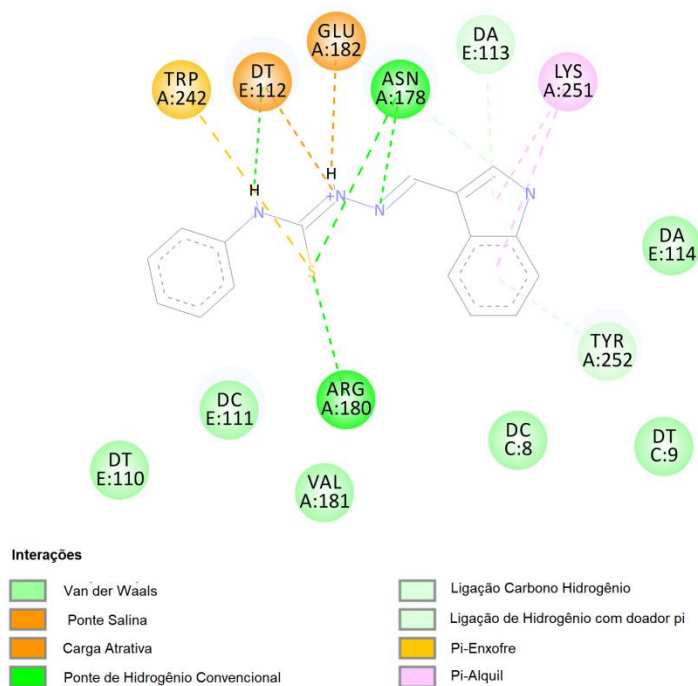
Anexo 43 - Docking molecular da molécula SOL-Q1 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



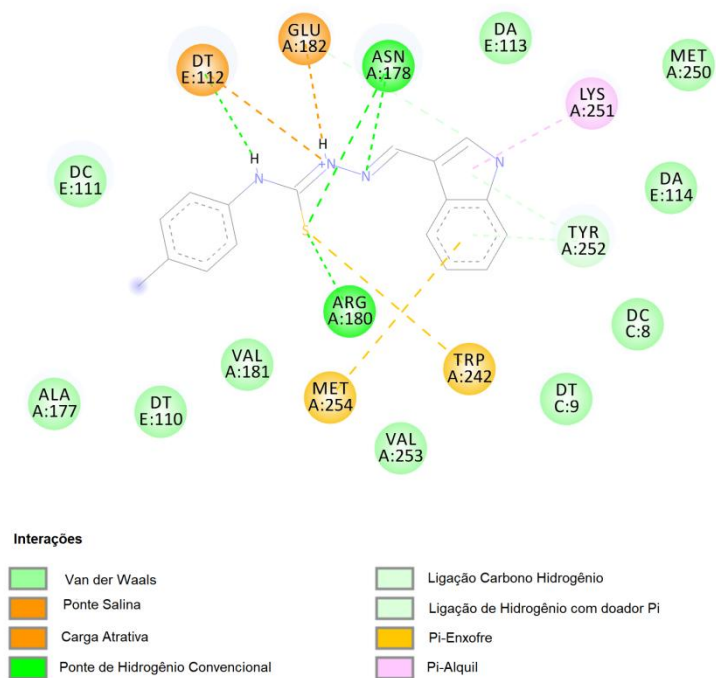
Anexo 44 - Docking molecular da molécula SOL-Q2 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



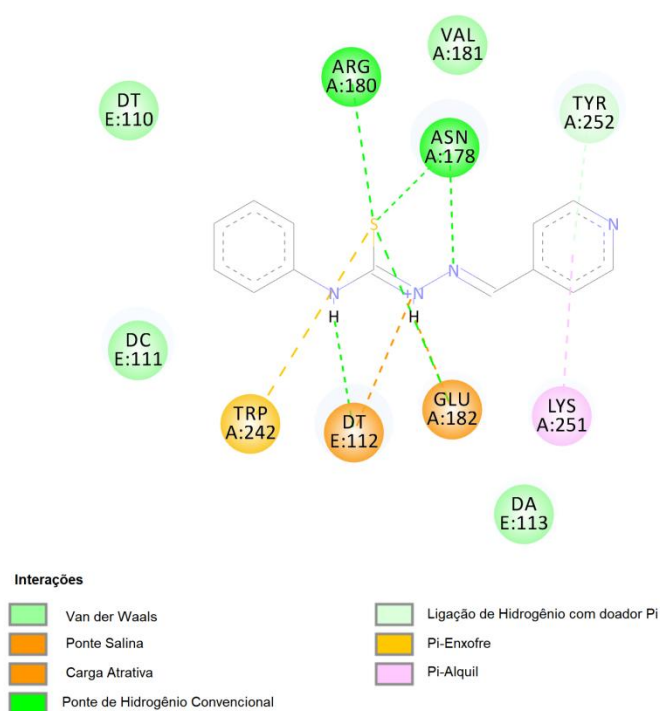
Anexo 45 - Docking molecular da molécula SOL-I1 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



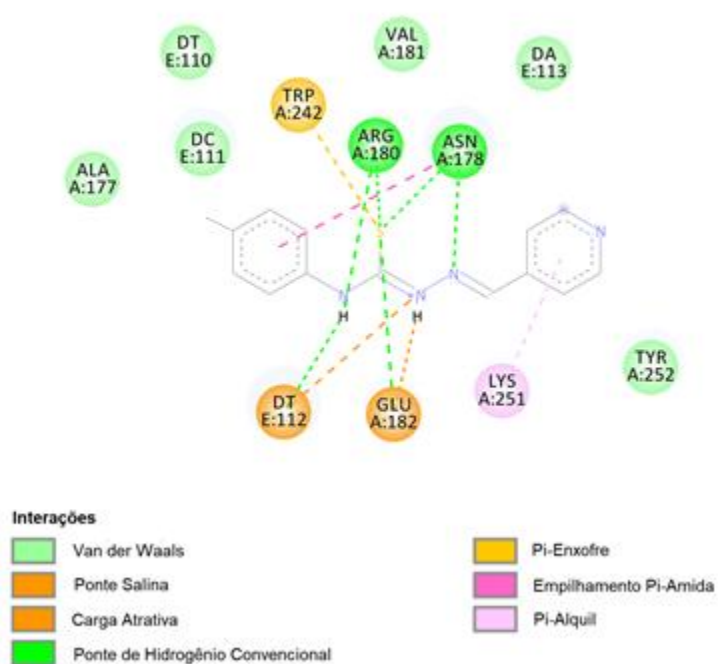
Anexo 46 - Docking molecular da molécula SOL-I2 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



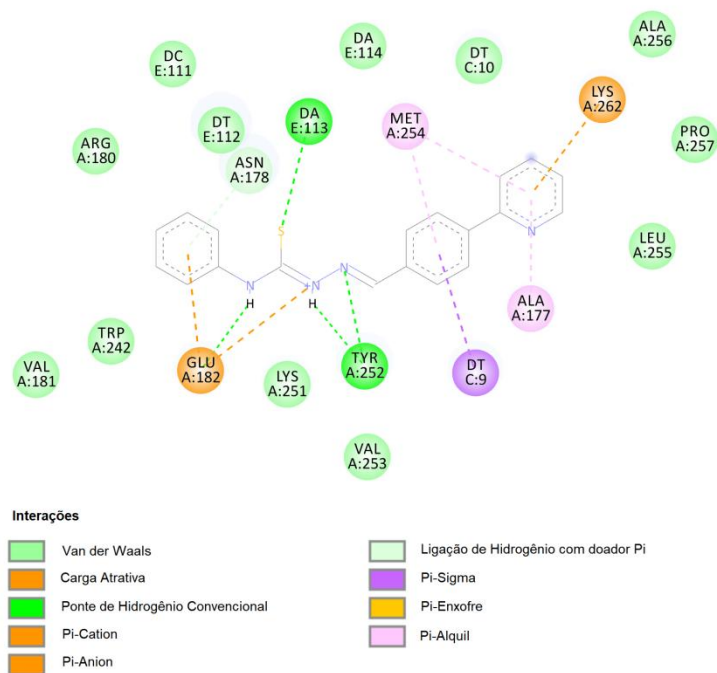
Anexo 47 - Docking molecular da molécula SOL-P1 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



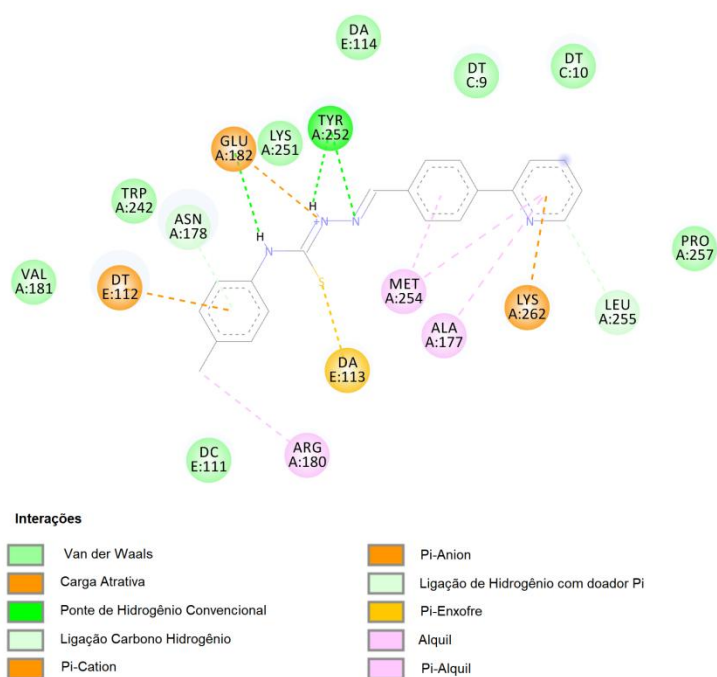
Anexo 48 - Docking molecular da molécula SOL-P2 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



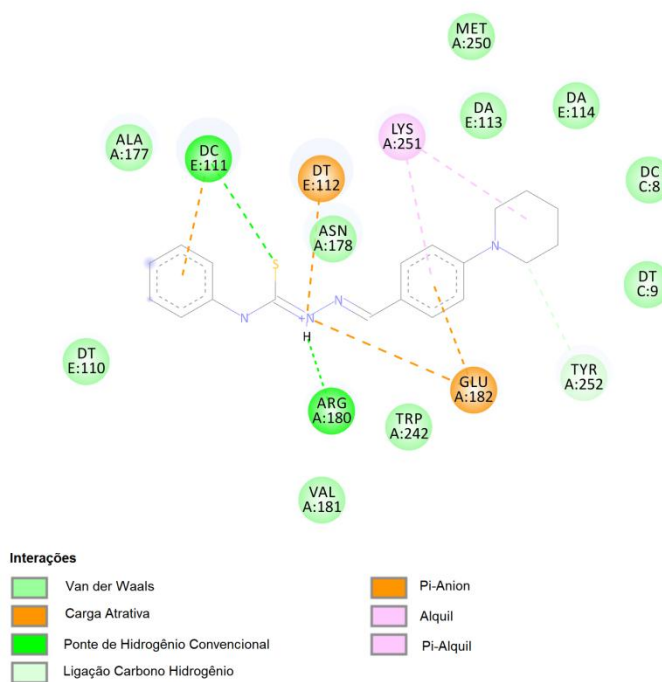
Anexo 49 - *Docking* molecular da molécula SOL-PR1 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



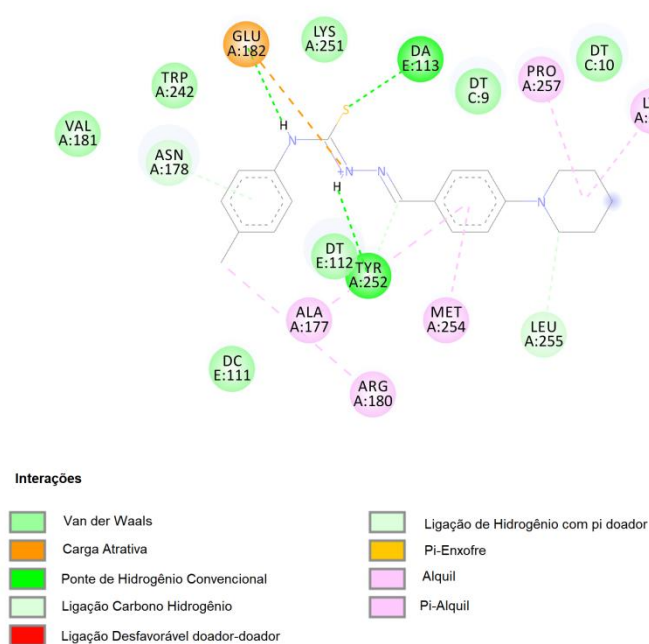
Anexo 50 - *Docking* molecular da molécula SOL-PR2 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



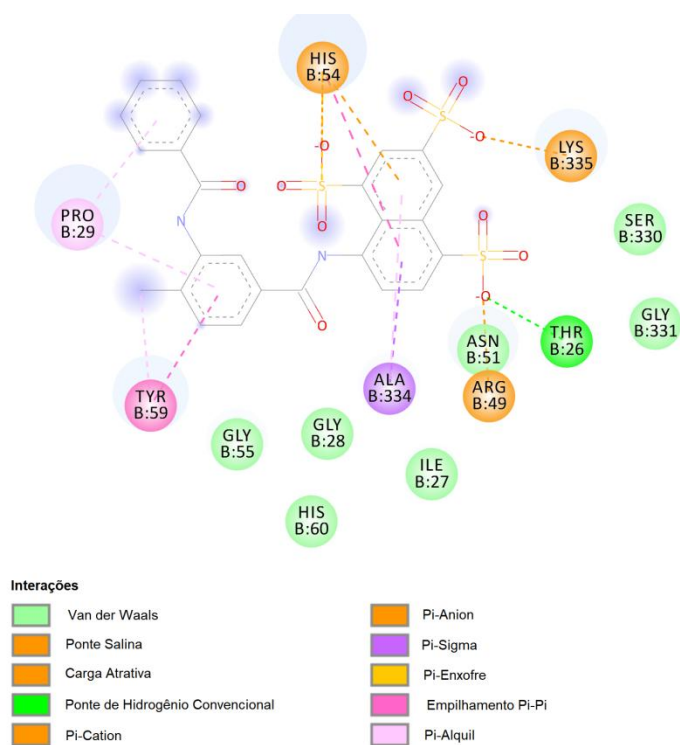
Anexo 51 - Docking molecular da molécula SOL-PP1 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



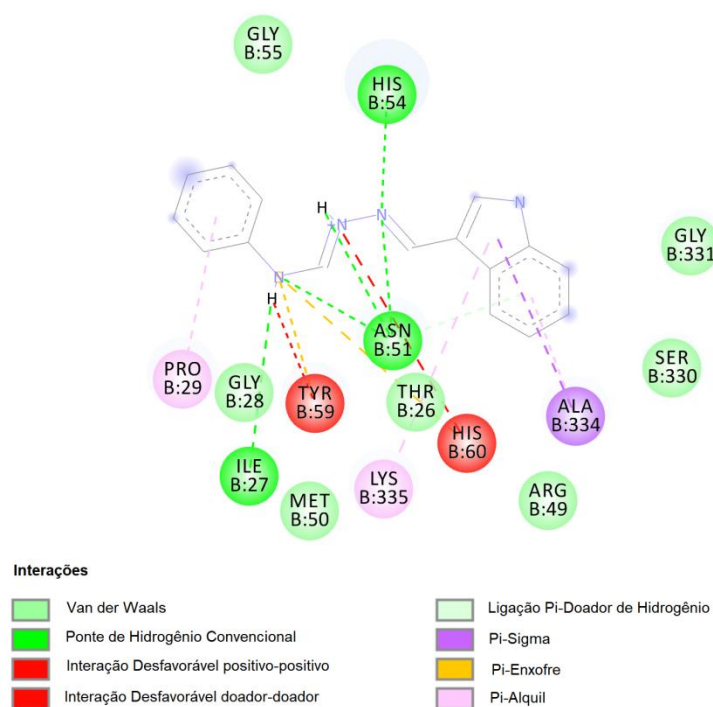
Anexo 52 - Docking molecular da molécula SOL-PP2 no alvo topoisomerase I de *L. donovani* complexada com DNA (PDB ID: 2B9S)



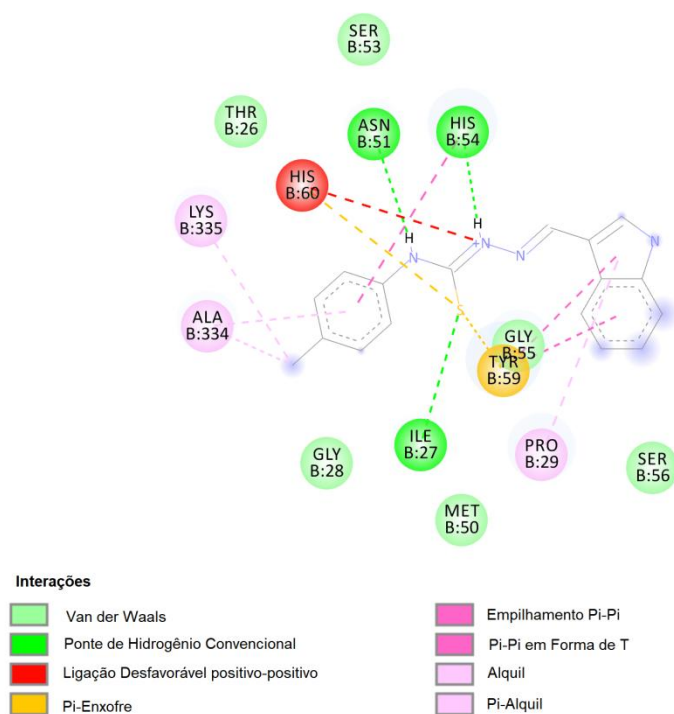
Anexo 53 - Docking molecular do composto co-cristalizado Suramina no alvo piruvato quinase de *L. mexicana* (PDB ID: 3PP7)



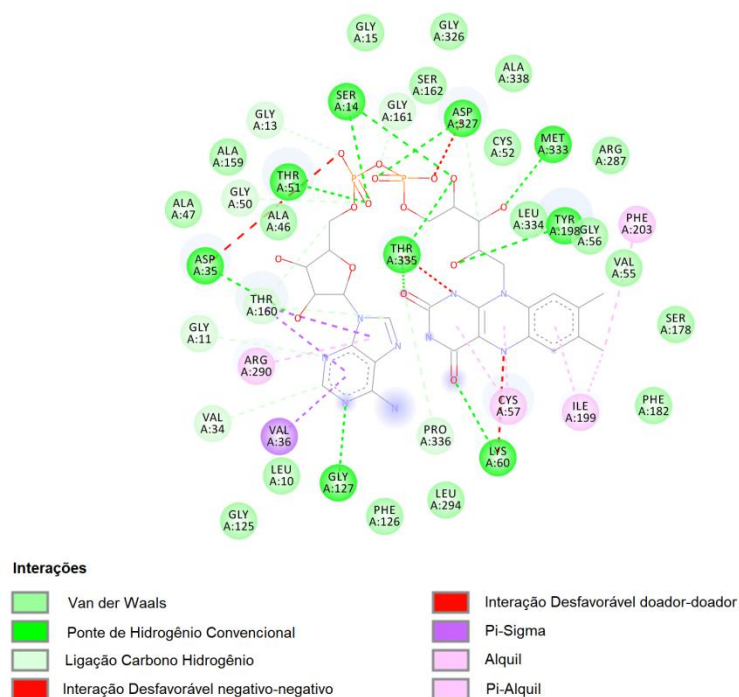
Anexo 54 - Docking molecular da molécula SOL-I1 no alvo piruvato quinase de *L. mexicana* (PDB ID: 3PP7)



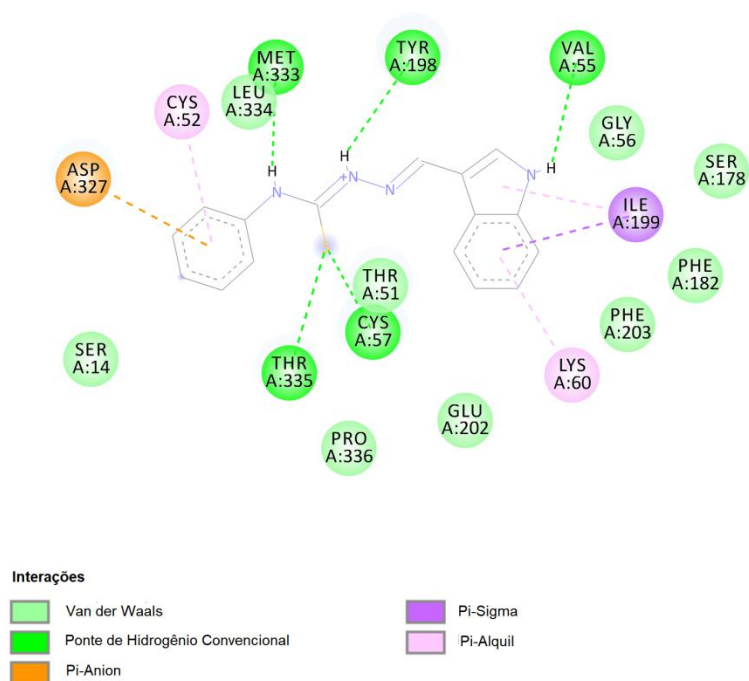
Anexo 55 - Docking molecular da molécula SOL-I2 no alvo piruvato quinase de *L. mexicana* (PDB ID: 3PP7)



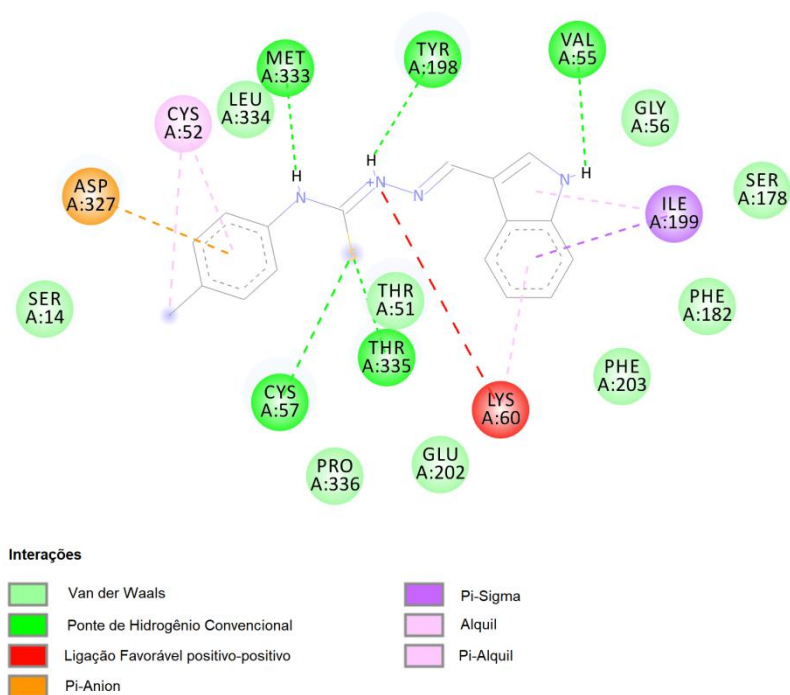
Anexo 56 - Docking molecular do ligante co-cristalizado Flavina-adenina dinucleotídeo no alvo tripanotona redutase de *L. infantum* (PDB ID: 2JK6)



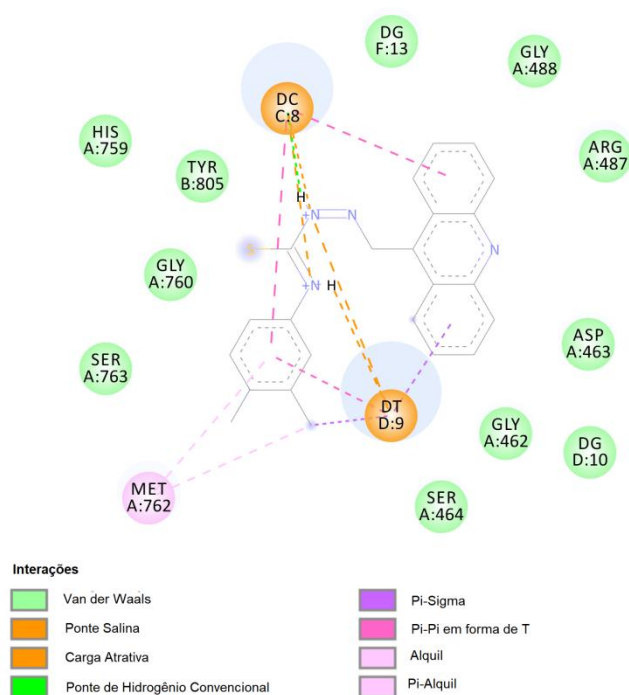
Anexo 57 - Docking molecular da molécula SOL-I1 no alvo tripanotona redutase de *L. infantum* (PDB ID: 2JK6)



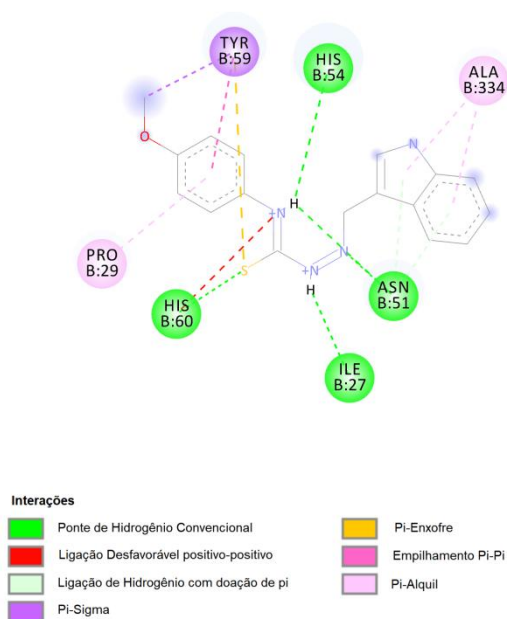
Anexo 58 - Docking molecular da molécula SOL-I2 no alvo tripanotona redutase de *L. infantum* (PDB ID: 2JK6)



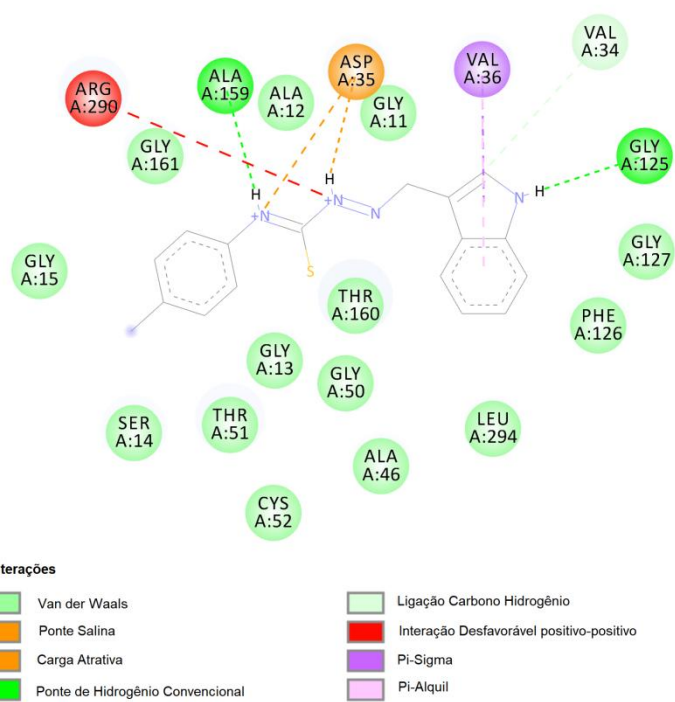
Anexo 59 - Docking molecular da molécula acridina-Cl₂ no alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK)



Anexo 60 - Docking molecular da molécula indol-OCH₃ no alvo piruvato quinase de *L. mexicana* (PDB ID: 3PP7)



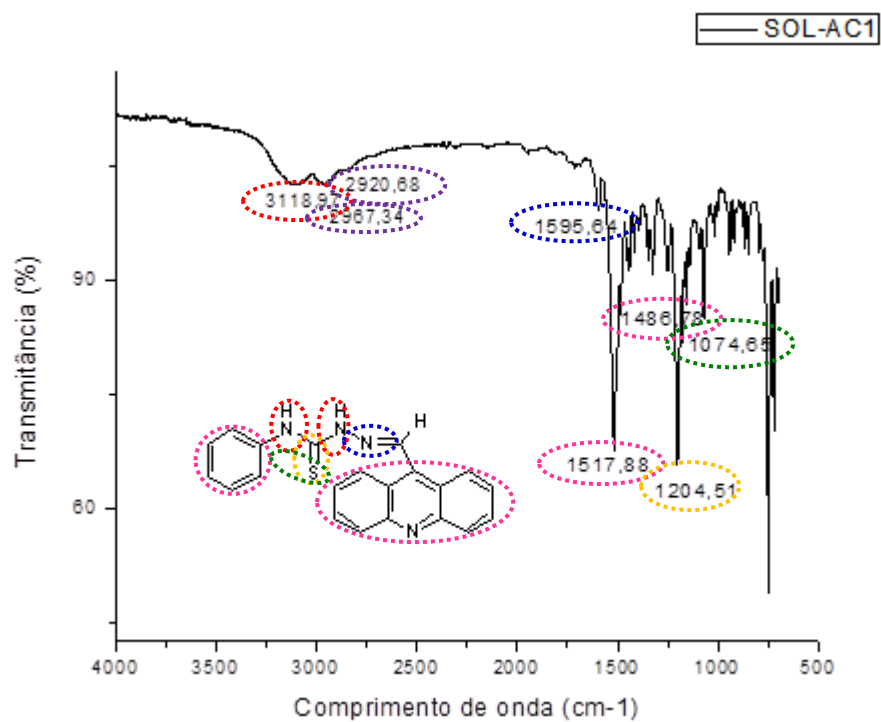
Anexo 61 - Docking molecular da molécula indol-CH₃ no alvo tripanotiona redutase de *L. infantum* (PDB ID: 2JK6)



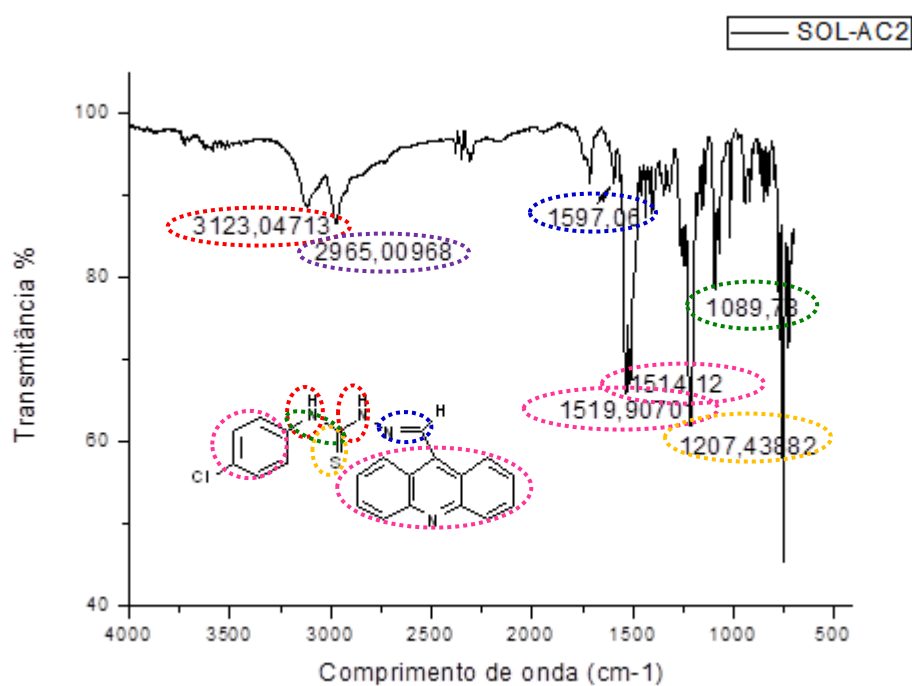
ANEXOS

ESPECTROS DE INFRAVERMELHO

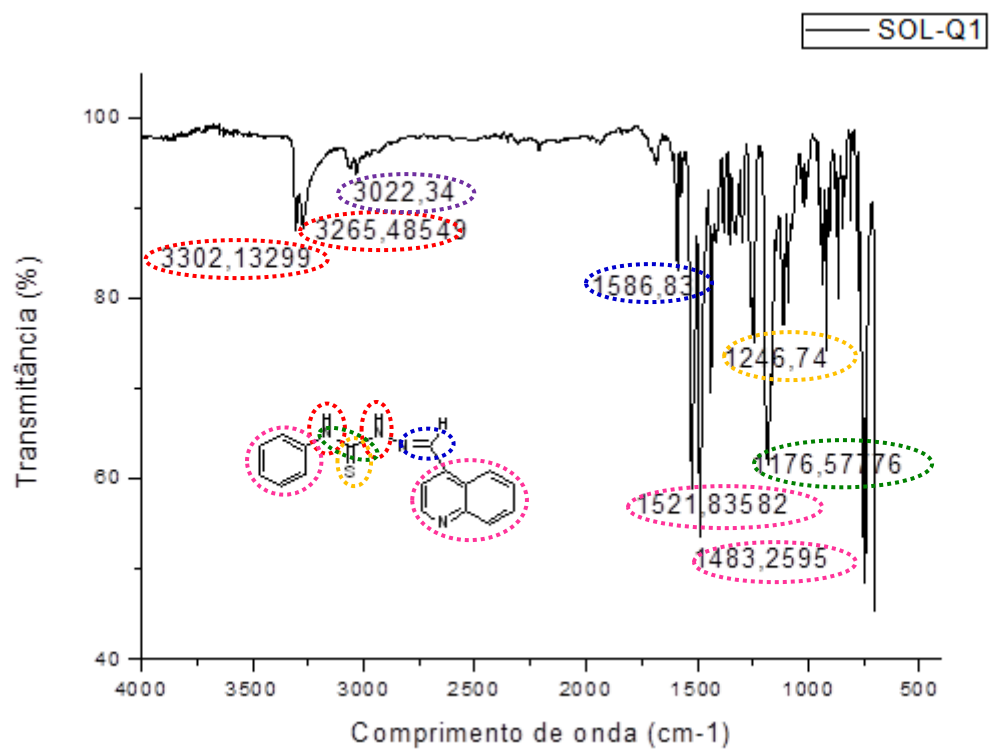
Anexo 62 – Infravermelho da molécula SOL-AC1



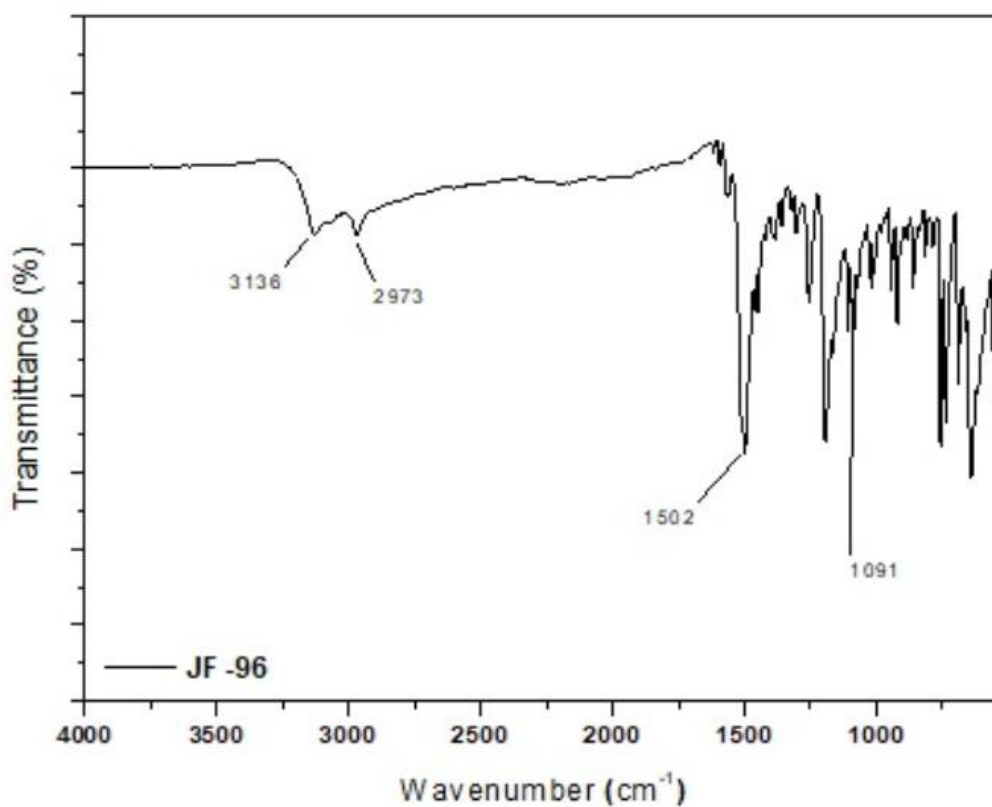
Anexo 63 – Infravermelho da molécula SOL-AC2



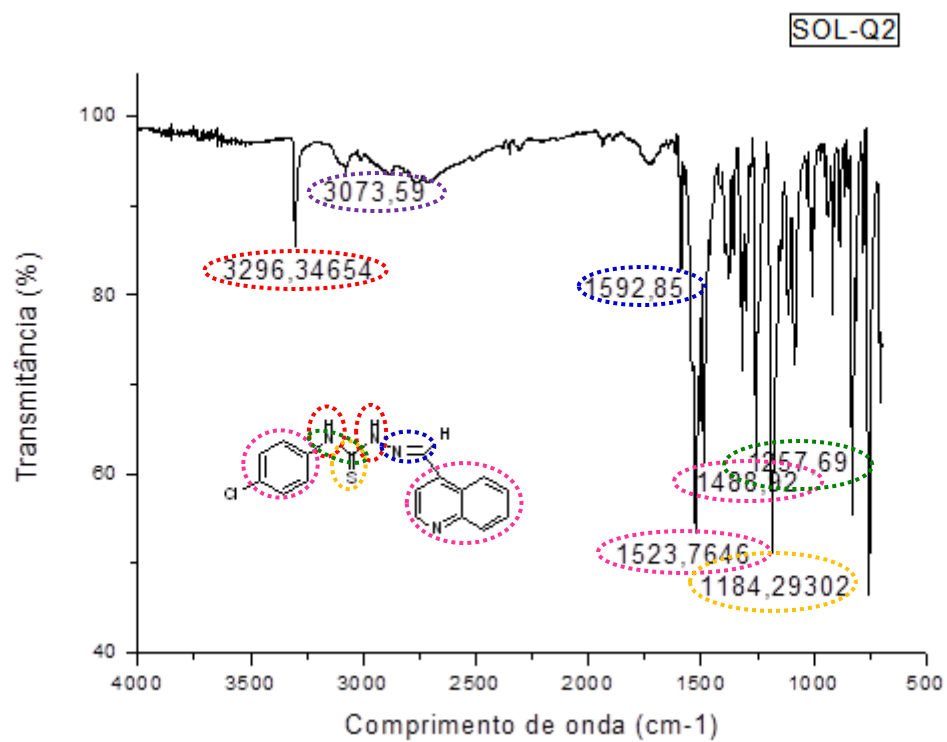
Anexo 64 – Infravermelho da molécula SOL-Q1



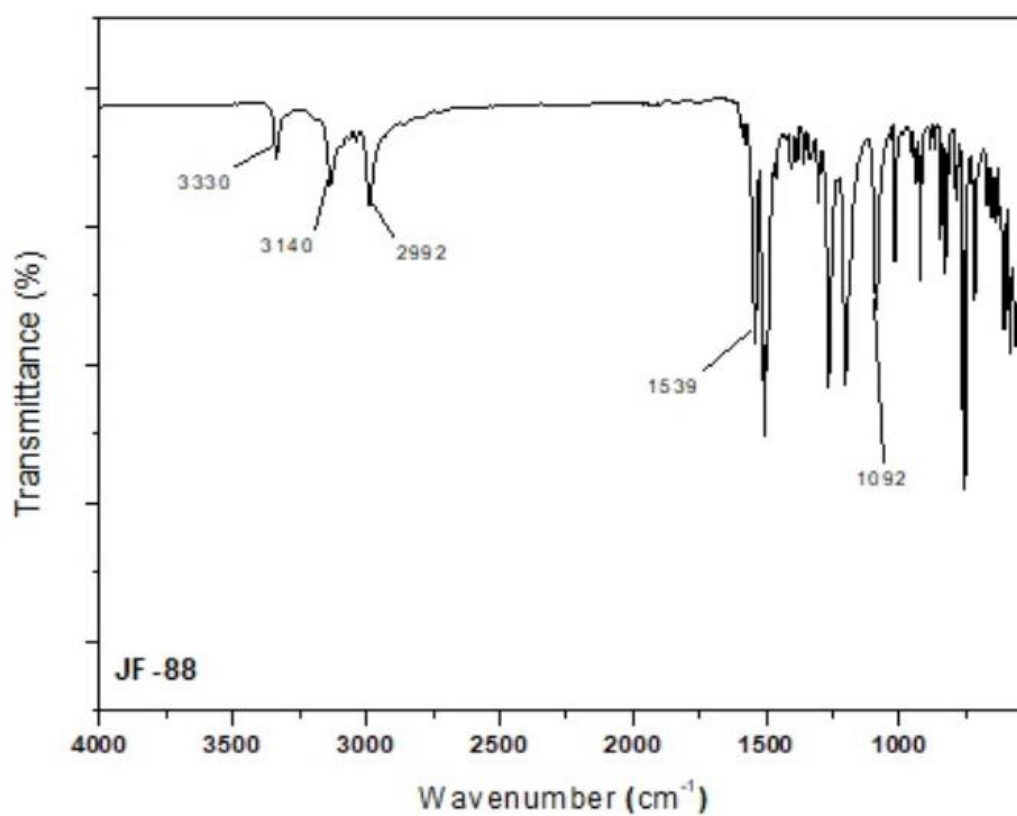
Anexo 65 – Infravermelho da molécula SOL-Q1 (JF-96) publicada por Ribeiro et al. (2019)



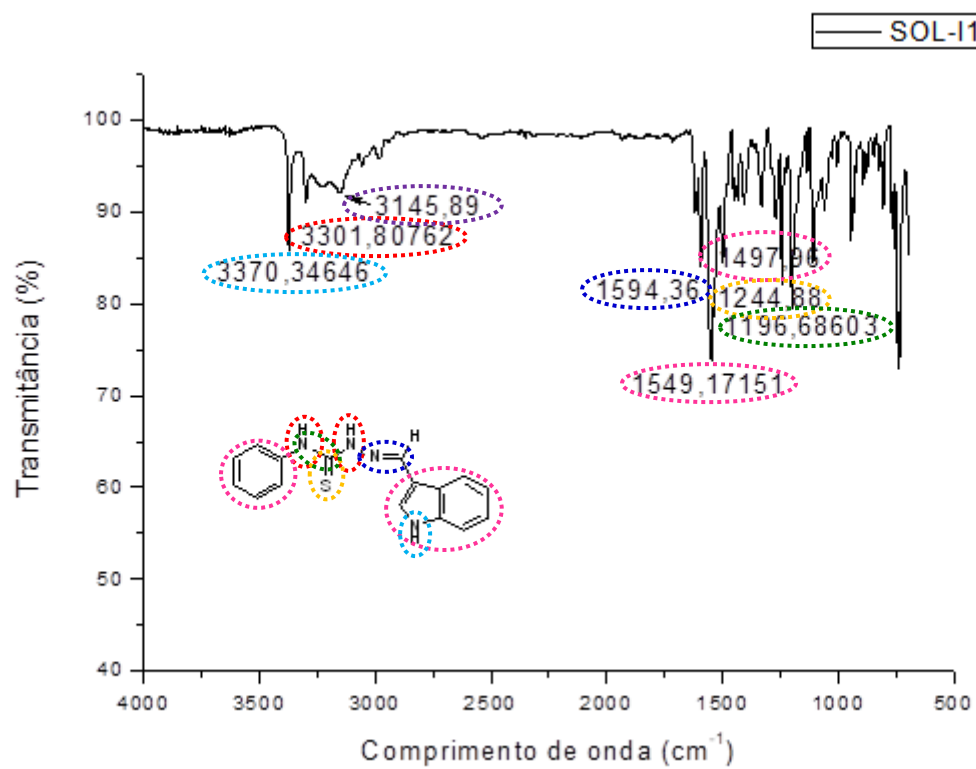
Anexo 66 – Infravermelho da molécula SOL-Q2



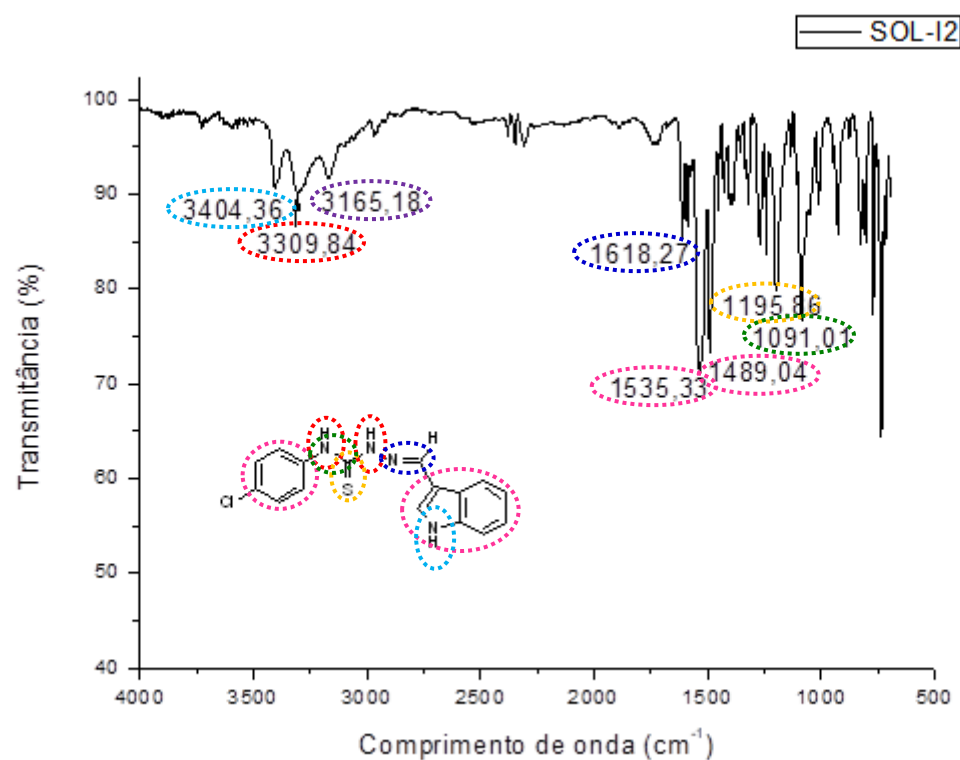
Anexo 67 – Infravermelho da molécula SOL-Q2 (JF-88) publicada por Ribeiro et al. (2019)



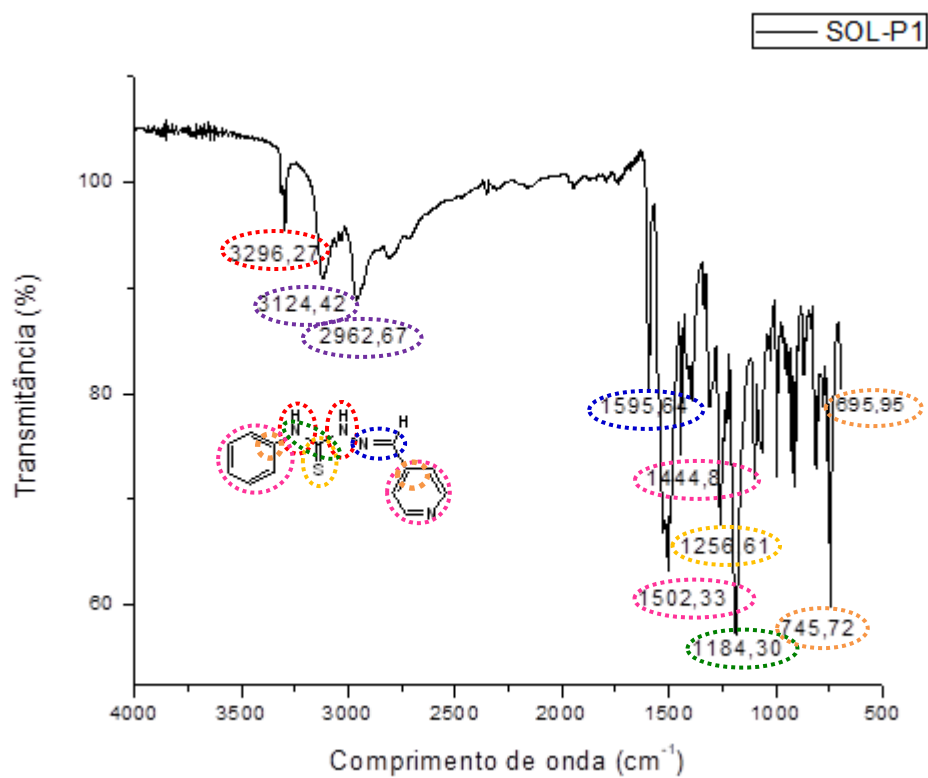
Anexo 68 – Infravermelho da molécula SOL-I1



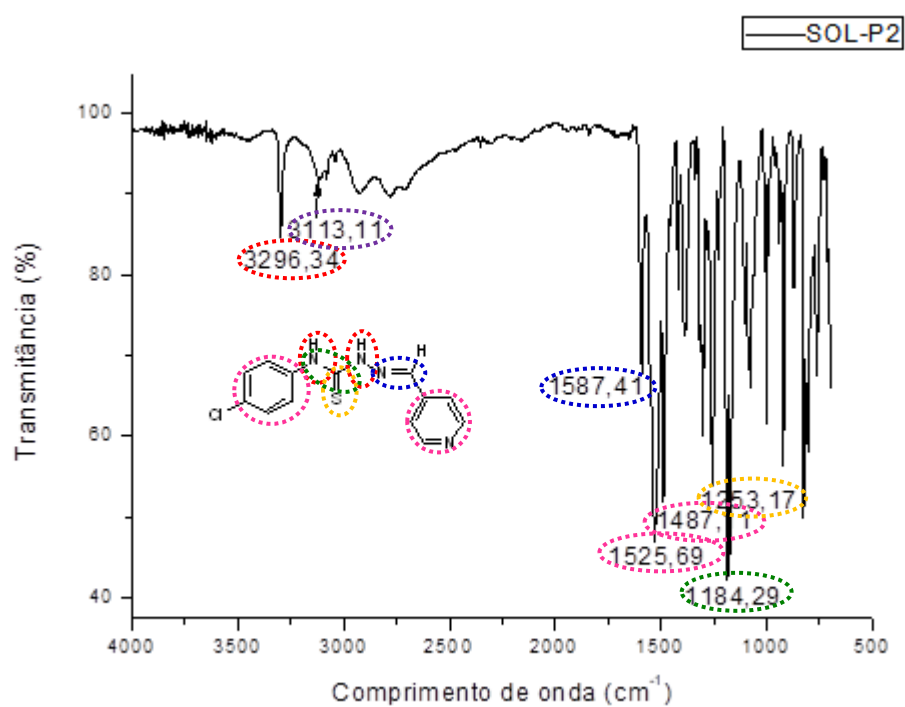
Anexo 69 – Infravermelho da molécula SOL-I2



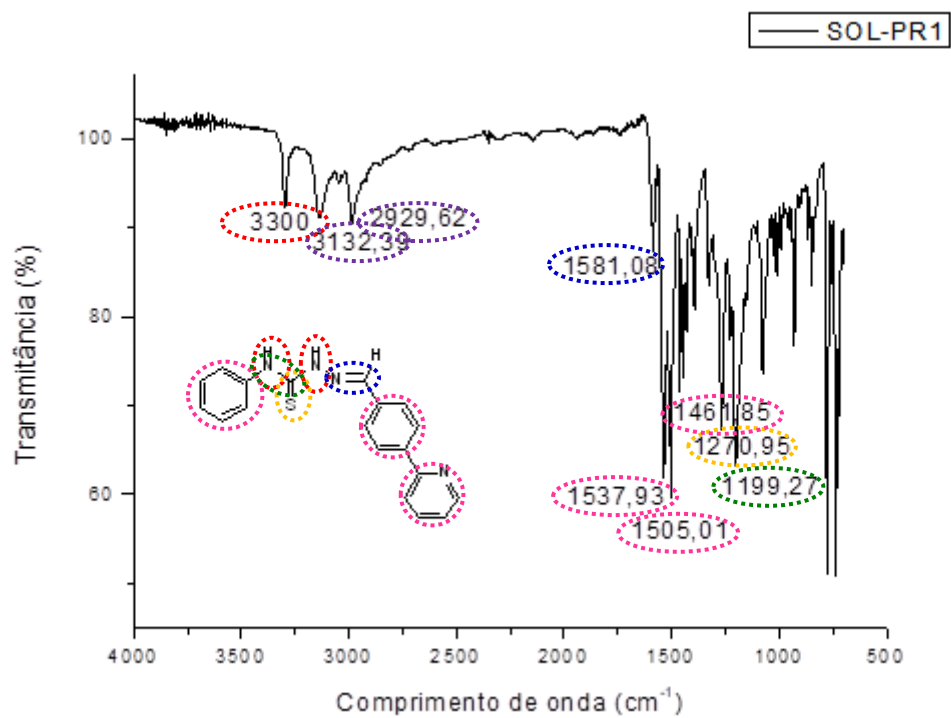
Anexo 70 – Infravermelho da molécula SOL-P1



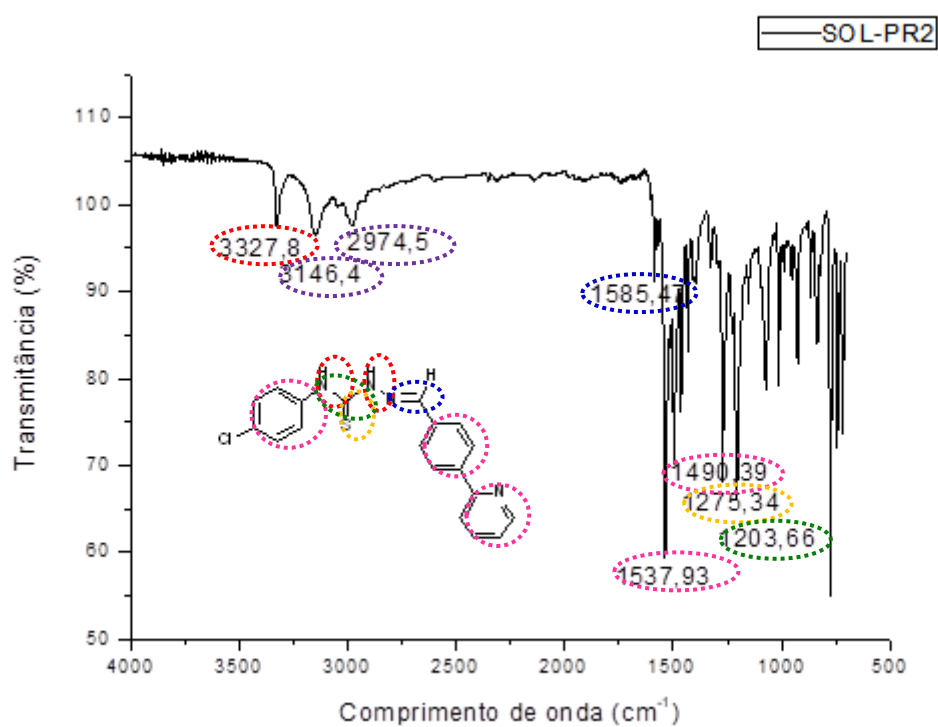
Anexo 71 – Infravermelho da molécula SOL-P2



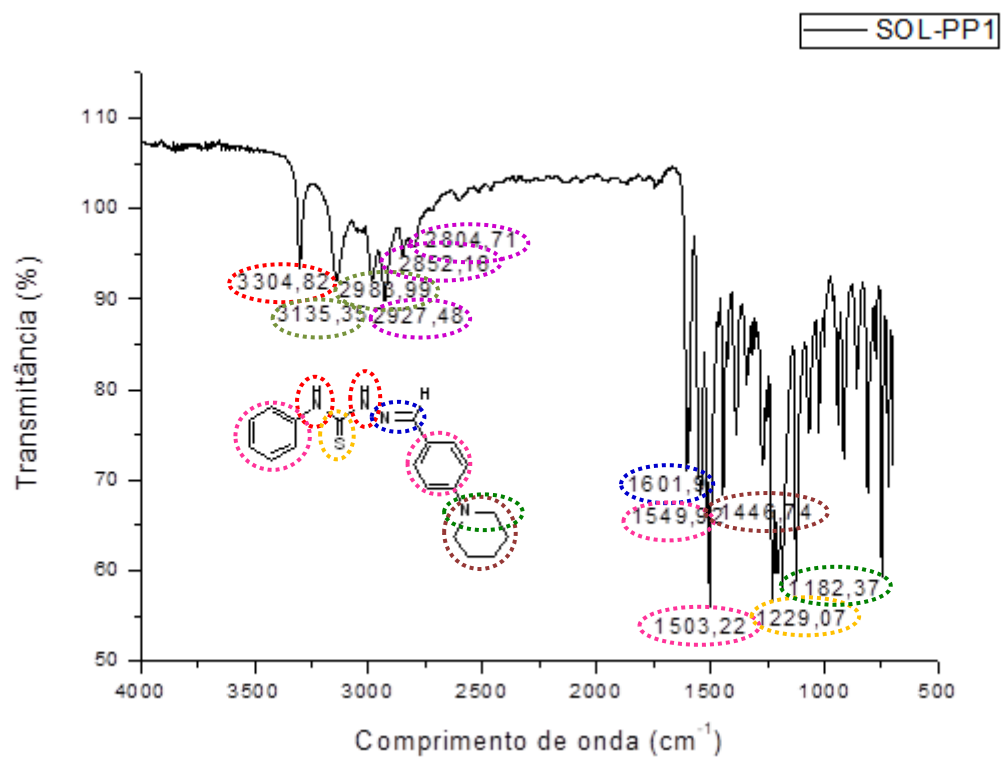
Anexo 72 – Infravermelho da molécula SOL-PR1



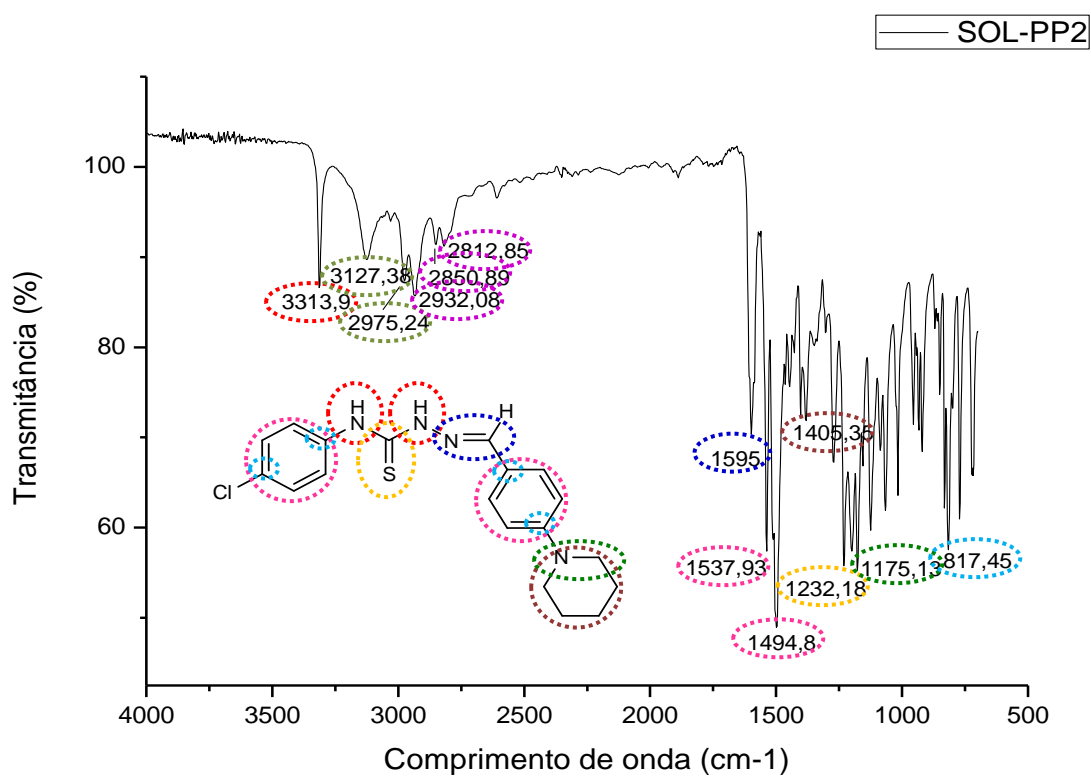
Anexo 73 – Infravermelho da molécula SOL-PR2



Anexo 74 – Infravermelho da molécula SOL-PP1



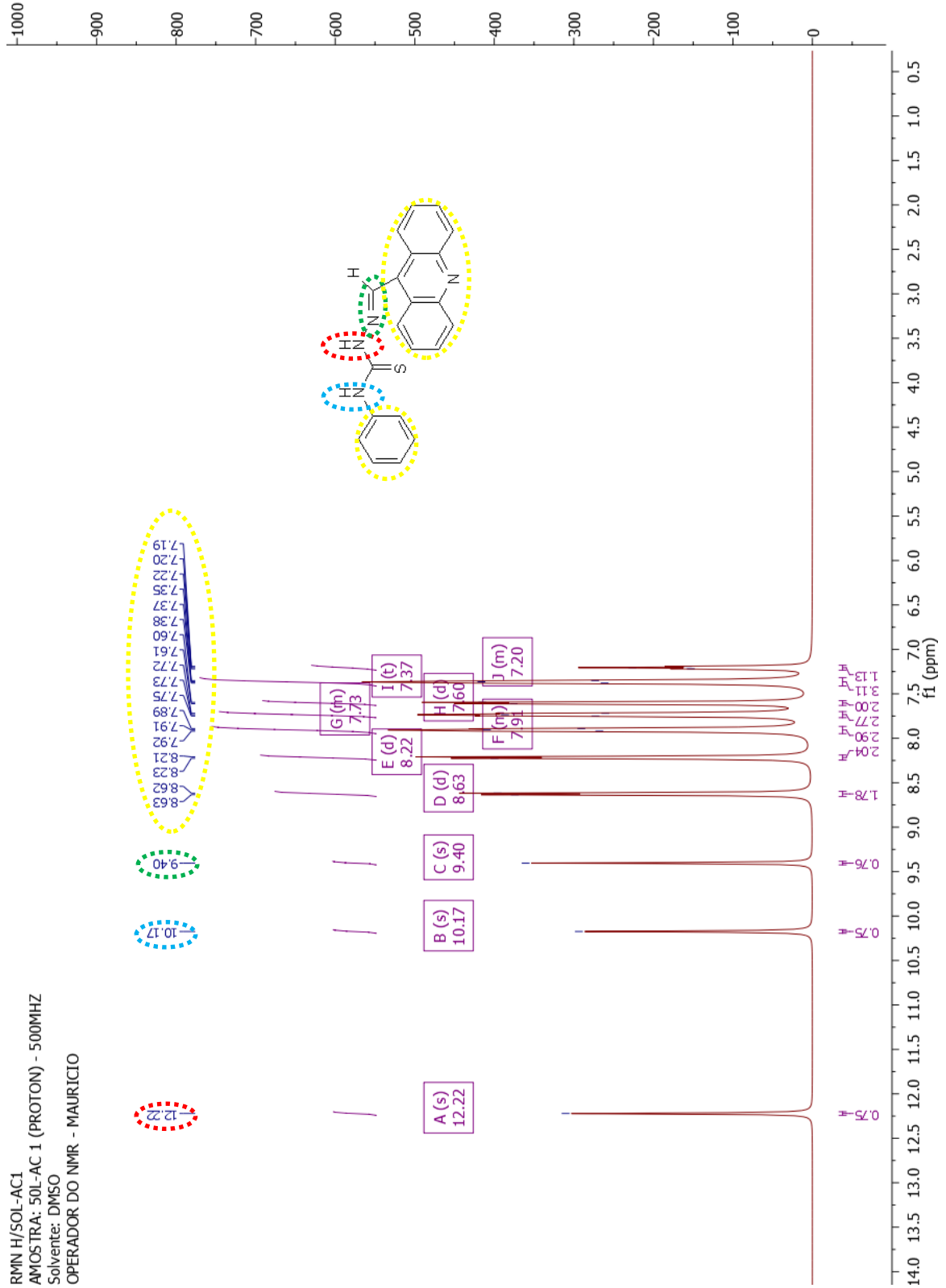
Anexo 75 – Infravermelho da molécula SOL-PP2

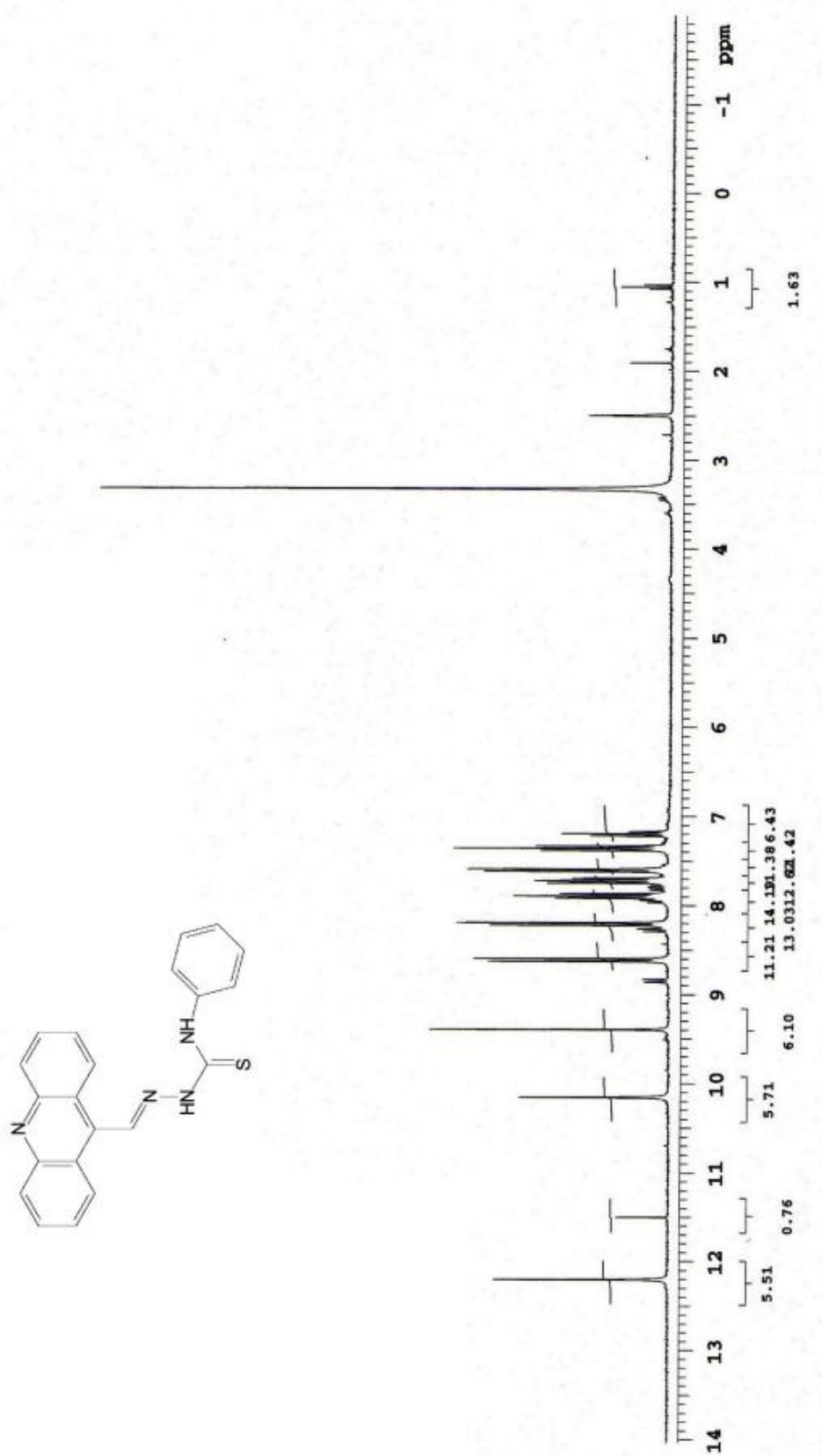


ANEXOS

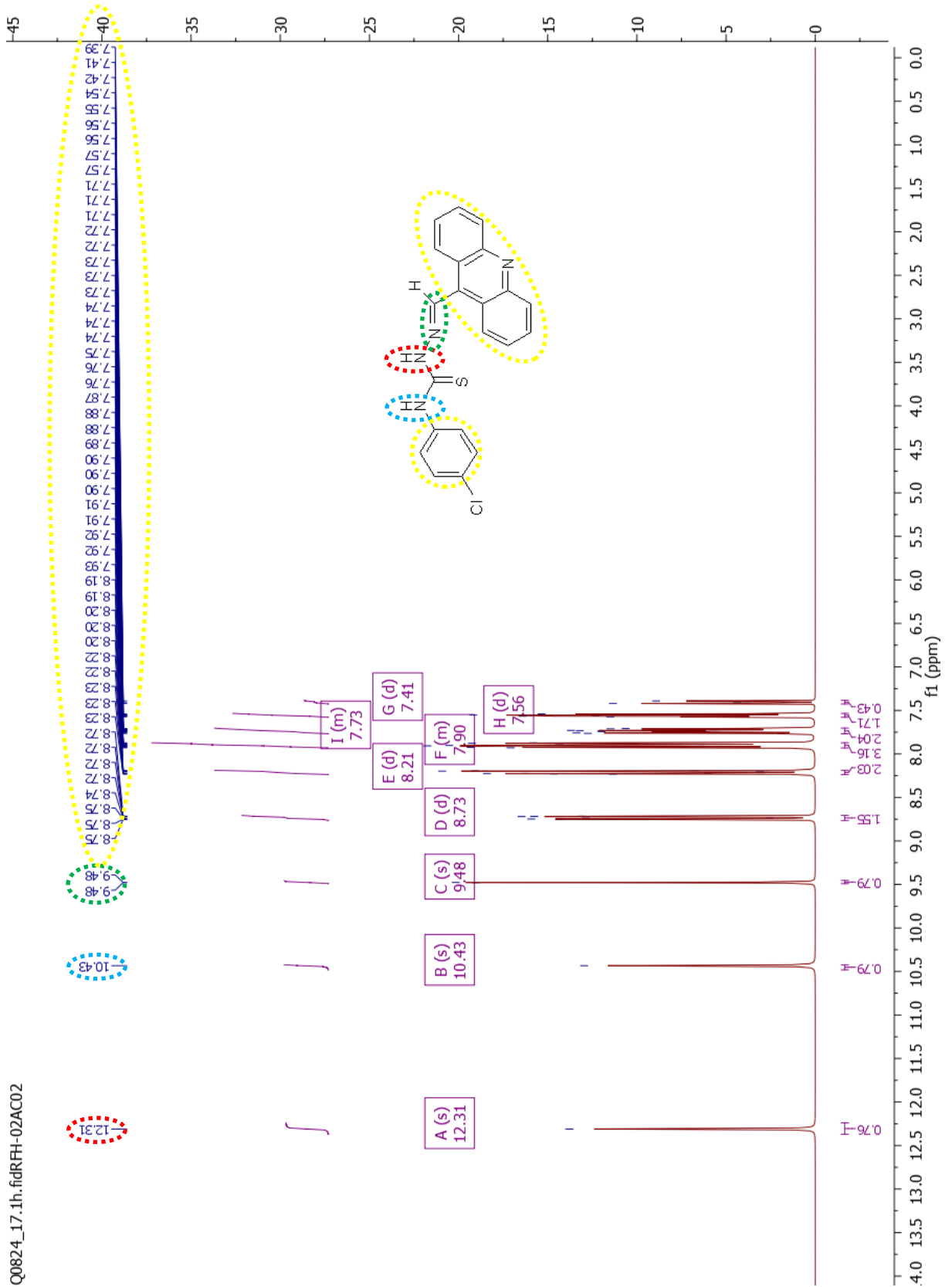
ESPECTROS DE RMN DE ¹H

Anexo 76 – RMN de ¹H da molécula SOL-AC1

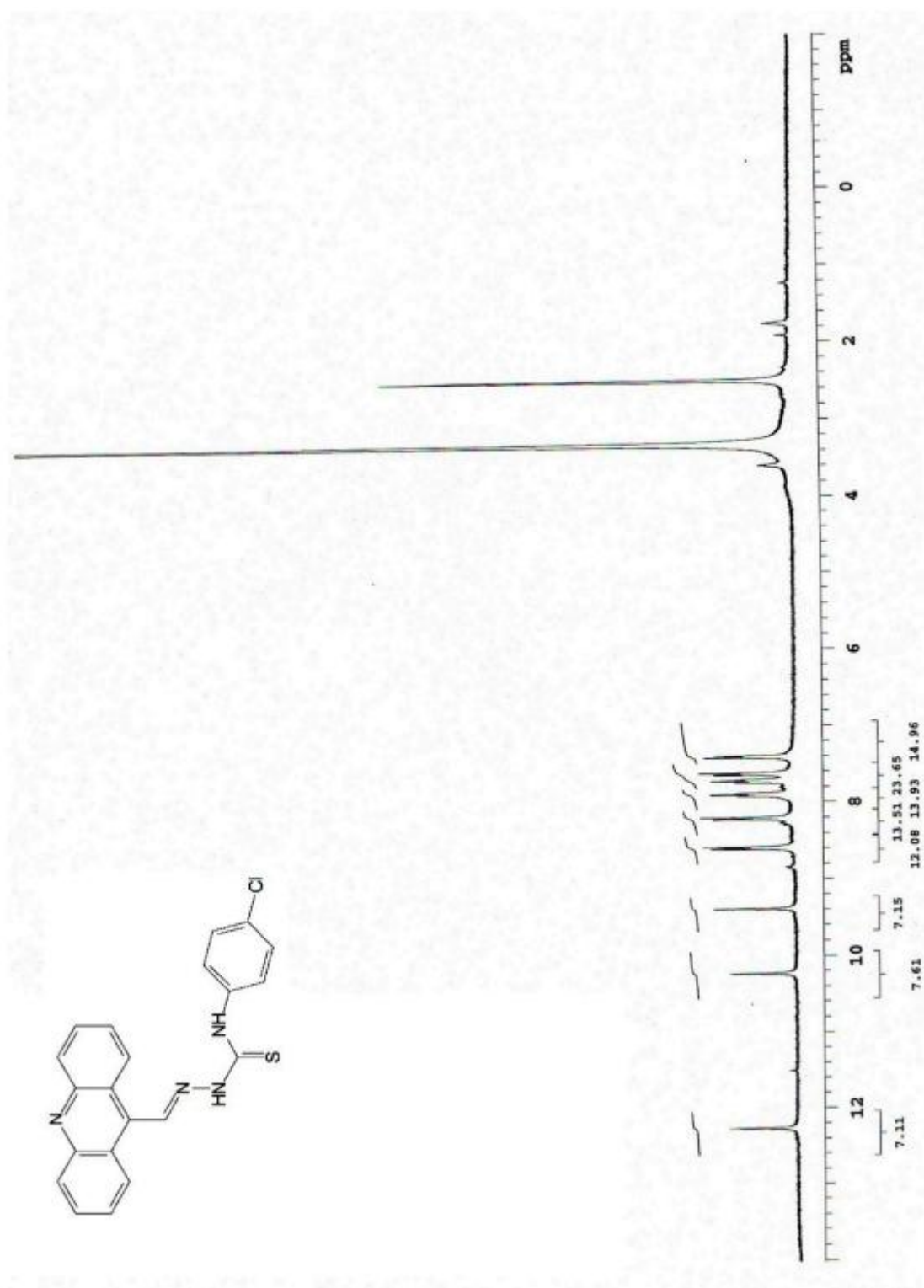


Anexo 77 – RMN de ^1H da molécula SOL-AC1 (3a) publicada por Almeida et al. (2015)

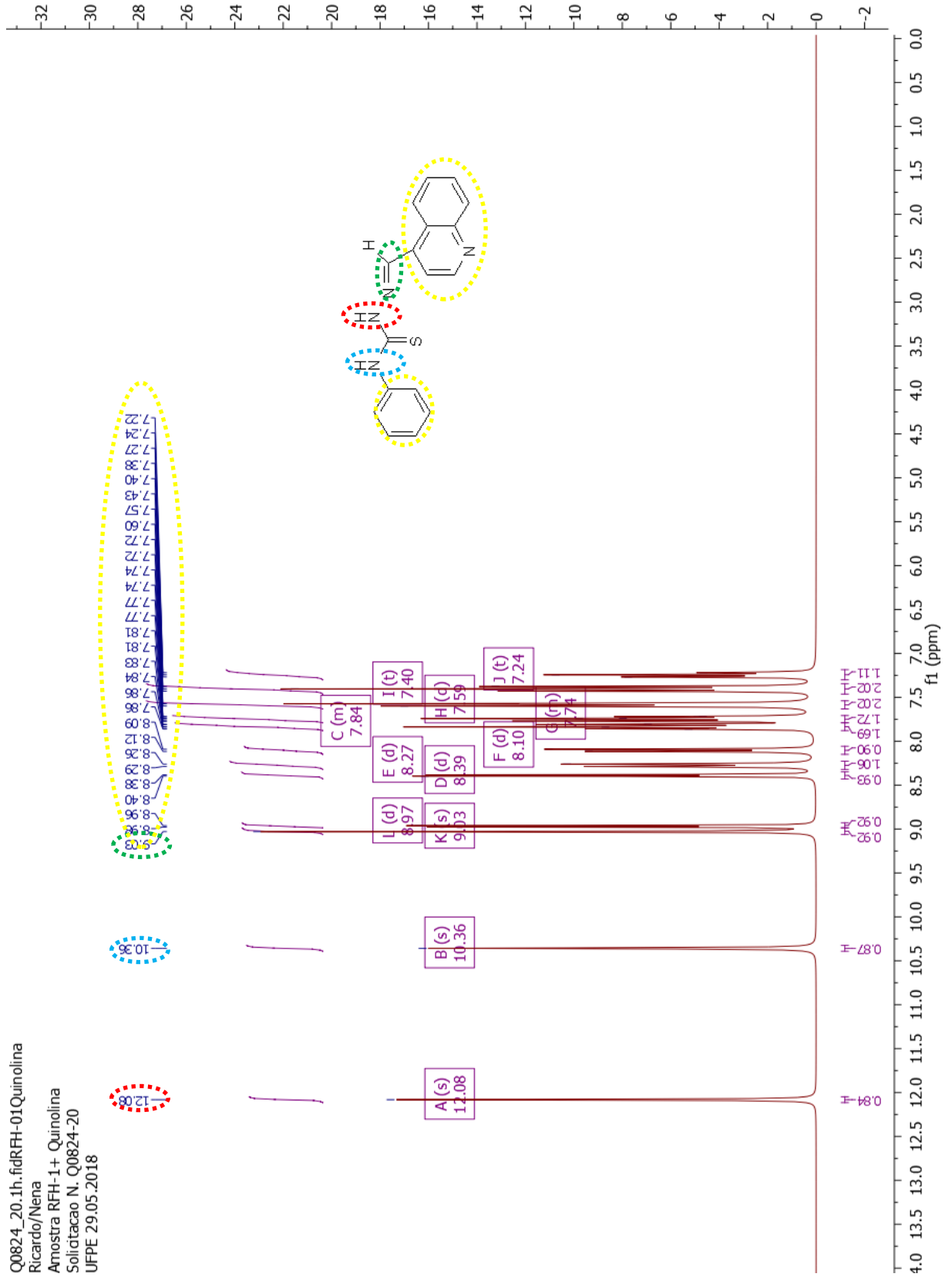
Anexo 78 – RMN de ¹H da molécula SOL-AC2



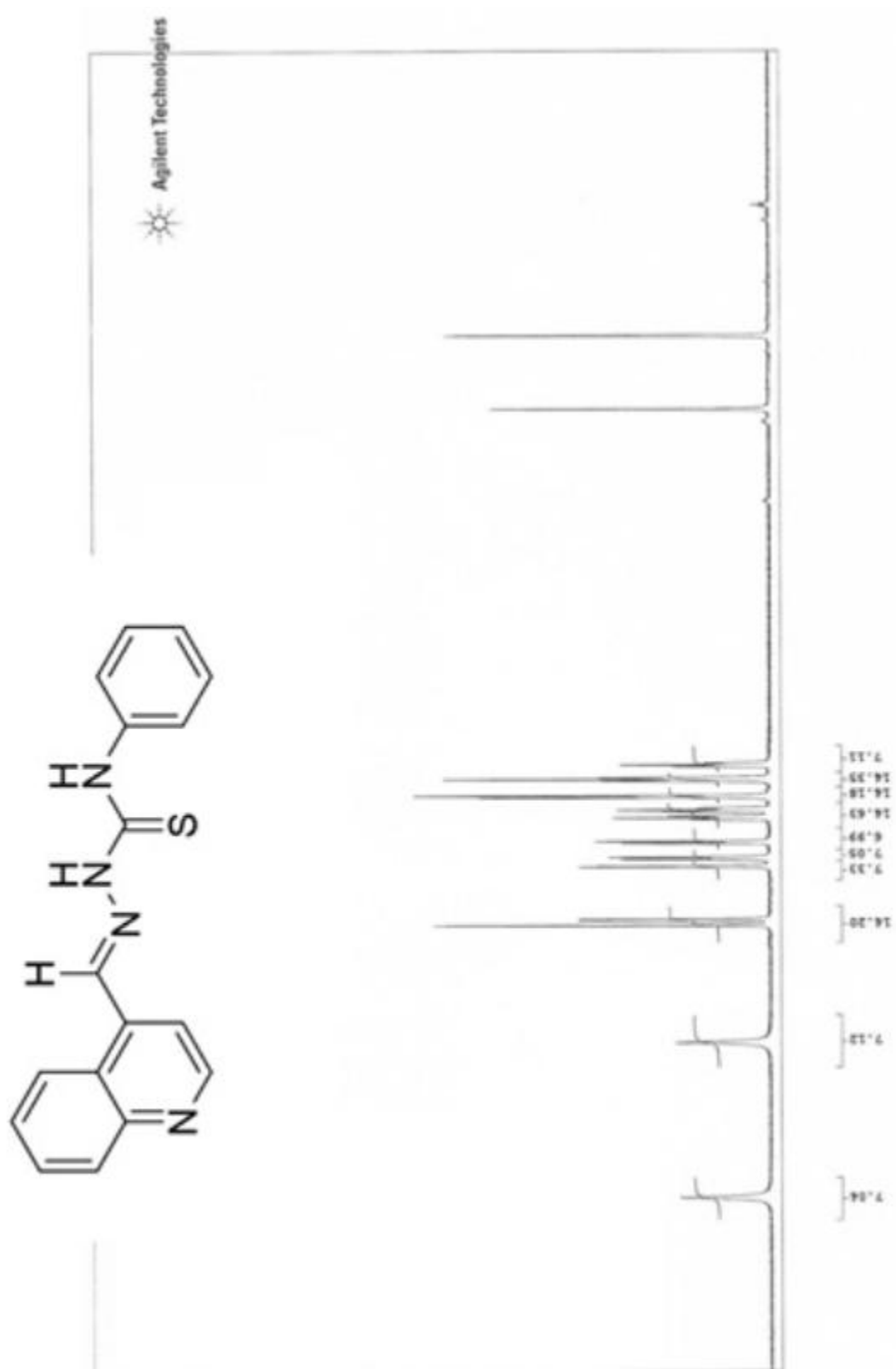
Q0824_17.1h.fidRHH-02AC02

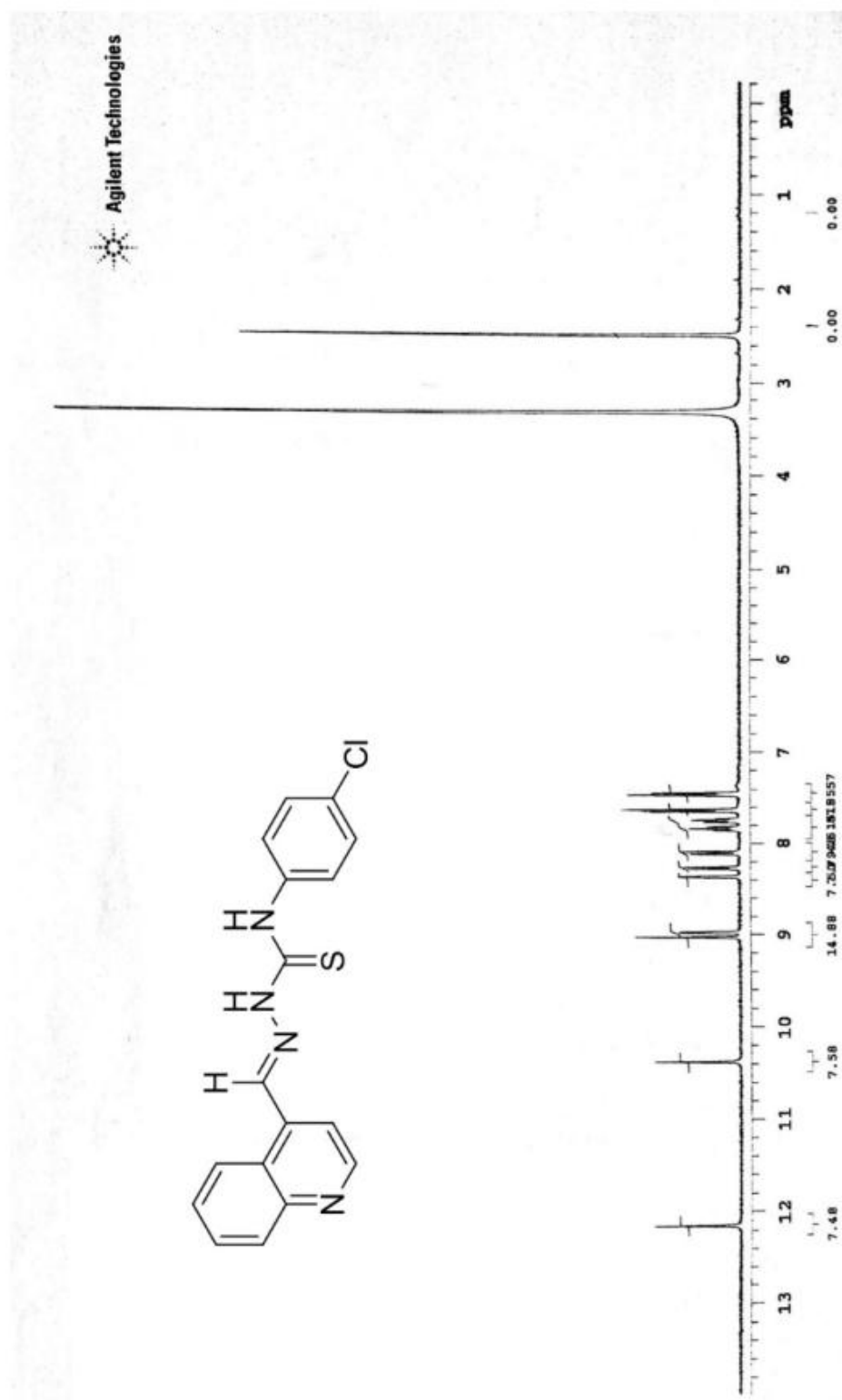
Anexo 79 – RMN de ^1H da molécula SOL-AC2 (3f) publicada por Almeida et al. (2015)

Anexo 80 – RMN de ¹H da molécula SOL-Q1

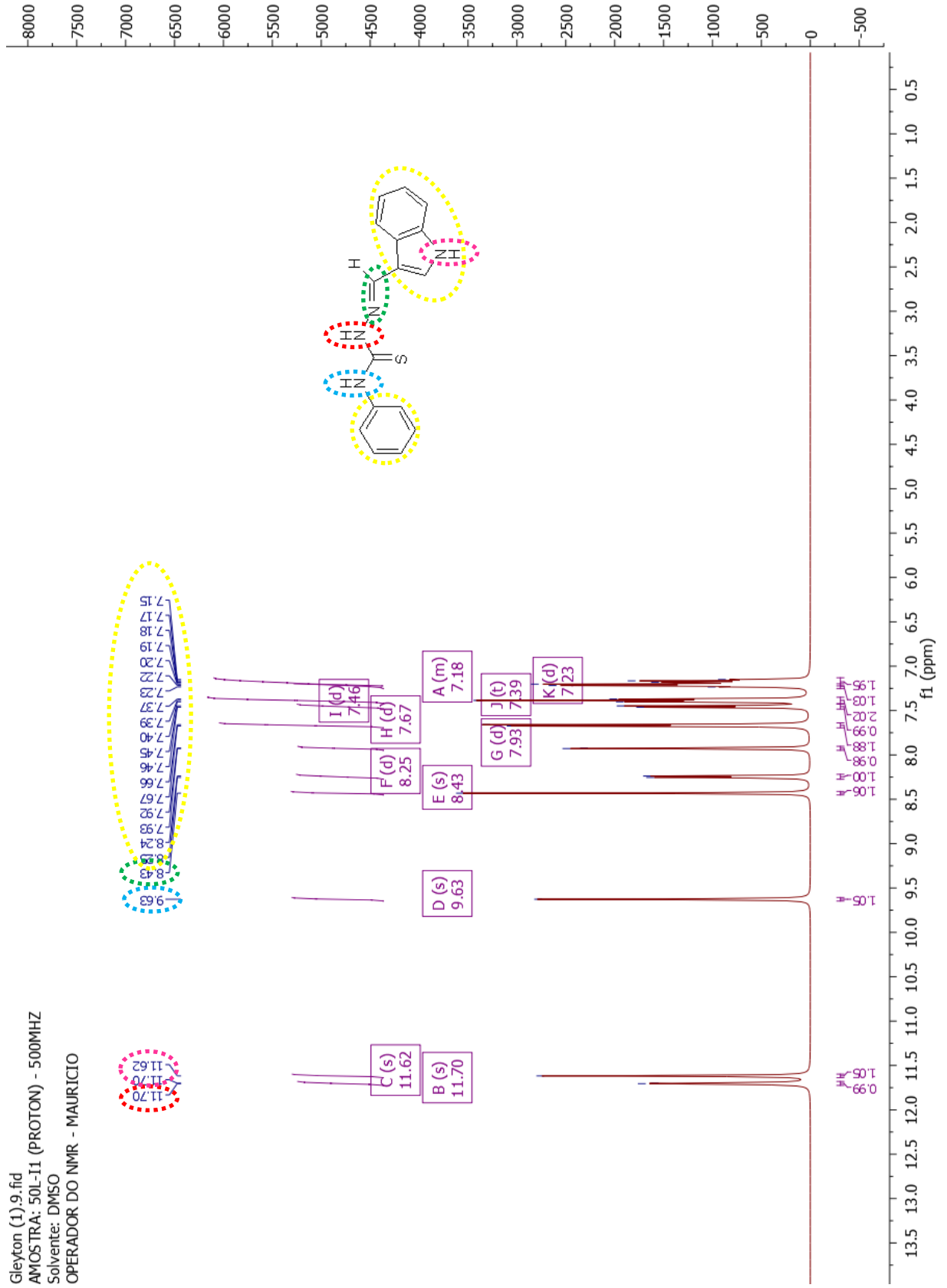


Q0824_20.1h.fidRFH-01Quinolina
Ricardo/Nena
Amostra RFH-1+ Quinolina
Solidacao N. Q0824-20
UFPE 29.05.2018

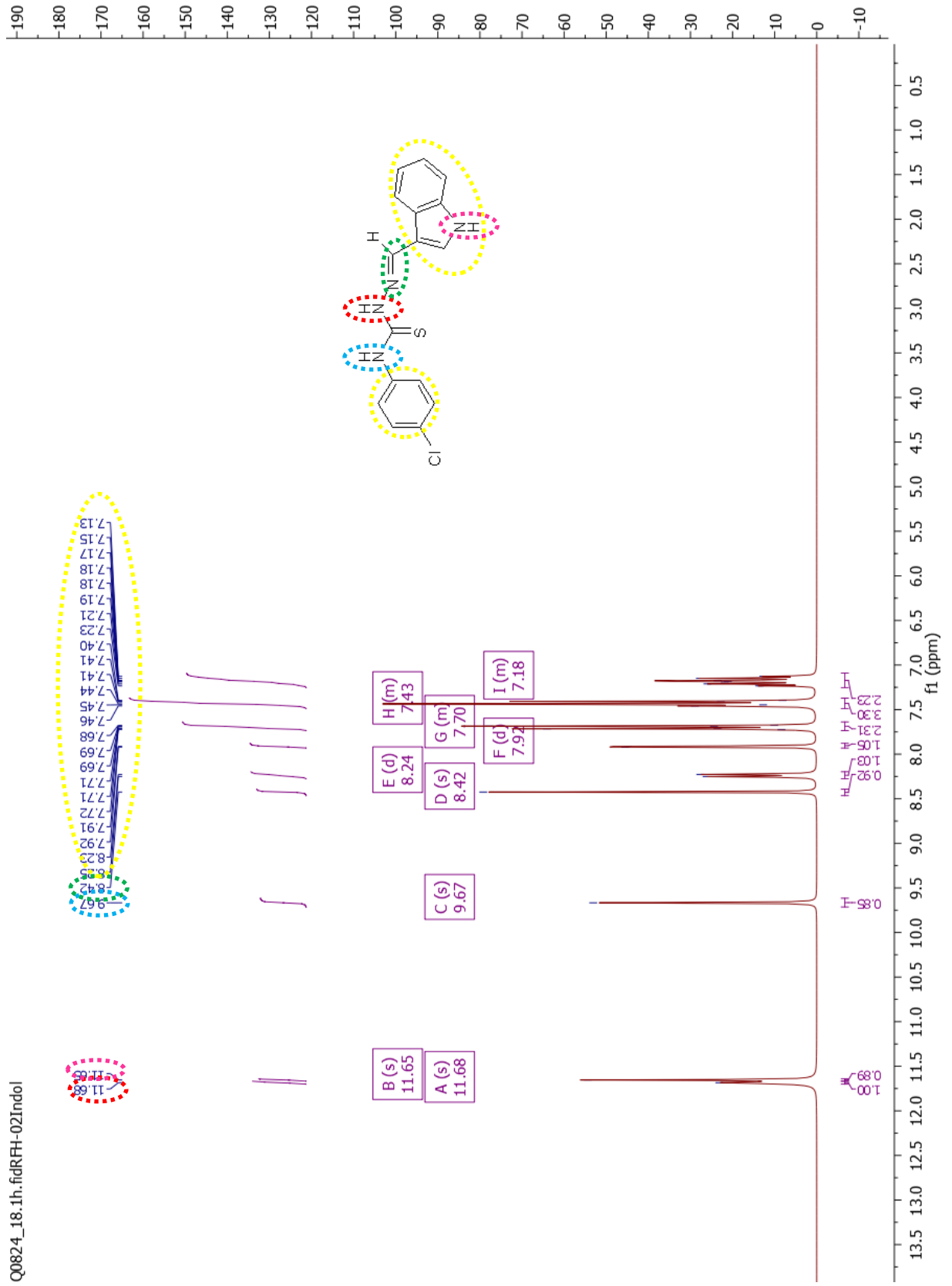
Anexo 81 – RMN de ^1H da molécula SOL-Q1 (JF-96) publicada por Ribeiro et al. (2019)

Anexo 83 – RMN de ^1H da molécula SOL-Q2 (JF-88) publicada por Ribeiro et al. (2019)

Anexo 84 – RMN de ¹H da molécula SOL-I1

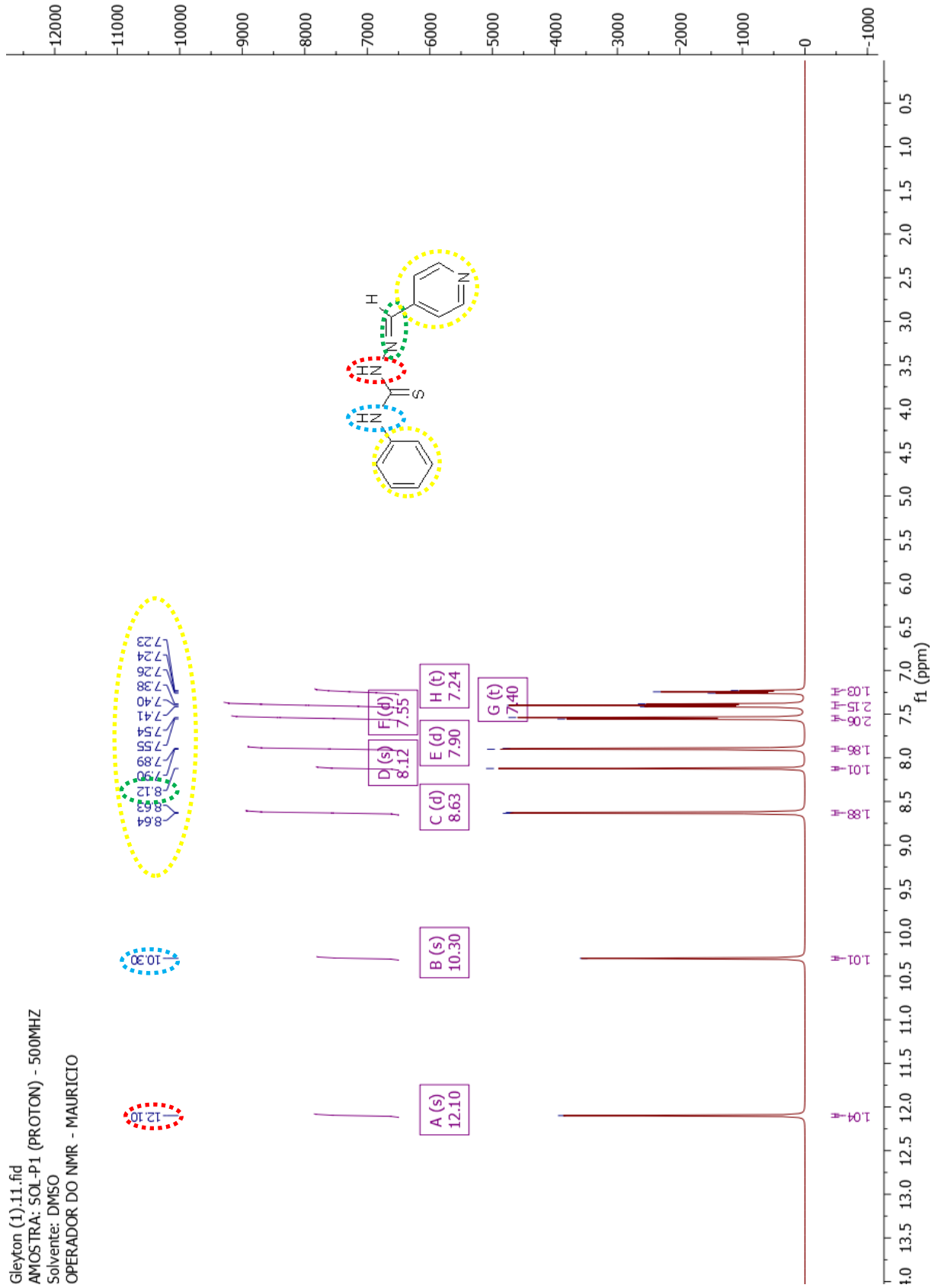


Anexo 85 - RMN de ¹H da molécula SOL-I2

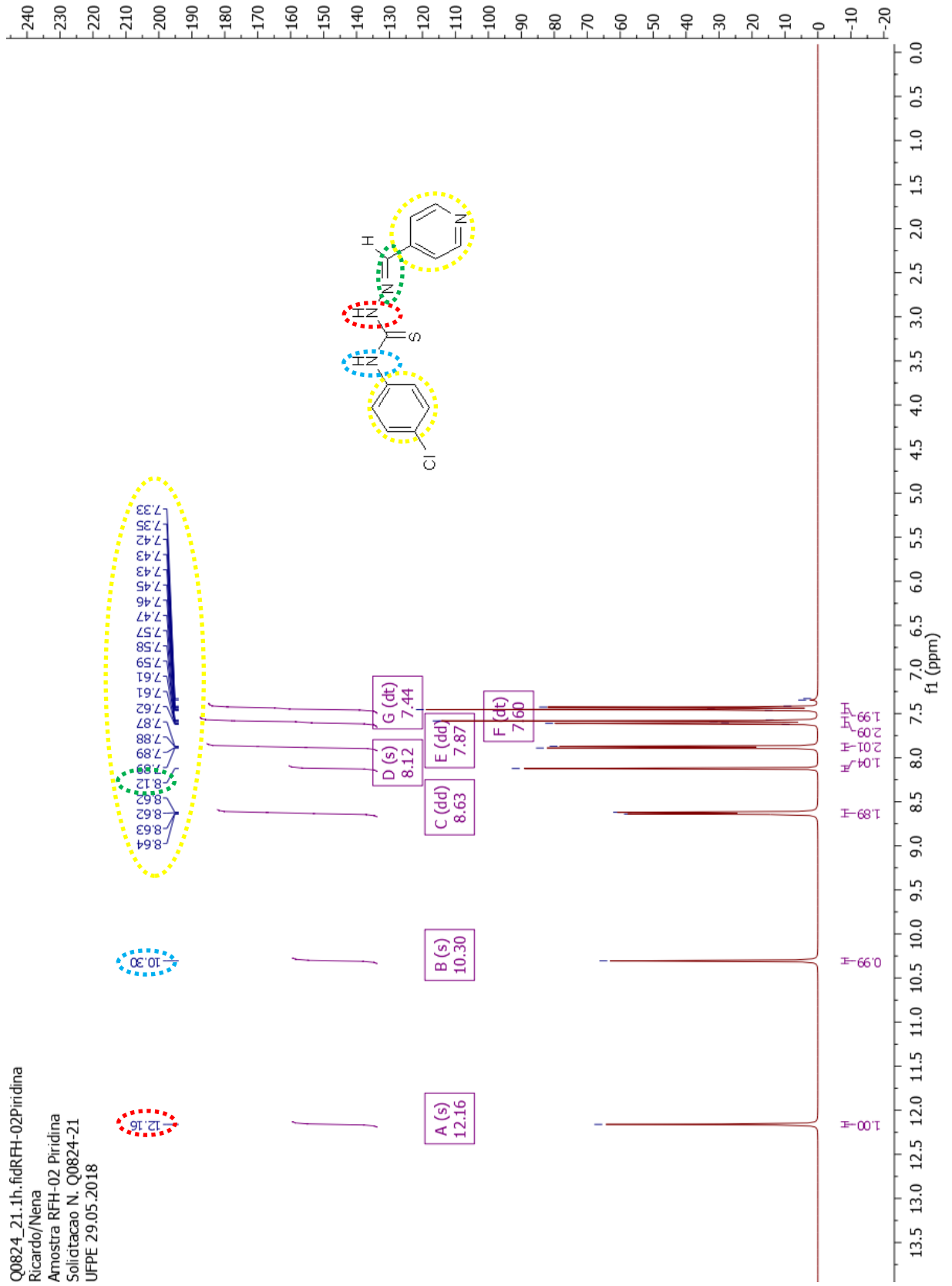


Q0824_18.1h.fidRHH-02Indol

Anexo 86 – RMN de ¹H da molécula SOL-P1

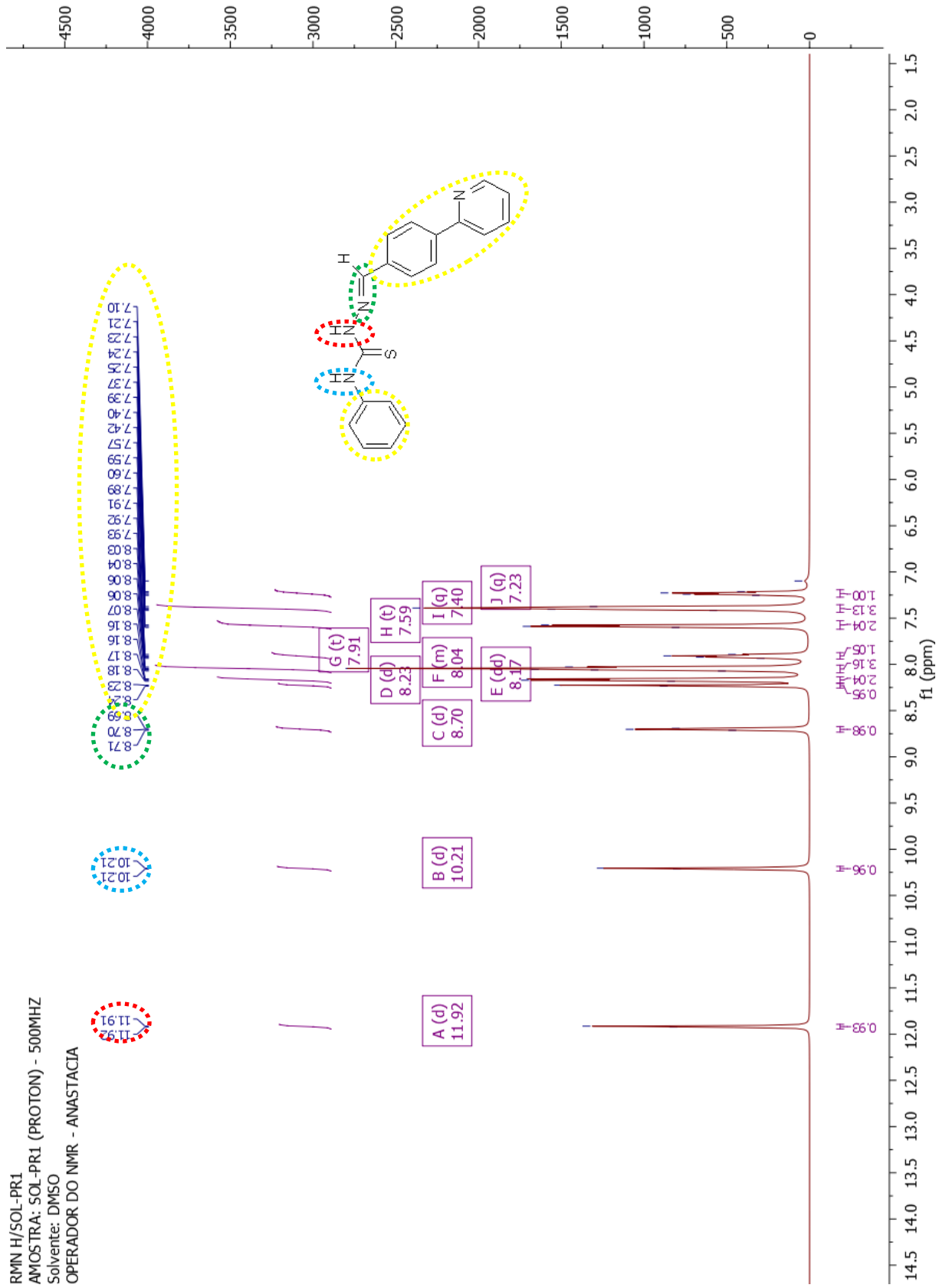


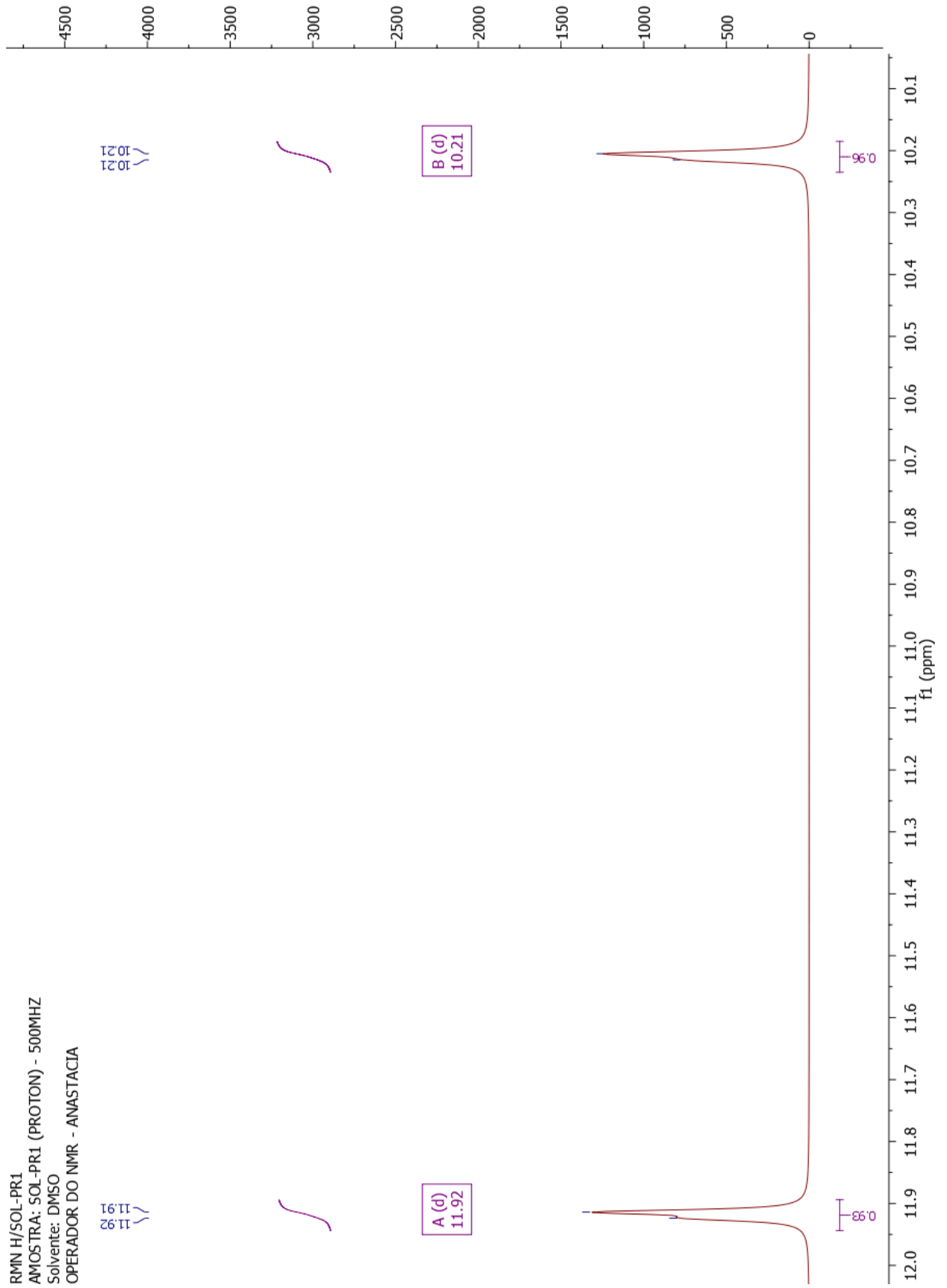
Anexo 87 – RMN de ¹H da molécula SOL-P2

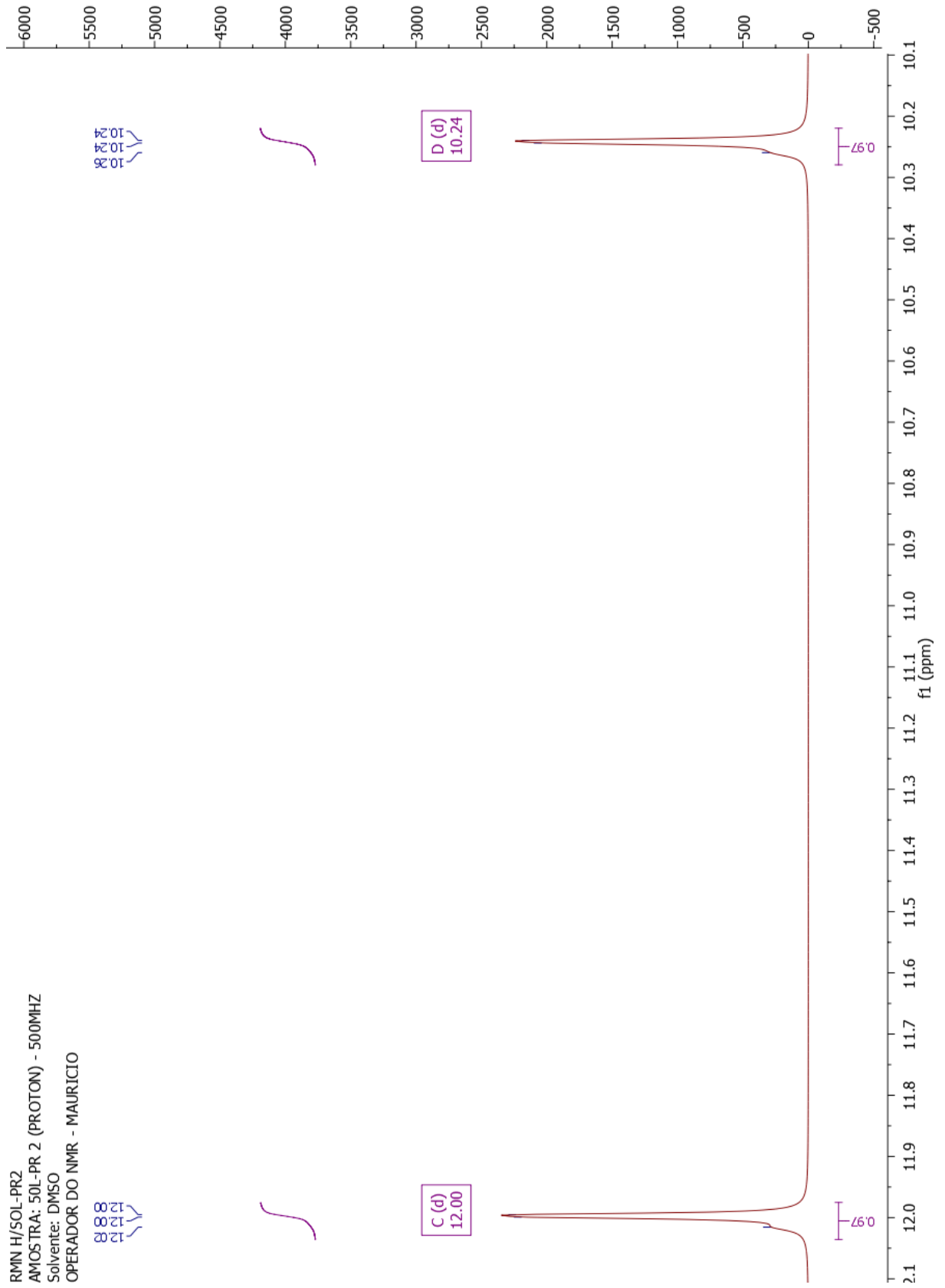


Q0824_21.1h.fidRFH-02Piridina
Ricardo/Nena
Amostra RFH-02 Piridina
Solidacao N. Q0824-21
UFPE 29.05.2018

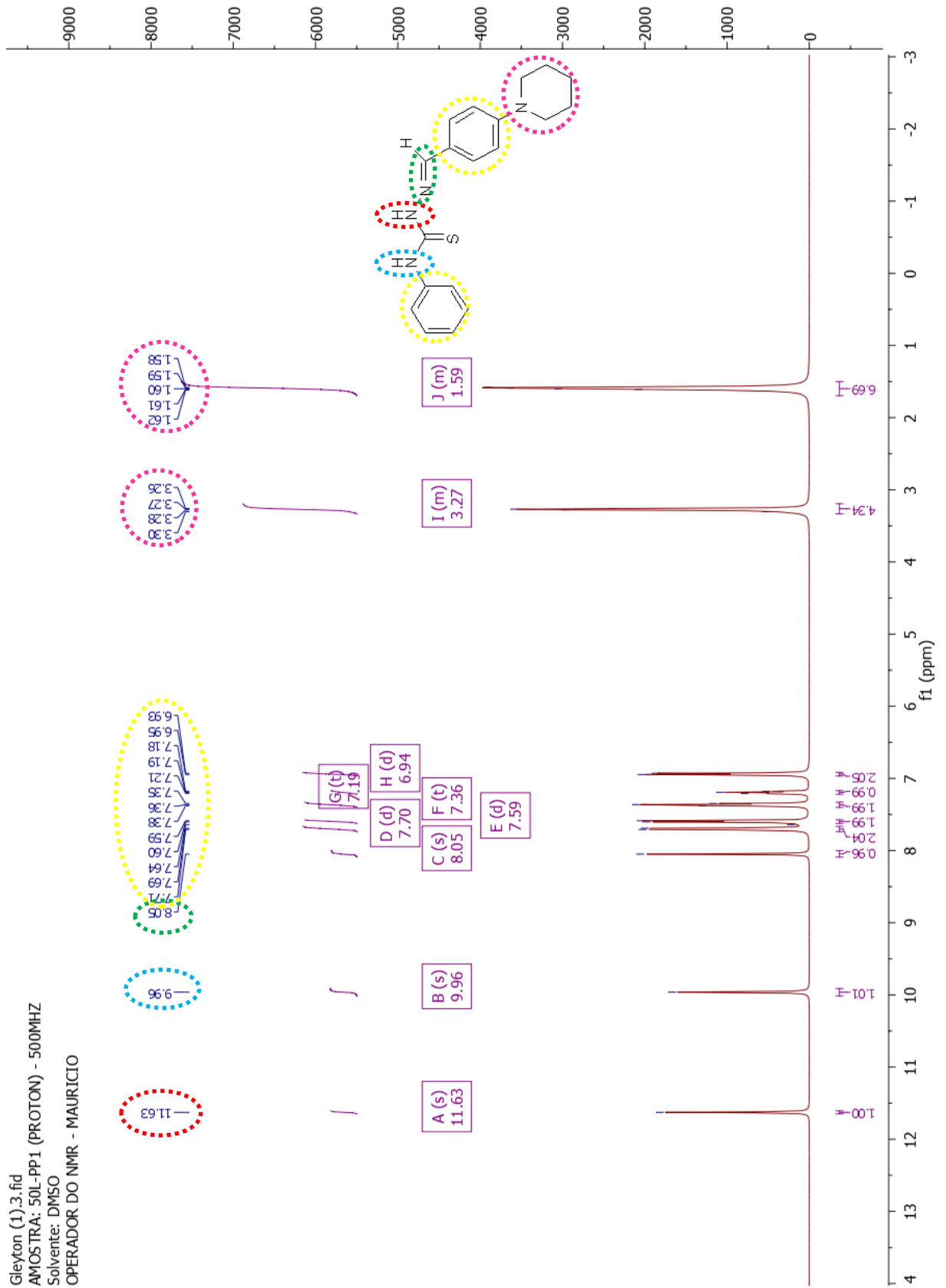
Anexo 88 – RMN de ¹H da molécula SOL-PR1



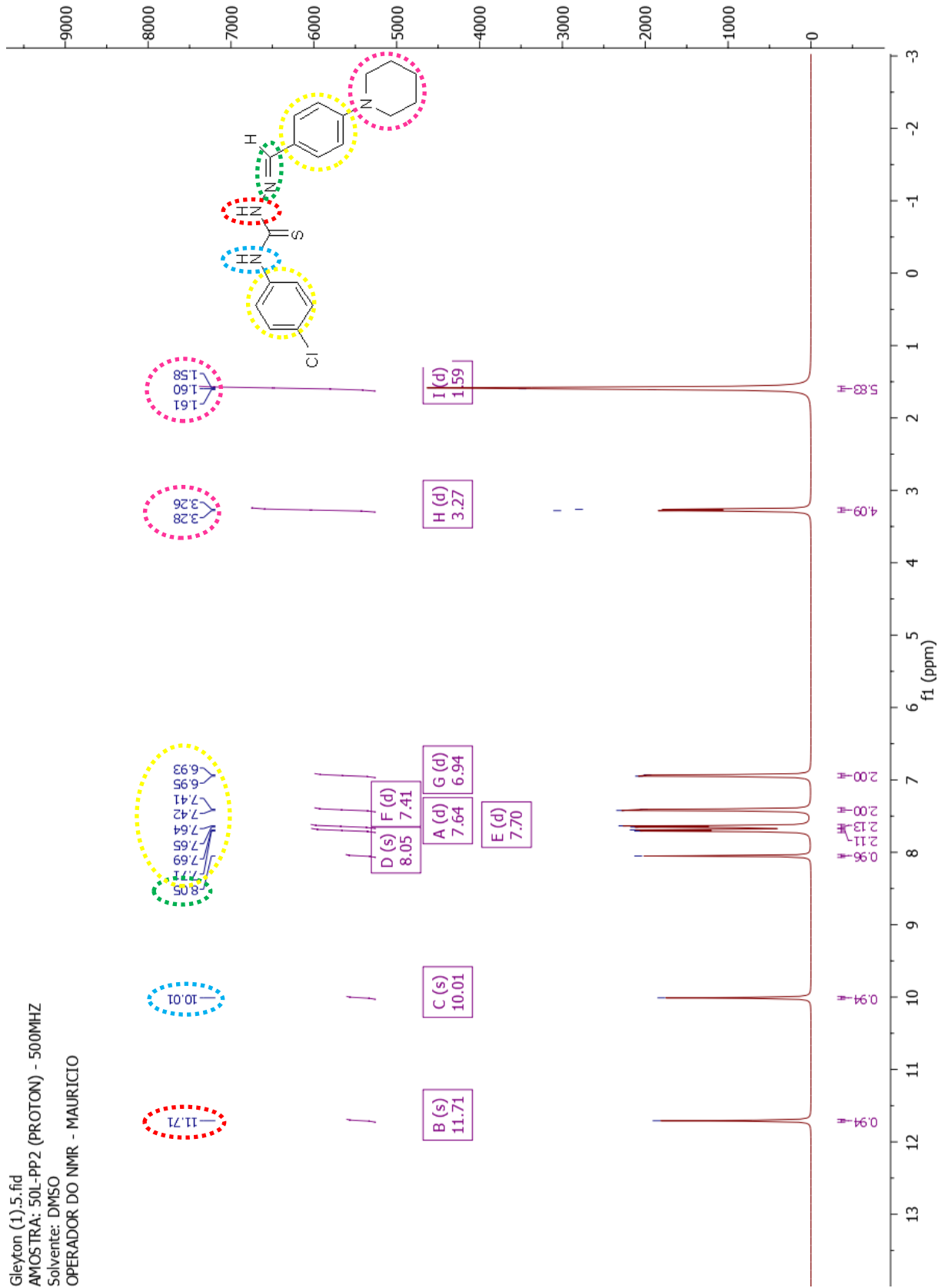
Anexo 89 – RMN de ^1H da molécula SOL-PR1 ampliado

Anexo 91 – RMN de ^1H da molécula SOL-PR2 ampliado

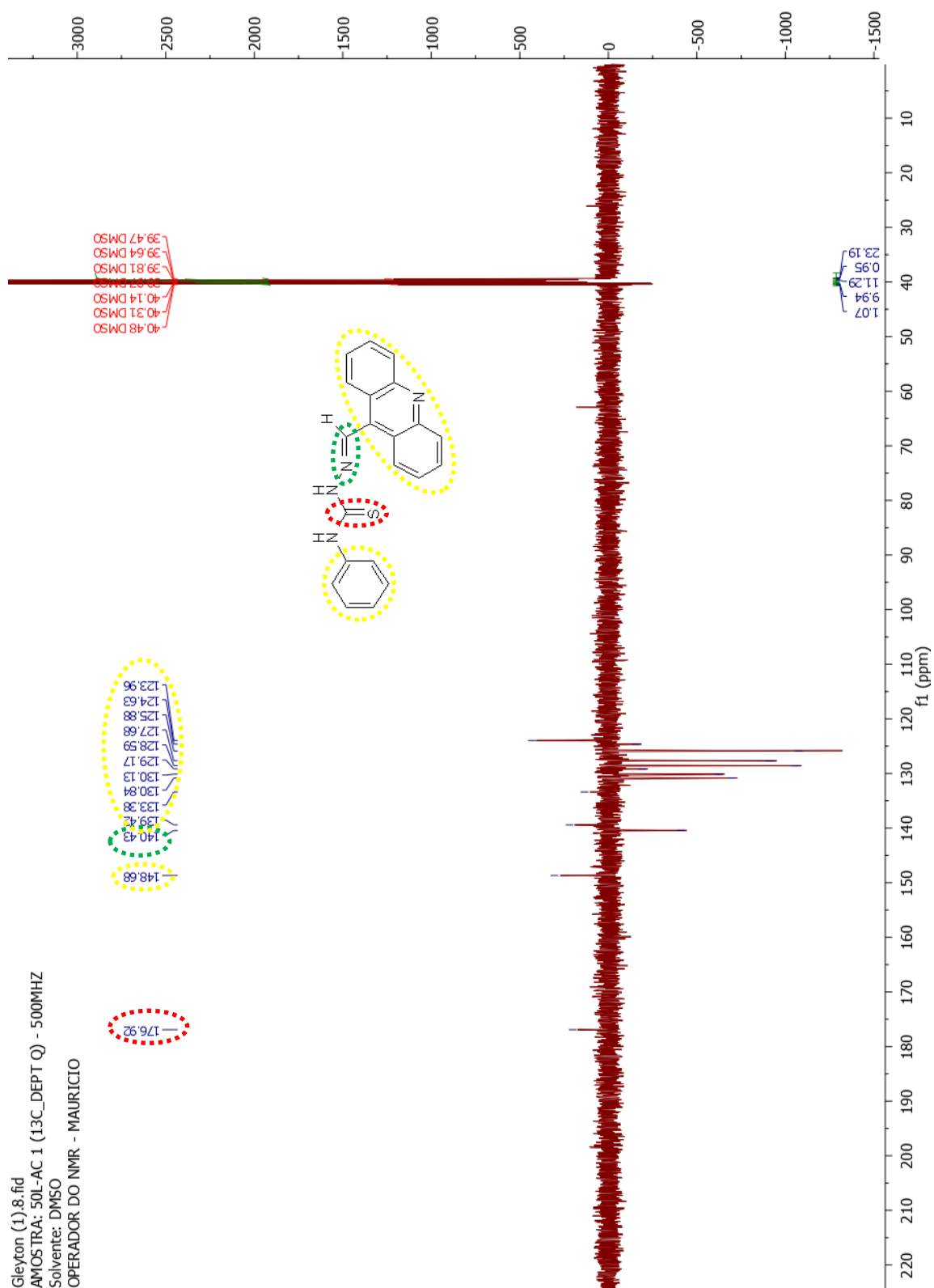
Anexo 92 – RMN de ¹H da molécula SOL-PP1

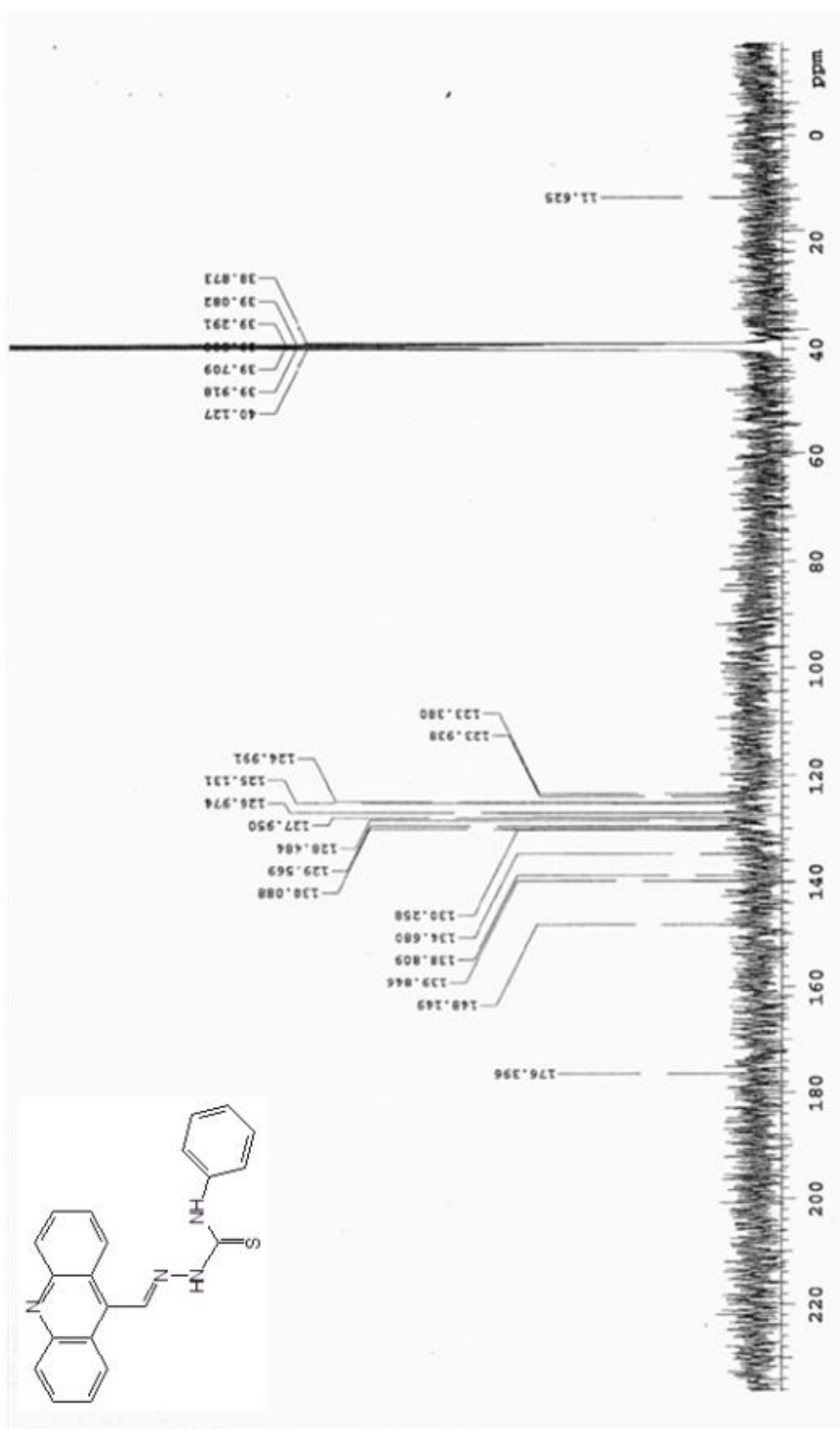


Anexo 93 – RMN de ¹H da molécula SOL-PP2

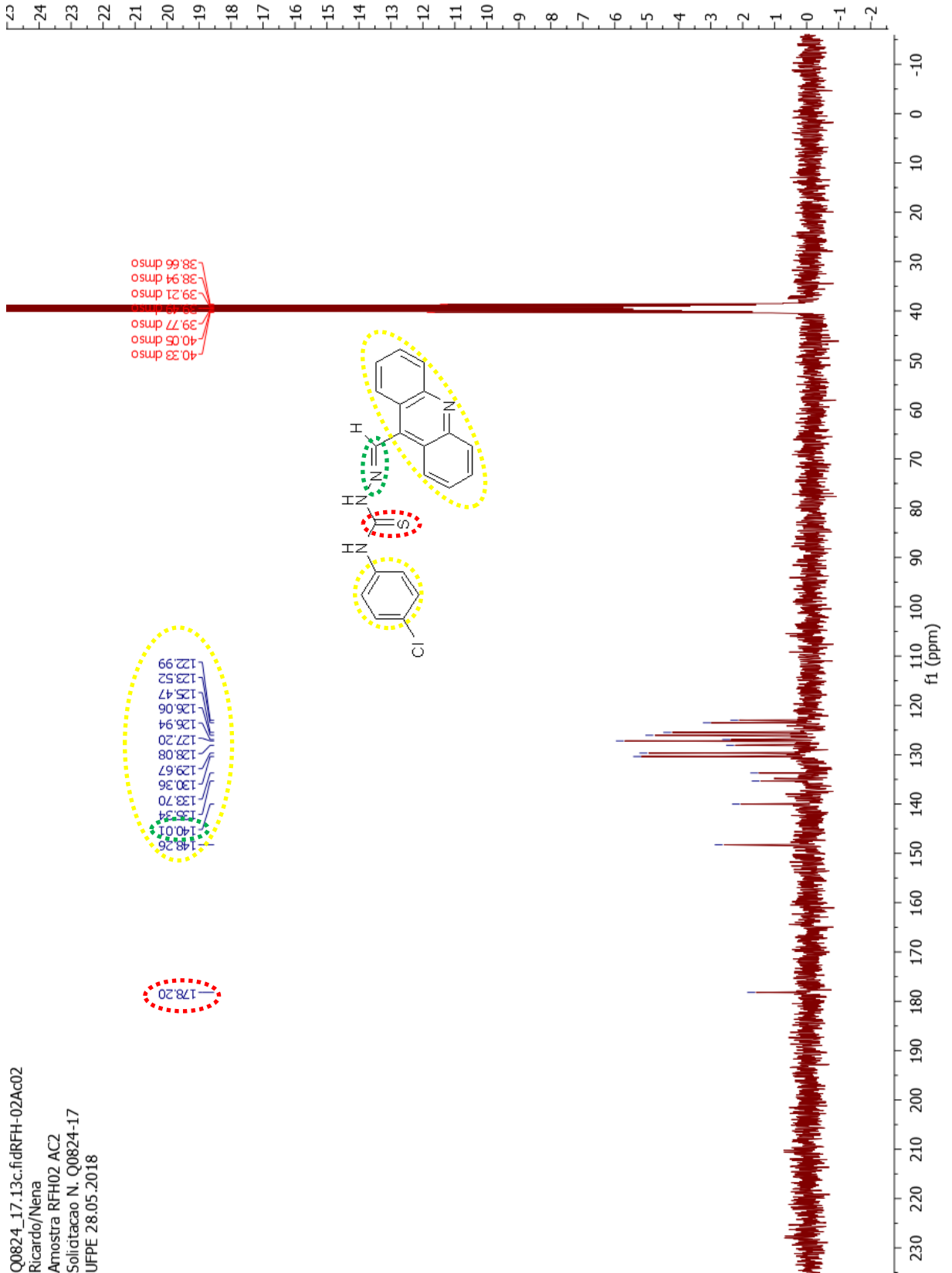


ANEXOS

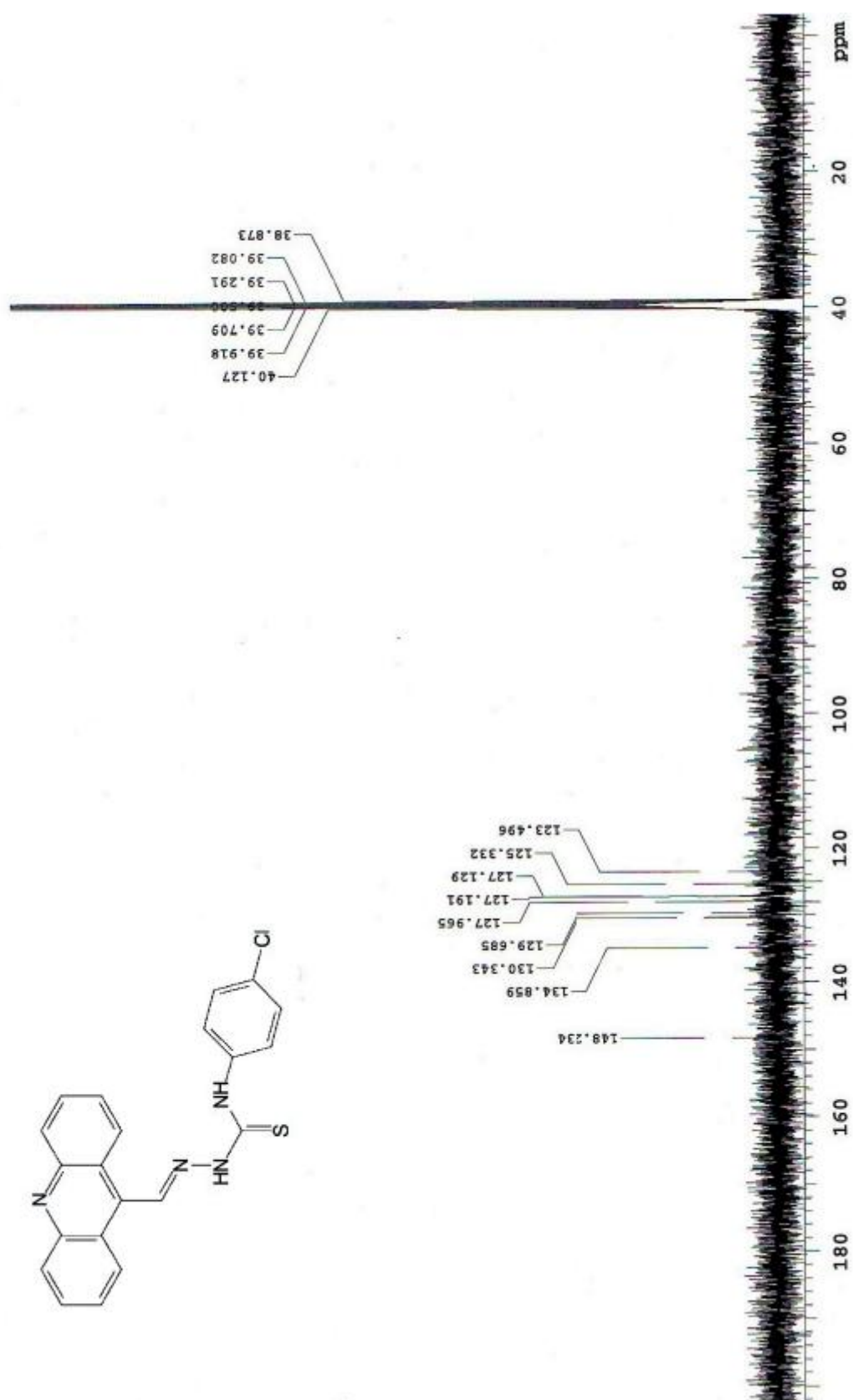
ESPECTROS DE RMN DE ^{13}C Anexo 94 – RMN de ^{13}C da molécula SOL-AC1

Anexo 95 – RMN de ^{13}C da molécula SOL-AC1 (3a) publicada por Almeida et al. (2015)

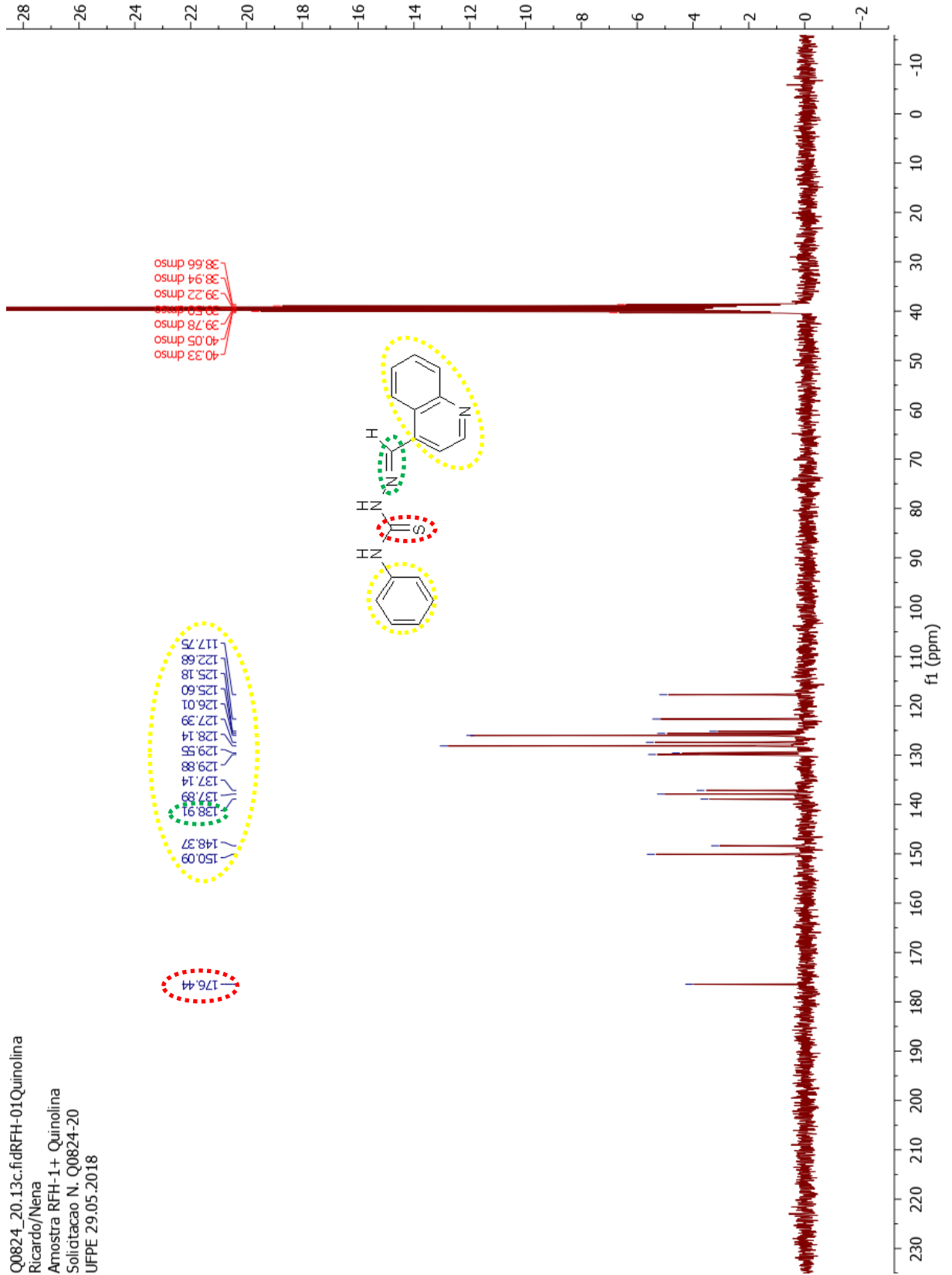
Anexo 96 – RMN de ¹³C da molécula SOL-AC2

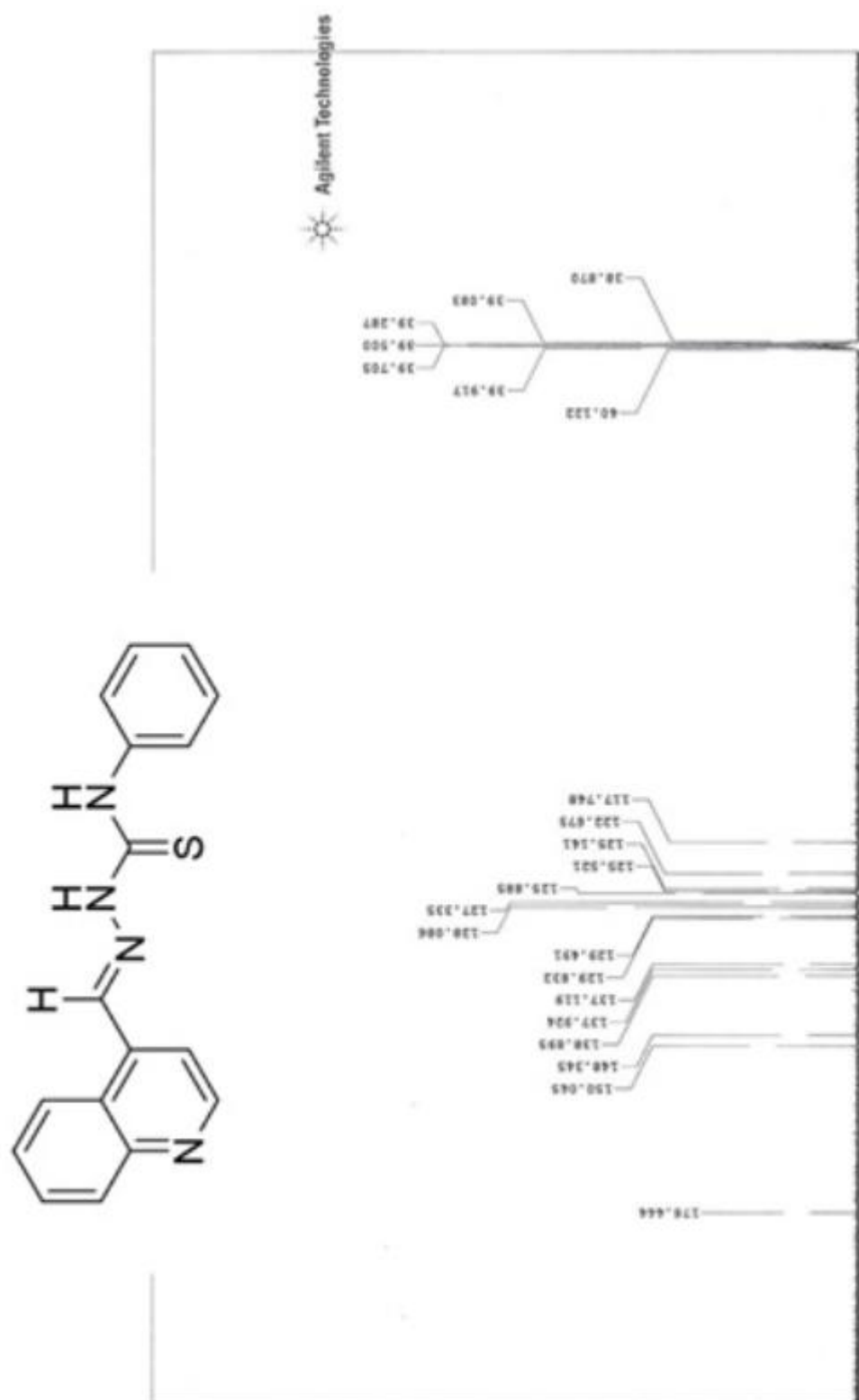


Q0824_17.13c.fidRFH-02Ac02
 Ricardo/Nena
 Amostra RFH02 AC2
 Solicitação N. Q0824-17
 UFPE 28.05.2018

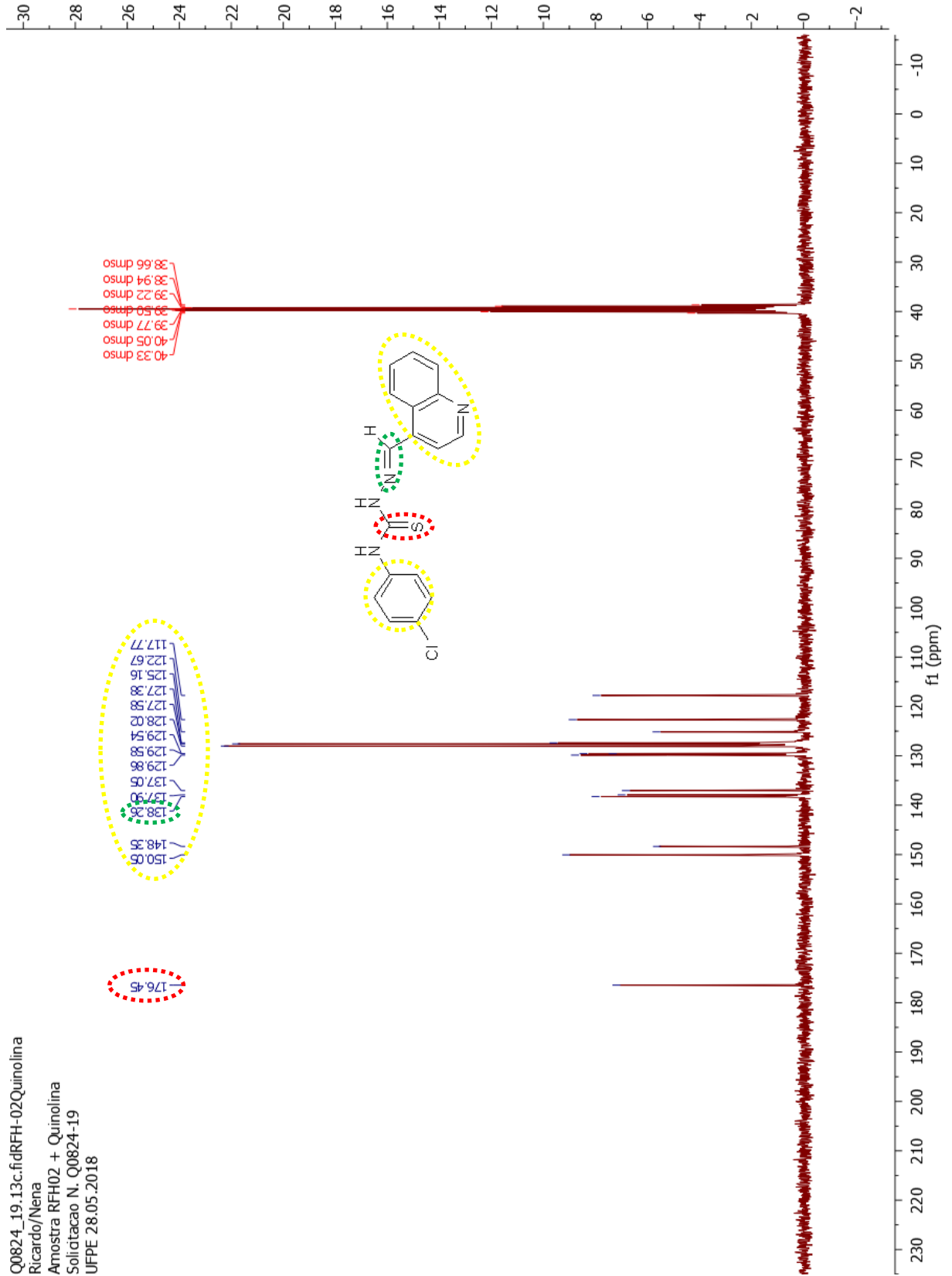
Anexo 97 – RMN de ^{13}C da molécula SOL-AC2 (3f) publicada por Almeida et al. (2015)

Anexo 98 – RMN de ¹³C da molécula SOL-Q1

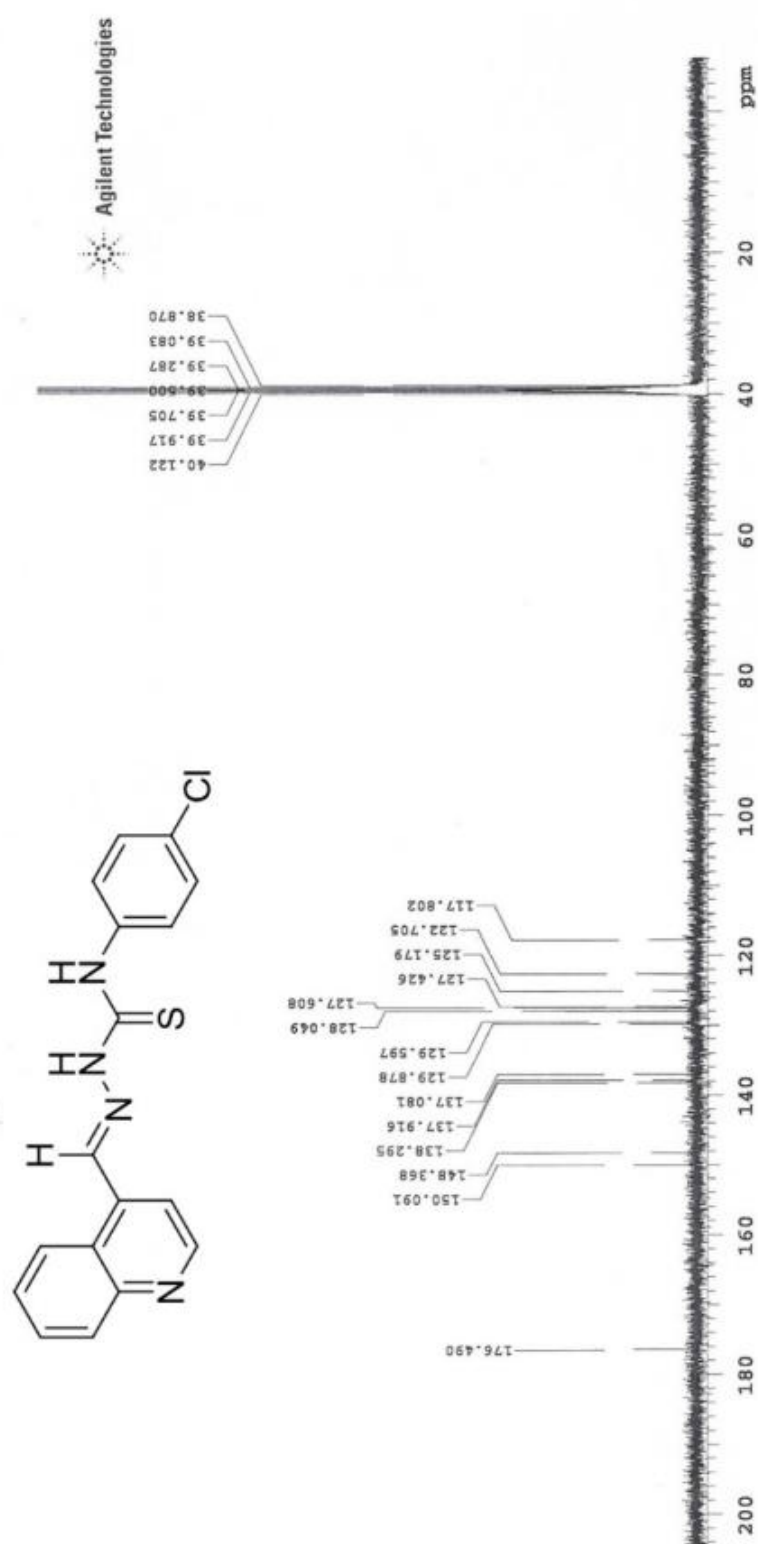


Anexo 99 – RMN de ^{13}C da molécula SOL-Q1 (JF-96) publicada por Ribeiro et al. (2019)

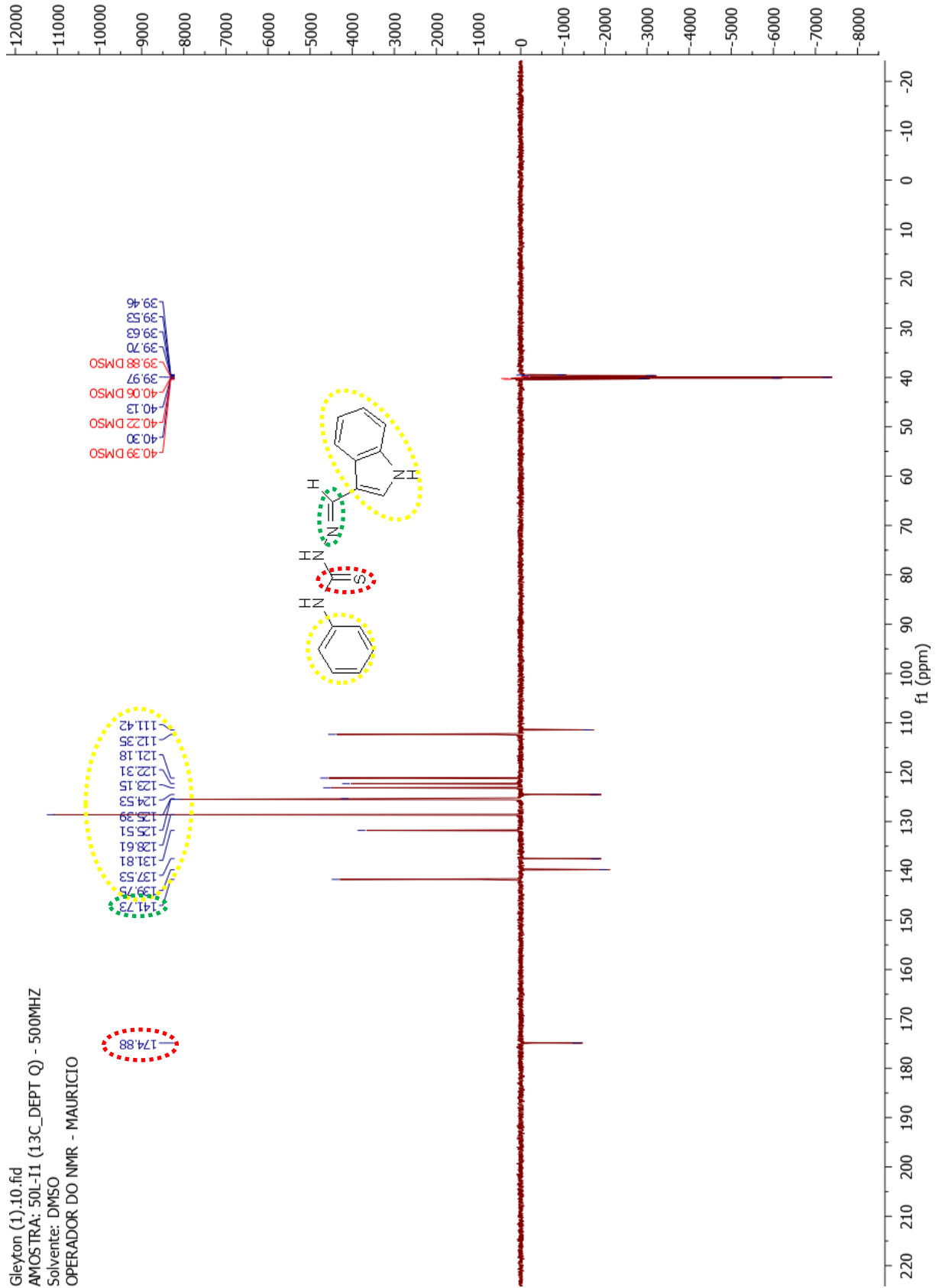
Anexo 100 – RMN de ¹³C da molécula SOL-Q2

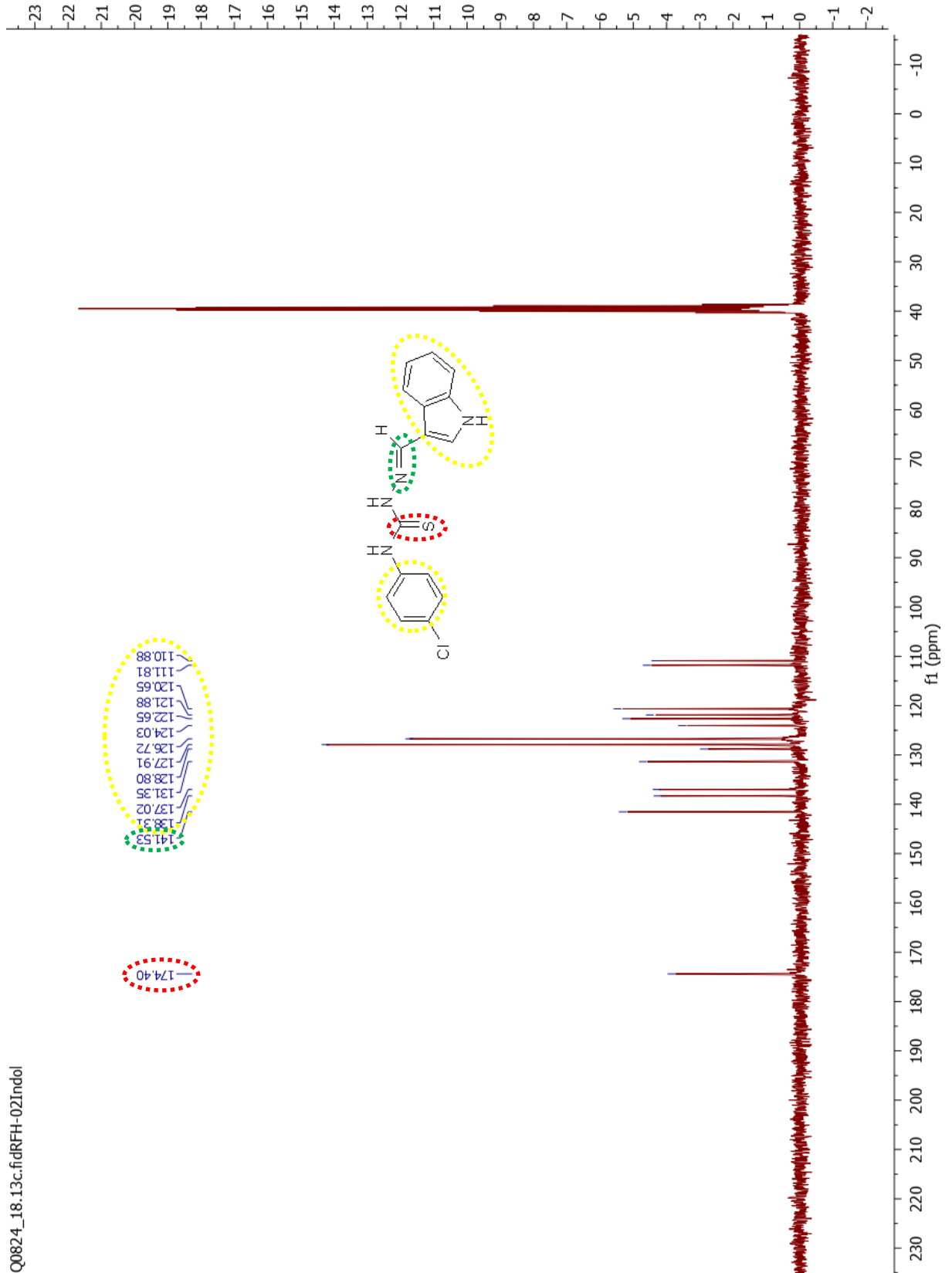


Q0824_19_13c.fidRFH-02Quinolina
 Ricardo/Nena
 Amostra RFH02 + Quinolina
 Solicitacao N. Q0824-19
 UFPE 28.05.2018

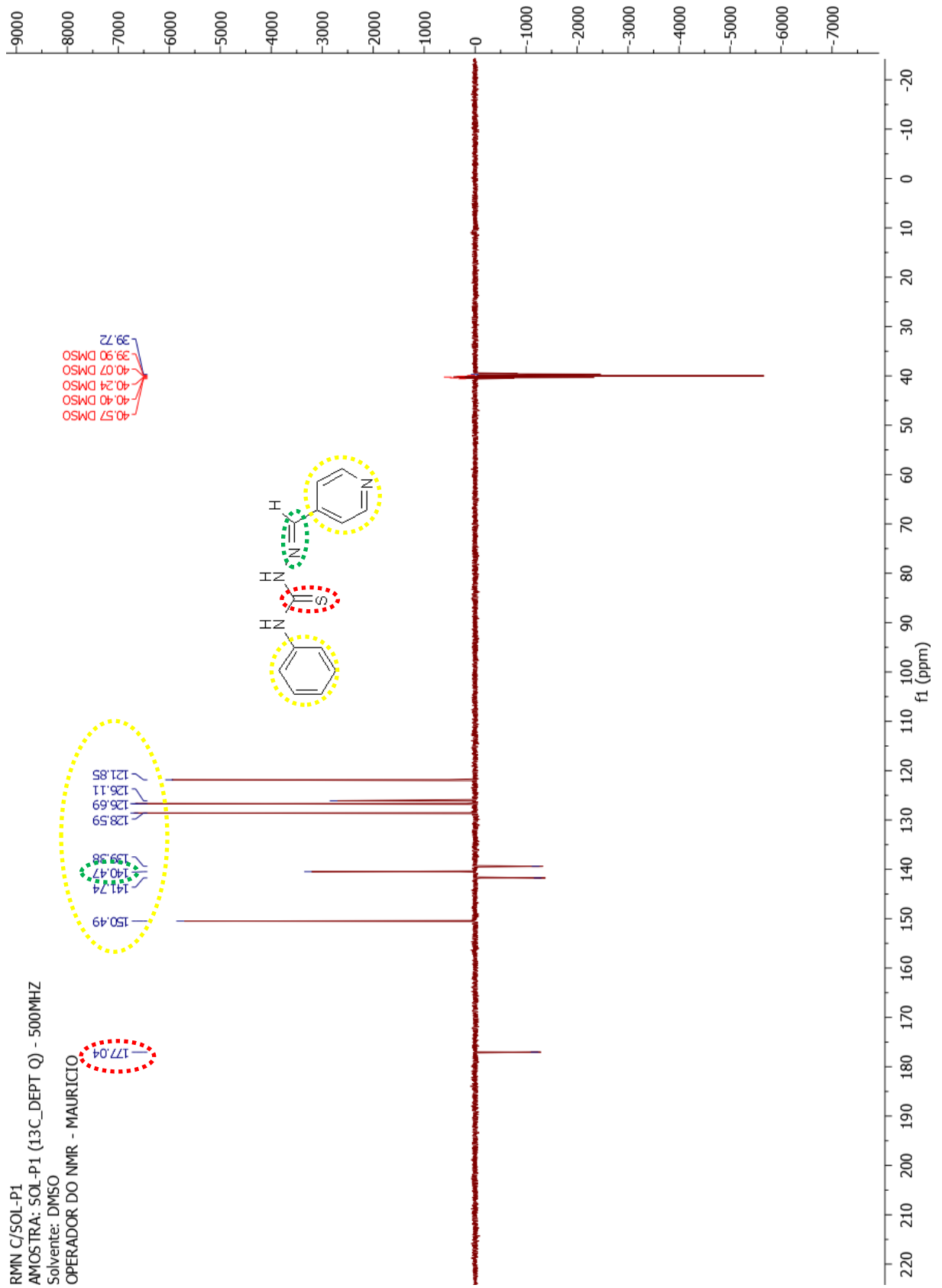
Anexo 101 – RMN de ^{13}C da molécula SOL-Q2 (JF-88) publicada por Ribeiro et al. (2019)

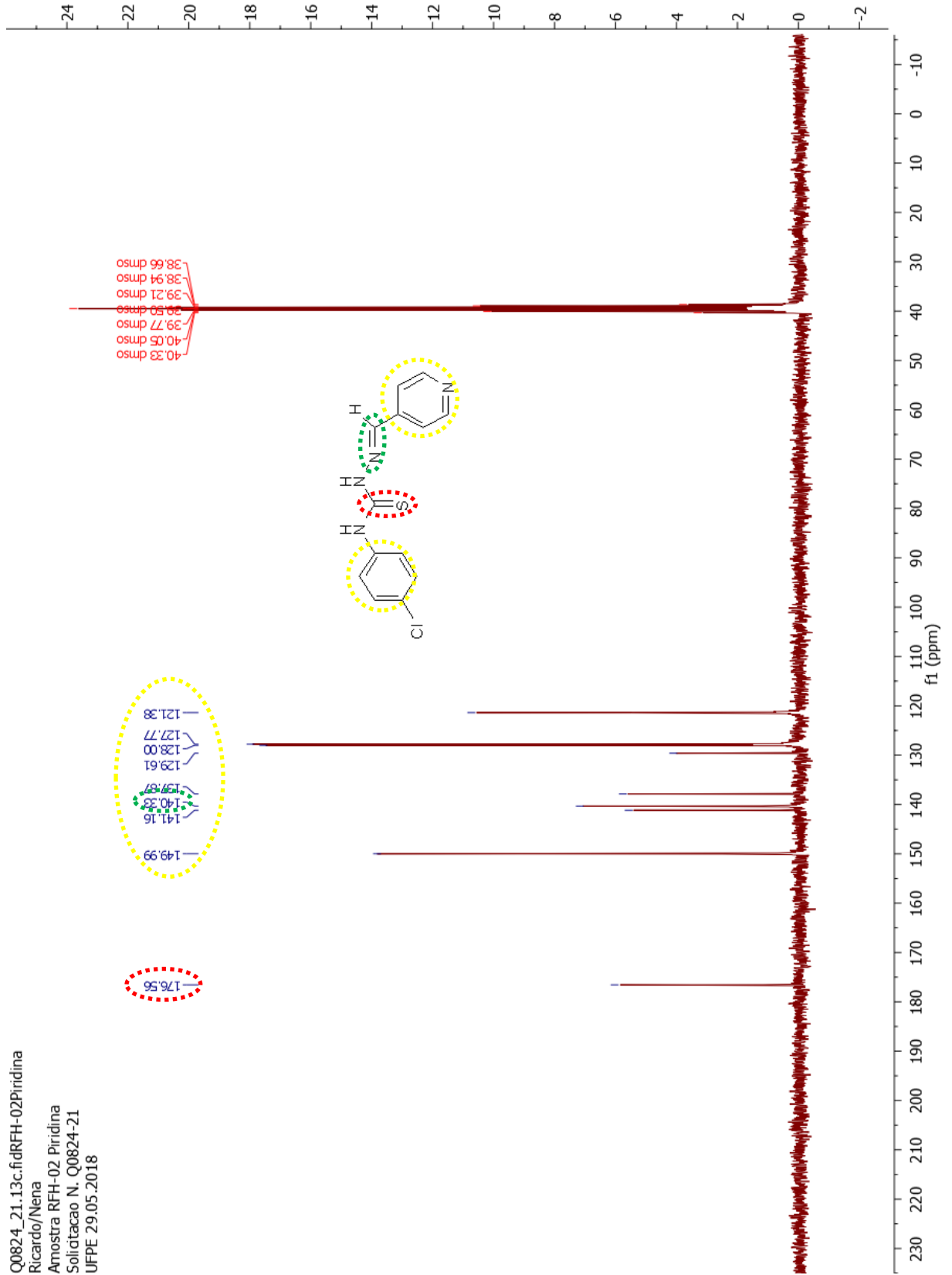
Anexo 102 – RMN de ¹³C da molécula SOL-I1

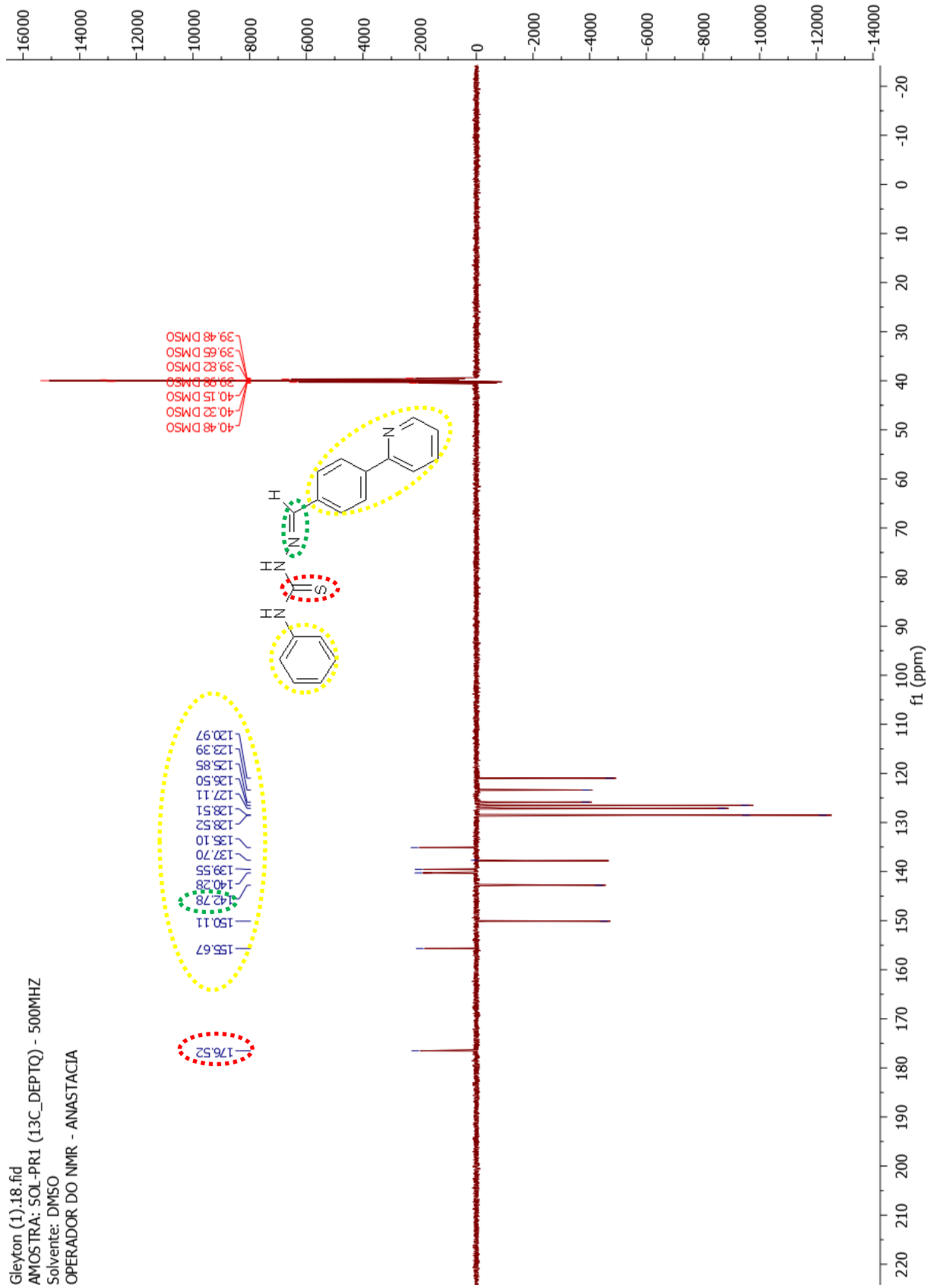


Anexo 103 – RMN de ^{13}C da molécula SOL-I2

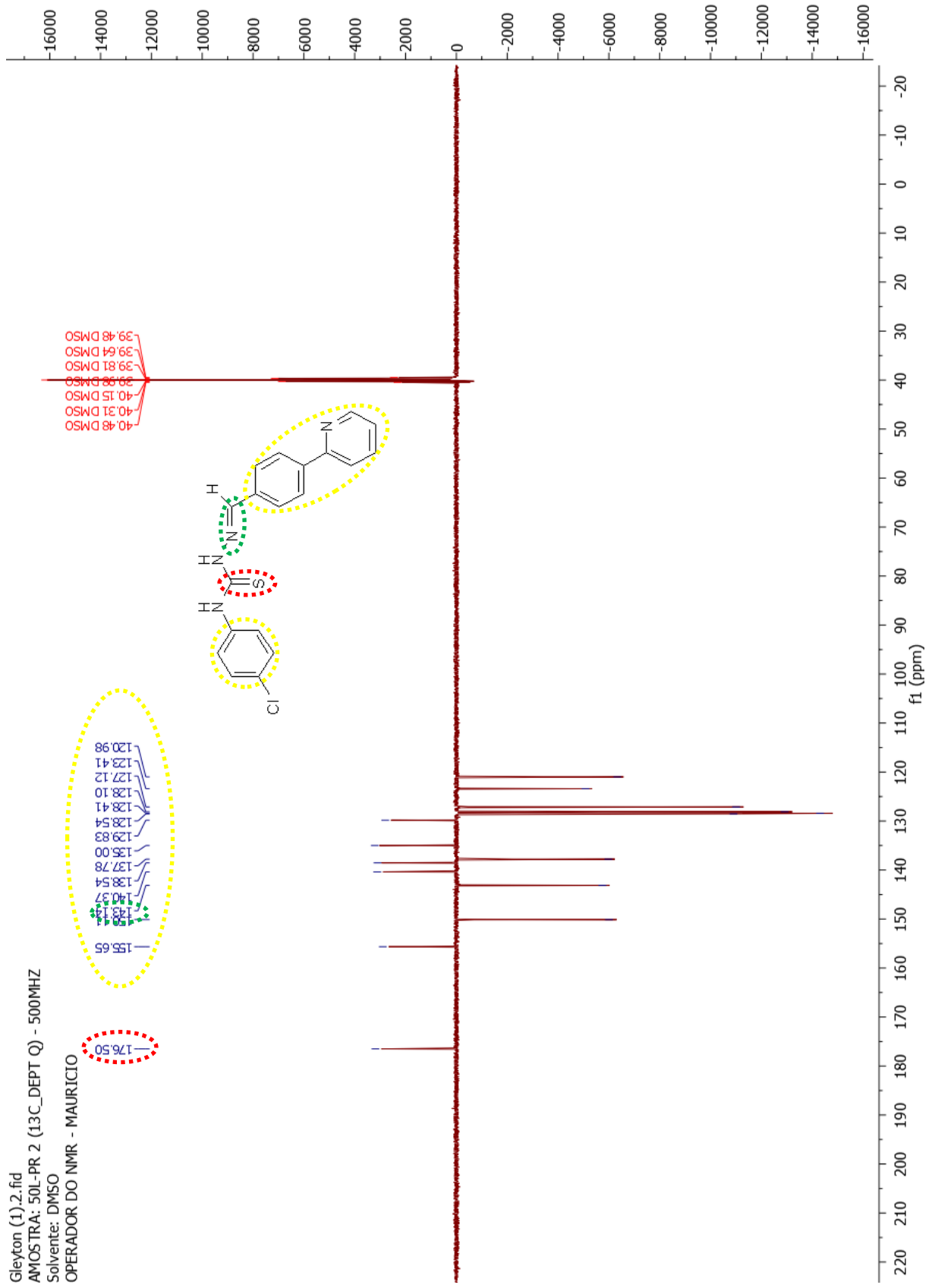
Anexo 104 – RMN de ¹³C da molécula SOL-P1



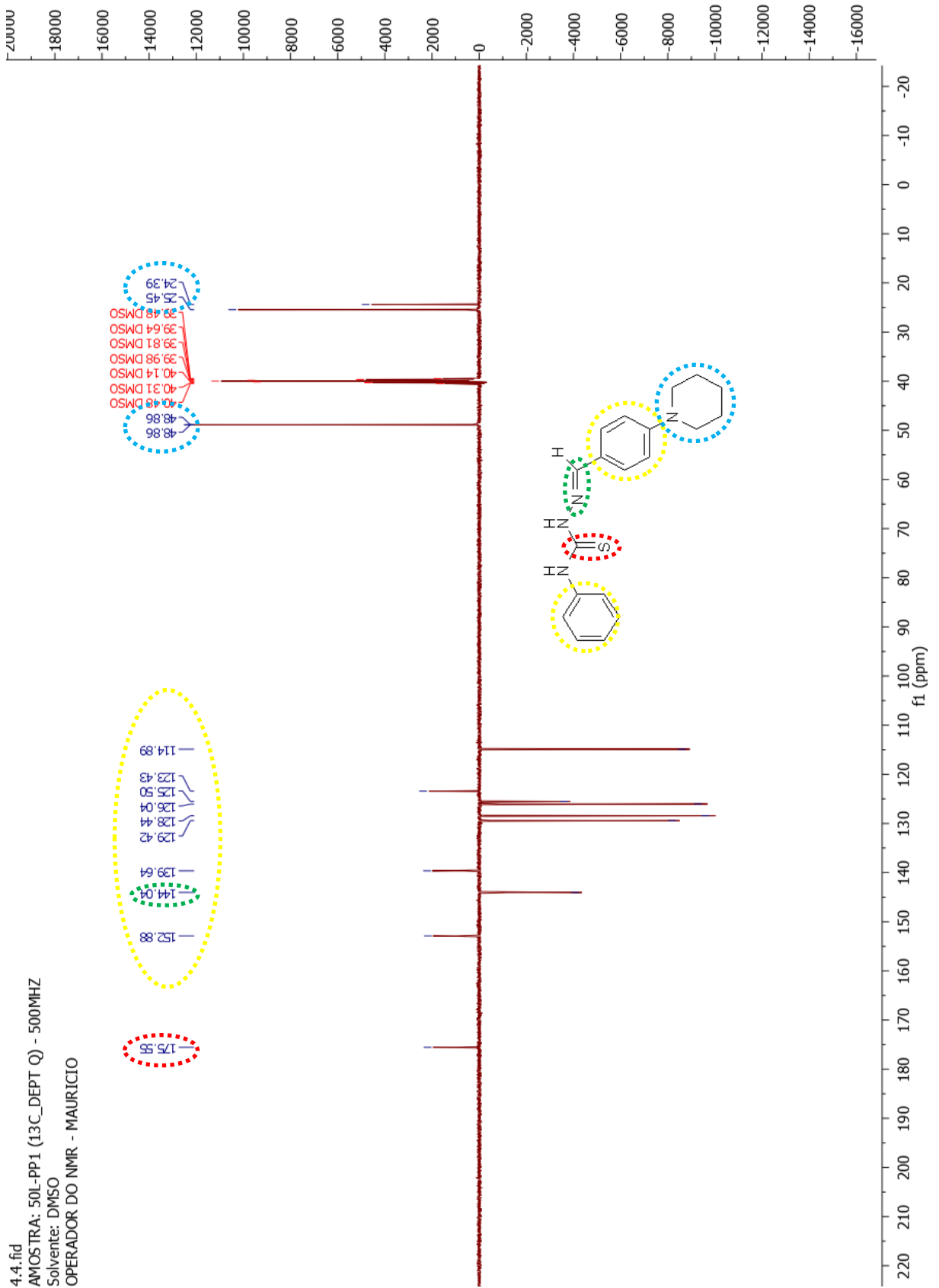
Anexo 105 – RMN de ^{13}C da molécula SOL-P2

Anexo 106 – RMN de ^{13}C da molécula SOL-PR1

Anexo 107 – RMN de ¹³C da molécula SOL-PR2



Anexo 108 – RMN de ¹³C da molécula SOL-PP1



Anexo 109 – RMN de ¹³C da molécula SOL-PP2

