



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA CAMPUS I**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**GLEYTON LEONEL SILVA SOUSA**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DE NOVOS  
DERIVADOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS-ACRIDÍNICOS.**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2019**

**GLEYTON LEONEL SILVA SOUSA**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DE NOVOS  
DERIVADOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS-ACRIDÍNICOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de mestre em Química.

**Área de concentração:** Química Medicinal.

**Orientador:** Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura.

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2019**

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.

S725s Sousa, Gleyton Leonel Silva.  
Síntese e avaliação do potencial antitumoral de novos derivados Tiossemicarbazônicos-acridínicos [manuscrito] / Gleyton Leonel Silva Sousa. - 2019.  
240 p. : il. colorido.  
Digitado.  
Dissertação (Mestrado em Química - Mestrado) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2019.  
"Orientação : Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura, Departamento de Química - CCT."  
1. Química medicinal. 2. Docking molecular. 3. Predições farmacocinéticas. 4. Atividade antitumoral. I. Título  
21. ed. CDD 615.19

**GLEYTON LEONEL SILVA SOUSA**

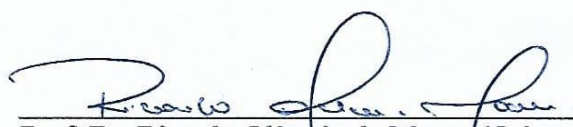
**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DE NOVOS  
DERIVADOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS-ACRIDÍNICOS.**

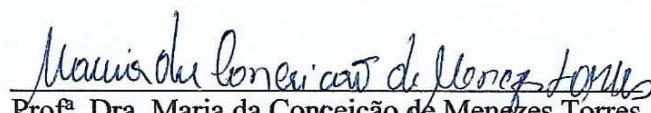
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Química.


Área de concentração: Química  
Medicinal.

Aprovada em: 04/02/2019.

**BANCA EXAMINADORA**

  
Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura (Orientador)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

  
Prof. Dr. Rodrigo Santos Aquino de Araújo  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Aos meus familiares, em especial a minha mãe Maria das Graças Silva Sousa que acreditou e me fez acreditar em todos os passos dados até o momento, DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me guiado e fortalecido durante essa árdua e longa caminhada.

Ao professor **Dr. Ricardo Olímpio de Moura**, por toda atenção, orientação, apoio, ensinamentos e principalmente, por ter me dado à oportunidade de ser seu orientando, visto as condições nas quais aconteceram, sou eternamente grato. O que me fascina é seu modo inteligente e humilde de ser, tenho orgulho de poder seguir seus passos nesta vida acadêmica.

Agradeço a minha mãe Maria das Graças, que me apoiou e encorajou nas horas mais difíceis de apatia e cansaço.

Agradeço aos meus familiares, que estiveram ao meu lado, desde os primeiros passos dados no âmbito educacional.

Agradeço a Milena Lima, que me apoiou e contribuiu para este momento.

Aos meus professores em toda caminhada, que tiveram de alguma forma, uma contribuição nesse momento.

Aos meus amigos Willian Charles e Malu Maria Reis, por toda ajuda e predisposição no atendimento a minhas dúvidas no decorrer do trabalho.

Aos meus amigos do PPGQ, companheiros nas disciplinas, lembranças que serão guardadas para sempre, que de alguma forma, contribuíram para este momento.

Aos meus amigos do LDSF, companheiros na pesquisa, que de alguma forma contribuíram para este momento.

"Cada sonho que você deixa para trás, é um  
pedaço do futuro que deixa de existir."

**Steve Jobs**

## RESUMO

O câncer é um grave problema de saúde pública mundial. O derivado acridínico mais conhecido na clínica é a amsacrina, porém, apresenta efeitos secundários que tornam o estudo e modificação estrutural deste composto totalmente viáveis. Uma classe de pequenas moléculas, as tiossemicarbazidas, vem sendo estudada com várias atividades biológicas relatadas. Baseando-se no Método de Topliss para substituições nos intermediários derivados da tiossemicarbazida, foi realizado um estudo de *docking* molecular com compostos tiossemicarbazônicos-acridínicos substituídos, demonstrando resultados promissores com o fármaco Etoposido como referência. Com enfoque no planejamento de novos derivados com potenciais atividades antitumorais, a síntese e avaliação, *in silico* e *in vitro*, foram realizadas. Doze novos derivados foram sintetizados e, caracterizados por técnicas como infravermelho-IV, ressonância magnética nuclear-RMN, 1D e 2D, espectroscopia de massas e ultravioleta visível. Os compostos apresentaram rendimentos entre 60 e 96%, com faixa de fusão de 1 a 4°C. Estudos de interação dos compostos com o DNA e BSA foram realizados *in vitro* e, corroboraram com a ideia de potencialidade sugerida pelo *docking*. O derivado GLDL-02 apresentou maior interação com o DNA,  $K_b = 1,91 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ , supondo-se uma interação forte ao sulco. O composto GLDL-01 demonstrou ter maior afinidade para a proteína BSA, com  $K_{sv} = 2,17 \times 10^5$ . A citotoxicidade dos derivados frente a células de leucemia, HL-60, câncer de mama, MCF-7 e HCT, câncer de cólon, foram avaliadas com resultados moderados, o derivado GLCL-04 apresentou inibição de 83,7% frente às células HL-60 na concentração de 50  $\mu\text{M}$ . Em relação as células MCF-7 se mostraram menos ativas, com a maior inibição demonstrada pelo GLCL-01, 56%. O planejamento a partir da árvore de Topliss foi confrontado com os resultados de atividade biológica para os novos derivados, confirmando que as modificações estruturais influenciaram nas respostas biológicas *in vitro* seguindo sua proposta. A citotoxicidade em células plasmáticas avaliadas pelo teste de hemólise, demonstrou que os derivados não influenciaram para a lise celular. Predições farmacocinéticas foram realizadas para conhecimento das propriedades de ADME e de metabolização dos novos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos. Os derivados GLCL, núcleo acridínico não substituído, foram no geral mais potentes frente as linhagens celulares, porém, apresentaram menores percentuais de interação ao DNA e BSA que os derivados da série GLDL. Os resultados corroboraram para a ideia que o principal mecanismo nas linhagens celulares estudadas não seja o de interação com o DNA, e estudos de outros possíveis mecanismos devem ser considerados para melhor entender as atividades encontradas. Estudos como a interação com a topoisomerase e teste em outras linhagens de células neoplásicas serão realizadas para confirmar a potência dos novos derivados.

**Palavras-Chave:** *Docking* molecular. Derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos. Espectroscopia. Atividade antitumoral. Predições farmacocinética.

## ABSTRACT

Cancer is a serious global public health problem. The acridine derivatives more known in the clinic is amsacrine, however, has side effects that make the study and structural modification of this compound completely viable. A class of small molecules, the thiosemicarbazides, has been studied with various biological activities reported. Based on the Method of Topliss to overrides in derived from the thiosemicarbazides intermediaries, we conducted a study of molecular docking with acridine-thiosemicarbazone compounds-substituted, demonstrating promising results with the drug Etoposide as a reference. With a focus on planning of new derivatives with potential antitumor activity, synthesis and evaluation, in silico and in vitro, were held. Twelve new derivatives were synthesized and characterized by techniques such as infrared-IV, nuclear magnetic resonance, 1 d and 2D NMR, mass spectroscopy and ultraviolet visible. The compounds showed incomes between 60 and 96%, with 1 the fusion range 4° C. Studies of interaction of compounds with DNA and BSA were carried out in vitro and, corroborate the idea suggested by docking capability. The derived GLDL-02 presented greater interaction with DNA,  $K_b = 1.91 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ , assuming a strong interaction to the groove. The compound GLDL-01 has been shown to have greater affinity for the protein BSA, with  $K_{sv} = 2.17 \times 10^5$ . The cytotoxicity of the derivatives front of leukemia cells, HL-60, breast cancer, MCF-7 and HCT, colon cancer, were evaluated with moderate results, the derived GLCL-04 showed inhibition of 83.7% compared to cells HL-60 at a concentration of 50  $\mu\text{M}$  against the MCF-7 cells and HCT, the new derivatives were less cytotoxic, as shown by the inhibition GLCL-01, 56% to MCF-7, and-03 GLCL, 66.86% for HCT. Planning from Topliss tree was confronted with the results of biological activity for new derivatives, confirming that the necessary structural modifications influenced the biological responses in vitro by following your proposal. Cytotoxicity in plasma cells evaluated by hemolysis testing demonstrated that the derivatives did not influence to cell lysis. Pharmacokinetic predictions were made for ADME properties and knowledge of metabolism of new acridine-thiosemicarbazone derivatives. The GLCL derivatives, the unsubstituted acridine nucleus, were not generally more potent as cell waves, but the lower percentages of interaction with DNA and BSA that are derived from the GLDL series. The results corroborate to the idea that the main mechanism in the cell lines studied is not the interaction with DNA, and studies of other possible mechanisms should be considered to better understand the activities found. Studies like the interaction with topoisomerase and test in other neoplastic cell lines will be carried out to confirm the power of the new derivatives.

**Keywords:** Molecular docking. Acridine-thiosemicarbazone derivatives. Spectroscopy Antitumor activity. Pharmacokinetic predictions.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Primeiros compostos utilizados como quimioterápicos.	25
<b>Figura 2</b>	Representação esquemática de possíveis modos de interação complexo-DNA para compostos não-covalentes.	27
<b>Figura 3</b>	Molécula da Acridina.	30
<b>Figura 4</b>	Estrutura tiossemicarbazida.	33
<b>Figura 5</b>	Derivados acridínicos com atividade antitumoral.	36
<b>Figura 6</b>	Etapas envolvidas no planejamento racional de fármacos.	37
<b>Figura 7</b>	Classificação dos análogos.	38
<b>Figura 8</b>	<i>Docking</i> molecular para o amsacrina (I) e derivado 9-anilino acridina (II) com o DNA.	42
<b>Figura 9</b>	<i>Docking</i> molecular para o levofloxacina (I) e moxifloxacina (II) com a topo II $\alpha$ .	43
<b>Figura 10</b>	<i>Docking</i> molecular derivado acridínico, estudado por Makhaeva.	43
<b>Figura 11</b>	Comparação das estruturas do BSA com HSA.	44
<b>Figura 12</b>	Exemplos de metabolizações realizadas por isoformas CYP450.	47
<b>Figura 13</b>	<i>Docking</i> molecular do etoposido com o complexo enzima-DNA.	65
<b>Figura 14</b>	<i>Docking</i> molecular do composto GLDL-05 com o complexo enzima-DNA.	54
<b>Figura 15</b>	<i>Docking</i> molecular do composto GLCL-05 com o complexo enzima-DNA.	67
<b>Figura 16</b>	Redocking molecular do etoposido comparado com o extraído do PDB.	68
<b>Figura 17</b>	<i>Docking</i> Molecular do composto etoposido com o DNA.	70
<b>Figura 18</b>	<i>Docking</i> Molecular do composto GLDL-05 com o DNA.	70
<b>Figura 19</b>	<i>Docking</i> molecular do composto GLCL-05 com o DNA	71
<b>Figura 20</b>	Espectro de infravermelho da GLDL-06.	81
<b>Figura 21</b>	Espectro de infravermelho da GLCL-06.	81
<b>Figura 22</b>	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da GLDL-06.	84
<b>Figura 23</b>	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da GLDL-06.	85
<b>Figura 24</b>	Espectro de RMN - DEPT do GLDL-06.	86
<b>Figura 25</b>	Espectro de RMN - COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ da GLDL-06.	87
<b>Figura 26</b>	Espectro de RMN - HSQC da GLDL-06.	88
<b>Figura 27</b>	Espectro de RMN - HMBC do GLDL-06.	89
<b>Figura 28</b>	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da acridona.	90

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 29</b>	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da acridona.	91
<b>Figura 30</b>	Espectro de RMN COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ da acridona.	91
<b>Figura 31</b>	Espectro de RMN - HSQC da acridona.	92
<b>Figura 32</b>	Espectro de RMN - HMBC da acridona.	93
<b>Figura 33</b>	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da 9-cloro acridina.	94
<b>Figura 34</b>	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da 9-cloro acridina.	95
<b>Figura 35</b>	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da 9-cloro acridina	95
<b>Figura 36</b>	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da GLCL-06	96
<b>Figura 37</b>	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da GLCL-06.	97
<b>Figura 38</b>	Espectro de massa do composto GLDL-06.	104
<b>Figura 39</b>	Espectro de massa do composto GLCL-06.	105
<b>Figura 40</b>	Espectro do UV - Vis da série GLDL.	108
<b>Figura 41</b>	Espectro do UV - Vis da série GLCL.	108
<b>Figura 42</b>	Espectro de absorção GLDL-02 com DNA.	111
<b>Figura 43</b>	Espectro de emissão GLDL-05 com BSA.	113
<b>Figura 44</b>	Relação parâmetros eletrônicos proposto por Topliss e atividade biológica para série GLDL.	116
<b>Figura 45</b>	Isoformas da CYP450 inibidas pelos derivados acridínicos sintetizados, estudo <i>in silico</i> .	122
<b>Figura 46</b>	Estudo de possíveis metabolizações para a série GLDL frente as isoformas da CYP450.	125
<b>Figura 47</b>	Estudo de possíveis metabolizações para a série GLCL frente as isoformas da CYP450.	126

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Estimativas de novos casos de câncer para o Estado da Paraíba, biênio 2018-2019	23
<b>Tabela 2</b>	Relação entre parâmetros ativos e novos substituintes, segundo Topliss.	40
<b>Tabela 3</b>	Nomenclatura dos compostos da série GLDL	60
<b>Tabela 4</b>	Nomenclatura dos compostos da série GLCL.	62
<b>Tabela 5</b>	<i>Docking</i> molecular da interação com DNA-Topo II $\alpha$ (5GWK).	64
<b>Tabela 6</b>	<i>Docking</i> molecular da interação com DNA.	69
<b>Tabela 7</b>	Características físico-químicas dos intermediários.	72
<b>Tabela 8</b>	Características físico-químicas dos derivados.	73
<b>Tabela 9</b>	Solubilidade dos compostos.	74
<b>Tabela 10</b>	Dados do IV dos derivados acridínicos.	82
<b>Tabela 11</b>	Dados do RMN de $^1\text{H}$ dos compostos sintetizados da série GLDL.	98
<b>Tabela 12</b>	Dados do RMN de $^1\text{H}$ dos compostos sintetizados da série GLCL.	99
<b>Tabela 13</b>	Dados do RMN de $^{13}\text{C}$ dos compostos sintetizados da série GLDL.	100
<b>Tabela 14</b>	Dados do RMN de $^{13}\text{C}$ dos compostos sintetizados da série GLCL.	101
<b>Tabela 15</b>	Dados das massas exatas dos íons moleculares.	106
<b>Tabela 16</b>	Principais bandas de absorção UV – Vis para os compostos sintetizados	107
<b>Tabela 17</b>	Propriedades absorptivas dos compostos sintetizados com o DNA.	110
<b>Tabela 18</b>	Propriedades emissivas dos compostos sintetizados com o BSA.	113
<b>Tabela 19</b>	Citotoxicidade dos novos derivados frente as células MCF-7, HL60 e HCT.	114
<b>Tabela 20</b>	Determinação da $\text{CI}_{50}$ da amostra GLCL 04 nas células MCF-7 e HL60 após 72 h de tratamento.	115
<b>Tabela 21</b>	Resultado dos testes de hemólise dos derivados sintéticos no sangue tipo O.	117
<b>Tabela 22</b>	Comparações com <i>druglikeness</i> segundo Lipinski, Ghose e Veber das moléculas sintetizadas e fármacos de referência.	127



## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b>	Estimativas de novos casos de câncer no Brasil para o biênio 2018-2019.	22
<b>Gráfico 2</b>	Perfil de absorção gastrointestinal das moléculas sintetizadas, estudo <i>in silico</i> .	119
<b>Gráfico 3</b>	Log P das moléculas sintetizadas, estudo <i>in silico</i>	120
<b>Gráfico 4</b>	Propriedades de solubilidade dos novos derivados acridínicos em água, estudo <i>in silico</i> .	121
<b>Gráfico 5</b>	Propriedades de solubilidade dos novos derivados acridínicos em água, estudo <i>in silico</i> .	122

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1</b>	Possibilidade de tautomeria da tiossemicarbazida.	34
<b>Esquema 2</b>	Árvore de definição de Topliss.	39
<b>Esquema 3</b>	Obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos.	56
<b>Esquema 4</b>	Obtenção dos intermediários tiossemicarbazônicos.	58
<b>Esquema 5</b>	Obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos GLDL.	59
<b>Esquema 6</b>	Obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos GLCL.	61
<b>Esquema 7</b>	Mecanismo reacional das etapas para formação dos intermediários.	75
<b>Esquema 8</b>	Mecanismo reacional da síntese da acridona.	75
<b>Esquema 9</b>	Mecanismo reacional da síntese da 9-cloroacridina.	76
<b>Esquema 10</b>	Mecanismo reacional das etapas para formação dos derivados GLDL.	77
<b>Esquema 11</b>	Mecanismo reacional das etapas para formação dos derivados GLCL.	78
<b>Esquema 12</b>	Tautomerismo proposto para compostos com o núcleo substituído.	102
<b>Esquema 13</b>	Tautomerismo proposto para compostos com o núcleo não substituídos.	103
<b>Esquema 14</b>	Fragmentação na série GLDL, mais especificamente no composto 06.	103
<b>Esquema 15</b>	Fragmentação na série GLCL, mais especificamente no composto 06.	104

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ADT</b>	Programa <i>Auto Dock Tolls</i>
<b>ACN</b>	Acetonitrila
<b>Arg</b>	Arginina
<b>Asp</b>	Ácido aspártico
<b>BSA</b>	Albumina de soro bovino
<b>CCD</b>	Cromatografia em Camada Delgada
<b>CYP</b>	Enzima do citocromo P450
<b>COSY</b>	<i>Homonuclear COrrrelation Spectroscopy</i>
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>EM</b>	Espectrometria de Massas
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>F.F</b>	Faixa de fusão
<b>Gly</b>	Glicina
<b>GLDL</b>	Derivado acridínico tiossemicarbazônico com núcleo substituído
<b>GLCL</b>	Derivado acridínico tiossemicarbazônico com núcleo sem substituição.
<b>HIS</b>	Histidina
<b>HMBC</b>	<i>Heteronuclear MultipleBond Coherence</i>
<b>HSQC</b>	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
<b>HSA</b>	Proteína Albumina de soro humano
<b>HT-29</b>	Linhagem celular câncer de cólon
<b>HTS</b>	<i>High throughput screening</i>
<b>Hz</b>	Hertz
<b>INCA</b>	Instituto Nacional do Câncer
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>Ki</b>	Constante de inibição estimada

<b>LYS</b>	Lisina
<b>MCF-7</b>	Linhagem celular câncer de mama
<b>MDA-MB-231</b>	Linhagem celular câncer de mama metastático
<b>MET</b>	Metionina
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PDB</b>	Protein Data Bank
<b>R<sub>f</sub></b>	Fator de Retenção
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucleico
<b>SER</b>	Serina
<b>t.a.</b>	Temperatura Ambiente
<b>TYR</b>	Tirosina
<b>ctDNA</b>	<i>circulating tumor</i> DNA

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	OBJETIVOS	21
2.1	Geral	21
2.2	Específicos	21
3	REFERENCIAL TEÓRICO	22
3.1	O câncer	22
3.2	Química medicinal	26
3.3	Acridina	31
3.4	Tiossemicarbazidas	34
3.5	Planejamento experimental	37
3.6	<i>Docking</i> molecular	42
3.7	BSA como alvo <i>in vitro</i> para estudos sobre mecanismos de ação.	45
3.8	Predições farmacocinéticas e sua importância no desenvolvimento de novos candidatos à fármacos	46
4.0	METODOLOGIA	50
4.1	Materiais e Métodos	50
4.1.1	<i>Docking</i> molecular de interação com topo II $\alpha$ , DNA co-cristalizado com topo II $\alpha$ .	50
4.1.1.2	Preparação da Enzima	51
4.1.1.3	Preparação dos Ligantes	51
4.1.2	Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)	51
4.1.3	Espectrometria de Massas	52
4.1.4	Espectroscopia de RMN	52
4.1.5	Ponto de fusão	52
4.1.6	Cromatografia	52
4.1.7	Cálculo teórico do Log de P e da Energia de Gibbs	53
4.1.8	Aparência	53
4.1.9	Interação com DNA	53
4.1.10	Interação com BSA	53
4.1.11	Avaliação da citotoxicidade	54
4.1.12	Procedimento para o teste da atividade hemolítica.	55
4.1.13	Predições farmacocinéticas.	55
4.2	Metodologias da síntese dos compostos	56
4.2.1	Síntese da acridona	58
4.2.2	Síntese da 9-cloro acridina	58
4.2.3	Síntese dos intermediários tiossemicarbazônicos.	59
4.2.4	Síntese dos derivados tiossemicarbazônicos da acridina substituída.	60
4.2.5	Síntese dos derivados tiossemicarbazônicos da acridina não substituída.	62
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
5.1	<i>Docking</i> molecular	64
5.1.1	<i>Docking</i> molecular da interação dos derivados sintetizados com o DNA co-	

cristalizado com Topo II $\alpha$ .....	64
5.1.2 <i>Docking</i> molecular da interação dos derivados sintetizados com o DNA. ....	69
5.2 Síntese e mecanismo reacional dos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos.....	72
5.3 Identificação e caracterização química dos derivados.....	79
5.4 Interação com DNA e BSA .....	110
5.5 Citotoxicidade .....	115
5.5.1 Citotoxicidade em linhagens celulares. ....	115
5.5.2 Citotoxicidade no sangue .....	117
5.6 Predições Farmacocinéticas.....	119
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	129
PERSPECTIVAS .....	131
REFERÊNCIAS .....	132
APÊNDICES .....	146
APÊNDICE A– <i>DOCKING</i> MOLECULAR .....	147
APÊNDICE B – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO.....	163
APÊNDICE C - ESPECTROS DE MASSAS .....	177
APÊNDICE D - ESPECTROS DE RMN .....	191
APÊNDICE E - ESPECTRO ULTRAVIOLETA .....	225
APÊNDICE F – INTERAÇÃO DNA E BSA .....	229

## 1 INTRODUÇÃO

As neoplasias malignas, mais conhecidas como câncer, são um importante grupo de patologias que conseguem atingir valores estrondosos na morbidade e mortalidade mundial. Caracterizam-se por uma alta taxa de proliferação de células defeituosas, em decorrência das modificações sofridas no material genético (DNA) de uma ou mais células, atribuídas a autonomia no crescimento, a capacidade de infiltração em tecidos próximos e a grande velocidade de disseminação por vasos sanguíneos e/ou linfáticos. O desequilíbrio nos mecanismos reguladores de divisão celular corrobora no desenvolvimento dessa patologia (BEZERRA JUNIOR, 2016).

Inúmeros agentes iniciadores e promotores das neoplasias malignas estão cotidianamente presentes no convívio humano, tais como as radiações, solventes orgânicos, anticoncepcionais, bebidas alcóolicas e tabaco. O Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) e o Ministério da Saúde (MS) estimam a ocorrência de cerca de 600 mil casos novos de câncer no Brasil no biênio 2018-2019 (INCA, 2017). O estudo do INCA ainda diz que, em um país urbanizado, industrializado e com população em processo de envelhecimento, o perfil de incidência dos principais tipos de câncer são: próstata, pulmão, mama feminino e intestino. Porém, no Brasil ainda temos grande ocorrência de câncer associados a infecções, como do útero e estômago, que possuem alto grau de prevenção, e costumam ser mais comuns em países de baixo desenvolvimento.

Atualmente, as opções terapêuticas de tratamento do câncer são a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia, de modo que na última existe as modalidades de hormonioterapia, terapia-alvo e imunoterapia, das quais sua utilização leva em consideração o tipo de tumor, localização, estadiamento e características físicas e emocionais do paciente, onde só assim, julga-se seu uso isolado ou em combinação (ATTY et al., 2017).

Importante ramo de pesquisa da química, a química medicinal, engloba processos como: invenção, descoberta, planejamento, identificação, preparação de compostos biologicamente ativos, e a interpretação de seus mecanismos de ação, de acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (BARREIRO; FRAGA, 2015).

Aspectos dinâmicos que controlam o reconhecimento molecular do ligante por seu bio-receptor, descobertos recentemente, através de modelos criados que consideram as interações químicas existentes, proporcionaram à Química Medicinal novas perspectivas no que diz respeito ao desenvolvimento de fármacos. Porém, a constante transformação, derivada de novos conhecimentos e tecnologias incorporadas a Química Medicinal, tornam indispensável à

multidisciplinariedade para compreensão da natureza dos processos biológicos (SILVA, 2013).

Desde meados de 1888 os derivados de acridina são estudados. Porém o primeiro fármaco com base na acridina descrito na literatura foi em 1976, o N-[4-(acridin-9-ilamino-métoxi-fenil]-metanosulfonamida, mais conhecida como amsacrina, sendo até hoje o mais importante composto desta classe (KUMAR et al., 2013), o qual exibe atividade citotóxica potente, Entretanto, apresenta efeitos secundários, como resistência a medicamentos e fraca biodisponibilidade, que tornam o estudo e modificação estrutural deste composto totalmente viáveis (SANCHEZ et al, 2006).

Em circunstâncias dos fatos acima citados, o presente trabalho objetivou o desenvolvimento planejado, com o auxílio do Método de Topliss e da técnica de hibridação molecular, de novos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos com potencial antitumoral. O estudo de *docking* molecular foi utilizado com objetivo de prever o modo de ligação e a afinidade das moléculas dentro do sitio ativo de um possível receptor (SILVA, 2015).

A técnica citada de predição de resultados através de estudos químicos computacionais possibilitou estimativas da energia livre de ligação do fármaco, com a enzima e o DNA, antes da síntese do determinado composto, como também a previsão de uma inibição estimada a enzima. Situações como esta, diminuem os custos, tendo em vista que, os gastos computacionais são inferiores, quando comparados aos laboratoriais (RODRIGUES et al.,2012).

O termo “triagem virtual” (VS, do inglês *Virtual Screening*) surgiu em consonância com o crescimento desenfreado de dados e bibliotecas virtuais de compostos oriundos da química combinatória. Utilizado desde meados da década de 90 quando fora comparado com as técnicas de HTS (do inglês, *High Throughput Screening*), a triagem virtual veio como importante artifício para a comunidade de químicos medicinais com objetivo de superar o gargalo da descoberta e lançamento de novos e potenciais candidatos a fármacos. (OPREA, 2002). As predições farmacocinéticas foram realizadas para os novos derivados sintetizados, com objetivo de fornecer características suficientes para qualitativamente sugerir sua potencialidade.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

- Planejar, desenvolver, sintetizar e avaliar *in silico* e *in vitro* novos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos com potencial atividade antitumoral.

### 2.2 Específicos

- Planejar novos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos;
- Realizar estudos de *docking* molecular dos derivados planejados;
- Sintetizar, caracterizar e elucidar as estruturas propostas;
- Realizar estudos de interação com o DNA;
- Realizar estudos de interação com o BSA.
- Realizar estudos *in vitro*, dos compostos sintetizados;

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 O câncer

A maioria das células normais passa pelo processo de crescimento, multiplicação e morte de maneira ordenada, no entanto, nem todas são iguais, de modo que algumas nunca se dividem e outras dividem-se de forma rápida e contínua. No caso do câncer, há uma perda do controle da divisão celular e a capacidade de invadir estruturas orgânicas (CHAFFER, 2011).

Quando as células anormais do organismo deixam de progredir de forma natural e passam por mutações gerando danos nos genes da célula, surge o câncer. Os genes são componentes do DNA que controlam as funções normais das células, se estas estiverem danificadas, dividem-se descontroladamente gerando novas células anormais. Contudo, se as etapas de reparo, destruição e limitação de células anormais falharem, as novas células se replicarão de forma anormal, com uma alta taxa de replicação (MARTINEZ, 2006).

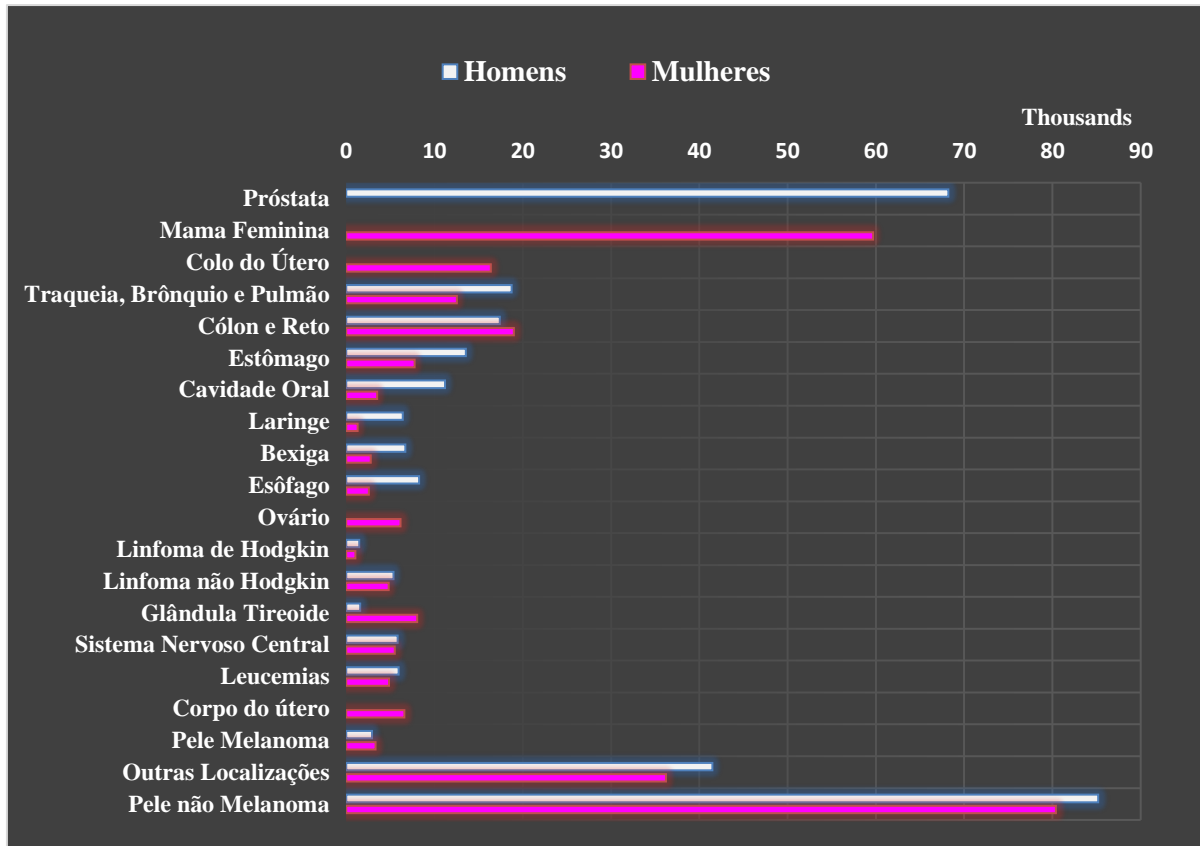
Ao longo das décadas, o Brasil e o mundo passaram por grandes transformações, com padrões e intensidades diferentes entre as regiões geográficas. Ainda, observa-se a redução das taxas de mortalidade por doenças infecciosas, concomitante ao crescimento da expectativa de vida e da incidência de mortes por doenças crônicas (BOING et al., 2007).

De acordo com o INCA (2017):

As doenças e agravos não transmissíveis (DANT) já são as principais responsáveis pelo adoecimento e óbito da população no mundo. Estima-se que, em 2008, 36 milhões dos óbitos (63%) ocorreram em consequência das DANT, com destaque para as doenças cardiovasculares (48% das DANT) e o câncer (21%). Estima-se, para o Brasil, biênio 2018-2019, a ocorrência de 600 mil casos novos de câncer, para cada ano. Desconsiderando o câncer de pele não melanoma (cerca de 170 mil casos novos), ocorrerão 420 mil casos novos de câncer (INCA, 2017, p. 25).

O câncer é um grave problema de saúde pública, de acordo com o Inca (2018), com exceção do câncer de pele não melanoma, o câncer de próstata é o mais incidente entre os homens em todas as regiões do país, e o câncer de mama é o mais frequente entre as mulheres em quase todas as regiões do Brasil. Pode-se observar no Gráfico 1, as estimativas para o biênio 2018-2019 das taxas brutas de incidência do câncer por 100 mil habitantes e do número de novos casos de câncer segundo sexo e localização primária. Os cânceres de pele melanoma e não melanoma possuem como principal fator de risco, a exposição excessiva à radiação solar ultravioleta (UV), no entanto, uma baixa imunidade e transplantados utilizando imunossupressores, permitem um risco excessivo, aumentando a possibilidade de desenvolver este câncer.

**Gráfico 1** - Estimativas de novos casos de câncer no Brasil para o biênio 2018-2019.



Fonte: Inca (2017)

As taxas de incidência variam de região para região, e entre os Estados. Na Paraíba, observa-se na Tabela 1 as estimativas de novos casos para o biênio 2018-2019, nesta, pode-se identificar depois do câncer de pele não melanoma, o câncer de próstata como o mais incidente entre os homens com 1.170 do total dos casos, e o câncer de mama prevalecendo entre as mulheres, com 880 do total dos casos. Vale salientar que o câncer de estômago é bem incidente neste estado, em ambos os sexos (INCA, 2017).

**Tabela 1** - Estimativas de novos casos de câncer para o Estado da Paraíba, biênio 2018-2019.

<b>Localização Primária</b>	<b>Estimativas de casos novos</b>		
	<b>Neoplasia Maligna</b>	<b>Homens</b>	<b>Mulheres</b>
<b>Próstata</b>	<b>1.170</b>	<b>-</b>	<b>1.170</b>
<b>Mama Feminina</b>	<b>-</b>	<b>880</b>	<b>880</b>
<b>Colo do Útero</b>	<b>-</b>	<b>370</b>	<b>370</b>
<b>Traqueia, Brônquio e Pulmão</b>	<b>200</b>	<b>170</b>	<b>370</b>
<b>Cólon e Reto</b>	<b>140</b>	<b>180</b>	<b>320</b>
<b>Estômago</b>	<b>270</b>	<b>200</b>	<b>470</b>
<b>Cavidade Oral</b>	<b>140</b>	<b>100</b>	<b>240</b>
<b>Laringe</b>	<b>150</b>	<b>30</b>	<b>180</b>
<b>Bexiga</b>	<b>70</b>	<b>50</b>	<b>120</b>
<b>Esôfago</b>	<b>110</b>	<b>50</b>	<b>160</b>
<b>Ovário</b>	<b>-</b>	<b>90</b>	<b>90</b>
<b>Linfoma de Hodgkin</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>
<b>Linfoma não Hodgkin</b>	<b>80</b>	<b>60</b>	<b>140</b>
<b>Glândula Tireoide</b>	<b>60</b>	<b>210</b>	<b>270</b>
<b>Sistema Nervoso Central</b>	<b>100</b>	<b>90</b>	<b>190</b>
<b>Leucemias</b>	<b>110</b>	<b>100</b>	<b>210</b>
<b>Corpo do útero</b>	<b>-</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Pele Melanoma</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>60</b>
<b>Outras Localizações</b>	<b>740</b>	<b>740</b>	<b>1.480</b>
<b>Pele não Melanoma</b>	<b>1.400</b>	<b>1.190</b>	<b>2.590</b>
<b>Todas as Neoplasias</b>	<b>4.780</b>	<b>4.650</b>	<b>9.430</b>

FONTE: Inca (2017)

O câncer possui fatores de risco tanto ambientais como hereditários, dos quais o meio ambiente contribui com aproximadamente 80%, para o surgimento de novos casos. Dentre eles destacam-se a água, a terra, o ar, o ambiente ocupacional, social e cultural e o consumo de alimento e medicamentos, por exemplo, como riscos ambientais. Entretanto, alguns comportamentos podem originar os mais distintos tipos de câncer, como, a mudança no meio ambiente, os hábitos e estilos de vida seguidos pelas pessoas (ALMEIDA et al., 2005).

Observa-se como as causas de câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas. Como causas externas pode-se citar as substâncias químicas, irradiação, vírus e fatores comportamentais, dos quais estão relacionadas

ao meio ambiente em 80% a 90% dos casos. Já as causas internas, a exemplos dos hormônios, condições imunológicas e mutações genéticas são, geralmente, geneticamente predeterminadas e estão relacionadas à capacidade do organismo de se proteger das agressões externas. Todavia, o fator genético desempenha um papel importante na oncogênese, apesar de serem raros os cânceres hereditários. Dentre os fatores intrínsecos são pertinentes à idade, gênero, etnia e hereditariedade (BRASIL, 2011).

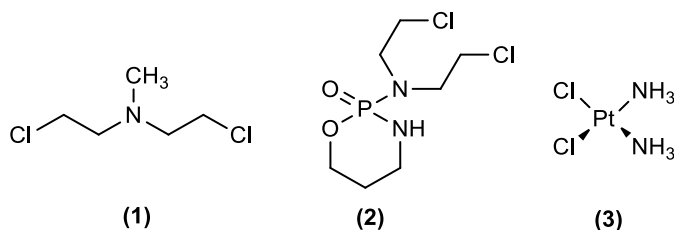
Inúmeros são os tratamentos para o câncer, sendo que o mais apropriado, será escolhido levando em consideração a saúde do paciente e sua idade (PORIE et al., 2009). A cirurgia como opção de tratamento, constitui a técnica de remoção do tumor com eficácia, caso não haja metástase (ALMEIDA et al. 2005). Já a radioterapia, como os raios-x, raios gama, partículas alfa e beta, utiliza a radiação ionizante como forma de tratamento, que possuem energia necessária para liberar elétrons da estrutura anatômica. Pode-se citar a teleterapia, a braquiterapia ou curieterapia como exemplos de métodos de radioterapia (BRASIL, 2000). A quimioterapia consiste na opção de tratamento do câncer que utiliza medicamentos chamados quimioterápicos, empregando-os continuamente ou em intervalos regulares, sendo escolhidos conforme esquemas terapêuticos, podendo ser empregada tanto com fins curativos como paliativos. Para o planejamento da assistência em seu uso, deve-se levar em consideração inúmeros fatores como a idade, o estado nutricional, o tipo de tumor, presença ou não de metástase e grau de evolução e as funções hepática, renal e pulmonar do usuário (NICOLUSSI et al., 2014).

Apesar dos incontestáveis avanços citados acima para o tratamento do câncer, inúmeros são os relatos de seus efeitos adversos. Trazendo a realidade para a quimioterapia, estudos como o de Almeida (2004), Soares (2009) e Freitas (2013), trazem consigo a realidade do tratamento com quimioterápicos em dados qualitativos de seus efeitos. Efeitos como: toxicidade hematológica, gastrintestinal, pulmonar, dermatológica, visceral e renal, cardiotoxicidade, hepatotoxicidade, neurotoxicidade, disfunção reprodutiva, alterações metabólicas, reações alérgicas e anafiláticas, e fadiga são os relatados como principais sintomas apresentados pelos usuários das drogas antineoplásicas. Dados como esses reforçam a necessidade de novas descobertas nos tratamentos contra o câncer, almejando-se uma toxicidade reduzida e uma eficiência maior dos quimioterápicos.

### 3.2 Química medicinal

A história da química para o tratamento do câncer tem início em 1942, quando Goodman e Gilman mostraram a redução do tumor de um paciente com linfoma, ao ser tratado com a mecloretamina (1) (Figura 1), uma mostarda nitrogenada (CHABNER; ROBERTS, 2005). Na década de 60, com o avanço nas pesquisas, a ciclofosfamida (2) foi o quimioterápico do momento, responsável pela cura da leucemia em camundongos (DEVITA; CHU, 2008). Como também, a descoberta da atividade antitumoral da cis- diaminodicloroplatina (II) (cisplatina) (3), alavancaram as pesquisas de novas substâncias biologicamente ativas para o tratamento do câncer (ROSEMBERG et al., 1969). A liberação para a clínica de dois novos fármacos de platina (II), carboplatina, caracterizada por seus menores índices de efeitos colaterais, e oxaliplatina, atuação em células mais resistentes, confirmaram a potencialidade destes compostos coordenados (KELLAND, 2007). Desde então, existe uma busca incansável por quimioterápicos que tenham resultados expressivos para o tratamento do câncer. Mesmo com avanços nessa área, encontrar sistemas que ofereçam maiores índices de cura e uma melhor qualidade de vida aos seus usuários, são os desafios atuais para esses novos fármacos. Porém, as especificidades de cada célula atribuem individualidades para cada tipo de tumor, sendo descartada a possibilidade de encontrar um tratamento que seja adequado para todas as neoplasias (FLOREA; BÜSSELBERG, 2011). Atualmente, os complexos de Pt (II) são utilizados em cerca de 50 % dos tratamentos de câncer (JAKUPEC et al., 2008). A resistência celular e uma série de efeitos colaterais, como: nefrotoxicidade, neurotoxicidade, náuseas e vômitos, são alguns dos problemas apresentados pelos metalofármacos de Pt (II) (KELLAND, 2007).

**Figura 1** – Primeiros compostos utilizados como quimioterápicos.



Fonte: Próprio autor.

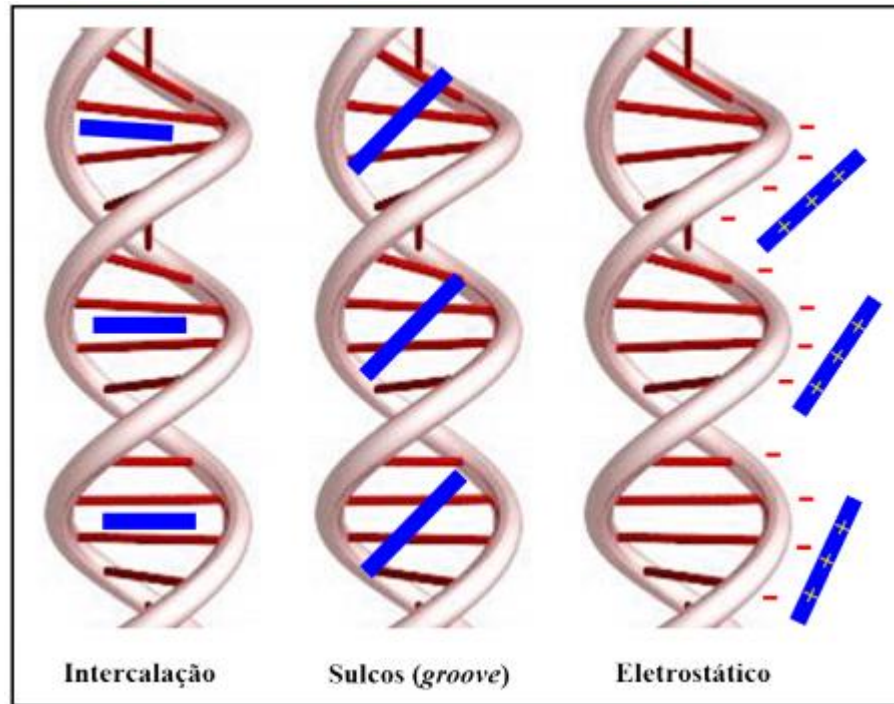
Nos dias atuais, são inúmeras as informações genômicas descobertas através da possibilidade do ressequenciamento genético. Os genomas do câncer são responsáveis por milhares de alterações no DNA, mas a influência dessas mutações para a tumorigênese ainda vem sendo estudada (LITI et al., 2009). Pode-se atribuir ao desenvolvimento do câncer as

mutações herdadas, induzidas por fatores ambientais, ou ainda resultantes de erros de replicação do DNA (TOMASETTI; LI; VOGELSTEIN, 2017).

O DNA é um importante alvo farmacológico, a ideia de atingi-lo a partir da modulação da expressão gênica ou da interferência na replicação, torna-o essencial na busca por novas terapias medicinais. Os ácidos nucleicos são moléculas que armazenam e transmitem a informação genética da célula, instruindo quais proteínas e em que quantidade devem ser sintetizadas (HANNON, 2007). Formados por polímeros lineares de nucleotídeos unidos por ligações fosfodiéster, divide-se em duas partes: uma hidrofílica, que permanece em contato com a solução aquosa do meio intracelular; enquanto as bases nitrogenadas, planares e hidrofóbicas, que se direcionam para o interior da estrutura. O esqueleto do DNA é mantido por várias forças não-covalentes, tais como: interações  $\pi$ - $\pi$  entre os anéis aromáticos; ligações de hidrogênio entre as bases; atração eletrostática e cátions em solução (CALLADINE, 2004).

Algumas formas de interação fármaco-DNA são possíveis, de modo geral, a intercalação é a incorporação de uma molécula aromática entre os pares de bases consecutivos do DNA (Figura 2) (STREKOWSKI; WILSON; NONCOVALENT, 2007). Forças eletrostáticas e hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e, sobretudo, as interações de empilhamento  $\pi$  entre os grupos aromáticos heterocíclicos das bases e as estruturas aromáticas do agente intercalador colaboram para a estabilização do complexo intercalador-DNA. Sua inserção resulta em uma mudança importante na estrutura do DNA, ocasionando alongamento, enrijecimento e desenrolamento da dupla hélice. Acredita-se que todas as modificações relacionadas ao agente intercalador na estrutura secundária do DNA interferem na replicação e, concomitantemente, inibem o crescimento do câncer ou causam a morte celular (WHEATE et al., 2007). Na figura 2 temos as três formas que compostos não-covalentes podem interagir com o DNA, são eles: (i) o processo de intercalação bem discutido anteriormente, (ii) interações hidrofóbicas no sulco menor do DNA, (iii) interações eletrostáticas com o DNA (BOER; CANALS; COLL, 2009; SILVA, 2016).

**Figura 2** – Representação esquemática de possíveis modos de interação complexo-DNA para compostos não-covalentes.



Fonte: Silva (2016)

As enzimas são alvos biológicos indispensáveis para o planejamento de novos fármacos, tendo em vista seu papel fundamental em vias bioquímicas associadas a doenças e disfunções em humanos. Chama atenção também sua fácil obtenção, adequação para ensaios biológicos e versatilidade na aplicação de técnicas de SBDD, do inglês *structure-based drug desing*, que consiste em um método de planejamento de fármacos baseado na estrutura do receptor; e LBDD, do inglês *ligand-based drug design*, que consiste em um método de planejamento de fármacos baseado na estrutura do ligante (MESTRES, 2005; MONTANARI, 2011).

As topoisomerases (topo) são enzimas essenciais que alteram a conformação do DNA. Dois tipos de topoisomerases estão presentes em todas as células: a topo I, que atua com cortes em uma das fitas do DNA, e a topo II, que corta a dupla fita do DNA (CORBETT; OSHEROFF, 1993). Estudos identificaram pelo menos duas isoenzimas topo II em vertebrados (exceto em eucariotos inferiores): a forma  $\alpha$  e a  $\beta$  (WANG, 1985). O estudo das topoisomerases e suas ações tiveram seu ápice com a descoberta quantitativa dessas enzimas em vários tipos de linfomas, apresentando níveis que justificariam o estudo de fármacos que interagissem com as mesmas (POTMESIL et al., 1988).

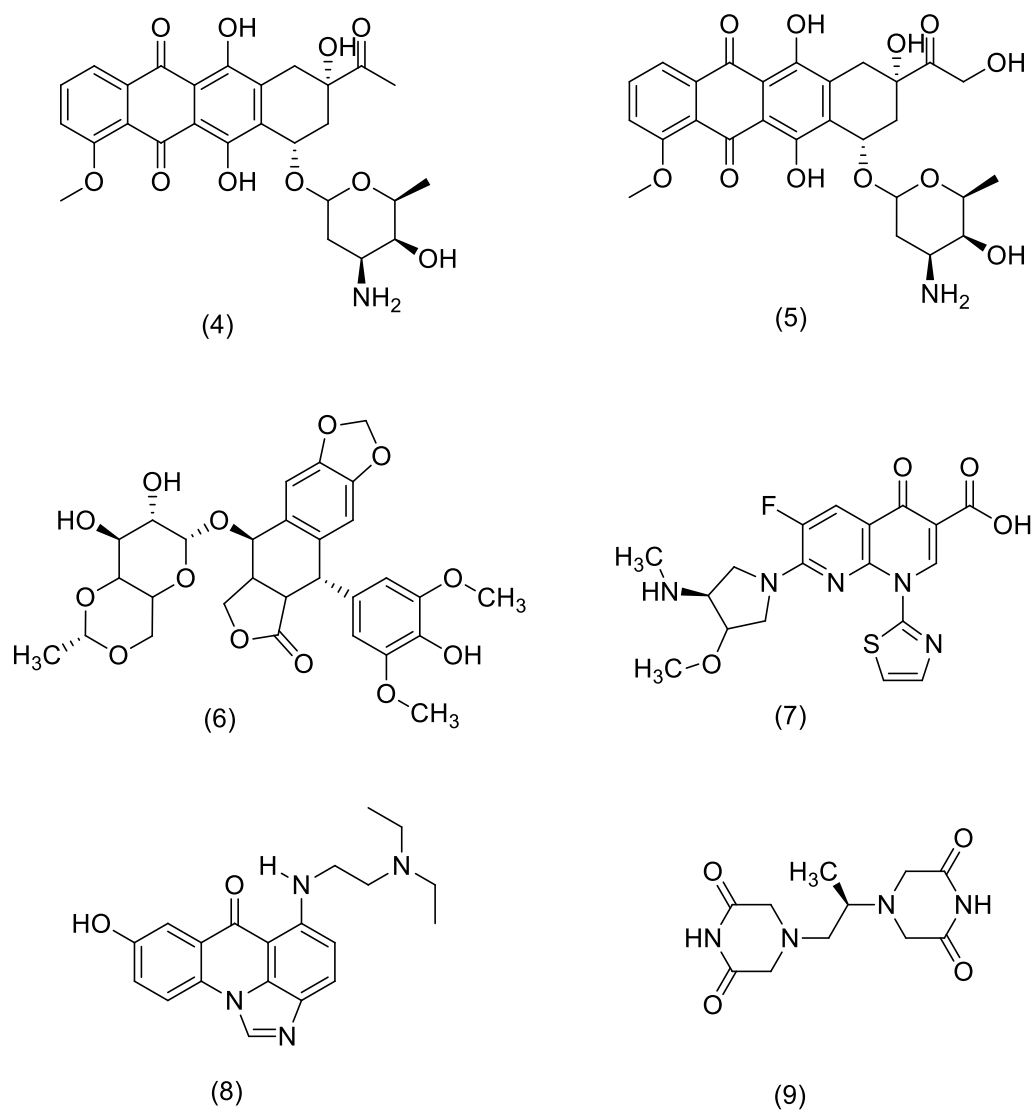
Mesmo sendo indiscutível a importância das topoisomerases no papel fisiológico, elas também são importantes alvos para tratamentos antitumoral e antibacteriano. Os principais



agentes antineoplásicos utilizados no tratamento do câncer são: agentes antimetabólitos, agentes túbulo-afins, inibidores da topoisomerase I (topo I), inibidores da topoisomerase II (topo II), análogos da purinas, análogos das pirimidinas, agentes alquilantes, inibidores da RNA-polimerase, agentes intercalantes, inibidores da síntese de proteínas e agentes clivadores de DNA.

Os fármacos que interagem com a topoisomerase, também conhecidos como inibidores, podem, dependendo do mecanismo de ação, ser classificados em dois grupos: “venenos de topoisomerase” e inibidores catalíticos (DEWEESE; OSHEROFF; OSHEROFF, 2009). Diferente da ação dos fármacos com atividade em proteínas, que agem abstraindo-as, os “venenos de topoisomerase” atuam aumentando a atividade da enzima, formando um compartilhamento de elétrons entre o DNA e a mesma, acarretando assim um aumento no desmembramento das moléculas, formando intermediários tóxicos ao metabolismo celular, induzindo eventos mutagênicos e letais (DEWEESE; OSHEROFF; OSHEROFF, 2009; JORGE, 2012). Em contrapartida, os inibidores catalíticos diminuem a atividade da enzima, impedindo a mesma de formar o complexo enzima-DNA, seja pela obstrução da ligação com o DNA, ou impedindo que a topoisomerase clive o DNA (JORGE, 2012).

Inúmeros inibidores de topoisomerase foram inseridos nas clínicas de câncer como importantes drogas para seu tratamento, tais como: antraciclina (daunorrubicina **(4)** e doxorrubicina **(5)**), demetilepipodofilotoxina (etoposídeo) **(6)**, quinolona (vosaroxina) **(7)**, derivados da iminodazoacridona (Symadex <sup>TM</sup>) **(8)** e ICRF-187 (dexrazoxano) **(9)** (Figura 2), todos inibidores da topo II, retendo complexos topoisomerase-DNA (POMMIER, 2013).

**Figura 2-** Importantes inibidores de topoisomerase.

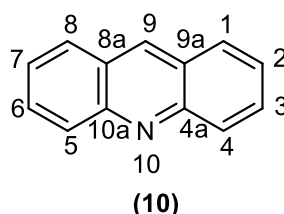
Fonte: Próprio autor.

A capacidade de destruição na enzima Topoisomerase II, atuando como veneno, são atribuídas a esses intercaladores orgânicos citados, tendo como ação a estabilização do complexo intermediário covalente da reação da Topo II, resultando na morte celular via apoptose (HANDE, 2008), ressaltando que ambos os tipos de topoisomerase ( I e II) possuem atividades de inibição e algum grau de redundância, sendo necessário apenas um tipo de topoisomerase para levar a morte celular programada (WANG et al., 2014).

### 3.3 Acridina

Segundo Lerman (1961) o DNA tem uma afinidade diferenciada com compostos aromáticos heterocíclicos tais como a acridina e seus derivados. Seu estudo pioneiro, propôs a intercalação como fonte dessa afinidade e, desde então, pesquisas são feitas com núcleos acridínicos (Figura 3). Os derivados acridínicos têm capacidade de entrar nas bases da hélice de DNA e assim ofuscar a transcrição, o que impede o processo de replicação celular. Porém, a capacidade desses fármacos vai muito além da interação com o DNA, acredita-se que uma ligação fármaco-enzima, seja responsável pela inibição enzimática, mais precisamente da inibição a enzima topoisomerase (MOURA, 2009; ALMEIDA et al., 2015).

**Figura 3** - Molécula da Acridina.



Fonte: Próprio autor

As acridinas estimulam o interesse de inúmeros pesquisadores, por possuir: (i) um amplo espectro de atividades biológicas, como atividades antimicrobiana, antiviral, antimalárica, antitripanossômica, leishmanicida, antiparkinsoniana, além de suas propriedades antineoplásicas bem conhecidas; (ii) a capacidade de interagir com o DNA, inibindo as enzimas topoisomerases e telomerase, e o complexo proteossômico das células; (iii) ainda concede discussões acerca de mecanismos de ação desconhecidos (PITTA, 2012).

A Figura 3 apresenta uma revisão bibliográfica dos derivados acridínicos com atividades antitumorais sintetizados nos últimos anos, buscando através da plataforma do *Science Direct*, estruturas que corroborassem para potencialidade dos derivados planejados neste trabalho.

A acridina mais conhecida no momento é a amsacrina (**11**) (Figura 3) que exibe atividade citotóxica potente, inibidora de topoisomerase II de leucemias e linfomas, mais não possui atividade comprovada em tumores sólidos (KUMAR et al., 2017). Entretanto, apresenta efeitos secundários, resistência a medicamentos e fraca biodisponibilidade, que tornam o estudo e modificação estrutural deste composto totalmente viáveis (SANCHEZ et al., 2006). Sua história na química medicinal, inicia-se em meados de 1912, quando foi utilizado como agente antibacteriano, na forma de corantes, por Ehrlich e Benda (KUMAR et al., 2017).

A apoptose pode ser desencadeada pela via mitocondrial, que resulta na ativação de uma série de caspases. Caspases, pertencem à família das cisteínas proteases que têm capacidade de reconhecer e clivar substratos que possuam resíduos de aspartato (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007). Gao et al. (2015) estudaram a influência de novos derivados acridínicos com benzimidazol, que resultou em uma série de novos antineoplasmáticos que, via mitocondrial, interagiram com o DNA induzindo-o a apoptose. Entre os derivados sintetizados, destaca-se o **12** (Figura 3), que por resultados de citotoxicidade contra células K562 e HepG-2, foi selecionado como composto líder. Concluiu-se que esse composto demonstrou interação com o DNA e inibição a atividade da topoisomerase I, induzindo a apoptose em células K562.

A partir dos resultados obtidos anteriormente, Cui et al. (2016) propuseram uma síntese de derivados acridínicos como inibidores multialvo de proteína-tirosina quinase e da proteína MEK, que são proteínas quinases responsáveis por processos tumorais, que separadamente não se mostram alvos eficientes, porém em combinação podem apresentar um efeito sinérgico benéfico. Inúmeras substituições foram propostas pelo autor, vislumbrando maiores interações com o alvo, sendo comprovadas a influência das mudanças nas atividades antiproliferativas. O composto **13** (Figura 3) apresentou a melhor interação frente as células K562 (leucemia mielóide) e HepG-2 (hepatócitos humanos polarizados).

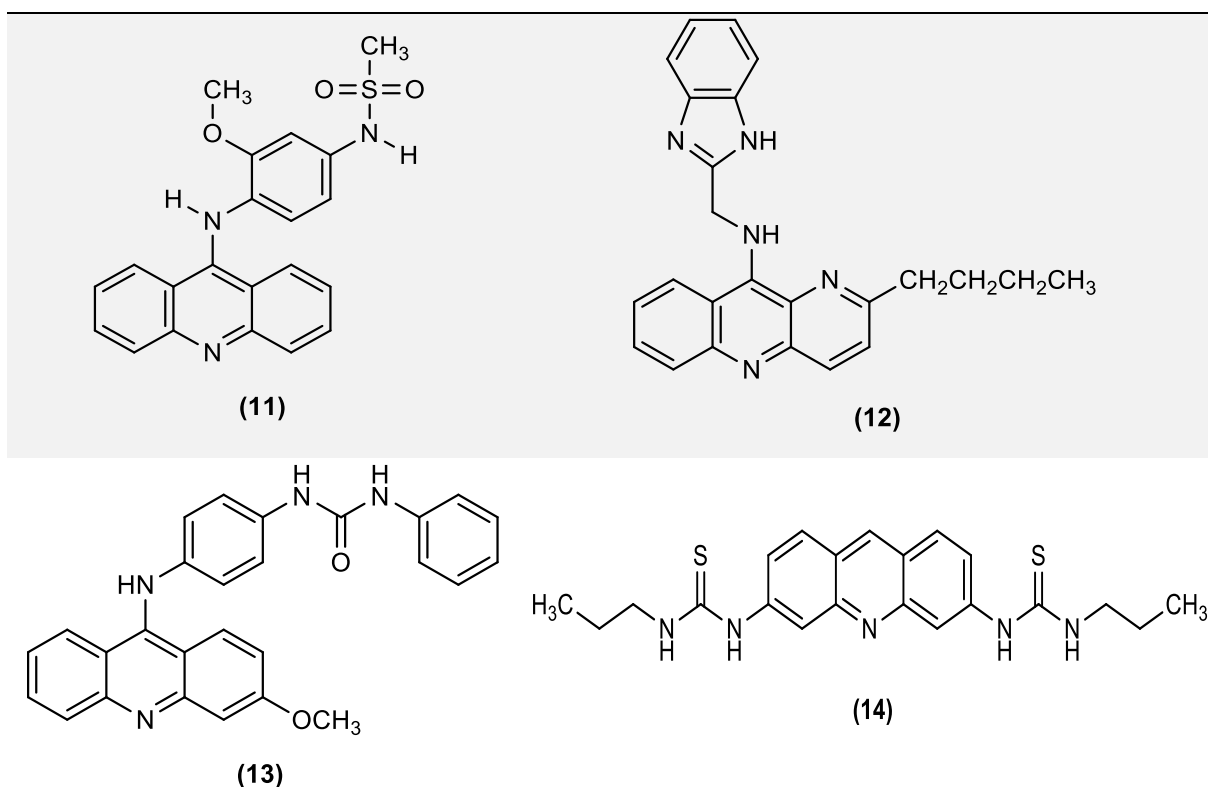
Cisáriková et al. (2016) propuseram a utilização de novos fotossensibilizadores (PSs) derivados da acridina para terapia antitumoral fotodinâmica (PDT). A análise *in vivo*, através de células de camundongo L1210 (leucemia linfóide) foram realizadas para testar os cloridratos de acridina-3,6-dialquilditioureia (AcrDTUs) como novos agentes PSs. Obteve-se um aumento na ordem de 10 vezes na citotoxicidade de todos os derivados contra as células L1210, onde o composto propil-AcrDTU (**14**) (Figura 3) foi o mais eficiente, com  $IC_{50} = 0,48 \mu M$  após 48 horas de exposição. Afirmaram que os derivados de acridina são preferencialmente acumulados nos lisossomos, sua fotodestruição foi enfatizada como evento crítico na morte das células tumorais, devido ao seu envolvimento na necrose e morte celular autofágica. Sendo enfatizada a importância da inibição da enzima topoisomerase no tratamento para o câncer, mais destacada outra via no tratamento de células tumorais.

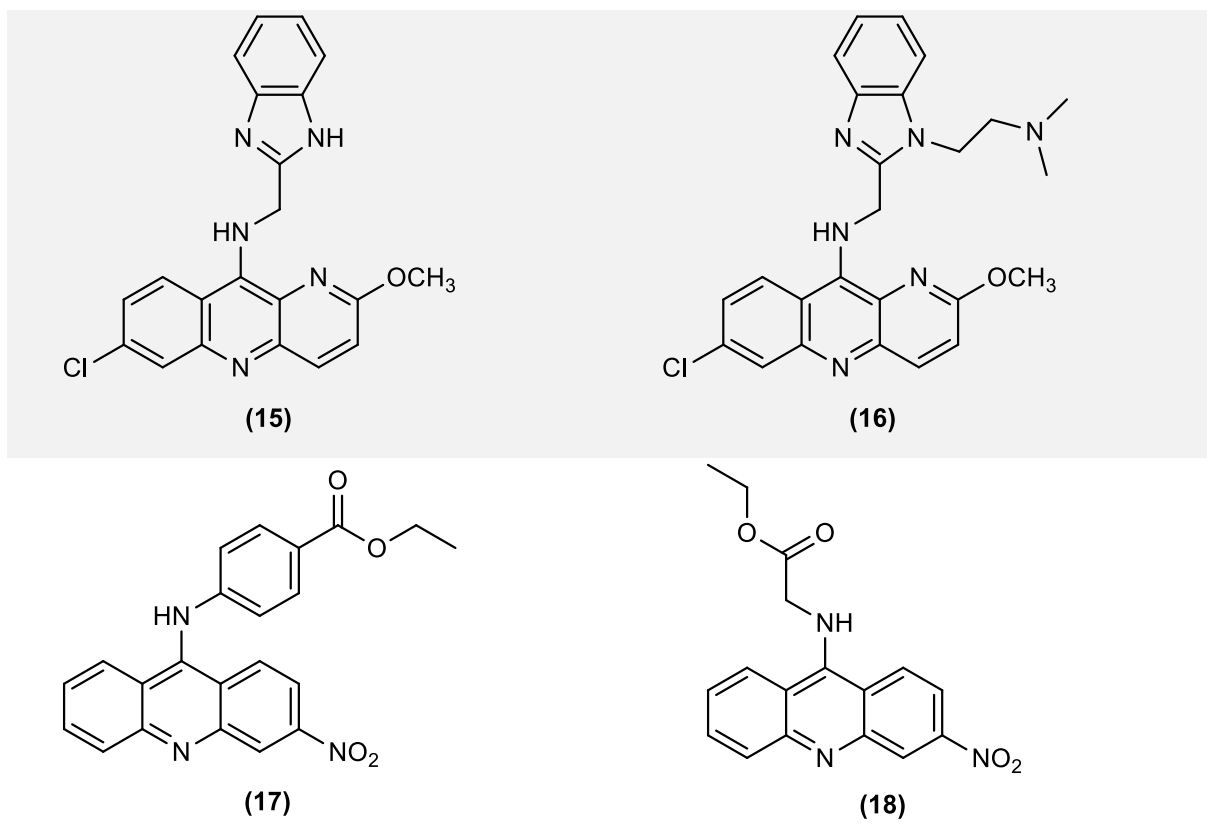
Como se destacou, as enzimas topoisomerasas são alvos importantes na terapia do câncer (POTMESIL et al., 1988; MESTRES, 2005). Os trabalhos voltam-se para estudos que propõem interações fármacos-DNA e fármacos-Topo. Li et al. (2017) sintetizou novos derivados da azaacridina com avaliações biológicas de interação com o DNA e com a topoisomerase II, entre os quais dois compostos ganharam destaque (**15** e **16**) (Figura 3) mostrando boa atividade antitumoral contra células K562, como também células U937,

comparando-as com células HepG2 do carcinoma hepatocelular com m-AMSA, cisplatina foi usado como controle positivo. Todos os compostos sintetizados apresentaram inibição topo II e somente o composto **16** demonstrou inibição topoisomerase I (em 100  $\mu\text{M}$ ). Também exibiram atividade inibitória topoisomerase II comparável ao m-AMSA (controle positivo), onde em uma concentração de 10  $\mu\text{M}$  o composto **16** mostrou maior atividade inibitória (75,1%), que m-AMSA (56,9%).

Finalizamos a busca bibliográfica referente a acridina com um trabalho bem elaborado de Zhou et al. (2018), onde eles associaram melhores ajustes entre as ranhuras de proteína, o DNA e o fármaco, com a presença das aminas na posição 9 da acridina. Seus resultados mostraram que a porção de acridina pode parcialmente intercalar em DNA e as 9-aminas flexíveis ligam-se ao DNA no modo do sulco obrigatório. Através de técnicas como espectroscopia no UV-vis e fluorescência, seu modo de interação com DNA foi proposto, como também avaliado sua potencialidade em células MCF-7 (câncer de mama) e MDA-MB-231 (células de câncer de mama metastáticas). Apresentou resultados surpreendentes para taxas de apoptose de 62,2% (5  $\mu\text{M}$ ) e 99,4% (10  $\mu\text{M}$ ) em células MDA-MB-231. Por fim, concluiu que os compostos **17** e **18** (Figura 3) demonstraram atividade antineoplásica via indução de parada do ciclo fago G0 / G1 e apoptose em células de câncer de mama humano.

**Figura 3** – Derivados acridínicos com atividade antitumoral.



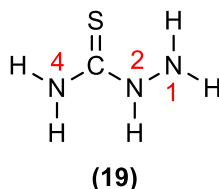


Fonte: *Science direct*.

### 3.4 Tiossemicarbazidas

Uma classe de pequenas moléculas, a hidrazinacarbotoioamida, mais conhecida como Tiossemicarbazida (Figura 4), vem sendo estudada para o tratamento de antivirais, antineoplásicos, anti *Plasmodium falciparum* e *Tripanossoma cruzi*; e anticâncer (GREENBAUM et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2017). Com fórmula molecular  $\text{CH}_5\text{N}_3\text{S}$ , possui massa molecular de 91,14 g/mol, ponto ebulição de 245°C, de acordo com a literatura.

**Figura 4** – Estrutura tiossemicarbazida.

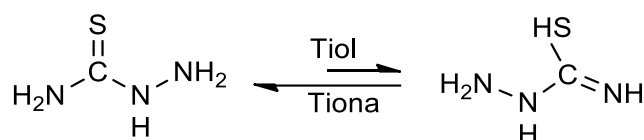


Fonte: Próprio autor.

Com excelentes resultados na relação estrutura X atividade, a Tiossemicarbazida, propicia alterações na ligação do  $\text{C}=\text{S}$ , como também diversas formas de ataque nucleofílico dos átomos de N, que apresenta a seguinte ordem de reatividade  $\text{N1} > \text{N2} > \text{N4}$ , o nitrogênio N1 justificado por ter maior distância a ligação da tionila (METWALLY et al., 2011).

Uma importante característica físico-química da tiossemicarbazida é a possibilidade de coexistir em duas estruturas tautoméricas – tiona/tiol (Esquema 1). Porém, o equilíbrio é sempre deslocado para a forma da tiona uma vez que as estruturas são menos energéticas que a forma do tiol. (PITUCHA et al., 2010); este fenômeno pode ser comprovado por estudos espectroscópicos, principalmente na região do infravermelho, nas quais observa-se a banda que indica a presença da tiocarbonila ( $1028-1082\text{ cm}^{-1}$ ) (MACHADO, 2016).

**Esquema 1** – Possibilidade de tautomeria da tiossemicarbazida.



Fonte: Próprio autor.

Outra relevante característica está na capacidade de quelar, sendo muito utilizadas na química como ligantes na construção de complexos organometálicos (CASAS et al., 2000). Na química medicinal, a literatura nos evidencia a presença da tiossemicarbazida na estrutura de diversos agentes, nos quais apresentaram resultados promissores em relação aos efeitos antibacterianos (HAMEED et al., 2015), antiviral (KANG et al., 2011), antileishmania (BRITTA et al., 2016), antichagásico (BRITTA et al., 2015; BLAU et al., 2013).

A Figura 5 apresenta uma revisão bibliográfica dos derivados tiossemicarbazônicos com atividades antitumorais sintetizados nos últimos anos, buscando através da plataforma do Science Direct, estruturas que corroborassem para potencialidade dos derivados planejados neste trabalho.

Almeida et al. (2015) propuseram oito novos derivados tiossemicarbazônicos, dos quais o melhor resultado de interação com o DNA foi para o derivado **20** (Figura 5), caracterizado por hipocromismo. O análogo **21**, derivado fenílico, demonstrou maior atividade antiproliferativa. A substituição no anel fenílico foi correlacionado com interações apresentadas ao ctDNA, como também nas atividades antiproliferativas, visto que, os análogos **20** e **22** as atividades foram drasticamente reduzidas.

Muitos compostos tiossemicarbazônicos são responsáveis por inibição da ribonucleotídeo redutase e topoisomerase II, por danos no DNA, além de quelantes de metais de transição, entre outras atividades, como citado anteriormente. Wang et al. (2017) seguiu essa linha de pesquisa quando propuseram o estudo da síntese da nonipona com a tiossemicarbazida avaliando a eficiência dos mesmos no tratamento de células cancerígenas MDA-MB-231, Hela

e SMMC-7721, usando o etoposido como controle positivo. O composto **23** (Figura 5) apresentou poder significativo na detenção a célula na fase G2 / M e capacidade de induzir a apoptose de células cancerígenas. O efeito foi detectado contra todas as células citadas e apresentou baixa citotoxicidade em fibroblastos de pulmão de embrião normal humano (Hlf-1).

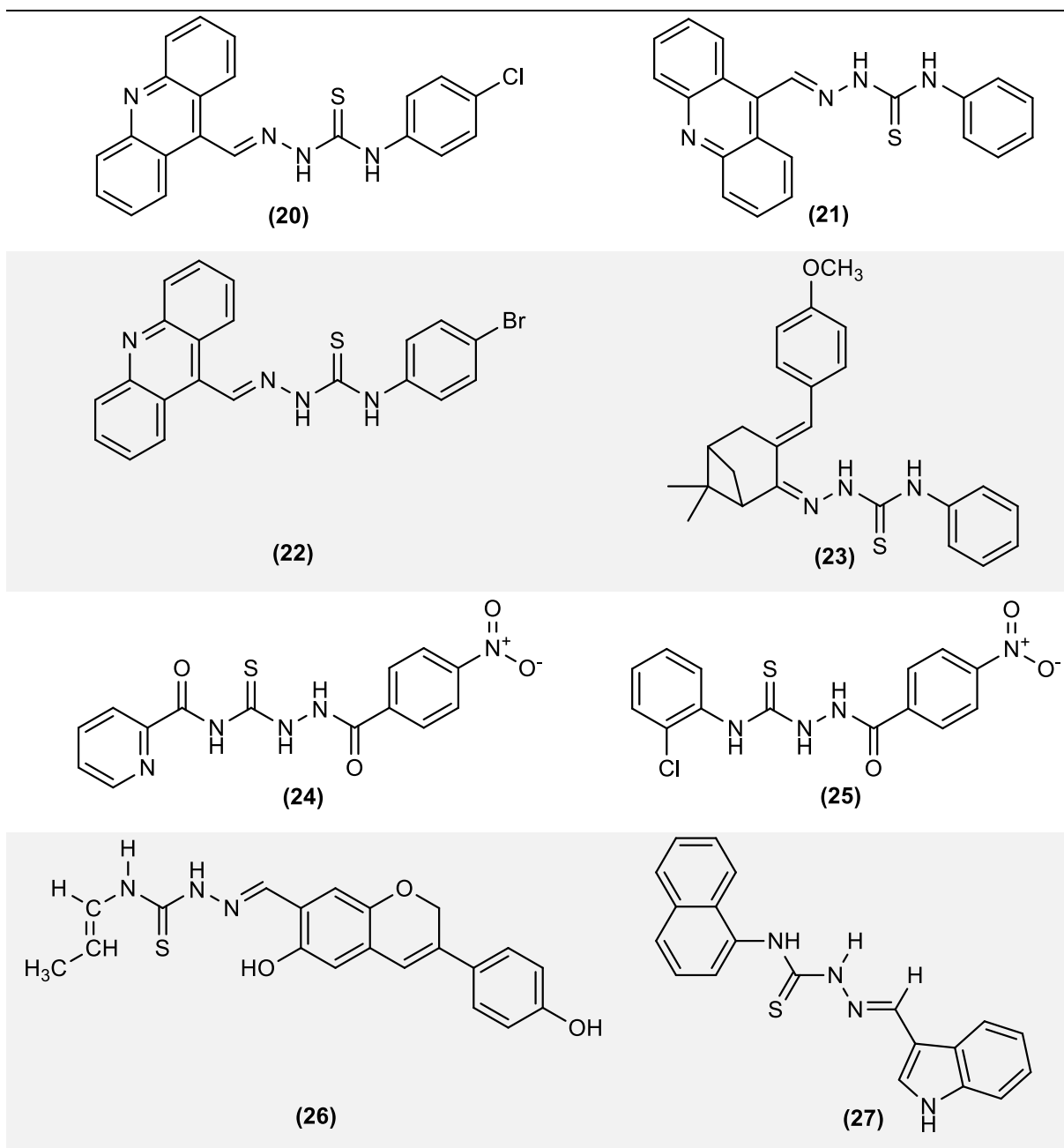
Nos últimos anos, os compostos organo-nitrogênio são habitualmente estudados e sintetizados como compostos biologicamente ativos. Pequenas moléculas heterocíclicas, com estruturas lineares são frequentemente utilizadas para descobertas de novas classes terapêuticas. (WANG et al., 2017; BRITA et al., 2016; HAMEED et al., 2015; RANE et al., 2014). Wos et al. (2017) continuaram os estudos baseados em informações como as citadas e sintetizou derivados tiossemicarbazônicos com o grupo 4-nitrofenilo. Os análogos **24** e **25** (Figura 5) apresentaram maior potencial antiproliferativo que a Cisplatina contra a célula cancerígena MCF-7.

Yee et al. (2017) estudaram derivados isoflavênicos, o fenoxodiol, composto já elucidado com atividades antitumorais, anti-inflamatórias e antivirais (FRIEDMAN, 2007), que após condensação com a tiossemicarbazida originou compostos que apresentaram atividades antiproliferativas *in vitro* contra o neuroblastoma SKN-BE (2)C, o câncer de mama negativo MDA-MB-231 e as linhas celulares de câncer do glioblastoma U87. Os híbridos estudados demonstraram forte inibição frente as linhagens celulares citadas, destacou-se o análogo **26** (Figura 5), através dos testes de citotoxicidade contra células humanas do câncer de mama e do cérebro, apresentou uma maior atividade em comparação ao fenoxodiol, controle positivo, de modo a acreditar nos seus potenciais anticâncer.

O estudo realizado por Oliveira (2017) propôs uma nova classe de derivados tiossemicarbazônicos a base do indol de tiazolidinonas. O composto **27** (Figura 5) mostrou-se ter uma forte interação com o DNA, paralelamente uma inibição da topoisomerase II $\alpha$ , induzindo células de HT-29 à apoptose.



**Figura 5** – Derivados acridínicos com atividade antitumoral.



Fonte: *Science direct*.

### 3.5 Planejamento experimental

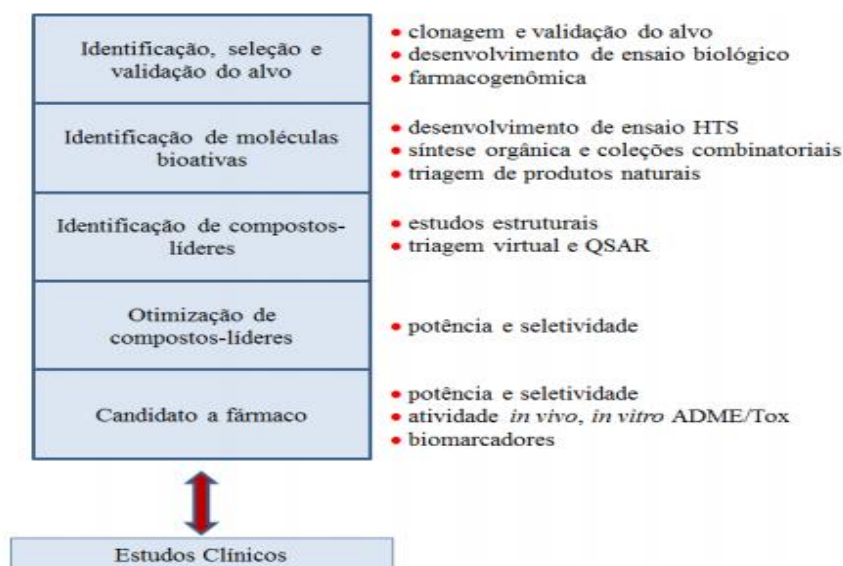
Dentre as estratégias de modificação molecular de um novo candidato a fármaco enfatizam-se a simplificação, homologação, bioisosterismo e hibridação molecular. A hibridação molecular é uma estratégia clássica de junção de grupamentos farmacofóricos de compostos bioativos distintos em uma única molécula, sendo um artifício interessante para vencer problemas farmacocinéticos, de toxicidades e/ou criar possibilidades de a molécula ser um *multi-target* (BARREIRO; FRAGA, 2015). Esta estratégia possibilita a junção de fármacos

distintos (tipo droga-droga) ou grupos farmacofóricos de fármacos distintos (tipo farmacofórica), em ambos os casos a tendência é que o novo híbrido apresente maior afinidade e eficácia que os compostos originais (NEPALI et al., 2014).

A razão entre estrutura química e atividade biológica é um fator determinante para um planejamento racional de novas moléculas ativas (WERMUTH, 2003). Em detrimento ao seu maior objetivo, a descoberta de novos fármacos, essa etapa volta-se para o mecanismo de ação, através da afinidade molecular do ligante pelo receptor, sendo estudadas todas as formas de interações moleculares que englobam forças eletrostáticas, de dispersão, hidrofóbicas, como também ligações de hidrogênio e ligações covalentes (BARREIRO; FRAGA, 2015).

Com o avanço na metodologia utilizada para o planejamento de fármacos, torna-se indispensável à compreensão do sítio de reconhecimento molecular da enzima central ou alvo envolvido na fisiopatologia. Para a estrutura desconhecida, o planejamento é feito através de um ligante eficiente (MONTANARI et al., 2011; KOLLMAN, 1989). A figura 6 apresenta etapas importantes para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos.

**Figura 6** - Etapas envolvidas no planejamento racional de fármacos.

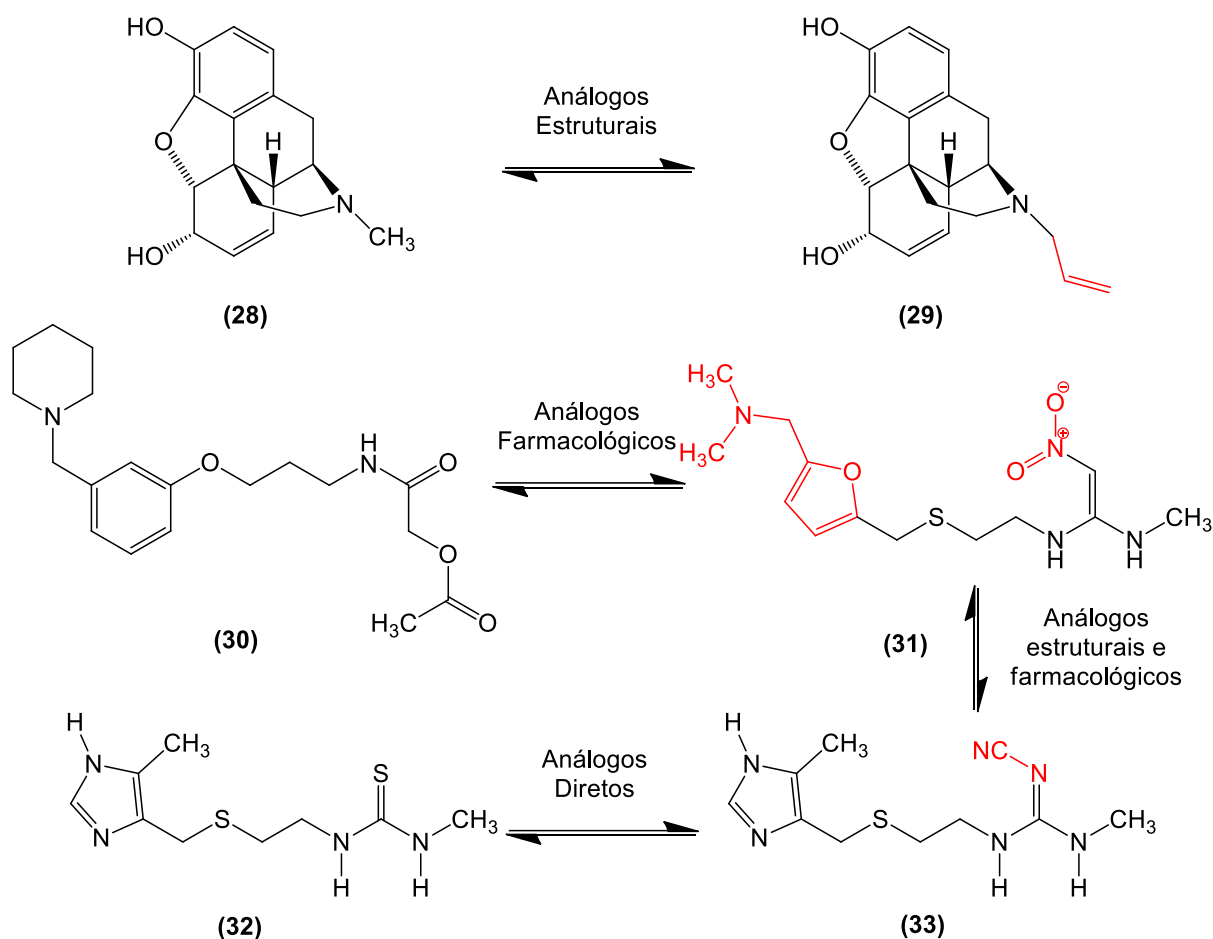


Fonte: Neves (1998)

O estudo de fármacos bem caracterizados, com perfis farmacodinâmico e farmacocinético elucidados, contribui de forma substancial no desenvolvimento de novos fármacos. Avanços terapêuticos são esperados com essa metodologia, atribuindo esses, a descoberta de moléculas com ação farmacológica e/ou de toxicidade aprimorada. Essas novas moléculas tendem a ser chamadas de análogos, que podem ser classificados de três formas:

análogos estruturais, estruturas químicas similares e atividades farmacológicas antagônicas, como é o caso da morfina (**28**) (Figura 7) e a nalorfina (**29**); análogos farmacológicos, estruturas químicas diferentes e atividades farmacológicas semelhantes, como exemplo citam-se a cimetidina (**33**), roxatidina (**30**) e a ranitidina (**31**); e análogos estruturais e farmacológicos, que possuem estrutura química e atividade semelhante, podendo ainda ser classificados como diretos ou indiretos, a depender dos grupamentos farmacofóricos, como é o caso da metiamida (**32**) e a cimetidina (**33**), análogos diretos (FISHER; SYED; LAW, 2006; SILVA, 2013).

**Figura 7** - Classificação dos análogos.

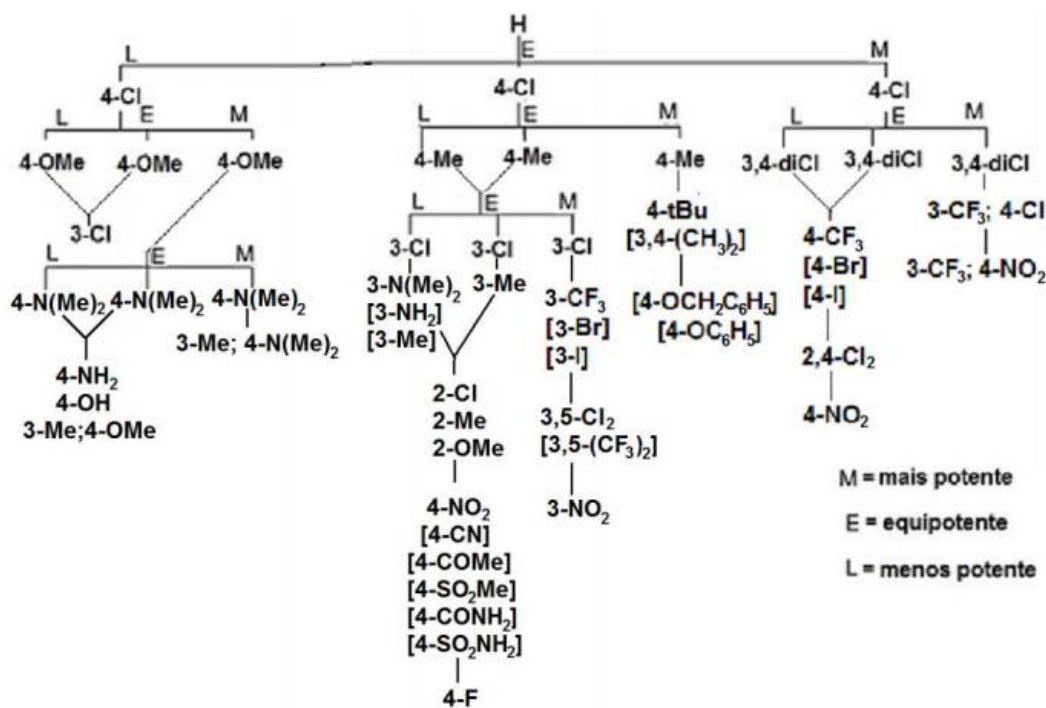


Fonte: Adaptado Fisher (2006); Silva (2013).

Com subestruturas aromáticas predominantes em produtos farmacêuticos, o objetivo é encontrar pontos mais influentes na atividade da molécula e susceptíveis a substituição nos anéis aromáticos. A árvore da decisão de Topliss (1972) (Esquema 2), primeiro método não estatístico que prediz a relação estrutura-atividade para a otimização de substituintes no anel aromático, se fundamentava em análogos, onde a inserção de radicais mais ou menos

eletroatraentes influenciava na reatividade com a molécula alvo. Os sinais > significam mais ativos; = equitativo; e < menos reativo que o composto padrão (OLIVEIRA, 2017; TOPLISS, 1972).

Esquema 2 - Árvore de definição de Topliss.



Fonte: Topliss (1972)

De acordo com o Método Manual de Topliss (1977), um aperfeiçoamento do proposto pela árvore de Topliss (Tabela 2), sugere algumas correlações quantitativas entre atividade biológica, a hidrofobicidade e os possíveis pontos de interações moleculares eletrônicas. Fundamenta-se na síntese de 5 derivados de compostos aromáticos com os seguintes substituintes: H, 4-Cl, 3,4-di-Cl, 4-CH<sub>3</sub> e 4-OCH<sub>3</sub>, selecionados devido à acessibilidade sintética destes compostos. A atividade biológica é correlacionada aos parâmetros  $\pi$  (constante de hidrofobicidade),  $\sigma$  (constante de Hammett), e  $\pi$  e  $\sigma$  relacionados ( $\pi$ - $\sigma$ ,  $\pi$ -2 $\sigma$ ,  $\pi$ -3,  $\pi$ +etc.). Substituintes  $\pi$ -2 $\sigma$ ,  $\pi$ -3 $\sigma$ : 4-NEt<sub>2</sub>, 4-NMe<sub>2</sub>, 4NH<sub>2</sub>, 4-OH, 4-Oi-Pr, 3-Me e 4-OMe, ou seja, possíveis doadores de elétrons, que acomodados a núcleos aromáticos aumentam a hidrofobicidade da molécula. A depender do caráter hidrossolúvel e eletrônico desejado substituições são possíveis de serem feitas de modo racional, que teoricamente tendem a potencializar novos derivados. Este método foi usado em vários estudos descritos na literatura e demonstra que uma série de quatro análogos aromáticos com diferentes substituintes permite uma racionalização guiando a resultados satisfatórios, com uso reduzido de substituintes (TOPLISS, 1972; 1977; OLIVEIRA 2017).

**Tabela 2** - Relação entre parâmetros ativos e novos substituintes, segundo Topliss.

Prováveis Parâmetros Ativos	Seleção de Novos Substituintes
$\pi, \pi+\sigma, \sigma$	3-CF <sub>3</sub> ; 4-Cl; 4-NO <sub>2</sub> ; 4-CF <sub>3</sub> ; 2-4-di-Cl; 4-C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> ; 4-C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>
$\pi, 2 \pi-\sigma, \pi-\sigma$	4-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 4-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ; 3,4-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 4-O(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> ; 4-OCH <sub>2</sub> Ph; 4-N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>
$\pi-2\sigma, \pi-3\sigma, \sigma$	4-N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> ; 4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 4-NH <sub>2</sub> ; 4-NHC <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ; 4-OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 3-CH <sub>3</sub> ; 4-OCH <sub>3</sub>
$2\pi- \pi^2$	4-Br; 3-CF <sub>3</sub> ; 3,4-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 4-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ; 3-Cl; 3-CH <sub>3</sub> ; 3-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ; 3,5-di-Cl

Fonte: Adaptado Topliss (1977).

Por fim, mas não menos importante, tem-se um parâmetro bastante difundido no planejamento de um novo fármaco, a regra de Lipinski et al. (2001), também conhecida como regra dos 5, com intuito de prever a solubilidade e a permeabilidade de fármacos administrados pela via oral, estimando a influência da estrutura química na absorção de um composto, prevendo os processos farmacocinéticos nos estágios iniciais. Segundo Lipinski, os critérios a serem analisados são: a massa molar limita-se a 500 g/mol; o log P, diretamente ligado a lipoficidade de um composto, que significa, tendência deste para uma partição em uma matriz lipídica apolar contra uma matriz gasosa, Lipinski et al. (2001), estabelece a idealidade em log P menor igual a 5; outra regra se dá através da presença de ligações de hidrogênio, presença esta, que limita o caráter de atividade de um composto, existem duas classes de análises nesse tópico, tem-se número de doadores de ligação de hidrogênio (hydrogen-bond donos)(HBD), cuja somatória não deve ultrapassar 5, e número de aceptores de ligação de hidrogênio (*hydrogen-bond acceptors*) (HBA), cuja somatória deve ser no máximo 10 (CHENG et al., 2007; DUCHOWICZ et al., 2007; LIPINSKI et al., 2001).

Outra ferramenta bastante utilizada no planejamento racional de novos candidatos à fármacos é o *docking* molecular, um estudo *in silico* que prediz interações a alvos específicos de maneira estática, avaliando possíveis interações que possam ocorrer entre um ligante e seu receptor (alvo), e energias que envolvem essas interações, o próximo tópico traz mais detalhes sobre esta ferramenta utilizada neste trabalho.

### 3.6 Docking molecular

O *docking* molecular tem como maior objetivo prever o modo de ligação e a afinidade de pequenas moléculas dentro do sítio ativo de um possível receptor. A possibilidade de associação com uma grande biblioteca de compostos (*virtual screening*) torna-o capaz de conclusões sobre possíveis sucessos no planejamento de fármacos (SILVA, 2015).

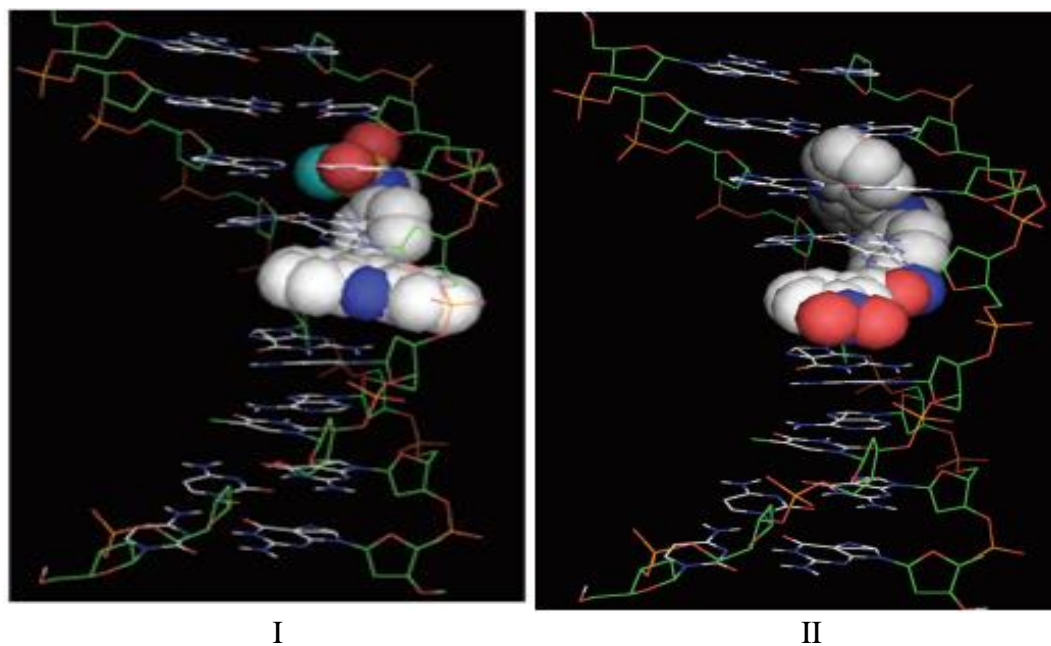
Atualmente, inúmeras metodologias e pacotes de software disponíveis o torna um método automatizado, possibilitando predições aliadas a bom desempenho e rapidez com baixo custo (GUEDES, 2014).

O estudo do *docking* molecular consiste na busca por moléculas bioativas, que são estudadas para um determinado alvo molecular com intuito de estabelecer qual, ou quais, delas demonstram melhor acoplamento ao sítio ativo do alvo. Os resultados gerados nos ensaios computacionais são dados em termos da energia de ligação necessária para que a provável molécula bioativa se ligue ao sítio do alvo molecular selecionado. Assim, a molécula que necessitar de uma menor quantidade de energia para se ligar ao sítio ativo, na teoria, apresentará melhor resultado de atividade biológica. Tomando como base esses resultados, diversas estruturas moleculares de possíveis compostos bioativos podem ser testadas, com objetivo de obter um *screening* virtual, em que aquelas que se apresentarem como mais promissoras passam para as etapas de síntese e avaliação de suas respectivas atividades biológicas, aperfeiçoando a fase inicial do desenvolvimento de um novo fármaco (BARROS, 2015).

Oliveira (2012) analisou possíveis formas de interações com a enzima topoisomerase por *docking* molecular. Seu objeto de estudo, foram compostos de naftoquinonas avaliados com a enzima DNA Topo IB humana, onde utilizou as técnicas de *docking* molecular e simulações de dinâmica molecular para descartar a atuação dos 75 compostos avaliados como venenos (poisons), moléculas que interferem na atividade de topo I. Por fim, seus estudos indicaram que os derivados de naftoquinonas estudados são promissores para o desenvolvimento de drogas anticancerígenas e antibióticas.

Kalirajan et al. (2012) estudaram uma série de novos 9-anilinos acridinas substituídos por isoxazol. Os estudos de *docking* molecular mostraram uma boa correlação entre suas atividades biológicas rastreadas e energia livre de ligação. Seu melhor derivado (8.II) (Figura 8) apresentou, *in vitro*, atividade anticancerígena significativa, comparado com o padrão positivo, a amsacrina (8.I).

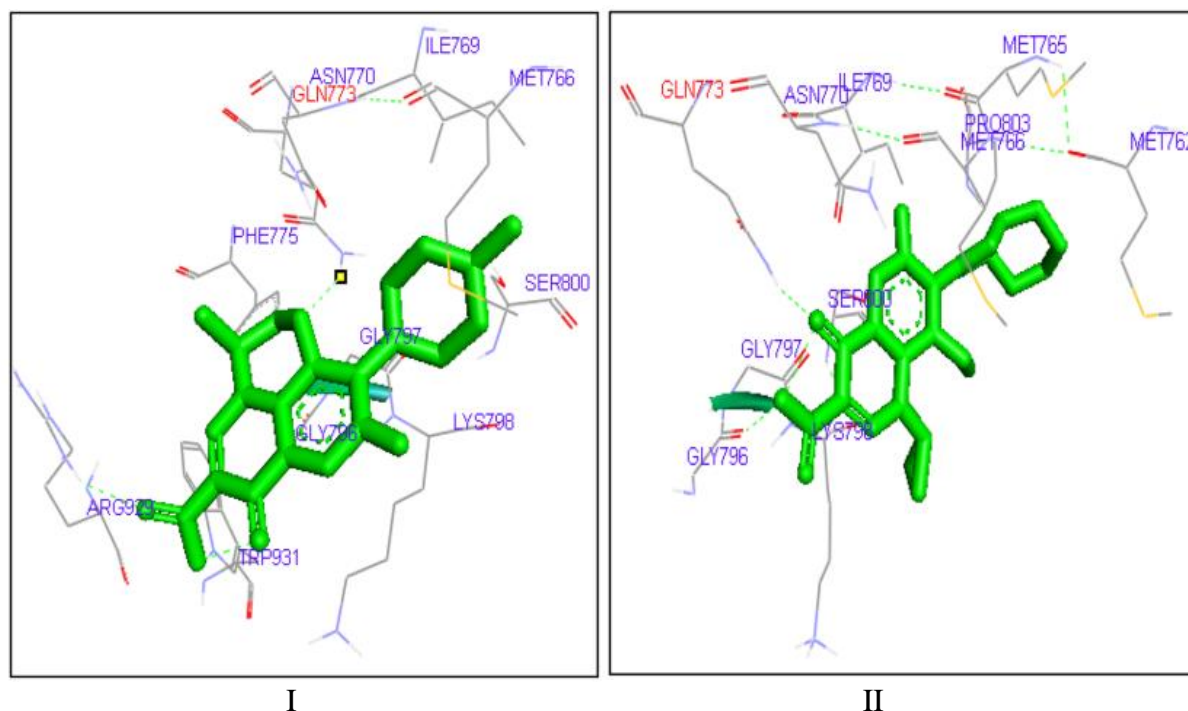
**Figura 8** – *Docking* Molecular para o amsacrina (I) e derivado 9-anilino acridina (II) com o DNA.



Fonte: Kalirajan et al. (2012).

Com resultados significativos, o *docking* molecular surge como uma predição coerente sobre atividades de novos compostos. O estudo de Jadhav (2017), analisou 13 derivados da fluoroquinolona frente as topoisomerasas humanas a e b; todos os compostos mostraram afinidade de ligação com as topoisomerasas, formando significativas interações, inibindo os crescimentos das enzimas. A figura 9, apresenta as principais interações com a topo II de dois compostos analisados, levofloxacina (I) e moxifloxacina (II). Afirmou a necessidade da síntese dos compostos, visto que o estudo foi teórico, e que, no meio biológico novas interações poderiam ser formadas, influenciando nas atividades dos derivados.

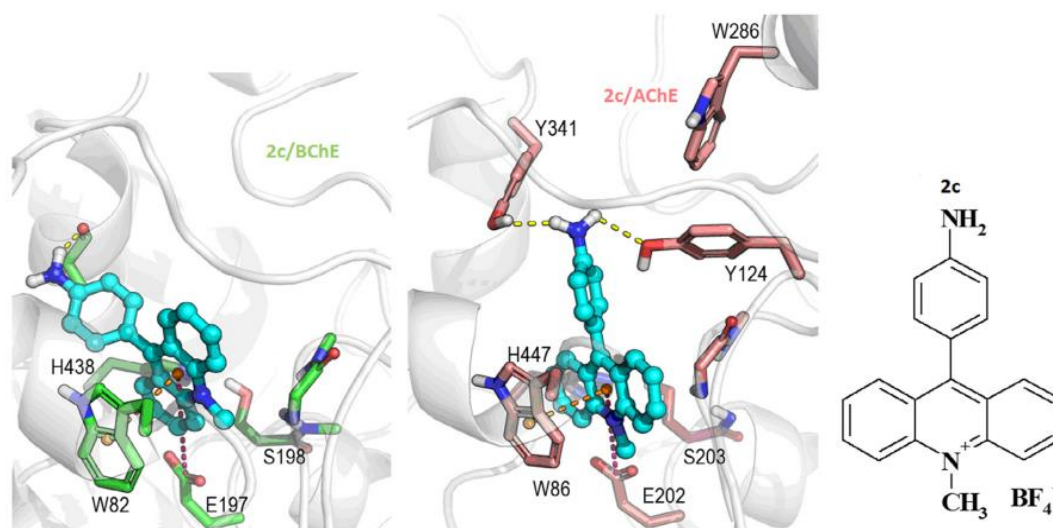
**Figura 9** – Docking Molecular para o levofloxacina (I) e moxifloxacina (II) com a topo II $\alpha$ .



Fonte: Jadhav et al. (2017).

Makhaeva et al. (2017) trouxe interações *in silico*, analisando a atividade inibitória de 4 classes de novos derivados acridínicos contra acetilcolinesterase (AChE), butirilcolinesterase (BChE) e carboxilesterase (CaE) utilizando os métodos de cinética enzimática e *docking* molecular. Abaixo apresenta-se um resultado computacional para um análogo dos derivados acridínicos estudados por Makhaeva (Figura 10).

**Figura 10** – Docking molecular derivado acridínico, estudado por Makhaeva et al (2017).



Fonte: Makhaeva et al. (2017)

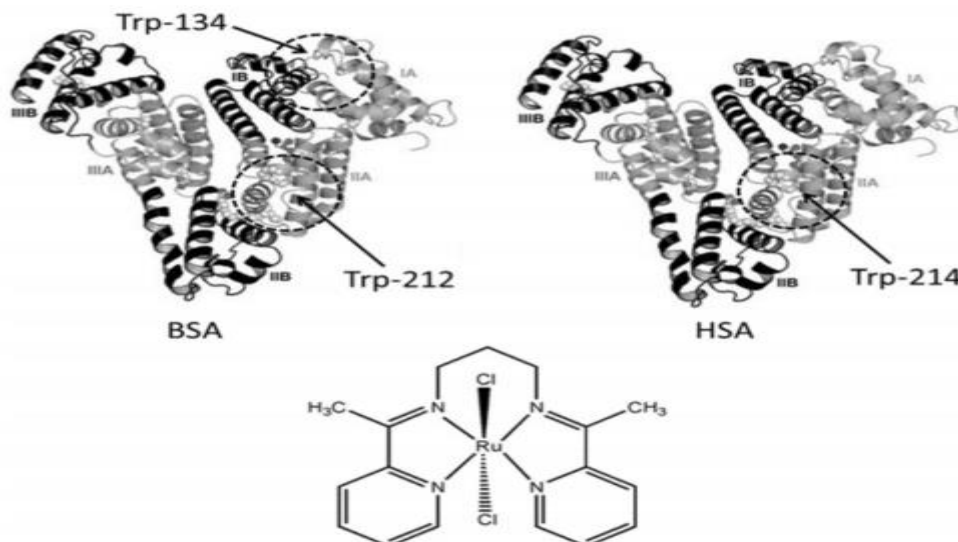


### 3.7 BSA como alvo *in vitro* para estudos sobre mecanismos de ação.

Em um processo de racionalização de novos fármacos é de suma importância uma etapa inicial que envolva o estudo de interação dos compostos com proteínas, na qual destacamos a albumina. No organismo, ela é responsável por inúmeras funções biológicas, como: armazenar, transportar, metabolizar e excretar uma vasta quantidade de ligantes exógenos e endógenos através da formação de complexos (PETERS, 1995). Destaca-se sua presença significativa em tumores sólidos, justificado por problemas nos capilares combinado com um sistema linfático ausente ou deficiente, assim, a albumina tornou-se uma possível válvula de transportes para os fármacos adentrarem mais facilmente nas células cancerígenas, resultando em uma maior eficácia e diminuição nos efeitos secundários (KRATZ, 2008; SINGLA; LUXAMI; PAUL, 2016).

A figura 11 apresenta características estruturais de cada proteína, no BSA, albumina do soro bovino, 582 aminoácidos compõem sua estrutura, sendo 20 grupos de tirosina e dois fragmentos de triptofano denominados Trp-134 e Trp-212. No HSA, albumina de soro humano, 585 aminoácidos formam sua estrutura, sendo 17 grupos tirosinas e apenas um fragmento de triptofano (Trp-214). A BSA devido à sua estabilidade, disponibilidade, baixo custo e semelhança estrutural com a albumina humana (HSA) vêm sendo muito utilizada como base nos estudos biomiméticos, apresentando uma sequência homóloga de 80% e igualdades em sua estrutura terciária quando comparada à humana que chega a cerca de 76% (SLEEP; CAMERON; EVANS, 2013; CHRUSZCZ et al., 2013; NAVEENRAJ; ANANDAN, 2013).

**Figura 11**– Comparação das estruturas do BSA com HSA.



Fonte: Mariete (2015).

### **3.8 Predições farmacocinéticas e sua importância no desenvolvimento de novos candidatos à fármacos**

Propriedades de afinidade eletrônica ao alvo tão somente não atribuem a uma molécula uma potencialidade de fármaco, é preciso aprofundar em características que envolvam sua farmacocinética, que relacionadas com propriedades da farmacodinâmica completam a ideia de um fármaco eficiente. (KOLB; IRWIN, 2009). Alguns parâmetros importantes que estão diretamente ligados à potencialidade dos fármacos serão discutidos a seguir.

#### **3.8.1 Coeficiente de partição (Log P).**

Um parâmetro importante para indústria farmacêutica, o coeficiente de partição (log P), é amplamente utilizado para estimar como uma droga pode ser transferida entre diferentes meios biológicos (YOUNG et al., 2011; LIPINSKI et al., 2012) e amplamente utilizado para prever hidrofobicidade de uma molécula (SANGSTER, 1989). Além do que, muitos métodos de relação estrutura atividade (SAR) utilizam o log P calculado como parâmetro inicial para o estudo. Muitos métodos para o cálculo de log P são encontrados, (MORIGUCHI et al., 1992; MORIGUCHI et al., 1994; WILDMAN; CRIPPEN, 1999; CHENG, 2007) onde variam em precisão e eficiência, mas são todos baseados em dados experimentais.

#### **3.8.2 Coeficiente de solubilidade (Log S)**

A solubilidade de compostos orgânicos é normalmente representada por logS, onde S é a concentração do composto em mol/L. No geral, cerca de 85% dos fármacos tem valores de logS entre -1 e -5, moléculas acima -1 estão relacionadas com estruturas muito polares, tais como açúcares ou pequenos peptídeos, que apresentam baixa permeabilidade de membrana na ausência de transporte ativo. Este parâmetro é importante pois a solubilidade aquosa e a hidrofobicidade estão diretamente ligadas a capacidade de permeação na membrana (HUUSKONEN et al., 1998; JORGENSEN et al., 2002).

No planejamento de novos fármacos visando a administração oral, a solubilidade é uma das principais propriedades que interferem na absorção. À facilidade na administração, alta aceitação do paciente, custo-benefício na produção, menor restrições na esterilidade para aplicação e flexibilidade na concepção da forma de dosagem são características que tornam a administração oral a preferencial. Da mesma maneira, um medicamento administrado pela

forma parenteral tem que ser altamente solúvel em água para liberar uma quantidade considerável de sua forma ativa na dosagem farmacêutica utilizada (OTTAVIANI et al., 2010; YELLELA, 2010; SAVJANI; GAJJAR; SAVJANI, 2012). O maior desafio encontrado na concepção de formas de dosagem reside na sua fraca biodisponibilidade, que geralmente está relacionada com uma baixa solubilidade e baixa permeabilidade. Qualquer medicamento a ser absorvido deve estar presente na forma de solução aquosa no local de absorção, atualmente 40% das novas entidades químicas (NCEs) desenvolvidas na indústria farmacêutica são praticamente insolúveis em água (SHARMA, 2009).

### 3.8.3 *Metabolismo de fármacos.*

Substâncias químicas não nutrientes estranhas ao organismo, ou também conhecidas como xenobióticos, derivadas naturalmente ou sinteticamente, podem favorecer o desenvolvimento de novas células tumorais, e até mesmo letais. Pesticidas, metais pesados (cádmio, chumbo, mercúrio), toxinas, aditivos alimentares e fármacos são acometidos na classe dos xenobióticos (BANDEIRA et al., 2014). Característica comum nestes compostos, a lipofilia, possibilita-os acúmulo no organismo, atingindo altas concentrações tóxicas, podendo influenciar no desenvolvimento de células neoplásicas. Por meio das enzimas da família citocromo P450, este problema na maioria dos casos é controlado, pois, elas reconhecem estes xenobióticos e os transformam em formas mais hidrofílicas, passíveis de serem eliminadas pelo organismo, processo natural conhecido como biotransformação (GASPAR, 2002).

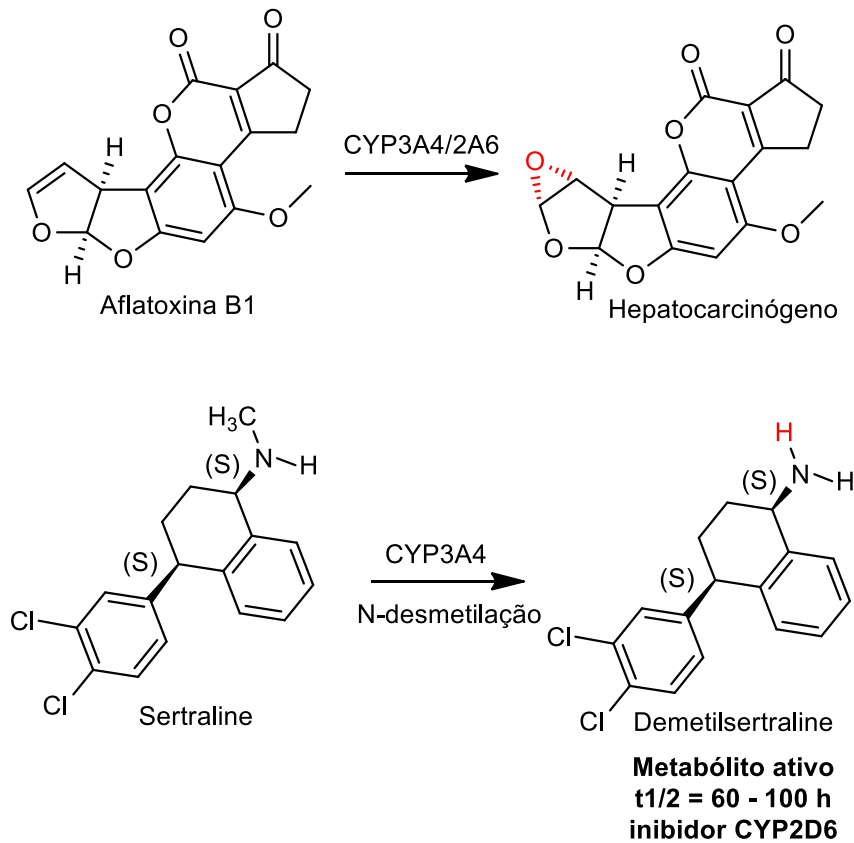
As enzimas do citocromo P450, também chamadas de CYPs, são enzimas primordiais no processo de formação e no tratamento do câncer, em decorrência da sua atuação na ativação metabólica de vários pré-carcinógenos, como também sua cooperação para ação ou inativação de drogas anticâncer. Porém, destaca-se que as CYPs que exercem função de metabolização dos xenobióticos são diferentes das que estão relacionadas com a ativação de pré-carcinógenos: a primeira, relaciona-se com o processo de metabolização derivado do polimorfismo interindividual, atuam na biotransformação; a outra classe tem como principal função inativar drogas anticâncer e ativar pré-carcinógenos. (BANDEIRA et al., 2014).

O estudo da biotransformação metabólica através das CYPs é um fator chave na eliminação de drogas, estima-se que 50% a 90% das moléculas terapêuticas sejam substrato das cinco principais isoformas do citocromo P450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) (TESTA, 2007; DI, 2014).

Na figura 12, apresenta-se algumas formas perigosas de metabolização ocasionadas

pelas CYP 450. O primeiro exemplo, característico de um processo conhecido como epoxidação, onde a aflatoxina B1, presente em fungos do gênero *Aspergillus* encontrada em inúmeros alimentos, sofre uma oxidação da dupla ligação próximo a carbonila do grupamento dihidrofurano, formando um metabólito perigoso ao fígado, que é carcinógeno. O segundo, é um medicamento antidepressivo que, sofre um processo conhecido como *N*-desmetilação, onde o próprio nome indica a perda de um grupamento metila, tornando-o um metabólito com um tempo de meia vida muito alto, aumentando o risco de toxicidade, como também inibe a isoforma CYP2D6, discutida anteriormente (BARREIRO; FRAGA, 2015).

**Figura 12** – Exemplos de metabolizações realizadas por isoformas CYP450.



Fonte: Adaptado Barreiro (2015).

### 3.8.4 Druglikeness

A potência e seletividade devem ser os primeiros objetivos para um planejamento de um novo fármaco, porém concomitantemente às propriedades farmacocinéticas e toxicológicas devem ser consideradas, sendo este pensamento influenciado pelos trabalhos de Lipinski no fim da década de 90, apresentando características relacionadas a biodisponibilidade oral observadas

por ele e seus colaboradores. A partir de suas considerações, Lipinski e colaboradores identificaram que moléculas com boa biodisponibilidade por via oral apresentavam: (i)  $\leq 5$  doadores de ligação de hidrogênio; (ii)  $\leq 10$  aceptores de ligação de hidrogênio; massa molecular  $\leq 500$  Da; (iv)  $MLog P \leq 4.15$  (LIPINSKI et al., 1997; 2001). Para complementar a regra de Lipinski, Ghose e colaboradores em 1999 afirmaram que: (i) o coeficiente de partição, com cálculo baseado nas pesquisas de Wildman e Crippen em 1999 ( $Wlog P$ ), deve estar entre -0.4 e 5.6; (ii) a refratividade molar deve situar-se entre 40 e 130; (iii) a massa molecular deve ser maior que 160 e menor que 500 Da; (iv) o número de átomos deve estar entre 20 e 70 (incluindo os doadores e aceptores de pontes de hidrogênio) (GHOSE et al., 1999). Posteriormente, Veber e colaboradores (2002) incluíram nesse rol que o número de ligações rotacionáveis deveria ser  $\leq 10$  e a área de superfície polar  $\leq 140 \text{ \AA}^2$  (VEBER et al., 2002).

A partir dos parâmetros citados acima, originados dos trabalhos de Lipinski (1997), Ghose (1999), Veber (2002) e colaboradores, surgiu o termo “*druglikeness*”, que consiste em um conjunto complexo de características que, por semelhanças, atribuem um potencialidade a novas moléculas considerando parâmetros de biodisponibilidade de fármacos já conhecidos (URSU et., 2011). Contudo, destaca-se que 20% dos fármacos absorvidos por via oral não atendem pelo menos uma das regras propostas acima, inviabilizando uma seleção apenas por estes parâmetros em fases iniciais na descoberta de um novo candidato a fármaco (KIRKPATRICK, 2012). Em resumo, o processo de descoberta de um novo fármaco é oneroso, complexo e demorado, tais estudos e correlações podem direcionar para resultados mais objetivos.

## 4.0 METODOLOGIA

### 4.1 Materiais e Métodos

A seguir serão descritos os materiais e métodos empregados na síntese dos novos potenciais derivados acridínicos.

#### 4.1.1 *Docking molecular de interação com topo II $\alpha$ , DNA co-cristalizado com topo II $\alpha$ .*

A estrutura cristalográfica da Topoisomerase II $\alpha$  complexada com o inibidor Etoposido e o B-DNA foram obtidos do Research Collaboratory of Structure Bioinformatics Protein Data Bank (PDB ID: 5GWK e 1BNA, respectivamente). O *docking* molecular dos compostos no sítio ativo da enzima Topo II $\alpha$  foi realizado utilizando o programa AutoDock Tools (ADT) 1.5.6 (JADHAV; KARUPPAYIL, 2017).

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 centro do grid em 23,766; -38.695 e -60.34 Å, dimensões de 96 x 96 x 96 Å nos eixos X, Y e Z e espaçamento de 0,375 Å, para o *docking* com a topo II $\alpha$  isolada e a mesma complexada com o DNA, e centro do grid em 14,780; 20,976; 8,807 Å, dimensões de 96 x 96 x 126 Å nos eixos X, Y e Z e espaçamento de 0,375 Å para o *docking* com o B-DNA. 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 ( $\Delta G$ ), 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 ocorreram as interações, os tipos de interação, energia e resíduos de aminoácidos do sítio ativo da enzima envolvidos nessas interações (SINGH, A.; JANA, N. K., 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*, ou seja, Desvio Quadrático Médio das Distâncias)  $\leq 2,0$  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 apresentou valor de RMSD  $\leq 2,0$  Å.

#### ***4.1.1.2 Preparação da Enzima***

O ligante Etoposido (EVP), as moléculas de solvente e os cofatores foram removidos através do PyMol para o *docking* com a Topo II $\alpha$  complexada com o DNA (PDB 5GWK). No estudo de *docking* com a Topo II $\alpha$  a mesma foi isolada do complexo com o DNA utilizando o PyMol para remoção do Etoposido (EVP), as moléculas de água, os cofatores e o próprio DNA. Por fim, para o estudo de *docking* com o DNA isolado foi utilizado um dodecâmero B-DNA (PDB 1BNA) (SINHA et al., 2015) de sequência d(CGCGAATTCGCG)<sub>2</sub> (sem lacuna) a qual foram removidas as moléculas de água através do PyMol. 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 E MARSILI, 1980; MORRIS et al., 1998).

#### ***4.1.1.3 Preparação dos Ligantes***

Os ligantes tiveram suas estruturas desenhadas no ChemDraw Professional 15.1 e em seguida foram submetidos, no programa Chem3D 15.1, 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, A; BORA, U., 2014).

#### ***4.1.2 Espectroscopia de absorção no Infravermelho (IV)***

Os espectros de IV foram obtidos através da leitura dos discos de ATR dos compostos em Espectrofotômetro de FTIR, IRPrestige-21, da Shimadzu®, com os dados tratados com auxílio do software Origin 8.0. Os espectros de IV foram obtidos no laboratório de síntese da UFRN.

### **4.1.3 Espectrometria de Massas**

As medidas das massas exatas (EM) foram obtidas em espectrômetro de Massa MALDI-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA). Laser Nd:YAG, smartbeam 1, 355 nm Freq. Laser: 100 Hz, Programa: FlexControl Versão 3.0 (Bruker Daltonics) Placa MALDI: MTP 384 ground steel (Bruker); adaptador p/ placa: MTP target frame III (Bruker). O tratamento dos dados foi realizado no Programa FlexAnalysis Versão 3.0 (Bruker Daltonics) e a calibração externa utilizando matriz alfa- ciano e mistura padrão de peptídeos (Bruker). A viabilidade dessa análise se deu com a parceria do CETENE/PE.

Etapas da análise: Amostras foram diluídas em DMSO (20  $\mu$ L); Matrix ácido alfa-4-hidroxicinâmico – HCCA (10mg/ml) em acetonitrila (ACN) 50% e ácido trifluoroacético (TFA) 0,3%. Reagentes todos fornecidos pela Sigma.

Aplicação na placa de MALDI: as amostras (1 $\mu$ L cada) foram inseridas na placa e deixadas na estufa, a 50°C, até completa secagem. Através do método da gota seca, o calibrante foi misturado à matriz (proporção volume matriz de 2:1), e a mistura foi aplicada na placa e deixada secar em T.A. Posteriormente através do método refletivo positivo, foram obtidos os espectros de massa.

### **4.1.4 Espectroscopia de RMN**

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos em espectrômetro: Bruker Avance, 300 MHz, Ultrashield® e o tratamento dos espectros foi feito no software Mestre Nova 11.0.3. Uma parte dos espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos no laboratório de síntese da UFPE e outros com parceria com a UFPB.

### **4.1.5 Ponto de fusão**

As faixas de fusão dos compostos foram determinadas através de uma pequena amostra do produto, colocada em um capilar e analisadas através do aparelho Quimis® Modelo Q-340M e estas não foram corrigidas.

### **4.1.6 Cromatografia**

As cromatografias analíticas em camada delgada foram efetuadas em placas fluka Analytical sílica gel de 0,25 mm de espessura. As revelações foram feitas por luz ultravioleta



(254 ou 365 nm).

#### **4.1.7 Cálculo teórico do Log de P e da Energia de Gibbs**

O cálculo do Log de P foi realizado através do programa ChemDraw Ultra 12.0®, sendo o calculado para cada moléculas sintetizadas.

#### **4.1.8 Aparência**

A aparência dos compostos (cor e textura) foi avaliada apenas por observação visual do produto.

#### **4.1.9 Interação com DNA.**

Todos os derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos foram dissolvidos em DMSO numa concentração de 1 mM (solução-mãe) a partir do qual as soluções de trabalho foram preparadas por diluição utilizando tampão Tris-HCl, com concentrações entre 10 e 100 µM. Sob concentração otimizada, os compostos foram expostos a concentrações crescentes do ctDNA. Antes das medições, o sistema foi agitado e incubado à temperatura ambiente durante 10 minutos. As medições foram realizadas em uma cubeta de quartzo retangular com um comprimento do percurso de 1cm.

A constante de ligação intrínseca ( $K_b$ ) foi obtida por ajuste dos dados à equação 1 (MCGEE AND VON HIPPEL, 1974):

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

onde,  $E_a$ ,  $E_b$  e  $E_f$  são os coeficientes de extinção aparente, ligado e livre, respectivamente. O gráfico da  $[DNA] / (E_a - E_f)$  versus  $[DNA]$  foi utilizado para obtenção do  $K_b$  a partir da razão entre a inclinação e o intercepto. Os dados de ligação foram obtidos utilizando o software SigmaPlot 10.0

#### **4.1.10 Interação com BSA.**

Foi utilizado solvente DMSO na preparação das soluções mãe e tampão Tris-HCl (0,1 M, pH 7,6) na análise das interações com BSA. A BSA foi obtida da Sigma Aldrich e o aparelho

empregado na análise de obtenção dos espectros de Ultravioleta-visível (UV-vis) foi o Espectrofotômetro de UV-vis Ultraspec 3000 PRO e espectrofluorímetro.

Os compostos foram dissolvidos em DMSO numa concentração de 1 $\mu$ M (solução mãe) e as soluções de trabalho foram preparadas por diluição em tampão Tris-HCl nas seguintes 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40  $\mu$ M. A concentração de BSA foi fixada em 20  $\mu$ M. Os estudos de fluorescência da excitação em um comprimento de 285 nm.

#### **4.1.11 Avaliação da citotoxicidade**

Para a avaliação da citotoxicidade foram utilizadas as seguintes linhagens de células tumorais humanas: MCF-7 (câncer de mama) e HL60 (leucemia promielocítica aguda), 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<sub>2</sub>.

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 5 x 10<sup>5</sup> células/mL (HL60) e 3 x 10<sup>5</sup> células/mL (MCF-7). Em seguida, foram preparadas soluções estoque de 20 mM das amostras, dissolvidas em DMSO (100%), da qual foram produzidas soluções de trabalho nas concentrações testes, 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  $\mu$ L do sobrenadante, sendo adicionado 10  $\mu$ L de MTT (5 mg/mL) (Sigma-aldrich). As placas foram incubadas por 3 h em estufa de 5% de CO<sub>2</sub>, a 37 °C, para redução do sal e formação dos cristais de formazan. Após o período de incubação, foi adicionado 100  $\mu$ L de SDS (10% HCL 0,01 N), para a solubilização dos cristais de formazan. As placas foram cobertas com um papel alumínio e deixadas *overnight* em um agitador. A absorbância foi medida em um leitor de placa, no comprimento de onda de 570 nm.

Os experimentos foram realizados em triplicata ou quadruplicata e a percentagem de inibição foi calculada no programa *GraphPad Prism 7.0*. Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico da amostra testada: 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%).

A amostra foi considerada ativa para fins de repetição do experimento e determinação da  $CI_{50}$  (concentração inibitória média) quando produziu pelo menos 70% de inibição do crescimento celular na concentração de 50  $\mu$ M.

Para a determinação da  $CI_{50}$ , foram testadas diferentes concentrações das substâncias (3,12; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 e 200  $\mu$ M), em quadruplicata, sendo realizado o ensaio como descrito anteriormente. Os dados foram analisados no programa *GraphPad Prism 7.0*, realizando o teste ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey.

#### **4.1.12 Procedimento para o teste da atividade hemolítica.**

A atividade hemolítica dos compostos foi realizada em eritrócitos humanos frescos (tipo A<sup>+</sup> e O<sup>+</sup>). As células foram lavadas três vezes em solução salina tamponada com fosfato e 100  $\mu$ l desta suspensão (1% hematócrito) e foi distribuído em cada cavidade de uma placa de 96 poços. Depois, com 100  $\mu$ L de cada composto sintetizado previamente dissolvido em uma solução tampão fosfato salino com 1% de DMSO. Foram testados em triplicata, adicionados à placa e incubadas durante 1 h. O ácido acético a 5% foi utilizado como droga hemolítica padrão. Após a incubação, as amostras foram centrifugadas (1500 rpm durante 10 min.), 100  $\mu$ L de cada sobrenadante foi transferido para outra placa de microtítulo. A hemoglobina libertada será monitorizada através da medição da absorbância a 540 nm num espectrofotômetro. E foi mensurada a partir da equação abaixo:

$$\%hemolise = \frac{\text{absorbância da amostra} - \text{absorbância do branco}}{\text{absorbância do controle da ácido acético a 5\% LT}}$$

#### **4.1.13 Predições farmacocinéticas.**

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.

O programa utilizado para prever propriedades de absorção, log P, log S, alguns inibidores de CYP450, como também, comparações de “*druglikeness*” foi o SwissADME desenvolvido pela Swiss Institute of Bioinformatics na Suíça, com referências disponibilizadas no artigo de Daina, Michielin e Zoete (2017).

Parâmetros relacionados ao metabolismo dos novos derivados foram obtidos na plataforma Xenosite, pela Universidade de Medicina de Washington, EUA. Baseado em artigos

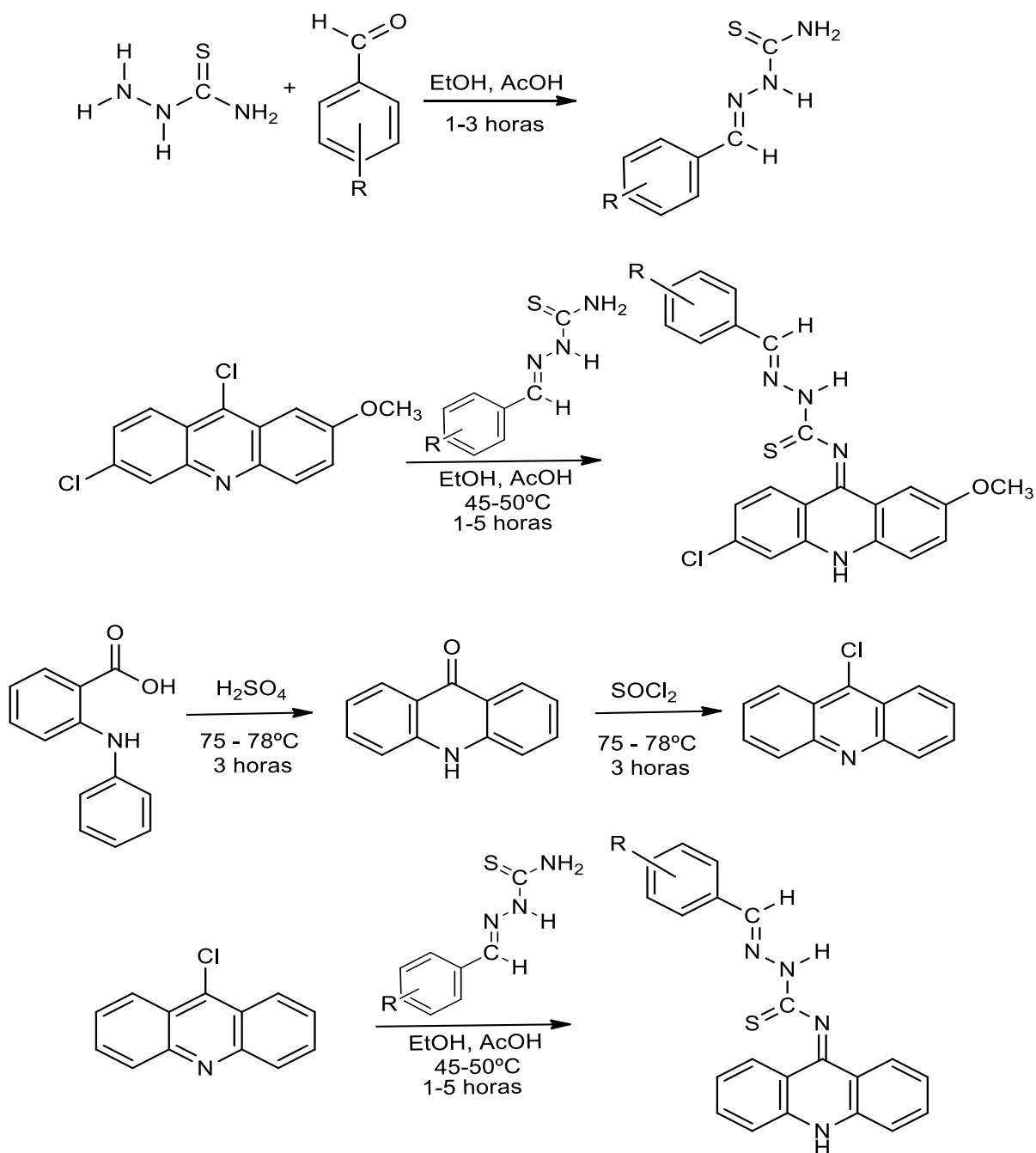
como Zaretski, Matlock e Swamidass (2013) e Dang et al. (2016), apresenta uma interface que necessita apenas que sua estrutura esteja no formato *smiles*, formato este gerado pelo ChemDraw Ultra 12.0.

## 4.2 Metodologias da síntese dos compostos

A rota sintética empregada para a obtenção dos derivados ACRIDÍNICOS, foi uma via convergente, onde se realizou a síntese dos intermediários. Núcleos: a 9-cloroacridina, um dos núcleos acridínicos utilizados, foi sintetizado e caracterizado, sendo assim um dos objetivos propostos; o segundo núcleo utilizado, a 6,9-dicloro-2-metoxiacridina, foi adquirido comercialmente na SIGMA aldrich. Os reagentes usados foram os aldeídos aromáticos, como também a tiossemicarbazida, os quais foram adquiridos comercialmente na Sigma aldrich. Abaixo estão descritos os esquemas de sínteses dos derivados.

Como descrito anteriormente, o plano de síntese, caracterizou-se pela condensação de derivados tiossemicarbazônicos a dois núcleos acridínicos: I – 9-cloroacridina e II – 6,9-dicloro-2-metoxiacridina. No esquema 3 demonstra-se o delineamento do estudo para os novos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos.

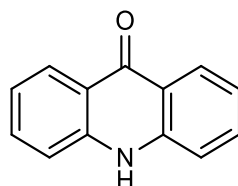
**Esquema 3** – Obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos-acridinícos.



R = I - H; II - Cl; III -  $\text{OCH}_3$ ; IV - 2,4 Cl; V -  $\text{NO}_2$ ; VI -  $\text{CH}_3$

Fonte: Próprio autor.

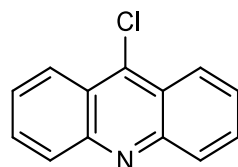
#### 4.2.1 Síntese da acridona



Para síntese da acridona, foram pesados 2,0000 g (0,0094 mols) do ácido *N*-fenilntranilínico e 10 mL de ácido sulfúrico, adicionados a um balão de 125 mL. A mistura foi aquecida a uma temperatura de 75 - 78°C, durante 4 horas. A solução resultante foi tratada com gelo de água destilada, forçando a precipitação por choque térmico. O produto obtido se apresentou na forma de cristais amorfos amarelos tendo sua faixa de fusão entre 115-118 °C e rendimento de 87 % podendo ser considerado excelente.

Para a síntese da acridona se buscou uma otimização da rota sintética proposta na literatura, com intuito de atender as orientações da química verde de reduzir o custo, a quantidade de reagentes e as suas etapas. Nessa nova rota, eliminou-se o uso do solvente acetato de etila para extração do produto na síntese, como também o uso do equipamento para extração desse acetato (rotoevaporador).

#### 4.2.2 Síntese da 9-cloro acridina



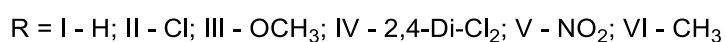
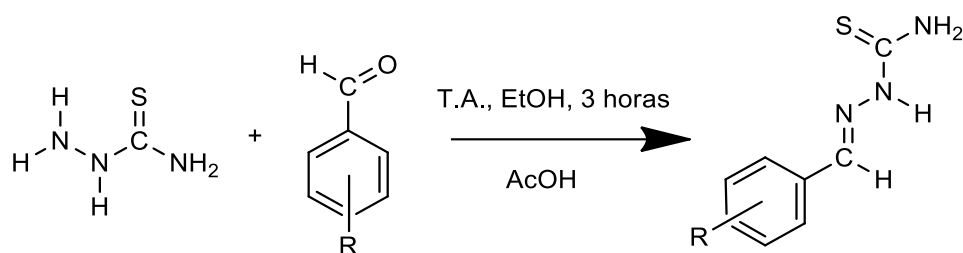
Em um balão de 125 mL foi adicionado 1,000 g (0,0051 mols) da acridona na presença de 7 mL de SOCl<sub>2</sub>, com adição de 3 gotas de *N-N* dimetilformamida sob agitação magnética, em refluxo de 75-78 °C, durante aproximadamente 4 horas. Realizando uma microextração, finalizando apenas essa alíquota, pode-se afirmar por CCD que, após esse tempo todo o produto de partida já havia sido consumido. A solução resultante foi tratada com uma mistura de gelo/clorofórmio 1:1, com objetivo de neutralizar o HCl formado no meio reacional, consequentemente elevando o pH, e extrair a 9-cloroacridina na fase do clorofórmio. Em seguida, rotoevaporada, obteve-se a 9-cloroacridina. O produto obtido se apresentou na forma de cristais amorfos vermelho-alaranjado tendo sua faixa de fusão entre 122-124 °C e rendimento de 80,26%.

A síntese do núcleo acridínico não substituído mostrou-se complicada para as condições dos reagentes disponíveis. Metodologias elucidadas na literatura com o uso do cloreto de fosforila ( $\text{POCl}_3$ ), descreviam uma reação melindrosa, mas com resultados de purezas expressivos, destaca-se a tentativa de compra desse reagente por meio da UEPB, porém a mesma não foi concretizada. A falta deste reagente fez com que utiliza-se o cloreto de tionila ( $\text{SOCl}_2$ ). A reação sempre se encaminhava para um produto puro, porém a medida que se finalizava, o composto parcialmente se hidrolisava e formava novamente a acridona. A necessidade de reações em ambientes inertes e com solventes secos se faziam necessárias, porém não foram encontradas formas de realizar a reação nestas condições. Foram feitas algumas mudanças na metodologia, com objetivo de sintetizar com máximo de pureza a 9-cloroacridina, porém, com melhoras pouco expressivas nos resultados. A última tentativa se deu mediante a finalização por uma extração em clorofórmio, tendo em vista que a 9-cloroacridina tem um caráter forte apolar, a extração melhorou o produto formado, mas os resultados de correlações desde núcleo não chegaram a tempo da dissertação.

#### 4.2.3 Síntese dos intermediários tiossemicarbazônicos.

Apresenta-se o esquema (4) reacional para a síntese dos intermediários essenciais no nosso plano, destacamos a importância do Método de Topliss na definição dos substituintes.

**Esquema 4** – Obtenção dos intermediários tiossemicarbazônicos.



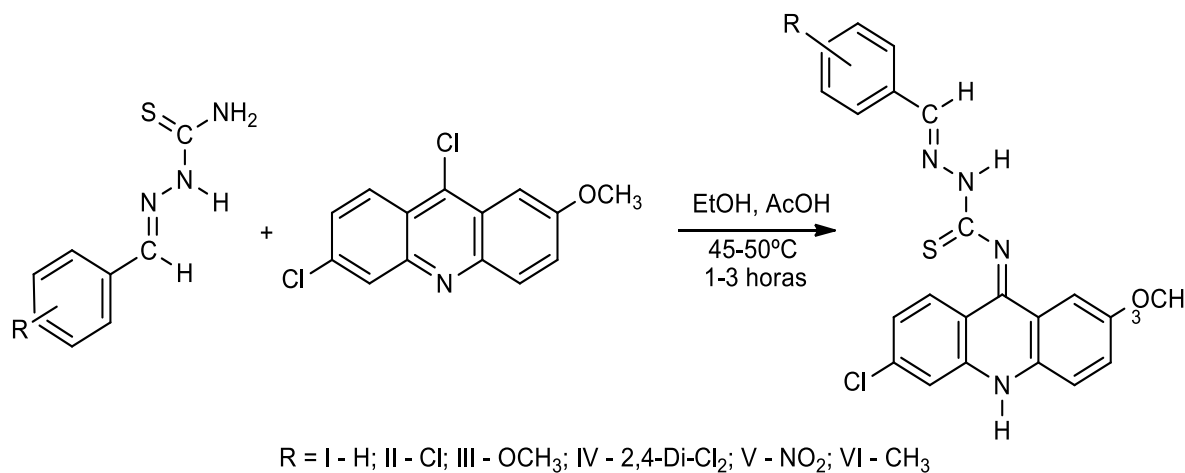
Fonte: Próprio autor.

Em um balão de 50 mL foram adicionados 0,2000 g (0,0022 mols) de tiossemicarbazida com quantidades na proporção de 1:1 do benzaldeído utilizado, na presença de 10 mL de etanol, com 10 gotas de ácido acético, em temperatura ambiente, com aquecimento apenas na inicialização da síntese, tendo como objetivo o aumento da velocidade de solubilização da

tiossemicarbazida, com agitação e tempo reacional de mais ou menos 3 horas. Após acompanhamento com CCD, confirmaram-se as finalizações de todas as sínteses realizadas nesta etapa. Para extrações e obtenções dos cristais desejados, foram adicionados ao meio reacional água destilada gelada, posteriormente filtrados. Após todo o processo de filtração, obtiveram-se rendimentos de 64 a 91 %. Os cristais apresentaram-se em sua maioria na coloração branca, exceto o GL-05, e suas faixas de fusão variaram de 1- 3 °C.

#### 4.2.4 Síntese dos derivados tiossemicarbazônicos da acridina substituída.

**Esquema 5** – Obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos-acridinícos GLDL.



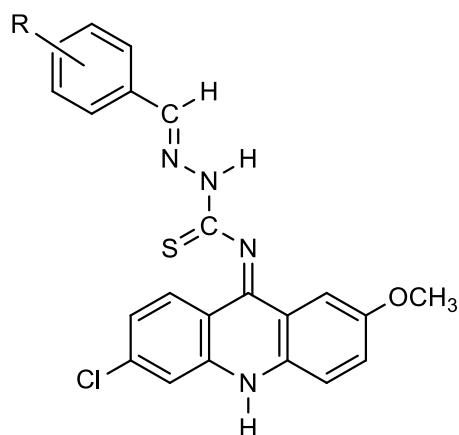
Fonte: Próprio autor.

Em um balão de 50 mL foram adicionados 0,2000 g (0,0007 mols) de 6,9-dicloro-2-metoxiacridina com os intermediários tiossemicarbazônicos obtidos, como demonstrado no esquema anterior, na proporção de 1:1 na presença de 10 mL de etanol, com 10 gotas de ácido acético, em temperatura entre 45 – 50 °C, com refluxo, agitação e tempo reacional que variou de 2 – 4 horas. Após acompanhamento com CCD, confirmaram-se as formações dos produtos, como também o ponto final das reações. Para extrações e obtenções dos cristais desejados, foram adicionados ao meio reacional água destilada gelada, posteriormente filtrados. Obtiveram-se rendimentos entre 74 a 96 %, confirmando ótimos resultados para esta rota sintética. Os cristais apresentaram-se em colorações variáveis entre tons laranja e amarelo, tendo faixas de fusão variando de 1 a 3 °C, sendo a menor temperatura para o composto GLDL-03 de 149°C e a maior para o GLDL-05 de 202°C.

Para afirmações dos produtos sintetizados da série GLDL foram realizados IV, RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e espectrometria de massas.

A tabela 3 apresenta as nomenclaturas dos compostos segundo a IUPAC.



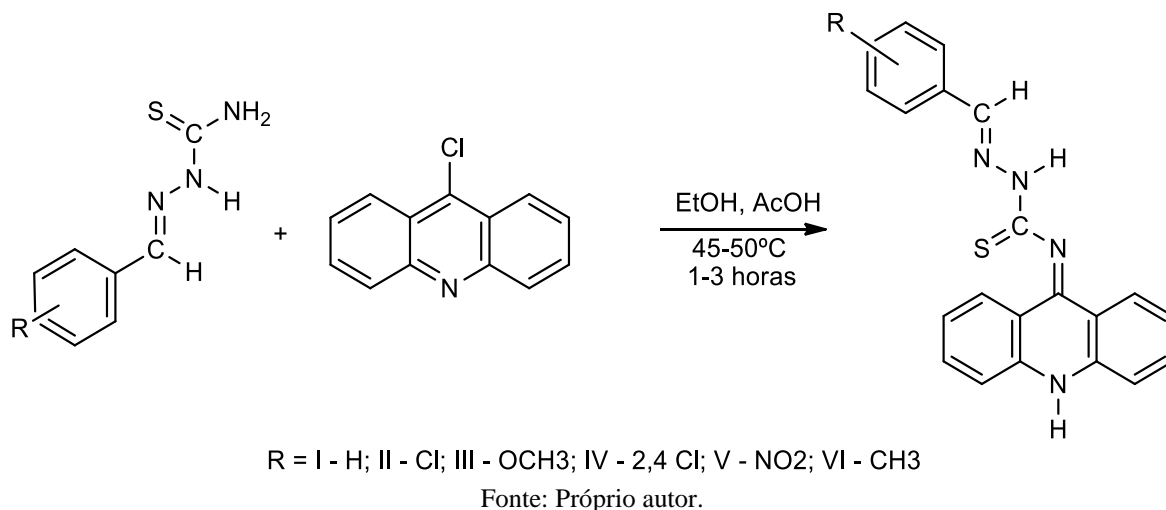
**Tabela 3** – Nomenclatura dos compostos da série GLDL.

Radical	Nomenclatura IUPAC	Código
H	(2 <i>E</i> , <i>NE</i> )-2-benzilideno- <i>N</i> -(6-cloro-2-metoxiacridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)hidrazinacarbotioamida	GLDL-01
4-Cl	(2 <i>E</i> , <i>NE</i> )- <i>N</i> -(6-cloro-2-metoxiacridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-(4-clorobenzilideno)hidrazinacarbotioamida	GLDL-02
4-OCH <sub>3</sub>	(2 <i>E</i> , <i>NE</i> )- <i>N</i> -(6-cloro-2-metoxiacridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-(4-metoxibenzilideno)hidrazinacarbotioamida	GLDL-03
2,4-Di-Cl <sub>2</sub>	(2 <i>E</i> , <i>NE</i> )- <i>N</i> -(6-cloro-2-metoxiacridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-(2,4-diclorobenzilideno)hidrazinacarbotioamida	GLDL-04
4-NO <sub>2</sub>	(2 <i>E</i> , <i>NE</i> )- <i>N</i> -(6-cloro-2-metoxiacridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-(4-nitrobenzilideno)hidrazinacarbotioamida	GLDL-05
4-CH <sub>3</sub>	(2 <i>E</i> , <i>NE</i> )- <i>N</i> -(6-cloro-2-metoxiacridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-(4-metilbenzilideno)hidrazinacarbotioamida	GLDL-06

Fonte: Próprio autor.

#### 4.2.5 Síntese dos derivados tiossemicarbazônicos da acridina não substituída.

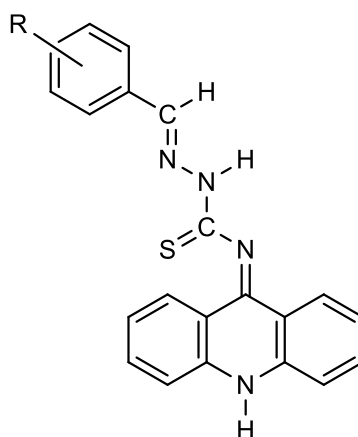
**Esquema 6** – Obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos GLCL.



Em um balão de 50 mL foram adicionados 0,1000 g (0,0005 mols) de 9-cloroacridina com os intermediários tiossemicarbazônicos obtidos, como demonstrado no anteriormente, na proporção de 1:1 na presença de 10 mL de etanol, com 10 gotas de ácido acético, em temperatura entre 45 – 50 °C, com refluxo, agitação e tempo reacional que variou de 1 – 3 horas. Após acompanhamento com CCD, confirmaram-se as formações dos produtos, como também o ponto final das reações. Para extrações e obtenções dos cristais desejados, foram adicionados ao meio reacional água destilada gelada, posteriormente filtrados. Obtiveram-se rendimentos entre 74 a 96 %, confirmando ótimos resultados para esta rota sintética. Os cristais apresentaram-se em colorações variáveis entre tons laranja e amarelo, tendo faixas de fusão variando de 1 a 4 °C, sendo o menor ponto de fusão para o composto GLCL-04 de 164°C e o maior para o GLCL-03 de 239°C.

Para afirmações dos produtos sintetizados da série GLCL foram realizados IV, RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e espectrometria de massas.

A tabela 4 apresenta as nomenclaturas dos compostos segundo a IUPAC.

**Tabela 4** – Nomenclatura dos compostos da série GLCL.

Radical	Nomenclatura IUPAC	Código
H	( <i>E</i> )- <i>N</i> -(acridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-benzilideno hidrazinacarbotoamida	GLCL-01
4-Cl	( <i>E</i> )- <i>N</i> -(acridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-(4-clorobenzilideno) hidrazinacarbotoamida	GLCL-02
4-OCH <sub>3</sub>	( <i>E</i> )- <i>N</i> -(acridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-(4-metoxibenzilideno) hidrazinacarbotoamida	GLCL-03
2,4-Di-Cl	( <i>E</i> )- <i>N</i> -(acridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-(2,4-diclorobenzilideno) hidrazinacarbotoamida	GLCL-04
4-NO <sub>2</sub>	( <i>E</i> )- <i>N</i> -(acridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-(4-nitrobenzilideno) hidrazinacarbotoamida	GLCL-05
4-CH <sub>3</sub>	( <i>E</i> )- <i>N</i> -(acridin-9(10 <i>H</i> )-ilideno)-2-(4-metilbenzilideno) hidrazinacarbotoamida	GLCL-06

Fonte: Próprio autor.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 *Docking* molecular

Após inúmeras discussões sobre a importância desta pesquisa para o tratamento do câncer e os precursores que fundamentaram a mesma, inicia-se as discussões e ressalvas sobre os dados obtidos e avaliados. Como discutido, seguindo um planejamento racional para o descobrimento de novos fármacos, temos o estudo de *docking*.

#### 5.1.1 *Docking* molecular da interação dos derivados sintetizados com o DNA co-cristalizado com Topo II $\alpha$ .

A etiologia de inúmeras doenças passa pela desregulação da atividade enzimática no organismo. Inflamação, distúrbios metabólicos, problemas cardiovasculares e câncer são algumas das doenças correlacionadas com este problema. A modulação da função enzimática por pequenas moléculas bioativas é uma estratégia terapêutica frequentemente utilizada, sendo atribuída a essas moléculas atividades de inibição enzimática (ZARZYCKA et al., 2016).

A partir da descoberta de fármacos potentes que tem como alvo a topoisomerase II, o etoposido e a doxorubicina, estudos moleculares destacaram os aspectos biológicos desta enzima (LIU, 1989). Estudos realizados por pesquisadores na década de 80, mostraram que a maioria das drogas clinicamente ativas que têm como alvo a topo II geram danos no DNA (CHEN et al., 1984; TEWEY et al., 1984; POMMIER et al., 1985).

Seguindo a metodologia descrita, foram criados complexos formados pelo fármaco, enzima (Topo II $\alpha$ ) e o DNA, buscando respostas e novas interações com os derivados utilizados. Importante frisar que, o meio biológico pode ser responsável por surpresas nos resultados de atividades *in vitro* e *in vivo* dos análogos sintetizados. A partir de estudos realizados por Wang et al., (2017), a possibilidade de estudos com este complexo topo-DNA fora possível, eles analisaram a efetividade destas interações, sintetizaram um composto de organoplatina, onde o mesmo conseguiu estabilizar um complexo ternário de fármaco-topoII-DNA, e disponibilizaram este complexo com o etoposido no site pesquisa RCSB PDB, com código 5GWK (WANG, et al., 2017).

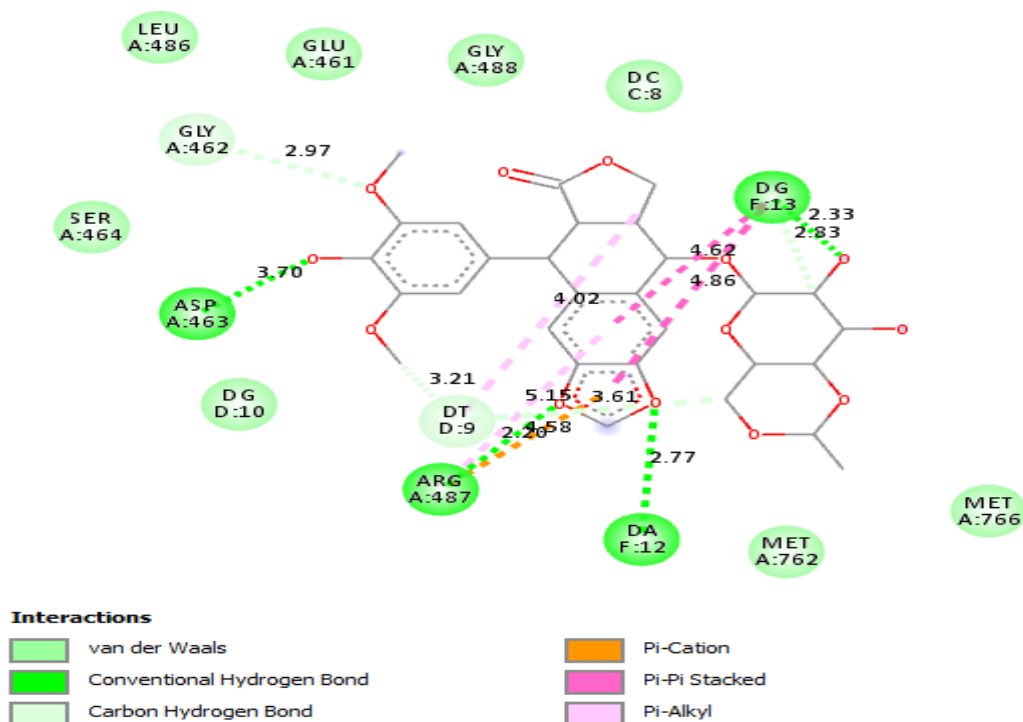
A Tabela 5 apresenta os valores encontrados para as propriedades do complexo enzima-fármaco-DNA no estudo do *docking* molecular.

**TABELA 5** - *Docking* molecular da interação com DNA-Topo II $\alpha$  (5GWK).

COMPOSTO	ENERGIA LIVRE DE LIGAÇÃO ( $\Delta G$ ) (Kcal/mol)	CONSTANTE DE INIBIÇÃO ESTIMADA ( $K_i$ ) (nM)
<b>GLDL-01</b>	-9,76	70,67
<b>GLDL-02</b>	-10,26	30,26
<b>GLDL-03</b>	-9,92	53,75
<b>GLDL-04</b>	-10,70	14,35
<b>GLDL-05</b>	-12,42	0,78
<b>GLDL-06</b>	-10,13	37,29
<b>GLCL-01</b>	-9,19	183,87
<b>GLCL-02</b>	-9,50	109,64
<b>GLCL-03</b>	-9,33	144,64
<b>GLCL-04</b>	-9,96	49,88
<b>GLCL-05</b>	-11,06	7,82
<b>GLCL-06</b>	-9,52	105,46
<b>ETOPOSIDO</b>	-11,77	2,37

O etoposido foi utilizado como ligante de referência para este estudo, apresentando energia de ligação ( $\Delta G$ ) do complexo de -11,77 Kcal/mol. Este fármaco obteve importantes interações com a Topo II $\alpha$  e o DNA (Figura 13), os quais destacamos os resíduos de aminoácidos ASP 463 e ARG 487 através de pontes de hidrogênio, GLY 488 por interação de Van der Waals, GLY 462 por ligação Pi-doador de hidrogênio e MET 766 por Pi-alquil, referentes a Topo II $\alpha$ . Já para as interações com o DNA se destacam as bases Adenina 12 e Guanina 13 através de pontes de hidrogênio, Citosina 8 e Guanina 10 por ligação de Van der Waals.

**Figura 13** – Docking molecular do etoposido com o complexo enzima-DNA.

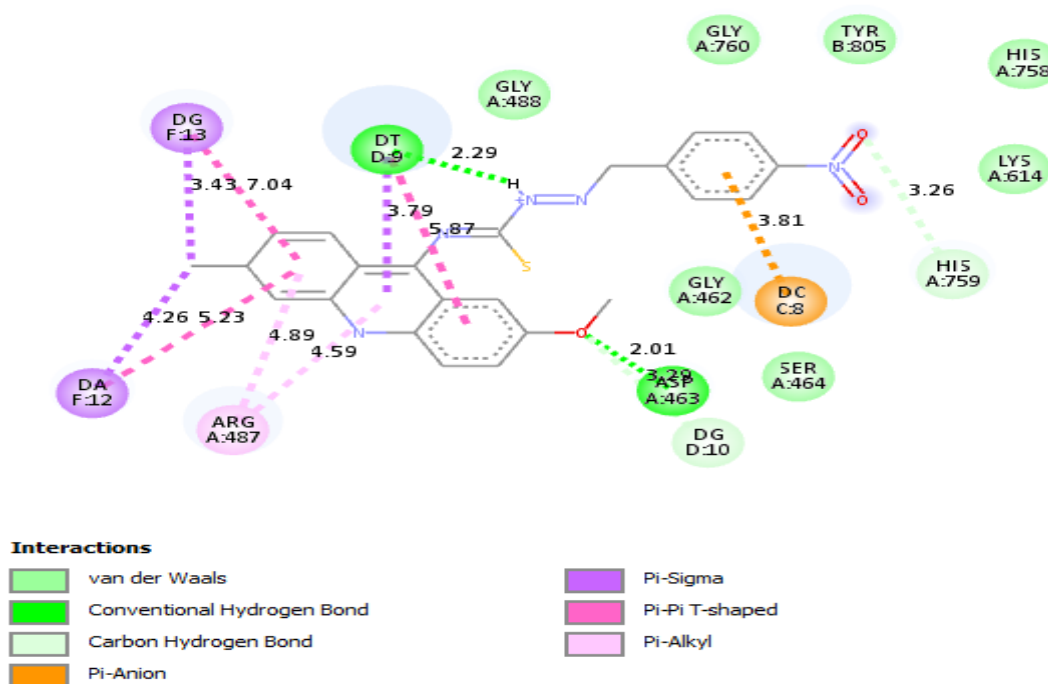


Fonte: Próprio autor.

De acordo com a tabela 5 o composto GLDL05 apresentou menor energia livre de ligação,  $\Delta G = -12,42$  kcal/mol, demonstrando maior afinidade pelo complexo DNA-Topo II $\alpha$ , que, o Etoposido,  $\Delta G = -11,77$  kcal/mol. Analisando todas as estruturas e suas afinidades ao alvo, os compostos em geral, que apresentaram maiores interações foram os da série GLDL, que possuem substituições no núcleo acridínico, acometendo aos mesmos maiores possibilidades de interações com o receptor.

Analisando as interações com os resíduos de aminoácidos o composto GLDL05 (Figura 14) foi o que mais interagiu com o complexo DNA-Topo II com ligações importantes com os resíduos de aminoácidos através de interações de Van der Waals: GLY 488, GLY 760, GLY 462, HIS 758, LYS 614, SER 464, TYR 805; interações carbono-hidrogênio: HIS 759; interações  $\pi$ -alquil: ARG 487; e pontes de hidrogênio através do ASP 463. Também ocorreram interações com as bases nitrogenadas do DNA como: Timina 9, Guanina 13 e Adenina 12 por interação  $\pi$ - $\sigma$ ,  $\pi$ - $\pi$  e pontes de hidrogênio; Citosina 8 por interação  $\pi$ -anion. Apenas as interações com o MET 766 e Guanina 10, não foram contempladas, comparadas com o etoposido, porém, ligações com a Timina 9 e vários aminoácidos foram acrescentadas ao composto GLDL-05 no *docking* com o complexo DNA - Topo II.

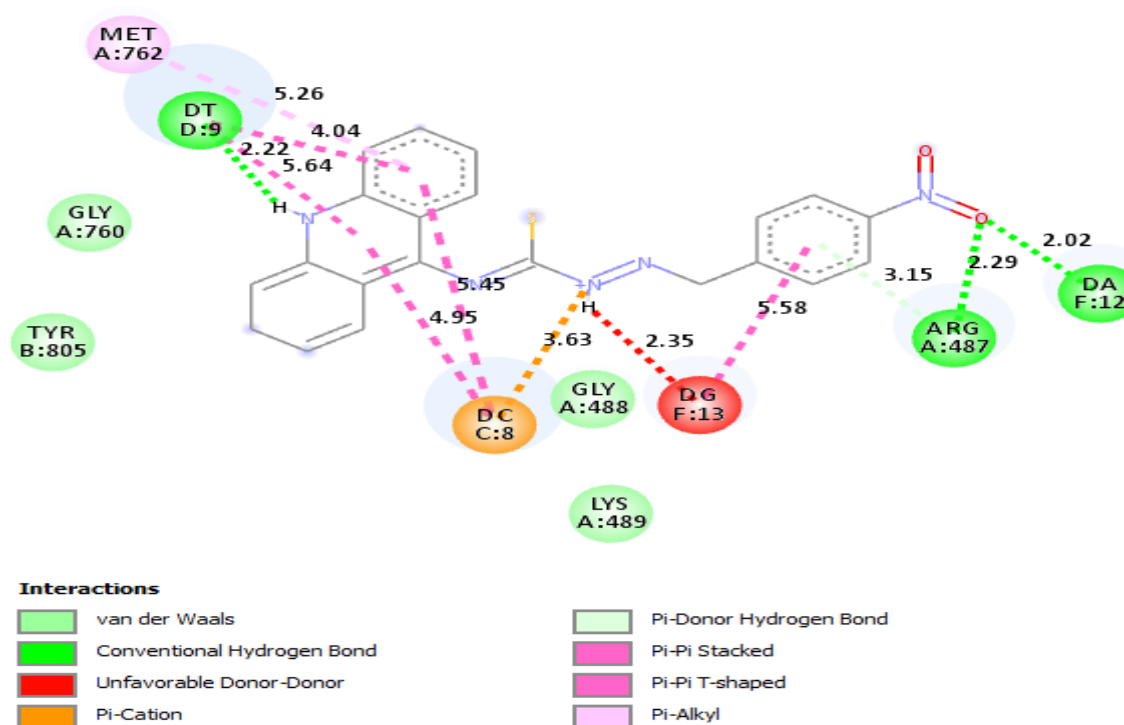
**Figura 14** – Docking molecular do composto GLDL-05 com o complexo enzima-DNA.



Fonte: Próprio autor.

Analisando as interações com os resíduos de aminoácidos o composto GLDL-05 (Figura 15) foi o que mais interagiu com o complexo DNA-Topo II da série GLDL com ligações importantes com os resíduos de aminoácidos através de interações de Van der Waals: GLY 488, GLY 760, LYS 489, TYR 805; interações  $\pi$ -alkyl: MET 762; e pontes de hidrogênio através do ARG 487. Também ocorreram interações com as bases nitrogenadas do DNA como: Timina 9, Guanina 13 e Adenina 12 por interação  $\pi$ - $\pi$  e pontes de hidrogênio; Citosina 8 por interação  $\pi$ -cátion. Destaca-se que o núcleo acridínico não substituído perdeu algumas interações importantes com as bases nitrogenadas do DNA, como: a Citosina e Guanina que os substituintes potencializaram na série GLDL.

**Figura 15** – *Docking* molecular do composto GLCL-05 com o complexo enzima-DNA.

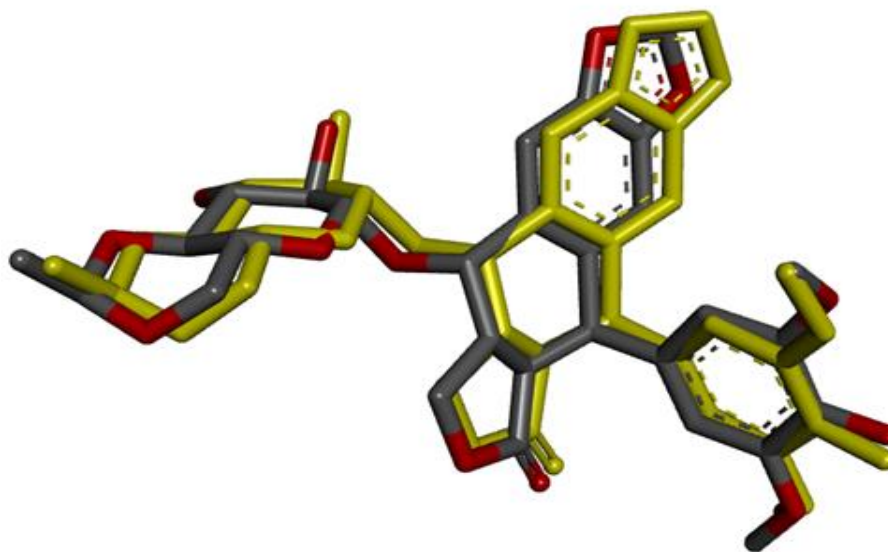


Fonte: Próprio autor.

Abordagens *in silico* tais como acoplamento molecular fornecem maneiras rápidas para avaliar prováveis compostos de ligação com alvo, interações e possíveis potencialidades, e está sendo amplamente praticada no desenvolvimento e planejamento de novos fármacos (STARK; POWERS, 2012). A simulação de um redocking tem por objetivo recuperar, a partir de uma simulação computacional, a posição original de um ligante presente em uma estrutura cristalográfica de um complexo binário enzima-ligante. Avalia os parâmetros de encaixe especificados no arquivo de entrada para o método de encaixe são aceitáveis e capazes de recuperar a estrutura e as interações de um complexo conhecido, é um dos tipos de validação para este estudo computacional. Na figura 16, comparamos a conformação e estrutura extraídos do complexo 5GWK (complexo topoII-DNA encontrados no PDB) em destaque na cor amarela, com a conformação encontrada após o *redocking* desta estrutura no complexo topoII-DNA, na cor cinza. Este estudo define o chamado *grid box*, que seriam as posições espaciais utilizadas para acoplamento das novas estruturas no alvo (MORRIS et al., 2009).



**Figura 16** – Redocking molecular do etoposido comparado com o extraído do PDB.



Fonte: Próprio autor.

### 5.1.2 Docking molecular da interação dos derivados sintetizados com o DNA.

A ideia no planejamento de fármacos com potencial interação ao DNA surge do conhecimento sobre os elementos estruturais responsáveis pela ligação e estabilização do complexo fármaco-DNA. Uma vez estudados esses parâmetros, novos análogos são propícios a síntese, tendo em vista a sua potencial seletividade e afinidade. Seguindo com a metodologia proposta, foram analisadas as possíveis interações dos análogos sintetizados ao DNA, buscando uma elucidação completa de todas as possíveis interações, *in silico*, que os derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos poderiam fazer, utilizando como fármaco referência o etoposido.

A Tabela 6 apresenta os valores encontrados para as propriedades do complexo fármaco-DNA no estudo do *docking* molecular.

TABELA 6 - *Docking* molecular da interação com DNA.

COMPOSTO	ENERGIA LIVRE DE LIGAÇÃO ( $\Delta G$ ) (Kcal/mol)	CONSTANTE DE INIBIÇÃO ESTIMADA ( $K_i$ ) (nM)
<b>GLDL01</b>	-11,18	6,40
<b>GLDL02</b>	-11,79	2,30
<b>GLDL03</b>	-11,60	3,12
<b>GLDL04</b>	-11,76	2,39
<b>GLDL05</b>	-13,42	0,15
<b>GLDL06</b>	-11,28	5,42
<b>GLCL01</b>	-10,33	26,63
<b>GLCL02</b>	-10,66	15,22
<b>GLCL03</b>	-10,23	31,91
<b>GLCL04</b>	-10,75	13,11
<b>GLCL05</b>	-11,88	1,94
<b>GLCL06</b>	-10,87	10,72
<b>ETOPOSIDO</b>	-10,11	38,74

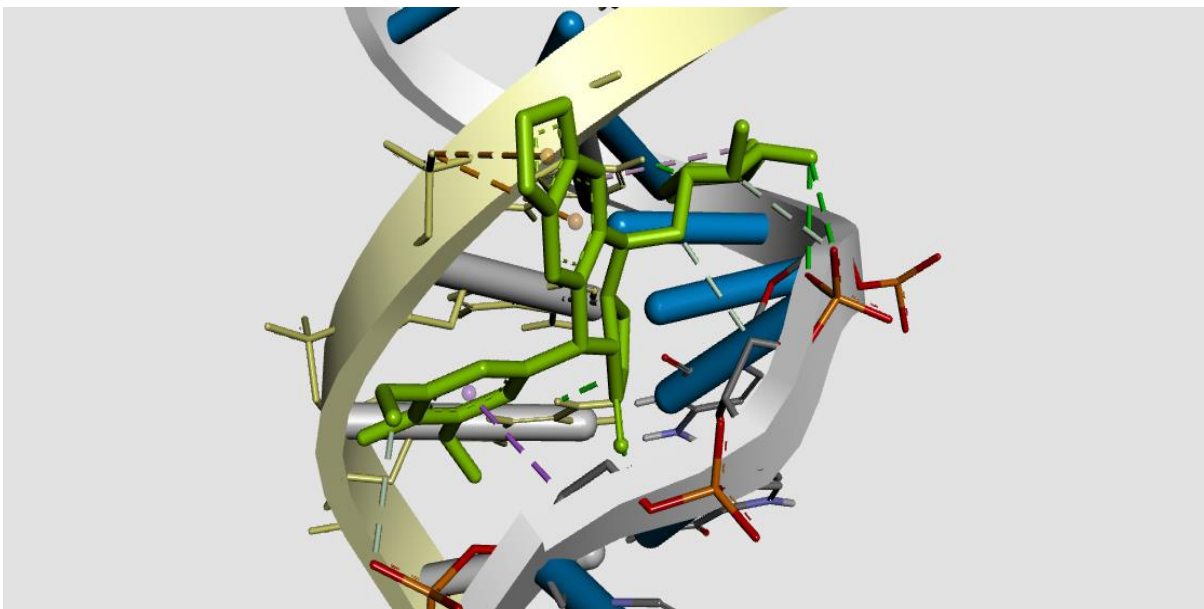
Fonte: Próprio autor.

Todos os compostos analisados apresentaram menores energias de ligação que o etoposido, controle positivo, podendo estar associado ao maior perfil intercalante dos núcleos acridínicos em comparação ao referencial. Na figura 17, percebe-se o impedimento estérico que a molécula do etoposido sofre no processo de intercalação, destaca-se ainda que possivelmente sua forte atração eletrostática favoreça sua aproximação com a dupla fita do DNA, o número de interações do etoposido com o DNA ainda assim é muito maior que a dos demais compostos, porém, a força como essa interação se apresenta é menor, o que justificaria sua menor energia livre de ligação ( $\Delta G$ ) para com os demais compostos estudados.

Na figura 18 e 19, que trazem a imagem do docking da GLDL-05 e GLCL-05 intercalados ao DNA respectivamente, destaca-se a maior interação com as bases nitrogenadas da dupla fita, o que justificaria suas menores energias de ligação em relação ao etoposido.

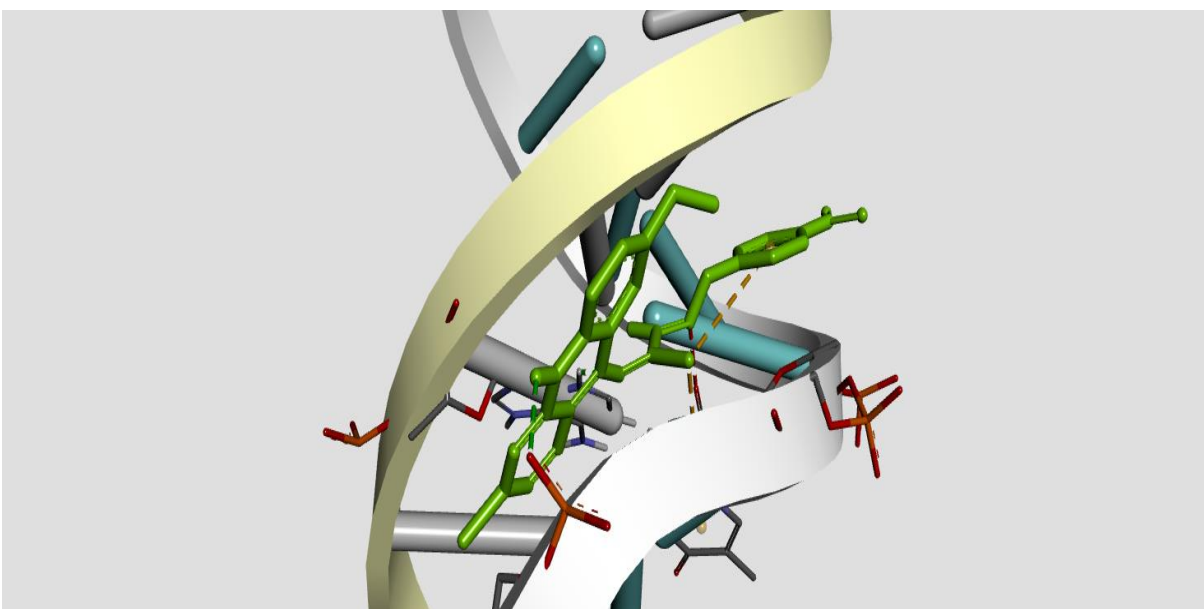
Novamente os compostos com radicais nitro, se mostraram melhores no estudo *in silico*, a eletronegatividade deste radical deve ser considerada na proposta de novos fármacos.

**Figura 17** – *Docking* Molecular do composto etoposido com o DNA.



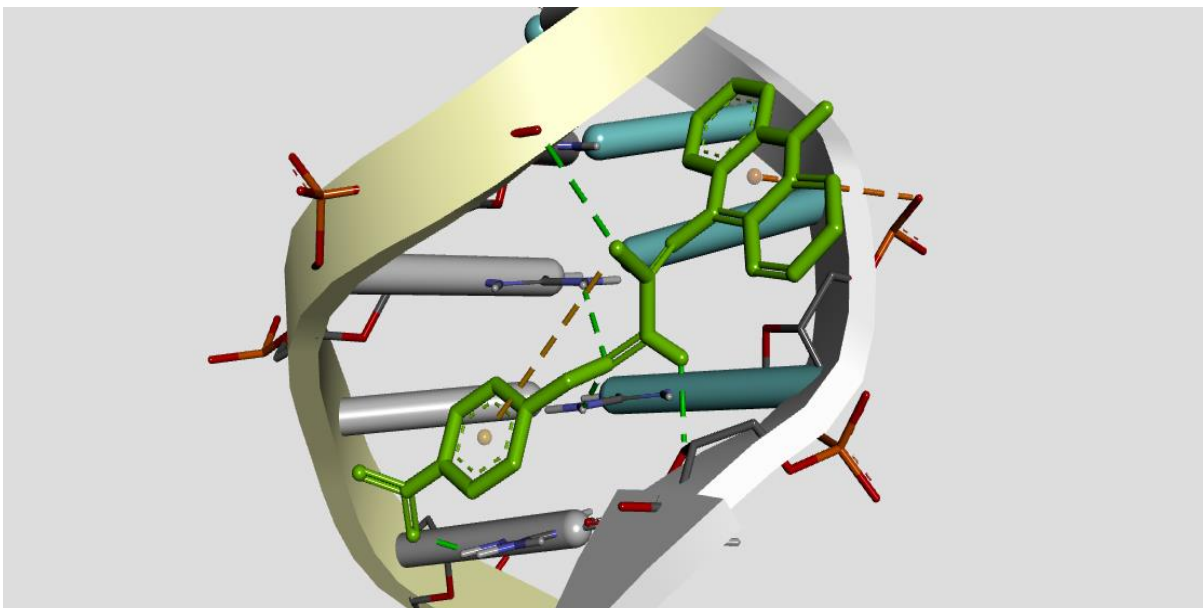
Fonte: autor próprio.

**Figura 18** – *Docking* Molecular do composto GLDL-05 com o DNA.



Fonte: autor próprio.

**Figura 19** – *Docking* Molecular do composto GLCL-05 com o DNA.



Fonte: autor próprio.

O estudo do docking, como descrito no referencial, serve como base para potencializar planejamentos de novos fármacos, com um aspecto mais qualitativo. Viabiliza a otimização no desenvolvimento de fármacos com propriedades mais direcionadas ao alvo, tendo em vista a possibilidade de comparação com substâncias que já se encontram na fase clínica. Os compostos estudados apresentaram bons resultados de interação tanto com o complexo DNA-Topo II, quanto com a dupla fita do DNA, esse mecanismo de ação se confirmado, pode favorecer a ideia de potência e seletividade para estes novos derivados, visto que, o etoposídeo, apresenta maior potencialidade frente a Topo II.

## 5.2 Síntese e mecanismo reacional dos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos.

Como pode se observar na tabela 7, os intermediários sintetizados tiossemicarbazônicos tiveram rendimentos, variando de 64% a 91%, e pontos de fusão com taxa de variação de 1 – 3 °C, que afirmam a qualidade dos intermediários sintéticos, colaborando para um prosseguimento na síntese com reagentes puros e viabilizando a sua continuidade, visto que, em reações que ocorrem com rendimentos baixos a rota sintética é questionada, e pode ser descartada.

**Tabela 7** - Características físico-químicas dos intermediários.

<b>Composto</b>	<b>Aparência</b>	<b>PM</b>	<b>Rend %</b>	<b>PF(°C)</b>	<b>FM</b>	<b>LogP</b>
<b>GL-01</b>	branco	179,246	91,10	163-165	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> S	1,70
<b>GL-02</b>	branco	356,452	85,60	230-233	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>3</sub> S	2,26
<b>GL-03</b>	branco	209,272	82,84	190-192	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> OS	1,57
<b>GL-04</b>	Branco-creme	248,136	72,74	234-236	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> S	2,81
<b>GL-05</b>	amarelo	224,243	66,00	264-265	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	0,99
<b>GL-06</b>	branco	193,273	64,77	194-196	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> S	2,19
<b>Acridona</b>	Amarelo	195,07	87,00	115-118	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> NO	2,67
<b>9-cloro</b>	Marrom	213,667	75,30	199-200	C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> ClN	4,11

A Tabela 8 apresenta as principais características físico-químicas dos novos derivados acridínicos sintetizados a partir da reação de dois núcleos acridínicos, a 9-cloroacridina e a 6,9-dicloro-2-metoxiacridina com os compostos derivados da tiossemicarbazida acoplados com os referidos benzaldeídos substituídos, apresentados na tabela anterior, podendo-se identificar rendimentos variando entre 60% a 96%.

**Tabela 8** - Características físico-químicas dos derivados.

Composto	Aparência	PM	Rend %	PF(°C)	Rf (Hexano/ AcOEt)	FM	LogP
<b>GLDL-01</b>	laranja – amarelado	420,923	74,35	193-195	0,55 <sup>c</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub> OS	5,82
<b>GLDL-02</b>	Laranja	455,368	80,32	185-188	0,41 <sup>c</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub> OS	6,38
<b>GLDL-03</b>	laranja - avermelhado	450,949	96,30	149-151	0,48 <sup>c</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	5,69
<b>GLDL-04</b>	Amarelo	489,813	93,70	187-189	0,52 <sup>c</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>4</sub> OS	6,94
<b>GLDL-05</b>	laranja - avermelhado	465,920	91,64	201-202	0,65 <sup>b</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S	5,18
<b>GLDL-06</b>	laranja - avermelhado	434,950	95,85	155-157	0,48 <sup>c</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>4</sub> OS	6,31
<b>GLCL-01</b>	laranja – amarelado	356,452	76,50	279-280	0,43 <sup>c</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> S	5,39
<b>GLCL-02</b>	laranja – amarelado	390,897	66,70	184-186	0,47 <sup>c</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>4</sub> S	5,95
<b>GLCL-03</b>	Laranja	386,478	62,50	238-239	0,60 <sup>b</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> OS	5,26
<b>GLCL-04</b>	Laranja	425,342	95,48	164-165	0,61 <sup>b</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub> S	6,5
<b>GLCL-05</b>	Laranja	401,449	84,62	199-200	0,61 <sup>b</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S	4,43
<b>GLCL-06</b>	Laranja	370,479	60,55	197-200	0,58 <sup>c</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> S	5,87

**Rf:** a= sistema 7:3; b= sistema 6:4; c = sistema 8:2; d = sistema hexano.

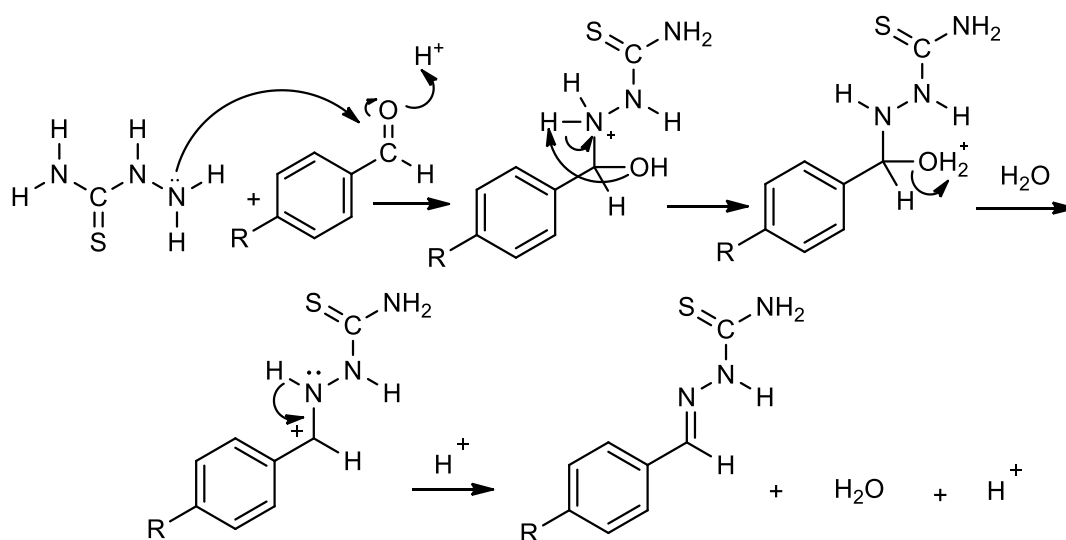
Como se pode observar na tabela 9, os novos compostos foram submetidos à análise de solubilidades a fim de encontrar os seus melhores solventes. Analisou-se a solubilidade em cinco solventes, muito utilizados na síntese e em análises espectroscópicas: acetato de etila, clorofórmio, dimetilsulfóxido (DMSO), metanol e etanol. A solubilidade em água não foi avaliada, visto que como descrito na metodologia, todos os compostos foram precipitados em água, relacionando esse feito a característica lipofílica dos derivados, bem discutida posteriormente.

**Tabela 9** – Solubilidade dos compostos.

Composto	Acetato	Clorofórmio	DMSO	Metanol	Etanol
<b>GLDL-01</b>	PS	OS	S	S	PS
<b>GLDL-02</b>	S	S	S	S	PS
<b>GLDL-03</b>	PS	PS	S	S	PS
<b>GLDL-04</b>	PS	PS	S	S	S
<b>GLDL-05</b>	PS	PS	S	S	PS
<b>GLDL-06</b>	PS	S	S	S	PS
<b>GLCL-01</b>	PS	PS	S	S	PS
<b>GLCL-02</b>	PS	PS	S	S	S
<b>GLCL-03</b>	PS	PS	S	S	PS
<b>GLCL-04</b>	PS	S	S	PS	S
<b>GLCL-05</b>	PS	PS	S	S	PS
<b>GLCL-06</b>	PS	PS	S	S	PS
<b>9-CLORO</b>	IS	PS	S	S	PS

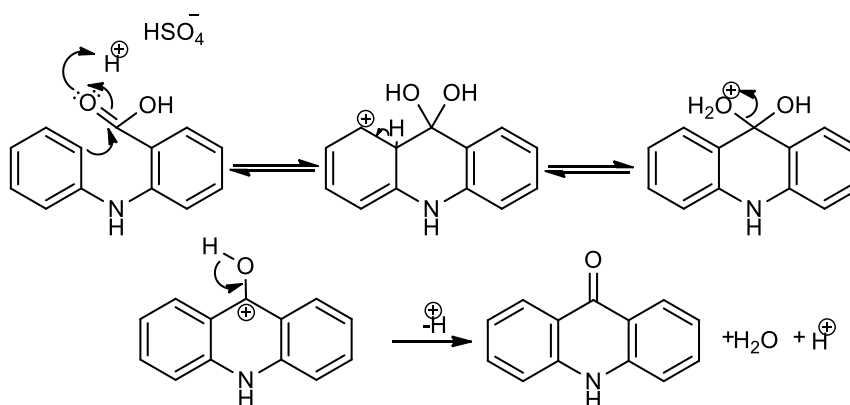
S – Solúvel, PS – Pouco Solúvel, IS Insolúvel.

No esquema 7 demonstra-se o mecanismo reacional da síntese dos intermediários utilizados para obtenção dos derivados tiossemicarbazônicos. Destaca-se a ativação da carbonila com excesso de  $H^+$  no meio, disponibilizado pelo ácido acético adicionado. A medida que ocorre a desestabilização da carbonila, o nitrogênio mais reativo ataca o carbono da carbonila. Logo após um hidrogênio da amina é liberado para suprir a deficiência de elétrons do nitrogênio, o mesmo é capturado pela hidroxila, que com isso ganha estabilidade molecular, desconectando-se da estrutura na forma de água. A estrutura é estabilizada com a formação da imina quando o segundo hidrogênio é liberado, catalisado pelo AcOH.

**Esquema 7** – Mecanismo reacional das etapas para formação dos intermediários.

Fonte: autor próprio.

No esquema 8 demonstra-se o mecanismo reacional da acridona, partindo do ácido N-fenilntranilínico na presença de ácido sulfúrico fumegante, como agente doador de H<sup>+</sup> e facilitador de ciclização, que, favorece um rearranjo intramolecular promovendo a formação da acridona. Este fenômeno na química é conhecido como prototropismo, caracterizado pela troca de prótons dentro da molécula.

**Esquema 8** – Mecanismo reacional da síntese da acridona.

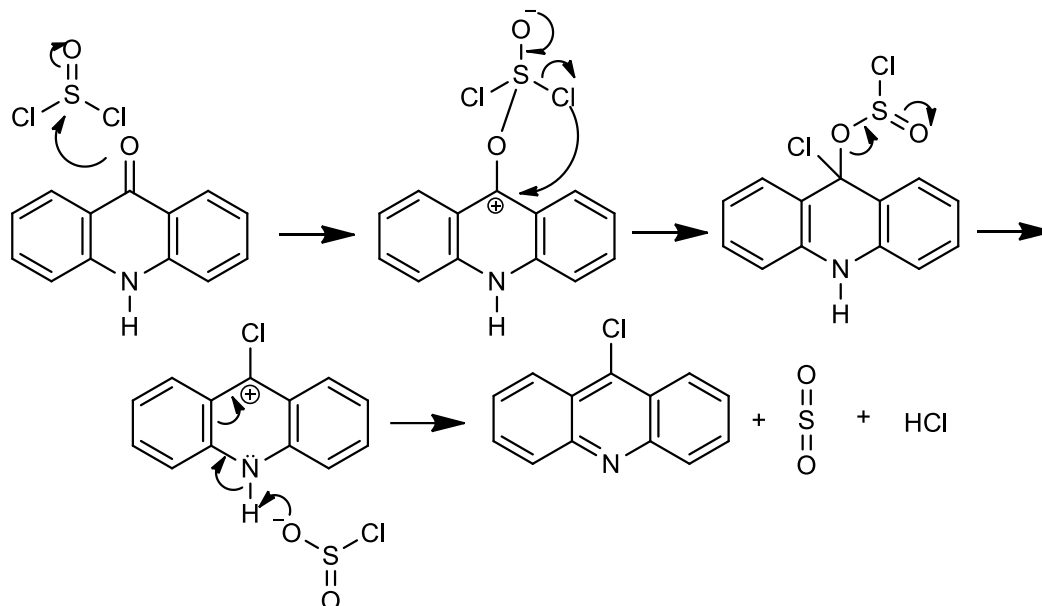
Fonte: autor próprio

O esquema 9 propõe o mecanismo reacional para a síntese da 9-cloroacridina, com a substituição nucleofílica no aromático, na posição 9, favorecida pela catalisador, o cloreto de



tionila, utilizado em excesso nesta reação.

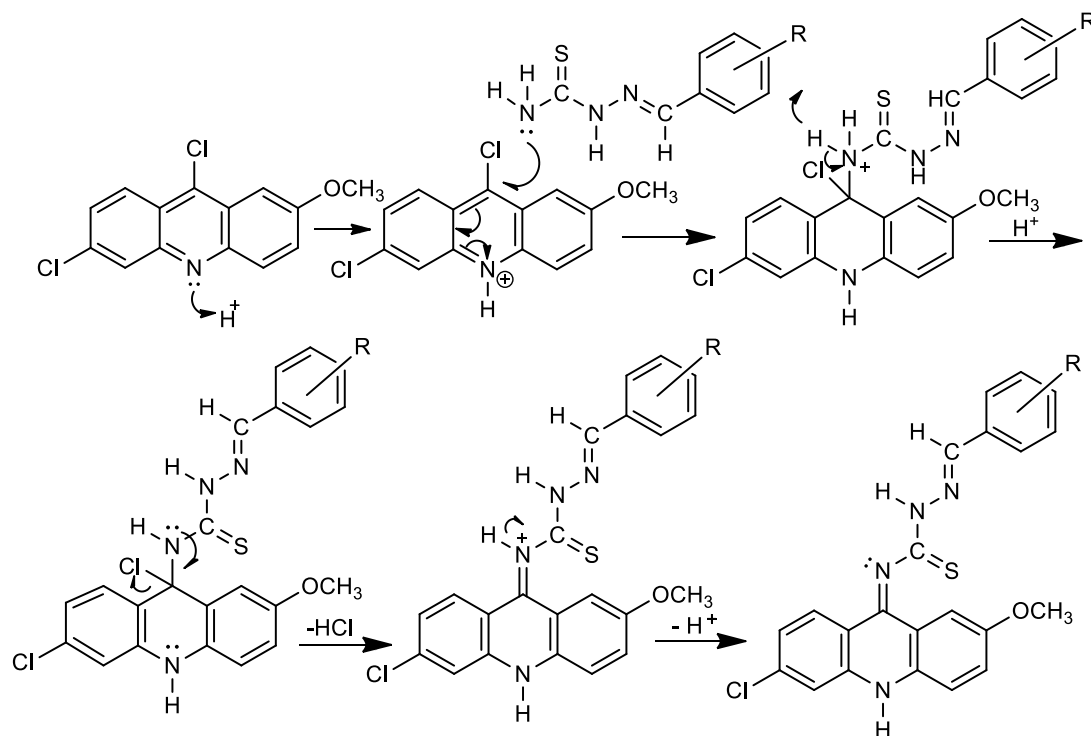
**Esquema 9** – Mecanismo reacional da síntese da 9-cloroacridina.



Fonte: autor próprio

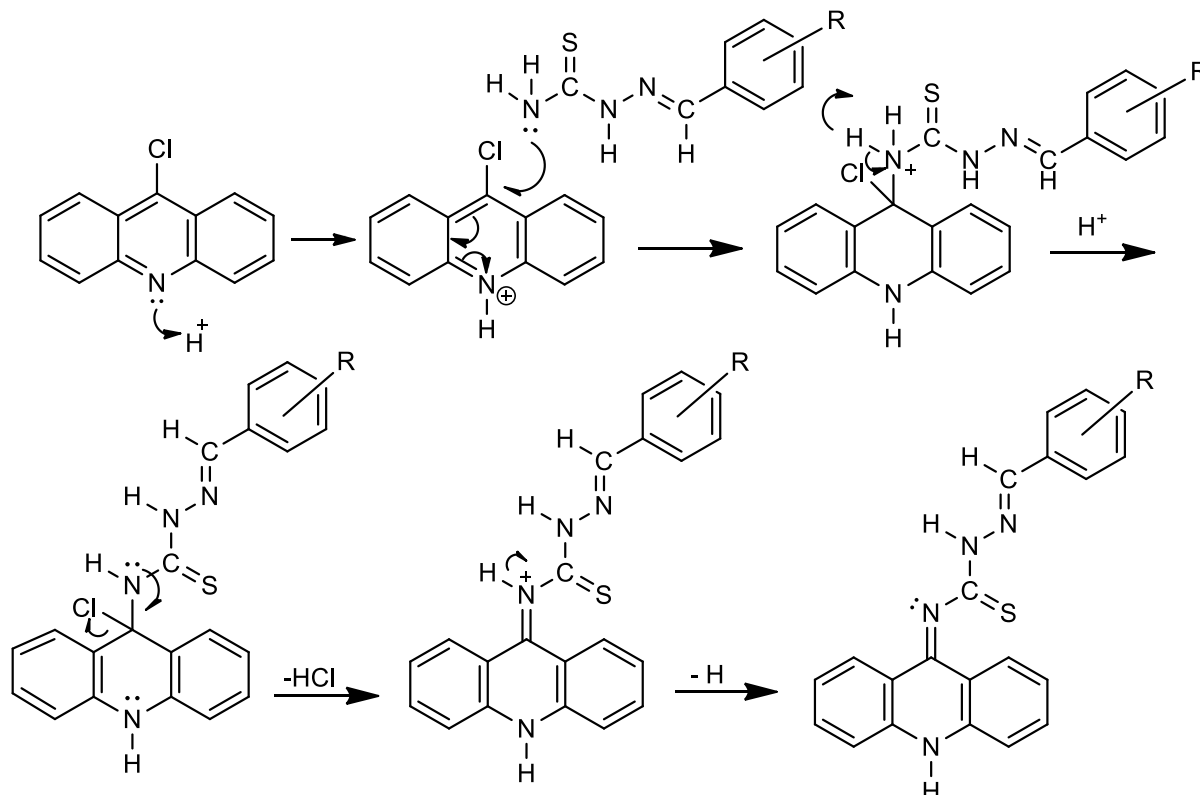
No esquema 10, mostra-se o mecanismo proposto para a síntese dos derivados acridínicos da série GLDL. Identifica-se uma adição seguida de substituição nucleofílica no aromático, que se inicia com o ataque nucleofílico do nitrogênio aos íons  $H^+$ , disponibilizados pelo ácido acético, essa adição provoca uma desestabilização no anel acridínico favorecendo um ataque na posição nove do aromático, a partir da formação de uma carga parcialmente positiva. Ressalta-se a estabilidade inicial dos derivados tiossemicarbazônicos, atribuída as ligações N-C-S, porém a mesma é reduzida comparando com derivados semicarbazônicos (N-C-O), este efeito é associado a diferença de eletronegatividade de C=O e C=S que favorece o efeito ressonante, blindando o par de elétrons da amina. Após a substituição no aromático ocorre a liberação de HCl, como também a formação da imina, com propósito de estabilização do carbocátion formado com a saída do átomo de  $Cl^-$ .

**Esquema 10** – Mecanismo reacional das etapas para formação dos derivados GLDL.



Fonte: autor próprio

No esquema 11, mostra-se o mecanismo proposto para a síntese dos derivados acridínicos da série GLCL. O pensamento reacional é semelhante ao proposto na série GLDL, destacando-se o aumento do efeito da isomeria dinâmica, explicado pelos resultados de IV e RMN que serão brevemente discutidos, atribuído a não substituição do núcleo acridínico.

**Esquema 11** – Mecanismo reacional das etapas para formação dos derivados GLCL.

R = I - H; II - Cl; III - OCH<sub>3</sub>; IV - 2,4 Cl<sub>2</sub>; V - NO<sub>2</sub>; VI - CH<sub>3</sub>

Fonte: autor próprio

### 5.3 Identificação e caracterização química dos derivados.

Como observado, o apêndice traz além do *docking* molecular, os espectros de infravermelho (IV), os espectros de RMN (Ressonância Magnética Nuclear) de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C que colaboram para elucidação das estruturas químicas. Destaca-se a consulta a inúmeros trabalhos (PITTA, 2012; ALMEIDA et al., 2015; MACHADO, 2016) com estruturas parecidas, como também à literatura, mais precisamente Pavia (2010) que culminaram na análise a seguir.

A partir do estudo do espectro de IV (Tabela 10), destacam-se as vibrações de estiramento N-H para aminas secundárias que, segundo a literatura, ocorrem entre 3500 a 3100 cm<sup>-1</sup>, sendo identificadas variações de 3498 a 3139 cm<sup>-1</sup> para esse estiramento nas moléculas sintetizadas.

Seguindo uma ordem decrescente para os valores identificados no IV, chegou-se a um estiramento associado à ligação C-H de alcenos (sp<sup>2</sup>), onde se destaca a presença dos C-H alcenos alifáticos e C-H aromáticos, como também se enfatiza a dificuldade em discussão destes estiramentos em associação a grande presença de ligações entre hidrocarbonetos na síntese em

estudo. As ligações de C-H de alcenos vinílicos e aromáticos foram associados a estiramentos que apresentaram valores entre 3088 a 2966  $\text{cm}^{-1}$ . A possibilidade de ressonância (aumento do caráter s) e uma maior tensão na ligação atribuem os maiores valores para as ligações C-H entre aromáticos.

O estiramento de hidrocarbonetos (C-H) foi finalizado com o estudo das ligações C-H com caráter  $\text{sp}^3$ , na série GLCL destaca-se a presença do grupamento apenas nos compostos GLCL-03 (grupamento metoxila) e GLCL-06 (radical metila do fenil), na série GLDL as ligações C-H com caráter  $\text{sp}^3$  são identificadas em todos os compostos sintetizados, presentes tanto no grupo metoxila do núcleo acridínico, quanto em alguns substituintes utilizados, como na série citada anteriormente. Os hidrogênios metilênicos possuem duas bandas de estiramento C-H, representando os modos de estiramento simétrico (2962  $\text{cm}^{-1}$ ) e assimétrico (2872  $\text{cm}^{-1}$ ) do grupo, segundo Pavia (2010). Obtiveram-se valores de C-H  $\text{sp}^3$  em relação ao estiramento simétrico entre 2966 a 2897  $\text{cm}^{-1}$ ; e para o estiramento assimétrico variações de 2886 a 2834  $\text{cm}^{-1}$ .

A ligação C=N de uma imina ( $\text{R}_2\text{-C=N-R}_1$ ), apresenta um átomo de carbono  $\text{sp}^2$ , se assemelhando a outras ligações que possuem ligações duplas entre átomos, de acordo com Pavia (2010), seu estiramento acontece entre 1690 – 1640  $\text{cm}^{-1}$ , em algum caso, a sobreposição é considerada das bandas da ligação C=C e da C=N, porém com uma absorção mais intensa, a depender do composto, pode ser verificada. Encontraram-se absorções que variaram de 1636 a 1629, para as iminas presentes na estrutura final dos compostos estudados.

Compostos aromáticos constituem várias bandas de absorção em uma análise de IV, sendo muito complexa a associação e conclusão de todos seus picos. Os picos de C-H no carbono  $\text{sp}^2$ , como citado acima, tornam-se muitas vezes difíceis e inconclusivos em relação à elucidação estrutural do composto, pois as bandas de estiramento de C-H em alcenos e aromáticos são identificados na mesma faixa. Para corroborar com um parecer mais conclusivo da presença de aromáticos, utilizam-se as bandas de estiramento da ligação C=C em anéis aromáticos, que normalmente são identificadas entre 1600 e 1475  $\text{cm}^{-1}$ , onde em alcenos a absorção característica dessa ligação é entre 1650  $\text{cm}^{-1}$ . Os estiramentos da ligação C=C no anel foram identificados entre 1596 a 1572 e 1486 a 1465  $\text{cm}^{-1}$ , comprovando a existência de aromáticos em nossa estrutura, o modo com o qual foram substituídos também foi elucidado com alguns picos, que varia conforme a substituição do radical e o núcleo utilizado e serão discutidos mais adiante.

Como demonstrado na rota sintética pela metodologia, um dos derivados acridínicos utilizados na síntese foi uma acridina metoxilada. Éteres alquil-arílicos geram duas bandas

fortes: a primeira banda associada a um estiramento C-O-C assimétrico próximo de  $1250\text{ cm}^{-1}$  e a segunda a um estiramento simétrico próximo de  $1040\text{ cm}^{-1}$ . Foram encontradas bandas fortes para o estiramento assimétrico variando de  $1237$  a  $1223\text{ cm}^{-1}$  e bandas relacionadas ao estiramento simétrico com pontos entre  $1081$  a  $1029\text{ cm}^{-1}$ . Podendo ser atribuídos os aumentos nos estiramentos simétricos a substituição dos radicais nos núcleos tiossemicarbazônicos, visto que, no composto não substituído GLDL-01, apresentou banda de  $1029\text{ cm}^{-1}$ . Outro ponto a se destacar ainda sobre identificação de grupamentos metoxilas, foi à elucidação estrutural da condensação do composto tiossemicarbazínico metoxilado ao núcleo da acridina não substituída no composto GLCL-03, sendo identificadas bandas em  $1252$  e  $1024$ , associadas aos estiramentos assimétricos e simétricos, respectivamente da metoxila.

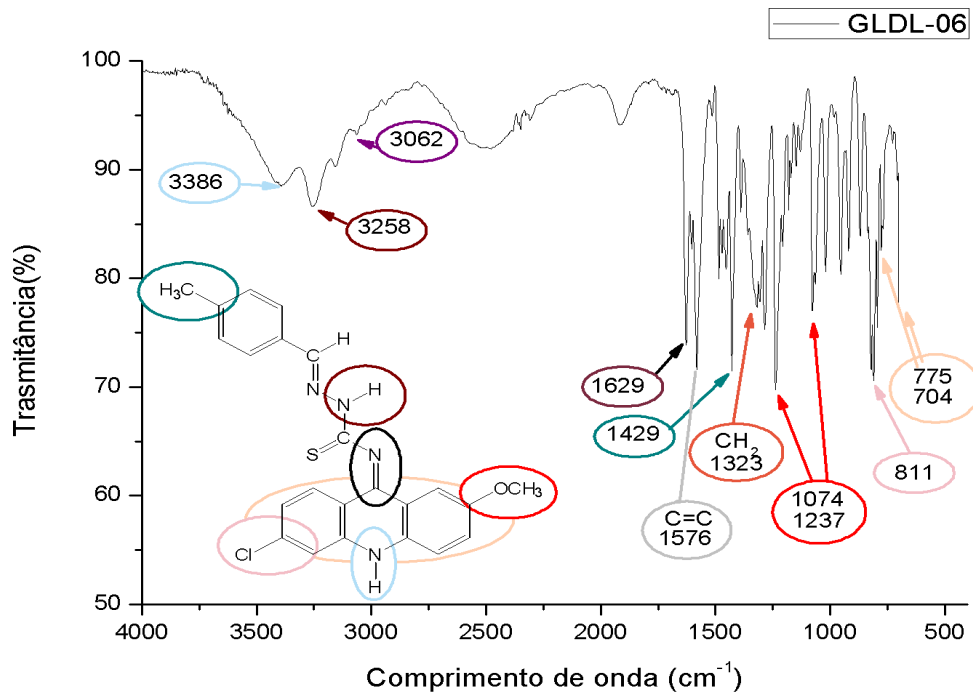
Um importante pico que caracteriza a função dos derivados acridínicos em questão é o estiramento da ligação C=S, pois existe grande possibilidade de tautomerismo entre as funções tionila (C=S) e tiol (S-H). De acordo com Pavia (2010) a presença da ligação C=S se dá na região  $1250$  a  $1000\text{ cm}^{-1}$  e a do S-H em uma banda de  $2550\text{ cm}^{-1}$ , região esta, mais características em decorrência da presença de pouco pontos. Os picos associados a essa ligação foram identificados em duas regiões a partir de parâmetros estabelecidos por Silvestein (2015), regiões entre  $1557$  a  $1551$  e  $1104$  a  $1055\text{ cm}^{-1}$  foram associadas a esta ligação que, segundo o autor quando ligado a um nitrogênio apresenta essas bandas características. Blau (2009) associou bandas parecidas a esta ligação seguindo o mesmo referencial. Os compostos de acordo com o IV apresentaram predominância na forma de tionila, não sendo identificados pontos que fossem associados a forma tiol.

Outra característica dos aromáticos são os picos de dobramento fora do plano que surgem entre  $900$  a  $690\text{ cm}^{-1}$ , que, em complemento harmônico com bandas fracas que surgem entre  $2000$ - $1667\text{ cm}^{-1}$ , elucidam o padrão de substituição no anel. Os compostos da série GLCL são todos monosubstituídos (em relação ao núcleo acridínico), e apresentaram dobramento fora do plano, sendo confirmados pela identificação de dois picos, que variaram por volta de  $754$  a  $746$  e  $704$  a  $700\text{ cm}^{-1}$ . Os derivados acridínicos da série GLDL são trissubstituídos, e apresentaram picos com formas e valores um pouco distintos dos encontrados na outra série, tiveram variância de  $789$  a  $753$  e  $704$  a  $697\text{ cm}^{-1}$ .

As figuras 20 e 21 representam um espectro de Infravermelho-IV de cada série GLDL e GLCL, respectivamente, as demais se encontram nos anexos, as discussões das bandas características dos grupos funcionais presentes na estrutura podem ser vistas acima e na Tabela 10 que, apresentam todos as bandas identificadas, destacando a importância deste estudo na identificação dos principais grupos funcionais presentes nas moléculas sintetizadas (PAVIA,

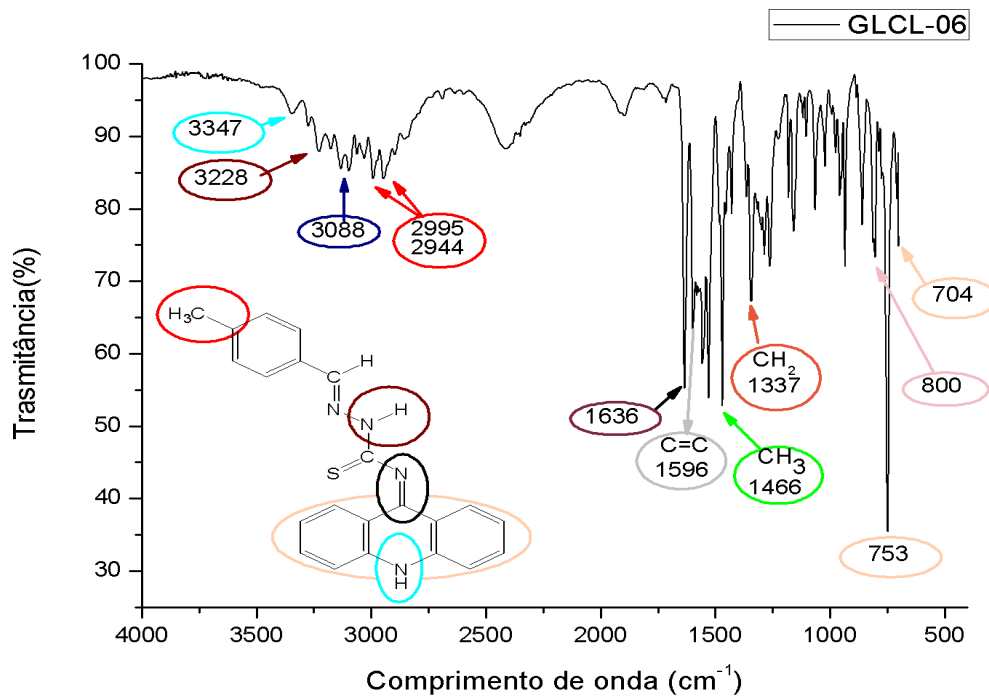
2010; SILVERSTEIN, 2015).

**Figura 20** – Espectro de infravermelho da GLDL-06.



Fonte: Próprio autor.

**Figura 21** – Espectro de infravermelho da GLCL-06.



Fonte: Próprio autor.

**Tabela 10** – Dados do IV dos derivados acridínicos.

COMPOSTO	IV (valores em $\text{cm}^{-1}$ )
<b>GLDL-01</b>	3498 e 3360 (estiramentos N-H amina secundária); 3053 3023 e 2995 (estiramento C-H aromático e alceno); 2966 e 2834 (estiramento C-H carbono $\text{sp}^3$ ); 1636 (estiramento C=N); 1566 e 1472 (estiramento C=C aromático); 1426 e 1147 (estiramento C=S ligado a N); 1417 (dobramento $\text{CH}_3$ ) 1337 (dobramento $\text{CH}_2$ ); 1228 e 1029 (estiramento C-O-C); 960 (estiramento -CH=CH-); 867 (H isolado do benzeno); 760 e 697 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossustituído).
<b>GLDL-02</b>	3251 e 3168 (estiramentos N-H amina secundária); 3062, 3019 e 2998 (estiramento C-H aromático e alceno); 2966 e 2834 (estiramento C-H carbono $\text{sp}^3$ ); 1629 (estiramento C=N); 1589 e 1486 (estiramento C=C aromático); 1483 e 1092 (estiramento C=S ligado a N); 1429 (dobramento $\text{CH}_3$ ); 1323 (dobramento $\text{CH}_2$ ); 1227 e 1071 (estiramento C-O-C); 960 (estiramento -CH=CH-); 867 (estiramento anel para substituído); 825 (estiramento C-Cl); 789 e 704 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossustituído).
<b>GLDL-03</b>	3472 e 3286 (estiramentos N-H amina secundária); 3053, 3033 e 2975 (estiramento C-H aromático e alceno); 2959 e 2838 (estiramento C-H carbono $\text{sp}^3$ ); 1629 (estiramento C=N); 1566 e 1486 (estiramento C=C aromático); 1483 e 1176 (estiramento C=S ligado a N); 1427 (dobramento $\text{CH}_3$ ); 1330 (dobramento $\text{CH}_2$ ); 1230 e 1074 (estiramento C-O-C); 960 (estiramento -CH=CH-); 867 (estiramento anel para substituído); 832 (estiramento C-Cl); 789 e 704 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossustituído).
<b>GLDL-04</b>	3251 e 3151 (estiramentos N-H amina secundária); 3062, 3014 e 2966 (estiramento C-H aromático e alceno); 2927 e 2886 (estiramento C-H carbono $\text{sp}^3$ ); 1629 (estiramento C=N); 1576 e 1472 (estiramento C=C aromático); 1466 e 1081 (estiramento C=S ligado a N); 1422 (dobramento $\text{CH}_3$ ); 1308 (dobramento $\text{CH}_2$ ); 1223 e 1046 (estiramento C-O-C); 960 (estiramento -CH=CH-); 832 (estiramento C-Cl); 775 e 704 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossustituído).
<b>GLDL-05</b>	3464 e 3350 (estiramentos N-H amina secundária); 3062, 3043 e 2995 (estiramento C-H aromático e alceno); 2937 e 2834 (estiramento C-H carbono $\text{sp}^3$ ); 1629 (estiramento C=N); 1515 e 1351 (estiramento O-N-O); 1576 e 1472 (estiramento C=C aromático); 1557 e 1055 (estiramento C=S ligado a N); 1422 (dobramento $\text{CH}_3$ ); 1323 (dobramento $\text{CH}_2$ ); 1237 e 1074 (estiramento C-O-C); 960 (estiramento -CH=CH-); 878 (estiramento anel para substituído); 832 (estiramento C-Cl); 753 e 704 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossustituído).
<b>GLDL-06</b>	3386 e 3258 (estiramentos N-H amina secundária); 3062, 3023 e 3004 (estiramento C-H aromático e alceno); 2965 e 2842 (estiramento C-H carbono $\text{sp}^3$ ) 1629 (estiramento C=N); 1579 e 1486 (estiramento C=C aromático); 1557 e 1055 (estiramento C=S ligado a N); 1429 (dobramento $\text{CH}_3$ ); 1323 (dobramento $\text{CH}_2$ ); 1237 e 1074 (estiramento C-O-C); 960 (estiramento -CH=CH-); 871 (estiramento anel para substituído); 811 (estiramento C-Cl); 775 e 704 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossustituído).
<b>GLCL-01</b>	3439, 3235(estiramentos N-H amina secundária); 3059, 3033 e 2995 (estiramento C-H aromático e alceno); 1636 (estiramento C=N); 1556 e 1472 (estiramento C=C aromático); 1531 e 1083 (estiramento C=S ligado a N); 1466 (dobramento $\text{CH}_3$ ) ; 1345 (dobramento $\text{CH}_2$ ); 749 e 700 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossustituído).
<b>GLCL-02</b>	3479, 3350 (estiramento N-H amina secundária); 3053, 3028 e 2992 (estiramento C-H aromático e alceno); 1629 (estiramento C=N); 1556 e 1465 (estiramento C=C aromático); 1540 e 1094 (estiramento C=S ligado a N); 1437(dobramento $\text{CH}_3$ ); ( 1330 (dobramento $\text{CH}_2$ ); 797 (estiramento C-Cl substituição em para); 754 e 704 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossustituído).
<b>GLCL-03</b>	3422, e 3226 (estiramento N-H amina secundária); 3063, 3033 e 2995 (estiramento C-H aromático e alceno); 2897 e 2837 (estiramento C-H carbono $\text{sp}^3$ ); 1636 (estiramento

	C=N); 1596 e 1472 (estiramento C=C aromático); 1557 e 1074 (estiramento C=S ligado a N); 1475 (dobramento CH <sub>3</sub> ); 1330 (dobramento CH <sub>2</sub> ); 1252 e 1024 (estiramento C-O-C); 803 (estiramento anel para substituído); 753 e 704 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossubstituído).
<b>GLCL-04</b>	3258 e 3139 (estiramento N-H amina secundária); 3062, 3027 e 2986 (estiramento C-H aromático e alceno); 1636 (estiramento C=N); 1593 e 1472 (estiramento C=C aromático); 1557 e 1074 (estiramento C=S ligado a N); 1466 (dobramento CH <sub>3</sub> ); 1353 (dobramento CH <sub>2</sub> ); 803 (estiramento C-Cl); 754 e 704 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossubstituído).
<b>GLCL-05</b>	3492 e 3364 (estiramento N-H amina secundária); 3088, 3023, 2999 (estiramento C-H aromático e alceno); 1636 (estiramento C=N); 1579 e 1472 (estiramento C=C aromático); 1557 e 1104 (estiramento C=S ligado a N); 1522 e 1351 (estiramento O-N-O); 1466 (dobramento CH <sub>3</sub> ); 1337 (dobramento CH <sub>2</sub> ); 794 (estiramento anel para substituído); 746 e 704 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossubstituído).
<b>GLCL-06</b>	3347 e 3228 (estiramento N-H amina secundária); 3088, 3033 e 3023 (estiramento C-H aromático e alceno); 2995 e 2944 (estiramento C-H carbono sp <sup>3</sup> ); 1629 (estiramento C=N); 1596 e 1472 (estiramento C=C aromático); 1557 e 1074 (estiramento C=S ligado a N); 1466 (dobramento CH <sub>3</sub> ); 1337 (dobramento CH <sub>2</sub> ); 800 (estiramento anel para substituído); 754 e 704 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossubstituído).
<b>9-CLORO</b>	3137 e 3080 (estiramento C-H alceno); 3030 e 2995 (estiramento C-H aromático); 1629 (estiramento C=N); 1600 e 1472 (estiramento C=C aromático); 946 (estiramento -CH=CH-); 818 (estiramento C-Cl); 751 e 690 (estiramento C-H fora do plano de aromático monossubstituído).

Fonte: Próprio autor.

Com o estudo de RMN de <sup>1</sup>H (Tabela 11) e o RMN de <sup>13</sup>C (Tabela 12) foram elucidadas as estruturas dos compostos sintetizados. Foram identificados os principais picos característicos das estruturas. As correlações em unidimensionais no RMN não foram suficientes para elucidação estrutural das moléculas sintetizadas, utilizou-se técnicas espectroscópicas que proporcionaram importantes correlações bidimensionais (2D) nos estudos de RMN.

As figuras de 22 a 27 apresentam espectros que contribuem para a elucidação estrutural da molécula GLDL-06, tomada como base para as demais estruturas da série GLDL, visto que, as mudanças são substituições no aromático, que segundo os espectros das demais moléculas, não proporcionou nenhuma cisão na estrutura, ou mudança drásticas que originasse um rearranjo intramolecular alterando as correlações apresentadas.

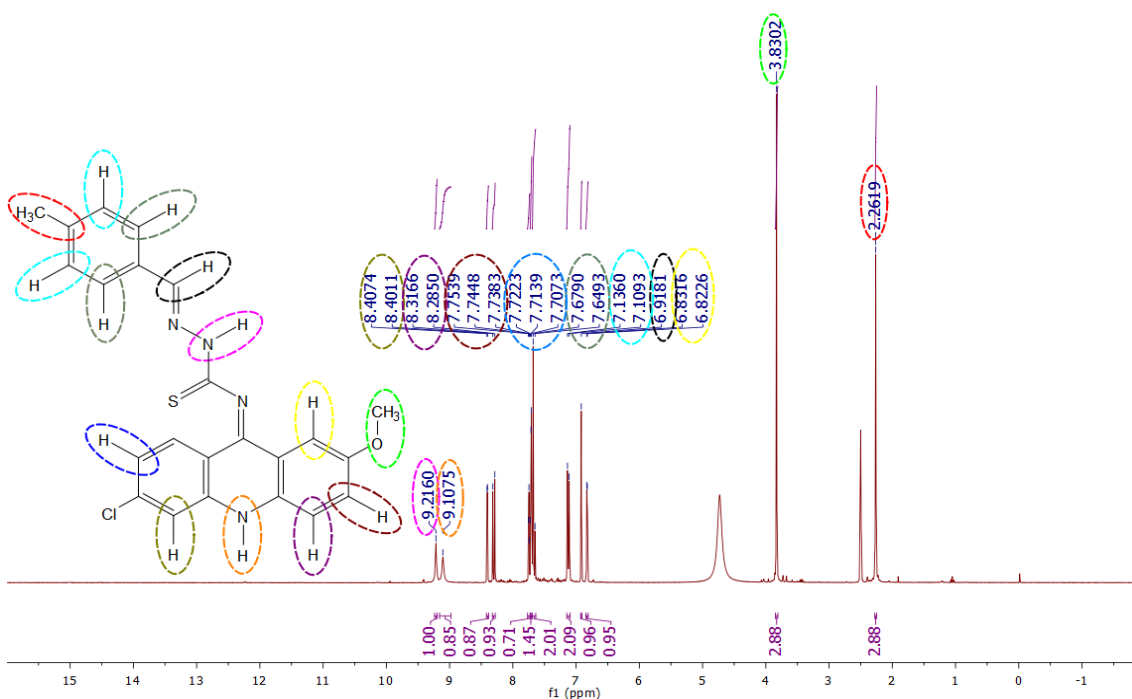
Na série GLDL, um simpleto, em ppm, variando de 9,32 a 9,10 ppm foi associado à ligação N-H do núcleo acridínico, uma correlação muito fraca com o carbono da tionila na posição 12, destacada na figura 22, corrobora para que o primeiro sinal dos espectros nesta região seja relacionado ao hidrogênio na posição H-13. Continuando nesta série, um simpleto, característico de ligações com aminas secundárias, variando de 9,28 a 9,07 ppm foi associado a ligação N-H na posição 10, concomitantemente, uma ideia de conformação menos energética,



como veremos adiante, e por ele não apresentar nenhuma correlação nos espectros estudados, outra característica de ligações de hidrogênio com heteroátomos, complementa a ideia desse hidrogênio nesta posição. Um simpleto variando de 7,04 a 6,84 ppm, foi associado a ligação C-H alifático na posição 15, a proximidade ao aromático Ar<sub>1</sub>, possibilitou algumas correlações vistas nas figuras 26 e 27, que associa ele a esta posição na estrutura. Os pontos característicos do grupamento metoxila foram elucidados, com variações entre 3,83 a 3,73 ppm, na forma de um simpleto. Na análise do RMN de <sup>13</sup>C bandas características da metoxila (-OCH<sub>3</sub>), em ppm, foram identificadas entre 55,28 e 55,88 ppm. Destaca-se na discussão sobre o estudo de carbonos que, a sobreposição dos pontos na série metoxilada do anel acridínico não foi verificada, as substituições da metoxila e do cloro em posições diferente no núcleo acridínico, atribuem especificidades para cada carbono. Em relação ao espectro da GLDL-06, destaca-se outro simpleto em 2,26 ppm, correspondente a três hidrogênios, associado ao metil do Ar<sub>1</sub>, correlações com este radical metila facilitaram a elucidação estrutural da região do aromático Ar<sub>1</sub>.

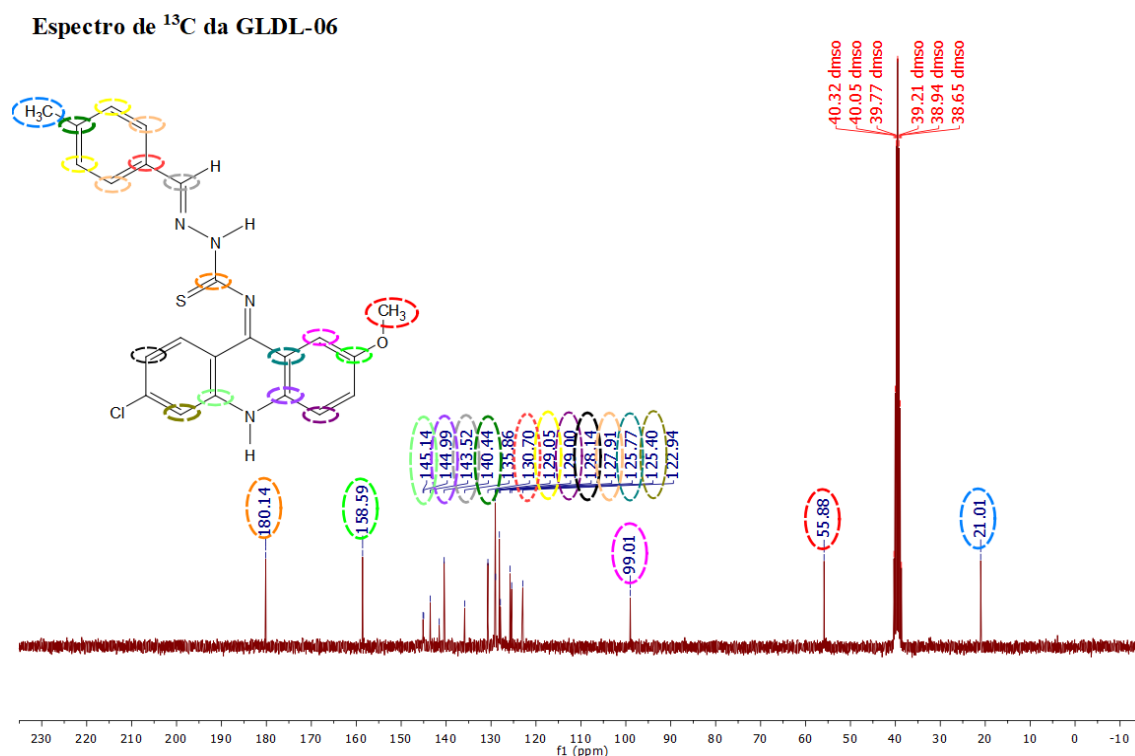
**Figura 22** – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H da GLDL-06.

Espectro de <sup>1</sup>H da GLDL-06



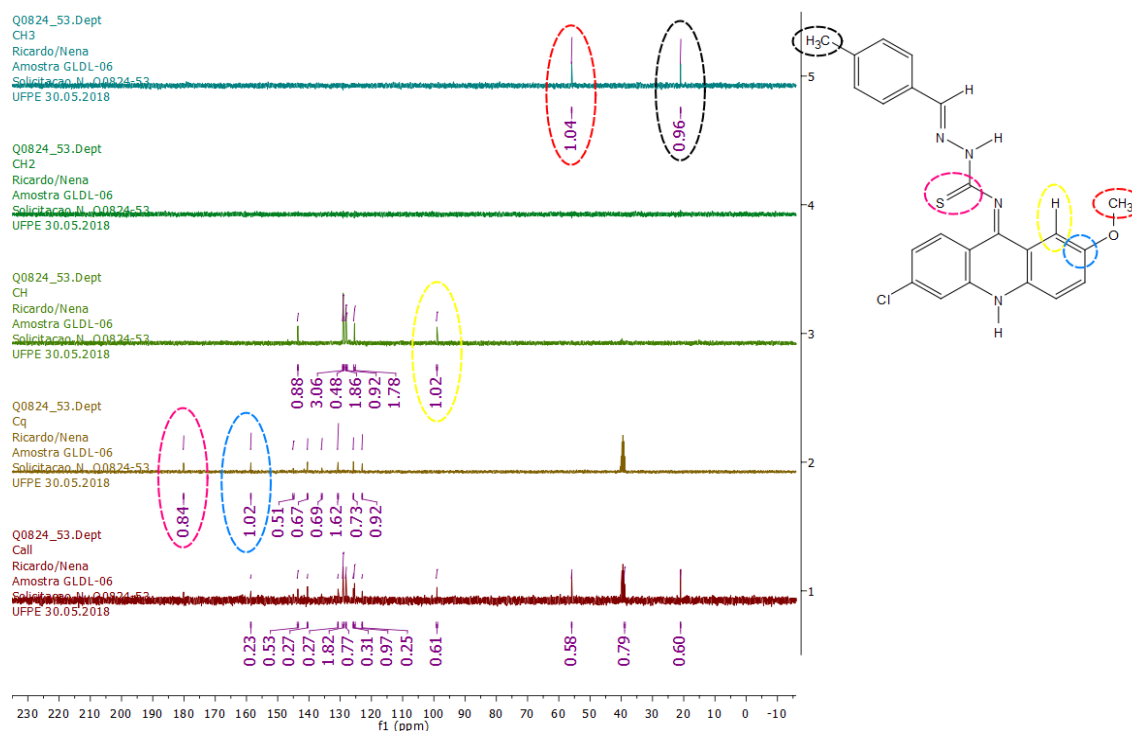
A Figura 23 apresenta o espectro de  $^{13}\text{C}$  da GLDL-06 que relacionado com a Figura 24, possibilita conclusões em relação as ligações dos carbonos da estrutura, como presença de carbonos primários, secundários, terciários e/ou quaternários. A presença de dois carbonos primários na GLDL-06 é apontada pelo Dept, como também os carbonos quaternários da tionila e o ligado ao radical metoxila.

**Figura 23** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da GLDL-06.



Fonte: Próprio autor.

**Figura 24** – Espectro de RMN - DEPT do GLDL-06.

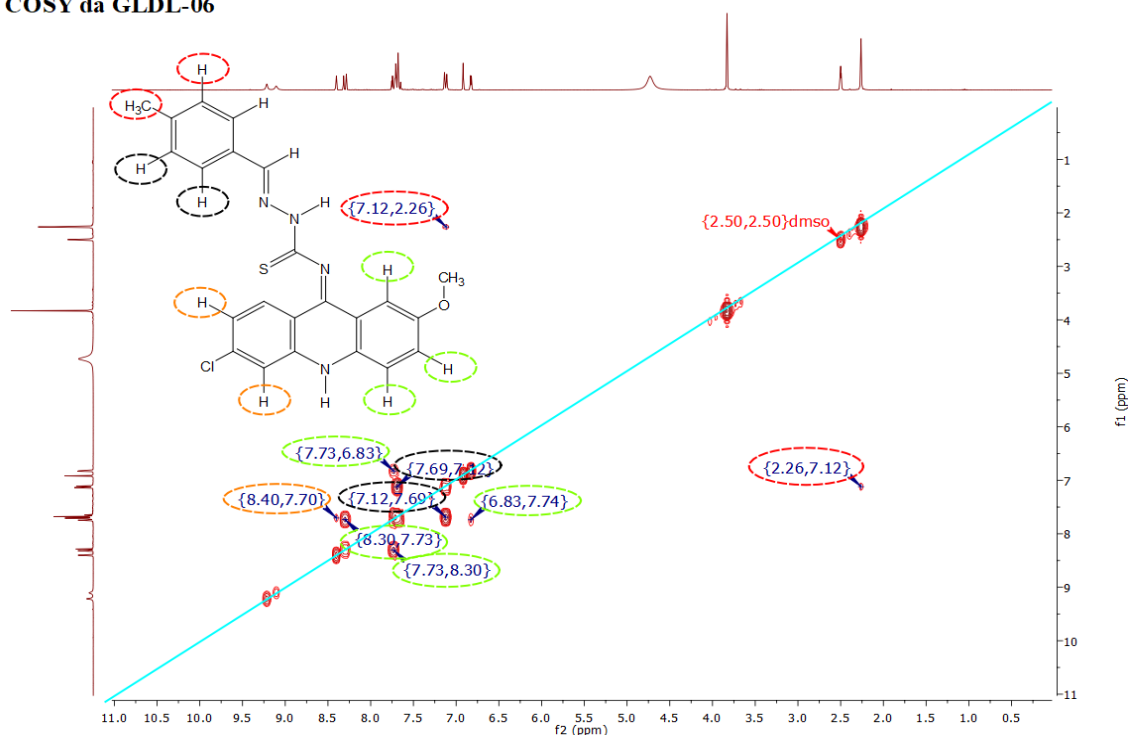


A Figura 25 começa a mostrar espectros conhecidos como bidimensionais (RMN 2D), dos quais foram utilizados neste trabalho: a ressonância homonuclear (COSY) e as heteronucleares (HSQC e HMBC).

O COSY, usualmente identificado por COSY  $^1\text{H} - ^1\text{H}$ , é um experimento importante que correlaciona acoplamentos escalares entre dois núcleos  $^1\text{H} - ^1\text{H}$ . Em cada eixo do espectro de COSY são plotados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do composto em estudo, em seguida os sinais de correlação entre os hidrogênios são analisados, destaca-se que os sinais na diagonal não traduzem informação. A Figura 25 mostra como são feitas essas correlações e quais foram identificadas para o composto GLDL-06, correlações como a destacada em vermelho com o radical metila, corrobora para elucidar a posição do(s) hidrogênio(s) que relaciona(m) com ele.

**Figura 25** – Espectro de RMN - COSY  $^1\text{H}$  –  $^1\text{H}$  da GLDL-06.

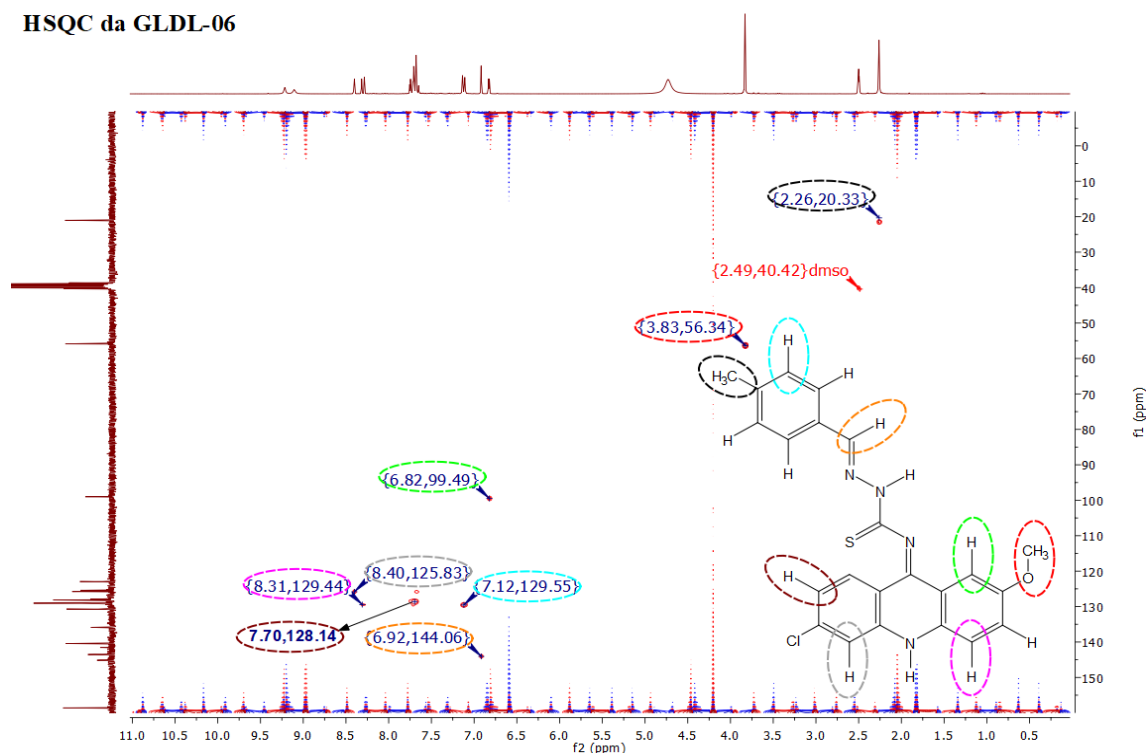
COSY da GLDL-06



O HSQC é uma técnica heteronuclear  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  que detecta acoplamentos de curto alcance. Se caracteriza por correlações diretas C – H, o espectro abaixo (Figura 26) apresenta as correlações diretas identificadas nesta análise para o composto GLDL-06, algumas são já esperadas por apresentarem-se em picos distintos dos aromáticos, como a correlação dos radicais metoxila e metila, outras de grande ajuda por apontar carbonos e hidrogênios na região de picos aromáticos, como as correlações: 129,55 - 7,12 (C-H) ppm do núcleo Ar<sub>1</sub>, a 144,06 - 6,92 (C-H) ppm do hidrogênio alifático posição 15 e a 129,44 - 8,30 (C-H) do núcleo acridínico, podem ser citadas como algumas importantes correlações detectadas na análise.

**Figura 26** – Espectro de RMN - HSQC da GLDL-06.

HSQC da GLDL-06

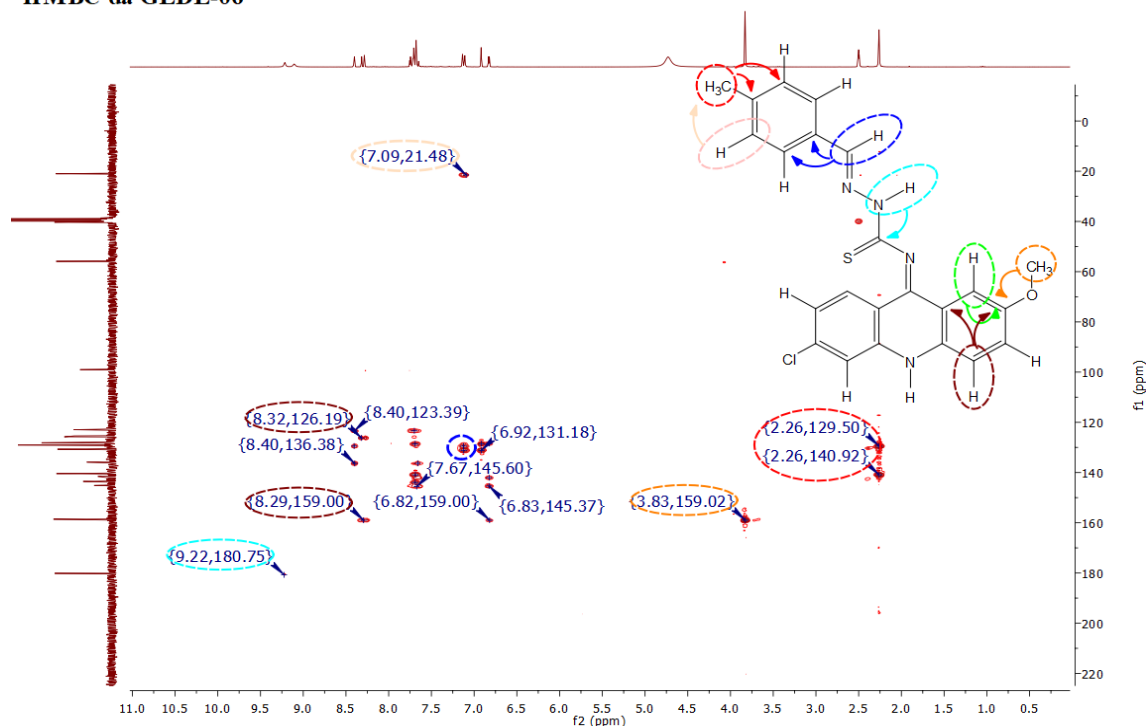


Fonte: Próprio autor.

O HMBC é uma técnica heteronuclear  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  que detecta acoplamentos de longo alcance. Suas vantagens em relação ao HSQC seriam: (i) a possibilidade de correlações do heteronúcleo com hidrogênios não diretamente ligados e, (ii) um único carbono pode correlacionar com inúmeros hidrogênios vizinhos, aumentando as correlações deste estudo. No geral, grupos carbonílicos e carbonos tetrasubstituídos podem ser acoplados por esta técnica sendo possível apresentar acoplamentos a duas ou três ligações. Algumas das correlações identificadas nesta análise para o composto GLDL-06 estão marcadas e direcionadas por setas na figura 27, a principal correlação neste estudo, contribuiu para a ideia do hidrogênio na posição H-13 para a série GLDL, apareceu de forma fraca e relacionou-se com o carbono na posição C-12 da tionila (C=S).

**Figura 27**– Espectro de RMN - HMBC do GLDL-06.

HMBC da GLDL-06

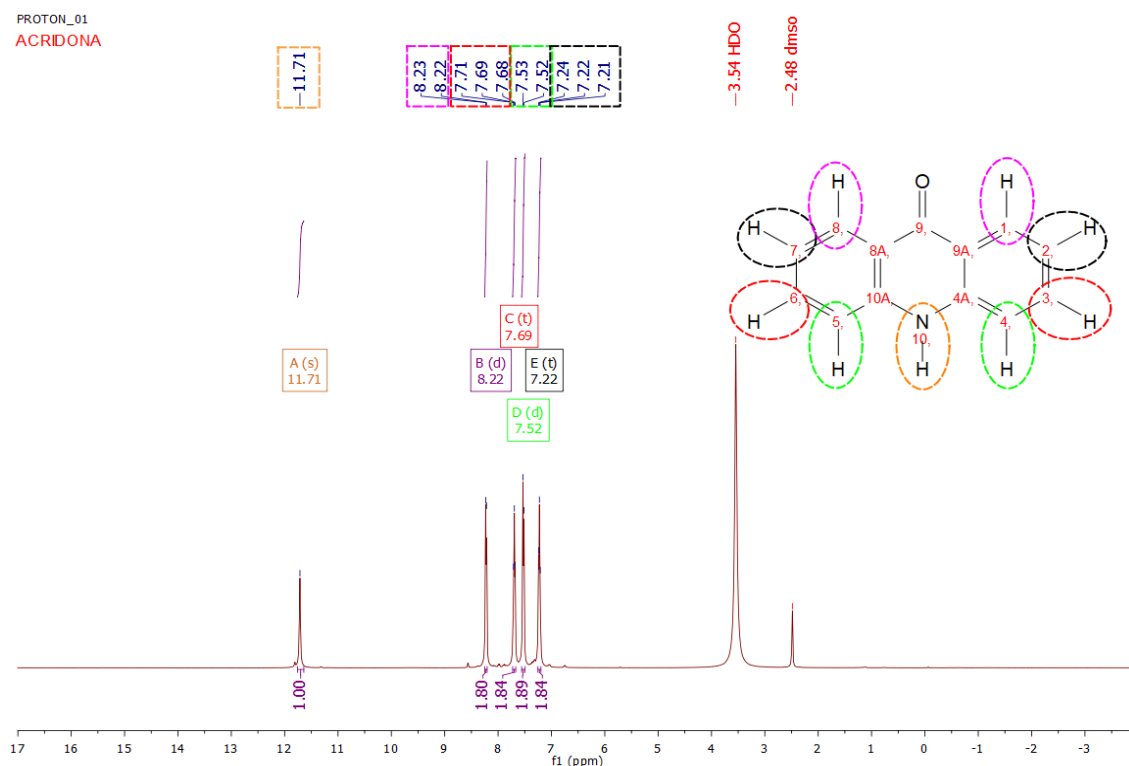


Fonte: Próprio autor.

Para o início das discussões sobre a série GLCL é primordial trazer informações espectrais das sínteses de partida, que facilitarão um pouco as discussões acerca da elucidação estrutural dos compostos dessa série. Inicia-se pela acridona sintetizada a partir do ácido N-fenilntranilínico citado na metodologia e na seção de mecanismo reacional.

As figuras de 28 a 32 trazem os espectros referentes a acridona sintetizada, onde novamente foram utilizados os estudos de RMN 2D para facilitar o entendimento sobre suas correlações estruturais. Destaca-se o pico em 11,71 ppm relacionado ao hidrogênio ligado ao heteroátomo presente em sua estrutura, esta informação é crucial para as próximas discussões sobre a série GLCL, como também a informação que este hidrogênio não se correlacionou com nenhum átomo da molécula.

**Figura 28** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da acridona.

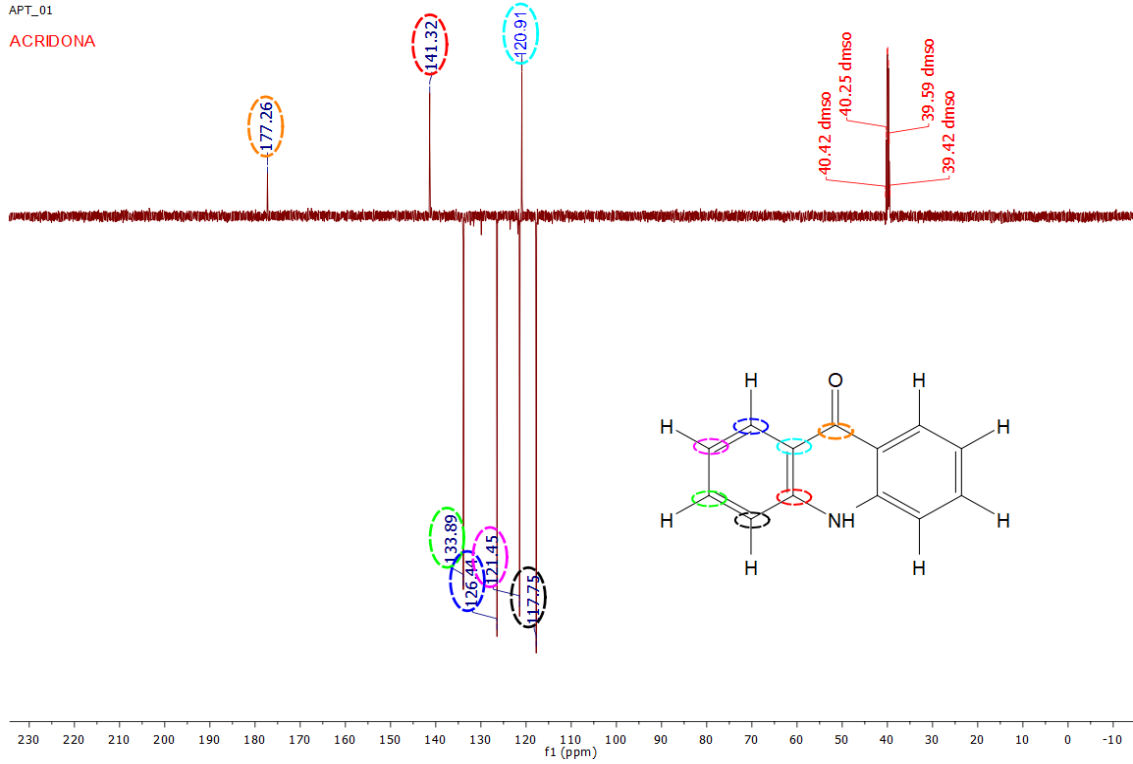


Fonte: Próprio autor.

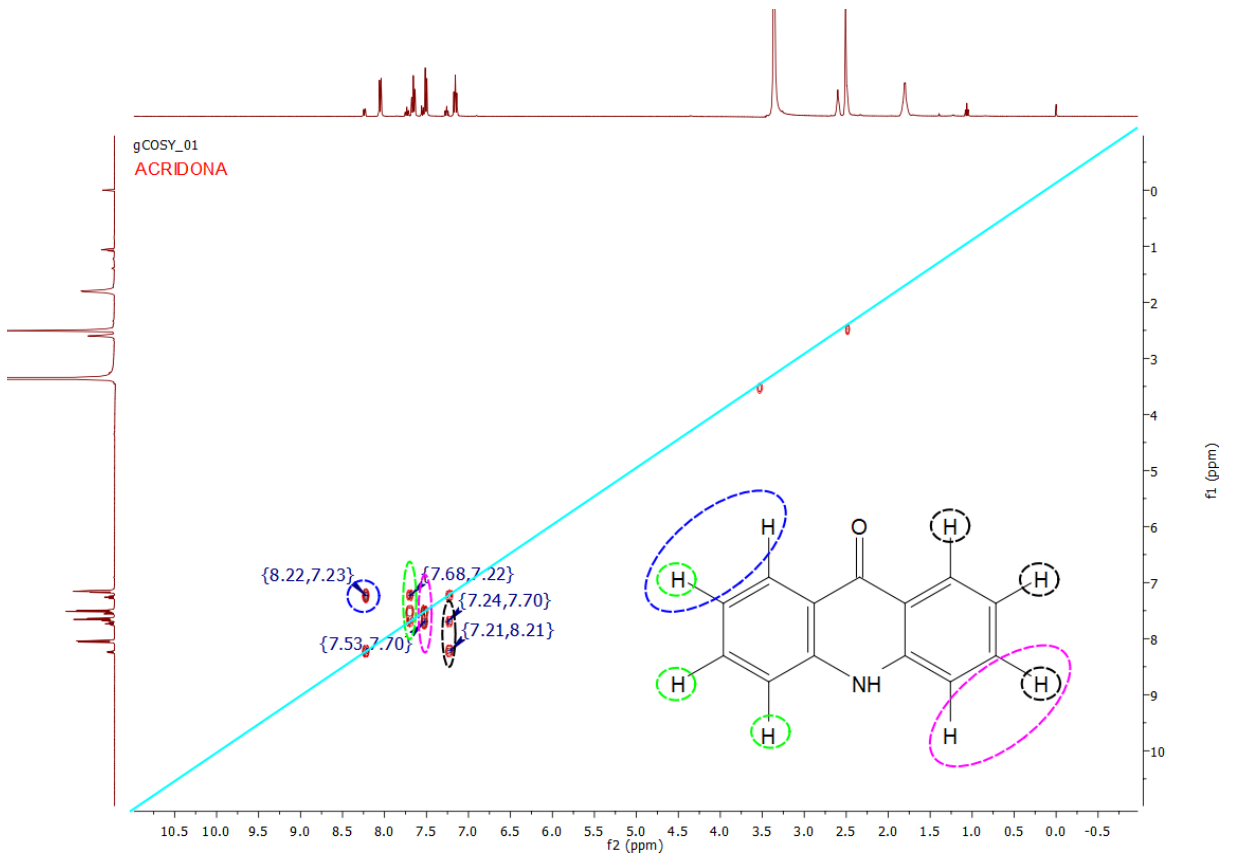
A figura 29 apresenta os picos dos carbonos da estrutura da acridona, estes picos foram utilizados para definir a presença da acridona nos espectros dos compostos da série GLCL, destaca-se o pico em 177,26 ppm relacionado a carbonila (C=O) da acridona.

A figura 30, através do espectro do COSY  $^1\text{H}$  -  $^1\text{H}$  elucida as posições dos hidrogênios com as correlações obtidas, o hidrogênio 7,23 ppm correlacionar-se com o 8,22 e o 7,70 ppm, colocando o 7,53 ppm na posição 4 e 5, o 7,22 ppm na posição 2 e 8. Por fim, a correlação do 7,52 com o 7,69 ppm sugere sua posição 3 e 6 na estrutura.

**Figura 29** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da acridona.



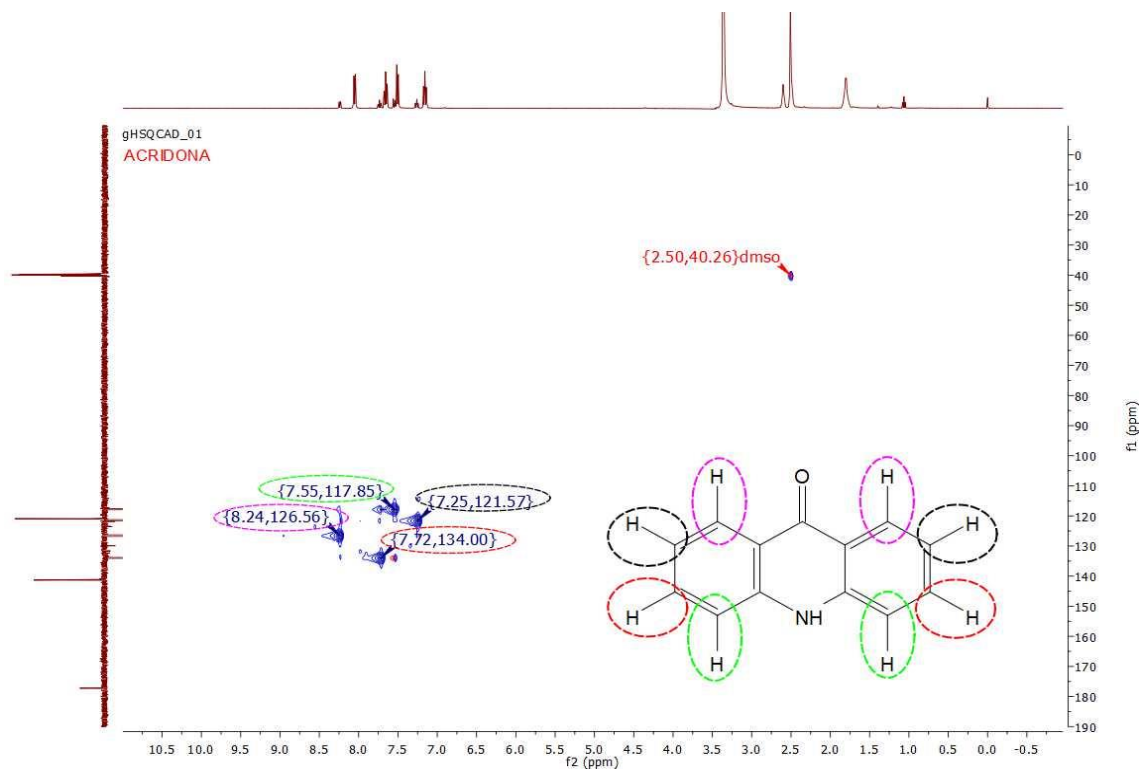
**Figura 30** – Espectro de RMN COSY  $^1\text{H}$  -  $^1\text{H}$  da acridona.





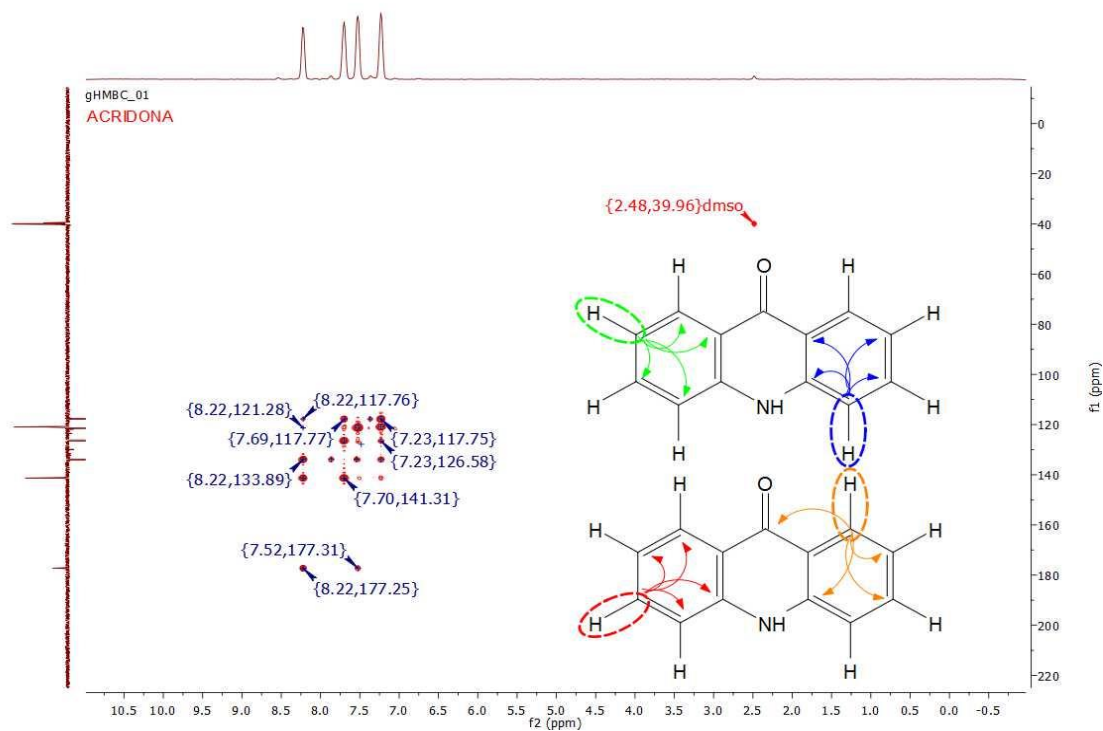
A partir das discussões anteriores do RMN de COSY  $^1\text{H} - ^1\text{H}$ , o RMN - HSQC (Figura 31) e o RMN - HMBC (Figura 32) completam as correlações com os estudos dos acoplamentos curtos e longos das ligações C-H, respectivamente. Com uma estrutura mais simples, como a da acridona, as correlações do RMN 2D são simples e precisas. Descarta-se a ausência nas correlações do hidrogênio da ligação N-H.

**Figura 31** – Espectro de RMN - HSQC da acridona.



Fonte: Próprio autor.

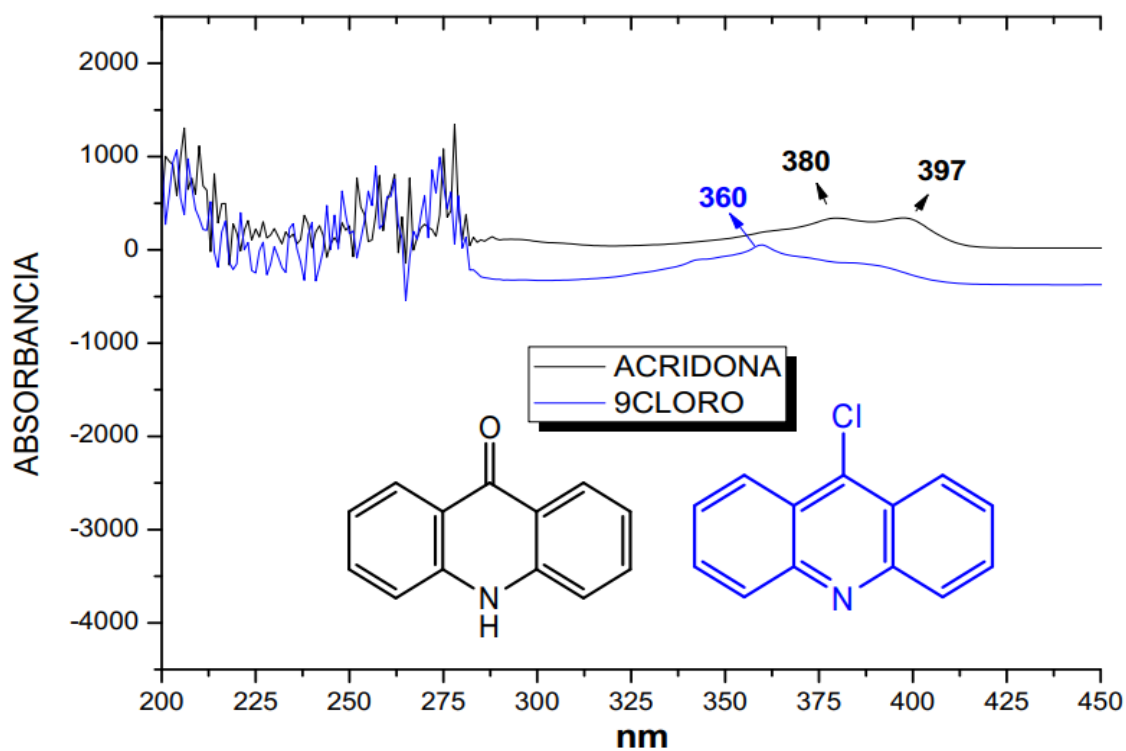
**Figura 32** – Espectro de RMN - HMBC da acridona.



Fonte: Próprio autor.

Na figura 33 apresenta-se um espectro de Uv-vis, técnica de fácil acesso na universidade. O espectro sugere que a reação ocorreu com um fenômeno hipsocrômico e hipocrômico na banda da 9-cloroadridina, porém, ainda pouco conclusiva quanto a pureza do núcleo.

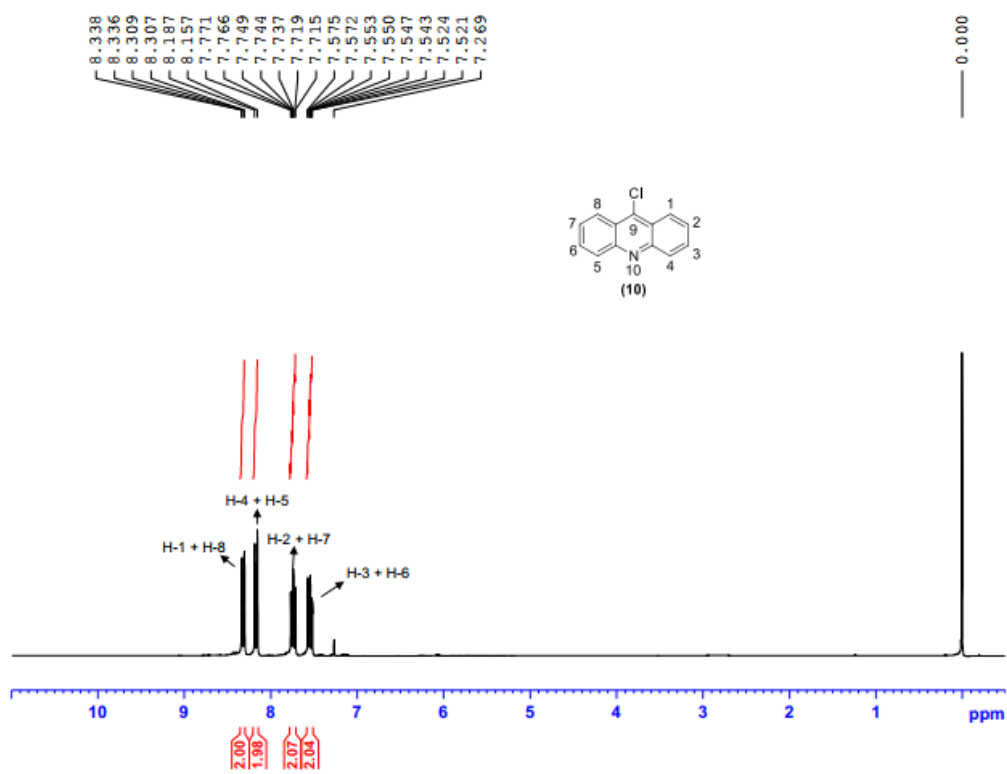
**Figura 33** – Espectro de UV-vis da 9-cloroacridina.



Fonte: Próprio autor.

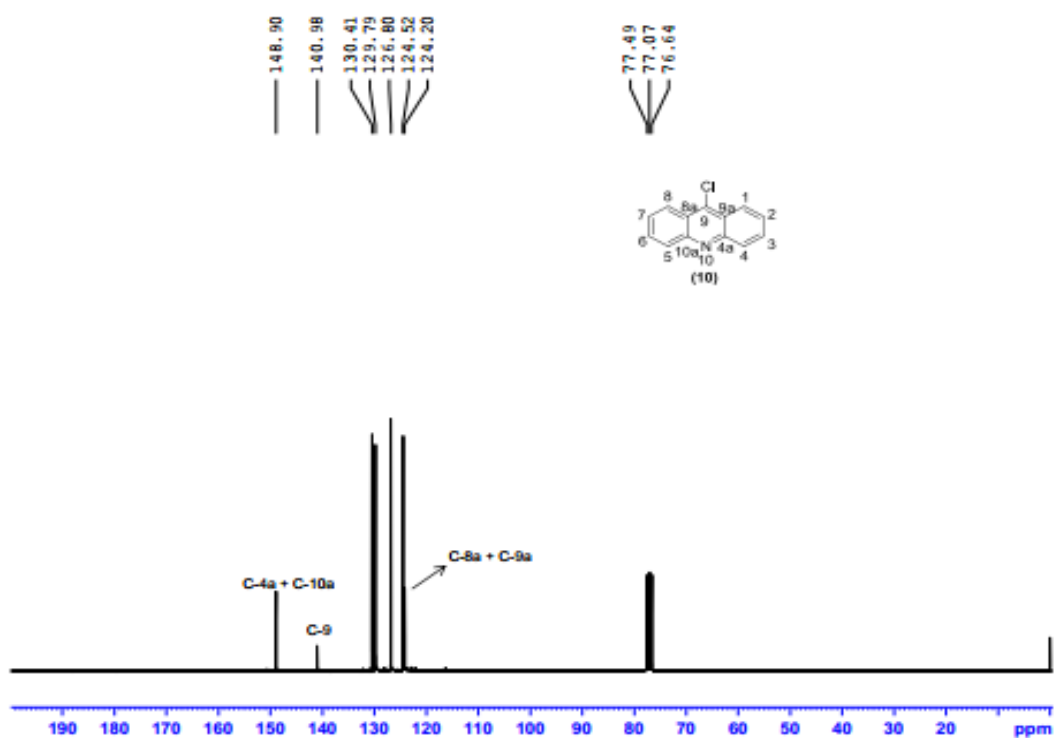
Os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  disponibilizados por Machado (2016) (Figura 34 e 35) sugere deslocamentos que ajudaram a elucidação estrutural dos compostos da série GLCL, a presença de apenas 4 deslocamentos característicos a este núcleo, na região de aromáticos cônica com o pensamento da presença de acridona nos produtos da série GLCL como veremos a seguir. Foi gerada toda esta discussão para fundamentar a ideia da impureza dos compostos, que, mesmo assim se mostraram potentes frente as linhagens celulares testadas.

**Figura 34** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da 9-cloro acridina.



Fonte: Machado (2016).

**Figura 35** - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da 9-cloro acridina.

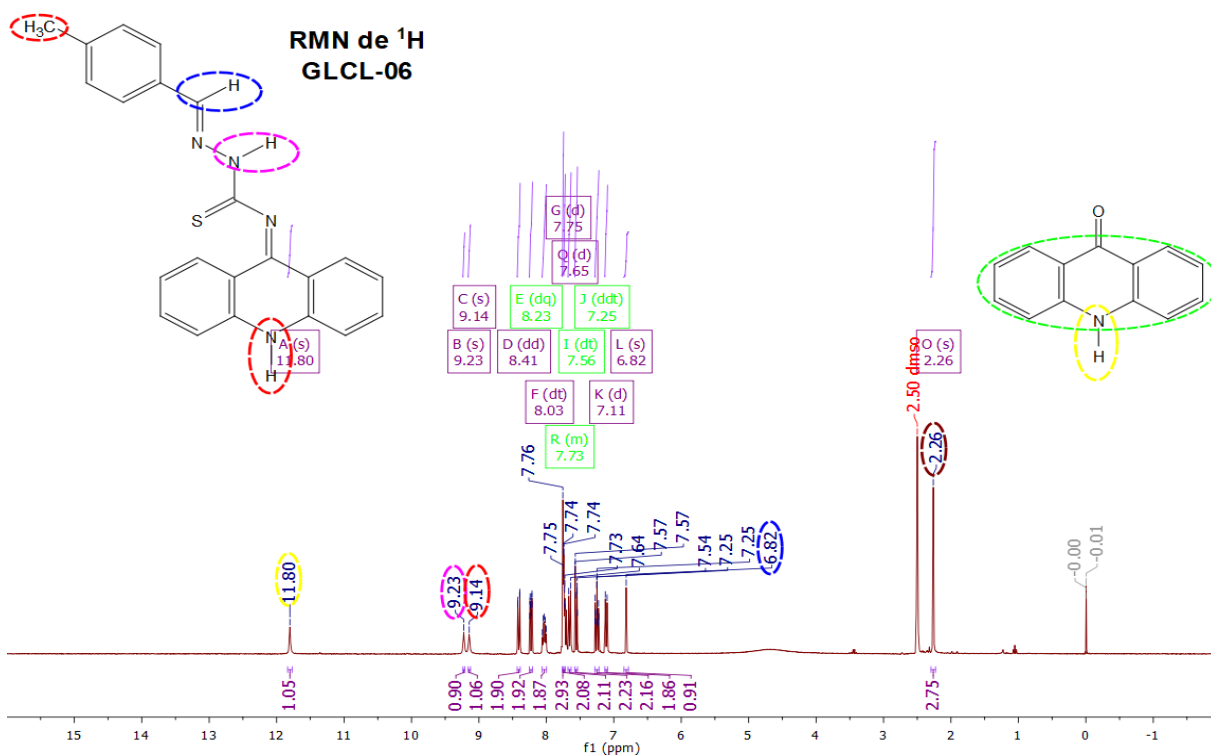


Fonte: Machado (2016).

Na série GLCL destaca-se a identificação de simpletos entre 11,89 e 11,48 (ppm) (Figura 36), que são associadas as ligações de N-H da acridona, reagente de partida. A dificuldade de finalização na síntese da 9-cloroacridina, como também a degradação do  $\text{SOCl}_2$  utilizado, justificariam a presença de impurezas. Um simpleto variando de 9,33 a 9,23, assim como na série passada, foi associado à ligação N-H na posição H-13. Continuando nesta série, um simpleto, característico de ligações com aminas secundárias, variando de 9,28 a 9,07 ppm foi associado a ligação N-H na posição 10. O hidrogênio na posição 15 ligado ao carbono alifático, apresentou picos entre 6,97 e 6,74. O ponto característico do grupamento metoxila, no composto GLCL-03 foi encontrado em 3,73 ppm na forma de um simpleto. Na análise do RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 37), as bandas referentes as ligações tionilas presentes nos derivados foram encontradas entre 180,83 e 176,69. Bandas características da metoxila ( $-\text{OCH}_3$ ), composto GLCL-03, e metila ( $\text{CH}_3$ ), composto GLCL-06, foram identificadas em 55,26 e 20,97 ppm, respectivamente. Destaca-se a presença da acridona em todos os compostos sintetizados, tendo como referencial os espectros discutidos acima da sua estrutura. Uma banda variando de 176,47 a 178,45 foi associado a carbonila presente na estrutura da acridona.

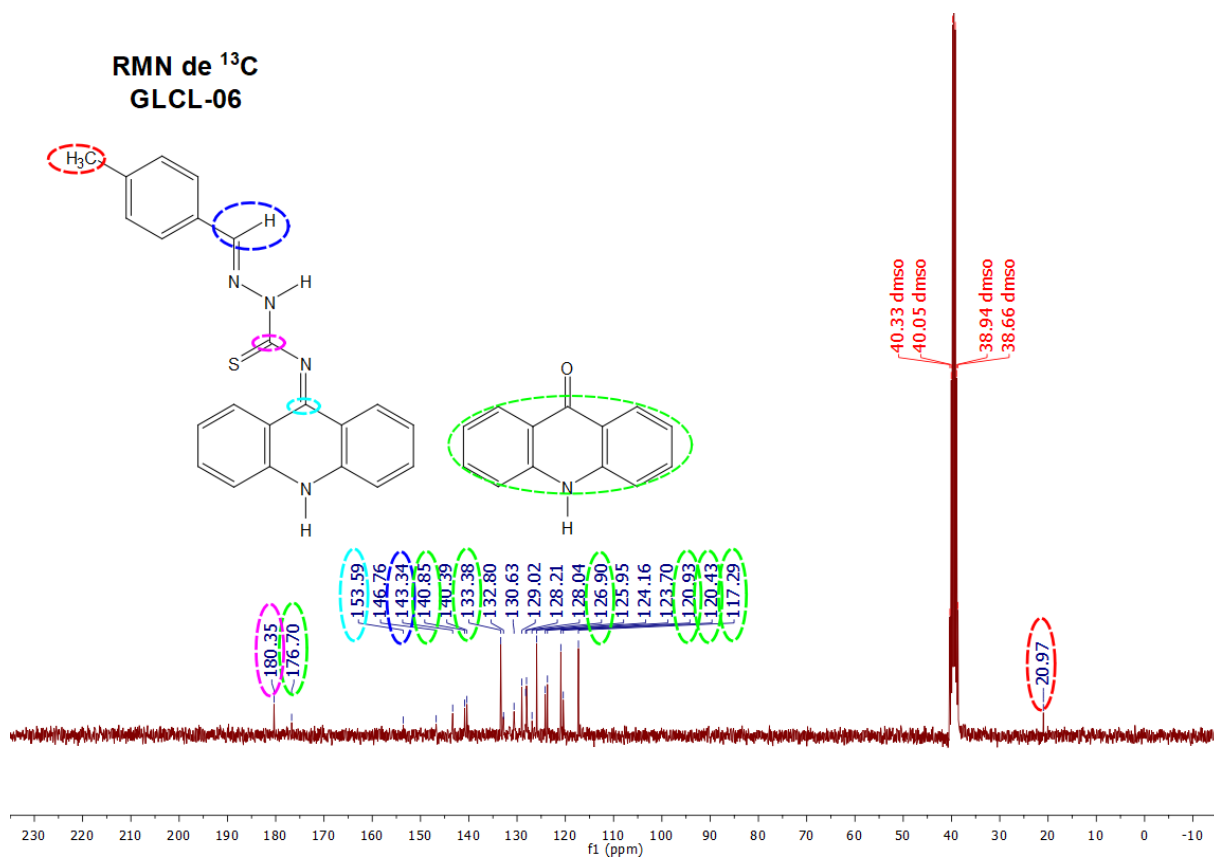
Expressa-se a necessidade de correlações bidimensionais, como também o estudo de novas rotas sintéticas para a síntese da série GLCL, buscando a síntese de estruturas mais puras e elucidativas.

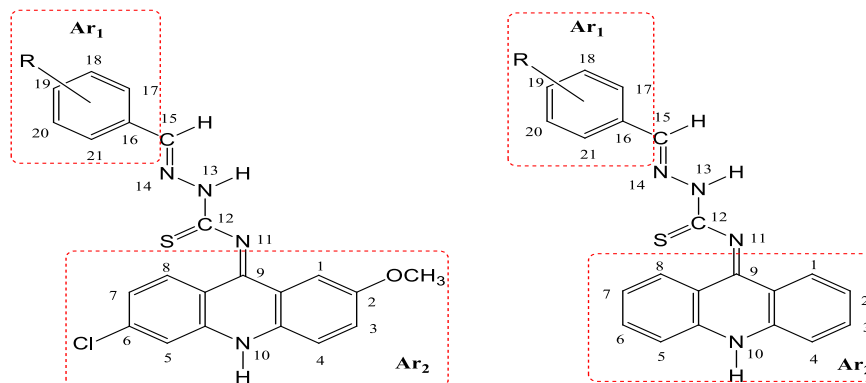
**Figura 36** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da GLCL-06.



Fonte: Próprio autor.

Figura 37 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da GLCL-06.



**Tabela 11** - Dados do RMN de  $^1\text{H}$  dos compostos sintetizados da série GLDL.

Composto	Aromáticos ( $\delta$ )	H-10( $\delta$ )	H-13( $\delta$ )	H-15( $\delta$ )	H-(OCH <sub>3</sub> ) ( $\delta$ )
GLDL-01	7,78 (m, 2H), 7,70 – 7,53 (m, 3H) 8,24 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,88 – 7,34 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,31 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 2,7 Hz, 1H).	9,07 (s, 1H)	9,16 (s, 1H)	6,91 (s, 1H)	3,82 (s, 3H)
GLDL-02	7,68 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,87 (d, J = 8,3 Hz, 2H) 8,31 (s, 1H), 8,21 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,61 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,34 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,78 (d, J = 2,8 Hz, 1H),	9,16 (s, 1H)	9,21 (s, 1H)	6,93 (s, 1H)	3,82 (s, 3H)
GLDL-03	7,74 (d, J = 2,6 Hz, 2H), 6,88 – 6,85 (m, 2H) 8,39 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 8,28 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,77 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,71 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,67 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 2,7 Hz, 1H)	9,08 (s, 1H)	9,16 (s, 1H)	6,92 (s, 1H)	3,83 (s, 3H), 3,73 (s, 3H).
GLDL-04	7,65 – 7,63 (m, 2H), 7,55 – 7,44 (m, 2H) 8,59 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,21 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 13,9 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 2,7 Hz, 1H)	9,22 (s, 1H)	9,33 (s, 1H)	6,84 (s, 1H)	3,84 (s, 3H).
GLDL-05	8,13 (s, 4H) 8,29 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 8,18(d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,65(dd, J = 8,7, 1,5 Hz, 1H), 7,64 – 7,60 (m, 1H), 7,58 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 2,7 Hz, 1H)	9,26 (s, 1H)	9,32 (s, 1H)	7,04 (s, 1H)	3,82 (s, 3H).
GLDL-06	8,40 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 8,30(d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,75(t, J = 2,3, 1H), 7,72 – 7,70 (m, 2H), 7,66 (d, J = 8,9 Hz, 2H); 7,12 (d, J = 8,0 Hz, 2H) 7,58 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 2,7 Hz, 1H)	9,11 (s, 1H)	9,22 (s, 1H)	6,92 (s, 1H)	3,83 (s, 1H) 2,26 (s, 1H) *

\*referente ao radical CH<sub>3</sub>

**Tabela 12** - Dados do RMN de  $^1\text{H}$  dos compostos sintetizados da série GLCL.

Composto	Aromáticos ( $\delta$ )	Acridona (N-H)	H-10( $\delta$ )	H-13( $\delta$ )	H-15( $\delta$ )	H-(OCH <sub>3</sub> )
GLCL-01	8,29 (dt 8,8, 1,0 Hz, 2H) 7,89 (ddd, J=8,8, 4,4, 3,6Hz, 2H) 7,76 (t, j=1,5Hz, 2H), 7,73 (t, J=1,6Hz, 2H), 7,70 (d, J=1,6Hz, 1H)	11,72 (s)	9,15 (s, 1H)	9,09 (s, 1H)	6,74 (s, 1H)	-
GLCL-02	8,08 (m, 2H), 7,78 (d, J = 3,9 Hz, 3H), 8,49 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 8,23 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,83 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,37 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,25 (t, J = 7,5 Hz, 1H)	11,88 (s)	9,28 (s, 1H)	9,33 (s, 1H)	6,92 (s, 1H)	-
GLCL-03	8,26 – 8,20 (m, 2H), 7,25 (ddd, J = 8,1, 6,9, 1,1 Hz, 2H) 8,47 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 8,07 (ddd, J = 8,5, 5,4, 2,6 Hz, 2H), 7,82 – 7,68 (m, 7H), 7,58 (dt, J = 8,3, 0,8 Hz, 2H) 6,86 (d, J = 2,1 Hz, 2H),	11,89 (s)	9,17 (s, 1H)	9,23 (s, 1H)	6,83 (s, 1H)	3,73 (s, 3H).
GLCL-04	8,61 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 8,37 – 8,28 (m,2H), 8,29 (d, 1,0Hz, 1H), 7,92 (ddd, J=8,8, 5,8, 2,2 Hz, 3H) 7,70 – 7,67 (m,2H), 7,67 – 7,64 (m,2H), 7,49 – 7,46 (m,2H)	11,65 (s)	9,34 (s, 1H)	9,27 (s, 1H)	6,77 (s, 1H)	-
GLCL-05	8,24 (q, J=0,9 Hz, 2H), 8,21 (q, J=1,2Hz, 2H), 8,11 (t, J=1,0 Hz, 4H), 7,70 (t, J=1,0 Hz, 2H), 7,69 (d, J=1,0 Hz, 2H)	11,70 (s)	9,37 (s, 1H)	9,33 (s, 1H)	6,97 (s, 1H)	-
GLCL-06	8,41 (dd, J=8,8, 1,0, 2H), 8,03 (dt, J= 8,6, 4,0 Hz, 2H), 7,75 (d, J=3,2 Hz, 3H), 7,74 – 7,72 (m, 2H), 7,11 (d, J=8,0 Hz, 2H)	11,80 (s)	9,23 (s, 1H)	9,14 (s, 1H)	6,82 (s, 1H)	2,26 (s, 1H) *

\*referente ao radical CH<sub>3</sub>



**Tabela 13** - Dados do RMN de  $^{13}\text{C}$  dos compostos sintetizados da série GLDL.

Composto	Aromáticos ( $\delta$ )	C-15 ( $\delta$ )	C-12( $\delta$ )	C-(OCH <sub>3</sub> )
GLDL-01	158,27; 147,33; 147,29; 138,73; 134,18; 133,40; 131,41; 130,31; 128,38; 128,08; 127,71; 126,24; 125,23; 124,94; 122,47; 98,53	142,82	180,39	55,64
GLDL-02	158,44; 146,42; 139,78; 134,91; 132,44; 130,49; 129,82; 128,47; 128,71; 126,96; 125,42; 125,12; 122,63; 98,72	141,89	180,38	55,77
GLDL-03	158,55; 161,15; 145,11; 143,39; 141,68; 135,86; 129,90; 128,97; 127,89; 125,96; 125,82; 125,43; 122,98; 113,91; 99,08	144,94	180,00	55,86; 55,28
GLDL-04	147,37; 137,89; 137,08; 134,32; 134,05; 131,76; 129,51; 129,31; 129,05; 128,77; 128,05; 127,73; 126,47; 124,75; 121,95; 98,34.	135,56	180,52	55,76
GLDL-05	158,40; 147,88; 147,36; 139,87; 138,45; 134,27; 131,52; 129,07; 128,58; 127,80; 126,36; 125,10; 124,85; 123,47; 122,35; 98,45.	140,60	180,67	55,72
GLDL-06	158,50; 145,14; 144,99; 140,77; 130,70; 129,05; 129,00; 128,14; 125,77; 125,40; 117,91; 99,01	143,52	180,14	55,88; 21,00 *

\*referente ao radical CH<sub>3</sub>

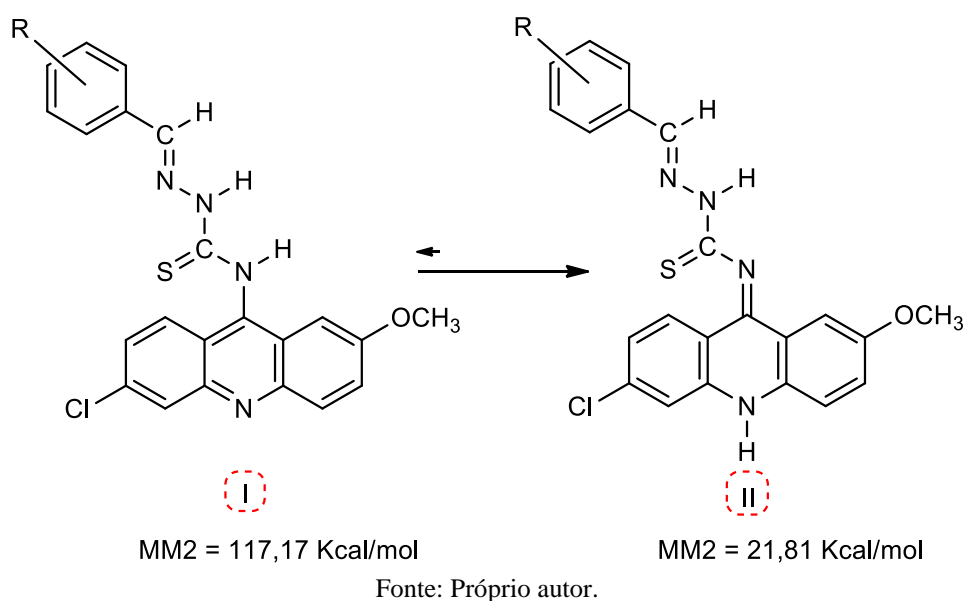
**Tabela 14-** Dados do RMN de  $^{13}\text{C}$  dos compostos sintetizados da série GLCL.

Composto	Aromáticos ( $\delta$ )	Acridona ( $\delta$ )	C-15 ( $\delta$ )	C-12( $\delta$ )	C-(OCH <sub>3</sub> ) ( $\delta$ )
GLCL-01	176,69; 149,48; 130,66; 130,45; 129,84; 128,39; 128,04; 127,58; 125,96; 123,71; 123,20.	176,47; 140,84; 133,40; 120,95; 120,44; 117,27	142,50	176,69	-
GLCL-02	133,35; 129,73; 128,50; 125,94; 124,23; 123,78.	140,87; 132,33; 120,92; 117,31.	142,30	180,39	-
GLCL-03	161,15; 120,92; 120,43; 129,82; 161,15; 145,90; 140,87; 133,35; 128,37; 117,30; 113,89.	176,71; 125,94; 125,89; 124,36; 123,89.	143,44	180,14	55,26
GLCL-04	140,05; 136,98; 135,59; 134,72; 133,70; 133,44; 131,07; 130,63; 129,73; 129,42; 129,22; 129,15; 129,08; 128,66; 128,44; 127,79; 127,63; 125,99; 123,16; 123,02	178,26; 140,86; 133,99; 120,99; 120,46; 117,31	149,25	180,77	-
GLCL-05	151,41; 131,68; 128,99; 128,11; 128,02; 125,95; 123,72; 123,47; 123,26	178,45; 140,70; 133,30; 120,94; 120,43; 117,28.	147,54	180,83	-
GLCL-06	153,59; 146,76; 140,39; 132,80; 130,63; 128,21; 128,04; 126,90; 125,95; 124,16; 123,70	176,70; 140,35; 133,38; 120,93; 120,43; 117,29	143,34	180,35	20,97*

\*referente ao radical CH<sub>3</sub> Fonte: Próprio autor.

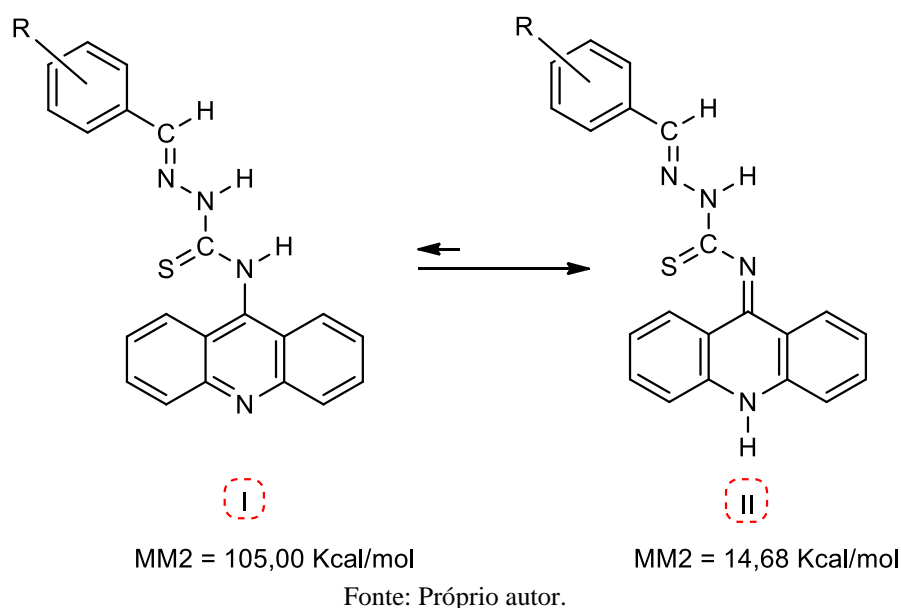
Uma possível justificativa para a conformação com hidrogênio na posição H-10 é encontrada com a utilização do cálculo de MM2, que segundo Carvalho (2003), consistem em estudos mecânicos moleculares com o núcleo dos átomos, determinando as possíveis interações moleculares resultantes do estiramento das ligações, as deformações angulares, torcionais e espaciais, calculando assim uma energia de molécula mais estável com parâmetros na energia do metano (1Kj/mol). Em consonância com esses parâmetros obteve-se dados de MM2 para as dois tautômeros da série GLDL, apresentados no esquema 12. A forma I apresentou valor de MM2 de 117,17 Kcal/mol, para o confôrmero II o valor de apresentou-se em 21,81 Kcal/mol, justificando a predominância, nesse caso, deste confôrmero (II), por exibir uma menor energia para sua existência, sua presença é mais favorável para a reação.

**Esquema 12** – Tautomerismo proposto para compostos com o núcleo substituído.



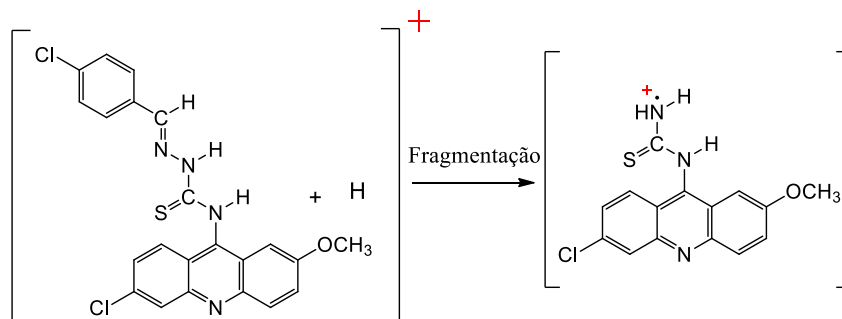
Em concordância com os resultados acima, o estudo de MM2 ainda trouxe resultados para a série GLCL, que apresentou o confôrmero II (Esquema 13) como mais estável, com valor de energia mínima em 14,68 Kcal/mol, comparando com os resultados para a isomeria I, energia mínima 105,00 Kcal/mol, justificando sua prevalência reacional.

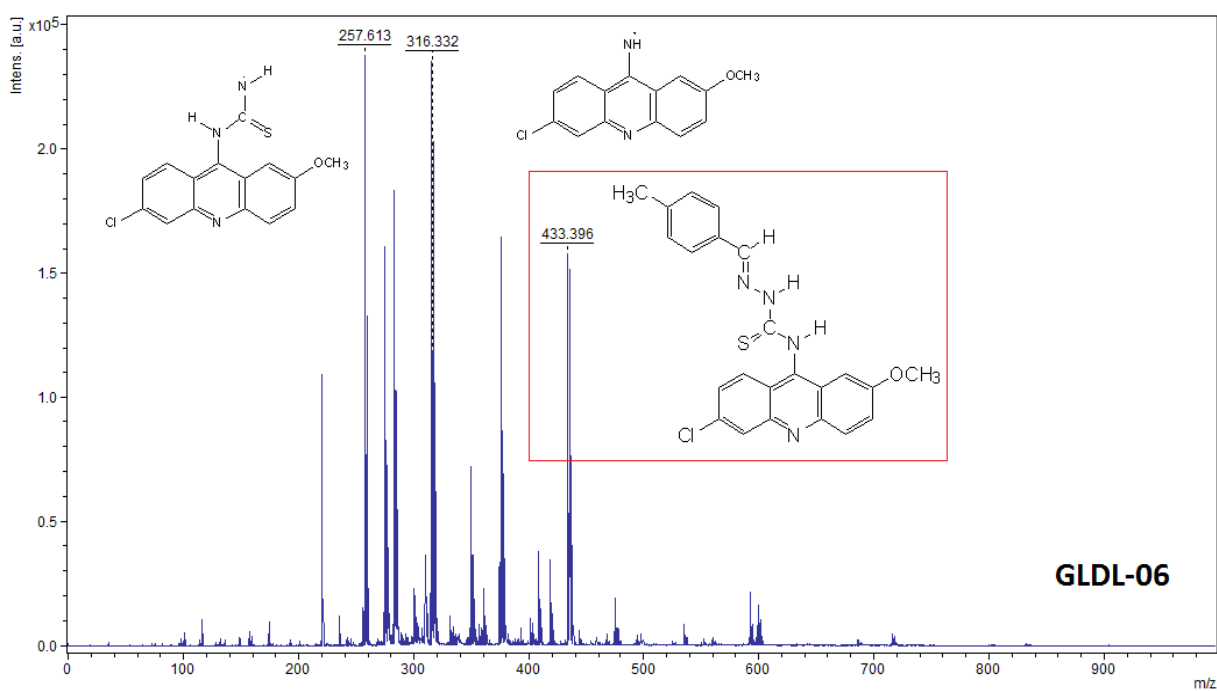
**Esquema 13** – Tautomerismo proposto para compostos com o núcleo não substituídos.



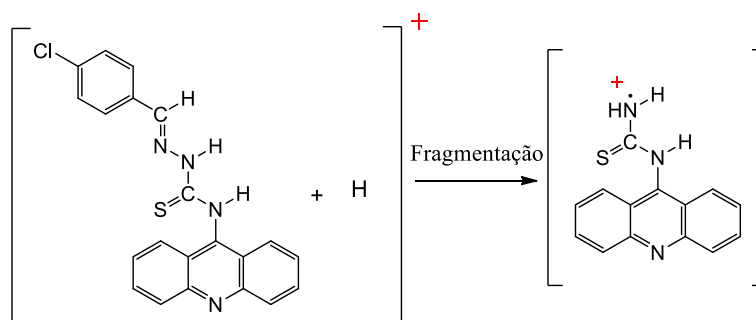
Com relação à caracterização dos derivados acridínicos da tiossemicarbazida por espectrometria de massas, MALDI – TOF, pode -se observar nos espectros (Apêndice C) a presença de picos referentes ao íon molecular  $[M+H]^+$  de cada análogo e picos referentes a possíveis fragmentações geradas na quebra da ligação dos nitrogênios da tiossemicarbazida, como em outros pontos da molécula. Os esquemas 14 e 15 apresentam as principais fragmentações identificadas nos espectros das figuras 38 e 39 das moléculas GLDL-06 e GLCL-06, respectivamente.

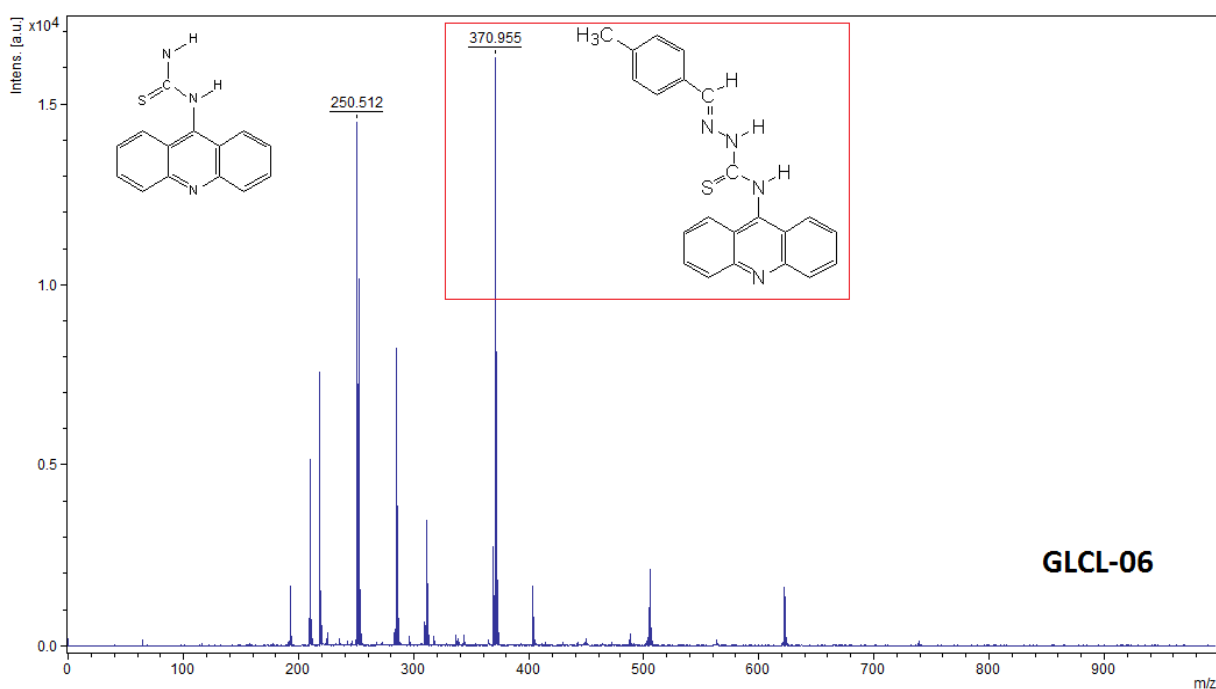
**Esquema 14** – Fragmentação na série GLDL, mais especificamente no composto 06.



**Figura 38** – Espectro de massa do composto GLDL-06.

Fonte: Próprio autor.

**Esquema 15** – Fragmentação na série GLCL, mais especificamente no composto 06.

**Figura 39** – Espectro de massa do composto GLCL-06.

Fonte: Próprio autor.

Concordando com os dados apresentados anteriormente, a tabela 15 apresenta os dados das massas exatas dos íons moleculares, os valores das massas calculadas, como também as massas reais encontradas. A grande maioria dos compostos tiveram uma pequena diferença entre a massa calculada e massa encontrada dos seus íons moleculares, porém essa diferença apresentou valores inferiores ou próximos de 1, tendo como exceção o íon molecular da 9-cloroacridina, que como relatado na literatura pode apresentar massa acrescida de 3 hidrogênios,  $[M+H]^{3+}$ .

**Tabela 15** - Dados das massas exatas dos íons moleculares.

COMPOSTO	MASSA CALCULADA[M/Z]	[M+H] <sup>+</sup>	MASSA E NCONTRADA
<b>GLDL-01</b>	420,923	421,931	421,328
<b>GLDL-02</b>	455,368	456,376	455,466
<b>GLDL-03</b>	450,949	451,957	451,507
<b>GLDL-04</b>	489,813	490,821	489,602
<b>GLDL-05</b>	465,920	466,928	466,575
<b>GLDL-06</b>	434,950	435,958	435,435
<b>GLCL-01</b>	356,452	357,460	356,808
<b>GLCL-02</b>	390,897	391,905	391,095
<b>GLCL-03</b>	386,478	387,486	387,105
<b>GLCL-04</b>	425,342	426,350	425,302
<b>GLCL-05</b>	401,449	402,457	402,198
<b>GLCL-06</b>	370,479	371,487	370,955
<b>9-CLORO</b>	213,667	216,691*	216,036

\*[M+H]<sup>3+</sup>

As técnicas espectroscópicas têm capacidade de fornecer uma impressão digital de um composto (*fingerprint*). A espectroscopia na região do ultravioleta e visível (UV- Vis) caracteriza-se pela transição de átomos ou moléculas de um estado de energia mais baixa (inicial ou estado fundamental) para um estado de energia maior (estado excitado) em níveis eletrônicos. Os núcleos determinam a intensidade com a qual os elétrons estão ligados e, portanto, influenciam no espaçamento de energia entre os estados fundamental e excitado. Então, a energia característica de uma transição como também sua energia absorvida, tornam-se propriedades de um grupo de átomos, chamados de cromóforos (PAVIA, 2010).

Apresenta-se na tabela 16, as principais bandas de absorbância identificadas no estudo de ultravioleta/visível (UV-Vis) dos novos derivados sintetizados. Segundo Rao (1958) que estudou compostos heterocíclicos nitrogenados, o núcleo acridínico tem por características duas

bandas de absorção, a primeira na região de 250 nm, que apresenta intensidade máxima e a segunda por volta de 358 nm, com intensidade relativamente baixa e de difícil detecção. Para os compostos acridínicos sem substituição, série GLCL, a principal banda identificada variou entre 241 a 252 nm associada ao núcleo acridínico que, em relação ao benzeno, apresenta características como coplanariedade e conjugação, justificando assim, bandas de absorção em maiores comprimentos de onda, efeito batocrômico. A série GLDL por apresentar substituintes com pares de elétrons disponíveis que, aumenta o efeito de conjugação ao anel, apontou absorções entre 255 a 264 nm.

Em relação as substituições no anel superior ( $Ar_1$ ), ligado a tiossemicarbazida, identificou-se uma correlação com os parâmetros eletrônicos que cada substituinte proporciona a molécula. Segundo Pavia (2010) qualquer substituinte poderá influenciar na distribuição de elétrons na molécula aromática, e assim proporcionar uma absorção em um comprimento de onda maior. O caráter retirador de um substituinte não o credencia a exercer nenhum efeito na absorção secundária da estrutura, a não ser que este grupo também tenha características para ser um cromóforo. Porém, grupos que doam elétrons aumentam interferem tanto no comprimento de onda quanto na intensidade da banda de absorção (PAVIA, 2010). Os efeitos foram identificados nas duas séries, os espectros apresentados nas figuras 40 e 41 e as bandas de absorção na tabela 16 mostram o efeito batocrômico de todas as substituições, onde o nitro proporcionou sempre o maior deslocamento, seguido pelo 2,4 dicloro e o radical metoxila. A hiperconjugação proporcionada por substituintes alquilas na posição para, compostos GLDL-06 e GLCL-06, atribuem ao mesmo também efeitos batocrômicos ao anel.

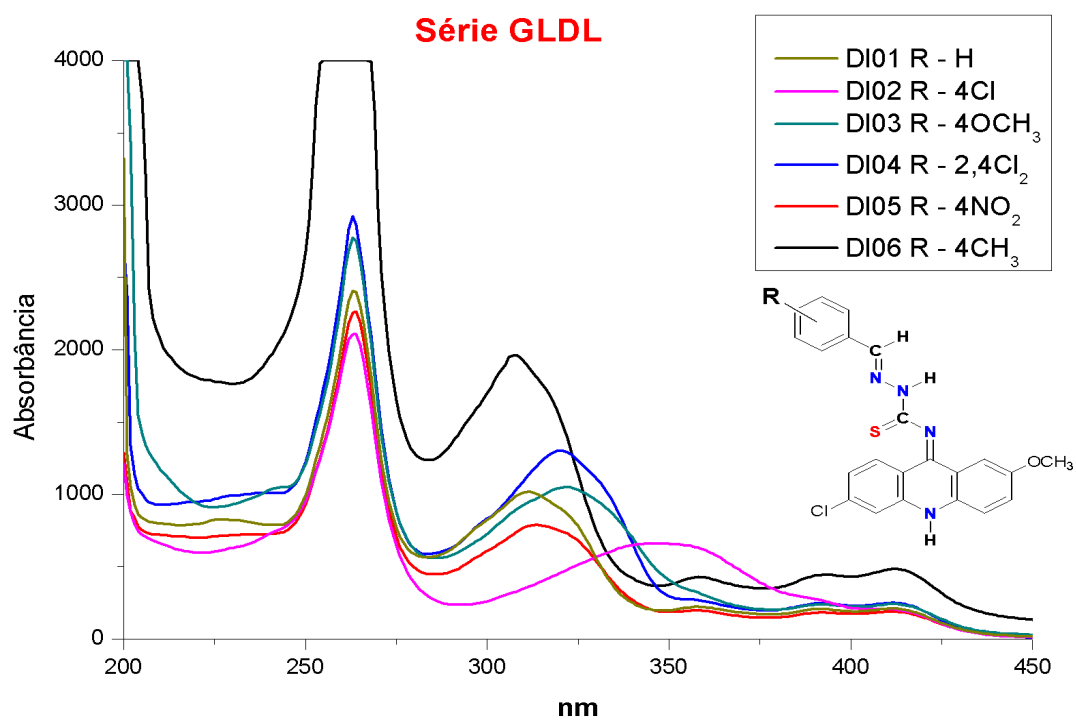
**Tabela 16** – Principais bandas de absorção UV – Vis para os compostos sintetizados.

COMPOSTO	GLDL-01	GLDL-02	GLDL-03	GLDL-04	GLDL-05	GLDL-06
$\lambda$ (nm)	255	264	263	263	264	263
	308	314	320	321	345	311
COMPOSTO	GLCL-01	GLCL-02	GLCL-03	GLCL-04	GLCL-05	GLCL-06
$\lambda$ (nm)	252	251	250	241	250	251
	310	315	320	324	351	312

Fonte: Próprio autor.

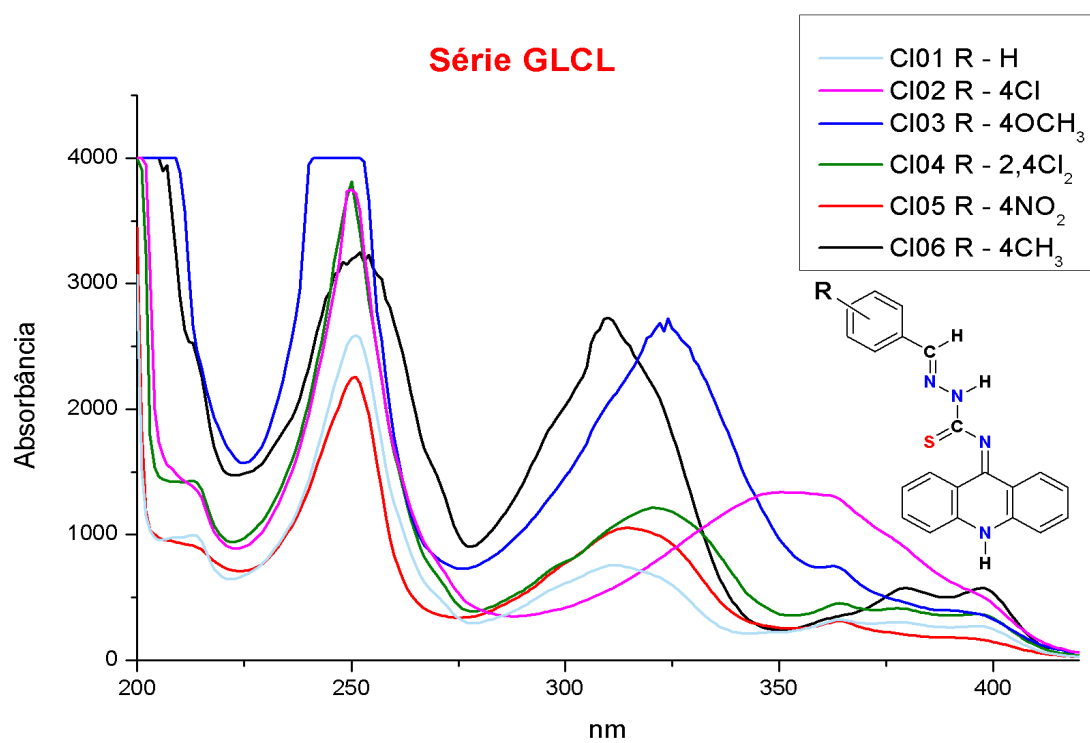


**Figura 40** – Espectroscopia do UV - Vis da série GLDL.



Fonte: Próprio autor.

**Figura 41** – Espectroscopia do UV - Vis da série GLCL.



Fonte: Próprio autor.

Destaca-se ainda a importância deste estudo que, possibilita construir um perfil de absorção dos novos derivados, para que, posteriormente, possa ser utilizado em análises de interações com diferentes alvos, acompanhadas por absorvância, como, a interação com o DNA.

#### **5.4 Interação com DNA e BSA.**

Como discutido anteriormente, a ligação de moléculas ao DNA pode induzir a importantes alterações nas propriedades estruturais, como também, na transcrição, replicação e expressão genética das células, motivando uma possível alteração em sua função fisiológica (ZHU et al., 2014). A indução a apoptose das células cancerígenas, influenciada pelas alterações citadas acima, compõe um importante estudo utilizado na criação de agentes quimioterápicos, em sua maioria antitumorais que, exercem seus efeitos por atuação no DNA (HOSSAN; KUMAR, 2009; JAIN; BHATTACHARYA, 2011).

A espectroscopia eletrônica de absorção é uma das técnicas mais utilizadas para a avaliação da ligação entre o DNA e ligantes anormais a sua estrutura. O espectro de absorção na região do UV-Vis do DNA, caracterizada por uma banda em 260nm, atribuída aos grupos cromóforos presentes nas bases nitrogenadas, é responsável por qualificar as interações sofridas pela estrutura do DNA com os novos ligantes (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013).

Alguns efeitos importantes podem ser observados ao estudo de espectroscopia de absorção do DNA, alguns são relacionados diretamente com as formas de interação dos ligantes com a estrutura do DNA. No geral, o efeito chamado hipocromismo associado a um desvio forte para região do vermelho, conhecido como batocromismo, é considerado indicador da intercalação de pequenas moléculas ao DNA, derivado de um forte empilhamento dos pares de cromóforos (CHEN et al., 2011). Na interação de um composto ao DNA por intercalação, o orbital  $\pi^*$  do ligante pode interagir com o orbital  $\pi$  das bases do DNA, resultando em uma menor energia para transição  $\pi$ - $\pi^*$ , característica de um efeito batocrômico. Diferentemente, o orbital  $\pi$  está parcialmente preenchido com elétrons, reduzindo a probabilidade das transições e, favorecendo um efeito conhecido como hipocromismo (GAO et al., 2010). Complementando este estudo, o efeito de hipercromismo, inverso do hipocromismo, caracteriza a interação como possível atração eletrostática ou por ligação covalente (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013). A intensidade dessa interação DNA e ligante pode ser calculada por uma constante denominada  $K_b$  que, tem fundamentação na equação de Benesi-Hildebrand (MUDASIR; INOUE, 1999).<sup>1</sup>

A tabela 17 apresenta as propriedades absorptivas dos novos derivados

tiossemicarbazônicos-acridínicos com o DNA.

**Tabela 17** – Propriedades absorptivas dos compostos sintetizados com o DNA.

<b>PROPRIEDADES ABSORTIVAS</b>						
<b>COMPOSTO + DNA</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> livre (nm)</b>	<b><math>\lambda_{\text{máx}}</math> ligado (nm)</b>	<b><math>\Delta\lambda</math></b>	<b>Hipercromismo</b>	<b>Hipocromismo</b>	<b>Kb (<math>M^{-1}</math>)</b>
<b>GLDL-01</b>	<b>333</b>	<b>318</b>	<b>15</b>	<b>35.68%</b>	<b>-</b>	<b><math>6.24 \times 10^5</math></b>
<b>GLDL-02</b>	<b>336</b>	<b>322</b>	<b>14</b>	<b>42.16%</b>	<b>-</b>	<b><math>1,91 \times 10^7</math></b>
<b>GLDL-03</b>	<b>338</b>	<b>328</b>	<b>10</b>	<b>49.88%</b>	<b>-</b>	<b><math>1,08 \times 10^4</math></b>
<b>GLDL-04</b>	<b>337</b>	<b>332</b>	<b>5</b>	<b>24.27%</b>	<b>-</b>	<b><math>5,90 \times 10^5</math></b>
<b>GLDL-05</b>	<b>366</b>	<b>364</b>	<b>2</b>	<b>16.32%</b>	<b>-</b>	<b><math>6,18 \times 10^4</math></b>
<b>GLDL-06</b>	<b>332</b>	<b>326</b>	<b>6</b>	<b>20.34%</b>	<b>-</b>	<b><math>5,83 \times 10^5</math></b>
<b>GLCL-01</b>	<b>385</b>	<b>385</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<b>6.48%</b>	<b><math>2.17 \times 10^5</math></b>
<b>GLCL-02</b>	<b>312</b>	<b>317</b>	<b>5</b>	<b>2.74%</b>	<b>-</b>	<b><math>6.35 \times 10^4</math></b>
<b>GLCL-03</b>	<b>318</b>	<b>318</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<b>20.30%</b>	<b><math>6.02 \times 10^4</math></b>
<b>GLCL-04</b>	<b>318</b>	<b>318</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<b>0.54%</b>	<b><math>1,38 \times 10^5</math></b>
<b>GLCL-05</b>	<b>346</b>	<b>346</b>	<b>0</b>	<b>-</b>	<b>8.39%</b>	<b><math>3.74 \times 10^4</math></b>
<b>GLCL-06</b>	<b>310</b>	<b>312</b>	<b>2</b>	<b>-</b>	<b>47.53%</b>	<b><math>2.95 \times 10^4</math></b>

Fonte: Próprio autor.

Destaca-se o efeito hiperacrômico apresentado na série GLDL com desvio para o azul, hipsocrômico (2-15 nm), onde a maior alteração de intensidade de absorção aconteceu com o composto GLDL-03 que apresentou um hiperacrômico de 49,88%. Por outro lado, a série GLCL apresentou, em sua grande parte, efeitos hipsocrômicos, alternando em certos momentos os efeitos com o aumento da concentração do DNA na análise. O composto GLCL-06 apontou um maior desvio de absorção com 47,53% de hipsocrômico. Ambos os efeitos, hiperacrômico e hipsocrômico são indicadores de possíveis alterações provocadas na estrutura da dupla hélice do DNA após ligação com os derivados (LAFAYETTE et al., 2013). Notadamente, o hiperacrômico origina-se a partir da cisão da estrutura secundária do DNA com contração no eixo da hélice; ao contrário do hipsocrômico que resulta da estabilização da cadeia dupla do DNA, que se dá através da intercalação, efeito eletrostático ou por ligação nos sulcos (STREKOWSKI; WILSON, 2007; KASHANIAN; DOLATABADI, 2009; LAFAYETTE et al., 2013).

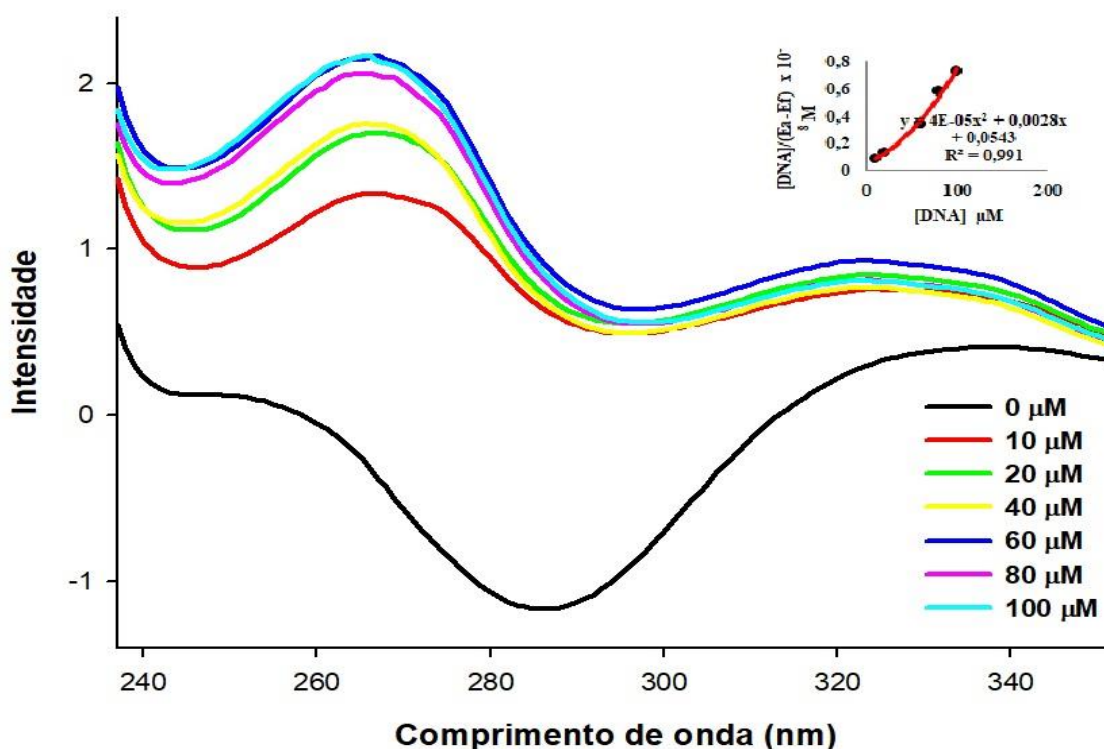
Segundo Ihmels (2005) as constantes de ligação de DNA ( $K_b$ ), para complexos de intercalação entre compostos orgânicos e o DNA variam entre  $1 \times 10^4$  a  $1 \times 10^6 M^{-1}$  e, as

constantes que retratam compostos que apresentam ligações ao sulco variam entre  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ . Tomando como base as referências citadas os compostos da série GLDL 01, 02, 03 e 06 apresentaram  $K_b > 1 \times 10^5$ , caracterizando um possível potencial de ligação aos sulcos, os compostos GLDL 03 ( $K_b = 1,08 \times 10^4$ ) e 05 ( $K_b = 6,18 \times 10^4$ ) se apresentaram como potenciais intercaladores de DNA. Os derivados da série GLCL 01 ( $K_b = 2,17 \times 10^5$ ) e 04 ( $K_b = 1,38 \times 10^5$ ) também demonstraram fazer interações com os sulcos, os demais desta série tiveram  $K_b$  entre  $1 \times 10^4$  e  $1 \times 10^5$ , apontando sua forma de interação com o DNA, a intercalação.

O estudo de intercalação e resultados de interação com o DNA ( $K_b$ ), feito seguindo a metodologia de McGhee e von Hippel (MCGHEE; VON HIPPEL, 1974) mostraram que os derivados acridínicos-tiossemicarbazônicos tiveram fortes interações com o DNA, comparando com os resultados da ligação da amsacrina-DNA que apresentou constante de ligação  $K_b = 1,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  (JANGIR et al., 2012). O mais forte resultado de interação foi apresentado pelo GLDL-02 ( $K_b = 1,91 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ) (Figura 42), caracterizado pela presença de dois átomos de cloro, um no núcleo acridínico e outro no anel aromático ligado a tiossemicarbazida, que, teoricamente tende a aumentar as propriedades hidrofóbicas do ligante, como também, as interações dipolo-dipolo no local de ligação (BENNER et al., 2014; ALMEIDA, 2015).

Com toda discussão deste estudo de interação com o DNA, a série GLDL apresentou propriedades intercaladores mais potentes

**Figura 42** – Espectro de absorção GLDL-02 com DNA.



Fonte: Próprio autor.

Um artifício bastante utilizado para acompanhar a eficiência de fármacos no organismo é o estudo da supressão de fluorescência das proteínas induzida pela presença dessas substâncias. Essa modificação pode ser favorecida por diferentes processos como reações no estado excitado, transferência de energia, rearranjos moleculares, colisões moleculares e formação de complexos no estado fundamental (EFTINK et al., 2000). O mecanismo de supressão de fluorescência de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ), também conhecido como supressão dinâmica da fluorescência, tem sido amplamente utilizado no estudo da interação fármaco-proteína (LAFAYETTE et al., 2013; PAUL; GHOSH; MUKHERJEE, 2014; TIKHONOVA et al., 2014; LEUNG et al., 2014).

A tabela 18 apresenta as propriedades emissivas dos novos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos com o BSA. Destaca-se o efeito hipocrômico apresentado em todos os compostos e o batocrômico com deslocamento variando entre 1 a 15 nm, onde a maior alteração de intensidade de absorção aconteceu com o composto GLDL-05 que apresentou um hipocromismo de 418,72%. O composto GLCL-06 apontou um maior desvio de absorção com 281,69% de hipocromismo. A série GLDL proporcionou nitidamente mais interações com o alvo que a GLCL, apresentando como maior constante de supressão o composto GLDL-05 ( $K_{sv} = 11.84 \times 10^4$ ) (Figura 43). Todos os novos derivados demonstraram ter uma boa interação com o BSA, indicando duas possibilidades de mecanismo: (i) estático, a formação de um complexo entre o inibidor e a BSA; (ii) dinâmico, uma interação colisional (WANG et al., 2014).

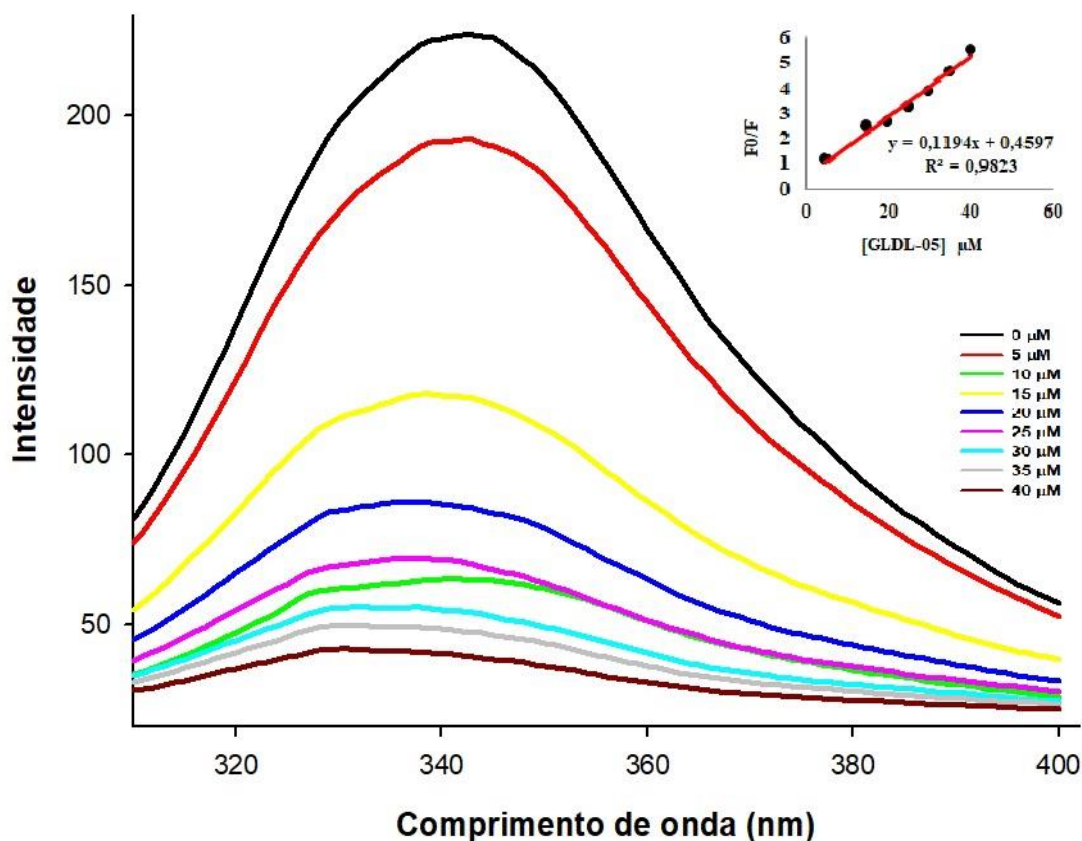
Sobre a interação com o BSA, ressalta-se a importância em sua moderação, pois, como a mesma é uma proteína transportadora, a substância quando chega no seu alvo terá que apresentar mais afinidade ao receptor farmacológico que com o HSA, no caso do estudo utilizou-se o BSA, caso contrário o aumento da dose seria necessário para garantir o resposta biológica do composto.

Tabela 18 – Propriedades emissivas dos compostos sintetizados com o BSA.

PROPRIEDADES EMISSIVAS					
COMPOSTO + BSA	$\lambda_{\text{máx livre}}$ (nm)	$\lambda_{\text{máx ligado}}$ (nm)	$\Delta\lambda$	Hipocromismo	Ksv ( $\text{M}^{-1}$ )
GLDL-01	342	348	6	299.15%	$7.03 \times 10^4$
GLDL-02	342	353	11	323.84%	$9.15 \times 10^4$
GLDL-03	342	357	15	361.70%	$10.65 \times 10^4$
GLDL-04	342	355	13	344.44%	$9.95 \times 10^4$
GLDL-05	342	336	6	418.72%	$11.94 \times 10^4$
GLDL-06	342	350	8	292.22%	$6.68 \times 10^4$
GLCL-01	342	341	1	79%	$3.88 \times 10^4$
GLCL-02	342	341	1	57%	$7.19 \times 10^4$
GLCL-03	341	349	8	62%	$4.78 \times 10^4$
GLCL-04	342	349	7	63%	$4.76 \times 10^4$
GLCL-05	342	332	10	274.49%	$7.48 \times 10^4$
GLCL-06	342	345	3	281.69%	$7.66 \times 10^4$

Fonte: Próprio autor.

Figura 43 – Espectro de emissão GLDL-05 com BSA.



Fonte: Próprio autor.

## 5.5 Citotoxicidade

### 5.5.1 Citotoxicidade em linhagens celulares.

A redução do MTT é um método colorimétrico rápido, muito utilizado para avaliar proliferação celular e citotoxicidade (MOSMANN, 1983). O MCF-7 são células de câncer de mama, um tipo de tumor sólido e a HL-60, células de leucemia promielocítica aguda. Os resultados são expressos como média  $\pm$  erro padrão de experimentos independentes em triplicata, testados na concentração de 50  $\mu$ M. Os dados foram analisados por ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey, apresentando citotoxicidade conforme a Tabela 19.

**Tabela 19:** Citotoxicidade dos novos derivados frente as células MCF-7, HL60 e HCT.

COMPOSTO	% INIBIÇÃO		
	MCF-7	HL60	HCT
GLDL 01	0,00 $\pm$ 0,07	67,89 $\pm$ 0,02	47,51 $\pm$ 0,50
GLDL 02	0,00 $\pm$ 0,03	61,57 $\pm$ 0,02	22,33 $\pm$ 2,29
GLDL 03	0,00 $\pm$ 0,06	13,19 $\pm$ 0,08	12,12 $\pm$ 1,67
GLDL 04	9,02 $\pm$ 0,02	49,65 $\pm$ 0,05	34,99 $\pm$ 1,85
GLDL 05	23,17 $\pm$ 0,05	17,90 $\pm$ 0,06	17,21 $\pm$ 0,65
GLDL 06	0,00 $\pm$ 0,06	50,92 $\pm$ 0,02	5,98 $\pm$ 3,02
GLCL 01	56,38 $\pm$ 0,03	25,33 $\pm$ 0,04	50,20 $\pm$ 1,63
GLCL 02	42,68 $\pm$ 0,01	2,99 $\pm$ 0,05	53,49 $\pm$ 5,85
GLCL 03	39,36 $\pm$ 0,02	51,92 $\pm$ 0,01	66,86 $\pm$ 0,67
GLCL 04	55,09 $\pm$ 0,06	83,68 $\pm$ 0,01	51,3 $\pm$ 2,23
GLCL 05	32,40 $\pm$ 0,01	68,34 $\pm$ 0,01	41,05 $\pm$ 1,84
GLCL 06	39,51 $\pm$ 0,05	69,95 $\pm$ 0,01	42,85 $\pm$ 0,89

\*  $p < 0,05$  em relação ao controle não tratado \*\* testes sendo refeitos.

Fonte: Próprio autor.

Nesse contexto, a substância GLCL-04 apresentou efeitos inibitórios marcados diretamente no crescimento de células de leucemia, linhagem HL60, o que motivou a realização da curva de concentração dessa amostra nas duas linhagens testadas, a fim de calcular a  $CI_{50}$ , determinada a partir de experimentos independentes em quadruplicata. A tabela 20 mostra os resultados de  $CI_{50}$  do composto GLCL-04 frente as duas linhagens testadas.

**Tabela 20:** Determinação da  $CI_{50}$  da amostra GLCL 04 nas células MCF-7 e HL60 após 72 h de tratamento.

Composto	$CI_{50}$ ( $\mu$ M)	
	HL60	MCF-7
GLCL 04	14,88	57,64

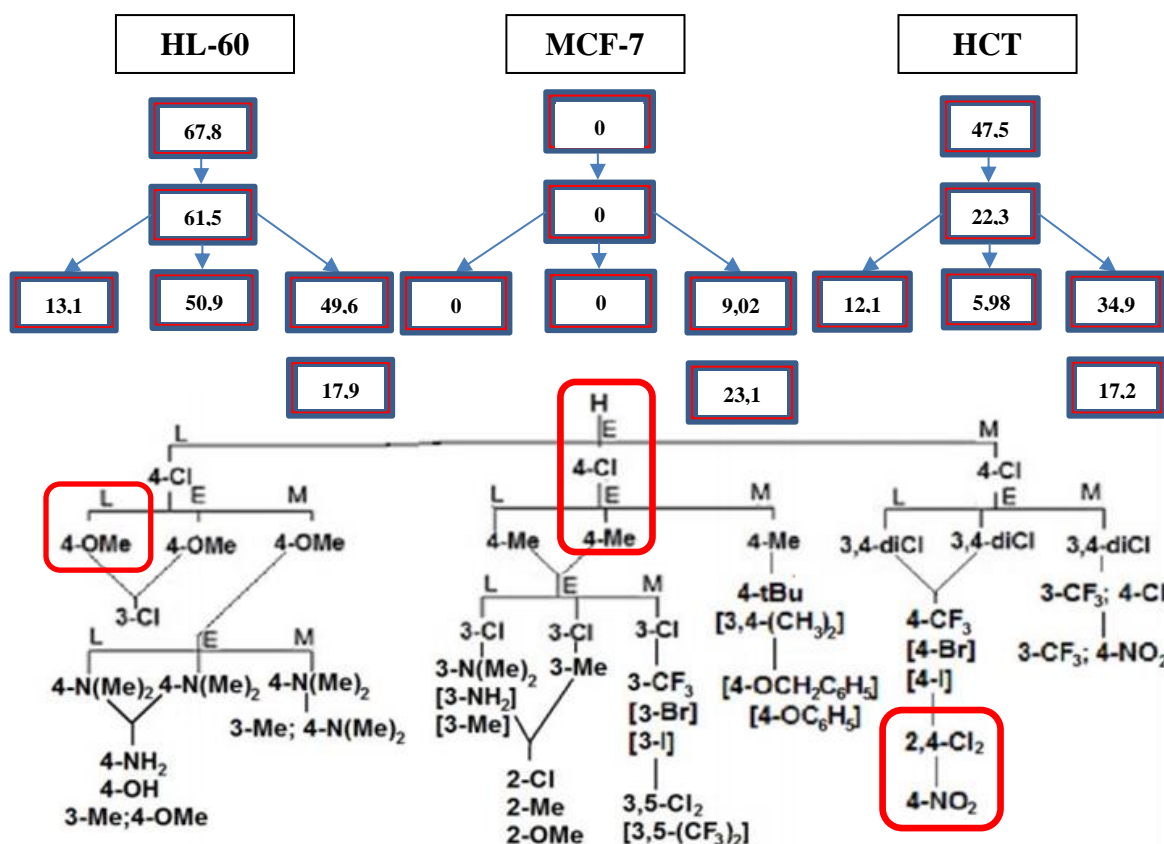
Fonte: Próprio autor.

A partir dos resultados obtidos de interação com o DNA e os de citotoxicidades testadas, apotaram para possibilidade de outros mecanismos de ação envolvidos na potencialidade biológica destes compostos, visto que, os resultados se mostraram ambíguos, demonstrando uma alta interação com o DNA, mas baixo potencial citotóxico para as linhagens testadas. Novos estudos são necessários para direcionar qual seria o mecanismo de ação mais influente para estes novos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos.

Como apresentado na figura 44, os compostos apresentaram atividades biológicas seguindo o proposto pela árvore de Topliss, que propôs agrupamentos com parâmetros físico-químicos, como hidrofobicidade e efeitos eletrônicos, que seriam determinantes nas atividades biológicas de uma série de análogos aromáticos substituídos, como é o caso da série GLDL. Para a linhagem celular HL-60 e HCT, as substituições no aromático representaram uma diminuição considerável na atividade dos derivados. O composto GLDL-01 apresentou uma inibição de 67,89% em células HL-60, mostrando que, esta linhagem pode não ser tão sensível aos compostos sintetizados e que, o ideal seria ampliar o estudo para os substituintes, não descartando a potencialidade desses compostos em outras linhagens. Mesmo de forma discreta a atividade frente as células MCF-7 também demonstrou seguir o proposto por Topliss, os derivados GLDL-04 (2,4-Di-Cl<sub>2</sub>) e GLDL-05 (4-NO<sub>2</sub>) aumentaram sua potência frente as células, a medida que aumentava a reatividade do radical substituinte.



**Figura 44** – Relação parâmetros eletrônicos proposto por Topliss e atividade biológica para série GLDL.



Como descrito na seção de caracterização estrutural, a ideia da presença de acridona nos compostos da série GLCL, deve ser determinante para as respostas biológicas de cada derivado, visto que, o composto que apresentou maior percentual de inibição frente às células MCF-7, 56,38%, apresentou cerca de 60% de acridona na estrutura. A presença de duas variáveis, dificulta o estudo de estrutura-atividade para esta série. A elucidação do efeito predominante nesta série para a atividade biológica apenas será possível com a resíntese dos compostos, buscando a pureza dos mesmos, como também, um estudo de potencial do núcleo acridona frente as linhagens testadas.

### 5.5.2 Citotoxicidade no sangue.

A lise celular é o processo de destruição ou dissolução da célula, causada pela ruptura da membrana plasmática; cita-se a hemólise como importante tipo de lise estudado (Tabela 21) neste trabalho. Ela pode ser responsável pela destruição das hemácias, que ocorre naturalmente no meio biológico para renovação dos glóbulos vermelhos, mas que, em quantidades alteradas, podem causar uma anemia regenerativa (REDDY, 2007). Este parâmetro, apresenta-se com

ponto de partida para um estudo citotóxico dos novos derivados acridínicos sintetizados frente a células normais, visto que, o surgimento de resultados de hemólise acima que 30% caracterizariam uma citotoxicidade que descartariam o uso dos novos derivados acridínicos como possíveis fármacos.

O derivado GLCL-04, mais ativo frente a linhagem HL-60, apresentou também maior poder citotóxico frente ao teste de hemólise, acometendo uma característica típica de compostos anticâncer, por apresentar uma toxicidade elevada para células normais. O controle dessa toxicidade e o perfil de seletividade devem ser estudados mais a fundo para corroborar com a segurança e potencialidade desse composto.

**Tabela 21** – Resultado dos testes de hemólise dos derivados sintéticos no sangue tipo O<sup>+</sup>.

<b>Composto</b>	<b>Hemólise (%) 100 µg/ml</b>
<b>GLDL-01</b>	0,37
<b>GLDL-02</b>	0,00
<b>GLDL-03</b>	2,75
<b>GLDL-04</b>	2,38
<b>GLDL-05</b>	2,11
<b>GLDL-06</b>	4,03
<b>GLCL-01</b>	8,10
<b>GLCL-02</b>	0,00
<b>GLCL-03</b>	6,60
<b>GLCL-04</b>	18,24
<b>GLCL-05</b>	2,20
<b>GLCL-06</b>	0,00
<b>Liquido de Turk (Controle Positivo)</b>	<b>100,00</b>

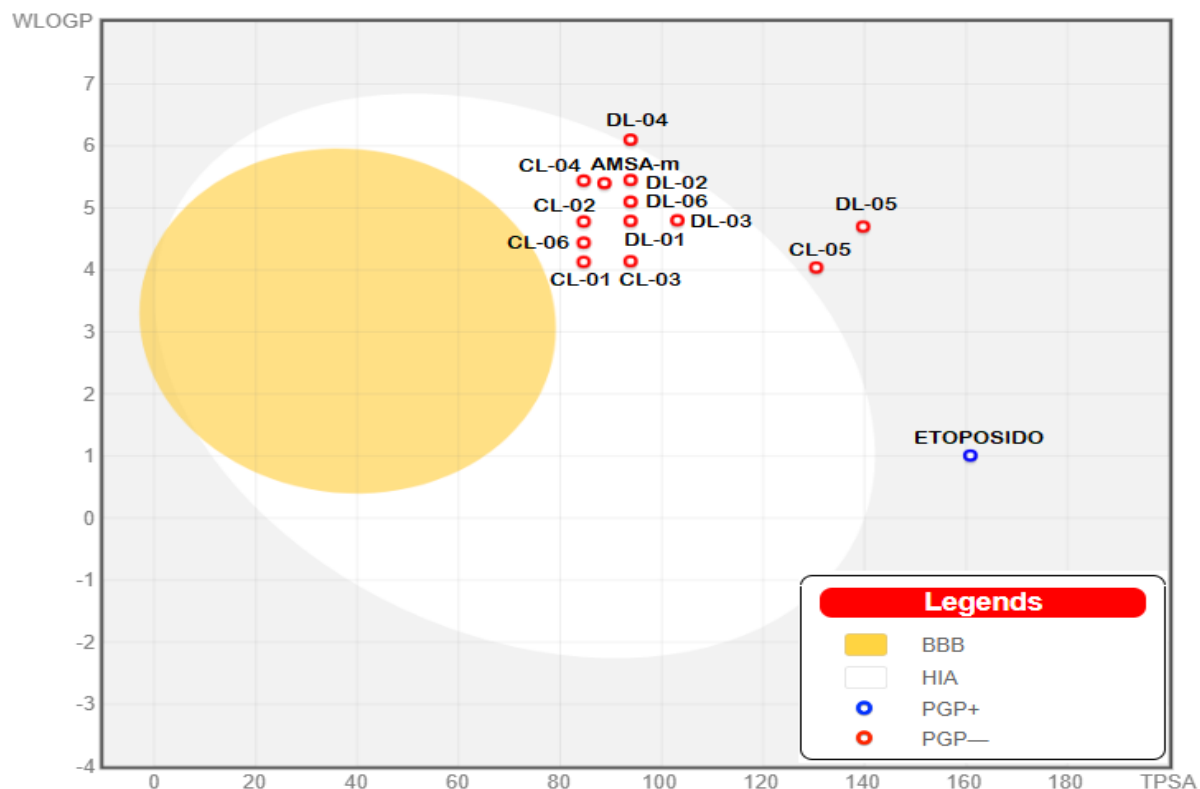
Fonte: Próprio autor.

## 5.6 Predições Farmacocinéticas

O perfil de absorção, distribuição, metabolismo e excreção de um composto (ADME) é de fundamental importância para a discussão no planejamento de um novo fármaco, este, pode contribuir para o aumento de sua atividade biológica. Características farmacocinéticas preliminares dão alguns indícios da necessidade de formas farmacêuticas, características de solubilidade em água, perfis de absorção gastrointestinal, capacidade de atravessar a barreira hematocefálica, possíveis alvos biológicos, relações estrutura-atividade, que podem justificar ou direcionar seu planejamento para os testes biológicos. Todos esses pontos citados podem potencializar o desenvolvimento de novos fármacos, correlacionando propriedades ADME, que na fase embrionária do processo de síntese, permitem selecionar compostos mais promissores, diminuindo consideravelmente a fração de falha relacionada à farmacocinética nas fases clínicas (HAY et al., 2014).

No gráfico 2, destacamos informações importantes oriundas deste, conhecido como “ovo-fervido” (do inglês, *boiled-egg*), que, correlaciona a capacidade de absorção dos compostos sintetizados comparados com fármacos de referência, a amsacrina que como padrão, é um fármaco com relevantes propriedades ADME, que contribuem para sua forma de administração, comparado com o etoposido, que, por apresentar propriedades moderadas de ADME, necessita de alguns cuidados na administração para potencializar seu efeito farmacológico (o etoposido é administrado pela via parenteral). Destaca-se outra informação neste gráfico, a possível capacidade dos compostos serem substratos ou não da glicoproteína-P (gp-P), esta é responsável por dificultar a permeabilidade às membranas biológicas, tendo como principal função proteger o sistema nervoso central dos xenobióticos, como também a gp-P é superexpressa em algumas células tumorais e leva a câncer multirresistentes. O fato de um composto não ser substrato desta proteína seria mais um indício que sua absorção e atividade seriam favorecidas (SZAKÁCS et al.; SHAROM, 2008).

**Gráfico 2** – Perfil de absorção gastrointestinal das moléculas sintetizadas, estudo *in silico*.

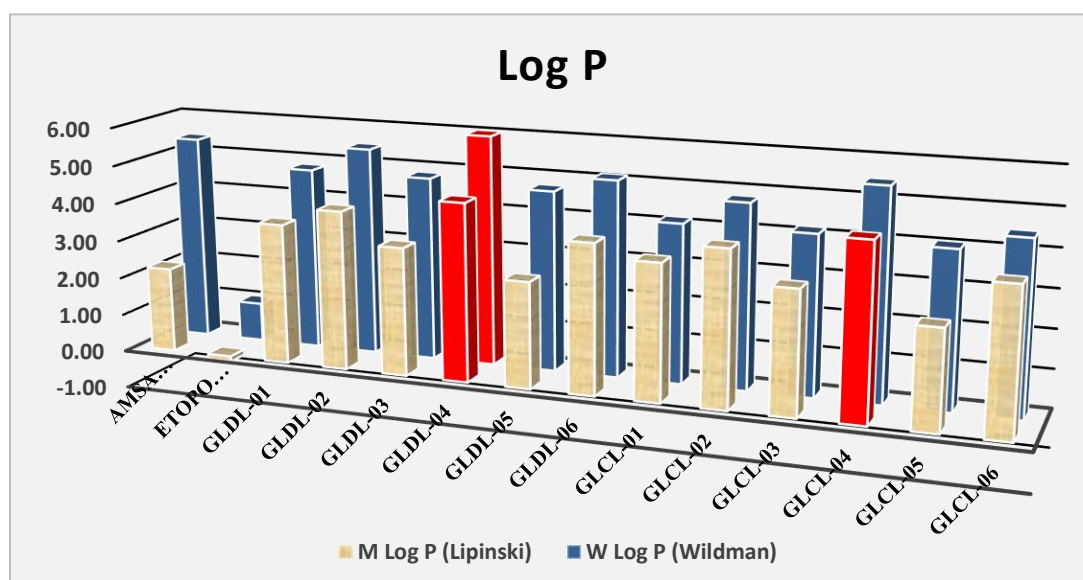


Fonte: Próprio autor.

A técnica mais utilizada para prever este valor de log P, é usar múltiplos preditores, para selecionar os métodos mais precisos para uma determinada série química ou gerar uma estimativa consensual. O gráfico 3 apresenta os valores de log P para as moléculas estudadas, utilizando dois métodos que fundamentam as *druglikeness* de Lipinski e Ghose, que serão discutidas posteriormente. O M log P, metodologia de Moriguchi (1994), utilizada por Lipinski, considera parâmetros como: átomos lipofílicos, átomos hidrofílicos, ligações insaturadas, hidrogênios livres, rigidez da estrutura, entre outras que foram acompanhadas em 1230 compostos e analisados estatisticamente originando este método. O W log P, criado por Wildman e Crippen (1999), utilizado por Ghose, onde aplicado em um conjunto de 9920 moléculas, com  $r^2 = 0,918$  (dado estatístico), apresentou um método que acrescentou 68 parâmetros ajustáveis ao cálculo de log P. Os dados em destaque na cor vermelha no gráfico 3, mostra os compostos que apresentaram extrapolações segundo Lipinski e Ghose. De acordo com o M log P, o composto GLCL-05 apresentou menor valor (2,57) e o composto GLDL-04 (4,62) apontou maior valor de log P, no geral segundo este método a série GLDL apontou maiores valores para o coeficiente de partição para suas moléculas, as substituições no núcleo acridínico aumentaram a lipofilia das suas estruturas. O método do W log P, confirma o mesmo

pensamento do método M log P, a molécula GLCL-05, caracterizada pela presença do radical nitro, responsável pelo momento dipolar muito grande na estrutura, e também por possuir o núcleo acridínico sem substituição apresentou valor de 4,04, segundo o método, para seu coeficiente de partição. Comparados com os controles positivos, amsacrina e etoposido, todos os compostos apresentaram valores superiores nos logs calculados, acometendo um caráter mais lipofílico as substâncias sintetizadas. Esta característica é importante na ideia de atividade biológica, compostos podem ser inativos devido a sua dificuldade de absorção no organismo, como já discutido. Inúmeros pesquisadores consideram que o Log P ideal para um fármaco está entre 1 e 3. Os compostos com presença do substituinte 2,4-di-Cl<sub>2</sub> apresentaram maiores valores para log P, reafirmando o caráter lipofílico deste radical para derivados nos quais está presente.

**Gráfico 3** – Log P das moléculas sintetizadas, estudo *in silico*.

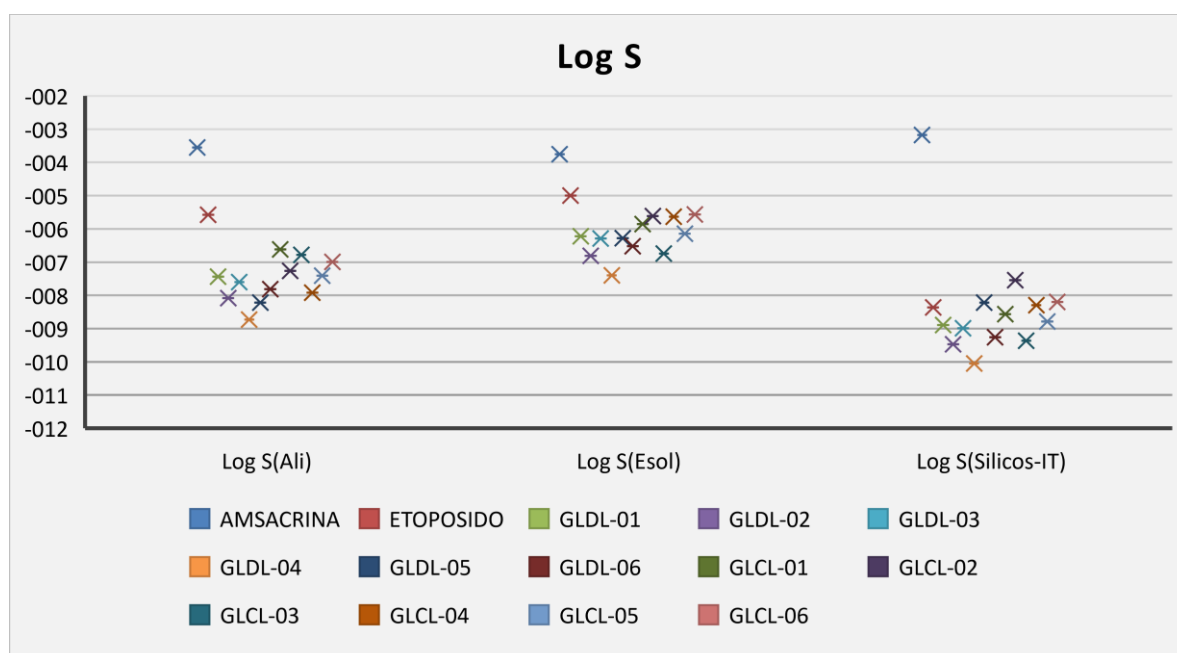


Fonte: Próprio autor.

O gráfico 4 traz o estudo de solubilidade dos compostos sintetizados frente a três métodos: (i) método adaptado por Ali et al. (2012) baseado em estudos apresentados que mostram que a Equação Geral de Solubilidade (GSE) é capaz de prever, para dentro de 1 unidade logarítmica, a solubilidade aquosa experimental ( $\log S$ ) para 81% dos compostos em um conjunto de dados de 1265 estruturas químicas diversas ( $-8,48 < \log S < 1,58$ ) (ALI et al., 2012); (ii) método de Esol, que fundamenta-se em um estudo de 2874 compostos que, através de regressão linear analisando nove propriedades moleculares estima a solubilidade a partir de uma estrutura molecular, o parâmetro mais significativo foi o  $\log P$  do octanol, seguido pelo peso molecular, proporção de átomos pesados em sistemas aromáticos e número de ligações

rotativas (DELANEY, 2004); (iii) preditor de solubilidade do SwissADME foi desenvolvido pelo SILICOS-IT. O coeficiente de correlação linear deste método fragmentário corrigido pelo peso molecular é  $R^2 = 0,75$ , essa correlação linear demonstra forte ligação entre os valores previstos e experimentais. A correlação do método de Ali é 0,81 e de Esol 0,69. Através do gráfico 4, consegue-se visualizar a disparidade nos valores de Log S em todos os métodos comparados com o da amsacrina, porém o método Silicos-IT considera ainda mais forte esta diferença. Todos os compostos sintetizados foram classificados como mal solúveis em água pelos três métodos utilizados.

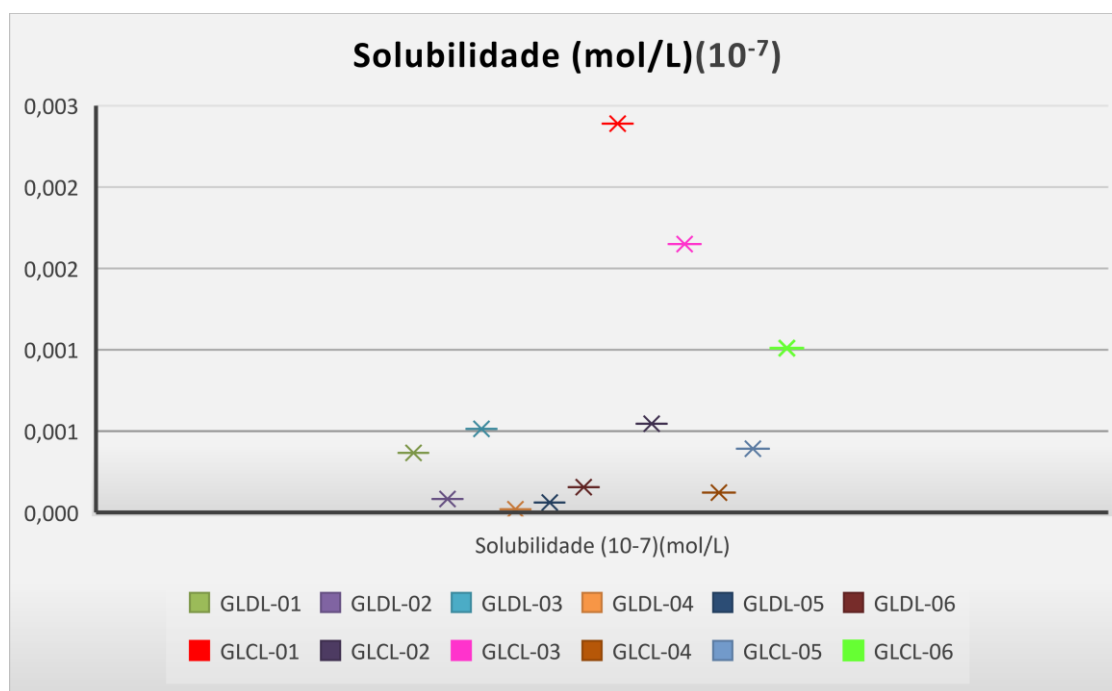
**Gráfico 4**– Propriedades de solubilidade dos novos derivados acridínicos em água, estudo *in silico*.



Fonte: Próprio autor.

No gráfico 5, temos a comparação de solubilidade em unidades de mol/L, utilizando o método de Ali. Tomando como fundamento o aumento nos valores de log P e no peso molecular a figura apresenta que, as substituições feitas no núcleo acridínico na série GLDL acometem as suas moléculas uma piora na sua solubilidade, comparadas ao núcleo da série GLCL, que não é substituído. Considerando a série GLCL, a substituição no anel benzênico também influenciou em sua solubilidade, compostos com cloro apresentaram menores valores de solubilidade, o anel não substituído desta série apresentou o melhor resultado de solubilidade entre os compostos sintetizados.

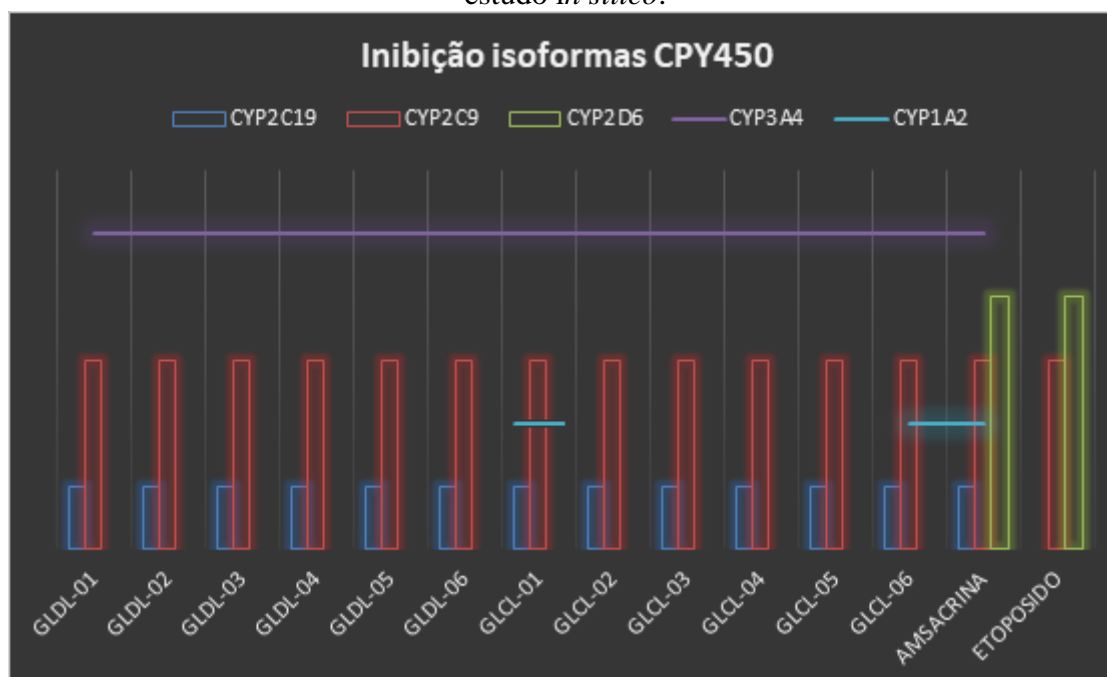
**Gráfico 5** – Propriedades de solubilidade dos novos derivados acridínicos em água, estudo *in silico*.



Fonte: Próprio autor.

Na figura 45, temos o estudo da capacidade inibitória dos doze compostos sintetizados, como também, da amsacrina e do etoposido frente as principais isoformas do citocromo P450, o gráfico traz em sim ou não a capacidade de inibição frente enzimas.

**Figura 45** – Isoformas da CYP450 inibidas pelos derivados acridínicos sintetizados, estudo *in silico*.



Fonte: Próprio autor.

Destaca-se o potencial inibidor as CYP2C19 e CYP2C9 de todas as moléculas sintetizadas e da amsacrina, as CYP2C participam no metabolismo de aproximadamente 20 % dos fármacos. A CYP2C19 é predominante no fígado, mutações nesse gene pode induzir a um baixo metabolismo de fármacos como, omeprazol, alguns antidepressivos, anti-úlceras, anticonvulsivantes, entre outros. A CYP2C9 é associada a catalisação de fármacos anti-inflamatórios não esteroidais, anticoagulantes e anticonvulsivantes. Todos os compostos sintetizados apresentaram-se como potenciais inibidores das isoformas da classe CYP2C.

Em relação a CYP1A2, principal metabolizador da cafeína no fígado pelo processo de desmetilação apenas a GLCL-01 e a GLCL-06 teriam potencial de inibi-las (Figura 46), importante citar que no caso de oncogênese mamária, esta isoforma CYP1A2 ativaria hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e aminas heterocíclicas, induzindo a produção de esterogênios benéficos e a conversão do ácido araquidônico em produtos com propriedades inflamatórias, que poderiam induzir um processo de fibrose (KUO et al.; AVARI et al., 2013).

Com relação a CYP2D6, importante inibidor de fármacos, em sua grande maioria lipofílicos, entre eles destacam-se os anti-hipertensivos, antiarrítmicos, betabloqueadores, anti-eméticos, antidepressivos, neurolépticos e opiáceos, englobando cerca de 25% dos medicamentos comercializados (NUSSBAUM, 2016). O polimorfismo desta isoforma têm sido relacionados principalmente ao câncer de pulmão, como consequência do cigarro e da doença de Parkinson, um grande número de pessoas apresentam atividade reduzida da CYP2D6, acarretando resistência múltiplas aos efeitos carcinogênicos que o fumo ou fatores ocupacionais podem desencadear. A partir desta discussão vemos outro ponto a se destacar na prescrição de fármacos, sua associação com problemas já existentes no organismo pode proporcionar efeitos adversos severos, um indivíduo com um alelo nulo da CYP2D6, associado ao uso de um inibidor potente, como fluoxetina, bupropiona, cimetidina ou citalopram, pode alterar a capacidade de metabolização desta isoforma, os fármacos sintetizados como não apresentaram inibição a esta isoforma poderiam ser utilizados neste caso (SANTIAGO et al., 2002; NUSSBAUM, 2016).

Por fim, a CYP3A4, última isoforma estudada da CYP450, relacionada ao metabolismo de aproximadamente 60% dos fármacos, a isoforma mais abundante no fígado adulto que participa da ativação metabólica dos agentes cancerígenos. Agentes imunossupressores, antifúngicos, antibióticos macrolídeos, são algumas das classes metabolizadas por esta isoforma. Diferente de outras CYPs, a 3A4 parece não sofrer influência de tabaco e etanol, porém por sua vasta interação com fármacos, o cuidado nas interações medicamentosas que envolvam esta isoforma é de suma importância, alterações como: absorção, metabolização,

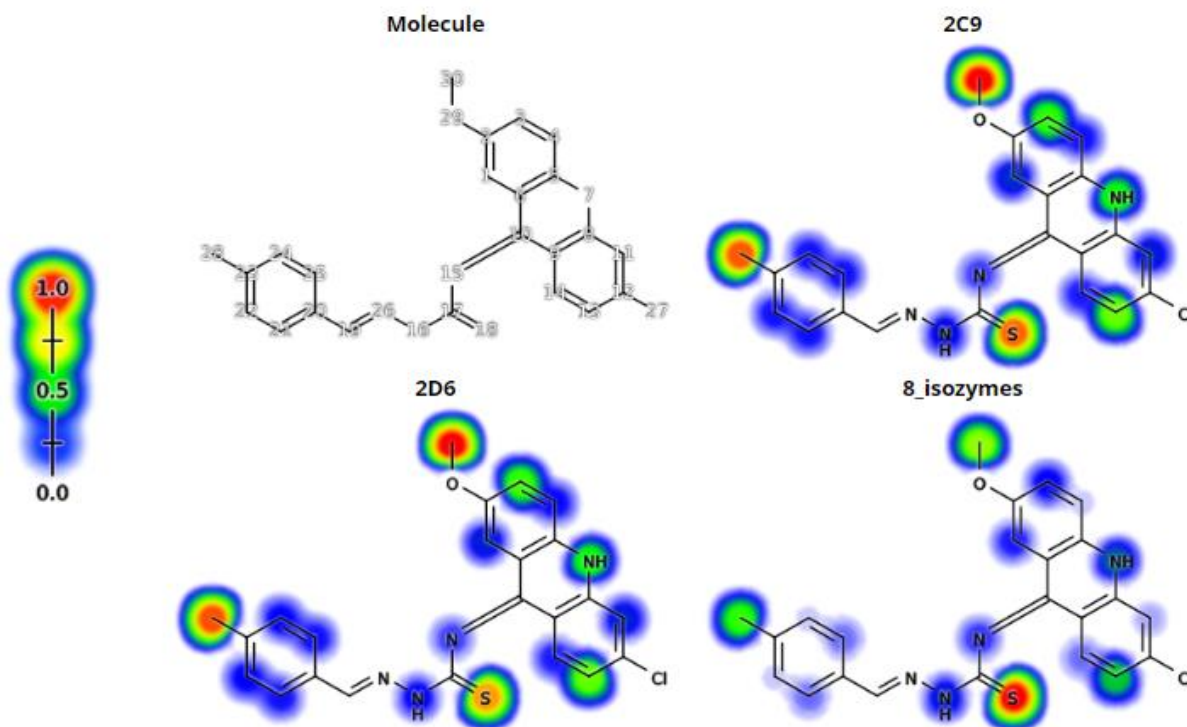


distribuição e toxicidade são amplamente discutidas (SANTIAGO et al., 2002). Todos os derivados sintetizados inibiram esta isoforma, sua indicação na clínica teria que apresentar considerações para uso crônico.

Como discutido, as CYP450 agem como percussores importantes na metabolização de fármacos que, em certos momentos podem ser interessantes se, os metabólitos resultantes forem mais hidrossolúveis favorecendo sua absorção no processo da biofase, porém, este estudo de metabólitos é uma forma utilizada para avaliar a estabilidade de novos candidatos a fármaco, resultando em uma fase importante no desenvolvimento de novos fármacos, avaliação da segurança metabólica. Uma droga que é metabolizada em muitos locais ou em uma taxa muito rápida, não terá um tempo de meia vida suficiente para atingir seu alvo e ter um impacto clínico. Entretanto, uma droga que é metabolizada em um produto tóxico, como visto acima, terá um índice terapêutico baixo e precisará ser administrada com cuidado. (ZIMMERMAN; MADDREY, 1995; ZARETZKI; MATLOCK, 2013).

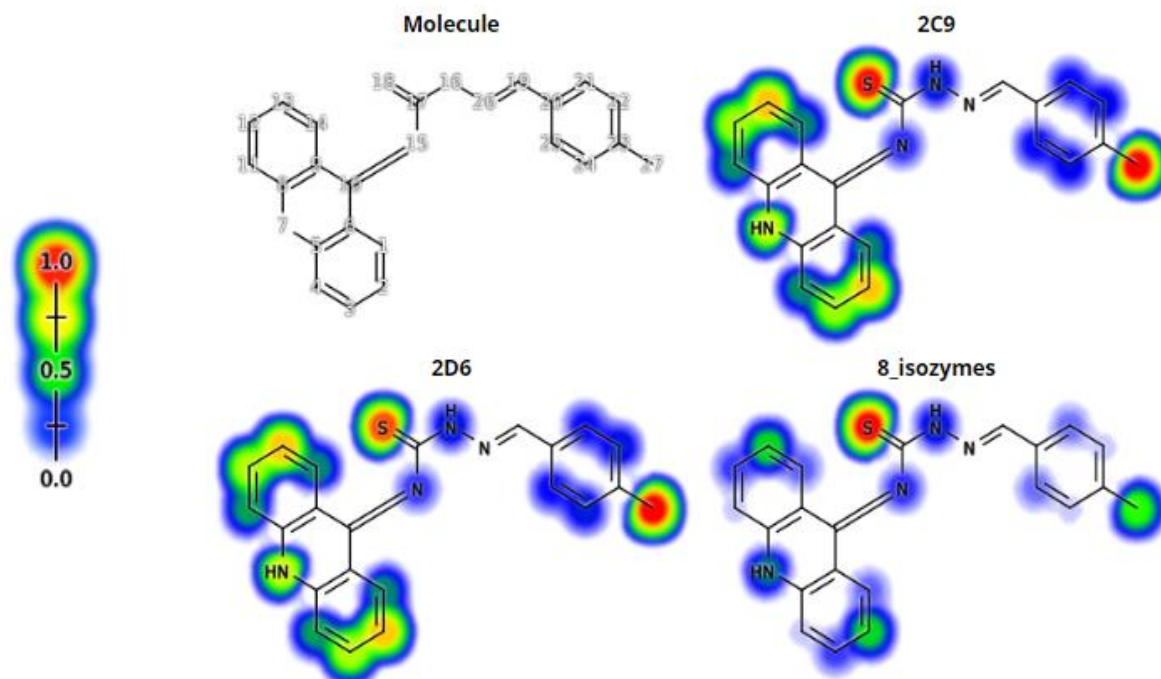
A figura 46 apresenta os principais pontos de metabolização dos derivados sintetizados da série GLDL, tendo como base, o composto GLDL-06, disponibilizados pelo XenoSite, ferramenta importante na predição em metabólitos. As partes azuladas não apresentam pontos significativos neste estudo, como destacado na parte esquerda da figura, por uma legenda que varia de 0 (azul) a 1 (vermelho), que relaciona o score (energia) da ligação do alvo com o composto, indicando quais pontos estão mais susceptíveis para interações com as isoformas da CYP450 (ZARETZKI; MATLOCK, 2013). Destaca-se o grupamento metoxila (-OCH<sub>3</sub>), que para maioria dos alvos, é o principal ponto de metabolização, caracterizado por uma possível N-desmetilação, sendo um diferencial para os derivados com núcleo acridínicos substituídos. O átomo de enxofre (S), que para maioria das isoformas também é um ponto de metabolização, caracterizado por uma possível oxidação. As substituições no Ar<sub>1</sub> também influenciam neste estudo de possíveis metabolizadores, como exemplificado na Figura 46, a metila passa a ser um ponto favorável para metabolização.

**Figura 46** – Estudo de possíveis metabolizações para a série GLDL frente as isoformas da CYP450.



A figura 47 apresenta os principais pontos de metabolização dos derivados sintetizados da série GLCL, tomando como o composto GLCL-06. Destaca-se o átomo de enxofre (S), que para maioria dos alvos, é o principal ponto de metabolização, caracterizado por uma possível oxidação. As substituições no Ar<sub>1</sub> também influenciam neste estudo de possíveis metabolizadores, como exemplificado abaixo, a metila passa a ser um ponto favorável para metabolização.

**Figura 47** – Estudo de possíveis metabolizações para a série GLCL frente as isoformas da CYP450.



A tabela 22 relata justamente as comparações com os parâmetros da *druglikeness* dos pesquisadores citados anteriormente disponibilizados pela SWISSADME, enfatiza-se novamente o problema do etoposido em sua administração estampado nos parâmetros da *druglikeness*. Em relação as moléculas sintetizadas, três apresentaram pelo menos uma violação as *druglikeness*, são elas: (i) a molécula GLDL-04, apresentou violação a regra de Lipinski por apresentar  $MLog P > 4.15$  e foi sinalizado problemas em relação aos parâmetros estabelecidos por Ghose, nos quais a massa molar, o  $WLog P$  e a refratividade molar extrapolaram os limites propostos pelo pesquisador; (ii) a molécula GLDL-05, segundo Ghose apresentou índices de refratividade molar maiores que o sugerido; (iii) a molécula GLCL-04 apresentou  $MLog P > 4.15$ , fugindo dos parâmetros expostos por Lipinski.

Para uma melhor compreensão, a refratividade molar é uma propriedade físico-química que está diretamente relacionada a estrutura química do composto. Dunn, em 1977, propôs a existência de uma relação entre refratividade e a conformação tridimensional da estrutura molecular de fármacos, assim, este parâmetro poderia significativamente interferir na interação fármaco com o receptor, como também seus valores podem expressar o caráter lipofílico de grupos substituintes (DUNN et al., 1977; HANSCH et al., 1990; 1995; KUBINYI et al., 1993).

**Tabela 22**– Comparações com *druglikeness* segundo Lipinski, Ghose e Veber das moléculas sintetizadas e fármacos de referência.

COMPOSTO	DRUGLIKENESS		
	Lipinski	Ghose	Veber
GLDL-01			
GLDL-02			
GLDL-03			
GLDL-04	X	X	
GLDL-05		X	
GLDL-06			
GLCL-01			
GLCL-02			
GLCL-03			
GLCL-04	X		
GLCL-05			
GLCL-06			
AMSACRINA			
ETOPOSIDO	X	X	X

Fonte: Próprio autor.

Em um breve resumo farmacocinético, os derivados sintetizados apresentaram-se com caráter lipossolúvel alto, com a série GLCL ligeiramente mais solúvel em água. As inibições das isoformas CYPs importantes para o metabolismo na biofase, sugere um maior cuidado na sua utilização clínica, pois como discutido, interações farmacológicas demonstram ser o principal problema enfrentado no desenvolvimento de novos fármacos, atualmente.

Baixas probabilidades de metabolizações na biofase, sugerem uma certa estabilidade da estrutura dos novos derivados, a tionila apresentou uma energia de 35 KJ/mol necessária para ser oxidada (a maior entre os fragmentos susceptíveis a metabolização), onde o organismo em condições normais, disponibiliza na biotransformação energias de até 10 KJ/mol.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No estudo de *docking*, os compostos GLDL-05 e GLCL-05 foram os que apresentaram os melhores valores de interação, dentre eles o composto GLDL-05 apresentou valor de  $\Delta G$  e  $K_i$  melhores que o composto de referência, fármaco já difundido no mercado farmacêutico. Porém destaca-se uma forma qualitativa de inserção dos resultados do *docking* na ideia de potencialidade, as interações com os resíduos de aminoácidos e com as bases do DNA foram reduzidas nos compostos da série GLCL. Para a série GLDL, novas interações foram acometidas às substituições feitas no anel acridínico, potencializando a afinidade dos mesmos aos alvos estudados.

Foram sintetizados 19 compostos sendo seis intermediários, um núcleo e 12 novos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos, que tiveram determinadas suas principais características físico-químicas.

Os derivados obtidos tiveram rendimentos satisfatórios, apresentando rendimentos acima de 60% e suas faixas de fusão apresentaram variação baixa confirmando a pureza dos produtos sintetizados. Os espectros de IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , bidimensionais, espectros de UV-vis e massas colaboraram para a elucidação estrutural dos novos derivados. Sendo identificado uma impureza característica nos compostos da série GLCL, proveniente do reagente de partida, confirmado após os estudos de RMN. Condições de solventes secos e ambiente inerte são consideradas como as ideais para o aumento da pureza desta reação. A interessante resposta biológica desta série, aumenta a responsabilidade e o compromisso de sintetizar este núcleo com o maior grau de pureza possível.

Outro ponto a comentar ainda sobre a elucidação estrutural dos compostos GLCL seria a possibilidade de isômeros conformacionais e configuracionais para estes derivados não substituídos, proposto por Machado (2016), técnicas de correlações bidimensionais utilizadas para a série GLDL poderiam identificar a existência desses isômeros. A predominância de uma estrutura foi correlacionada energeticamente, como também, a partir de correlações feitas na série GLDL que, poderiam representar esta série também. Em contrapartida, destaca-se que a não substituição no anel acridínico, tende a facilitar a deslocalização do hidrogênio entre as posições H-10 e H-11 quando comparado com a série GLDL.

Estudos de interação dos compostos com o DNA e BSA foram realizados *in vitro* e, construíram uma ideia de potencialidade sugerida pelo *docking* para a série GLDL. Destaca-se o efeito hipercrômico apresentado na série GLDL com desvio para o azul, hipsocrômico, onde a maior alteração de intensidade de absorção aconteceu com o composto GLDL-03. O derivado

GLDL-02 apresentou maior interação com o DNA,  $K_b = 1,91 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ , supondo-se uma interação forte ao sulco. O composto GLDL-01 demonstrou ter maior afinidade para a proteína BSA, com  $K_{sv} = 2,17 \times 10^5$ . Por outro lado, a série GLCL apresentou, em sua grande parte, efeitos hipocrômicos, alternando em certos momentos os efeitos com o aumento da concentração do DNA na análise. Complementando a ideia de forte interação dos derivados sintetizados ao DNA, que durante o trabalho foi sugerido como principal alvo farmacológico, estudados anteriormente pelo *docking*, confirmando a prevalência nas interações da série GLDL.

A citotoxicidade dos derivados frente a células de leucemia, HL-60, câncer de mama, MCF-7, e câncer de cólon, HCT, foram avaliadas. O derivado GLCL-04, apresentou inibição de 83,7% frente às células HL-60 na concentração de 50  $\mu\text{M}$ , o composto GLDL-01 apresentou uma inibição de 67,89% em células HL-60. Em relação a citotoxicidade frente a células MCF-7, o composto GLCL-01 apresentou maior percentual de inibição, de 56,38%, mostrando que, esta linhagem pode não ser tão sensível aos compostos sintetizados e que, o ideal seria ampliar o estudo para os substituintes, não descartando a potencialidade desses compostos em outras linhagens. Para a linhagem HCT, o composto GLCL-03, apresentou o maior percentual de inibição entre os novos derivados, de 66,86%. A citotoxicidade em células plasmáticas avaliadas pelo teste de hemólise, demonstrou que os derivados não influenciaram para a lise celular, característica necessária para uso na clínica.

O planejamento a partir da árvore de Topliss foi confrontado com os resultados de atividade biológica para os novos derivados, confirmando que as modificações estruturais influenciaram nas respostas biológicas *in vitro* seguindo sua proposta para a série GLDL. Como na série GLCL tínhamos duas variáveis, presença de acridona e substituições nos radicais, se faz necessário um estudo de potencialidade da acridona de forma isolada frente as linhagens testadas, como também, da síntese de compostos mais puros para associação com o planejamento realizado.

Predições farmacocinéticas foram realizadas para conhecimento das propriedades de ADME e de metabolização dos novos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos. Os derivados sintetizados apresentaram-se com caráter lipossolúvel alto, inibições a isoformas CYPs importantes para o metabolismo na biofase, probabilidades baixas de metabolizações, que acometem características importantes para posteriores estudos *in vivo*.

## PERSPECTIVAS

- Prosseguir com as análises e caracterizações físico-químicas, tendo em vista o aperfeiçoamento de rotas sintéticas;
- Verificar a capacidade de inibição da atividade das enzimas topoisomerase II $\alpha$  humana dos derivados ativos em testes proliferativos;
- Realização de testes *in vivo*;
- Publicar artigos científicos.

## REFERÊNCIAS

- ALI, B.; KHAN, K.M.; ARSHIA, KANWAL, HUSSAIN, S.; HUSSAIN, S.; ASHRAF, M.; RIAZ, M.; WADOOD, A.; PERVEEN, S. **Synthetic nicotinic/isonicotinic thiosemicarbazides: In vitro urease inhibitory activities and molecular docking studies.** Bioorganic Chemistry, 2018.
- ALI, J., CAMILLERI, P., BROWN, M. B., HUTT, A. J. & KIRTON, S. B. **Revisiting the general solubility equation:** in silico prediction of aqueous solubility incorporating the effect of topographical polar surface area. J. Chem. Inf. Model. 52, 420–428, 2012.
- ALMEIDA, E. P. M., GUTIÉRREZ, M. G. R., ADAMI, N. P. **Monitoramento e avaliação dos efeitos colaterais da quimioterapia em pacientes com câncer de cólon.** Rev Latino-am Enfermagem 2004 setembro-outubro; p. 760-6, 2004.
- ALMEIDA, S.M.; LAFAYETTE, E.A.; DA SILVA, L.P.; AMORIM C.A.; DE OLIVEIRA, T.B.; RUIZ, A.L.; DE CARVALHO, J.E.; DE MOURA, R.O.; BELTRÃO E.I.; DE LIMA, M. do C.; DE CARVALHO JÚNIOR, L.B. **Synthesis, DNA Binding, and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Thiosemicarbazone Derivatives.** Int J Mol Sci. Jun 9;16(6):13023-42, 2015.
- ALMEIDA, V. L. de. et al. **Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução.** Quim. Nova, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.
- ATTY, A. T. M.; TOMAZELLI, J. G.; DIAS, M. B. K. **Análise Exploratória das Informações sobre Estadiamento nas Autorizações de Procedimentos de Alta Complexidade no Brasil e Regiões no Período 2010-2014.** Revista Brasileira de Cancerologia. v. 63, n.4, p. 257-264, 2017.
- AVARI, I.; FEDELI, U.; HIDAR, S.; KHLIGI, S.; PAVANELLO, S. **CYP1A2 polymorphisms in breast cancer risk in women;** Mol Med Rep. Jan; 7(1):280-6.2013.
- BAD, N.; LAPIS, AAM **Recent developments in the chemistry of desoxyribonucleic acid (DNA) intercalators: principles, design, synthesis, applications and trends.** Molecules, 14, 1725-1746, 2009.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; **Química Medicinal As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos,** Artmed: Porto Alegre, 2008.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; **Química Medicinal As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos,** Artmed: Porto Alegre, 2015.
- BARROS, F. W. A.; SILVA, T. G.; PITTA, M. G. R.; BEZERRA, D. P.; COSTA-LOTUFO, L.V.; MORAES, M. O.; PESSOA, C.; MOURA, M.A.F.B.; ABREU, F.C.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; GOULART, M. O. F. **Synthesis and cytotoxic activity of new acridine-thiazolidine derivatives.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 20, p.3533–3539, Jun, 2012.



BENNER, K.; IHMELS, H.; KÖLSCH, S.; PITHAN, P.M. **Targeting abasic site-containing DNA with annelated quinolizinium derivatives: the influence of size, shape and substituents.** *Org. Biomol. Chem.*, 12, 1725–1734, 2014.

BLAU, L.; MENEGON, R.F.; TROSSINI, G.H.; MOLINO, J.V.; VITAL, D.G.; CICARELLI, R.M.; PASSERINI, G.D.; BOSQUESI, P.L.; CHIN, C.M. **Design, synthesis and biological evaluation of new aryl thiosemicarbazone as antichagasic candidates.** *Eur J Med Chem. Sep*;67:142-51, 2013.

BOER, D. R.; CANALS, A.; COLL, M. **DNAbinding drugs caught in action: the latest 3D pictures of drug-DNA complexes.** *Dalton Transactions*, 3, 399, 2009.

BOING, A. F.; VARGAS, S. A. L.; BOING, A. C. **A carga das neoplasias no brasil: mortalidade e morbidade hospitalar entre 2002-2004.** *Rev Assoc Med Bras.* v. 53, n. 4, p. 317-22, 2007.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância.** – Rio de Janeiro: INCA, 2017.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer / Instituto Nacional de Câncer.** – Rio de Janeiro: Inca, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Curso para técnicos em radioterapia.** Rio de Janeiro: INCA, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **A situação do câncer no Brasil/Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde.** Rio de Janeiro: INCA, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde/ Secretaria de Atenção à Saúde/ Departamento de Regulação, Avaliação e Controle/Coordenação Geral de Sistemas de Informação. **MANUAL DE BASES TÉCNICAS DA ONCOLOGIA – SIA/SUS - SISTEMA DE INFORMAÇÕES AMBULATORIAIS.** 23ª Edição. Outubro, 2016.

BRAVO-GÓMEZ, M. E.; RUIZ-AZUARA, L. **New approaches in the treatment of cancer;** Vazquez, C. M. et al., eds.; Nova Science Publishers: New York, cap. 2-7, 2010.

BRITTA E.A.; SCARIOT D.B.; FALZIROLLI H.; DA SILVA, C.C.; UEDA-NAKAMURA T.; DIAS FILHO B.P.; BORSALI, R.; NAKAMURA C.V. **4-Nitrobenzaldehyde thiosemicarbazone: a new compound derived from S-(-)-limonene that induces mitochondrial alterations in epimastigotes and trypomastigotes of Trypanosoma cruzi.** *Parasitology* 142, 978–988, 2015.

BRITTA, E. A.; DA SILVA, C. C.; RUBIRA, A. F.; Celso Vataru NAKAMURA, C. V.; BORSANALI, R. **Generating nanoparticles containing a new 4-nitrobenzaldehyde thiosemicarbazone compound with antileishmanial activity.** *Materials Science and Engineering C* 69 1159–1166, 2016.

CALLADINE, C. R.; DREW, H.; LUISI, B.; TRAVERS, A.; **Understanding DNA: the molecule and how it works**, 3a ed, Elsevier: Amsterdam, 2004.

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

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.** *Quim. Nova*, Vol. 26, No. 3, 428-438, 2003.

CHABNER, B. A.; ROBERTS, T. G. Jr. **Chemotherapy and the war on cancer.** *Nature Reviews Cancer*, 5, 65, 2005.

CHAFFER, C.L.; WEINBERG, R.A. **A Perspective on Cancer Cell Metastasis.** *Science*. Nova York. v. 331, p. 1559-1564, 2011.

CHRUSZCZ, M.; MIKOLAJCZAK, K.; MANK, N.; MAJOREK, K. A.; POREBSKI, P. J.; MINOR, W.; **Serum albumins - unusual allergens** *Biochim. Biophys. Acta*, 1830, 5375. 27, 2013.

CHENG, T.; ZHAO, Y.; LI, X.; LIN, F.; XU, Y.; ZHANG, X.; LI, Y.; WANG, R.\*; LAI, L. **"Computation of Octanol-Water Partition Coefficients by Guiding an Additive Model with Knowledge"**, *J. Chem. Inf. Model.*, 47, 2140-2148, 2007.

CISÁRIKOVÁ, A.; BARBIERIKOVÁ, Z.; JANOVEC, L.; IMRICH, J. HUNÁKOVÁ, L.; BAČOVÁ, Z.; PAULÍKOVÁ, H. **Acridin-3,6-dialkyldithiourea hydrochlorides as new photosensitizers for photodynamic therapy of mouse leukemia cells.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, March, 2016.

CORBETT, A.; OSHEROFF, N. **When good enzymes go bad: Conversion of topoisomerase II to a cellular toxin by antineoplastic drugs.** *Chem. Res. Toxicol.*, 6 (5), pp 585–597, 1993.

CUI, Z.; LI, X.; LI, L.; ZHANG, B.; GAO, C.; CHEN, Y.; TAN, C.; LIU, C.; XIE, W.; YANG, T.; JIANG, Y. **Design, Synthesis and Evaluation of Acridine Derivatives as Multi-Target Src and MEK Kinase Inhibitors for Anti-tumor Treatment.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, December, 2015.

DELANEY, J. S. **ESOL: Estimating Aqueous Solubility Directly from Molecular Structure.** *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 44(3), 1000–1005, 2004.

DEVITA, V. T. Jr.; CHU, E. **A history of cancer chemotherapy.** *Cancer Research*, 68, 8643, 2008.

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

DUCHOWICZ P.R.; TALEVI, A.; BELLERA, C.; BRUNO-BLANCH L.E.; CASTRO, E.A. **Application of descriptors based on Lipinski's rules in the QSPR study of aqueous solubilities.** *Bioorg Med Chem.* Jun 1;15(11):3711-9. Epub 2007 Mar 18, 2007.

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

ELYA, B.; BASAH, K.; MUN'IM, A.; YULIASTUTI, W.; BANGUN, A.; SEPTIANA, E.K.; **Screening of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity from some plants of apocynaceae, clusiaceae, euphorbiaceae, and rubiaceae,** *J. Biomed. Biotechnol*, 2012.

FISCHER, J. G.; GANELLIN, C. R.; **Analogue based Drug Discovery.** Wiley-VCH: Germany, 2006.

FISHER, W. W.; SYED, T.; LAW, B. **Global Justice in Healthcare: Developing Drugs for the Developing World.** *Developing Drugs for the Developing World*, 40 U.C. Davis L. Rev. 581, 2006.

FREITAS, B. N. **Efeitos colaterais da quimioterapia: os sentimentos apresentados pelos homens em tratamento.** *Revista Enfermagem Integrada – Ipatinga: Unileste*, V.6 - N.1 - Jul./Agosto, 2013.

FLOREA, A-M; BÜSSELBERG, D. **Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects.** *Cancers*, 3, 1351, 2011.

FRIEDMAN, M. **Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas.** *Mol Nutr Food Res*; 51:116–134, 2007.

GAO, C.; LIU, F.; LUAN, X.; TAN, C.; LIU, H; XIE, Y; JIN, Y.; JIANG, Y. **Synthetic 2-amino-10-(3,5-dimethoxy) benzyl-9(10H)-acridinone derivatives as potent DNA binding antiproliferative agents.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 18, p. 7507– 7514, Nov, 2010.

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

GAO, E.; ZHU, M.; LIU, L.; HUANG Y.; WANG, L.; SHI, C.; ZHANG, W.; SUN, Y. **Impact of the carbon chain length of novel palladium (II) complexes on interaction with DNA and cytotoxic activity.** *Inorganic Chemistry*, 49, 3261, 2010.

GOTO, T.; WANG, J.C. **Cloning of yeast TOP I, the gene encoding DNA topoisomerase I, and construction of mutants defective in both DNA topoisomerase I and DNA topoisomerase II.** PNAS November 1. 82 (21) 7178-7182, 1985.

GREENBAUM, D.C.; MACKEY, Z.; HANSELL, E.; DOYLE, P.; GUT, J.; CAFFREY, C. R.; LEHRMAN, J.; PHILIP, J.; ROSENTHAL, J.; MCKERROW, J.H.; CHIBALE, K. **Synthesis and Structure-Activity Relationships of Parasitocidal Thiosemicarbazone Cysteine Protease Inhibitors against Plasmodium falciparum, Trypanosoma brucei, and Trypanosoma cruzi.** J. Med. Chem., 47, 3212-3219, 2004.

GRIVICICH, I.; REGNER, A.; ROCHA, A. B. **Morte Celular por Apoptose Apoptosis: Programmed Cell Death.** Revista Brasileira de Cancerologia; 53(3): 335-343, 2007.

GUEDES, I. A.; DE MAGALHÃES, C. S.; DARDENNE, L. E. **Receptor-ligand molecular docking.** Biophys Rev. Mar;6(1):75-87, 2014.

HAMEED, A.; SHAFIQ, Z.; YAQUB, M.; HUSSAIN, M.; HUSSAIN, M. A.; AFZAL, M.; TAHIR, M.N.; NASEER, M.M. **Me3N-promoted synthesis of 2,3,4,4a-tetrahydroxanthene-1-one:** Preparation of thiosemicarbazone derivatives, their solid state self-assembly and antimicrobial properties. New J. Chem., 2015.

HANDE, K. R. **Topoisomerase II inhibitors. Update on Cancer Therapeutics,** 3, 13, 2008.

HANNON, M. J. **Supramolecular DNA recognition.** Chemical Society Reviews, 36, 280, 2007.

HANSCH, C.; SAMMES, P. G.; TAYLOR, J. B.; **Comprehensive medicinal chemistry: the rational design, mechanistic study & therapeutic application of chemical compounds,** Pergamon Press: Oxford, vol. 4, 1990.

HANSCH, C.; LEO, A.; HOEKMAN, D.; **Exploring QSAR: hydrophobic, electronic and steric constants.** ACS: Washington, 1995.

HAY, M.; THOMAS, D. W.; O'CRAIGHEAD, J. L.; ECONOMIDES, C. & ROSENTHAL, J. **Clinical development success rates for investigational drugs.** Nature Biotechnol. 32, 40–51, 2014.

HOSSAIN, M.; KUMAR, G.S. **DNA binding of benzophenanthridine compounds sanguarine versus ethidium: Comparative binding and thermodynamic profile of intercalation.** *Journal Chemistry Thermodynamics.* v. 41, p; 764-774, 2009.

HUUSKONEN, J., SALO, M., TASKINEN, J.; **Aqueous solubility prediction of drugs based on molecular topology and neural network modeling.** J Chem Inf Comput Sci 38:450–456, 1998.

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

JADHAV, A. K.; KARUPPAYIL, S. M. **Molecular docking studies on thirteen fluoroquinolones with human topoisomerase II a and b.** In Silico Pharmacol. 5:4, 2017.

JAIN, A.K.; BHATTACHARYA, S. **Interaction of G-Quadruplexes with nonintercalating duplex-DNA minor groove binding ligands.** *Bioconjugate Chemistry*. v. 22, p; 2355-2368, 2011.

JAKUPEC, M. A.; GALANSKI, M.; ARION, V. B.; HARTINGER, C. G.; KEPPLER, B. K. **Antitumour metal compounds: more than theme and variations.** *Dalton Transactions*, 2, 183, 2008.

JANGIR, D.K.; DEY, S.K.; KUNDU, S.; MEHROTRA, R. **Assessment of amsacrine binding with DNA using UV-Visible, circular dichroism and Raman spectroscopic techniques.** *J. Photochem. Photobiol. B* 114, 38–43, 2012.

JANOVEC, L.; KOZUURKOVA, M.; SABOLOVA, D.; UNGVARSKY, J.; PAULIKOVA, H.; PLSIKOVA, J.; VANTOSA, Z.; IMRICH, J. **Cytotoxic 3,6-bis((imidazolidionone)imino) acridines: Synthesis, DNA binding and molecular modeling.** *Bioorganic Medicinal Chemistry*, v. 19, p. 1790-1801, Marc, 2011.

JIANG, Y. Novel synthetic acridine derivatives as potent DNA-binding and apoptosis-inducing antitumor agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 4170–4177, Jul, 2013.

JORGE, P. M. **Indução de parada no ciclo celular e apoptose pelo ditelureto de difenila: Uma possível relação com inibição de enzimas topoisomerases.** 2012. 106 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2012.

JORGENSEN, WILLIAM L.; DUFFY, ERIN M.; **Prediction of drug solubility from Structure,** *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 355-366, 2002.

KALIRAJAN, R.; MOHAMMED RAFICK, M. H.; SANKAR, S.; JUBIE, S. **Docking Studies, Synthesis, Characterization and Evaluation of Their Antioxidant and Cytotoxic Activities of Some Novel Isoxazole-Substituted 9-Anilinoacridine Derivatives.** *The Scientific World Journal Volume*, Article ID 165258, 2012.

KANG I.J.; WANG, L.W.; HSU, T.A.; YUEH, A.; LEE, C.C.; LEE, Y.C.; LEE, C.Y.; CHAO, Y.S.; SHIH, S.R.; CHERN, J.H. **Isatin- $\beta$ -thiosemicarbazones as potent herpes simplex virus inhibitors.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 21 1948–1952, 2011.

KASHANIAN, S.; DOLATABADI, E.N. **DNA binding studies of 2-tert-butylhydroquinone (TBHQ) food additive.** *Food Chem.*, 116, 743–747, 2009.

KELLAND, L. **The resurgence of platinumbased cancer chemotherapy.** *Nature Reviews Cancer*, 7, 573, 2007.

KIM, A.; WOLF, N.M.; ZHU, T.; JOHNSON, M.E.; DENG, J.; COOK, J.L.; L.W.-M. FUNG, **Identification of Bacillus anthracis PurE inhibitors with antimicrobial activity,** *Bioorg. Med. Chem.* 23, 1492–1499, 2015.

KOLLMAN, P.; **The Basis for Molecular Recognition.** Molecular recognition Chemical and Biochemical Procelems, RSC: Londres, 1989.

KRATZ, F. **Albumin as a drug carrier:** Design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 132(3), 171–183, 2008.

KUBINYI, H.; **QSAR:** Hansch analysis and related approaches, VCH: New York, 1993.

KUO, H.-W., LIU, S. C., TSOU, H.-H., LIU, S.-W., LIN, K.-M., LU, S.-C., LIU, Y.-L. **CYP1A2:** genetic polymorphisms are associated with early antidepressant escitalopram metabolism and adverse reactions. *Pharmacogenomics*, 14(10), 1191–1201, 2013.

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

LANG, X.; LI, L.; CHEN, Y.; SUN, Q.; WUA, Q.; LIU, F.; TAN, C.; LIU, H.; GAO, C.; LERMAN, L. S. **Structural considerations in the interaction of DNA and acridines.** *Journal of Molecular Biology*, 3, 18, 1961.

LEUNG, A. H.; JIN, J.; WANG, S.; LEI, H.; WONG, W-T.; **Inflammation targeted Gd3+-based MRI contrast agents imaging tumor and rheumatoid arthritis models.** *Bioconjugate Chem.* 2014, 25, 1112.

LI, D. **The role of drug metabolizing enzymes in clearance, Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, 10:3, 379-393, 2014.

LI, D.; YUAN, Z.; CHEN, S.; ZHANG, C.; SONG, L.; GAO, C.; CHEN, Y.; TAN, C.; JIANG, Y. **Synthesis and biological research of novel azaacridine derivatives as potent DNA-binding ligands and topoisomerase II inhibitors.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 25 3437–3446, 2017.

LIU, L. F. **DNA Topoisomerase Poisons as Antitumor Drugs.** *Annual Review of Biochemistry*, 58(1), 351–375, 1989.

LIPINSKI, C.A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B.W.; FEENEY, P.J. **Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.** *Adv Drug Deliv Rev.* Mar 1;46(1-3):3-26, 2001.

LIPINSKI, C.A.; LOMBARDO F.; DOMINY, B.W.; FEENEY, P.J. **Nanocarriers for Cancer-Targeted.** *Adv Drug Delivery Rev.*; 64:4–17, 2012.

LITI, G.; CARTER, D. M.; MOSES, A. M.; WARRINGER, J.; PARTS, L.; JAMES, S. A.; DAVEY, R. P.; ROBERTS, I. N.; BURT, A.; KOUFOPANOU, V.; TSAI, I. J. BERGMAN C. M. J.; BENSASSON, D.; O'KELLY, M. J. T.; OUDENAARDEN, A. V.; BARTON D. B. H.; BAILES, E.; BA, A. N. N.; JONES, M.; QUAIL, M. A.; GOODHEAD, I.; SIMS, S.; SMITH, F.; BLOMBERG, A.; DURBIN, R. and LOUIS, E. J. **Population genomics of domestic and wild yeasts.** *Nature.* Mar 19; 458(7236): 337–341, 2009.

- MAALOUM, M.; MULLER, P.; HARLEPP, S. **DNA-intercalator interactions: Structural and physical analysis using atomic force microscopy in solution.** *Soft Matter*, 9, 11233 – 11240, 2013.
- MACHADO, R. C. **Síntese, caracterização e avaliações biológicas de 4-piridinil, 7-cloro-4quinolinil e 9-acridinil, semicarbazidas e tiossemicarbazidas.** 2016. 291 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais. 2016.
- MAKHAEVA, G. F.; LUSHCHEKINA S. V.; BOLTNEVA N. P.; SEREBRYAKOVA O. G.; RUDAKOVA E. V.; USTYUGOV A.A.; BACHURIN S. O.; SHCHEPOCHKIN A. V.; CHUPAKHIN O. N.; CHARUSHIN V. N.; RICHARDSON R. J. **9-Substituted acridine derivatives as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors possessing antioxidant activity for Alzheimer's disease treatment.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 25 5981–5994, 2017.
- MARTINEZ, M.A.R. et al. **Genética Molecular aplicada ao cancer cutâneo não melanoma.** *Anais Brasileiros de Dermatologia*. Brasília. v. 81, n. 5, 2006.
- MASUNARI, A.; TAVARES, L.; **2D QSAR studies of 5-nitro-2-thiophylidene derivatives with antimicrobial activity against multidrug-resistant Staphylococcus aureus (MRSA).** *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 42, n. 2, abr./jun., 2006.
- MCGHEE, J.D.; VON HIPPEL, P.H. **Theoretical aspects of DNA-Protein interactions: Co-operative and non-cooperative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice.** *J. Mol. Biol.*, 86, 469–489, 1974.
- MESTRES, J. **Representativity of target families in the Protein Data Bank: impact for family-directed structure-based drug discovery.** *Drug Discov. Today*, v.10, n.23-4, p.1629-37, 2005. *Molecular docking*. *Biophysical Reviews*, v. 6 (1), p. 75-87, 2014.
- METWALLY, M. A.; BONDOCK, S.; EL-AZAP, H.; KANDEEL, E. M. **Thiosemicarbazides: synthesis and reactions.** *Journal of Sulfur Chemistry*, 32:5, 489-519, 2011.
- MONTANARI, D.; CHIARPARIN, E.; GLEESON, M.P.; BRAGGIO, S.; LONGHI, R.; VALKO, K.; ROSSI, T. **Application of drug efficiency index in drug discovery: a strategy towards low therapeutic dose.** *Expert Opin Drug Discov. Sep*;6(9):913-20, 2011.
- MOREIRA, M. B.; FRANCISCATO, D. S.; TOLEDO, K. C. F.; SOUZA, J. R. B. DE; NAKATANI, H. S.; SOUZA, V. R. DE. **Investigação da supressão de fluorescência de soro albumina bovina e humana por complexo de Rutênio.** *Quim. Nova*, Vol. 38, No. 2, 227-232, 2015.
- MORIGUCHI, I., HIRONO, S., LIU, Q., NAKAGOME, I., & MATSUSHITA, Y. **Simple Method of Calculating Octanol/Water Partition Coefficient.** *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 40(1), 127–130, 1992.
- MORIGUCHI, I., HIRONO, S., NAKAGOME, I., & HIRANO, H. **Comparison of Reliability of log P Values for Drugs Calculated by Several Methods.** *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 42(4), 976–978, 1994.

- MORRIS, G. M., HUEY, R., LINDSTROM, W., SANNER, M. F., BELEW, R. K., GOODSELL, D. S. AND OLSON, A. J. **Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility.** J. Computational Chemistry, 16: 2785-91,2009.
- MOSMANN T. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival:** application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods. Dec 16;65(1-2):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.
- MOSMANN, T. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays.** J Immunological Methods, v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 1983.
- MUDASIR; YOSHIOKA, N.; INOUE, H. **DNA binding of iron (II) mixed-ligand complexes containing 1,10-phenanthroline and 4,7- diphenyl-1,10-phenanthroline.** Journal of Inorganic Biochemistry, 77, 239, 1999.
- NAVEENRAJ, S.; ANANDAN, S. **Investigation of the fluorescence quenching of bovine and human serum albumin by ruthenium complex.** Photobiol. C: J. Photochem. Rev., 14, 53, 2013.
- 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.** Eur. J. Med. Chem. 2014, 77, 422.
- NEVES, P.J.; COSTA, J. B. N.; NDIYAE, P. M. **TOP:** um programa de cálculo de descritores topológicos para uso em correlações entre estrutura e atividade. *Química Nova*, 21, 709-713, 1998.
- NICOLUSSI, A. C. et al. **Qualidade de vida relacionada à saúde de pacientes com câncer em quimioterapia.** Rev Rene. v. 15, n. 1, p.132-40, jan-fev, 2014.
- NUSSBAUM, R.L.; MCINNES, R. R.; WILLARD, H. F. **Thompson & Thompson Genética Médica,** Elsevier, 2016.
- OLIVEIRA, A. R. de. **Estudo computacional da interação de compostos naftoquinônicos e a enzima.** Rio de Janeiro, 2012. 163 f. Tese (Doutorado em Biologia Computacional e Sistemas) – Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, RJ, 2012.
- OLIVEIRA, L. R. **Planejamento, Síntese e Atividade contra Trichomonas vaginalis de Hidroxichalconas e Ferrocenilchalconas.** 2017. 50 f. Projeto de Dissertação (Mestrado em Química do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas) – Universidade Estadual Paulista, São João do Rio Preto. 2017.
- OTTAVIANI, G., GOSLING, D. J., PATISSIER, C., RODDE, S., ZHOU, L., & FALLER, B. **What is modulating solubility in simulated intestinal fluids?** European Journal of Pharmaceutical Sciences, 41(3-4), 452–457, 2010.



PALMEIRA FILHO, P. L.; PAN, S. S. K. **Cadeia farmacêutica no Brasil: avaliação preliminar e perspectivas.** BNDES Setorial. Rio de Janeiro, v.1, n.18, p.3-22, 2003.

PAUL, B. K.; GHOSH, N.; MUKHERJEE, S.; **Binding interaction of a prospective chemotherapeutic antibacterial drug with  $\beta$ -lactoglobulin: results and challenges.** Langmuir, 30, 5921, 2014.

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

PITTA, M. G. D. **Novos Agentes Tiazacridínicos com Propriedades Anticâncer.** 2012. 192 f. Tese (Doutorado em Inovação terapêutica) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2012.

PITUCHA, M.; MAZUR, L.; KOSIKOWSKA, U.; PACHUTA-STEĆ, A.; MALM, A.; POPIOŁEK, L.; RZACZYŃSKA, Z. **Synthesis, Structure, and Antibacterial Evaluation of New N-Substituted-3-Amino-5-oxo-4-phenyl-2,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carbothioamides.** Heteroatom Chemistry Volume 21, Number 4, 2010.

POMMIER, Y. **Topoisomerases Drogas: Lições e Desafios.** ACS Chem. Biol., 8, 82-95, 2013.

POMMIER Y, SCHWARTZ RE, ZWELLING LA, KOHN KW. **Efeitos de agentes de intercalação de DNA na clivagem da fita de DNA induzida pela topoisomerase II em núcleos isolados de células de mamíferos.** Bioquímica.; 24: 6406-10, 1985.

PORIES, S. E.; MOSES, M. A.; LOTZ M. M. **Cancer. Contributors.** Publisher: Greenwood Press. Place of publication: Santa Barbara, CA. pp. 77-103, 2009.

POTMESIL, M.; HSIANG, Y. H.; LIU, L. F.; BANK, B.; GROSSBERG, H.; KIRSCHENBAUM, S.; FORLENZAR, T. J.; PENZINER, A.; KANGANIS, D.; KNOWLES, D.; TRAGANOS, F.; SILBER, R. **Resistance of Human Leukemic and Normal Lymphocytes to Drug-induced DNA Cleavage and Low Levels of DNA Topoisomerase II.** American Association for Cancer Research. Volume 48, Issue 12, pp. 3537-3543, 1988.

RANE, R.A.; NAPHADE, S.S.; BANGALORE, P. K.; PALKAR, M. B.; SHAIKH, M.S.; KARPOORMATH, R. **Synthesis of novel 4-nitropyrrole-based semicarbazide and thiosemicarbazide hybrids with antimicrobial and anti-tubercular activity.** Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2014.

REDDY, C. A.; BEVERIDGE, T. J.; BREZNAK, J. A.; MARZLUF, G. A.; SCHMIDT T. M.; SNYDER L. R. **Methods for General and Molecular Microbiology.** 3rd ed. Washington: American Society for Microbiology Press, 2007.

RODRIGUES, R. P.; MANTOANI, S. P.; DE ALMEIDA, J. R.; PINSETTA, F. R.; SEMIGHINI, E. P.; DA SILVA, V. B.;\* DA SILVA, C. H. P. **Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos.** Rev. Virtual Quim., 4 (6), 739-776, 2012.

ROSEMBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. **Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents.** Nature, 222, 385, 1969.

SÁNCHEZ, I.; RECHES, R.; CAIGNARD, DH; RENARD, P.; PUJOL, MD EUR. **Synthesis and biological evaluation of modified acridines**: the effect of N- and O- substituent in the nitrogenated ring on antitumor activity. *J. Med. Chem. de*, 41, 340, 2006.

SANCHEZ, I.; RECHES, R.; HENRY, D. C.; 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* 41 340–352, 2006.

SANGSTER, J. **Octanol-Water Partition Coefficients of Simple Organic Compounds**. *J Phys Chem Ref Data*.;18:1111–1227, 1989.

SANTIAGO, C.; BANDRÉS, F.; GÓMEZ-GALLEGO, F. **Polimorfismos de citocromo P450**: papel como marcador biológico. *Medicina del Trabajo*, 11, 3, mayo-junio 2002.

SAVJANI, K. T., GAJJAR, A. K., & SAVJANI, J. K. **Drug Solubility**: Importance and Enhancement Techniques. *ISRN Pharmaceutics*, 1–10, 2012.

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

SHAROM, F. J. **ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance**. *Pharmacogenomics* 9, 105–127, 2008.

SHARMA, D.; SONI, M.; KUMAR, S.; GUPTA, G. D. **Solubility enhancement-eminent role in poorly soluble drugs**, *Research Journal of Pharmacy and Technology*, vol. 2, no. 2, pp. 220–224, 2009.

SILVA, L. S. **Estudos Computacionais de Esfingomielinases D: Docking, Dinâmica Molecular e Métodos Híbridos QM/MM**. 2015. 93 F. Tese (Doutorado em Biofísica Molecular do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas) - Universidade Estadual Paulista, São João do Rio Preto. 2015.

SILVA, M. M. **Interação entre compostos biologicamente ativos e ctDNA (Calf Thymus)**: uma abordagem espectroscópica. *Dissertação de mestrado Macéio*.142f. 2016.

SILVA, T. F. **Abordagens da Química Medicinal para o Planejamento de Protótipos de Fármacos**. *Rev. Virtual Quim.*, 5 (5), 921-933, 2013.

SINGLA, P., LUXAMI, V., & PAUL, K. **Pyrrolo[2,3-b] pyridine Derivatives**: Synthesis and Preliminary Evaluation of their Calf Thymus DNA Binding Properties. *ChemistrySelect*, 1(15), 4772–4777, 2016.

SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. **DrugDNA interactions and their study by UVVisible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry**. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124, 2013.

SLEEP, D.; CAMERON, J.; EVANS, L. R. **Albumin as a versatile platform for drug half-life extension**. *Biophys. Acta* 1830, 5526, 2013.

SOARES, L. C.; BURILLE, A.; ANTONACCI, H. M.; SANTANA, M. G.; SCHWARTZ, E. **A Quimioterapia e seus Efeitos Adversos: relato de clientes oncológicos.** *Cogitare Enferm Out/Dez*; 14(4):714-9, 2009.

STARK J.L.; POWERS R. **Application of NMR and molecular docking in structure-based drug discovery.** *Top. Curr. Chem.* 326: 1-34, 2012.

STREKOWSKI, L.; WILSON, B. **Noncovalent interactions with DNA: an overview.** *Mutation Research*, 623, 3, 2007.

SZAKÁCS, G.; VÁRADI, A.; OZVEGY-LACZKA, C; SARKADI, B. **The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox).** *Drug Discov. Today* 13, 379–393, 2008.

TAVARES, M. T.; PRIMI, M. C.; POLLI, M. C.; FERREIRA, E. I; PARISE-FILHO, R. **Interações Fármaco-Receptor: aplicações de técnicas computacionais em aula prática.** *Quim. Nova*, Vol. 38, No. 8, 1117-1124, 2015.

TESTA, B. & KRAEMER, S. D. **The Biochemistry of Drug Metabolism – An Introduction.** *Chemistry & Biodiversity.* Chem. Biodivers 2007.

TIKHONOVA, T. N.; SHIRSHIN, E. A.; BUDYLIN, G. S.; FADEEV, V. V.; PETROVA, G. P.; **Assessment of the europium (III) binding sites on albumin using fluorescence spectroscopy.** *J. Phys. Chem. B* 2014, 118, 6626.

TOMASETTI C.; LI, L.; VOGELSTEIN, B. **Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention.** *Science* 355 (6331), 1330-1334, 2017.

TOPLISS, J. G. **A manual method for applying the Hansch approach to drug design.** *J. Med. Chem.* 20, 4, 463-469, 1977.

TOPLISS, J. G. **Utilization of operational schemes for analog synthesis in drug design.** *J. Med. Chem.* 15, 10, 1006-1011, 1972.

ULUS, R.; ADAY, B.; TANÇ, M.; SUPURAN, C. T.; KAYA, M. **Microwave Assisted Synthesis of Novel Acridine-Acetazolamide Conjugates and Investigation of Their Inhibition Effects on Human Carbonic Anhydrase Isoforms hCA I, II, IV and VII.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, May 2016.

ULUS, R.; YESILDAG, I.; ELMASTAS, M.; KAYA, M. **Rapid synthesis of novel 1,8-dioxoacridine carboxylic acid derivatives by microwave irradiation and their free radical scavenging activity.** *Med Chem Res*, New York, July 2015.

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 Letters* 27 2360–2363, 2017.

WANG, Y., C.; QIANA, C.; PENG, Z.-L.; HOU, X.-J.; WANG, L.-L.; CHAO, H.; JI, L.-N. **Dual topoisomerase I and II poisoning by chiral Ru(II) complexes containing 2-thiophenylimidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline derivatives.** *J. Inorg. Biochem.*, 130, 15-27, 2014.

WANG, Y. R., CHEN, S.-F., WU, C.-C., LIAO, Y.-W., LIN, T.-S., LIU, K.-T., CHAN, N.-L. **Producing irreversible topoisomerase II-mediated DNA breaks by site-specific Pt(II)-methionine coordination chemistry.** *Nucleic Acids Research*, 45(18), 10861–10871, 2017.

WERMTUH, C. G., Ed., **The practice of medicinal chemistry**, Academic Press, London, 2003.

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

WILCOX, W.S.; SCHABEL, F. M.; SKIPPER, H. E. **Experimental evaluation of potential anticancer agents XV. On the relative rates of growth and host kill of “single” leucemia cells that survive in vivo cytoxan therapy.** *Cancer Research* 1966, 26, 2009.

WILDMAN, S. A., & CRIPPEN, G. M. **Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions.** *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 39(5), 868–873, 1999.

WOS, M.; MIAZGA-KARSKA, M.; KACZOR, A.A.; KLIMEK, K.; KARZMARZYK, Z.; KOWALCZUK, D.; YSOCKI, W.; GINALSKA, G.; URBANCZYK-LIPKOWSKA, Z.; MORAWIAK, M.; PITUCHA, M. **Novel thiosemicarbazide derivatives with 4-nitrophenyl group as multi-target drugs:  $\alpha$ -glucosidase inhibitors with antibacterial and antiproliferative activity.** *Biomedicine & Pharmacotherapy* 93 1269–1276, 2017.

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

YELLELA, S. R. K. **Pharmaceutical technologies for enhancing oral bioavailability of poorly soluble drugs,** *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*, vol. 2, no. 2, pp. 28–36, 2010.

YOUNG, R.J.; GREEN, D.V.S.; LUSCOMBE, C.N.; HILL, A.P. **Getting physical in drug discovery II: the impact of chromatographic hydrophobicity measurements and aromaticity.** *Drug Discovery Today*.;16:822–830, 2011.

ZARETZKI, J., MATLOCK, M., & SWAMIDASS, S. J. **XenoSite: Accurately Predicting CYP-Mediated Sites of Metabolism with Neural Networks.** *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(12), 3373–3383, 2013.

ZARZYCKA, B., KUENEMANN, M.A., MITEVA, M.A., NICOLAES, G.A., VRIEND, G. SPERANDIO, O. **Stabilization of protein-protein interaction complexes through small molecules.** *Drug Discov. Today*, 21, 48–57, 2016.

ZIMMERMAN, H. J.; MADDREY, W. C. **Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: Analysis of instances of therapeutic misadventure.** *Hepatology*, 22, 767–773, 1995.

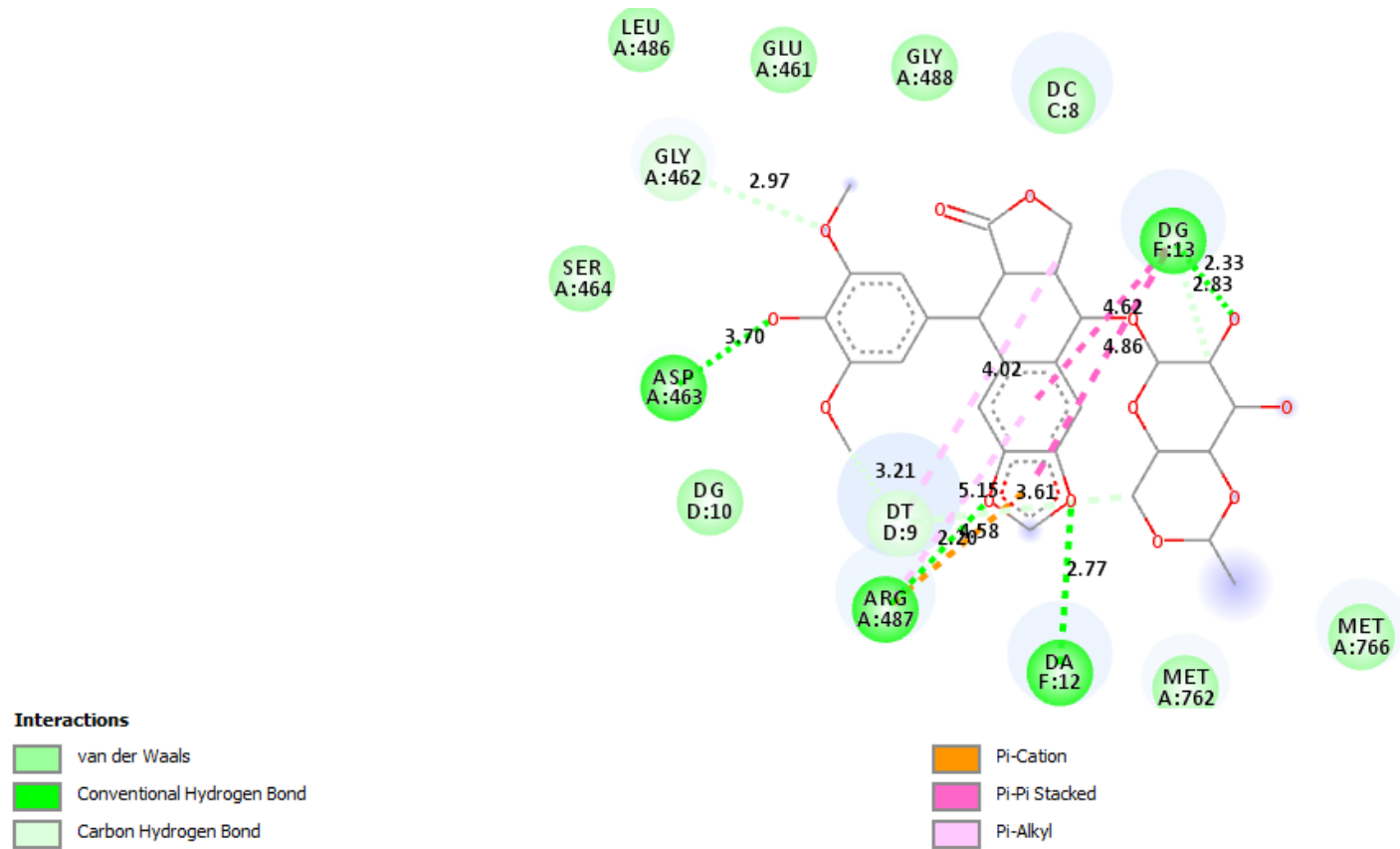
ZHOU, Q.; YOU, C.; ZHENG, C.; GU, Y.; GU, H.; ZHANG, R.; WU, H.; SUN, B. **3-Nitroacridine derivatives arrest cell cycle at G0/G1 phase and induce apoptosis in human breast cancer cells may act as DNA target anticancer agents.** *Life Science*, May 2017.

ZHU, J.; CHEN, L.; DONG, Y.; LI, J.; LIU, X. **Spectroscopic and molecular modeling methods to investigate the interaction between 5-Hydroxymethyl-2-furfural and calf thymus DNA using ethidium bromide as a probe.** *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and biomolecular Spectroscopy*. v. 124, p. 78-83, 2014.

# APÊNDICES

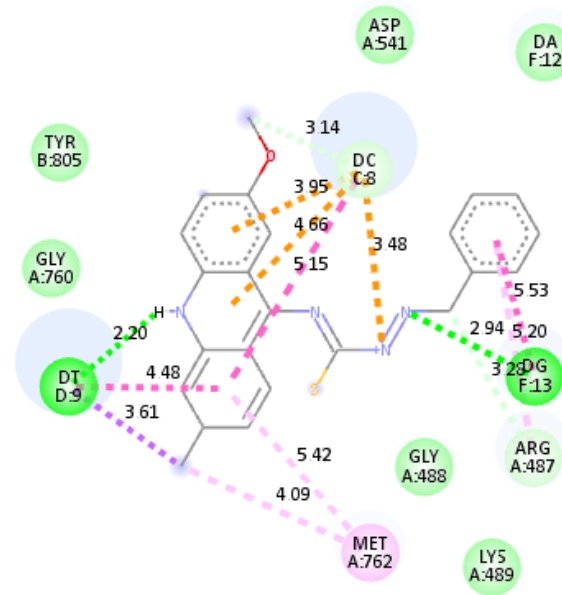
**APÊNDICE A- *DOCKING* MOLECULAR**

### APÊNDICE A.1 – Docking molecular: interação ETOPOSIDO com DNA -TOPO II





## APÊNDICE A.2– Docking molecular: interação GLDL-01 com DNA -TOPO II

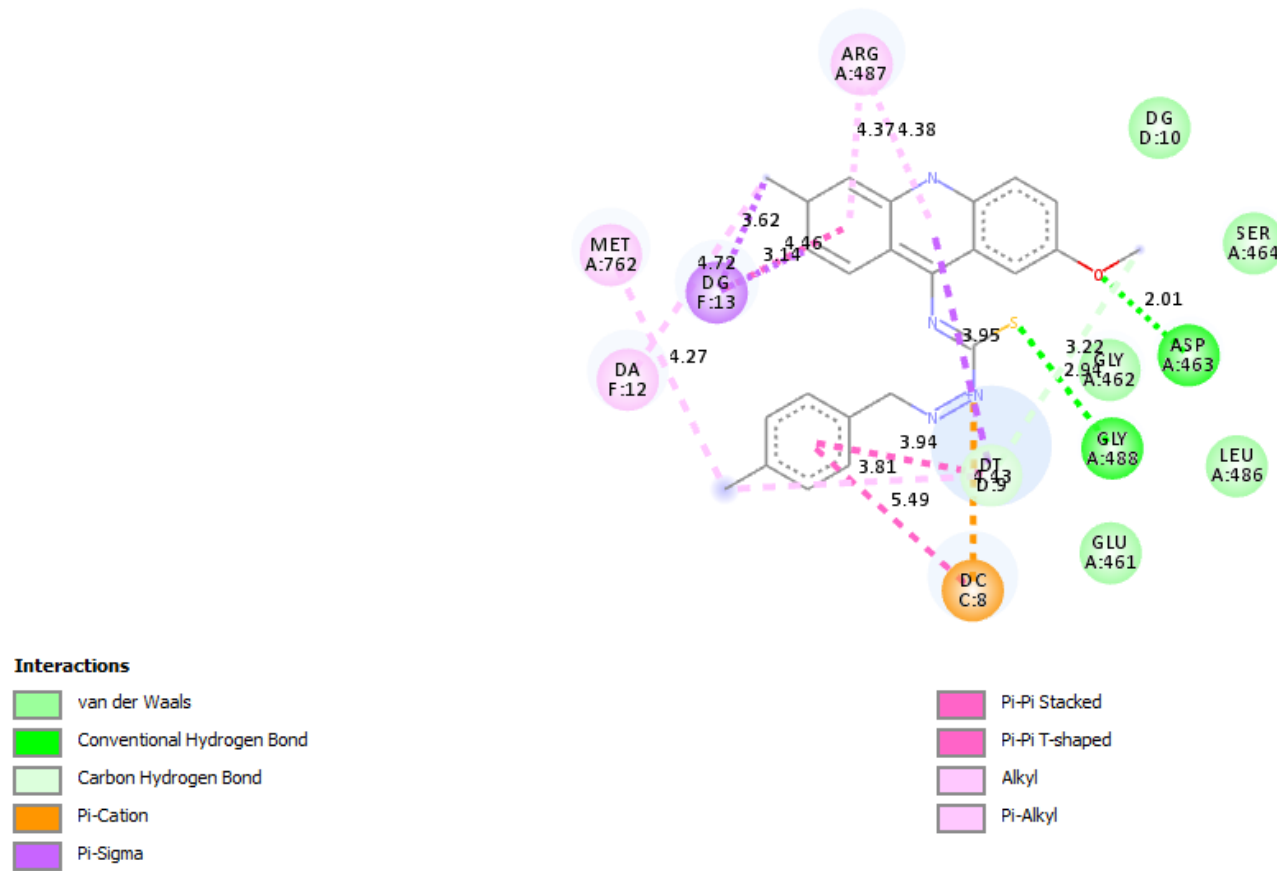


### Interactions

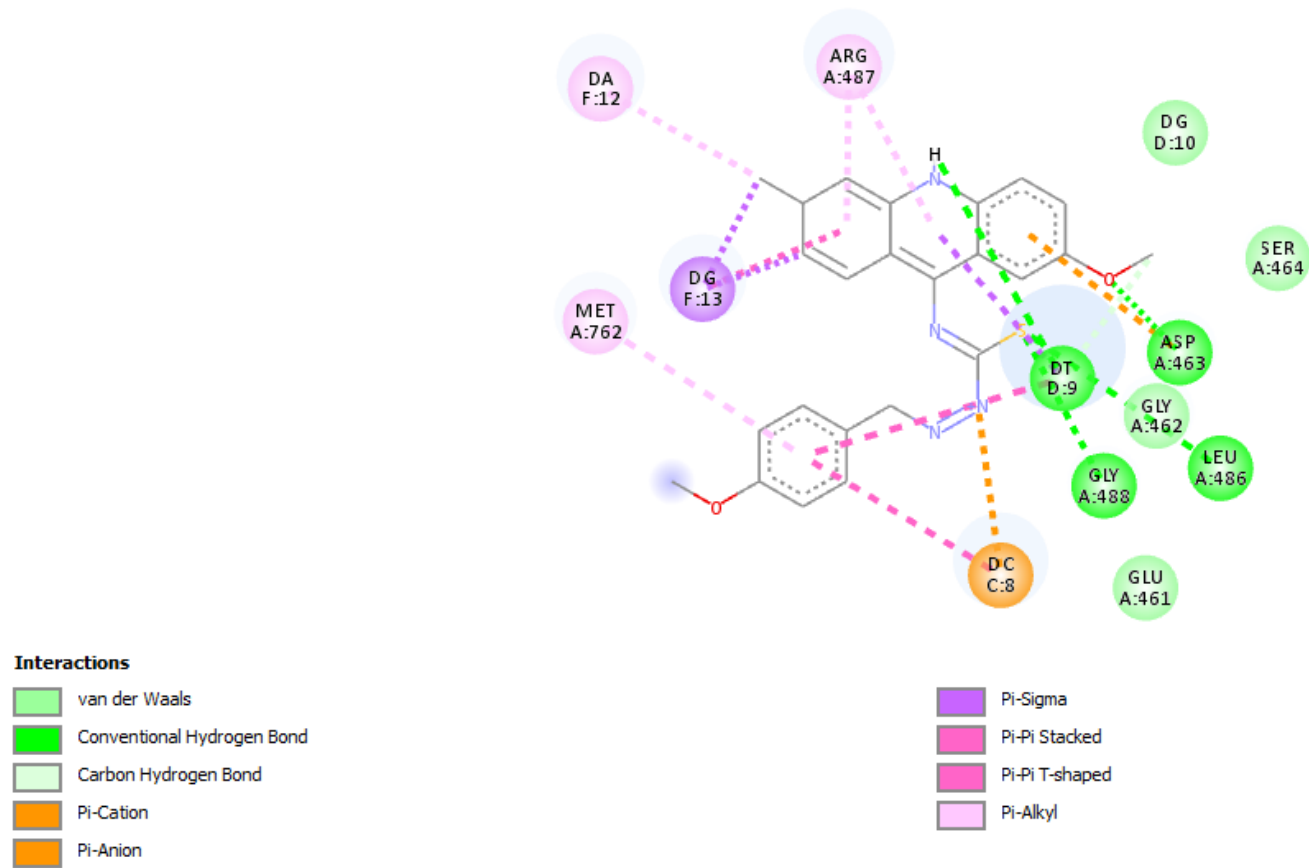
- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond
- Pi-Cation
- Pi-Anion

- Pi-Sigma
- Pi-Pi Stacked
- Alkyl
- Pi-Alkyl

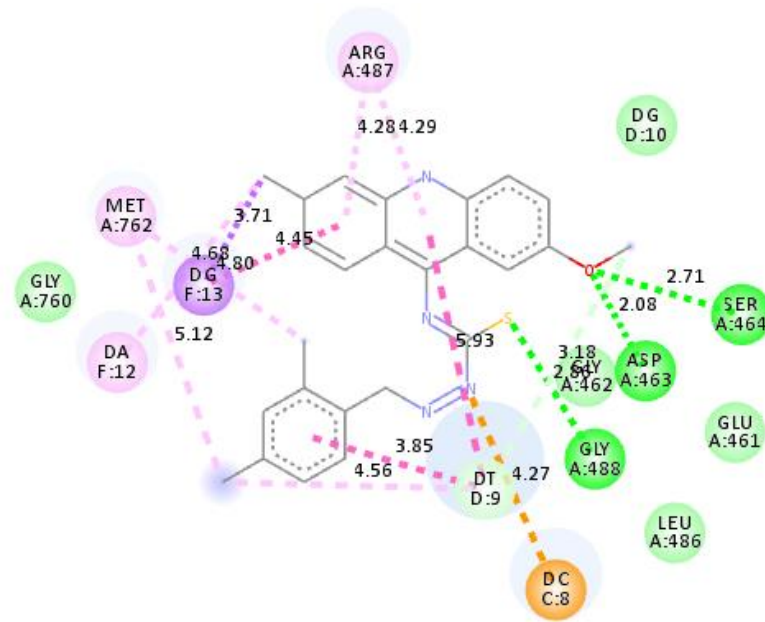
### APÊNDICE A.3 – Docking molecular: interação GLDL-02 com DNA -TOPO II



### APÊNDICE A.4 – *Docking* molecular: interação GLDL-03 com DNA -TOPO II



### APÊNDICE A.5 – Docking molecular: interação GLDL-04 com DNA -TOPO II

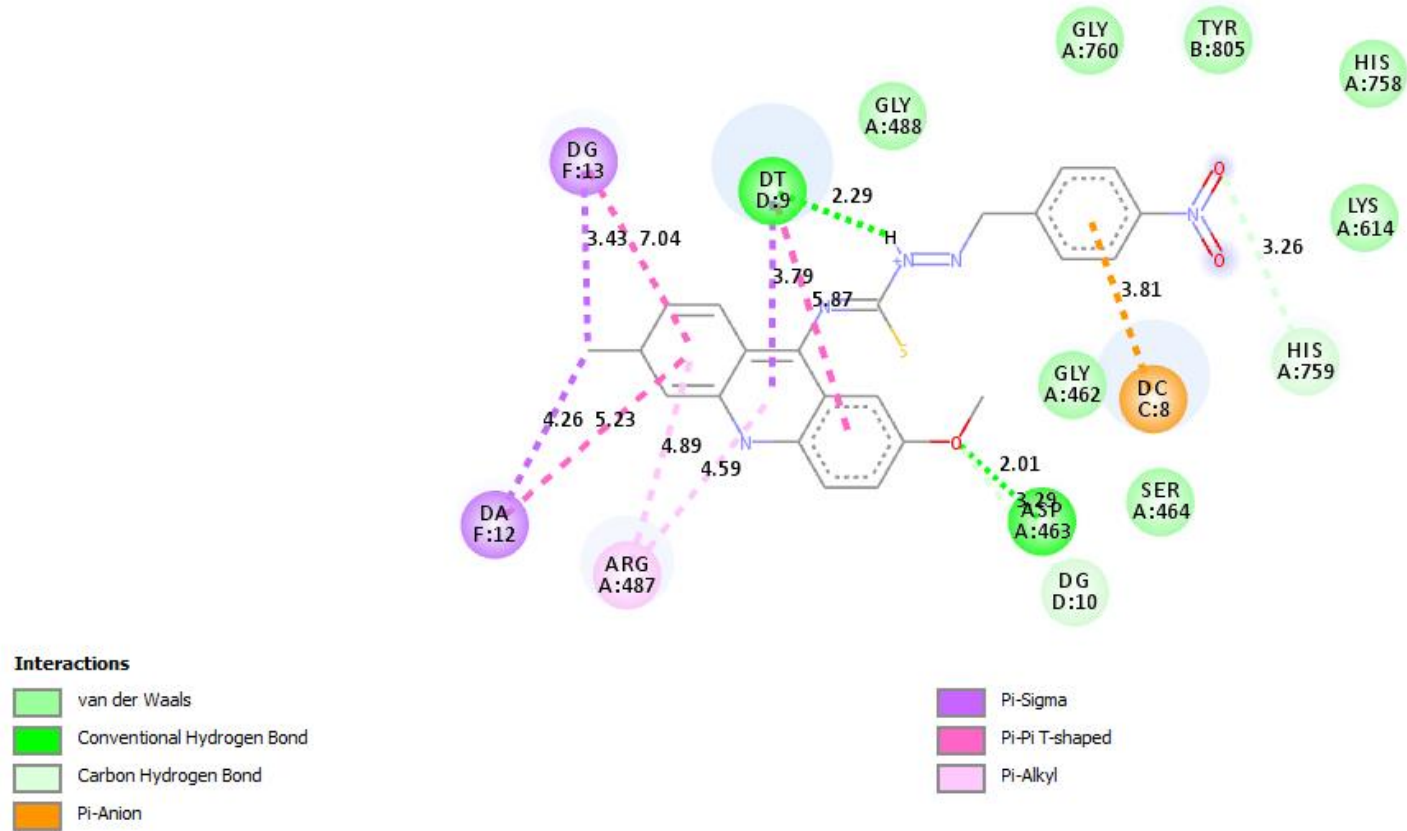


#### Interactions

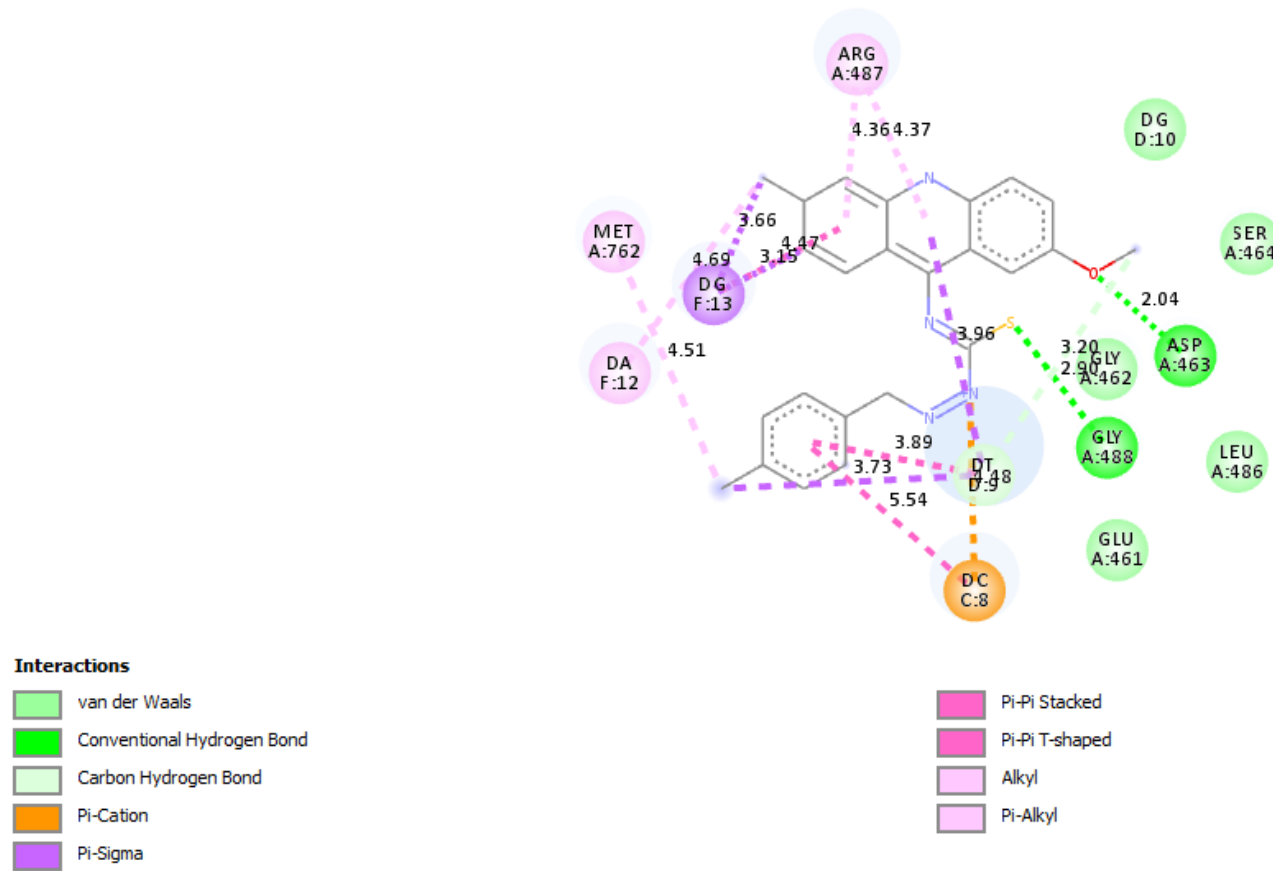
- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond
- Pi-Cation
- Pi-Sigma

- Pi-Pi Stacked
- Pi-Pi T-shaped
- Alkyl
- Pi-Alkyl

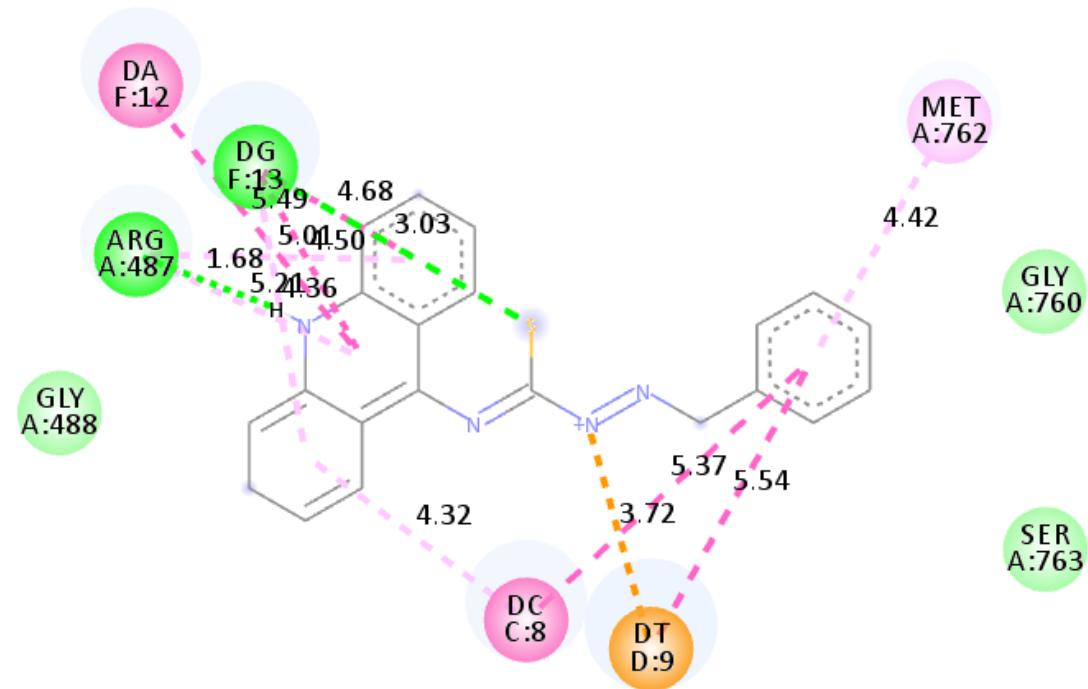
## APÊNDICE A.6 – Docking molecular: interação GLDL-05 com DNA -TOPO II



### APÊNDICE A.7 – Docking molecular: interação GLDL-06 com DNA -TOPO II



APÊNDICE A.8 – *Docking* molecular: interação GLCL-01 com DNA -TOPO II

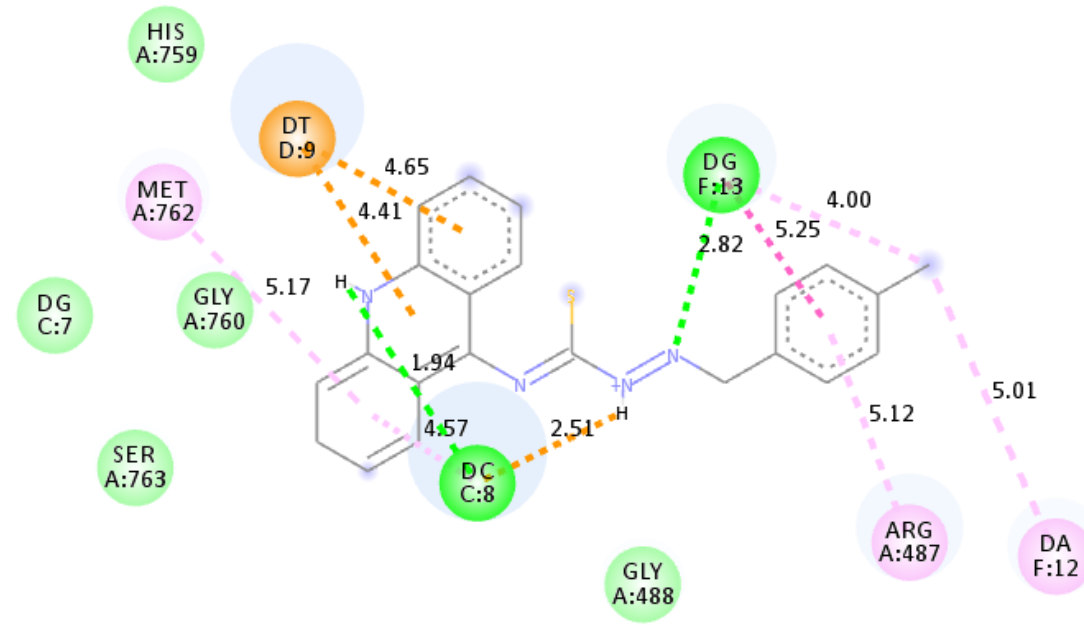


**Interactions**

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Pi-Cation

- Pi-Pi Stacked
- Pi-Pi T-shaped
- Pi-Alkyl

APÊNDICE A.9 – *Docking* molecular: interação GLCL-02 com DNA -TOPO II



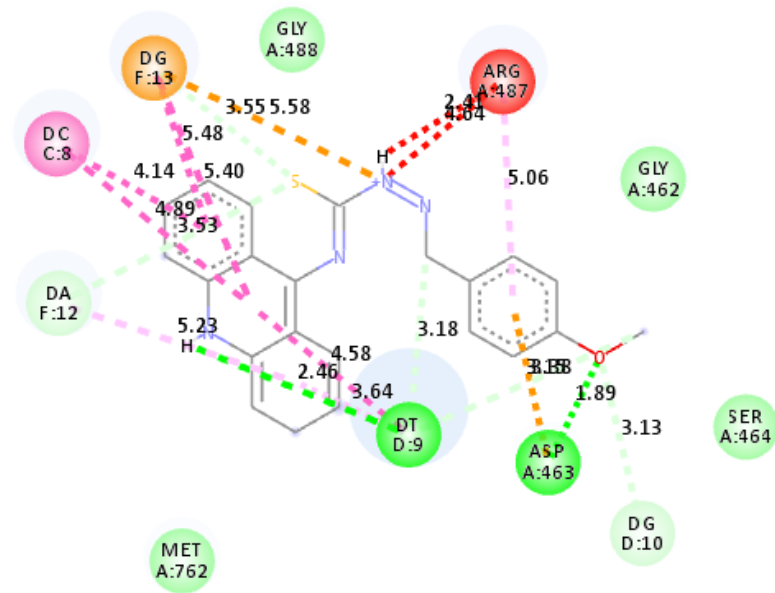
**Interactions**

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Pi-Cation
- Pi-Anion

- Pi-Pi Stacked
- Alkyl
- Pi-Alkyl



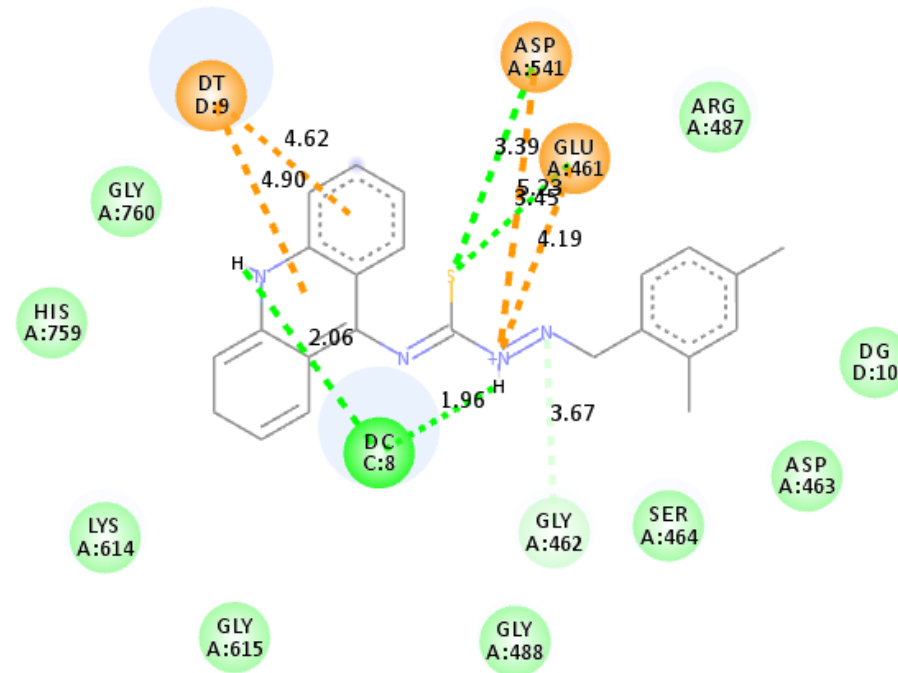
## APÊNDICE A.10 – Docking molecular: interação GLCL-03 com DNA -TOPO II



### Interactions

	van der Waals		Pi-Cation
	Conventional Hydrogen Bond		Pi-Anion
	Carbon Hydrogen Bond		Pi-Donor Hydrogen Bond
	Unfavorable Positive-Positive		Pi-Pi Stacked
	Unfavorable Donor-Donor		Pi-Alkyl

### APÊNDICE A.11 – Docking molecular: interação GLCL-04 com DNA -TOPO II

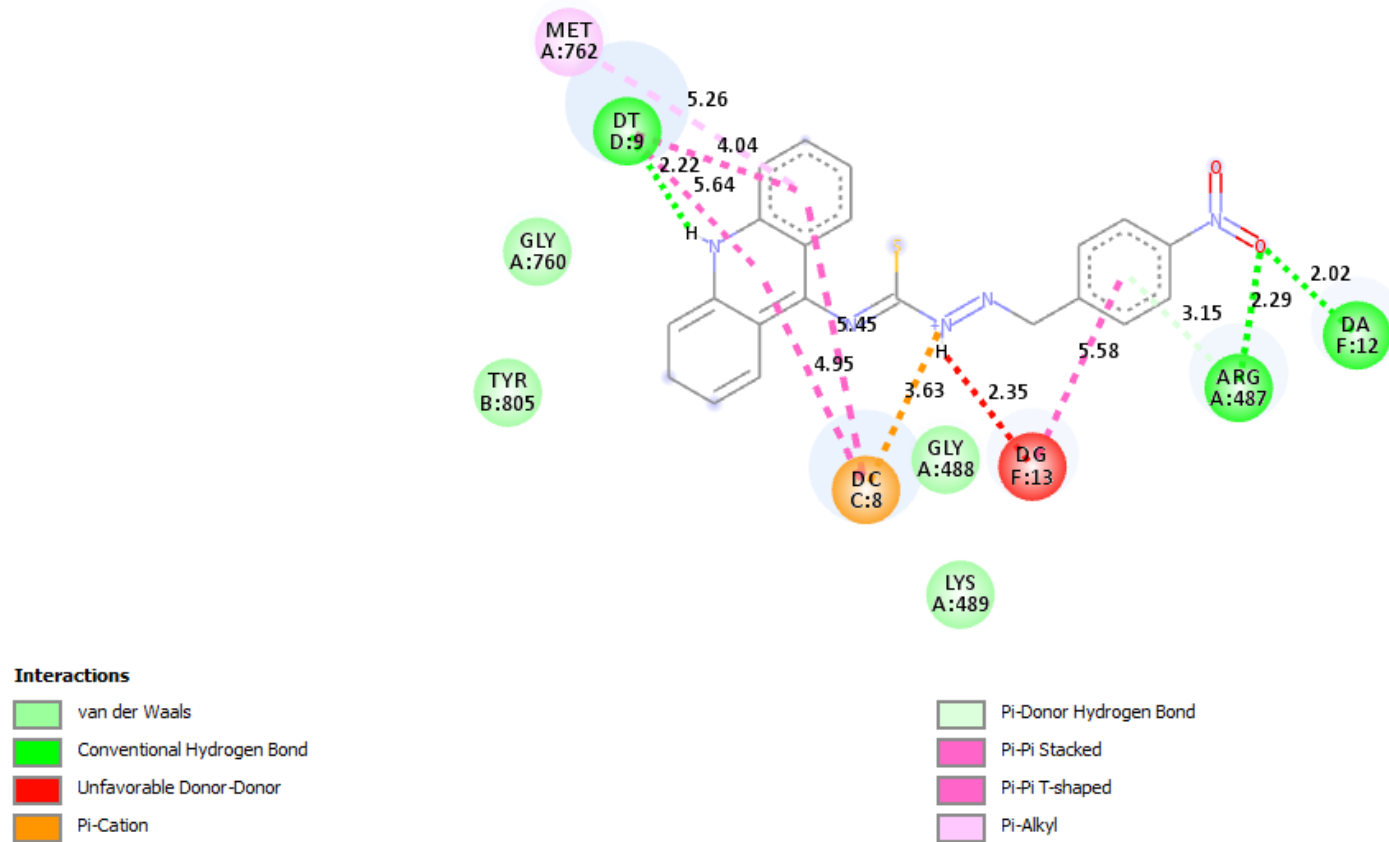


#### Interactions

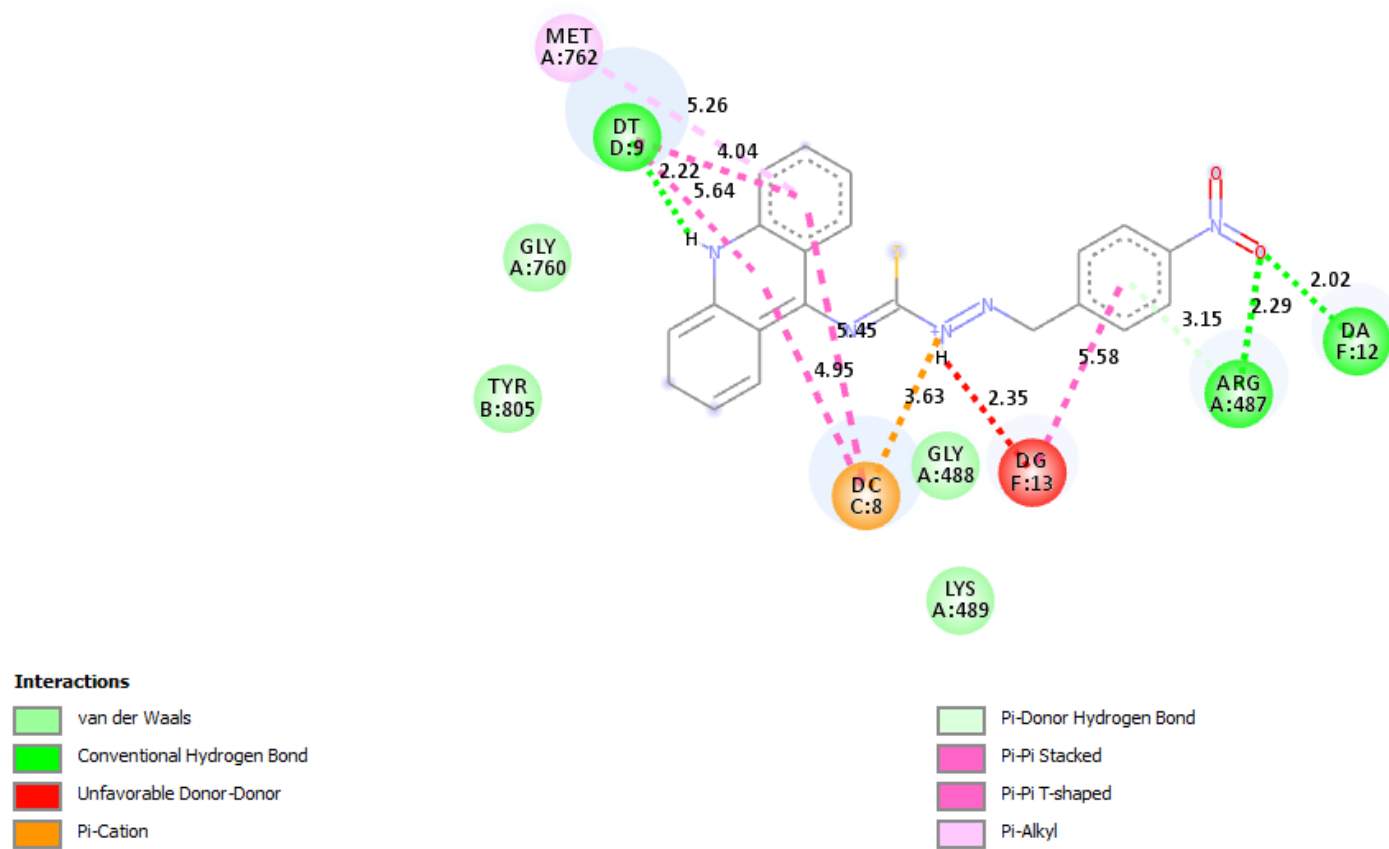
- van der Waals
- Attractive Charge
- Conventional Hydrogen Bond

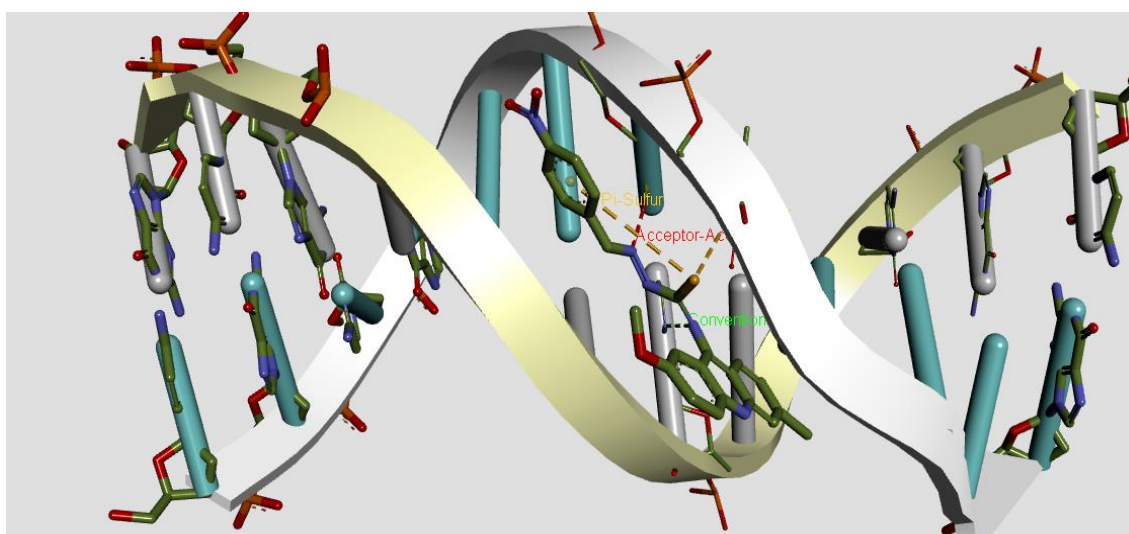
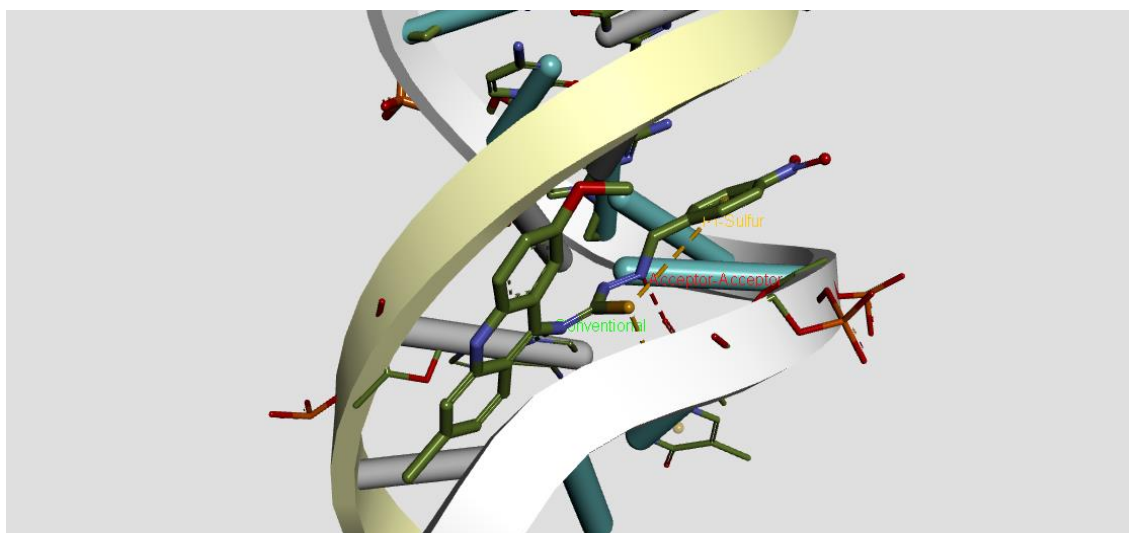
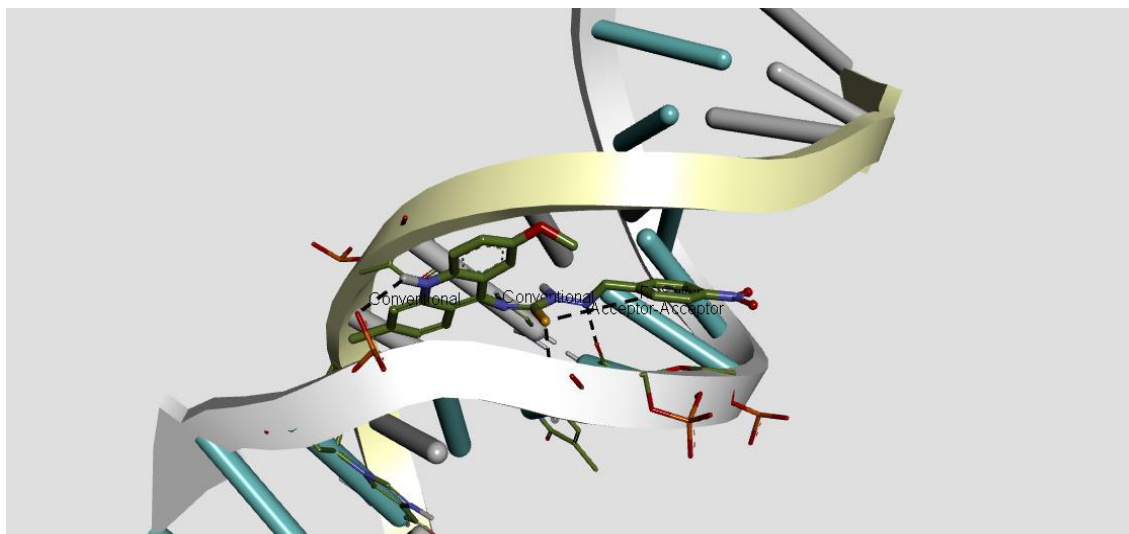
- Carbon Hydrogen Bond
- Pi-Anion
- Pi-Sigma

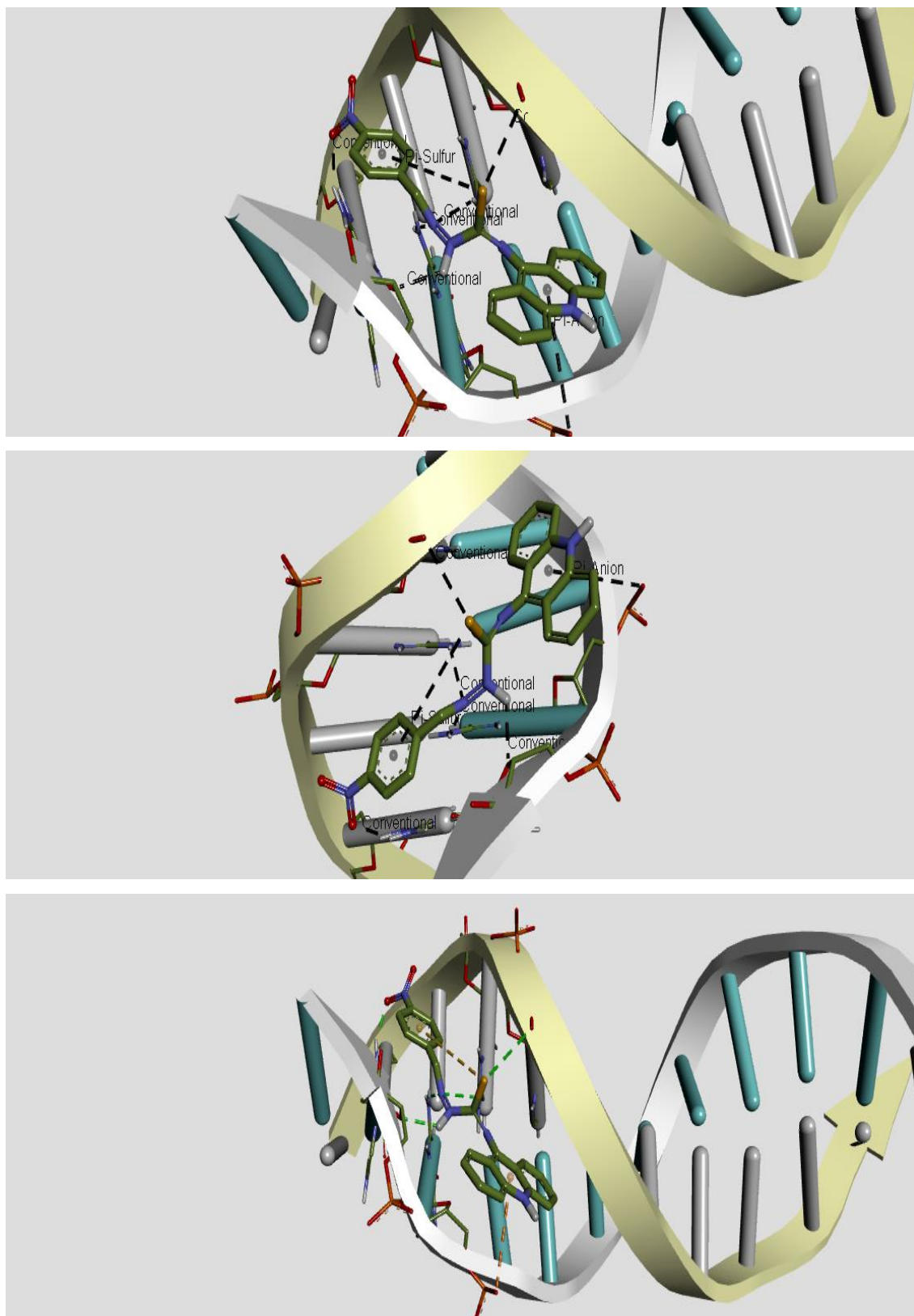
## APÊNDICE A.12 – Docking molecular: interação GLCL-05 com DNA -TOPO II



### APÊNDICE A.13 – Docking molecular: interação GLCL-06 com DNA -TOPO II

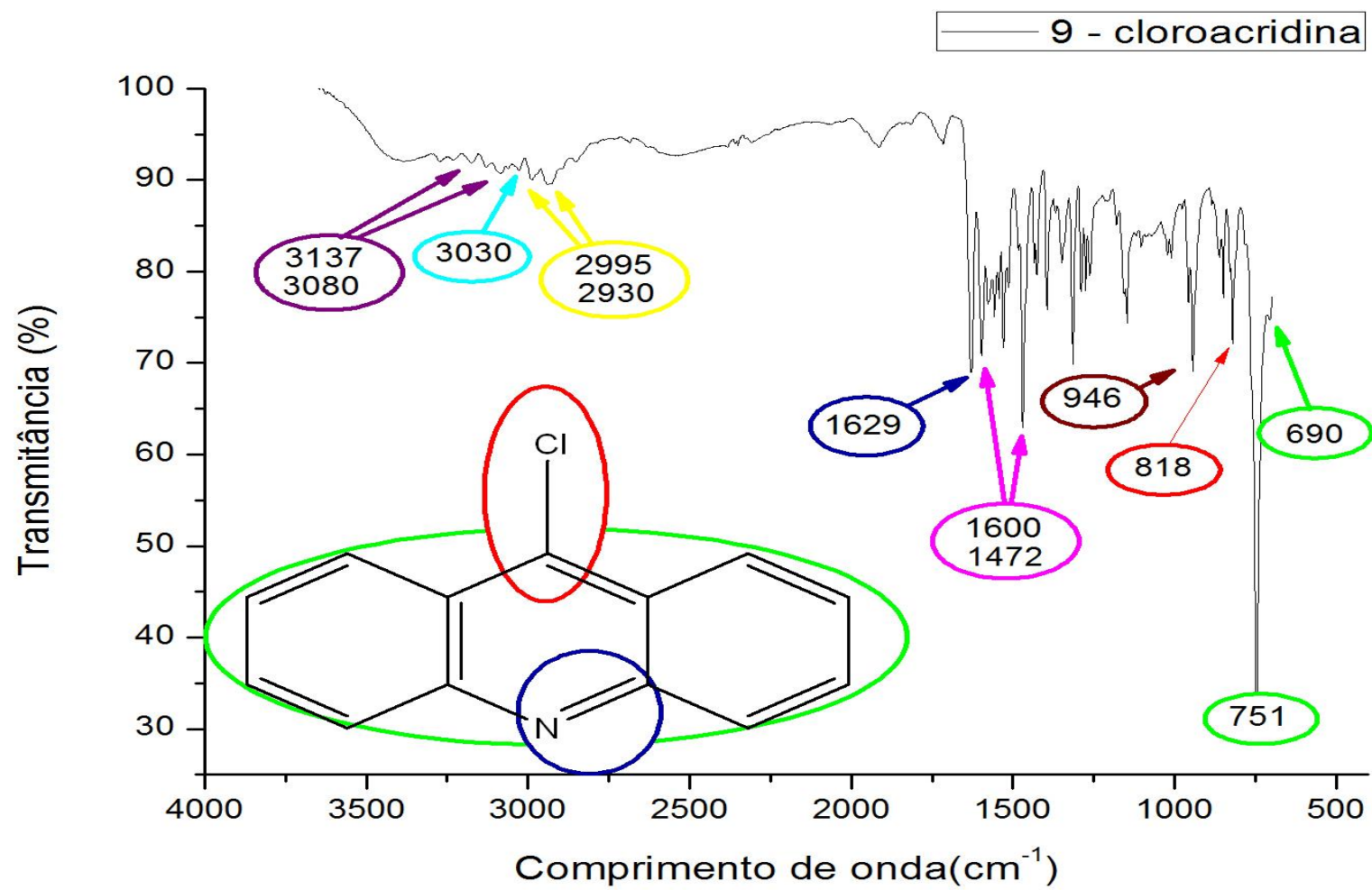


**APÊNDICE A.14 – Docking molecular: interação GLDL-05 com DNA.**

**APÊNDICE A.15 – Docking molecular: interação GLCL-05 com DNA.**

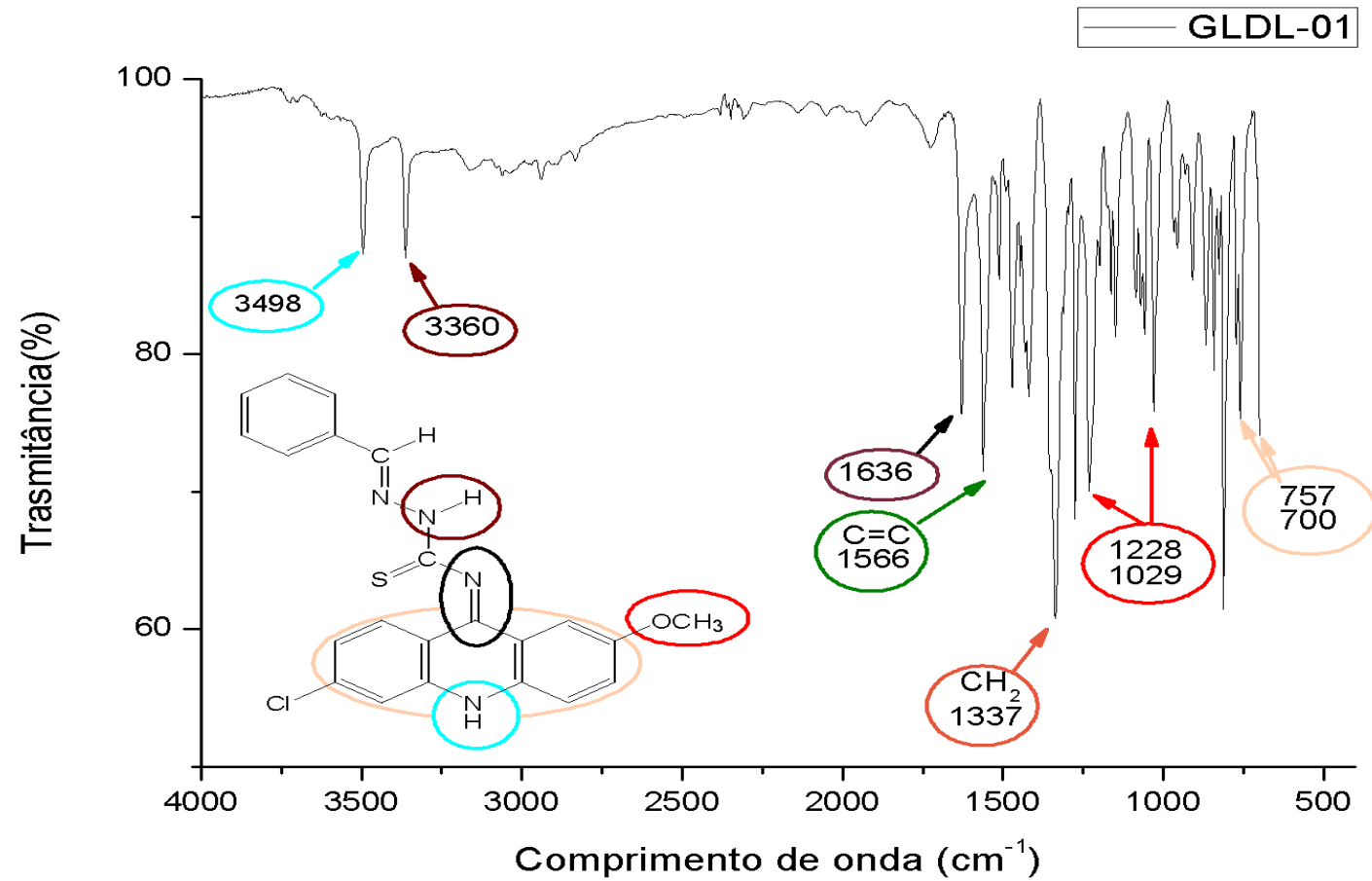
**APÊNDICE B – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO**

## APÊNDICE B.1 - Espectro de Infravermelho da 9-cloroacridina

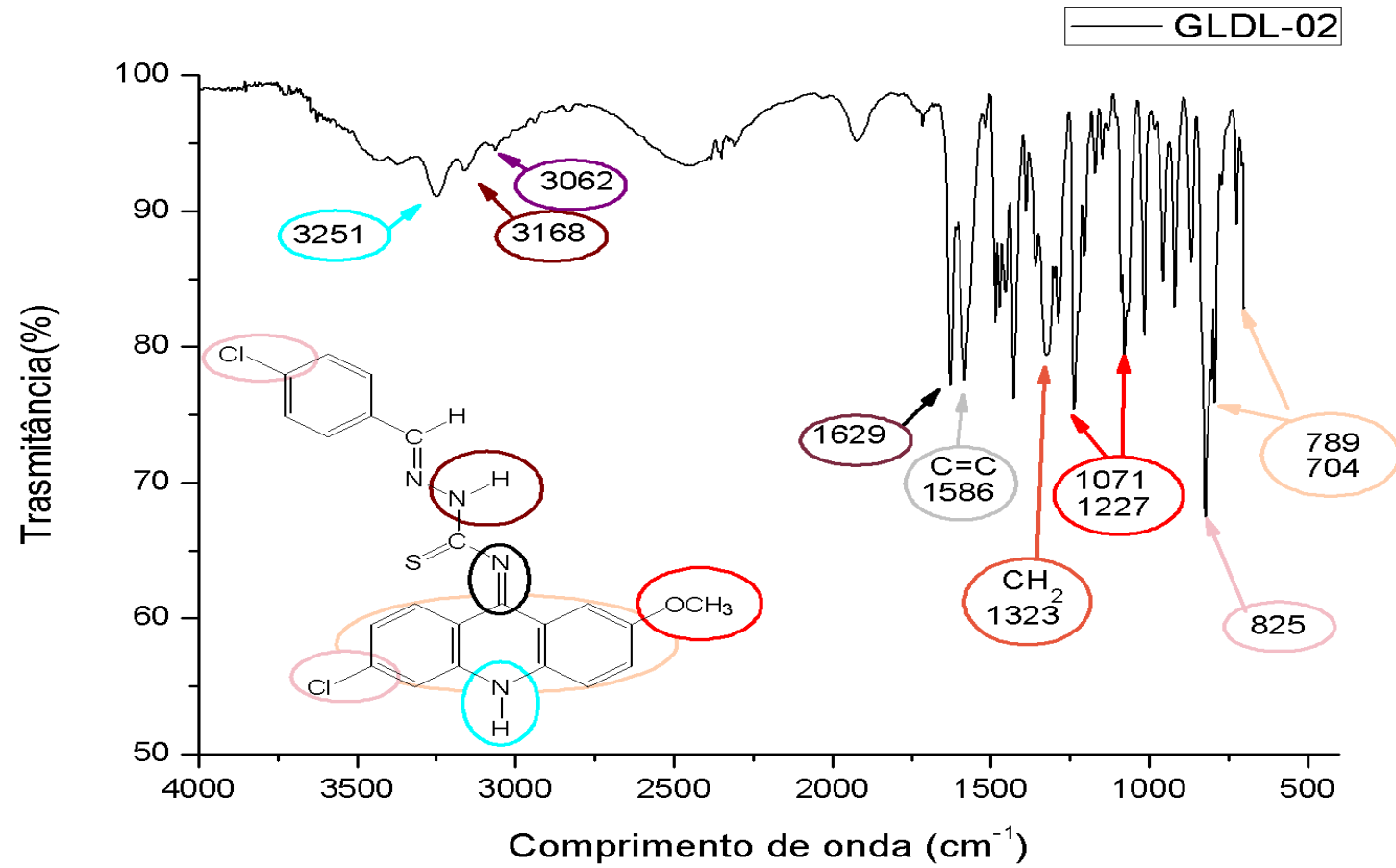




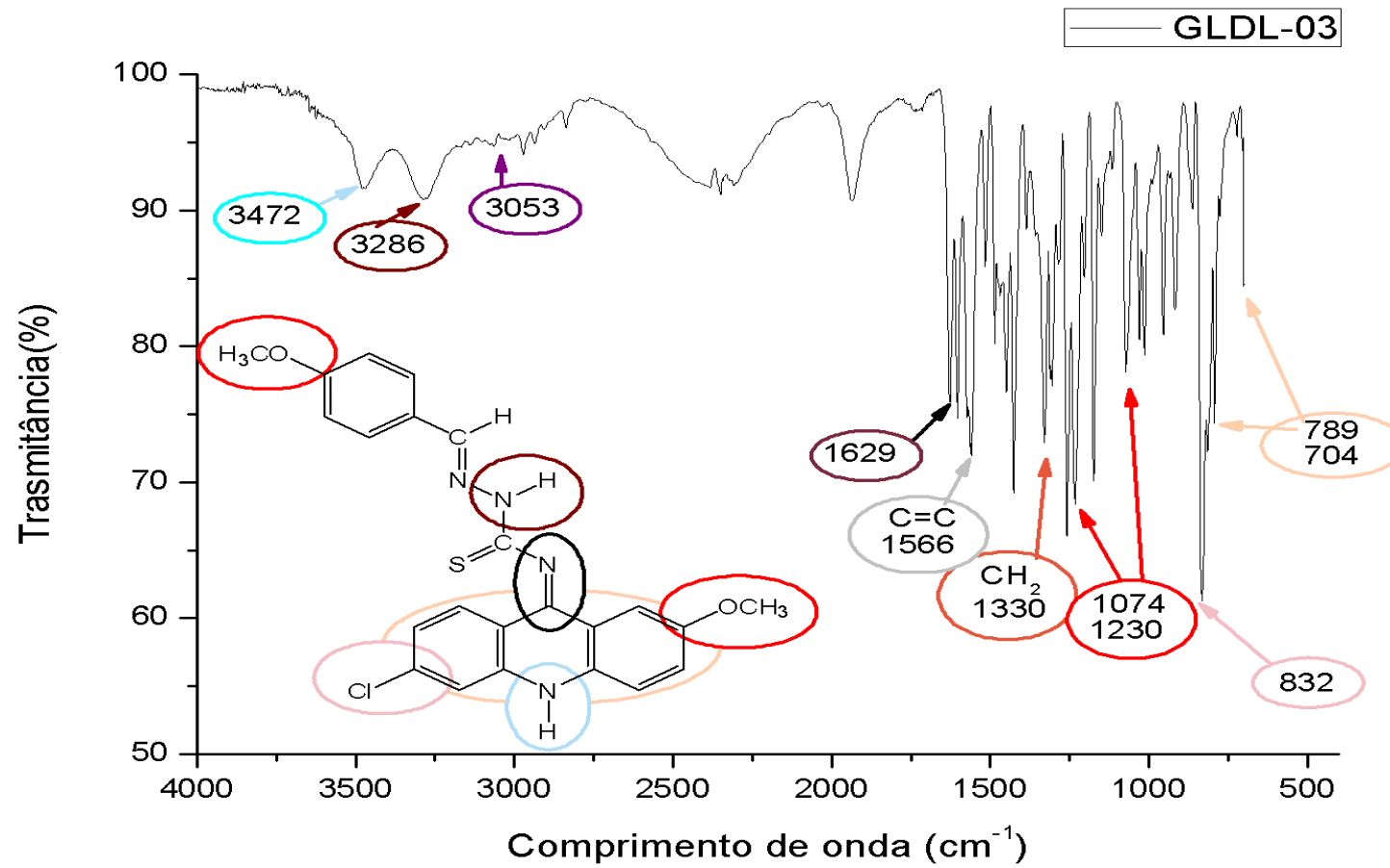
## APÊNDICE B.2 - Espectro de Infravermelho da GLDL-01



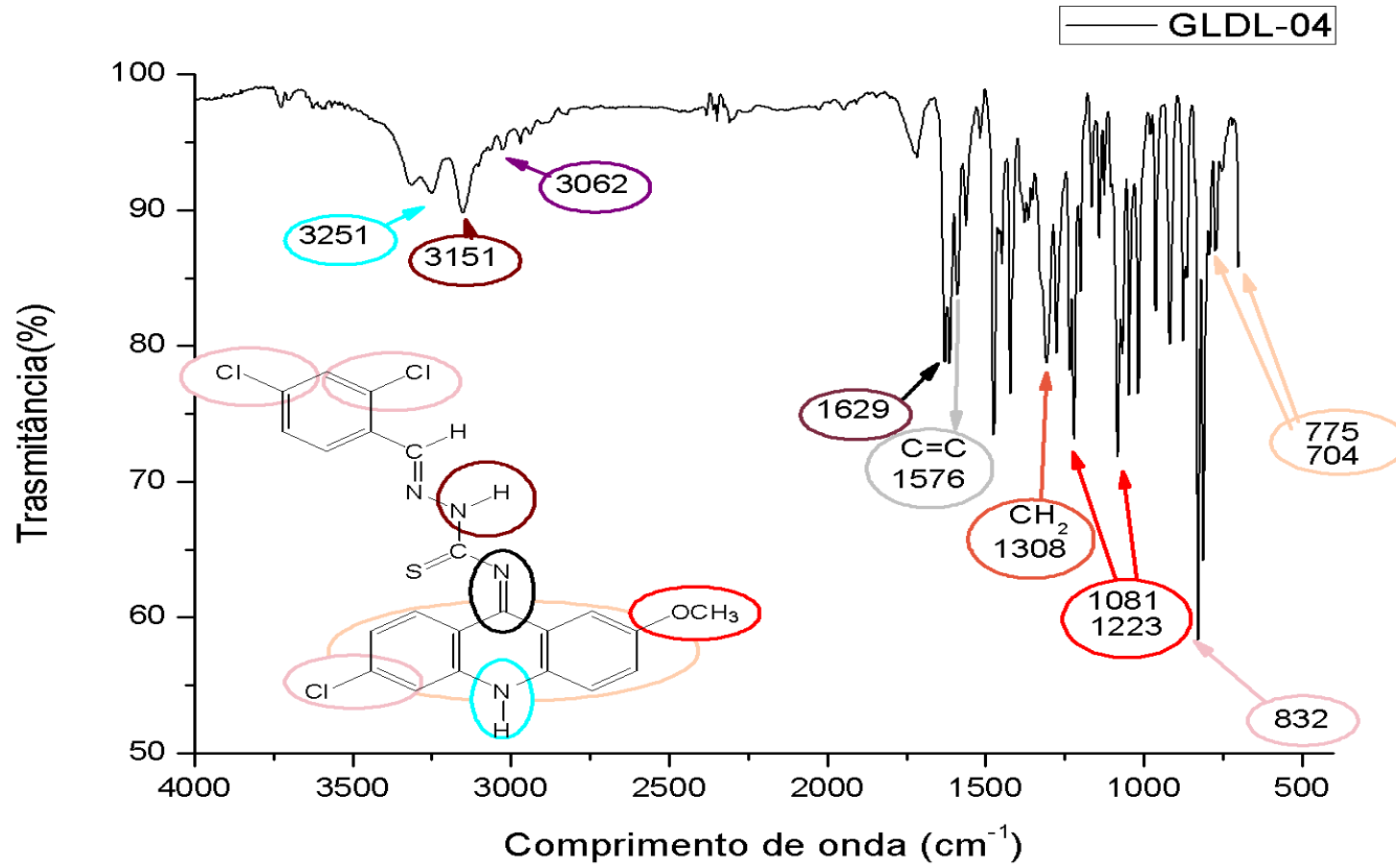
## APÊNDICE B.3 - Espectro de Infravermelho da GLDL-02



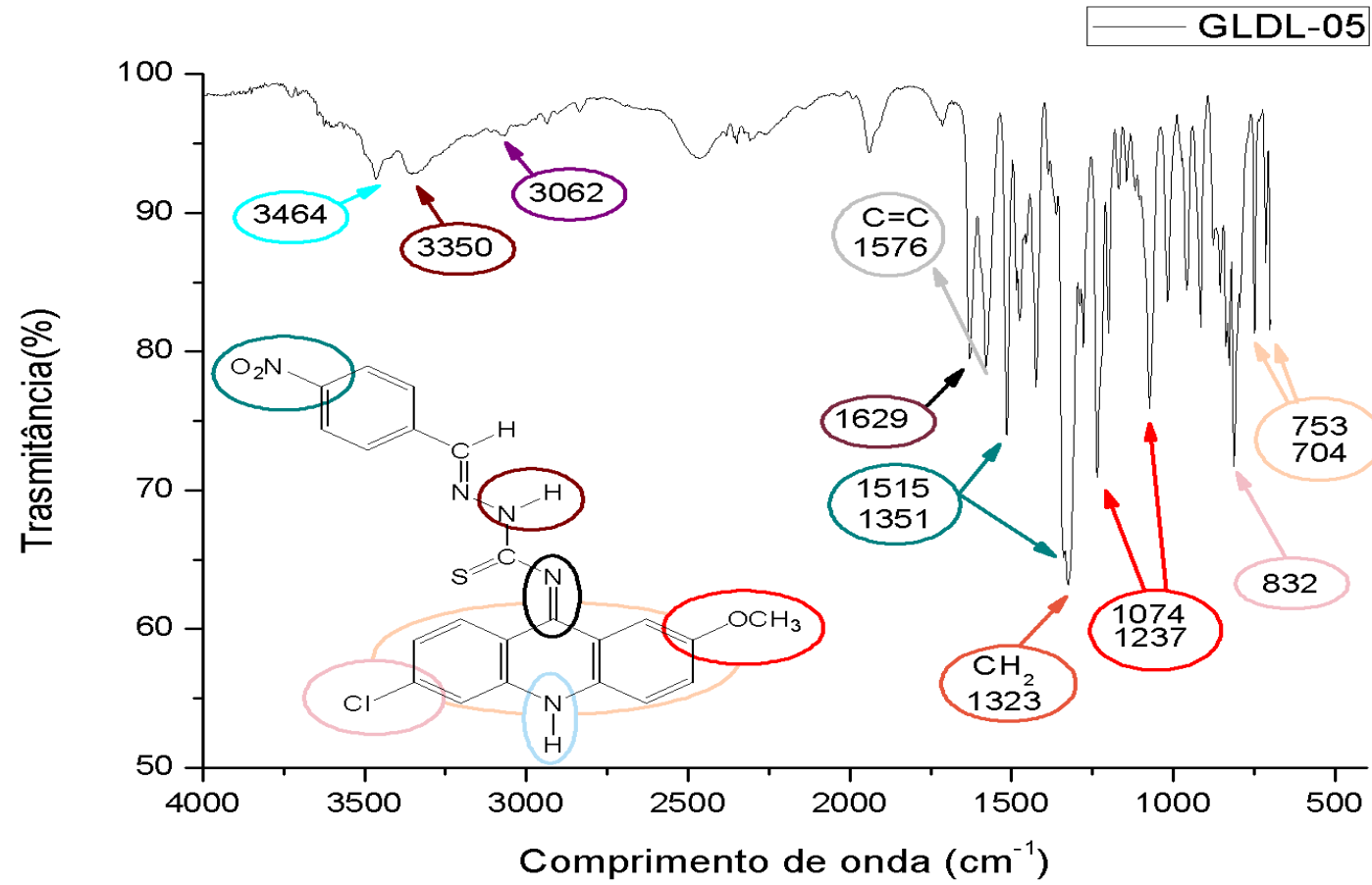
## APÊNDICE B.4 - Espectro de Infravermelho da GLDL-03



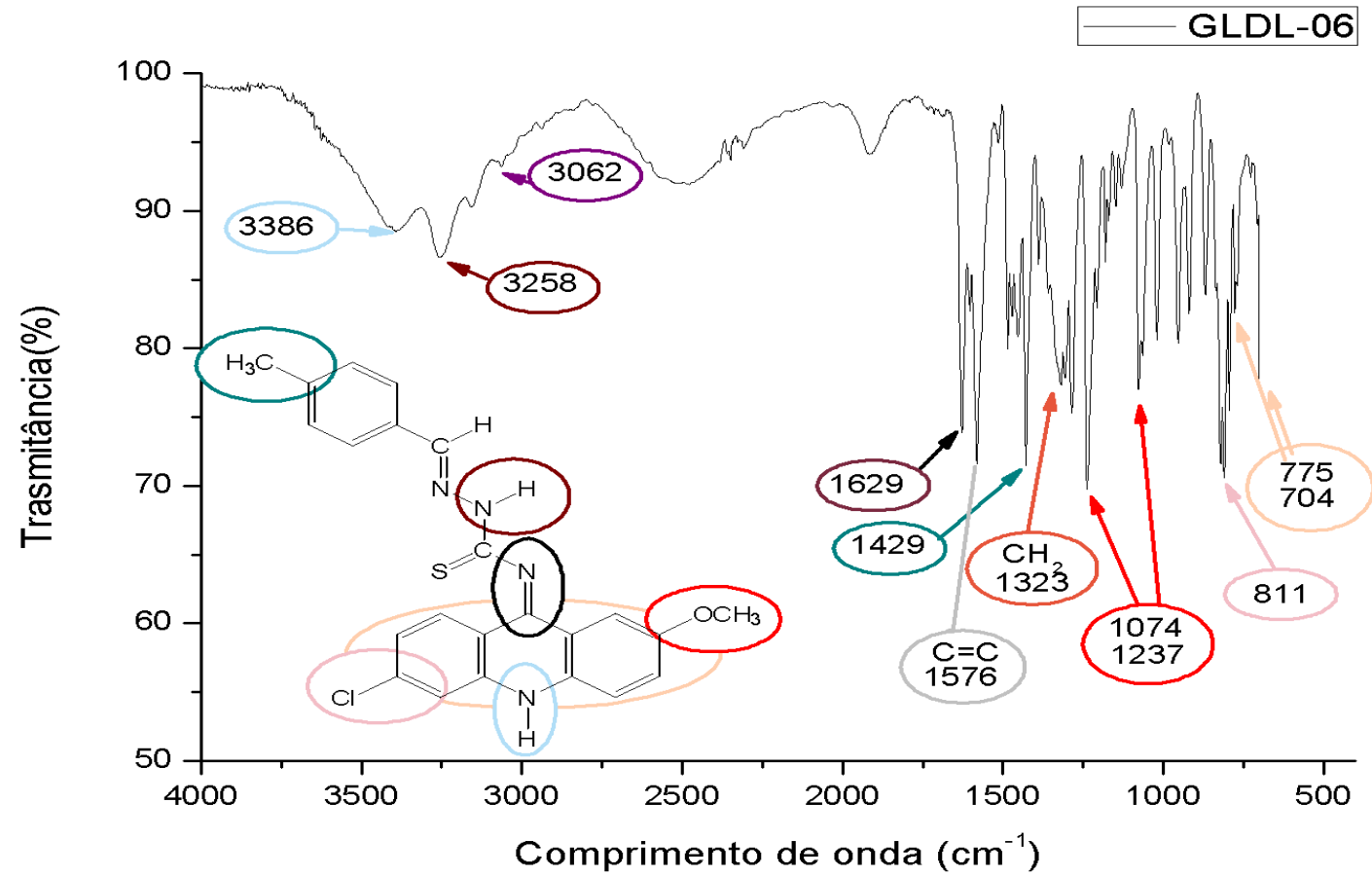
## APÊNDICE B.5 - Espectro de Infravermelho da GLDL-04



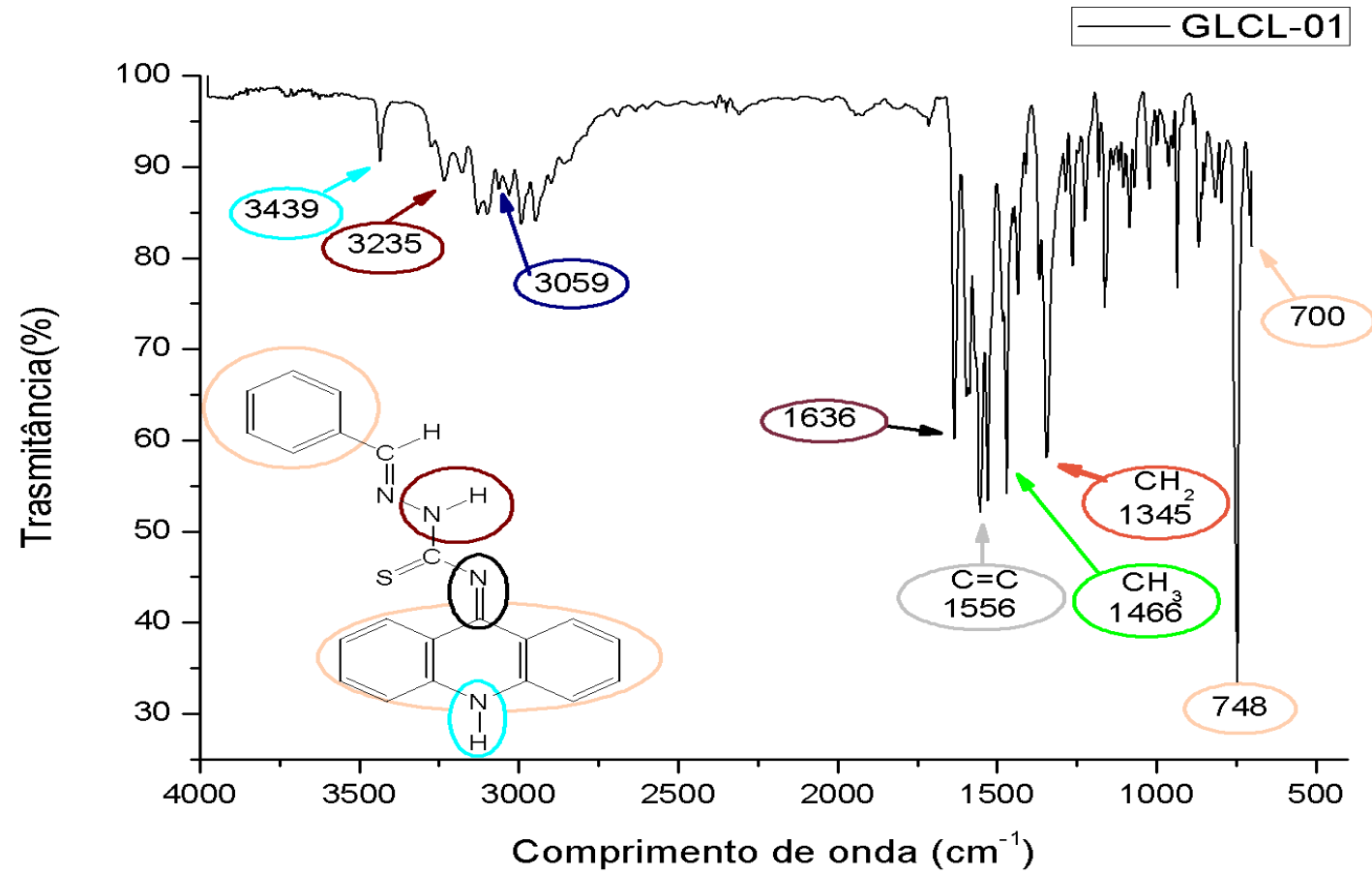
### APÊNDICE B.6 - Espectro de Infravermelho da GLDL-05



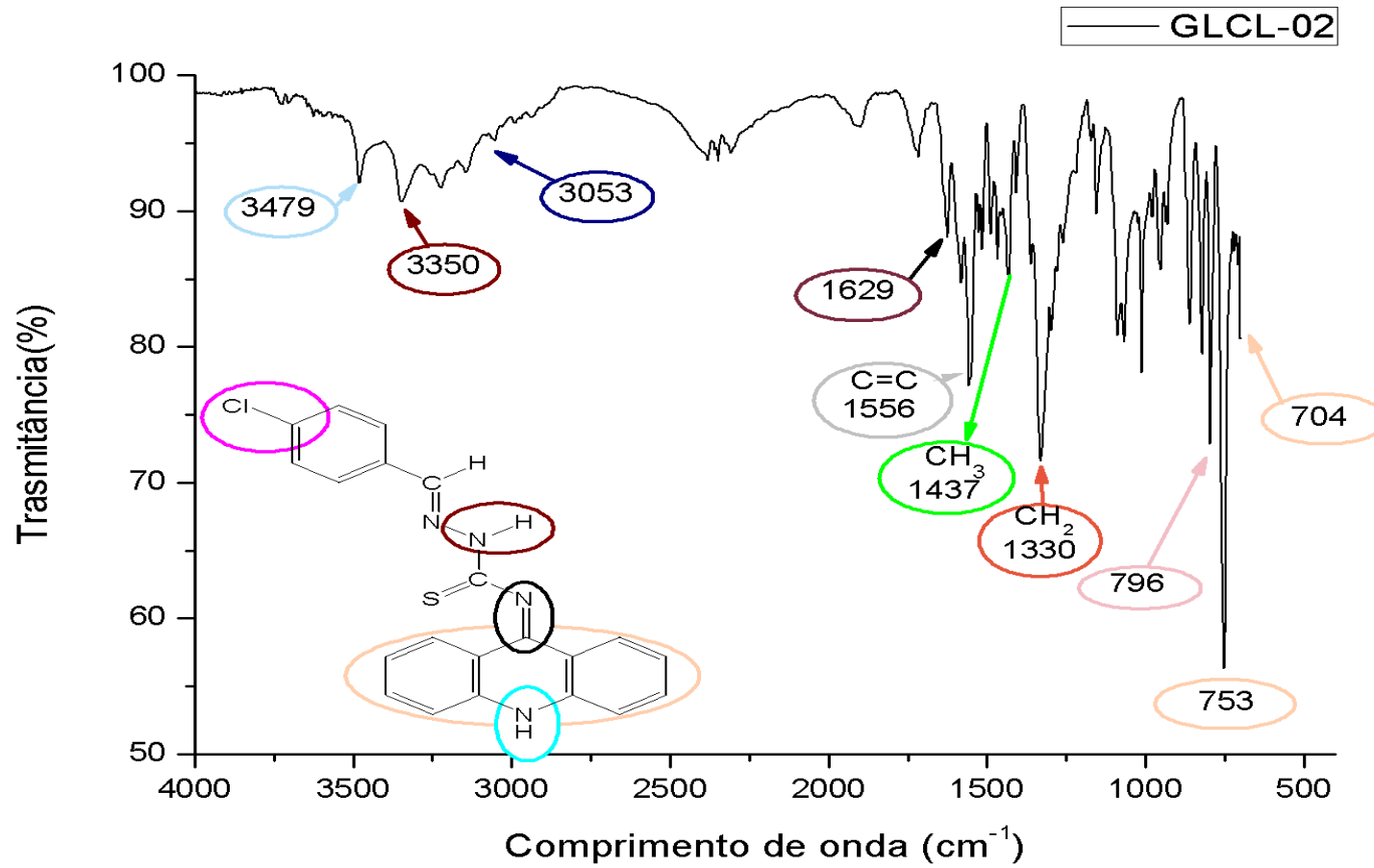
## APÊNDICE B.7 - Espectro de Infravermelho da GLDL-06



## APÊNDICE B.8 - Espectro de Infravermelho da GLCL-01

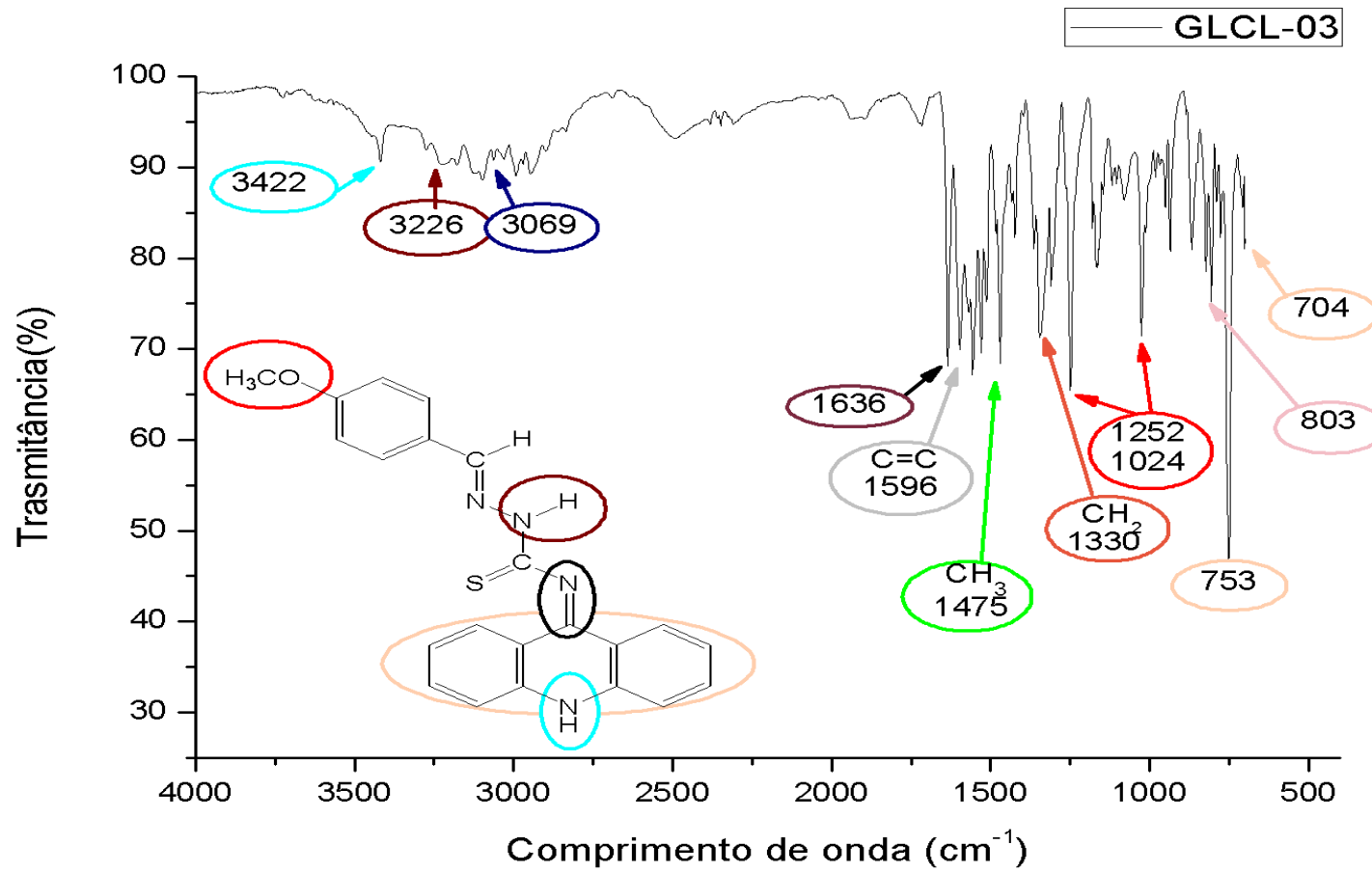


## APÊNDICE B.9 - Espectro de Infravermelho da GLCL-02

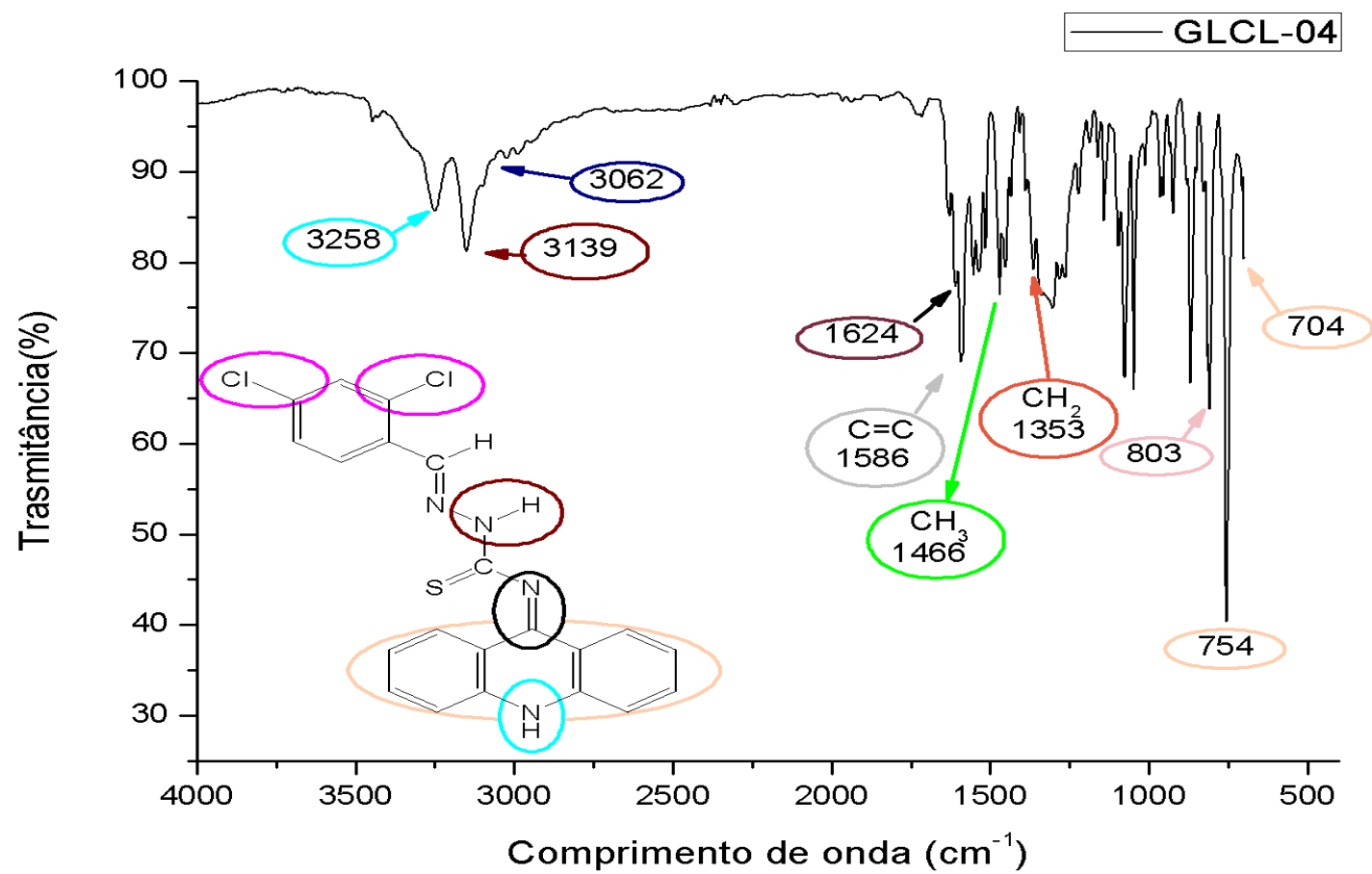




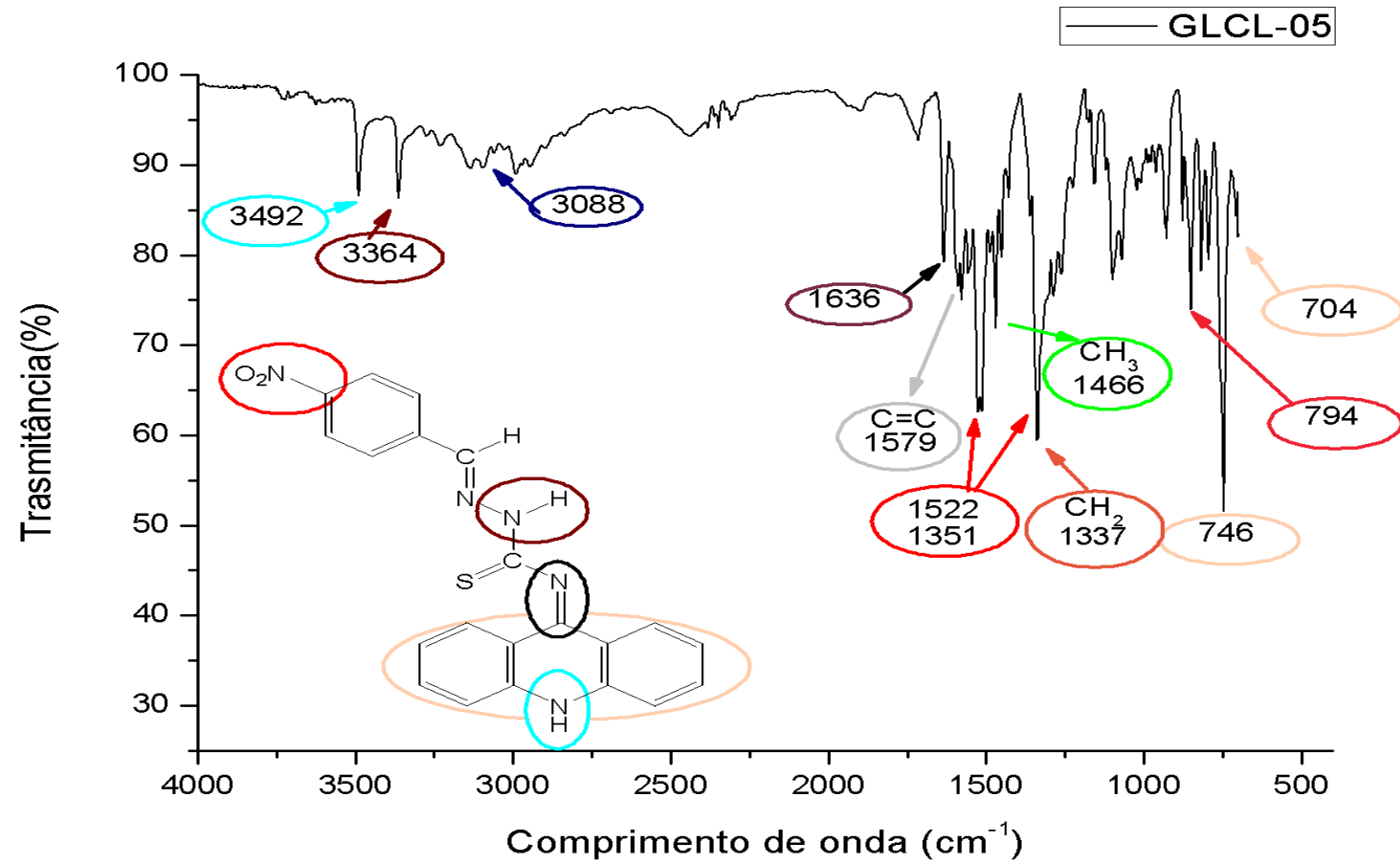
## APÊNDICE B.10 - Espectro de Infravermelho da GLCL-03



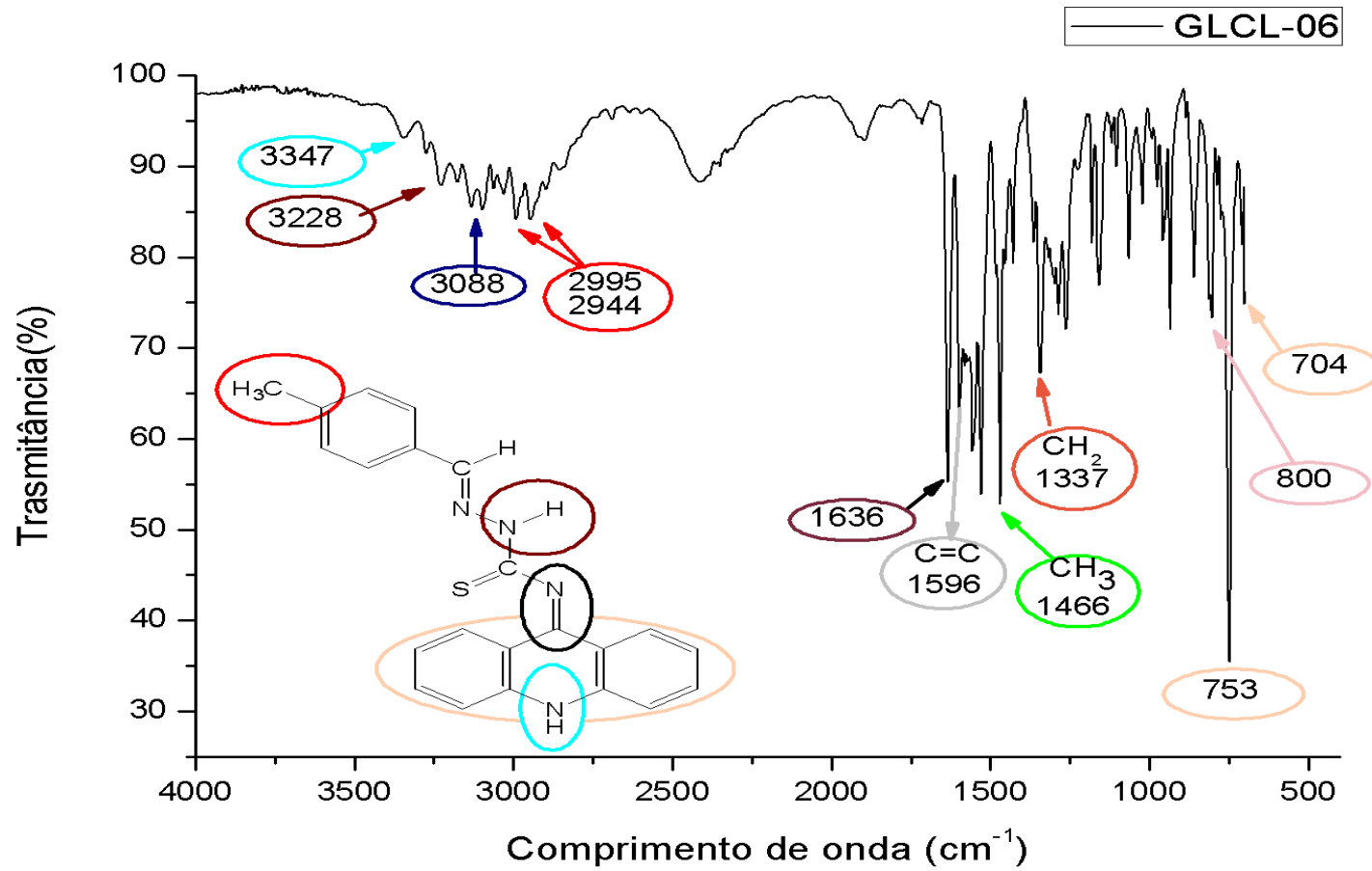
## APÊNDICE B.11 - Espectro de Infravermelho da GLCL-04



## APÊNDICE B.12 - Espectro de Infravermelho da GLCL-05

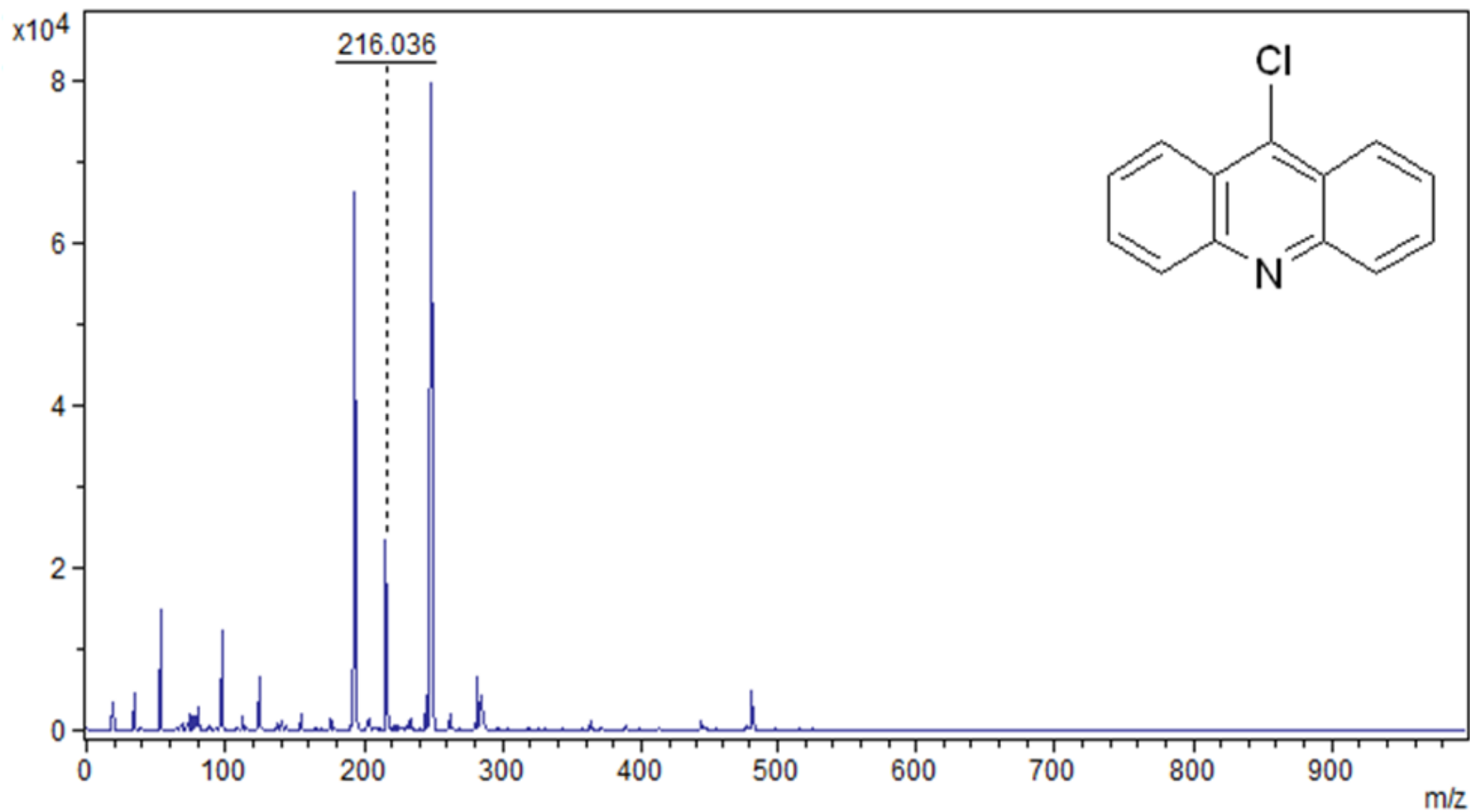


## APÊNDICE B.13 - Espectro de Infravermelho da GLCL-06

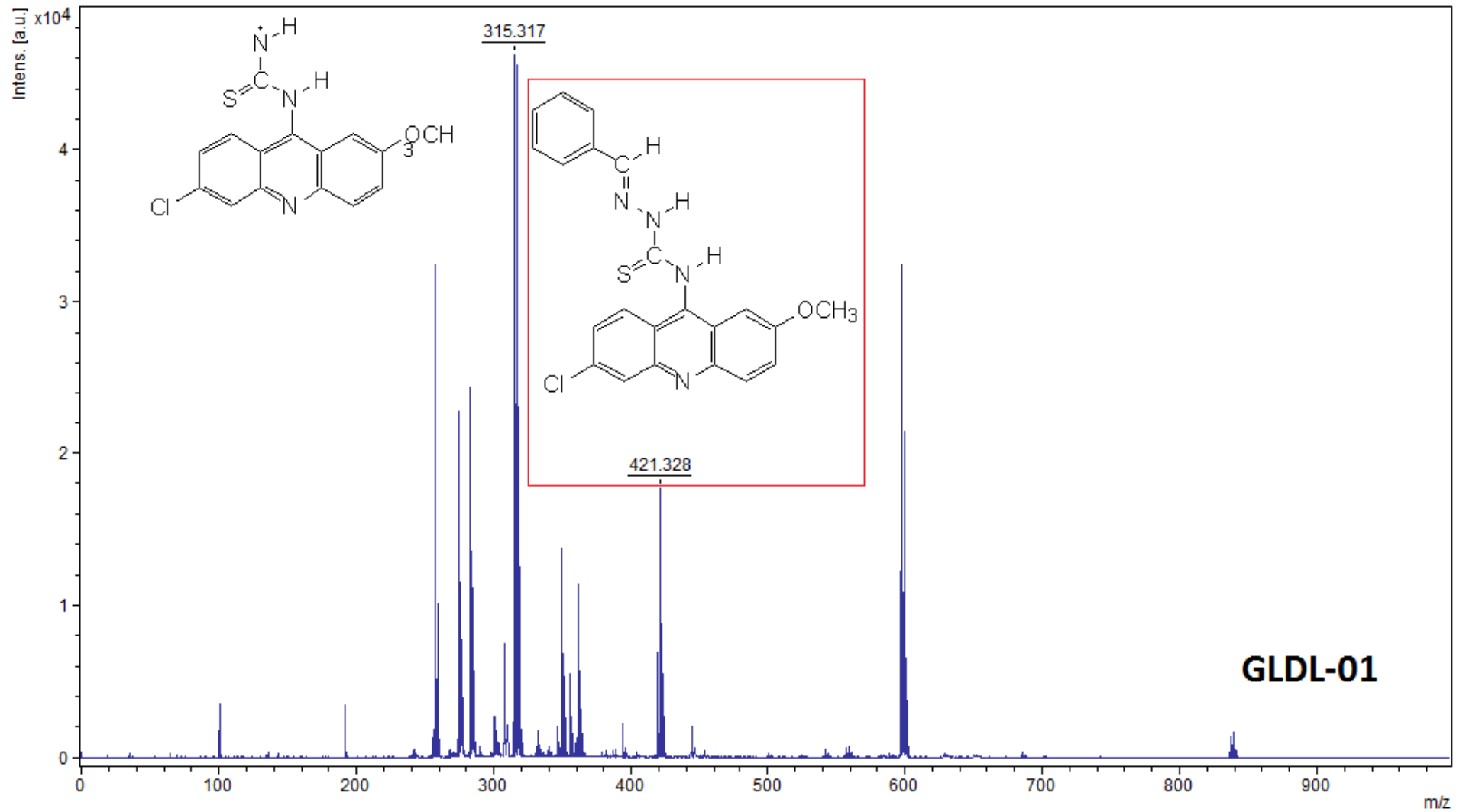


**APÊNDICE C - ESPECTROS DE MASSAS**

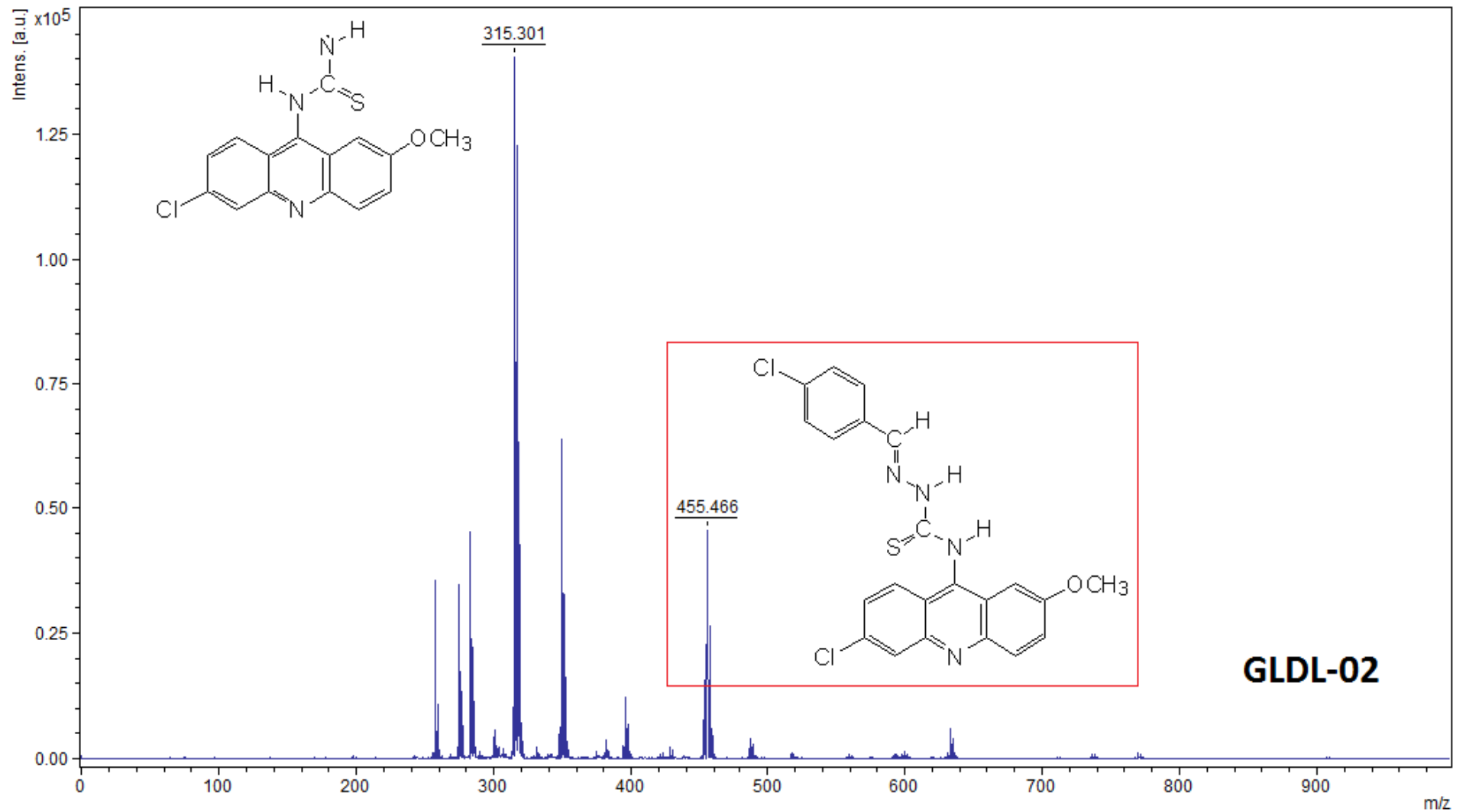
## APÊNDICE C.1 - Espectro de Massas da 9-cloroacridina



## APÊNDICE C.2 - Espectro de Massas do GLDL-01

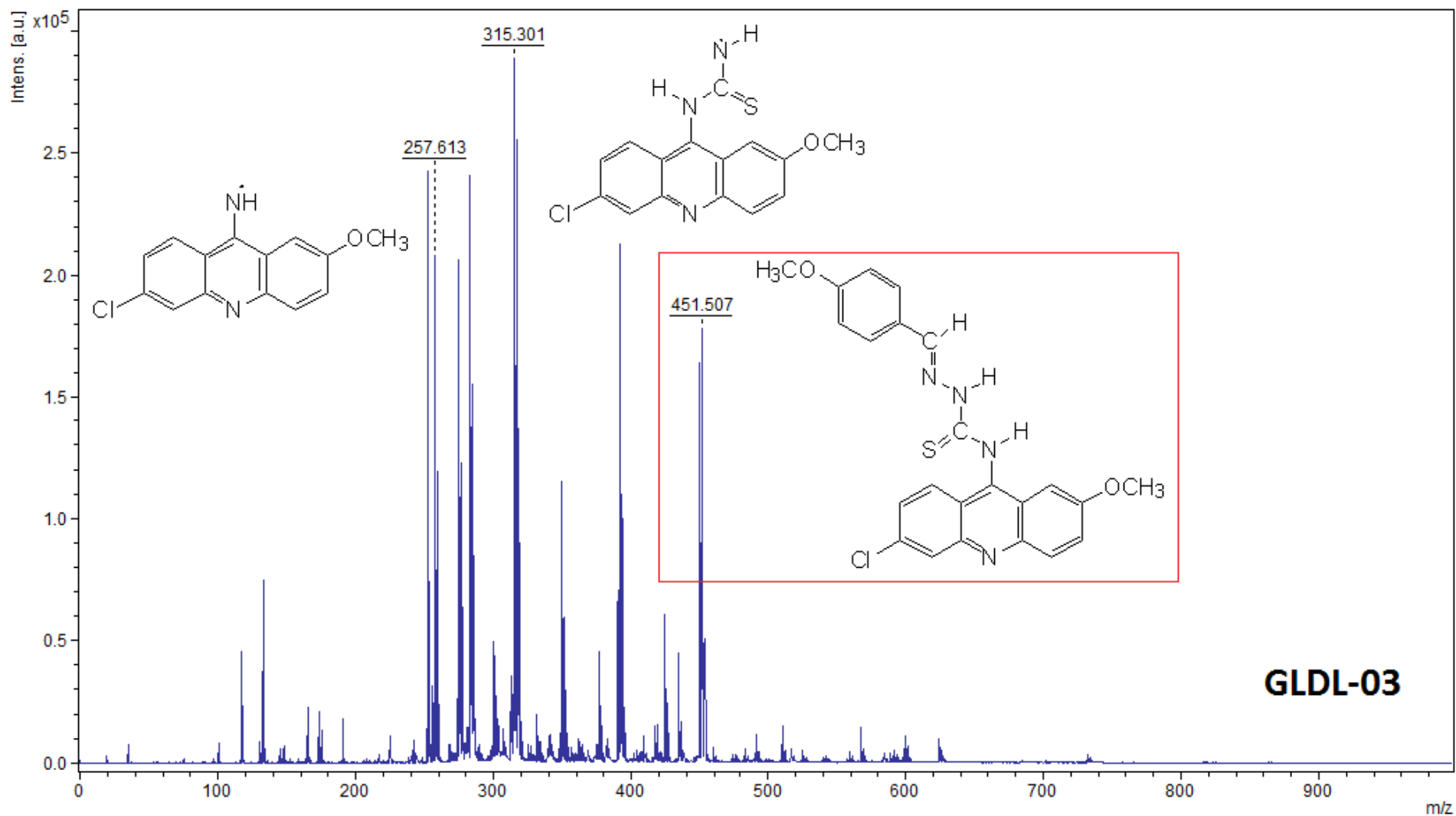


## APÊNDICE C.3 - Espectro de Massas do GLDL-02

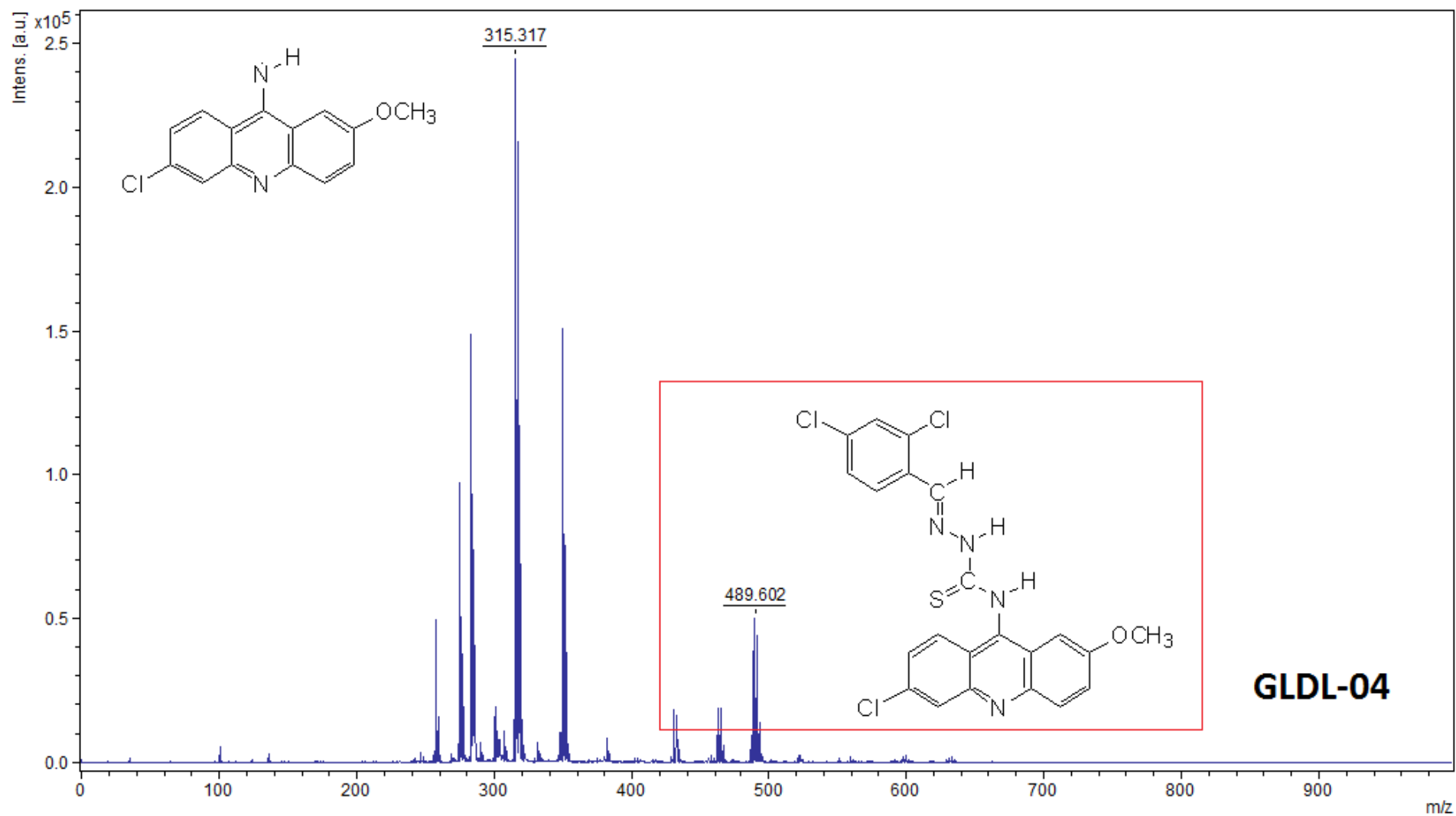




## APÊNDICE C.4 - Espectro de Massas do GLDL-03

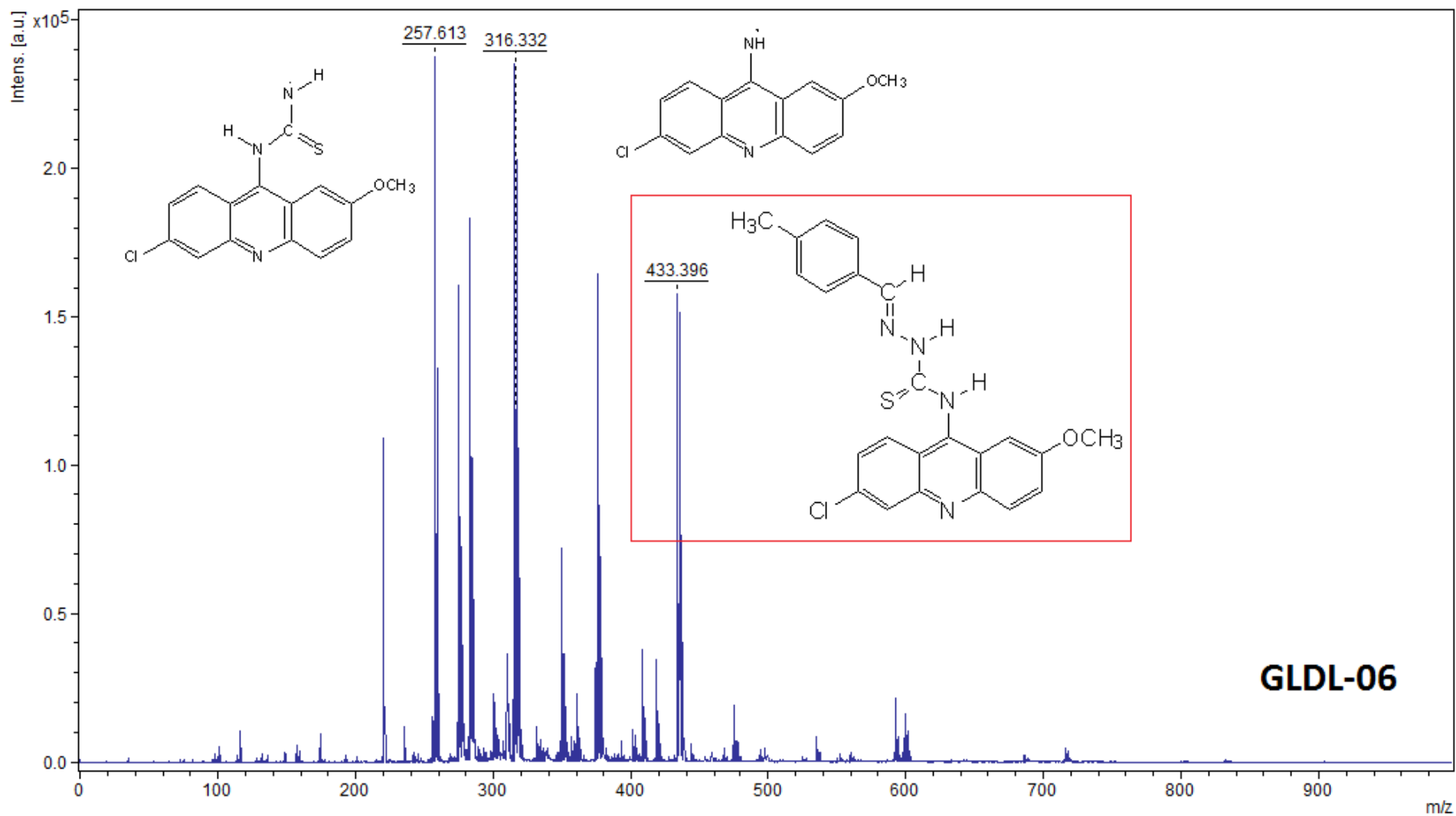


## APÊNDICE C.5 - Espectro de Massas do GLDL-04

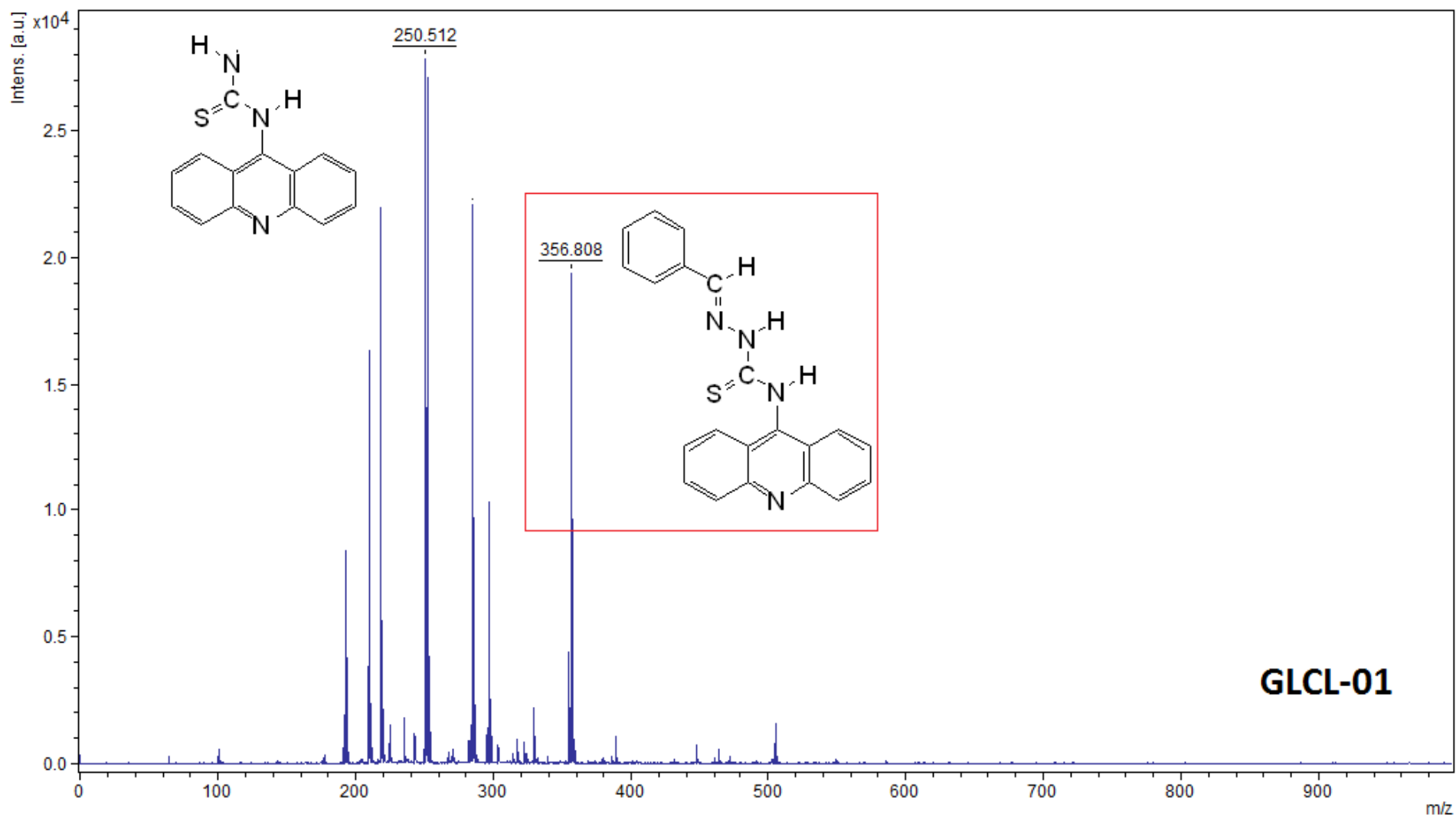




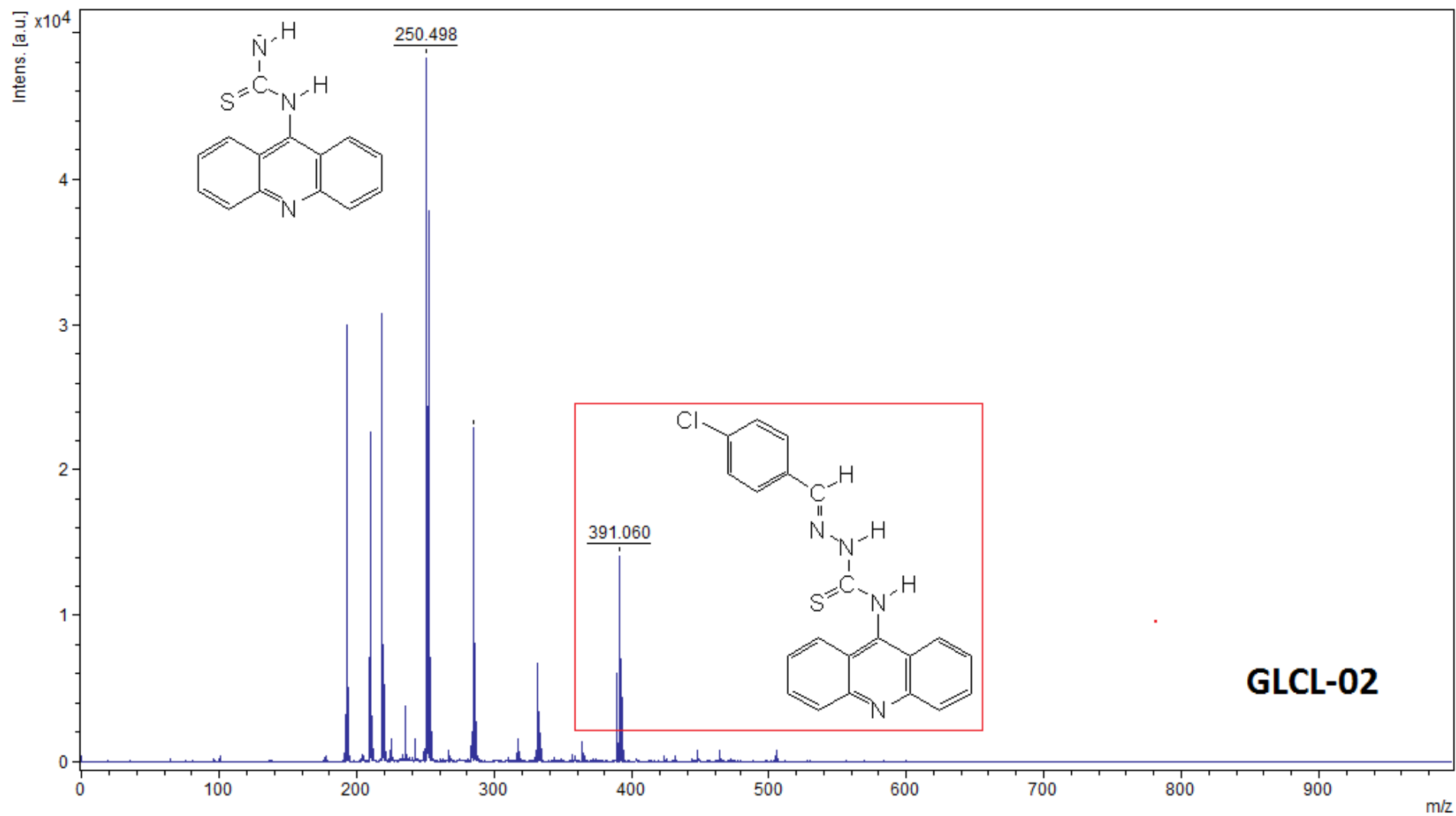
## APÊNDICE C.7 - Espectro de Massas do GLDL-06



## APÊNDICE C.8 - Espectro de Massas do GLCL-01

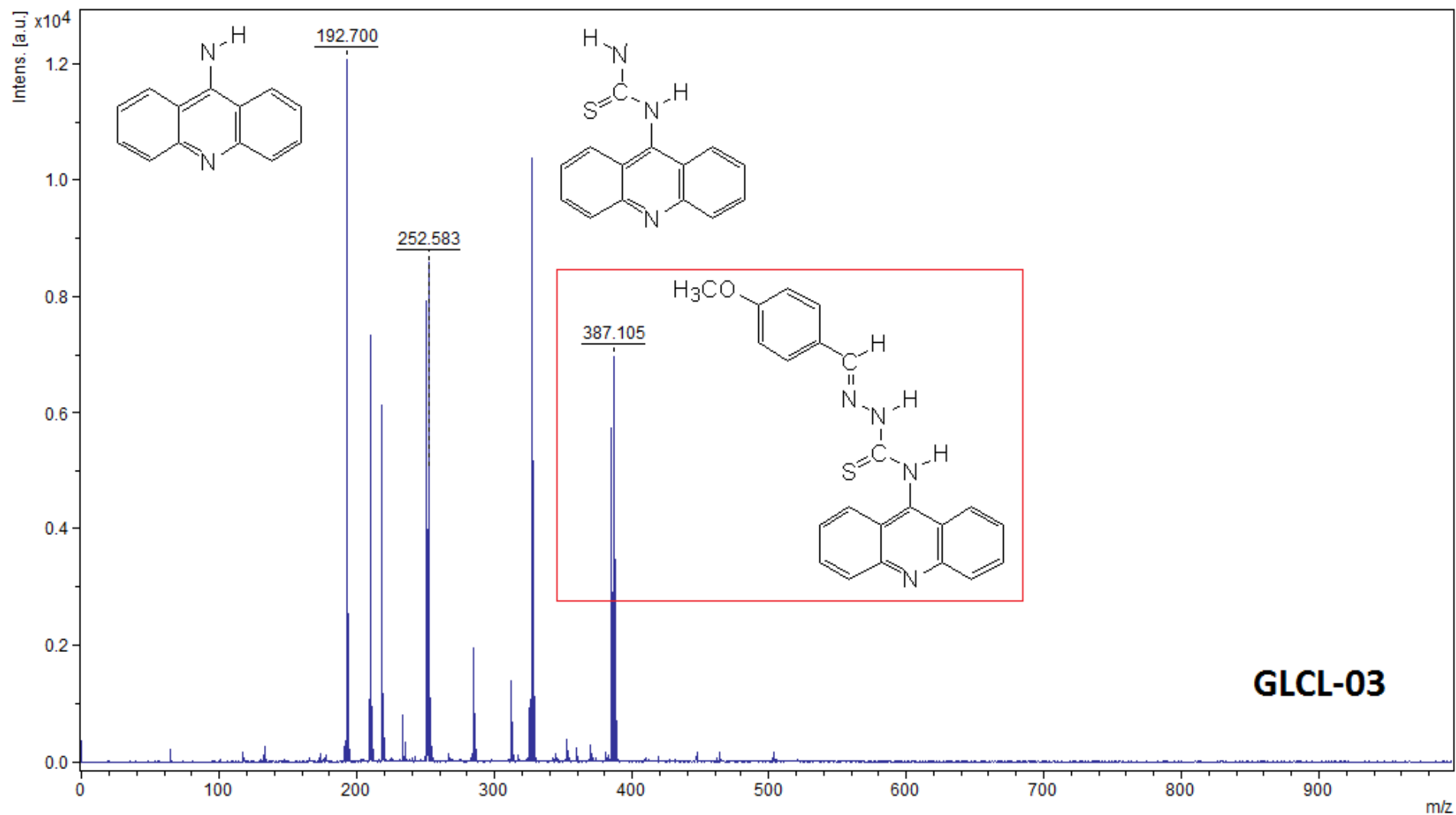


## APÊNDICE C.9 - Espectro de Massas do GLCL-02

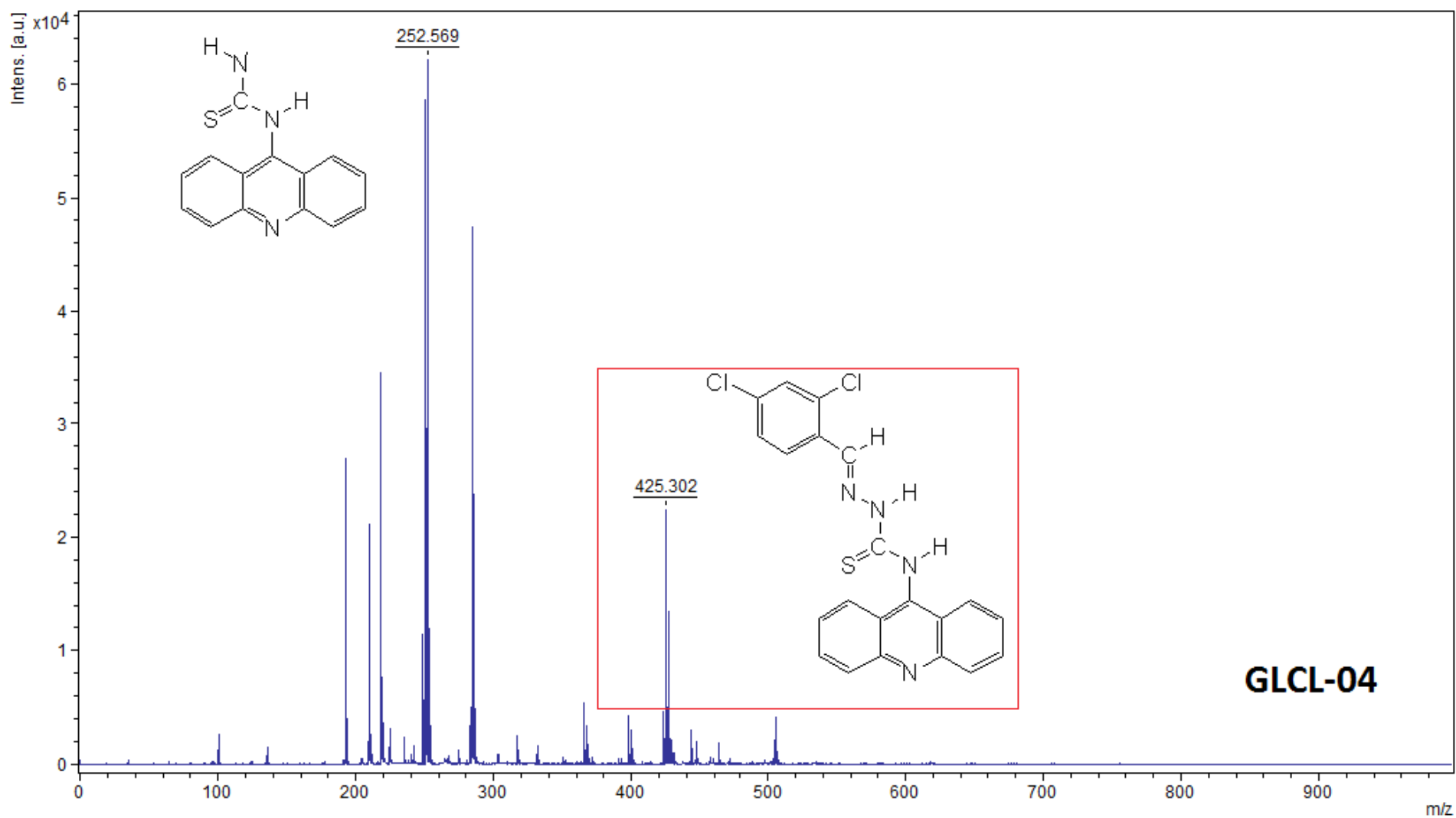


GLCL-02

## APÊNDICE C.10 - Espectro de Massas do GLCL-03

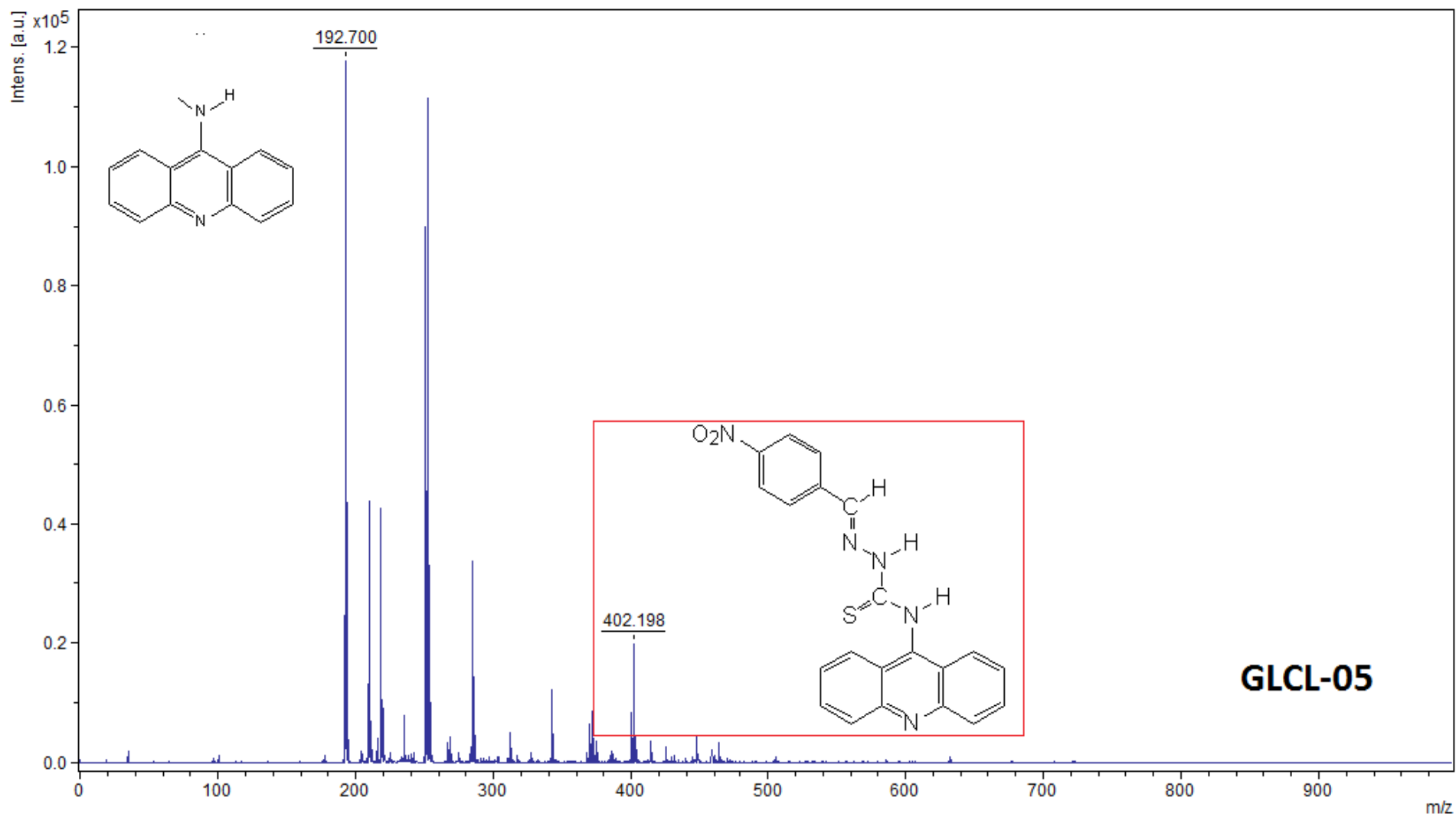


## APÊNDICE C.11 - Espectro de Massas do GLCL-04

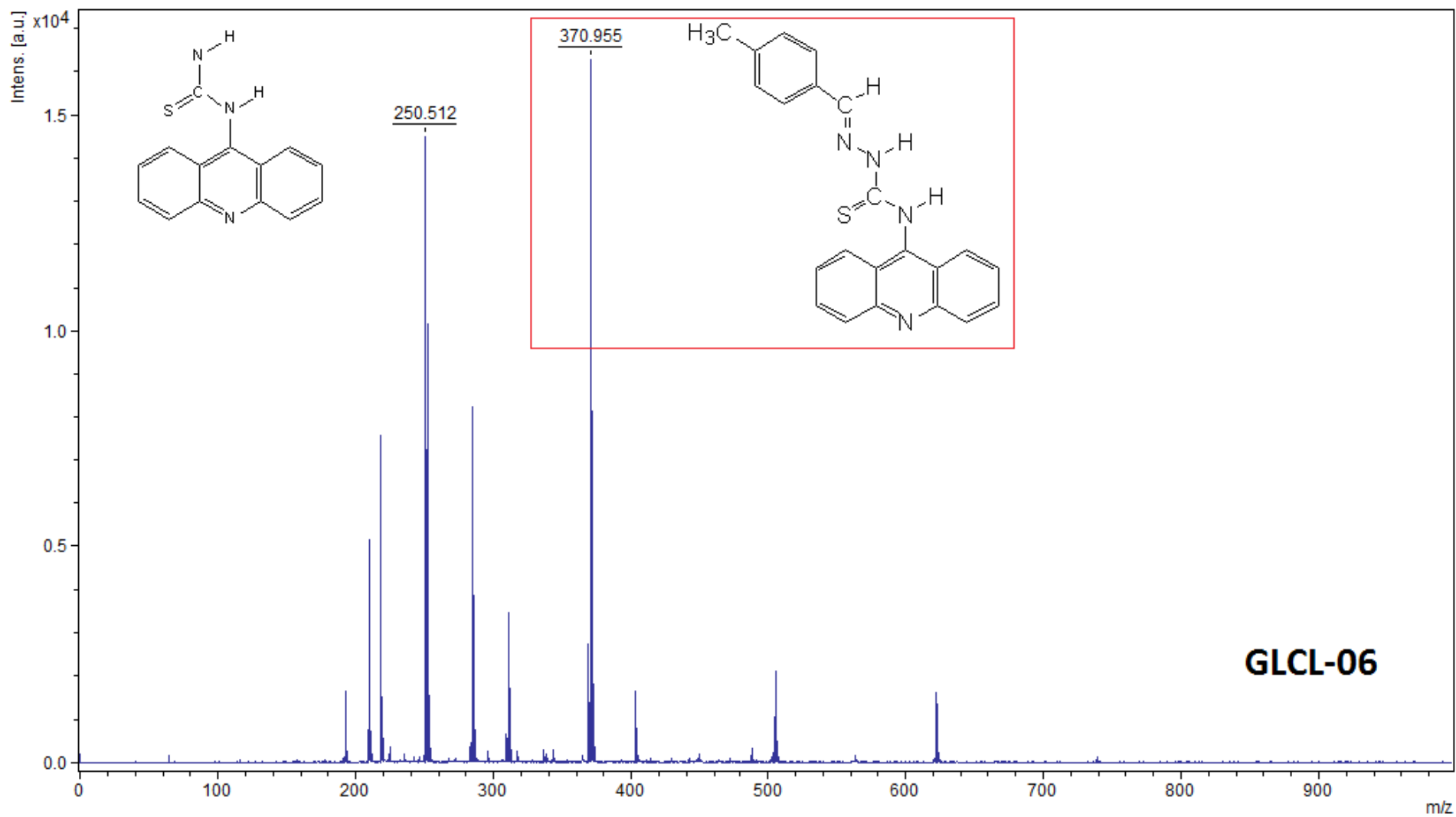




## APÊNDICE C.12 - Espectro de Massas do GLCL-05



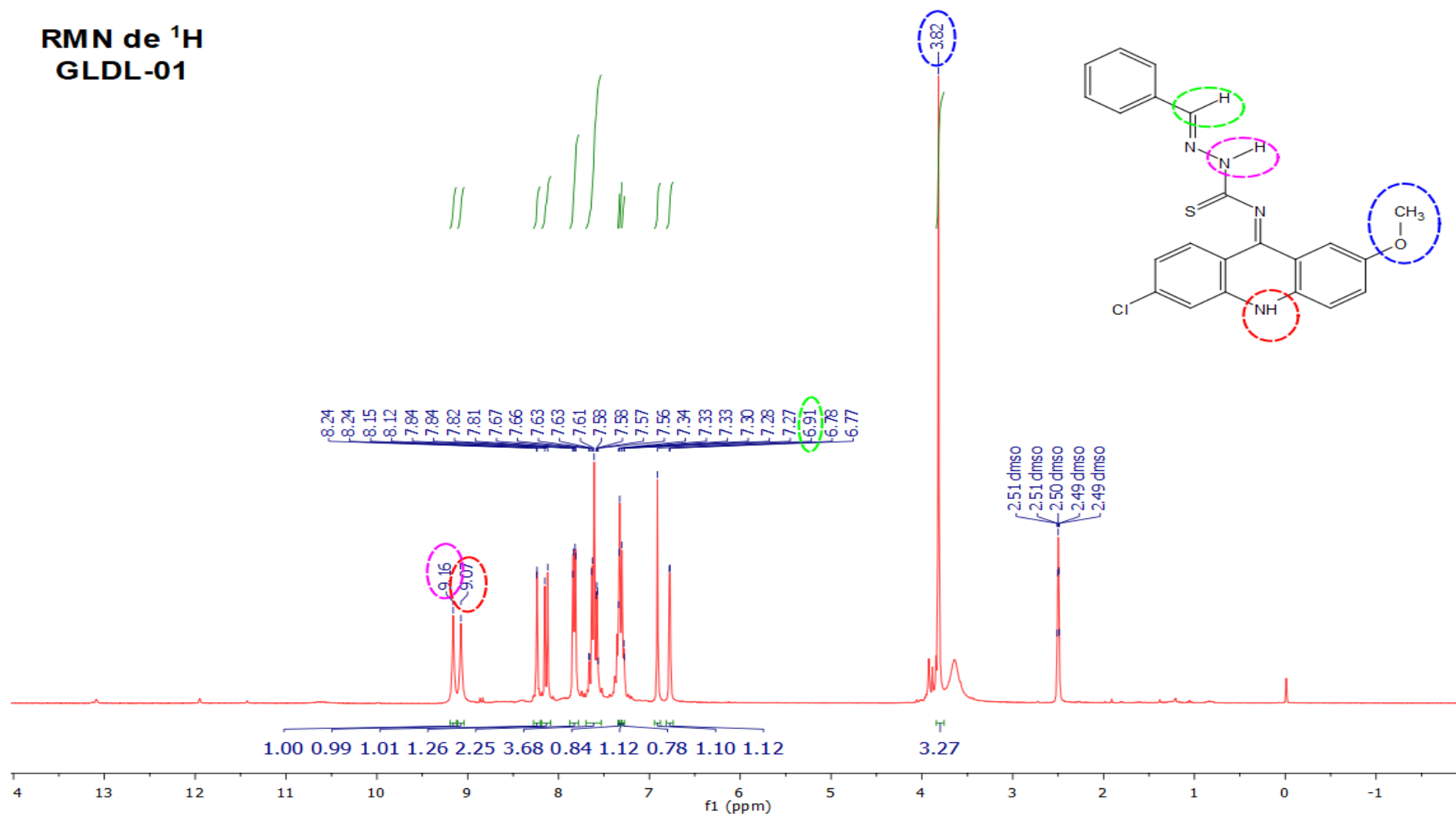
## APÊNDICE C.13 - Espectro de Massas do GLCL-06

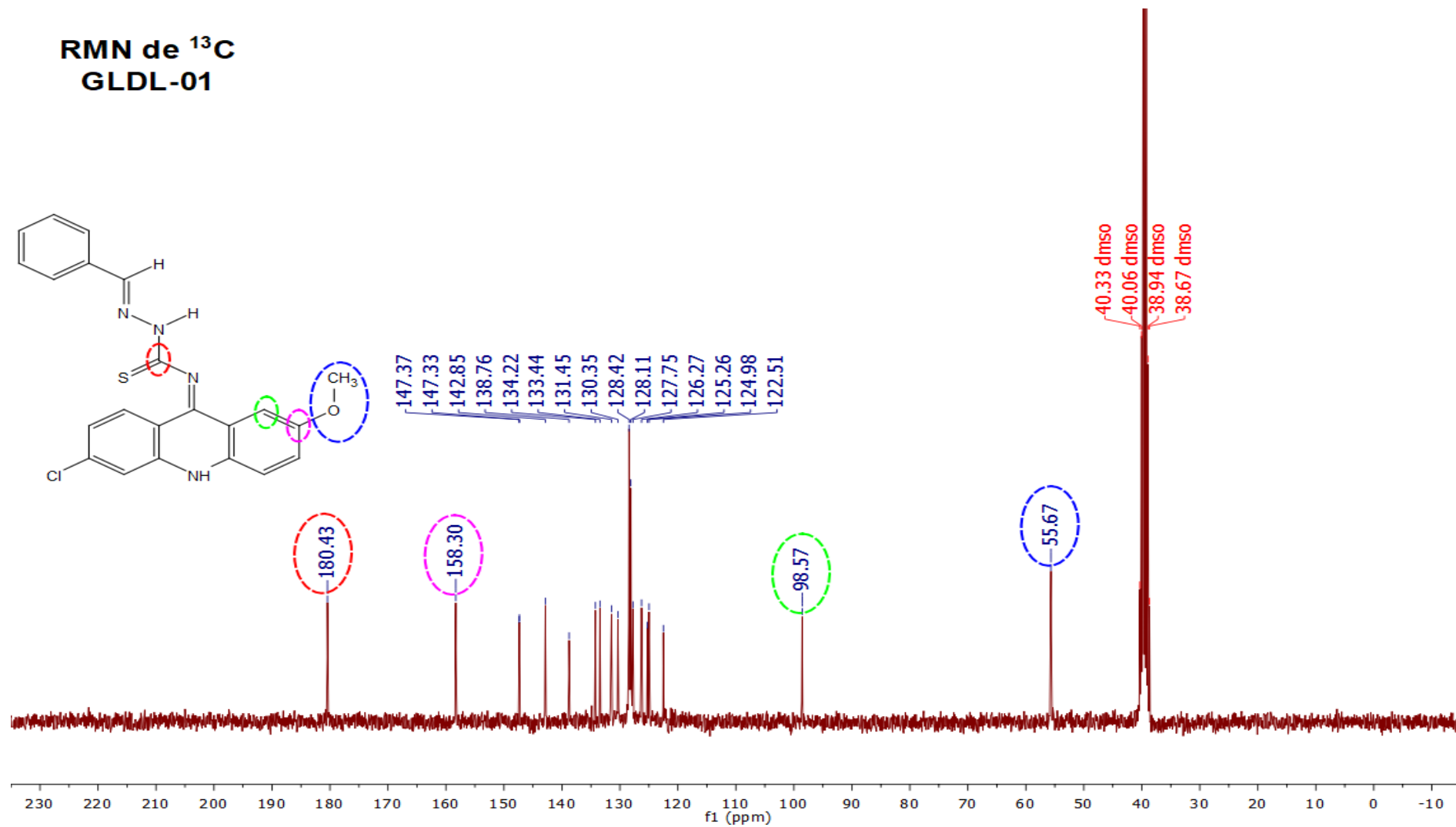


**APÊNDICE D - ESPECTROS DE RMN**

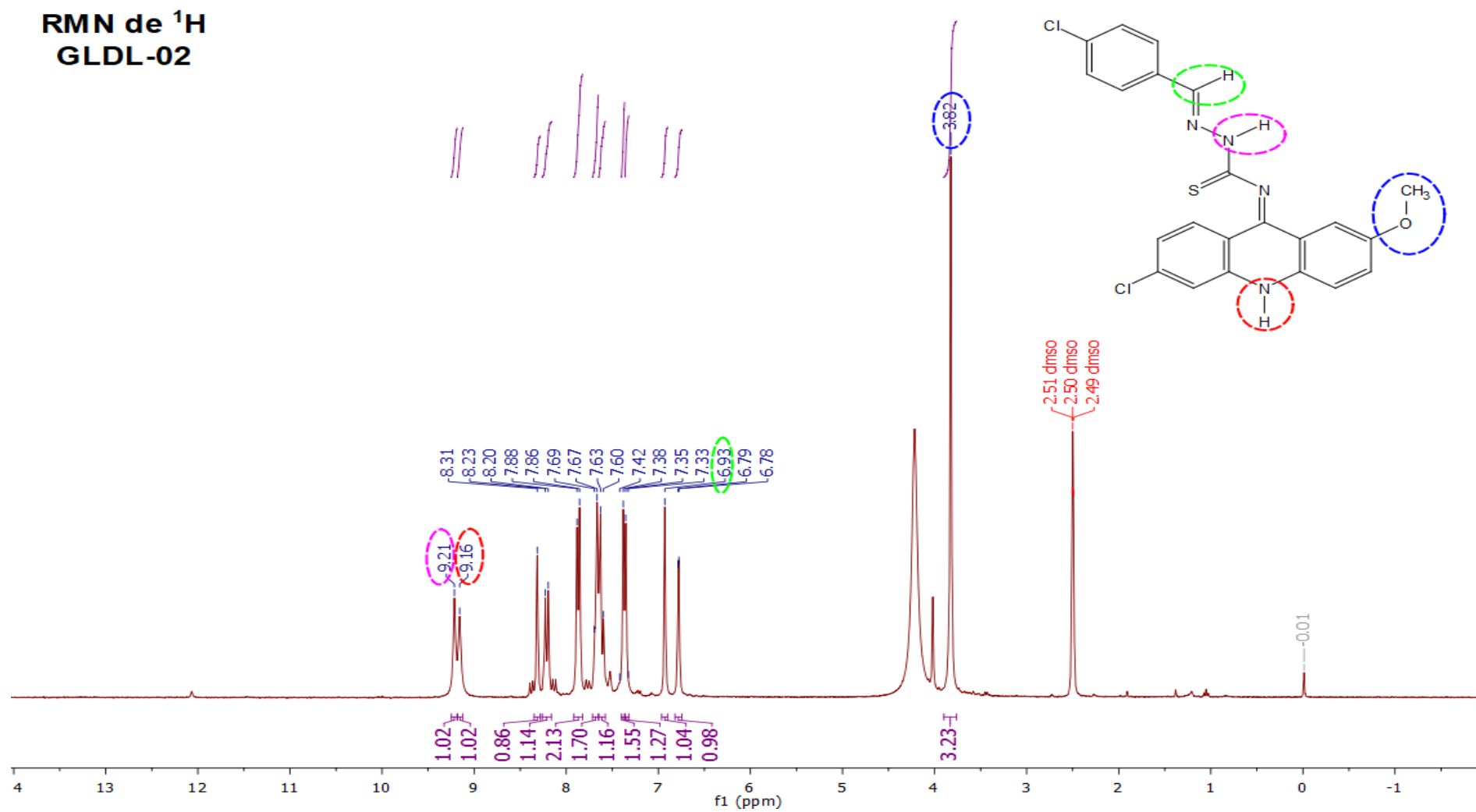
### APÊNDICE D.1 - Espectro de RMN - $^1\text{H}$ do GLDL-01

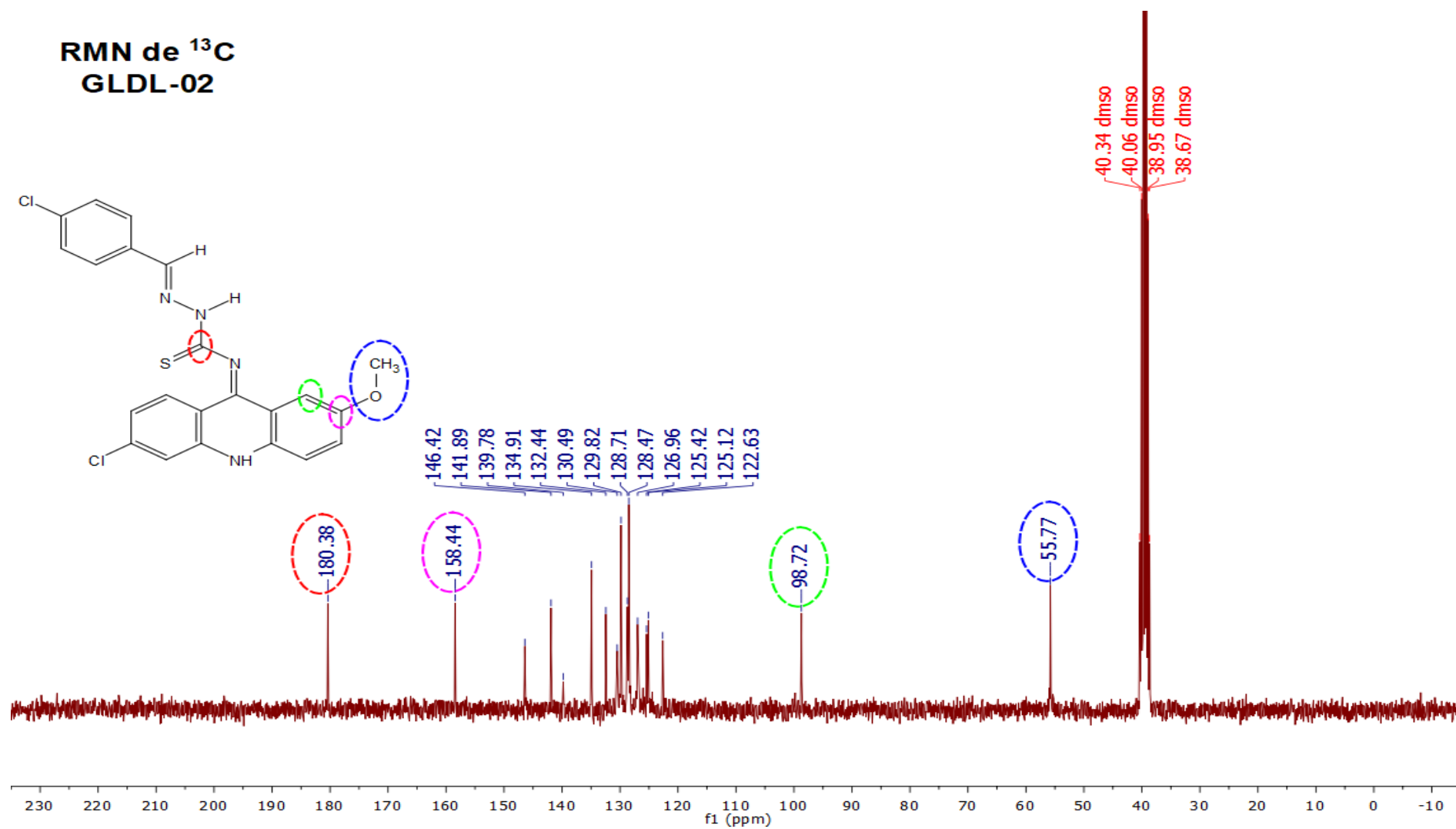
RMN de  $^1\text{H}$   
GLDL-01

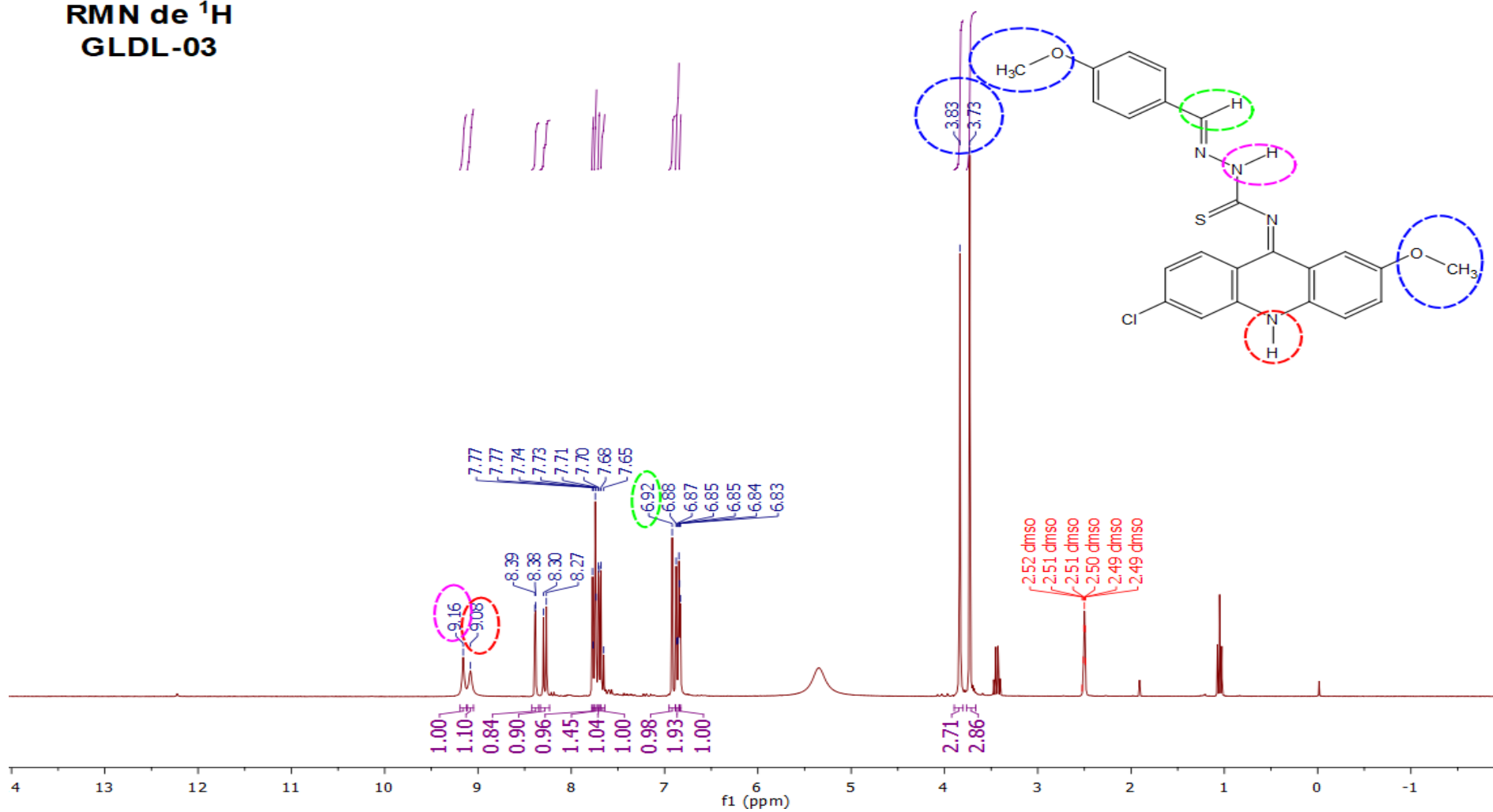


APÊNDICE D.2 - Espectro de RMN -  $^{13}\text{C}$  do GLDL-01

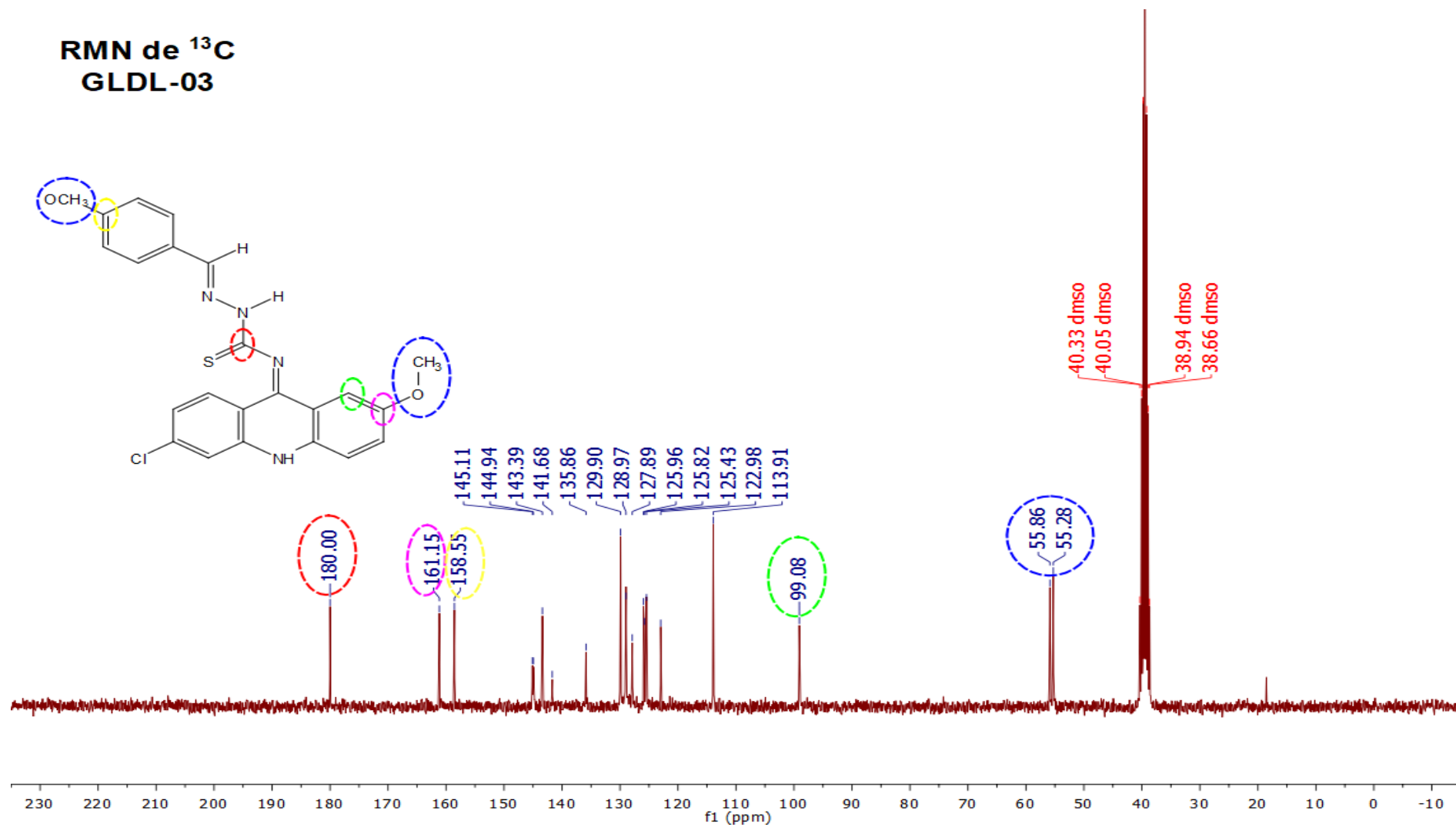
### APÊNDICE D.3 - Espectro de RMN - $^1\text{H}$ do GLDL-02

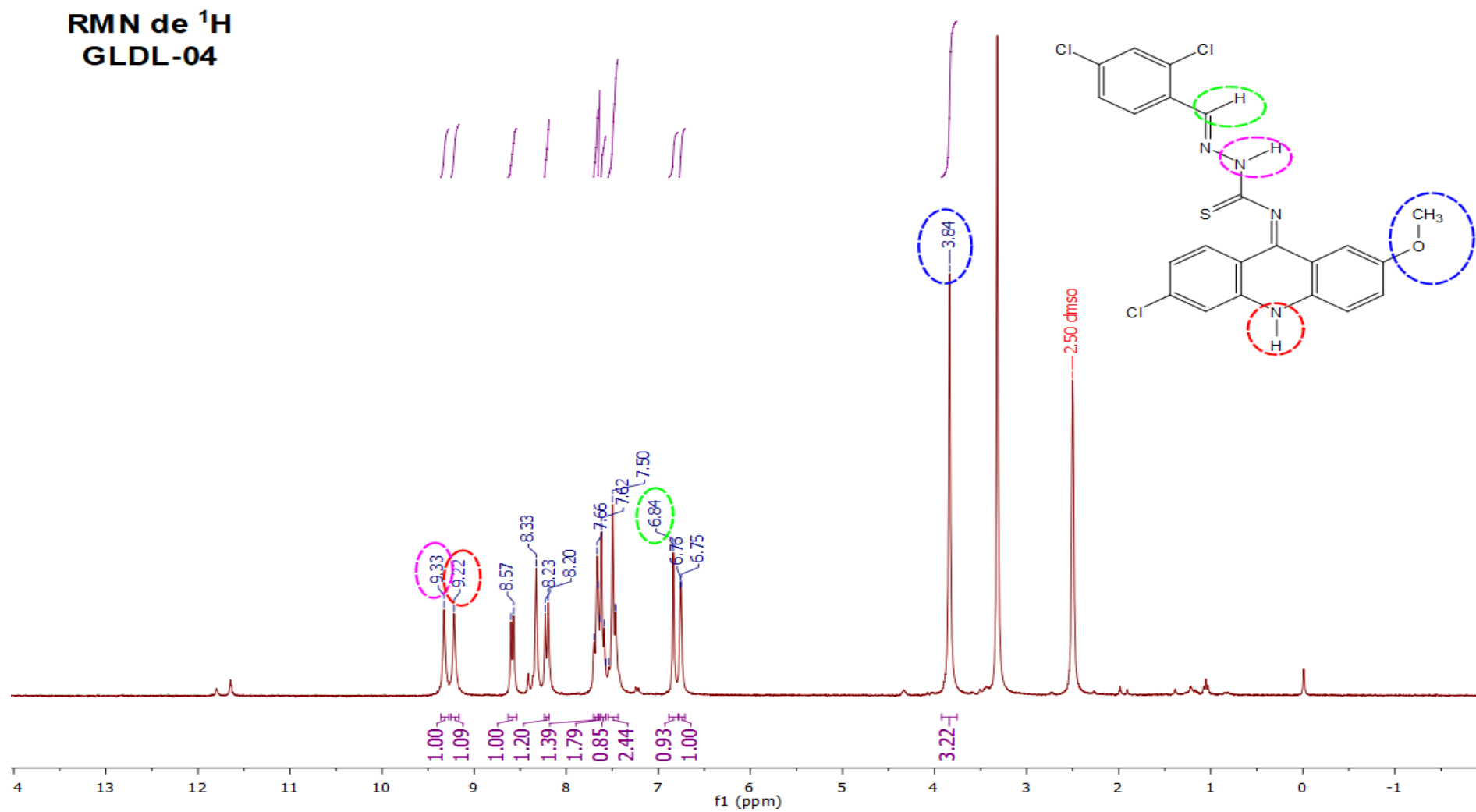


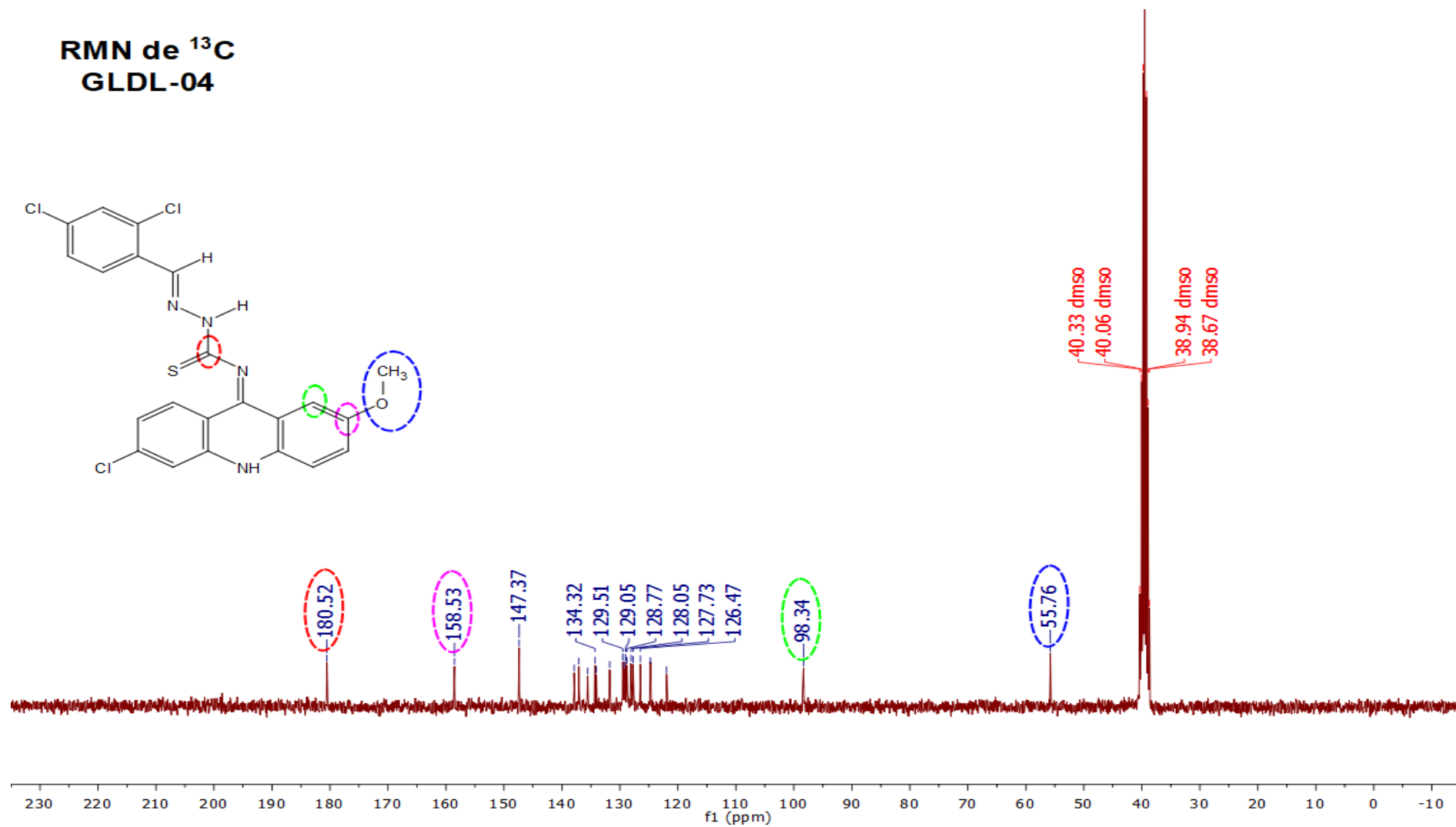
APÊNDICE D.4 - Espectro de RMN -  $^{13}\text{C}$  do GLDL-02

APÊNDICE D.5 - Espectro de RMN -  $^1\text{H}$  do GLDL-03RMN de  $^1\text{H}$   
GLDL-03

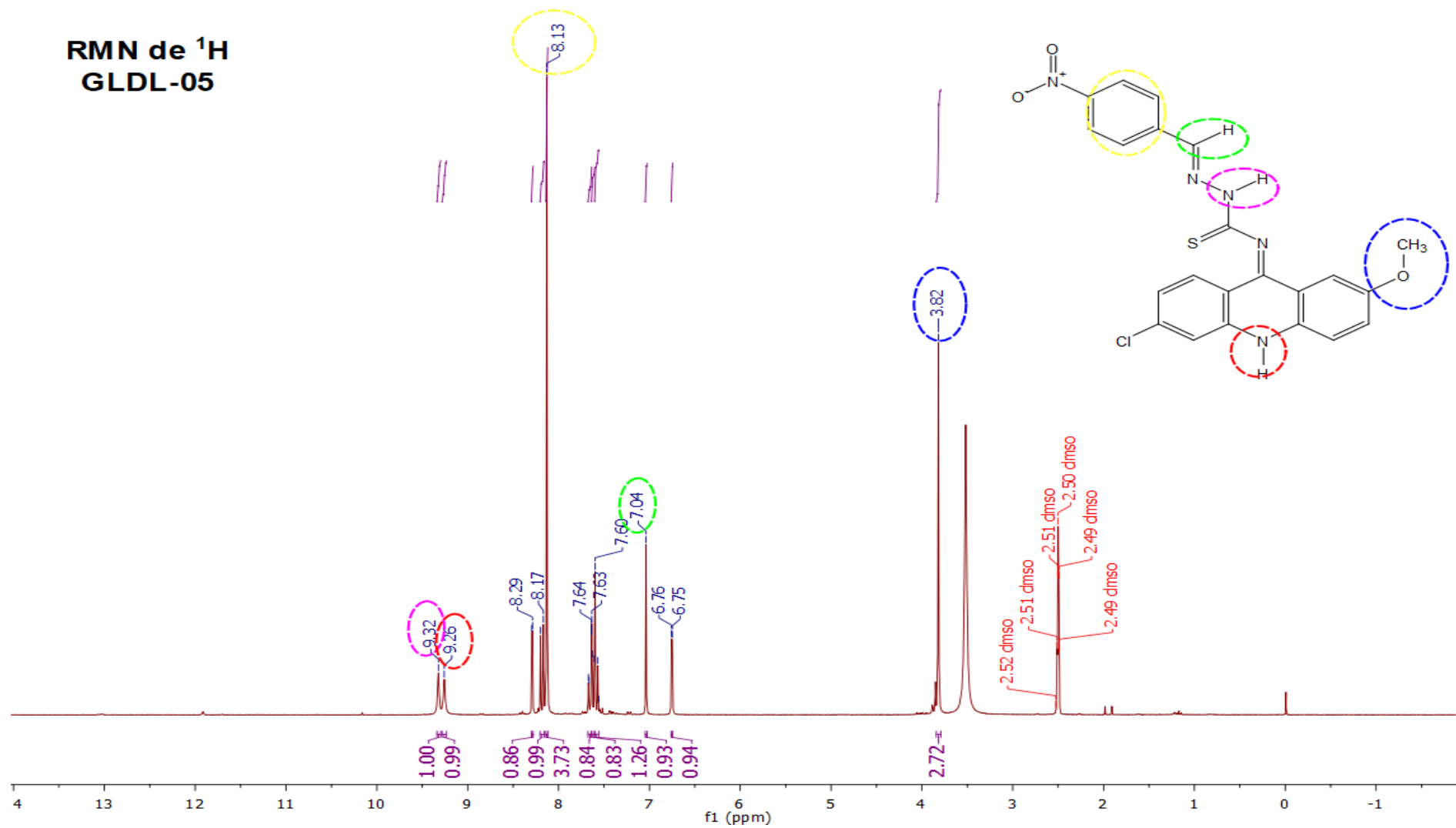


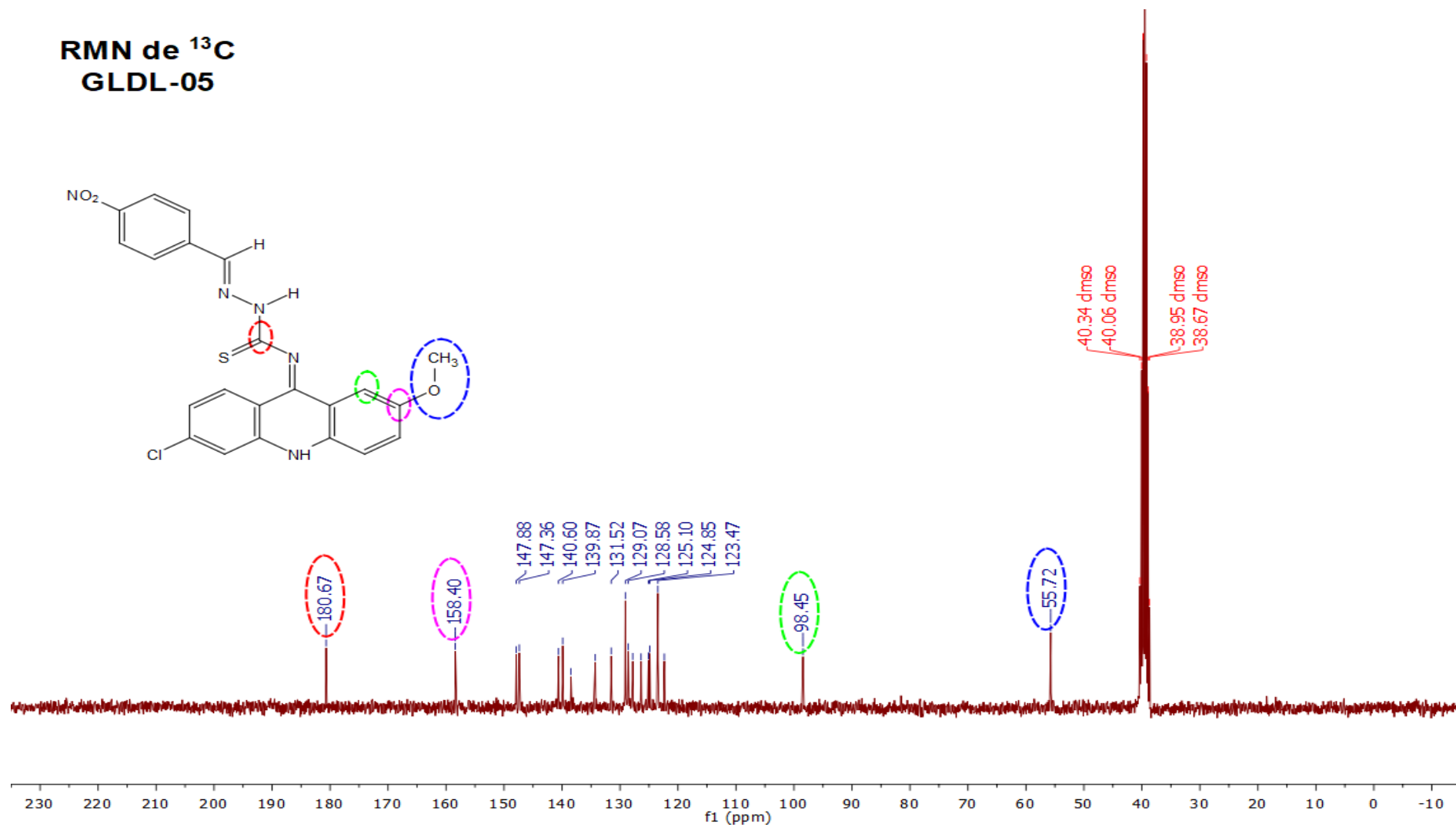
APÊNDICE D.6 - Espectro de RMN -  $^{13}\text{C}$  do GLDL-03

APÊNDICE D.7 - Espectro de RMN -  $^1\text{H}$  do GLDL-04

APÊNDICE D.8 - Espectro de RMN -  $^{13}\text{C}$  do GLDL-04

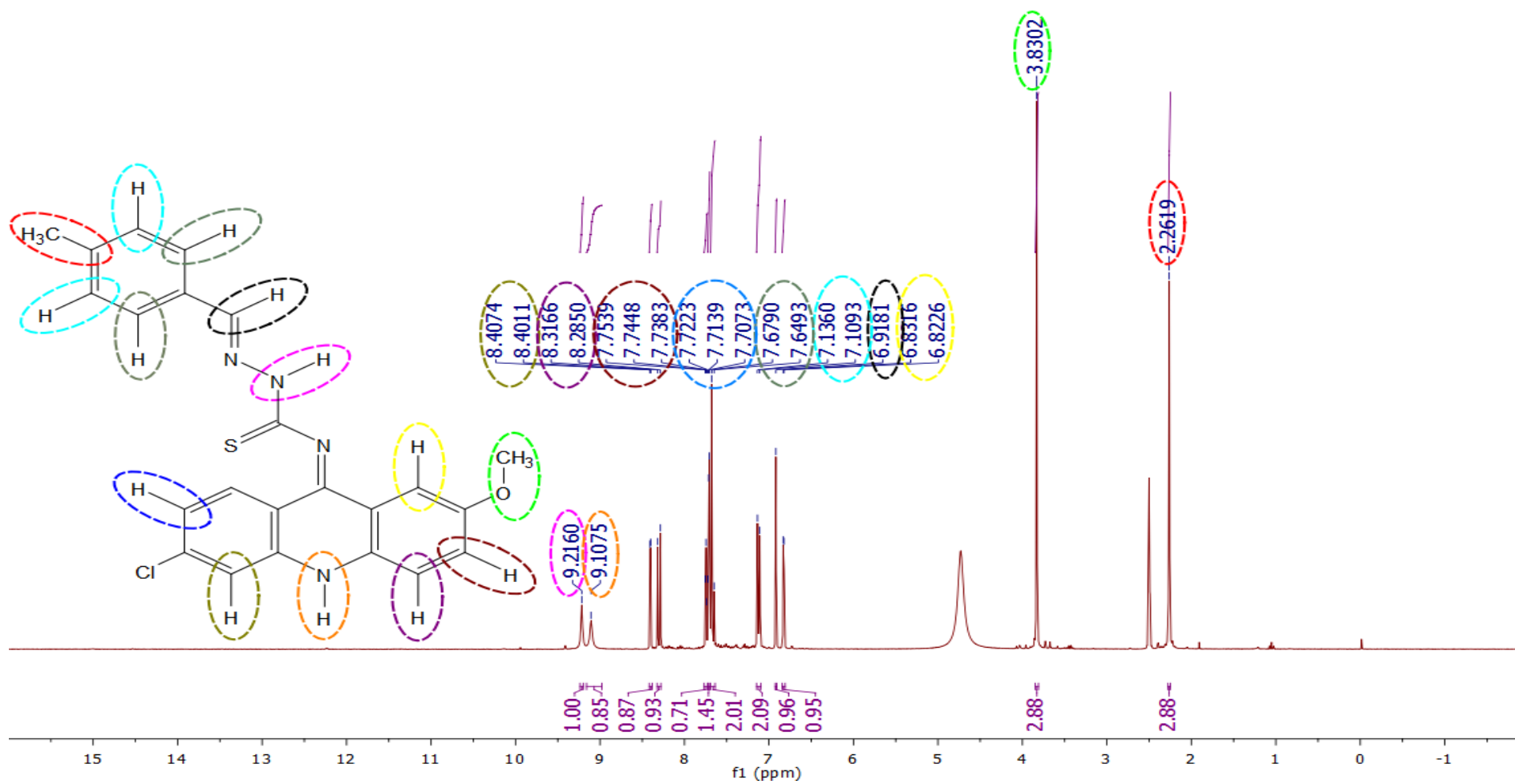
APÊNDICE D.9 - Espectro de RMN -  $^1\text{H}$  do GLDL-05

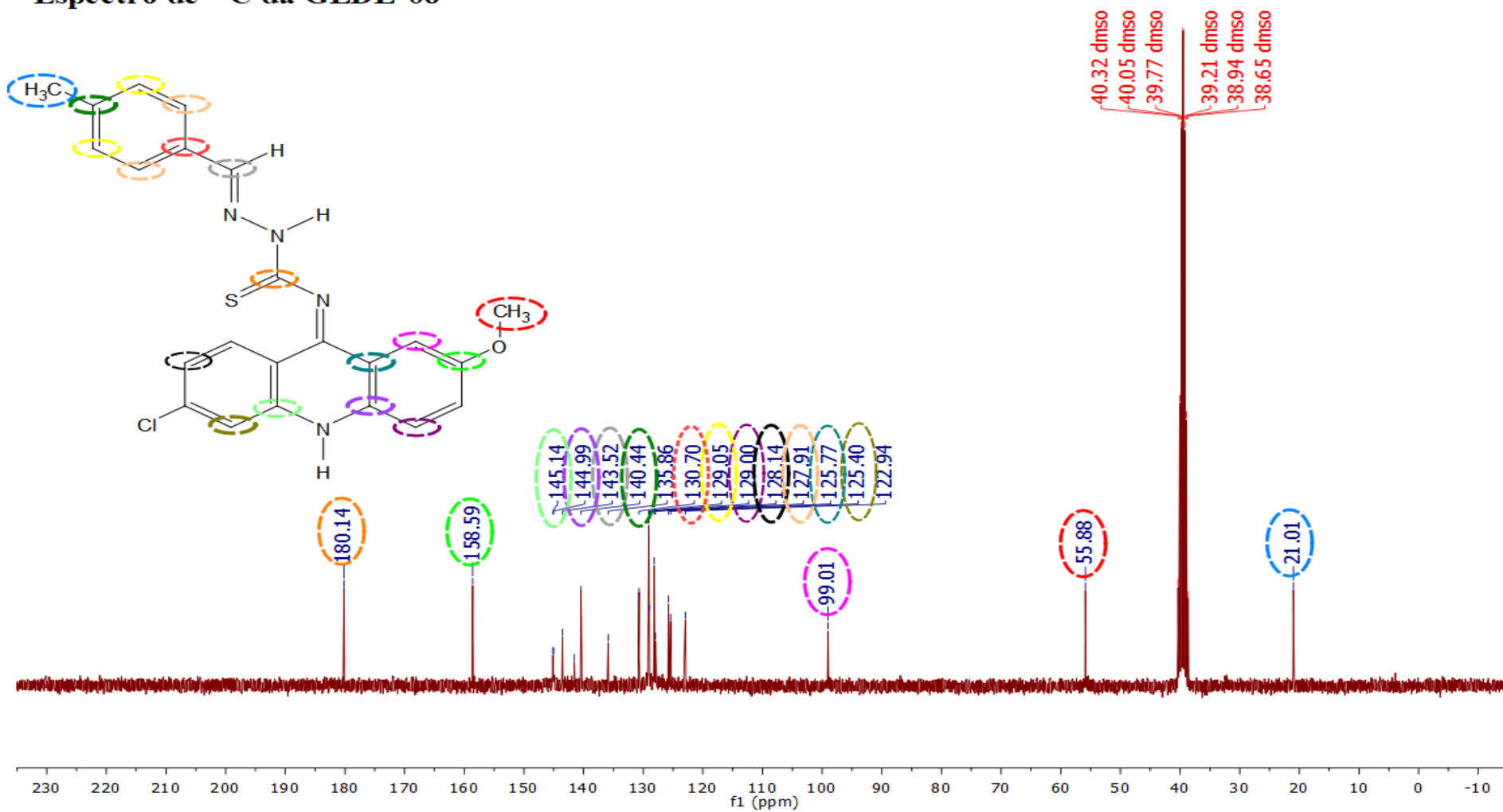


APÊNDICE D.10 - Espectro de RMN -  $^{13}\text{C}$  do GLDL-05RMN de  $^{13}\text{C}$   
GLDL-05

APÊNDICE D.11 - Espectro de RMN -  $^1\text{H}$  do GLDL-06

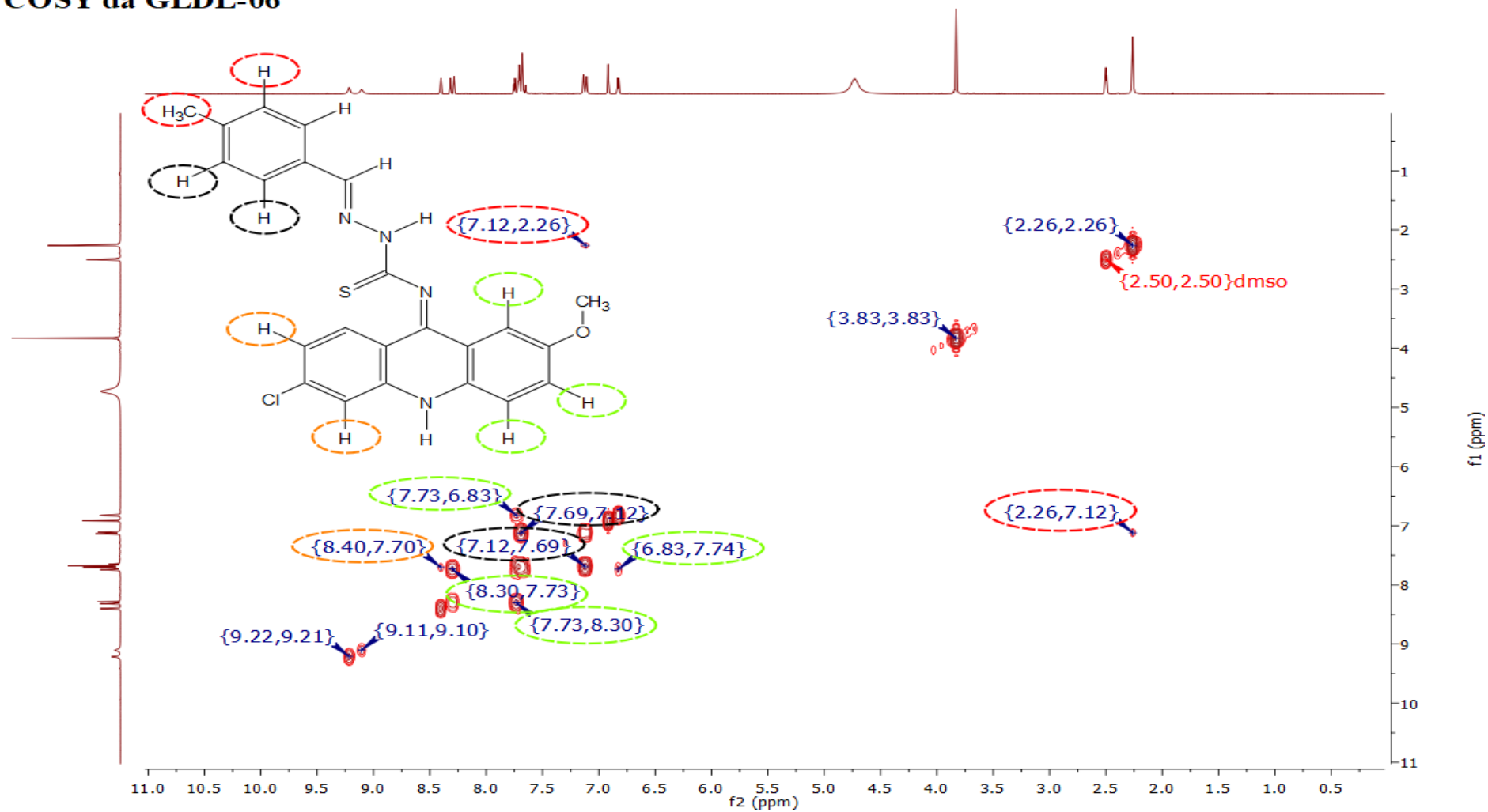
Espectro de  $^1\text{H}$  da GLDL-06



APÊNDICE D.12 - Espectro de RMN –  $^{13}\text{C}$  do GLDL-06Espectro de  $^{13}\text{C}$  da GLDL-06

## APÊNDICE D.13 - Espectro de RMN - COSY do GLDL-06

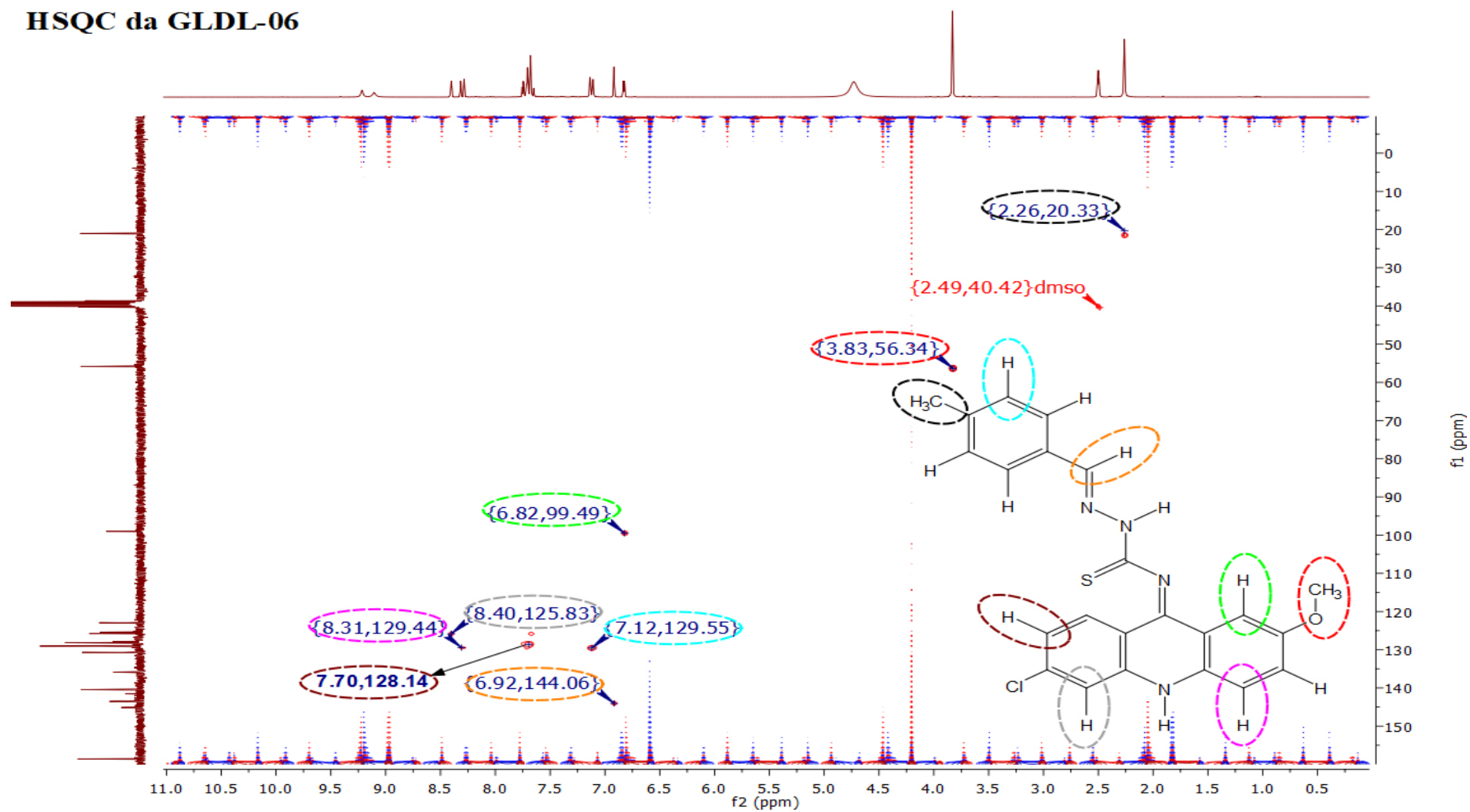
## COSY da GLDL-06





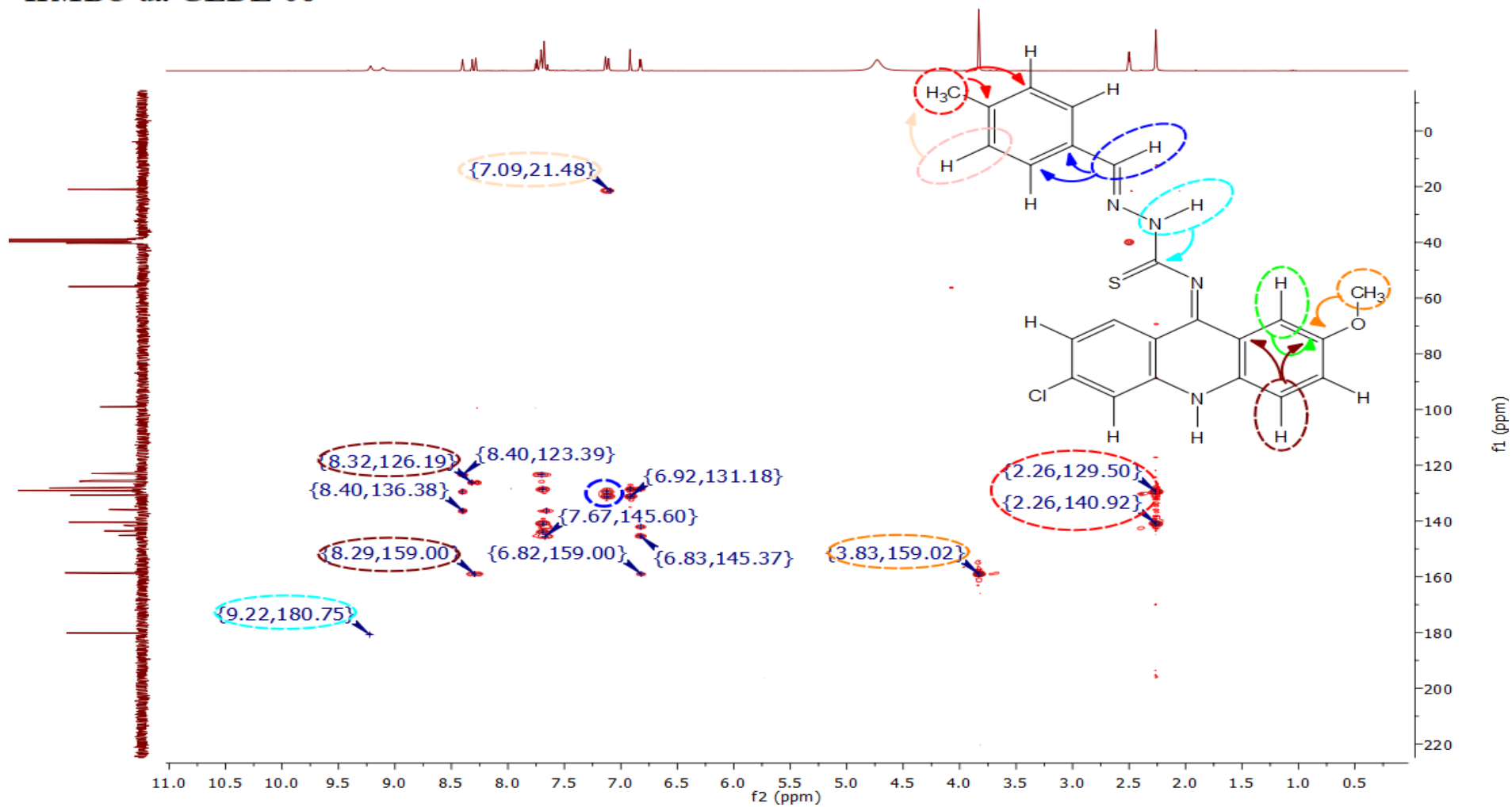
## APÊNDICE D.14 - Espectro de RMN - HSQC do GLDL-06

## HSQC da GLDL-06

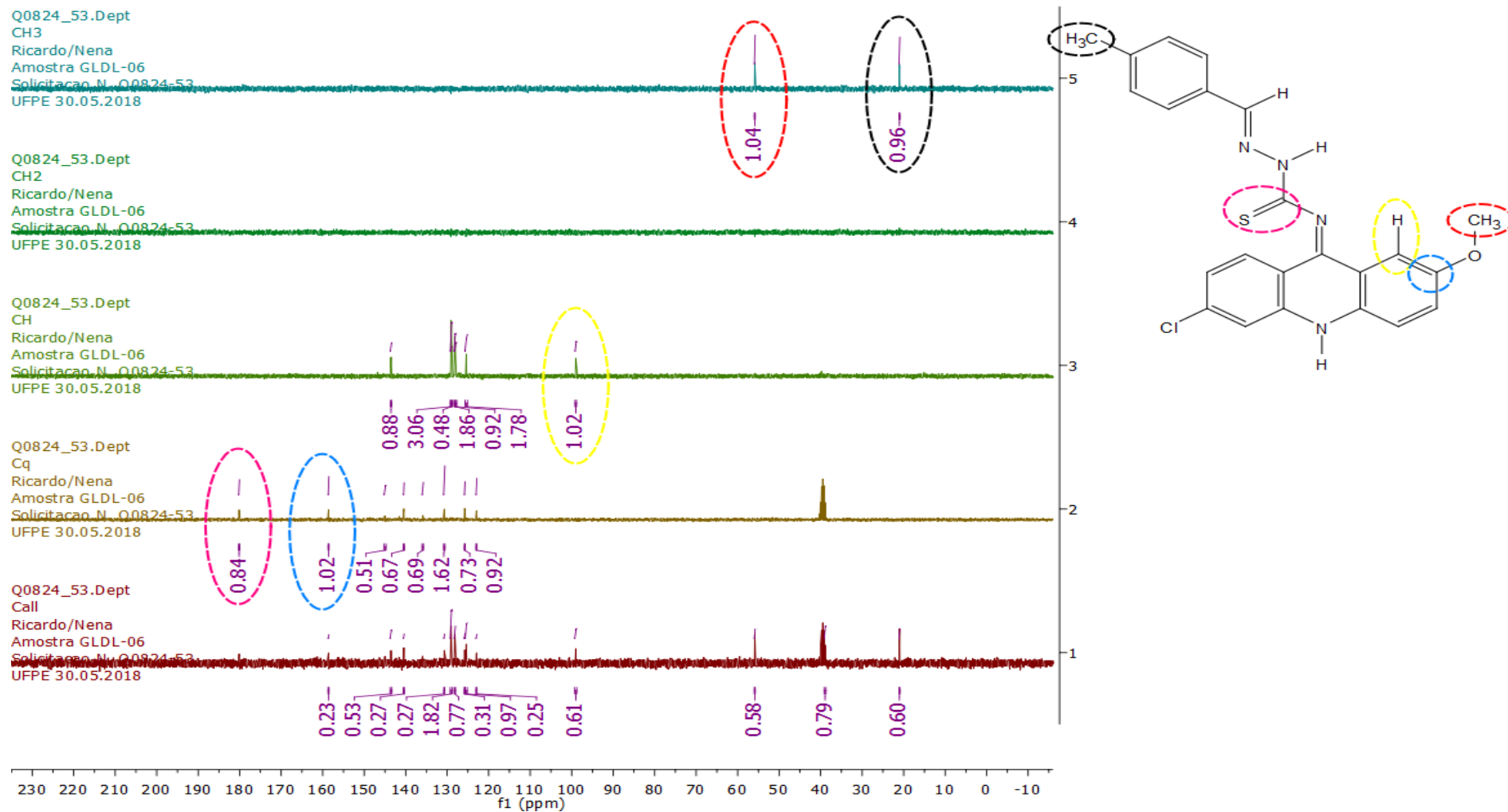


## APÊNDICE D.15 - Espectro de RMN - HMQC do GLDL-06

## HMBC da GLDL-06

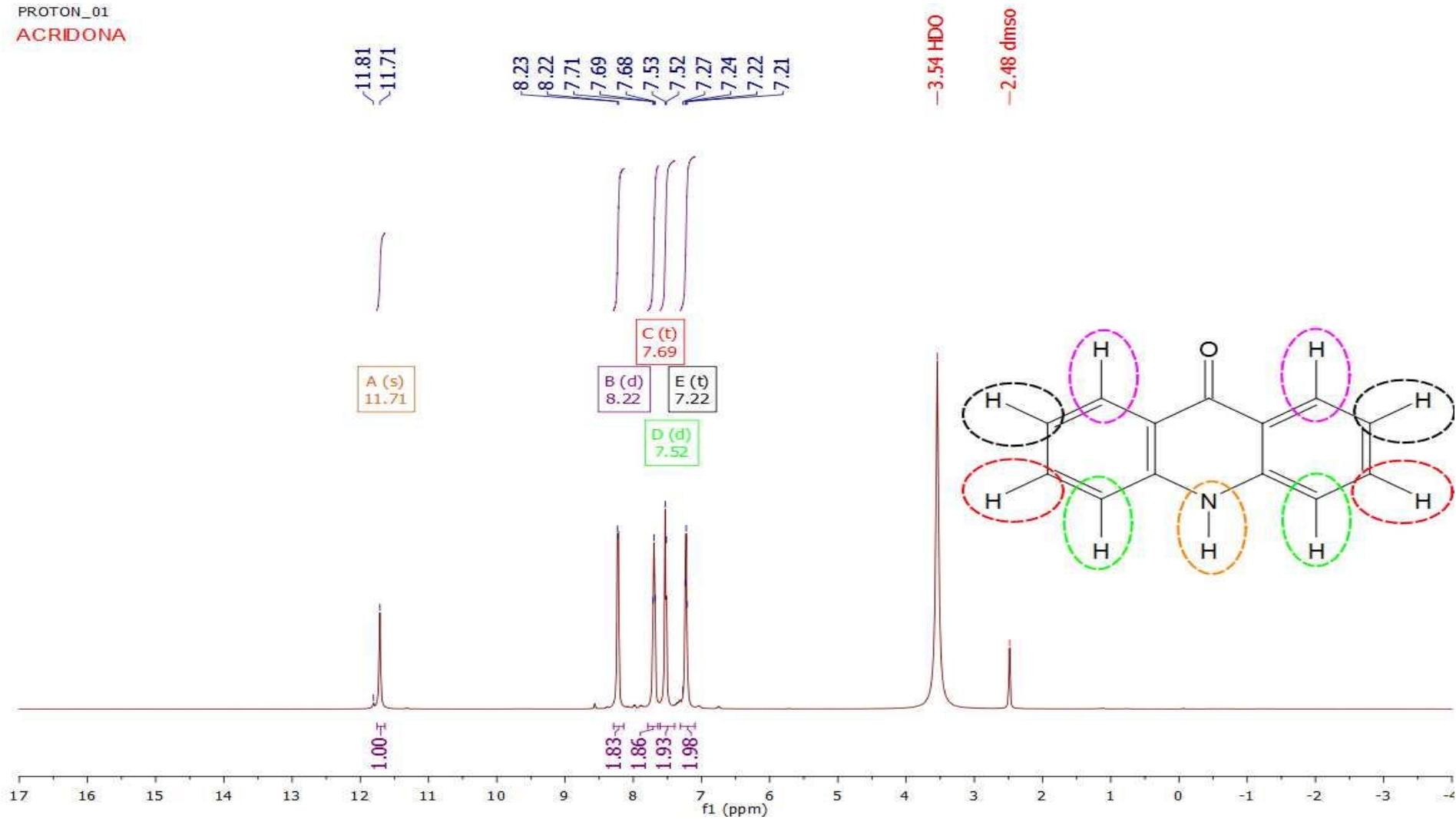


### APÊNDICE D.16 - Espectro de RMN - DEPT do GLDL-06



### APÊNDICE D.17 - Espectro de RMN – $^1\text{H}$ da Acridona

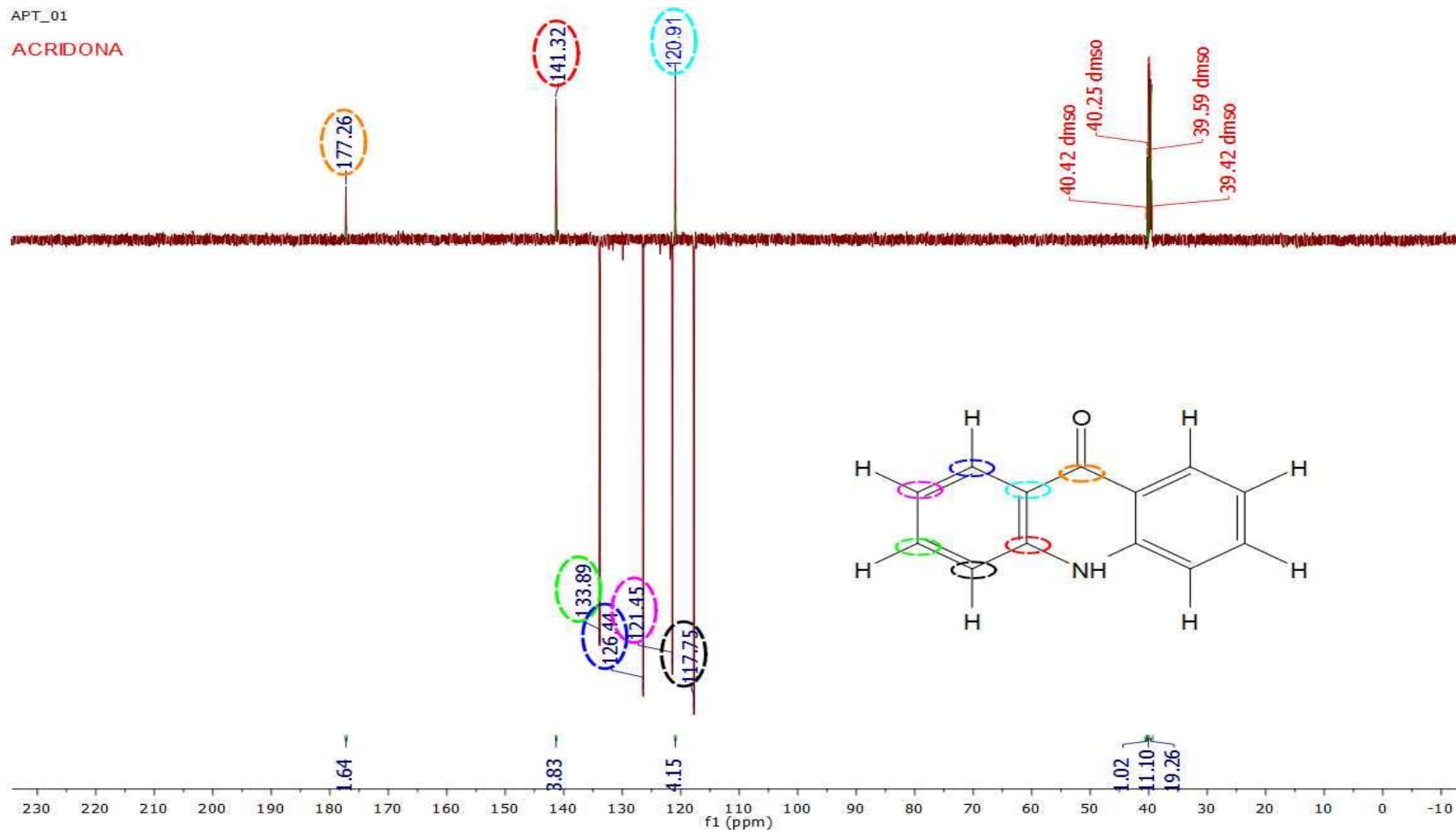
PROTON\_01  
ACRIDONA



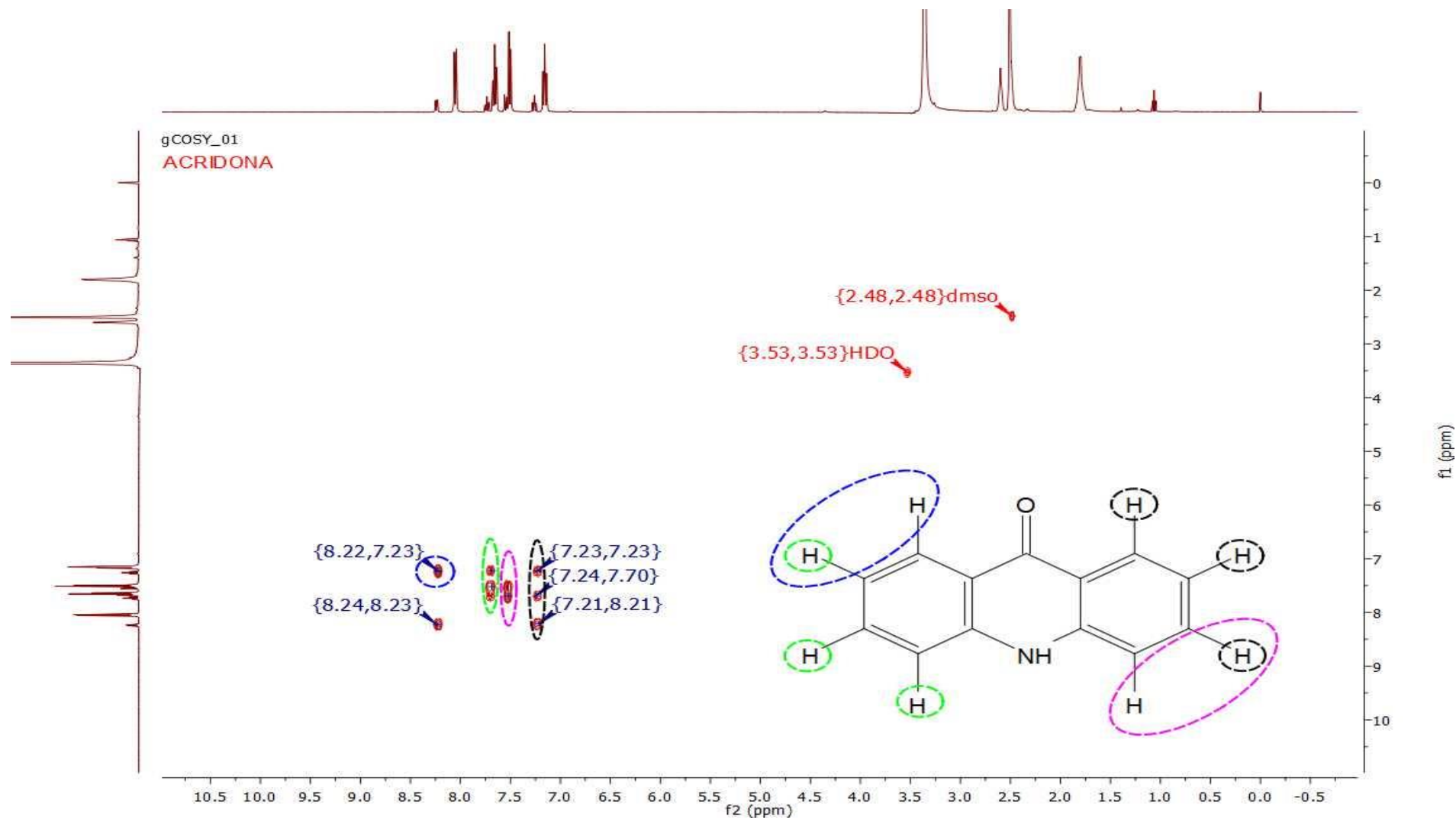
APÊNDICE D.18 - Espectro de RMN –  $^{13}\text{C}$  da Acridona

APT\_01

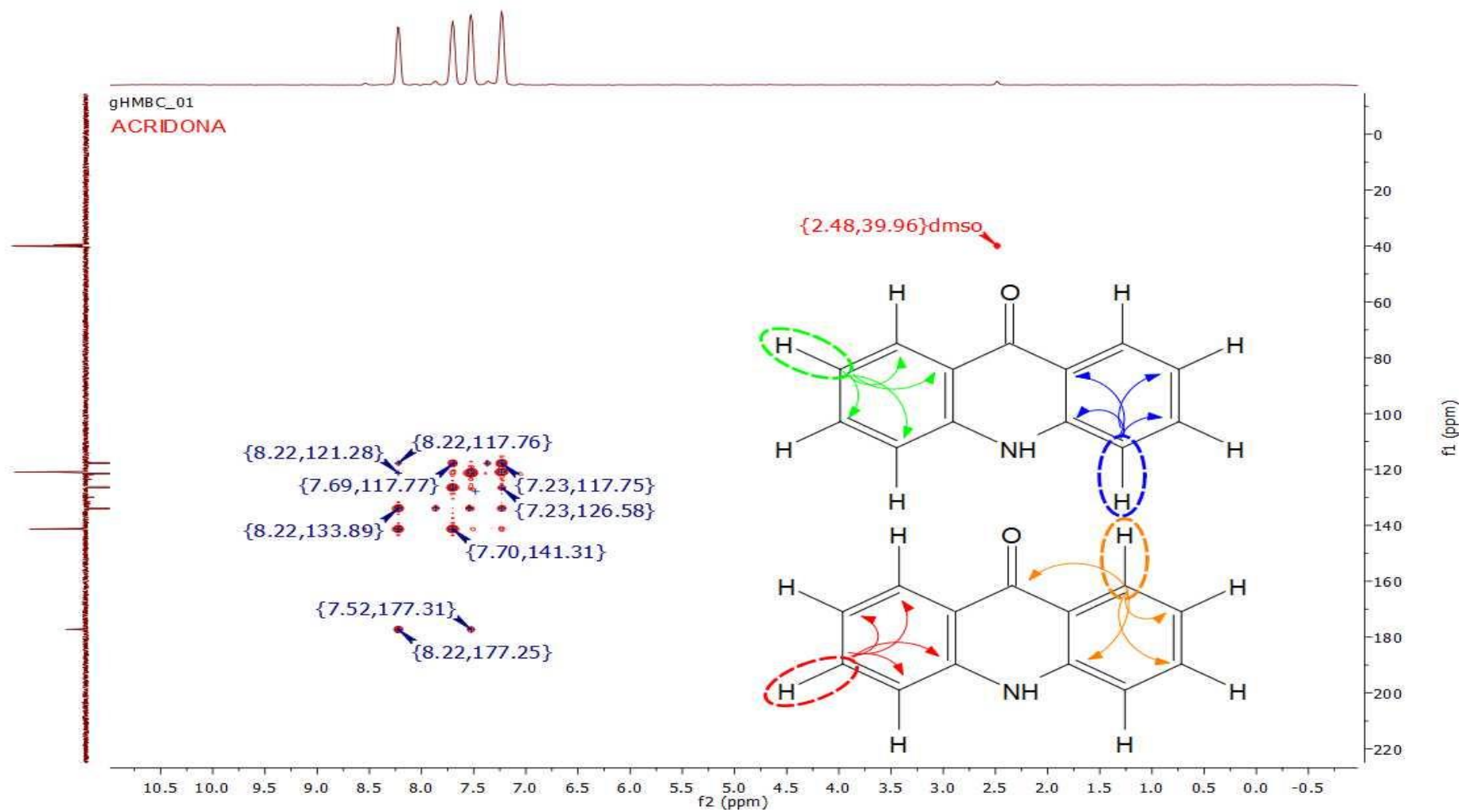
ACRIDONA



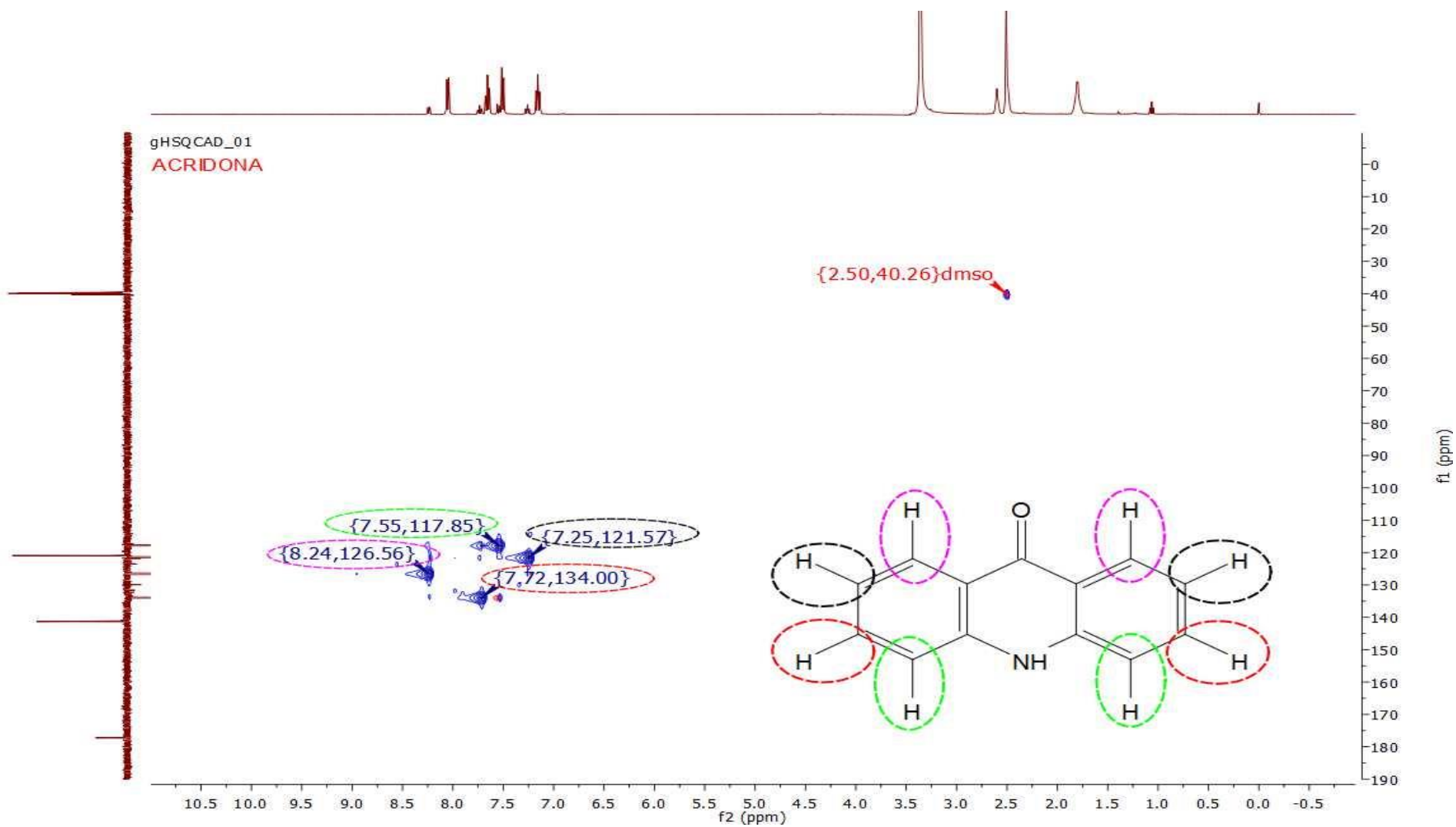
## APÊNDICE D.19- Espectro de RMN – COSY da Acridona



## APÊNDICE D.20 - Espectro de RMN – HMBC da Acridona

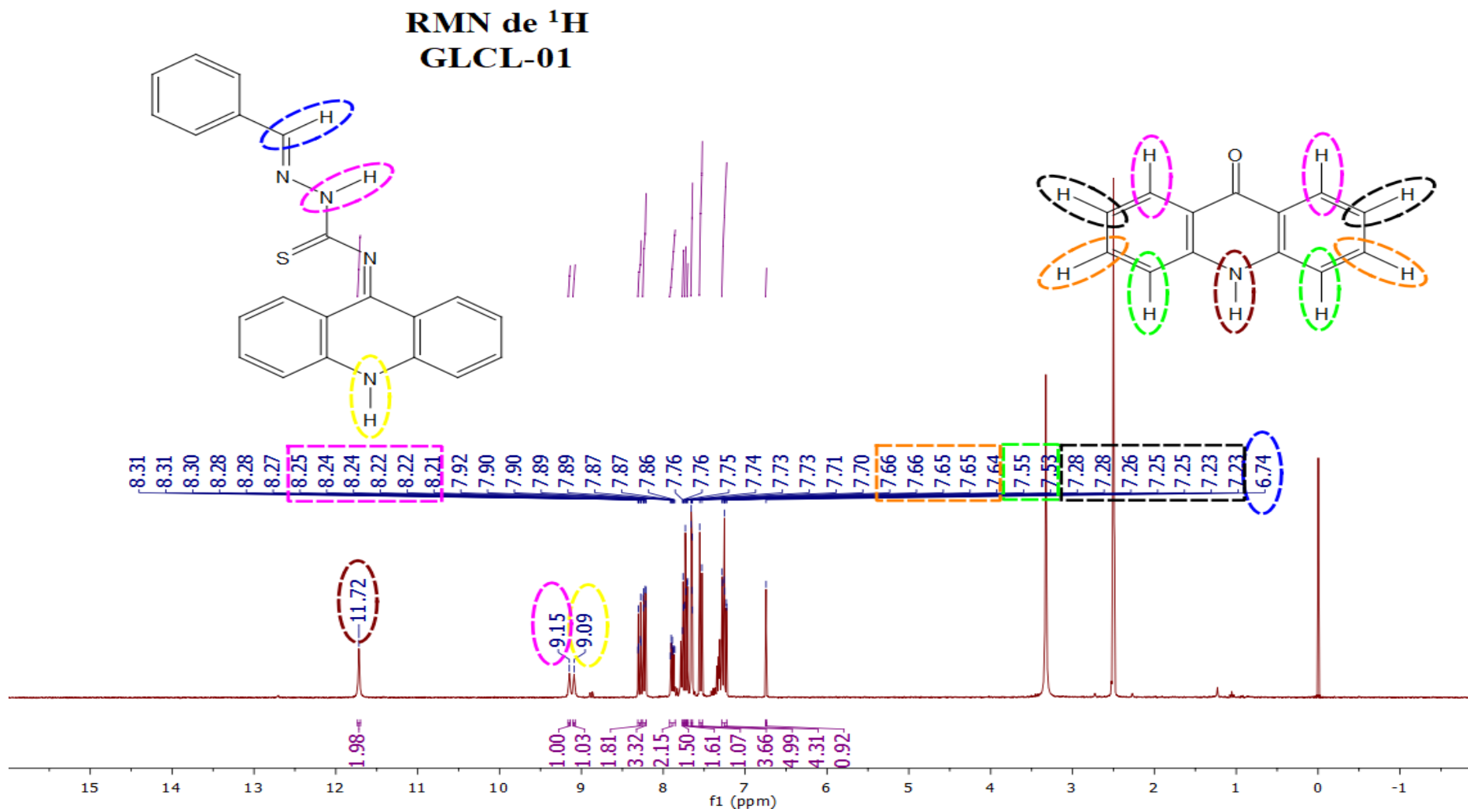


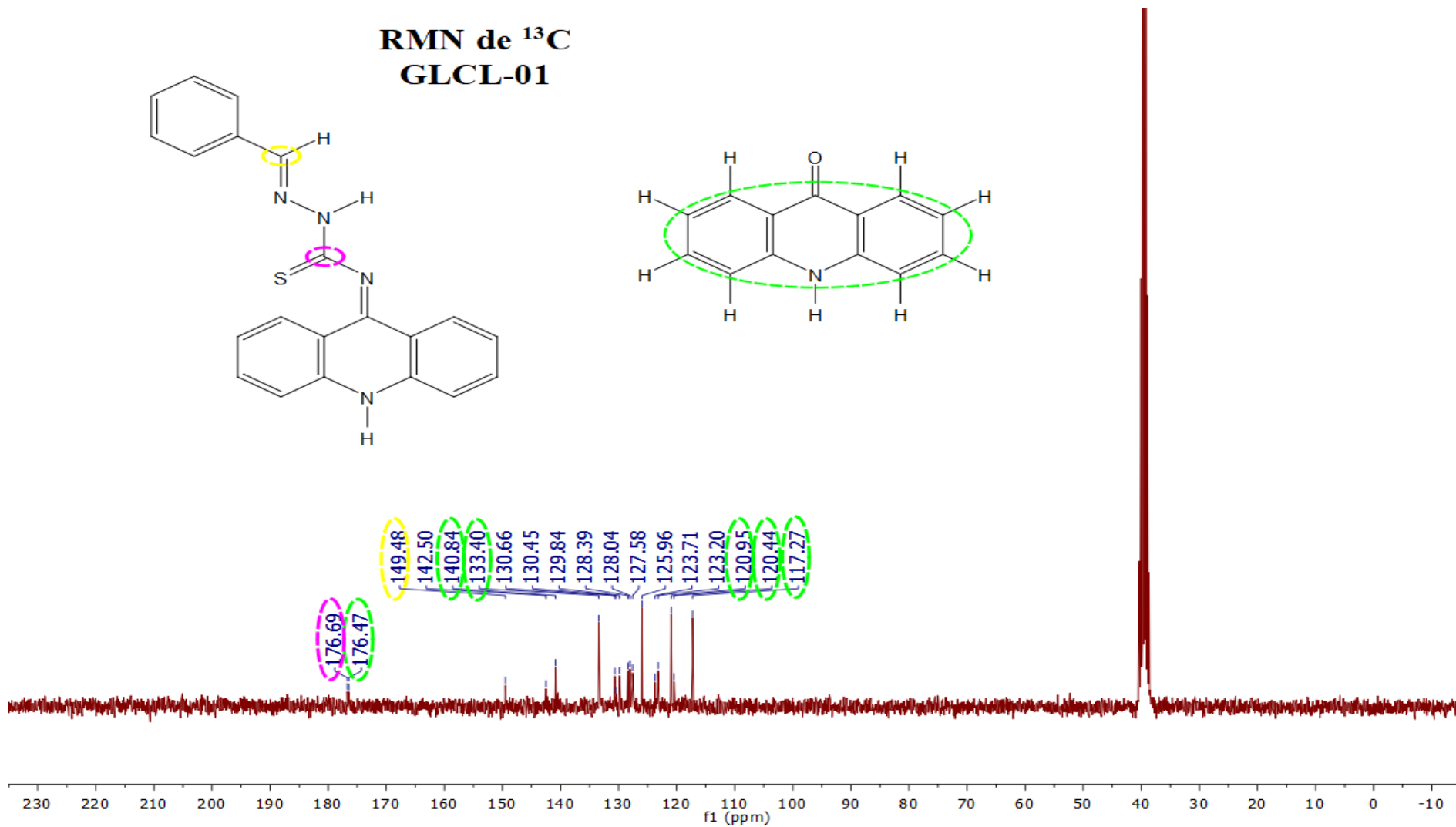
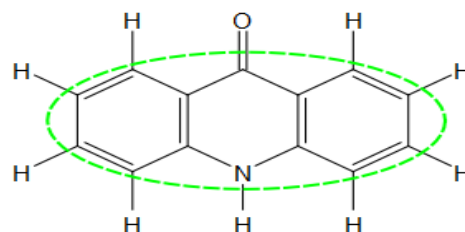
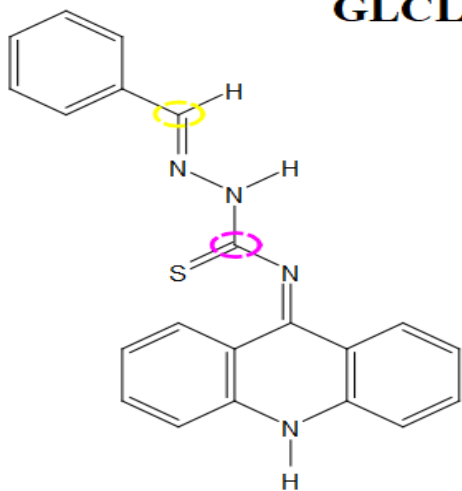
## APÊNDICE D.21 - Espectro de RMN – HSQC da Acridona





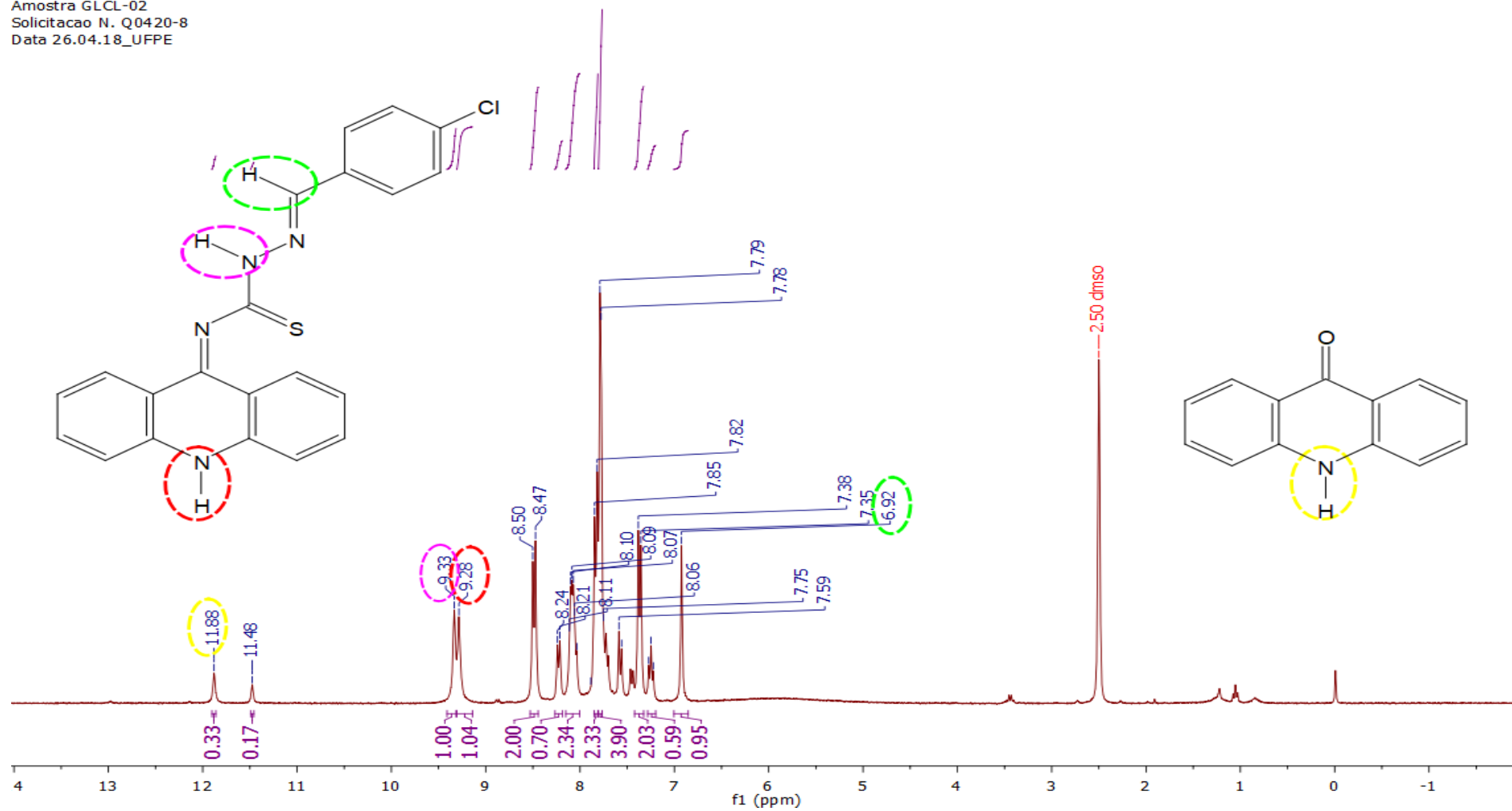
APÊNDICE D.22 - Espectro de RMN -  $^1\text{H}$  do GLCL-01

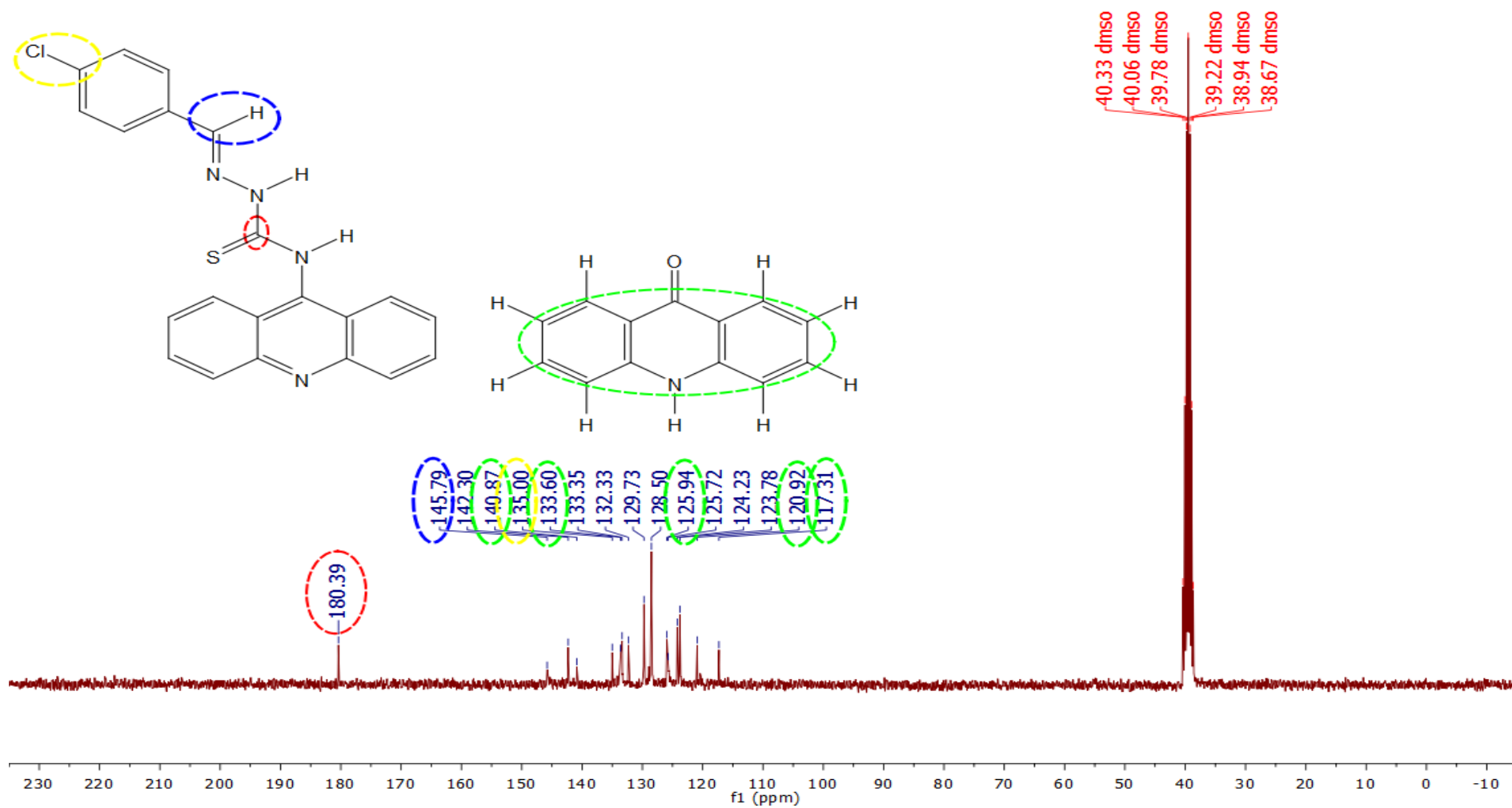


APÊNDICE D.23 - Espectro de RMN –  $^{13}\text{C}$  do GLCL-01RMN de  $^{13}\text{C}$   
GLCL-01

### APÊNDICE D.24 - Espectro de RMN - $^1\text{H}$ do GLCL-02

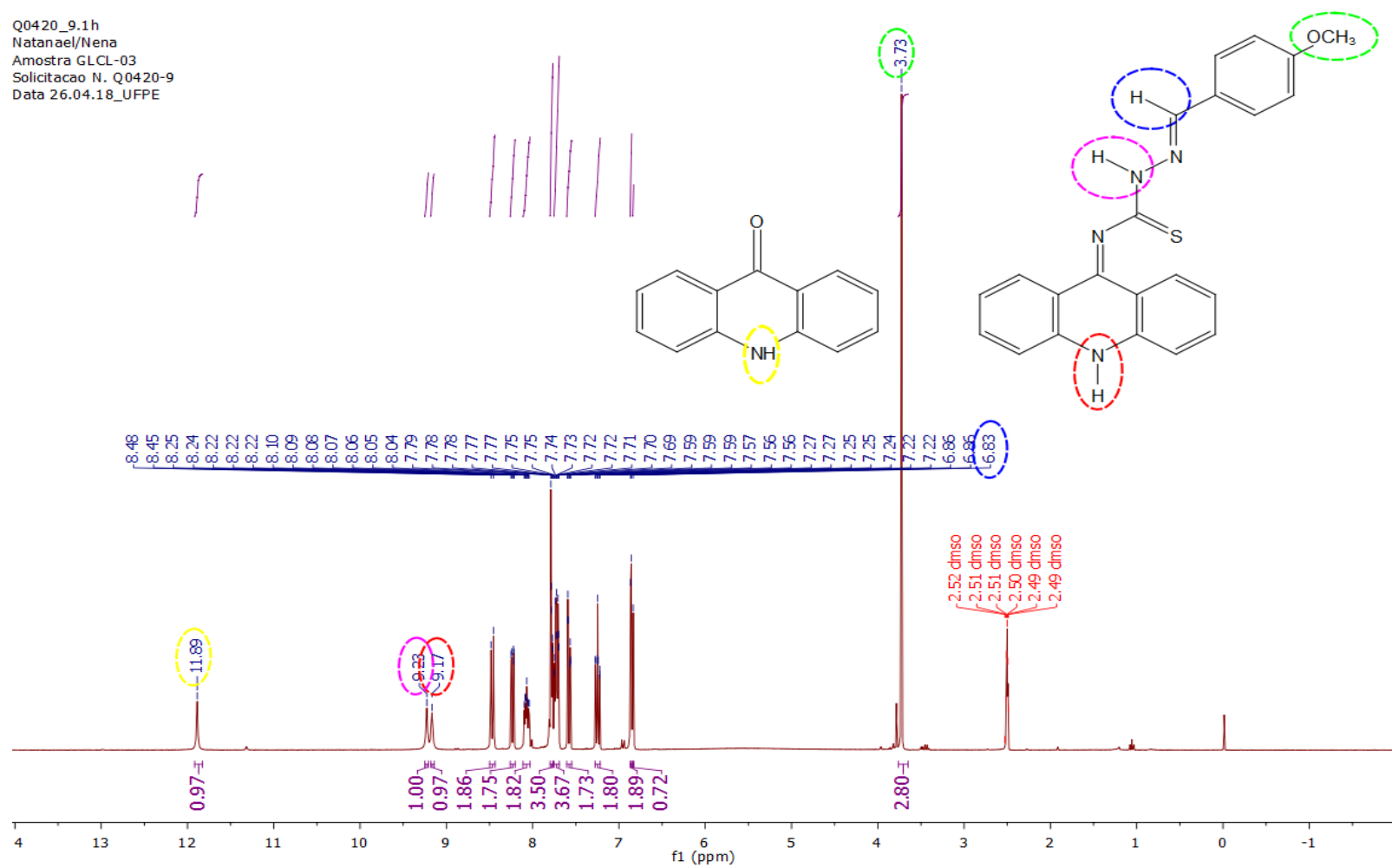
Q0420\_8.1h  
 Natanael/Nena  
 Amostra GLCL-02  
 Solicitacao N. Q0420-8  
 Data 26.04.18\_UFPE



APÊNDICE D.25 - Espectro de RMN -  $^{13}\text{C}$  do GLCL-02

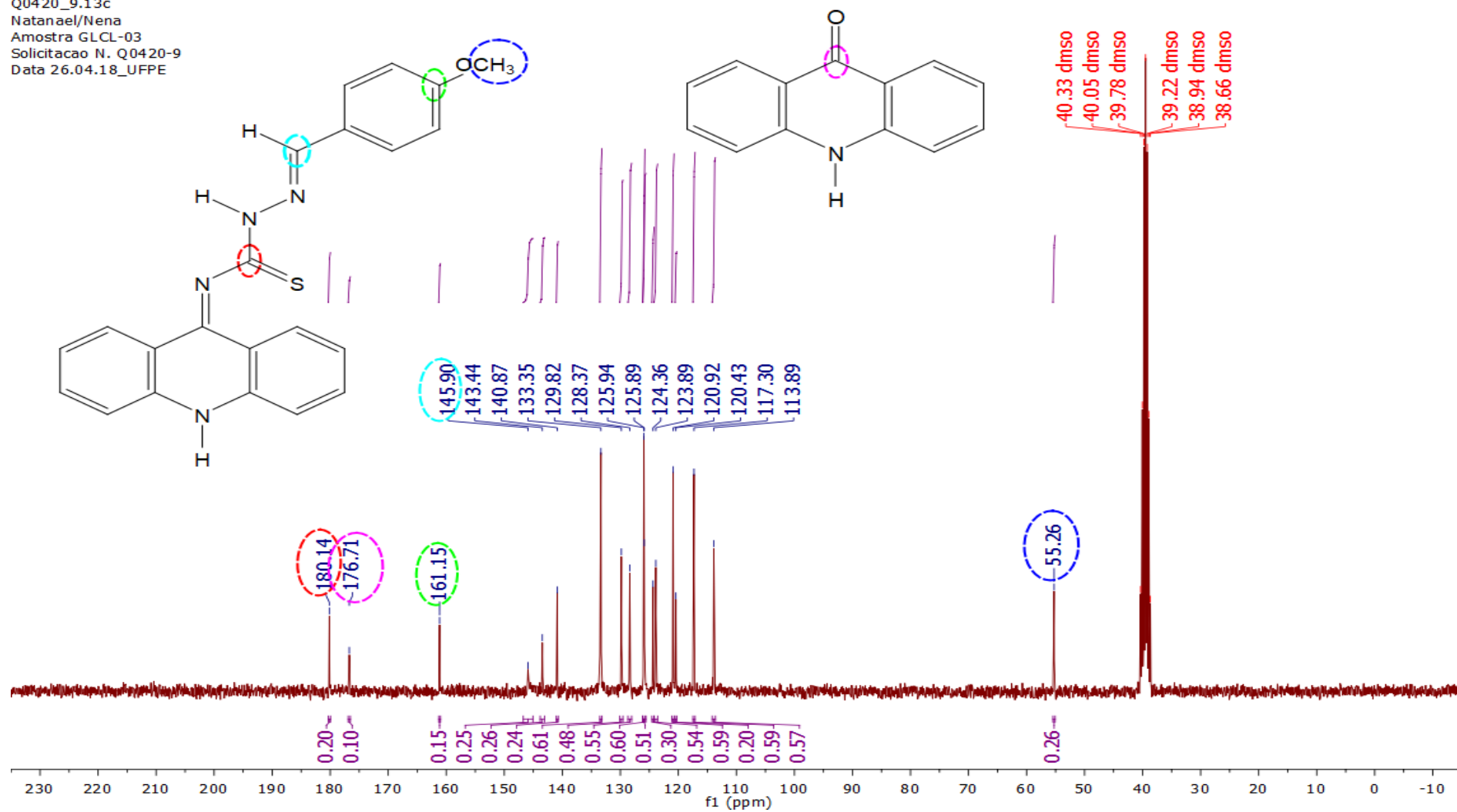
### APÊNDICE D.26 - Espectro de RMN - $^1\text{H}$ do GLCL-03

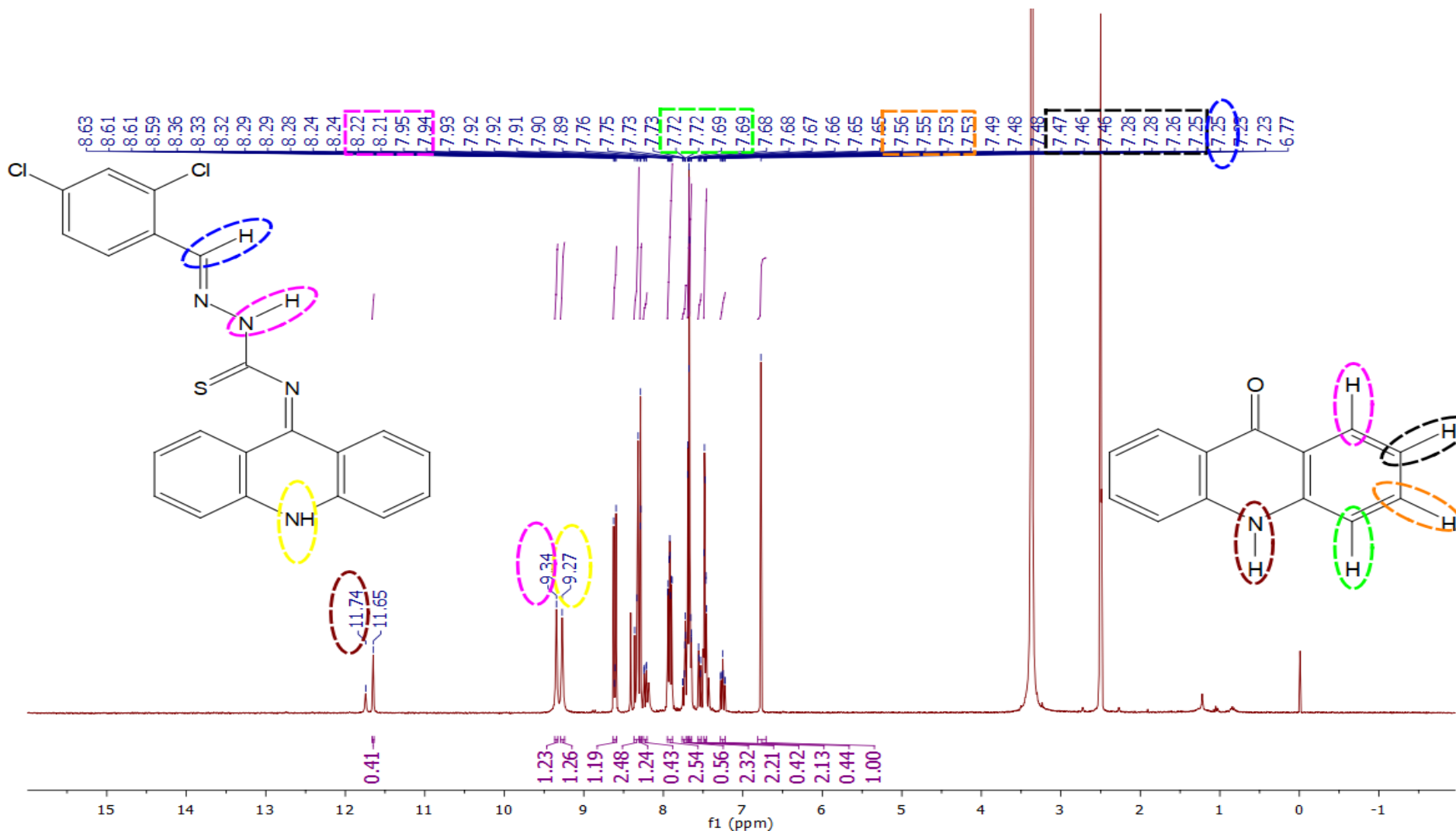
Q0420\_9.1h  
 Natanael/Nena  
 Amostra GLCL-03  
 Solicitacao N. Q0420-9  
 Data 26.04.18\_UFPE

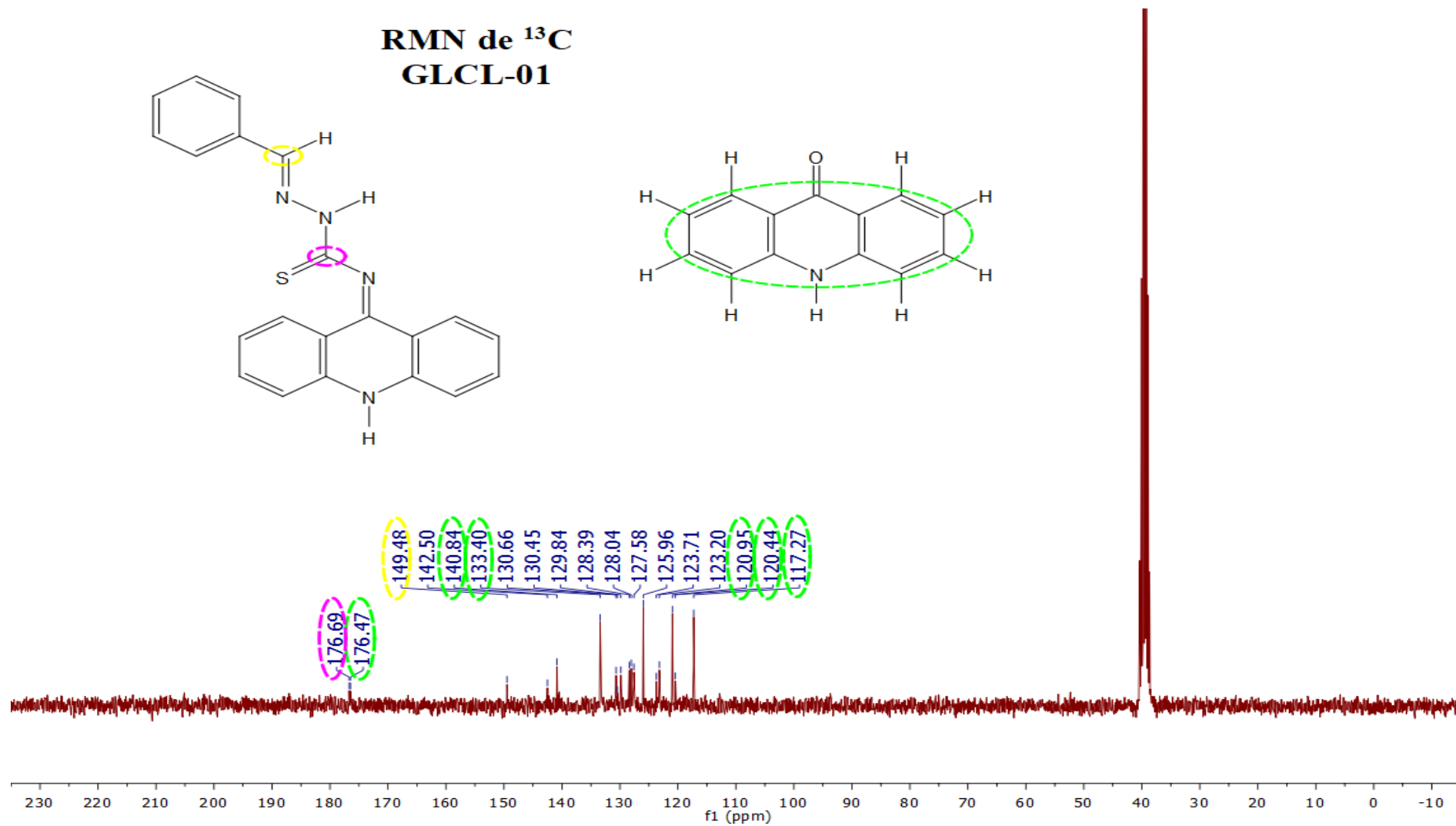
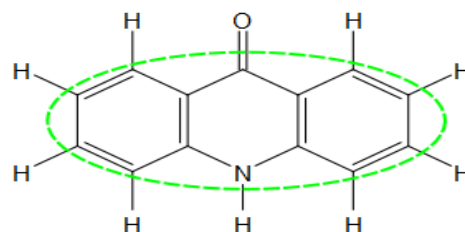
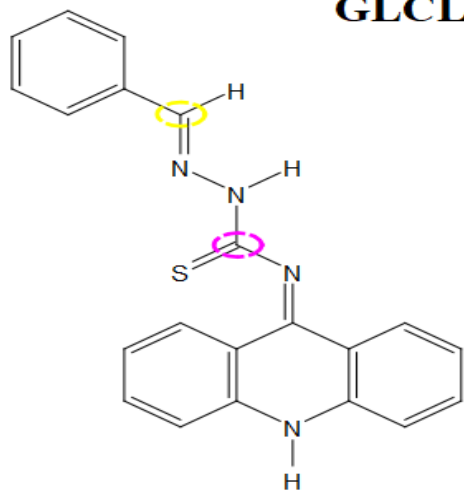


### APÊNDICE D.27 - Espectro de RMN - $^{13}\text{C}$ do GLCL-03

Q0420\_9.13c  
 Natanael/Nena  
 Amostra GLCL-03  
 Solicitacao N. Q0420-9  
 Data 26.04.18\_UFPE

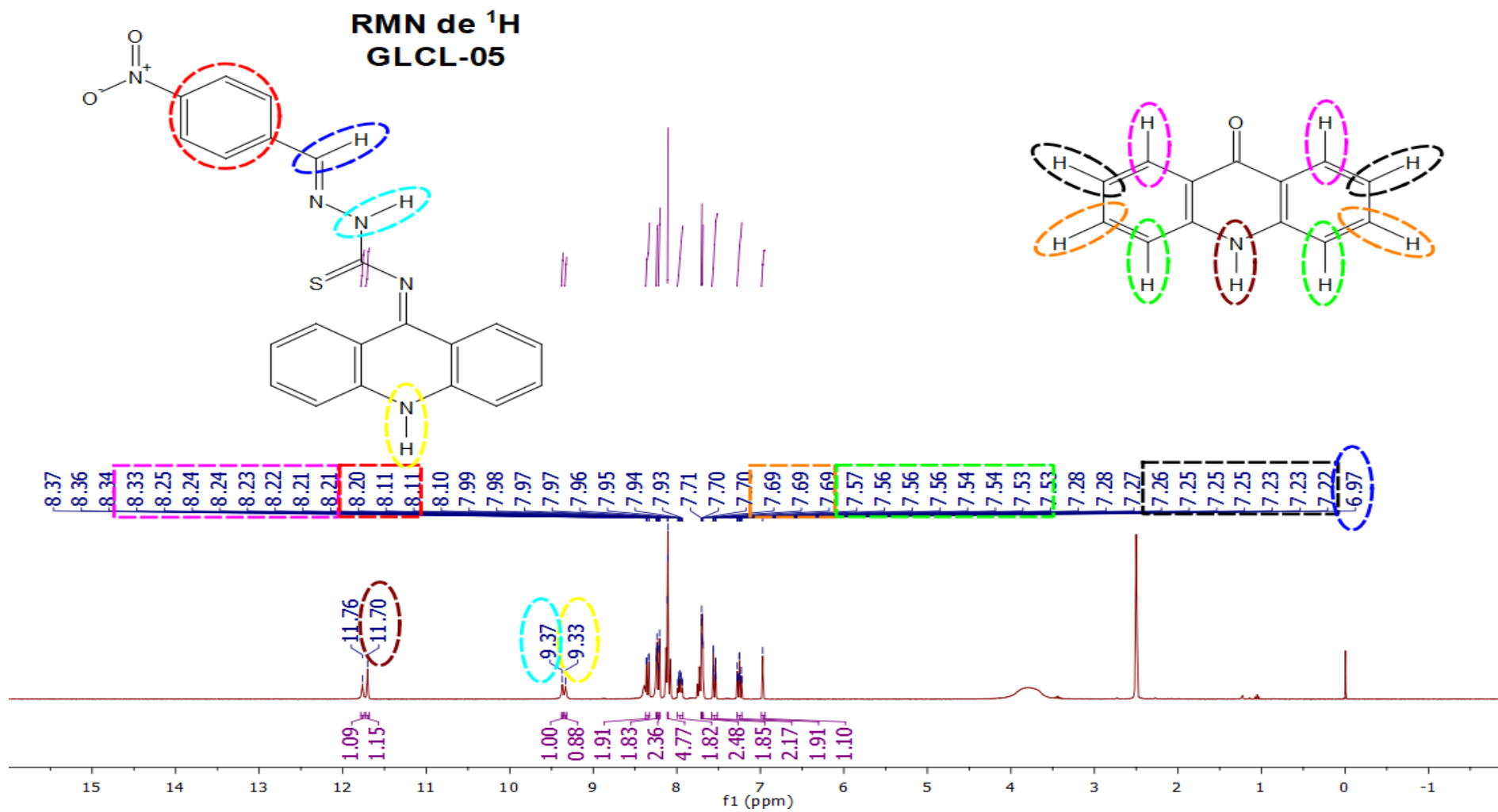


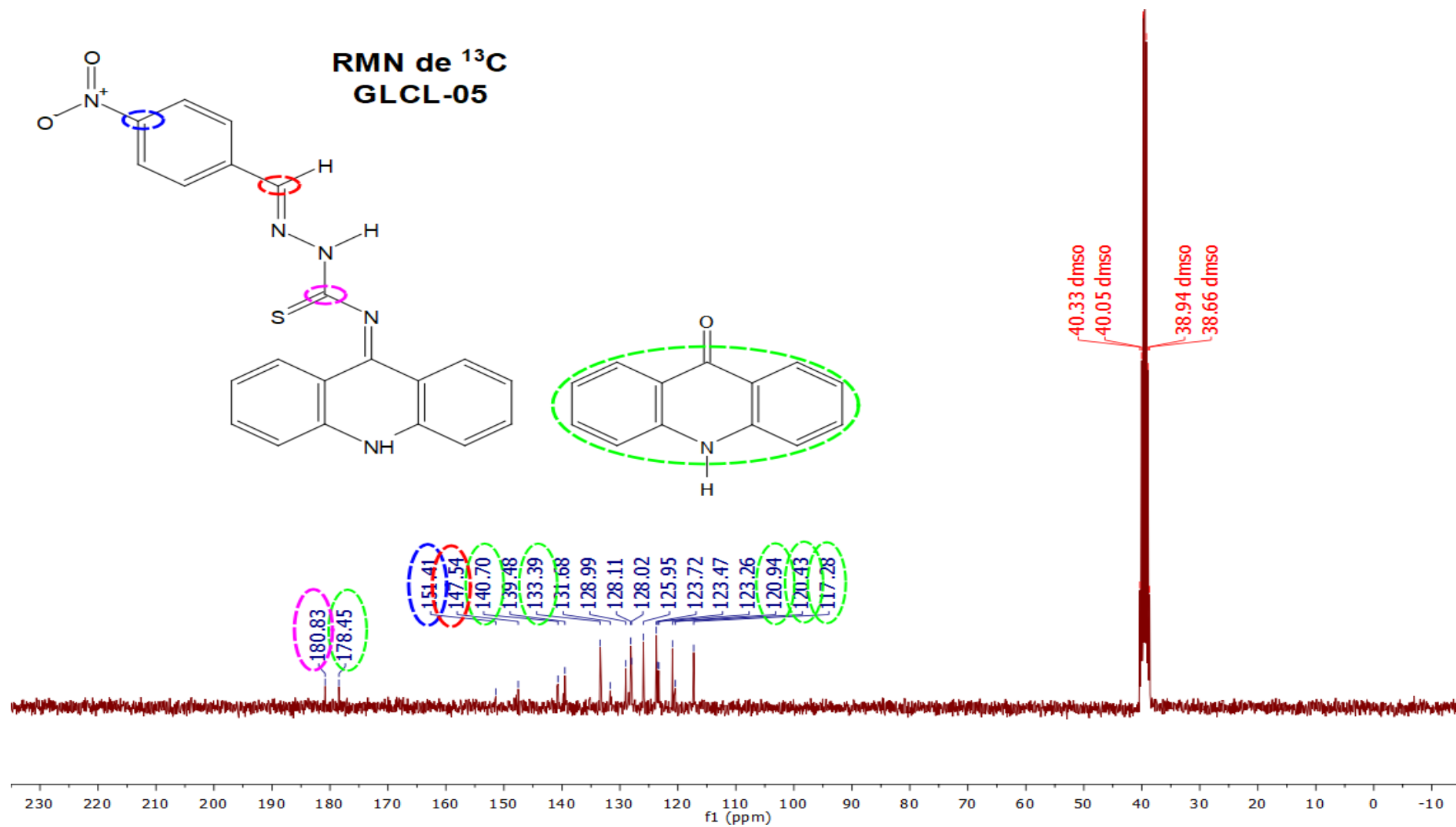
APÊNDICE D.28- Espectro de RMN -  $^1\text{H}$  do GLCL-04

APÊNDICE D.29- Espectro de RMN -  $^{13}\text{C}$  do GLCL-04RMN de  $^{13}\text{C}$   
GLCL-01

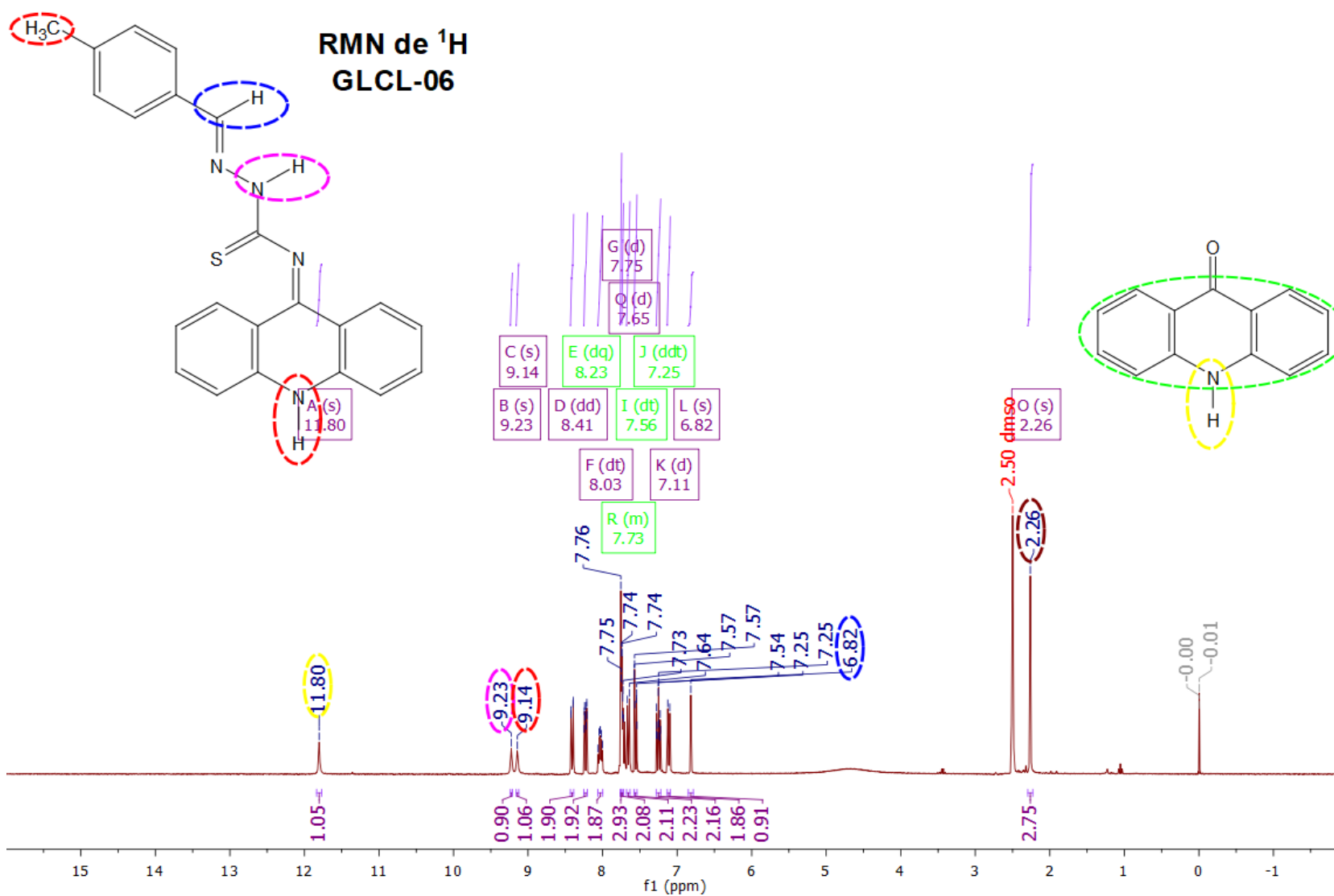


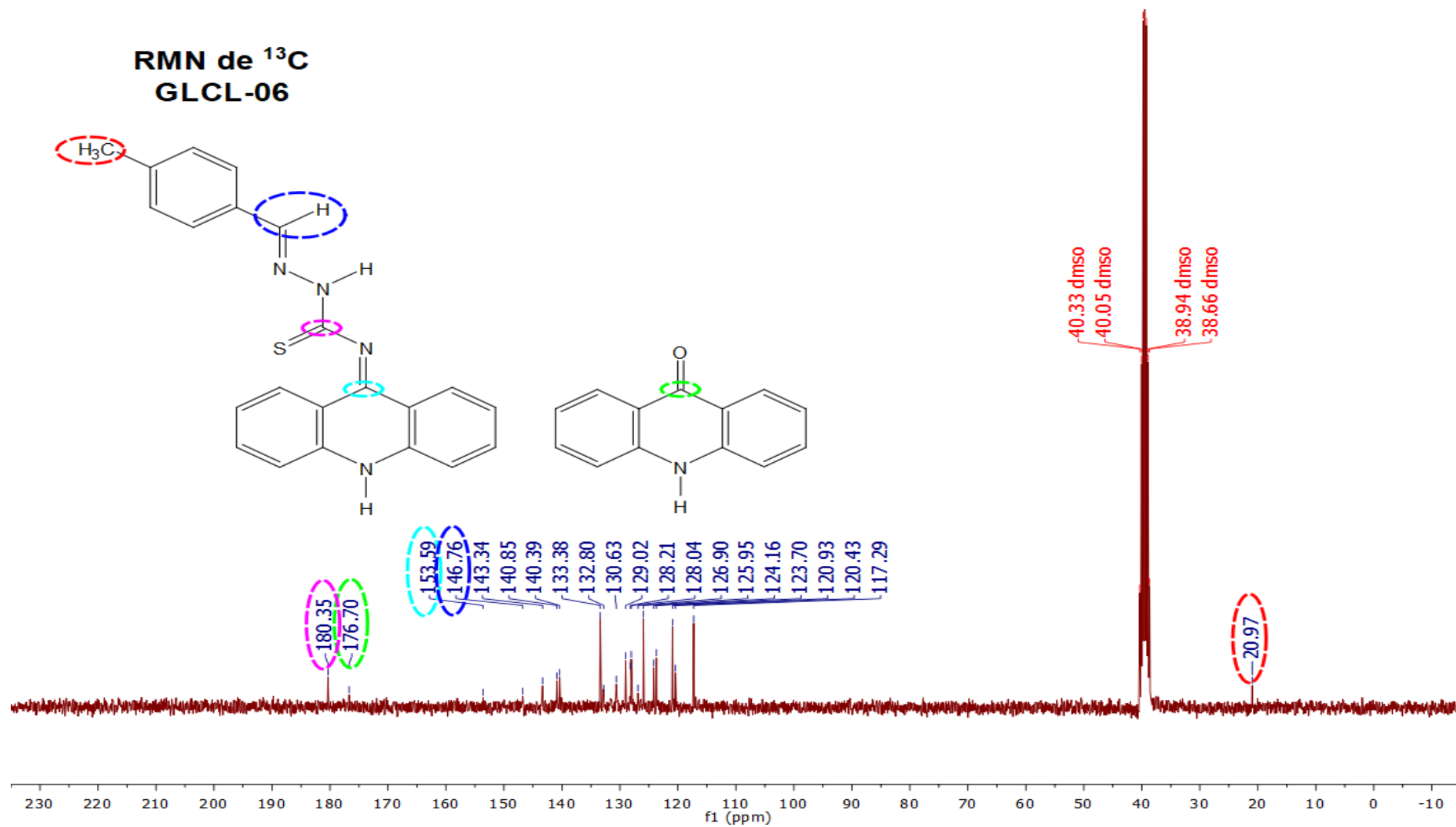
APÊNDICE D.30 - Espectro de RMN –  $^1\text{H}$  do GLCL-05



APÊNDICE D.31 - Espectro de RMN –  $^{13}\text{C}$  do GLCL-05

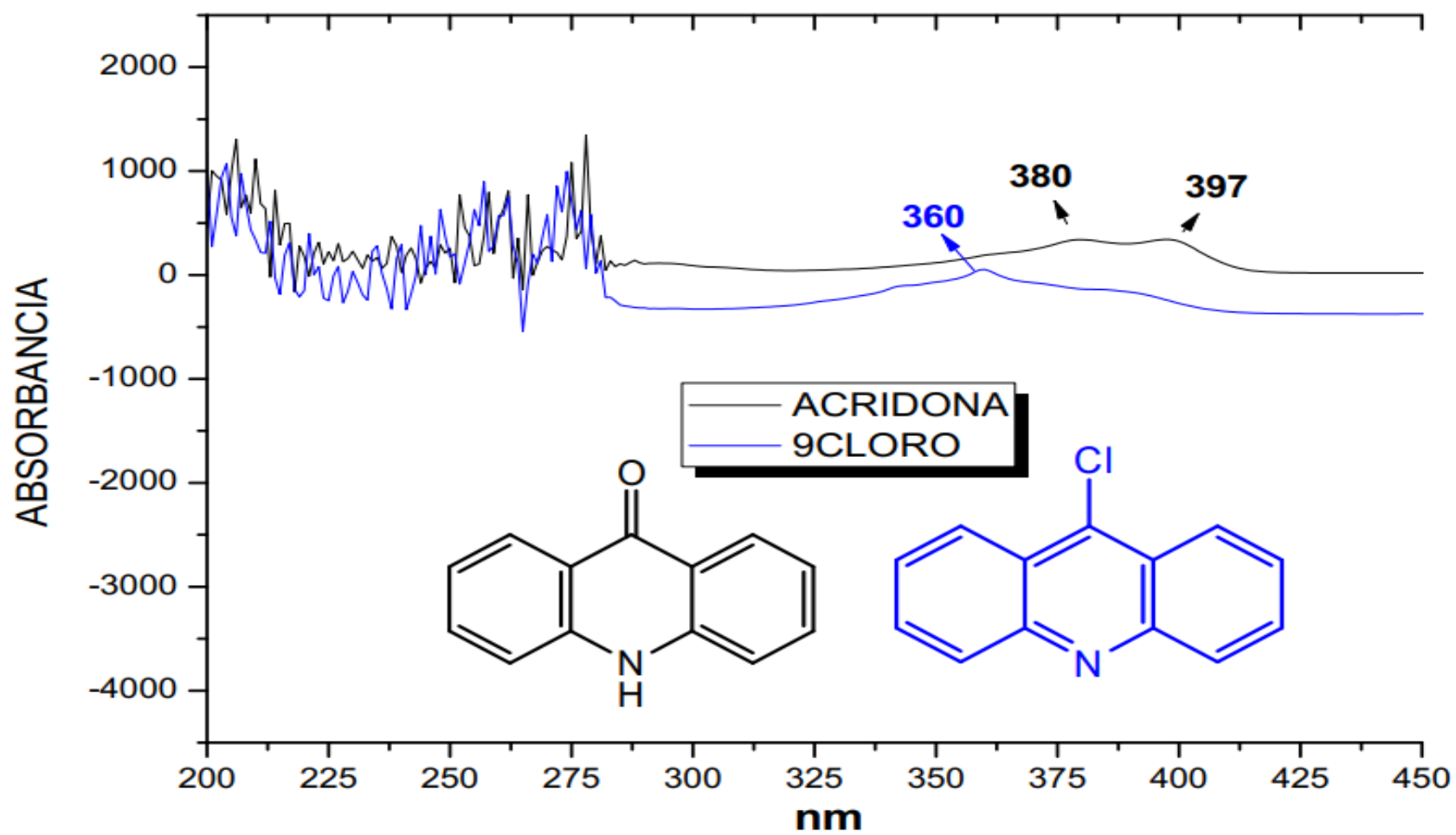
APÊNDICE D.32 - Espectro de RMN –  $^1\text{H}$  do GLCL-06



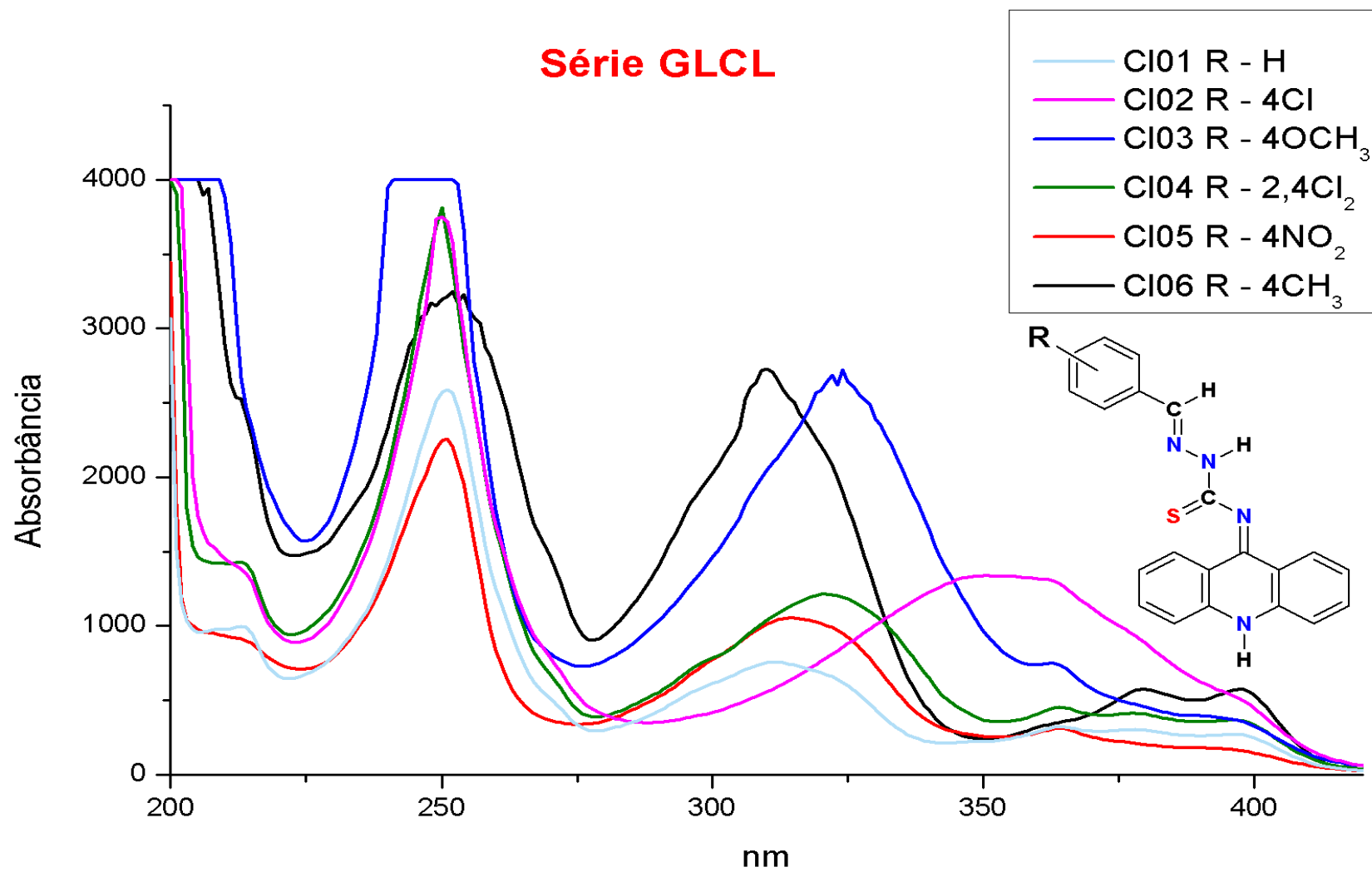
APÊNDICE D.33 - Espectro de RMN -  $^{13}\text{C}$  do GLCL-06

**APÊNDICE E - ESPECTRO ULTRAVIOLETA**

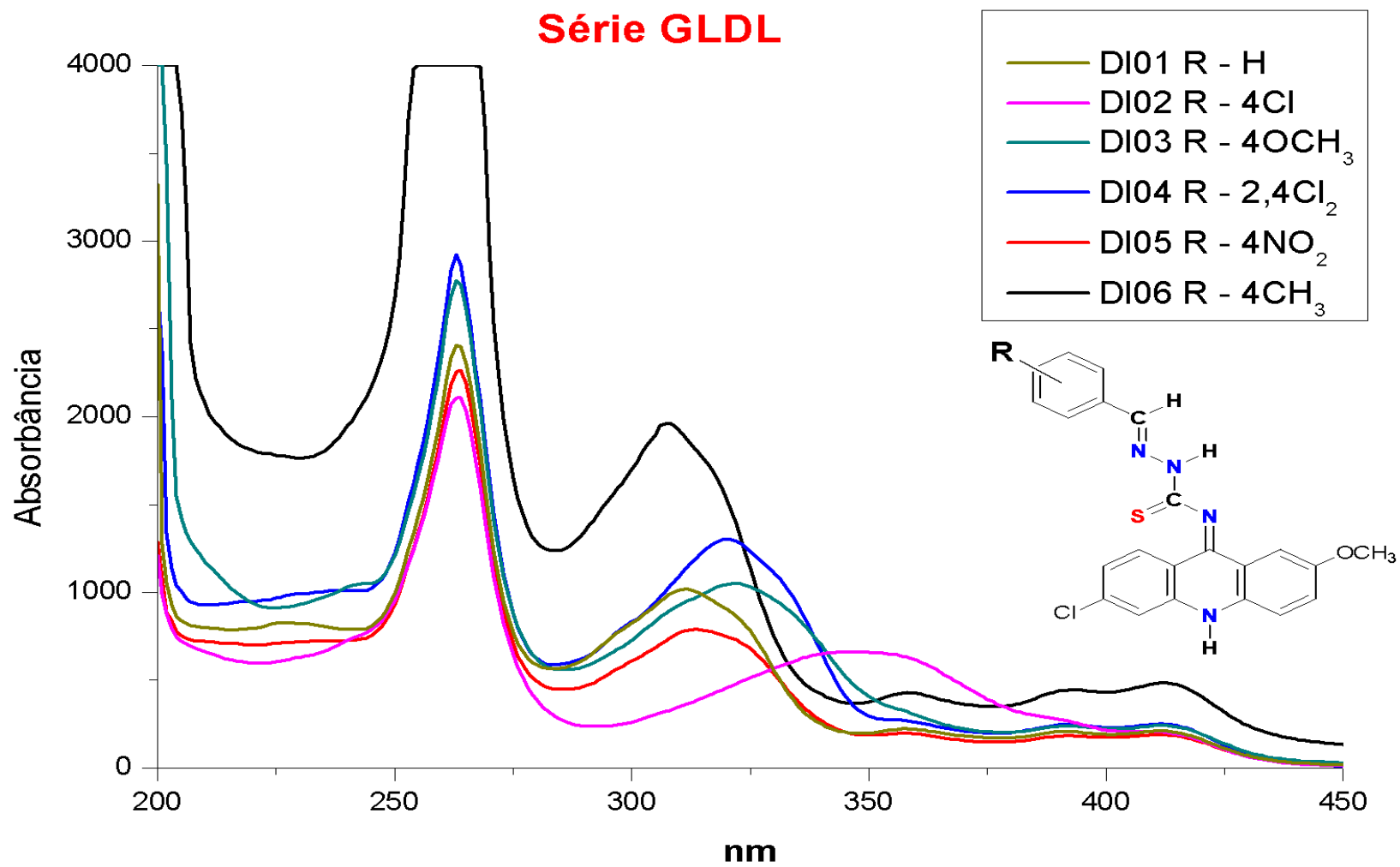
## APÊNDICE E.1 – Espectro ultravioleta Acridona e 9-cloro.



## APÊNDICE E.2 – Espectro de varredura ultravioleta série GLCL.



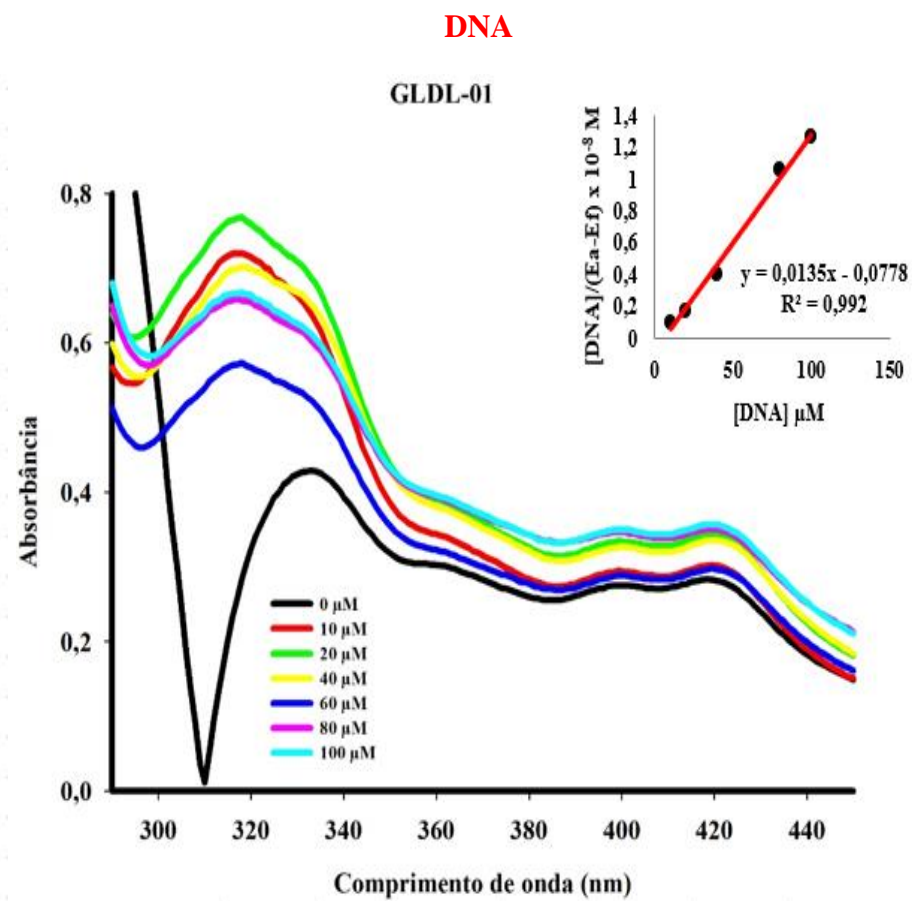
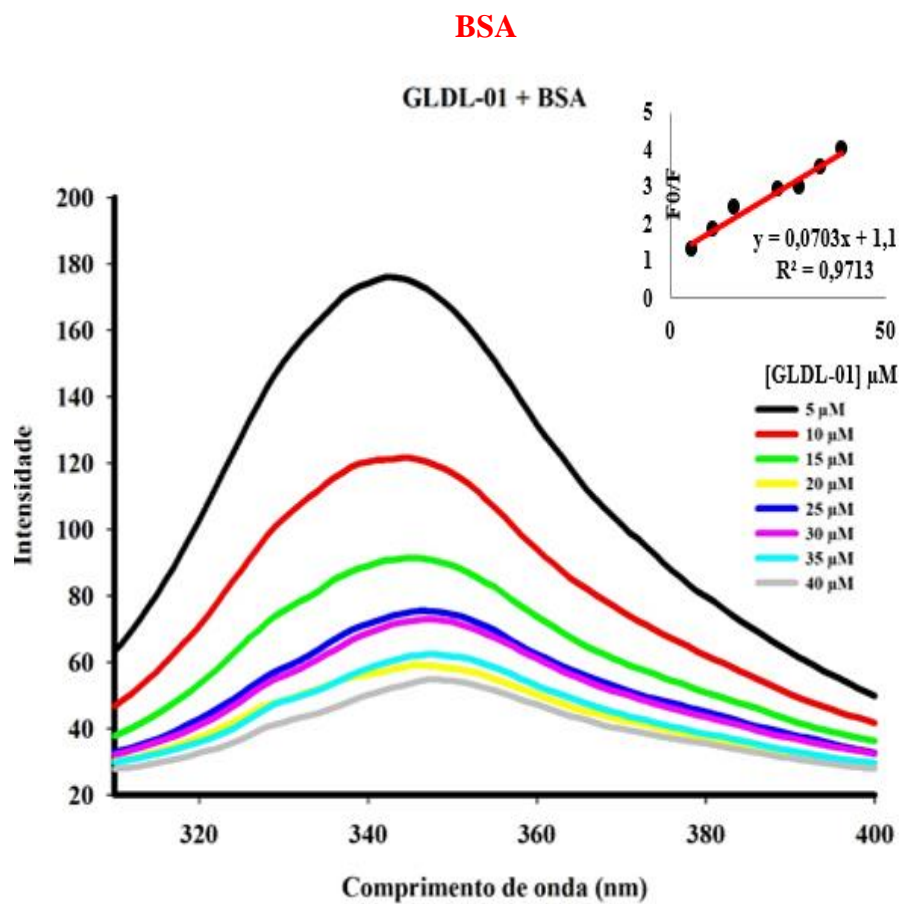
## APÊNDICE E.3 – Espectro de varredura ultravioleta série GLDL.



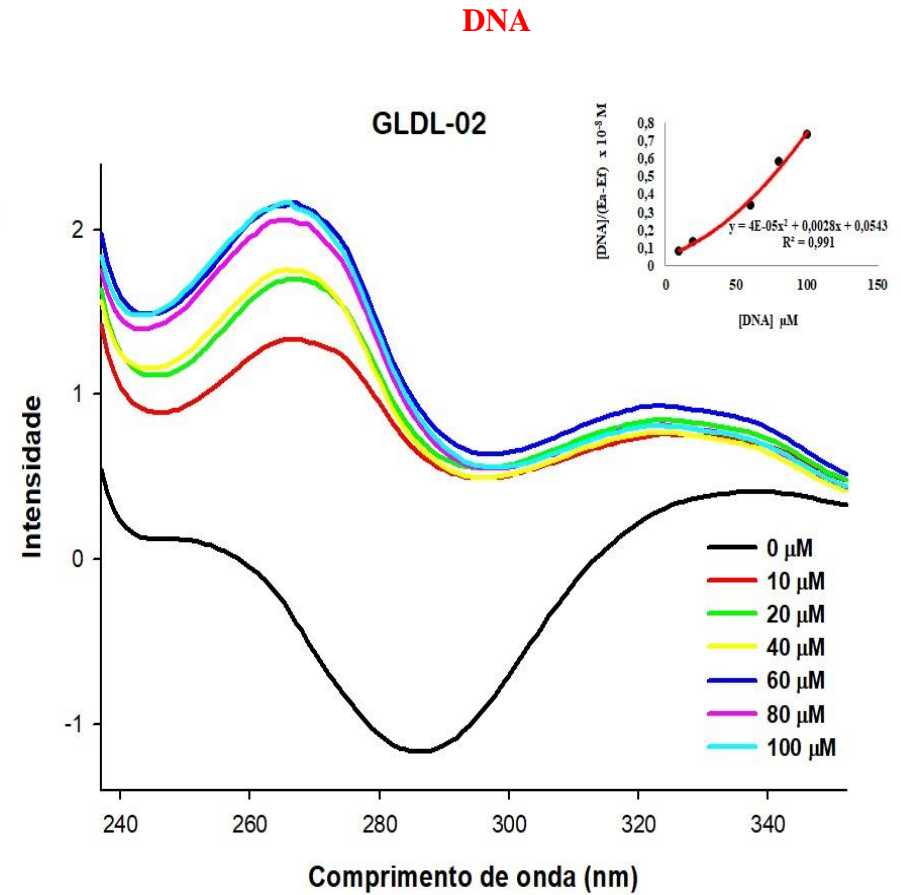
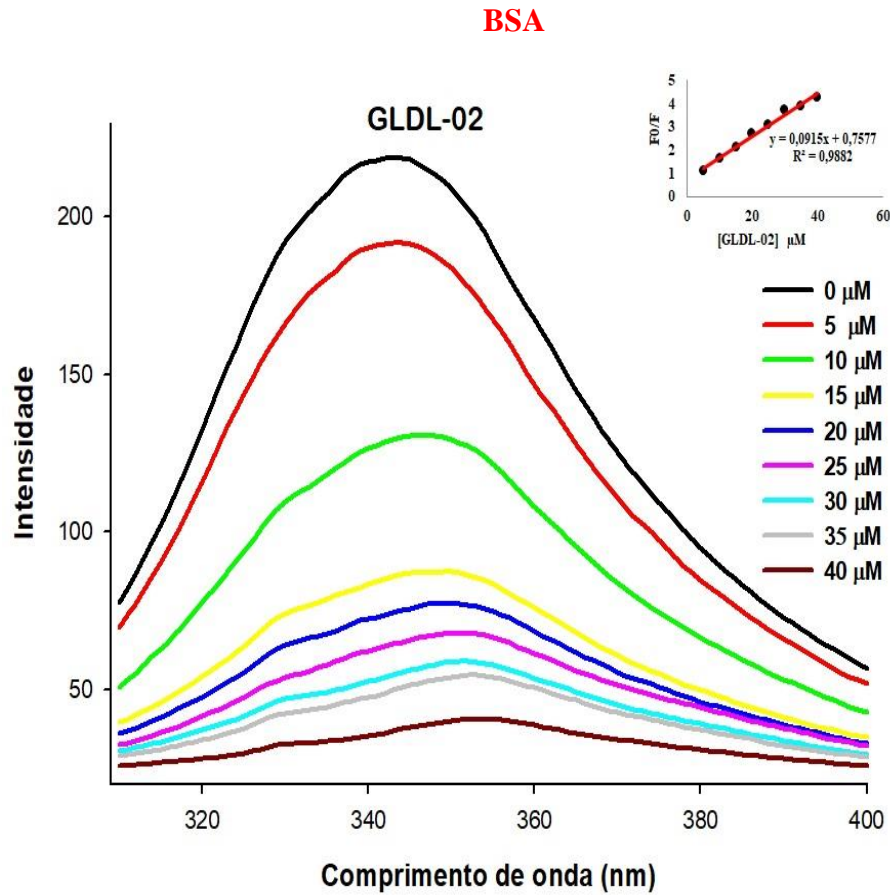


## **APÊNDICE F – INTERAÇÃO DNA E BSA**

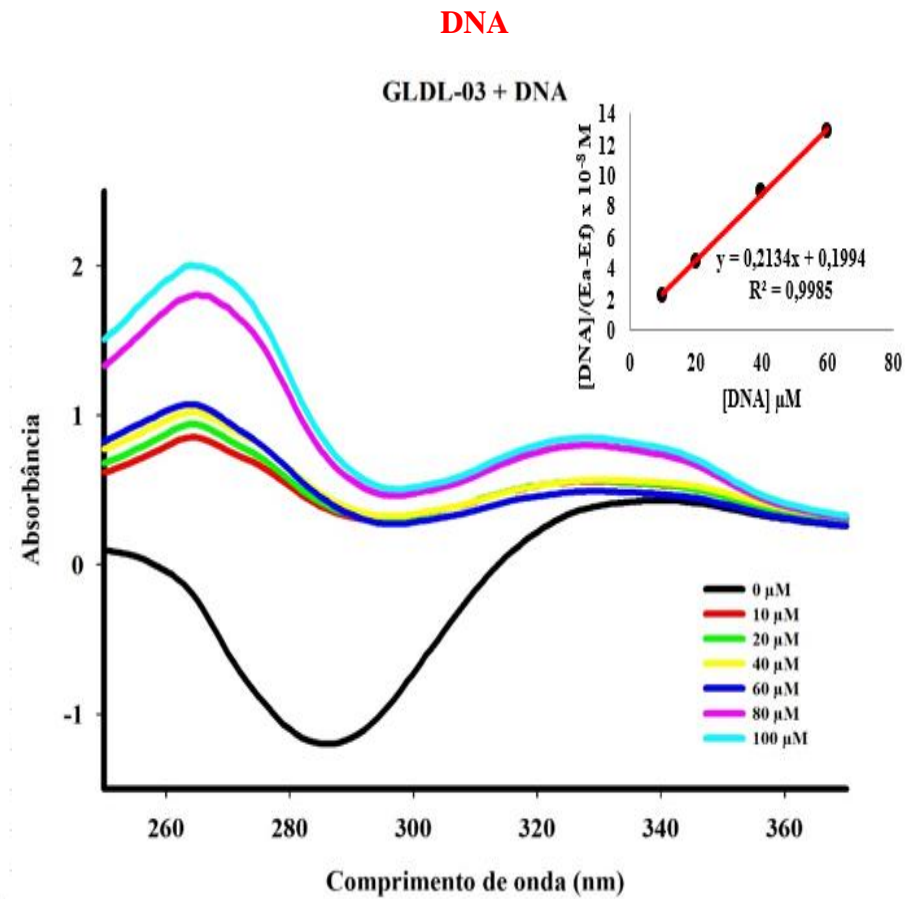
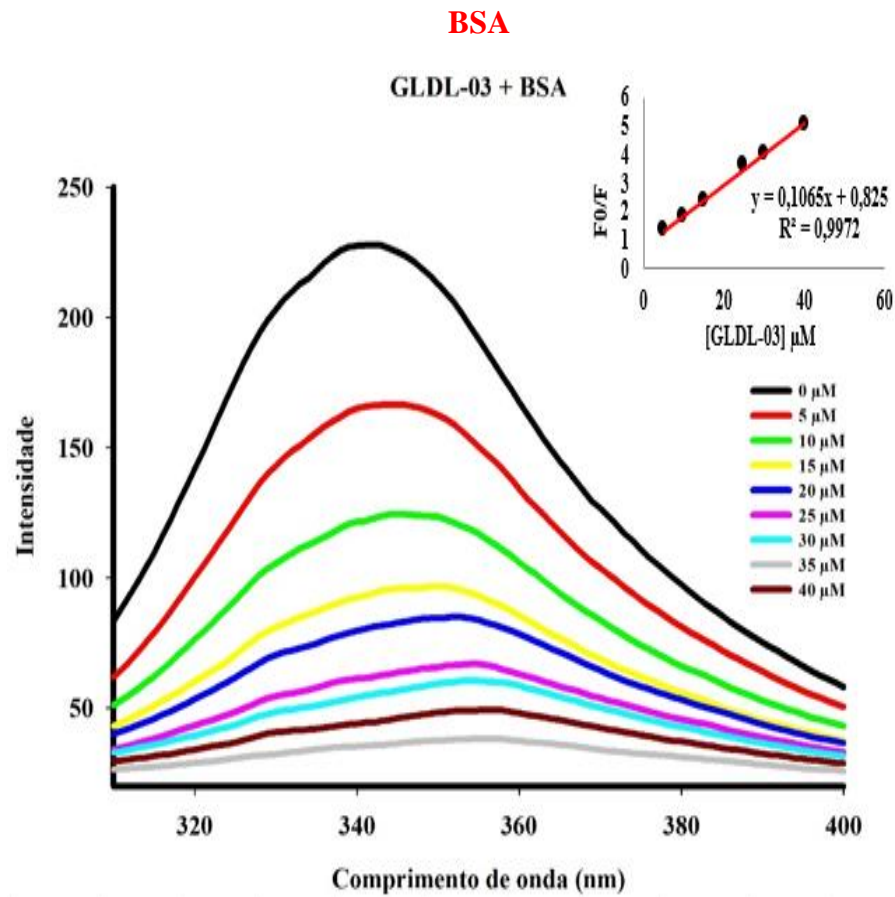
## APÊNDICE F.1 – Interação GLDL-01 com DNA e BSA



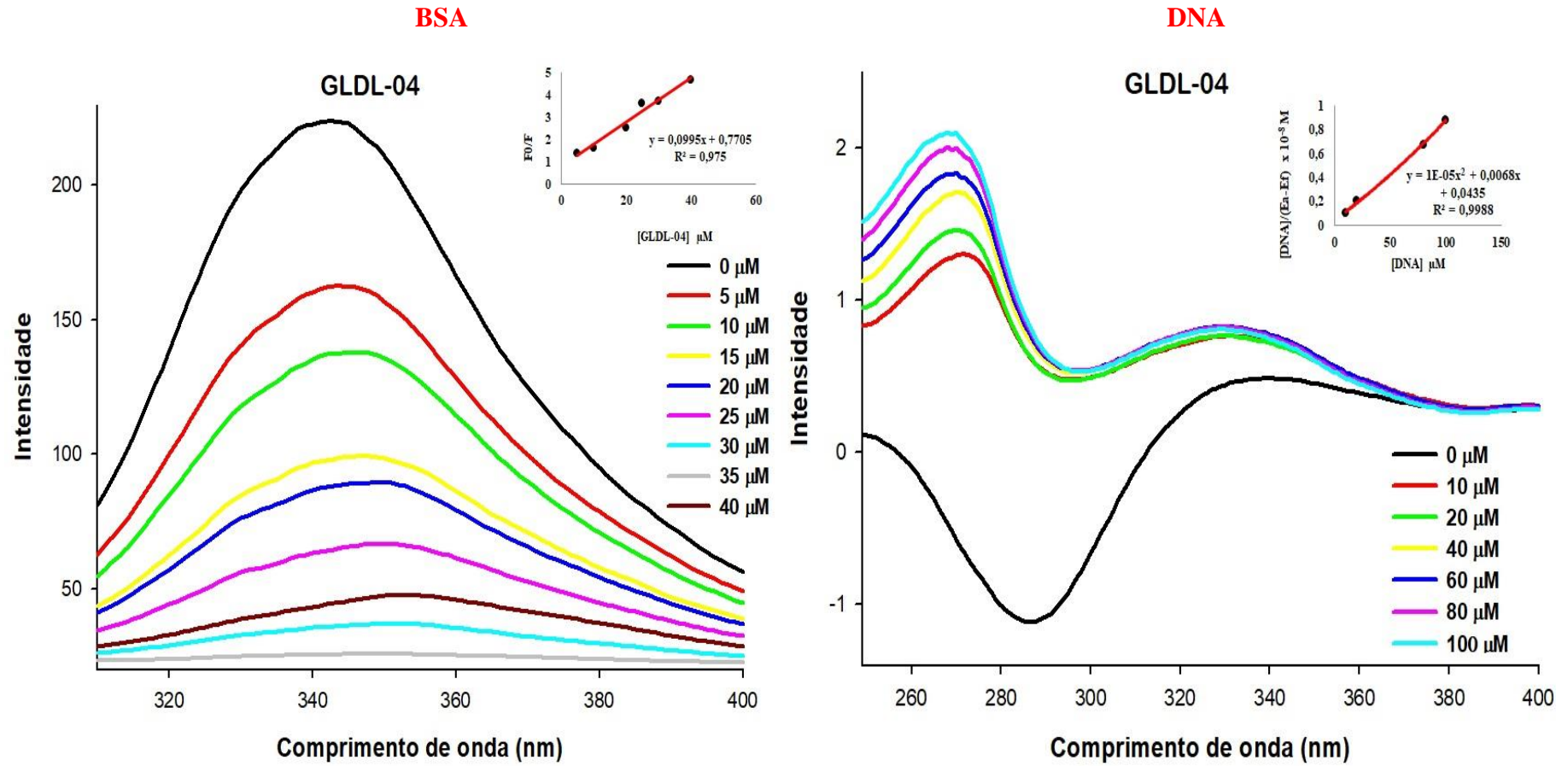
## APÊNDICE F.2 – Interação GLDL-02 com DNA e BSA



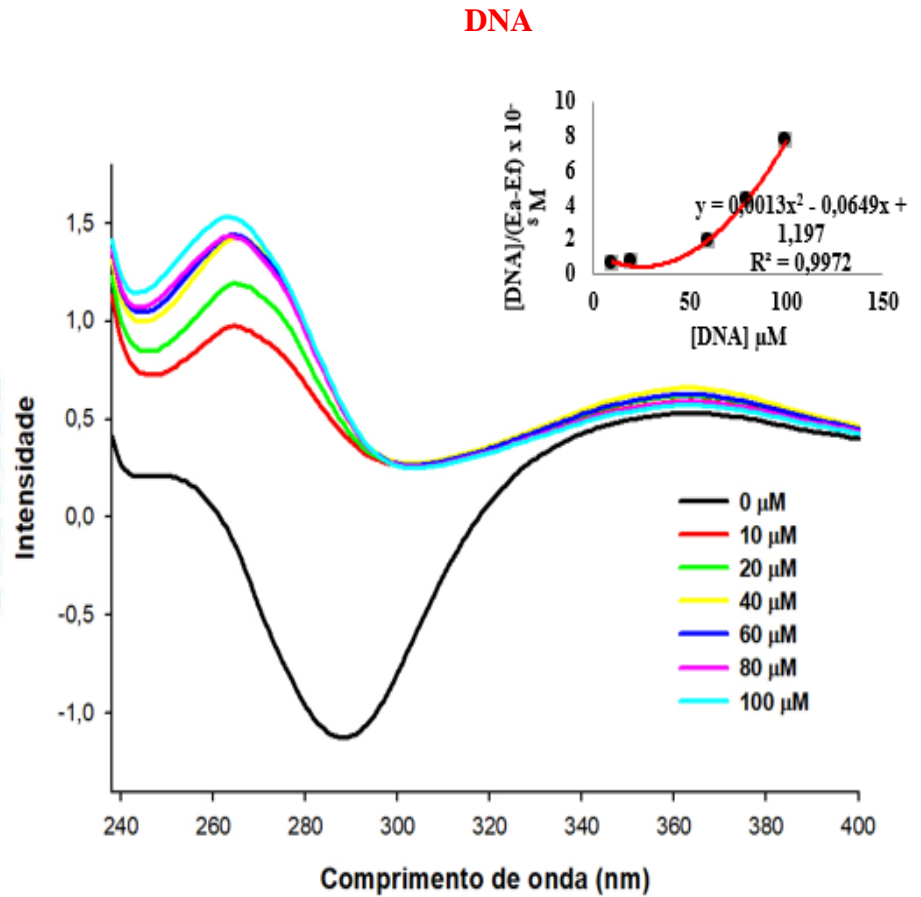
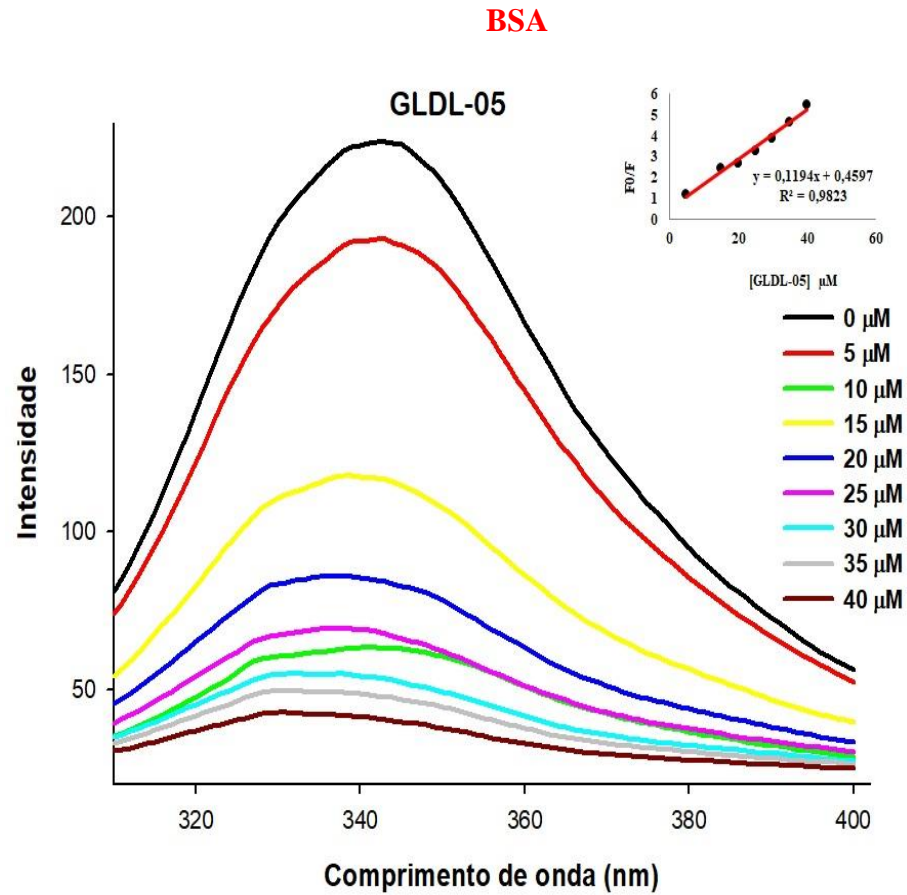
### APÊNDICE F.3 – Interação GLDL-03 com DNA e BSA



### APÊNDICE F.4 – Interação GLDL-04 com DNA e BSA

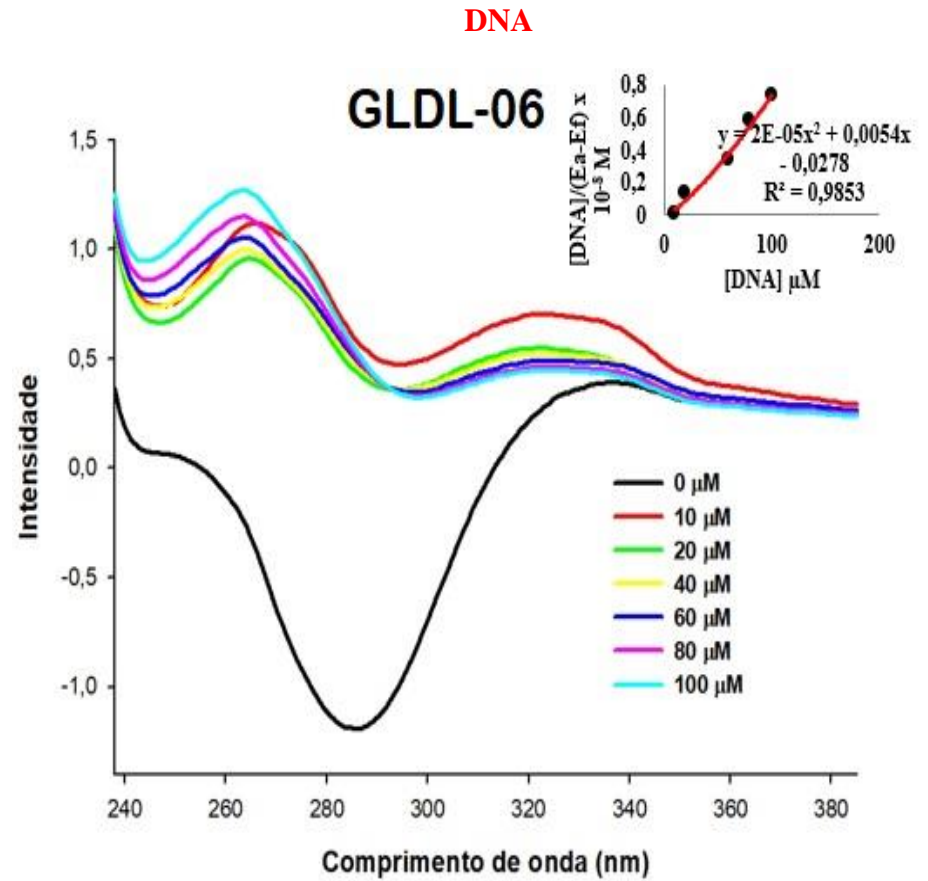
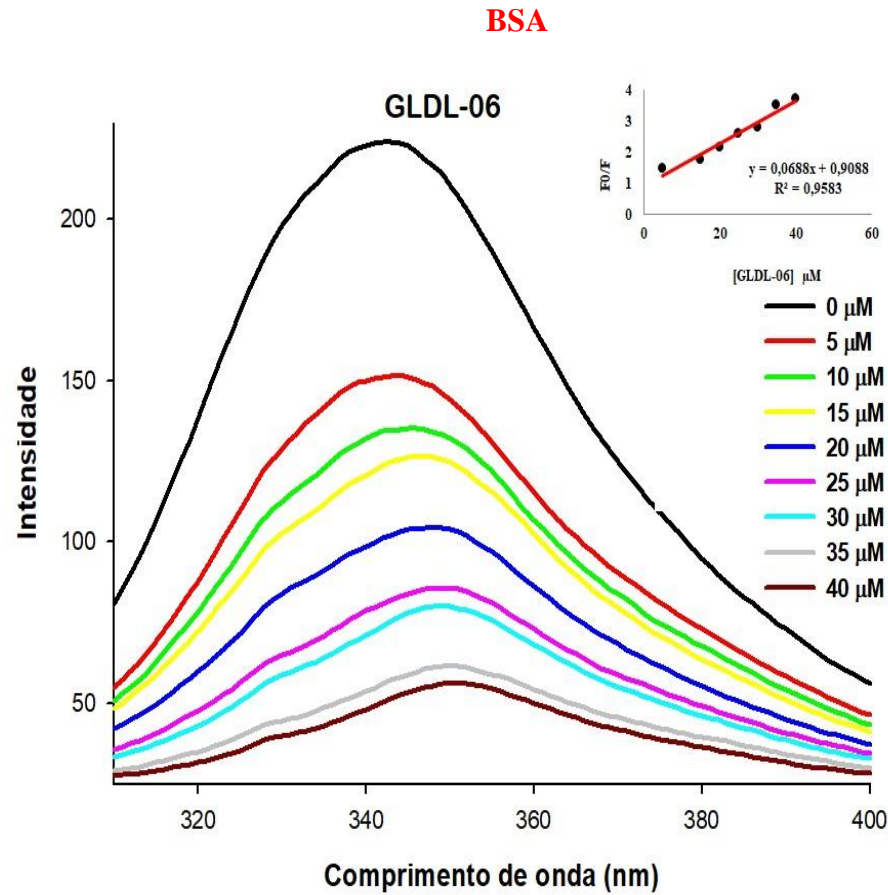


### APÊNDICE F.5 – Interação GLDL-05 com DNA e BSA

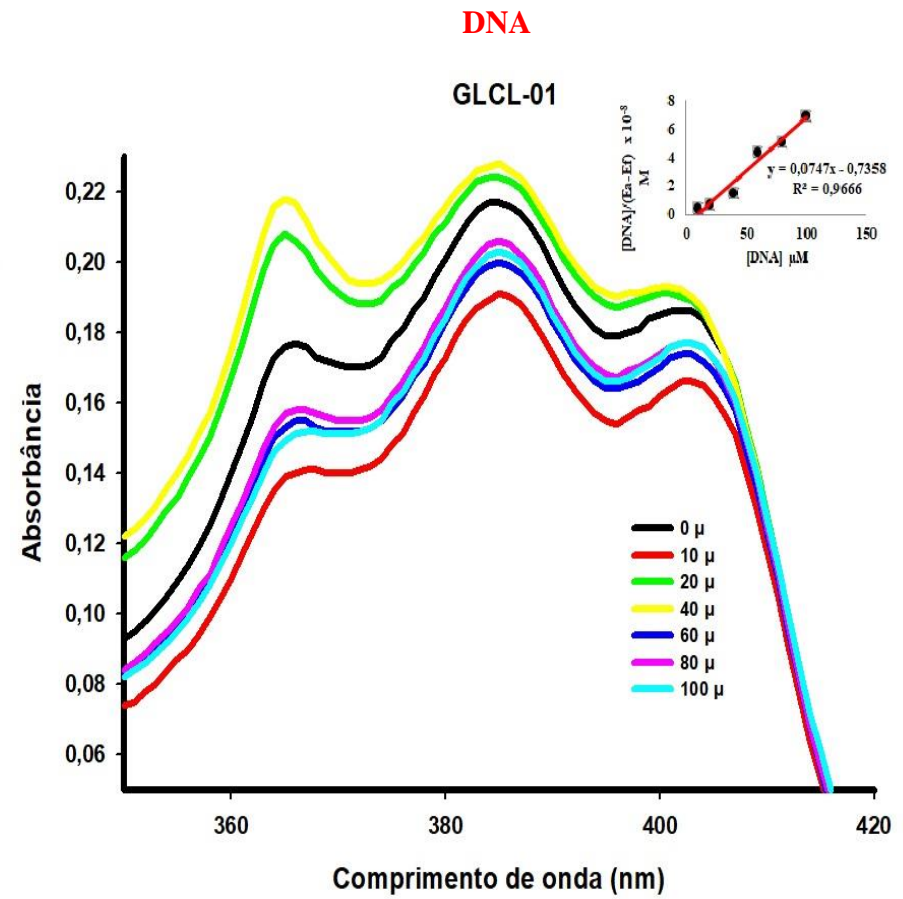
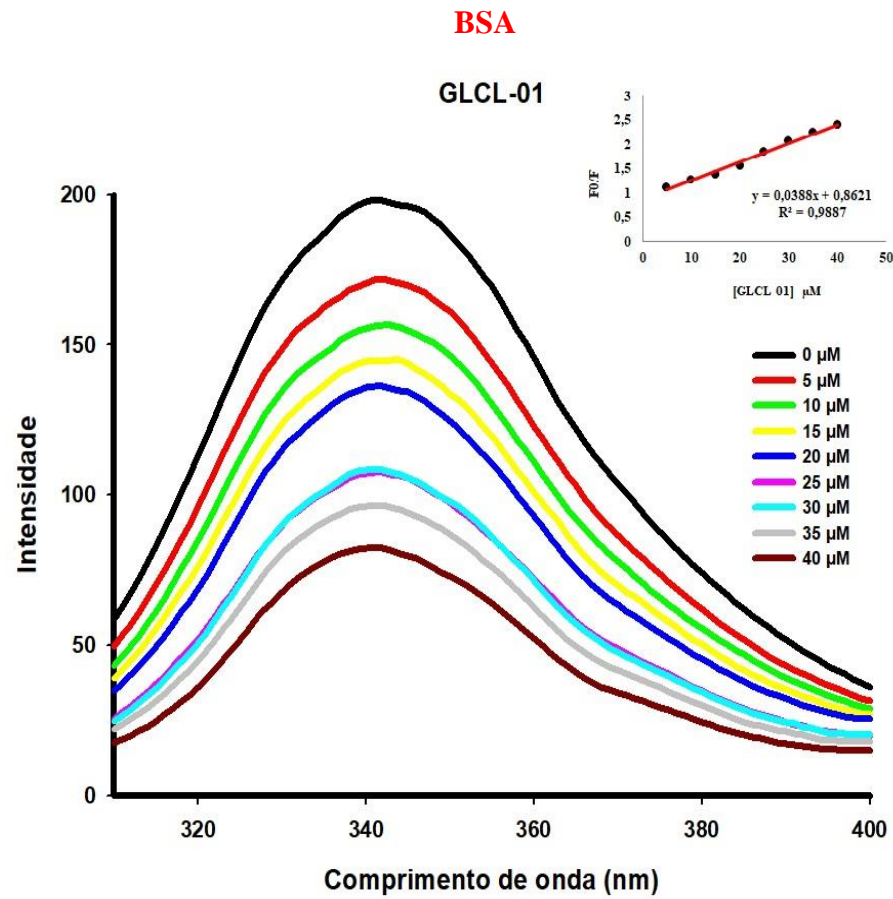




## APÊNDICE F.6 – Interação GLDL-06 com DNA e BSA

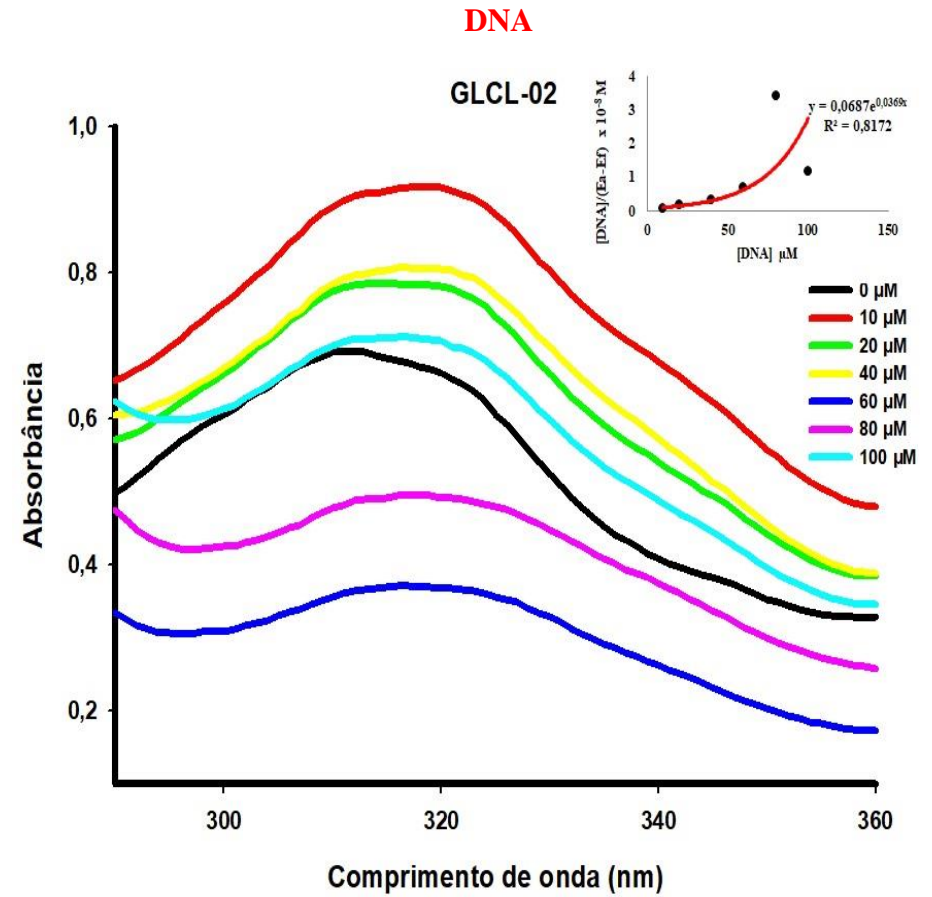
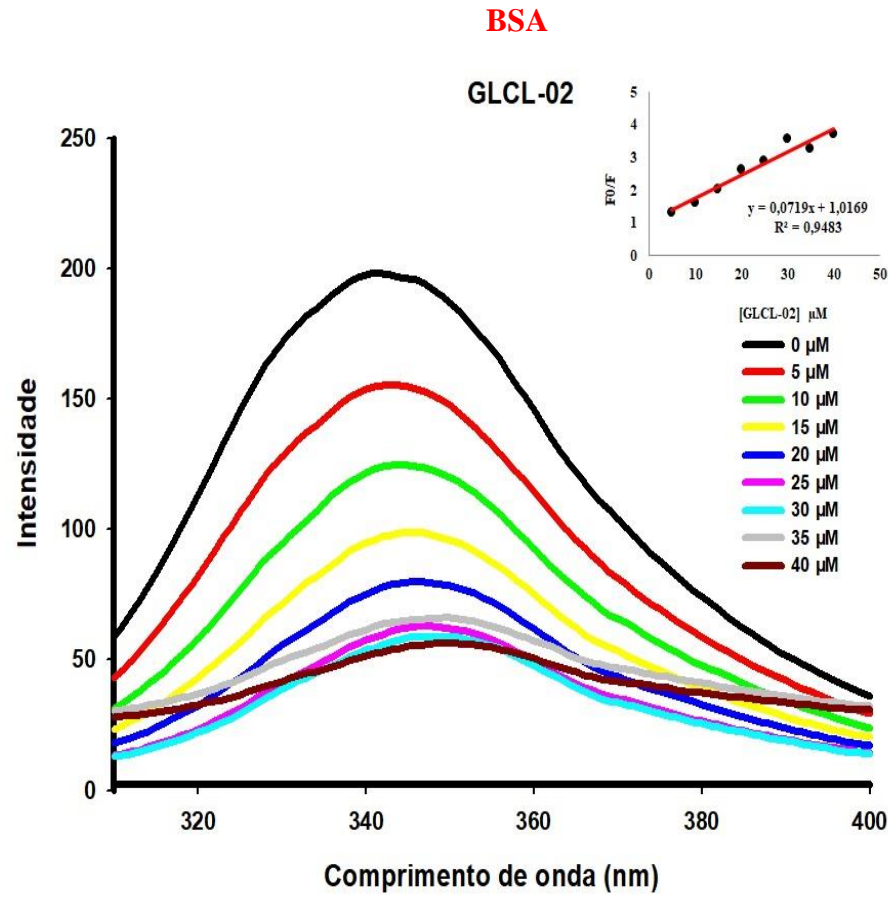


## APÊNDICE F.7 – Interação GLCL-01 com DNA e BSA

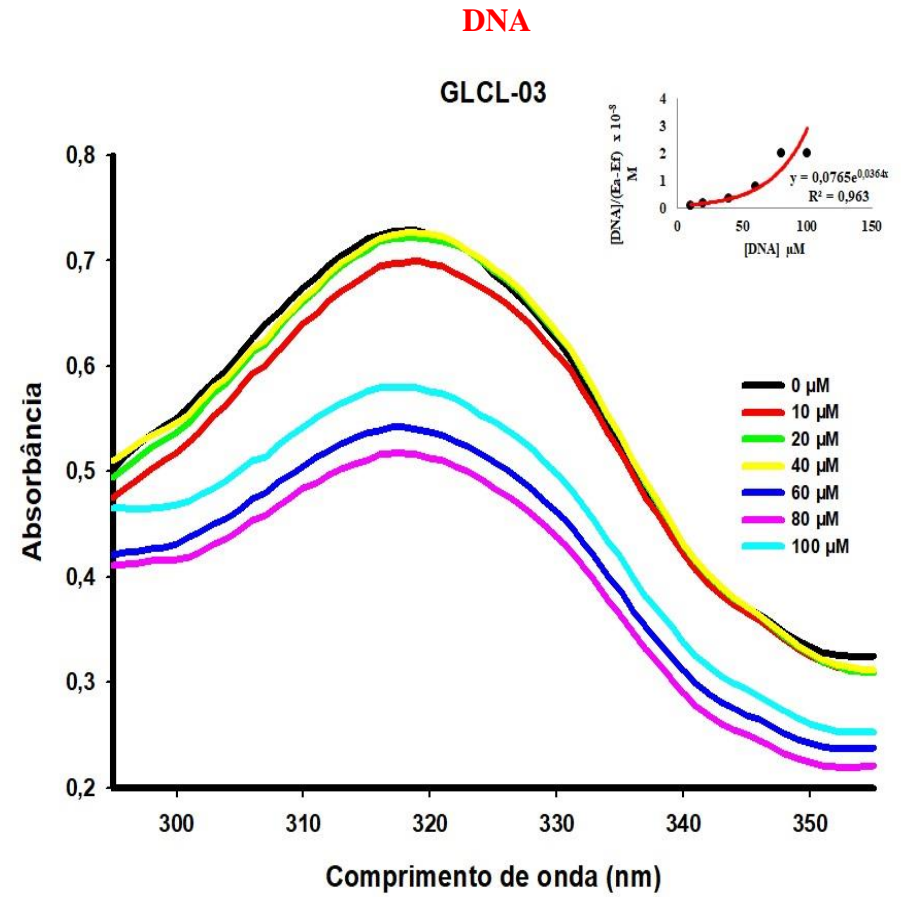
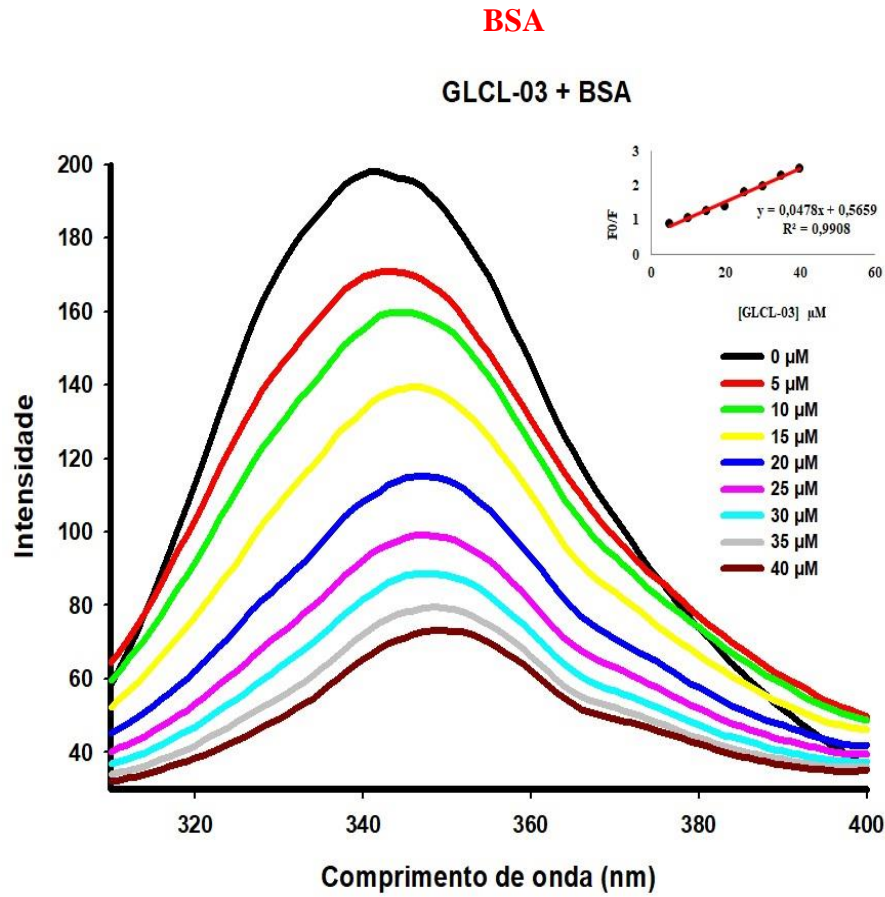




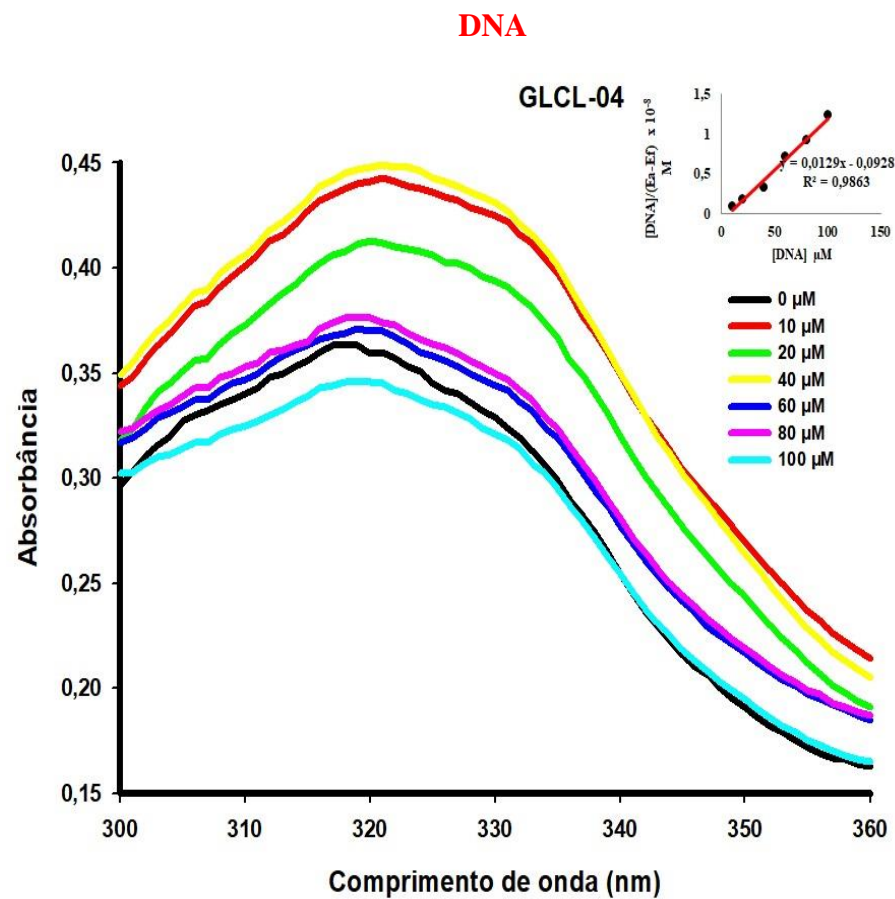
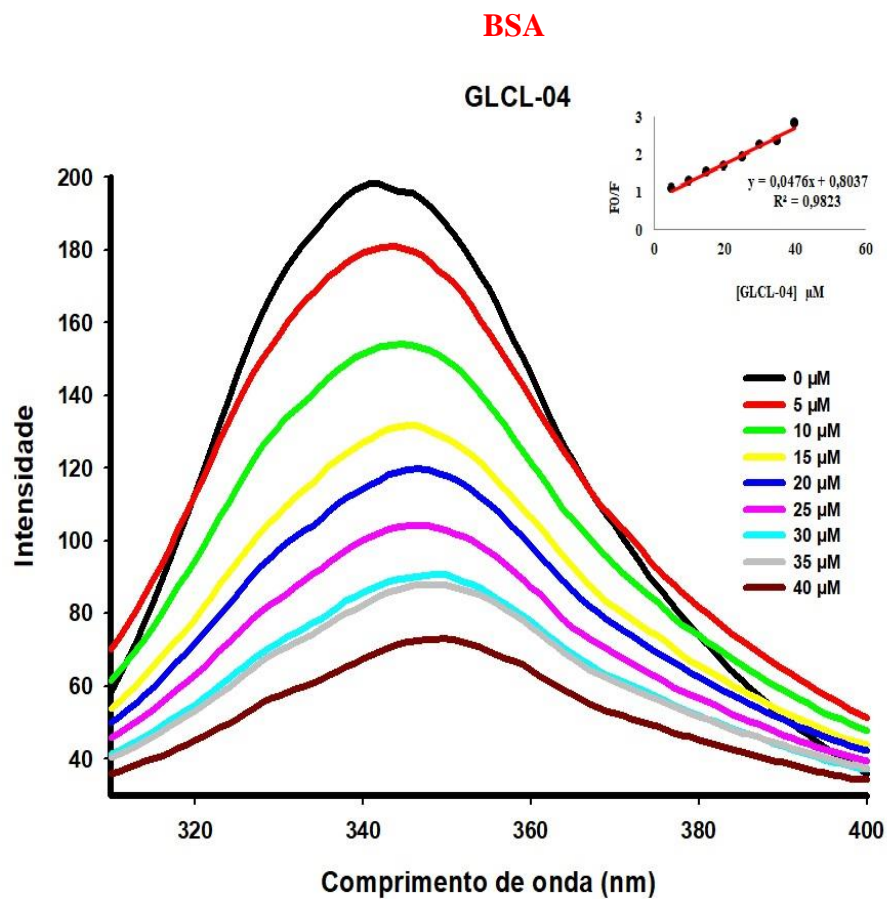
## APÊNDICE F.8 – Interação GLCL-02 com DNA e BSA



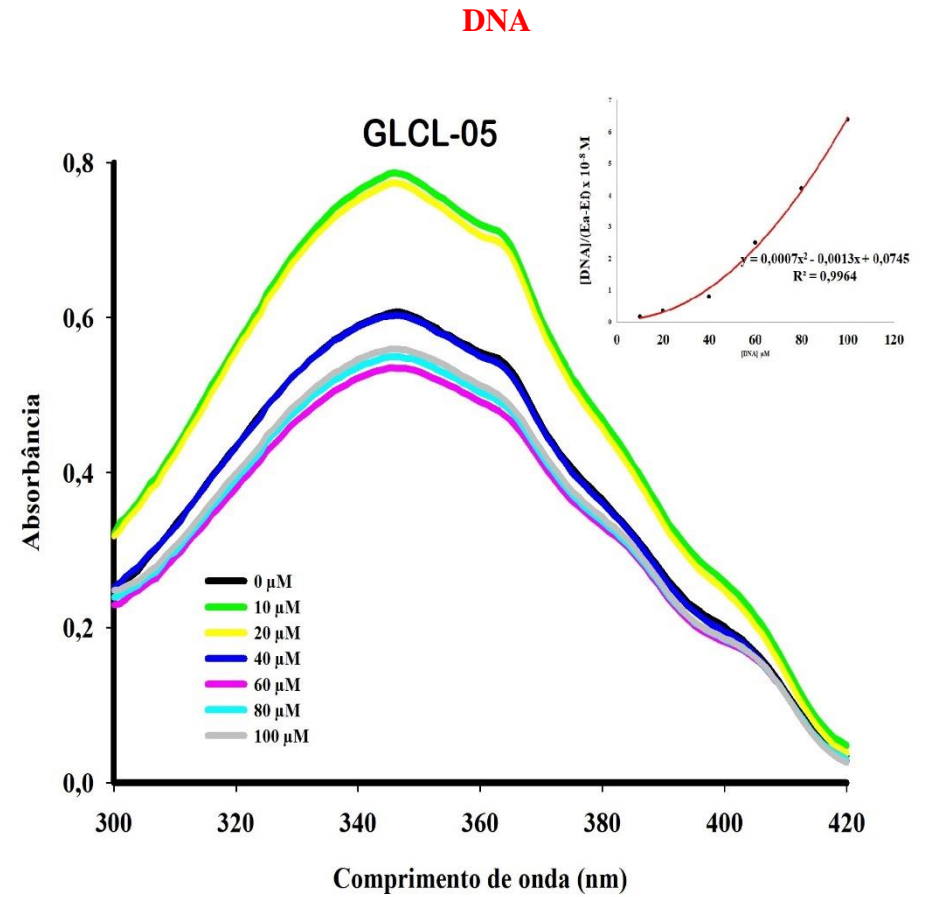
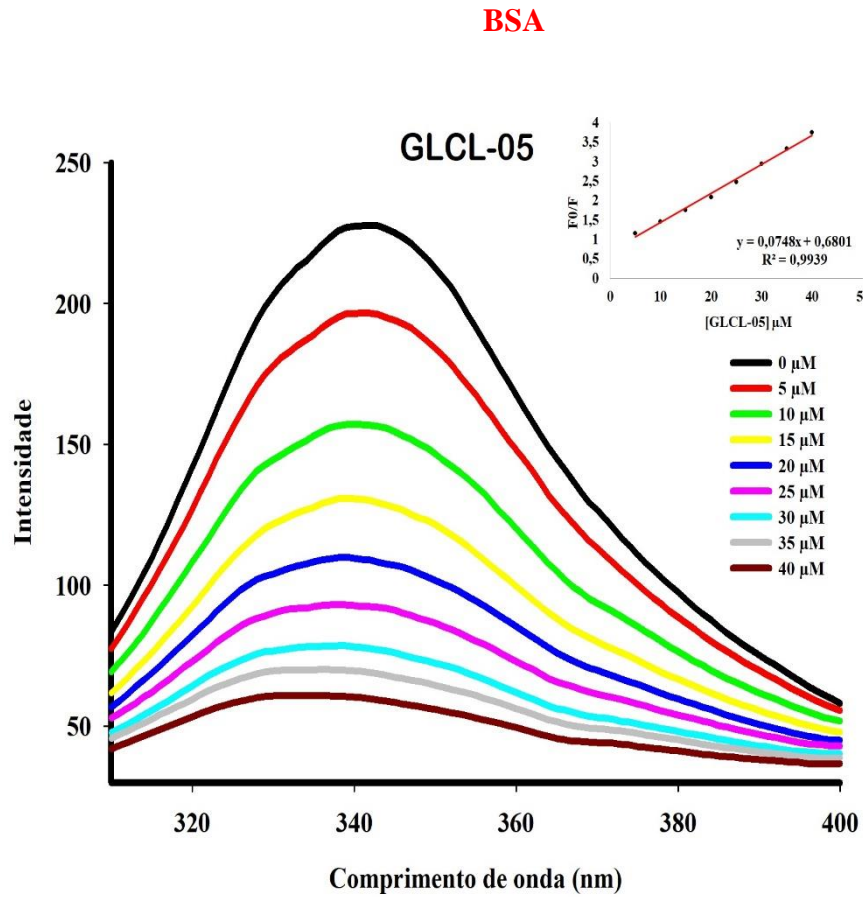
## APÊNDICE F.9 – Interação GLCL-03 com DNA e BSA



## APÊNDICE F.10 – Interação GLCL-04 com DNA e BSA



## APÊNDICE F.11 – Interação GLCL-05 com DNA e BSA





## APÊNDICE F.12 – Interação GLCL-06 com DNA e BSA

