



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
CURSO DE MESTRADO EM QUÍMICA**

RENATA JOYCE DINIZ SILVA

PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS N-FENILACRILAMIDAS E N-ACILIDRAZÔNICO UTILIZANDO FERRAMENTAS DA QUÍMICA MEDICINAL, E SUAS AVALIAÇÕES COMO POTENCIAIS AGENTES ANTI-INFLAMATÓRIOS.

**CAMPINA GRANDE
2023**

RENATA JOYCE DINIZ SILVA

PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS N-FENILACRILAMIDAS E N-ACILIDRAZÔNICO UTILIZANDO FERRAMENTAS DA QUÍMICA MEDICINAL, E SUAS AVALIAÇÕES COMO POTENCIAIS AGENTES ANTI-INFLAMATÓRIOS.

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

Área de concentração: Química Medicinal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura.
Coorientador: Prof. Dr. Igor José dos Santos Nascimento.

**CAMPINA GRANDE
2023**

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.

S586p Silva, Renata Joyce Diniz.
Planejamento e síntese de novos derivados *N-fenilacrilamidas* e *N-acilidrazônico* utilizando ferramentas da Química Medicinal, e suas avaliações como potenciais agentes anti-inflamatórios [manuscrito] / Renata Joyce Diniz Silva. - 2023.

129 p. : il. colorido.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2023.

"Orientação : Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS. "

"Coorientação: Prof. Dr. Igor José dos Santos Nascimento , Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Síntese orgânica. 2. Planejamento de fármacos. 3. Docking molecular. I. Título

21. ed. CDD 615.19

RENATA JOYCE DINIZ SILVA

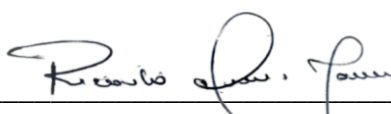
PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS N-FENILACETAMIDAS E N-ACILIDRAZÔNICO UTILIZANDO FERRAMENTAS DA QUÍMICA MEDICINAL COMO POTENCIAIS AGENTES ANTIINFLAMATÓRIOS.

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

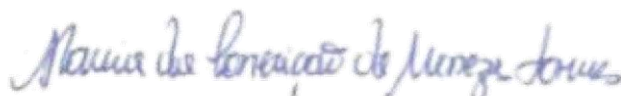
Área de concentração: Química Medicinal.

Aprovada em: 31/03/2023.

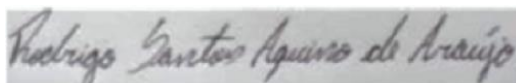
BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



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

A minha mãe Rosa Silva Diniz, por ter acreditado e me encorajado a prosseguir estudando, no momento em que eu mesma duvidei da minha própria capacidade, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Em princípio rendo graças a Deus, Pai soberano, onipotente, onipresente e onisciente, por me permitir aprender e obter conhecimento. Pois sei que a materialização de todos os meus objetivos somente se realiza por vossa amável vontade. Meu Pai Zambi, que o Senhor sempre possa alinhar meus planos da vida terrena com o Universo, pois a energia que circunda esse mundo depende da vossa soberania.

Ao Mestre Zé Pilintra que me direcionou a optar por concorrer a seleção do PPGQ-UEPB, sei que o senhor trabalha em prol da melhoria de seus filhos e filhas, assim como também sei que ter a oportunidade de ouvir seus conselhos é um privilégio imensurável para qualquer espírito em matéria. Estendo esses agradecimentos ao Mestre Boiadeiro, o qual se disponibilizou a alinhar minha vida espiritual para melhoria da vida emocional, o que me abriu horizontes e me fez acreditar na realização do tão sonhado mestrado. Aos órixas, mestres, mestras, exus, pombogiras e erês reconhecimento por toda força e influência positiva em minha vida.

A Rosa Silva Diniz, minha amada mãe, a qual foi responsável por eu não desistir no início dessa jornada, por sua ajuda psicológica, emocional e financeira. Por me abrir os olhos para entender que a oportunidade de cursar um mestrado, mesmo ser ter bolsa no primeiro momento, é um privilégio que não se possibilita a todos. E como acreditou e me disse, a bolsa chegará na hora certa. O que de fato, aconteceu. Agradeço pela oportunidade de ser sua filha nessa encarnação, por todo amor, carinho e conselhos, por sempre ouvir de sua boca que o caminho para filho de agricultor prosperar é por meio da educação. Por sua garra em criar seus filhos sozinha e nunca nos afastar dos estudos, mesmo com todas as dificuldades financeiras enfrentadas (in memoriam).

A minha irmã Regiane por todo incentivo e apoio, ao meu irmão Salvador por sempre me dizer para me acalmar com os estudos, e ao meu irmão Renato (in memoriam) pois sei que estarás feliz com minha conquista, apesar da distância que nos separa nesse momento. Aos meus sobrinhos Rebeca e Rivail que me alegram e revitalizam a minha alma quando chego cansada do laboratório. Os meus avós Zefinha e Vicente por demonstrarem sua felicidade por meu crescimento nos estudos, os quais não tiveram a oportunidade de estudar.

Ao meu orientador, Ricardo Olímpio, minha gratidão por ter aberto a porta de seu laboratório e me oportunizar a vivenciar a ciência na prática. Por sua generosidade, sabedoria e orientação. Pela humildade que carrega e pela coragem que repassa para seus alunos. Por sua maestria em ser professor construtor, além disso por ouvir e se permitir compreender as dificuldades alheias e encontrar soluções, pelo seu ombro amigo em meios as lágrimas desesperadas ao pensar em abandonar o mestrado quando o elo emocional estava abaladíssimo, por toda sua competência profissional e humana. Foi Deus quem o colocou em meu caminho.

A Igor José, meu coorientador, meus agradecimentos por sua disponibilidade em contribuir com os resultados obtidos, em seu empenho para possibilitar as análises de infravermelho e ressonância magnética nuclear, as quais foram primordiais para esse trabalho. Por sua prontidão em viabilizar parcerias entre as instituições: Universidade Estadual da Paraíba- UEPB, Laboratório de Desenvolvimento e Síntese de Fármacos (LDSF). Instituto Federal de Alagoas- IFAL, Departamento de Química. Universidade Federal de Alagoas- UFAL, Núcleo de Análise e Pesquisas em Ressonância Magnética Nuclear (NAPRMN).

Ao nosso grupo de pesquisa do laboratório LDSF, por toda contribuição, em especial, o meu amigo Jamire Muriel, o qual teve muita paciência para me ensinar sobre as abençoadas sínteses. Vossa benevolência em ajudar um marinheiro de primeira viagem a progredir na construção de conhecimento científico é plausível. De mesmo modo, Misael por todos os ensinamentos sobre docking.

Ao Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO), da UEPB, espaço físico em que foram realizadas as caracterizações térmicas deste trabalho. Na pessoa de Paulo, o técnico do laboratório que se dispõe em colaborar para sanar dúvidas, referentes as análises.

Por fim agradeço ao PPGQ, aos professores, a David por toda paciência e ajuda em todos os momentos, ao colegiado e a Capes, pois o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Se a ciência disse uma coisa e os meus escritos outra, jogue os meus escritos fora.”

Allan Kardec (Hippolyte Léon Denizard Rivail).

RESUMO

A busca por novos fármacos anti-inflamatórios eficazes que possam ser utilizados como alternativa aos já existentes no mercado, tem sido motivada pelos diversos efeitos colaterais causados pelo uso contínuo desses medicamentos. Neste contexto, a procura por novas entidades químicas com potencial ação anti-inflamatória tem sido constatada nos ambientes acadêmicos e indústria farmacêutica, principalmente aqueles que apresentam boa eficácia e seletividade, com baixa toxicidade e baixo custo de produção. Dentre essas novas entidades químicas destacamos os derivados *N*-acilidrazônicos e *N*-fenilacetamida que foram escolhidos por seus relatos em atividade anti-inflamatória. O objetivo desse estudo foi sintetizar, caracterizar e avaliar o perfil anti-inflamatório *in silico* de novos derivados *N*-fenilacetamida e *N*-acilidrazônicos baseados em estruturas de protótipos promissores JMPR e AMZ-BZ utilizados por nosso grupo de pesquisa. Para isso, foram sintetizados novos derivados a partir desses protótipos por meio de reações de amidação, seguidos de condensação utilizando condições reacionais adequadas, depois avaliadas suas propriedades físico-químicas. A caracterização estrutural dos compostos obtidos: A-07DZ, B-17DZ, C-27DZ e D-37DZ foi realizada por técnicas espectroscópicas de infravermelho e ressonância magnética nuclear, as quais viabilizaram a constatação da elucidação estrutural dos compostos planejados. Foram utilizadas as técnicas de planejamento de fármacos baseado em fragmentos (FBDD) e descoberta de drogas baseado em estrutura (SBDD), assim como as ferramentas de simplificação molecular e bioisosterismo não clássico. Todas as metodologias são bem descritas na literatura e as rotas sintéticas já conhecidas por nosso laboratório de pesquisa. O que possibilitou a síntese dessas novas quatro moléculas. Os dockings mostraram que as moléculas planejadas são promissoras frente a inibição do processo inflamatório, mostrando-se com maior afinidade com os ligantes co-cristalizados nas enzimas óxido nítrico sintase, enzima diidroorotato desidrogenase, enzima Fosfodiesterase 4B e enzima Prostaglandina E sintase, quando comparadas com os protótipos. Com destaque para a molécula B-17DZ, a qual foi indicada como um possível alvo promissor para o desenvolvimento de estudos envolvendo a avaliação de atividade anti-inflamatória (*in vitro* e *in vivo*) e teste de toxicidade *in vitro*, para prosseguimento de candidato a fármaco.

Palavras-chaves: síntese orgânica; planejamento de fármacos; docking molecular.

ABSTRACT

The search for new effective anti-inflammatory drugs that can be used as an alternative to those already on the market has been motivated by the various side effects caused by the continuous use of these drugs. In this context, the search for new chemical entities with potential anti-inflammatory action has been constant in academics and the pharmaceutical industry, especially those that present good efficacy and selectivity, with low toxicity and low production cost. Among these new chemical entities we highlight the N-acylhydrazonic and N-phenylacetamide derivatives that were chosen for their reports on anti-inflammatory activity. The aim of this study was to synthesize, characterize and evaluate the anti-inflammatory profile in silica of new N-phenylacetamide and N-acylhydrazone derivatives based on structures of promising prototypes JMPR and AMZ-BZ used by our research group. For this, new derivatives were synthesized from prototypes through amidation reactions, followed by condensation using adapted reaction conditions, after evaluating their physical-chemical properties. The structural characterization of the composite compounds: A-07DZ, B-17DZ, C-27DZ and D-37DZ was carried out by spectroscopic techniques of infrared and nuclear magnetic resonance, which allowed the verification of the structural elucidation of the planned compounds. Fragment-based drug design (FBDD) and structure-based drug discovery (SBDD) techniques were used, as well as molecular simplification tools and non-classical bioisosterism. All methodologies are well described in the literature and the synthetic routes already known by our research laboratory. What made possible the synthesis of these new four initiates. The unknown dockings that signalers are promising against the course of the inflammatory process, showing greater secretion with ligands co-crystallized in the enzymes nitric oxide synthase, enzyme dihydroorotate dehydrogenase, enzyme Phosphodiesterase 4B and enzyme Prostaglandin E synthase, when detected with the prototypes. With emphasis on the B-17DZ molecule, which was indicated as a possible promising target for the development of studies involving the evaluation of anti-inflammatory activity (in vitro and in vivo) and in vitro toxicity test, for the continuation of a candidate for drug.

Keywords: organic synthesis; drug planning; molecular docking

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Óxido Nítrico Sintase.....	25
Figura 2 Diidrorotato Desidrogenase.....	26
Figura 3 Fosfodiesterase 4B	27
Figura 4 Prostaglandina E Sintase	28
Figura 5 composto-protótipos JMPR e AMZ-BZ.....	34
Figura 6 - <i>N</i> -fenilacrilamida	34
Figura 7 Reação de Obtenção de derivado fenilacrilamida.....	35
Figura 8 Derivado Fenilacrilamida.....	35
Figura 9 Estrutura geral e estereoquímica de NAH.....	36
Figura 10 Reação de Obtenção de NAH.....	37
Figura 11 Derivados NAH	38
Figura 12 Delineamento da Pesquisa	39
Figura 13 Reações de Obtenção dos Intermediários	40
Figura 14 Reações Gerais para Obtenção dos Derivados	41
Figura 15 Composto A-07DZ.....	42
Figura 16 Composto B-17DZ.....	42
Figura 17 Composto C-27DZ	43
Figura 18 Composto D-37DZ	44
Figura 19 Mecanismo de Reação para Obtenção dos derivados <i>N</i> -fenilacetamida e <i>N</i> -acilidrazônico.....	49
Figura 20 Gráficos das Curvas TG/DTG e DTA	52
Figura 21 Espectro de IV do Composto A-07DZ.....	54
Figura 22 Espectro de RMN de ¹ H (DMSO) do Composto A-07DZ.....	55
Figura 23 Espectro de RMN de ¹³ C (DMSO, 150 MHz) do composto A-07DZ. 57	
Figura 24 Espectro de IV do Composto B-17DZ	58
Figura 25 Espectro de RMN ¹ H (DMSO, 600 MHz) do composto B-17DZ.....	59
Figura 26 Espectro de RMN ¹³ C (DMSO, 150 MHz) do Composto B-17DZ.....	60
Figura 27 Espectro de IV do Composto C-27DZ.....	61
Figura 28 Espectro de RMN ¹ H (DMSO, 600 MHz) do Composto C-27DZ.....	63
Figura 29 Espectro de RMN ¹³ C (DMSO, 150 MHz) do Composto C-27DZ.....	64
Figura 30 Espectro de IV do Composto D-37DZ.....	66
Figura 31 Espectro de RMN ¹ H (DMSO, 600 MHz) do Composto D-37DZ.....	67

Figura 32 Espectro de RMN ¹³ C (DMSO, 150 MHz) do Composto D-37DZ.....	68
Figura 33 Espectro de RMN-HMBC (DMSO, 150 x 600 MHz) do Composto D-37DZ	70
Figura 34 Redocking dos Ligantes	71
Figura 35 Docking da molécula B-17DZ com enzima oxido nítrico sintase	72
Figura 36 Docking do Ligante e da Molécula B-17DZ	74
Figura 37 Docking da Molécula D-37DZ	75
Figura 38 Docking do Ligante e da Molécula D-37DZ.....	76
Figura 39 Docking da Molécula A-07DZ.....	77
Figura 40 Docking do Ligante e da Molécula A-07DZ	78
Figura 41 Docking da molécula B-17DZ.....	79
Figura 42 Docking do Ligante co-cristalizado 755 e da Molécula B-17DZ	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Bioisósteros.....	32
Tabela 2 Caracterização Físico-Química dos derivados <i>N</i> -fenilacetamida	50
Tabela 3 Resultados Termogravimétricos e Análise Térmica Diferencial	51
Tabela 4 - Resultados de IV do composto A-07DZ	53
Tabela 5 Dados de RMN ¹ H (DMSO, 600 MHz) do Composto A-07DZ	55
Tabela 6 Dados de RMN de ¹³ C (DMSO, 150 MHz) do composto A-07DZ.....	55
Tabela 7 Resultados de IV do Composto B-17DZ.....	58
Tabela 8 Dados de RMN de ¹³ C (DMSO, 150 MHz) do Composto B-17DZ.....	59
Tabela 9 Resultados de IV do Composto C-27DZ	61
Tabela 10 Dados de RMN ¹ H (DMSO, 600 MHz) do Composto C-27DZ	62
Tabela 11 Dados de RMN ¹³ C (DMSO, 150 MHz) do Composto C-27DZ.....	63
Tabela 12 Resultados de IV do Composto D-37DZ	65
Tabela 13 Resultados ¹ H NMR do Composto D-37DZ.....	67
Tabela 14 Dados de RMN de ¹³ C (DMSO, 150 MHz) do Composto D-37DZ...	68
Tabela 15 Validação por Redocking.....	71
Tabela 16 Redocking do ligante co-cristalizado AR-C95791	72
Tabela 17 Ligante co-cristalizado 2V6	74
Tabela 18 Ligante Roflumilast.....	76
Tabela 19 Ligante co-cristalizado 755.....	78

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos específicos	19
3 REFERENCIAL	20
3.1 Inflamação: aspectos gerais	20
3.2 Incidência de inflamação no mundo	21
3.3 Terapêutica anti-inflamatória	22
3.3.1 Opções de tratamentos farmacológicos	22
3.3.2 Efeitos colaterais de compostos anti-inflamatórios	23
3.4 Importantes alvos terapêuticos envolvidos no processo inflamatório	24
3.4.1 Enzima óxido nítrico sintase (NOS)	24
3.4.2 Enzima diidroorotato desidrogenase (DHODH)	25
3.4.3 Enzima fosfodiesterase 4B (PDE4B)	27
3.4.4 Enzima prostaglandinas E sintase (PGES)	27
3.5 Planejamento de fármacos com ação anti-inflamatória	28
3.5.1 Planejamento de fármacos baseado em fragmentos (FBDD)	29
3.5.2 Descoberta de drogas baseado em estrutura (SBDD)	30
3.5.3 Estratégia de modificação molecular: bioisosterismo	31
3.5.4 Docking molecular	33
3.6 Derivados N-fenilacrilamidas e N-acilhidrazônicos	34
3.6.1 Derivados N-fenilacrilamidas	34
3.6.2 Derivados N-acilhidrazônicos	35
4 METODOLOGIA	39
4.1 Delineamento da pesquisa	39
4.2 Metodologia de síntese	40
4.2.1 Descrição geral para obtenção dos compostos	40
4.2.2 Metodologia de síntese do composto A-07DZ	41
4.2.3 Metodologia de síntese do composto B-17DZ	42
4.2.4 Metodologia de síntese do composto C-27DZ	43
4.2.5 Metodologia de síntese do composto D-37DZ	43
4.2.6 Metodologia de purificação dos compostos sintetizados	44
4.3 Caracterização físico-química	45

4.3.1 Ponto de Fusão.....	45
4.3.2 Cromatografia	45
4.3.3 Utilização de Programas Computacionais	45
4.4 Caracterização térmica.....	45
4.5 Elucidação estrutural.....	46
4.5.1 Espectroscopia de Infravermelho	46
4.5.2 Ressonância Magnética Nuclear	46
4.6 Metodologia de <i>docking</i>	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	48
5.1 Síntese	48
5.2 Caracterização físico-química dos derivados N-fenilacrilamida e do derivado N-acilhidrazônicos	50
5.3 Caracterização térmica.....	50
5.4 Elucidação estrutural.....	53
5.4.1. Comprovação estrutural do derivado (E)-N-(4-clorofenil) -2-ciano-3-fenilacrilamida (A-07DZ).....	53
5.4.2 Comprovação estrutural do derivado (E)-N,3-bis(4-clorofenil) -2-cianolacrilamida (B-17DZ).....	57
5.4.3 Comprovação estrutural do derivado (E)-3-(4-clorofenil) -2-ciano-N-fenilacrilamida (C-27DZ).....	60
5.4.4 Comprovação estrutural do derivado (2E, N'E) -N'-(4-clorobenzilideno) -2-ciano-N-fenilacrilohidrazida (D-37DZ).....	65
5.5 Docking molecular	70
5.5.1 Validação da metodologia por redocking.....	70
5.5.2 Enzima óxido nítrico sintase (PDB ID: 3E7G).....	71
5.5.3 Enzima diidroorotato desidrogenase (PDB ID: 4OQV).....	74
5.5.4 Enzima fosfodiesterase 4B (PDB ID: 1XMU).....	76
5.5.5 Enzima prostaglandina E sintase (PDB ID: 5T36).....	78
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
REFERÊNCIAS	83
APÊNDICE A - <i>Docking</i> molecular: interação JMPR com 3E7G	90
APÊNDICE B - <i>Docking</i> molecular: interação A-07DZ com 3E7G.....	91
APÊNDICE C - <i>Docking</i> molecular: interação B-17DZ com 3E7G.....	92
APÊNDICE D - <i>Docking</i> molecular: interação C-27DZ com 3E7G.....	93
APÊNDICE E - <i>Docking</i> molecular: interação AMZBZ com 3E7G	94
APÊNDICE F - <i>Docking</i> molecular: interação D-37DZ com 3E7G	95
APÊNDICE G - <i>Docking</i> molecular: interação JMPR com 4OQV	96

APÊNDICE H - <i>Docking</i> molecular: interação A-07DZ com 4OQV	97
APÊNDICE I - <i>Docking</i> molecular: interação B-17DZ com 4OQV	98
APÊNDICE J - <i>Docking</i> molecular: interação C-27DZ com 4OQV	99
APÊNDICE K - <i>Docking</i> molecular: interação AMZ-BZ com 4OQV	100
APÊNDICE L - <i>Docking</i> molecular: interação D-37DZ com 4OQV	101
APÊNDICE M - <i>Docking</i> molecular: interação JMPR com 1XMU	102
APÊNDICE N - <i>Docking</i> molecular: interação A-07DZ com 1XMU	103
APÊNDICE O - <i>Docking</i> molecular: interação B-17DZ com 1XMU.....	104
APÊNDICE P - <i>Docking</i> molecular: interação C-27DZ com 1XMU	105
APÊNDICE Q - <i>Docking</i> molecular: interação AMZ-BZ com 1XMU ...	106
APÊNDICE R - <i>Docking</i> molecular: interação D-37DZ com 1XMU	107
APÊNDICE S - <i>Docking</i> molecular: interação JMPR com 5T36.....	108
APÊNDICE T - <i>Docking</i> molecular: interação A-07DZ com 5T36	109
APÊNDICE U - <i>Docking</i> molecular: interação B-17DZ com 5T36.....	110
APÊNDICE V - <i>Docking</i> molecular: interação C-27DZ com 5T36.....	111
APÊNDICE W - <i>Docking</i> molecular: interação AMZ-BZ com 5T36.....	112
APÊNDICE X - <i>Docking</i> molecular: interação D-37DZ com 5T36.....	113
APÊNDICE Y- ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹ H DA MOLÉCULA A-07DZ (EXPANDIDO).....	114
APÊNDICE Z - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹ H DA MOLÉCULA A-07DZ (DETALHES).....	115
APÊNDICE AA - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹³ C DA MOLÉCULA A-07DZ.....	115
APÊNDICE BB - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹ H DA MOLÉCULA B-17DZ (EXPANDIDO).....	117
APÊNDICE CC - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹ H DA MOLÉCULA B-17DZ (DETALHES).....	118
APÊNDICE DD - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹³ C DA MOLÉCULA B-17DZ.....	118
APÊNDICE EE - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹ H DA MOLÉCULA C-27DZ (EXPANDIDO).....	120
APÊNDICE FF - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹ H DA MOLÉCULA C-27DZ.....	121
APÊNDICE GG - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹³ C DA MOLÉCULA C-27DZ	122
APÊNDICE HH - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹ H DA MOLÉCULA D-37DZ (EXPANDIDO).....	123
APÊNDICE II - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹³ C DA MOLÉCULA D-37DZ (DETALHES)	124

APÊNDICE JJ - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹³C DA MOLÉCULA D-37DZ.....	125
ANEXO A - GRÁFICOS DE TG/DTG E DTA DO DERIVADO A-07DZ...	126
ANEXO B - GRÁFICOS DE TG/DTG E DTA DO DERIVADO B-17DZ...	127
ANEXO C - GRÁFICOS DE TG/DTG E DTA DO DERIVADO C-27DZ...	128
ANEXO D - GRÁFICOS DE TG/DTG E DTA DO DERIVADO D-37DZ...	129

1 INTRODUÇÃO

Inflamação é uma palavra que deriva do latim “Inflammo”. Significa eu queimei, acendo ou pego fogo. No conceito unani a inflamação (Waran) refere-se a qualquer inchaço anormal causado devido ao acúmulo de sangue, pus e água. As características da inflamação são: dor, calor, inchaço e perda da função da parte do corpo afetada. (RAHMAN E JAHAN, 2021; SHARMA et al, 2020; CAI et al, 2021).

Ademais, a inflamação está relacionada a muitas doenças, tais como a obesidade, a depressão e o câncer, que afetam a população mundial, tendo como principais tratamentos o uso de medicamentos esteroidais (SAIDs) e não esteroidais (NSAIDs), os quais acarretam efeitos indesejáveis e colaterais (MAO et al, 2021), tais como distúrbios gastrointestinais, cardiovasculares e metabólitos. O que gera a necessidade de desenvolvimento de novas moléculas que dissipem essas adversidades ocorridas nos tratamentos disponíveis na atualidade, oportunizando melhorias para as pessoas que se enquadrem como pacientes acometidos por doenças inflamatórias.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, as doenças inflamatórias são as principais causas de morte no mundo (SILVA et al., 2020). A inflamação está relacionada com doenças respiratórias como a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, a asma, o câncer de pulmão, e com a COVID-19, a epidemia que deixou milhares de mortos no Brasil e no mundo.

Segundo Amaral et al (2017) a química medicinal avançou significativamente nos últimos 40 anos. Nesse período, surgiram novas doenças e descobriu-se fármacos inovadores para o tratamento de enfermidades que até então causavam altas taxas de mortalidade ou debilitavam as populações, com graves consequências ao bem-estar e economia das nações.

De acordo com Andrade, Kümmerle e Guido (2018) no século XXI, muitos serão os desafios que os químicos medicinais terão de enfrentar e superar para melhorar a qualidade de vida das populações. Os desafios consistem em doenças infecciosas e não-comunicáveis que estão surgindo. E, para compreendê-las e combatê-las, tecnologias inovadoras deverão ser desenvolvidas.

Entre avanços que se mostraram essenciais para a descoberta e desenvolvimento de novos fármacos destacam-se: i. a obtenção dos princípios ativos extraídos de produtos naturais, ii. o estabelecimento de rotas sintéticas de alta eficiência, iii. a melhor compreensão dos processos fisiopatológicos, iv. o estabelecimento de métodos biotecnológicos, v. a elucidação das estruturas

3D de pequenas e macromoléculas, e vi. o desenvolvimento de métodos computacionais que auxiliam a predição de propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas (ANDRADE, KÜMMERLE E GUIDO, 2018 p.481).

Dentro dessa perspectiva evidencia-se a importância de estudar a criação de novos candidatos a fármacos, os quais destacamos novas moléculas que contenham em sua estrutura as porções *N*-fenilacetamida e *N*-acilhidrazona em virtude de potenciais utilizações, por se ter a versatilidade de atuar em diversas classes farmacêuticas. Com destaque para a atividade anti-inflamatória como mostrado nos trabalhos de Meira et al., (2018), Gu et al., (2019), Silva (2020) e Ramos et al., (2022). Nos quais os núcleos dessas classes de compostos foram capazes de inibir o processo inflamatório.

Nesse sentido este estudo desenvolveu-se com a finalidade de analisar e sintetizar novas moléculas a partir de protótipos já produzidos por nosso grupo de pesquisa, para estudos posteriores referentes a suas ações anti-inflamatórias. Nesse estudo, destaca-se o JMPR (*E*)-2-ciano-*N*,3-difenilacrilamida e o AMZ-BZ (2*E*,*N'**E*)-*N'*-benzilideno-2-ciano-3-fenilacrilohidrazida os quais foram sintetizados e avaliados quanto sua potencial atividade anti-inflamatória com resultados satisfatórios. (SILVA, 2019; SILVA, 2020)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Planejar, sintetizar, caracterizar e avaliar o perfil anti-inflamatório *in silico* de novos derivados *N*-fenilacrilamida e *N*-acilidrazônico baseado nas estruturas de protótipos promissores utilizados por nosso grupo de pesquisa.

2.2 Objetivos específicos

- Planejar as moléculas utilizando os *scaffolds*, já promissores do nosso grupo de pesquisa (JMPR e AMZ-BZ);
- Sintetizar os novos derivados *N*-fenilacetamida e *N*-acilidrazônico;
- Determinar as características físico-químicas dos compostos sintetizados;
- Comprovar as estruturas das moléculas utilizando as técnicas espectroscópicas de infravermelho e ressonância magnética nuclear.
- Realizar estudos de *docking* molecular em diferentes alvos para inflamação;
- Apontar um possível alvo promissor para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos.

3 REFERENCIAL

3.1 Inflamação: aspectos gerais

A inflamação é definida como uma resposta protetora local para propiciar a reparação tecidual contra lesões ou infecções causadas devido a qualquer agente, como antígenos estranhos, patógenos, produtos químicos, agentes microbianos, infecções ou doenças autoimunes. Sendo a resposta inicial do sistema imunológico frente a lesões e infecções prejudiciais, ocorrendo como um sistema de defesa fisiológica, resultando no recrutamento de células imunes inflamatórias e inatas para o local lesionado ou inflamado visando a auto recuperação do organismo por meio de células do sistema imunológico. (RAHMAN e JAHAN, 2021; SHARMA et al., 2020; CAI et al., 2021; MAO et al., 2021; LI et al., 2021).

Se trata de um processo adaptativo e evolutivamente conservado. Sendo uma conexão bastante complicada de eventos celulares e moleculares, no qual uma infinidade de mediadores pré-formados ou recém-sintetizados é elegantemente organizado para obter respostas temporais e espaciais específicas. É geralmente uma resposta generalizada a distúrbios na homeostase do tecido devido a lesão tecidual ou contaminantes que envolvem a ativação da imunidade inata e adaptativa (PATIL e PATIL, 2017; ZHANG et al., 2021; DOLSEN, 2019; CHIURCHIÚ, LEUTI, MACCARRONE, 2018; SAHA et al., 2020).

Pela produção de várias quimiocinas, citocinas e fatores de crescimento, as respostas inflamatórias podem recrutar células de defesa, incluindo neutrófilos, monócitos e macrófagos, para eliminar estímulos e facilitar a sobrevivência das células hospedeiras onde uma série de mediadores pró-inflamatórios chaves servem como biomarcadores de inflamação, dentre eles destacamos, interleucina (IL)-6, IL-1 β e fator de necrose tumoral-(TNF)- α , como os mais importantes (MAO et al., 2020; ZHANG et al., 2021).

Nas respostas inflamatórias agudas ocorre a liberação de mensageiros químicos (citocinas e quimiocinas) e mediadores lipídicos pró-inflamatórios, como as prostaglandinas (PGs) e leucotrienos (LTs). Seguido da quimiotaxia e recrutamento de neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) e pelo acúmulo de macrófagos derivados de monócitos que desencadeiam e sustentam a reação tecidual inflamatória local ou sistêmica. Nesse processo inicial também ocorrem reações celulares que estimulam mediadores especializados em pró-resolução (SPMs) derivados de ácidos graxos

poliinsaturados ômega-3, que promovem a resolução da inflamação (ABDOLMALEKI et al., 2018).

No primeiro momento do processo inflamatório células imunes inatas, como granulócitos e monócitos/macrófagos, são recrutadas para o local danificado e rapidamente geram eicosanóides clássicos, a classe de mediadores lipídicos responsável pela inflamação aguda. Posteriormente, ocorre o processo de “resolução da inflamação”, no qual os eicosanóides clássicos, sofrem uma mudança de classe de mediadores lipídicos temporais para produzirem lipídios bioativos, os mediadores especializados em pró-resolução (SPMs) recém-descobertos. Esses lipídios terminam ativamente a inflamação e conduzem a restauração da homeostase total do tecido, ativando os sinais de resolução: remoção, alívio, restauração, regeneração e remissão. A inflamação crônica é decorrente da má resolução (CHIURCHIÚ, LEUTI, MACCARRONE, 2018).

A inflamação ocorre exercendo mecanismos de proteção contra estimulação externa e dano tecidual sendo uma reação defensiva de múltiplos processos fisiológicos e patológicos. Os mediadores inflamatórios, como interleucina-1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral α (TNF- α), óxido nítrico (NO) e prostaglandina E2 (PGE2) são estimulados e liberados na fase aguda ou crônica. No primeiro momento da cascata inflamatória ocorre a ativação do sistema imunológico estimulado pelas respostas inflamatórias e regulado pelo fator nuclear Kappa B (NF- κ B), em seguida, ocorre a liberação maciça de citocinas inflamatórias, quimiocinas e moléculas de adesão, o que colabora para alterações patológicas em órgãos ou tecidos, resultando em inflamação crônica intratável (KUNNUMAKKARA et al., 2020; PATIL et al., 2020; ZARRIN et al., 2020; BAI et al., 2021).

3.2 Incidência de inflamação no mundo

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças inflamatórias constituem o maior perigo para a vida humana. Sendo as principais causas de morte no mundo, estimando-se que se tornem mais proeminentes nos próximos 30 anos nos Estados Unidos (SILVA et al., 2020).

Entre as doenças que envolve processos inflamatórios pode-se destacar a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), que afeta mais de 200 milhões de pessoas em todo o mundo, com aproximadamente 65 milhões de indivíduos sofrendo de formas moderadas ou graves da doença. Estima-se que a poluição do ar seja

responsável por mais de 6 milhões de mortes prematuras a cada ano no mundo, sendo que 4 milhões delas se devem a doenças respiratórias crônicas, como a DPOC, além do câncer de pulmão (ASANOV et al., 2021).

Conforme a Organização Mundial da Saúde (2019), nesse citado ano a asma afetou 262 milhões de pessoas, causando 46.000 mortes. Sendo seus sintomas causados pela inflamação e estreitamento dos alvéolos pulmonares sendo considerada a doença crônica mais comum entre as crianças, atingindo também os adultos. Tendo a maioria dos óbitos ocorridos em relação a essa doença, nos países de rendas baixa e média.

Ahmad e colaboradores (2021), descreve a relação da inflamação com doenças respiratórias como a DPOC, asma e câncer, sendo também analisado o papel inflamatório da doença COVID-19. A persistência da inflamação pode exacerbar insultos secundários e também aumentar a suscetibilidade a lesões e infecções causadas por microrganismos (bactérias e vírus como SARS-CoV-2). Como se sabe essa foi uma doença pandêmica que afetou toda a população global em um espaço de tempo muito rápido, a qual afeta principalmente o trato respiratório. Vários estudos indicaram que o SARS-CoV-2, causa lesão predominantemente por desregulação imunológica do hospedeiro, aumento da inflamação levando à gravidade da doença, resultando em alta taxa de hospitalizações e mortalidade (AHMAD et al., 2021).

3.3 Terapêutica anti-inflamatória

3.3.1 Opções de tratamentos farmacológicos

De acordo com Patil et al (2019) na prática clínica tradicional são utilizadas drogas esteróides ou não esteróides no manejo de doenças inflamatórias. Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são utilizados para reduzir as consequências indesejáveis da inflamação, inibindo as etapas iniciais da biossíntese de prostaglandinas por meio da inibição da ciclooxigenase (COX).

Segundo Panchal e Sabina (2023) os anti-inflamatórios não esteroides são uma variedade de medicamentos não opioides, que se caracterizam por suas propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas. Sendo utilizados para tratamento dos distúrbios da dor aguda e crônica característicos da inflamação. Devido a sua venda sem prescrição médica estima-se que são consumidos por 30 milhões de pessoas

diariamente, em contrapartida a prescrição representa 5% dos medicamentos prescritos globalmente.

Os anti-inflamatórios esteroidais, também chamados corticosteroides atuam no controle da inflamação, sendo seus efeitos predominantes de desligar os genes inflamatórios que foram ativados durante o processo inflamatórios. Atuam inibindo a ação da fosfolipase-A2, a liberação de ácido araquidônico, oportunizando a diminuição de substâncias vasoativas, como leucotrienos e prostaglandinas (CANELLAS, RITTO e TIWANA, 2022).

3.3.2 Efeitos colaterais de compostos anti-inflamatórios

O uso prolongado de drogas não esteroidais se associa a toxicidades gastrointestinais, cardiovasculares e renais. Assim como o uso de corticosteroides ocasiona hipertensão, hiperglicemia e osteoporose. A toxicidade é um dos grandes problemas das atuais drogas disponíveis para tratar a inflamação (PATIL, et al., 2019).

Várias investigações farmacoepidemiológicas demonstraram que esse tipo de medicamento pode ser uma das causas da crescente escalada tóxica. Além de toxicidade, o uso prolongado de drogas esteroidais estão envolvidos na causa de eventos cardiovasculares adversos, juntamente com um risco aumentado de eventos aterotrombótico, assim como nefrotoxicidade que eventualmente leva à insuficiência renal (PANCHAL e SABINA, 2023).

Conforme Klomjit e Ungprasert (2022), dentre os efeitos adversos comuns causados pelos AINES destacam-se: úlceras gastrointestinais, toxicidade cardíaca, diátese hemorrágica, reação alérgica e complicações renais, sendo a lesão renal aguda a mais comum. Além disso, podem surgir manifestações renais como hipertensão edema, hiponatremia, hipercalemia, síndrome nefrótica, necrose papilar e nefrite intersticial. Assim como a lesão renal crônica, a qual foi demonstrada em vários estudos que está relacionada a exposição a altas doses de drogas não esteroidais.

Segundo Zhang et al (2022) os anti-inflamatórios não-esteroides para o tratamento de doenças inflamatórias são utilizados para diminuir a produção de prostaglandinas (PGs). Entretanto, a utilização dos AINES causa efeitos colaterais intestinais e cardiovasculares. Dentre as prostaglandinas (PGs) fisiológicas, podemos citar: PGE₂ fisiológica, tromboxano A₂ (TXA₂), prostaglandina D₂ (PGD₂), prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) e prostaglandina I₂ (PGI₂). Como, por exemplo,

o celecoxib, um inibidor COX-2 específico dos AINEs, que diminui a produção dessas prostaglandinas, porém aumenta a probabilidade de trombose cardiovascular, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral enquanto reduz os níveis de PGE_2 e TXA_2 . Já a aspirina, inibidor não seletivo da COX, em altas doses inibe a COX/ TXA_2 , o que pode causar sangramento gastrointestinal.

Os corticosteroides sistêmicos são drogas destinadas a imitar os esteroides naturais produzidos pelas glândulas supra-renais. No entanto, ocorre muitos efeitos adversos a depender da dosagem utilizada por cada paciente, podendo desaparecer após descontinuação do uso da medicação. Dentre esses efeitos os autores destacam: risco cardiovascular, complicações em pacientes asmáticos, corticofobia, síndrome de Cushing, hiperglicemia, infecção, pneumonia por *Pneumocystis* (PCP), aspergilose pulmonar, nocardiose pulmonar, gravidade do COVID-19, estreptocidíase, problemas oculares, osteoporose, pancreatite e redução da função cognitiva (SAMUEL, et al; 2021).

3.4 Importantes alvos terapêuticos envolvidos no processo inflamatório

3.4.1 Enzima óxido nítrico sintase (NOS)

O óxido nítrico é uma molécula sinalizadora que desempenha um papel fundamental na inflamação, sua ação pode ser citotóxica ou reguladora, sendo determinada de acordo com a magnitude de duração de sua produção. Tem efeito anti-inflamatório em condições regulatórias, quando atua na resposta imune através da ativação do fator de necrose tumoral α e pela liberação de macrófagos mediados por citocinas. Em contrapartida, o óxido nítrico é considerado um mediador pró-inflamatório que induz a inflamação devido à sua superprodução em situações citotóxicas (ABDELMALEK, et al., 2021).

De acordo com Zhang et al (2019) o inibidor seletivo de óxido nítrico sintase (NOS), figura 1, deve receber atenção especial para o tratamento da inflamação. Pois a secreção excessiva de citocinas inflamatórias, como óxido nítrico é uma das principais causas de inflamação. O que mostra a necessidade de controlar a produção dessa citocina para controlar a inflamação. Além disso, os autores destacam que o NOS é um dos principais alvos na pesquisa e tratamento de inflamação atual.

Figura 1 - Óxido Nítrico Sintase



Fonte: Protein Data Bank (PDB ID: 3E7G)

Segundo Xia et al (2022) múltiplas doenças inflamatórias são ocasionadas devido a resposta inflamatória descontrolada causada em vias de expressão de enzimas pró-inflamatória como a sintase de óxido nítrico induzível (iNOS) que catalisa a produção excessiva de óxido nítrico e citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral e interleucinas causando danos celulares que induzem respostas inflamatórias no fator nuclear κ B (NF- κ B).

A inibição da produção excessiva de óxido nítrico pode ser um novo enfoque para controlar a inflamação, visto que pode resultar da sintase de óxido nítrico induzível (iNOS), o qual origina neuro inflamações descontroladas capazes de gerar doenças neurodegenerativas, por exemplo (KOU, et al., 2021).

3.4.2 Enzima diidroorotato desidrogenase (DHODH)

De acordo com Hayek et al (2020) a identificação de novos inibidores de DHODH (figura 2) com propriedades químicas e farmacológicas originais tornou-se uma prioridade para superar as limitações das moléculas existentes, as quais em estudos anteriores mostraram efeitos indesejados e adversos, visto que a inibição dessa enzima já mostrou resultados positivos no tratamento de doenças como artrite reumatoide e esclerose múltipla, assim como em alguns tipos de cânceres, o que fortalece a busca por novas moléculas ou modificações em moléculas já existentes que melhorem as suas capacidades de inibição.

Figura 2 - Diidrorotato Desidrogenase

Fonte: Protein Data Bank (PDB ID: 4OQV)

De acordo com Hayek et al (2020) a identificação de novos inibidores de DHODH (figura 2) com propriedades químicas e farmacológicas originais tornou-se uma prioridade para superar as limitações das moléculas existentes, as quais em estudos anteriores mostraram efeitos indesejados e adversos, visto que a inibição dessa enzima já mostrou resultados positivos no tratamento de doenças como artrite reumatoide e esclerose múltipla, assim como em alguns tipos de cânceres, o que fortalece a busca por novas moléculas ou modificações em moléculas já existentes que melhorem as suas capacidades de inibição.

Conforme Reis et al (2017), DHODH foi referenciado em mais de 500 artigos publicados nas últimas 5 décadas, com foco em três áreas principais de pesquisa, em que a segunda delas é a exploração de DHODH como alvo de drogas. Em se tratando da relevância médica da enzima diidrorotato desidrogenase, o desenvolvimento de inibidores seletivos para ela tem estado sob investigação contínua, pois tem ocorrido um interesse crescente de pesquisadores acadêmicos e da indústria em avaliar a inibição da biossíntese de pirimidina realizada pela DHODH como uma estratégia para tratar doenças autoimunes e inflamatórias.

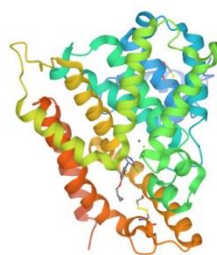
Baiazitov et al (2022) destacam que há pouco, foi demonstrado que os inibidores de DHODH podem ser úteis para o tratamento de infecções virais, como SARS-CoV-2 que ocasionam o covid-19, a DHODH é um alvo terapêutico já validado para doenças autoimunes como artrite reumatóide e esclerose múltipla, também foi demonstrado em estudos pré-clínicos que a inibição dessa enzima induz a diferenciação de células de leucemia miéloide, revertendo a doença de forma efetiva. Os autores salientam o grande interesse em descobrir e desenvolver inibidores de DHODH para uso terapêutico, visto que a DHODH é a enzima que catalisa

a oxidação mediada por ubiquinona do diidroorotato a orotato, uma etapa limitante da velocidade na via de síntese de pirimidina *de novo*, pois essa via de síntese de ribonucleotídeos de pirimidina são alvos atraentes para o tratamento de doenças causadas por proliferação celular rápida e descontrolada, como cânceres, infecções autoimunes ou virais.

3.4.3 Enzima fosfodiesterase 4B (PDE4B)

Os inibidores da fosfodiesterase tipo 4 (figura 3) ganharam interesse considerável como drogas potenciais contra doenças inflamatórias por prevenirem a ativação de células pró-inflamatórias. Entretanto, os inibidores dessa enzima, incluindo os que estão em fase clínica apresentaram efeitos gástricos adversos, diarreia, náuseas e perda de peso. Esses efeitos colaterais estão relacionados a inibição não seletiva dos isotipos da enzima PDE4 (DOROKHOV, et al., 2018).

Figura 3 - Fosfodiesterase 4B



Fonte: Protein Data Bank (PDB ID: 1XMU)

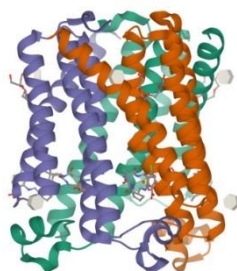
Nos últimos tempos muitas pesquisas estão sendo realizadas para o projeto de inibidores PDE4 mais potentes e seletivos, visto que a enzima PDE4 catalisa a hidrólise da adenosina cíclica 3',5' -monofosfato (cAMP) em células imunes (neutrófilos, macrófagos, monócitos e células T), regulando assim a concentração deste importante segundo mensageiro. A inibição da atividade de PDE4 específica de cAMP previne a ativação de células pró-inflamatórias e também reduz a disfunção de células pulmonares estruturais (DOROKHOV, et al., 2018).

3.4.4 Enzima prostaglandinas E sintase (PGES)

A enzima prostaglandina E sintase-1 microssomal (m-PGES1), disposta na figura 4 é expressa em níveis baixos em tecidos normais, mas em nível elevado em tecidos inflamados, dentre as PGES, apenas a mPGE1 é expressa altamente quando está presente um estímulo pró-inflamatório. Essa enzima é, com frequência, considerada como importante alvo envolvido na biossíntese de prostaglandina E₂

(PGE₂), um importante fator inflamatório. Os autores destacam que (mPGES1) pode ser um alvo útil para o tratamento de doenças hepáticas, pois sua inibição está associada a menos efeitos colaterais do que a inibição de COX-2 em doenças hepáticas (XU, et al., 2021).

Figura 4 - Prostaglandina E Sintase



Fonte: Protein Data Bank (PDB ID: 5T36)

Descobrir novos inibidores de mPGES-1 é um tópico essencial na química medicinal, pois este alvo tem sido explorado na concepção de drogas anti-inflamatórias visando menos efeitos gástricos e nenhum cardiovascular. Inibir a biossíntese de PGE₂ através da inibição de mPGES-1, fornece um alvo atrativo para novos fármacos, pois inibi-la impede apenas a produção das prostaglandinas envolvidas no processo inflamatório sem afetar outras funções fisiológicas (NASCIMENTO; DE AQUINO; JÚNIOR, 2022).

3.5 Planejamento de fármacos com ação anti-inflamatória

Na Química Medicinal o planejamento racional de fármacos é uma abordagem que deve ser priorizada. Nos dias atuais diversas estratégias e táticas modernas estão disponíveis para o desenho de novos fármacos, entre elas a de maior sucesso é a abordagem fisiológica, baseando-se no mecanismo de ação farmacológico pretendido, o que essencialmente depende da eleição do alvo terapêutico. Valendo-se dessa técnica é encontrado um análogo ativo, que comprovando atividade farmacológica desejada, identificada por meio de protocolos *in silico* e farmacológicos *in vitro* e *in vivo*, possuiremos um composto protótipo (BARREIRO e FRAGA, 2008).

Segundo Mahapatra e Karuppasamy (2022), o projeto racional de fármacos revolucionou a descoberta de medicamentos com o advento de novas abordagens computacionais e sintéticas, nessas abordagens se destacam: o planejamento de medicamentos com base na estrutura e o planejamento de medicamentos com base

em ligantes. A ressonância magnética nuclear (RMN) e cristalografia de raios-X, são as técnicas que auxiliam na investigação das características estruturais de proteínas-alvo que favorecem a descoberta de alvos contra doenças ou qualquer disfunção no corpo humano, favorecendo a descoberta e desenvolvimento de novas moléculas.

Para tanto, no processo para planejar novos fármacos geralmente identificamos um *scaffold* promissor, que poderá ser por meio de fragmento molecular ou fármaco já conhecido, usando como estratégia o Planejamento de Fármacos Baseado em Fragmentos-Fragment-Based Drug Design (FBDD), onde utilizamos ferramentas empíricas para obtenção de análogos que possam apresentar a mesma ou melhor potência e menor toxicidade. No nosso estudo utilizamos a modificação molecular de conservação do grupo farmacofórico, valendo-se do bioisosterismo, assim como a expansão molecular, que associados a estudos computacionais auxiliam no delineamento de novas substâncias mais eficazes e seguras.

3.5.1 Planejamento de fármacos baseado em fragmentos (FBDD)

A descoberta de drogas baseadas em fragmentos é uma ferramenta já conhecida, utilizada por vários grupos de pesquisas no planejamento de novas drogas. Onde se utilizam biblioteca de fragmentos, as quais historicamente eram dominadas por fragmentos 2D, no entanto, este cenário está mudando e há um crescente interesse em fragmentos 3D, os quais ocasionam melhor solubilidade e pode oferecer melhor seletividade (KLEIN, et al., 2022).

Para preparação desses fragmentos 3D, destacam-se três estratégias distintas: (i) síntese orientada para a diversidade; (ii) a síntese e diversificação de scaffolds; e (iii) projeto computacional e síntese. Na estratégia (ii) se destaca a utilização de uma metodologia sintética particular para construir scaffolds específicos, e a subsequente diversificação do grupo funcional, que tem sido amplamente explorada para a síntese de fragmentos 3D. Uma característica atraente da abordagem de síntese e diversificação de andaimes é que, como os andaimes são baseados em uma metodologia sintética específica, eles são muito adequados para a elaboração de fragmentos subsequentes e otimização de fragmento líder (KLEIN, et al., 2022).

Os fragmentos são moléculas orgânicas pequenas e de baixo peso molecular definida pela 'regra de três', na qual: massa molecular ($MM < 300$; número de aceitadores de ligações de hidrogênio ≤ 3 ; e $\log P \leq 3$. Os fragmentos exibem uma série de vantagens para o FBDD, devido a suas características estruturais e de

ligação. Destacando-se: exploração de espaços químicos maiores com bibliotecas menores; aumento nas taxas de acerto na triagem de fragmentos; propriedades físico-químicas e eficiência do ligante (LE) melhores, assim como, maior potencial para a novidade de entidades químicas que possam atuar como fragmentos privilegiados (WHANG, et al., 2021).

De acordo com Wilson et al (2021), os resultados da estratégia FBDD estão avançando em otimizações moleculares interativas combinando química computacional, química medicinal, química sintética e ensaios biofísicos e bioquímicos. Dentre os métodos potenciais na descoberta de drogas, destaca-se a cristalografia de raios-X (PX) de proteínas, o único que pode fornecer melhores interações detalhadas de proteína-ligante em nível atômico 3D. A PX é um componente essencial do FBDD e da descoberta de drogas baseada em estrutura (SBDD), uma vez que é o padrão ouro para determinar a orientação exata de um fragmento ligado a uma proteína alvo.

3.5.2 Descoberta de drogas baseado em estrutura (SBDD)

O projeto de drogas baseado em estrutura é uma ferramenta que ajuda no processo de descobrimento de novas drogas, possibilitando acelerar e superar as limitações dos métodos convencionais. As vantagens da utilização do SBDD para formular novas moléculas está relacionada a menor quantidade de tempo, custo e mão-de-obra gastos no projeto computacional de drogas. Identificar as moléculas que apresentam interações significativas com os alvos terapêuticos é de grande importância, para o processo de descoberta de novos fármacos. Na metodologia SBDD se analisa as informações de alvos macromoleculares tridimensionais, essencialmente de proteínas ou RNA, para identificar os principais locais e interações essenciais para suas respectivas funções biológicas. Utilizado, em especial, para análise de energia de ligação, interação ligante-proteína e avaliação das mudanças conformacionais durante o processo de *docking* (BAJAD et al., 2021).

Segundo Robertson, Meyerowitz e Skiniotis (2022) SBDD é utilizada para projeção e determinação racional de espécies químicas *in silico* eficazes contra alvos terapêuticos, onde se utiliza informações atômicas de cada alvo. O uso de técnicas computacionais mais sofisticadas e o conhecimento das estruturas cristalográficas de alvos terapêuticos, acelerou o processo de desenvolvimento de drogas baseadas na

estrutura. Essa técnica pode ser utilizada adicionalmente quando se deseja mudar a seletividade de medicamentos já existentes, assim como a eficácia.

3.5.3 Estratégia de modificação molecular: bioisosterismo

A substituição de grupos funcionais em uma molécula, na qual se mantenha as propriedades biológicas semelhantes é definida como bioisosterismo. Essa estratégia é uma prática comum na química medicinal, pois essas transformações bioisostéricas são usadas no melhoramento e aperfeiçoamento de candidatos a medicamentos, buscando otimizar séries de moléculas candidatas a fármacos (ARABI, 2017; ERTL, 2020; MAHESHWARI et al., 2018; CUOZZO et al., 2021; KUMARI et al., 2020).

O bioisosterismo é considerado uma técnica qualitativa para modificação racional e otimização de um composto bioativo visando fornecer vários efeitos benéficos, como aumento de potência, maior seletividade, melhorias nas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas, eliminação ou redução de toxicidade e facilitação de acesso a novos espaços químicos para obter proteção de patente (ARABI, 2017; ERTL, 2020; MAHESHWARI et al., 2018; CUOZZO et al., 2021; KUMARI et al., 2020).

O conceito de bioisosterismo é resultante da aplicação do princípio de isosterismo, o qual foi desenvolvido por Langmuir, em moléculas bioativas. Em 1919, esse pesquisador estudou o comportamento químico e a reatividade de determinadas substâncias isoeletrônicas como o N_2 e CO , N_2O e CO_2 , N_3^- e NCO . Sendo que o termo bioisosterismo foi introduzido por Friedman, em 1951, para descrição do fenômeno observado entre substâncias com relação estrutural, as quais apresentavam similares propriedades biológicas em um mesmo sítio receptor. Em 1970, Alfred Burger, definiu de forma mais ampla, que os bioisósteros são compostos ou grupos que possuem volumes e formas moleculares com pouca diferença, cerca de mesma distribuição eletrônica e semelhança em propriedades físicas (BARREIRO e FRAGA, 2008; SILVA, 2020; CUOZO et al., 2021; DICK e COCKLIN, 2020).

Dessa forma, uma substituição bioisostérica pode ser definida como a substituição de uma parte de uma molécula bioativa com uma subestrutura que exhibe semelhança em tamanho e propriedades. Essas transformações são utilizadas para melhorar propriedades como biodisponibilidade, transporte, seletividade, remoção de efeitos colaterais indesejados, como toxicidade, esforçando-se para manter a

bioatividade da molécula que tem potencial para ser candidata a medicamento (SILVA, 2020).

Costumeiramente, três abordagens são utilizadas para identificação de análogos bioisotéricos: 1. Experiência dos químicos medicinais. 2. Com base na literatura, extraindo informações da relação estrutura/atividade. 3. Baseando-se na similaridade em propriedades físico-químicas como tamanho, hidrofobicidade ou poder de doação de elétrons. Sendo que este último enfoque é o mais promissor, pois no primeiro, existe a limitação da experiência do químico medicinal não abranger o conhecimento químico geral, dificultando a transferência do conhecimento pessoal para o algoritmo de um computador, levando-se em consideração que os químicos medicinais e cientistas computacionais podem relacionar a similaridade e diferenças estruturais de forma subjetiva. Já na segunda, existe a limitação de identificar apenas substâncias que já foram publicadas nos bancos de dados. Portanto, a terceira abordagem é mais vantajosa, tendo em vista, que supera a limitação do que ainda não foi publicado (ERTL, 2020).

Os bioisósteros foram divididos em duas categorias: clássicos e não clássicos, recebendo essa definição na década de 1970, por Alfred Burger. Os bioisósteros clássicos podem ser subdivididos em cinco categorias: (a) átomos ou grupos monovalentes, (b) átomos ou grupos divalentes, (c) átomos ou grupos trivalentes, (d) átomos ou grupos tetravalentes e (e) equivalentes de anel. Sendo grupos funcionais que satisfazem a lei de deslocamento de hidretos de Grimm, bem como os conceitos de isósteros de Erlenmeyer.

Em contrapartida, os bioisósteros não clássicos podem ser subdivididos em duas categorias: (a) cíclicos vs. não cíclicos e (b) grupos funcionais permutáveis, os quais possuem mimetismo mais avançado de seus emulados homólogos e não atendem aos critérios de fatores estéricos e eletrônicos exigidos para isósteros clássicos (SILVA, 2020; KUMARI et al., 2020; DICK e COCKLIN, 2020). Segue a classificação dos bioisósteros na (tabela 1) abaixo:

Tabela 1 - Bioisósteros

Bioisósteros clássicos	Bioisósteros não clássicos
(a) Átomos ou grupos monovalentes F e H; D e H; NH e OH; C e Si; RSH e ROH; -F; -Cl; -Br; -I; -OH; -OR; -SH; -PH ₂ ; -CH ₃ ; -CF ₃ ; -NH ₂	(a) Anéis versus estruturas acíclicas. Porção metilenoaminoxi metil (C=NOCH ₂ , MAOMM) como um bioisótero de arila e outros andaimes aromáticos.

- (b) Átomos ou grupos bivalentes -O-; -Se; -CH₂-; -C=N-; -C=S; -C=C-; -C=O; -C=NH; -COOR; -COSR; -CONHR; -COCH₂R
- (b) Grupos permutáveis, bioisósteres do grupo hidroxila, bioisósteres do grupo carbonila, bioisósteres do grupo amida, bioisósteres do grupo tiouréia, bioisósteres do grupo halogênio, bioisósteres do grupo carboxilato
- (c) Átomos ou grupos trivalentes -As=; -N=; -P=; -CH=
- (d) Átomos ou grupos tetravalentes =C=; =Si=; =As+=; =N+=; =P+=
- (e) Equivalentes de anel benzeno; tetra-hidrofurano; tiofeno; piridina

Fonte: Kumari (2020, com adaptações).

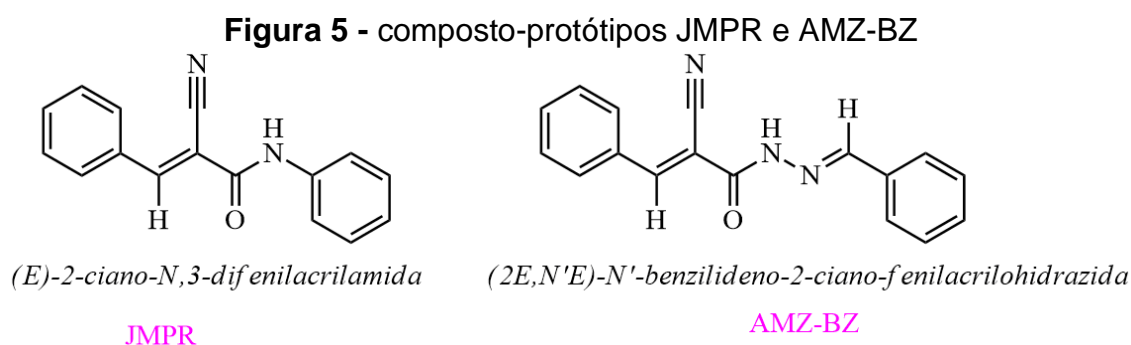
3.5.4 Docking molecular

Com o passar dos anos muitas ferramentas vêm se desenvolvendo e auxiliando os químicos medicinais na criação de novas moléculas promissoras, uma delas é o aporte computacional, no qual inclui-se o estudo de *docking* molecular, que serve de triagem virtual. É uma ferramenta chave para predizer a melhor orientação de ajuste de um ligante em uma proteína-alvo. Essa abordagem nos permite caracterizar o comportamento de pequenas moléculas no sítio de ligação das proteínas alvo, assim como, elucidar as interações moleculares. Utilizando software pode-se encontrar a melhor conformação e orientação de acordo com a complementaridade e pré-organização com algoritmo específico, seguido da aplicação de uma função de pontuação para prever a afinidade de ligação e analisar o modo interativo. O *Docking* Molecular tem sido usado para prever conformações de ligação e interações entre ligantes e sítios de ligação de proteínas há mais de 40 anos. (FAN, FU e ZANG, 2019; TEMML e KUTIL, 2021).

Estando entre um dos métodos *in silico* mais populares e bem-sucedidos, que ajuda a prever as interações que ocorrem entre moléculas e alvos biológicos, existe uma sequência racional que pode auxiliar em resultados preditivos de interação fármaco-alvo, onde primeiro se prevê a orientação de um ligante em um receptor, após estima-se sua complementariedade usando a função de pontuação. A triagem experimental através da tecnologia computacional reduz os custos iniciais de identificação de acertos e otimiza o tempo pois melhora as chances de encontrar os candidatos a medicamentos desejados (PINZI e RASTELLI, 2019).

Diante das possibilidades de melhor desempenho na produção de novos fármacos valendo-se das ferramentas de planejamento, as técnicas citadas

anteriormente foram utilizadas para a formulação de novas moléculas contendo as porções *N*-acilhidrazona e *N*-fenilacetamida, que vêm sendo exploradas e demonstrando atividade anti-inflamatória promissora, as quais foram pensadas a partir dos protótipos JMPR e AMZ-Bz, que já se mostraram pertinentes em estudos anteriores, os quais estão ilustrados abaixo (Figura 5):



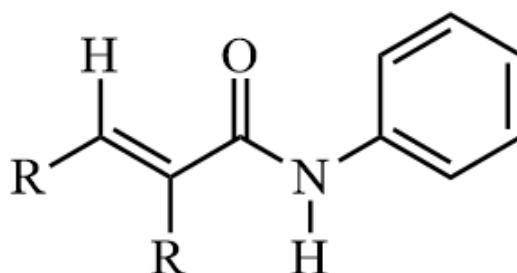
Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

3.6 Derivados *N*-fenilacrilamidas e *N*-acilhidrazônicos

3.6.1 Derivados *N*-fenilacrilamidas

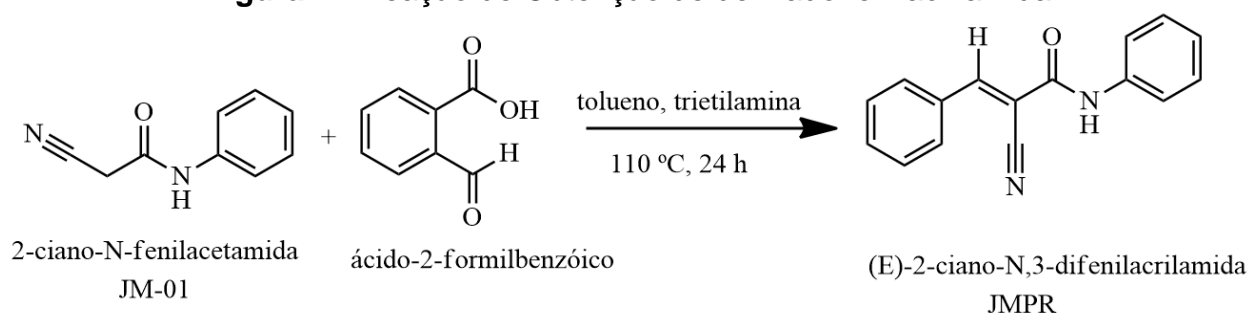
De acordo com Silva (2020), um dos efeitos biológicos interessantes e potencial de derivados *N*-fenilacrilamidas é a atividade anti-inflamatória. Por isso nos últimos anos têm-se realizado investigações de diferentes fragmentos que contêm essas funções. Para se obter compostos com esse grupo, primeiro se realiza reação de amidação, em seguida, reação de condensação com diversos constituintes químicos.

Figura 6 - *N*-fenilacrilamida



Fonte: Silva (2020, com adaptações).

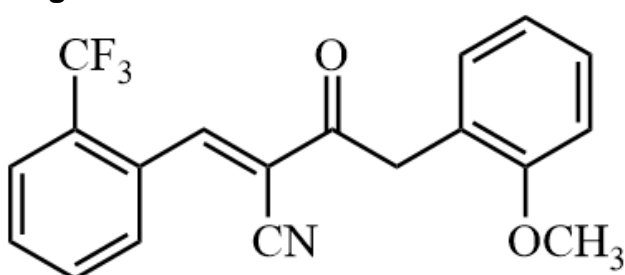
As *N*-fenilacrilamidas podem ser preparadas pela condensação de acetamidas com compostos carbonílicos (Figura 7). Como demonstrado por Silva (2022), foi possível obter um derivado dessa classe através de uma reação de Knoevenagel, entre um derivado acetamida em reação com ácido 2-formilbenzóico.

Figura 7 - Reação de Obtenção de derivado fenilacrilamida

Fonte: Silva (2020, com adaptações).

Conforme Silva (2022) o derivado JMPR demonstrou forte potencial para se tornar um medicamento para doenças inflamatórias, a investigação abordou testes *in silico*, *in vitro* e *in vivo*. Observou-se a capacidade do JMPR-01 em suprimir a produção de citocinas expressas por estimulação de macrófagos (interleucina 1 beta (IL-1 β) e fator de necrose tumoral-(TNF)- α).

Na pesquisa desenvolvida por Gu et al (2019), foi possível sintetizar um composto derivado de fenilacrilamida, nesse estudo foi demonstrado que o composto nomeado **6a** (Figura 8) inibiu satisfatoriamente a produção de óxido nítrico, um mediador inflamatório chave, assim como na atividade de NF- κ B. Tendo em vista que a superprodução de óxido nítrico pode conduzir à inflamação, e a via de sinalização do fator nuclear kappa-B (NF- κ B) estando envolvida na regulação da biossíntese de NO, desempenhando assim um papel significativo no processo inflamatório, projetar novos derivados que contenham essa função é muito pertinente para o desenvolvimento de novas pesquisas.

Figura 8 - Derivado Fenilacrilamida

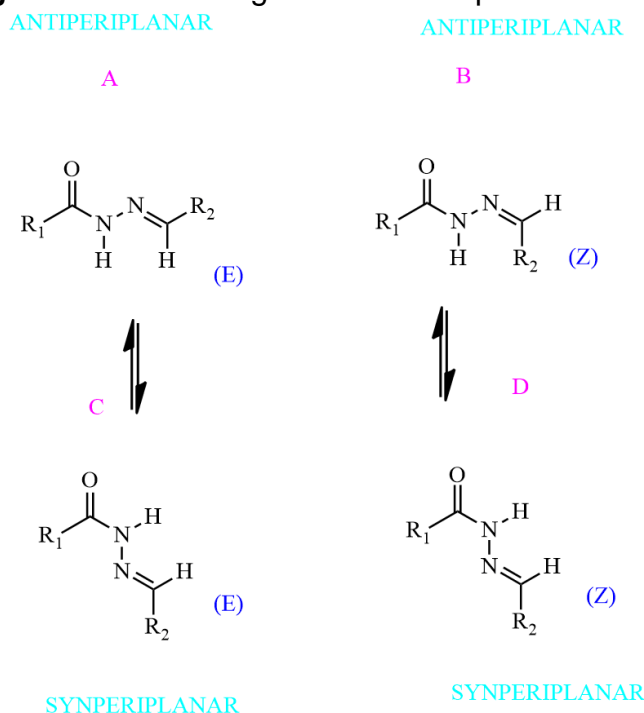
Fonte: Gu et al., (2019, com adaptações).

3.6.2 Derivados N-acilhidrazônicos

Atividades anti-inflamatórias estão entre os efeitos farmacológicos de compostos derivados da acilidrazonas, esse esqueleto bioativo tem sido amplamente utilizado na química medicinal, sendo usado com frequência no projeto de novos

medicamentos. O grupo amida confere a essas moléculas, melhor estabilidade térmica, hidrolítica e química. A versatilidade desse grupo está relacionada à presença dos isômeros geométricos *Z* e *E* do plano da ligação C=N dos confôrmeros do fragmento acilhidrazona, bem como *cis/trans* na função amida (figura 9) (GUO et al., 2020; AARJANE et al., 2020).

Figura 9 - Estrutura geral e estereoquímica de NAH



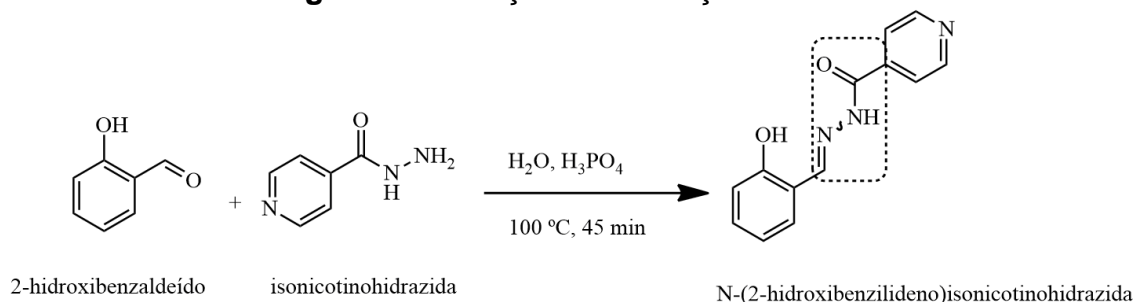
Fonte: Lopes et al., (2013, com adaptações).

Nesse contexto, os fragmentos *N*-acilhidrazonas (NAHs) são estruturas importantes no planejamento de drogas, como por exemplo agentes anticâncer potentes, antivirais, antifúngicos e antiparasitários. E já foram descritas como inibidoras de diferentes alvos relacionados a doenças inflamatórias e cardiovasculares. A porção *N*-acilhidrazona merece destaque como estrutura privilegiada, pois é capaz de atuar como farmacóforo ou auxóforo em diferentes classes farmacêuticas, com diversos perfis de ação, obedecendo outras funcionalidades presentes na estrutura molecular (TORO et al., 2021; CORDEIRO et al., 2020; DIAS VIEGAS et al 2018).

Na pesquisa de química medicinal uma das principais prioridades é a busca por novas drogas ou pró-drogas com atividades melhoradas e menos efeitos colaterais do que aquelas que são utilizadas hoje. Entre a variedade de estratégias utilizadas para alcançar mais eficiência dos agentes quimioterápicos, uma melhor expectativa futura é baseada em novas pequenas moléculas combinando núcleos bioativos como *N*-acilhidrazona. (Toro et al., 2021).

As *N*-acilhidrazonas são derivados hidrazônicos que exibem a estrutura geral: $R_1R_2C=N-NH-(C=O)-R_3$, sendo preparadas pela condensação de hidrazidas com compostos carbonílicos (Figura 10) (ARRUDA et al., 2020).

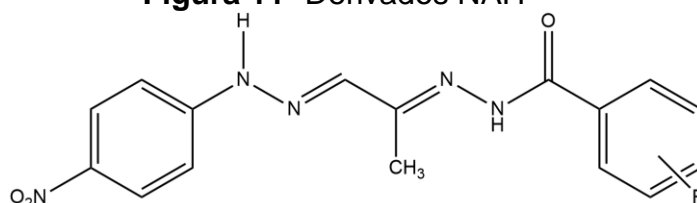
Figura 10 - Reação de Obtenção de NAH



Fonte: ARRUDA et al., (2020, com adaptações).

Ciente de todas as atividades biológicas ocasionadas pelo grupo *N*-acilhidrazonas e seu frequente uso na produção de novas drogas, Meira et al (2018) estudaram muito detalhadamente o efeito substituinte de *N*-acilhidrazonas para atividade anti-inflamatória. Tendo em vista que o alongamento da cadeia alquil na estrutura química dos compostos derivados de *N*-acilhidrazona foram identificados como uma estratégia para o projeto e otimização de drogas. Foram empregados substituintes hidroxila, cloreto e nitro em derivados de *N*-acilhidrazona, a atividade anti-inflamatória dos compostos foi alcançada pela modulação da secreção de IL-1 β e síntese de prostaglandina E2 em macrófagos e inibindo a atividade da calcineurina fosfatase em linfócitos. O composto SintMed65 foi avaliado em um modelo agudo de peritonite em camundongos, onde inibiu a infiltração de neutrófilos após administração oral. Os compostos sintetizados e avaliados estão representados na figura 11 a seguir:

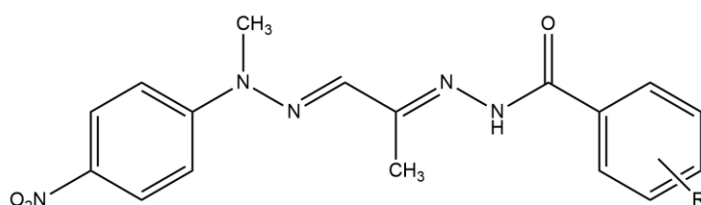
Figura 11- Derivados NAH



SintMed (54-74)



R= (54) H; (55) 4-OCH₃; (56) 4-CF₃; (57) 4-Tert-Bu; (58) 4-NH₂;
 (59) 4-N(CH₃)₂; (60) 4-Cl; (61) 4-OH; (62) 4-NO₂;
 (63) 3-OCH₃, 4OH; (64) 3,5-(-CH₂OCH₂-); (65) 3,5-diNO₂;
 (66) 2-CH₃; (67) 3-CH₃; (68) 2-F; (69) 2-Cl; (70) 2-I;
 (71) 2-OH; (72) 2-OPh; (73) 2-NH₂; (74) 2-NHPh.



SintMed (75-77)

75 (4-NH₂),
 76 (3,5-diNO₂),
 77 (2-OH)

Fonte: Meira et al., (2018, com adaptações).

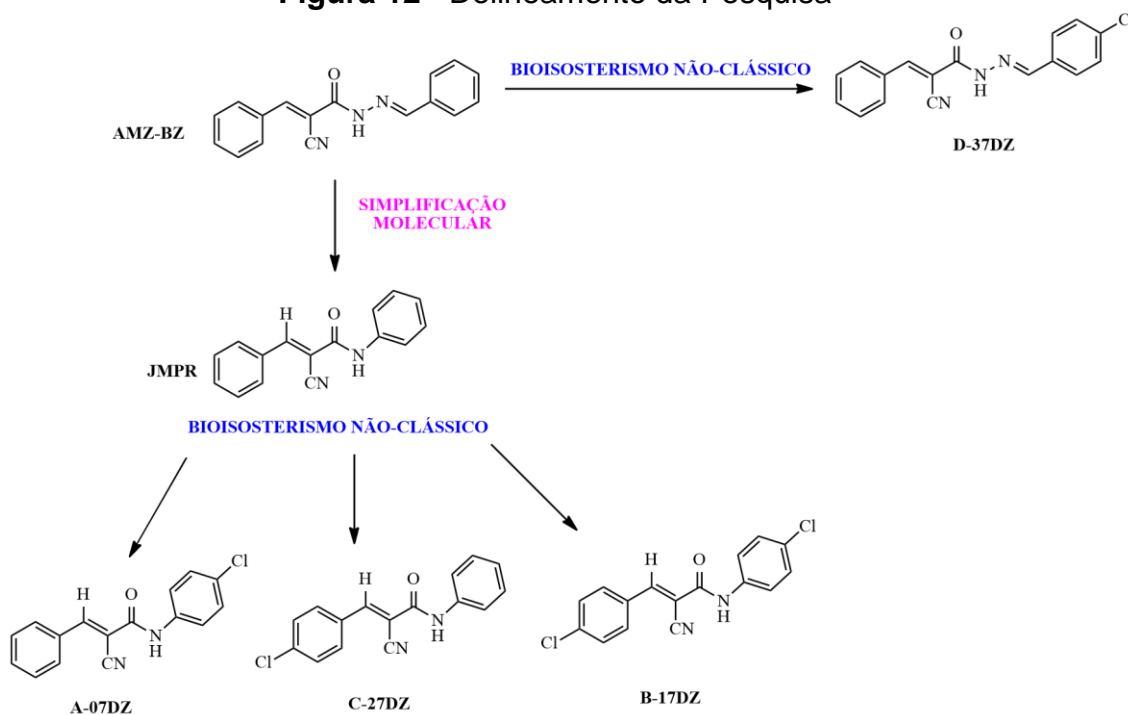
Segundo Ramos et al (2022), no seu estudo dos efeitos de derivados *N*-acilidrazonas em inflamação pulmonar experimental, com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que o derivado AMZ-Bz apresentou efeitos anti-inflamatórios, mucolíticos, antiasmáticos e antifibróticos com redução da migração de leucócitos para a cavidade pleural, além de reduzir migração de mastócitos. Em geral, a supressão efetiva da resposta inflamatória representa um potencial efeito farmacológico das substâncias testadas, podendo constituir uma opção de tratamento eficaz e conveniente para doenças pulmonares e remodelamento das vias aéreas.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento da pesquisa

Neste estudo a proposta de pesquisa por intermédio dos estudos *in silico*, utiliza a ferramenta de *docking* molecular, com planejamento de drogas baseado na estrutura (SBDD), e o desenho de novos candidatos a fármacos, foram tomados como partida dois fragmentos privilegiados (*N*-fenilacrilamida e *N*-acilidrazônico) como base para a criação de novos derivados a partir do JMPR e do AMZ-BZ (Figura 12), caracterizando uma segunda estratégia de planejamento de fármacos baseado e fragmentos (FBDD). Além dessas, também foram utilizadas as ferramentas de simplificação molecular e bioisosterismo não- clássico.

Figura 12 - Delineamento da Pesquisa



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Para isso, foram projetados os compostos A-07DZ, B-17DZ, C-27DZ e D-37DZ, ilustrados na Figura 12, os quais foram submetidos posteriormente aos estudos de *docking* molecular em enzimas importantes: óxido nítrico sintase, diidrorotato desidrogenase, fosfodiesterase 4B e prostaglandina E sintase. Visto que essas proteínas são importantes alvos de interação dos fármacos utilizados como protótipos para o desenvolvimento dos derivados *N*-fenilacrilamidas e *N*-acilidrazônico.

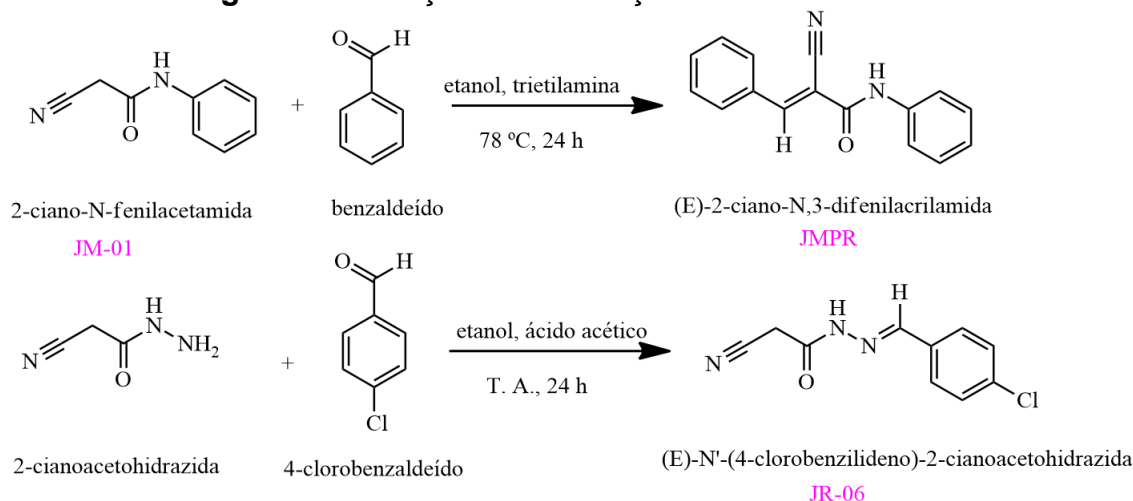
4.2 Metodologia de síntese

4.2.1 Descrição geral para obtenção dos compostos

As sínteses orgânicas foram realizadas no Laboratório de Desenvolvimento e Síntese de Fármacos localizado no prédio Três Marias, 1º andar. Da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campus I. No período de maio de 2021 a agosto de 2022.

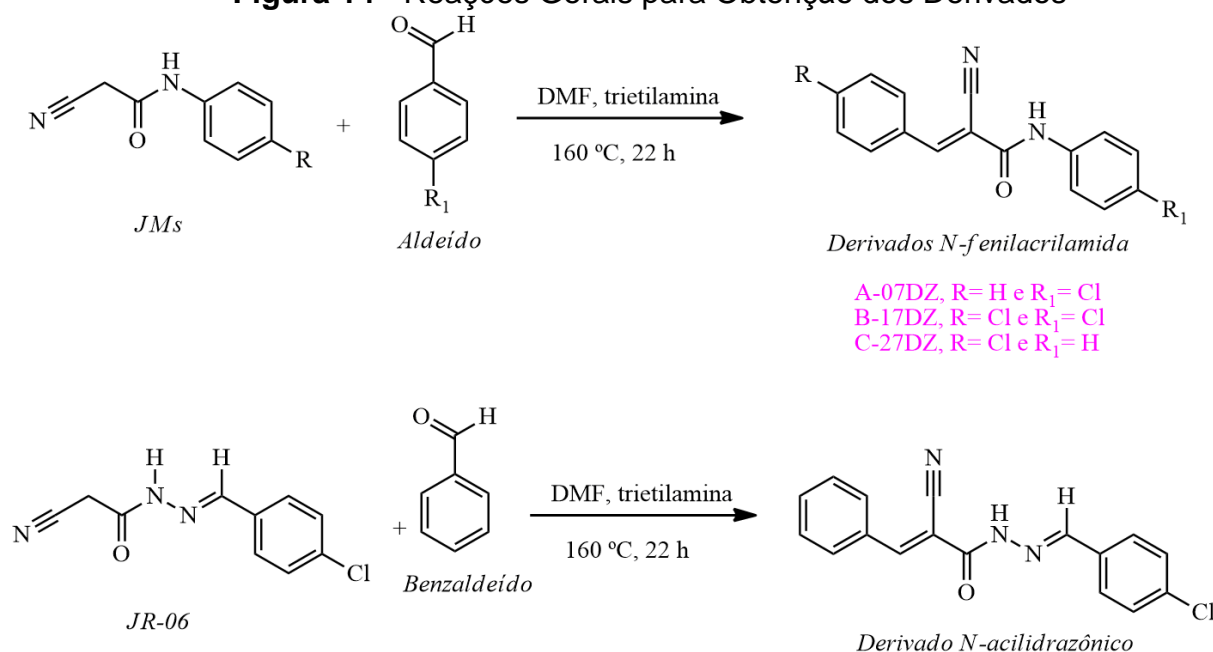
Os novos compostos *N*-fenilacetamida e *N*-acilidrazônicos foram sintetizados de acordo com as metodologias de Silva (2018) e Silva (2020), seguindo adaptações necessárias, as reações para obtenção dos intermediários estão disponíveis na (Figura 13).

Figura 13 - Reações de Obtenção dos Intermediários



Fonte: Silva (2018) e Silva (2020), com adaptações.

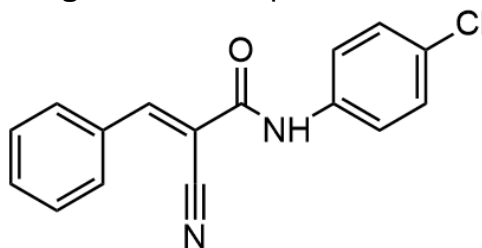
Os derivados das duas classes foram obtidos a partir de intermediários previamente sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa, os quais reagiram com benzaldeído e com 4-clorobenzaldeído, por rota sintética linear, através de reações de condensação de Knoevenagel e reação de condensação em meio básico (Figura 14).

Figura 14 - Reações Gerais para Obtenção dos Derivados

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

4.2.2 Metodologia de síntese do composto A-07DZ

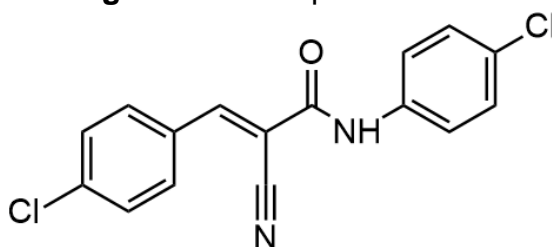
Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram adicionados 0,3 g (0,001546 mols) de JM-02, 10 mL (0,129156 mols) de dimetilformamida (DMF) e 10 gotas de trietilamina, em seguida, adicionou-se 0,15 mL ($1,470034 \times 10^{-3}$ mols) de benzaldeído. A mistura reacional foi aquecida a uma temperatura de 160 °C, sob agitação magnética, pelo período de 22 horas, sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD). Finalização: em um béquer foi adicionado algumas pedras de gelo de água destilada, no qual foi colocada a reação A, ainda quente; foi observada a formação de precipitados. Após alguns minutos de descanso foi realizada a filtração do produto. A metodologia de purificação se encontra no subtópico 4.2.6. A partir dessa reação obteve-se o composto A-07DZ (figura 15).

Figura 15 - Composto A-07DZ

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

4.2.3 Metodologia de síntese do composto B-17DZ

Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram adicionados 0,3 g de JM-02 (0,001546 mols), 10 mL (0,129156 mols) de dimetilformamida (DMF) e 10 gotas de trietilamina, em seguida, adicionou-se 0,2173 g ($1,5458 \times 10^{-3}$ mols) de 4-clorobenzaldeído. A mistura reacional foi aquecida a uma temperatura de 160 °C, sob agitação magnética, pelo período de 22 horas, sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD). Finalização: Em um béquer foi adicionada algumas pedras de gelo de água destilada, no qual adicionou-se a reação B ainda quente. Deixou-se em descanso por 30 minutos, como não foi observada a formação de precipitados, adicionou-se algumas gotas de ácido acético, após agitação observou-se a formação de precipitados. A metodologia de purificação se encontra no subtópico 4.2.6. A partir dessa reação obteve-se o composto B-17DZ (figura 16).

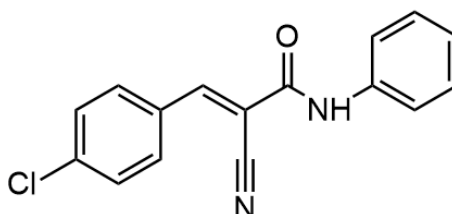
Figura 16 - Composto B-17DZ

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

4.2.4 Metodologia de síntese do composto C-27DZ

Em um balão de fundo redondo de 200 mL foram adicionados 0,2 g de JM-01 (0,00125 mols), 5 mL (0,064578 mols) de dimetilformamida (DMF), após total solubilização, adicionou-se 10 gotas de trietilamina, deixou-se em agitação e temperatura ambiente por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,175 g ($1,2449 \times 10^{-3}$) de 4-clorobenzaldeído totalmente solubilizado em 3 mL (0,038747 mols) de (DMF). A mistura reacional foi aquecida a uma temperatura de 160 °C, sob agitação magnética, pelo período de 22 horas, sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD). Finalização: em um béquer foram adicionadas algumas pedras de gelo de água destilada, no qual adicionou-se a reação, observou-se a formação de sujeira e não de precipitado, filtrou-se. Por conseguinte, foi levado para descanso na geladeira. Verificou-se pH=8, foi feita a adição de 10 gotas ácido acético até obter pH=4, então a filtração foi efetuada após precipitação do produto. A metodologia de purificação se encontra no subtópico 4.2.6. A partir dessa reação obteve-se o composto C-27DZ (figura 17).

Figura 17 - Composto C-27DZ



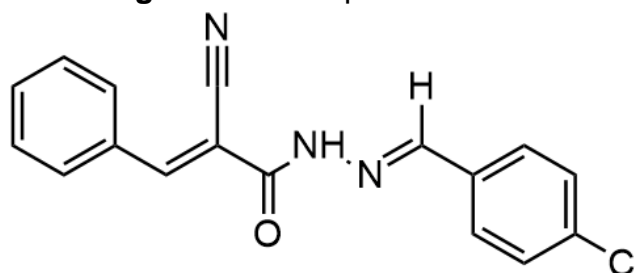
Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

4.2.5 Metodologia de síntese do composto D-37DZ

Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram adicionados 0,5 g de JR-06 (0,002257 mols), 10 mL (0,129156 mols) de dimetilformamida (DMF) e 10 gotas de trietilamina, em seguida, adicionou-se 0,2294 mL ($2,38756 \times 10^{-3}$ mols) de benzaldeído. A mistura reacional foi aquecida a uma temperatura de 160 °C, sob agitação magnética, pelo período de 23 horas, sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD). Finalização: após a reação esfriar, foi adicionada a um béquer de 250 mL que continha gelo e água destilada (em pequena quantidade) com 7 gotas de ácido clorídrico. Observou-se a formação de precipitado amarelo, em

seguida, filtrou-se. A metodologia de purificação se encontra no subtópico 4.2.6. A partir dessa reação obteve-se o composto D-37DZ (figura 18).

Figura 18 - Composto D-37DZ



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

4.2.6 Metodologia de purificação dos compostos sintetizados

Foram realizadas as purificações de todos os compostos obtidos em cada reação. Para o composto A-07DZ, temos a reação A, para o composto B-17DZ, reação B, para o composto C-27DZ, reação C e para o composto D-37DZ, reação D.

1ª passo: os produtos da reação (D) foram misturados e lavados com água quente. Colocou-se a substância no filtro de um sistema de filtração, e aos poucos adicionou-se aproximadamente 200 mL de água quente. Observou-se que o arraste anteriormente visto nas placas cromatográficas, não apareceu, mas o produto ainda continha sujeira no ponto de aplicação, resolveu-se lavar o produto da reação (D) novamente com mais água quente.

2ª passo: Em um enlarmeyer foi colocado o produto obtido da reação (D) e adicionado 10 mL de dimetilformamida (DMF), levou-se para aquecimento, em seguida, filtrou-se ainda quente, por fim adicionou-se ao filtrado, água em temperatura ambiente. Após recristalização em DMF, foram analisadas 4 placas cromatográficas em condições diferentes para avaliação do produto. Placa 1: reação (D), análise no sistema acetato/hexano (7:3); placa 2: JR-06, benzaldeído, reação (D) e mistura, análise no sistema acetato/hexano (7:3); placa 3: JR-06, benzaldeído, reação (D) e mistura, análise no sistema acetato/hexano (8:2); placa 4: benzaldeído, reação (D), análise no sistema acetato/hexano (8:2); após análise das placas foi visualizado que o produto ainda permanecia com sujeira no ponto de aplicação. Então foi realizada a recristalização do produto da reação (D) em etanol/água. Em um enlarmeyer colocou-se o produto da reação (D), em seguida, adicionou-se 10 mL de uma solução de EtOH/H₂O na proporção de 20% e 80%, respectivamente, levou-se para aquecimento. Posteriormente, seguiu-se com a filtração, realizada a análise do produto em placa

cromatográfica, foi observado dois pontos para a reação. Por fim, preparou-se 10 mL de solução de EtOH/H₂O na proporção de 40% e 60%, respectivamente. Em um enlermeyer colocou-se o composto D-37DZ e adicionou-se a solução, levando para aquecimento sob agitação magnética. Não se observou diluição a frio. Após alguns minutos adicionou-se mais 10 mL de solução e aqueceu, após diluição, o produto foi filtrado ainda quente. Quando se verificou a placa cromatográfica foi visto que essa purificação era a adequada para o produto. Na placa foi analisado JR-06, benzaldeído e o produto D-37DZ, análise no sistema acetato/hexano (8:2). A purificação também foi realizada para os demais produtos: A-07DZ, B-17DZ e C-27DZ.

4.3 Caracterização físico-química

4.3.1 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.

4.3.2 Cromatografia

As cromatografias analíticas em camada delgada foram efetuadas em placas FLUKA Analytical sílica gel de 0,25 mm de espessura. E reveladas por luz ultravioleta (254 ou 365 nm).

4.3.3 Utilização de Programas Computacionais

O cálculo teórico do Log de P das moléculas sintetizadas foi realizado através do programa ChemDraw Ultra 12.0®. Assim como o peso molecular e a fórmula molecular.

4.4 Caracterização térmica

Termogravimetria (TG) / Análise Térmica Diferencial (DTA)

As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Térmicas do Certbio, Departamento de Farmácia, da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). As curvas termogravimétricas e de análise térmica diferencial foram obtidas em um módulo termogravimétrico modelo SDT Q600 (TA Instruments®, New Castle, Delaware, EUA).

As amostras foram acondicionadas em cadinhos de alumina aberto, usando razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C. min}^{-1}$, e faixa de temperatura de 30°C até 800°C , sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de 100 mL min^{-1} . Utilizou-se o software TA Universal Analysis® para tratamento dos dados. A calibração do SDT Q600 foi realizada incluindo os parâmetros “*TGA weight*” e “*DTA baseline*” do equipamento, utilizando peso padrão e padrão de Zinco, respectivamente.

4.5 Elucidação estrutural

4.5.1 Espectroscopia de Infravermelho

Para obtenção dos espectros de infravermelho foi utilizado o equipamento IRAffinity-, Shimadzu®, os quais foram obtidos em transmitância, no Laboratório de Análise Instrumental, do Departamento de Química, do Instituto Federal de Alagoas-IFAL, sob direção do Prof. Dr. Johnnatan Freitas.

4.5.2 Ressonância Magnética Nuclear

Para obtenção dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C 1D e 2D foi utilizado o equipamento Brüker®, modelo Avance DRX 600 MHz – UltraShield®, sendo DMSO- d_6 como solvente deuterado. Os valores de deslocamentos químicos (δ) foram computados em partes por milhão (ppm), com o uso de tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Sendo as constantes de acoplamento (J) computadas em Hertz (Hz), as quais são pertinentes aos sinais de RMN de ^1H . Foram obtidos na Universidade Federal de Alagoas, Núcleo de Análise e Pesquisas em Ressonância Magnética Nuclear (NAPRMN) sob coordenação do professor Dr. Thiago Mendonça de Aquino.

4.6 Metodologia de *docking*

Foram feitas simulações de *docking* molecular dos derivados desejados *N*-fenilacetamida e *N*-acilidrazônicos com quatro enzimas importantes para o processo inflamatório: a óxido nítrico sintase (NOS), a diidroorotato desidrogenase (DHODH), a fosfodiesterase 4B (PDE4B) e a prostaglandina E sintase (PGES). Para o desenho das estruturas das moléculas, utilizou-se o software ChemDraw Ultra 12.0 e, através do Chem3D, foi feita uma minimização de energia, pelo método de mecânica molecular mínima e utilizando o campo de força MM2 (ALLINGER, 1977).

As estruturas das enzimas NOS (PDB ID: 3E7G), DHODH (PDB ID: 4OQV), PDE4B (PDB ID: 1XMU) e PGES (PDB ID: 5T36) foram obtidas do *Protein Data Bank* (PDB) e carregadas no *PyMol* 2.4.1, para remover moléculas de água e ligantes co-cristalizados. Porém, para a enzima NOS, foi mantido o cofator Mg, cuja carga (+2) foi adicionada manualmente, bem como foi mantido o grupo prostético FMN da enzima PDE4B, visto que tanto ambos interagem com o ligante co-cristalizado. Em seguida, foram carregados os alvos no *AutoDock Tools* (MORRIS *et al.*, 2009), para a adição de hidrogênios e cargas de Gasteiger, além da mesclagem de hidrogênios não polares. As simulações foram feitas com a identificação do sítio ativo dos alvos, nas coordenadas de 55,022, 21,817 e 78,677 Å para a cadeia A da NOS; 5,461, -36,252 e -3,940 Å para a DHODH; bem como 2,239, 1,095 e 40,941 para a PDE4B. O espaçamento utilizado foi de 0,315 Å e foram determinadas dimensões de 40 x 40 x 40 Å para os eixos X, Y e Z.

Após localizar o sítio ativo, o *docking* foi desenvolvido com o *AutoDock* 4.2, com C100 operações de algoritmo genético Lamarckiano e nos parâmetros padrões do *AutoDock Tools*. Com isso, foram gerados valores de Energia Livre de Ligação (ΔG) e Constante Inibitória Estimada (K_i), sendo salvas as conformações com menor valor de ΔG . Por fim, no *Discovery Studio* (BIOVIA, 2021), os resultados foram analisados, determinando regiões de ligação dos alvos com as moléculas, tipos de interação e aminoácidos do sítio ativo que participam das ligações. Para a validação da metodologia, através de *redocking molecular*, foi selecionada a conformação do ligante com menor valor de Desvio Quadrático Médio (RMSD) das distâncias entre os átomos e abaixo de 2,0 Å (BELL e ZHANG, 2019).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Síntese

Para obtenção dos compostos derivados *N*-fenilacetamida (Figura 19) foram utilizados os intermediários JM-01 e JM-02, os quais já haviam sido sintetizados e caracterizados por Silva (2018).

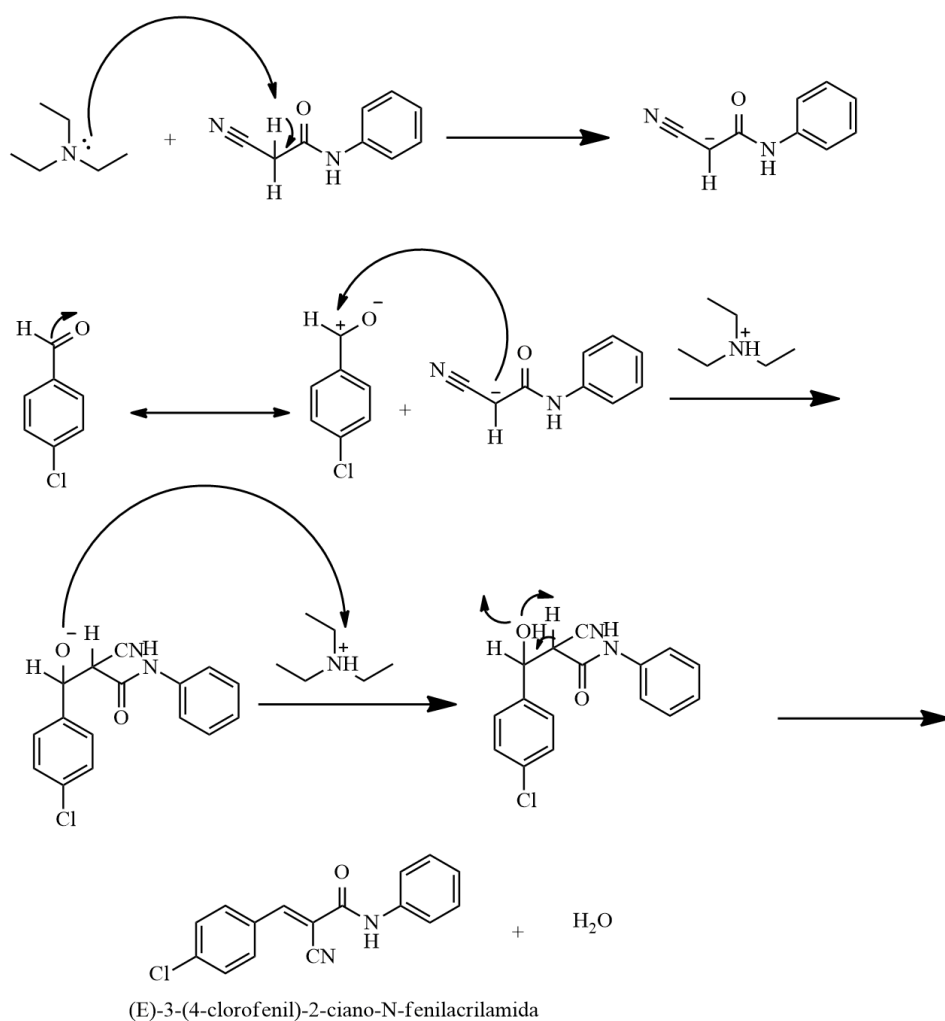
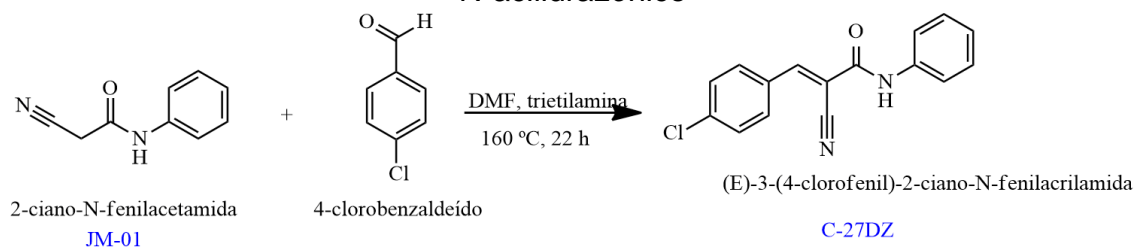
Para obter o composto derivado *N*-acilidrazônico (Figura 19), foi utilizado o intermediário JR-06, com síntese e caracterização já realizada por MOURA (2016).

Vale salientar que os intermediários, JM-02 e JR-06 foram resintetizados de acordo com as sínteses anteriores, sendo seus rendimentos percentuais de 80% e 70%, respectivamente. Silva (2018) relata um rendimento de 77% para os intermediários JMs, enquanto Moura (2016) relata um rendimento de 72, 5% para o JR-06.

Os derivados JMs e JRs que são grupos que contém um grupo metileno ativado reagiram com os compostos carbonílicos benzaldeído e 4-cloro benzaldeído, como descrito na figura 13, por reações de condensação de Knoevenagel com o mecanismo de reação descrito na figura 19. Esse tipo de reação acontece em meio básico, explicando a utilização da trietilamina.

No primeiro momento do mecanismo a trietilamina é usada para retirar um próton do carbono que se encontra entre o grupo ciano e a carbonila (metileno reativo), o qual já apresenta caráter positivo devido ao efeito eletrônico causado pelos grupamentos vizinhos, tendo o seu próton facilmente abstraído pela trietilamina conduzindo à formação do carbânion. Em sequência, o carbono da carbonila dos aldeídos sofre um ataque nucleofílico do carbono carregado com um par de elétrons livre, ocorrendo a condensação do tipo knovenagel. A hidroxila captura o H geminal, pois ele continua bastante ácido devido ao efeito da nitrila e da carbonila e, conseqüentemente ocorre a liberação da água e formação da dupla ligação.

Figura 19 - Mecanismo de Reação para Obtenção dos derivados N-fenilacetamida e N-acilidrazônico



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

5.2 Caracterização físico-química dos derivados N-fenilacrilamida e do derivado N-acilhidrazônicos

Na tabela 2 abaixo, seguem os resultados obtidos da caracterização físico-química descrita em 4.3:

Tabela 2 - Caracterização Físico-Química dos derivados N-fenilacetamida e N-acilhidrazônico

Código do Composto	Aparência	F.F °C	Rf	Rend. (%)	Fórmula Molecular	MM (g/mol)	Log P
A-07DZ	Pó de coloração marrom escuro	202-203	0,5	47	$C_{16}H_{11}ClN_2O$	282,72	3,64
B-17DZ	Pó de coloração marrom escuro	195-196	0,6	45	$C_{16}H_{10}Cl_2N_2O$	317,17	4,19
C-27DZ	Pó de coloração bege	260-261	0,5	48	$C_{16}H_{11}ClN_2O$	282,72	3,64
D-37DZ	Pó de coloração amarela	229-230	0,5	46	$C_{17}H_{12}ClN_3O$	309,75	4,16

Para os RFs de A-07DZ, B-17DZ e C-27DZ utilizou-se o sistema hexano/acetato (8:2); para D-37DZ utilizou-se o sistema hexano/acetato (9:1).

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Em relação a faixa de fusão os valores mostram uma variação aceitável, que pode ser explicada em virtude da purificação adequada.

Na tabela 2 vemos que os valores de log de P, peso molecular e número de átomos estão de acordo as regras de Lipinski, onde devem está na faixa de: -0,4 a +5,6, 180 a 500 e 20 a 70, respectivamente, evidenciando que se tratam de compostos promissores com características aceitáveis.

5.3 Caracterização térmica

Em conformidade com Filho et al (2021) conhecer adequadamente e compreender a degradação térmica de compositos híbridos, bem como sua relação com as junções orgânicas/inorgânicas internas, é muito importante para prever sua estabilidade. A degradação pode ocorrer como resultado de reações oxidativas ou térmicas, a presença de porções funcionais facilmente hidrolizáveis, como amidas e ésteres, também pode aumentar drasticamente a taxa de degradação. Dessa maneira

o estudo de análises termogravimétricas se torna pertinente para analisar a degradação de compostos sintetizados.

A termogravimetria (TGA) pode ser utilizada para analisar informações valiosas de uma amostra, através da qual pode-se interpretar os processos de liberação e os mecanismos de decomposição. E a análise térmica diferencial (DTA), pode ser útil para determinar as propriedades físicas da amostra, como ponto de fusão, ponto de evaporação e capacidade térmica. (Brecht; Uteschil; Schmitz, 2019).

As curvas termogravimétricas dos compostos A-07DZ, B-17DZ, C-27DZ e D-37DZ, apresentaram diferentes etapas de degradação. A primeira região compreendida entre 50 e 200 °C mostra a perda de umidade presente nas amostras. Na segunda região (200- 400 °C) é possível observar a degradação térmica de grupos oxigenados e de grupos amida. A última região contida entre 400-800 °C representa 14,06% de resíduos inorgânico para a amostra A-07DZ e 27,82% de resíduos inorgânicos para a amostra D-37DZ, que não se decompõe até 800 °C. Também foi possível analisar a porcentagem de perda de massa de cada amostra. Esses resultados estão dispostos na tabela 3, a seguir:

Tabela 3 - Resultados Termogravimétricos e Análise Térmica Diferencial

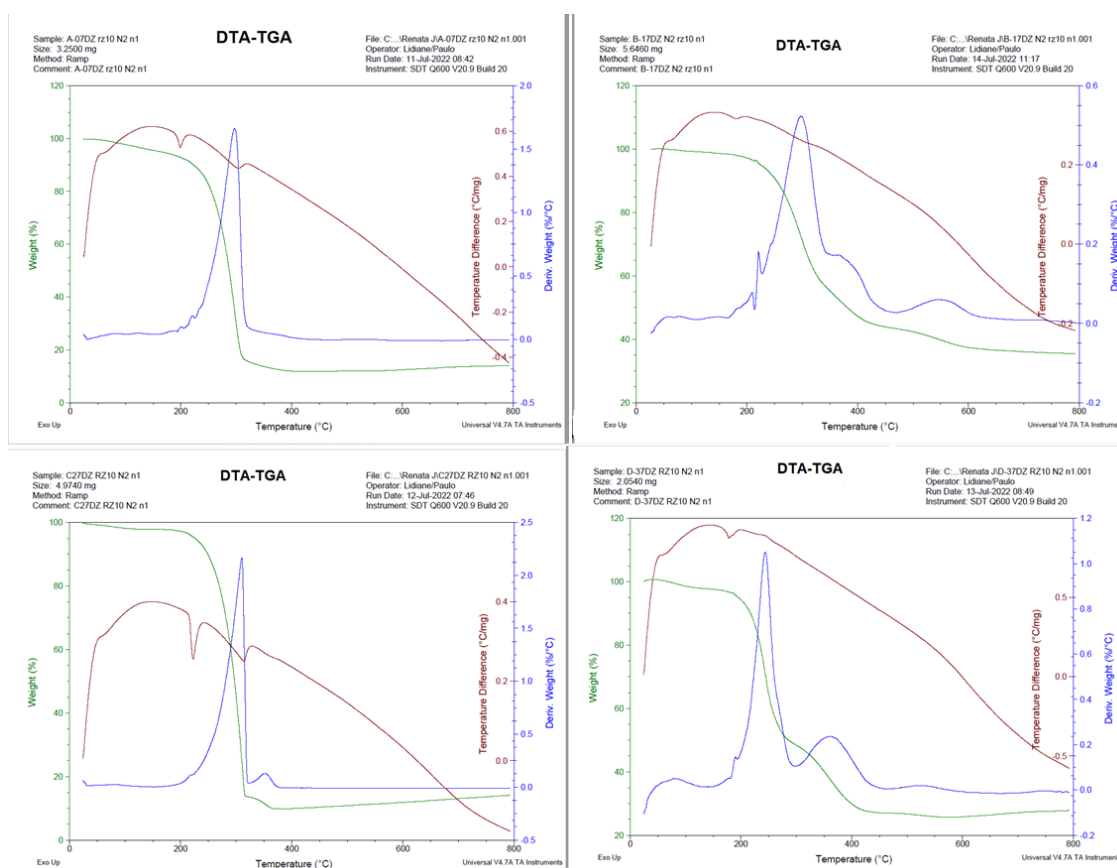
Compostos	TG		Massa (%)	DTA	
	Estágios de Perda	Faixa de Temperatura (°C)		Eventos	T _{pico}
A-07DZ	Primeira	56,04-195,31	6,305	1	198,92
	Segunda	195,31-324,63	77,85	2	300,28
B-17DZ	Primeira	163,94-346,82	98,44	1	106,63
	Segunda	346,82-456,24	42,21	2	180,00
	Terceira	456,24-621,53	12,14	3	298,75
C-27DZ	Primeira	199,13-320,04	83,51	1	222,76
	Segunda	320,04-381,25	3,957	2	314,02

D-37DZ	Primeira	50,69- 181,53	4,038	1	67,64
	Segunda	181,53- 293,25	47,60	2	178,12
	Terceira	293,25- 476,14	21,07	3	214,91

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

A figura 20 apresenta os gráficos das curvas de termogravimetria (TG), de termogravimetria derivada (DTG) e análise térmica diferencial das moléculas sintetizadas: A-07DZ, B-17DZ, C-27DZ e D-37DZ.

Figura 20 - Gráficos das Curvas TG/DTG e DTA



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Analisando os gráficos de DTA e a tabela 3 foi observável os eventos e picos de temperaturas dos compostos sintetizados, nos quais obtiveram-se as seguintes temperaturas máximas de fusão: A-07DZ=198,92 °C; B-17DZ= 180,00°C; C-27DZ=

222,67°C e D-37DZ= 178,12 °C. Essa faixa de fusão é explicada pela falta de cristalinidade desses compostos, visto que se trata de materiais mais amorfos.

5.4 Elucidação estrutural

A elucidação estrutural dos derivados *N*-fenilacrilamida e do derivado *N*-acilidrazônico, foi feita por meio da utilização das técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de próton e carbono 13 (RMN ¹H e ¹³C) e infravermelho (IV), através das quais possibilitou-se comprovar as estruturas de cada derivado, as análises foram realizadas de acordo com PAVIA et al (2010).

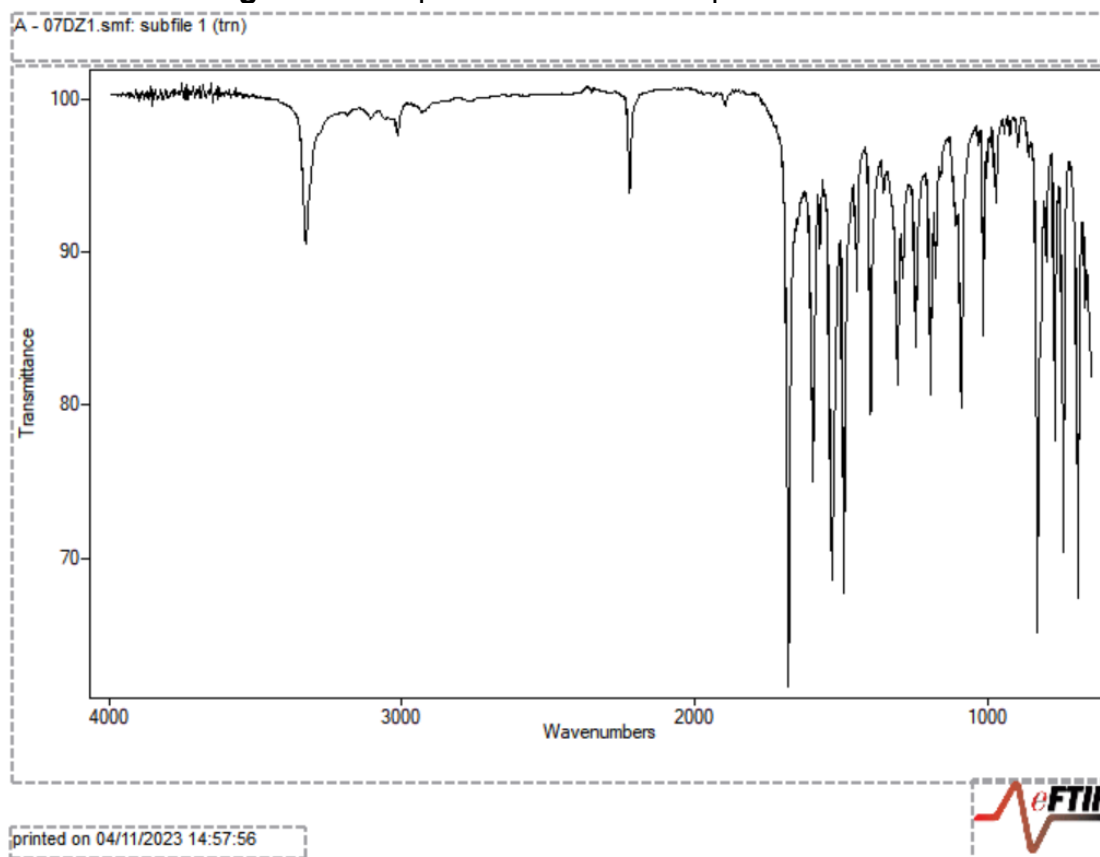
5.4.1. Comprovação estrutural do derivado (*E*)-*N*-(4-clorofenil) -2-ciano-3-fenilacrilamida (A-07DZ)

Analisando o espectro de infravermelho do derivado (A-07DZ), figura 21, com resultados expostos na tabela 4, pode-se observar: uma banda fina de pequena intensidade em 3330,67 cm⁻¹ sugestiva de vibração de estiramento N—H de amida secundária. Bandas finas de média intensidade entre 1646,21 cm⁻¹ e 1541,43 cm⁻¹ indicativa a vibração de dobramento N—H de amida secundária. Banda de pequena intensidade em 2225,55 cm⁻¹ suscetível a vibração C≡N. Banda fina de alta intensidade em 1686,15 cm⁻¹ sinalizadora da vibração C=O de amida. Banda fina de pequena intensidade em 3014,92 cm⁻¹ sugerindo a vibração de estiramento C—H de aromáticos. Banda fina de alta intensidade em 1607,21 cm⁻¹ e banda de média intensidade 1475,65 cm⁻¹ indicando a vibração C=C de aromáticos. Banda fina de alta intensidade em 831,00 cm⁻¹ sinalizadora da vibração de dobramento C—H de aromáticos fora do plano. Bandas de alta, média e pequena intensidade entre 778,37 cm⁻¹ a 646,81 cm⁻¹ sugestiva de vibração C—Cl (PAVIA et al; 2010, p. 29, 67-71).

Tabela 4 - Resultados de IV do composto A-07DZ

Composto	IV (cm ⁻¹)
A-07DZ	3330,67 (v N-H); 3014,92 cm ⁻¹ (v C—H _{Ar}); 2225,55 cm ⁻¹ (v C≡N); 1686,15 cm ⁻¹ (v C=O); 1646,21 cm ⁻¹ e 1541,43 cm ⁻¹ (v N-H); 1607,21 cm ⁻¹ e 1475,65 cm ⁻¹ (v C=C _{Ar}); 831,00 cm ⁻¹ (v C—H _{Ar}); 778,37 cm ⁻¹ a 646,81 cm ⁻¹ (v C—Cl).

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Figura 21 - Espectro de IV do Composto A-07DZ

Fonte: dados da pesquisa (2022).

Na tabela 5 estão descritos os valores de deslocamento para o derivado A-07DZ. De acordo com o espectro RMN ^1H (600 MHz, DMSO) (tabela 5) (Figura 22), foi possível observar um sinal em forma de singleto com integral para um H e com deslocamento em δ 10,55, característico de NH de amida. Os hidrogênios ligados a um nitrogênio amida têm deslocamentos variáveis entre 5,0-9,0 ppm, depende da temperatura, da concentração e do solvente (PAVIA et al., 2010, p.152). Nesse caso, isso pode ser explicado devido ao efeito anisotrópico causado pela presença de um sistema insaturado de elétrons π nas proximidades do próton em questão. Além do efeito eletronegativo do nitrogênio que produz blindagem diamagnética local, substituintes eletronegativos ligados a um átomo de carbono retiram elétrons, reduzindo a densidade eletrônica ao redor dos prótons, que ficam desprotegidos e têm um deslocamento químico maior. O sinal em forma de singleto com integral para um hidrogênio com deslocamento em δ 8,30 é referente ao H que está ligado ao carbono sp^2 próximo do grupo cianeto, na figura 26 está destacado em azul. Hidrogênios vinilas simples ($-\text{C}=\text{C}-\text{H}$) têm ressonância na faixa de 4,5 a 7 ppm, o deslocamento citado

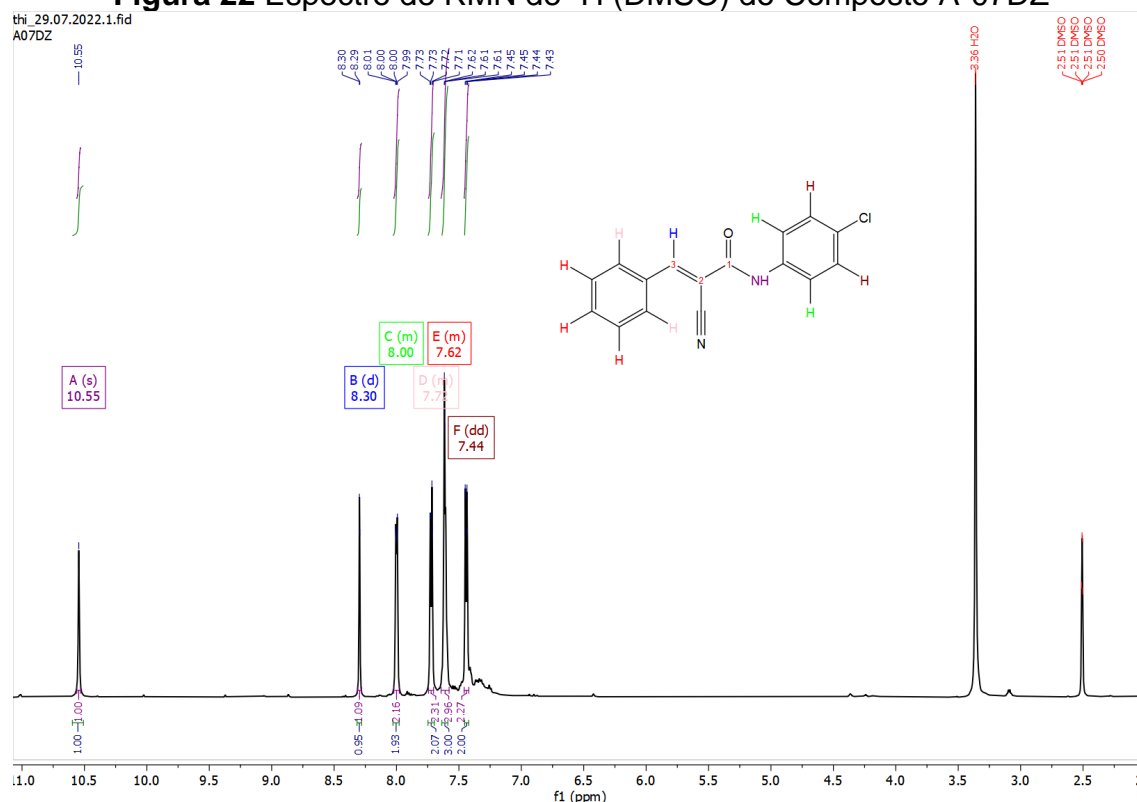
para esse próton deve-se ao efeito causado pelo anel diretamente ligado ao carbono sp^2 , assim sendo temos o efeito da hibridização e da anisotropia.

Tabela 5 - Dados de RMN 1H (DMSO, 600 MHz) do Composto A-07DZ

Composto	Deslocamento (δ ppm)
A-07DZ	δ 10.55 (s, 1H), 8.30 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.02 – 7.98 (m, 2H), 7.74 – 7.70 (m, 2H), 7.66 – 7.58 (m, 3H), 7.44 (dd, $J = 8.7, 2.0$ Hz, 2H).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Figura 22 Espectro de RMN de 1H (DMSO) do Composto A-07DZ



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Em relação ao espectro de ^{13}C do composto A-07DZ (tabela 6) (Figura 23) observou-se resultados dentro da faixa esperada, pois compostos com ligações duplas carbono-carbono em anéis aromáticos geram deslocamentos entre 100 e 175 ppm (PAVIA et al., 2010, p.189). Segue abaixo uma tabela com os valores obtidos:

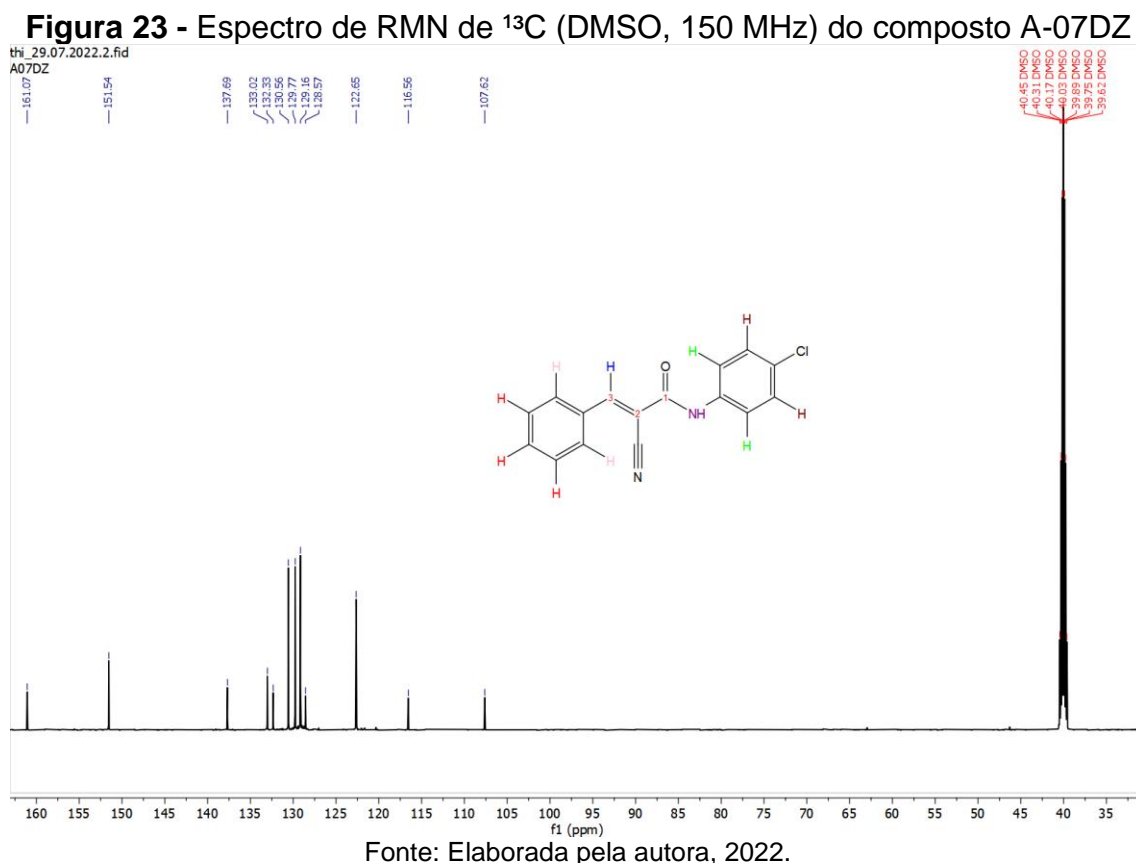
Tabela 6 - Dados de RMN de ^{13}C (DMSO, 150 MHz) do composto A-07DZ

Composto	Deslocamento (δ ppm)
A-07DZ	δ 161.07, 151.54, 137.69, 133.02, 132.33, 130.56, 129.77, 129.24, 122.65, 107.62.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Como podemos observar (Figura 23) houve 12 diferentes picos dentro da faixa de absorção do espectro de RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO), isso ocorre porque os átomos de carbonos equivalentes aparecem no mesmo deslocamento químico, além de que segundo (Pavia et al., 2010, p.190): Quando estiverem presentes substituintes idênticos, deve-se observar com atenção a existência de planos de simetria, que podem reduzir o número de picos. O deslocamento de valor 161,07 ppm é referente ao carbono 1, o carbono 2 teve um deslocamento de 107,62 ppm, já o carbono 3 apareceu na faixa de 151,54. O carbono diretamente ligado a função amida pode ser visto no deslocamento de 137,69 ppm, para o carbonos que estão na posição orto a essa função observou-se deslocamento de 122,65; para os carbonos na posição meta o deslocamento foi de 129,16 ppm; em relação ao carbono que se encontra na posição para ligado ao cloro, vê-se o deslocamento de 133,02. Se tratando do anel ligado ao carbono 3, observou o seguinte: deslocamento de 130,56 para os carbonos na posição orto; para os carbonos na posição meta um valor de 129,77 para o deslocamento, já para o carbono na posição para o valor de deslocamento observado foi de 128,57.

A análise dos dados de RMN ^1H e ^{13}C e comparação com dados da literatura para compostos com o núcleo *N*-fenilacrilamida (Silva, 2020, p.64) foi possível elucidar a estrutura de A-07DZ como sendo (E)-*N*-(4-clorofenil) -2-ciano-3- fenilacrilamida (A-07DZ) (Figura 15).



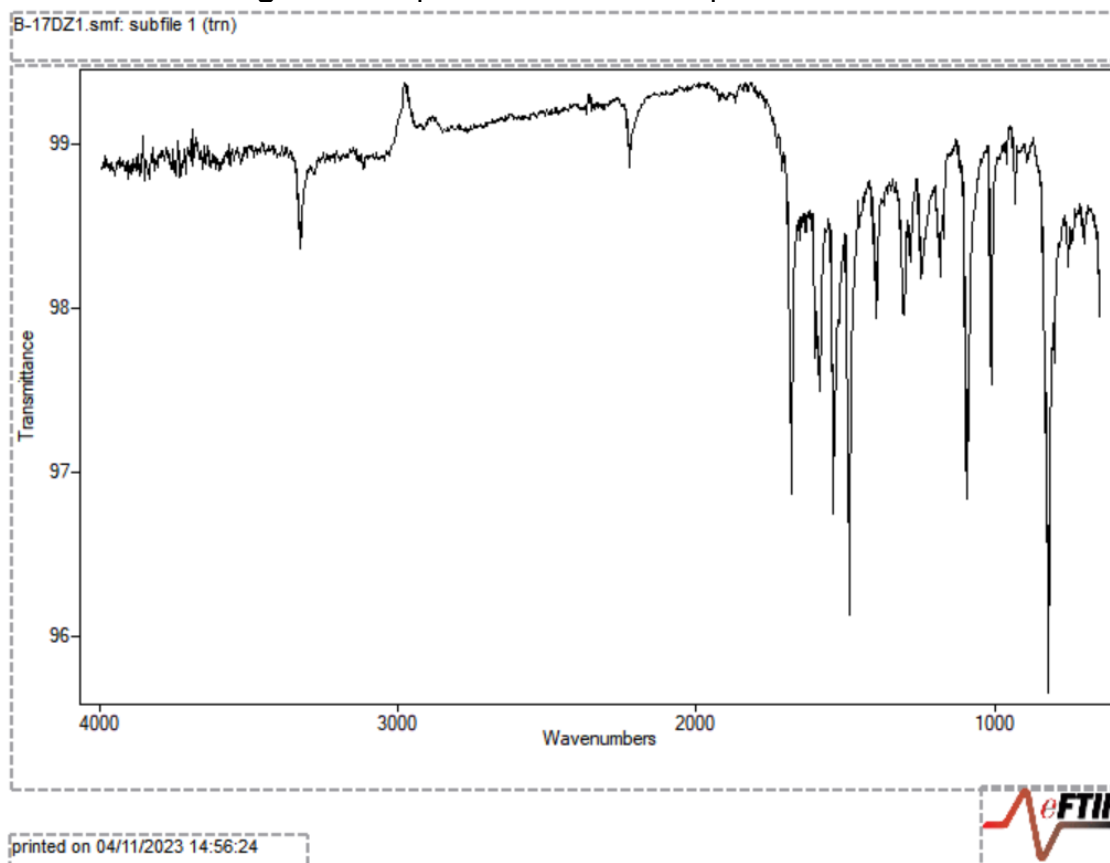
5.4.2 Comprovação estrutural do derivado (*E*)-*N*,3-bis(4-clorofenil) -2-cianolacrilamida (B-17DZ)

Como visto na figura 24, com resultados descritos na Tabela 7, obtivemos a seguinte análise a partir do espectro do derivado B-17DZ: banda fina de pequena intensidade em $3334,11\text{ cm}^{-1}$ indicativa a vibração de estiramento N—H de amida secundária. Bandas finas de média e pequena intensidade entre $1597,36\text{ cm}^{-1}$ e $1545,9\text{ cm}^{-1}$ sugestivas da vibração de dobramento N—H de amida secundária. Banda fina de pequena intensidade em $2227,74\text{ cm}^{-1}$ indicadora da vibração $\text{C}\equiv\text{N}$. Banda de média intensidade em $1687,41\text{ cm}^{-1}$ reveladora da vibração $\text{C}=\text{O}$ de amida. Banda larga de pequena intensidade entre $3115,41\text{ cm}^{-1}$ a $3102,00\text{ cm}^{-1}$ sugerindo a vibração de estiramento C—H de aromáticos. Banda fina de alta intensidade em $1494,44\text{ cm}^{-1}$ indicando a vibração $\text{C}=\text{C}$ de aromáticos. Banda fina de pequena intensidade em $941,25\text{ cm}^{-1}$ e banda fina de alta intensidade em $825,46\text{ cm}^{-1}$ sugestiva da vibração de dobramento C—H de aromáticos fora do plano. Bandas de pequena intensidade entre $748,28\text{ cm}^{-1}$ a $709,68\text{ cm}^{-1}$ revelando a vibração C—Cl (PAVIA et al; 2010, p. 29, 67-71).

Tabela 7 - Resultados de IV do Composto B-17DZ

Composto	IV (cm ⁻¹)
B-17DZ	3334,11 cm ⁻¹ (ν N-H); 3115,41 cm ⁻¹ a 3102,00 cm ⁻¹ (ν C—H _{Ar}); 2227,74 cm ⁻¹ (ν C≡N); 1687,41 cm ⁻¹ (ν C=O); 1597,36 cm ⁻¹ e 1545,9 cm ⁻¹ (ν N-H); 1494,44 cm ⁻¹ (ν C=C _{Ar}); 941,25 cm ⁻¹ e 825,46 cm ⁻¹ (ν C—H _{Ar}); 748,28 cm ⁻¹ a 709,68 cm ⁻¹ (ν C—Cl).

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Figura 24 Espectro de IV do Composto B-17DZ

Fonte: dados da pesquisa (2022).

Na tabela 7 estão descritos os valores de deslocamento para o derivado B-17DZ. A partir do espectro ¹H NMR (600 MHz, DMSO) (Figura 25), foi possível observar um sinal em forma de singleto com integral para um H com deslocamento em δ 10,56 característico de NH de amida. Esse valor de deslocamento corrobora com valores encontrados nos estudos de LAL et al (2020, página 3) e SILVA et al (2022, página 5). O sinal em forma de singleto com integral para um hidrogênio com deslocamento em δ 8,28 é referente ao H-8 (figura) que está ligado ao carbono sp² próximo do grupo cianeto. As diferenças de deslocamento são explicadas pelos

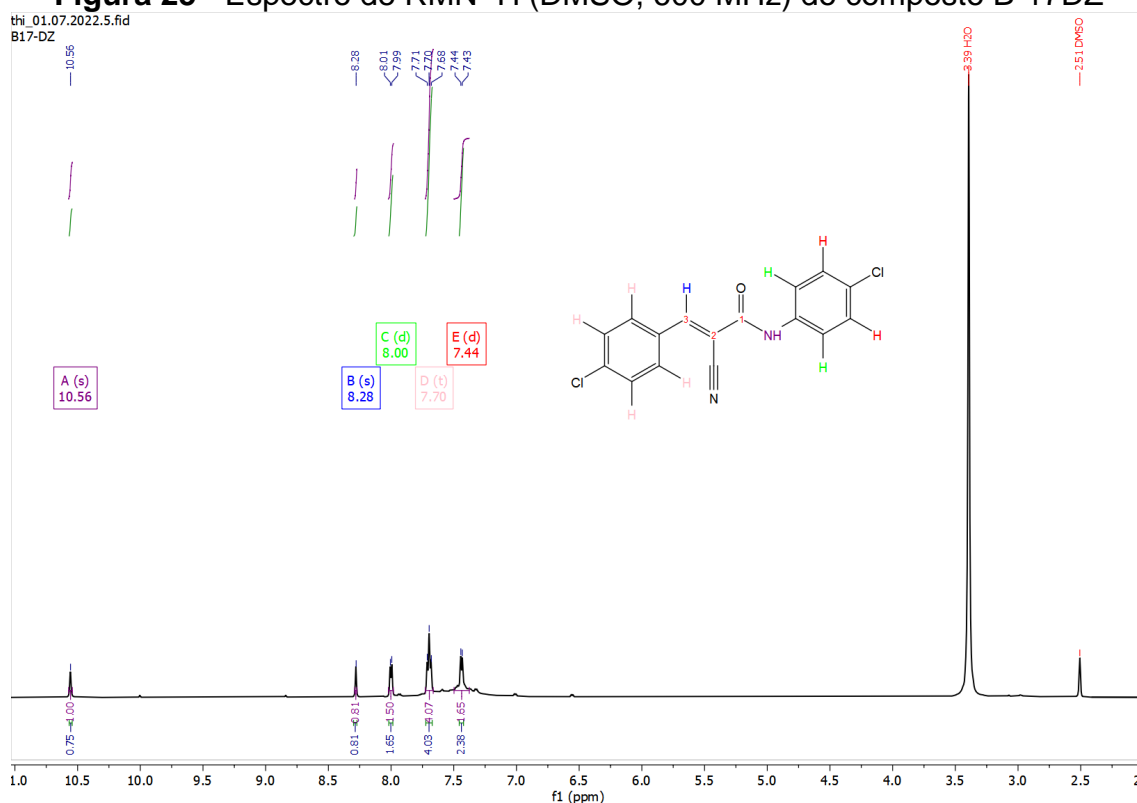
efeitos explanados em (5.4.1). Ademais os valores encontrados para os outros hidrogênios variam entre a faixa esperada para aromáticos (6,5-8,0 ppm).

Tabela 7 - Dados de RMN de ^1H (DMSO, 600 MHz) do Composto B-17DZ

Composto	Deslocamento (δ ppm)
B-17DZ	δ 10.56 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.00 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H), 7.70 (t, $J = 9.7$ Hz, 4H), 7.44 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Figura 25 - Espectro de RMN ^1H (DMSO, 600 MHz) do composto B-17DZ



Como é possível visualizar na (Figura 26) (tabela 8) cada carbono teve um valor de deslocamento diferente para absorção no espectro de RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO). Segue no quadro abaixo cada deslocamento detectado para os átomos de carbono do composto B-17DZ:

Tabela 8 - Dados de RMN de ^{13}C (DMSO, 150 MHz) do Composto B-17DZ

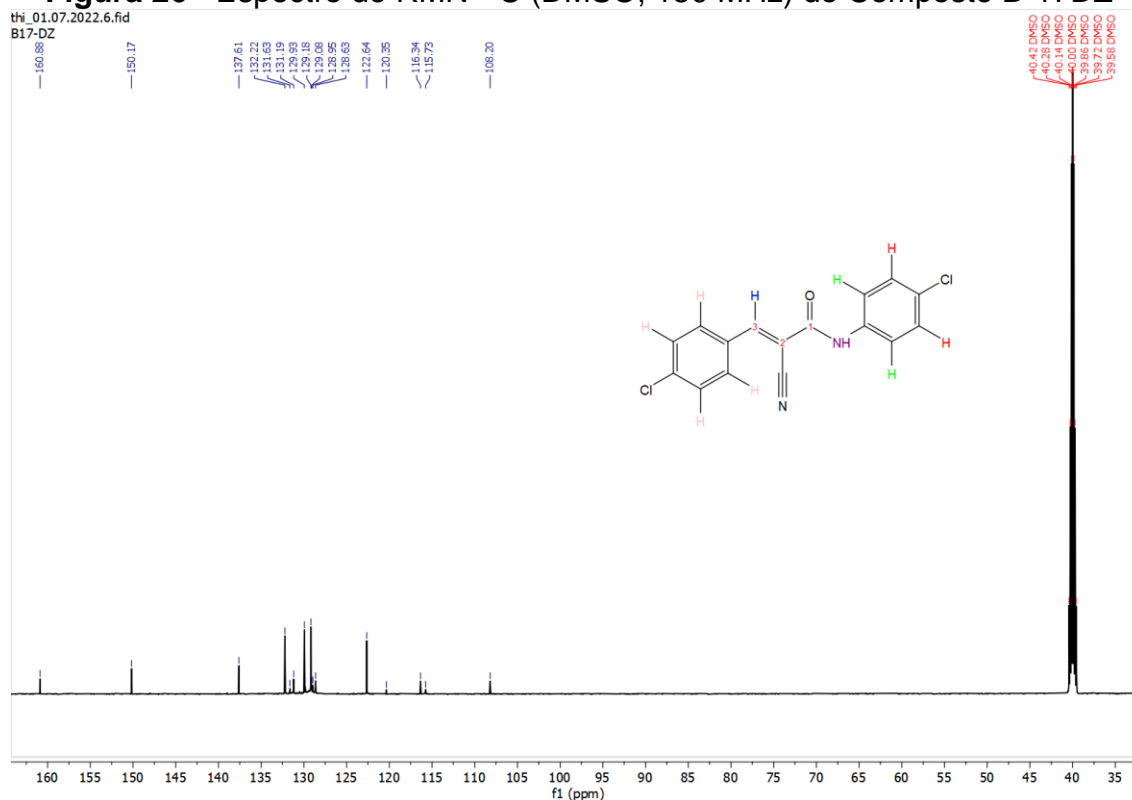
Composto	Deslocamento (δ ppm)
B-17DZ	δ 160.88, 150.17, 137.61, 132.22, 131.63, 131.19, 129.93, 129.18, 129.08, 128.95, 128.63, 122.64, 120.35, 116.34, 115.73, 108.20.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Note que o valor do deslocamento atribuído ao carbono 11 é de 160,88 ppm que está dentro da faixa de correlação para grupo carbonila de amidas com faixa: 155-185 ppm, já o carbono 7 com um deslocamento de 150,17 ppm foi atribuído por se tratar de um carbono saturado (sp^2) o qual varia entre 100-150 ppm na faixa de correlação, enquanto os carbonos em aromáticos estão na faixa de 110-175 ppm, para o grupo cianeto temos a faixa de variação entre 110-140 ppm atestando o valor de 115,73 atribuído ao carbono 10 (PAVIA et al., 2010, p. 170-171).

Os resultados de RMN 1H e 13C analisados para o espectro de carbono se consolidam com os estudos de LAL et al (2020) e SILVA et al (2022). Portanto, foi possível elucidar a estrutura de B-17DZ como sendo (E)-N,3-bis(4-clorofenil) -2-cianolacrilamida (B-17DZ) (Figura 16).

Figura 26 - Espectro de RMN ^{13}C (DMSO, 150 MHz) do Composto B-17DZ



5.4.3 Comprovação estrutural do derivado (E)-3-(4-clorofenil) -2-ciano-N-fenilacrilamida (C-27DZ)

A partir do espectro de infravermelho do derivado C-27DZ (figura 27), tabela 9, obtivemos os seguintes resultados: banda fina de pequena intensidade em 3321,25 cm^{-1} indicativa da vibração de estiramento N—H de amida secundária. Bandas fina de média intensidade em 1545,9 cm^{-1} sugestiva da vibração de dobramento N—H de

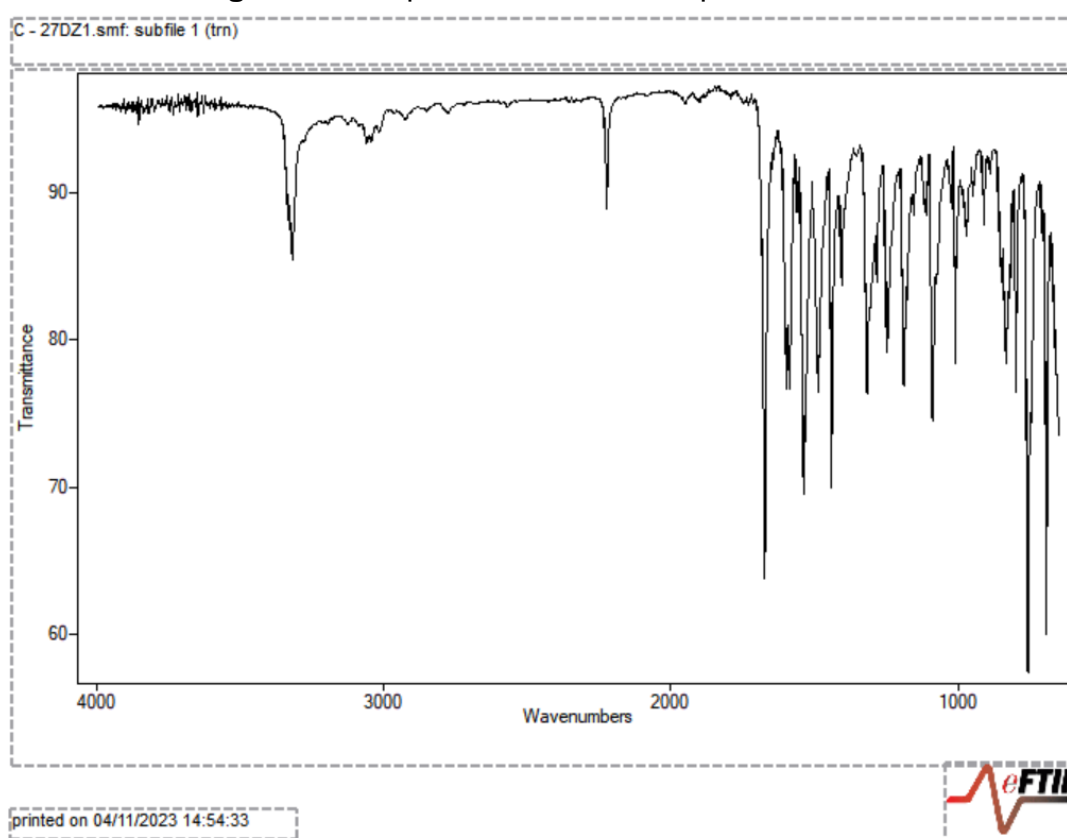
amida secundária. Banda fina de pequena intensidade em $2214,87\text{ cm}^{-1}$ sinalizadora da vibração $\text{C}\equiv\text{N}$. Banda fina de alta intensidade em $1674,55\text{ cm}^{-1}$ até banda fina de média intensidade em $1623,09\text{ cm}^{-1}$ reveladora da vibração $\text{C}=\text{O}$ de amida. Banda larga de pequena intensidade em $3063,95\text{ cm}^{-1}$ sugerindo a vibração de estiramento $\text{C}-\text{H}$ de aromáticos. Banda fina de média intensidade entre $1494,44\text{ cm}^{-1}$ a $1468,71\text{ cm}^{-1}$ sinalizando a vibração $\text{C}=\text{C}$ de aromáticos. Banda fina de pequena intensidade em $915,52\text{ cm}^{-1}$ e banda fina de alta intensidade em $696,82\text{ cm}^{-1}$ revelando a vibração de dobramento $\text{C}-\text{H}$ de aromáticos fora do plano. Banda fina de alta intensidade entre $748,28\text{ cm}^{-1}$ sugestiva da vibração $\text{C}-\text{Cl}$ (PAVIA et al; 2010, p. 29, 67-71).

Tabela 9 - Resultados de IV do Composto C-27DZ

Composto	IV (cm^{-1})
C-27DZ	$3321,25\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{ N-H}$); $3063,95\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{ C-H}_{\text{Ar}}$); $2214,87\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{ C}\equiv\text{N}$); $1674,55\text{ cm}^{-1}$ e $1623,09\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{ C=O}$); $1545,9\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{ N-H}$); $1494,44\text{ cm}^{-1}$ a $1468,71\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{ C=C}_{\text{Ar}}$); $915,52\text{ cm}^{-1}$ e $696,82\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{ C-H}_{\text{Ar}}$); $748,28\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{ C-Cl}$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Figura 27 - Espectro de IV do Composto C-27DZ



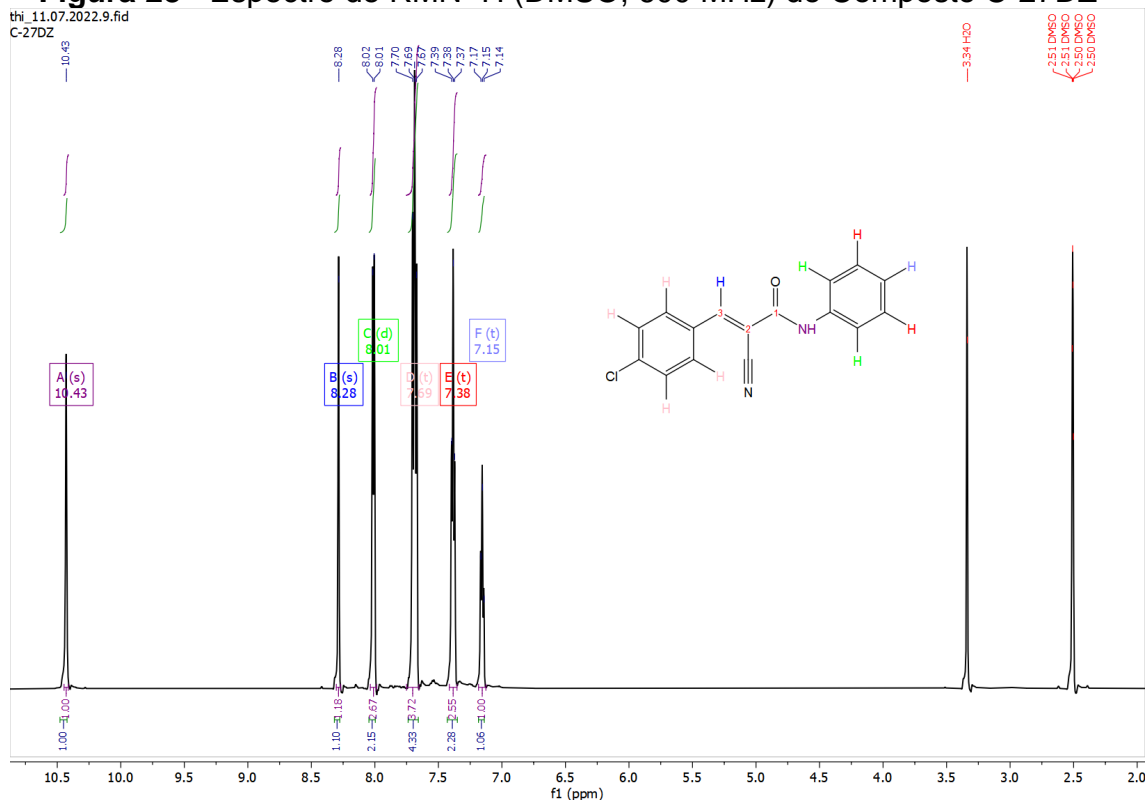
Fonte: dados da pesquisa (2022).

No espectro de RMN ^1H (600 MHz, DMSO) do composto C-27DZ (Figura 27) e (tabela 10), pode-se ver um sinal em forma de singleto com integral para um H com deslocamento em δ 10,43 característico de NH de amida, os hidrogênios ligados a um nitrogênio amida têm deslocamentos variáveis. Se observa variações como foi visto nos trabalhos de Nafeesa et al (2017, páginas 4 e 5) e Guo et al (2020, página 7), nos quais os valores atribuídos para o H característico de amida variam na faixa entre 9-12 ppm, consolidando os resultados encontrados nesse estudo. A motivação dessa irregularidade é relatada no item (5.4.1). O sinal em forma de singleto com integral para um hidrogênio com deslocamento em δ 8,29 é referente ao H que está ligado ao carbono sp^2 próximo do grupo cianeto. O deslocamento citado para esse próton deve-se ao efeito causado pelo anel diretamente ligado ao carbono sp^2 , assim sendo temos o efeito da hibridização e da anisotropia.

Tabela 10 - Dados de RMN ^1H (DMSO, 600 MHz) do Composto C-27DZ

Composto	Deslocamento (δ ppm)
C-27DZ	δ 10.43 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.01 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 7.69 (t, $J = 8.9$ Hz, 4H), 7.38 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 7.15 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

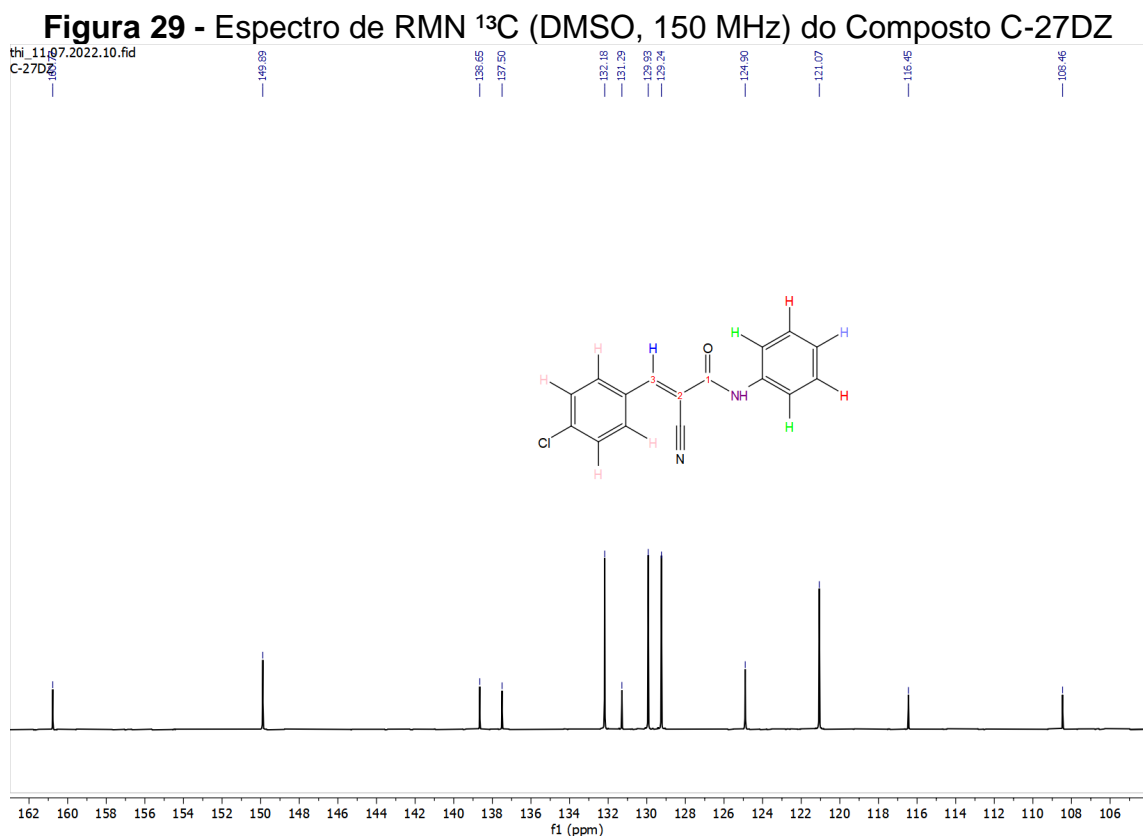
Figura 28 - Espectro de RMN ^1H (DMSO, 600 MHz) do Composto C-27DZ

Podemos ver (Figura 29) (tabela 11) dentro da faixa de absorção do espectro de RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO) do composto C-27DZ que os átomos de carbonos equivalentes aparecem no mesmo deslocamento químico, devido ao plano de simetria presente nessa molécula, assim como vimos no composto A-17DZ. Segue na tabela abaixo os deslocamentos encontrados para cada carbono:

Tabela 11- Dados de RMN ^{13}C (DMSO, 150 MHz) do Composto C-27DZ

Composto	Deslocamento (δ ppm)
C-27DZ	δ 160.77, 149.89, 138.65, 137.50, 132.18, 131.29, 129.93, 129.24, 124.90, 121.07, 116.45, 108.46.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Esses valores estão de acordo com os esperados para cada tipo de carbono visto que variam na faixa adequada de deslocamentos químicos para carbonos aromáticos (110-175 ppm), cianeto (110-140 ppm). O deslocamento de valor 160,77 ppm é referente ao carbono 1, o carbono 2 teve um deslocamento de 108,46 ppm, já o carbono 3 apareceu na faixa de 149,89. O carbono anel diretamente ligado a função amida pode ser visto no deslocamento de 138,65 ppm, para os carbonos que estão na posição orto, observou-se deslocamento de 121,07; para os carbonos na posição meta o deslocamento foi de 124,90 ppm; em relação ao carbono que se encontra na posição, vê-se o deslocamento de 129,24. Se tratando do anel ligado ao carbono 3, observou o seguinte: deslocamento de 132,18 para os carbonos na posição orto; para os carbonos na posição meta um valor de 129,93 para o deslocamento, já para o carbono na posição para, ligado ao substituinte cloro o valor de deslocamento observado foi de 137,50.

A partir da análise dos dados de RMN ^1H e ^{13}C e comparação com dados da literatura Naafesa et al (2017) e Guo et al (2020), foi possível elucidar a estrutura de C-27DZ como sendo (E)-3-(4-clorofenil) -2-ciano-N-fenilacrilamida (C-27DZ) (Figura 17).

5.4.4 Comprovação estrutural do derivado (2E, N'E) -N'-(4-clorobenzilideno) -2-ciano-N-fenilacrilohidrazida (D-37DZ)

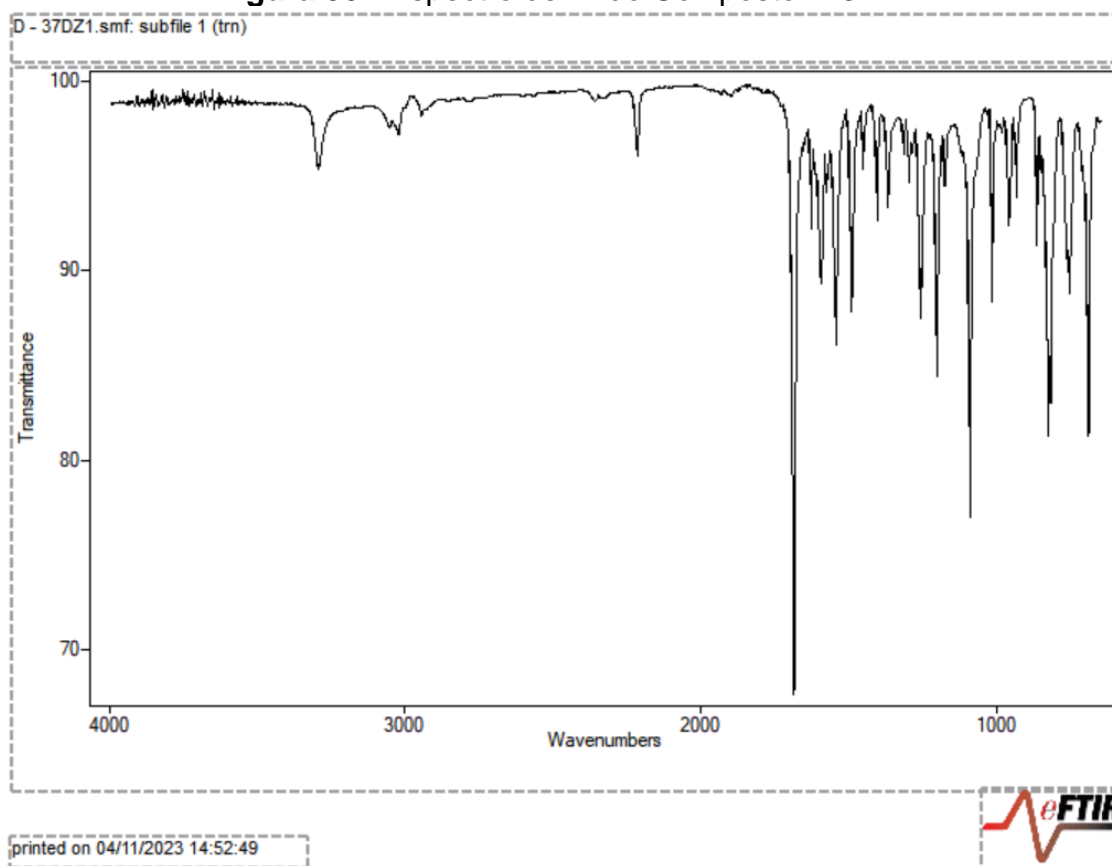
Com a análise do espectro (figura 30) e (tabela 12), verificou-se: banda fina de pequena intensidade em $3291,2 \text{ cm}^{-1}$ indicativa da vibração de estiramento N—H de amida secundária. Bandas fina de média intensidade entre $1646,68 \text{ cm}^{-1}$ e $1554,59 \text{ cm}^{-1}$ sugestiva da vibração de dobramento N—H de amida secundária. Banda fina de pequena intensidade em $2225,55 \text{ cm}^{-1}$ sinalizadora da vibração $\text{C}\equiv\text{N}$. Banda fina de alta intensidade em 1673 cm^{-1} reveladora da vibração $\text{C}=\text{O}$ de amida. Banda larga de pequena intensidade em $3041,23 \text{ cm}^{-1}$ sugerindo a vibração de estiramento C—H de aromáticos. Banda fina de média intensidade entre $1607,21$ a $1475,65 \text{ cm}^{-1}$ sinalizando a vibração $\text{C}=\text{C}$ de aromáticos. Banda fina de pequena intensidade em $936,25 \text{ cm}^{-1}$ revelando a vibração de dobramento C—H de aromáticos fora do plano. Banda fina de alta intensidade entre $699,44 \text{ cm}^{-1}$ sugestiva da vibração C—Cl (PAVIA et al; 2010, p. 29, 67-71).

Tabela 12 - Resultados de IV do Composto D-37DZ

Composto	IV (cm^{-1})
D-37DZ	$3291,2 \text{ cm}^{-1}$ (v N-H); $3041,23 \text{ cm}^{-1}$ (v C—H); $2225,55 \text{ cm}^{-1}$ (v $\text{C}\equiv\text{N}$); 1673 cm^{-1} (v $\text{C}=\text{O}$); $1646,68 \text{ cm}^{-1}$ a $1554,59 \text{ cm}^{-1}$ (v N-H); $1607,21$ a $1475,65 \text{ cm}^{-1}$ ($\text{C}=\text{C}_{\text{Ar}}$); $936,25 \text{ cm}^{-1}$ (v C—H); $699,44 \text{ cm}^{-1}$ (v C—Cl).

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Figura 30 - Espectro de IV do Composto D-37DZ



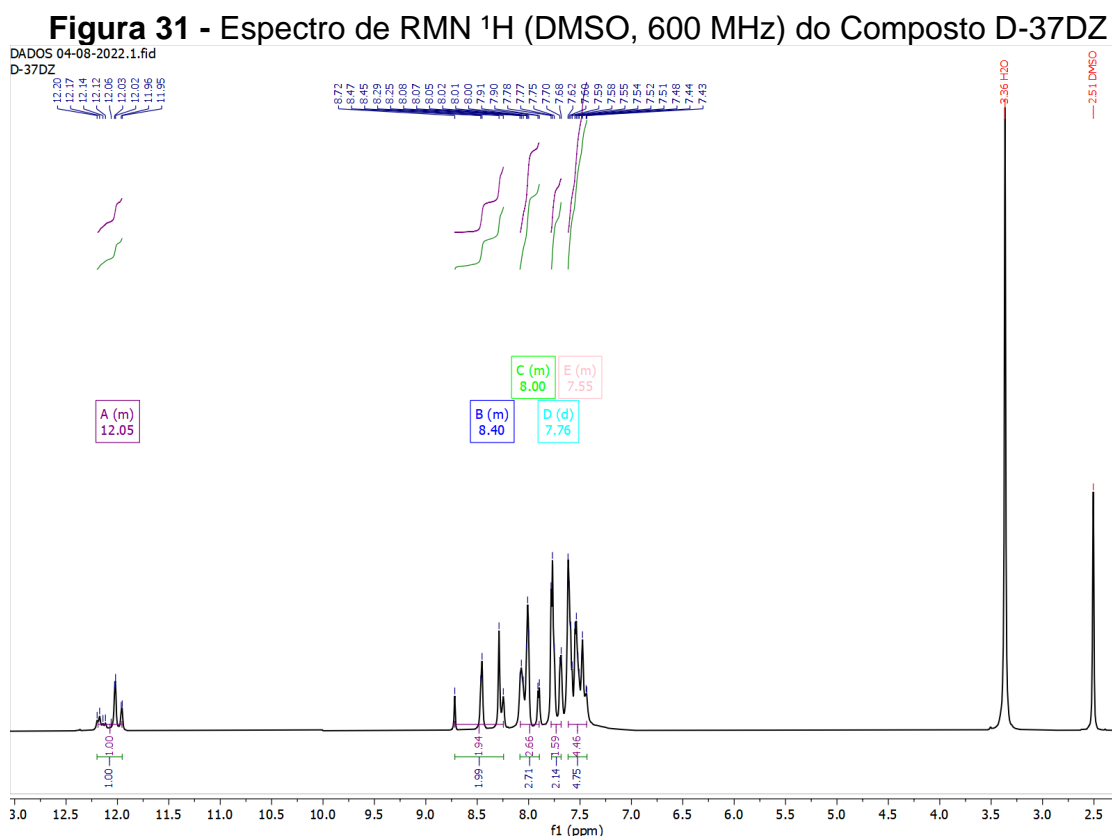
Fonte: dados da pesquisa (2022).

No espectro de RMN ^1H (600 MHz, DMSO) do composto D-37DZ (figura 31 e tabela 13), pode-se observar um sinal em forma de multipletto com integral para um H com deslocamento entre δ 12,19-11,96 referente ao hidrogênio do NH ligado ao carbono 1, esse valor pode ser esclarecido devido a anisotropia causada pelas ligações π presentes no anel. O sinal em forma multipletto com deslocamento entre δ 8,72 – 8,25 se trata dos hidrogênios diretamente ligados aos carbonos sp^2 , os quais se ligam ao carbono 3 e ao carbono com ligação dupla com o nitrogênio. O multipletto com deslocamento entre δ 8,08 – 7,90 é alusivo aos hidrogênios orto do anel com o substituinte cloro. O sinal em forma de dupletto é referente aos hidrogênios que estão em posição meta do anel com o substituinte cloro. Já o sinal em forma de multipletto gerado no deslocamento entre 7,61-7,43 se trata dos hidrogênios do anel que não tem substituintes, o qual se liga ao carbono 3.

Tabela 13 - Resultados ^1H NMR do Composto D-37DZ

Composto	Deslocamento (δ ppm)
D-37DZ	δ 12.19 – 11.96 (m, 1H), 8.72 – 8.25 (m, 2H), 8.08 – 7.90 (m, 2H), 7.76 (d, $J = 10.3$ Hz, 2H), 7.61 – 7.43 (m, 5H).

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

A duplicidade de sinais pode ser esclarecida pela presença dos diferentes confômeros (syn e anti) dos derivados acilidrazônicos, como mostrado no trabalho desenvolvido por (RAMOS et al., 2022), no qual foi confirmado por meio dos espectros de ressonância magnética de hidrogênio que a amida gerou confômeros, os autores analisaram os espectros nas temperaturas de 60 °C e 90 °C e em temperatura ambiente, nas temperaturas citadas foi observável coalescência do sinal da função imina. Entretanto, ainda foi possível observar a duplicidade de sinais da amida, o que confirma o fato de que esses confômeros são estáveis à temperatura ambiente.

Conforme (RAMOS et al., 2022) a possibilidade de interações intramoleculares pode justificar a formação de confômeros estáveis em temperaturas mais baixas, e sua coalescência ocorre após o fornecimento de energia ao sistema, descartando a

possibilidade de misturas dos isômeros *Z* e *E*. Considerando a semelhança estrutural entre o derivado desse estudo (AMZ-BZ) e o derivado (D-37DZ), podemos prever que o derivado (D-37DZ) aqui apresentado pode apresentar formas canônicas semelhantes.

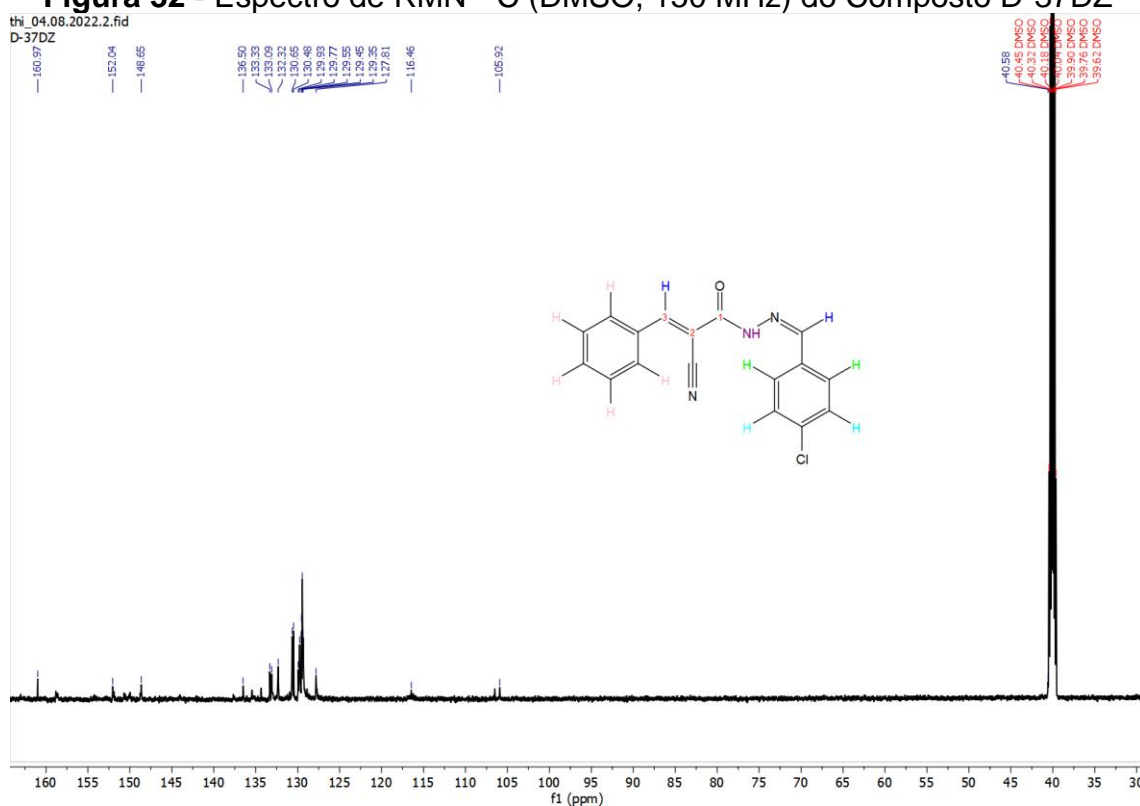
Se tratando do espectro de RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO) do composto D-37DZ (Figura 32) é observável picos dentro da faixa de absorção esperada para carbonos em anéis aromáticos com deslocamento entre δ 110-175, assim como na faixa de absorção esperada para carbonila de grupo amida com deslocamento entre δ 155-185 (PAVIA et al; 2010, página 170). Segue na (tabela 14), os deslocamentos encontrados para cada carbono.

Tabela 14 - Dados de RMN de ^{13}C (DMSO, 150 MHz) do Composto D-37DZ

Composto	Deslocamento (δ ppm)
D-37DZ	δ 160.97, 152.04, 148.65, 136.50, 133.33, 133.09, 132.32, 130.65, 130.48, 129.93, 129.77, 129.55, 129.45, 129.35, 127.81, 116.46, 105.92

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Figura 32 - Espectro de RMN ^{13}C (DMSO, 150 MHz) do Composto D-37DZ



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

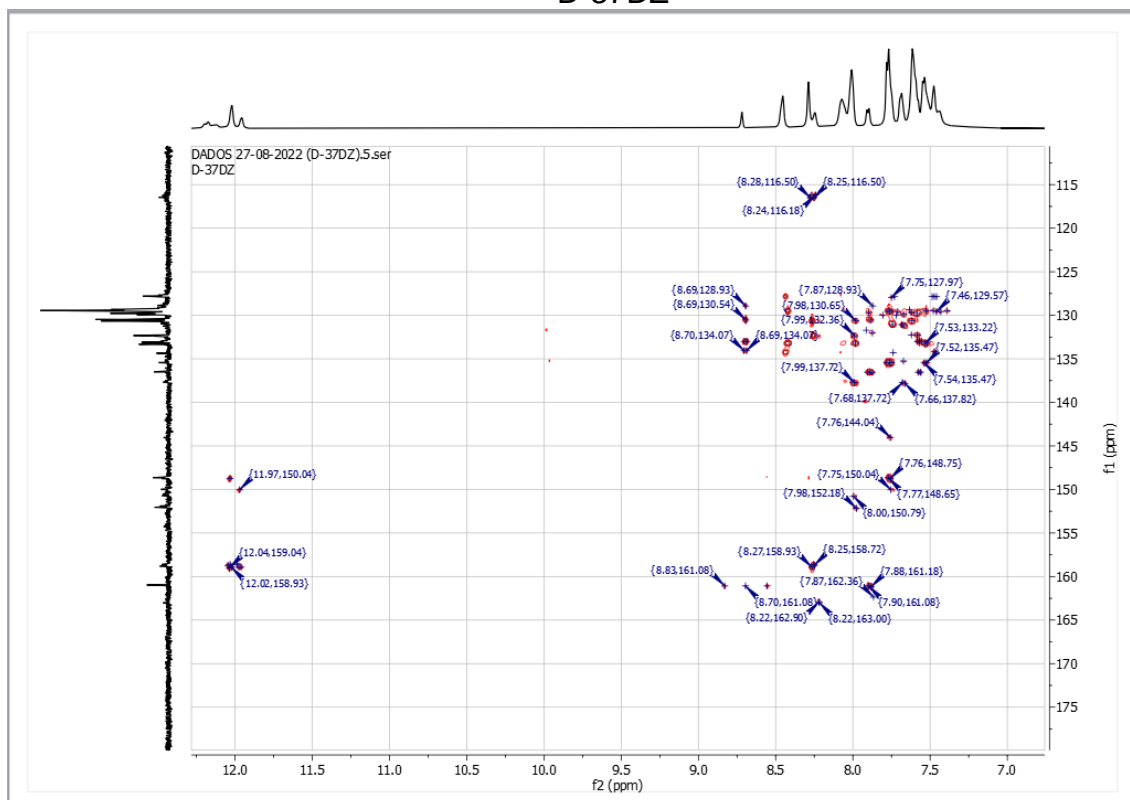
O deslocamento no valor de 160,97 ppm é referente ao carbono 1, deslocamento de 152,04 ppm para o carbono 3, deslocamento de 148,65 ppm alusivo ao carbono que se liga duplamente ao átomo de nitrogênio, deslocamento no valor de 116,46 ppm pertencente ao carbono do grupo ciano, deslocamento de 105,52 relativo ao carbono 2. Os demais valores de deslocamentos pertencem aos carbonos dos anéis aromáticos.

Além dos espectros de ressonância magnética nuclear unidimensional do composto D-37DZ, foi efetuado o espectro bidimensional HMBC (do inglês, Heteronuclear Multiple Bond Correlation) um experimento de duas dimensões que apresenta as correlações entre os núcleos envolvidos que estão distantes por mais de uma ligação química. Através do qual possibilitou-se uma melhor elucidação estrutural do composto, visto que foi possível atribuir os valores de deslocamento para hidrogênios e carbonos analisando-se a relação entre os átomos vizinhos.

De acordo com (Furrer, J. 2011, pág, 295) o espectro HMBC é um experimento ideal quando uma porção carbonila ou outro grupo de carbono não protonado está envolvido, pois fornece uma riqueza de informações estruturais, que possibilitam atribuição completa, por meio de correlação de longo alcance para pares de spin ^{13}C e ^1H . Este experimento inclui carbonos quaternários e heteronúcleos, fornecendo uma maneira de ligar diferentes fragmentos. Portanto, tornou-se rapidamente a maneira padrão de detectar a presença de acoplamentos de longo alcance em moléculas de tamanho pequeno e médio e para construir e verificar esqueletos moleculares.

No espectro de RMN 2D HMBC (DMSO, 150 x 600 MHz) do composto D-37DZ (Figura 33), foi possível observar a correlação do hidrogênio (29) com os carbonos C7 e C9. As correlações do hidrogênio (H34) com os carbonos C9 e C11. As correlações do hidrogênio (H16) com os carbonos, C9, C14 e C21. Assim como podemos visualizar que hidrogênios com valores de deslocamento referentes aos valores indicados para H ligados aos anéis aromáticos se relacionam com valores de deslocamentos de carbonos indicados para os anéis aromáticos.

Figura 33 - Espectro de RMN 2D HMBC (DMSO, 150 x 600 MHz) do Composto D-37DZ



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

A partir da análise dos dados de RMN ^1H e ^{13}C unidimensional e do espectro HMBC bidimensional e comparação com dados da literatura RAMOS et al (2022) e PAVIA et al (2010), foi possível elucidar a estrutura de D-37DZ como sendo (2E, N'E) -N'-(4-clorobenzilideno) -2-ciano-N-fenilacrilohidrazida (D-37DZ) (Figura 18).

5.5 Docking molecular

5.5.1 Validação da metodologia por redocking

Ao retirar os ligantes co-cristalizados e realizar simulações de *docking*, foi possível obter valores de desvio médio quadrático do ligante (RMSD) de 0,69 Å, 0,80 Å, 0,54 Å e 1,84 Å. que permitiram a validação da metodologia, visto que são inferiores a 2,0 Å (BELL e ZHANG, 2019). Esses valores estão dispostos na tabela 15, como também os valores da energia livre de ligação (ΔG) e a constante de inibição K_i dos ligantes complexados com seus respectivos alvos.

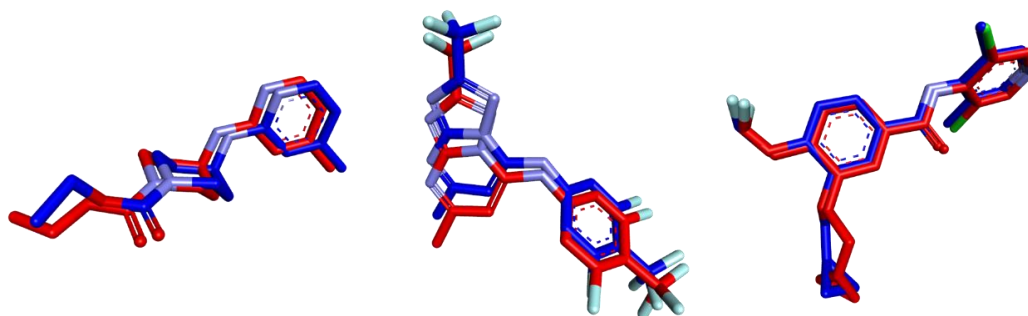
Tabela 15 - Validação por Redocking

Enzima	Ligante co-cristalizado	Código	(ΔG) (Kcal.mol ⁻¹)	K _i (nM)	RMSD (Å)
Óxido Nítrico Sintase (NOS)	AR-C95791	3E7G	-8,12	1120	0,69
Diidroorotato Desidrogenase (DHODH)	2V6	4OQV	-8,27	868,74	0,80
Fosfodiesterase 4B	Roflumilast	1XMU	-7,69	2320	0,54
Prostaglandinas E sintase 1	755	5T36	-4,12	949,18	1,84

Fonte: dados da pesquisa (2023).

Além disso, com o *redocking*, foram obtidas estruturas com disposições espaciais bastante similares às estruturas cristalográficas, diferindo apenas nas ligações sigma e grupamentos ligados a elas, visto que estas são mais flexíveis que as outras. Podemos visualizar essas diferenças, entre os ligantes redocados (azul) e os ligantes presentes na estrutura cristalográfica (vermelho), na Figura 34 abaixo:

Figura 34 - Redocking dos Ligantes



Fonte: dados da pesquisa (2022).

5.5.2 Enzima óxido nítrico sintase (PDB ID: 3E7G)

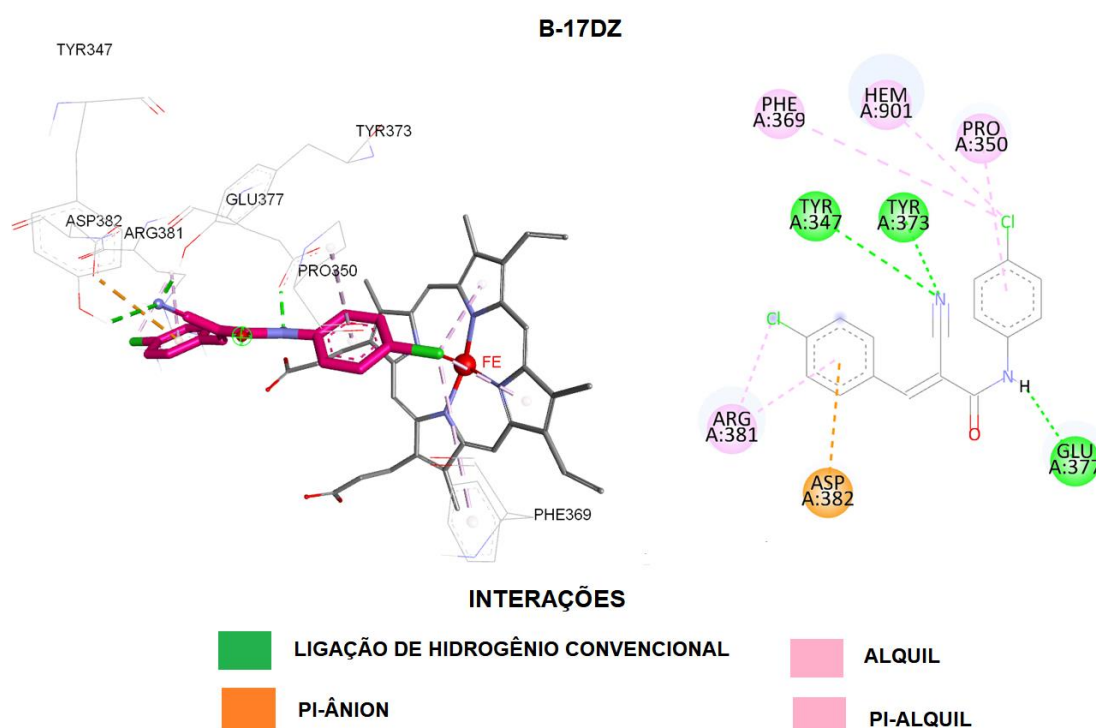
As quatro moléculas propostas foram submetidas a docagem molecular, sendo suas interações testadas para a enzima óxido nítrico sintase (encontrada sob o código 3E7G no PDB) e os resultados para cada uma delas e para o *redocking* do ligante co-cristalizado (AR-C95791) inseridos na tabela 16, assim como os valores para suas constantes de inibição estimadas. Levou-se em consideração os resultados de energia livre de ligação, sendo mais favorável a interação entre enzima e ligante quanto mais negativo for este valor. A constante de afinidade também indica uma maior afinidade do ligante a estrutura cristalográfica quando seu valor é menor.

Tabela 16 - Redocking do ligante co-cristalizado AR-C95791

Código	(ΔG) (Kcal.mol ⁻¹)	K _i (nM)
JMPR-01	-8,62	483,36
A-07DZ	-8,65	458,99
B-17DZ	-9,0	252,45
C-27DZ	-8,87	315,41
AMZ-BZ	-8,86	322,78
D-37DZ	-8,72	406,75
AR-C95791	-8,12	1120

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Analisando a tabela 16, é possível observar que todos os valores obtidos para a energia livre das moléculas propostas apresentaram resultados mais favoráveis em relação ao ligante co-cristalizado AR-C95791. Sendo os melhores resultados: B-17DZ > C-27DZ > AMZ-BZ. Estes valores para interação dos compostos com o alvo possuem também constante de inibição inferiores ao ligante AR-C95791. A figura 35 mostra o docking e as interações da molécula B-17DZ, a qual apresentou os resultados mais promissores.

Figura 35 - Docking da molécula B-17DZ com enzima oxido nítrico sintase

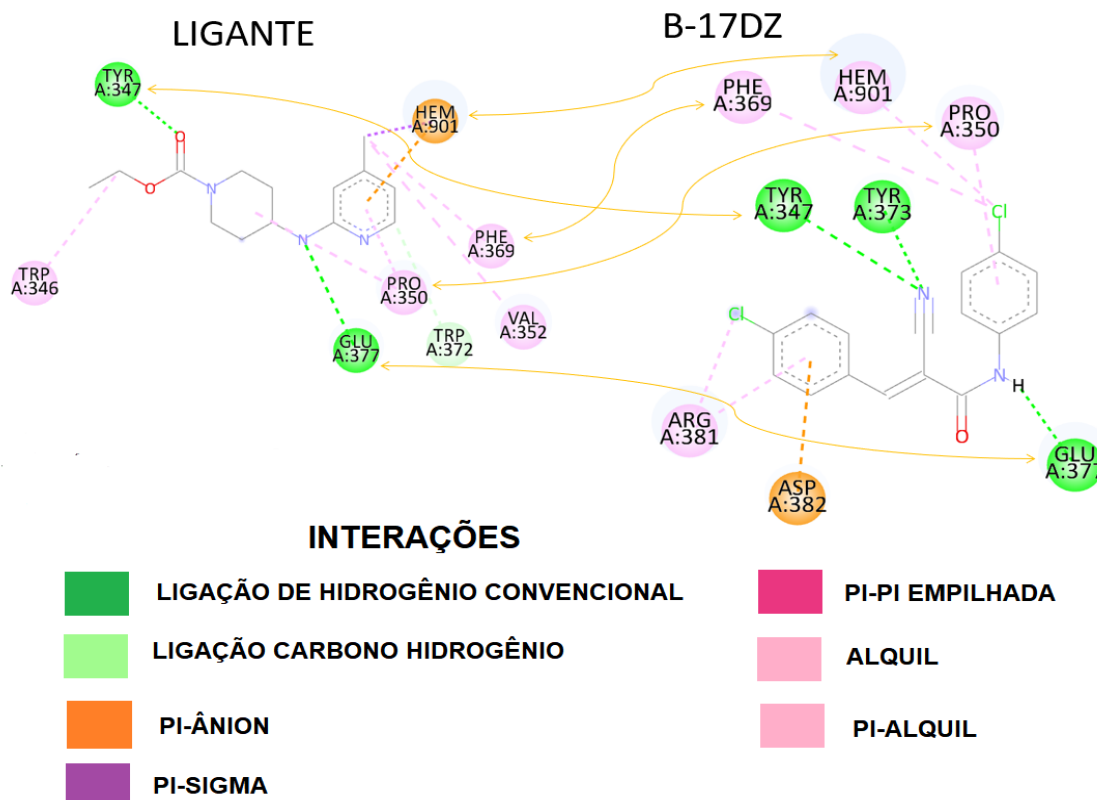
Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Com a figura 35 podemos visualizar que a molécula B-17DZ, que faz parte dos derivados fenilacetamidas, interagiu com o alvo 3E7G fazendo as seguintes ligações: 1 ligação de hidrogênio entre o resíduo tirosina (A:347) e outra com tirosina (A:373),

ambas com o nitrogênio do grupo cianeto, 1 ligação de hidrogênio entre o resíduo ácido glutâmico e a função amida ligado ao anel aromático; 1 ligação π -ânion entre o resíduo do ácido aspártico (A:382) e o anel da esquerda, o qual também interage com resíduo de arginina (A:381) por meio de ligação π -alquil; o anel da direita também se liga do tipo π -alquil interagindo com resíduo de prolina (A:350). Os átomos de cloros presentes nos anéis interagem com resíduos de arginina (A:381), fenilalanina (A:369) e heme (A:901) por ligações do tipo alquil. Mostrando o benefício desse substituinte.

Segundo Zhang et al (2021) a inibição da expressão de iNOS por drogas direcionadas a 3E7G (iNOS específico) pode efetivamente reduzir a produção de óxido nítrico e, assim, reduzir a inflamação. Os autores destacam que a iNOS pode estabelecer efeitos inibitórios por meio de interações clássicas, incluindo hidrofobicidade, ligação de hidrogênio e força de van der Waals entre o sítio ativo da enzima alvo e o inibidor. O que pode ser visto no docking molecular do derivado B-17DZ, quando comparamos as interações feitas pelo derivado e pelo ligante co-cristalizado vemos que se mantêm ligações de hidrogênio entre o mesmo tipo de resíduo, assim como ligações alquil e π -alquil com resíduo correspondente entre eles. Com destaque para a ligação com o grupo heme, que no ligante era do tipo π -cátion e passa a ser do tipo alquil no derivado em B-17DZ, já que ocorre entre o cloro ligado ao anel, logo por se tratar de ligações semelhantes se explica sua afinidade para inibição da enzima. O melhoramento da interação que ocorreu no derivado B-17DZ pode ser justificado pela adição de hidrofobicidade do anel e adição de átomos de cloros, os quais possibilitaram novas interações com outros resíduos, além de manter interações importantes.

Figura 36 - Docking do Ligante e da Molécula B-17DZ



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

5.5.3 Enzima diidroorotato desidrogenase (PDB ID: 4OQV)

Assim como os testes realizados com a enzima óxido nítrico sintase (PDB ID: 3E7G), as moléculas foram submetidas a testes com a enzima diidroorotato desidrogenase encontrada sob o código (PDB ID: 4OQV), com os valores de energia livre e constante de inibição descritos na tabela 17, a seguir:

Tabela 17 - Ligante co-cristalizado 2V6

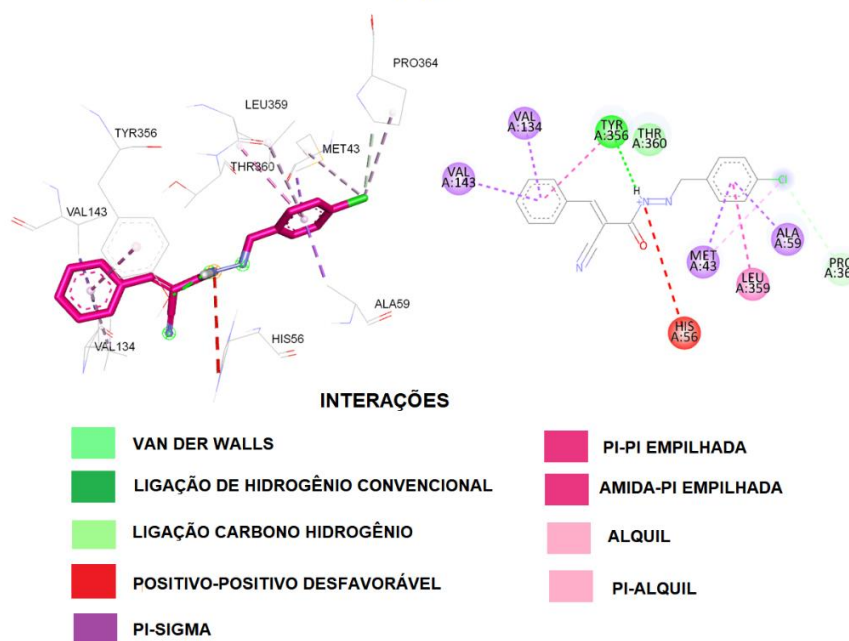
Código	(ΔG) (Kcal.mol ⁻¹)	K _i (nM)
JMPR-01	-9,65	84,24
A-07DZ	-9,96	50,36
B-07DZ	-10,26	30,35
C-27DZ	-10,43	22,72
AMZ-BZ	-10,35	25,95
D-37DZ	-10,63	16,04
2V6	-8,27	868,74

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Após análise da tabela 17, é possível observar que todos os valores obtidos para a energia livre das moléculas propostas apresentaram resultados mais favoráveis em relação ao ligante co-cristalizado 2V6. Sendo os melhores resultados: D-37DZ > C-27DZ > AMZ-BZ. Estes valores para interação dos compostos com o alvo possuem

também constante de inibição inferiores ao ligante 2V6. A figura 37 mostra o *docking* e as interações da molécula D-37DZ, a qual apresentou os resultados mais promissores.

Figura 37 - Docking da Molécula D-37DZ



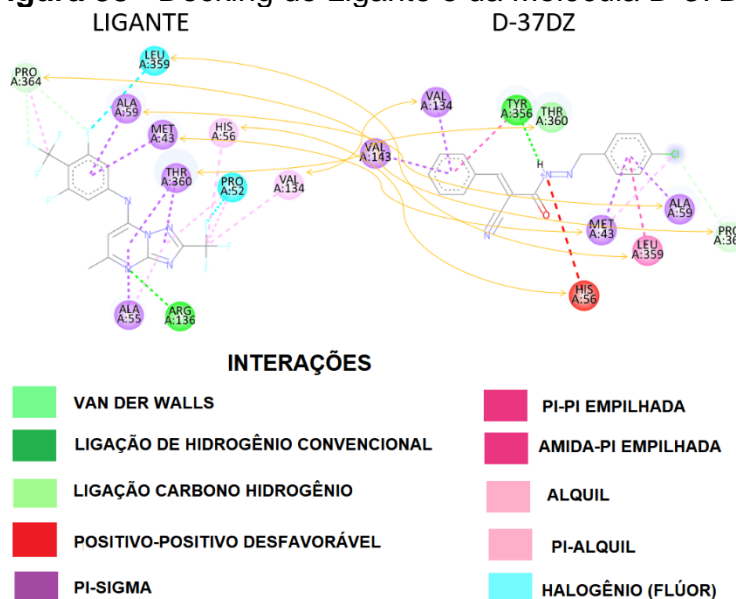
Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Como podemos visualizar na figura 37 que a molécula D-37DZ, derivado acilidrazônico, interagiu com o alvo 4OQV fazendo as seguintes ligações: 1 ligação de hidrogênio entre o resíduo tirosina (A:356) e um grupo amino que gera uma ligação amida π -empilhada entre esse aminoácido e o anel não substituído, o citado grupo amino estabelece ligação positivo-positivo desfavorável com o resíduo de histamina (A:56), assim como ligação carbono-hidrogênio com o aminoácido treonina (A:360); 2 ligações π -sigma entre os resíduos de valina (A:143) e (A:134) com o mesmo anel não-substituído; já o anel com o substituinte cloro interage com metionina (A:43) e alanina (A:59) por meio de ligações π -sigma, a metionina (A:43) também interage com o cloro por ligação alquil; já o resíduo de leucina (A:359) interage com o anel substituído por ligação do tipo π - π empilhada; por fim o resíduo de prolina (A:364) interage com o átomo de cloro por interações de Van der Waals.

Esses resultados são positivos pois nos estudos realizados por Yu et al (2020), foi observado que ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas a enzima diidroorotato desidrogenase ocorreram com ácido gínggólico, nesta investigação também houve interação entre alanina e leucina como foi observado nesse presente trabalho, além disso quando conferidos o docking do ligante (4OQV) com o docking

do derivado D-37DZ é possível enxergar semelhanças entre interações com alguns resíduos de aminoácidos, essenciais a conexão entre a enzima e o respectivo alvo.

Figura 38 - Docking do Ligante e da Molécula D-37DZ



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

5.5.4 Enzima fosfodiesterase 4B (PDB ID: 1XMU)

Além dos testes realizados com as enzimas óxido nítrico sintase (PDB ID: 3E7G) e a enzima diidroorotato desidrogenase encontrada sob o código (PDB ID: 4OQV), as moléculas foram submetidas a testes com a enzima fosfodiesterase 4B de código (PDB:1XMU) com os valores de energia livre e constante de inibição descritos na tabela 18, abaixo:

Tabela 18 - Ligante Roflumilast

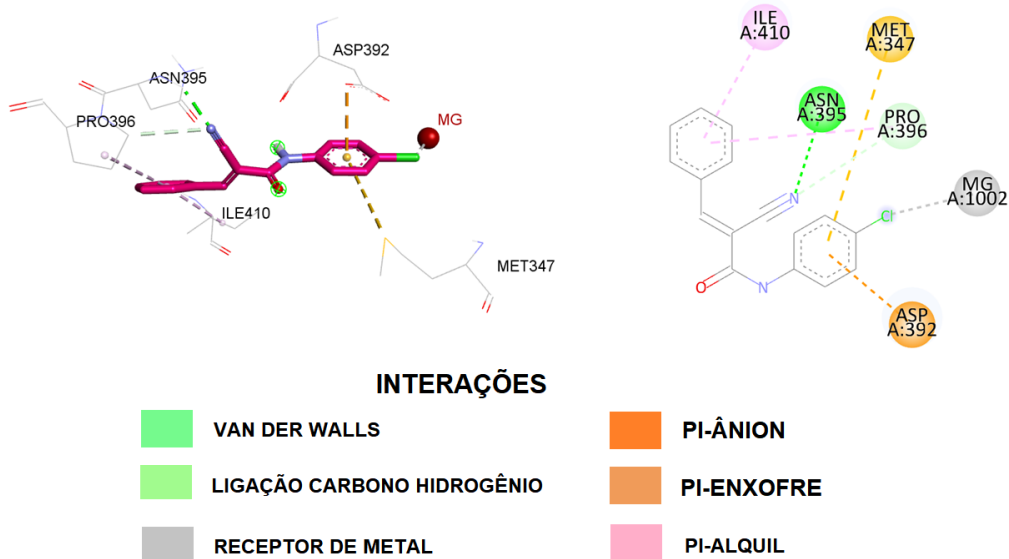
Código	(ΔG) (Kcal.mol ⁻¹)	K _i (nM)
JMPR-01	-8,7	421,21
A-07DZ	-9,22	175,32
B-07DZ	-7,65	2490
C-27DZ	-8,22	936,23
AMZ-BZ	-8,33	779,19
D-37DZ	-8,36	751,08
Roflumilast	-7,69	2320

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Verificando a tabela 18, é possível observar que a maioria dos valores obtidos para a energia livre das moléculas propostas apresentaram maior afinidade que o ligante co-cristalizado Roflumilast, com exceção de B-17DZ. Sendo os melhores resultados: A-07DZ > JMPR-01 > D-37DZ > AMZ-BZ. Estes valores para interação dos compostos com o alvo possuem também constante de inibição inferiores ao

ligante Roflumilast. A figura 39 mostra o *docking* e as interações da molécula A-07DZ, a qual apresentou os resultados mais promissores.

Figura 39 - Docking da Molécula A-07DZ
A-07DZ



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

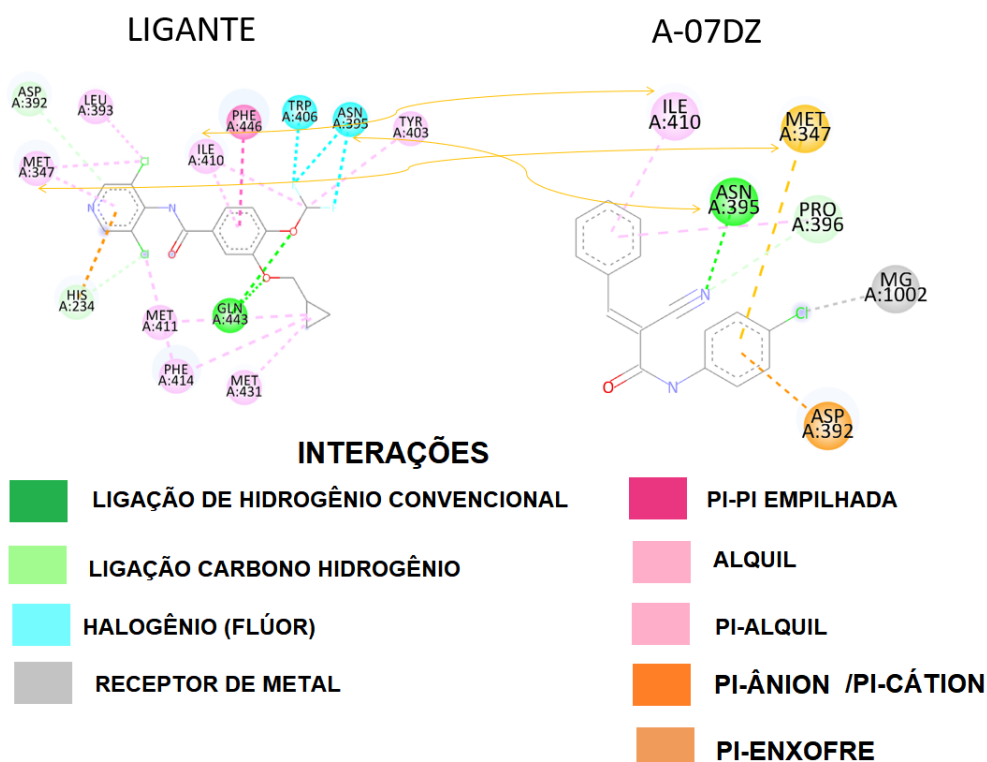
Na figura 39 podemos ver que a molécula A-07DZ da série de fenilacetamidas, interagiu com alvo 1XMU da seguinte maneira: resíduo isoleucina (A:410) e prolina (A:396) por 2 ligações π -alquil, resíduo asparagina (A:395) com ligação de hidrogênio com o nitrogênio do grupo cianeto, resíduo metionina (A:347) por ligação π -enxofre, resíduo prolina (A:396) por ligação carbono-hidrogênio, resíduo ácido aspártico (A:392) ligação π -ânion com o anel e uma ligação aceptora de metal com o cloro, essa ligação é importante já que como descrito por Moussa et al (2018):

“O sítio ativo da enzima PDE-4B pode ser subdividido em três bolsos: um bolso de ligação de metal que contém íons de magnésio e zinco, além de resíduos hidrofóbicos e polares altamente conservados que coordenam os íons metálicos (bolso M), um bolso lateral preenchido por solvente que consiste principalmente de aminoácidos hidrofílicos ácidos e é preenchida com uma rede de moléculas de água na maioria dos complexos inibidores (bolsa S), e uma terceira bolsa contendo a glutamina seletiva de purina invariante e um par de resíduos conservados que formam um grampo hidrofóbico (bolsa Q)”.

Além disso quando comparamos as interações do derivado sintetizado A-07DZ com o ligante podemos observar que importantes ligações dos tipos ligação de hidrogênio, carbono e hidrogênio e π -alquil foram realizadas pelo derivado em estudo, assim como no ligante. Outra observação é que houve interação com o resíduo de metionina, mas de forma diferente, apesar do derivado conter um átomo de cloro como o ligante, esse resíduo interagiu por ligação π -enxofre, enquanto no ligante interagiu

por ligação alquil com o átomo de cloro e π -alquil entre o anel, dado a diferença de orientação dos anéis que estão intimamente ligados entre a interação da enzima e os resíduos. Assim como o resíduo de asparagina que mantém interação do tipo de ligação de hidrogênio, a qual se torna importante pois como já citado a enzima possui um bolso lateral constituído principalmente por aminoácidos hidrofílicos.

Figura 40 - Docking do Ligante e da Molécula A-07DZ



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

5.5.5 Enzima prostaglandina E sintase (PDB ID: 5T36)

Por fim, acrescido aos testes realizados com as enzimas óxido nítrico sintase (PDB ID: 3E7G), a enzima diidroorotato desidrogenase encontrada sob o código (PDB ID: 4OQV) e a enzima fosfodiesterase 4B de código (PDB:1XMU), as moléculas foram submetidas a testes com a Enzima Prostaglandina E Sintase (PDB ID: 5T36) com os valores de energia livre e constante de inibição descritos na tabela 19, abaixo:

Tabela 19 - Ligante co-cristalizado 755

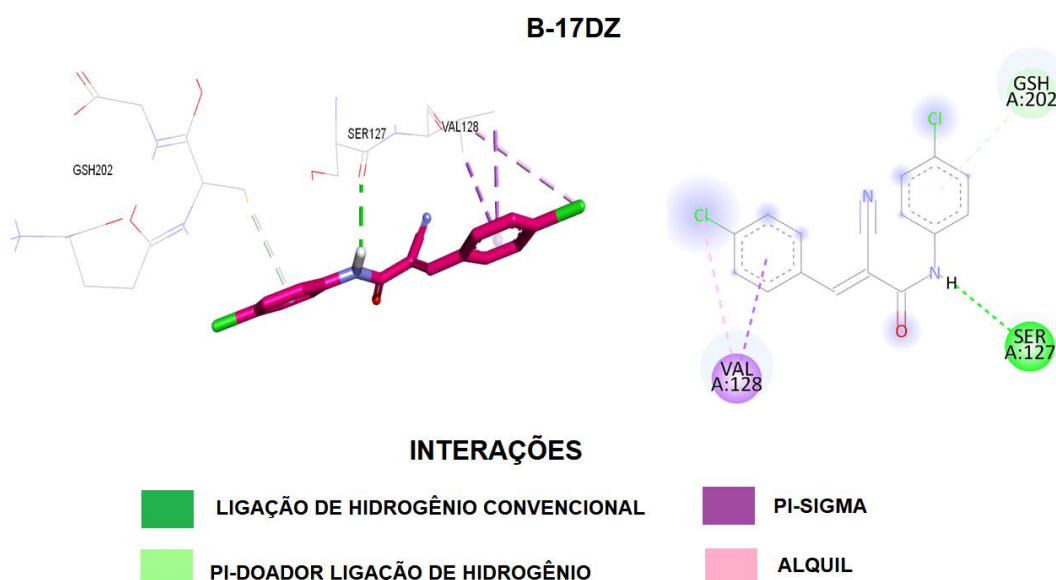
Código	(ΔG) (Kcal.mol ⁻¹)	K _i (nM)
JMPR-01	-4,17	884,45
A-07DZ	-4,4	598,93
B-17DZ	-4,48	519,10
C-27DZ	-4,24	775,05
AMZ-BZ	-4,28	728,35

D-37DZ	-4,33	665,53
755	-4,12	949,18

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Verificando a tabela 19, é possível observar que todos os valores obtidos para a energia livre das moléculas propostas apresentaram maior afinidade que o ligante co-cristalizado 755, exceto o derivado A-07DZ. Sendo os melhores resultados: B-17DZ > D-37DZ > AMZ-BZ > C-27DZ. Estes valores para interação dos compostos com o alvo possuem também constante de inibição inferiores ao ligante 755. A figura 41 mostra o *docking* e as interações da molécula B-17DZ, a qual apresentou os resultados mais promissores.

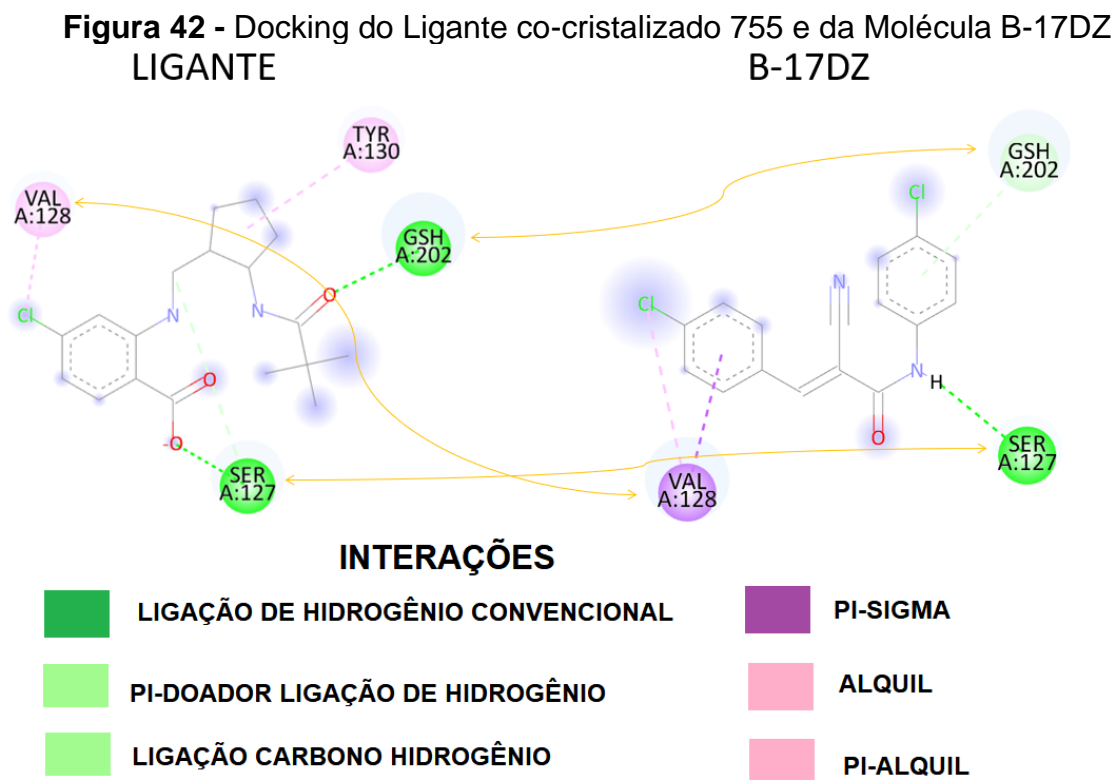
Figura 41 - Docking da molécula B-17DZ



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Na figura 41 podemos ver que a molécula B-17DZ da série de fenilacetamidas, interagiu com alvo 5T36 da seguinte maneira: resíduo de serina (A:127) com ligação de hidrogênio com o grupo amida, resíduo glutatona (A:202) por ligação π -doador de hidrogênio com o anel, resíduo valina (A:128) por ligação π -sigma com o anel e uma ligação alquil com o átomo de cloro. Esses resultados são consideráveis pois corroboram com os resultados obtidos por Thulasigam e Haeggstrom (2020), no qual as autores salientam que todos os inibidores de mPGES-1 estudados até agora, possuem um grupo principal ou o núcleo central dos respectivos inibidores está posicionado no sulco acima do cofator GSH e as caudas hidrofóbicas se projetam da cavidade do sítio ativo, sendo que esses compostos também estabelecem uma rede de ligações de hidrogênio mediada por água e as caudas hidrofóbicas são

estabilizadas por interações hidrofóbicas e van der Waals. Quando comparamos as interações que ocorrem no ligante co-cristalizado com as interações do derivado B-17DZ vemos que ambos interagem com resíduos semelhantes, pelo mesmo tipo de ligação e outras diferentes.



Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Conforme os resultados obtidos com a avaliação dos *dockings* discutidos, podemos afirmar que a molécula de código B-17DZ, de nome científico (*E*)-*N*,3-bis(4-clorofenil) -2-cianoacrilamida, da série de derivados *N*-fenilacetamidas mostrou melhor atividade anti-inflamatória, pois foi a molécula com melhor interação com dois, dos quatro alvos testados. Como evidenciado o alvo de código PDB:37EG, referente a enzima óxido nítrico sintase; e o alvo de código PDB: 5T36, referente a molécula prostaglandina E sintase. Além desses resultados, as moléculas sintetizadas A-07DZ e B-17DZ, da série *N*-fenilacetamidas, mostraram melhores resultados quando comparadas com o composto protótipo JMPR. E a molécula D-37DZ, da série *N*-acilidrazônico, mostrou melhor resultado em comparação com o composto protótipo AMZ-BZ. Como o melhor resultado foi da molécula B-17DZ, acredita-se que adição dos átomos de cloro, nos dois anéis aromáticos foi pertinente pois oportunizou resultados positivos com o aumento da reatividade dessa molécula planejada. Já que

as outras moléculas (A-07DZ e D-37DZ) possuem apenas um átomo de cloro adicionado a um dos anéis aromáticos de sua estrutura.

Ademais segue os *dockings* de todos os derivados *N*-fenilacetamidas e do derivado *N*-acilidrazônico com as quatro enzimas já descritas anteriormente, no apêndice A.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados desta pesquisa foi possível comprovar a síntese de 3 novos compostos da classe *N*-fenilacetamida: (*E*)-*N*-(4-clorofenil)-2-ciano-3-fenilacrilamida, de código A-07DZ; (*E*)-*N*,3-bis(4-clorofenil)-2-cianoacrilamida, de código B-17DZ; (*E*)-3-(4-clorofenil)-2-ciano-*N*-fenilacrilamida, de código C-27DZ; e um composto da classe *N*-acilidrazônico: (2*E*, *N'**E*)-*N'*-(4-clorobenzilideno)-2-ciano-3-fenilacrilohidrazida, de código D-37DZ. Nomes científicos de acordo com as Regras da União Internacional de Química Pura e Aplicada-IUPAC.

Através das técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear Unidimensional (1D), RMN ¹H e ¹³C e bidimensional RMN (2D), (HMBC), foi realizada a elucidação estrutural desses derivados, confirmando suas estruturas, com padrões de deslocamento e absorbância em acordo com a literatura. Evidenciando que as ferramentas de simplificação molecular e bioisosterismo não clássico; assim como o planejamento de fármaco baseado em fragmentos (FBDD), e a descoberta de drogas baseado em estrutura (SBDD) foram viáveis satisfazendo a construção de novos derivados a partir dos *scaffolds* promissores.

Com os *dockings* realizados foi possível identificar quais das moléculas planejadas e sintetizadas foram mais promissoras frente a cada alvo testado. Para a enzima óxido nítrico sintase (encontrada sob o código 3E7G no PDB), a molécula com resultado mais promissor foi a de código B-17DZ. Para a enzima Diidroorotato Desidrogenase (PDB ID: 4OQV), a molécula com resultado mais promissor foi a de código D-37DZ. Já com a enzima fosfodiesterase 4B de código (PDB:1XMU), a molécula mais promissora foi a de código A-07DZ. Enquanto, para a enzima Prostaglandina E sintase (PDB:5T36), a molécula com resultado mais promissor foi a molécula B-17DZ. Tendo essas moléculas mostrado maior afinidade com o ligante co-cristalizado, energia livre de ligação e constante de inibição melhores. Dessa maneira, demonstrado que o substituinte cloro trouxe resultados positivos para as novas moléculas sintetizadas, com destaque para o derivado B-17DZ, o qual demonstrou ser um composto promissor para o desenvolvimento de estudos envolvendo a avaliação de atividade anti-inflamatória (*in vitro* e *in vivo*) e teste de toxicidade *in vitro*, para prosseguimento de candidato a fármaco.

REFERÊNCIAS

- AARJANE, M. et al. Synthesis, antibacterial evaluation, in silico ADMET and molecular docking studies of new N-acylhydrazone derivatives from acridone. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 7, p. 6236–6245, jul. 2020.
- ABDELMALEK, E. M. et al. In silico and in vitro studies of isolated constituents from *Callistemon citrinus* leaves: Anti-microbial potential and inhibition of iNOS activity. **Phytochemistry**, v. 186, p. 112745, jun. 2021.
- ABDOLMALEKI, F. et al. Resolvins: Emerging Players in Autoimmune and Inflammatory Diseases. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, 2 jul. 2019.
- AHMAD, S. et al. Epigenetic underpinnings of inflammation: Connecting the dots between pulmonary diseases, lung cancer and COVID-19. **Seminars in Cancer Biology**, jan. 2021.
- ALLINGER, N. L. (1977). Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms. **Journal of the American Chemical Society**, 99(25), 8127–8134.
- Amaral, A. T. do. et al. A EVOLUÇÃO DA QUÍMICA MEDICINAL NO BRASIL: AVANÇOS NOS 40 ANOS DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. **Química Nova**. v. 40. n. 6. p. 694-700. Jul/2017. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/4VfxtNHmHmpPZnkNYXzYbZK/?lang=pt>>. Acesso em: 08/10/2021.
- Andrade, C. H. Kummerle, A. E. Guido, R. V. C. PERSPECTIVAS DA QUÍMICA MEDICINAL PARA O SÉCULO XXI: DESAFIOS E OPORTUNIDADES. **Química Nova**. v. 41. n. 4. p. 476-483. Abril/2018. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/x54tyqvYMgSkXN7BsdS6zbr/?lang=pt>>. Acesso em: 15/10/2021.
- ARABI, A. A. Routes to drug design via bioisosterism of carboxyl and sulfonamide groups. **Future Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 18, p. 2167–2180, dez. 2017.
- ARRUDA, I. et al. PREPARAÇÃO DE HIDRAZONA E N-ACILIDRAZONA USANDO FÁRMACOS COMERCIAIS COMO REAGENTES: AULAS PRÁTICAS DE SÍNTESE DE COMPOSTOS BIOATIVOS. **Química Nova**, 2020.
- ASANOV, M. et al. Genomic instability in chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer: A systematic review and meta-analysis of studies using the micronucleus assay. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 787, p. 108344, jan. 2021.
- BAI, J. et al. Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 133, p. 110985, jan. 2021.

BAIAZITOV, R. Y. et al. SAR studies toward discovery of emvododstat (PTC299), a potent dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitor. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 244, p. 114826, 15 dez. 2022.

BAJAD, N. G. et al. Systematic review on role of structure based drug design (SBDD) in the identification of anti-viral leads against SARS-Cov-2. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, v. 2, p. 100026, 2021.

BARREIRO, E. J; FRAGA, C. A. M. Química Medicinal As Bases Moleculares Da Ação Dos Fármacos, 2ª Edição. **www.academia.edu**, [s.d.].

BELL, E. W., ZHANG, Y. (2019). DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. **Journal of Cheminformatics**, 11(1), 40.

BIOVIA, Dassault Systèmes, Discovery Studio 2021 Client, San Diego: **Dassault Systèmes**, 2021.

BRECHT, D.; UTESCHIL, F.; SCHMITZ, O. J. Thermogravimetry coupled to an atmospheric pressure photo ionization quadrupole mass spectrometry for the product control of pharmaceutical formulations and the analysis of plasticizers in polymers. **Talanta**, v. 198, p. 440–446, jun. 2019.

CAI, X. et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of novel steroidal chalcones with 3 β -pregnenolone ester derivatives in RAW 264.7 cells in vitro. **Steroids**, v. 171, p. 108830, jul. 2021.

CANELLAS, J. V. DOS S.; RITTO, F. G.; TIWANA, P. Comparative efficacy and safety of different corticosteroids to reduce inflammatory complications after mandibular third molar surgery: A systematic review and network meta-analysis. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, maio 2022.
CHIURCHIÙ, V.; LEUTI, A.; MACCARRONE, M. Bioactive Lipids and Chronic Inflammation: Managing the Fire Within. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 29 jan. 2018.

CORDEIRO, N. DE M. et al. New 2-amino-pyridinyl-N-acylhydrazones: Synthesis and identification of their mechanism of anti-inflammatory action. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 123, p. 109739, mar. 2020.

CUOZZO, A. et al. SwissBioisostere 2021: updated structural, bioactivity and physicochemical data delivered by a reshaped web interface. **Nucleic Acids Research**, v. 50, n. D1, p. D1382–D1390, 12 nov. 2021.

Cycloaddition Strategies for the Synthesis of Diverse Heterocyclic Spirocycles for Fragment-Based Drug Discovery. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2019, n. 31-32, p. 5219–5229, 1 set. 2019.

DE LIMA PORTO RAMOS, K. R. et al. Effects of Acylhydrazone Derivatives on Experimental Pulmonary Inflammation by Chemical Sensitization. **Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 135–151, 2022.

DENG, X., KOKKONDA, S., EL MAZOUNI, F., WHITE, J., BURROWS, J. N., KAMINSKY, W., CHARMAN, S. A., MATTHEWS, D., RATHOD, P. K., PHILLIPS, M. A. Fluorine Modulates Species Selectivity in the Triazolopyrimidine Class of Plasmodium falciparum Dihydroorotate Dehydrogenase Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 5381–5394, 2014.

DIAS VIEGAS, F. P. et al. Design, synthesis and pharmacological evaluation of N - benzyl-piperidiny-aryl-acylhydrazone derivatives as donepezil hybrids: Discovery of novel multi-target anti-alzheimer prototype drug candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 147, p. 48–65, mar. 2018.

DICK, A.; COCKLIN, S. Bioisosteric Replacement as a Tool in Anti-HIV Drug Design. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 3, p. 36, 28 fev. 2020.

DOLSEN, M. R.; CROSSWELL, A. D.; PRATHER, A. A. Links Between Stress, Sleep, and Inflammation: Are there Sex Differences? **Current Psychiatry Reports**, v. 21, n. 2, fev. 2019.

ERTL, P. Identification of Bioisosteric Substituents by a Deep Neural Network. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 7, p. 3369–3375, 15 jun. 2020.

DOROKHOV, V. S. et al. Diastereoselective synthesis and profiling of bicyclic imidazolidinone derivatives bearing a difluoromethylated catechol unit as potent phosphodiesterase 4 inhibitors. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 16, n. 38, p. 6900–6908, 2018.

FAN, J.; FU, A.; ZHANG, L. Progress in molecular docking. **Quantitative Biology**, v. 7, n. 2, p. 83–89, jun. 2019.

FILHO, E. D. S. et al. Thermal degradation and drug sorption in hybrid interpolyelectrolyte particles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 610, p. 125894, 5 fev. 2021.

Foukoe, H. H. et al. HÁ ALGO NOVO NO RECONHECIMENTO MOLECULAR APLICADO À QUÍMICA MEDICINAL? **Química Nova**. v. 43. n. 1. p. 78-89. Fev/2020. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170474>>. Acesso em: 22/10/2021.

Fragment- and structure-based drug discovery for developing therapeutic agents targeting the DNA Damage Response. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 163, p. 130–142, 1 ago. 2021.

GUO, L. et al. Molecular hybrid design, synthesis, in vitro and in vivo anticancer evaluation, and mechanism of action of N-acylhydrazone linked, heterobivalent β -carbolines. **Bioorganic Chemistry**, v. 96, p. 103612, mar. 2020.

HAYEK, S. et al. Cerpegin-derived furo[3,4-c]pyridine-3,4(1H,5H)-diones enhance cellular response to interferons by de novo pyrimidine biosynthesis inhibition. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 186, p. 111855, 15 jan. 2020.

KLEIN, H. F. et al. Escape from planarity in fragment-based drug discovery: a synthetic strategy analysis of synthetic 3D fragment libraries. **Drug Discovery Today**, maio 2022.

KLOMJIT, N.; UNGPRASERT, P. Acute kidney injury associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs. **European Journal of Internal Medicine**, maio 2022.

KOU, R.-W. et al. Anti-neuroinflammatory polyoxygenated lanostanoids from Chaga mushroom *Inonotus obliquus*. **Phytochemistry**, v. 184, p. 112647, 1 abr. 2021.

KUMARI, S. et al. Amide Bond Bioisosteres: Strategies, Synthesis, and Successes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 63, n. 21, p. 12290–12358, 20 jul. 2020.

KUNNUMAKKARA, A. B. et al. Chronic diseases, inflammation, and spices: how are they linked? **Journal of Translational Medicine**, v. 16, n. 1, 25 jan. 2018.

LI, B. et al. Discovery of chiral N-2'-aryletheryl-1'-alkoxy-ethyl substituted arylisoquinolones with anti-inflammatory activity from the nucleophilic addition reactions of the thiophenols and oxazolinium. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 222, p. 113583, out. 2021.

LOPES, A. et al. Characterization of Amide Bond Conformers for a Novel Heterocyclic Template of N-acylhydrazone Derivatives. **Molecules**, v. 18, n. 10, p. 11683–11704, 25 set. 2013.

MAHAPATRA, M. K.; KARUPPASAMY, M. **Chapter 2 - Fundamental considerations in drug design**. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323906081000058>>. Acesso em: 2 fev. 2023.

MAHESHWARI, N. et al. Synthesis and biological evaluation of some N-(3-(1H-tetrazol-5-yl) phenyl)acetamide derivatives as novel non-carboxylic PTP1B inhibitors designed through bioisosteric modulation. **Bioorganic Chemistry**, v. 80, p. 145–150, out. 2018.

MAO, H. et al. Ferroptosis as an emerging target in inflammatory diseases. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 155, p. 20–28, set. 2020.

MAO, S. et al. Effects of citronellol grafted chitosan oligosaccharide derivatives on regulating anti-inflammatory activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 262, p. 117972, jun. 2021.

MEIRA, C. S. et al. Structural design, synthesis and substituent effect of hydrazone-N-acylhydrazones reveal potent immunomodulatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 8, p. 1971–1985, maio 2018.

MORRIS, G. M., HUEY, R., LINDSTROM, W., SANNER, M. F., BELEW, R. K., GOODSELL, D. S., OLSON, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, 30(16), 2785–2791.

MOUSSA, B. A. et al. Synthesis and molecular docking of new roflumilast analogues as preferential-selective potent PDE-4B inhibitors with improved pharmacokinetic profile. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 148, p. 477–486, 25 mar. 2018.

MULUK, M. B. et al. Synthesis, antimicrobial activity, and molecular docking study of formyl-naphthalenyloxymethyl-triazolyl- N -phenylacetamides. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 56, n. 9, p. 2411–2418, 17 jul. 2019.

NAFEESA, K. et al. Synthesis, characterization and pharmacological evaluation of different 1,3,4-oxadiazole and acetamide derivatives of ethyl nipecotate. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**, v. 55, n. 2, p. 333–343, dez. 2017.

PANCHAL, N. K.; PRINCE SABINA, E. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): A current insight into its molecular mechanism eliciting organ toxicities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 172, p. 113598, fev. 2023.

PATIL, K. R. et al. Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, 5 set. 2019.

PATIL, K. R.; PATIL, C. R. Anti-inflammatory activity of bartogenic acid containing fraction of fruits of *Barringtonia racemosa* Roxb. in acute and chronic animal models of inflammation. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 7, n. 1, p. 86–93, jan. 2017.

PATTANASHETTY, S. H. et al. Design, Synthesis and Computational Studies of Novel Carbazole N-phenylacetamide Hybrids as Potent Antibacterial, Anti-inflammatory, and Antioxidant Agents. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 55, n. 7, p. 1765–1774, 8 jun. 2018.

PINZI, L.; RASTELLI, G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4331, 4 set. 2019.

RAHMAN, S.; JAHAN, N. Anti-inflammatory activity of crude and detoxified leaves of *Daphne oleoides* Schreb. on carrageenan-induced paw edema in wistar rats. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 12, n. 3, p. 500–505, jul. 2021.

REIS, R. A. G. et al. The dihydroorotate dehydrogenases: Past and present. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 632, p. 175–191, 15 out. 2017.

ROBERTSON, M. J.; MEYEROWITZ, J. G.; SKINIOTIS, G. Drug discovery in the era of cryo-electron microscopy. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 0, n. 0, 16 jul. 2021.

SAHA, S. et al. An Overview of Nrf2 Signaling Pathway and Its Role in Inflammation. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5474, 23 nov. 2020.

SAMUEL, E. et al. **Chapter 35 - Corticotrophins, corticosteroids, and prostaglandins**. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378608021000301>>. Acesso em: 27 fev. 2023.

SANTOS, D. C. et al. Acylhydrazones as isoniazid derivatives with multi-target profiles for the treatment of Alzheimer's disease: Radical scavenging, myeloperoxidase/acetylcholinesterase inhibition and biometal chelation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 28, n. 10, p. 115470, maio 2020.

SANTOS NASCIMENTO, I. J. DOS; DE AQUINO, T. M.; DA SILVA JÚNIOR, E. F. Computer-Aided Drug Design of Anti-inflammatory Agents Targeting Microsomal Prostaglandin E2 Synthase-1 (mPGES-1). **Current Medicinal Chemistry**, v. 29, 17 mar. 2022.

SHARMA, S. et al. Recent advancements in the development of heterocyclic anti-inflammatory agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 200, p. 112438, ago. 2020.

SILVA, J. M. **PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS DERIVADOS ACRIDÍNICOS, QUÍNOLÍNICOS, INDÓLICOS E PIRIDÍNICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande-PB. p. 211.

SILVA, P. et al. (E)-2-Cyano-3-(1H-Indol-3-yl)-N-Phenylacrylamide, a Hybrid Compound Derived from Indomethacin and Paracetamol: Design, Synthesis and Evaluation of the Anti-Inflammatory Potential. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 7, p. 2591, 8 abr. 2020.

TANG, Z. et al. Design, synthesis, fungicidal activity and molecular docking studies of novel 2-((2-hydroxyphenyl)methylamino)acetamide derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 12, p. 2572–2578, jun. 2019.

TEMML, V.; KUTIL, Z. Structure-based molecular modeling in SAR analysis and lead optimization. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 19, p. 1431–1444, 2021.

THULASINGAM, M.; HAEGGSTRÖM, J. Z. Integral Membrane Enzymes in Eicosanoid Metabolism: Structures, Mechanisms and Inhibitor Design. **Journal of Molecular Biology**, v. 432, n. 18, p. 4999–5022, ago. 2020.

TORO, P. M. et al. Evaluation of trypanocidal properties of ferrocenyl and cyrhetrenyl N-acylhydrazones with pendant 5-nitrofuryl group. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 219, p. 111428, jun. 2021.

WANG, Z. et al. Synthesis, antiviral activity, and molecular docking study of trans-ferulic acid derivatives containing acylhydrazone moiety. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 17, p. 4096–4100, set. 2017.

WANG, Z.-Z. et al. Fragment-based drug design facilitates selective kinase inhibitor discovery. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 42, n. 7, p. 551–565, jul. 2021.

XIA, G.-Y. et al. 13,13a-seco-protoberberines from the tubers of *Corydalis yanhusuo* and their anti-inflammatory activity. **Phytochemistry**, v. 194, p. 113023, 1 fev. 2022.

XU, D. et al. Pathophysiological role of prostaglandin E synthases in liver diseases. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 154, p. 106552, jun. 2021.

YU, P. et al. Identification of dihydroorotate dehydrogenase as a protein target of ginkgolic acid by molecular docking and dynamics. **Journal of Molecular Structure**, v. 1220, p. 128692, 15 nov. 2020.

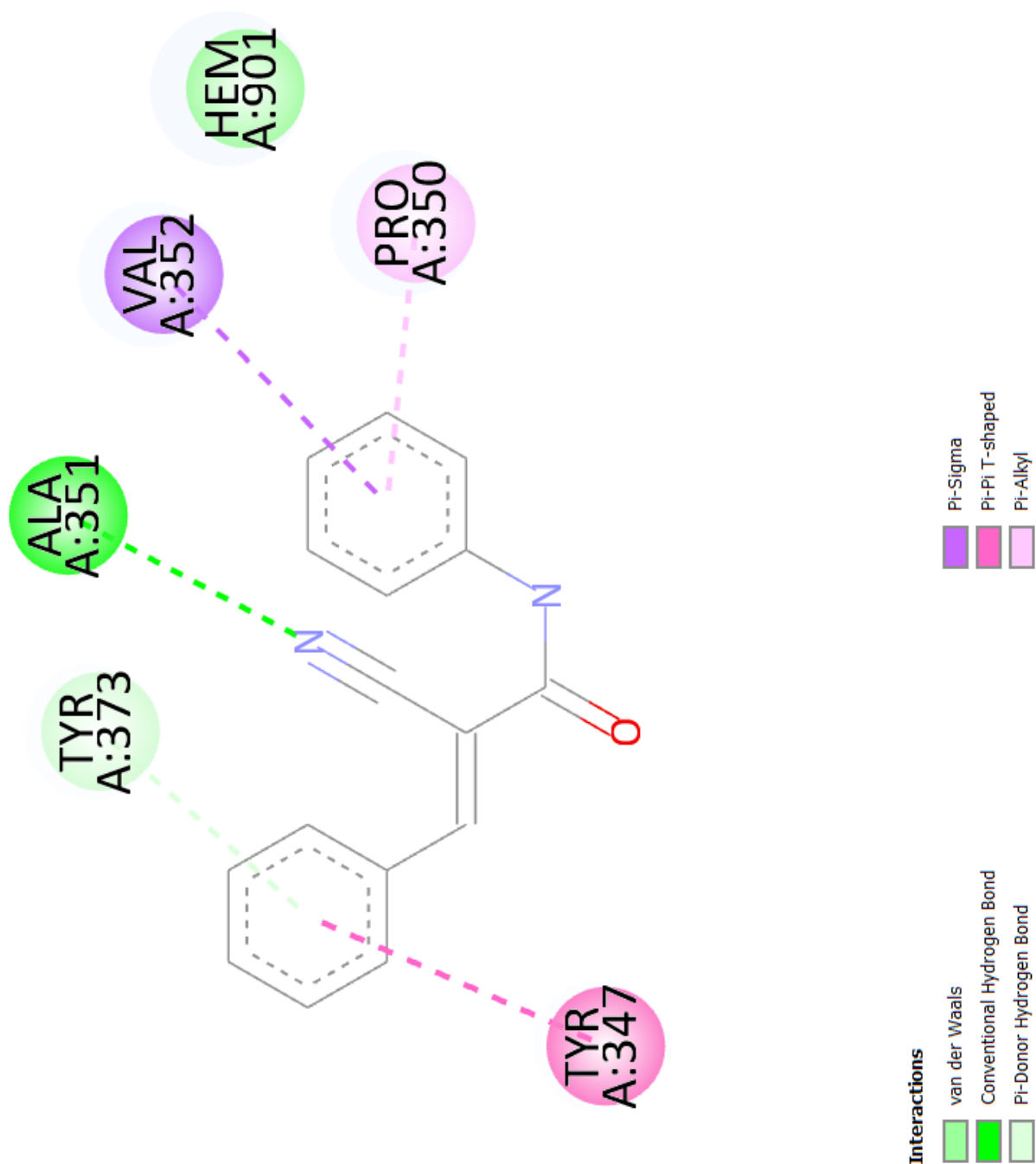
ZARRIN, A. A. et al. Kinase inhibition in autoimmunity and inflammation. *Nature Reviews Drug Discovery*, p. 1–25, 19 out. 2020.

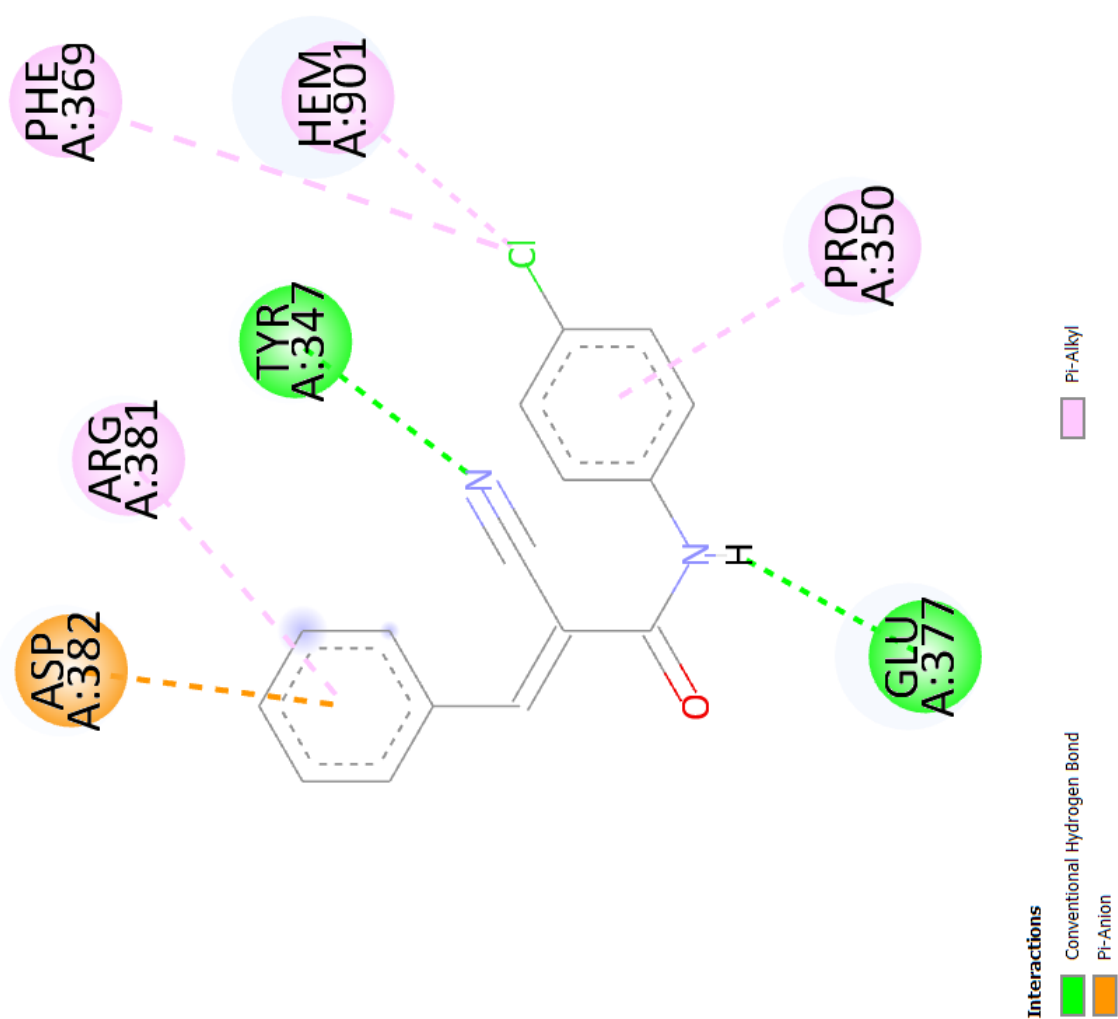
ZHANG, D. et al. Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory activity and identification of active compounds of *Humulus scandens*. **South African Journal of Botany**, v. 141, p. 126–132, set. 2021.

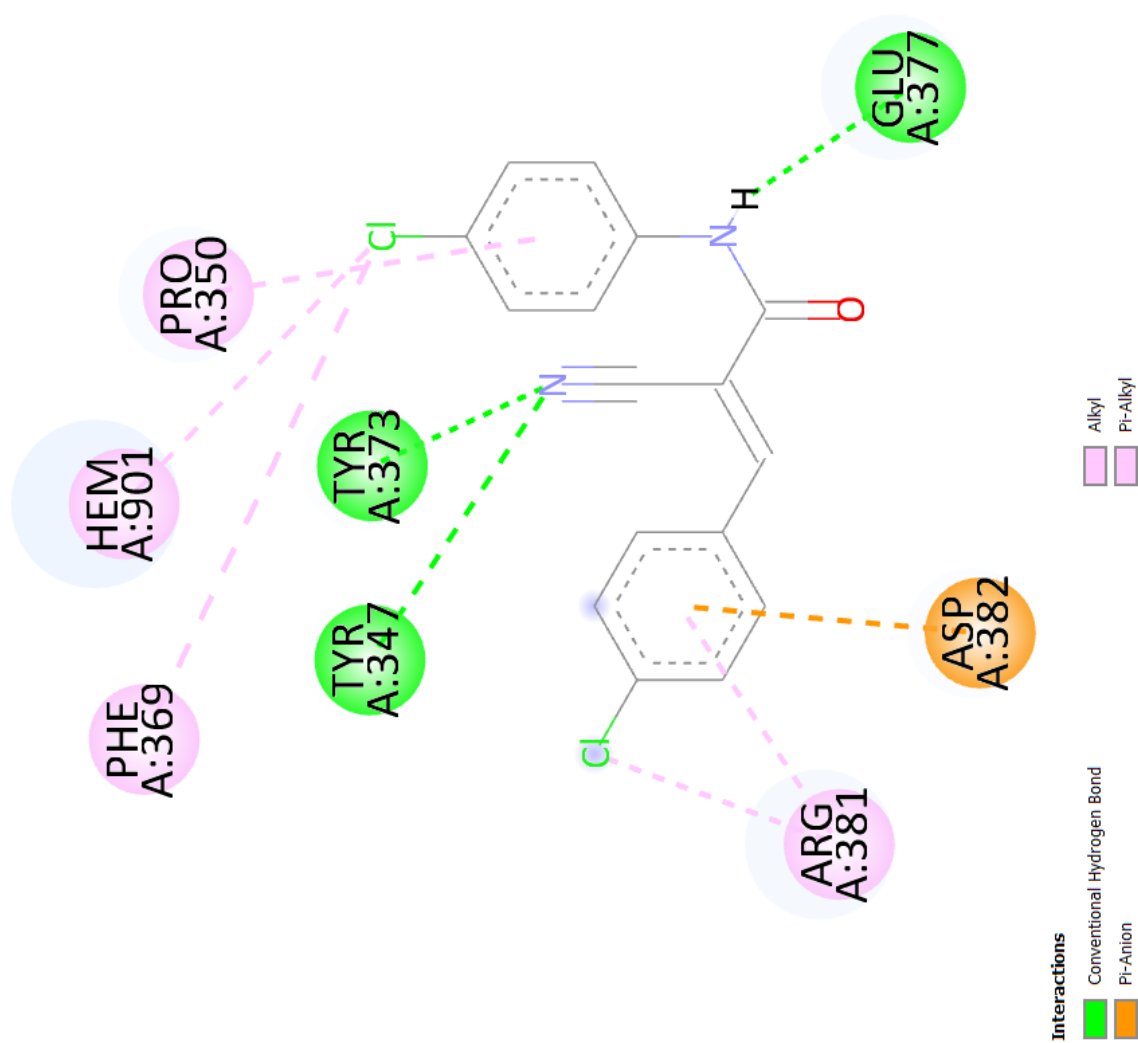
ZHANG, Q. et al. Anti-inflammatory activities of gentiopicroside against iNOS and COX-2 targets. **Chinese Herbal Medicines**, v. 11, n. 1, p. 108–112, 1 jan. 2019.

ZHANG, Y.-Y. et al. Microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and its inhibitors: Molecular mechanisms and therapeutic significance. **Pharmacological Research**, v. 175, p. 105977, jan. 2022.

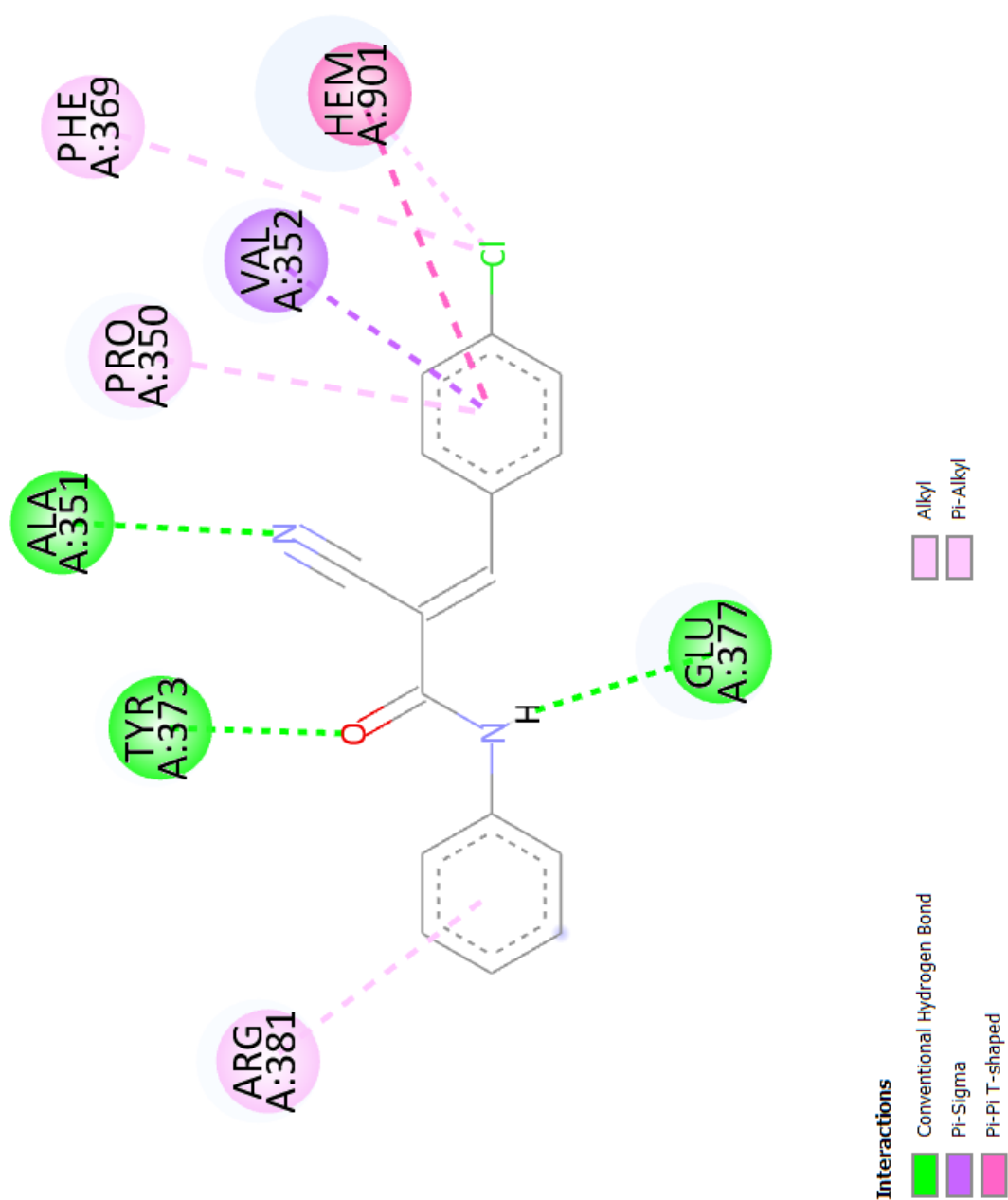
APÊNDICE A - Docking molecular: interação JMPR com 3E7G

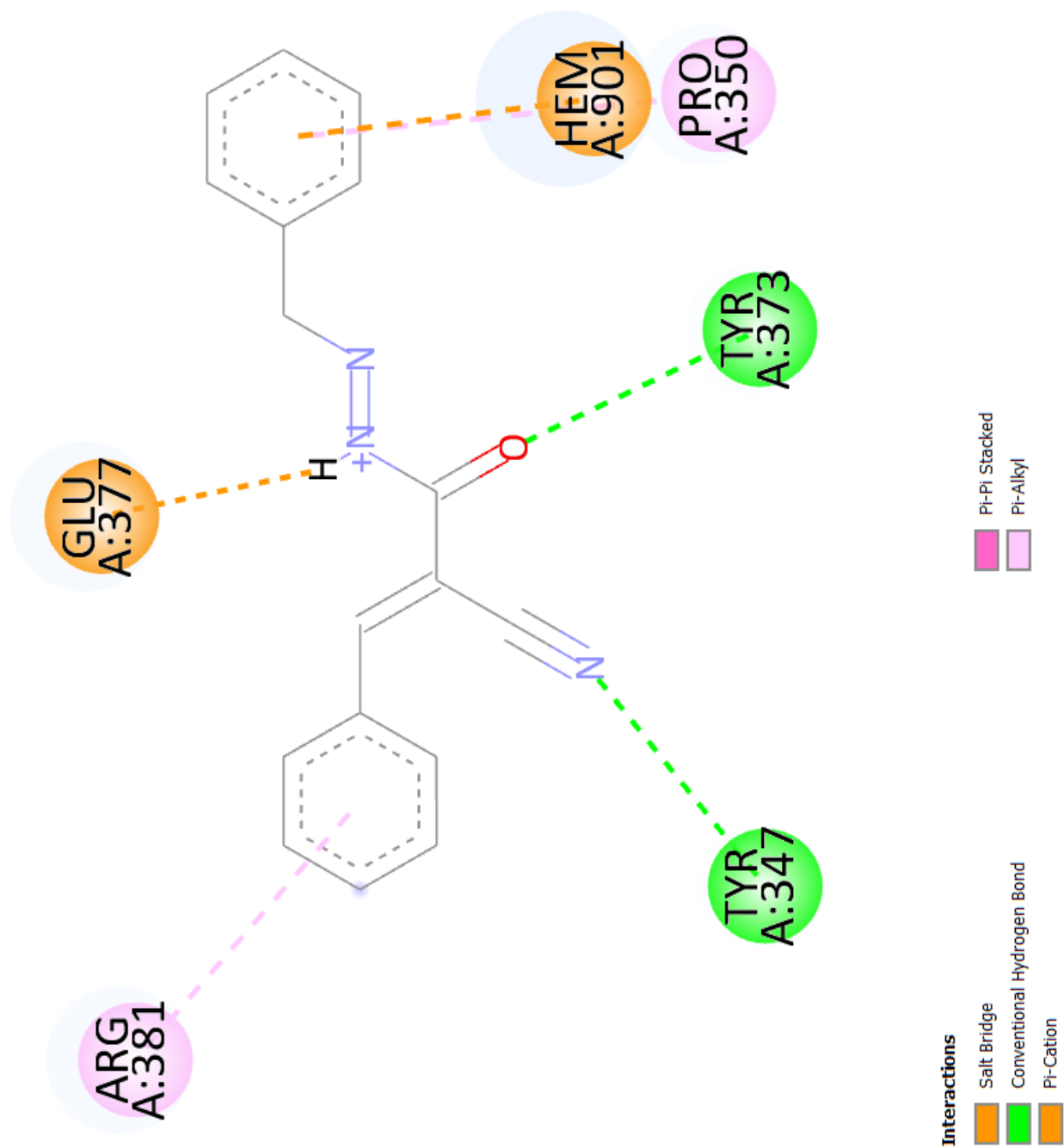


APÊNDICE B - Docking molecular: interação A-07DZ com 3E7G

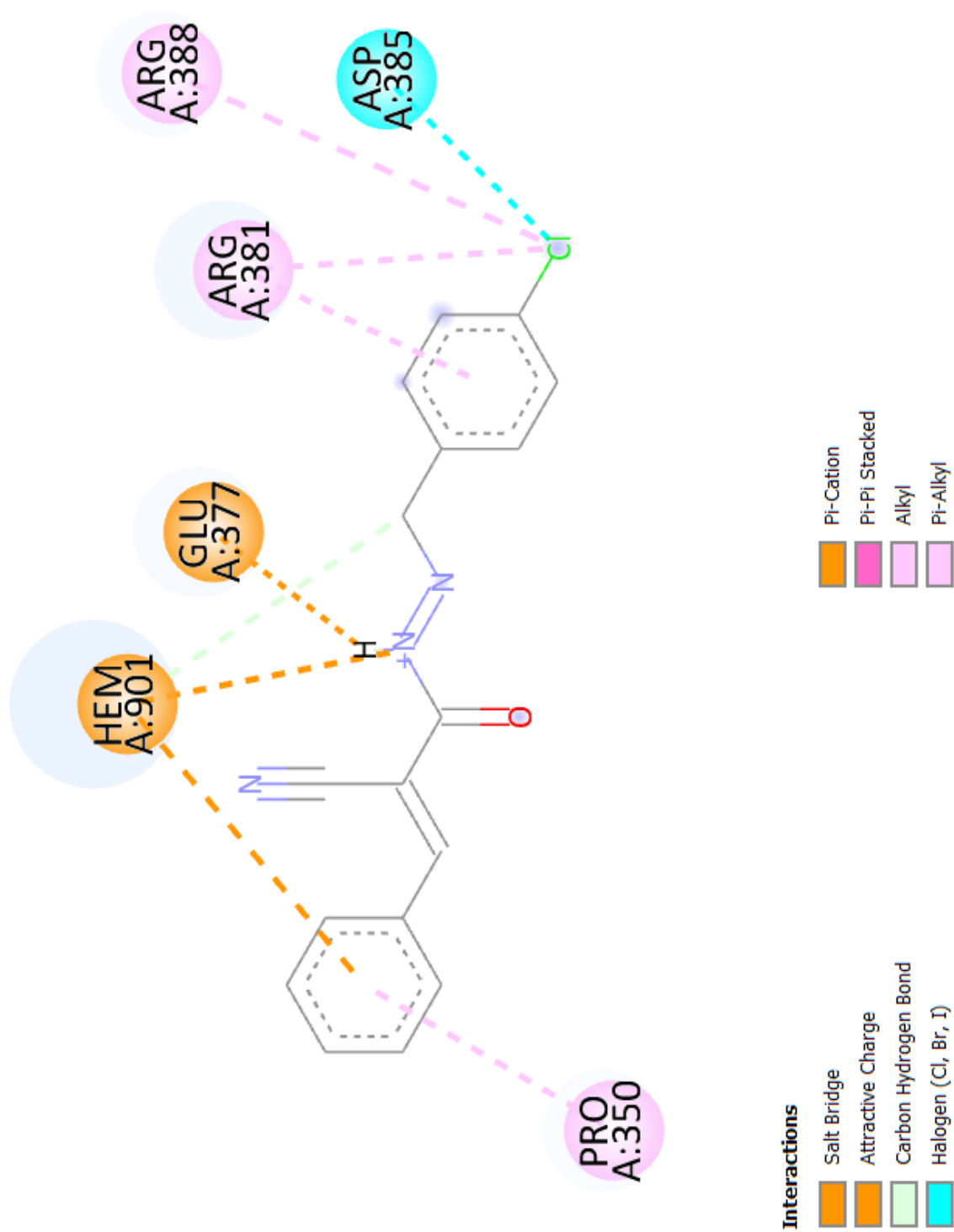
APÊNDICE C - *Docking* molecular: interação B-17DZ com 3E7G

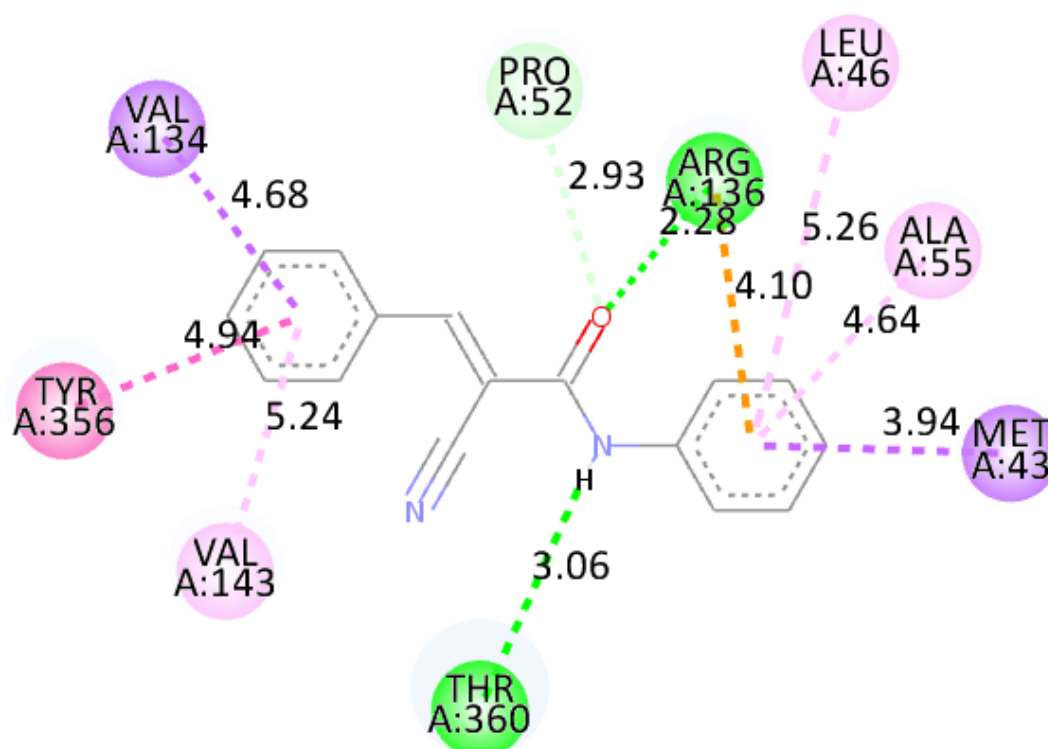
APÊNDICE D - Docking molecular: interação C-27DZ com 3E7G










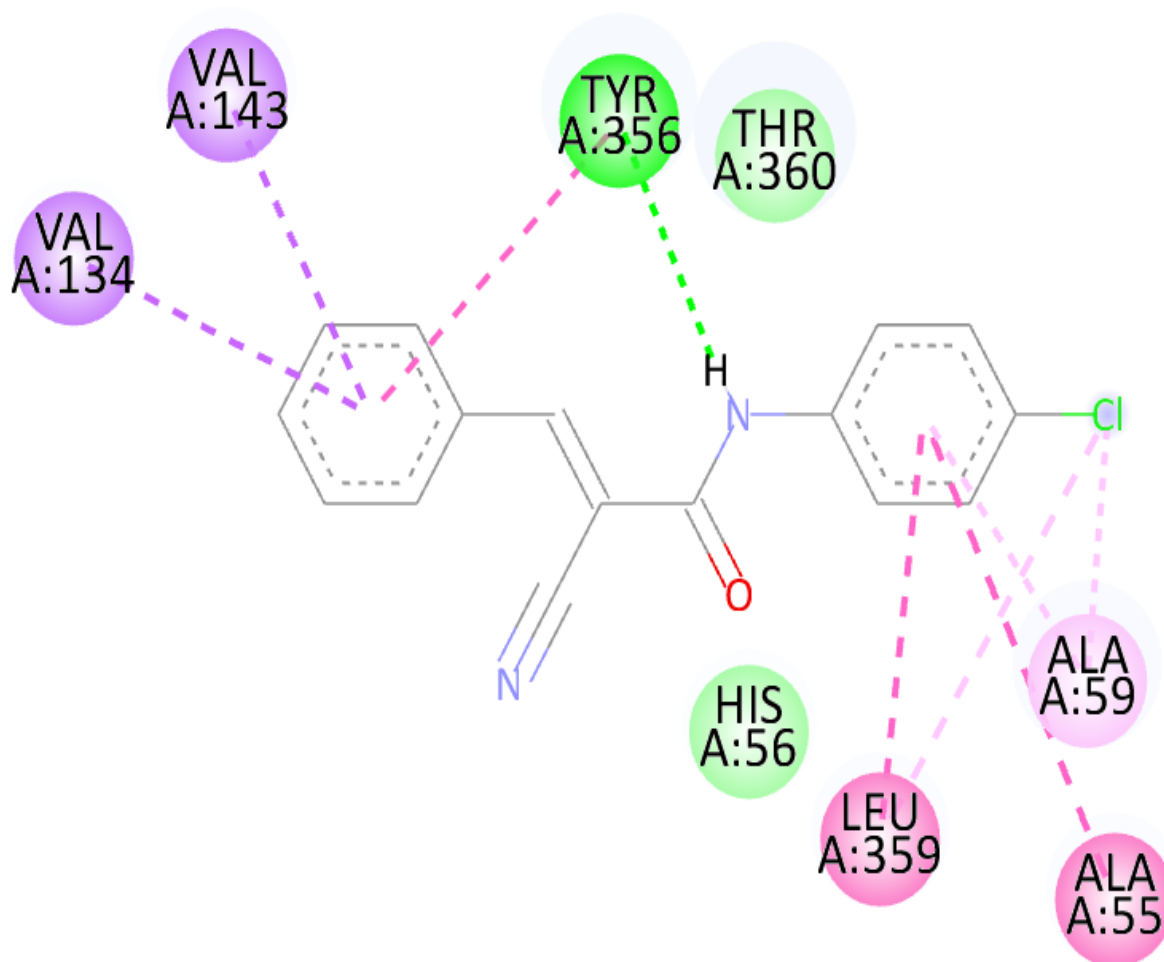
APÊNDICE E - *Docking* molecular: interação AMZBZ com 3E7G

APÊNDICE F - Docking molecular: interação D-37DZ com 3E7G



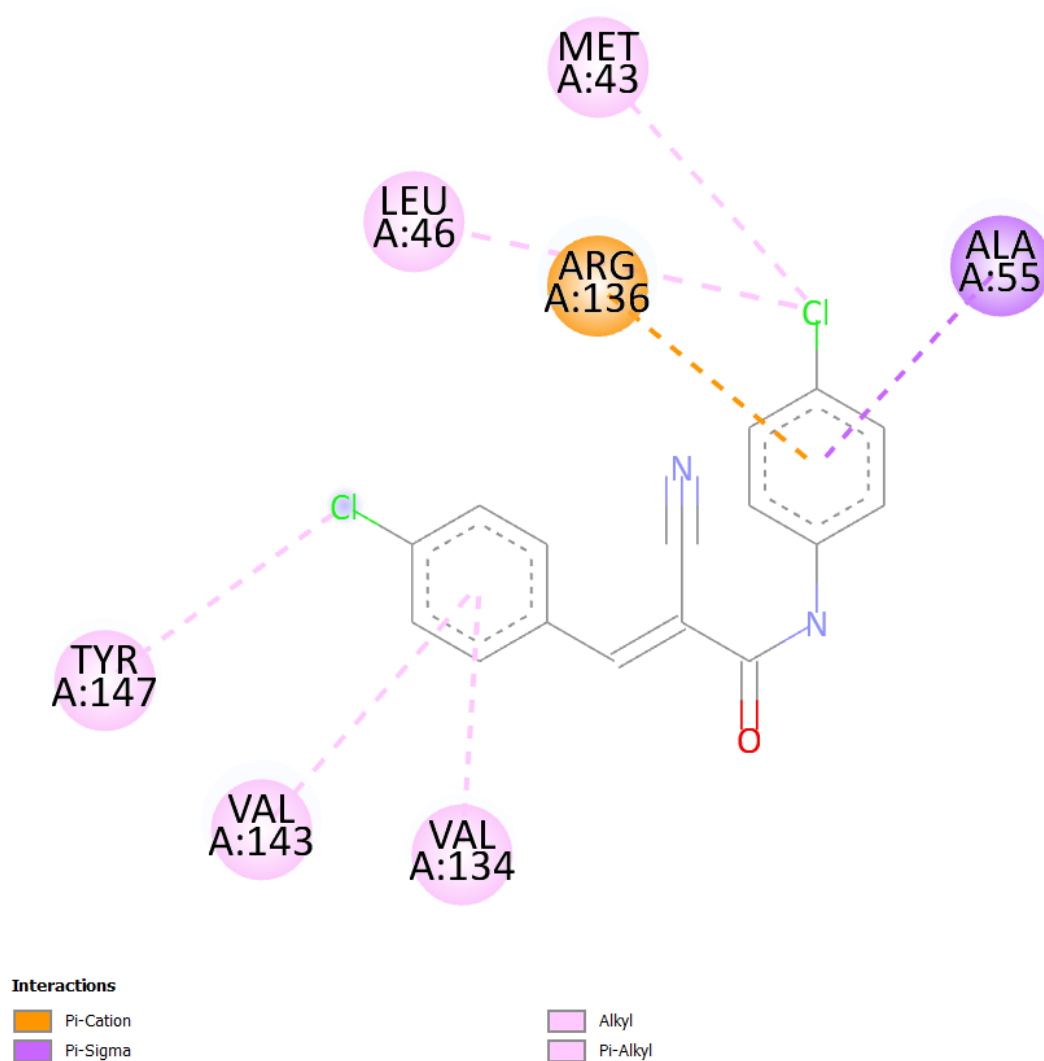
APÊNDICE G - *Docking* molecular: interação JMPR com 4OQV**Interactions**

 Conventional Hydrogen Bond	 Pi-Sigma
 Carbon Hydrogen Bond	 Pi-Pi Stacked
 Unfavorable Acceptor-Acceptor	 Pi-Alkyl
 Pi-Cation	

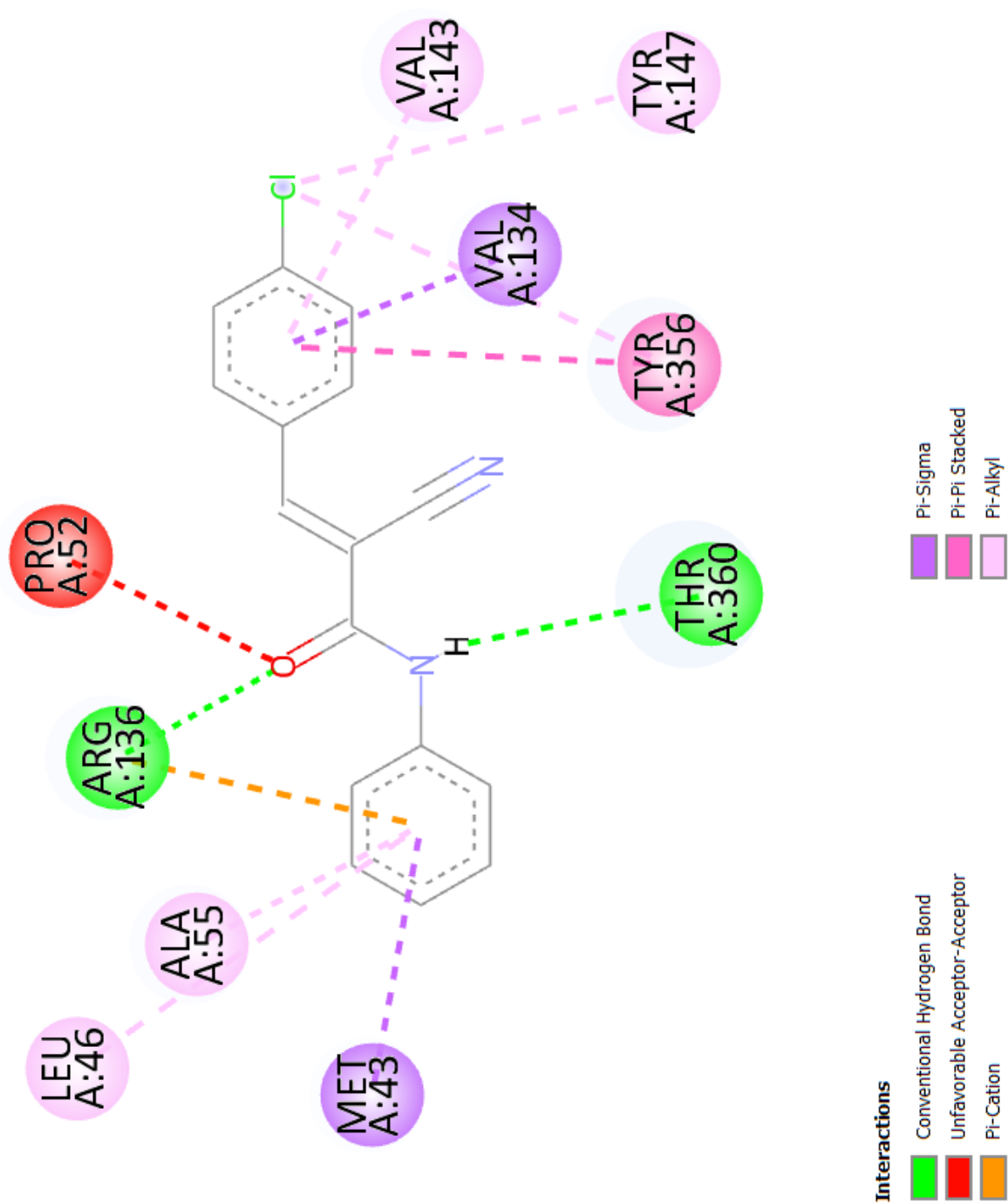
APÊNDICE H - Docking molecular: interação A-07DZ com 4OQV**Interactions**

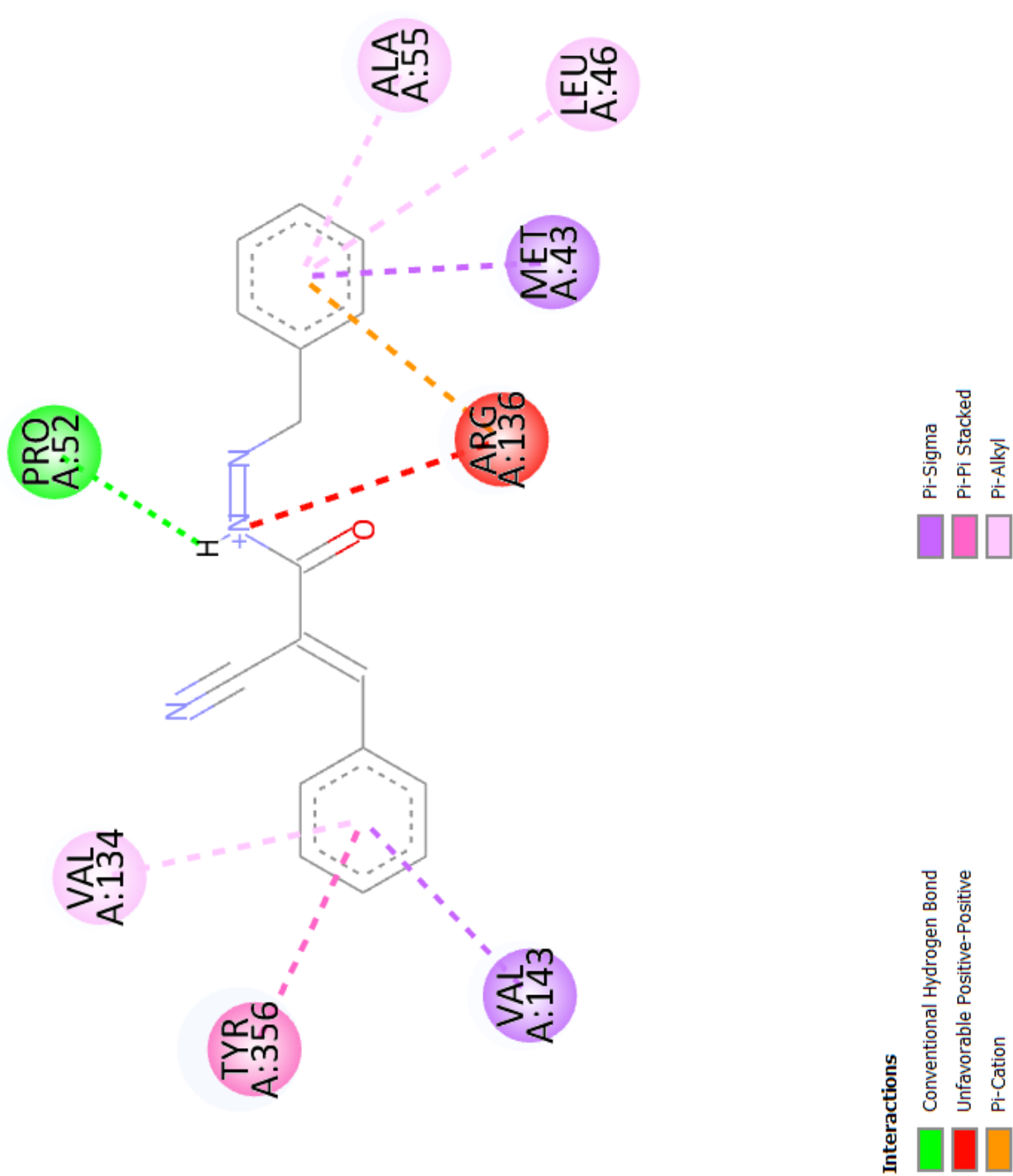
- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Pi-Sigma
- Pi-Pi Stacked

- Amide-Pi Stacked
- Alkyl
- Pi-Alkyl

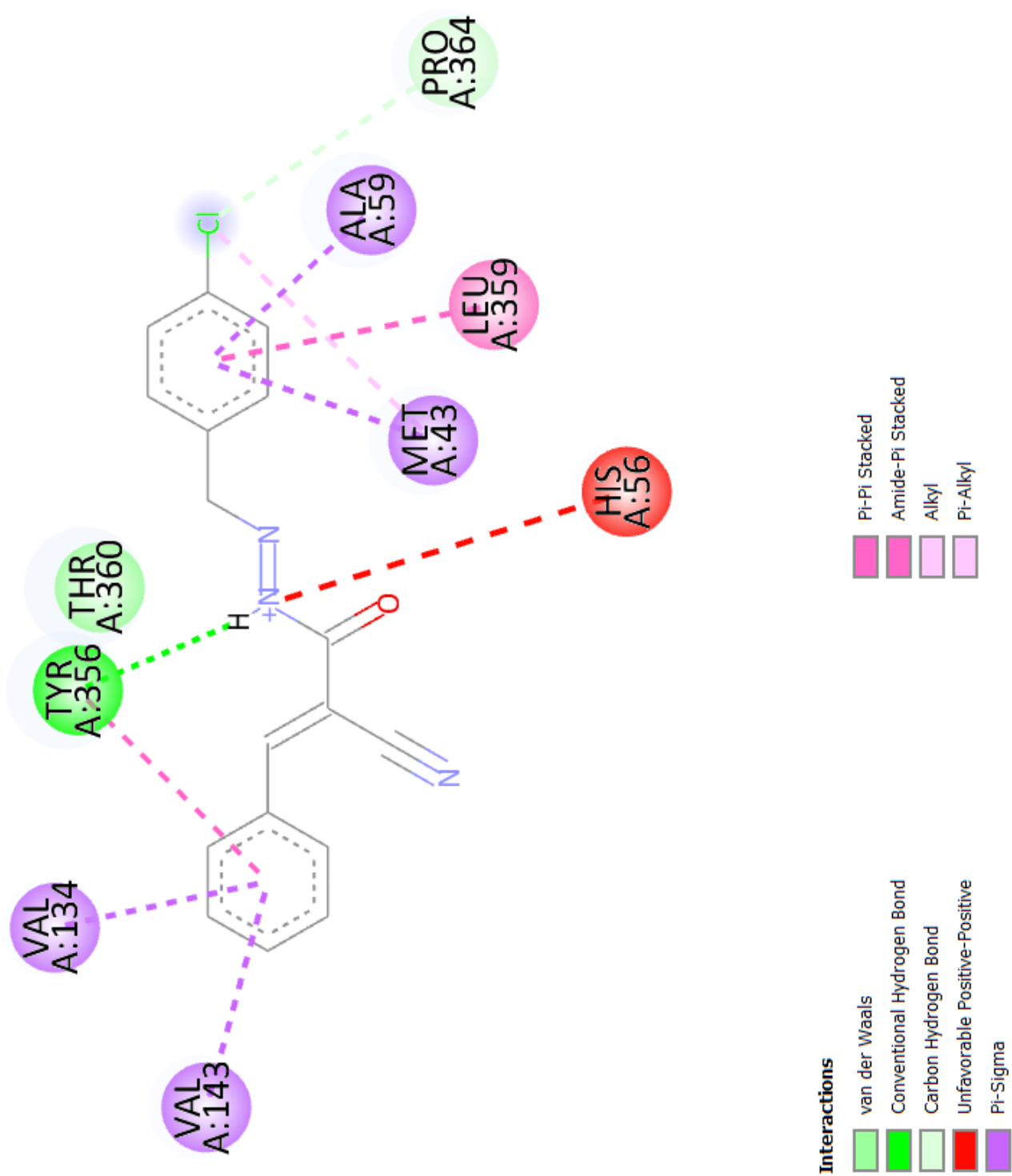
APÊNDICE I - *Docking* molecular: interação B-17DZ com 4OQV

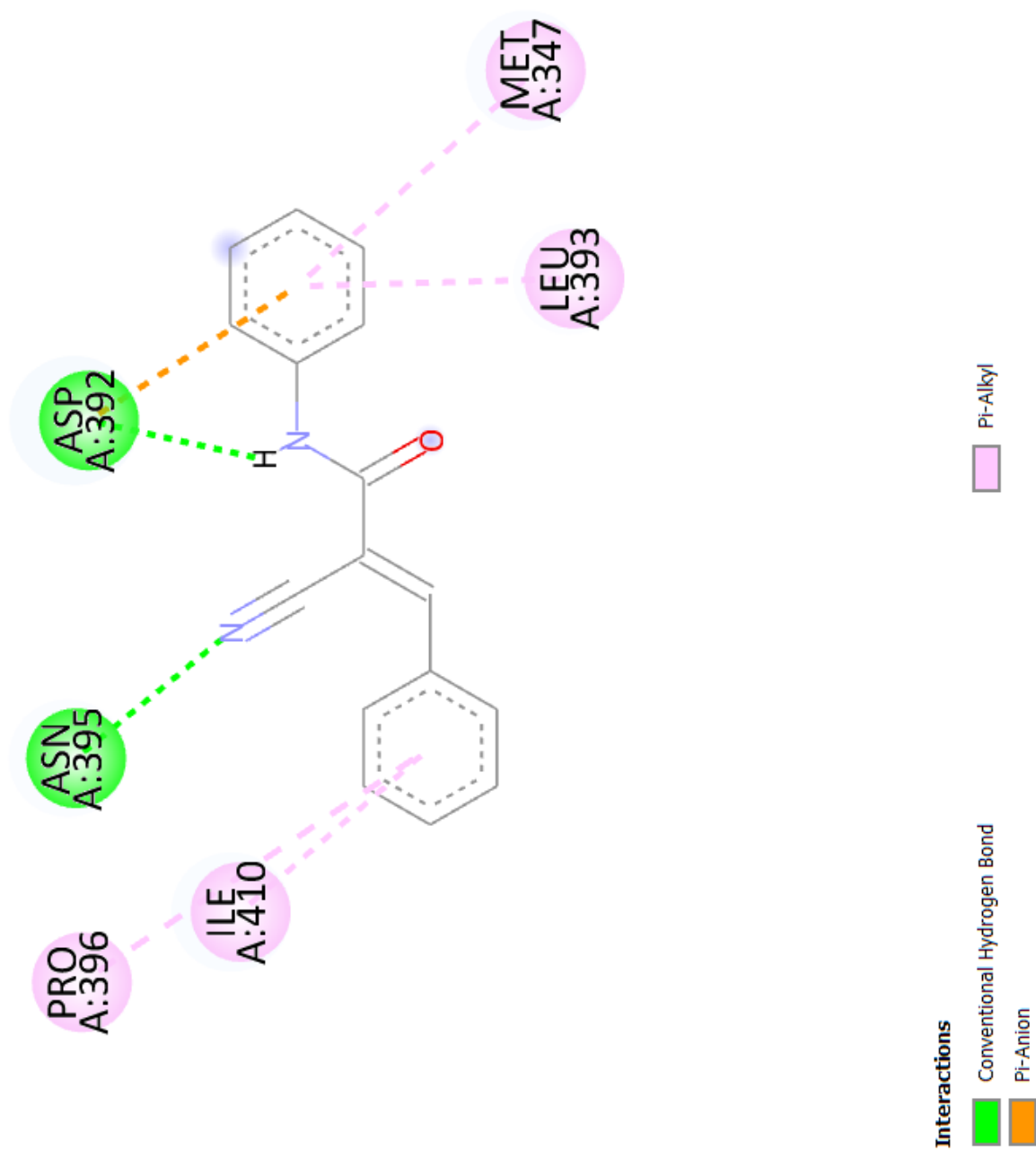
APÊNDICE J - Docking molecular: interação C-27DZ com 4OQV

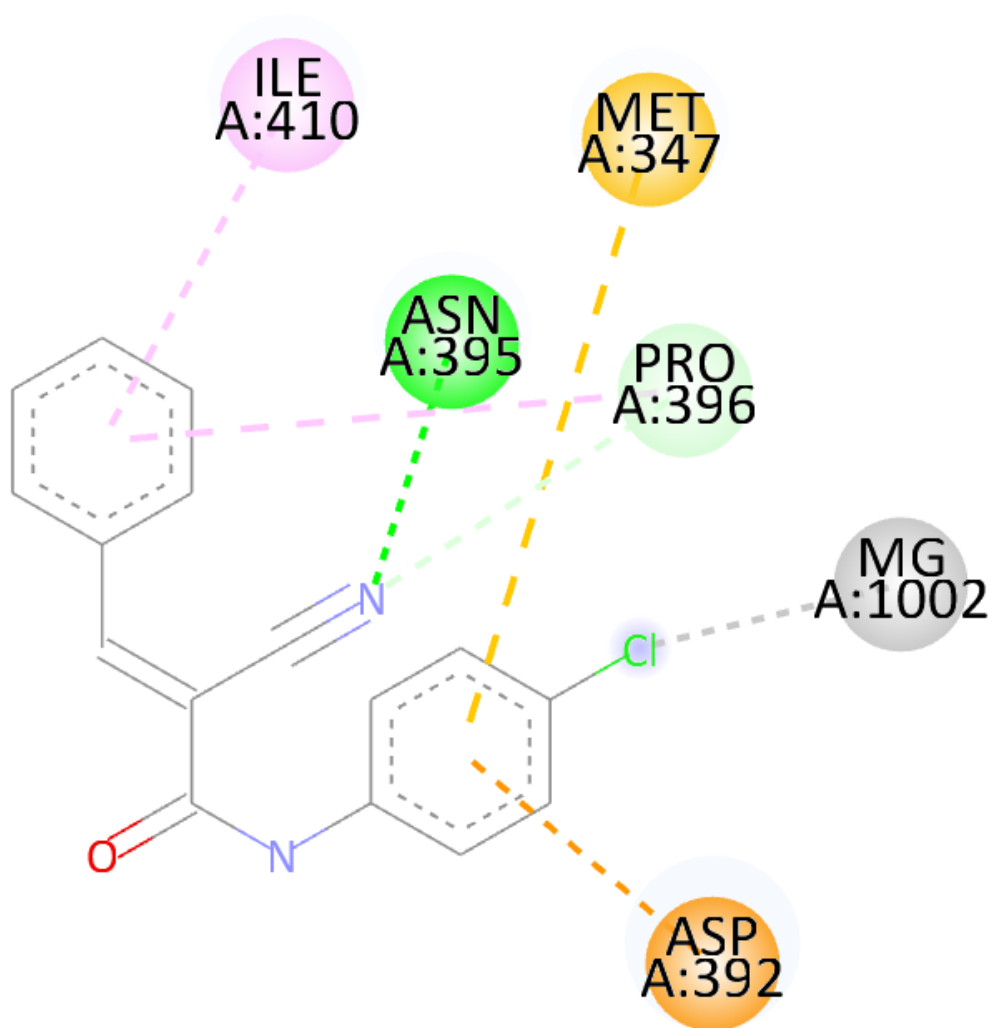





APÊNDICE K - *Docking* molecular: interação AMZ-BZ com 4OQV

APÊNDICE L - *Docking* molecular: interação D-37DZ com 4OQV

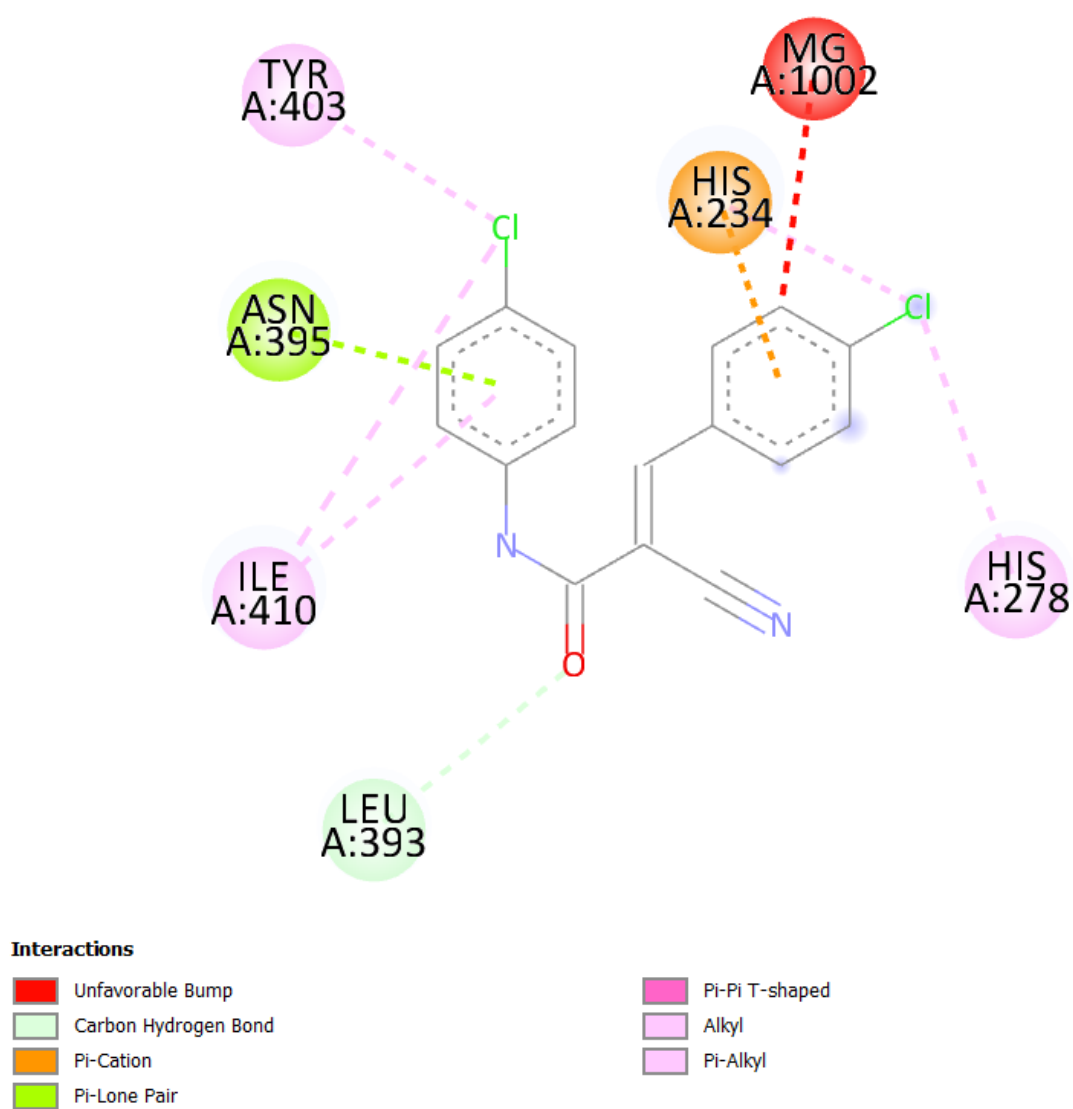


APÊNDICE M – *Docking* molecular: interação JMPR com 1XMU

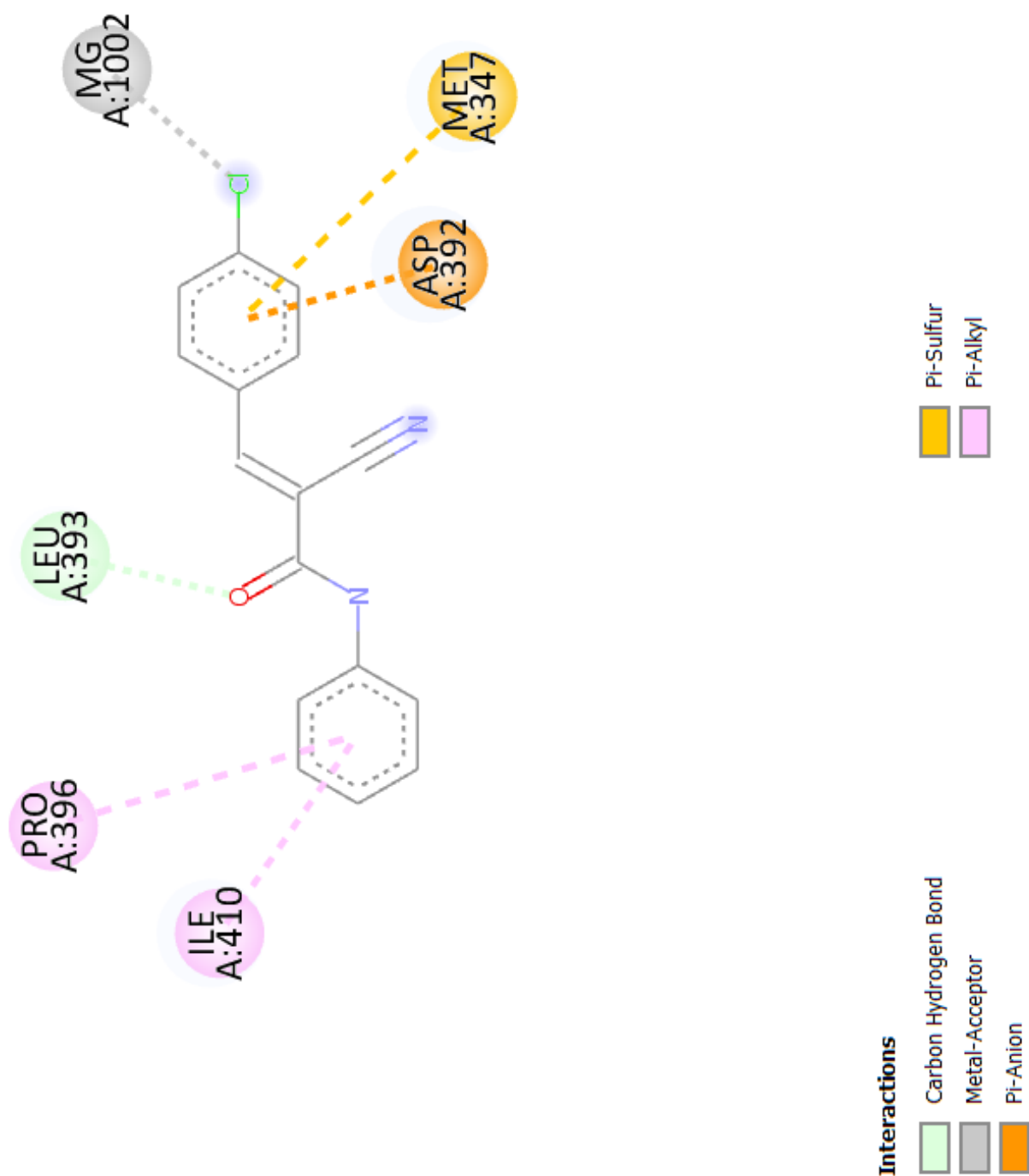
APÊNDICE N – *Docking* molecular: interação A-07DZ com 1XMU**Interactions**

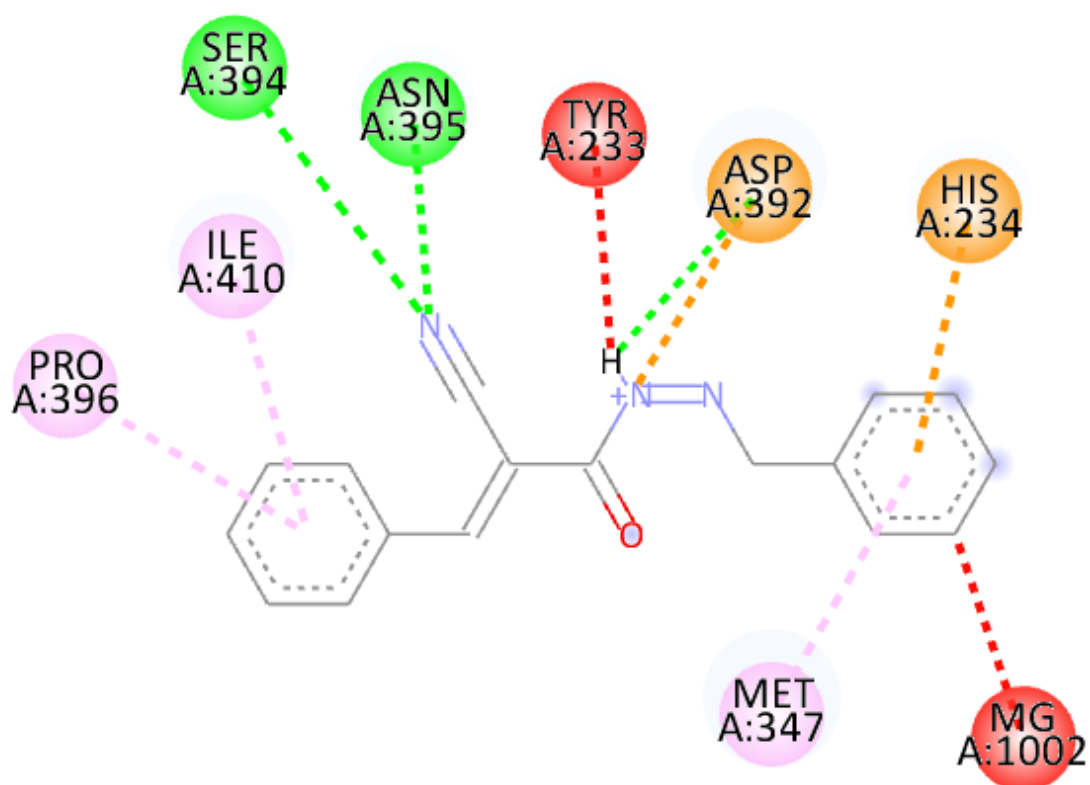
-  Conventional Hydrogen Bond
-  Carbon Hydrogen Bond
-  Metal-Acceptor

-  Pi-Anion
-  Pi-Sulfur
-  Pi-Alkyl

APÊNDICE O - *Docking* molecular: interação B-17DZ com 1XMU

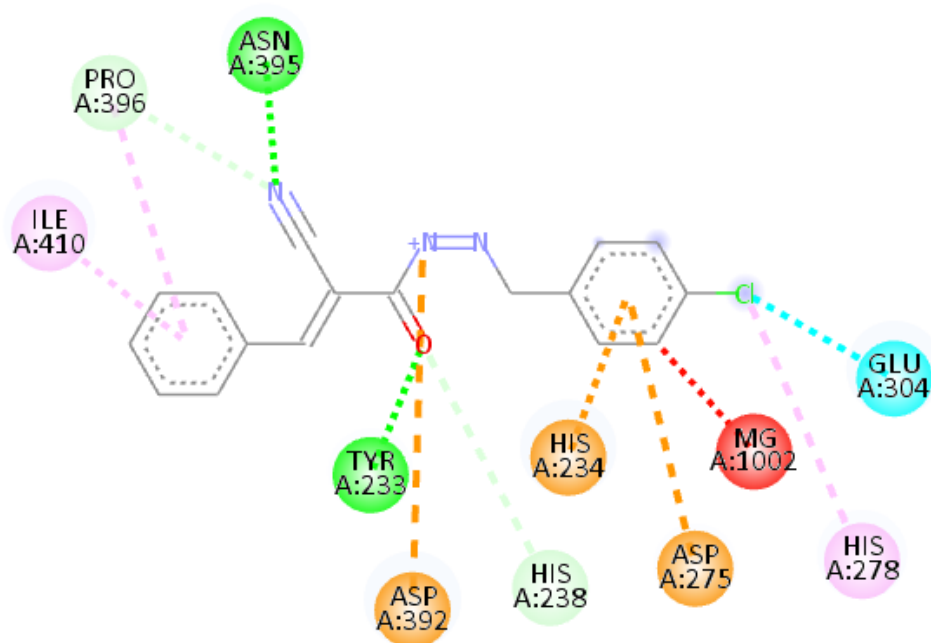
APÊNDICE P - Docking molecular: interação C-27DZ com 1XMU



APÊNDICE Q - *Docking* molecular: interação AMZ-BZ com 1XMU**Interactions**

	Unfavorable Bump		Pi-Cation
	Attractive Charge		Pi-Pi T-shaped
	Conventional Hydrogen Bond		Pi-Alkyl
	Unfavorable Donor-Donor		

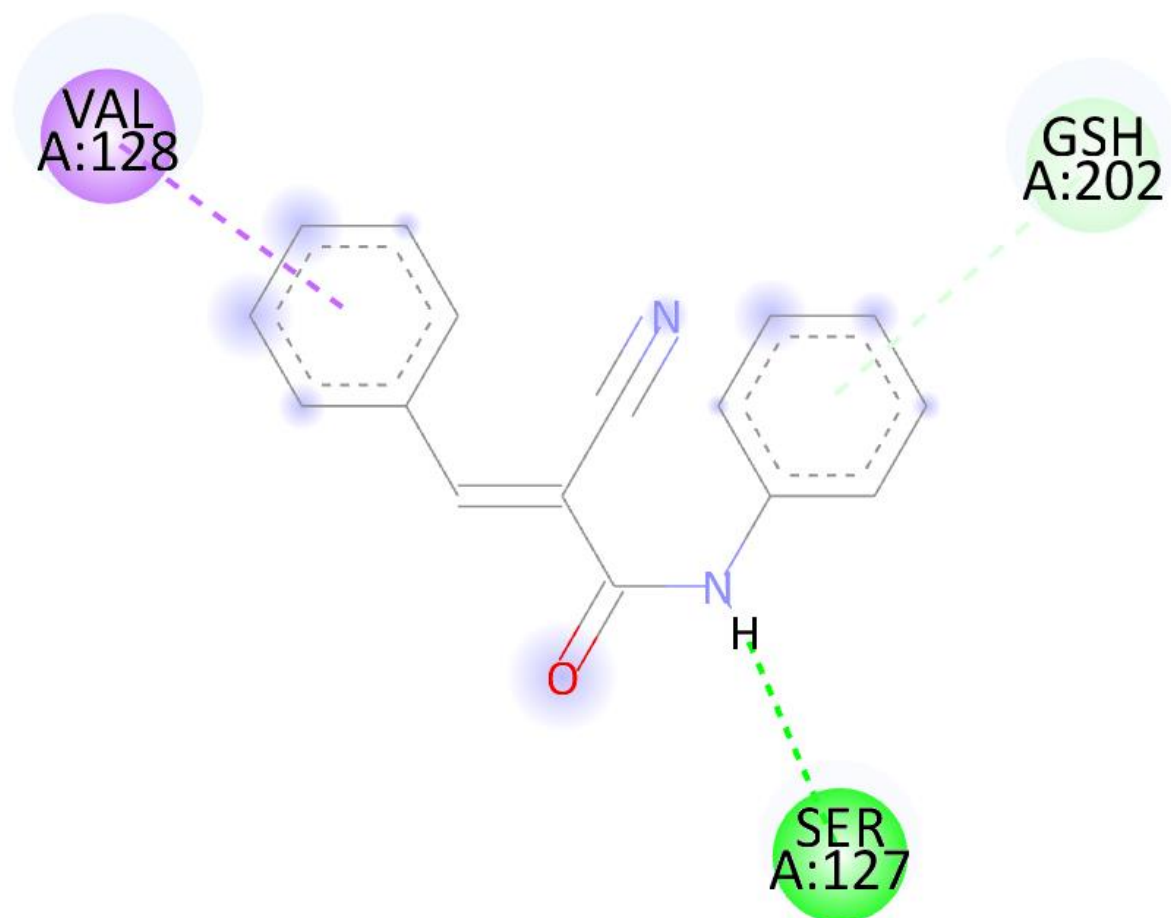
APÊNDICE R - *Docking* molecular: interação D-37DZ com 1XMU



Interactions

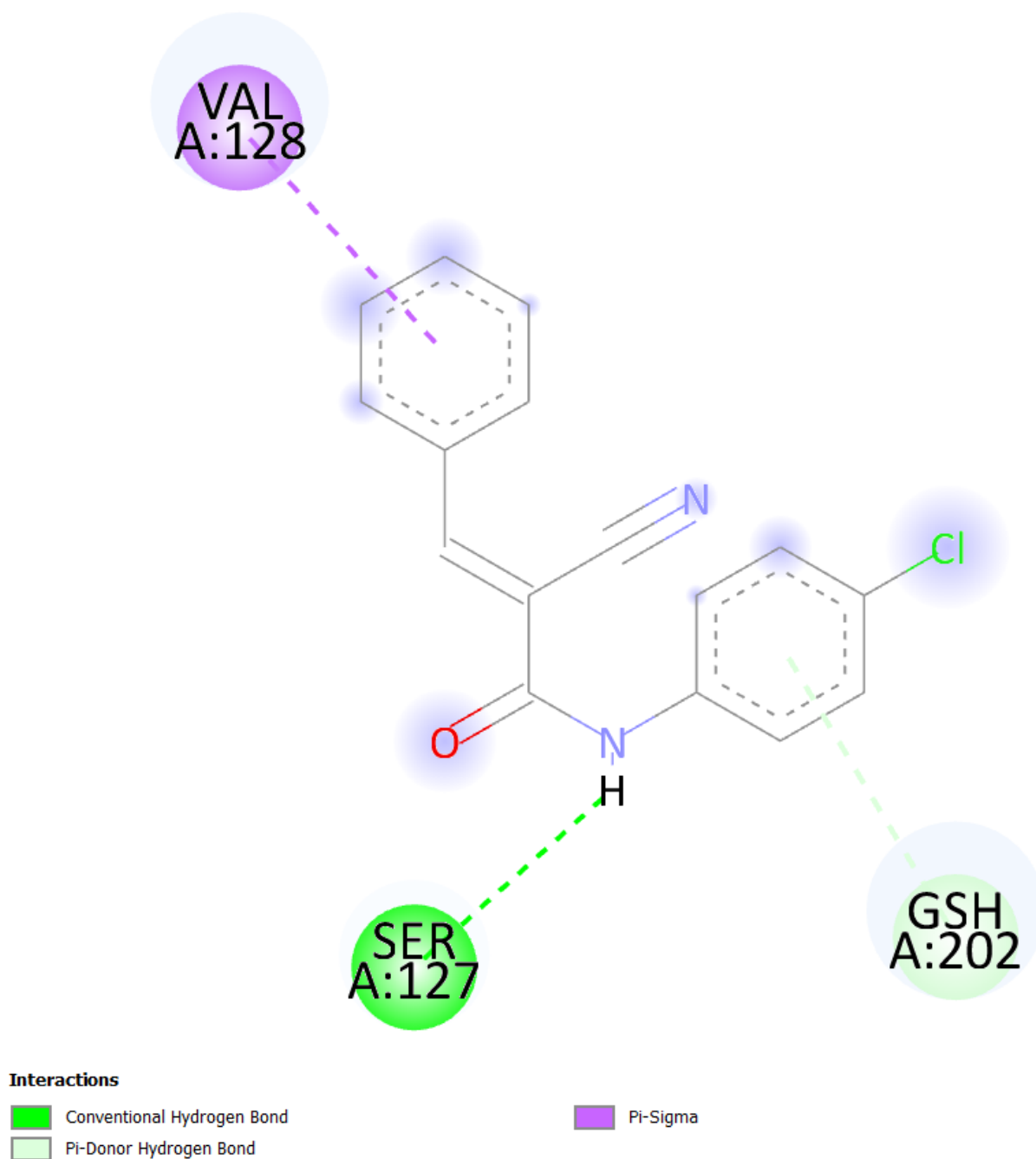
- Unfavorable Bump
- Attractive Charge
- Conventional Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond
- Halogen (Cl, Br, I)

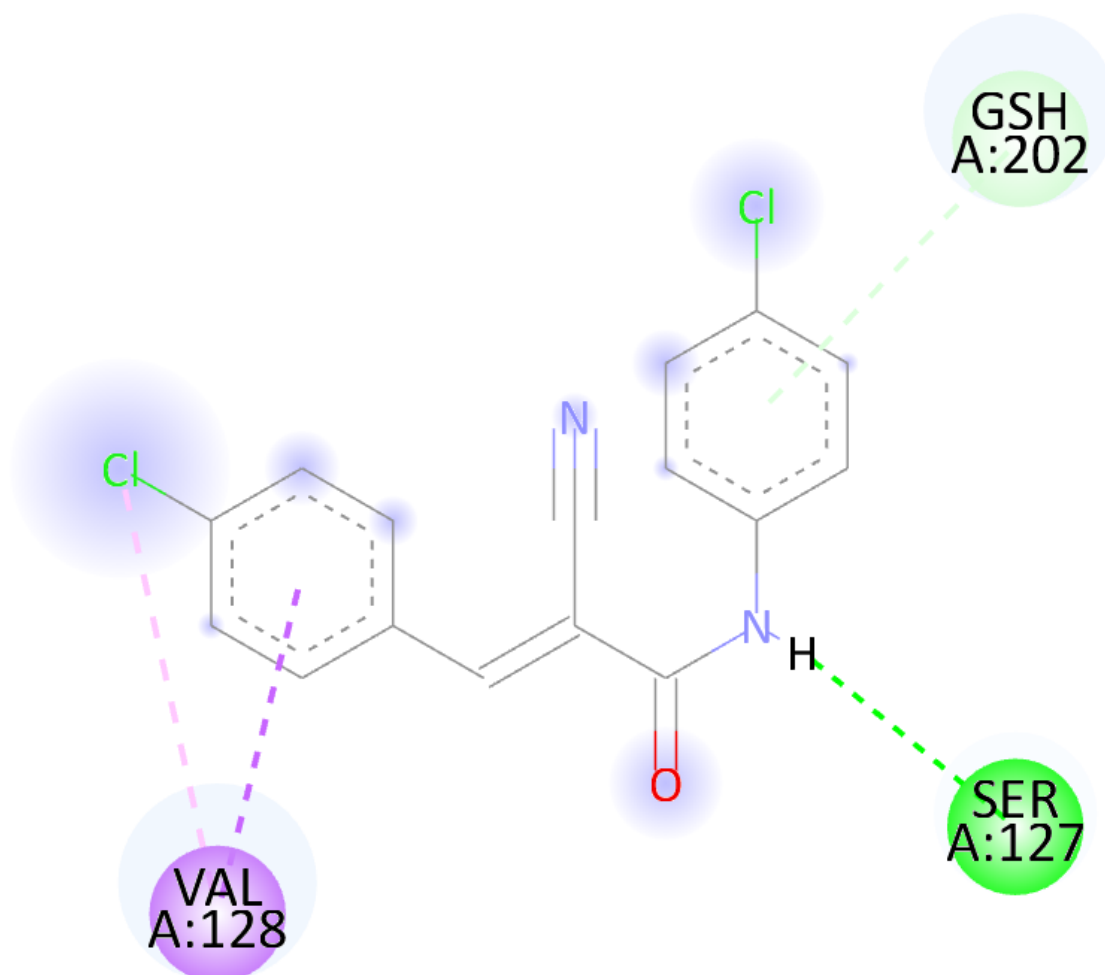
- Pi-Cation
- Pi-Anion
- Pi-Pi T-shaped
- Pi-Alkyl

APÊNDICE S – *Docking* molecular: interação JMPR com 5T36**Interactions**

- Conventional Hydrogen Bond
- Pi-Donor Hydrogen Bond

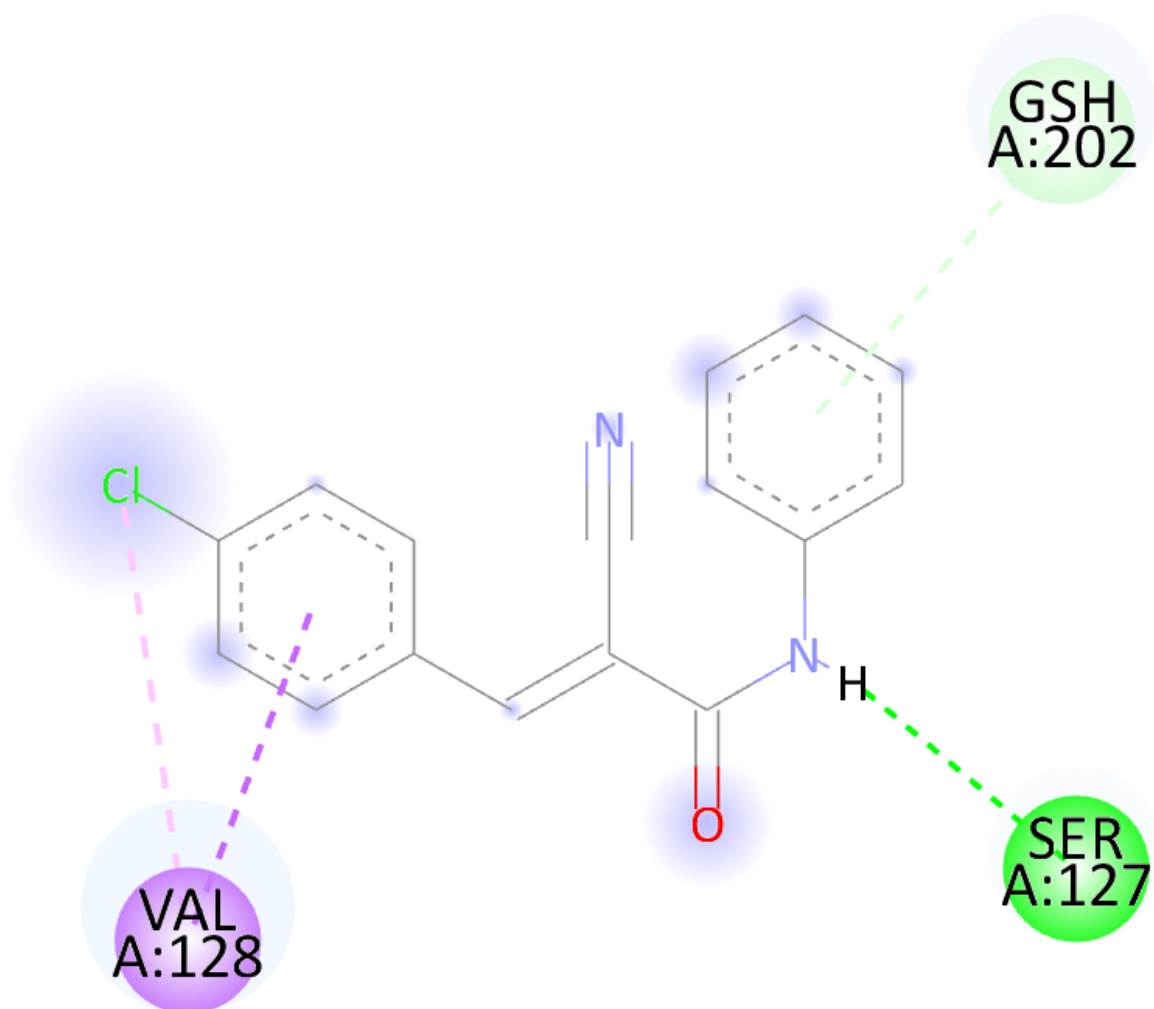
Pi-Sigma



APÊNDICE T – *Docking* molecular: interação A-07DZ com 5T36

APÊNDICE U - *Docking* molecular: interação B-17DZ com 5T36**Interactions**

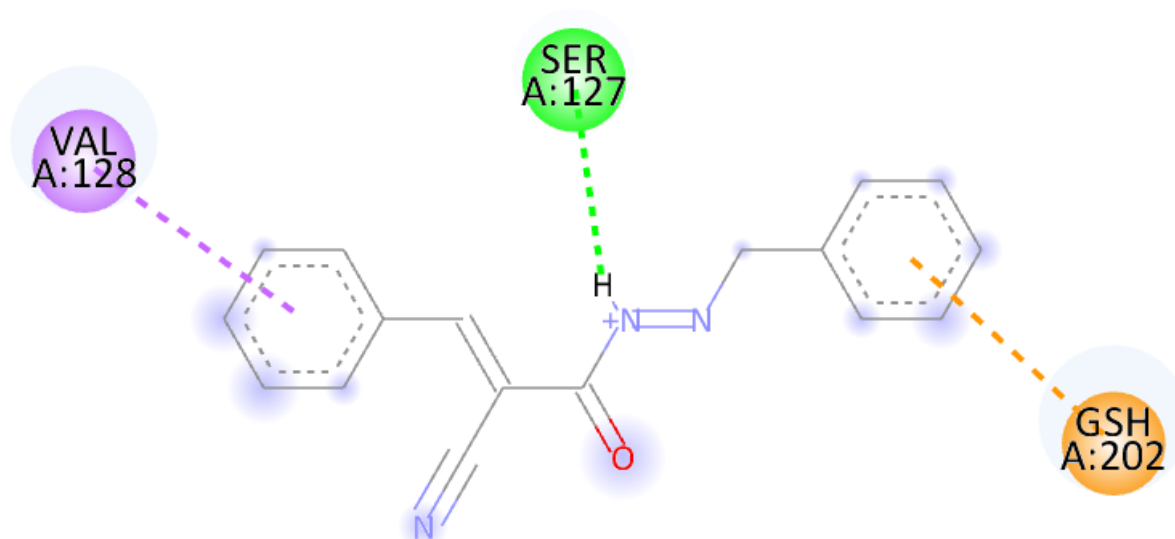
- Conventional Hydrogen Bond
- Pi-Donor Hydrogen Bond



- Pi-Sigma
- Alkyl



APÊNDICE V - *Docking* molecular: interação C-27DZ com 5T36**Interactions**

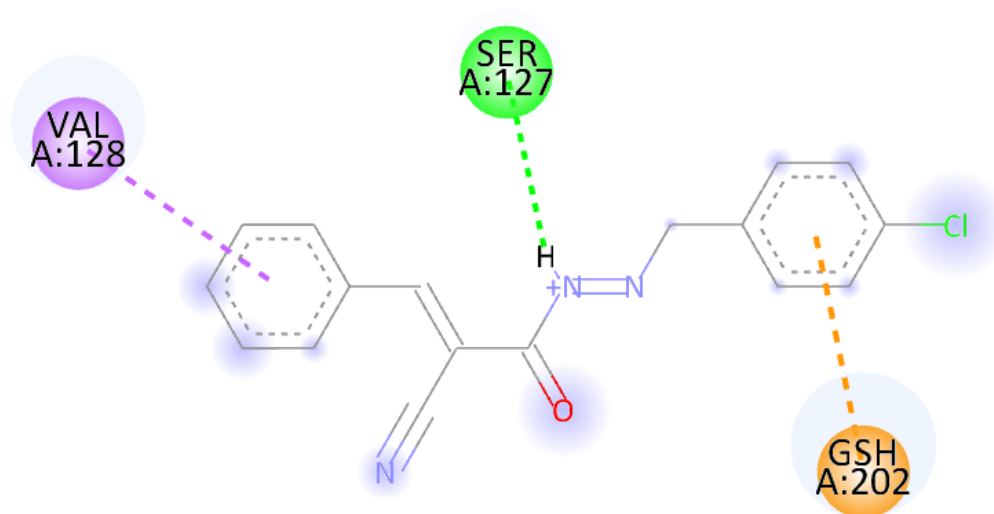
-  Conventional Hydrogen Bond
-  Pi-Donor Hydrogen Bond



-  Pi-Sigma
-  Alkyl



APÊNDICE W - Docking molecular: interação AMZ-BZ com 5T36**Interactions**

-  Conventional Hydrogen Bond
-  Pi-Cation

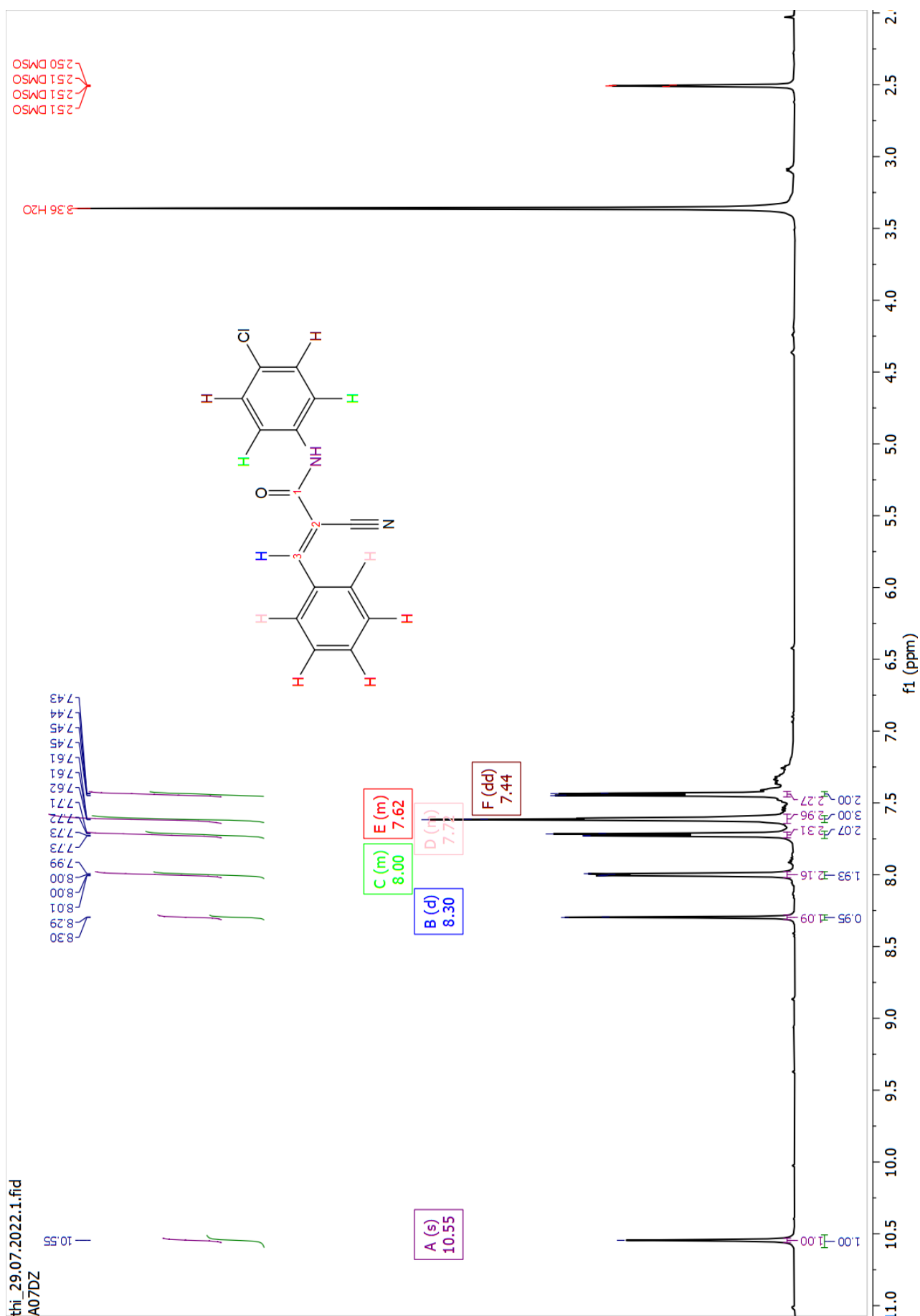
-  Pi-Donor Hydrogen Bond
-  Pi-Sigma

APÊNDICE X - Docking molecular: interação D-37DZ com 5T36**Interactions**

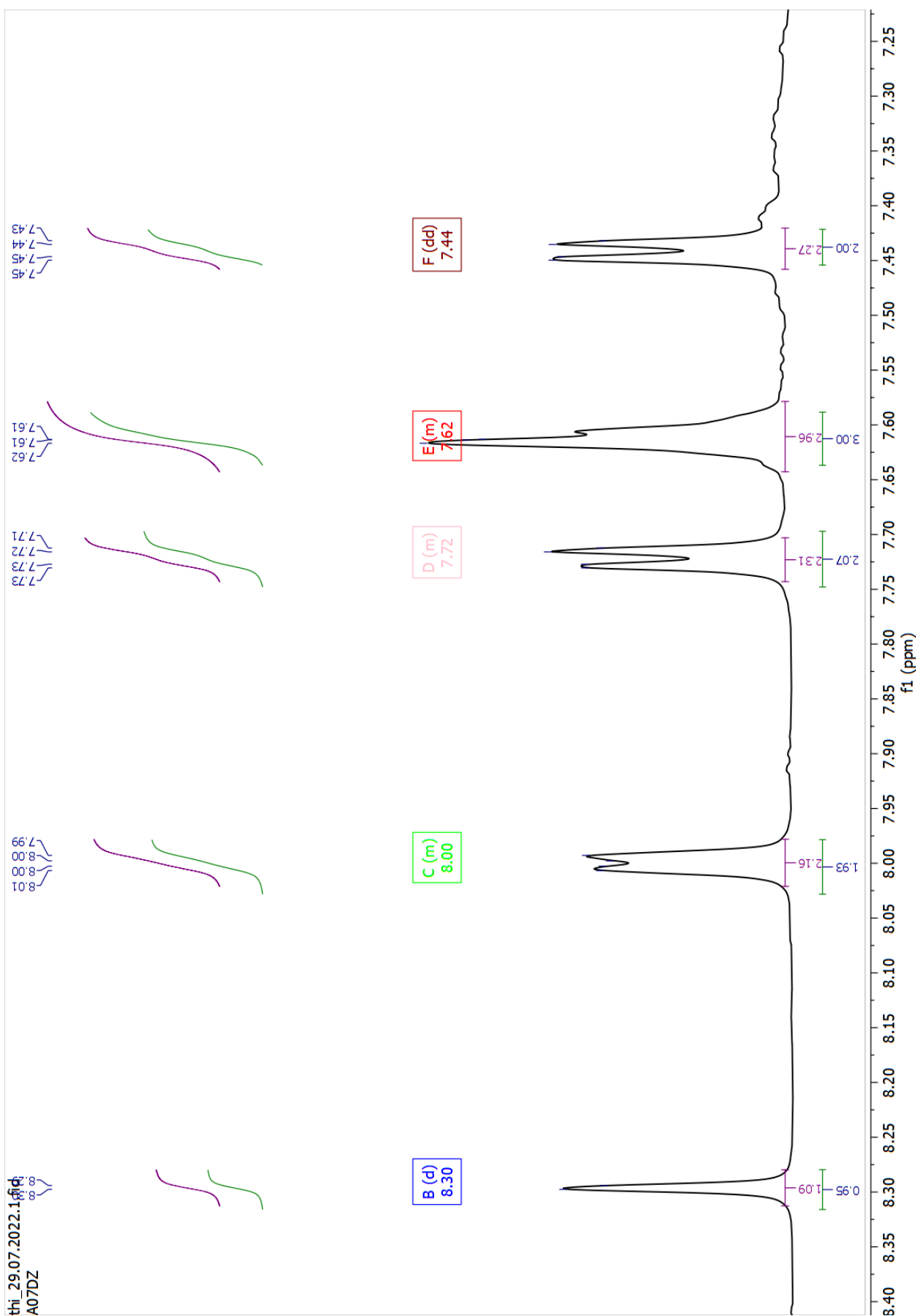
-  Conventional Hydrogen Bond
-  Pi-Cation

-  Pi-Donor Hydrogen Bond
-  Pi-Sigma

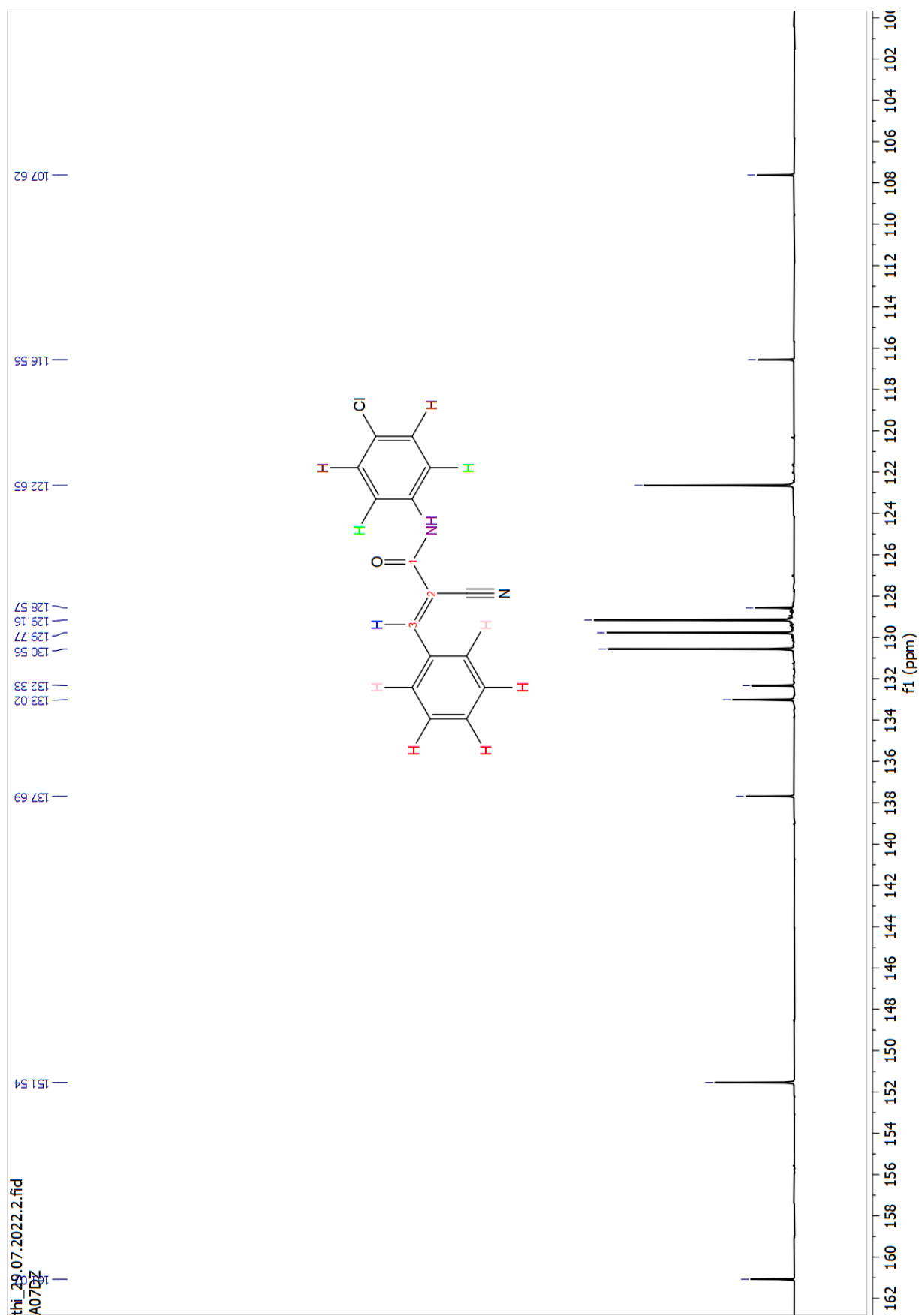
APÊNDICE Y- ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H DA MOLÉCULA A-07DZ (EXPANDIDO)

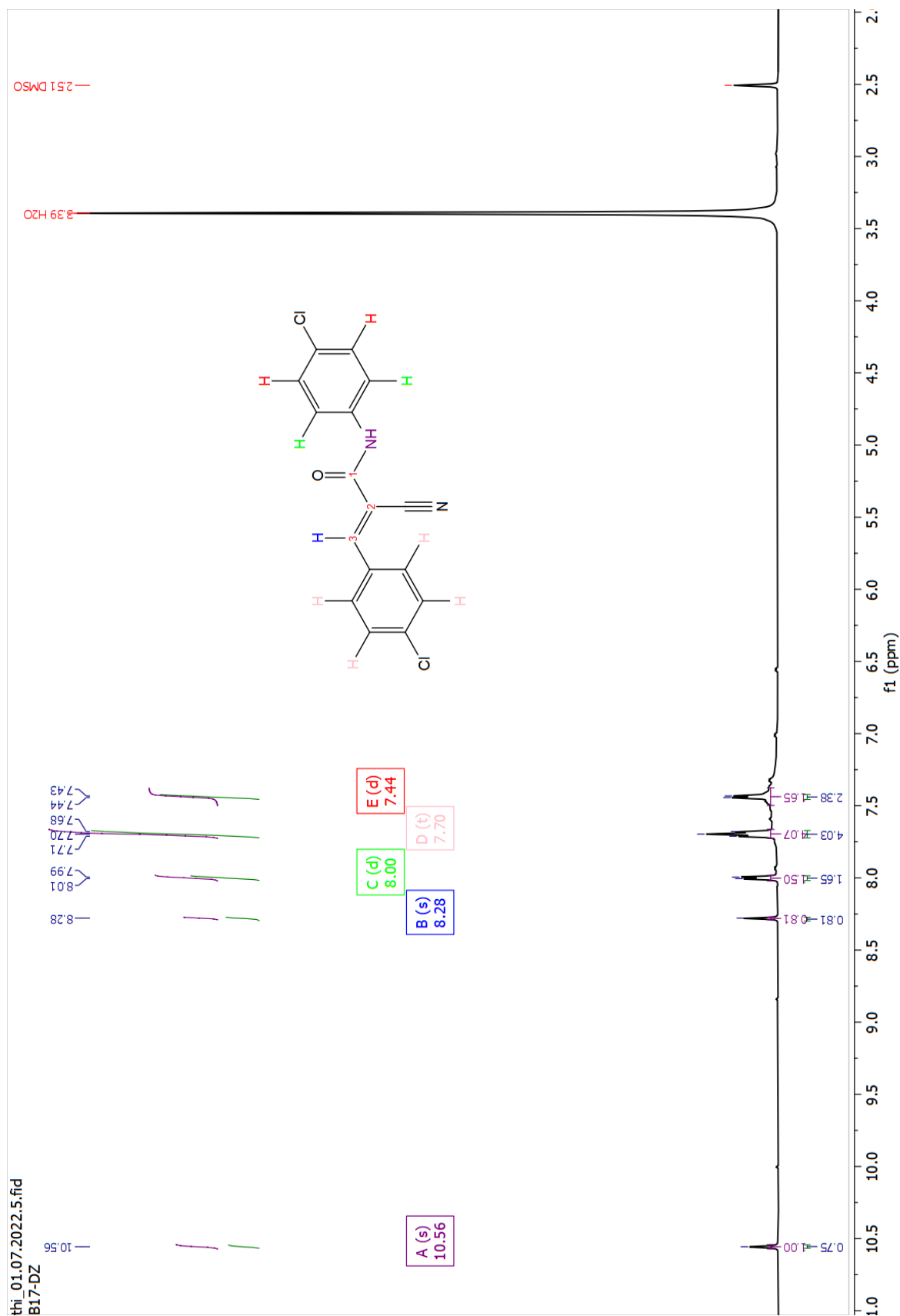


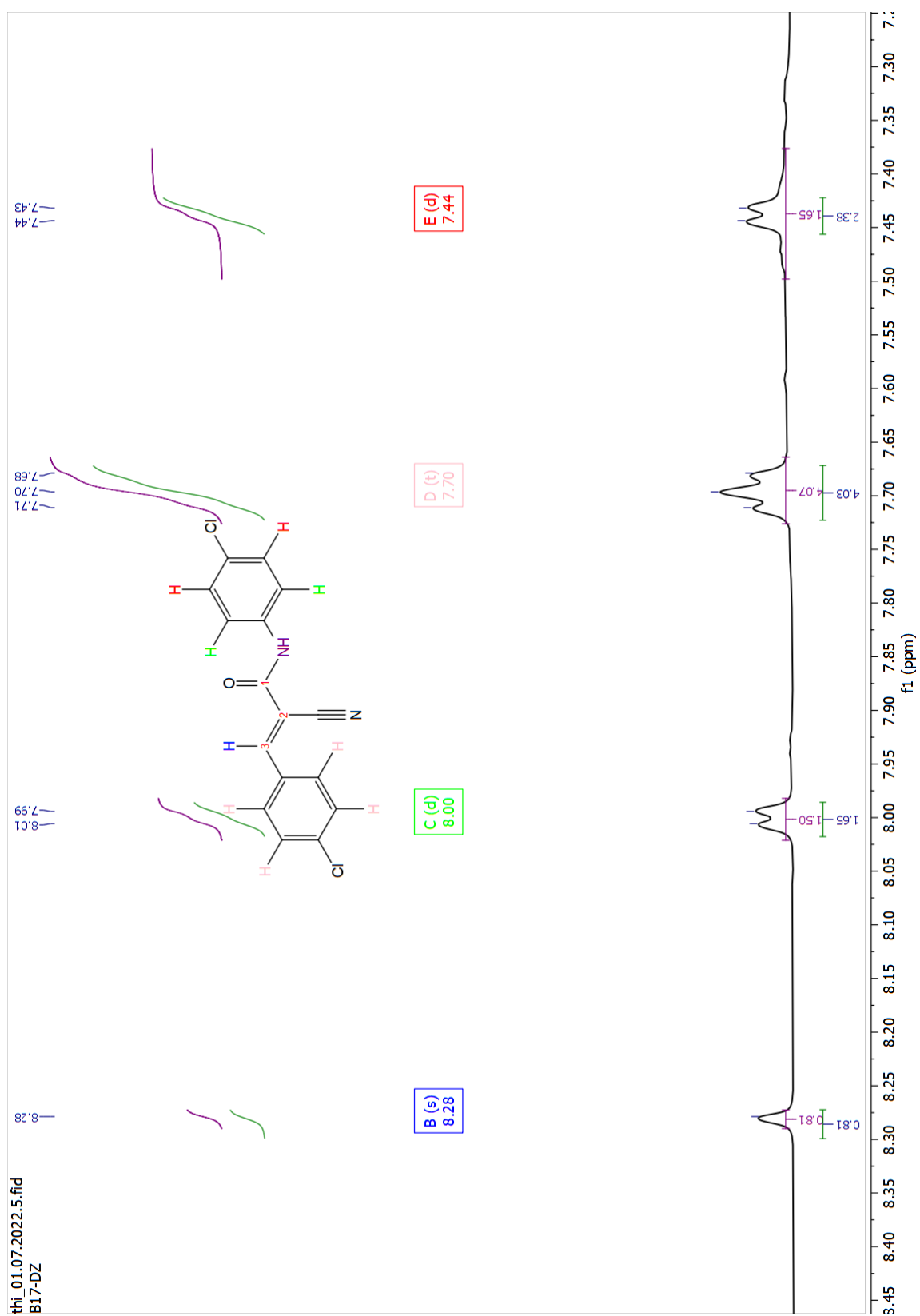
APÊNDICE Z - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H DA MOLÉCULA A-07DZ (DETALHES)



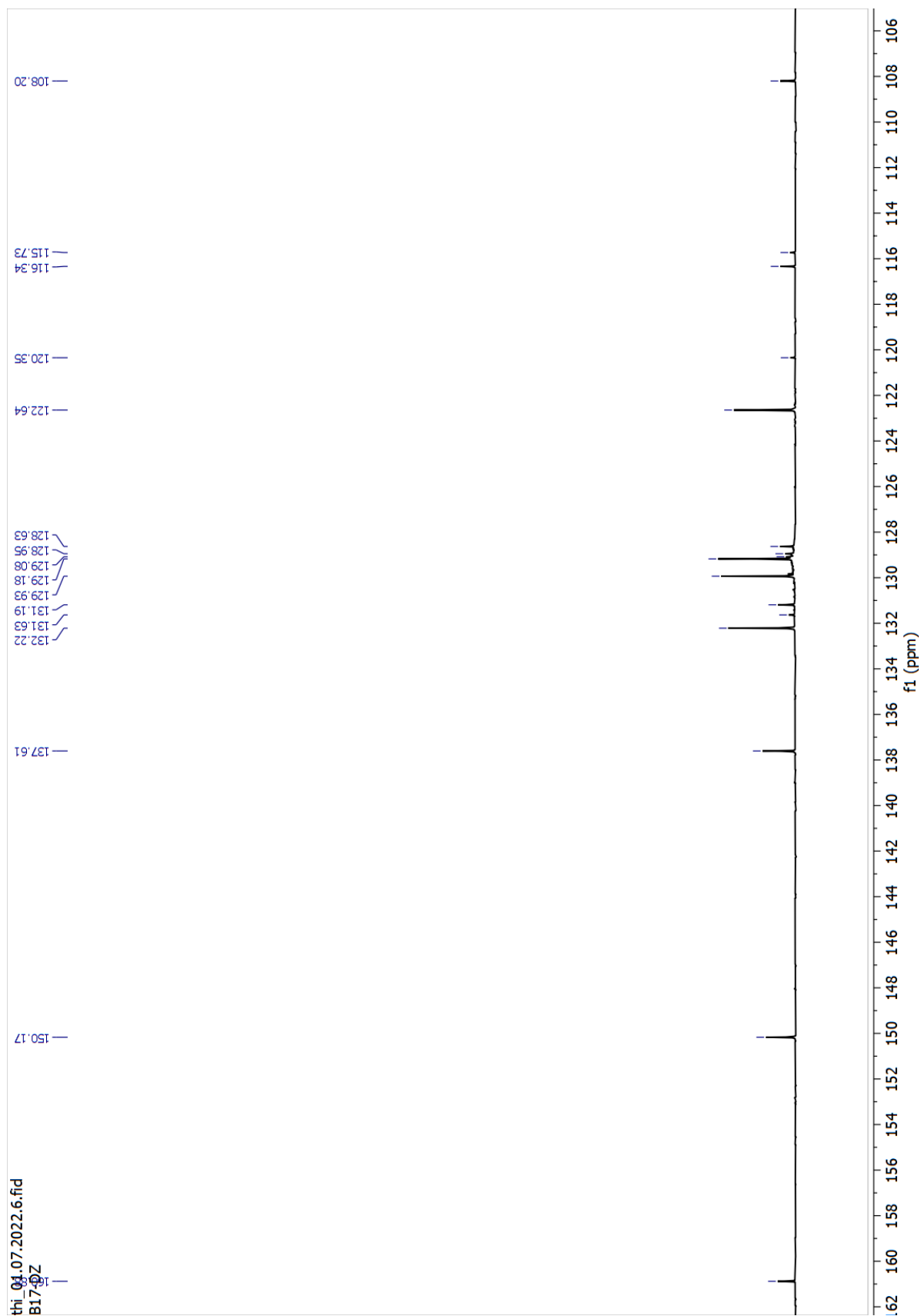
APÊNDICE AA - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C DA MOLÉCULA A-07DZ



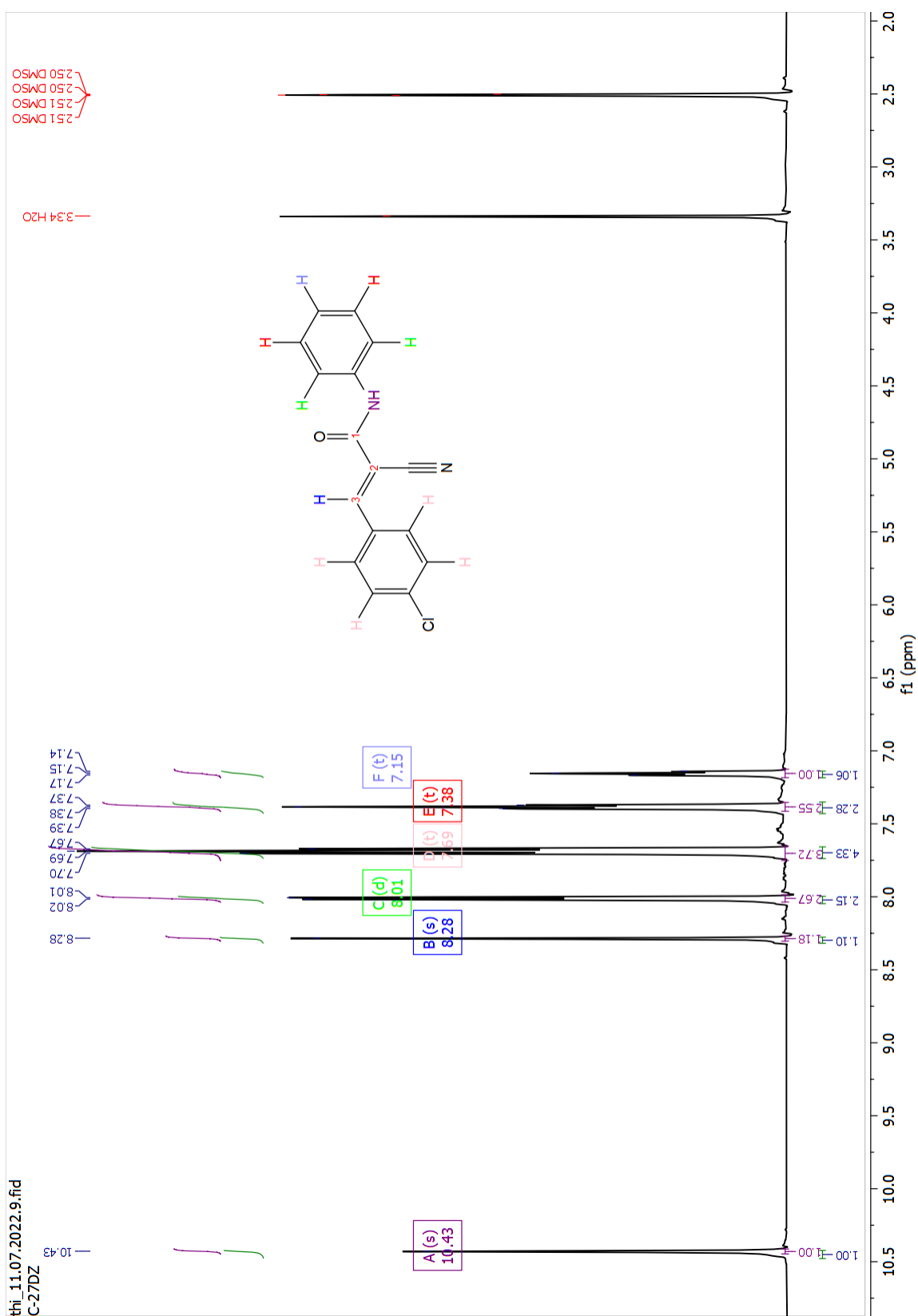
APÊNDICE BB - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H DA MOLÉCULA B-17DZ (EXPANDIDO)

APÊNDICE CC - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H
DA MOLÉCULA B-17DZ (DETALHES)

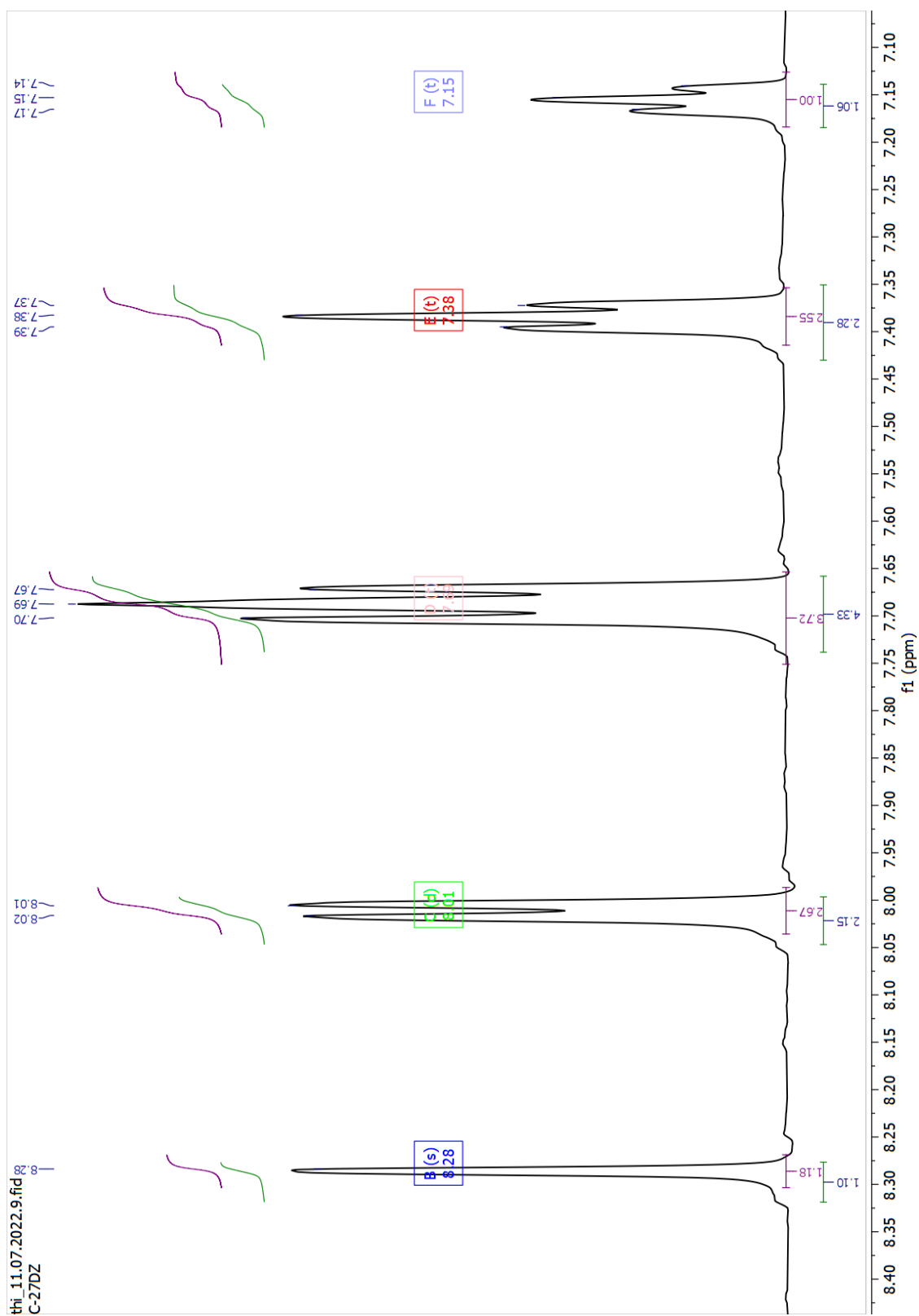
APÊNDICE DD - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C DA MOLÉCULA B-17DZ



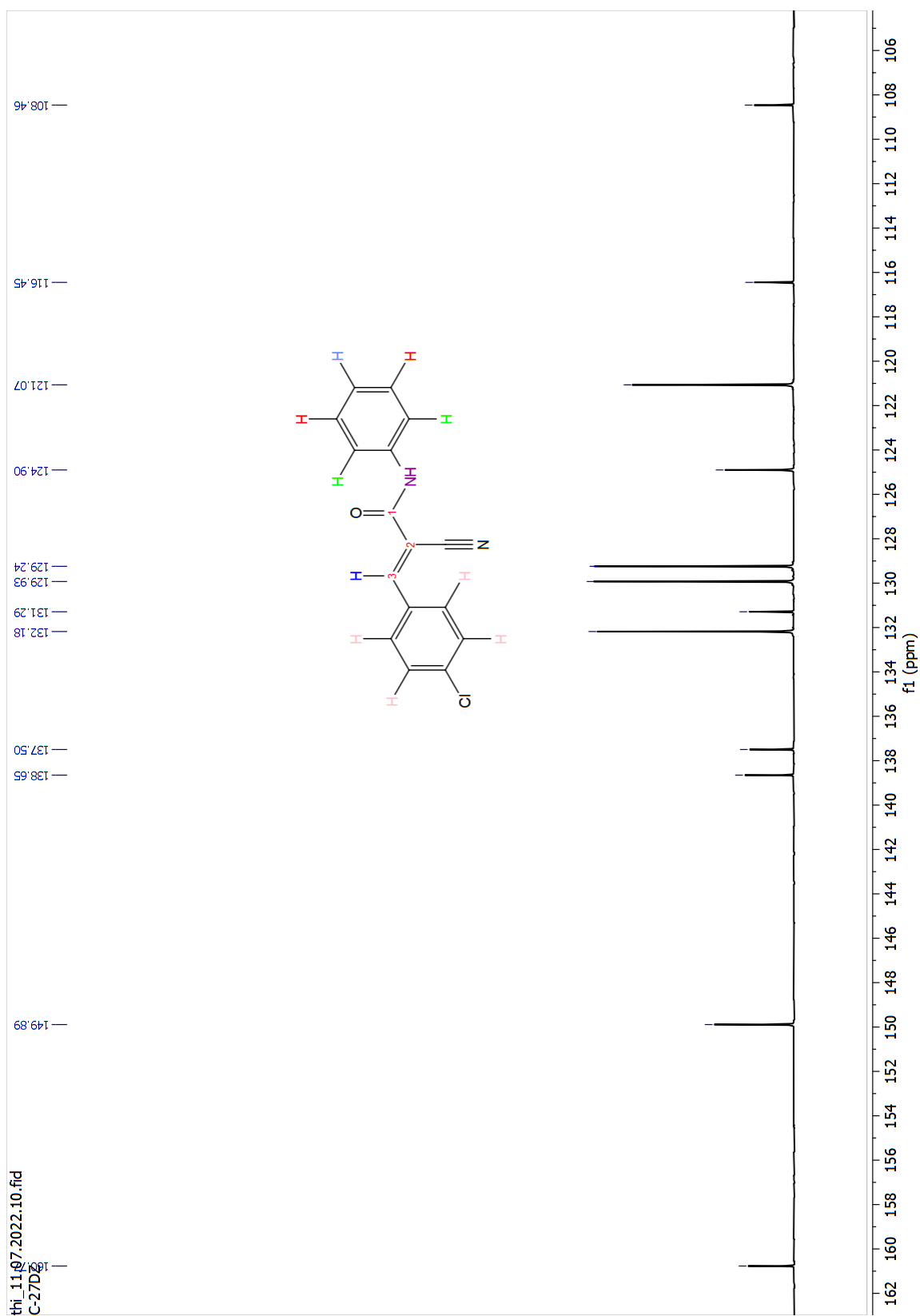
APÊNDICE EE - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H DA MOLÉCULA C-27DZ (EXPANDIDO)



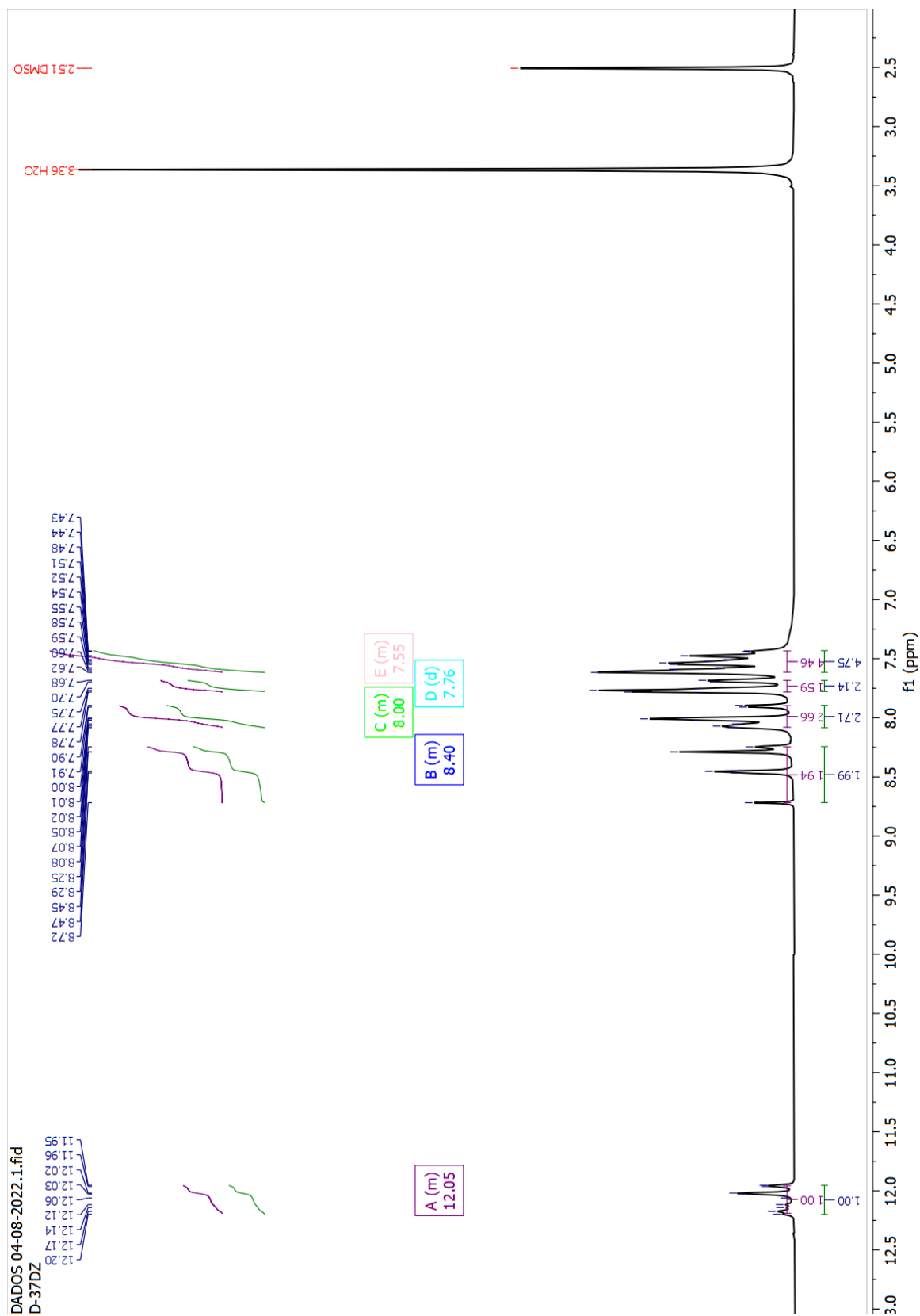
APÊNDICE FF - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H DA MOLÉCULA C-27DZ



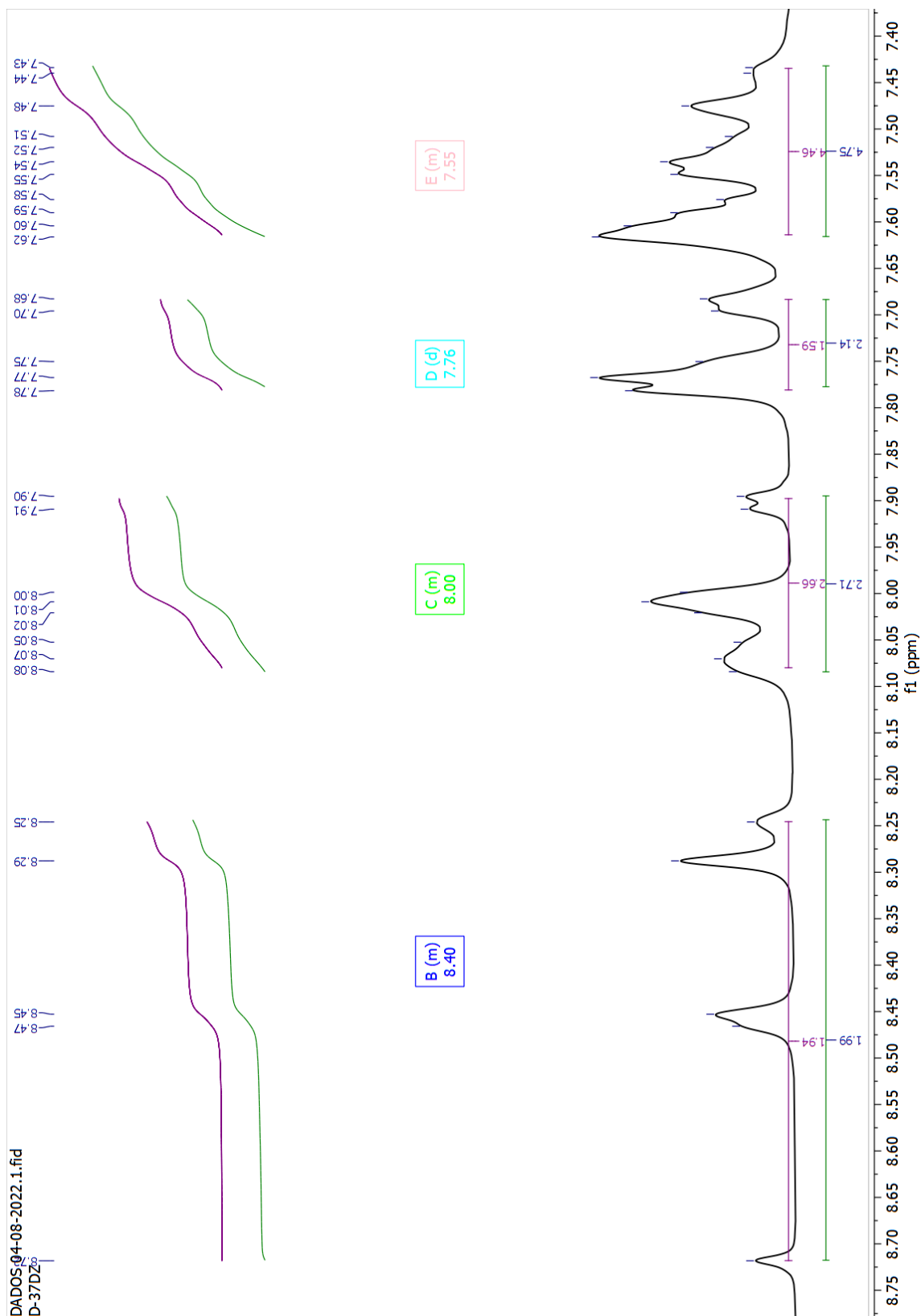
APÊNDICE GG - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C DA MOLÉCULA C-27DZ



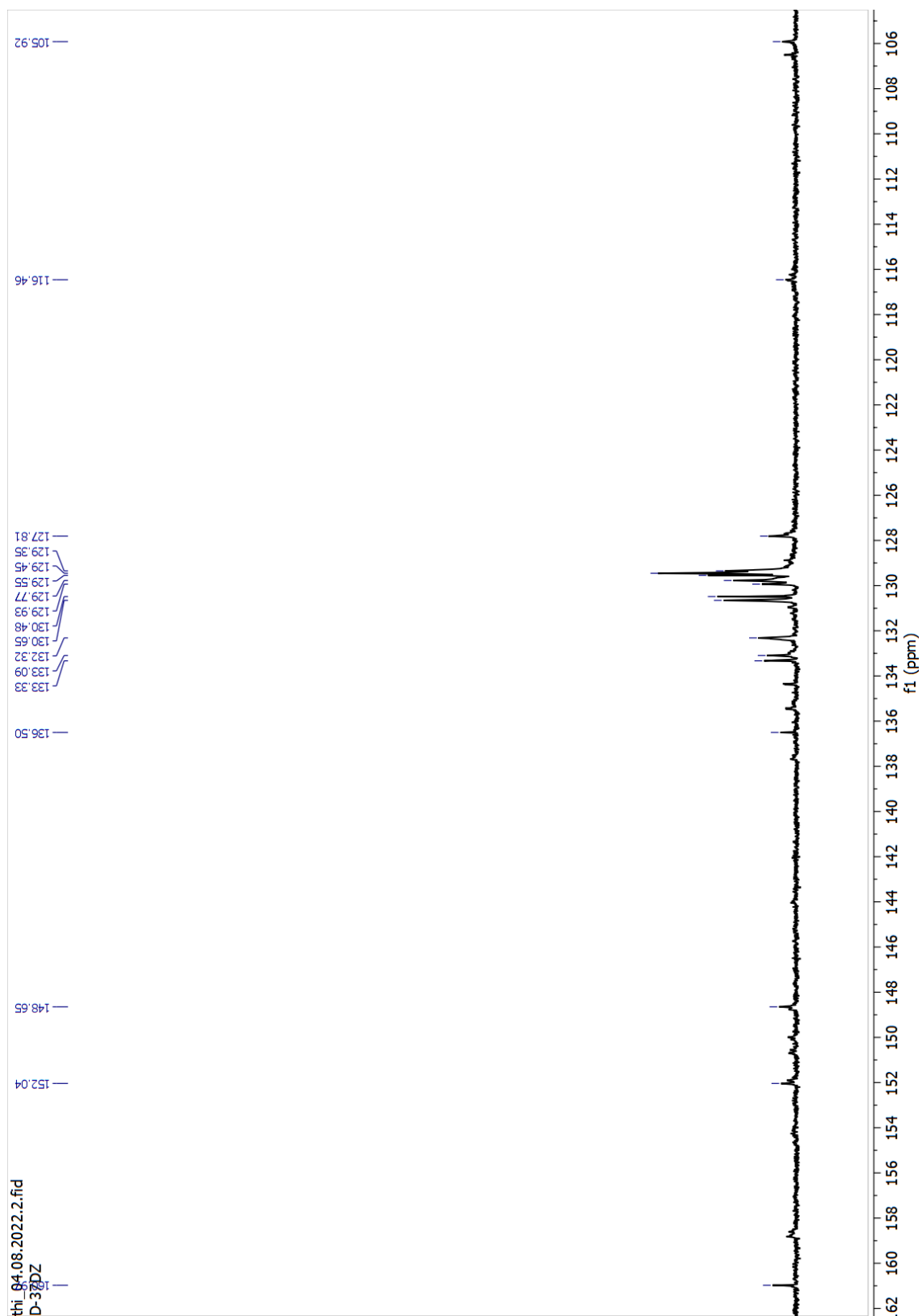
APÊNDICE HH - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H DA MOLÉCULA D-37DZ (EXPANDIDO)



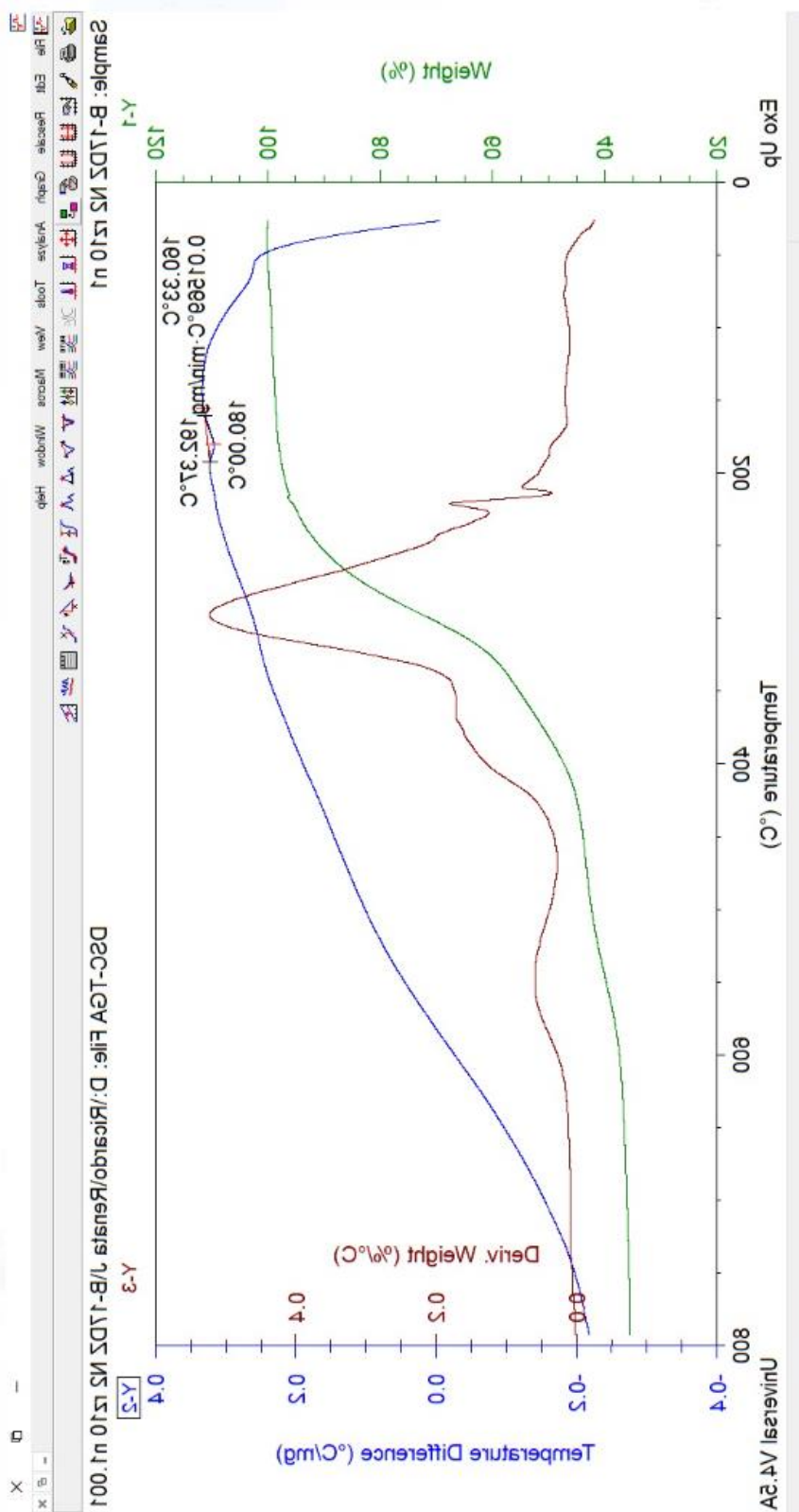
APÊNDICE II - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C DA MOLÉCULA D-37DZ (DETALHES)



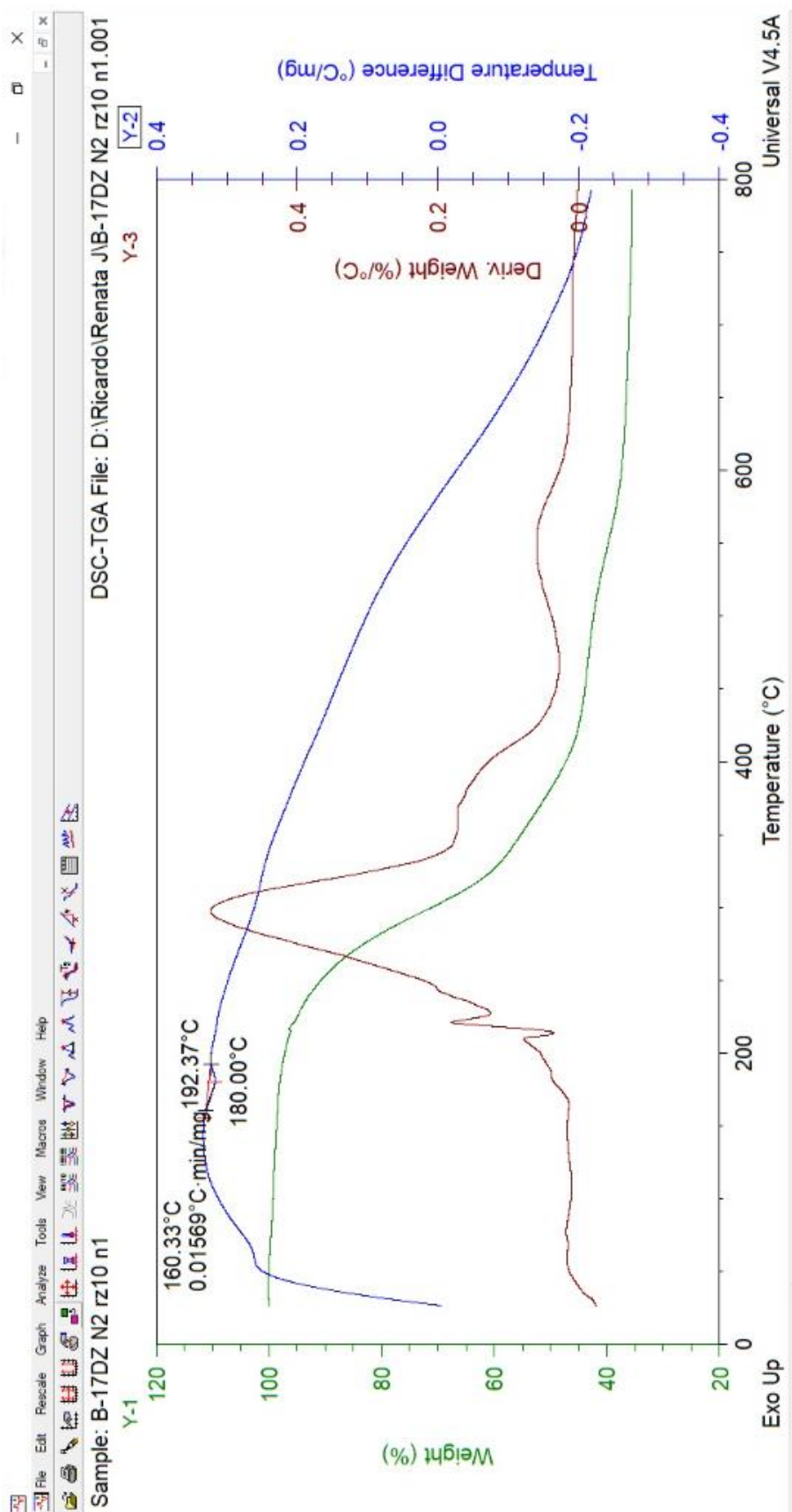
APÊNDICE JJ - ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C DA MOLÉCULA D-37DZ



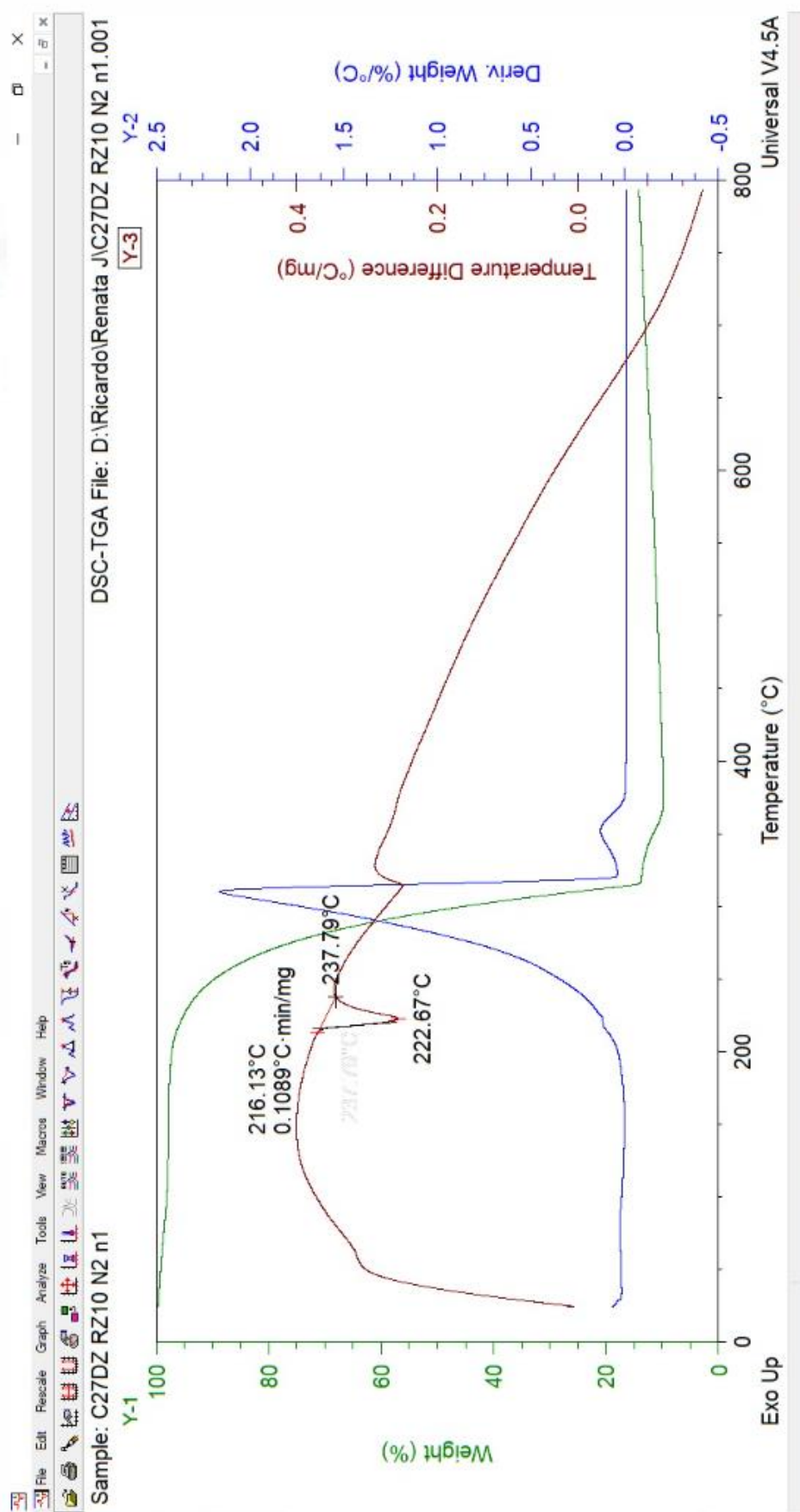
ANEXO A - GRÁFICOS DE TG/DTG E DTA DO DERIVADO A-07DZ



ANEXO B - GRÁFICOS DE TG/DTG E DTA DO DERIVADO B-17DZ



ANEXO C - GRÁFICOS DE TG/DTG E DTA DO DERIVADO C-27DZ



ANEXO D - GRÁFICOS DE TG/DTG E DTA DO DERIVADO D-37DZ

