



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FRANCIANE GONÇALVES DOS SANTOS

**SÍNTESE E ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA E BSA DE COMPOSTOS  
HETEROCÍCLICOS CONTENDO O NÚCLEO INDOL-TIAZOL**

Recife  
2019

FRANCIANE GONÇALVES DOS SANTOS

**SÍNTSE E ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA E BSA DE COMPOSTOS  
HETEROCÍCLICOS CONTENDO O NÚCLEO INDOL-TIAZOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química (PPGQ) da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientadores: Túlio Ricardo Couto de Lima Souza  
Paulo Henrique Menezes

Recife

2019

Catalogação na fonte  
Bibliotecária Monick Raquel Silvestre da S. Portes, CRB4-1217

S237s Santos, Franciane Gonçalves dos  
Síntese e estudo de interação com DNA e BSA de compostos heterocíclicos contendo o núcleo indol-tiazol / Franciane Gonçalves dos Santos. – 2019.  
120 f.: il., fig., tab.

Orientador: Túlio Ricardo Couto de Lima Souza.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Química, Recife, 2019.  
Inclui referências e apêndices.

1. Química orgânica. 2. DNA. I. Souza, Túlio Ricardo Couto de Lima (orientador). II. Título.

547

CDD (23. ed.)

UFPE - CCEN 2022-04

**SÍNTESE E ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA E BSA DE COMPOSTOS  
HETEROCÍCLICOS CONTENDO O NÚCLEO INDOL-TIAZOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química (PPGQ) no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em: 22/ 02/ 2019

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Túlio Couto de Lima Souza (Orientador)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Unidade Acadêmica de Serra Talhada

---

Prof. Ricardo Oliveira da Silva  
Universidade Federal de Pernambuco  
Departamento de Química Fundamental

---

Prof. Jamerson Ferreira de Oliveira  
Universidade Federal de Pernambuco  
Departamento de Antibióticos

Dedico este trabalho aos meus pais, Francisnaldo e Elisângela e ao meu irmão Fabiano.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por revigorar minhas forças e me oportunizar vivenciar experiências necessárias para o meu aperfeiçoamento.

Agradeço especialmente a minha família pelo apoio incondicional, meu pai Francisaldo, minha mãe Elisângela e meu irmão Fabiano. Aos meus tios e meus avós Francisca, Francisco e Adão Miguel pelas orações e palavras de ânimo.

Aos meus orientadores Professor Dr. Paulo Henrique Menezes e Professor Dr. Túlio Ricardo Couto de Lima Souza pela oportunidade e disponibilidade de orientação na pesquisa. A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria do Carmo Alves de Lima pela parceria na síntese dos compostos heterocíclicos através do seu laboratório de Química e Inovação Terapêutica LQIT. E a Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sinara Mônica que coordenou as atividades experimentais de espectroscopia com biomoléculas.

Ao Laboratório de Simulação Computacional (LaSC), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), onde foram gerados os arquivos *dpf* para análise de docking. Ao laboratório de Bioquímica do LIKA-UFPE pela realização dos experimentos de espectroscopia de UV-vis. E ao laboratório de enzimologia do CCS-UFPE pela realização do experimento de fluorescência.

Ao programa de Pós Graduação em química e a Central Analítica do Departamento de Química Fundamental-UFPE.

Ao CNPq/UFPE pela bolsa cedida.

Agradeço também as amigas que conheci no pensionato e que estiveram comigo durante essa trajetória, Ewellyn, Giulia, Jéssica, Flávia, Rita, Ingrid, Carol e Isabela. E em especial, aos amigos de laboratório pela troca de experiências e conhecimentos, Nathanael, Amélia, Pedro, Paula, Keroilane, Wanessa, Charles, César, Íris, Emanuel, Miguel, Emmanuel, Jadielson, Mário, Arisson, Danilo, Igor, Felipe e Silvia.

## RESUMO

O DNA é um receptor chave na investigação de muitas terapias oncológicas tendo em vista o seu desempenho nas funções vitais do ciclo celular. Pequenas moléculas que se ligam ao DNA podem interromper processos de replicação e transcrição, relacionadas a sua síntese, através de modificações na sua estrutura helicoidal evitando a proliferação de células tumorais. Desse modo, agentes que possam atuar no DNA são objeto de estudo no desenvolvimento de quimioterápicos. Nesse contexto foram realizadas síntese, estudo *in silico* e experimentos espectroscópicos para avaliar a interação com o DNA de oito indol-tiazóis, compostos heterocíclicos de grande interesse devido as suas diferentes propriedades farmacológicas. Estes compostos foram sintetizados a partir de três etapas. A primeira etapa levou à formação da tiossemicarbazida **1** em rendimento de 90%, a posterior reação com aldeídos indólicos levou às tiossemicarbazonas **2a** e **2b**, com rendimentos de 85% e 77%, respectivamente. Na etapa final, as tiossemicarbazonas **2a-b** foram submetidas a reação com acetofenonas comerciais, para levar aos indol-tiazóis **3a-h** com rendimentos entre 41 a 77%. Todos os compostos obtidos foram caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Os testes *in silico* ADME mostraram um bom perfil de biodisponibilidade oral e o estudo de *docking* molecular com DNA, BSA e o complexo DNA-Topoisomerase II $\alpha$  apresentou baixas energias de ligação, indicando a interação por ligação ao sulco com o DNA e intercalação com o complexo DNA-topoisomerase II $\alpha$  pelos dois núcleos, indol e tiazol. O estudo de interação com a BSA, importante proteína transportadora de drogas com propriedades similares a HBA, evidenciaram complexação dos tiazóis próximo ao *triptofano* 213, um aminoácido responsável pela origem da fluorescência desta biomolécula. Os resultados experimentais corroboraram com o *docking*, uma vez que, no estudo de interação com DNA a partir de dados de espectroscopia de absorção no UV-vis, foram observadas constantes de ligação ( $K_b$ ) em sua grande maioria na ordem  $10^5$ , que pode sugerir tanto interação com o sulco, como também intercalação. Esses resultados estão relacionados à estrutura química dos compostos, que apresentam grupos aromáticos não fundidos, sugerindo uma flexibilização para ambos os processos. Para a BSA, a análise dos resultados de espectroscopia de fluorescência indicou boa afinidade dos compostos sintetizados, sendo observada supressão de fluorescência com o aumento da concentração dos indol-tiazóis. Desse modo, esses compostos apresentam-se como agentes antitumorais promissores, tendo em vista sua boa interação com as biomoléculas desse estudo.

**Palavras-chave:** indol-tiazol; DNA; BSA.

## ABSTRACT

DNA is a key receptor in the investigation of cancer therapy in view of their importance in vital functions of the cell cycle. Small molecules that bind to the DNA can interrupt processes of replication and transcription, related to its synthesis, through modifications in its helical structure avoiding the proliferation of tumor cells. In this way, agents that can act in the DNA are object of study in the development of chemotherapeutics. In this context, synthesis, *in silico* study and spectroscopic experiments were carried out to evaluate the interaction of eight indol-thiazoles with DNA, these heterocyclic compounds are of the great interest due to their different pharmacological properties. These compounds were synthesized in three steps. The first step led to the formation of thiosemicarbazide **1** in 90% yield, which in the subsequent step reacted with different indolic aldehydes to provide the thiosemicarbazones **2a** and **2b** in 85% and 77% yield, respectively. In the final step, thiosemicarbazones **2a-b** reacted with commercial acetophenones to yield the corresponding indol-thiazole **3a-h** in 41 to 77% yield. All compounds were characterized by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR. *In silico* ADME tests showed a good oral bioavailability profile and the molecular docking study with DNA, BSA and DNA-Topoisomerase II $\alpha$  complex showed low binding energies, indicating a groove interaction to DNA and intercalation with the complex DNA-topoisomerase II $\alpha$  by the two nuclei, indole and thiazole. The interaction study with BSA, an important drug carrier protein with HBA-like properties, evidenced the complexation of thiazoles near *tryptophan 213*, an amino acid responsible for the origin of the fluorescence of this biomolecule. The experimental results corroborated with the docking, since in the interaction study with DNA from absorption spectroscopy in the UV-vis, binding constants ( $K_b$ ) were mostly observed in the order of  $10^5$ , which may suggest both interaction with the groove, as well as intercalation. These results are related to the chemical structure of the compounds, which have fused aromatic groups, suggesting a flexibilization for both processes. For BSA, analysis of fluorescence spectroscopy results indicated good affinity of the synthesized compounds, with fluorescence suppression being observed by increasing indole-thiazole concentration. Thus, these compounds are promising antitumor agents, in view of their good interaction with the biomolecules in this study.

**Keywords:** indol-thiazole; DNA; BSA.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b>	Etapas do processo de planejamento e desenvolvimento de um novo fármaco .....	21
<b>Figura 2-</b>	Ciclo de replicação celular para célula em mitose .....	24
<b>Figura 3-</b>	Estrutura do DNA .....	26
<b>Figura 4-</b>	Exemplos de agentes alquilantes e intercalativos.....	27
<b>Figura 5-</b>	Formação de complexo de cisplatina com o DNA, via alquilação da guanina e adenina com seus respectivos modos de ligação: <b>a</b> 1,2 intrafita GG; <b>b</b> 1,2 intrafita AG; <b>c</b> intrafitas GNG; <b>d</b> 1,2 interfitas GG.....	28
<b>Figura 6-</b>	Modos de interação não-covalentes: Intercalação (a), (b), (c); Atração eletrostática (d); ligação ao sulco maior (e) e sulco menor (f) .....	29
<b>Figura 7-</b>	Estrutura química de agentes intercaladores.....	30
<b>Figura 8-</b>	Representação esquemática de bis-intercaladores acridinicos interagindo com o DNA: A bis-intercação; B mono-intercalação e C bis-intercalação com violação princípio de exclusão do vizinho adjacente .....	30
<b>Figura 9-</b>	Estrutura química de intercaladores não-clássicos .....	31
<b>Figura 10-</b>	Estrutura química de moléculas que interagem com o sulco.....	31
<b>Figura 11-</b>	Complexo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ .....	32
<b>Figura 12-</b>	Efeitos observados na banda máxima de absorção nos espectros de UV-vis.....	33
<b>Figura 13-</b>	Estruturas secundarias das albuminas séricas bovina (BSA) e humana (HSA) .....	36
<b>Figura 14-</b>	Exemplos de drogas contendo o núcleo tiazólico.....	37
<b>Figura 15-</b>	Exemplos de agentes antineoplásicos contendo o núcleo tiazólico.....	38
<b>Figura 16-</b>	Estrutura química de 1,3-tiazol e derivados .....	38
<b>Figura 17-</b>	Estrutura de ressonância de tiazóis .....	39
<b>Figura 18-</b>	Estrutura geral das tiossemicarbazonas .....	43
<b>Figura 19-</b>	Principais aplicações farmacológicas dos indóis.....	45
<b>Figura 20-</b>	Planejamento de derivados indólicos com ligante a base de carboidrato.....	46
<b>Figura 21-</b>	Produtos naturais contendo unidades indol e tiazol.....	46
<b>Figura 22-</b>	Compostos sintéticos contendo unidades indol e tiazol .....	46
<b>Figura 23-</b>	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do composto 1.....	58
<b>Figura 24-</b>	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) do composto 1 .....	59

<b>Figura 25-</b>	Espectro de RMN de 1H (300 MHz, DMSO-d6) do composto <b>2a</b> (ampliação entre 7,00 a 8,05) .....	60
<b>Figura 26-</b>	Espectro de RMN de 13C (75 MHz, DMSO-d6) do composto <b>2a</b> .....	61
<b>Figura 27-</b>	Espectro de RMN de 1H (300 MHz, DMSO-d6) do composto <b>3g</b> (ampliação entre 6,07 a 8,2) .....	64
<b>Figura 28-</b>	Espectro de COSY (2D) do composto <b>3g</b> .....	65
<b>Figura 29-</b>	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do composto <b>3g</b> .....	65
<b>Figura 30-</b>	Valores de energia de ligação (Kcal.mol <sup>-1</sup> ) para os complexos tiazol-DNA.....	71
<b>Figura 31-</b>	Modos de interação dos derivados tiazóis com a dupla fita do DNA .....	72
<b>Figura 32-</b>	Complexo formado entre a DNA-topoisomerase e o ligante <b>3d</b> .....	75
<b>Figura 33-</b>	Complexo formado entre a DNA-topoisomerase e o ligante <b>3h</b> .....	75
<b>Figura 34-</b>	Complexo formado entre a DNA-topoisomerase e o ligante <b>3b</b> .....	76
<b>Figura 35-</b>	Complexo formado entre a DNA-topoisomerase e o ligante <b>3f</b> .....	77
<b>Figura 36-</b>	<i>Docking</i> da conformação dos compostos <b>3d</b> e <b>3h</b> com a estrutura da BSA. A figura mostra os compostos sobrepostos onde <b>3d</b> está indicado em rosa e <b>3h</b> em verde. O <i>Trp-212</i> está indicado em azul .....	79
<b>Figura 37-</b>	<i>Docking</i> da conformação dos compostos <b>3a</b> , <b>3b</b> , <b>3f</b> e <b>3g</b> com a estrutura da BSA. A figura apresenta os compostos sobrepostos, onde <b>3a</b> está indicado em amarelo, <b>3b</b> em verde, <b>3f</b> em roxo e <b>3g</b> em rosa. O <i>Trp-213</i> está indicado em azul .....	79
<b>Figura 38-</b>	<i>Docking</i> da conformação dos compostos <b>3c</b> e <b>3e</b> contra a estrutura da BSA. A figura mostra os compostos sobrepostos, onde <b>3c</b> está indicado em marrom e <b>3e</b> em amarelo. O <i>Trp-213</i> está indicado em azul.....	80
<b>Figura 39-</b>	Espectros de absorção dos derivados <b>3b</b> e <b>3g</b> (30 μM) representados na forma livre (0 μM) e complexados com quantidades crescentes de ctDNA ( 10-100 μM). As constantes Kb indicam força de ligação dos complexos.....	82
<b>Figura 40-</b>	Espectro de fluorescência em várias concentrações (5-40 μM) do composto <b>3c</b> complexado a uma concentração fixa de BSA (20 μM = 0 μM). .....	85

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1-</b>	Síntese de tiazóis descrita por Hantzsch (1989).....	40
<b>Esquema 2-</b>	Síntese de tiazóis promovida por microondas.....	40
<b>Esquema 3-</b>	Síntese do 2-metil-5-N,N-dimetil-aminotiazol.....	40
<b>Esquema 4-</b>	Síntese de tiazóis a partir de tioamidas.....	41
<b>Esquema 5-</b>	Síntese de tiazóis promovida por ácido sulfúrico.....	41
<b>Esquema 6-</b>	Síntese de um bis-tiazol a partir do dipeptídeo Cys-Cys .....	41
<b>Esquema 7-</b>	Síntese de 5-aminotiazóis utilizando o reagente de Lawesson.....	42
<b>Esquema 8-</b>	Síntese de tiazóis 2,4-dissubstituídos a partir de brometrospropargílicos.....	42
<b>Esquema 9-</b>	Síntese de 1,3-tiazóis a partir de tiossemicarbazonas .....	42
<b>Esquema 10-</b>	Síntese de tiazóis derivados de indol-2-one .....	43
<b>Esquema 11-</b>	Síntese de tiazolil-hidrazonas.....	44
<b>Esquema 12-</b>	Esquema retrossintético para síntese de tiazóis <b>3</b> .....	57
<b>Esquema 13-</b>	Síntese de tiossemicarbazida <b>1</b> .....	58
<b>Esquema 14-</b>	Síntese das tiossecarbazonas <b>2a-b</b> .....	59
<b>Esquema 15-</b>	Mecanismo de formação das tiossemicarbazonas.....	60
<b>Esquema 16-</b>	Proposta mecanística para formação dos tiazóis.....	63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b>	Condições reacionais para a síntese dos tiazóis <b>3a-h</b> .....	62
<b>Tabela 2-</b>	Propriedades físico-químicas dos compostos <b>3a-h</b> obtidas através da plataforma SwissADME.....	66
<b>Tabela 3-</b>	Estudo farmacocinético dos tiazóis <b>3a-h</b> através do pkCSM.....	69
<b>Tabela 4-</b>	Energias de ligação e tipo de interação para cada complexo ternário .....	73
<b>Tabela 5-</b>	Energias de ligação e tipo de interações para cada complexo albumina-tiazóis ...	77
<b>Tabela 6-</b>	Resultados de absorção UV-vis dos compostos <b>3a-h</b> com ctDNA .....	80
<b>Tabela 7-</b>	Valores de K <sub>sv</sub> dos compostos <b>3a-h</b> derivados dos dados de fluorescência .....	86

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADME	ABSORÇÃO, ADMINISTRAÇÃO, METABOLISMO E EXCREÇÃO
AFM	MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA
AT	ADENINA, TIMINA
BBB	DO INGLÊS <i>BLOOD-BRAIN BARRIER</i>
BET	BROMETO DE ETÍDIO
BSA	ALBUMINA DE SÉRICA BOVINA
BT-474	CELULARES DERIVADAS DE CARCINOMAS MAMÁRIOS
CACO- <sub>2</sub>	CÉLULA DE CARCINOMA COLO-RETAL HUMANO
CCD	CROMATOGRAFIA EM COLUNA DELGADA
CT-DNA	TUMOR CIRCULANTE DE DNA
DAPI	4',6-DIAMIDINO-2-FENILINDOL
DMSO- <i>D</i> <sub>6</sub>	DIMETILSUFÓXIDO DEUTERADO
DNA	ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLÉICO
ETOH	ETANOL
G <sub>0</sub>	REPOUSO ANTES DE G <sub>1</sub>
G <sub>1</sub>	PRÉ SÍNTESE DO DNA
G <sub>2</sub>	PRÉ-MITÓTICA
GC	GUANINA, CITOSINA
HBA	ACEITADOR DE LIGAÇÃO DE HIDROGÊNIO
HBD	DOADOR DE LIGAÇÃO DE HIDROGÊNIO
HDACS	HISTONA DEACETILASES
HOMO	ORBITAL MOLECULAR DE MAIS ALTA ENERGIA OCUPADO
HSA	ALBUMINA DE SORO HUMANO
HT29	ADENOCARCINOMA DE COLO
HTS	HIGH-THROUGH PUT SCREENING
IR	INFRAVERMELHO
K562	CÉLULAS DE LEUCEMIA
KB	CONSTANTE DE LIGAÇÃO LIGANTE-DNA
KSV	CONTANTE DE STERN-VOLMER
LBDD	LIGANT- BASED DRUG DESIGN
LC <sub>50</sub>	DOSE LETAL PARA 50% DA POPULAÇÃO CELULAR
LMC	LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA

LNCAP	CÉLULAS DE PRÓSTATA HUMANA
LOG P	COEFICIENTE DE PARTIÇÃO ÁGUA/L-OCTANOL
LUMO	ORBITAL DE MAIS BAIXA ENERGIA DESOCUPADO
M	FASE MITÓTICA
M-MAS	{N}[4-(ACRIDIN-9-ILAMINO)-3-METOXIFENIL]METANOSSULFONAMIDA
OMS	ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE
PDB	PROTEIN DATA BANK
POCl <sub>3</sub>	OXICLORETO DE FÓSFORO
Q-SAR	QUANTITATIVE STRUCTURE ACTIVITY RELATIONSHIPS
RMN	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR
RNA	ÁCIDO RIBONUCLEICO
S	SÍNTESE DO DNA
SAR	STRUCTURE ACTIVITY RELATIONSHIPS
SBDD	STRUCTURE-BASED DRUG DESIGN
SNC	SISTEMA NERVOSO CENTRAL
TFA	ÁCIDO TRIFLUOROACÉTICO
TPSA	ÁREA TOTAL DE SUPERFÍCIE POLAR
TOPO IIA	TOPOISOMERASE IIA
VDSS	VOLUME DE DISTRIBUIÇÃO NO ESTADO ESTACIONÁRIO

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>20</b>
3.1	PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS (P&D) .....	20
3.1.1	Estudo <i>in silico</i> e integração de Ferramentas computacionais na descoberta de novos protótipos .....	21
3.2	CÂNCER E SUAS IMPLICAÇÕES.....	23
3.3	DNA COMO ALVO TERAPÊUTICO PARA DESCOBERTA DE AGENTES QUIMIOTERÁPICOS.....	25
3.3.1	Interação do DNA com moléculas de baixo peso molecular .....	27
3.3.1.1	Modo de ligação covalente .....	27
3.3.1.2	Modo de ligação não-covalente .....	28
3.3.2	Técnicas utilizadas para investigação da interação com DNA.....	32
3.3.2.1	Espectroscopia de absorção UV-Vis .....	32
3.3.2.2	Espectroscopia de emissão de fluorescência .....	34
3.4	INTERAÇÃO DA ALBUMINA COM PEQUENAS MOLÉCULAS.....	36
3.5	DERIVADOS TIAZÓLICOS COMO BLOCOS CONSTRUTORES EM QUÍMICA MEDICINAL.....	37
3.5.1	Propriedades químicas e reatividade de 1,3-tiazóis .....	38
3.5.2	Estratégias sintéticas.....	39
3.5.2.1	Tiossemicarbazonas e suas contribuições na síntese de tiazóis.....	43
3.6	DERIVADOS INDÓLICOS EM QUÍMICA MEDICINAL.....	44
<b>4</b>	<b>PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....</b>	<b>47</b>
4.1	MATERIAS .....	47
4.1.1	Reagentes e equipamentos.....	47
4.2	MÉTODOS .....	47
4.2.1	Síntese da tiossemicarbazida 1 .....	47

<b>4.2.2</b>	<b>Procedimento geral para a síntese das tiossemicarbazonas 2a-b .....</b>	<b>48</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Procedimentos gerais para a síntese dos tiazóis 3a-h .....</b>	<b>49</b>
4.2.3.1	Síntese dos tiazóis 3a, 3c-f.....	49
4.2.3.2	Síntese dos tiazóis 3b e 3g .....	51
4.2.3.3	Síntese do tiazol 3h.....	52
4.3	ESTUDO IN SILICO .....	53
<b>4.3.1</b>	<b>Propriedades ADME e regra de Lipinski e Veber .....</b>	<b>53</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Docking Molecular.....</b>	<b>53</b>
4.3.2.1	Tratamento do receptor.....	53
4.3.2.2	Tratamento dos ligantes .....	54
4.3.2.3	Cálculo do grid e docking.....	54
4.4	ESTUDO ESPECTROSCÓPICO DE INTERAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS COM OS TIAZÓIS 3 A-H .....	55
<b>4.4.1</b>	<b>Preparação da solução mãe dos compostos .....</b>	<b>55</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Preparação das soluções de DNA e BSA .....</b>	<b>55</b>
<b>4.4.3</b>	<b>Espectroscopia de absorção eletrônica .....</b>	<b>56</b>
<b>4.4.4</b>	<b>Espectroscopia de emissão de fluorescência .....</b>	<b>56</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>57</b>
5.1	SÍNTESE DE TIAZÓIS .....	57
<b>5.1.1</b>	<b>Síntese da tiossemicarbazida 1 .....</b>	<b>57</b>
<b>5.1.2</b>	<b>Síntese das tiossemicarbazonas 2a-b .....</b>	<b>59</b>
<b>5.1.3</b>	<b>Síntese dos tiazóis 3a-h .....</b>	<b>61</b>
5.2	ESTUDO IN SILICO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E ADME .....	65
<b>5.2.1</b>	<b>Regra de Lipinski (RO5) e parâmetros de Veber .....</b>	<b>66</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Propriedades farmacocinéticas ADME .....</b>	<b>68</b>
5.3	<i>DOCKING MOLECULAR</i> .....	71
<b>5.3.1</b>	<b>Complexos ligante – DNA .....</b>	<b>71</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Complexo ternário topo II<math>\alpha</math>-ligante-DNA.....</b>	<b>73</b>
<b>5.3.3</b>	<b>Complexos ligante – BSA .....</b>	<b>77</b>
5.4	ESTUDO ESPECTROSCÓPICO .....	80

5.4.1	Espectroscopia de absorção no UV-vis para interação com DNA.....	80
5.4.2	Espectroscopia de emissão de fluorescência.....	85
6	CONCLUSÃO.....	88
6.1	PERSPECTIVAS .....	88
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>89</b>
	<b>APÊNDICE A- ESPECTROS DE RMN <math>^1\text{H}</math> E <math>^{13}\text{C}</math>.....</b>	<b>101</b>
	<b>APÊNDICE B- ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VIS.....</b>	<b>113</b>
	<b>APÊNDICE C- ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA.....</b>	<b>117</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é um dos problemas de saúde a nível mundial. Um dos principais tratamentos é a quimioterapia, porém sua limitação consiste principalmente nos efeitos secundários e no desenvolvimento de resistência de células tumorais aos agentes antineoplásicos. Dessa forma, a busca por novos agentes mais eficazes e menos tóxicos tem despertado interesse de estudo há décadas (GOMHA et al., 2017).

O DNA é o alvo primário em terapias oncológicas (ALI et al., 2014). A ligação de fármacos ao DNA pode afetar sua transcrição, replicação e a expressão da informação genética nas células, ocasionado a inibição do crescimento de células tumorais. Os principais modos de ligação ao DNA são covalente e não covalente (LAFAYETTE et al., 2017).

No modo covalente, ocorre a ligação irreversível com os pares de base nitrogenadas, como é o caso dos complexos, como a cisplatina, que se caracteriza como um agente alquilante. Já os modos não-covalentes, apresentam menor toxicidade e envolvem processos de interação como ligação de hidrogênio, força de van der Waals, interações hidrofóbicas e empilhamento  $\pi-\pi$  que estabilizam o complexo formado. Neste modo de interação, pequenas moléculas podem se ligar a regiões distintas do DNA. Resumidamente, moléculas com sistemas aromáticos fundido apresentam a capacidade de se intercalar entre os pares de base; moléculas mais flexíveis com anéis aromáticos não fundidos tendem a adotar conformações que se encaixam ao sulco menor e, moléculas com um sistema catiônico interagem com os ânions fosfatos, através de interação eletrostática (STREKOWSKI e WILSON, 2007; KURUVILLA et al., 2005; IHMELS e OTTO, 2005).

Muitos agentes que interagem com o DNA, além de suprimir a proliferação celular também inibem a enzima topoisomerase II $\alpha$ . Esses inibidores atuam com a formação de um complexo ternário droga-DNA-topoII $\alpha$ , levando a clivagem do DNA e, consequentemente, as células tumorais são induzidas a morte por apoptose (POMMIER, 2013; ALMEIDA et al., 2015).

Geralmente, a investigação da interação de uma determinada molécula com o DNA pode ser realizada com o auxílio de experimentos espectroscópicos, sendo a espectroscopia de absorção de UV-Vis, uma das mais utilizadas, uma vez que correlaciona os dados experimentais com a constante de ligação com DNA (Kb). Os valores dessa constante juntamente com os efeitos na banda absorção máxima do composto livre ou complexado podem predizer o(s) modo(s) de interação (PLSIKOVA et al., 2012).

Em química medicinal a investigação inicial de candidatos a agentes antitumoriais pode ser realizada *in silico*. Os estudos *in silico* auxiliam na previsão das propriedades farmacocinéticas ADME (absorção, administração, metabolismo e excreção) e os indicadores físico-químicos (como a regra "Lipinski de 5") podem ajudar na identificação de fármacos com boa biodisponibilidade oral (RONCAGLIONI et al., 2013). O estudo ainda pode aplicar ferramentas computacionais, como *docking* molecular, para estudar uma determinada propriedade do complexo receptor-ligante em 3D, nesse ponto, alvo biológico e o *design* da molécula deve favorecer a interação com sitio de ligação do receptor (KALIRAJAN et al., 2017).

Visto o exposto, pretende-se investigar uma série de indol-tiazóis como possíveis agentes antitumoriais presumindo a ação citotóxica através da interação com o DNA. É conhecido que derivados tiazólicos apresentam uma variedade de atividades biológicas, entre estas como anticancerígeno (GOMHA et al., 2015; XIE et al., 2017). Além disso, o núcleo indólico é um heterocíclico com amplo espectro biológico e sua estrutura rica em elétrons  $\pi$  favorecendo a interação com o DNA (LAL; SNAPE, 2012).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar uma série de compostos contendo o núcleo indol-tiazol e investigar suas propriedades farmacológicas através de espectroscopia, combinada com *docking* molecular para estudo do complexo ligante-receptor e avaliação *in silico* de suas propriedades ADME.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar as estruturas dos compostos sintetizados através de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ;
- Determinar os valores de  $K_b$  dos tiazóis através dos experimentos de absorção UV-vis com o DNA;
- Determinar os valores  $K_{sv}$  através dos experimentos espectroscópicos de emissão de fluorescência com o BSA;
- Realizar estudo *in silico* do perfil de biodisponibilidade oral dos compostos sintetizados através das regras de Lipinski e Veber e das propriedades farmacocinéticas ADME;
- Utilizar *docking* molecular para estimar os valores de energia de ligação dos complexos formado com o DNA e e BSA.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

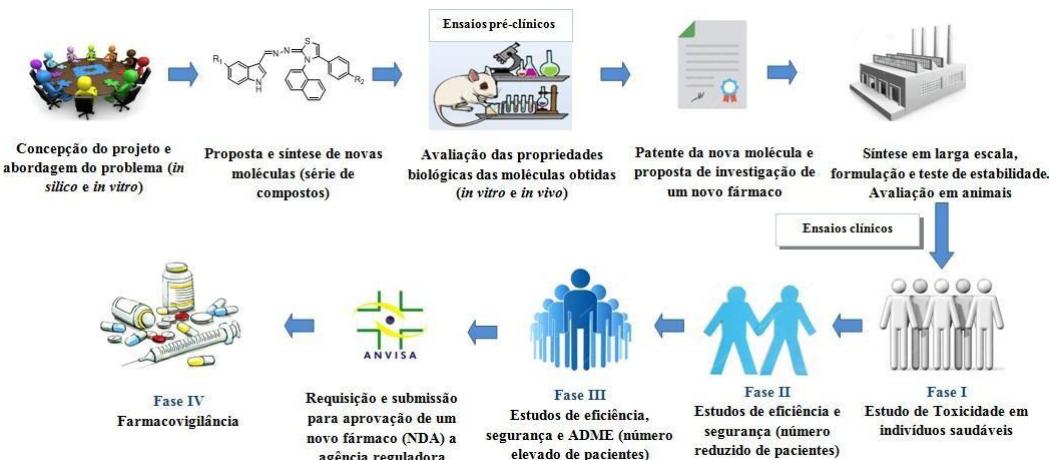
#### 3.1 PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS (P&D)

A indústria farmacêutica tem como objetivo primordial a identificação e a otimização de compostos eficazes para representação de novas entidades químicas (NCE, do inglês *New Chemical Entities*) para alvos terapêuticos específicos (GUIDO et al., 2010). O início do processo P&D consiste na identificação de moléculas bioativas que podem ser derivados de produtos naturais, compostos sintéticos e/ou de coleções combinatórias oriundas do planejamento a partir de procedimentos iniciais de triagem reais (*in vitro*) ou virtuais (*in silico*) (GUIDO et al., 2012). Nesse momento, podem ocorrer otimizações das propriedades farmacocinéticas visando uma melhor afinidade com o alvo terapêutico e a redução de possível toxicidade.

Na segunda etapa, a fase pré-clínica tem como objetivo avaliação farmacológica em sistemas *in vitro* e bioensaios *in vivo*, usando animais para observação da segurança e eficácia do composto, bem como os efeitos adversos associados aos parâmetros de relação dose-resposta. As espécies aprovadas nos ensaios pré-clínicos são submetidos aos órgãos reguladores. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável por liberar a autorização para iniciar os estudos em seres humanos (PIOVESAN; LABRA, 2007).

Na terceira etapa são finalmente realizados estudos clínicos em humanos, levando em consideração a heterogeneidade em grupos de população de pacientes, sendo administradas doses para verificação da eficiência do fármaco e segurança terapêutica. A fase clínica ainda se divide em quatro etapas (Figura 1), o que torna esse processo extenso quando se considera a concepção do projeto até introdução do novo fármaco no protocolo terapêutico. Geralmente, o gasto nesse processo, que dura entre 12 a 15 anos, é em média um valor de US\$ 1,2 bilhão (LOMBARDINO; LOWE, 2004; PAUL et al., 2010 ).

**Figura 1-** Etapas do processo de planejamento e desenvolvimento de um novo fármaco.



**Fonte:** Adaptado de (GUIDO et al., 2010; LOMBARDINO e LOWE, 2004).

### 3.1.1 Estudo *in silico* e integração de Ferramentas computacionais na descoberta de novos protótipos

A descoberta de novas moléculas com potencial atividade farmacológica está intrinsecamente relacionada a incorporação de estratégias que visem a compreensão de mecanismos bioquímicos, com a finalidade de identificar, selecionar e otimizar compostos com propriedades estruturais adequadas que favoreçam o reconhecimento molecular, melhorando a afinidade nos sítios de ligação do receptor (JORGENSEN, 2004). Recentemente, métodos baseados em ferramentas computacionais como SAR (*Structure Activity Relationships*) e a quantificação dessas relações Q-SAR (*Quantitative Structure Activity Relationships*) vem ganhando destaque (GUIDO et al.; 2012).

Nesse contexto, a química computacional pode auxiliar com um conjunto de ferramentas de edição e visualização de sistemas moleculares complexos através de cálculos quânticos, nos quais as propriedades físico-químicas unidas a interfaces gráficas geram modelos tridimensionais (3D) de complexos do tipo ligante-receptor. As estruturas 3D dos receptores são disponibilizadas no banco de dados de proteínas PDB (*Protein Data Bank*) (JORGENSEN, 2004).

A escolha do recurso computacional depende primordialmente das informações disponíveis sobre o alvo biológico. Quando a estrutura tridimensional do receptor é conhecida, técnicas de modelagem molecular SBDD (*Structure-Based Drug Design*) são empregadas na busca estrutural de ligantes que favoreçam o reconhecimento molecular, entre essas técnicas

destaca-se o *docking* molecular (ANDRICOPULO et al.; 2009). Essa abordagem se baseia na capacidade da molécula ligante se acomodar no sítio de ligação do receptor, sendo considerados os graus de liberdade rotacionais e translacionais da molécula. Esse processo envolve principalmente a predição da conformação de menor energia do ligante, bem como sua posição e orientação dentro dos sítios e avaliação da afinidade de ligação (MC CONKEY, 2002). Quanto menor a energia de ligação do complexo formado, melhor será a interação. Os menores valores de energia em uma série de análogos estruturais podem teoricamente indicar os melhores resultados para uma determinada atividade biológica (WASZKOWYCZ; CLARK; GANCIA, 2011). Apesar de ter grande aplicabilidade em triagens virtuais para identificação de novos compostos, não é uma técnica autônoma, sendo incorporada a diferentes trabalhos *in silico*, bem como, com técnicas experimentais (KROEMER, 2007).

Quando a estrutura 3D do alvo terapêutico não é conhecida, o planejamento é realizado pelas técnicas LBDD (*Ligant-Based Drug Design*) através das informações dos ligantes e suas respectivas respostas biológicas, as quais são direcionadas por técnicas prévias de triagem biológica automatizada em alta escala – HTS (*High-Through put Screening*) associada à química combinatória. Devido ao elevado custo dos processos P&D, a triagem virtual (*virtual screening*) tem se mostrado uma alternativa ao HTS (CHENG et al., 2012; JORGENSEN, 2004). A triagem virtual é uma técnica computacional geralmente usada na busca de novos compostos, através de um banco de dados que permitem o estudo *in silico* de propriedades farmacocinéticas ADME (absorção, distribuição, metabolismo, excreção), potência e seletividade desejáveis, eliminando compostos com propriedades indesejáveis (inativos, reativos, tóxicos, efeitos farmacocinéticos inapropriados) e levando a redução de custo associado a compostos que possam falham em ensaios clínicos (KAR; ROY, 2013; LIMA, 2007; PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015).

Ainda nessa perspectiva, as quimioteclas combinatórias permitem o uso de filtros físico-químicos que correlacionam estrutura química com o perfil de biodisponibilidade oral. Dentre estes, a *regra dos cinco* de Lipinski (*Rule of Five*) apresenta parâmetros associados à solubilidade e permeabilidade: peso molecular ( $\leq 500$  g / mol) ; Log P ( $\leq 5$  ou MlogP $\leq 4,15$ ); o número de doadores e aceptores de ligação de hidrogênio, que de forma simplificada, pode ser obtido através da soma de OH e NH ( $\leq 5$ ) para os doadores e a soma de O e N ( $\leq 10$ ) para os aceptores.

Geralmente compostos que violam duas ou mais dessas regras, podem apresentar má absorção e permeabilidade tecidual. De forma geral, é visto na literatura que moléculas menores apresentam melhor interação com receptores. A “regra dos 5” é baseada em cálculos de milhões

de drogas, um pequeno número de categorias terapêuticas estão fora dos limites desses parâmetros, tais como antibióticos, antifúngicos, vitaminas e glicosídeos cardíacos, que são ativas por via oral, porque atuam como substratos para transportadores (LIPINSKI, 2012).

O Log P ou coeficiente de partição *n*-octanol/água é um parâmetro bastante relevante no estudo de candidatos a fármacos, tendo em vista que seus valores indicam o quanto um composto é hidrofílico ou lipofílico. O equilíbrio entre solubilidade em água e lipofilicidade de moléculas pequenas favorece o transporte passivo entre as biomembranas, levando a absorção do fármaco pela passagem através da célula (PEREIRA, 2007 e LUO et al., 2007).

Outros parâmetros estimados por Veber (2002) incluem o número de ligações rotacionáveis ( $\leq 10$ ) e área total de superfície polar (PSA ou TPSA  $\leq 140$ ) que é a soma da superfícies de van der Waals de todos os átomos polares e é geralmente utilizada para a otimização do fármaco para permear as células, estando diretamente relacionado à capacidade de formação de ligações de hidrogênio.

Com base nesses estudos, o composto selecionado em uma triagem virtual segue então para ensaios *in vitro* e *in vivo*, se apresentar perfil promissor, continua no processo de desenvolvimento P&D. Quando a avaliação experimental *in vivo* for satisfatória, o composto passa a ser designado protótipo, devendo ser otimizado com base nas propriedades farmacocinéticas, farmacêuticas e toxicológicas (BLEICHER et al., 2003).

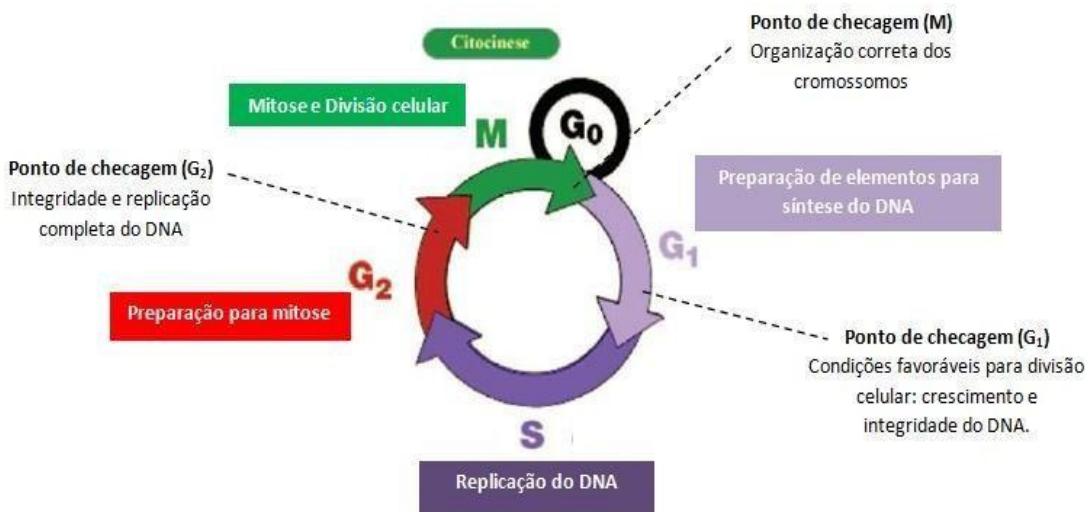
### 3.2 CÂNCER E SUAS IMPLICAÇÕES

O câncer (ou neoplasia) é a segunda doença que mais contribui para os índices de mortalidade no mundo, responsável por 9,6 milhões de mortes em 2018. A formação de tumores malignos com característica heterogênea distribui-se em mais de 100 doenças (OMS, 2018). As implicações observadas clinicamente são explicadas pela transição de células normais em células neoplásicas, as quais gradativamente vão perdendo a capacidade de manter as funções originais e desenvolvem novas habilidades que as fazem ganhar vantagens metabólicas que permitem a sua sobrevivência e proliferação (HANAHAN; WEINBERG, 2011). À medida que se desenvolvem invadem tecidos próximos ao neoplasma primário, progredindo até atingir o sistema circulatório. A migração para o sistema linfático ou vasos sanguíneos ocasiona extravasamento em tecidos/órgãos mais distantes, ocorrendo metástase (BERNARDI et al., 2003; SILVA et al., 2007).

Nesses casos, os processos de regulação já não são suficientes para controlar o ciclo celular, indicando que as células alteradas desenvolveram resistência aos mecanismos de

*checkpoints* (pontos de checagem ou de controle) e inicia-se a tumoriogênese (WANG et al., 2013). O que significa, que as células não respondem mais a estímulos externos que controlam a transição das fases G<sub>1</sub>/S e permanecem no ciclo celular (não retornando à fase G<sub>0</sub>) passando da fase M para nova fase G<sub>1</sub>, com prejuízo aos mecanismos de maturação e diferenciação (Figura 2 ), (ALMEIDA et al., 2005; KHODJAKOV; RIEDER, 2009).

**Figura 2-** Ciclo de replicação celular para célula em mitose



**Fonte:** Adaptado de (ALMEIDA et al., 2005).

As alterações no ciclo celular podem ser revertidas pela morte celular, tendo em vista a impossibilidade de reparação do DNA nos pontos de controle, a célula inicia a apoptose, que consiste em uma morte celular programada, evitando a propagação de células alteradas. Em muitos casos, quimioterápicos são projetados de modo a induzir unicamente a morte por mecanismos apoptóticos. Porém, evidências sugerem que as respostas celulares não se limitam a apoptose, estando incluso outros modos de morte com aparência morfológica diferentes, entre eles a autofagia, a necrose e a catástrofe mitótica (KRYSKO et al., 2008).

Dessa forma, os casos de mortalidade por câncer podem ser reduzidos se forem detectados e tratados precocemente. Porém, quando o diagnóstico não é precoce o tratamento vai depender do estágio da doença, podendo-se empregar uma ou mais técnicas como cirurgia, radioterapia que podem ser articuladas a quimioterapia (ATAGI et al., 2012).

A quimioterapia é de fato, um tipo de tratamento indispensável, usada principalmente nos casos de desenvolvimento precoce de micrometastases, com aplicação de compostos químicos (agentes quimioterápicos) por via oral ou intravenosa. Porém a grande desvantagem

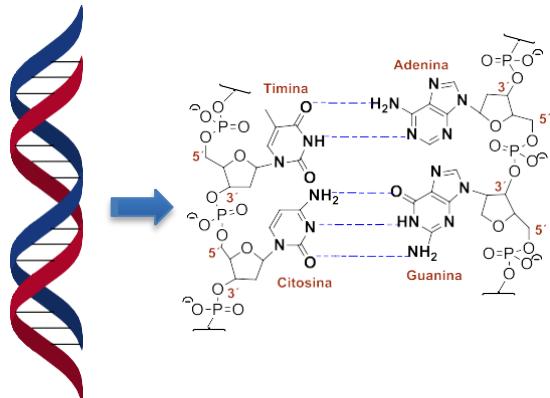
desses agentes é a atuação de forma não específica, lesando tanto células malignas quanto normais (OLIVEIRA; ALVES, 2002; SILVA et al., 2012). Desse modo, as pesquisas são direcionadas na busca de quimioterápicos com maior especificidade, garantindo a proteção dos tecidos normais, com minimização dos efeitos colaterais (BRANNON-PEPPAS; BLANCHETTE, 2012). Apesar da variedade de alvos farmacológicos, o DNA ainda continua sendo o mais importante na busca de novos agentes antineoplásicos, com o desenvolvimento de moléculas que possam interferir nas etapas de síntese, transcrição e transdução dessa biomolécula (SILVA et al., 2012).

### 3.3 DNA COMO ALVO TERAPÊUTICO PARA DESCOBERTA DE AGENTES QUIMIOTERÁPICOS

O DNA é um alvo farmacológico bastante investigado no desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos, por exercer função vital na regulação das funções celulares. Quando moléculas se ligam ao DNA, pode ocorrer modificação das funções fisiológicas, inibindo sua replicação, transcrição ou expressão da informação genética nas células atingidas, impedindo o crescimento celular (ZHU et al., 2004).

De modo geral, o DNA é um polímero com estrutura tridimensional de dupla hélice, onde o enrolamento das cadeias poliméricas forma sulcos maiores e menores. Esse arranjo é formado por quatro nucleotídeos (adenina, guanina, citosina e timina) unidos por ligações fosfodiéster (Figura 3) e mantido por várias forças não-covalentes como ligações de hidrogênio, forças de van der Walls, interações  $\pi$ - $\pi$  entre os anéis aromáticos e atração eletrostática entre as cadeias açúcar-fosfato e cátions em solução. Essas interações fazem com que o DNA apresente duas regiões distintas, uma região externa hidrofílica com cadeias aniónicas açúcar-fosfato que tem afinidade com a solução aquosa do meio intracelular, e outra hidrofóbica representada pelas bases nitrogenadas planares que se projetam para o interior da estrutura (ALI; BHATTACHARYA, 2014; BARRA; NETTO, 2015).

**Figura 3-** Estrutura do DNA

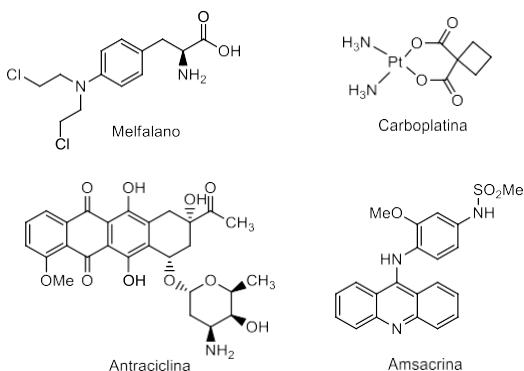


**Fonte:** Adaptado de (SIRAJUDDIN et al., 2013).

Essa estrutura do DNA é responsável pelo desenvolvimento de uma variedade de agentes quimioterápicos, que se classificam em 3 categorias de acordo com o ponto de interferência na sua síntese: (1) através do controle dos fatores de transcrição e polimerases, onde quimioterápicos podem interagir com proteínas que se ligam ao DNA; (2) através da ligação do RNA a dupla hélice do DNA formando uma tripla hélice ou hibridização de RNA a cadeia simples do DNA com a formação de híbridos DNA-RNA que interferem nas atividades de transcrição; (3) através da ligação de pequenas moléculas aromáticas com a dupla hélice do DNA (RAUF et al., 2005). De fato, o DNA dispõe de vários sítios de ligação para uma ampla variedade de moléculas orgânicas e inorgânicas (FERGUSON; DENNY, 2007).

Entre os agentes de ação citotóxica direta no DNA, se destacam os agentes alquilantes e os intercalam com o DNA. Os primeiros atuam por ligações cruzadas interfilamentares com o DNA, como a mostarda nitrogenada Melfalano e compostos com complexos metálicos como a carboplatina (BARRA; NETTO, 2015). Já os agentes de intercalação atuam causando deformações na dupla hélice por interações não-covalentes, resultando em uma diminuição da torção helicoidal e alongamento do DNA. São exemplos dessa classe a antraciclina e amsacrina (Figura 4) (PALCHAUDHURI; HERGENROTHER, 2007).

**Figura 4-** Exemplos de agentes alquilantes e intercalativos.



**Fonte:** A Autora (2019).

### 3.3.1 Interação do DNA com moléculas de baixo peso molecular

A compreensão de fatores que governam a interação com pequenas moléculas tem um papel relevante no desenho de fármacos, no intuito de correlacionar a reatividade, seletividade e seu modo de ligação com DNA (KURUVILLA et al., 2005). O uso de moléculas de baixo peso molecular apresenta muitas vantagens, entre elas: maior facilidade sintética e penetração mais direcionada nos alvos terapêuticos, melhorando a atividade farmacológica. (BELMAR; FESIK, 2015).

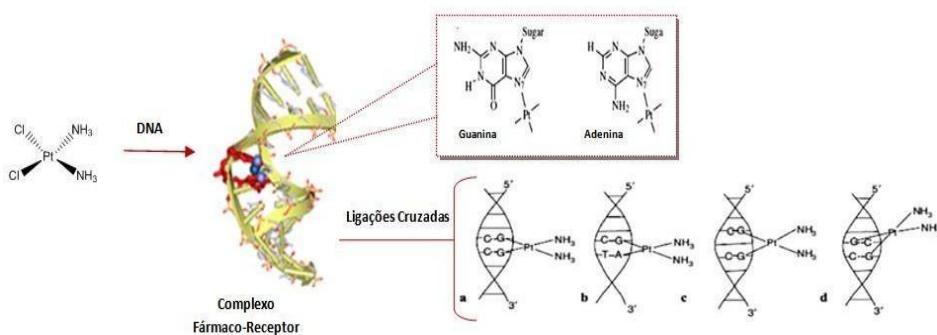
A interação direta de pequenas moléculas com DNA pode ocorrer por dois modos de ligação: (i) covalente, através da ligação com as bases nitrogenadas ou pelos grupos fosfatos; (ii) não-covalente através de interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas no sulco menor do DNA, ou através da intercalação (BOER et al., 2009).

#### 3.3.1.1 Modo de ligação covalente

Os agentes alquilantes são os pioneiros no desenvolvimento dos antineoplásicos, dentre estes, destacam-se a cisplatina (cis-diaminodicloroplatinato II) e seus análogos, os quais apresentam atividade através de ligações covalentes às bases nitrogenadas e exercem um mecanismo com inibição seletiva na síntese do DNA, sendo capazes de forma ligações cruzadas do tipo interfilamentares como também intrafilamentares (Figura 5). O principal sítio de alquilação é a posição N7 da guanina e adenina, podendo ocorrer em menor extensão, alquilações nas posições N1 e N3 da adenina, N3 da citosina e ainda O6 da guanina, assim como nos grupos fosfatos. A formação de addutos com o DNA não apenas inibe a transcrição e

replicação do DNA, como também induz a morte da célula (KELLAND, 2007) o que o torna um potente antitumoral, com atividade pronunciada nos cânceres genitourinários, carcinoma de bexiga, tireóides, endométrio, estômago ou pâncreas (MACHADO, 2000; OLIVEIRA; ALVES, 2002).

**Figura 5-** Formação de complexo de cisplatina com o DNA, via alquilação da guanina e adenina com seus respectivos modos de ligação: **a** 1,2 intrafita GG; **b** 1,2 intrafita AG; **c** 1,3 intrafitas GNG; **d** 1,2 interfitas GG



**Fonte:** Adaptado de (SIRAJUDDIN et al., 2013).

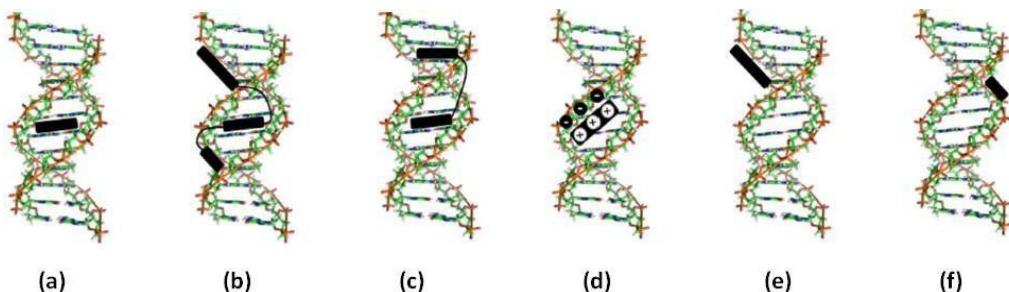
A interação com a cisplatina impulsionou a busca por novos complexos metálicos que possuam a mesma eficiência, mas que contornassem o problema de resistência celular e efeitos colaterais causados por metalofármacos baseados em Pt (II) a partir do estudo de propriedades como estado de oxidação, cargas, geometrias, polaridade e ligantes (RONCONI; SADLER, 2007). Os ligantes podem influenciar na seletividade das interações complexo-DNA quando são volumosos, estabelecer ligações de hidrogênio ou ainda aumentar a reatividade dos complexos. A presença de ligantes planares como sistemas aromáticos permite uma interação adicional, a intercalação, que ocorre de forma não-covalente e a inserção de um metal a um intercalador deixa a molécula com carga positiva, estabilizando o complexo com o DNA (ZEGLIS et al., 2007).

### 3.3.1.2 Modo de ligação não-covalente

Os modos de ligação não-covalente se dividem em três categorias: intercalação com as bases nitrogenadas, interação aos sulcos e atração eletrostática com o ânions fosfato-açúcar (Figura 6) (ALMEIDA et al., 2017). A intercalação, de modo geral, consiste na inserção de uma molécula aromática entre os pares de bases do DNA, sendo estabilizadas por ligações de hidrogênio, empilhamento  $\pi$ - $\pi$ , forças eletrostáticas, forças de van der Waals ou hidrofóbicas.

Esse processo resulta na modificação da estrutura helicoidal do DNA, provocando o alongamento, enrijecimento e desenrolamento da dupla hélice. Essas mudanças estruturais são resultantes da torção dos ângulos envolvendo os grupamentos açúcar-fosfato, ocasionadas pela separação das bases (WHEATER et al., 2007; ALMEIDA et al., 2005).

**Figura 6-** Modos de interação não-covalentes: Intercalação (a), (b), (c); Atração eletrostática (d); ligação aosulco maior (e) e sulco menor (f).

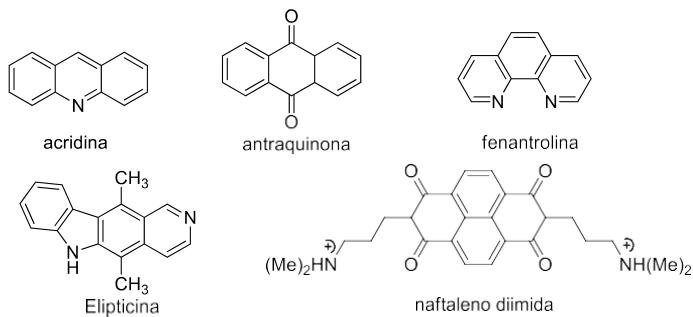


**Fonte:** (ALMEIDA et al., 2017).

Cabe ressaltar, que essa interação ocorre sem interferir nas ligações de hidrogênio dos pares de bases e obedece ao princípio de exclusão do vizinho adjacente, no qual a estrutura não flexível do DNA, permite apenas a inserção de um intercalador no espaço entre as bases e os espaços adjacentes devem permanecer vazios, resultando em intervalos periódicos de 10,2 Å entre os intercaladores. A modificação na estrutura secundária do DNA faz com que os intercaladores sejam usados para inibir a replicação do DNA ou induzir a morte celular (WHEATER et al., 2007)

Como evidenciado na figura 6, existem três tipos de intercalação. Os intercaladores clássicos (Figura 6a) são compostos por anéis aromáticos fundidos com grupos básicos que podem ser protonados no meio fisiológico ou carregados positivamente no sistema aromático ou em grupos laterais do sistema (AVENDAÑO et al., 2008). Esses compostos poliaromáticos atuam através da inserção completa entre os pares de bases nitrogenadas, apresentando estruturas químicas baseadas nas acridinas, antraquinonas, fenantrolinas e elipticinas (Figura 7). Na intercalação por encadeamento (*Threading*) (Figura 6b), o sistema aromático planar apresenta duas cadeias laterais, o complexo é formado com a inserção da unidade plana entre os pares de bases e os substituintes catiônicos se ligam no sulco maior e menor simultaneamente, sendo um representante dessa classe o naftalenodiimida (SYNDER, 1993; PAUL; BHATTACHARYA, et al., 2012).

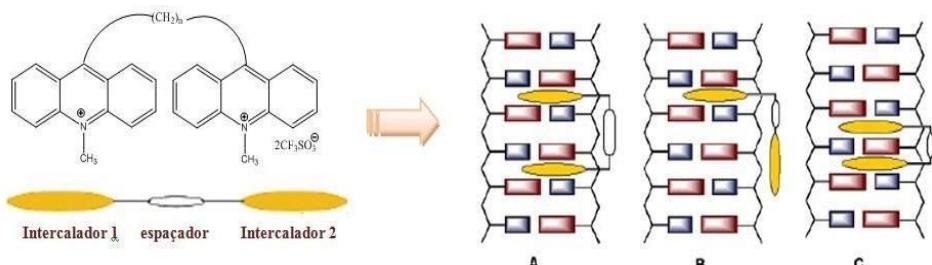
**Figura 7-** Estrutura química de agentes intercaladores.



**Fonte:** A Autora (2019).

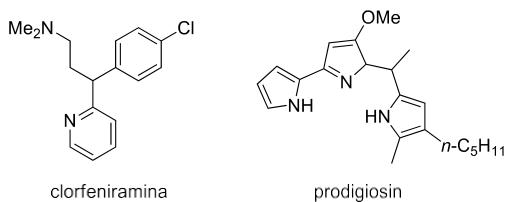
O terceiro grupo de intercaladores (Figura 6c) pode ser representado por moléculas bifuncionais, como os derivados de bis-acridinas (Figura 8). A maioria dos complexos-DNA por bis-intercalação segue o princípio de exclusão do vizinho adjacente, por apresentarem uma cadeia carbônica maior que 10,2 Å. Quando ocorre a bis-intercalação, a afinidade pelo DNA aumenta devido à capacidade de ligação simultânea a um maior número de pares de base, sendo possível o desenvolvimento de fármacos mais específicos. Uma minoria viola essa lei, quando o grupo espaçador é rígido ou insuficiente para abranger dois pares de bases, ocorre apenas mono-intercalação. (KURUVILLA et al., 2005; BARRA; NETTO, 2015).

**Figura 8-** Representação esquemática de bis-intercaladores acridinicos interagindo com o DNA: A bis-intercação; B mono-intercalação e C bis-intercalação com violação princípio de exclusão do vizinho adjacente

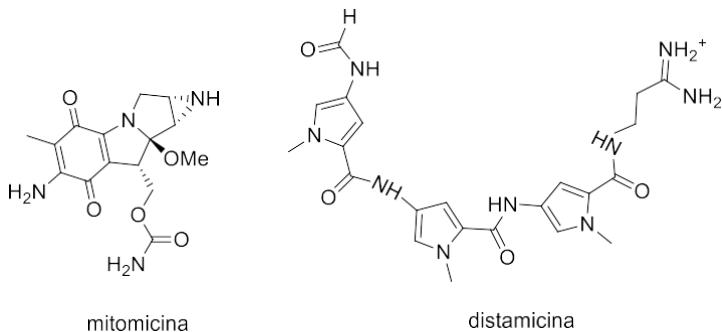


**Fonte:** (KURUVILLA et al., 2005).

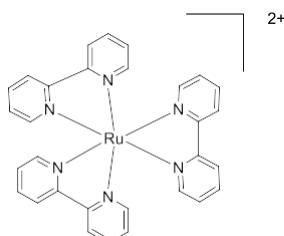
Apesar da intercalação possuir representações estruturais bem definidas e relacionadas aos seus mecanismos de ação, são descritos na literatura exemplos de moléculas que não se encaixam em nenhuma das três classificações, sendo denominadas de intercaladores não-clássicos, como a clorfeniramina e o prodigiosin (Figura 9). (PALCHAUDHURI; HERGENROTHER, 2007).

**Figura 9-** Estrutura química de intercaladores não-clássicos.**Fonte:** A Autora (2019).

Diferentes dos intercaladores, compostos que interagem com o sulco induzem pouco ou nenhum rearranjo da hélice de DNA, a estabilização ocorre com interação de van der Waals e ligações de hidrogênio. Esses compostos contêm sistemas de anéis aromáticos não fundidos, cujas ligações permitem flexibilidade conformacional, como exemplo pode-se citar a mitomicina e a distamicina (Figura 10). De modo geral, as moléculas que interagem com o sulco menor, tem especificidade pelas sequências ricas em adenina-timina (AT), com N<sub>3</sub> da adenina e o oxigênio da timina por apresentarem menor impedimento estérico quando comparada a região GC (DE ALMEIDA et al., 2017).

**Figura 10-** Estrutura química de moléculas que interagem com o sulco.**Fonte:** A Autora (2019).

Por outro lado, nas interações eletrostáticas, espécies catiônicas tendem a ocupar o lugar dos cátions que estabilizam a estrutura do DNA (Na<sup>+</sup> e Mg<sup>2+</sup>) interagindo com o esqueleto de açúcar-fosfato que é carregado negativamente, ocorrendo deslocamento dos cátions normais. Essa característica pode ser observada em complexo de rutênio (II), com ligantes bipiridina, conforme a Figura 11 (GRUESO et al., 2012; SIRAJUDDIN ET AL., 2013).

**Figura 11- Complexo  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$** 

**Fonte:** A Autora (2019).

### 3.3.2 Técnicas utilizadas para investigação da interação com DNA

Além do planejamento estrutural, várias técnicas instrumentais são utilizadas para investigação dos modos de interação entre o DNA e pequenas moléculas, dentre estas destacam-se a análise por raios-X, RMN, IR, Raman, microscopia de força atômica (AFM), eletroforese, espectrometria de massas, medidas de viscosidade, calorimetria, dicroísmo circular e as técnicas de espectroscopia de absorção UV-Visível e emissão de fluorescência (WILLIAMS et al., 2012; SILVA et al., 2012).

#### 3.3.2.1 Espectroscopia de absorção UV-Vis

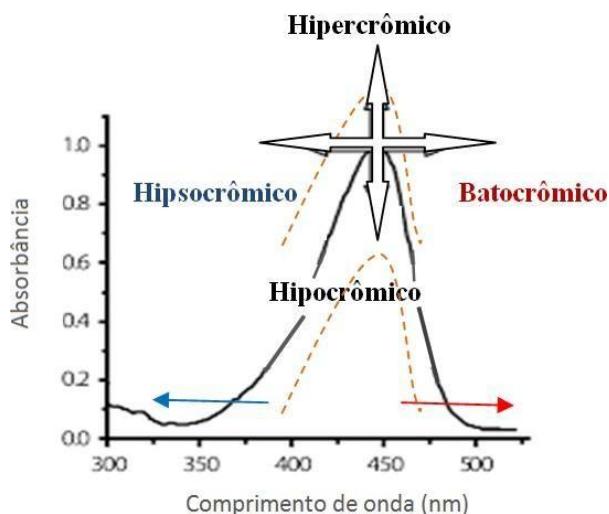
A radiação ultravioleta e visível compreende a região do espectro eletromagnético com comprimento de onda entre 190 a 800 nm. A luz incidente sobre um cromóforo resulta na absorção de energia por um conjunto de átomos que sofrem transições eletrônicas e os elétrons passam de um estado de menor energia (fundamental) para outro de maior energia (excitado). As transições podem ocorrer entre os orbitais  $\sigma$ ,  $\pi$  e  $n$ , porém a transição mais provável é a do orbital molecular de mais alta energia ocupado (HOMO) para o orbital molecular de mais baixa energia desocupado (LUMO). A diferença de energia entre os dois estados, fundamental e excitado, representa a energia quantizada da radiação eletromagnética absorvida. Quanto maior o número de moléculas e suas respectivas capacidades de absorver luz em um comprimento de onda, maior será a extensão da absorção. Com base nisso, tem-se a formulação de uma expressão empírica (Equação 1), denominada Lei de Beer-Lambert (PAVIA et al., 2001).

$$A = sbc \quad (1)$$

Em que a absorbância (**A**) é a quantidade de luz absorvida pela espécie química também representada por  $\log(I_0/I)$  relação entre intensidade de luz incidente na cela da amostra por

intensidade de luz saindo da cela da amostra; absorvidade molar ( $\epsilon$ ) é uma propriedade da molécula que passa por uma transição eletrônica; (b) representa o caminho óptico e (c) é a concentração molar do soluto (SKOOG et al., 2006). Os espectros UV-vis correlacionam os valores de absorbância e comprimento de onda, que geram bandas de absorção características que podem sofrer variações de acordo com o grupo de substituintes e/ou formação de complexos (Figura 12). Quando ocorre deslocamento da banda do máximo de absorção para comprimentos de onda maior com energia mais baixa, tem-se o efeito batocrômico (deslocamento para o vermelho), o efeito inverso é denominado hipsocrômico (deslocamento para o azul). E para variações na intensidade da banda de absorção, observa-se o efeito hipocrômico (aumento da intensidade) e hipocrômico (diminuição da intensidade) (PAVIA et al., 2001).

**Figura 12-** Efeitos observados na banda máxima de absorção nos espectros de UV-vis.



**Fonte:** A Autora (2019).

Uma das aplicações dessa espectroscopia é monitorar as alterações causadas pela interação droga-DNA, sendo observados deslocamentos na posição da banda máxima da molécula livre em soluções e de sua associação com quantidades crescentes de DNA. As mudanças nas bandas indicam qualitativamente o tipo de interação. (GOUVEA, 2013). Quando ocorre a interação por intercalação, o orbital  $\pi^*$  do composto interage com o orbital  $\pi$  dos pares de base do DNA, diminuindo a energia de transição  $\pi-\pi^*$ , resultando em batocromismo. Por outro lado, o orbital  $\pi$  está parcialmente preenchido com elétrons, diminuindo a probabilidade das transições, resultando em hipocromismo, devido às mudanças conformacionais no DNA, assim como da contração no eixo da hélice (ZHOU et al., 2007). Desse modo, a intercalação

pode ser sugerida pelo efeito hipocrômico e/ou batocrômico, que atuam estabilizando a dupla hélice do DNA (FIRDAUS et al., 2008).

Outros tipos de interação, como ligação covalente ou interação eletrostática, apresentam efeito hipercrômico, a presença de cátions que se ligam ao grupos fosfatos, resulta em danos à estrutura secundária do DNA. Quando a dupla hélice do DNA é tratada com agentes desnaturantes, a força que sustenta a estrutura dupla é interrompida ocorrendo separação em duas cadeias simples, o que reduz as ligações de hidrogênio entre as bases complementares, aumentando a absorbância para o DNA de filamento único em 40% (GAO; ZHU et al., 2010). O hipsocromismo, também é observado nessas interações (FIRDAUS et al., 2008).

Os dados provenientes dos testes experimentais de absorção são utilizados para fornecer a constante de ligação ( $K_b$ ), uma medida quantitativa que indica o possível modo de ligação ao DNA, para uma variedade de moléculas com diferentes estruturas (GAO et al., 2010; JANOVEC et al., 2011). Dessa forma, a intensidade de ligação com o DNA pode ser calculado pela equação de Benesi-Hildebrand:

$$[\text{DNA}] / (\varepsilon_A - \varepsilon_F) = [\text{DNA}] / (\varepsilon_B - \varepsilon_F) + 1/K_b(\varepsilon_B - \varepsilon_F) \quad (2)$$

Em que  $[\text{DNA}]$  é a concentração adicionada de DNA;  $\varepsilon_A = A_{\text{obs}} / [\text{complexo}]$ ,  $\varepsilon_F$  é o coeficiente de absortividade molar do complexo livre e  $\varepsilon_B$  é o coeficiente de absortividade molar do complexo com o DNA. Assim, a constante  $K_b$  é a razão entre os coeficientes angular e linear de um gráfico  $[\text{DNA}] / (\varepsilon_A - \varepsilon_F)$  versus  $[\text{DNA}]$  (SHAHABADI; HEIDARI, 2012).

Os valores de  $K_b$  nos intervalos de  $10^4$  a  $10^6 \text{ M}^{-1}$  são típicos de grupos intercaladores, por outro lado agentes de ligação ao sulco apresentam valores em torno de  $10^5$  a  $10^9 \text{ M}^{-1}$  (IHMELS e OTTO, 2005). Os maiores valores de  $K_b$  são resultantes da maior liberdade rotacional dos sistemas poliaromático que apresentam melhor afinidade quando se encaixam ao sulco do DNA (KURUVILLA; RAMAIAH, 2007; MAHMOOD et al., 2010). E os valores baixos de  $K_b$  podem ser explicados por moléculas não catiônicas. Interações com moléculas catiônicas orgânicas neutralizam cargas de fosfato, contribuindo significativamente na energia livre de ligação (STREKOWSKI; WILSON, 2007).

### 3.3.2.2 Espectroscopia de emissão de fluorescência

A fluorescência consiste em um processo de fotoluminescência no qual os átomos ou moléculas são excitados por absorção de radiação eletromagnética, quando relaxam ao estado fundamental, liberam o excesso de energia na forma de fótons. Porém esse efeito não é

observado em todas as moléculas, devido a interferências nos processos de relaxação que podem causar a perda do excesso de energia, entre eles destaca-se a relaxação vibracional que envolve a transferência do excesso de energia de uma espécie excitada vibracionalmente para as moléculas do solvente. Outro fator determinante no sucesso desse método é a estrutura química, os compostos que contêm anéis aromáticos apresentam emissão fluorescente intensa e substituições nos anéis podem levar ao deslocamento do comprimento de onda referente ao máximo de absorção. Alguns compostos carbonílicos ou estruturas com dupla conjugada também podem apresentar fluorescência (SKOOG et al., 2006).

Os testes para analisar as interações com o DNA são realizados na presença de sondas moleculares, como o brometo de etídio (BET) que intercala fortemente com o DNA servindo como marcador, tendo em vista que o DNA não emite fluorescência. Apesar de apresentar grupos carboxílicos e sistemas conjugados, a estrutura dupla hélice, com pares de bases unidas por ligações de hidrogênio, limita a ressonância do sistema aromático e o DNA não apresenta emissão (SIRAJUDDIN et al., 2013). Quando um composto interage com o sistema BET-DNA, pode ocorrer redução da fluorescência, indicando que houve intercalação. A diminuição da intensidade pode ser explicada pela ocorrência dos mecanismos de competição pelos sítios de ligação da biomolécula. A análise dos espectros de emissão com complexos-DNA levam a mesma interpretação dos efeitos apresentados para absorção no UV-Vis. (JANOVEC et al., 2011; SHAHABADI; HEIDARI, 2012).

A supressão da fluorescência geralmente pode ser influenciada por dois processos: dinâmico e estático. A supressão dinâmica é um processo que envolve o contato entre as espécies de um sistema, sendo proporcional à concentração do agente supressor e a sua capacidade de difusão no meio. O processo estático é resultado da formação de um complexo não-fluorescente entre o fluoróforo e o supressor. Desse modo a medida da supressão está relacionado à extensão da formação deste complexo (LAKOWICZ; WEBER, 1973, SHAHABADI; HEIDARI, 2012). Essa extinção (*quenching*) de fluorescência pode ser descrita pela equação de Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV} \cdot r \quad (3)$$

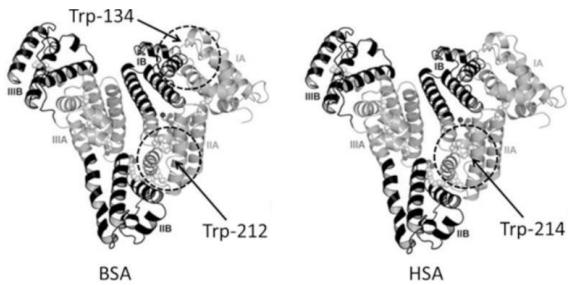
Na equação,  $I_0$  e  $I$  representam a intensidade da fluorescência na ausência e na presença do complexo;  $r$  é a razão entre as concentrações do complexo e do DNA ([complexo]/[DNA]);  $K_{sv}$  é a constante de Stern-Volmer, referente ao coeficiente angular da reta de um gráfico de

$I_0/I$  em função de  $r$ . Pequenos desvios da linearidade estão associados à ocorrência dos dois processos de supressão (LAKOWICZ; WEBER, 1973).

### 3.4. INTERAÇÃO DA ALBUMINA COM PEQUENAS MOLÉCULAS

As albuminas séricas são os principais constituintes protéicos solúveis do sistema circulatório, podendo atuar como proteína de transporte para muitas drogas ou pequenas moléculas. Neste contexto, a albumina sérica bovina (BSA) é bastante utilizada em estudos biológicos por ser estruturalmente homóloga a albumina de soro humano (HSA) (WANG et al., 2007). A BSA é formada por 582 resíduos de aminoácidos com três domínios homólogos de  $\alpha$ -hélices (I, II, III) e apresenta dois triptofanos nas posições 134 e 212 (Figura 13) (SILVA et al., 2004).

**Figura 13-** Estruturas secundárias das albuminas séricas bovina (BSA) e humana (HSA).



**Fonte:** Adaptado de (MOREIRA et al., 2015).

A interação de uma droga com componentes sanguíneos influencia sua biodisponibilidade e pode afetar a função de várias biomoléculas. O efeito clínico de um fármaco em termo plasmático é um importante parâmetro farmacológico que determina as propriedades ADME, (SILVA et al., 2004). Nesse aspecto, a albumina é responsável pela regulação das concentrações plasmáticas e transporte de moléculas endógenas e exógenas, como fármacos, metabólitos, ácido graxos e também é responsável principalmente pela manutenção do pH do sangue (SHAIKH et al., 2006).

Além disso, a albumina tem a capacidade de se acumular em tumores sólidos devido a problemas nos sistemas linfáticos ausente ou deficiente, o que a torna um alvo bastante investigado para transporte de pequenas molécula com potencial antineoplásico, diminuindo efeitos secundários (KRATZ, 2006; GOVEIA, 2018). A investigação da interação entre

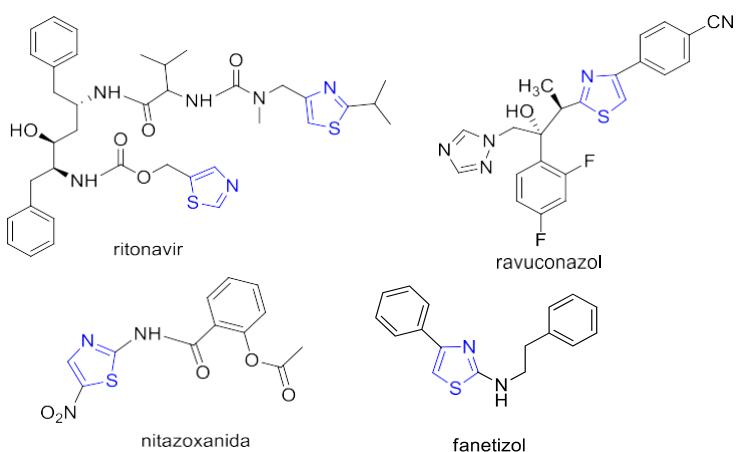
compostos e essa proteína pode fornecer informações estruturais que influenciam na eficácia terapêutica dos fármacos (SHAIKH et al., 2006).

A técnica de fluorescência tem sido amplamente utilizada no estudo de interações fármaco-proteína, uma vez que as medidas de extinção são possíveis devido os resíduos de aminoácidos aromáticos, como o triptofano (SOUZA et al., 2000). A formação do complexo com a proteína geralmente é indicado através do processo de extinção de fluorescência, que pode ocorrer mediante processos que diminuam a intensidade de fluorescência da amostra, entre eles, estado excitado da reação, transferência de energia, formação de complexos no estado fundamental e processos que geram colisões (MOREIRA et al., 2015).

### 3.5 DERIVADOS TIAZÓLICOS COMO BLOCOS CONSTRUTORES EM QUÍMICA MEDICINAL

Compostos heterocíclicos são encontrados na maioria dos produtos farmacêuticos. Nesse enfoque, a síntese desses compostos contendo átomos de nitrogênio, oxigênio ou enxofre desempenha um papel fundamental na busca de novos fármacos. Dentre dessa classe, os tiazóis são núcleos responsáveis pela ação terapêutica, em uma grande variedade de alvos farmacológicos, estando presentes nas estruturas de algumas drogas comerciais (Figura 14) tais como o ritonavir (anti-HIV), rifuconazol (antifúngico), nitazoxanida (antiparasitário) e o fanetizol (anti-inflamatório) (AYATI et al., 2015).

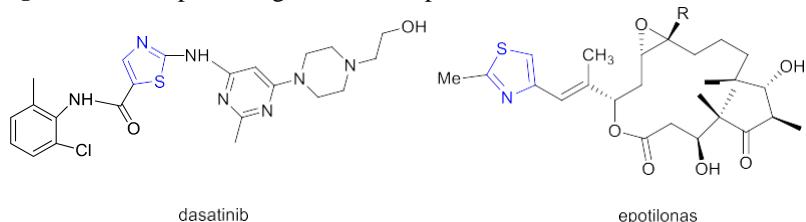
**Figura 14-** Exemplos de drogas contendo o núcleo tiazólico.



**Fonte:** A Autora (2019).

Os tiazóis também são bastante empregados nos estudos envolvendo agentes quimioterápicos, estando presente na estrutura de antineoplásicos, como o Dasatinib, inibidor da tirosina quinase, usado por via oral para pacientes com leucemia mielóide crônica (LMC), atuando também na inibição contra tumores sólidos em câncer colo-retal e pancreático. E as epotilonas A e B que apresentam mecanismo de ação semelhante ao Taxol, com efeito inibitório sobre a função microtubular essencial para a divisão celular, sendo usados no tratamento de câncer de mama e ovário (Figura 15) (SARANGI et al., 2016).

**Figura 15-** Exemplos de agentes antineoplásicos contendo o núcleo tiazólico.

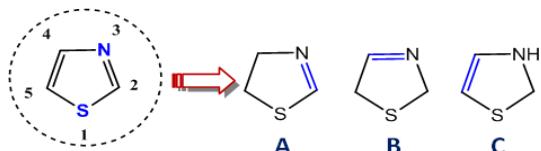


**Fonte:** A Autora (2019).

### 3.5.1 Propriedades químicas e reatividade de 1,3-tiazóis

O tiazol é um heterociclo aromático de cinco membros descrito pela primeira vez em 1887 por Hantzsch e Weber. Na ocasião, eles denominaram o anel como “a piridina da série do tiofeno” apresentando-se como um líquido amarelo claro com ponto de ebulição entre 116-118°C e solúvel em álcool e éter. A estrutura química desses compostos apresenta dois heteroátomos, o nitrogênio e enxofre, e a numeração do anel classifica-os como 1,3-azol (Figura 16), tendo em vista são isômeros do 1,2-azol, conhecido como isotiazol (AYATI et al., 2015). Outras variações em relação a posição da dupla, são descritas e esses derivados não são aromáticos. A posição da ligação dupla é indicada por  $\Delta^2$  (A),  $\Delta^3$  (B) e  $\Delta^4$  (C) (MUSTAFA et al., 2004).

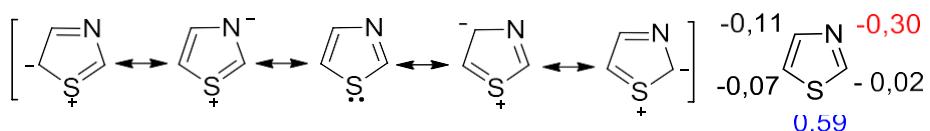
**Figura 16-** Estrutura química de 1,3-tiazol e derivados.



**Fonte:** (MUSTAFA et al., 2004).

A aromaticidade do anel é explicada pela deslocalização do par de elétrons do átomo de enxofre que completa os 6 elétrons  $\pi$  e satisfaz a regra de Huckel (SIDDIQUI et al., 2009), as estruturas de ressonâncias são descritas na Figura 17. O caráter aromático também pode ser evidenciado através de espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$ . O deslocamento químico dos hidrogênios do anel heterocíclico se encontram entre  $\delta$  7,27 e 8,77, devido a efeito de anisotropia magnética (EICHER et al., 2012).

**Figura 17-** Estrutura de ressonância de tiazóis.



**Fonte:** Adaptado (EICHER et al., 2012).

A carga  $\pi$  líquida no átomo S é positiva, enquanto a carga  $\sigma$  líquida é positiva ou negativa e carga resultante sobre nitrogênio é negativa. Além disso, a densidade de elétrons  $\pi$  evidencia a reatividade dos tiazóis. Os átomos C-5 e C-2 podem sofrer substituições eletrofílicas e nucleofílicas, respectivamente. Os tiazóis ainda podem ser protonados sob condições ácidas, apresentando  $pK_a$  25. Nesse aspecto, o tipo de substituinte em posições diferentes do anel interfere diretamente na basicidade. Quando grupos doadores, como o grupo metila é posicionado em C-2, C-4 ou C-5, a basicidade e a nucleofilicidade aumentam. Um efeito mais pronunciado ocorre quando o grupo metila é posicionado em C-2 estando entre os heteroátomos e o local de protonação. Já grupos retiradores de elétrons, como o grupo nitro, em geral na posição 4, diminuem a basicidade e a nucleofilicidade do heterociclo (CHHABRIA et al., 2016).

### 3.5.2 Estratégias sintéticas

Uma variedade de métodos sintéticos foram descritos para a preparação de tiazóis. Dentro destes destacam-se os métodos de Hantzsch, Cook-Heilborn e Gabriel (POTEWAR et al., 2007). A primeira síntese foi descrita por Hantzsch (1989) baseada na utilização de tioamidas e  $\alpha$ -halocetonas (Esquema 1). Por apresentar essa versatilidade esse método ainda vem sendo desenvolvido, tendo vista o grande número de  $\alpha$ -bromocetonas comercialmente disponíveis (CHHABRIA et al., 2016).

**Esquema 1-** Síntese de tiazóis descrita por Hantzsch (1989).

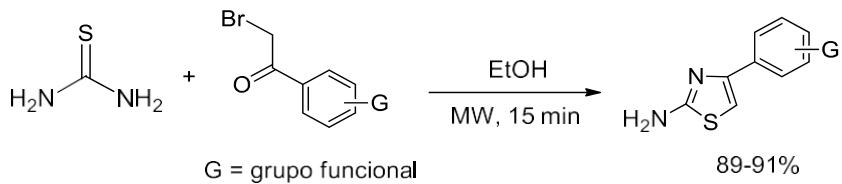


$\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3 =$  alquila, arila

**Fonte:** (CHHABRIA et al., 2016).

A metodologia Hantzsch foi recentemente aprimorada por Deau (2014) e colaboradores a partir da utilização de microondas. Os compostos desejados foram obtidos em bons rendimentos após 15 minutos (Esquema 2).

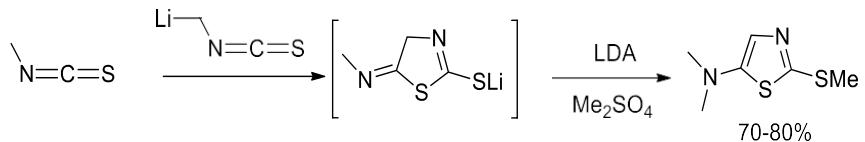
**Esquema 2-** Síntese de tiazóis promovida por microondas.



**Fonte:** (DEAU et al., 2014).

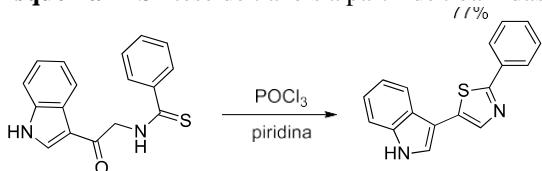
Outro método para a preparação de tiazóis baseia-se no uso de isotiocianato de metila e LDA para formar um intermediário que sofre alquilação com sulfato de dimetila para levar ao composto desejado em bom rendimento (Esquema 3) (NEDOLYA et al., 1997).

**Esquema 3-** Síntese do 2-metil-5-*N,N*-dimetil-aminotiazol.



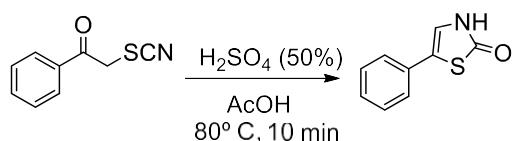
**Fonte:** (NEDOLYA et al., 1997).

Tradicionalmente, as tioamidas são utilizadas como precursores na síntese de tiazóis. Um exemplo de utilização dessa estratégia é mostrado no Esquema 4, onde o  $\text{POCl}_3$  em piridina foi utilizado para promover a reação (NICOLAOU et al., 2004).

**Esquema 4-** Síntese de tiazóis a partir de tioamidas.

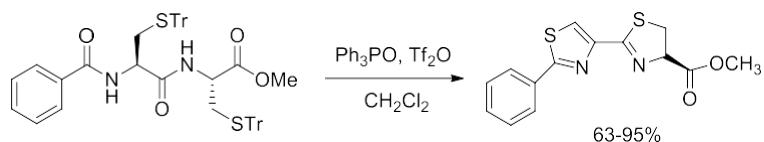
**Fonte:** (NICOLAOU et al., 2004).

A adição de ácido sulfúrico a  $\alpha$ -tiocianatosacetofenonas leva aos tiazóis correspondentes em uma metodologia bastante simples e robusta (Esquema 5) (PIHALAJA et al., 2002).

**Esquema 5-** Síntese de tiazóis promovida por ácido sulfúrico.

**Fonte:** (PIHALAJA et al., 2002).

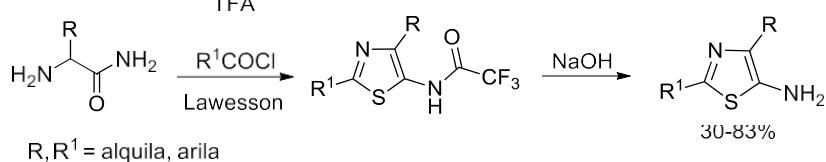
Tiazóis contendo centros estereogênicos podem ser preparados utilizando um aminoácido como precursor. O tratamento do dipeptídeo Cys-Cys com óxido de trifenilfosfina e anidrido trifluorometanossulfônico levou ao composto desejado em 63-95% (Esquema 6) (YOU et al., 2003).

**Esquema 6-** Síntese de um bis-tiazol a partir do dipeptídeo Cys-Cys.

**Fonte:** (YOU et al., 2003).

Um método para a obtenção dos 5-aminotiazóis envolveu a utilização do reagente de Lawesson e derivados de amidas empregando o ácido trifluoroacético como catalisador. A reação levou inicialmente a formação de um tiazol intermediário, o qual após tratamento com hidróxido de sódio aquoso levou aos compostos desejados em bons rendimentos (Esquema 7) (THOMPSON et al., 2006).

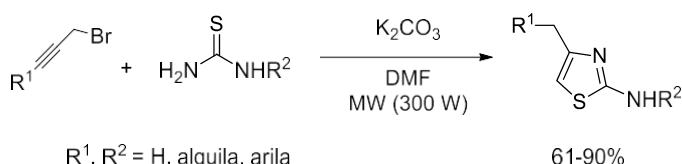
**Esquema 7-** Síntese de 5-aminotiazóis utilizando o reagente de Lawesson.



**Fonte:** (THOMPSON et al., 2006).

Os derivados tiazólicos 2,4-dissubstituídos apresentam-se como um alvo interessante para o *design* de vários fármacos, entre eles antineoplásicos como a tiazofurina e a bleomicina (ARORA et al., 2016). Esses sistemas podem ser obtidos a partir da reação de brometos de propargila e tiouréias promovidas por K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sob irradiação de micro-ondas (Esquema 8) (CASTAGNOLO et al., 2009).

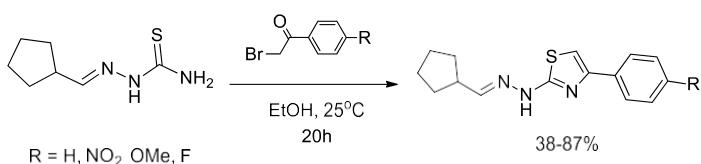
**Esquema 8-** Síntese de tiazóis 2,4-dissubstituídos a partir de brometos propargílicos



**Fonte:** (CASTAGNOLO et al., 2009).

Tiossemicarbazonas também foram descritas como substrato para a preparação de tiazóis 2,4-dissubstituídos. Um exemplo é a obtenção de tiazóis a partir de α-bromoacetofenonas funcionalizadas e a carbotioamida (Esquema 9) (ŁACZKOWSKI et al., 2016).

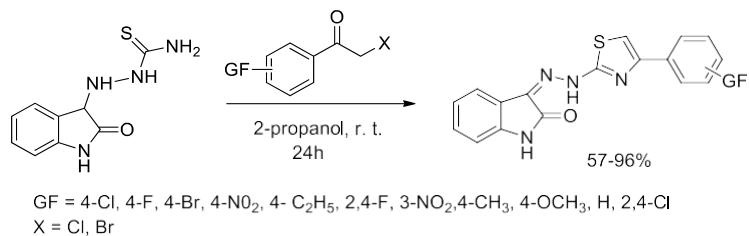
**Esquema 9-** Síntese de 1,3-tiazóis a partir de tiossemicarbazonas.



**Fonte:** (ŁACZKOWSKI et al., 2016).

Meleddu e colaboradores (2015) descreveram uma estratégia semelhante para a síntese de tiazóis utilizando sistemas indólicos (Esquema 10).

**Esquema 10-** Síntese de tiazóis derivados de indol-2-one.



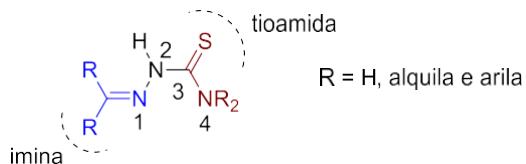
**Fonte:** (MELEDDU et al., 2015).

### 3.5.2.1 Tiossemitiocarbazonas e suas contribuições na síntese de tiazóis

A classe das tiossemicarbazonas constitui como um grupo farmacofórico responsável por um amplo perfil farmacológico como agentes antivirais, antifúngicos, antibacterianos, antimaláricos e antiproliferativos (BERALDO, 2004). A atividade antitumoral das tiossemicarbazonas está associada à inibição da síntese de DNA, que pode ocorrer através da inibição da enzima ribonucleotídeo redutase, com atuação semelhante ao antineoplásico triapina (LIU et al., 2014) ou ainda por inibição das enzimas topoisomerase (OLIVEIRA et al., 2017).

A estrutura básica das tiossemicarbazonas é composta por carbono, nitrogênio e enxofre (Figura 18). As variações estruturais podem ocorrem nos grupos ligados aos átomos de nitrogênio. Além disso, os substituintes determinam o arranjo estrutural, devido os fatores eletrônicos e estéricos. Grupos na posição N-4, favorecem a conformação *syn* entre o átomo de enxofre e nitrogênio da imina, ao passo que a ausência de grupos nessa posição favorece a conformação *anti*, resultando em ligação de hidrogênio intramolecular entre o nitrogênio da imina e os hidrogênios da tioamida (TENÓRIO et al., 2005).

**Figura 18-** Estrutura geral das tiosseemicarbazonas.



**Fonte:** A Autora (2019).

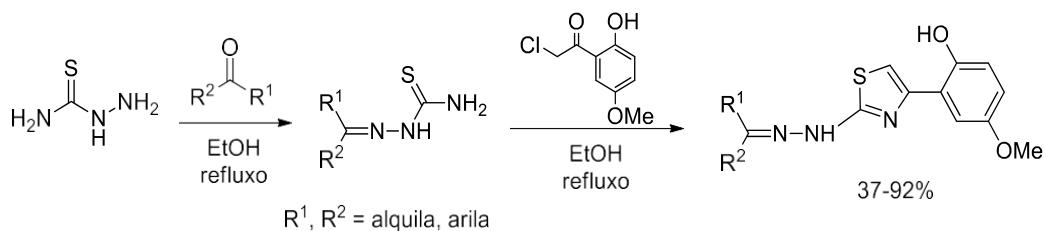
Os métodos de obtenção de tiossemicarbazonas são extensamente explorados e as metodologias envolvendo a utilização de tiossemicarbazidas podem ser divididas em duas estratégias: direta, utilizando uma reação entre compostos carbonílicos e tiossemicarbazidas, e

indireta, onde a primeira etapa da síntese é a formação da tiossemicarbazida, a partir de isotiocianatos e hidrazinas. (TENÓRIO et al., 2005).

Do ponto de vista sintético, esses compostos são bastante versáteis, sendo utilizados como intermediários para síntese de núcleos importantes como os 1,2,4-triazóis; 1,3,4-oxadiazóis; 1,3,4-tiadiazóis e 1,3-tiazóis (HASSAN 2011).

Maillard e colaboradores (2013) descreveram a síntese de tiazóis derivados de tiossemicarbazonas, obtidas de forma direta, a partir da reação entre compostos carbonílicos e uma tiossecarbazida não-substituída. A posterior reação com cloro-acetofenonas funcionalizadas levou aos produtos em rendimentos que variaram de bons a moderados (Esquema 11).

**Esquema 11-** Síntese de tiazolil-hidrazonas.



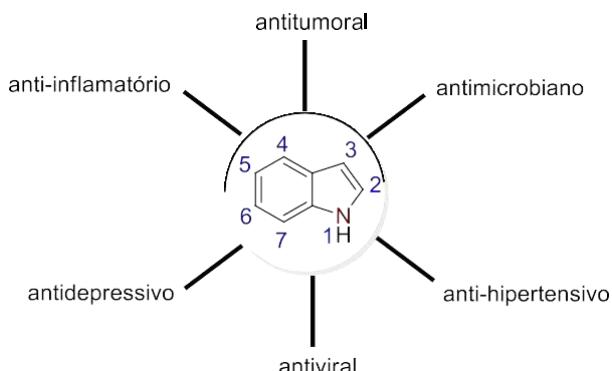
**Fonte:** (MAILLARD et al., 2013).

Núcleos tiazólicos derivados de tiossemicarbazona apresentam relevância em química medicinal. Essa classe mostra eficácia em estudos pré-clínicos nas atividades antifúngicas, antimicrobianas, antiparasitária, antitumoral, entre outras, além de demonstrar baixa citotoxicidade (SANTANA et al., 2018).

### 3.6 DERIVADOS INDÓLICOS EM QUÍMICA MEDICINAL

Os indóis pertencem a classe de compostos heterocíclicos aromáticos e estão presentes em diversos produtos naturais como alcalóides, aminoácidos [como o triptofano] e neurotransmissores [como a serotonina e melanina]. Além disso, essa classe de compostos é de grande interesse na síntese de moléculas bioativas por apresentar uma variedade de aplicações farmacológicas (Figura 19) (CHADHA; SILAKARI, 2017).

**Figura 19-** Principais aplicações farmacológicas dos indóis.



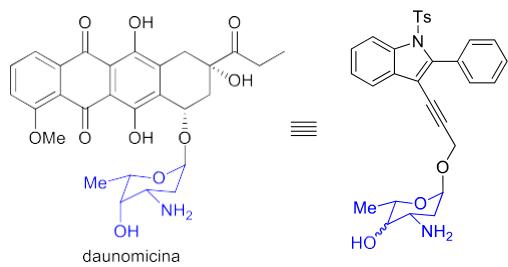
**Fonte:** A Autora (2019).

A estrutura química do indol é bicíclica e plana, contendo 10 elétrons  $\pi$ , sendo classificado como aromático, de acordo com a regra de Huckel. Esse núcleo atua como uma base fraca, podendo ser protonado apenas com ácido forte. O comportamento ligeiramente ácido do grupo NH o torna suscetível em reações de substituição (BARLUENGA; VALDÉS, 2011).

A investigação de antitumoriais baseados no núcleo indólico tem sido alvo de muitos grupos de pesquisa e os principais alvos são histona-deacetilases (HDACs), PIM quinases, DNA topoisomerase e receptores  $\sigma$  (DADASHPOUR; EMAMI 2018). Os compostos contendo a porção indólica atuam como inibidores de topoisomerases de DNA clivando as fitas da dupla hélice e restringindo as funções da topoisomerase na síntese do DNA (DADASHPOUR; EMAMI, 2018).

Outros derivados foram desenvolvidos com base na estrutura de um intercalador clássico, como exemplo pode-se citar a daunomicina. Na estrutura cristalina de seu complexo com DNA observou-se que a porção do carboidrato interagia com sulco menor. Desse modo, Shi e colaboradores (2003) sintetizaram os compostos mais simples contendo sistemas aromáticos indólicos e a porção carboidrato da daunomicina unidas por uma porção propargílica (Figura 20). A avaliação biológica destes compostos demonstrou que a sua citotoxicidade deve-se parcialmente à ligação ao sulco ou intercalação do DNA, além disso, os compostos inibiram significativamente as topoisomerases I e II em uma concentração de 100  $\mu\text{M}$  (SHI et al., 2011).

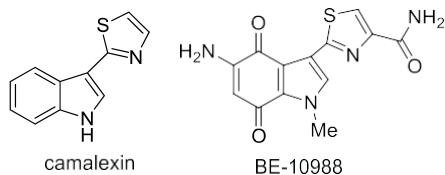
**Figura 20-** Planejamento de derivados indólicos com ligante a base de carboidrato.



**Fonte:** A Autora (2019).

Existem diversos produtos naturais que contém as unidades indol e tiazol e que exibem atividade biológica como antimicrobiana e antitumoral. Um exemplo é a camalexin e o BE-10988, compostos de ocorrência natural que apresentam elevada atividade antitumoral (Figura 21) (JAIN et al., 2018).

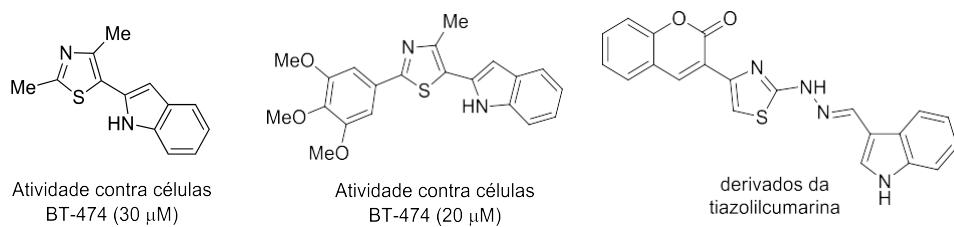
**Figura 21-** Produtos naturais contendo unidades indol e tiazol



**Fonte:** A Autora (2019).

Dentre os compostos sintéticos, Vaddula e colaboradores (2016) descreveram a preparação de uma série de derivados contendo unidades indol e tiazol que apresentaram boas atividades contra linhagem celular BT-474. Os núcleos indol e tiazol também exibiram atividade mesmo quando separados por outros grupos ou espaçadores, como no caso de derivados da tiazolilcumarina, que apresentaram atividade anticancerígena contra 60 linhagens de células tumorais humanas (Figura 22) (GALI et al., 2015).

**Figura 22-** Compostos sintéticos contendo unidades indol e tiazol.



**Fonte:** (GALI et al., 2015).

## 4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

### 4.1 MATERIAS

#### 4.1.1 Reagentes e equipamentos

Os reagentes comerciais e solventes foram adquiridos pela Sigma-Aldrich e utilizados sem purificação prévia. As análises de cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando-se placas de sílica-gel GF Analtech ou placas GF Merck e, para suas visualizações, as placas foram colocadas sob luz ultravioleta, ou mergulhadas em solução vanilina. Os pontos de fusão dos produtos sólidos foram obtidos em um aparelho PFM II da Bio San.

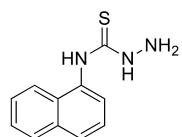
Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) foram registrados em um aparelho Varian UNITY PLUS. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão expressos em partes por milhão (ppm) relativos ao pico residual do solvente utilizado na aquisição. A constante de acoplamento ( $J$ ) para todos os espectros foi expressa em Hertz (Hz). Os equipamentos citados se encontram na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Síntese da tiossemicarbazida 1

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo uma solução de 1-naftil-isotiocionato (2,9 mmol, 550 mg) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml) foi adicionada hidrazina hidratada 61% (5,8 mmol, 0,36 mL) gota a gota. A mistura reacional foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 0,5 h, sendo observada a formação de um precipitado branco. A reação foi monitorada por CCD e ao término da reação a mistura foi filtrada (Adaptado de ALTINTOP et al., 2016).

**N-(1-naftil)hidrazonecarbotioamida:** Sólido branco; P.F: 139-141 °C. Rendimento: 90% (570 mg);  $R_f$  0,53 (AcOEt/ Hexano: 8:2)

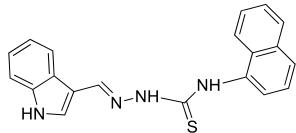


**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  5,07 (sl, 2H, NH<sub>2</sub>); 7,47-7,57 (m, 3H, naftila); 7,71-7,65 (m, 1H, naftila); 7,81 (d,  $J$  = 8,2 Hz, 1H, naftila,); 7,87-7,98 (m, 2 H, naftila); 9,23 (s, 2H, NH-C=S); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  122,5; 124,7; 125,3; 125,9; 128,1; 129,7; 133,6; 135,2; 181,2.

#### 4.2.2 Procedimento geral para a síntese das tiossemicarbazonas 2a-b

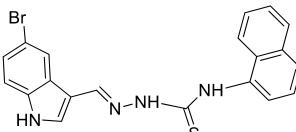
Em um balão de fundo redondo de 50 ml contendo 15 mL de etanol, foi adicionado indol-3-carbaxialdeído apropriado (1 equivalente) e 2 gotas de HCl 37%. Após 3 minutos, adicionou-se a tiossemicarbazida 1 (para obtenção: **2a** 1,6 mmol, 350 mg; **2b** 1,4 mmol, 342 mg) e a mistura foi mantida sob agitação a temperatura ambiente durante 0,5 h. A reação foi monitorada por CCD e ao término da reação a mistura foi filtrada (Adaptado de OLIVEIRA et al., 2017).

*(E)-2-(1*H*-indol-3-il-metileno)-N-(naftalen-1-il)hidrazinacarbotioamida (**2a**):* Sólido branco; P.F: 185-187 °C. Rendimento: 85% (462 mg);  $R_f$  0,64 (AcOEt/ Hexano: 7:3).



**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,09 (t, 1 H,  $J$  = 7,08 Hz, indol), 7,20 (t, 1H,  $J$  = 7,2 Hz, indol), 7,45 (d, 1H,  $J$  = 8,2 Hz, naftila), 7,52-7,61 (m, 3H, naftila), 7,69 (d, 1H,  $J$  = 7,0 Hz, naftila), 7,89 (d, 1H,  $J$  = 8,2 Hz, naftila), 7,93 (d, 1H,  $J$  = 2,7 Hz, HC=N), 7,95-8,03 [m, 2H, indol (1H), naftila (1H)] 8,37 (d, 1H,  $J$  = 7,9 Hz, indol), 8,50 (s, 1H, indol), 9,87 (s, 1H, NH), 11,69 (s, 2H, NH). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  111,0; 111,7; 120,5; 122,2; 122,7; 122,9; 124,0; 125,4; 125,9; 125,9; 126,1; 126,5; 128,09; 130,4; 131,4; 133,7; 135,7; 137,1; 141,4; 176,2.

*(E)-2-((5-bromo-1*H*-indol-3-il)metileno)-N-(naftalen-1-il) hidrazinacarbotioamida (**2b**):* Sólido amarelo; P.F: 205-208 °C. Rendimento: 77% (460 mg);  $R_f$  0,54 (AcOEt/ Hexano: 7:3).



RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO-d6)  $\delta$ : 7,30-7,34 (m, 1H, indol), 7,42 (d, 1H,  $J$  = 8,2 Hz, indol), 7,52-7,62 (m, 3H, naftila), 7,75 (d, 1H,  $J$  = 7,4 Hz, naftila) 7,89 (d, 1H,  $J$  = 8,2 Hz, naftila),

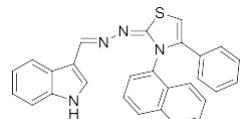
7,96-8,02 [m, 3H, naftila (2H), HC=N (1H)] 8,42-8,47 (m, 2H, indol); 9,99 (s, 1H, NH); 11,69 (s, 1H, NH), 11,88 (s, 1H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, DMSO)  $\delta$ : 110,7; 113,3; 113,8; 122,6; 123,8; 125,3; 125,6; 126,0; 126,2; 126,4; 128,1; 130,1; 132,5; 133,6; 135,4; 135,8; 140, 9; 176,2.

#### 4.2.3 Procedimentos gerais para a síntese dos tiazóis 3a-h

##### 4.2.3.1 Síntese dos tiazóis 3a, 3c-f

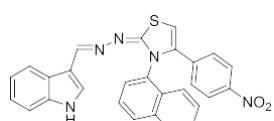
Em um balão de fundo redondo de 50 ml contendo a halo-acetofenona apropriada (1,2 equivalente) em etanol (15 mL) sob agitação magnética foi adicionada a tiossemicarbazona apropriada (1 equivalente). A mistura foi mantida sob refluxo, entre 0,5 a 2 horas. A reação foi monitorada por CCD e ao término da reação a mistura foi filtrada (Adaptado de MELEDDU et al., 2015).

*(2E)-2-(((1*H*-indol-3-il)metileno)hidrazona)-3-(naftalen-1-il)-4-fenil-2,3-dihidrotiazol (3a):* Sólido amarelo; P.F: 296-298 °C. Rendimento: 58% (77 mg);  $R_f$  0,60 (AcOEt/Hexano: 5,5:4,5).



**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  6,69 (s, 1H, tiazol); 7,04-7,24 [m, 6H, fenila (4H), indol (2H)]; 7,38-7,46 [m, 2H, fenila (1H), indol (1H)]; 7,48-7,63 (m, 4H, naftila); 7,67-7,72 (m, 2H, naftila); 7,92-8,00 [m, 2H, -HC=N- (1H), naftila(1H)]; 8,14 (s, 1H, indol); 8,25-8,31 (m, 1H, indol); 11,46 (s, 1H, NH-indol). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  111,4; 112,0; 113,3; 114,0; 120,8; 121,7; 122,2; 124,1; 124,2; 125,1; 125,6; 125,7; 125,9; 126,6; 126,7; 127,6; 127,8; 128,0; 128,1; 128,3; 128,4; 128,5; 135,7; 137,12; 148,3; 148,9; 167,5.

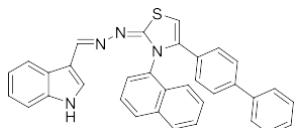
*(E)-2-((E)-((1*H*-indol-3-il)metileno)hidrazona)-3-(naftalen-1-il)-4-(4-nitrofenil)-2,3-dihidrotiazol (3c):* Sólido laranja; P.F: 253-254 °C. Rendimento: 48% (70 mg);  $R_f$  0,67 (AcOEt/Hexano:1:1).



**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  7,00 (s, 1H, tiazol); 7,14-7,22 (m, 2H, indol); 7,38-7,44 [m, 3H, indol (1H), fenila (2H)]; 7,49-7,60 (m, 4H, naftila); 7,64-7,71 (m, 2H, naftila); 7,89-7,99

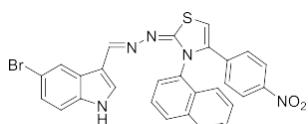
[m, 4H, fenila (2H), naftil (1H), -HC=N- (1H)]; 8,16 (s, 1H, indol); 8,25-8,29 (m, 1H, indol); 11,46-11,48 (m, 1H, NH-indol). **RMN**  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 105,1; 112,3; 112,7; 112,7; 120,9; 122,4; 122,8; 122,9; 123,7; 123,7; 124,8; 126,1; 127,1; 128,0; 128,9; 128,9; 129,7; 130,5; 130,8; 134,4; 134,5; 137,4; 137,5; 138,9; 147,2; 149,7; 167,2.

(*E*)-2-((*E*)-((1*H*-indol-3-il)metilene)hidrazona)-4-([1,1'-bifenil]-4-il)-3-(naftalen-1-il)-2,3-dihidrotiazol (**3d**): Sólido amarelo; P.F: 265-267 °C. Rendimento: 41% (65 mg); *R*<sub>f</sub> 0,66 (AcOEt/Hexano: 5,5:4,5).



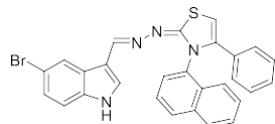
**RMN**  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7,21-7,55 [m, 13H, tiazol (1H), indol (3H), bisfenila (9H)]; 7,57-7,71 (m, 4H, naftila); 7,78-7,81 (m, 1H, naftila); 7,91 (d, *J* = 7, 1H, naftila); 8,03-8,09 (m, 1H, HC=N); 8,12 (d, *J* = 8,2, 1H, naftila); 8,20-8,27 (m, 1H, indol); 8,34 (s, 1H, indol); 11,75 (s, 1H, NH-indol). **RMN**  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 108,8; 109,5; 111,0; 121,1; 121,7; 122,9; 124,0; 126,0; 126,2; 126,2; 126,5; 126,5; 127,1; 127,9; 128,2; 128,3; 128,5; 128,7; 128,9; 128,9; 129,5; 130,7; 131,6; 132,3; 134,0; 137,2; 138,5; 140,5; 141,2; 149,1; 167,9.

(*E*)-2-((*E*)-((5-bromo-1*H*-indol-3-il)metileno)hidrazona)-3-(naftalen-1-il)-4-(4-nitrofenil)-2,3-dihidrotiazol (**3e**): Sólido laranja; P.F: 246-248 °C. Rendimento: 77% (100 mg); *R*<sub>f</sub> 0,53 (AcOEt/Hexano: 5,5:4,5).



**RMN**  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7,21 (s, 1H, tiazol); 7,33-7,37 (m, 1H, indol); 7,44 [d, *J* = 8,6, 3H, fenila (2H), indol (1H)]; 7,54-7,63 (m, 3H, naftila); 7,67-7,71 (m, 1H, naftila); 7,72-7,75 (m, 1H, naftila); 7,76-7,80 (m, 1H, naftila); 7,95 (d, *J* = 9, 2H, fenila); 8,02 (t, *J* = 8,6, 2H, naftila (1H), -HC=N- (1H); 8,22 (s, 1H, indol); 8,42-8,44 (m, 1H, indol); 11,78 (s, 1H, NH-indol). **RMN**  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 105,8; 111,4; 113,3; 114,0; 122,1; 123,3; 123,3; 124,2; 125,1; 125,8; 125,9; 126,8; 127,8; 128,4; 128,6; 128,9; 128,9; 129,7; 129,9; 132,3; 132,9; 134,0; 135,8; 136,3; 138,8; 147,0; 148,9; 167,3.

(E)-2-((E)-((5-bromo-1H-indol-3-il)metileno)hydrazona)-3-(naftalen-1-il)-4-fenil-2,3-dihidrotiazol (**3f**): Sólido amarelo; P.F: 276-277 °C. Rendimento: 58% (70mg);  $R_f$  0,56 (AcOEt/Hexano: 5,5:4,5).

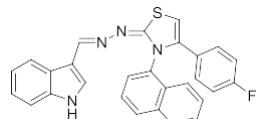


**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,07-7,20 [m, 6H, tiazol (1H), fenil (3H), naftila (2H)]; 7,35-7,40 (m, 1H, indol); 7,44-7,48 (m, 1H, indol); 7,54-7,67 [m, 4H, indol (1H), naftila (3H)]; 7,81-7,86 (m, 2H, fenila); 8,00-8,10 (m, 2H, naftila); 8,29 (s, 1H, -HC=N-); 8,36-8,40 (m, 1H, indol); 11,88-11,91 (m, 1H, NH-indol). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  109,5; 110,7; 113,6; 114,5; 121,5; 124,0; 125,4; 125,7; 125,8; 126,9; 128,0; 128,1; 128,1; 128,2; 128,4; 128,5; 128,6; 129,2; 129,4; 129,5; 130,4; 131,8; 133,2; 134,0; 135,8; 141,4; 148,6; 167,9.

#### 4.2.3.2 Síntese dos tiazóis 3b e 3g

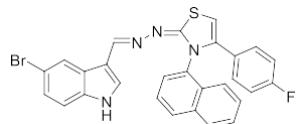
Em um balão de fundo redondo de 50 ml contendo a halo-acetofenona apropriada (1,2 equivalente) em etanol (15 mL) sob agitação magnética, foi adicionado  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1,2 equivalente) e a tiossemicarbazona apropriada (1 equivalente). A mistura foi mantida sob refluxo e a reação foi monitorada por CCD. Ao término da reação o solvente foi removido sob vácuo. O resíduo foi extraído com diclorometano e lavado com água. O solvente foi novamente removido e o resíduo lavado com éter de petróleo (3 x 20 mL), fornecendo o produto puro (Adaptado de MELEDDU et al., 2015).

(E)-2-((E)-((1H-indol-3-il)metileno)hidrazona)-4-(4-fluor-fenil)-3-(naphthalen-1-il)-2,3-dihidrotiazol (**3b**): Sólido amarelo; P.F > 310 °C. Rendimento: 54% (74 mg);  $R_f$  0,70 (AcOEt/Hexano: 6:4).



**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz, DMSO-d6)  $\delta$ : 6,70 (s, 1H, tiazol); 6,90-6,99 (m, 2H, *p*-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7,14-7,25 [m, 4H, indol (2H), fenila (2H)]; 7,39-7,44 (m, 1H, indol); 7,50-7,70 (m, 6H, naftila); 7,94-8,01 [m, 2H, naftila (1H), -HC=N- (1H)]; 8,14 (s, 1H, indol); 8,25-8,31 (m, 1H, indol); 11,45 (s, 1H, NH-indol). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  112,4; 114,9; 115,1; 120,4; 122,0; 122,4; 122,5; 124,4; 125,6; 126,4; 127,3; 127,3; 128,4; 128,4; 129,0; 130,0; 130,0; 130,1; 130,2; 133,8; 134,2; 139,2; 148,6.

(E)-2-((E)-((5-bromo-1H-indol-3-il)metileno)hydrazona)-4-(4-fluor-fenil)-3-(naftalen-1-il)-2,3-dihidrotiazol (**3g**): Sólido amarelo; P.F >310°C. Rendimento: 68% (80 mg);  $R_f$  0,63 (AcOEt/Hexano: 6:4).

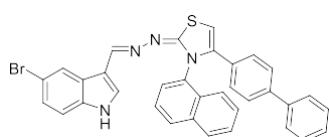


**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  6,76 (s, 1H, tiazol); 6,95 (t,  $J=8,8$ , 2H, *p*-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7,20 (dd,  $J=8,6$ ; 5,5, 2H, *p*-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7,31-7,35 (m, 1H, indol); 7,40-7,43 (m, 1H, indol); 7,51-7,70 (m, 6H, naftila); 7,97 (t,  $J=8$ , 2H, naftila, -HC=N-); 8,13 (s, 1H, indol); 8,47-8,49 (m, 1H, indol); 11,75 (s, 1H, NH-indol). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz, DMSO-  $d_6$ )  $\delta$  100,8; 112,0; 113,0; 113,8; 114,9; 115,1; 122,5; 124,3; 124,8; 125,6; 126,1; 126,4; 127,2; 127,2; 127,3; 128,3; 128,3; 129,0; 130,0; 130,1; 130,2; 131,2; 130,8; 134,2; 135,7; 139,2; 140,1; 167,3.

#### 4.2.3.3 Síntese do tiazol 3h

Em um balão de fundo redondo de 50 ml contendo 2-bromo-4-fenil-acetofenona (1 eq., 0,23 mmol, 100 mg) em etanol (15 mL) sob agitação magnética foi adicionada a tiossemicarbazona **2b** (1 eq., 0,23 mmol, 63 mg). A mistura foi mantida sob refluxo. A reação foi monitorada por CCD e ao término o produto foi precipitado com água destilado e filtrado. O sólido ainda com a presença da acetofenona foi lavado com éter de petróleo (3 x 20 mL), fornecendo o produto puro (Adaptado de MELEDDU et al., 2015).

(*E*)-4-([1,1'-bifenil]-4-il)-2-((*E*)-((5-bromo-1*H*-indol-3-il)metileno)hidrazona)-3-(naftalen-1-il)-2,3-dihidrotiazol (**3h**): Sólido marrom; P.F >310°C. Rendimento: 44% (60 mg);  $R_f$  0,60 (AcOEt/Hexano: 6:4).



**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  6,84 (s, 1H, tiazol); 7,21-7,44 [m, 9H, bifenila (7H), indol (2H)]; 7,49-7,68 [m, 7H, bifenila (2H), naftila (5H)]; 7,74 (d,  $J=8,6$ , 1H, naftila); 7,99 (t,  $J=7,2$ , 2H, naftila, -CH=N-); 8,14 (s, 1H, indol); 8,48-8,50 (m, 1H, indol); 11,64-11,67 (m, 1H, NH-indol). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  101,2; 112,0; 113,1; 113,8; 122,6; 124,3; 124,9; 125,7; 126,1; 126,1; 126,1; 126,4; 126,4; 126,5; 127,4; 127,6; 128,1; 128,1; 128,2; 128,4;

128,8; 128,8; 129,1; 129,7; 130,3; 131,2; 133,9; 134,4; 135,7; 138-7; 139,9; 140,1; 148,1; 167,5.

#### 4.3 ESTUDO IN SILICO

##### 4.3.1 Propriedades ADME e regra de Lipinski e Veber

As estruturas químicas para todos os tiazóis **3a-h** foram desenhadas no ChemDraw Ultra 12.0, em seguida foram gerados os códigos smiles. Os códigos smiles foram usados para exportar a estrutura das moléculas para as plataformas *on line* disponíveis gratuitamente, para investigação do potencial farmacológico dos compostos relacionados a biodisponibilidade oral. A análise dos parâmetros relacionados às regra de Lipinski e Veber foi realizada através da plataforma SwissADME disponível em (<http://www.swissadme.ch/index.php>). E as propriedades ADME (absorção, administração, metabolismo e excreção) foram analisadas no pkCSM, disponível em (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsmprediction>).

##### 4.3.2 Docking Molecular

Buscou-se a estrutura cristalográfica dos receptores biológicos empregados nesse estudo, albumina do soro bovino (BSA), Topoisomerase II $\alpha$  humana e o DNA no banco de dados *protein date base* (PDB).

1. *Foi obtido o cristal da BSA em complexo com o ácido 3,5-diiodosalicílico, ID: 4JK4, com resolução de 2,56 Å;*
2. *Foi obtido a estrutura cristalográfica da enzima TOPO II $\alpha$  em complexo com o DNA e o fármaco etoposídeo, ID: 5GWK, resolução de 3,152 Å;*
3. *A estrutura do DNA foi obtida com o código, ID: 1BNA, resolução 1,9 Å.*

###### 4.3.2.1 Tratamento do receptor

Inicialmente, no programa Discovery Studio 2017, foram removidos os ligantes da BSA e TOPO II $\alpha$ . Depois foram removidas as moléculas de água da estrutura cristalográfica dos receptores. A adição de átomos de hidrogênio polares e as cargas de Kollman foi realizada com o auxílio do programa AutoDockTools

#### 4.3.2.2 Tratamento dos ligantes

Os oito ligantes tiázois foram desenhados no programa ChemDraw Ultra 12.0 e salvos no formato adequado para pré-otimização no programa Avogadro. Após a pré-otimização no Avogadro foi criado um input *mop* para otimização no programa Mopac2016 no nível PM6. O arquivo *mop* foi otimizado no Mopac2016 e o arquivo *out* gerado após a otimização no Mopac2016 foi aberto novamente no programa Avogadro e salvo no formato *pdb*. No programa AutoDockTools foram abertos os ligantes *pdb*, removidos os hidrogênios apolares, computadas as cargas de Gasteiger e posteriormente todos os ligantes foram salvos no formato *pdbqt*.

#### 4.3.2.3 Cálculo do grid e docking

Os arquivos *dpf* foram criados para a análises de docking do algoritmo genético Lamarckiano. Cada cálculo de docking foi processado com 100 conformações e foram realizados pelo Laboratório de Simulação Computacional (LaSC), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). A descrição do tamanho e coordenadas dos GRIDS criados para cada receptor estão descritas a seguir.

- **BSA:** Para realização do cálculo de docking o tamanho do *grid* foi ajustado de modo a incluir o sítio de ligação da proteína, com base no fato que os dois principais sítios de ligação na BSA estão localizados nas proximidades de Trp134 e Trp213. Dessa forma, o docking foi processado com a configuração dos tamanhos de GRID 90x90x90 ao longo dos eixos x, y e z, com espaçamento de 0,375 Å (valor padrão), dimensões suficientes para cobrir todos os resíduos ativos dos dois locais de ligação abundantemente reportados correspondentes ao Trp134 e Trp213. O centro da grade nos eixos X, Y e Z, foi definido como 35.891, 24.195 e 35.381 Å.
- **DNA:** Os ácidos nucléicos são estruturalmente diferentes das proteínas e não possuem um sítio de ativo definido de ligação, logo para a analisar as interações dos ligantes com o DNA foi criada uma caixa para englobar toda a estrutura do DNA. O docking foi processado com as dimensões do *grid* nos eixos X, Y e Z de: 90x90x90 Å, e o espaçamento do *grid* foi de 0,375 Å, o centro da grade nos eixos X, Y e Z foi definido como 14.779, 20.976 e 8.804 Å.

- **TOPO IIa:** Conhecido o sítio ativo da enzima o cálculo de docking foi processado com as dimensões do *grid* nos eixos X, Y e Z de: 60x60x60 Å, espaçamento padrão (valor de 0,375 Å), o centro da grade nos eixos X, Y e Z foi definido como 24.5, -38,148, -59,54 Å.

#### 4.4 ESTUDO ESPECTROSCÓPICO DE INTERAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS COM OS TIAZÓIS 3A-H

As biomoléculas, BSA e DNA foram obtidas através da SigmaAldrich. As análises foram realizadas no espectrofotômetro UV-vis Ultraspec 3000 PRO do Laboratório de Bioquímica do LIKA-UFPE e no Espectrofluorímetro JASCO FP-6300 (Tóquio, Japão) do Laboratório de Enzimologia do CCS-UFPE. Para preparação da solução mãe, utilizou-se DMSO e tampão Tris-HCl a 0,1M em pH 7,46.

##### **4.4.1 Preparação da solução mãe dos compostos**

Em primeiro momento foi feito o cálculo da quantidade necessária de cada composto para o experimento, convertendo a massa molar para micromolar e multiplicando por 2 (quantidade em mL do DMSO). Após estabelecer a massa para cada composto, eles foram pesados e diluídos em 2 ml de DMSO, as soluções foram sonicadas durante 1 minuto, para evitar a precipitação da amostra.

##### **4.4.2 Preparação das soluções de DNA e BSA**

A solução de DNA foi preparada com o DNA de esperma de salmão, diluído em Tris-HCl (0,1 M pH=8) e armazenado por 24 horas à temperatura de 20 °C. Posteriormente essa solução foi diluída novamente em tampão Tris-HCl e sua concentração foi determinada utilizando o coeficiente de extinção molar  $6600\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  a 260 nm. A pureza do DNA foi determinada através do valor da relação de absorbância em 260/280 nm.

A solução de BSA foi preparada utilizando o tampão Tris-HCl (0,1 M pH 7,4) e a albumina de timo bovino. A BSA foi pesada e diluída no tampão de 1 µM e posteriormente foi sonicado por cerca de 5 minutos e congelado à temperatura de -20°C.

#### **4.4.3 Espectroscopia de absorção eletrônica**

As soluções de cada composto foram preparadas em concentrações crescentes (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 μM) e foram diluídas em tampão Tris-HCl (pH 7,4). Essas soluções foram analisadas por meio de varredura no espectrofotômetro (200-600 nm). A concentração de 30 μM foi escolhida para cada composto baseado nos resultados obtidos na análise de varredura. Para avaliação da interação dos compostos com DNA, foram preparadas concentrações crescentes do DNA de salmão (10, 20, 40, 60, 80, 100 μM) em tampão Tris-HCl (pH 8,0) com cada composto fixo a 30 μM. Essas soluções foram analisadas por meio de varredura (200-600 nm) no espectrofotômetro. As medições foram realizadas em cubetas de quartzo de 1cm. A constante de ligação intrínseca (K<sub>b</sub>) foi obtida pelo ajuste do dados para equação Benesi-Hildebrand, usando um software SigmaPlot 10.0. Os gráficos foram plotados com a razão entre [DNA] / (ε<sub>a</sub> e ε<sub>f</sub>) vs. [DNA], onde ε<sub>a</sub> é o coeficiente de absorvância molar do ligante livre e ε<sub>B</sub> é o coeficiente de absorvância molar do complexo com o DNA (LAFAVETTE et al., 2017).

$$[\text{DNA}] / (\epsilon_{\text{A}} - \epsilon_{\text{F}}) = [\text{DNA}] / (\epsilon_{\text{B}} - \epsilon_{\text{F}}) + 1 / K_b(\epsilon_{\text{B}} - \epsilon_{\text{F}})$$

#### **4.4.4 Espectroscopia de emissão de fluorescência**

Para a análise de interação do composto com a albumina, as soluções foram preparadas fixando a concentração da BSA em 20 μM e variando a concentração dos compostos (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 μM) em tampão Tris-HCl (pH 7,4). Os espectros de emissão foram registrados na região de 310-400 nm usando um comprimento de onda de excitação de 285nm, com bandas de excitação e de emissão de 2,5 nm e 2,5 nm. As medições foram realizadas em cubetas de quartzo de 1cm. A constante de supressão de fluorescência (K<sub>SV</sub>) foi analisada a partir da equação de Stern-Volmer, os ajustes foram feitos a partir do Software SigmaPlot 10.0. Os gráficos gerados para K<sub>SV</sub> é a intensidade de emissão da fluorescência na ausência e na presença do complexo (I<sub>0</sub> / I) versus a concentração dos tizóis (LAFAVETTE et al., 2017).

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV} \cdot r$$

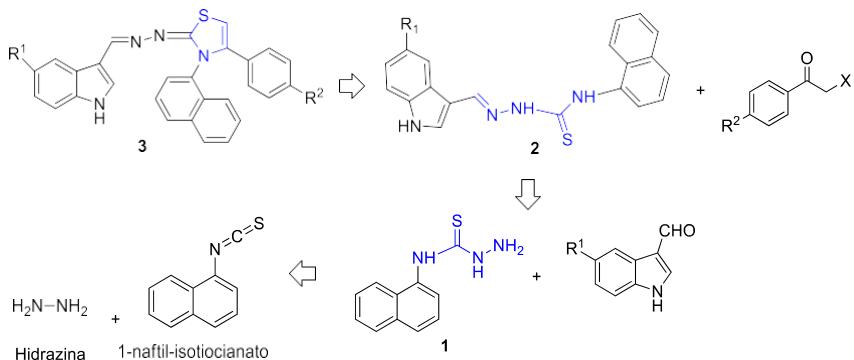
## 5 RESULTADOS

O intuito dessa pesquisa é avaliar a série de tiazóis como agentes antitumorais. Diante disso, as estruturas foram planejadas de modo a conter sistemas aromáticos responsáveis pela interação com o DNA. Para analisar as interações ligante-receptor, foram realizados ensaios espectroscópicos com o DNA, acompanhados *docking* molecular. Um estudo adicional foi realizado, envolvendo a interação dos compostos com BSA, que também foram analisados de forma experimental e *in silico*.

### 5.1 SÍNTESE DE TIAZÓIS

Para a obtenção dos sistemas heterocíclicos desejados foi realizada inicialmente uma análise retrossintética. Os tiazóis **3** poderiam ser obtidos a partir da reação entre tiosemicarbazonas correspondentes **2** e halo-acetofenonas. Já as tiosemicarbazonas **2**, poderiam ser obtidas a partir da reação entre a tiossemicarbazida **1** e aldeídos indólicos, obtidos comercialmente (Esquema 12).

**Esquema 12-** Esquema retrossintético para síntese de tiazóis **3**.



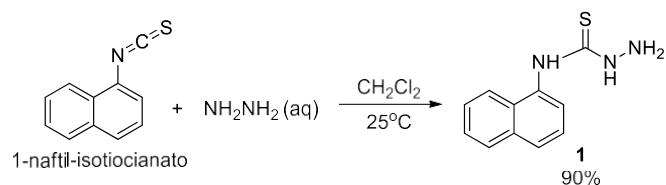
**Fonte:** A Autora (2019).

#### 5.1.1 Síntese da tiossemicarbazida 1

A síntese da tiossemicarbazida **1** foi baseada em uma metodologia descrita por Altintop e colaboradores (2016) na qual o 1-naftil-isotiocianato foi submetido à reação com hidrato de hidrazina 51%. A única modificação realizada foi a troca do etanol, utilizado originalmente como solvente, por diclorometano, que solubiliza o isotiocionato. Essa alteração levou a uma maior eficiência e a um decréscimo no tempo reacional de 4 horas para 30 minutos. A reação

foi monitorada por CCD e ao final a tiossemicarbazida **1** foi obtida em um rendimento de 90% a partir de uma filtração simples (Esquema 13).

**Esquema 13-** Síntese de tiossemicarbazida **1**.

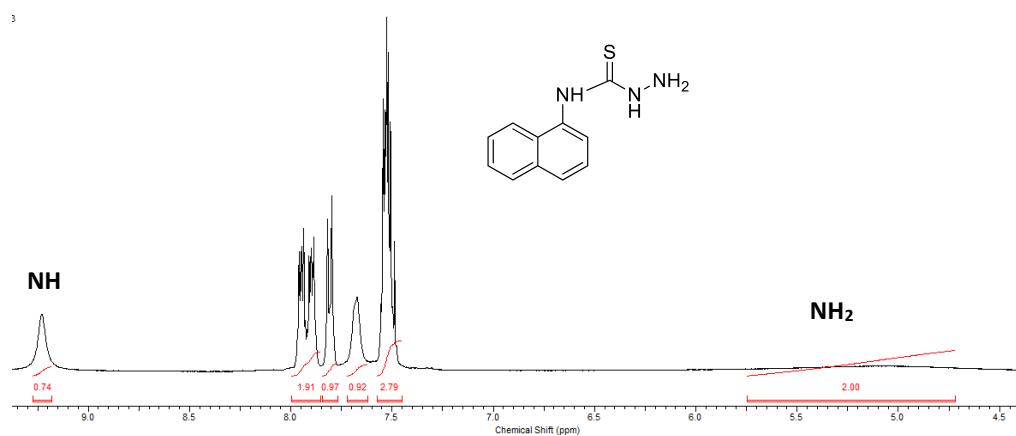


**Fonte:** A Autora (2019).

Derivados contendo naftaleno como grupo farmacofórico já são descritos, sendo descritos como indutores de apoptose (MEDARDE et al., 2004), inibidores de microtúbulos (JIANG et al., 2008) e uma série contendo o anel pirazol e tiazol foram descritas com atividade anti-proliferativa e inibitória do EGFR (YUAN et al., 2014).

A estrutura do composto **1** foi confirmada através da análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . No espectro de RMN  $^1\text{H}$  pode-se observar em  $\delta$  5,04 um simpleto largo referente aos 2 hidrogênios do  $\text{NH}_2$ . Na região de hidrogênios aromáticos pode-se observar 4 sinais entre  $\delta$  7,44-8,00, referente aos 7 hidrogênios do grupo naftila. E em  $\delta$  9,23 observa-se um simpleto referente a um dos grupo  $\text{NH}-\text{C}=\text{S}$  (Figura 23).

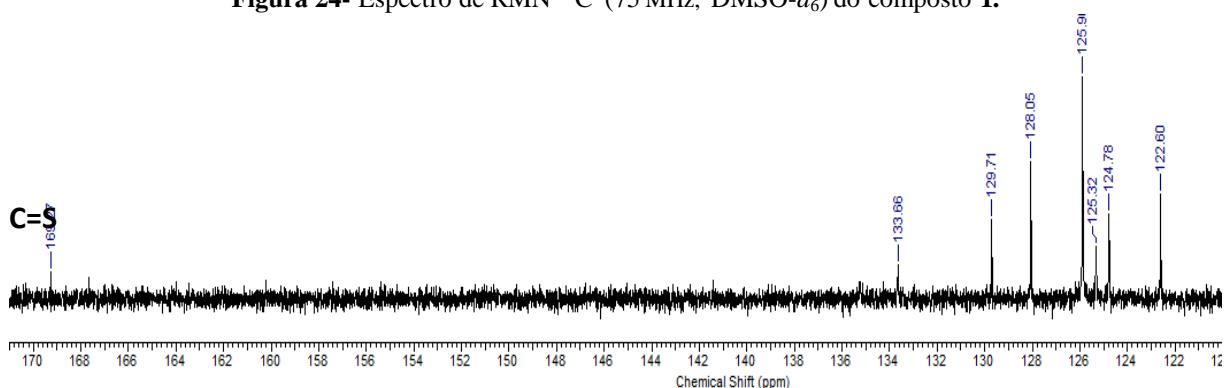
**Figura 23-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do composto **1**.



**Fonte:** A Autora (2019).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  pode-se observar sinais referentes aos carbonos do grupamento naftaleno com  $\delta$  122,6; 124,8; 125,3; 125,9; 128,0; 129,7; 133,7. E o sinal em  $\delta$  169,3 refere-se ao grupo  $\text{C}=\text{S}$  (Figura 24).

**Figura 24-** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do composto **1**.

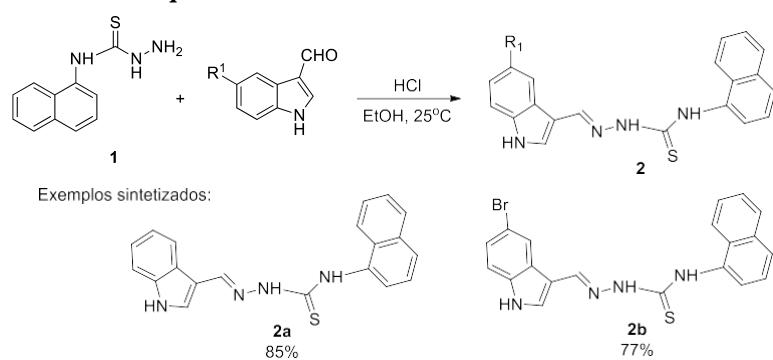


**Fonte:** A Autora (2019).

### 5.1.2 Síntese das tiosseemicarbazonas **2a-b**

A metodologia clássica para a preparação de tiosseemicarbazonas envolve a condensação entre uma tiosseemicarbazida e um aldeído. Oliveira e colaboradores (2017) descreveram a síntese desses compostos em rendimentos que variaram de 95-77%. A metodologia foi baseada na reação entre a tiosseemicarbazida **1** e um aldeído apropriado em meio ácido (HCl catalítico; 3 gotas) utilizando etanol como solvente. Os produtos desejados, **2a** e **2b**, foram obtidos em rendimentos de 85% e 77%, respectivamente (Adaptado de OLIVEIRA et al.; 2017) (Esquema 14).

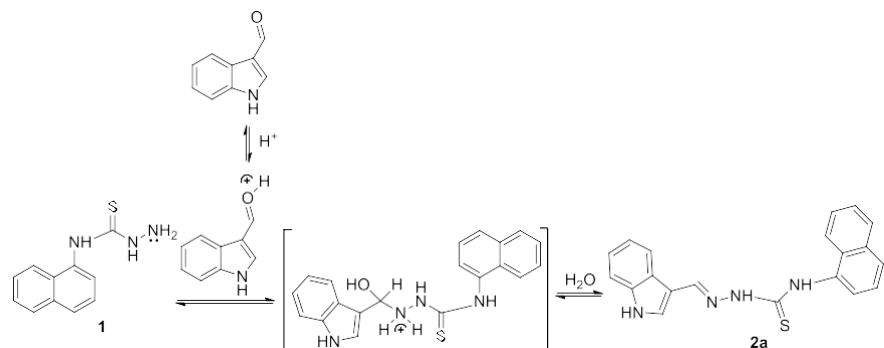
**Esquema 14-** Síntese das tiosseemicarbazonas **2a-b**.



**Fonte:** A Autora (2019).

O mecanismo geral da formação das tiosseemicarbazonas é mostrado no Esquema 15. Primeiramente, ocorre a formação do íon oxônio, seguido da adição nucleofílica do nitrogênio da tiosseemicarbazida para levar a um intermediário tetraédrico (hemiaminal protonado). A perda de uma molécula de água e de um próton leva a formação da tiosseemicarbazona (TENÓRIO et al., 2005).

**Esquema 15-** Mecanismo de formação das tiossemicarbazonas.

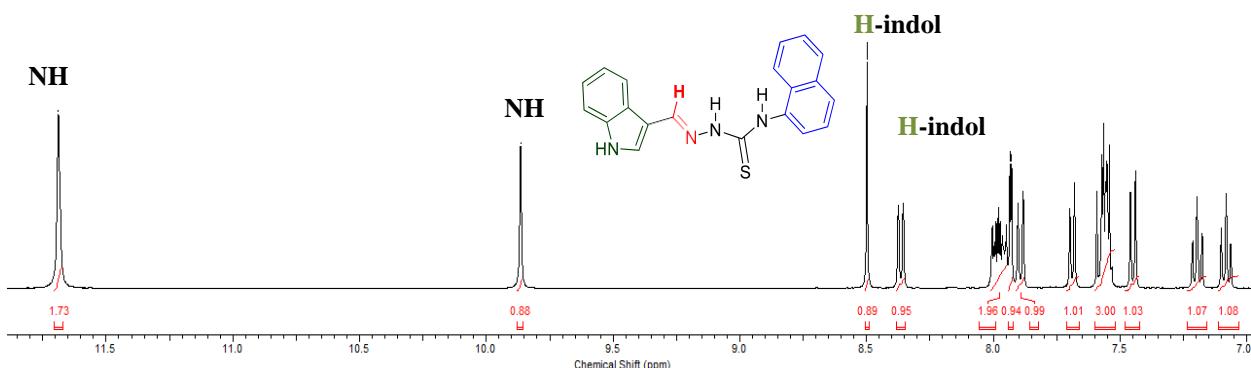


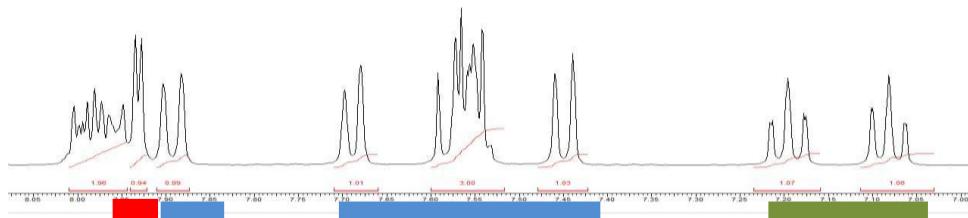
**Fonte:** A Autora (2019).

As tiossemicarbazonas foram caracterizadas por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . No espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **2a**, por exemplo, pode-se observar um valor de integração para 16 hidrogênios, conforme a Figura 25. A caracterização desse composto foi realizada com base nos deslocamentos químicos dos hidrogênios dos produtos de partida, a tiossemicarbazida **1** e o indol-3-carboxaldeido.

De acordo com a figura 25, observam-se dois tripletos em  $\delta$  7,09 e 7,20 ( $J = 7,08$  Hz e 7,2 Hz) referentes a dois hidrogênios do sistema indólico. O dupletos em  $\delta$  7,45 ( $J = 8,2$  Hz) e o multipletos entre  $\delta$  7,52-7,61 apresentam três hidrogênios do grupo naftila. Os dois dupletos seguintes, em  $\delta$  7,69 ( $J = 7,0$  Hz),  $\delta$  7,89 ( $J = 8,2$  Hz) são referentes a dois hidrogênios da naftila. Em  $\delta$  7,93 tem-se um dupletos com  $J = 2,7$  Hz, referente ao um hidrogênio do grupo azometino ( $\text{HC}=\text{N}$ ). Entre  $\delta$  7,95-8,03 observa-se um multipletos referente aos dois hidrogênios, um do grupo naftila e outro do indol. Em  $\delta$  8,37 tem-se um dupletos ( $J = 7,9$  Hz) e em  $\delta$  8,50 um simpleto referente a dois hidrogênios do indol. Em  $\delta$  9,87 um simpleto referente a um dos NH da tioamida e  $\delta$  11,69 outro simpleto com integração para dois hidrogênios, um referente ao NH da tioamida e outro referente ao NH do sistema indólico.

**Figura 25-** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do composto **2a** (ampliação entre  $\delta$  7,00 a 8,05).

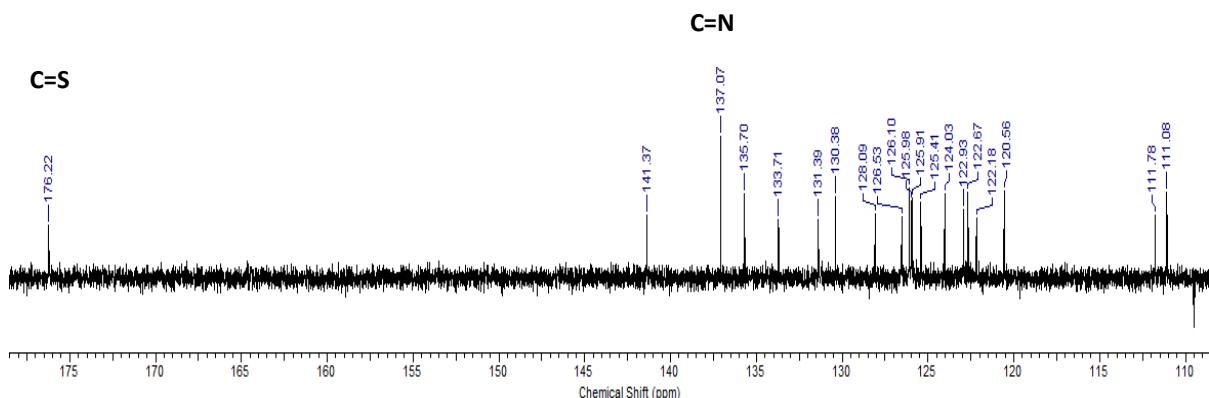




**Fonte:** A Autora (2019).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  observa-se a presença de 20 sinais, sendo o sinal mais relevante o do carbono do azometino em  $\delta$  137,1; valor próximo ao descrito na literatura (AFRASIA BI et al., 2004). E em  $\delta$  176,2 pode-se observar o carbono ligado ao enxofre (C=S). Os demais sinais são referentes aos carbonos dos aromáticos (Figura 26).

**Figura 26-** Espectro de RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) do  $^{13}\text{C}$  do composto **2a**.

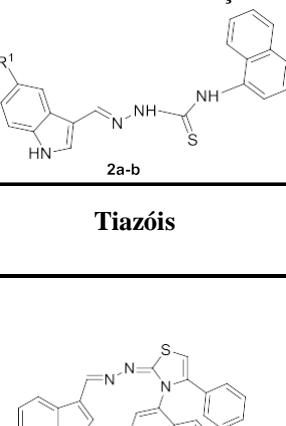
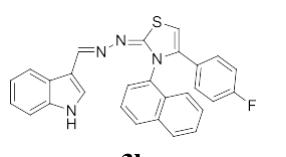
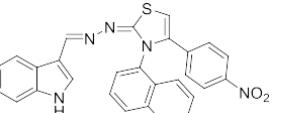
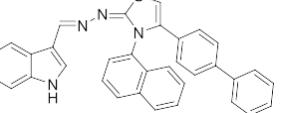
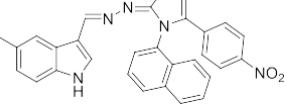
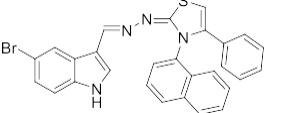
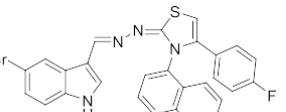


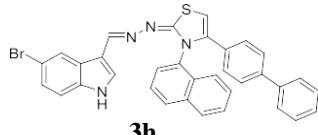
**Fonte:** A Autora (2019).

### 5.1.3 Síntese dos tiazóis **3a-h**

As tiossemicarbazonas **2a-b** foram então submetidas à reação com halo-acetofenonas comercialmente disponíveis, empregando-se etanol como solvente, sob refluxo. Os tiazóis desejados **3a-h** foram obtidos em rendimentos que variaram de 41 a 77% (Tabela 1). Esses rendimentos indicam a necessidade de otimização das condições reacionais, tendo em vista que na literatura é descrita a síntese de sistemas análogos em com rendimentos entre 57 a 96% (MELEDDU et a., 2015).

**Tabela 1-** Condições reacionais para a síntese dos tiazós 3a-h.

	<b>Tiazós</b>	<b>X</b>	<b>Base</b>	<b>Tempo</b> (min)	<b>(%)<sup>a</sup></b>
1		Br	-	30	58
2		Cl	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	60	54
3		Br	-	90	48
4		Br	-	120	41
5		Br	-	60	77
6		Br	-	60	58
7		Cl	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	150	68
					

8		Br	-	60	44
---	---	----	---	----	----

<sup>a</sup>Rendimento isolado

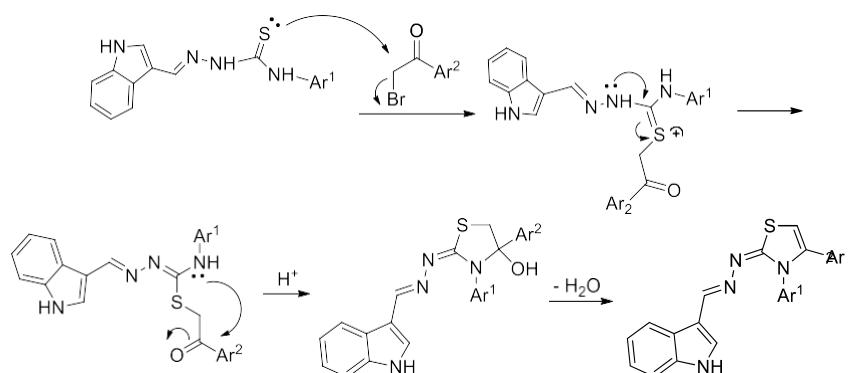
**Fonte:** A autora (2019).

De acordo com a Tabela 1, pode-se observar que melhores rendimentos foram obtidos quando o composto **2b** foi utilizado como precursor. No entanto, menores tempos reacionais foram observados quando o composto **2a** foi utilizado (Tabela 1, entradas 1 e 6).

Quando halo-acetofenonas possuindo um átomo de flúor como substituinte foram utilizadas, foi necessária a utilização de uma base para promover a reação (Tabela 1, entradas 2 e 7).

O mecanismo geral de ciclização que favorece o tiazol é descrito no Esquema 16 (GOMES, 2012). Inicialmente o par de elétrons livres do enxofre realiza o ataque nucleofílico ao carbono  $\beta$  da carbonila, com saída do bromo, favorecendo o intermédio da reação, com a carga positiva no enxofre. O rearranjo de elétrons leva a perda de um hidrogênio do nitrogênio ligado ao naftil. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico desse nitrogênio ao carbono da carbonila, levando a ciclização. Nas próximas etapas, a protonação do oxigênio favorece a eliminação de uma molécula de água, com a perda de um hidrogênio do carbono adjacente, formando uma ligação  $\pi$  entre esses carbonos, resultando no tiazol.

**Esquema 16-** Proposta mecanística para formação dos tiazóis.



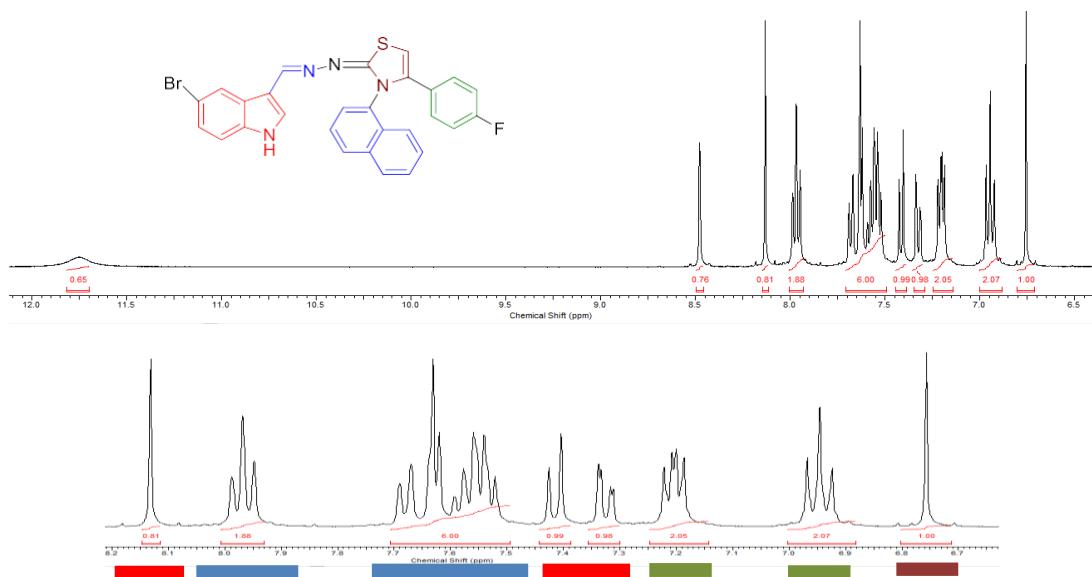
**Fonte:** Adaptado de (GOMES, 2012).

A caracterização da série de tiazóis foi realizada através do RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . O composto **3g** será usado para exemplificação. No espectro de RMN  $^1\text{H}$ , conforme a figura 27, observa-se um simpleto em  $\delta$  6,76 referente ao hidrogênio do tiazol, indicativo da formação desse sistema

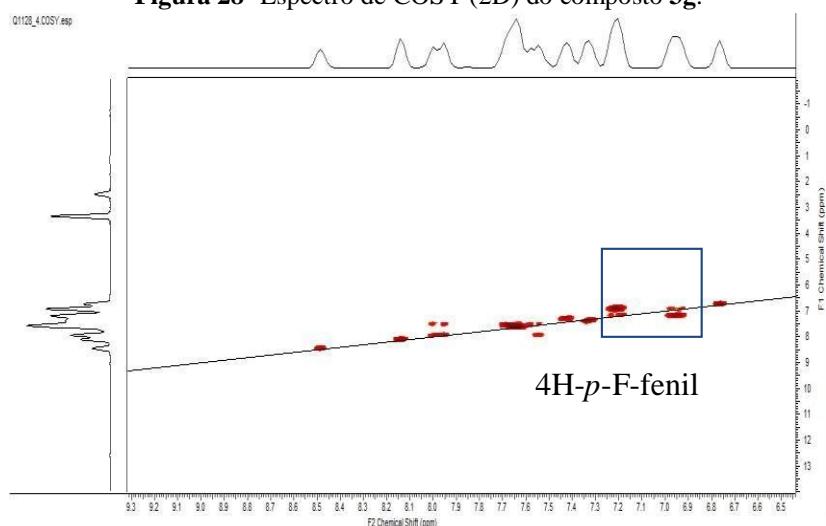
cíclico. Em  $\delta$  6,95 e 7,20 pode ser observado 4 sinais referentes aos hidrogênios do sistema *p*-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>. Em  $\delta$  6,95, um triploto  $J = 8,8$  Hz com integração de 2 hidrogênios, que acoplam com os outros 2 hidrogênios do anel e com o átomo de flúor. O acoplamento H-F é possível uma vez que o núcleo <sup>19</sup>F também apresenta o spin 1/2 (Silverstein et al., 2015). Em  $\delta$  7,20 observa-se um duplo de duploto, com  $J = 8,8$  e 5,5 Hz referente aos outros 2 hidrogênios aromáticos. A correlação entre esses 4 hidrogênios foi evidenciada pelo experimento COSY (Figura 28).

Os dois multipletos entre  $\delta$  7,31-7,35 e 7,40-7,43 estão associados aos hidrogênios indólico. O multipleto contendo um valor de integração de seis hidrogênios entre  $\delta$  7,51-7,70 está relacionado a seis hidrogênios do grupamento naftila. Em  $\delta$  7,97 observa-se um triploto com  $J = 8$  Hz, referente aos 1 hidrogênios do grupamento naftila e um hidrogênio do grupo azometino. Em  $\delta$  8,13 observa-se um simpleto referente ao indol. O multipleto entre  $\delta$  8,47-8,49 se refere a um hidrogênio do sistema aromático do indol. E o simpleto largo em  $\delta$  11,75 está associado ao NH do sistema indólico.

**Figura 27-** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do composto **3g** (ampliação entre  $\delta$  6,07 a 8,2).

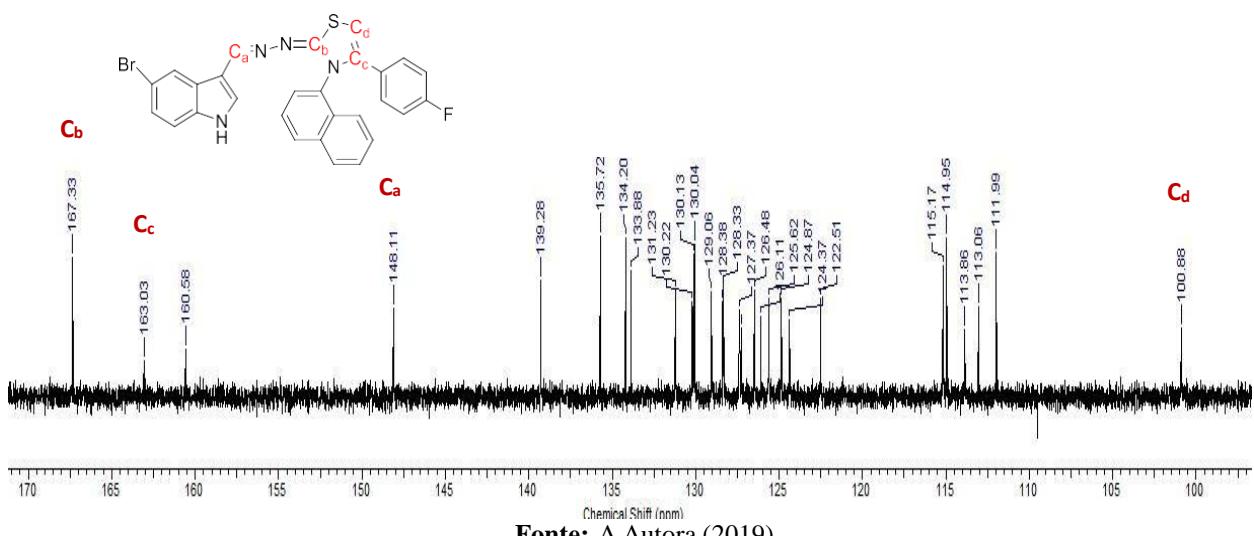


**Fonte:** A Autora (2019).

**Figura 28-** Espectro de COSY (2D) do composto **3g**.

**Fonte:** A Autora (2019).

Na caracterização de RMN  $^{13}\text{C}$  podem ser observados 26 sinais correspondentes aos carbonos presentes na estrutura. Conforme a Figura 29, o carbono  $C_a$  apresenta um pico em  $\delta$  148,11. Os carbonos  $C_b$  e  $C_c$  do tiazol apresentam sinais em  $\delta$  167,33 e 163,33. Além disso, os valores estão próximos dos dados da literatura de sistemas similares (MAHMOODI et al., 2016). Os demais sinais correspondem aos outros carbonos aromáticos. Cabe mencionar ainda, que alguns picos, como em  $\delta$  160,58 corresponde ao acoplamento carbono-flúor.

**Figura 29-** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do composto **3g**.

**Fonte:** A Autora (2019).

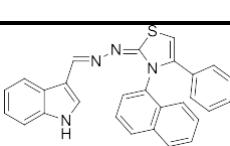
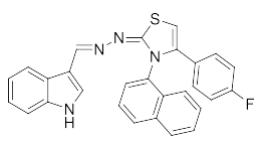
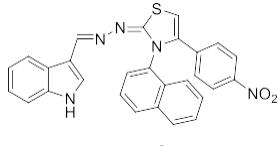
## 5.2 ESTUDO *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES FISICO-QUÍMICAS E ADME

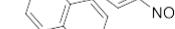
### 5.2.1 Regra de Lipinski (RO5) e parâmetros de Veber

A triagem *in silico* de moléculas com melhor biodisponibilidade oral se baseia em algumas semelhanças entre os medicamentos que levam a um perfil de fármaco ideal. Isso é feito através de filtros, regras ou modelos que definem limites aceitáveis de certas propriedades físico-químicas para candidatos a fármacos (TIAN et al., 2015). Parâmetros como lipofilicidade, ligações de hidrogênio, tamanho e ligações rotacionáveis, influenciam o comportamento da molécula em um organismo vivo, incluindo a biodisponibilidade, propriedades de transporte, reatividade, toxicidade e estabilidade metabólica (ABBASI et al., 2018). A série dos tiazóis **3a-h** foi então analisada quanto a esses parâmetros, através da plataforma *on line* SwissADME disponível em (<http://www.swissadme.ch/index.php>) no intuito de investigar seu potencial quando biodisponibilidade oral (Tabela 2).

A regra de Lipinski estabelece parâmetros de predição teórica que apresentam valores de referência múltiplos de cinco: peso molecular  $\leq 500$ ; lipofilicidade, expressa como  $\log P$  (coeficiente de partição água/1-octanol)  $\leq 5$  ou  $MLOG P \leq 4,15$ ; número de doadores de ligação de hidrogênio (geralmente a soma de grupos hidroxila e amina)  $\leq 5$ ; e número de acetores de ligações de hidrogênio (estimado pela soma de átomos de oxigênio e nitrogênio)  $\leq 10$ . Segundo essa regra, um fármaco ativo oralmente não viola mais de um desses parâmetros (LIPINSKI et al., 2012).

**Tabela 2-** Propriedades físico-químicas dos compostos **3a-h** obtidas através da plataforma SwissADME.

Estrutura	MM	HBA	HBD	MLog P	Ligações rotacionáveis	TPSA (A <sup>2</sup> )
 <b>3a</b>	444,55	2	1	4,72	4	73,68
 <b>3b</b>	462,54	3	1	5,09	4	73,68
 <b>3c</b>	489,55	4	1	4,58	5	119,50

	520,65	2	1	5,66	5	73,68
<b>3d</b>						
	568,44	4	1	4,33	5	119,50
<b>3e</b>						
	523,45	2	1	5,28	4	73,68
<b>3f</b>						
	541,44	3	1	5,64	4	73,68
<b>3g</b>						
	599,54	2	1	6,20	5	73,68
<b>3h</b>						

\*MM= Massa Molar (g/mol); HBA= Aceitador de ligação de hidrogênio; HBD= Doador de ligação de hidrogênio; MLOG P= lipofilicidade; TPSA= Área de superfície polar. **Fonte:** A Autora (2019).

Com base nesses parâmetros, apenas os compostos **3a-c** se enquadram na mesma, violando apenas o MLOGP, com valores acima de 4,15. Porém, cabe mencionar que valores muito discrepantes de MLOG P, pode ocasionar má absorção. Moléculas muito hidrofílicas apresentam baixa biodisponibilidade, devido a baixa permeabilidade pelas membranas celulares e moléculas com alta lipofilicidade apresentam baixa solubilidade em água o que dificulta a dissolução no meio fisiológico. (PEREIRA, 2007 e LUO, ZHENG et al. 2007).

Ainda em relação aos compostos **3a-c**, o derivado **3b** seria o mais lipofílico, a presença da ligação C-F em moléculas orgânicas além de aumentar a lipofilicidade, atua em outras propriedades como a permeabilidade da membrana e estabilidade metabólica. Compostos contendo pelo menos um átomo de flúor são encontrados em mais de 20% dos medicamentos atualmente aprovados (SANTANA et al., 2018). Outro fator que influencia os valores de MLOGP é o número de doadores de ligação de hidrogênio, porém nessa série não houve variação, pois, todos os compostos só apresentam o NH do anel indólico como doador.

O composto **3e** apresenta duas violações da regra dos 5, porém, apesar da massa molar elevada, possui o menor valor de MLOG P, sendo o mais hidrofílico, seguido do composto **3c**. Ambos apresentaram o maior número de aceitadores de ligação de hidrogênios, por possuírem o grupamento NO<sub>2</sub> ligado ao anel aromático, conferindo assim maior polaridade.

Para os demais compostos, observou-se que com o aumento do número de carbonos (e a presença do átomo de bromo) ocasiona o aumento da lipofilicidade. O composto **3h** é o mais lipofílico e apresenta apenas 2 HBA, com MLOG P = 6,20, o que já era esperado, uma vez que a estrutura apresenta maior número de anéis aromáticos e que pode ocasionar uma baixa absorção, devido a baixa solubilidade em água.

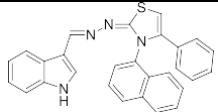
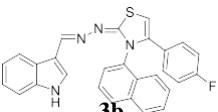
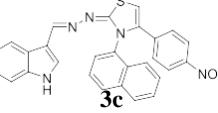
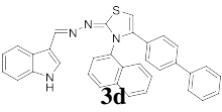
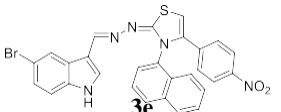
Em relação aos parâmetros de Veber (2002), não ocorreu nenhuma violação quanto ao número de ligações rotacionáveis (todos ficaram abaixo de 10) e todos os valores de TPSA ficaram a baixo de 140 Å<sup>2</sup>. Veber, ao propor esses parâmetros sugeriu considerar moléculas sem limite de peso molecular, o que levou a otimização em relação a flexibilidade da molécula ao receptor biológico. Um valor reduzido da PSA (ou TPSA) garante uma melhor permeação e o aumento do número de ligações rotacionáveis pode dificultar a mobilidade com que a molécula atravessa a membrana. (PAJOUHESH; LENZ, 2005).

### **5.2.2 Propriedades farmacocinéticas ADME**

O estudo de propriedades farmacocinéticas é um passo importante no *design* de medicamentos. Este estudo visa prever como se dará a absorção, a distribuição, o metabolismo e a excreção (ADME) de um fármaco. Após administração oral, um medicamento deve passar pelo intestino via difusão passiva, mediada por absorção ou processos de transporte ativo antes de atingir a circulação sistêmica. O fármaco é removido irreversivelmente do organismo pelo metabolismo e pela excreção. O estudo de muitas drogas é interrompido por conta da má absorção. Métodos para avaliar a absorção podem ser *in situ*, *in vivo*, *in silico* ou modelos *in vitro*, utilizados sozinhos ou em combinação (LIN et al., 2003). Os modelos *in silico* ADME vem ganhando destaque, por apresentar resultados que corroboram com os dados experimentais, sendo uma ferramenta útil para seleção de drogas ativas oralmente e de moléculas inadequadas para NCEs. O estudo das propriedades farmacocinéticas dos tiazóis sintetizados **3a-h** foi realizado através da plataforma *on line* pkCSM, disponível gratuitamente em (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsmprediction>). A Tabela 3 apresenta os parâmetros selecionados para predizer a absorção oral dos compostos (PIRES et al., 2015; LAMBERTUCCI et al., 2018)

No primeiro parâmetro tem-se o coeficiente de permeabilidade a monocamada de células Caco-2 como estimativa da absorção na mucosa intestinal humana. Essa linhagem celular é derivada de carcinoma colo-retal humano e é usada para avaliação de absorção oral, porque retém a morfologia e muitas propriedades funcionais do intestino *in vivo*. Para um composto apresentar alta permeabilidade, o valor deve ser maior que  $0,90 \times 10^{-6}$  cm/s (CASTILLO-GARIT et al., 2008). De acordo com a Tabela 3, com exceção dos compostos **3c** e **3d**, todos os demais apresentaram elevada permeabilidade, com valores acima da referência. O comportamento dos compostos **3c** e **3e** pode ser explicado pela presença do grupo nitro, o seu caráter hidrofílico, provoca redução no log *P*, com valor da constante de Hansch,  $\pi = -0,28$  (HANSCH; FIJITA, 1964; HANSCH, 1969). Essa propriedade corrobora com as propriedades fisico-químicas da seção anterior, pois ambos apresentaram os menores valores de MLOG P, 4,58 e 4,33, respectivamente, indicando maior hidrofilicidade, o que pode resultar em baixa biodisponibilidade, devido a baixa permeabilidade em membranas celulares (PEREIRA, 2007; LUO et al., 2007).

**Tabela 3-** Estudo farmacocinético dos tiazóis **3a-h** através do pkCSM.

Estruturas	Permeabilidade em Caco-2 ( $10^{-6}$ cm/s)	Absorção intestinal humana (%)	Volume de distribuição no estado estacionário - VDss (log L/kg)	Fração não ligada ao plasma Humano (Fu)	Permeabilidade BBB (log BB)	Depuração total de medicamentos (log ml/min/kg)
	1,023	93,495	-1,161	0,252	0,532	0,486
<b>3a</b>						
	1,011	93,142	-0,231	0,252	0,537	0,223
<b>3b</b>						
	0,266	92,839	-0,334	0,258	-0,480	0,394
<b>3c</b>						
	0,991	93,702	-0,406	0,326	0,530	0,450
<b>3d</b>						
	0,209	92,319	-0,553	0,278	-0,970	0,242
<b>3e</b>						

	0,983	94,265	-0,298	0,277	0,414	0,333
<b>3f</b>						
	0,950	91,438	-0,224	0,276	0,578	0,070
<b>3g</b>						
	0,942	94,358	-0,437	0,342	0,412	0,298
<b>3h</b>						

**Fonte:** A Autora (2019).

Os resultados da absorção intestinal humana são estimados através da soma de absorção e biodisponibilidade a partir da proporção de excreção na urina, biliar e fezes (YAMASHITA et al., 2000). Nesse parâmetro todos os compostos apresentaram resultados satisfatórios, entre 92-94%. o que sugere que todos serão absorvidos no nível intestinal.

O volume de distribuição no estado estacionário (VDss) determina a quantidade de fármaco no corpo em relação ao tempo meia-vida ( $t_{1/2}$ ) e, em última análise, afeta o intervalo de dosagem de uma droga. (KHARKAR, 2013). Assume-se, de forma geral, que a concentração do fármaco no sítio de ação se correlaciona à concentração do fármaco no plasma (GARETH, 2012). Valores mais elevados ( $\log VDss > 0,45$ ) indicam uma maior distribuição de um determinado composto nos tecidos, enquanto valores mais baixos ( $VDss < -0,15$ ) indicam uma maior proporção da droga no plasma. Todos os valores para a série **3a-h** foram negativos, sugerindo maior distribuição destes compostos no plasma.

A penetração da barreira hematoencefálica (BBB, do inglês *Blood-Brain Barrier*) é um parâmetro importante para drogas que possam ter algum efeito no SNC. A previsão sugere que valores  $> 0,3$  poderiam cruzar essa barreira, enquanto valores  $< -1$  sugerem baixas distribuições. Os compostos **3c** e **3e** apresentaram valores negativos, o que pressupõe a não penetração na barreira (BBB), devido a sua menor lipofílidade. Os demais, mais lipofílicos, apresentaram valores entre 0,4 e 0,5 indicando uma possível penetração através dessa barreira. Porém, a lipossolubilidade também favorece a captação pelos tecidos periféricos, diminuindo a concentração da droga no sangue. Assim, para essa ou outras bicamadas, a medida que lipossolubilidade pode aumentar a taxa de transporte através do BBB, também pode diminuir a

quantidade do fármaco, o que se presume um equilíbrio entre o aumento da permeação da BBB e a diminuição das concentrações no sangue (BANKS, 2009).

Por fim, a depuração total de medicamento é um parâmetro que relaciona a taxa de eliminação à concentração plasmática do sangue por unidade de tempo (GARETH, 2012). E os valores de cada composto são dispostos na tabela 3.

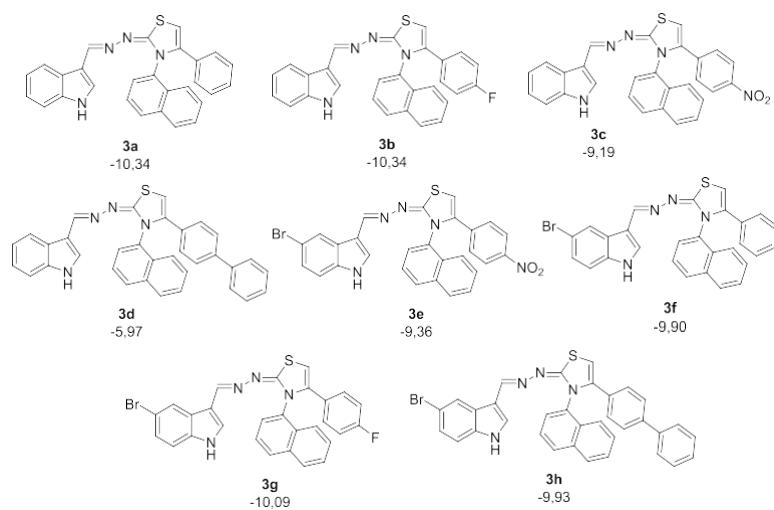
### 5.3 DOCKING MOLECULAR

#### 5.3.1 Complexos ligante – DNA

Os principais modos de interação não-covalente com o DNA são: (i) atrações eletrostáticas com a porção açúcar-fosfato; (ii) interações com o sulco maior; (iii) interações com o sulco menor e (iv) intercalação entre pares de bases nitrogenadas (RESCIFINA et al., 2016). Porém nesse estudo, foi utilizado um DNA com estrutura rígida, que permite apenas analisar as energias de ligação de interação ao sulco. Nesse caso, a formação do complexo com o DNA será influenciada pela a estrutura do ligante em relação a flexibilidade das ligações.

Os resultados teóricos das energias de ligação dos complexos tiazol-DNA são mostrados na Figura 30 e sugerem que todos os ligantes formaram complexos com o DNA com uma valor de energia de ligação inferior a  $-9,00 \text{ kcal mol}^{-1}$ , exceto o composto **3d**, que interagiu com  $-5,97 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Os ligantes **3a** e **3b** apresentaram melhor afinidade de ligação com o DNA, com um valor de energia de ligação  $-10,34 \text{ kcal/mol}$  para ambos.

**Figura 30-** Valores de energia de ligação ( $\text{Kcal.mol}^{-1}$ ) para os complexos tiazol-DNA.

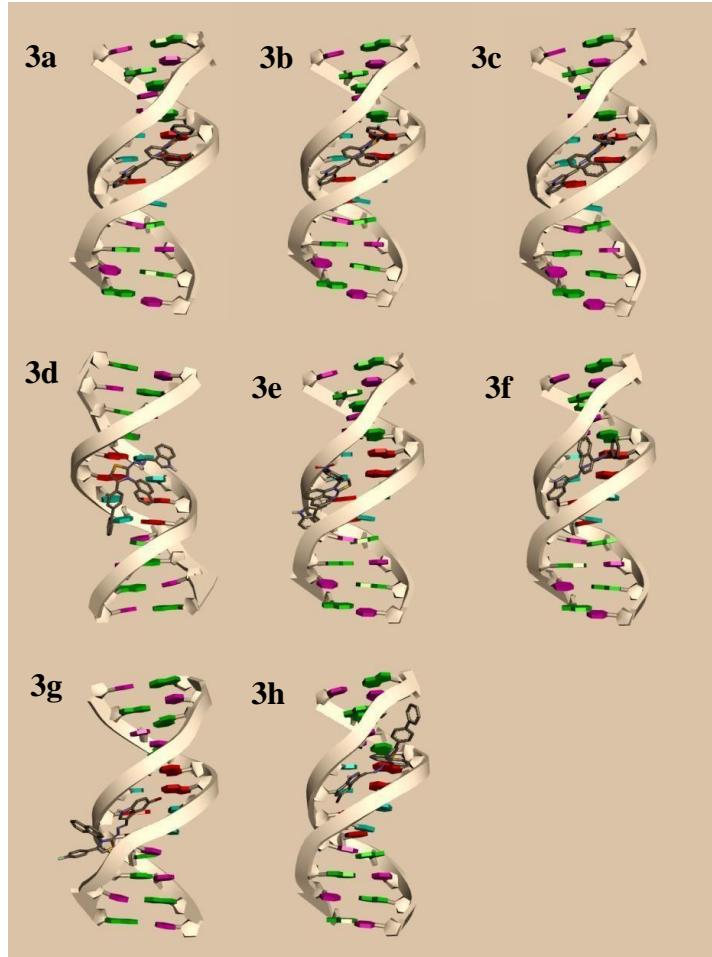


**Fonte:** A Autora (2019).

Todos os compostos interagiram com o DNA, seguindo a mesma tendência, com o núcleo tiazólico e indólico projetados ao sulco do DNA. Os grupos indol e o naftila não se classificam como intercalantes clássicos, a estrutura geral apresenta sistemas de anéis aromáticos não fundidos com liberdade de torção, apresentando de 4 a 5 ligações rotacionáveis, segundo o parâmetro de Veber (2002). Essa flexibilidade permite ao ligante adotar uma conformação que seja apropriada para a interação ao sulco (STREKOWSKI; WILSON, 2007).

Conforme os resultados da energia de ligação e análise da interação tiazol-DNA em 3D, os complexos foram mantidos por interações hidrofóbicas e interagiram principalmente com as bases *adenina* e *timina* (Figura 31). Segundo a literatura, moléculas com baixo peso molecular podem ligar-se a ambos os sulcos, porém, elas se ligam preferencialmente ao sulco menor, adotando conformações que permitem o encaixe a esse sítio com menor impedimento estérico. Essa região se caracteriza por ser mais estreita e profunda, contendo principalmente os pares de base AT (GILAD; SENDEROWITZ, 2014).

**Figura 31-** Modos de interação dos derivados tiazóis com a dupla fita do DNA.



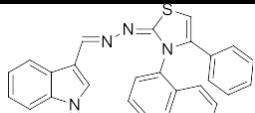
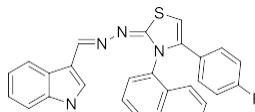
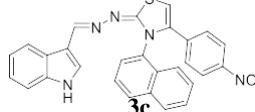
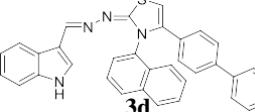
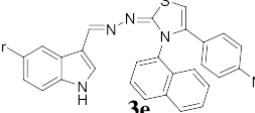
**Fonte:** A Autora (2019).

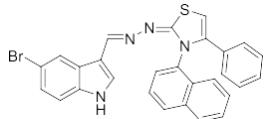
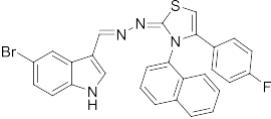
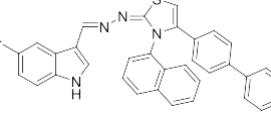
### 5.3.2 Complexo ternário topo II $\alpha$ -ligante-DNA

As enzimas Topoisomerase desempenham um importante papel de regulação na divisão celular, estando relacionadas a processos que controlam o DNA como replicação, transcrição, recombinação, reparação, condensação cromossômica e segregação da cromatina (KATHIRAVAN et al., 2012). Elas atuam no DNA através da quebra transitória de um ou dois fios ocasionando a desvinculação da dupla hélice em um mecanismo de clivagem que favorece a replicação do DNA, essencialmente pela isoforma topo II $\alpha$ , que vem sendo um alvo bastante estudado no desenvolvimento de antitumoriais como inibidores que possam induzir a apoptose em células proliferativas (MCCLENDON; OSHEROFF, 2005).

Essa classe de enzimas foi incorporada ao *docking* molecular com o intuito de analisar os modos de intercalação dos tiazóis com o DNA, através da formação de um complexo ternário. Os resultados de estudo de docking com a Topo II $\alpha$  são descritos na Tabela 4.

**Tabela 4-** Energias de ligação e tipo de interação para cada complexo ternário.

Composto	Energia de ligação kcal mol <sup>-1</sup>	Ligações de hidrogênio	Empilhamento $\pi - \pi$
	-10,38	Cit-8 Tim-9 Gua-13	Cit-8
<b>3a</b>			
	-10,27	Arg-487 Leu-616	Cit-8 Tim-9 Ade-12 Gua-13
<b>3b</b>			
	-10,84	Arg-487 Glu-461	Cit-8 Tim-9 Ade-12 Gua-13
<b>3c</b>			
	-12,18	Glu-461	Cit-8 Ade-12 Gua-13
<b>3d</b>			
	-11,16	Arg-487 Glu-461	Cit-08 Tim-09 Ade-12 Gua-13
<b>3e</b>			

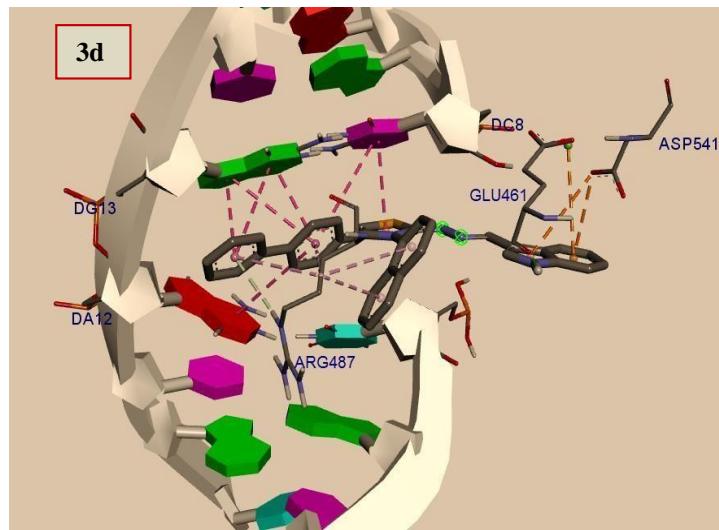
 <b>3f</b>	-10,75	Arg-487	Cit-08 Tim-09 Gua-13
 <b>3g</b>	-10,57	Arg-487	Cit-08 Tim-09 Ade-12 Gua-13
 <b>3h</b>	-12,69	Glu-461	Cit-08 Tim-09 Ade-12 Gua-13

**Fonte:** A Autora (2019).

Com base no estudo de *docking* molecular todos os derivados tiazólicos apresentaram baixa energia de ligação, o que pressupõe que todos podem intercalar com os pares de bases do DNA e concomitantemente servir como veneno para a enzima topo IIα. Essa ação citotóxica já foi observada em vários agentes antitumoriais, como a mitoxantrona que atua estabilizando o complexo ternário covalente Topo II-ligante-DNA, resultando na morte celular por apoptose (HANDE, 2008). Em geral, a presença de ligantes planares com sistemas ricos em elétron-  $\pi$  promove a intercalação com estabilização do complexo ligante-DNA através das forças não-covalentes, como interação  $\pi$ - $\pi$ , ligações de hidrogênios e interações hidrofóbicas (BARRA; NETTO, 2015).

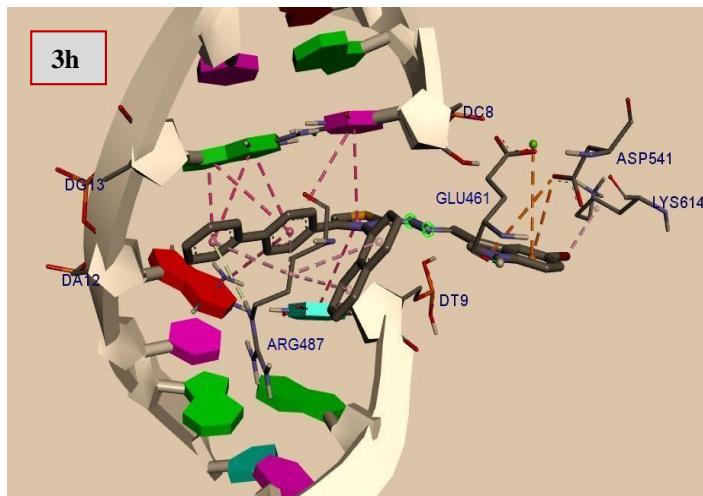
Na análise dos complexos 3D, foi observado que todos os compostos sintetizados interagem com o aminoácido de *arginina-487*, de modo semelhante ao etoposídeo (fármaco co-cristalizado presente na estrutura da topo IIα), porém com padrões de intercalação diferentes. Os compostos **3d** e **3h** apresentaram menor energia de ligação com valores de -12,18 e -12,69 kcal/mol, respectivamente, ocasionando uma maior estabilização do complexo, possivelmente devido a presença de mais um anel aromático. O composto **3d** formou um complexo através do empilhamento  $\pi$ - $\pi$  entre o tiazol e a base *citosina-8* e a porção bifenila com *adenina-12* e *guanina-13*, também foi observado formação de ligação de hidrogênio com o resíduo de *glutamina-461* (Figura 32). O composto **3h** pode intercalar de uma forma semelhante, com os quatro pares de bases no sítio de ligação e forma ligação de hidrogênio com o mesmo resíduo de aminoácido (Figura 33). A presença do átomo de bromo ocasiona interações hidrofóbicas com outros resíduos nesse ambiente.

**Figura 32-** Complexo formado entre a DNA-topoisomerase e o ligante **3d**.



Fonte: A Autora (2019).

**Figura 33-** Complexo formado entre a DNA-topoisomerase e o ligante **3h**.



Fonte: A Autora (2019).

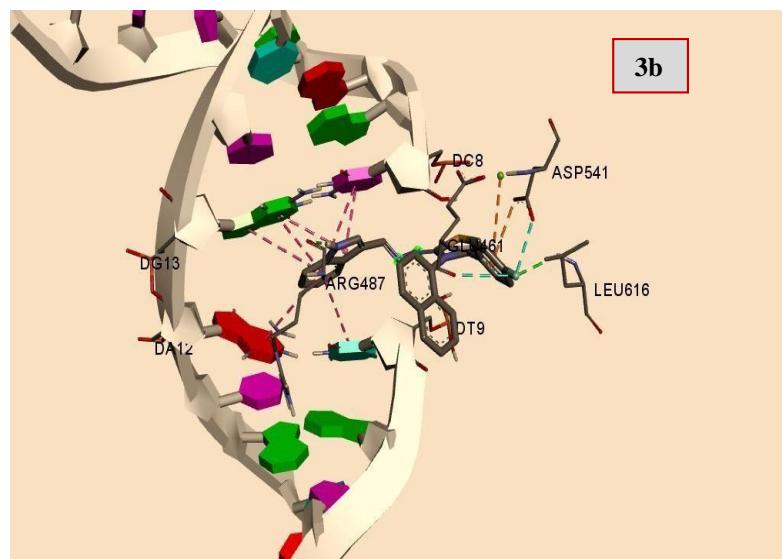
Os compostos **3c** e **3e** também formaram complexos com baixas energias de ligação e apresentaram modos de intercalação semelhantes, com formação de duas ligação de hidrogênio, sendo uma delas resultante da interação entre *arginina-487* e o oxigênio do grupo nitro, que ocasiona uma maior estabilização do complexo. Para o composto **3c**, o anel tiazólico se inseriu entre as bases *citosina-8* e *timina-9* e ocorreu empilhamento em forma de T entre a *adenina-12* e o anel aromático. No composto **3e** ocorreu o empilhamento  $\pi$ - $\pi$  entre os quatros pares de bases nitrogenadas próximos ao ponto de clivagem e o bromo gerou interações hidrofóbicas com os aminoácidos mais próximos.

No complexo com o composto **3a** ocorreu um padrão diferente de intercalação, o sistema indólico se intercalou com as bases *citosina-8*, *timina-9* e *guanina-13* através de empilhamento

$\pi-\pi$  e ocorreu a formação de uma ligação de hidrogênio com a *citosina-8*. Esse tipo de intercalação já era esperado uma vez que o sistema indólico é rico em elétrons  $\pi$  e pode interagir de forma não-covalente com as bases, através de empilhamento  $\pi-\pi$  e formação de ligação de hidrogênio com NH (LAFAYETTE et al., 2017). Devido a esta propriedade, os derivados indólicos são conhecidos principalmente por apresentar atividade antitumoral associada à ligação com o DNA, interferindo nos processos de replicação (SARKAR et al., 2016). O ligante **3b** também apresentou intercalação do sistema indólico com os quatro pares de bases do sítio de ligação. O complexo foi estabilizado adicionalmente por duas ligações de hidrogênio: o resíduo de *leucina-616* com o átomo de flúor e a *arginina-487* com o hidrogênio do sistema indólico (Figura 34). O composto análogo **3g** seguiu o mesmo padrão, porém não foi observada ligação de hidrogênio atribuída ao átomo de flúor.

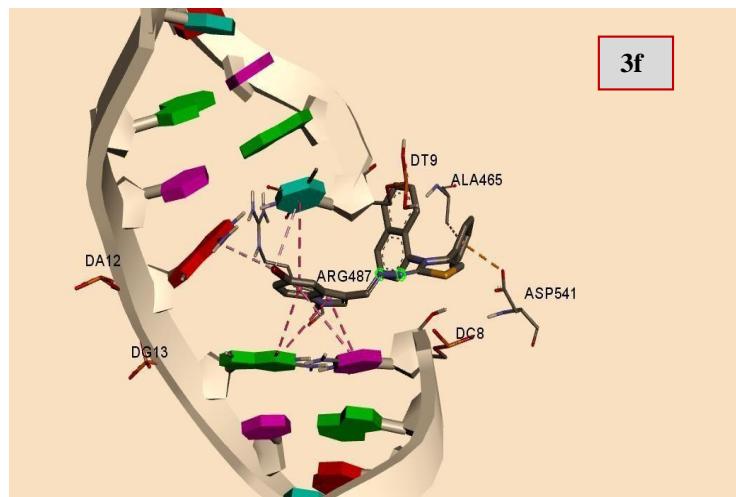
O ligante **3f** também intercalou através do sistema indólico entre os pares de *citosina-8*, *timina-9* e *guanina-13* realizando uma ligação de hidrogênio com a *arginina-487* (Figura 35). As demais interações são hidrofóbicas entre o átomo de bromo e os resíduos de aminoácidos mais próximos.

**Figura 34-** Complexo formado entre a DNA-topoisomerase e o ligante **3b**.



**Fonte:** A Autora (2019).

**Figura 35-** Complexo formado entre a DNA-topoisomerase e o ligante **3f**.

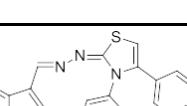
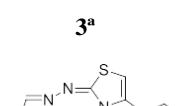


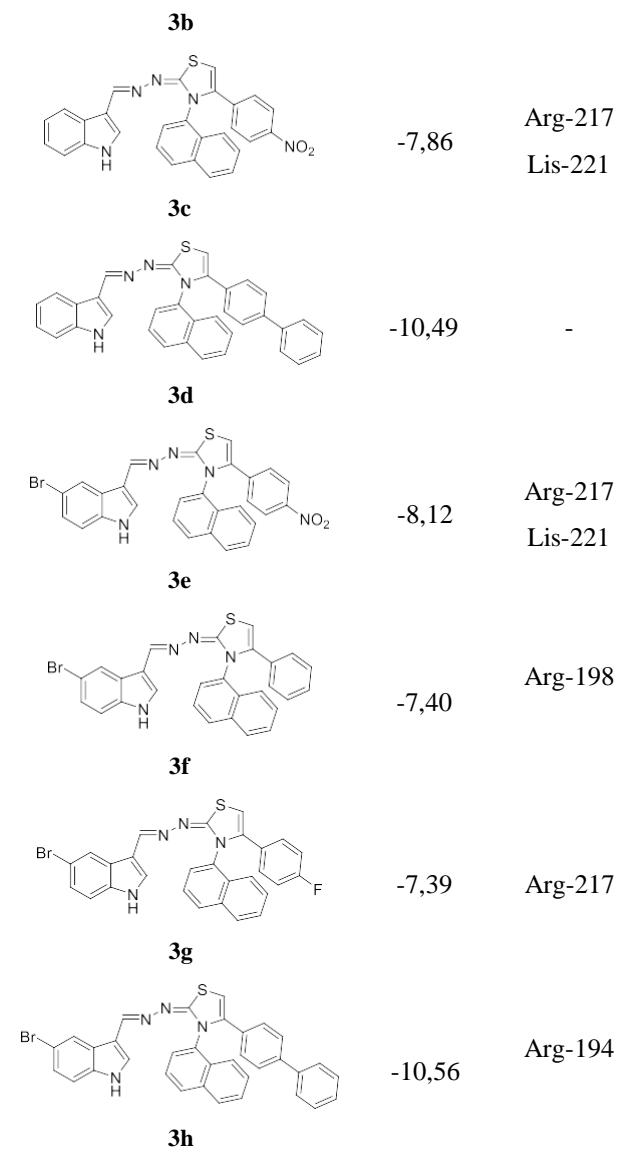
**Fonte:** A Autora (2019).

### **5.3.3 Complexos ligante – BSA**

A albumina sérica bovina (BSA), é frequentemente utilizada em estudos bioquímicos, devido ao baixo custo e por apresentar uma estrutura primária homóloga a albumina do soro humano (HSA). Além disso, é importante para esse estudo, porque é responsável por fazer o transporte de pequenas moléculas no plasma (ZHANG et al., 2010). Na Tabela 5 são apresentados os valores de energia de ligação dos tiazóis com a albumina, bem como as interações não-covalentes com os resíduos de aminoácido. Os compostos **3d** e **3h** apresentaram energias mais baixas -10,49 e -10,56 kcal mol<sup>-1</sup>, respectivamente, indicando uma melhor afinidade com a BSA.

**Tabela 5-** Energias de ligação e tipo de interações para cada complexo albumina-tiazóis.

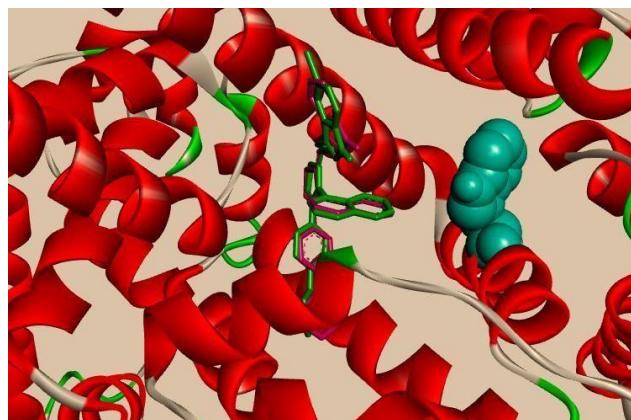
Composto	Energia de ligação kcal mol <sup>-1</sup>	Ligaçāo de hidrogēnio
	-6,77	Arg-217
<b>3<sup>a</sup></b>		
	-6,78	Arg-217



**Fonte:** A Autora (2019).

A Figura 36 mostra o complexo dos compostos **3d** e **3h** com a albumina. Observa-se que ambos formaram complexos análogos próximos ao ambiente do *triptofano-212*, com menores energias de ligação -10,49 e -10,56 kcal/mol. Ambos apresentam mais sistemas aromáticos, o que os tornam mais lipofílicos, favorecendo melhor interação na região hidrofóbica desse triptofano (SILVA et al., 2004).

**Figura 36-** Docking da conformação dos compostos **3d** e **3h** com a estrutura da BSA. A figura mostra os compostos sobrepostos onde **3d** está indicado em rosa e **3h** em verde. O *Trp-212* está indicado em azul.

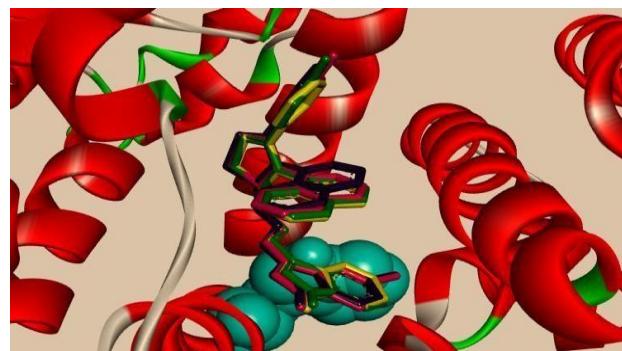


**Fonte:** A Autora (2019).

Os tiazóis **3a**, **3b**, **3f** e **3g** apresentaram complexos homólogos, conforme a Figura 37. Os compostos **3a** e **3b** apresentaram energias próximas -6,77 e -6,78 kcal mol<sup>-1</sup>, respectivamente. A pequena diferença de energia para o composto **3b** pode estar associada à presença do átomo de bromo no sistema indólico, contribuindo para estabilização do complexo. Os derivados **3f** e **3g** também apresentam energias menores, levando a uma maior interação com os resíduos de aminoácidos. Os compostos **3c** e **3e** formaram uma ligação de hidrogênio adicional com a *lisina-221*, devido a presença do grupo nitro (Figura 38).

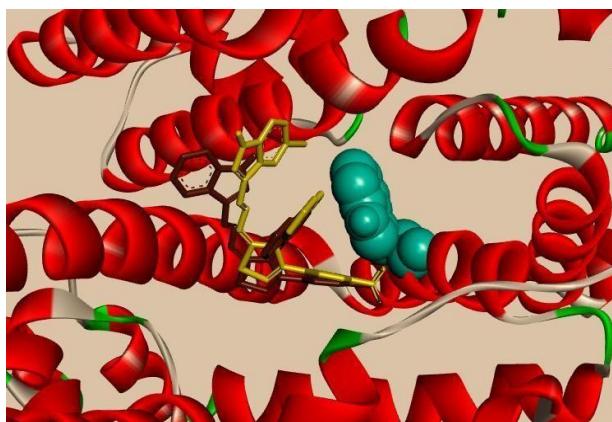
Desse modo, nenhum tiazol interagiu diretamente com o *triptofano-212*, porém se ligaram próximo, interagindo com os resíduos de aminoácidos do ambiente adjacente, o que indica uma boa afinidade com a proteína, com a formação dos complexos BSA-tiazol.

**Figura 37-** Docking da conformação dos compostos **3a**, **3b**, **3f** e **3g** com a estrutura da BSA. A figura apresenta os compostos sobrepostos, onde **3a** está indicado em amarelo, **3b** em verde, **3f** em roxo e **3g** em rosa. O *Trp-213* está indicado em azul.



**Fonte:** A Autora (2019).

**Figura 38-** Docking da conformação dos compostos **3c** e **3e** contra a estrutura da BSA. A figura mostra os compostos sobrepostos, onde **3c** está indicado em marrom e **3e** em amarelo. O *Trp-213* está indicado em azul.



Fonte: A Autora (2019).

## 5.4 ESTUDO ESPECTROSCÓPICO

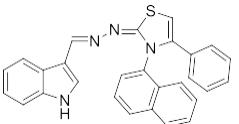
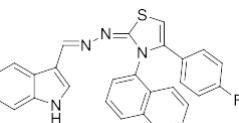
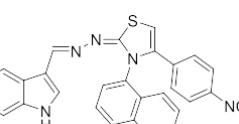
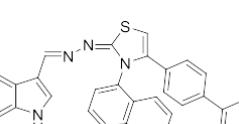
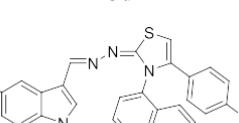
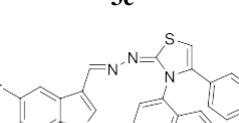
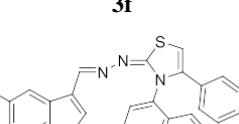
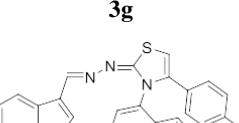
### 5.4.1 Espectroscopia de absorção no UV-vis para interação com DNA

O DNA é um dos alvos mais comuns de interação com pequenas moléculas, formando complexos principalmente com drogas anticancerígenas. Portanto, o estudo da interação de novos compostos com DNA se torna um passo fundamental para o desenvolvimento de novos fármacos (MUSHTAQUE et al., 2016). Na espectroscopia de absorção UV-Vis, o modo de interação é observado por mudanças no banda máxima de absorção, podendo ocorrer prioritariamente efeitos hipocrônicos ou hipercrônicos (SIRAJUDDIN et al., 2013). Classicamente, tem sido bem aceito que o hipocrômismo e o batocrômismo são indicações de ligação não covalente, classicamente intercalação (ZHANG et al. 2015), enquanto o hipercromismo é indicação para outros tipos de interação, como ligação covalente ou interação eletrostática (PLSIKOVA et al., 2012).

Os espectros dos compostos **3a-h** foram plotados a partir de experimentos envolvendo a absorção dos compostos livres fixado em 30  $\mu$ M e complexado com ct-DNA em diferentes concentrações. Os efeitos nas bandas de absorção máximas são descritos na Tabela 6.

**Tabela 6-** Resultados de absorção UV-vis dos compostos **3a-h** com ctDNA.

Composto	$\lambda_{\text{max}}$ livre (nm)	$\lambda_{\text{max}}$ complexo (nm)	Hipocro- mismo (%)	Hipercro- mismo (%)	$K_b$ ( $M^{-1}$ )

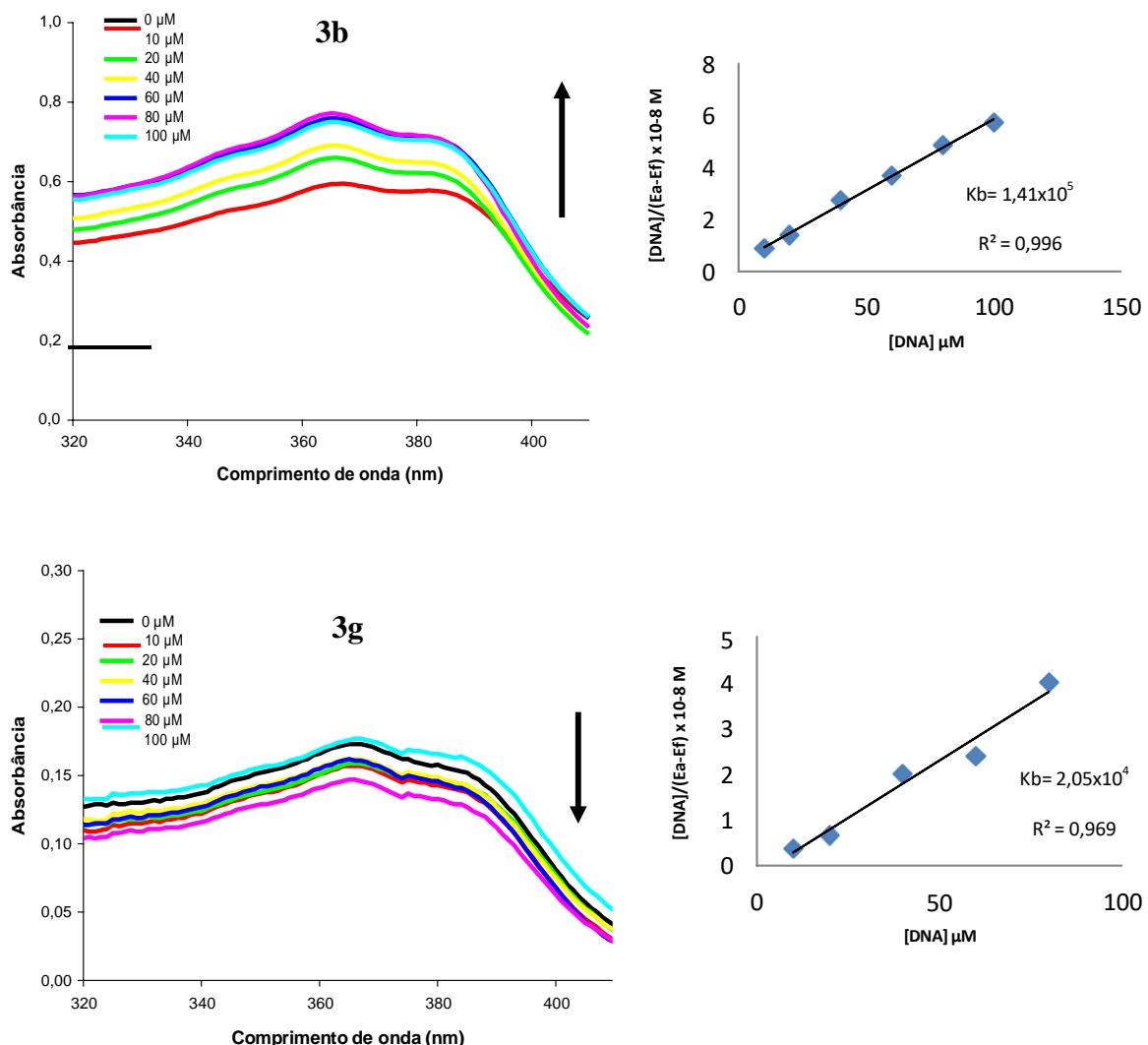
	367	366	-	28,32	6,460x10 <sup>4</sup>
<b>3a</b>					
	365	365	-	65,23	1,41x10 <sup>5</sup>
<b>3b</b>					
	361	361	-	32	3,63x10 <sup>4</sup>
<b>3c</b>					
	354	360	-	59,79	2,14x10 <sup>5</sup>
<b>3d</b>					
	365	365	-	61,93	2,85 x10 <sup>5</sup>
<b>3e</b>					
	368	367	-	60,53	2,08x10 <sup>5</sup>
<b>3f</b>					
	366	366	5,03	-	2,05x10 <sup>4</sup>
<b>3g</b>					
	359	359	-	19,06	1,54x10 <sup>5</sup>
<b>3h</b>					

**Fonte:** A Autora (2019).

Os dados mostram que com exceção do composto **3g**, todos os outros compostos apresentaram hipercrômismo significativo (19-65%) indicando em primeira instância que o composto **3g** possui uma fraca tendência intercalativa com efeito hipocrômico de 5%. Os efeitos hipercrômico e hipocrômico se relacionam a alterações na estrutura da dupla hélice do DNA. O efeito hipocrômico resulta da contração do DNA no eixo da hélice, bem como alteração

conformacional e o hipercromismo deriva do dano da estrutura da dupla hélice (LAFAYETTE et al., 2013). Os efeitos hiper e hipo podem ser vistos nos espectros de absorção dos compostos **3b** e **3g**, respectivamente (Figura 39). Todos os complexos com DNA mostraram região de absorção entre 320 a 400 nm, com banda máxima de absorção entre 359-367 nm. Para o DNA livre a absorção UV-visível apresentou uma ampla banda (200-350 nm) na região UV com uma absorção máxima a 260 nm (SIRAJUDDIN et al., 2013).

**Figura 39-** Espectros de absorção dos derivados **3b** e **3g** (30  $\mu\text{M}$ ) representados na forma livre (0  $\mu\text{M}$ ) e complexados com quantidades crescentes de ctDNA ( 10-100  $\mu\text{M}$ ). As constantes  $K_b$  indicam força de ligação dos complexos.



**Fonte:** A Autora (2019).

Para o composto **3b** pode-se observar um aumento da intensidade na absorção da luz ( $\uparrow$ ) em relação aos compostos livres, caracterizando o efeito hipocrômico. Já para o composto **3f** ocorre a redução da intensidade na absorção da luz ( $\downarrow$ ) exemplificando o efeito hipocrômico,

que ocorre quando o orbital  $\pi$  está parcialmente preenchido com elétrons, diminuindo a probabilidade de transição (ZHOE et al., 2007). Não foi observado hipsocrômismo e nem batocrômismo e os valores de  $\lambda_{\max}$  do composto livre e complexado mostraram-se constantes (365 nm para o composto **3b** e 366 nm para o **3g**). Ambos apresentam estruturas semelhantes, porém mostraram comportamentos diferentes nos espectros de absorção, pode-se presumir que o composto **3b** interaja com o sulco e que o composto **3h** seja um fraco intercalador. Os demais compostos apresentaram comportamento semelhante ao composto **3b**.

Os dados de espectroscopia experimental de cada composto foram utilizados para obter constante de ligação intrínseca ( $K_b$ ), que é uma medida quantitativa da interação entre compostos orgânicos e DNA. O valor da constante é útil para indicar os modos de ligação não-covalente com o DNA. Constantes de ligação para intercaladores típicos encontram-se no intervalo entre  $10^4$  a  $10^6 \text{ M}^{-1}$  e ligantes ao sulco apresentam constantes que variam entre  $10^5$  a  $10^9 \text{ M}^{-1}$  (RESCIFINA et al., 2014). Com base nos valores obtidos e com os resultados de energia de ligação no estudo de *docking*, é possível predizer que os compostos tanto podem atuar como intercaladores de DNA como agentes ligantes de sulco menor, já que a maioria dos valores de  $K_b$  observada foi na ordem de  $10^5$  – valor intermediário entre ambos os modos.

A literatura apresenta uma separação clássica entre esses modos de interação, com base nas características estruturais que se relacionam as propriedades de cada sítio de ligação do DNA. Intercaladores clássicos geralmente apresentam sistemas de anéis aromáticos fundidos e ligantes de sulco apresentam estrutura com anéis não-fundidos. Porém, no caso de sistemas de anéis não-fundidos a intercalação pode ser acompanhada concomitantemente com ligação ao sulco. Dessa forma, compostos poliaromáticos não-fundidos geralmente apresentam os dois modos de interação, sendo classificados como intercaladores não-clássicos (STREKOWSKI; WILSON et al., 2007). Além disso, é conhecido que ambos modos de interação estabilizam o complexo covalente entre o DNA e a enzima topoisomerase, atuando como inibidores para topo II $\alpha$  (YU et al., 2014). Todas essas evidências podem ser confirmadas pelo estudo de *docking*, onde todos os compostos apresentam baixa energia na formação dos complexos.

De acordo com os valores de  $K_b$  da série, a ordem de intercalação observada foi **3e**>**3d**>**3f**>**3h**>**3b**>**3a**>**3c**>**3g**. O complexo 3D formado pelos ligantes **3e** e **3d** com a topo II $\alpha$  apresentaram valores de ligação -11,16 e -12,18 kcal.mol $^{-1}$ , respectivamente, e a intercalação do anel tiazólico ocorreu pela presença dos anéis aromáticos influenciado pelo substituinte na posição *para*, onde os respectivos valores de  $K_b$  foram  $2,85 \times 10^5$  e  $2,14 \times 10^5$ . O composto **3e** obteve maior valor de  $K_b$  devido à maior estabilização do complexo por uma ligação de hidrogênio adicional do grupo nitro com *glutamina-461* e interações hidrofóbicas do bromo

com resíduos de aminoácido. Observa-se com essa tendência, que o átomo de bromo pode estabilizar a interação com o receptor (HERNANDES et al., 2010). Segundo essa sequência tem-se mais dois compostos com maior estabilidade atribuída ao bromo. O composto **3f** não apresenta substituição no anel aromático, sendo mais estável que o composto **3h** que apresenta uma fenila. A introdução de substituintes volumosos pode diminuir a interação entre compostos halogenados e DNA (RESCIFINA et al., 2014).

Os compostos **3b**, **3a**, **3c** apresentaram menor valor de Kb, entre eles, o composto **3b** apresentou maior estabilização por apresentar um átomo de flúor que forma ligação de hidrogênio com resíduo de aminoácido. O composto **3g** apresentou um menor valor de Kb ( $1,41 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ), o estudo de *docking* mostrou que o átomo de flúor não acrescenta nenhuma interação estabilizante ao complexo, com efeito a intercalação é menos eficiente. Em relação aos ligantes do sulco menor, foram considerados todos na ordem  $10^5$ , e o composto que apresentou melhor afinidade foi **3e** com Kb =  $2,85 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  possivelmente devido a presença do grupo nitro que interage por ligação de hidrogênio. A ordem de Kb está relacionado a flexibilidade e quanto maior a ordem dos valores de Kb, melhor será o ajuste na conformação ao sulco. O baixo valor de Kb observado, na ordem de  $10^5$ , indica uma menor flexibilidade da molécula (MAHMOOD et al., 2010).

Desse modo, os resultados pressupõem que os compostos **3a-h** apresentaram os dois modos de interação não-covalente com o DNA. O DAPI, é um exemplo da classe de intercaladores não-clássicos, apresenta um sistema de anéis não-fundidos com torção entre eles que permite adotar uma conformação apropriada para a curvatura helicoidal do sulco interagindo com pares de bases AT através de ligação de hidrogênio com Kb=  $5,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ . Esse composto também demonstrou intercalação com as bases GC com Kb =  $1,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ . Desse modo, assim como o DAPI, a série sintetizada apresenta modo de ligação que depende da sequência do DNA. O DAPI se liga muito fortemente a três ou mais pares de bases em um complexo de sulco menor. Porém, quando o número mínimo exigido de pares de bases consecutivos AT não estão disponíveis, ele se liga as regiões GC (BREUSEGEM, CLEGG, LOONTIENS, 2002; STREKOWSKI; WILSON, 2007).

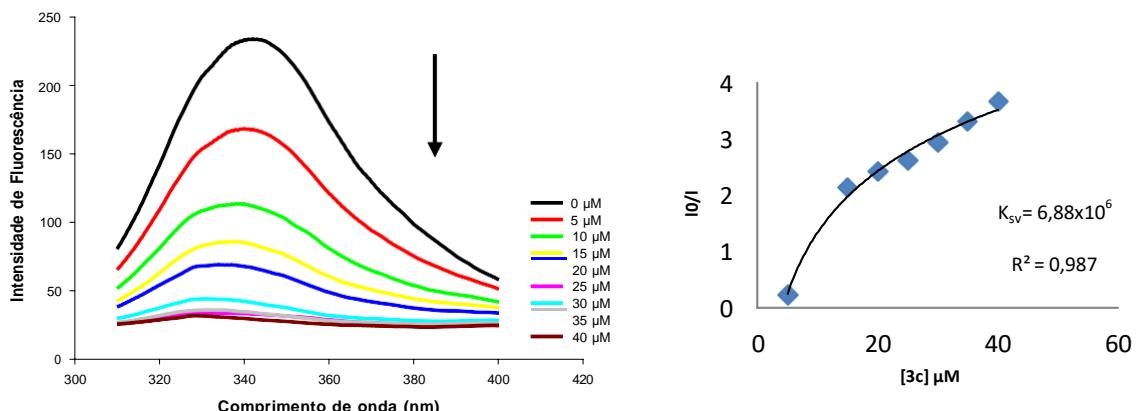
Com essa observação, e com base nos resultados de *docking* e experimentais pode-se presumir que no caso dos intercaladores não-clássicos **3a-h**, o mecanismo de interação não é simultâneo como nos intercaladores clássicos com cadeias laterais que se encaixam ao sulco, mas sim, a interação preferencial provavelmente depende da sequência de DNA mais suscetível a molécula no meio fisiológico.

#### 5.4.2 Espectroscopia de emissão de fluorescência

A espectroscopia de fluorescência molecular usada na investigação de complexos com biomoléculas se relaciona aos efeitos de a extinção ou aumento da fluorescência. Essa técnica é bastante utilizada em interação albumina-fármaco, tendo em vista que essa é a proteína sérica mais abundante, atuando no transportes de fármacos que se ligam com alta afinidade. Tanto a BSA como HSA apresentam picos intensos de emissão de fluorescência (valores respectivos 342 nm e 345 nm) devido aos resíduos de triptofano e a formação do complexo ocorre com redução da fluorescência(KHAN et al., 2012).

Desse modo, os resultados espectroscópicos demonstraram que todos os compostos sintetizados interagiram com a BSA, ocorrendo extinção de fluorescência, como visto, por exemplo, no espectro obtido para o composto **3c** que apresentou melhor estabilização do complexo (Figura 40).

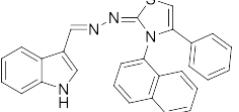
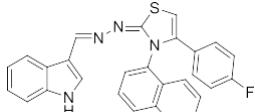
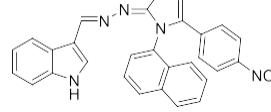
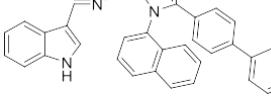
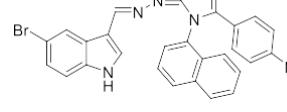
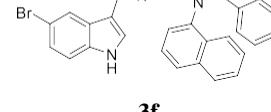
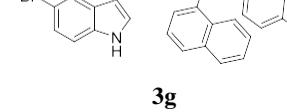
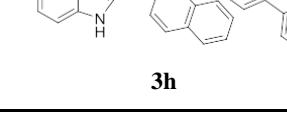
**Figura 40-** Espectro de fluorescência em várias concentrações (5-40  $\mu$ M) do composto **3c** complexado a uma concentração fixa de BSA (20  $\mu$ M = 0  $\mu$ M).



**Fonte:** A Autora (2019).

A análise quantitativa da extinção de fluorescência foi determinada pelo gráfico da intensidade relativa de fluorescência *versus* a concentração do composto e um gráfico não-linear foi obtido. Os valores das constantes Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ) para todos os complexos são descritos na Tabela 7.

**Tabela 7-** Valores de K<sub>sv</sub> dos compostos **3a-h** derivados dos dados de fluorescência

Compostos	K <sub>sv</sub> (M <sup>-1</sup> )
	1,04x10 <sup>5</sup>
<b>3a</b>	
	1,06x10 <sup>5</sup>
<b>3b</b>	
	6,88x10 <sup>6</sup>
<b>3c</b>	
	2,50x10 <sup>4</sup>
<b>3d</b>	
	2,43x10 <sup>6</sup>
<b>3e</b>	
	1,11x10 <sup>5</sup>
<b>3f</b>	
	1,19x10 <sup>5</sup>
<b>3g</b>	
	1,13x10 <sup>5</sup>
<b>3h</b>	

**Fonte:** A Autora (2019).

Os compostos **3c** e **3e** apresentaram maior valor de constante de ordem 10<sup>6</sup> indicando que ambos apresentam melhor interação com a BSA. De acordo com o estudo de *docking* esses dois complexos são estabilizados por apresentar uma ligação de hidrogênio adicional entre o

grupo nitro e a *lisina-221*. De modo geral, todos os compostos se complexaram a BSA, em maior e menor grau, os resultados de *docking* pressupõe que a interação dessa série **3a-h** ocorreria próximo ao ambiente do *tripofano-212*. Além disso, a redução da emissão de fluorescência desses derivados indicaria um processo estático com formação de um complexo no estado fundamental entre o fluoróforo (BSA) e o supressor (CUI et al., 2014). Nesse intuito, os tiazóis atuam como supressores, uma vez que à medida que a concentração do composto aumenta a fluorescência diminui, indicando a formação do complexo albumina-tiazol.

## 6 CONCLUSÃO

Com a estratégia sintética proposta foi possível obter oito tiazóis inéditos, com rendimentos que variaram de 41 a 77%. O perfil como agentes antitumorais foi investigado utilizando duas abordagens, resultados experimentais dos espectros de absorção no UV-vis e estudo *in silico*, utilizando *docking* molecular.

Esses estudos evidenciaram dois modos de interação dos compostos com o DNA, interação com sulco e intercalação entre os pares de bases nitrogenadas. A interação ao sulco foi favorecida pelas ligações rotacionáveis entre sistemas aromáticos. E a intercalação foi possível devido a presença do indol, como os compostos **3a** e **3b**, ou do tiazol com maior quantidade de substituintes aromáticos, como o composto **3d**. E os resultados com a BSA tanto de *docking* como de espectroscopia de fluorescência indicaram a formação de complexos dos compostos com a proteína.

Desse modo, os tiazóis contendo anéis não-fundidos favorecem os dois modos de interação, onde um ou outro pode ser favorecido pela sequência DNA, tornando esses compostos candidatos à classe de antineoplásicos que interagem com o DNA.

### 6.1 PERSPECTIVAS

- Realizar estudo de interação com sondas fluorescentes para obter mais informações sob o modo de interação com DNA;
- Analisar as propriedades moleculares dos compostos sintetizados através da realização de experimentos de espectroscopia de dicroísmo circular;
- Realizar um estudo *in vitro* da citotoxicidade dos compostos sintetizados frente a diferentes linhagens de células tumorais

## REFERÊNCIAS

- ABBASI, M. A.; HASSAN, M.; AZIZ-UR-REHMAN; SIDDIQUI, S. Z.; RAZA, H.; SHAH, S. A. A.; SEO, S. Y. **Synthesis, in vitro and in silico studies of novel potent urease inhibitors: N-[4-(5-[3-Un/substituted-anilino-3-oxopropyl)sulfanyl]-1,3,4-oxadiazol-2-yl]methyl-1,3-thiazol-2-yl]benzamides**, v.26, n. 13, p. 3791-3804, 2018.
- AFRASIAABI, Z.; SINN, E.; CHEN, J.; MA, Y.; RHEINGOLD, A. L.; ZAKHAROV, L. N.; RATH, N.; PADHYE, S. **Appended 1,2-naphthoquinones as anticancer agents 1: synthesis, structural, spectral and antitumor activities of ortho-naphthaquinone thiosemicarbazone and its transition metal complexes**, Inorg. Chim. Acta, v. 357, p. 271-278, 2004.
- ALI, A.; BHATTACHARYA, S. **DNA binders in clinical trials and chemotherapy**. Bioorganic and Medicinal Chemistry, v. 22, n. 16, p. 4506–4521, 2014.
- ALMEIDA, S. M. V.; RIBEIRO, A. G.; SILVA, G. C. L.; ALVES, J. E. F.; BELTRÃO, E. I. C.; OLIVEIRA, J. F.; JUNIOR, L. B. C.; LIMA, M. C. A. **DNA binding and Topoisomerase inhibition: How can these mechanisms be explored to design more specific anticancer agents?** Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 96, p.1538–1556, 2017.
- ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. D. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. **Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-cellular específicos e ciclo-cellular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução**. Química Nova, v. 28, n. 1, p. 118–129, 2005.
- ALTINTOP, M. D.; SEVER1, B.; O<sup>◦</sup> ZDEMIR, A.; KU, G.; OZTOPCU-VATAN, P.; KABADERE, S.; KAPLANCIKLI, Z. A.; **Synthesis and evaluation of naphthalene-based thiosemicarbazone derivatives as new anticancer agents against LNCaP prostate cancer cells**. Journal Enzyme Inhibition Medicinal Chemistry, v. 31, n. 3, p. 410–416, 2016.
- ANDRICOPULO, A.; SALUM, L.; ABRAHAM, D. **Structure-Based Drug Design Strategies in Medicinal Chemistry**. Current Topics in Medicinal Chemistry, v. 9, n. 9, p. 771–790, 2009.
- ARORA, P.; NARANG, R.; NAYAK, S. K.; SINGH, S. K.; JUDGE, V. **2,4-Disubstituted thiazoles as multitargated bioactive molecules**. Medicinal Chemistry Research, v. 25, p. 1717–1743, 2016
- ATAGI, S.; MASAAKI, K.; AKIRA, Y.; HIROAKI, O.; NOBUYUKI, Y.; YUICHIRO, O.; TOSHIYUKI, O.; TOSHIYUKI, S.; SATOSHI, I.; TARO.; HARUHIKO, F.; NAGAHIRO, S.; TOMOHIDE, T. **Thoracic radiotherapy with or without daily low-dose carboplatin in elderly patients with non-small-cell lung cancer: A randomised, controlled, phase 3 trial by the Japan Clinical Oncology Group (JC0G0301)**. The Lancet Oncology, v. 13, n. 7, p. 671–678, 2012.
- AVENDAÑO, C.; MENÉNDEZ, J. C. **DNA Intercalators and Topoisomerase Inhibitors**. Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs, p. 199–228, 2008.
- AYATI, A.; EMAMI, S.; ASADIPOUR, A.; SHAFIEE, A.; FOROUUMAD, A. **Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery**. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 97, n. 1, p. 699–718, 2015.

BANKS, W. A. **Characteristics of compounds that cross the blood brain barrier.** BMC neurology, v. 9, (SUPPL 1):S3, 2009.

BARLUENGA, J.; VALDÉS, C., **Five-membered heterocycles: indole and related system.**, Mod. Heterocycl. Chem., p.377-531, 2011.

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

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

BELMAR, J.; FESIK, S. W. **Small molecule Mcl-1 inhibitors for the treatment of cancer.** Pharmacology and Therapeutics, v. 145, p. 76–84, 2015.

BERALDO, H. **Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: O amplo perfil farmacológico e usos clínicos.** Química Nova, v. 27, n. 3, p. 461-471, 2004

BERNARDI, A.; CAROLINE JACQUES-SILVA, M.; LENZ, G. **Abordagem molecular no desenvolvimento de fármacos anti-tumorais.** Biologia das células cancerosas. v. 15, n. 910, p. 61–63, 2003.

BLEICHER, K. H. ; BÖHM, H. J.; MÜLLER, K.; ALANINE, A. **Hit and lead generation: Beyond high-throughput screening.** Nature Reviews Drug Discovery, v. 2, n. 5, p. 369–378, 2003.

BOER, D. R.; CANALS, A.; COLL, M. **DNA-binding drugs caught in action: The latest 3D pictures of drug-DNA complexes.** Dalton Transactions, n. 3, p. 399–414, 2009.

BRANNON-PEPPAS, L.; BLANCHETTE, J. O. **Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy.** Advanced Drug Delivery Reviews, v. 64, n. SUPPL., p. 206–212, 2012.

BREUSEGEM, S. Y.; CLEGG, R. M.; LOONTIENS, F. G. **Base-sequence specificity of Hoechst 33258 and DAPI binding to five (A/T4) DNA sites with kinetic evidence for more than one high- affinity Hoechst 33258-AATT complex.** J. Mol. Biol., v. 315, p. 1049–1061, 2002.

CASTAGNOLO, D.; PAGANO, M.; BERNARDINI, M.; BOTTA, M. **Domino alkylation-cyclization reaction of propargyl bromides with thioureas/thiopyrimidinones: A new facile synthesis of 2-aminothiazoles and 5H-thiazolo[3,2- $\alpha$ ]pyrimidin-5-ones.** Synlett, n. 13, p. 2093–2096, 2009.

CASTILLO-GARIT, J. A.; MARRERO-PONCE, Y.; TORRENS, F.; GARCÍA-DOMENECH, R. **Estimation of ADME Properties in Drug Discovery: Predicting Caco-2 Cell Permeability Using Atom-Based Stochastic and Non-stochastic Linear Indices.** Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 97, n. 5, p. 1946-1976, 2008.

- CHENG, T.; LI, Q.; ZHOU, Z.; WANG, Y.; BRYANT, S. H. Structure-Based Virtual Screening for Drug Discovery: a Problem-Centric Review.** The AAPS Journal, v. 14, n. 1, p. 133–141, 2012.
- CHADHA, N.; SILAKARI, O. Indoles as therapeutics of interest in medicinal chemistry: Bird's eye view.** European Journal of Medicinal Chemistry, v. 134, 159-184, 2017.
- CHHABRIA, M. T.; PATEL, S.; BRAHMKSHATRIYA, P. M. AND P. S. Thiazole: A Review on Chemistry, Synthesis and Therapeutic Importance of its Derivatives.** Current Topics in Medicinal Chemistry, v. 16, n. 26, p. 2841–2862, 2016.
- CUI, F.; LIU, Q.; LUO, H.; ZHANG, G. Spectroscopic, viscositic and molecular modeling studies on the interaction of 3'-azido-daunorubicin thiosemicarbazone with DNA.** J. Fluoresc, v. 24, p.189–195, 2014.
- CUI, J.; LINGYU, LI.; CHANG, W.; HAOFAN, J.; CHENG, Y.; YIZHUO, W.; DAN, L.; HUIMIN, T.; CHAO, N.; GUANJUN, W.; WEI, H.; JIANTING, X., JUNGATAO, C.; WEI, L. Combined cellular immunotherapy and chemotherapy improves clinical outcome in patients with gastric carcinoma.** Cytotherapy, v. 17, n. 7, p. 979–988, 2015.
- DADASHPOUR, S.; EMAMI, S. Indole in the target-based design of anticancer agents: A versatile scaffold with diverse mechanism.** European Journal of Medicinal Chemistry, 2018.
- DEAU, E.; DUBOUILH-BENARD, C.; LEVACHER, V.; BESSON, T. Microwave-assisted synthesis of novel N-(4-phenylthiazol-2-yl)-benzo[d]thiazole-, thiazolo[4,5-b]pyridine-, thiazolo[5,4-b]pyridine- and benzo[d]oxazole-2-carboximidamides inspired by marine topsentines and nortopsentines.** Tetrahedron, v. 70, n. 35, p. 5532–5540, 2014.
- FERGUSON, L. R.; DENNY, W. A. Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators.** Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, v. 623, n. 1–2, p. 14–23, 2007.
- FIRDAUS, F.; FATMA, K.; AZAM, M.; KHAN S.N.; KHAN, A.U.; SHAKIR, M. Template synthesis and physicochemical studies of 14-membered hexaazamacrocyclic complexes with Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II): a comparative spectroscopic approach on DNA binding with Cu(II) and Ni(II) complexes.** Transition Metal Chemistry, v. 3, p. 467-473, 2008.
- GAO, C.; LIU, F.; LUAN, X.; TAN, C.; LIU, H.; XIE, Y.; JIN, Y.; JIANG, Y. Novel synthetic 2-amino-10-(3,5-dimethoxy)benzyl-9(10H)-acridinone derivatives as potent DNA-binding antiproliferative agents.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, v.18, p.7507–7514, 2010.
- GAO, E.; ZHU, M.; LIU, L.; HUANG Y.; WANG, L.; SHI, C.; ZHANG, W.; SUN, Y. Impact of the carbon chain length of novel palladium(II) complexes on interaction with DNA an cytotoxic activity.** Inorganic Chemistry, v. 49, v. 7, 2010.
- GILAD, Y.; SENDEROWITZ, H. Docking studies on DNA intercalators.** Journal of Chemical Information and Modeling, v. 54, n. 1, p. 96-107, 2014.

GOMES, P. A. T. M. **Síntese e avaliação da atividade anti-*Trypanosoma cruzi* de inéditas Tiazolil-Hidrazonas.** Dissertação (Mestrado em InovaçãoTerapêutica) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 2012.

GOMHA, S. M.; KHEDER, N. A.; ABDELAZIZ, M. R.; MABKHOT, Y. A.; ALHAJOJ, M. A. **A facile synthesis and anticancer activity of some novel thiazoles carrying 1,3,4-thiadiazole moiety** Chemistry Central Journal v.11, n.25 p. 1-9, 2017.

GOMHA, S. M.; SALAH, T. A.; ABDELHAMID, A. O. **Synthesis, characterization and pharmacological evaluation of some novel thiadiazoles and thiazoles incorporating pyrazole moiety as potent anticancer agents.** Monatsh Chem v. 146, p. 149–158, 2015.

GOUVEA, L.R. **Complexos Metálicos de Fluorquinolonas: Síntese, Atividade Biológica e Estudos do Mecanismo de Ação.** Tese (Doutorado em química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil, 2013.

GRUESO, E.; LÓPEZ-PÉREZ, G.; CASTELLANO, M.; PRADO-GOTOR, R. **Thermodynamic and structural study of phenanthroline derivative ruthenium complex/DNA interactions: probing partial intercalation and binding properties,** J. Inorg. Biochem., v.106, p. 1–9, 2012.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. **Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas.** Estudos Avançados 24 (70), p. 81-98, 2010.

GUIDO, R. V. C.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. **Structure- and ligand-based drug design approaches for neglected tropical diseases.** Pure and Applied Chemistry, v. 84, n. 9, p. 1857–1866, 2012.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. **Hallmarks of Cancer: The Next Generation.** Cell, 144, p. 646-674, 2011,

HANDE, K. R. **Topoisomerase II inhibitors.** Update on cancer therapeutics, v. 3., p. 13–26, 2008.

HANSCH, C. **A Quantitative Approach to Biochemical Structure-Activity Relationships.** v. 2, p. 232-239, 1969.

HANSCH, C.; JITA, T.  **$\rho$ - $\sigma$ - $\pi$ Analysis. A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure,** v. 86, p. 1616-1626, 1964.

HASSAN, A. A.; SHAWKY, A. M. **Thiosemicarbazides in Heterocyclization.** Journal of. Heterocyclic Chemistry., v. 48, p. 495-516, 2011.

HERNANDES, M. Z.; CAVALCANTI, S. M. T.; MOREIRA, D. R. M.; AZEVEDO JUNIOR, W. F. de; LEITE, A. C. L. **Halogen Atoms in the Modern Medicinal Chemistry: Hints for the Drug Design.** Current Drug Targets. v. 11. Bentham Science Publishers Ltd. 2010.

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

INCA, Instituto Nacional de Câncer, 2018. Disponível em <<https://www.inca.gov.br/>> Acesso em novembro de 2018.

JANOVEC, L.; KOZ'URKOVA, M.; SABOLOVA, D.; UNGVARSKY', J.; PAULIKOVA, H.; PLŠIKOVA, J.; VANTOVA, Z.; IMRICH, J. **Cytotoxic 3,6-bis((imidazolidinone)imino)acridines: Synthesis, DNA binding and molecular modeling.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 19, p. 1790–1801, 2011.

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

JIANG, S.; CROGAN-GRUNDY, C.; DREWE, J.; TSENG, B.; CAI, S. X. **Discovery of (naphthalen-4-yl)(phenyl)methanones and N-methyl-N-phenylnaphthalen-1-amines as new apoptosis inducers using a cell- and caspase-based HTS assay.** Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters v.18, i. 21, p. 5725–5728, 2008.

JORGENSEN, W. L. **The Many Roles of Computation in Drug Discovery.** Science, v. 303, n. 5665, p. 1813–1818, 2004.

KALIRAJAN, R.; SANKAR, S.; JUBIE, S.; GOWRAMMA, B. **Molecular Docking studies and *in-silico* ADMET Screening of Some novel Oxazine substituted 9-Anilinoacridines as Topoisomerase II Inhibitors.** Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research , vol. 51, n. 1, p. 110-116, 2017.

KAR, S.; ROY, K. **How far can virtual screening take us in drug discovery?** Expert Opinion on Drug Discovery, v. 8, n. 3, p. 245–261, 2013.

KATHIRAVAN, M.; KHILARE, M. M.; NIKOOMANESH, K.; CHOTHE, A. S.; JAIN, K. S. **Topoisomerase as target for antibacterial and anticancer drug discovery.** Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, v. 28, n. 3, p. 419-435, 2013

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

KHAN, A. B.; KHAN, J. M.; ALI, M. S.; KHAN, R. H.; KABIR-UD-DIN. **Interaction of amphiphilic drugs with human and bovine serum albumins.** Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 97, p. 119–124, 2012.

KHARKAR, P. S. **In silico absorption, distribution metabolism and excretion.** In Silico Drug Discovery and Design, p. 148-162, 2013.

KRATZ, F. **Albumin as a drug in câncer: Design of prodrugs, drug conjugates and nanopartulas .** Jounal of Controlled Release, Amsterdã, v. 1644, n 2-3, p. 229-249, 2004.

KHODJAKOV, A.; RIEDER, C. L. **The nature of cell-cycle checkpoints: Facts and fallacies.** Journal of Biology, v. 8, n. 10, 2009.

KROEMER, R. T. **Structure-Based Drug Design: Docking and Scoring.** Current Protein and Peptide Science, v. 8, p.312–328, 2007.

KRYSKO, D. V.; Berghe, T. V.; D'Herde, K.; Vandenabeele, P. **Apoptosis and necrosis: Detection, discrimination and phagocytosis.** Methods, v. 44, n. 3, p. 205–221, 2008.

KURUVILLA, E.; JOSEPH, J.; RAMAIAH, D. **Novel bifunctional acridine-acridinium conjugates: Synthesis and study of their chromophore-selective electron-transfer and DNA-binding properties.** Journal of Physical Chemistry B, v. 109, n. 46, p. 21997–22002, 2005.

KURUVILLA, E. e RAMAIAH, D. **Selective Interactions of a few acridinium derivatives with single strand DNA: study of photophysical and DNA binding interactions.** Journal Physical Chemistry B, v. 111, p. 6549-6556, 2007.

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

LAFAYETTE, E. A.; ALMEIDA, S. M. V.; ROCHA PITTA, M. G.; BELTRAO, E. I. C.; SILVA, T. G.; MOURA, R. O.; ROCHA PITTA, I.; CARVALHO JÚNIOR, L. B.; LIMA, M. C. A. **Synthesis, DNA binding and topoisomerase i inhibition activity of thiazacridine and imidazacridine derivatives.** Molecules, v. 18, n. 12, p. 15035-15050, 2013.

LAKOWICZ, J. R.; WEBER, G. **Quenching of fluorescence by oxygen. A probe for structural fluctuations in macromolecules.** Biochemistry v.12, p. 4161-4170, 1973.

LAL, S.; SNAPE, T. J. **2-arylindoles: a privileged molecular scaffold with potent, broad ranging pharmacological activity.** Curr. med. Chem. 19 (2012) 4828-4837.

LAMBERTUCCI, C.; MARUCCI, G.; DAL BEN, D.; BUCCIONI, M.; SPINACI, A.; KACHLER, S.; KLOTZ, K. N.; VOLPINI, R. **New potent and selective A1adenosine receptor antagonists as potential tools for the treatment of gastrointestinal diseases.** European Journal of Medicinal Chemistry, v. 151, p.199-213, 2018.

LIMA, L.; BARREIRO, E. **Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design.** Current Medicinal Chemistry, v. 12, n. 1, p. 23–49, 2005.

LIMA, L. M. **Química Medicinal Moderna: desafios e contribuição brasileira.** Química Nova, v. 30, n. 6, p. 1456–1468, 2007.

LIN, J.; SAHAKIAN, D. C.; DE MORAIS, S. M.; XU, J. J.; POLZER R. J.; WINTER, S. M.; **The role of absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity in drug discovery.** Curr Top Med Chem., n. 3, p. 1125–1154, 2003.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. **Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.** Advanced Drug Delivery Reviews, v. 64, p. 4–17, 2012.

LIU, M.Y.; Xiao, L.; DONG, Y.Q.; Liu, Y.; Cai, L.; Xiong, W.X.; Yao, Y.L.; Yin, M.; LIU, Q. H. **Characterization of the anticancer effects of S115, a novel heteroaromatic thiosemicarbazone compound, in vitro and in vivo**, Acta Pharmacol. Sin., v.35, p. 1302-1310, 2014.

LOMBARDINO, J. G.; LOWE, J.A. **The role of the medicinal chemist in drug discovery - then and now**. Nature Reviews Drug Discovery, v. 3, p. 853-862, 2004.

LUO, H., C. ZHENG AND Y.-K. CHENG. **The retention properties of nucleobases in alkyl C8-/C18- and IAM-chromatographic systems in relation to log Pow**. Journal of Chromatography B. v.847, n. 2, 245-261, 2007.

MACHADO, A. E. D. **Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas**. Química Nova, v. 23, n.2, p. 237-243.

MAHMOOD, I.; PAUL, A.; LADAME, S. **Synthesis and spectroscopic and DNA-binding properties of fluorogenic acridine-containing cyanine dyes**. The Journal of Organic Chemistry, v. 75, p. 204-207, 2010.

MAHMOODI, N. O.; KHALILI, B.; REZAEIANZADE, O.; GHAVIDAST, A.T. **One-pot multicomponent synthesis of indol-3-yl- hydrazinyl thiazoles as antimicrobial agents**. Research on Chemical Intermediates, v. 42, n. 8, p. 6531-6542, 2016.

MAILLARD, L. T.; BERTOUT, S.; QUINONÉRO, O.; AKALIN, G.; TURAN-ZITOUNI, G.; FULCRAND, P.; DEMIRCI, F.; MARTINEZ, J.; MASURIER, N. **Synthesis and anti-Candida activity of novel 2-hydrazino-1,3-thiazole derivatives**. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, v. 23, n. 6, p. 1803–1807, 2013.

MCCLENDON, A. K.; OSHEROFF, N. **The Geometry of DNA Supercoils Modulates Topoisomerase-Mediated DNA Cleavage and Enzyme Response to Anticancer Drugs**. Biochemistry, v. 45, n. 9, p. 3040-3050, 2006.

MCCONKEY, B. J.; SOBOLEV, V.; EDELMAN, M. **The performance of current methods in ligand-protein docking**. Current Science, v. 83, p.845–855, 2002.

MEDARDE, M.; MAYA, A. B. S.; PÉREZ-MELERO, C. **Naphthalene Combretastatin Analogues: Synthesis, Cytotoxicity and Antitubulin Activity**. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, v. 19, n.6, p. 521–540, 2004.

MELEDDU,R.; DISTINTO, S.; CORONA,A.; BIANCO, G.; CANNAS, V.; ESPOSITO, F.; ARTESE, A.; ALCARO, S.; MATYUS, P.; BOGDAND, D.; COTTIGLIA, F.; TRAMONTANO,E.; MACCIONI, E. **(3Z)-3-(2-[4-(Aryl)-1,3-thiazol-2-yl]hydrazin-1-ylidene)-2,3-dihydro-1H-indol-2-one Derivatives as Dual Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase**. European Journal of Medicinal Chemistry, 2015.

MOREIRA, M. B.; FRANCISCATO, D. S.; TOLEDO, K.C. F.; DE SOUZA, J. R. B.; NAKATANI, H. S.; DE SOUZA, V. R. **Investigação da supressão de fluorescência de soro albumina bovina e humana por complexo de rutênio**. Quimica Nova, v. 38, n. 2, p. 227-232, 2015.

MUSHTAQUE, M.; JAHAN, M.; ALI, M.; KHAN, M. S.; KHAN, M. S.; SAHAY, P.; KESARWANI, A. **Synthesis, characterization, molecular docking, DNA binding, cytotoxicity and DFT studies of 1-(4-methoxyphenyl)-3-(pyridine-3-ylmethyl)thiourea.** Journal of Molecular Structure, v. 1122, p. 164-174, 2016.

MUSTAFA, S. M.; NAIR, V.; CHITTOOR, J. P.; KRISHNAPILLAI, S. **Synthesis of 1, 2, 4-Triazoles and Thiazoles from Thiosemicarbazide and its Derivatives.** Mini-Reviews in Organic Chemistry, v. 1, n. 4, p. 375–385, 2004.

NEDOLYA, N.A.; BRANDSMA, L.; TROFIMOV, B. **Directed synthesis of isomeric thiazole and imidazole derivatives from methyl isothio- cyanate.** Tetrahedron Letters, v. 38, n. 35, p. 6279–6280, 1997.

NICOLAOU, K.C.; HAO, J.L.; REDDY, M.V.; RAO, P.B.; RASSIAS, G.; CHEN, Y.K.; GINNAKAKOU, P.; O'BRATE, A. **Chemistry and biology of diazonamide A: Second total synthesis and biological investigations.** J. Am. Chem. Soc., v. 126, 2004.

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

OLIVEIRA, R. B.; ALVES, R. J. **Agentes antineoplásicos biorredutíveis: uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos.** Química Nova, v.25, n.6a, p. 976-984, 2002.

OMS, Organização Mundial de Saúde, 2018. Disponível em <<https://www.who.int/eportuguese/countries/bra/pt/>> Acesso em novembro de 2018.

PAJOUHESH, H; LENZ, G.R. **Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs.** NeuroRx., v. 2, n. 4, 541-553, 2005.

PALCHAUDHURI, R.; HERGENROTHER, P. J. **DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action.** Current Opinion in Biotechnology, v. 18, n. 6, p. 497–503, 2007.

PAUL, A.; BHATTACHARYA, S. **Chemistry and biology of DNA-binding small molecules.** Curr. Sci., v.102, n. 2, 212–231, 2012.

PAUL, S. M. et al. **How to improve RD productivity: The pharmaceutical industry's grand challenge.** Nature Reviews Drug Discovery, v. 9, n. 3, p. 203–214, 2010.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia.** São Paulo : Cengage Learning, 4º ed., 2015.

PEREIRA, D. G. **Importância do metabolismo no planejamento de fármacos.** Química Nova, v. 30, p.171-177, 2007.

PIHALAJA, K.; LAIHIA, K.; FABIAN, M.F.; DENHE, H.; KLEIST, M.; TELLER, J.; SUSTEKHOVA, Z. **A correlative IR, MS, 1H, 13 C and 15N NMR and theoretical study of 4-arylthiazol-2(3H)-ones.** J. Chem. Soc., Perkin Trans 2, v. 2, p. 329-36.

PIOVESAN, M. F.; LABRA, M. E. **Institutional change and political decision-making in the creation of the Brazilian National Health Surveillance Agency.** Cadernos de Saúde Pública, v. 23, n. 6, p. 1373–1382, 2007.

PLSIKOVA, J.; JANOVEC, L.; KOVAL, J.; UNGVARSKY, J.; MIKES, J.; JENDZELOVSKY, R.; FEDOROCKO, P.; IMRICH, J.; KRISTIAN, P.; KASPAKOVA, J.; BRABEC, V.; KOZURKOVA, M. **3,6-Bis(3-alkylguanidino)acridines as DNA-intercalating antitumor agents.** European Journal of Medicinal Chemistry, v. 57, p. 283-295, 2012.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. **pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures.** Journal of Medicinal Chemistry, v. 58, n. 9, p. 4066–4072, 2015.

POMMIER, Y. **Drugging Topoisomerases:Lessons and Challenges.** ACS Chemical Biology, 2013.

POTEWAR, T. M.; INGALE, S. A.; SRINIVASAN, K. V. **Efficient synthesis of 2,4-disubstituted thiazoles using ionic liquid under ambient conditions: a practical approach towards the synthesis of Fanetizole.** Tetrahedron, v. 63, n. 45, p. 11066–11069, 2007.

RAUF, S.; GOODING, J. J.; AKHTAR, K.; GHAURI, M. A.; RAHMAN, M.; ANWAR, M. A.; KHALID, M. A. **Electrochemical approach of anticancer drugs–DNA interaction,** J. Pharmaceut. Biomed. Anal. v. 37, p.205–217, 2005.

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

RONCAGLIONI, A.; TOROPOV, A. A.; TOROPOVA, A. P.; BENFENATI, E. **In silico methods to predict drug toxicity.** Current Opinion in Pharmacology , v. 13, p.1–5, 2013.

RONCONI, L.; SADLER, P. J. **Using coordination chemistry to design new medicines.** Coordination Chemistry Reviews 251, p. 1633-1648 , 2007.

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

SARANGI, P. K. N.; SAHOO J.; SWAIN B. D.; PAIDESETTY S. K.; MOHANTA G. P. **Thiazoles as potent anticancer agents: a review.** Indian Drugs 53 (11), p. 5-11, 2016.

SARKAR, S.; BHATTACHARJEE, P.; BHADRA, K. **DNA binding and apoptotic induction ability of harmalol in HepG2: biophysical and biochemical approaches,** Chem. Biol. Interact., v. 258 p. 142e152, 2016.

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

SHAIKH, S.M.T.; SEETHARAMAPPA, J.; KANDAGAL, P.B.; ASHOKA, S. **Binding of the bioactive component isothipendyl hydrochloride with bovine serum albumin.** Journal of Molecular Structure, 786 (2006) 46-52.

SIDDQUI, N.; ARSHAD, M. F.; AHSAN, W.; ALAM, M. S. **Thiazoles: A Valuable Insight into the Recent Advances and Biological Activities.** International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, v. 1, n. 3, p. 136–143, 2009.

SILVA, D.; CORTEZ, C. M.; LOURO, S. R W. **Chlorpromazine interactions to sera albumins: A study by the quenching of fluorescence.** Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 60, n. 5, p. 1215-1223, 2004

SILVA, L. L.; DONNICI, C. L.; LOPES, J. C. D. **Investigação eletroquímica e calorimétrica da interação de novos agentes antitumorais biscatônicos com DNA.** Química. Nova, v. 35, n. 7, p. 1318-1324, 2012.

SILVA, T. H. A.; BUTERA, A. P.; LEAL, D. H. S.; ALVES, R. J. **Agentes antitumorais inibidores da angiogênese - Modelos farmacofóricos para inibidores da integrina  $\alpha\beta 3$ .** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 43, n. 1, p. 1–17, 2007.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** Rio de Janeiro: LTC, 7 ed., 2015.

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

SHI, W.; MARCUS, S. L.; LOWARY, T. L. **Cytotoxicity and topoisomerase I/II inhibition of glycosylated 2-phenyl-indoles, 2-phenyl-benzo[b]thiophenes and 2-phenyl-benzo[b]furans.** Bioorganic & medicinal chemistry, v.19, p. 603-612, 2011.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de química analítica.** 8º edição, São Paulo: Thomson Learning, 2006.

STREKOWSKI, L.; WILSON, B. Noncovalent interactions with DNA: An overview. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 623, n. 1–2, p. 3–13, 2007.

SYNDER, R. D. **Effects of polyamines on the binding of Hoechst 33258 to calf thymus DNA,** Nucleosides Nucleotides, v. 12, p.31–37, 1993.

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

THOMPSON, M. J.; HEAL, W.; CHEN, B. **Synthesis of 5-aminothiazoles as building blocks**

**for library synthesis.** Tetrahedron Letters, v. 47, n. 14, p. 2361–2364, 2006.

TIAN, S.; WANG, J.; LI, Y.; LI, D.; XU, L.; HOU, T. **The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research.** Advanced Drug Delivery Reviews, v. 86, p. 2-8, 2015.

VADDULA, B.R.; TANTAK, M.P.; SADANA, R.; GONZALEZ, M.A.; KUMAR, D. **One-pot synthesis and in-vitro anticancer evaluation of 5-(2'- indolyl)thiazoles.** Sci. Rep., n.6, p. 23401-23407, 2016.

VEBER, D. F.; JOHNSON, S. R.; CHENG, H.; SMITH, B. R.; WARD, K. W.; KOPPLE, K. D. **Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates.** Journal of Medicinal Chemistry, v. 45, n. 12, p. 2615–2623, 2002.

WANG, H.; QIU, K.; CUI, H.; YANG, Y.; LUO, Y.; XING, M.; YANG, X.; QIU ,BAI, L.; ZHU, H. **Synthesis, molecular docking and evaluation of thiazolyl-pyrazoline derivatives containing benzodioxole as potential anticancer agents.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 21, p. 448–455, 2013.

WANG, Y.; ZHANG, H.; ZHANG, G.; TAO, W.; TANG, S. **Interaction of the flavonoid hesperidin with bovine serum albumin: A fluorescence quenching study.** Journal of Luminescence, v. 126, p. 211–218, 2007.

WASZKOWYCZ, B.; CLARK, D. E.; GANCIA, E. **Outstanding challenges in protein-ligand docking and structure-based virtual screening.** Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science, v. 1, n. 2, p. 229–259, 2011.

WEINBERG, R. A. **A biologia do câncer** [recurso eletrônico]. Dados eletrônicos. – Porto Alegre : Artmed, p. 25-56, 2008.

WHEATER, N. J.; BRODIE, C. R.; COLLINS, J. G.; KEMP, S.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. **DNA intercalators in cancer therapy: organic and inorganic drugs and their spectroscopic tools of analysis.** Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, v.7, n. 6, 2007.

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

XIE, W.; WU, Y.; ZHANG, J.; MEI, Q.; ZHANG, Y.; ZHU, N.; LIU, R.; ZHANG, H. **Design, synthesis and biological evaluations of novel pyridone-thiazole hybrid molecules as antitumor agents.** European Journal of Medicinal Chemistry, 2013.

YAMASHITA, V.; FURUBAYASHI, T.; KATAOKA, M.; SAKANE, T.; SEZAKI, H.; TOKUDA, H. **Optimized conditions for prediction of intestinal drug permeability using CACO-2 cells.** European Journal of Pharmaceutical, v. 10, n. 3, p. 195-204, 2000.

YOU, S.L.; RAZAVI, H.; KELLY, J.W. **A biomimetic synthesis of thia- zolines using hexaphenyloxodiphosphonium trifluoromethane sul- fonate.** Angew. Chem. Int. Ed., v. 42, p. 83-85, 2003.

YU, C. C.; PAN, S. L.; CHAO, S. W.; LIU, S. P.; HSU, J. L.; YANG, Y. C.; LI, T. K.; HUANG, W. J.; GUH, J. K. **A novel small molecule hybrid of vorinostat and DACA displays anticancer activity against human hormone-refractory metastatic prostate cancer through dual inhibition of histone deacetylase and topoisomerase I**, Biochem. Pharmacol, v. 90, p. 320–330, 2014.

YUAN, J. ; WANG, S.; LUO, Z.; QIU, H.; WANG, P.; ZHANG, X.; YANG, Y.; YIN, Y.; ZHANG, F.; ZHU, H. **Synthesis and biological evaluation of compounds which contain pyrazole, thiazole and naphthalene ring as antitumor agents**. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters n. 24, v.10, p. 2324–2328, 2014.

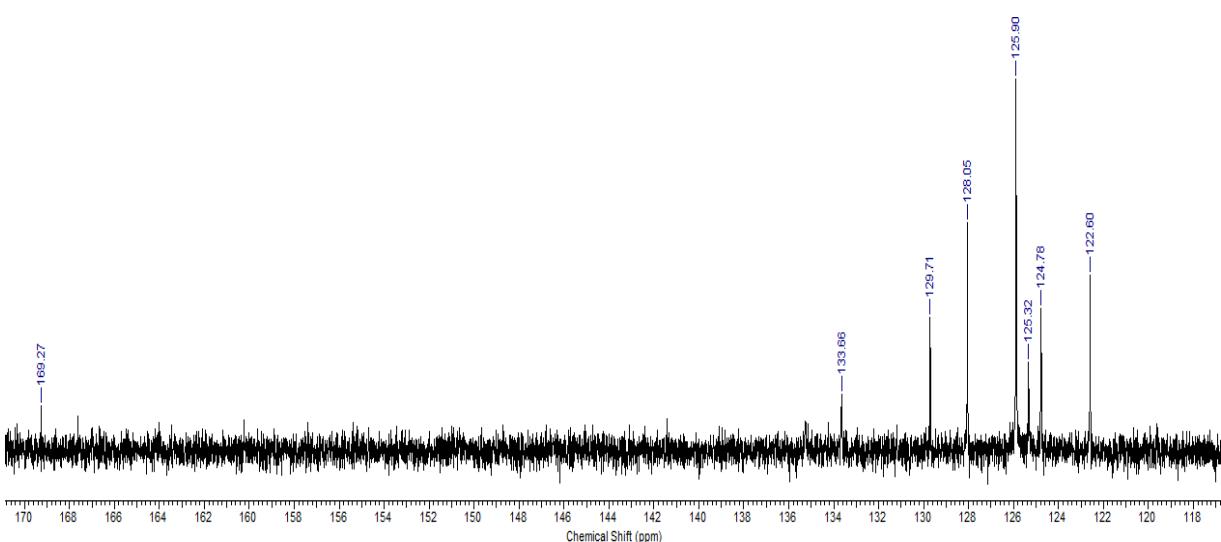
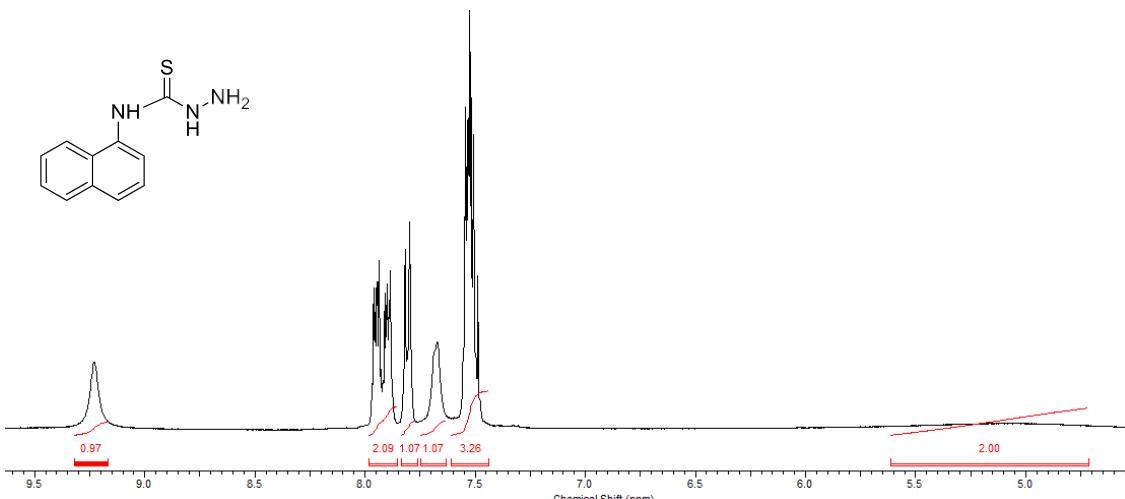
ZHANG, G.; ZHAO, N.; HU, X.; TIAN, J. **Interaction of alpinetin with bovine serum albumin: Probing of the mechanism and binding site by spectroscopic methods**. Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, n. 3-4, v. 76, p. 410-417, 2010.

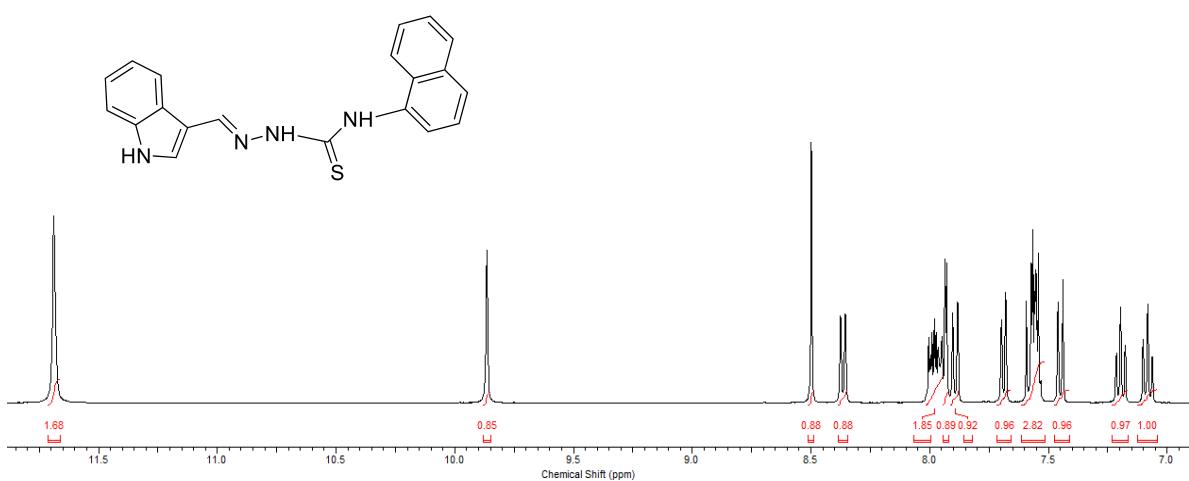
ZEGLIS, B. M.; PIERRE, V. C.; BARTON, J. K. **Metallo-intercalators and metallo-insertors**. Chemical Communications, v. 44, p. 4565-4579, 2007.

ZHOU, C. Y.; XI, X. L.; YANG, P. **Studies on DNA binding to metal complexes of sal2trien**. Biochemistry, v. 72, p. 37-43, 2007.

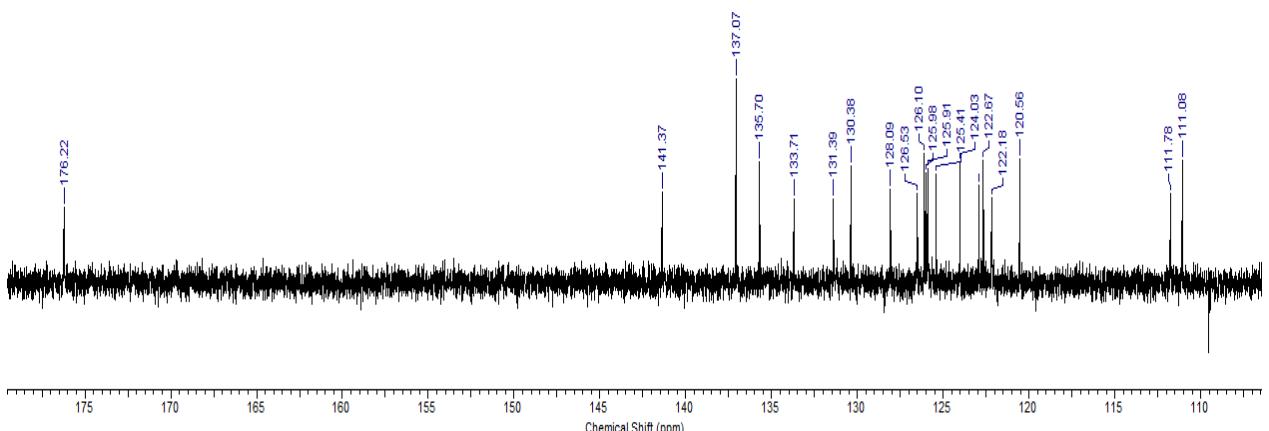
ZHU, J.; CHEN, L.; DONG, Y.; LI, J.; LIU, X. **Spectroscopic and molecular modeling methods to investigate the interaction between 5-hydroxymethyl-2-furfural and calf thymus DNA using ethidium bromide as a probe**, Spectrochim. Acta Part A, v.124, p. 78–83, 2014.

**APÊNDICE A- ESPECTROS DE RMN  $^1\text{H}$  E  $^{13}\text{C}$**

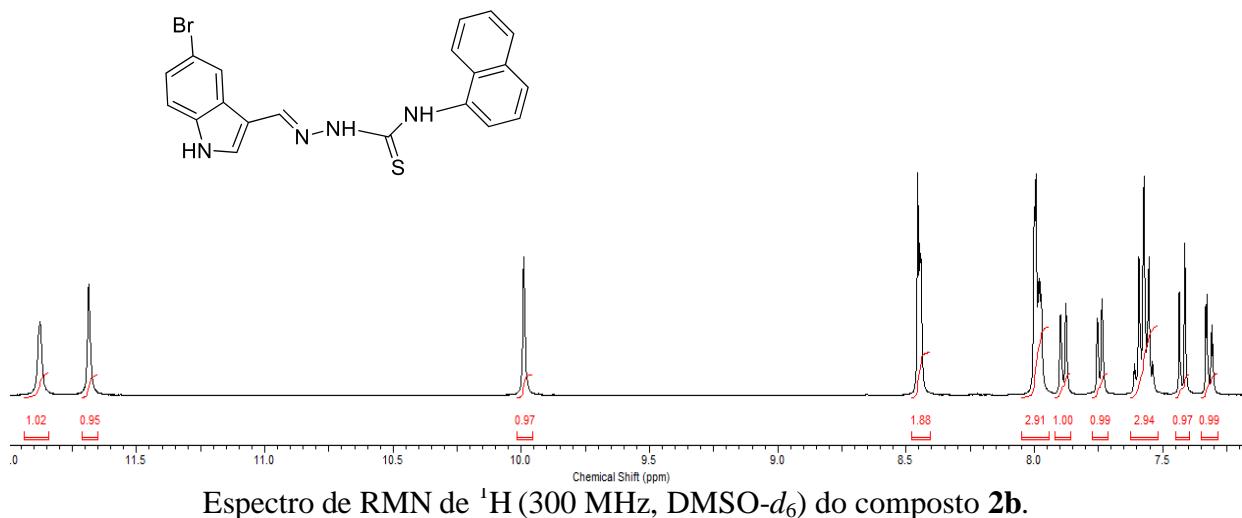




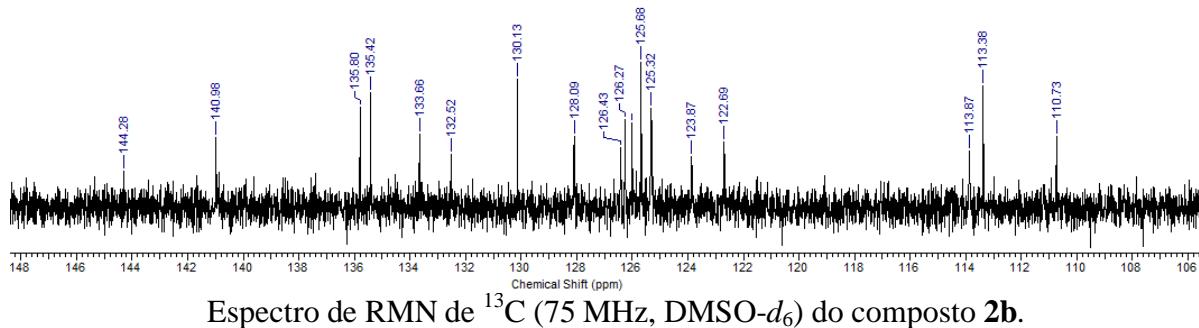
Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do composto **2a**.



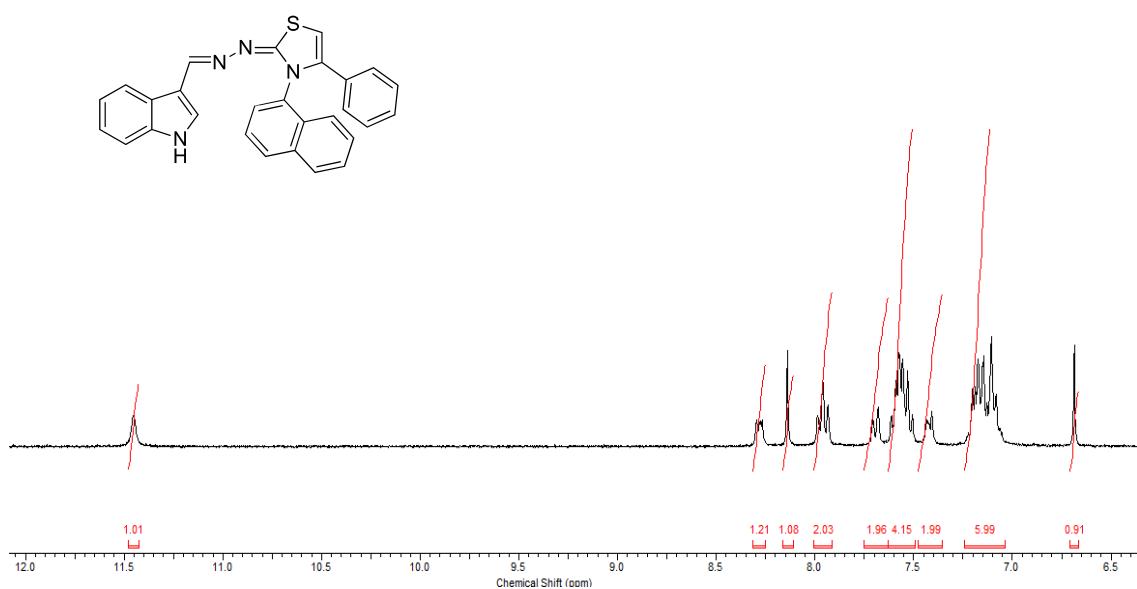
Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do composto **2a**.



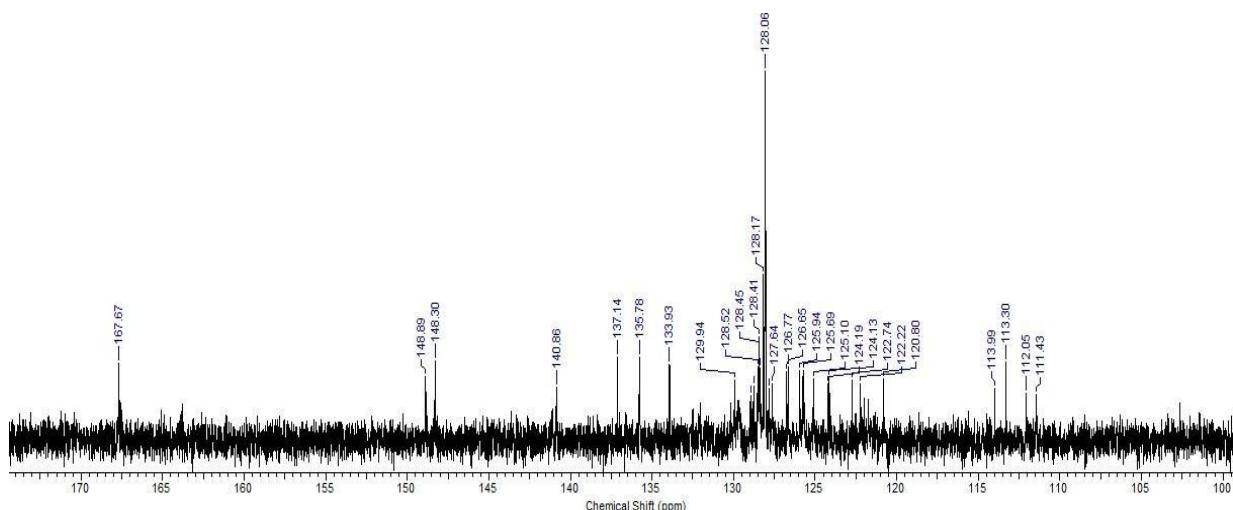
Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do composto 2b.



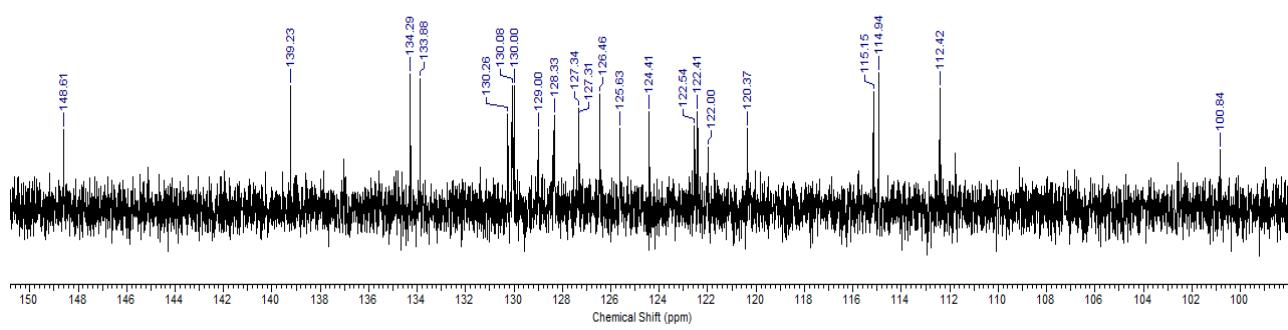
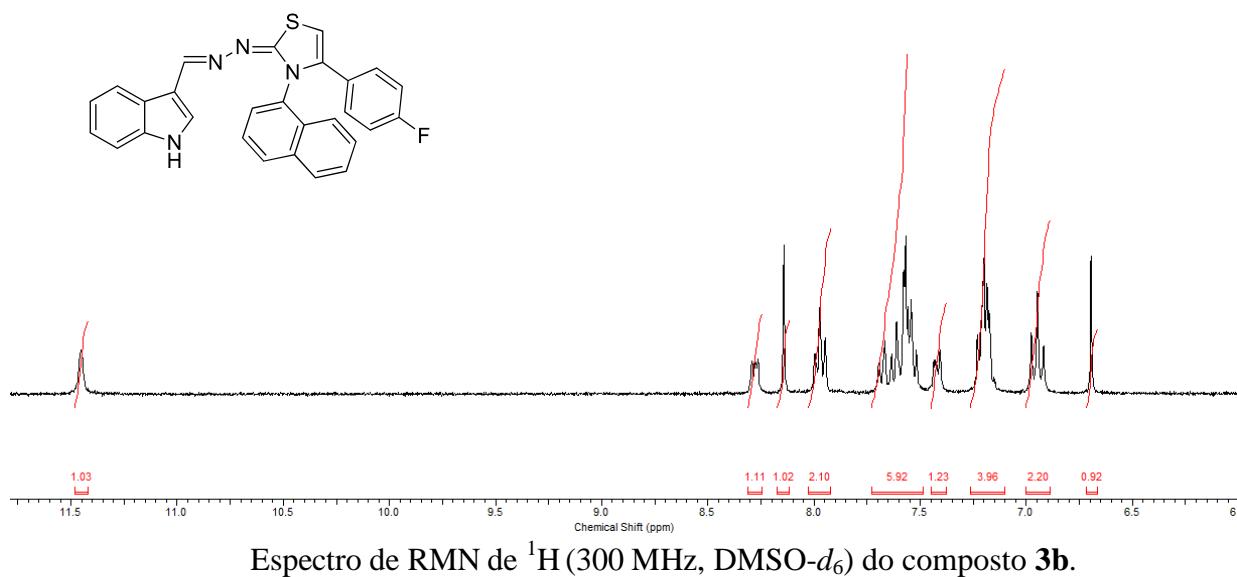
Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do composto 2b.

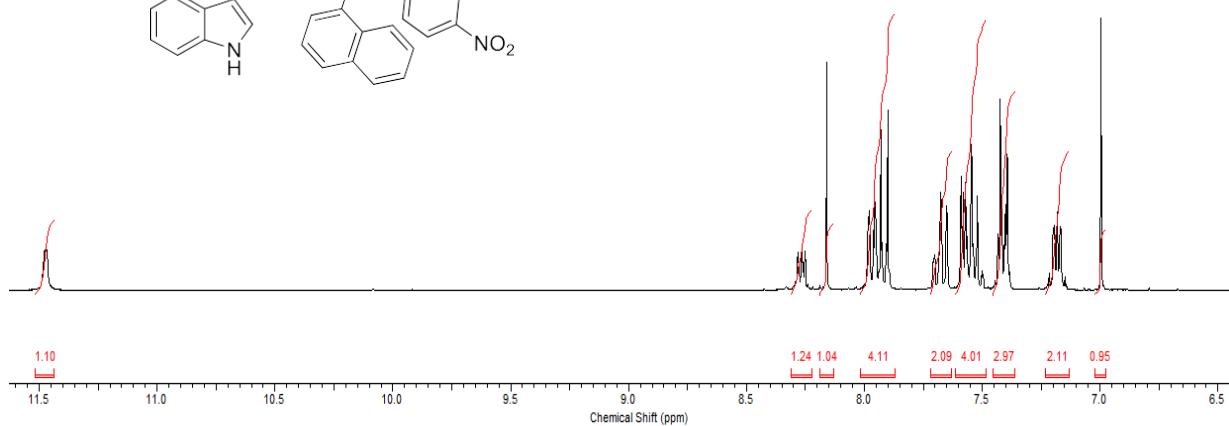
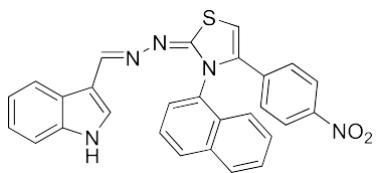


Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do composto 3a.

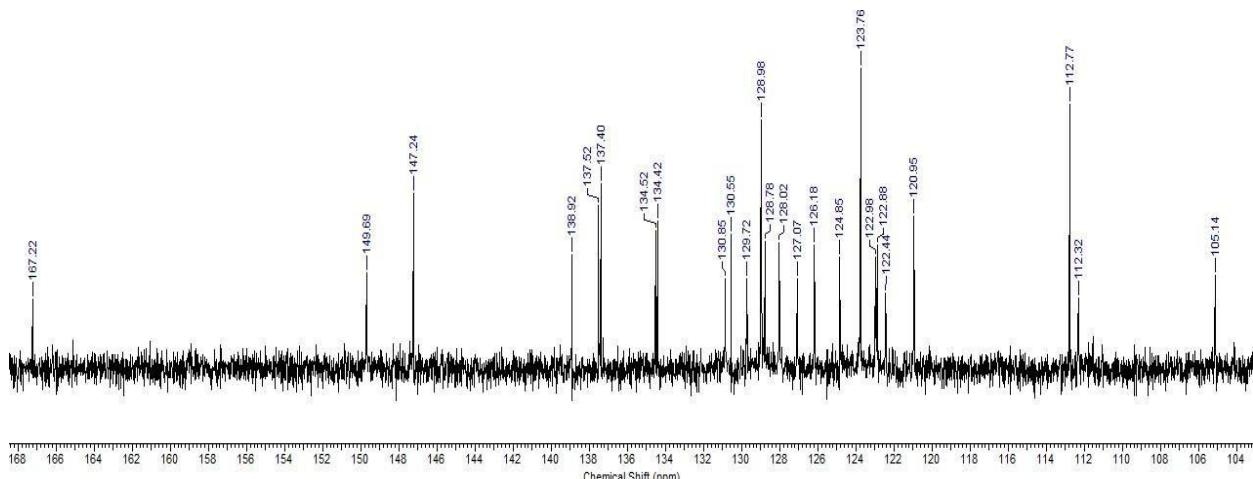


Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do composto 3a.

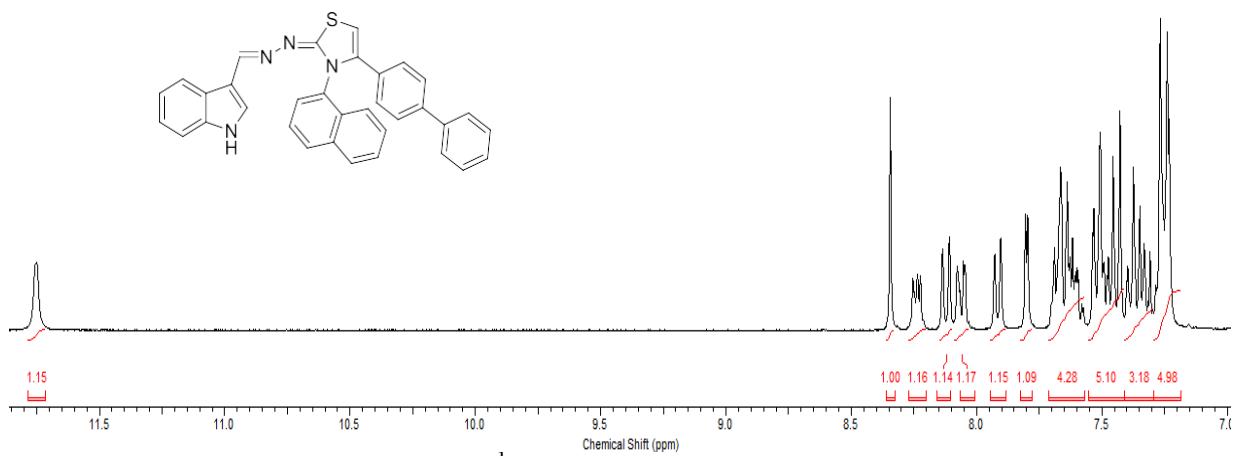




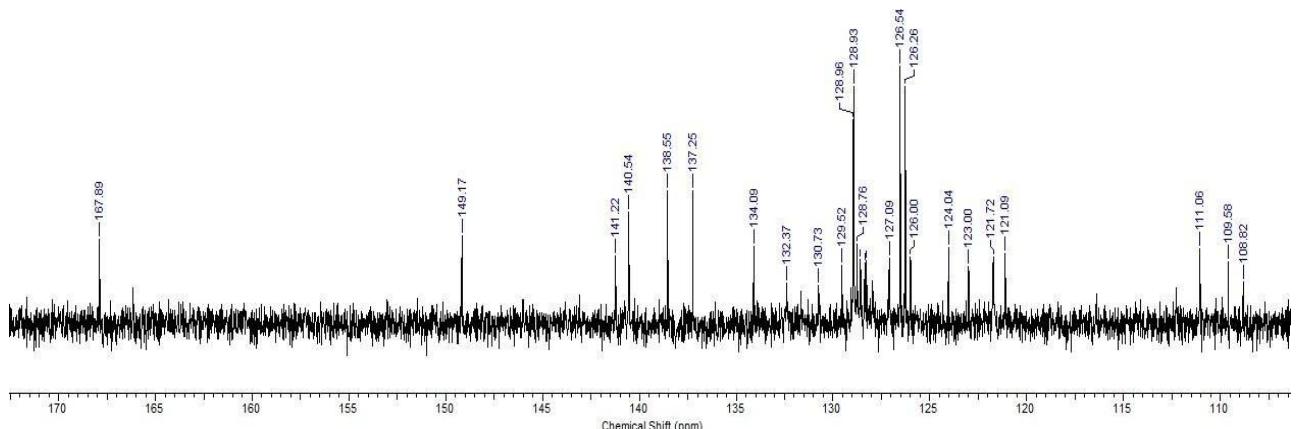
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **3c**.



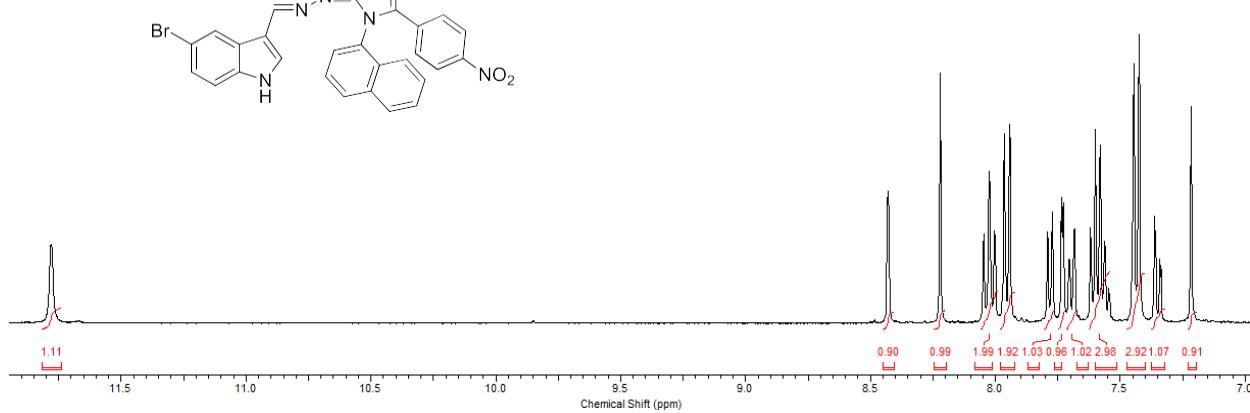
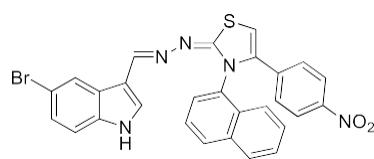
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **3c**.



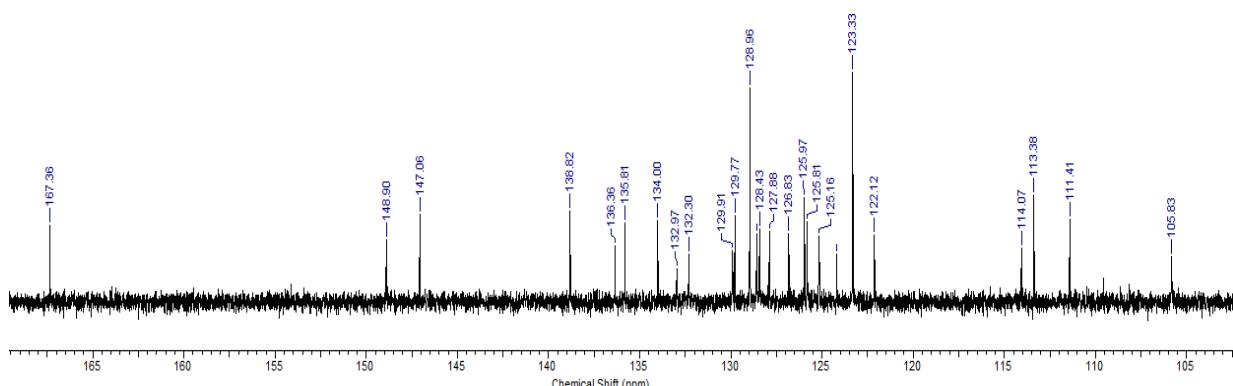
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **3d**.



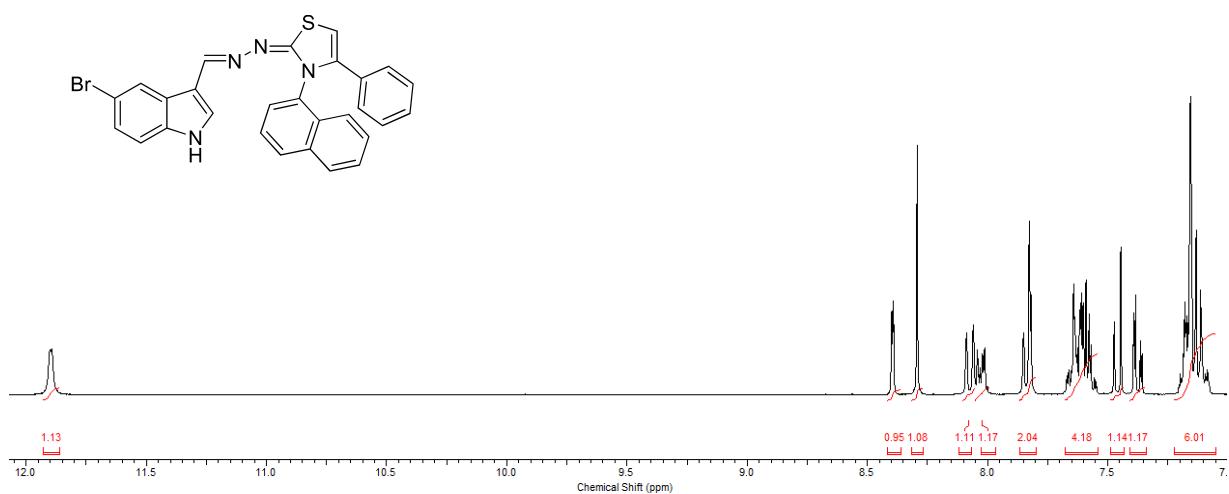
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **3d**.



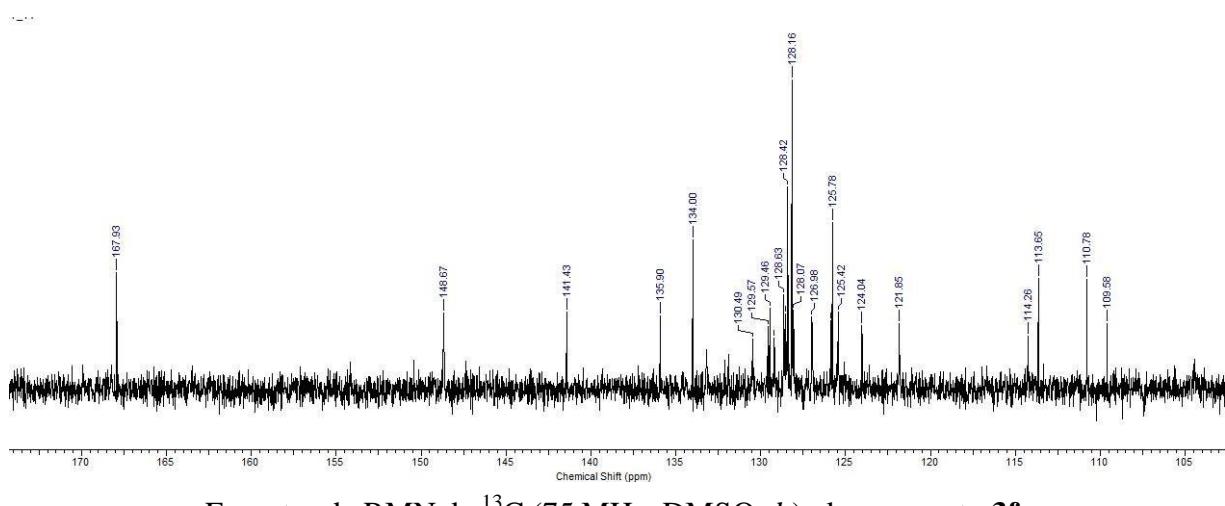
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **3e**.



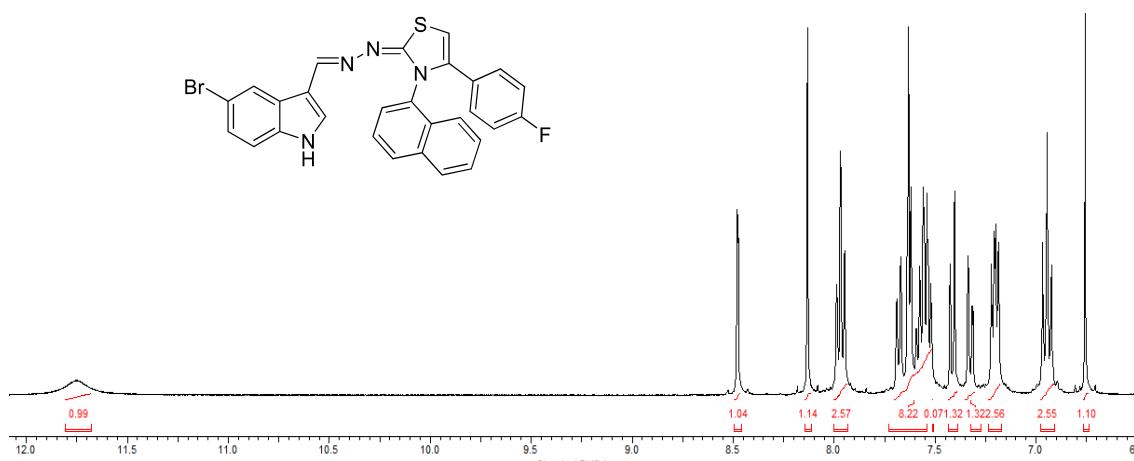
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **3e**.



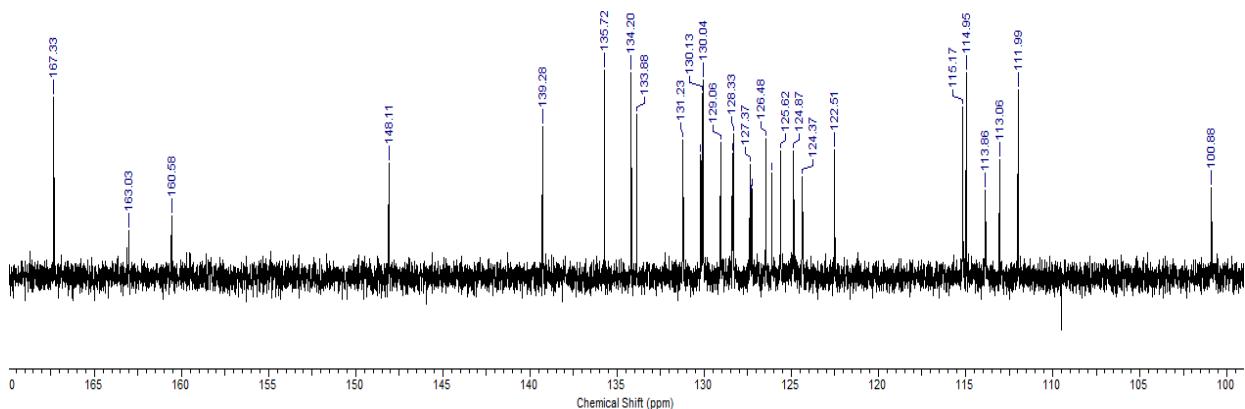
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do composto **3f**.



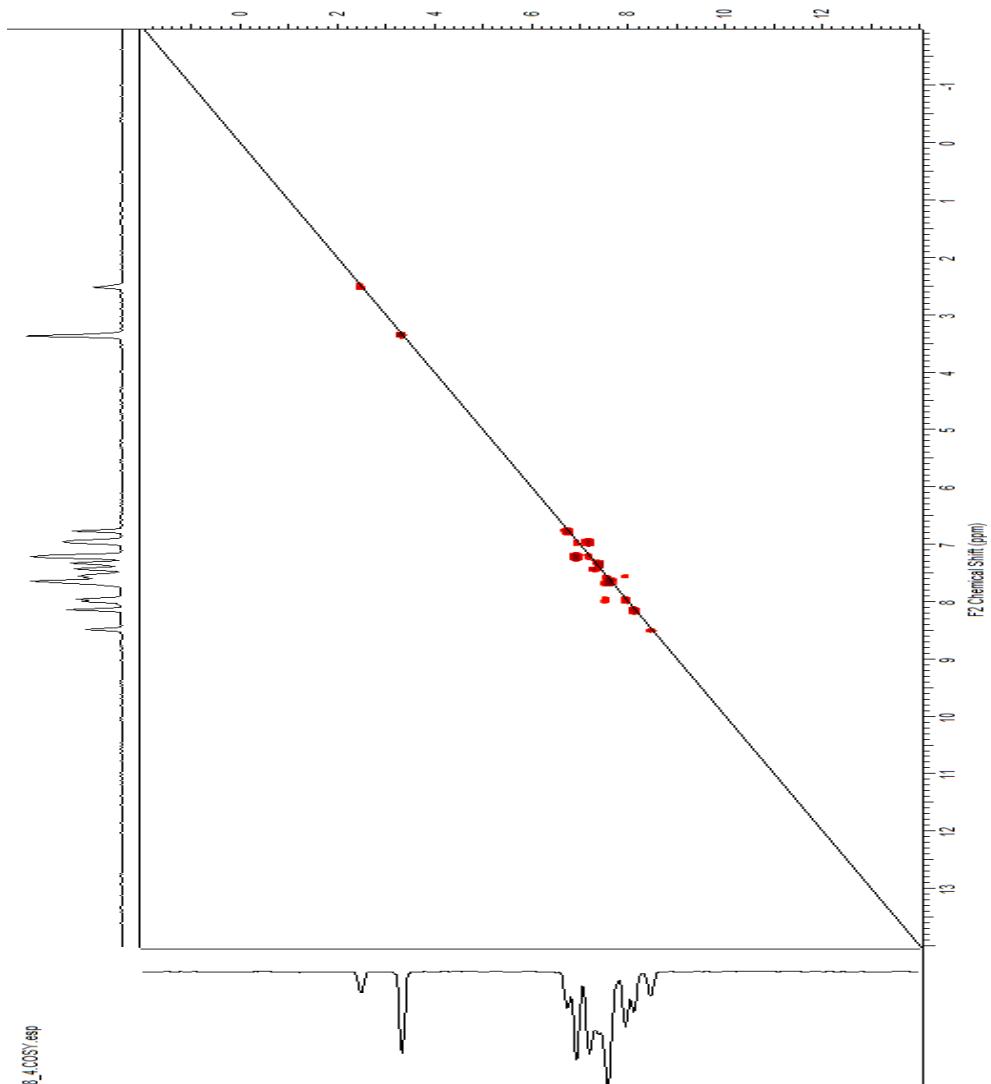
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do composto **3f**.



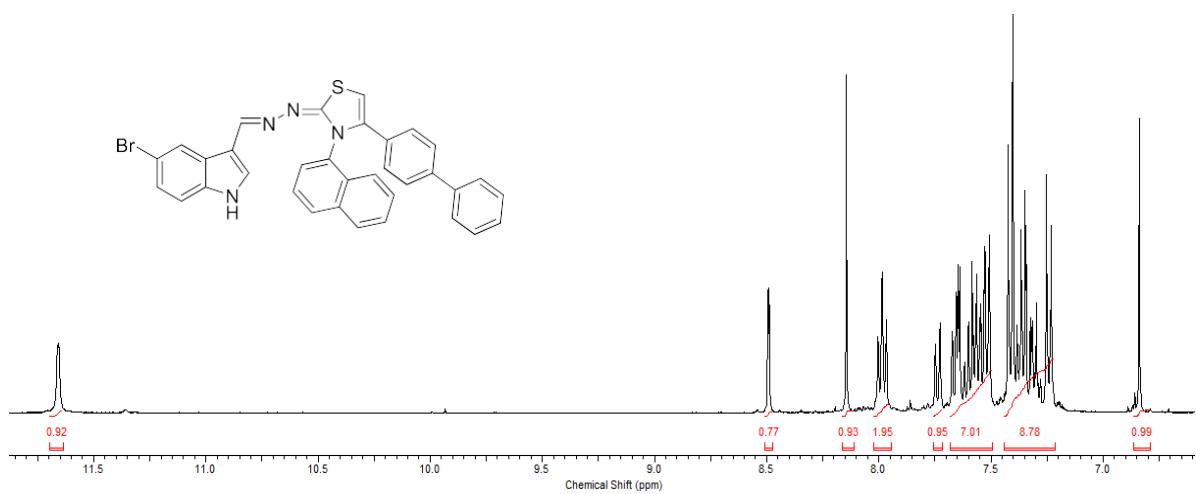
Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do composto **3g**.



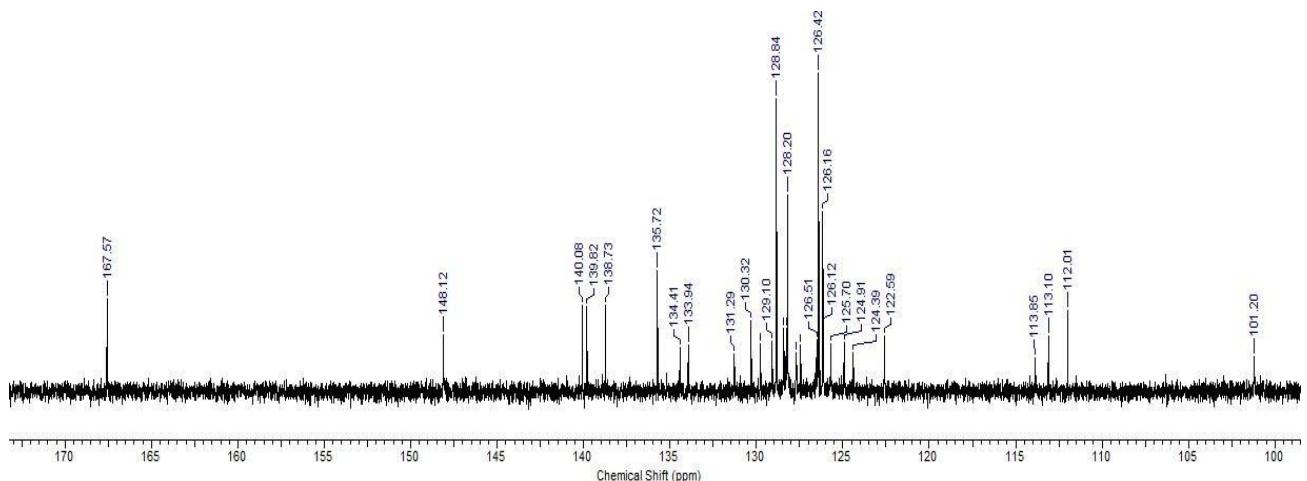
Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do composto **3g**.



Espectro COSY do composto **3g**.



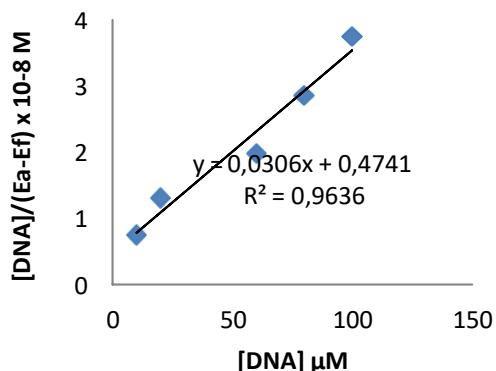
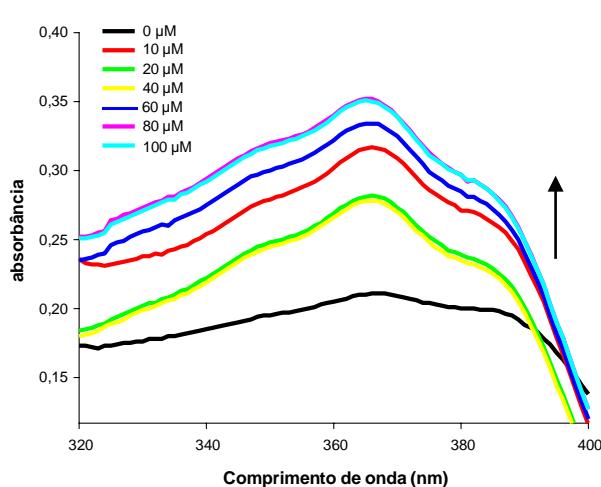
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **3h**.



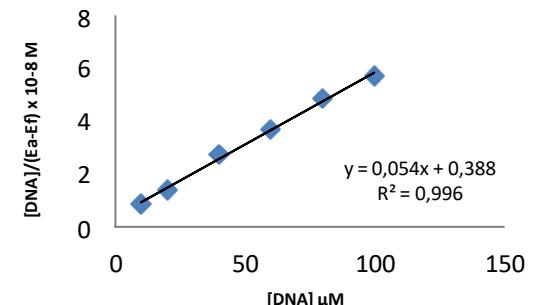
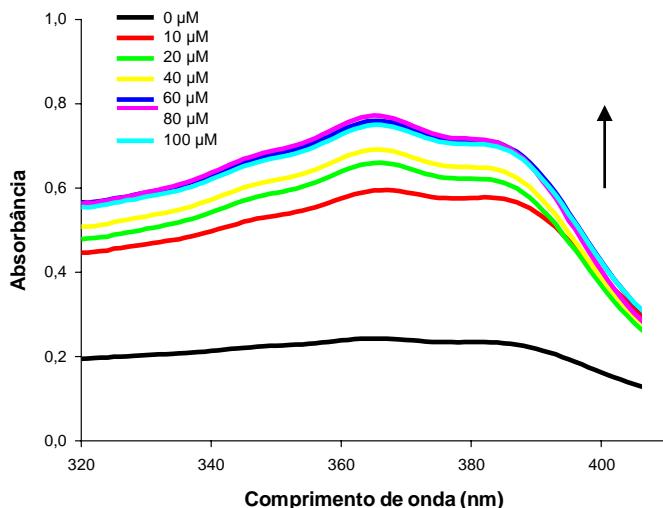
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **3h**.

## APÊNDICE B- ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VIS

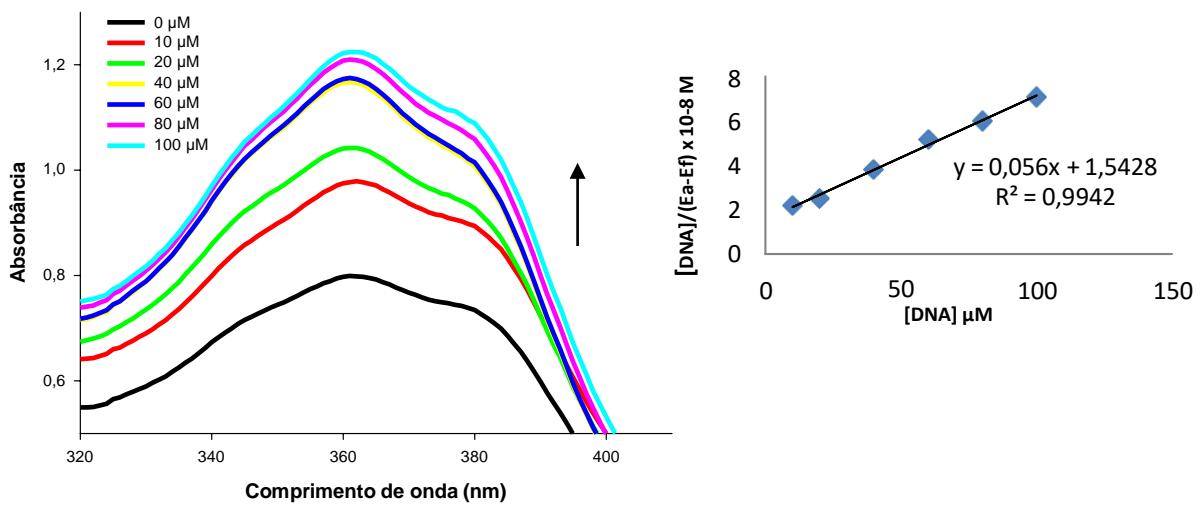
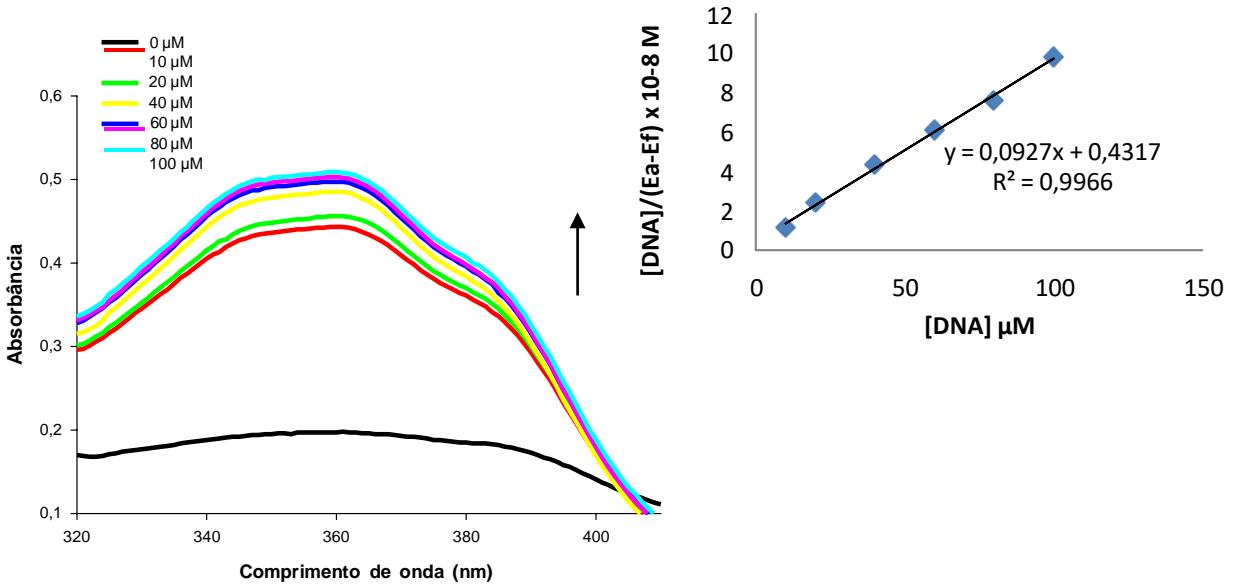
- Tiazóis **3a-h** (30  $\mu\text{M}$ ) com fiferentes concentrações de ctDNA.  $[\text{DNA}] = 0, 10, 20, 40, 60, 80$  e  $100 \mu\text{M}$ . E gráfico de  $[\text{DNA}] / (\epsilon_a - \epsilon_f)$  em função da concentração de DNA determinados a partir dos dados espetrais de absorção. O efeito hipocrômico é representado pela seta ( $\uparrow$ ) e hipocrômico ( $\downarrow$ ).

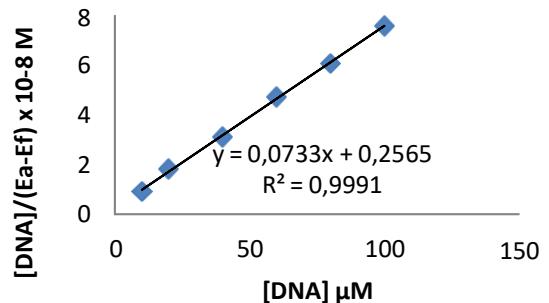
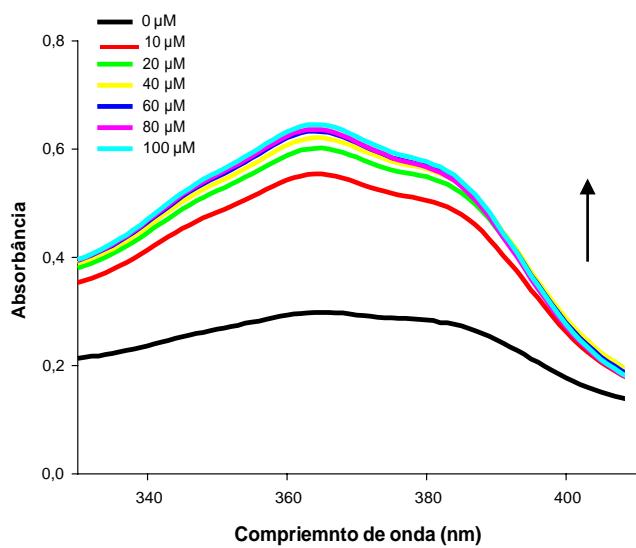
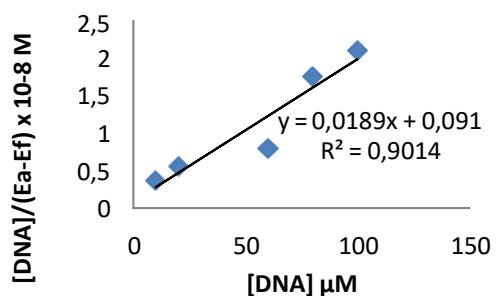
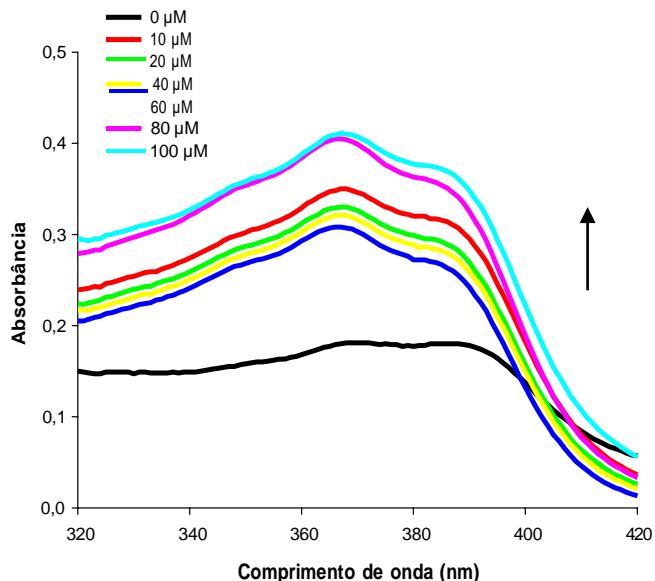


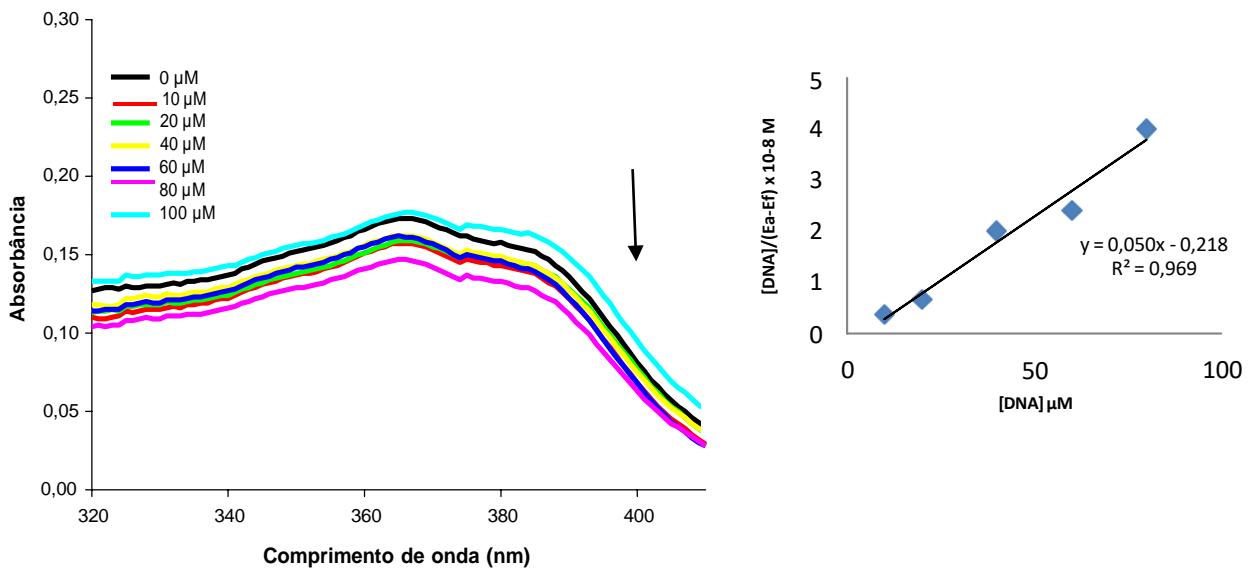
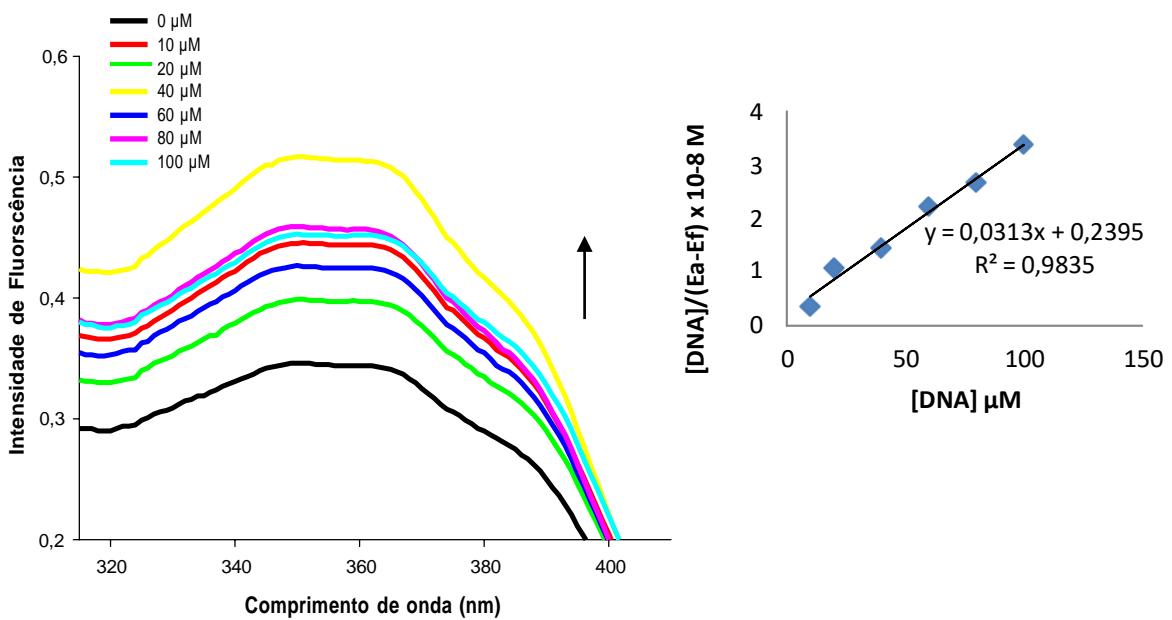
Espectro de absorção UV-vis do compostos **3a**.



Espectro de absorção UV-vis do compostos **3b**.

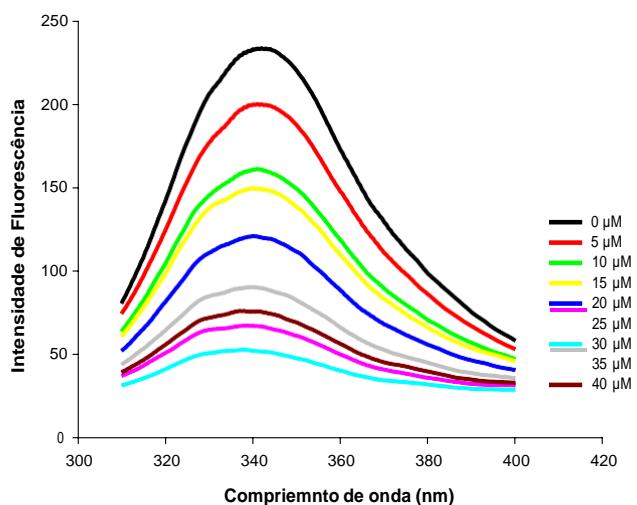
Espectro de absorção UV-vis do compostos **3c**.Espectro de absorção UV-vis do compostos **3d**.

Espectro de absorção UV-vis do compostos **3e**.Espectro de absorção UV-vis do compostos **3f**.

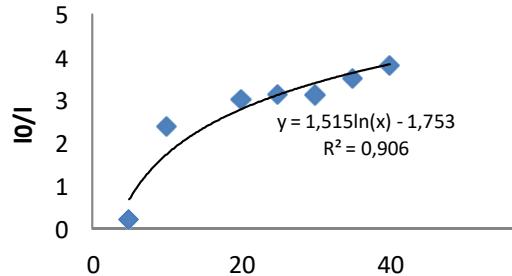
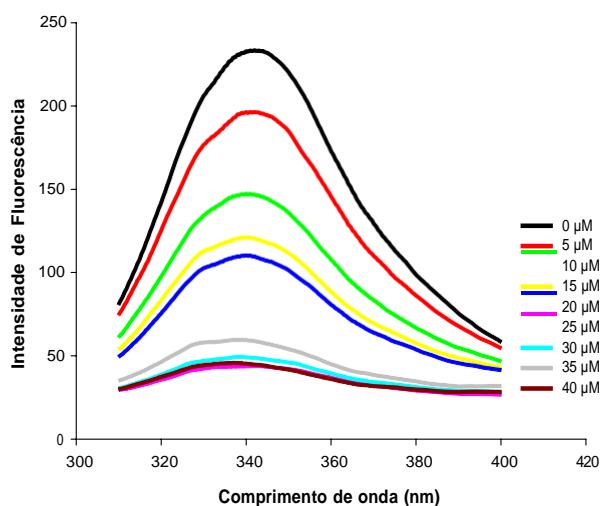
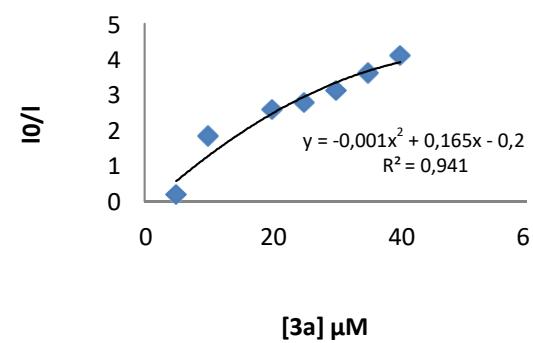
Espectro de absorção UV-vis do compostos **3g**.Espectro de absorção UV-vis do compostos **3h**.

## APÊNDICE C- ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA

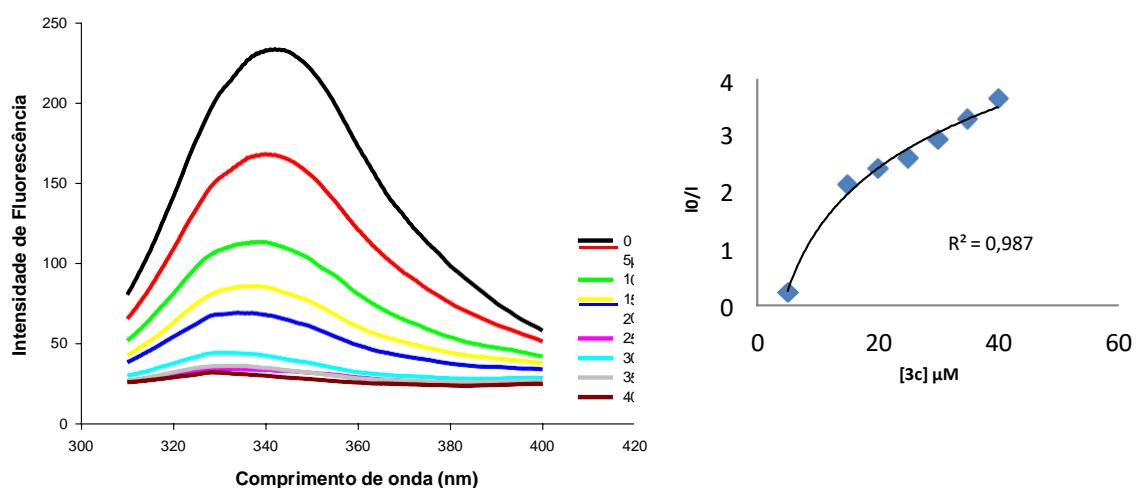
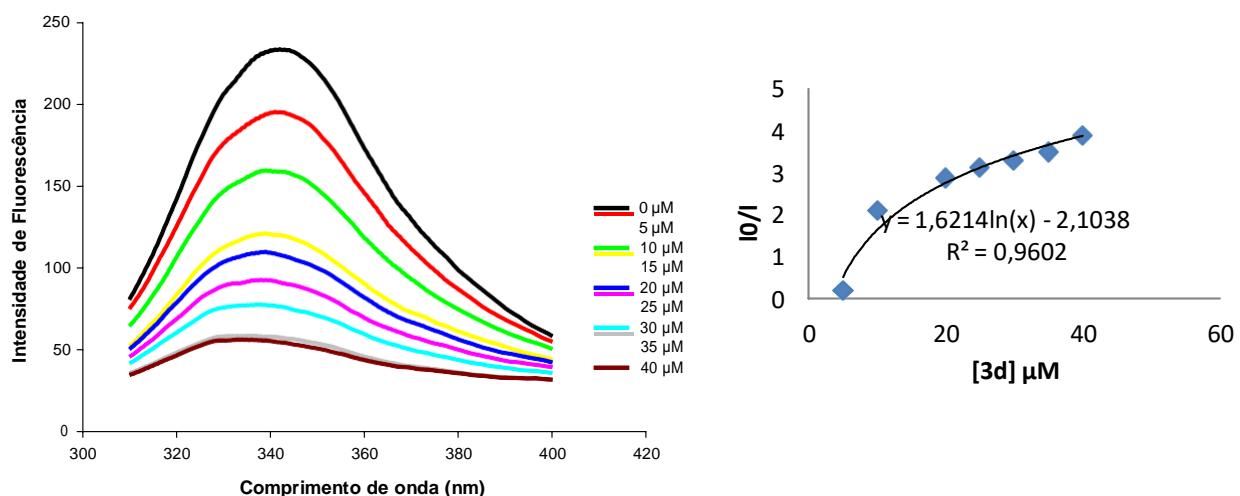
- BSA (20  $\mu\text{M}$ ) com diferentes concentrações dos tiazóis **3a-h** [Tiazol] = 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40  $\mu\text{M}$ . Formação dos complexos, resultou em suspensão de fluorescência. O gráfico de  $I_0/I$  em função da concentração do compostos foi determinado a partir dos dados de emissão de fluorescência.

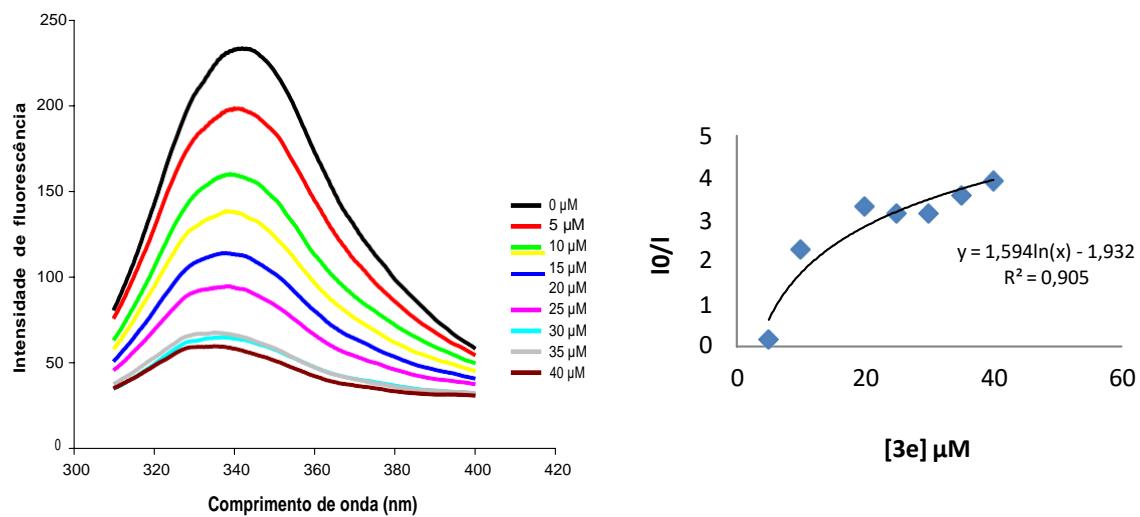
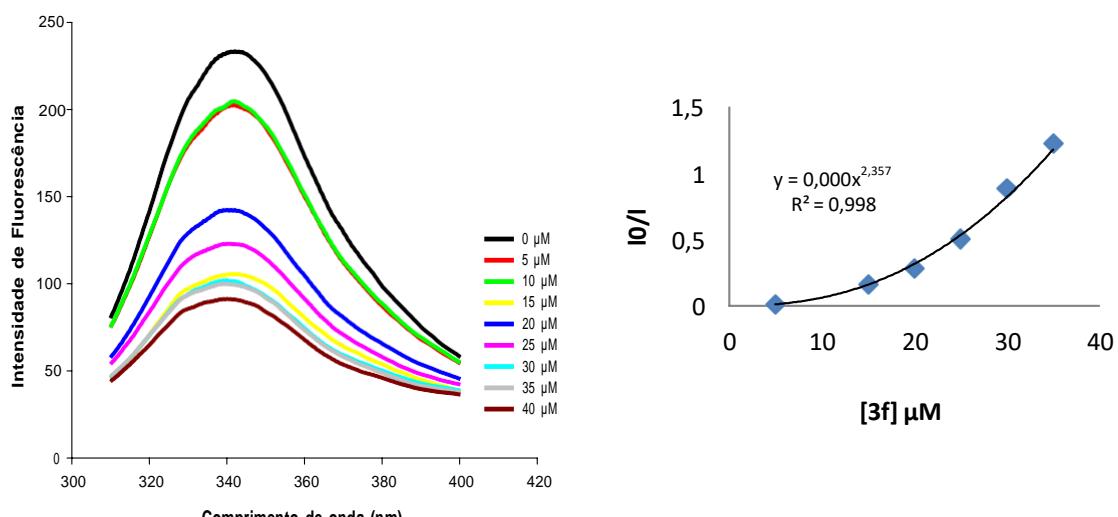


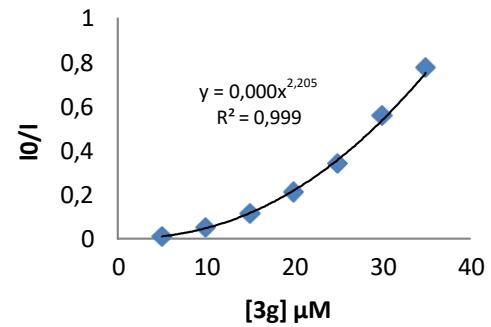
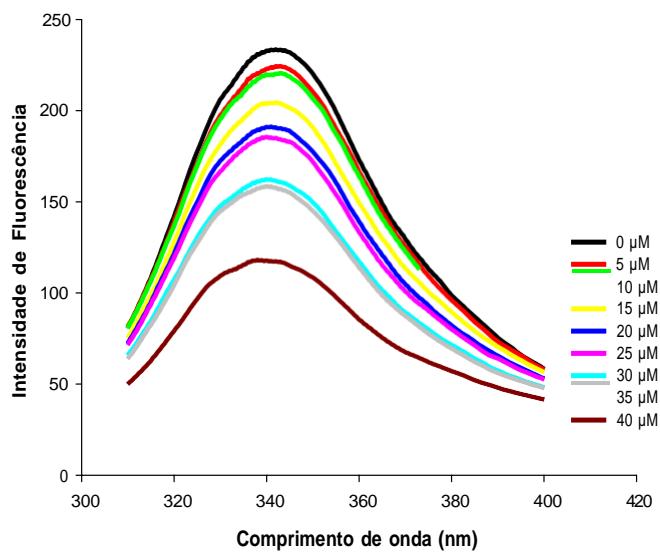
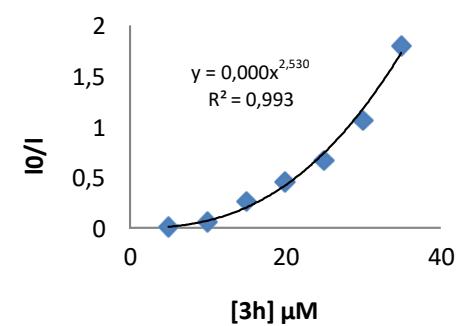
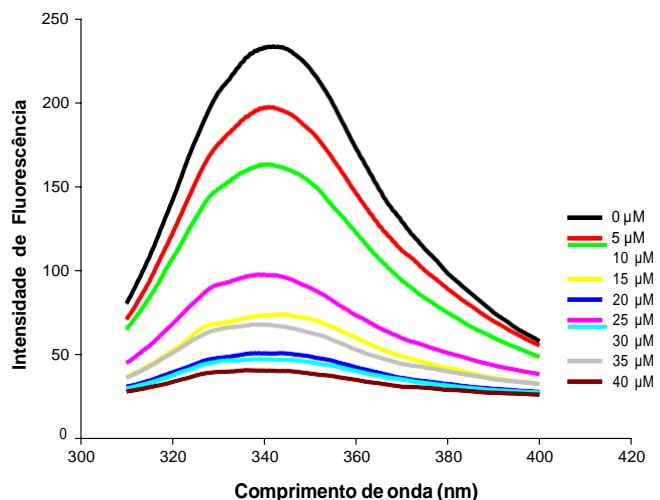
Espectros de fluorescência do composto **3a**



Espectros de fluorescência do composto **3b**.

Espectros de fluorescência do composto **3c**.Espectros de fluorescência do composto **3d**.

Espectros de fluorescência do composto **3e**.Espectros de fluorescência do composto **3f**.

Espectros de fluorescência do composto **3g**.Espectros de fluorescência do composto **3h**