UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JOSÉ CLEBERSON SANTOS SOARES

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DE POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL DE NOVOS DERIVADOS INDOL-TIAZÓLICOS

Recife

2020

JOSÉ CLEBERSON SANTOS SOARES

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DE POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL DE NOVOS DERIVADOS INDOL-TIAZÓLICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

ORIENTADORA: Profª. Drª. Maria do Carmo Alves de Lima

CO-ORIENTADORA: Profª. Drª. Sinara Mônica Vitalino de Almeida

Recife

2020

Catalogação na fonte
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4-1790

S676s Soares, José Cleberson Santos

Síntese, caracterização estrutural e avaliação de potencial atividade antitumoral de novos derivados indol-tiazólicos / José Cleberson Santos Soares. – 2019.

115 f.: il.; tab.

Orientadora: Maria do Carmo Alves de Lima

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2019.

Inclui referências e apêndices.

1. Indol. 2. DNA. 3. Tiazol. 4. Soroalbumina Bovina. 5. Neoplasias. 6. Câncer. 5. I. Lima , Maria do Carmo Alves de (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2020-060)

JOSÉ CLEBERSON SANTOS SOARES

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DE POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL DE NOVOS DERIVADOS INDOL-TIAZÓLICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em: 07/02/2020

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura (Examinador Interno)
Universidade Estadual da Paraíba

_____

Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Prof. Dr. Jamerson Ferreira de Oliveira (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Em poucas palavras, minha primeira homenagem será impreterivelmente à minha força motriz, aquele que me sustenta, me move e me faz seguir em frente, Deus.

AGRADECIMENTOS

Sou infinitamente grato a Deus, pela oportunidade concedida, pela coragem e força nos momentos difíceis, por sua graça e amor imensurável e por estar sempre presente;

Aos meus pais Marineide Maria e José Carlos, vocês foram mais do que essenciais em minhas realizações, agradeço por todo amor, dedicação, suporte em todas as áreas;

Aos meus irmãos Carla Myrela e José Clemilson que sem dúvida facilitaram meu caminhar e me deram assistência não só nesse período;

Aos meus queridos e amados sobrinhos Carlos Fernando e Maria Joana, vocês arrancaram sorrisos meus quando achei que não seria mais possível tornando tudo bem mais leve;

À minha orientadora Profa. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima, sem dúvida uma pessoa maravilhosa e de bom coração, seus ensinamentos científicos e conselhos seguirão sempre comigo, sou muito grato pela confiança e tempo dedicados a mim;

A minha co-orientadora Profa. Dra. Sinara Almeida e ao Prof. Dr. Jamerson Oliveira, as contribuições e direcionamentos de vocês foram peças-chave em todo esse processo;

À Profa. Dra. Anekecia Lauro, sua contribuição desde o tempo da graduação é de extrema importância para mim;

Ao “grupo do câncer”, essa experiência não teria sido a mesma sem vocês, obrigado por todo conhecimento, conversas e momentos de descontração, Amélia, Íris, Keriolaine e Emanuel;

Aos meus amigos do Laboratório de Química e Inovação Terapêutica, Pedro, Hanna, Rosana, Cézar, Natanael, Charles, Suellen, Alana, Paula, Miguel, Edson, Antônio, Mirelly;

Aos alunos de iniciação científica e estagiários com os quais tive oportunidade de dividir a bancada e compartilhar conhecimentos, Ariany, Thammyris, Cristiane, Felipe, Maria Eduarda, Mariana Soares, Matheu, Guilherme, Gustavo, Mariana, Rebeca e Lucas;

Aos amigos que o mestrado me presenteou, vocês mostraram que também devemos encontrar tempo para se divertir, em especial a Iago, durante todo esse processo pude contar com você e sei que essa amizade se estenderá para a vida;

Aos meus amigos que sempre torceram por mim e acreditaram em meu potencial, Júnior, Allef, Edison, Vanessa, Mércia, Felipe, Ivan, Hugo e Aelson;

Aos funcionários do Departamento de Antibióticos (DAnti), da Central Analítica do DQF-UFPE, do Laboratório de combustíveis LAC-UFPE por realizarem análises que contribuíram para meu trabalho;

Ao Cnpq e FACEPE, pelo suporte financeiro;

A todos que, direta ou indiretamente, participaram, contribuíram e torceram em prol dessa realização, ela não é só minha, tem um pouco de todos vocês.

RESUMO

Os compostos heterocíclicos nitrogenados têm sido uma boa alternativa no planejamento racional de novas moléculas candidatas à fármaco. Suas diversas aplicabilidades justificam a utilização deles como substratos de diversas pesquisas. Alguns *scaffolds* como indol e tiazol tem alcançado posições de destaque no campo da química medicinal pois exercem atividade antiprasitária, anti-infamatória, antibacteriana, antifúngica e uma potencial atividade antitumoral. Nesse trabalho foi proposta a síntese através da expansão molecular da tiossemicarbazida, seguida por restrição conformacional de uma tiossemicarbazona (contendo a porção indol) conduzindo para a formação do núcleo tiazol. Após obtenção satisfatória dos compostos dessa série (LqIT/CS), as estruturas das moléculas foram todas caracterizadas e comprovadas por RMN ^{1}H, RMN ^{13}C e IV. As análises *in sílico* mostraram que sete dos oito compostos obedecem a regra de Lipinski, e que todos eles apresentaram bons resultados quanto aos parâmetros farmacocinéticos. Como o DNA é um alvo na terapia antineoplásica o potencial de interação entre ele e os compostos foi investigado e todos os derivados apresentaram valores de Kb compatíveis com moléculas intercaladoras variando entre 6,78 x 10^5 e 3,07 x 10^5 M^{-1}. Além disso, foi verificado também o potencial de interação com a BSA, mostrando que todos apresentam bons valores de interação, para o Kb compreendidos entre $1x10^5$ e $1,29x10^4$ M^{-1}, e valores de Ksv entre 12,65 x 10^4 e 5,22 x 10^4, essas análises de interação foram realizadas por meio de técnicas de absorção e fluorescência. Além disso foi verificada a viabilidade celular frente a linhagens de macrófagos J774, utilizando a técnica colorimétrica de MTT, onde 5 dos 8 compostos foram menos tóxicos que o controle positivo, Amsacrina (*m*-AMSA), utilizado na análise, além de ter sido investigado o potencial de combate às células de adenocarcinoma mamário (MCF-7), onde todos os compostos foram mais potentes que o controle *m*-AMSA, tendo um destaque maior os compostos **LqIT/CS-04** (*p*-bromo), **LqIT/CS-06** (*p*-fenil) e **LqIT/CS-07** (*p*-trifluorometil). Esses dados mostram que os *scaffolds* indol e tiazol são promissores quando condensados em uma única molécula e que os substituintes utilizados contribuem para o desenvolvimento de novos potenciais fármacos com capacidade de aplicação em terapia antitumoral.

Palavras-chave: Indol. Tiazol. DNA. Soroalbumina Bovina. Neoplasias. Câncer.

ABSTRACT

The heterocyclic nitrogen compounds have been a good alternative in rational drug design of new drug candidate molecules. Their diverse applicabilities justify the use of them as substrates for several researches. Some scaffolds such indole and thiazole have reached prominent positions in the field of medicinal chemistry, because they exert antiparasitary, anti-inflammatory, antibacterial, antifungal activity and a potential antitumoractivity. In this work, synthesis through the molecular expansion of thiosemicarbazide was proposed, followed by conformational restriction of a thiosemicarbazone (containing the indole portion) leading to the formation of the thiazole nucleus.After the compounds of this series (LqIT/CS) were satisfactory obtained, the molecule structures were all characterized and proven by NMR ^{1}H, NMR ^{13}C and IR. The *in silico* analyses showed that seven of the eight compounds comply with the Lipinski rule, and that all of thme presented good results interms os pharmacokinetic parameters. As DNA is a target in the antineoplasic therapy, the interaction potential between DNA and compounds was investigated and all derivatives presented Kb values compatible with intercalating molecules ranging from $6.78x10^{5}$ to $3.07x10^{5}$ M^{-1}. In addition, the potential for interaction with BSA was also verified, showing that all presente good interaction values, for Kb between $1x10^{5}$ and $1.29x10^{4}$ M^{-1}, and Ksv values between $12.65x10^{4}$ and $5.22x10^{4}$, these interaction analyzes were performed using absorption and fluorescence techniques. In addition, cell viability was verified in relation to J774 macrophage lines, utilizing MTT colorimetric technique, where 5 of the 8 compounds were less toxic than the amsacrine positive control (*m*-AMSA) used in the analysis, besides the potential for combating breast adenocarcinoma cells (MCF-7), where all the compounds were more effective than the *m*-AMSA control, having a higher prominence the compounds LqIT/CS-04 (*p*-bromine), LqIT/CS-06 (*p*-phenyl) and LqIT/CS-07 (*p*-trifluoromethyl). These data show that indole scaffolds and thiazole are promising when condensed into a single molecule and that the substitutes used contribute to the development of potential new drugs with application capability in antitumor therapy.

Keywords: Indole. Thiazole. DNA. Serum Albumin Bovine. Neoplasms. Cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Heterocíclicos nitrogenados com anéis de cinco membros.....	22
Figura 2 –	Estruturas químicas naturais e sintéticas contendo o núcleo indol…..	25
Figura 3 –	Diferença estrutural nos anéis tiazólicos…….	26
Figura 4 –	Derivados tiazólicos de origem natural……...	26
Figura 5 –	Compostos destaques com potencial atividade antitumoral contendo os núcleos indol e tiazol……...	30
Figura 6 –	Estrutura da albumina do soro humano (HSA) com os respectivos locais de interação com ligantes destacados e cada subdomínio em cores distintas…….....	31
Figura 7 –	Estrutura da albumina do soro bovino (BSA) com os respectivos locais de interação com ligantes destacados e cada domínio em cores distintas.....	32
Figura 8 –	Modos de interação e formação do complexo reversível ligante – DNA.....	34
Figura 9 –	Alterações observáveis em espectros de absorção e fluorescência que estão relacionadas à interação ligante-biomolécula, sendo A (hipocromismo), B (hipercromismo), C (hipsocromismo) e D (batocromismo).....	35
Figura 10 –	As características do câncer.....	36
Figura 11 –	Esquema do mecanismo de reação para síntese da tiossemicarbazida LqIT/LT-45.....	38
Figura 12 –	Esquema do mecanismo de ação para síntese de LqIT/LT-53.....	39
Figura 13 –	Esquema do mecanismo de ação para sínteses dos derivados indol-tiazólicos.....	40
Figura 14 –	Obtenção da tiossemicarbazida (LqIT/LT-45).....	43
Figura 15 –	Obtenção da tiossemicarbazona (LqIT/LT-53).....	44
Figura 16 –	Obtenção dos derivados tiazólicos e suas respectivas substituições...	45
Figura 17 –	Esquema da rota de síntese geral.....	51
Figura 18 –	Espectroscopia de RMN ^{1}H de hidrogênio do composto LqIT/CS-01	54

Figura 19 – Espectroscopia de RMN ^{13}C do composto LqIT/CS-01..... 55

Figura 20 – Espectro de infravermelho do LqIT/CS-01..... 57

Figura 21 – Espectros de absorção dos compostos LqIT/CS-07 e LqIT/CS-03 na presença de quantidades crescentes de ssDNA. [DNA]=0,10,20,40,60,80,100. As setas apontando para cima e para a esquerda indicam respectivamente a presença do efeito hipercrômico e hipsocrômico, respectivamente. Inserção: correspondente ao gráfico de [DNA]/(Ea - Ef) em função da concentração de DNA, conforme determinado a partir dos dados espectrais..... 69

Figura 22 – Espectros de absorção dos compostos LqIT/CS-06 e LqIT/CS-02 na presença de quantidades crescentes de ssDNA. [DNA]=0,10,20,40,60,80,100. As setas apontando para baixo e para a esquerda indicam respectivamente a presença do efeito hipocrômico e hipsocrômico, respectivamente. Inserção: correspondente ao gráfico de [DNA]/(Ea - Ef) em função da concentração de DNA, conforme determinado a partir dos dados espectrais..... 70

Figura 23 – Efeitos hipercrômico e batocrômico evidenciados nos compostos LqIT/CS-01 e CS-03 respectivamente..... 72

Figura 24 – Espectros de absorção da BSA na presença de LqIT/CS-03 e 04 em quantidades crescentes de [LqIT/CS]=0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40. As setas apontando para cima e para a esquerda indicam respectivamente a presença do efeito hipercrômico e hipsocrômico, respectivamente. Inserção: correspondente ao gráfico de [LQIT/JF]/(Ea - Ef) em função da concentração do derivado, conforme determinado a partir dos dados espectrais..... 75

Figura 25 – Espectros de absorção da BSA na presença de LqIT/CS-01 e 07 em quantidades crescentes de [LqIT/CS]=0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40. As setas apontando para baixo e para a esquerda indicam respectivamente a presença do efeito hipercrômico e hipsocrômico, respectivamente..... 78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estruturas de alguns medicamentos comercializados que apresentam núcleos heterocíclicos em destaque, nomenclatura, classe terapêutica e mecanismos de ação..... 22

Tabela 2 – Diferentes atividades biológicas de medicamentos comercializados contendo o núcleo tiazol..... 27

Tabela 3 – Características físico-químicas e rendimentos do composto intermediário LqIT/LT-53 e dos compostos finais da série LqIT/CS's..... 52

Tabela 4 – Sinais diagnósticos de RMN ^{1}H que comprovam a formação dos derivados indol-tiazólicos……... 54

Tabela 5 – Sinais diagnósticos de RMN ^{13}C que indicam a formação dos derivados indol-tiazólicos……... 56

Tabela 6 – Sinais diagnósticos de IV para caracterização dos novos derivados da série LqIT/CS..... 57

Tabela 7 – Verificação dos parâmetros físico-químicos de acordo com RO5.. 62

Tabela 8 – Valores farmacocinéticos preditivos obtidos através da plataforma pkCSM..... 63

Tabela 9 – Dados espectroscópicos de absorção UV-Vis dos compostos LqIT/CS's livres e interagindo com o ssDNA..... 68

Tabela 10 – Dados espectroscópicos de emissão fluorescente dos compostos LqIT/CS's livres e interagindo com o ssDNA em concentrações crescentes..... 71

Tabela 11 – Dados espectroscópicos de absorção UV-vis da BSA livre e interagindo com quantidades crescentes dos derivados da série LqIT/CS's (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 μM)..... 74

Tabela 12 – Dados espectroscópicos de emissão fluorescente da BSA livre e interagindo com quantidades crescentes dos derivados da série

LqIT/CS's (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 μM)..... 77

Tabela 13 – Viabilidade celular em porcentagem do controle positivo utilizado e dos compostos da série LqIT/CS com seus respectivos substituintes frente a linhagem de macrófagos J774..... 79

Tabela 14 – Viabilidade celular em porcentagem do controle positivo utilizado e dos compostos da série LqIT/CS com seus respectivos substituintes frente a linhagem de células MCF-7..... 80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ar	Aromático
ATX	Autotaxina
BE	Brometo de Etídio
BSA	Albumina do soro bovino (do inglês *Bovine Serum Albumin*)
CDD	Cromatografia de camada delgada
COX	Cicloxigenase
COX-2	Cicloxigenase 2
CT	Depuração total
DAPI	4',6'-diamino-2-fenil-indol
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d6	Dimetilsulfóxido deuterado
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
FBDD	Planejamento de fármacos baseado em fragmentos (do inglês *Fragment-based drug design)*
FDA	Órgão Regulamentador de Alimentos e Medicamentos (do inglês *Food and Drug Administration*
FFREE	Fração livre
HDAC	Histonas desacetilases
HIF	Fator de indução de hipóxia
HSA	Albumina do soro humano (do inglês *Human Serum Albumin*)
HT	Hepatotoxicidade
IC_{50}	Inibição em 50% das células
IV	Infravermelho
KBr	Brometo de potássio
Ksv	Constante de Stern–Volmer
LBDD	Planejamento de fármacos baseado no ligante (do inglês *Ligand-based drug design)*
LqIT	Laboratório de Química e Inovação Terapêutica
m-AMSA	Amsacrina

MCF-7	Linhagem celular de adenocarcinoma de mama
MTDD	Planejamento de fármacos baseado em múltiplos alvos terapêuticos (do inglês *Multi-target drug desing*)
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2, 5-difenil-2H-tetrazólio
P.F	Ponto de Fusão
PFOR	Enzima piruvato ferredoxina oxiredutase
PPAR	Receptor ativado de proliferadores de peroxissomas
QM	Química Medicinal
R*f*	Fator de retenção
RO5	Regra dos cinco
RMN ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze
RMN ^{1}H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
SBDD	Planejamento de fármacos baseado na estrutura do receptor (do inglês *Structure-based drug design)*
SP	Permeabilidade cutânea (do inglês *Skin permeability*)
SREBP	Proteínas de ligação a elementos reguladores de esterol
SS	Sensibilização cutânea
ssDNA	DNA de esperma de salmão
TPSA	Área de Superfície Polar Topológica
Tris	Tetrametilhidroxiaminometano
Trp	Aminoácido triptofanos
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
VCP	Inibidores de valosina-proteína
VDss	Volume de distribuição aparente
WS	Solubilidade em água (do inglês *Water Solubility*)
δ ppm	Deslocamento químico em parte por milhão
λ	Comprimento de onda
ν	Estiramento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 19

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA..... 21

2.1 HETEROCÍCLICOS E SUA RELEVÂNCIA PARA A QUÍMICA MEDICINAL..... 21

2.2 O INDOL E SUA APLICAÇÃO NA SÍNTESE DE NOVOS FÁRMACOS..... 24

2.3 O TIAZOL COMO PORÇÃO DE MOLÉCULAS COM VARIADAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS..... 25

2.4 NÚCLEOS INDOL E TIAZOL NA PROPOSIÇÃO DE NOVOS COMPOSTOS E A IMPORTÂNCIA DAS ANÁLISES IN SÍLICO..... 29

2.5 INTERAÇÃO ENTRE FÁRMACOS E A PROTEÍNA ALBUMINA..... 31

2.6 O DNA COMO ALVO FARMACOLÓGICO..... 33

2.7 A NECESSIDADE DE NOVOS FÁRMACOS PARA COMBATER OS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DO CÂNCER..... 35

3 DELINEAMENTO DA ESTRATÉGIA DE SÍNTESE..... 37

3.1 MECANISMOS REACIONAIS..... 37

3.1.1 Mecanismo reacional para formação do derivado hidrazina tiossemicarbazida (LqIT/T-45)..... 37

3.1.2 Mecanismo reacional para formação do 2-(5-bromo-1H-indol-3-il-metileno)-n-(p-toluil)-hidrazina-carbotioamida (LqIT/LT-53)..... 38

3.1.3 Mecanismo reacional para formação dos derivados 2-((1H-indol-3il)-metileno)-hidrazina)-4-fenil-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS)..... 40

4 OBJETIVOS..... 41

4.1 OBJETIVO GERAL..... 41

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 41

5 METODOLOGIA..... 42

5.1 SEÇÃO EXPERIMENTAL QUÍMICA..... 42

5.1.2 Reagentes e solventes..... 42

5.1.3 Caracterização estrutural..... 42

5.1.4 Procedimento químico experimental..... 43

5.1.4.1 Síntese da tiossemicarbazida..... 43

5.1.4.2 Síntese da tiossemicarbazona..... 43

5.1.4.3 Sínteses dos derivados indol-tiazólicos..... 44

5.1.5 **Estudo in sílico das propriedades farmacocinéticas..... 46**

5.2 SEÇÃO EXPERIMENTAL BIOLÓGICA..... 47

5.2.1 Materiais e Equipamentos..... 47

5.2.2 Preparo da solução estoque..... 47

5.2.3 Preparo das soluções de DNA e BSA..... 47

5.2.4 Espectroscopia de absorção eletrônica do composto livre..... 48

5.2.5 Espectroscopia de absorção eletrônica dos compostos com ssDNA e BSA..... 48

5.2.6 Espectroscopia de emissão de fluorescência do composto livre..... 49

5.2.7 Espectroscopia de emissão de fluorescência com ssDNA e BSA..... 49

5.2.8 Citotoxicidade in vitro em linhagens de células tumorais MCF-7 e viabilidade celular em macrófagos J774..... 50

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 51

6.1 SEÇÃO QUÍMICA..... 51

6.1.2 Características físico-químicas dos compostos sintetizados..... 52

6.1.3 Caracterização por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^{1}H) e de carbono (RMN ^{13}C)..... 52

6.1.4 Caracterização por infravermelho por transformada de Fourrier..... 56

6.1.5 Dados espectroscópicos e espectrométricos dos derivados indol-tiazólicos..... 58

6.1.6 Estudo in sílico das propriedades farmacocinéticas..... 62

6.2 SEÇÃO BIOLÓGICA..... 67
6.2.1 Varredura dos compostos..... 67
6.2.2 Interação com o ssDNA..... 67
6.2.2.1 Espectroscopia de absorção UV-Vis..... 67
6.2.2.2 Espectroscopia de fluorescência..... 71
6.2.3 Interações com BSA..... 73
6.2.3.1 Espectroscopia de Absorção UV-Vis..... 74
6.2.3.2 Espectroscopia de fluorescência..... 76
6.2.4 Viabilidade celular em macrófagos J774..... 78
6.2.5 Citotoxicidade com linhagem tumoral MCF-7..... 80
7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS..... 84
REFERÊNCIAS..... 86
APÊNDICE A – ESPECTROS DE RMN ^{1}H DOS COMPOSTOS LQIT/CS-01 E LQIT/CS-02..... 100
APÊNDICE B – ESPECTROS DE RMN ^{1}H DOS COMPOSTOS LQIT/CS-03 E LQIT/CS-04..... 101
APÊNDICE C – ESPECTROS DE RMN ^{1}H DOS COMPOSTOS LQIT/CS-05 E LQIT/CS-06..... 102
APÊNDICE D – ESPECTROS DE RMN ^{1}H DOS COMPOSTOS LQIT/CS-07 E LQIT/CS-08..... 103
APÊNDICE E – ESPECTROS DE RMN ^{13}C DOS COMPOSTOS LQIT/CS-01 E LQIT/CS-02..... 104
APÊNDICE F – ESPECTROS DE RMN ^{13}C DOS COMPOSTOS LQIT/CS-03 E LQIT/CS-04..... 105
APÊNDICE G – ESPECTROS DE RMN ^{13}C DOS COMPOSTOS LQIT/CS-05 E LQIT/CS-06..... 106
APÊNDICE H – ESPECTROS DE RMN ^{13}C DOS COMPOSTOS LQIT/CS-07 E LQIT/CS-08..... 107
APÊNDICE I – ESPECTROS DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/CS-01 E LQIT/CS-02..... 108
APÊNDICE J – ESPECTROS DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/CS-03 E LQIT/CS-04..... 109

APÊNDICE K – ESPECTROS DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/CS-05 E LQIT/CS-06..... 110
APÊNDICE L – ESPECTROS DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/CS-07 E LQIT/CS-08..... 111
APÊNDICE M – ESPECTROS DE ABSORÇÃO DOS COMPOSTOS LQIT/CS's + DNA..... 112
APÊNDICE N – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA DOS COMPOSTOS LQIT/CS's + DNA..... 113
APÊNDICE O – ESPECTROS DE ABSORÇÃO DA BSA + COMPOSTOS LQIT/CS's..... 114
APÊNDICE P – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA DA BSA + COMPOSTOS LQIT/CS's..... 115

1 INTRODUÇÃO

A química medicinal (QM) possui papel central em vários processos que visam à identificação de novos *hits* e seu desenvolvimento com propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas otimizadas. Entre os estudos realizados buscando o desenvolvimento de novas moléculas com atividades biológicas verificou-se a presença de estruturas químicas também chamadas de *scaffolds*, com destaque para os núcleos heterocíclicos nitrogenados como indol, imidazol, pirazol, piperidina, pirimidina, triazol e tiazol. Tais núcleos têm sido extensivamente estudados e a gama de atividades biológicas permite o desenvolvimento de possíveis candidatos à fármacos de variadas classes terapêuticas (AJANI et al., 2016; DESAI; MAKWANA; RAJPARA, 2016; ALMEIDA et al., 2017).

Ações comprovadas para compostos contendo núcleos nitrigenados incluem atividades hepatoprotetoras (ABU-MELHA et al., 2019), antimaláricas (TSAGRIS et al., 2018), antichagásicas (ÁLVAREZ et al., 2015), anti-inflamatórias (GHONIM et al., 2019), antiulcerosas (MOHAREB; ZAKI; ABBAS, 2015) antituberculosas (MORASKI et al., 2016), antifúngicas (LINO et al., 2018), antibacterianas (REDDY et al.,2016), anti-hipertensivas (STOIČKOV et al., 2018); antivirais (PACCA et al., 2017) e antitumorais (BRAGA et al., 2016; ALTINTOP et al., 2018; MOHAREB; ABDALLAH; MOHAMED, 2018; ABU-MELHA et al.2019).

O indol tem sido utilizado na descoberta de novos agentes terapêuticos com potencial atividade antitumoral, apresentando-se como uma porção importante no desenvolvimento de novos fármacos (KAUSHIK et al., 2013). A associação com outro núcleo que apresente atividade antitumoral conhecida torna-se uma alternativa promissora no desenvolvimento de novos compostos líderes melhorando a atividade biológica, diminuindo os efeitos colaterais e superando a resistência a medicamentos na terapia oncológica (DADASHPOUR; EMAMI, 2018; KUMARI; SINGH, 2019). Outro núcleo que tem ganhado destaque devido a atividade antitumoral é o tiazol e seus derivados, sendo parte constituinte de moléculas promissoras que agem por diferentes mecanismos apresentando em baixas doses uma alta taxa de eficácia e toxicidade reduzida, que é o que se espera de novos agentes terapêuticos no combate ao câncer. (BRAGA et al., 2016; SILVA et al., 2017; COOPER et al., 2017; GOMHA et al., 2017; KRYSHCHYSHYN et al., 2018; SANG et al., 2018).

O câncer é a segunda principal causa de morte em todo o mundo e foi responsável por 9,6 milhões de mortes em 2018 (BRASIL, 2018). O desenvolvimento de novos fármacos com

melhor eficácia e menos efeitos adversos tem sido o grande desafio da química medicinal. Nesse âmbito variados grupos de pesquisa utilizam a ferramenta de condensação de dois ou mais núcleos farmacofóricos sintetizando novas entidades químicas, melhorando o potencial biológico, favorecendo a atuação em alvos terapêuticos mais específicos e diminuindo a toxicidade, propiciando assim o possível surgimento de novos fármacos antitumorais (AJANI et al., 2016; BRAGA et al., 2016; MABKHOT et al., 2018; SHAVETA; SINGH, 2016; COOPER et al., 2017; SILVA et al., 2017)

O conhecimento dos diversos mecanismos envolvidos no desenvolvimento do câncer permite o planejamento de novos fármacos através das estratégias baseadas na estrutura do receptor (SBDD, do inglês *structure-based drug design*). Em contraste, quando a estrutura do alvo eleito não é conhecida, métodos de planejamento de fármacos baseado na estrutura do ligante (LBDD, do inglês *ligand-based drug design*) podem ser utilizados, explorando propriedades e características de séries de ligantes bioativos. Também pode ser utilizada a estratégia de múltiplos alvos no planejamento de novos fármacos (MTDD do inglês *mult-target drug desing*) ou ainda a estratégia de desenho de fármacos baseados em fragmentos (FBDD do inglês *fragment-based drug design*) (GUIDO; OLIVA; ANDRICOPULO, 2008; ANDRICOPULO; SALUM; ABRAHAM, 2009; THOMAS et al., 2017).

Dessa forma baseando-se em estudos sobre esses *scaffolds*, o presente trabalho propôs a síntese de novos derivados indol-tiazólicos com a finalidade de avaliar a atividade antiproliferativa *in vitro* e verificar como possível mecanismo de ação a interação com DNA e a interação com albumina, além de predizer, através de análise *in sílico*, as propriedades farmacocinéticas dos compostos da série LqIT/CS's.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

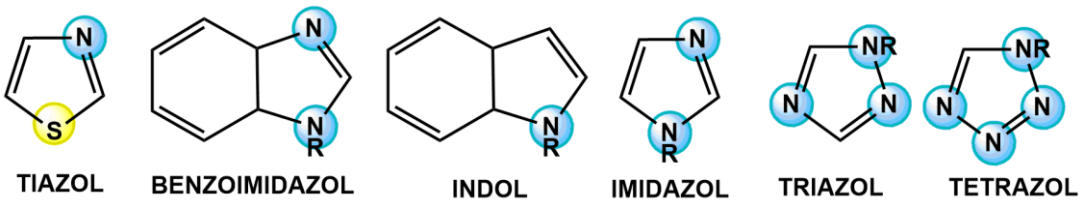
2.1 HETEROCÍCLICOS E SUA RELEVÂNCIA PARA A QUÍMICA MEDICINAL

Os compostos heterocíclicos podem apresentar variados átomos na composição do anel, porém geralmente são encontrados os átomos de oxigênio, nitrogênio e enxofre. De acordo com o heteroátomo presente no núcleo e a quantidade total de átomos constituintes do anel podem ocorrer interferências nas propriedades físico-químicas e consequentemente nas respectivas atividades biológicas. As diferentes combinações que podem ser feitas nas estruturas dessas moléculas são responsáveis pela gama de aplicação terapêutica (MARTINS et al., 2015).

Apesar de alguns compostos heterocíclicos apresentarem algumas limitações de uso devido às próprias características físico-químicas ou toxicidade, estas podem ser contornadas por meio de mudanças estruturais na molécula que otimizam os resultados obtidos (MARTINS et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017). Os heterocíclicos nitrogenados estão presentes em 59% dos fármacos aprovadas pela FDA (*Food and Drug Administration*) tornando-os as estruturas mais significativas e privilegiadas entre os produtos farmacêuticos, podendo apresentar anéis que variam de três a oito membros (VITAKU; SMITH; NJARDARSON, 2014).

Entre os heteroaromáticos destacam-se o tiazol, o benzoimidazol, o indol, o imidazol, o triazol e o tetrazol. Desses, apenas o primeiro contém um átomo de enxofre, os demais apresentam apenas o nitrogênio como heteroátomo (Figura 1), além da presença desses átomos diferentes de carbono e hidrogênio, o núcleo indol e o benzoimidazol apresentam-se condensados a um anel de 6 membros constituídos apenas por carbono (VITAKU; SMITH; JNARDARSON, 2014; MARTINS et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017). O conhecimento específico sobre o alvo molecular e os aspectos referentes à eficácia e segurança, fornecem uma base sólida para elucidação e proposição de novas rotas sintéticas e mecanismos de ação, somadas a existência de medicamentos já comercializados contendo anéis nitrogenados servem como estímulo para a obtenção de novos fármacos que contenham essas estruturas (VITAKU; SMITH; NJARDARSON, 2014; ALMEIDA et al., 2017; ANDRADE; KÜMMERLE; GUIDO, 2018).

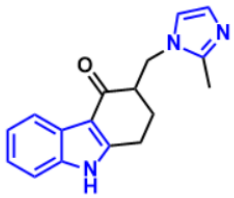
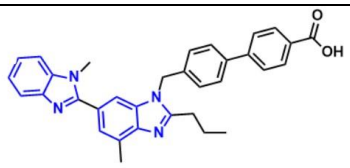
Figura 1 - Heterocíclicos nitrogenados com anéis de cinco membros

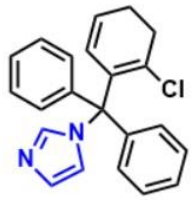
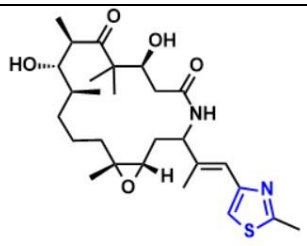
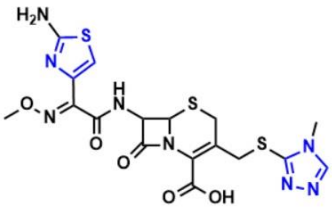
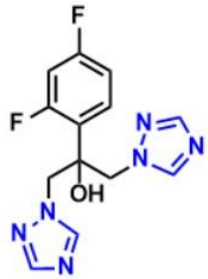
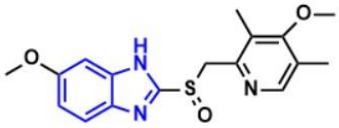


FONTE: O autor

Essas estruturas representadas acima estão presentes em princípios ativos de diferentes medicamentos que alcançaram êxito na prática clínica, todas apresentam em comum um ou mais núcleo nitrogenado, e servem para representar e confirmar a ampla gama de atividades biológicas desses núcleos de interesse no campo da química medicinal visando diversos fins terapêuticos. Tais moléculas agem por mecanismos diversos (tabela 1) por meio da interação com receptores apresentando ações específicas dentro do organismo (VITAKU; SMITH; NJARDARSON, 2014).

Tabela 1 - Estruturas de alguns medicamentos comercializados que apresentam núcleos heterocíclicos em destaque, nomenclatura, classe terapêutica e mecanismos de ação.

Nomenclatura	**Anel heterocíclico**	**Classe terapêutica**	**Mecanismo de Ação**
 Ondasentrona	Indol e Imidazol	Antiemética	Antagonista dos receptores 5-HT_3 (KAUSHIK et al., 2013)
 Telmisartana	Benzo-Imidazol	Anti-hipertensivo	Antagonista do receptor de angiotensina (GABA et al., 2014)

 Clotrimazol	Imidazol	Antifúngico	Inibidor da síntese de ergosterol (ZHANG et al., 2014a)
 Ixabepilona	Tiazol	Anticâncer (pele)	Inibidor de microtúbulos (BROGDON;LEE; CANETTA, 2014)
 Cefmenoxime	Tiazol e Tetrazol	Antibiótico	Inibidor da síntese da parede celular bacteriana (MYZNIKOV; HRABALEK; KOLDOBSKII, 2007)
 Fluconazol	Triazol	Antifúngico	Inibidor da síntese de ergosterol (CARRILO-MUNOZ et al., 2006)
 Esomeprazol	Benzo-imidazol	Antiulceroso	Inibidor da bomba de prótons (SACHS;SHIN; HOWDEN, 2006)

FONTE: O autor.

O presente trabalho propôs a síntese de novos derivados indol-tiazólicos e os aspectos específicos de cada um desses *scaffolds* serão descritos nas próximas secções.

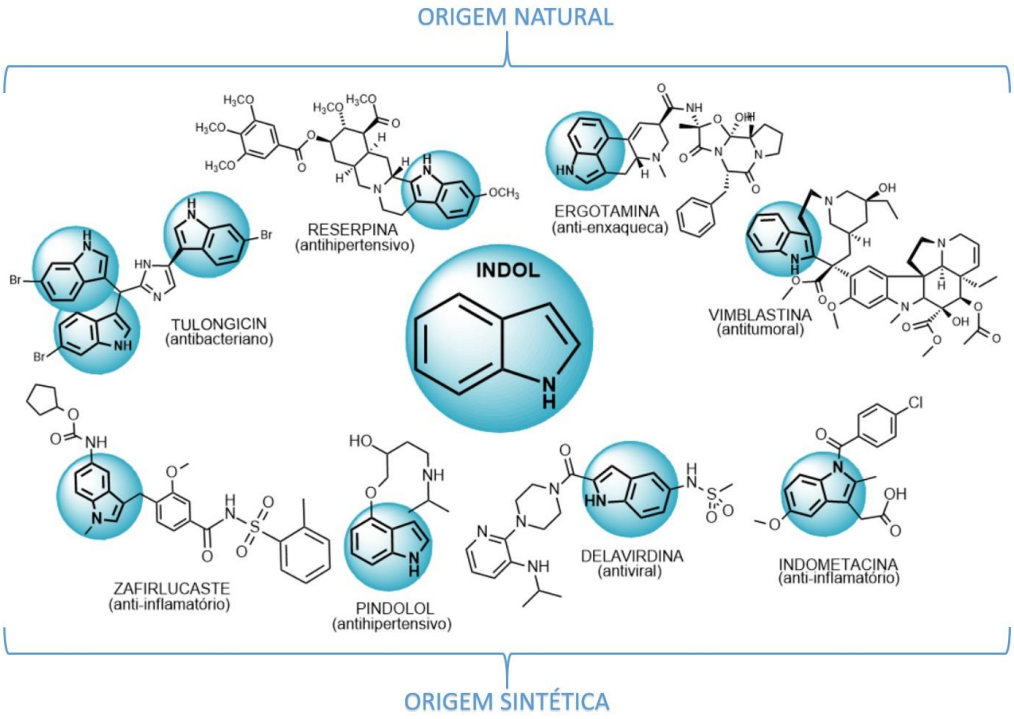
2.2 O INDOL E SUA APLICAÇÃO NA SÍNTESE DE NOVOS FÁRMACOS

O indol ou benzo [b] pirrol um heteroaromático bicíclico planar com fórmula C_8H_7N contendo anel de benzeno de seis membros fundido ao anel de pirrol contendo nitrogênio de cinco membros, é relatado como um importante bloco de construção no campo da química medicinal (KAUSHIK et al., 2013). É um núcleo no qual dez elétrons π se movem pela estrutura, e se comporta como uma base fraca. Isso se deve à deslocalização do par de elétrons do átomo de nitrogênio para o sistema eletrônico-π que circula livremente por todo o anel indólico. Portanto, o par de elétron no nitrogênio não está disponível para protonação e é protonado no C-3 porque esta posição, devido à retenção da aromaticidade, é termodinamicamente mais estável (BARLUENGA; VALD'ES, 2011).

A natureza versátil do indol permitiu que ele se destacasse nos estudos de descoberta de potenciais novos fármacos, tendo grande significado nos últimos anos devido à sua variedade de atividades farmacológicas (Figura 3) (PATIL; PATIL; PATIL, 2017). Fisiologicamente é parte constituinte do triptofano, um aminoácido essencial que interfere diretamente na síntese proteica e na regulação de importantes mecanismos fisiológicos como precursor da serotonina e da vitamina B3. Os seus derivados podem ser obtidos através de métodos sintéticos ou encontrados na natureza em vegetais e organismos marinhos como algas, esponjas e microrganismos (KAUSHIK et al.,2013).

Moléculas contendo essas estruturas heteroaromáticas planares apresentam diversas atividades biológicas tais como anti-inflamatória (OZDEMIR et al., 2015), antiviral (ZHANG; CHEN; YANG, 2015; SCUOTTO et al., 2016), anticonvulsivante (SWATHI; SARAGAPANI, 2015), antibacteriana (SANNA et al., 2018), antidepressiva (PATIL; BARI, 2016), anti-hipertensiva (PANDA et al., 2012), hipoglicemiante (TZVETKOV et al., 2014), e notável propriedade antitumoral (MEHNDIRATTA; NEPALI; SATAPATHY, 2017; ZHANG et al., 2014b; MARTINO et al., 2006; BAYTAS et al., 2014). Embora a inibição da formação dos microtúbulos seja o principal mecanismo de atuação anticancerígena, novos alvos têm sido explorados como as proteínas quinases, DNA topoisomerase, histonas desacetilases (HDACs) e sirtuínas (KUMARI; SINGH, 2019).

Figura 2 - Estruturas químicas naturais e sintéticas contendo o núcleo indol



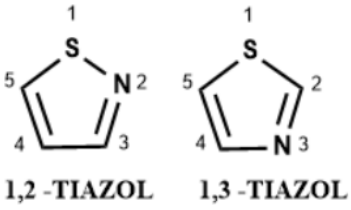
FONTE: O autor

Os bancos de dados do FDA revelaram o significado dos heterocíclicos contendo nitrogênio no projeto de fármacos. Entre essas moléculas, os derivados de indol estão na nona posição das 25 principais moléculas em 2015, envolvidas na síntese de medicamentos fundamentais aprovados pela FDA, o que justifica a síntese dos derivados aqui propostos (VITAKU, SMITH; NJARDARSON, 2014).

2.3 O TIAZOL COMO PORÇÃO DE MOLÉCULAS COM VARIADAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Os tiazóis são heteroaromáticos pentagonais, apresentando três átomos de carbono, um átomo de enxofre e um de nitrogênio. A disposição desses átomos no anel heterocíclico pode variar de duas maneiras levando a existência do 1,2-tiazol ou 1,3-tiazol (Figura 3). O tiazol é um farmacóforo que ocupa um lugar de destaque na química medicinal devido à sua reatividade e atividade biológica sendo amplamente encontrado em fármacos aplicados no combate de doenças de modo geral (AYATI et al., 2015; ROUF; TANYELI, 2015).

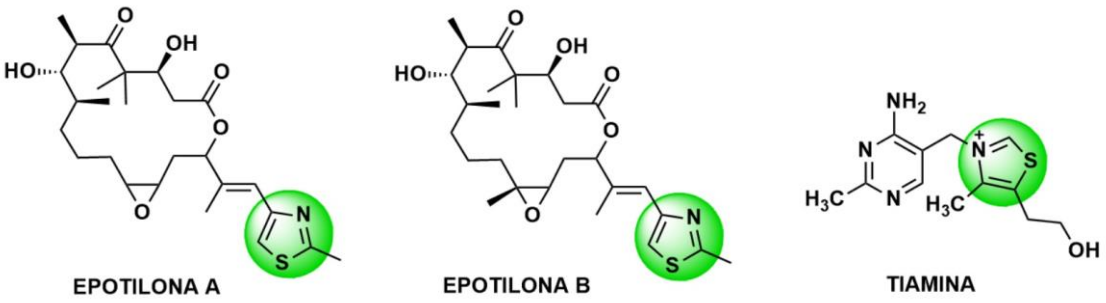
Figura 3 - Diferença estrutural nos anéis tiazólicos



FONTE: O autor

Essas estruturas podem ser encontradas naturalmente nas epotilonas, substâncias produzidas por fungos que apresentam atividade antifúngica e antitumoral, e na Tiamina (vitamina B_1), sendo esta essencial para a síntese de neurotransmissores como a acetilcolina e o ácido gama-amino-butírico (figura 4). De forma sintética ele foi obtido primeiramente por Hantzch e Waber, em 1887, por meio da reação de tioamidas e halocetonas, tal método se estabeleceu como o mais utilizado para obtenção de tiazóis, mas existem outros métodos como o de Cook-Heilborn e Robinson-Gabriel, que utilizam outras substâncias de partida. Com o passar dos anos novos métodos de obtenção foram implementados com modificações dos métodos clássicos, utilizando-se inclusive princípios da química verde, que promove a síntese utilizando substâncias menos nocivas ao meio ambiente (ROUF; TANYELI, 2015; CHHABRIA et al., 2016).

Figura 4 - Derivados tiazólicos de origem natural.



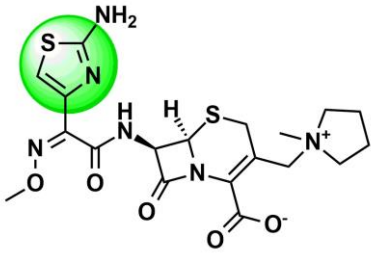
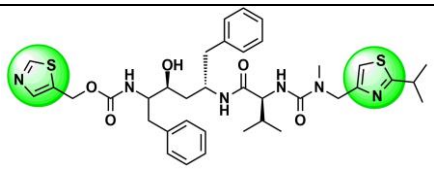
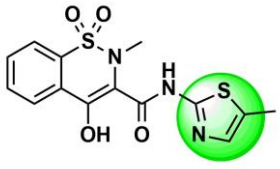
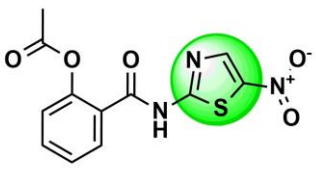
FONTE: O autor

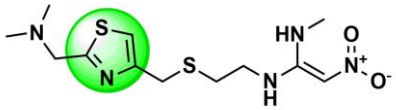
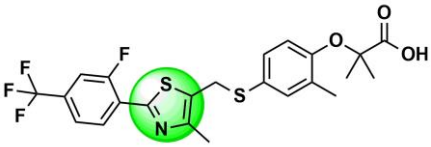
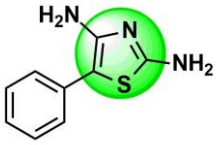
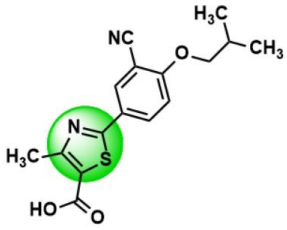
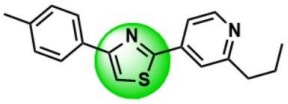
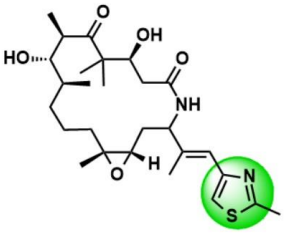
Esta estrutura ganhou sua evidência apresentando atividade antibacteriana (KASHYAP, 2012), antidiabética (DATUSALIA; KHATIK, 2018), antituberculose (LU et al., 2012), antirretroviral (MELEDDU et al., 2016), anti-inflamatória (MUHAMMAD et al.,

2017), anti-helmíntico (AMNERKAR; BHONGADE; BHUSARI, 2014), antioxidante (REDDY et al., 2015), antitumoral (SANTOS et al., 2016; EJAZ et al.,2018), cardiotônico (DUAN et al., 2015) diurético (AYATI et al.,2015), imunomoduladora (SANTOS et al., 2016) entre outras (VITAKU; SMITH; NJARDARSON, 2014).

Este núcleo está presente em medicamentos com atividade antibacteriana, antirretroviral, anti-inflamatória, antiparasitária, antitumoral entre outras, atuando por mecanismos de ação diversificados como podemos observar na tabela 2 (VITAKU; SMITH; NJARDARSON, 2014; CHHABRIA et al., 2016; FRIJA; POMBEIRO; KOPYLOVICH, 2016).

Tabela 2 - Diferentes atividades biológicas de medicamentos comercializados contendo o núcleo tiazol

Estrutura Molecular e Nomenclatura	**Nome do medicamento**	**Classe Terapêutica**	**Mecanismo de Ação**
	CEFEPIME	Antibacteriano	Inibidor da síntese da parede celular bacteriana (KASHYAP et al., 2012)
	RITONAVIR	Antirretroviral	Inibidor de protease (GALLANT et al., 2013)
	MELOXICAM	Anti-inflamatório	Inibidor da COX preferencialmente COX 2 (TURCK et al., 1997)
	NITAZOXANIDA	Antiparasitário	Inibidor da PFOR (WHITE JR., 2004)

	NIZATIDINA	Antiulceroso	Inibidor dos receptores H2 (GOLIN-JONES, 1995)
	DASATINIBE	Antineoplásico	Inibidor da proteína Quinase (KANTARIJAN et al., 2010)
	SODELGLITAZAR	Antidiabético	Agonista do receptor PPAR (LIU et al., 2011)
	AMIFENAZOL	Antídoto para overdose de barbitúricos e opiáceos	Antagonista da morfina/ Estimulante respiratório (CRESPO et al., 1999)
	FEBUXOSTAT	Anti-hiperuricêmico	Bloqueador da enzima xantina oxidase (SCHUMACHER et al., 2002)
	FATOSTATIN	Antineoplásico	Bloqueio das SREBP (XIANGYAN et al., 2014)
	IXABEPILONA	Antineoplásico	Estabilizador da formação dos microtúbulos (RUGO et al., 2012)

Legenda: COX: cicloxigenase; COX-2: Cicloxigenase-2; PFOR: Enzima piruvato ferredoxina oxidoredutase; PPAR: Receptor ativado de proliferadores de peroxissomas; SREBP: Proteínas de ligação a elementos reguladores de esterol. FONTE: O autor

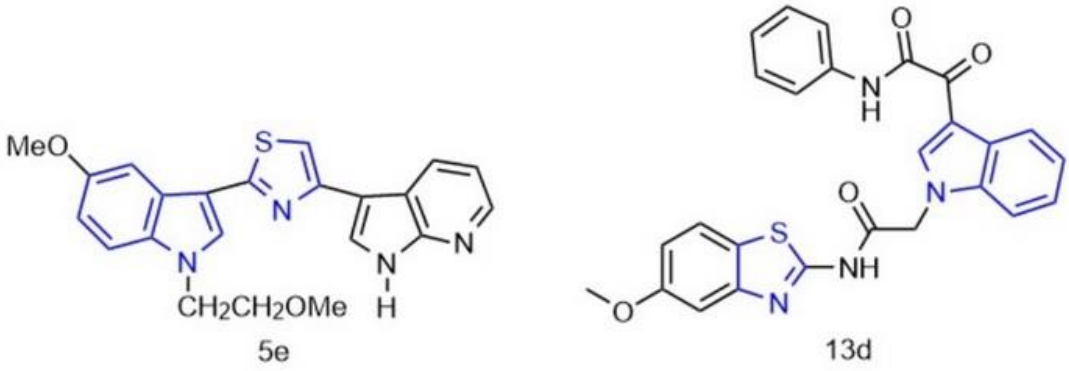
A atividade antitumoral do tiazol vem sendo sustentada por pesquisas que atribuem a esse núcleo propriedades inibitórias de proteínas quinases (DAS; SIKDAR; BAIRAGI, 2016) inibição da polimerização de tubulinas (GUGGILAPU et al., 2017), indutores de degradação do fator de indução de hipóxia (HIF) (HUSSEIN et al., 2017), inibidores de valosina-proteína (VCP) (BURSAVICH et al., 2010), inibidor de autotaxina (ATX) (BALUPURI et al., 2017) entre outros mecanismos sendo extensivamente estudado devido à sua potencialidade antitumoral por diferentes vias celulares.

Diversos grupos de pesquisa exploram este núcleo devido as potenciais chances de alcançar sucesso no planejamento e síntese de novas moléculas candidatas a fármaco antineoplásicos. Tais estudos podem estabelecer: a) novas rotas sintéticas para obtenção dessas moléculas; b) aplicação de novas tecnologias como o uso de testes *in sílico* com o intuito de selecionar as moléculas potencialmente mais promissoras; c) avaliação das atividades frente a diferentes linhagens celulares tumorais *in vitro*; d) verificar a interação com diferentes biomoléculas, investigando assim possíveis mecanismos de ação (BRAGA et al.,2016; GOMHA et al., 2017; SILVA et al., 2017; ALTINTOP et al.,2018; MANN et al., 2018; O'DEA et al., 2018).

2.4 NÚCLEOS INDOL E TIAZOL NA PROPOSIÇÃO DE NOVOS COMPOSTOS E A IMPORTÂNCIA DAS ANÁLISES *IN SÍLICO*

A associação entre os farmacóforos indol e tiazol mostrou-se eficaz na obtenção de novos compostos *hit* potencialmente antitumorais (figura 5) exercendo atividade antiproliferativa frente a linhagens de células tumorais MCF-7 (câncer de mama) através da parada do ciclo celular na fase G2/M induzida por inibição de CDK1/ciclina B, tendo como composto destaque o **5e** com GI_{50} de 0,05µM e baixa toxicidade em células não transformadas (PARRINO et al., 2017). O composto **13d** também apresentou bons valores de IC_{50} nas linhagens tumorais DU145, PC-3 (câncer de próstata), A549 (câncer de pulmão) e HCT-15 (câncer de cólon), com valores respectivos de 0,093µM, 0,361µM, 2,1µM e 0,18µM. Ainda foi atribuída ao composto **13d** atividade inibitória da polimerização da tubulina e capacidade de aumentar a concentração das espécies reativas de oxigênio (ERO), promovendo assim a morte por apoptose, além disso demonstrou baixa toxicidade em linhagens de células não transformadas e capacidade de inibir a migração celular na linhagem DU145 (GUGGILAPU et al., 2017).

Figura 5 - Compostos destaques com potencial atividade antitumoral contendo os núcleos indol e tiazol.



FONTE: O autor

O mecanismo antitumoral está intrinsicamente ligado as propriedades farmacocinéticas dessas moléculas, essas características são imprescindíveis no processo de otimização adicional de compostos *hit-to-lead*, potencializando as chances de surgimento de um novo fármaco. Os parâmetros farmacocinéticos de absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade (ADMET) tornaram-se necessários no processo de triagem na seleção de novos candidatos à fármaco (MATIAS et al., 2017; LARIK et al., 2019).

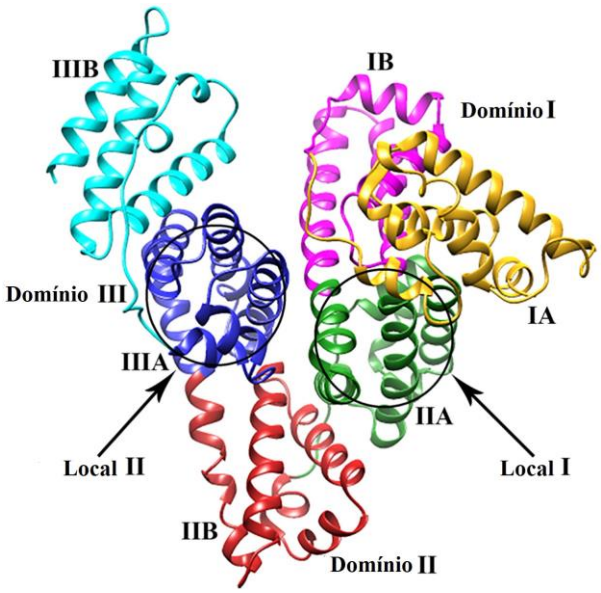
Qazi e colaboradores (2018) utilizaram os parâmetros de ADMET como etapa essencial no seu trabalho de síntese de novas semicarbazonas como potenciais inibidores da urease, destacando a importância da predição do perfil ADMET *in sílico*, e ressaltando a capacidade dessa etapa em classificar as moléculas em status favorável ou desfavorável no processo de descoberta de uma nova molécula com propriedades terapêuticas.

Os estudos de Kuthyala e colaboradores (2019) e Almeida-Júnior e colaboradores (2017) também utilizaram o recurso dessas análises *in sílico* que podem trazer indícios de parâmetros que vão desde a solubilidade eficaz do ligante, fator que interfere diretamente na absorção, passando por parâmetros ligados ao volume de distribuição da droga, caracterizando porções que estão ligadas às proteínas ou livres no plasma até dados de metabolização enzimática, depuração e toxicidade. Como o comportamento farmacodinâmico depende de fatores como captação e distribuição, as ligações às proteínas plasmáticas se apresentam como uma variável de extrema importância e que deve ser devidamente investigada (CARTER; HO,1994; KUTHYALA et al., 2019). Portanto é importante o estudo de ligações a proteínas séricas de novos derivados obtidos a partir da junção dos núcleos indol e tiazol.

2.5 INTERAÇÃO ENTRE FÁRMACOS E A PROTEÍNA ALBUMINA

Dentre todas as proteínas presentes no plasma a albumina sérica humana (HSA) se destaca em quantidade, representando cerca de 60% das proteínas plasmáticas totais, correspondendo a uma concentração de 42mg/mL e apresentando como principais funções a manutenção da pressão osmótica coloidal, além de atuar como depósito e transporte de substâncias endógenas como ácidos graxos, vitaminas, bilirrubina, metabólitos e aminoácidos e exógenas como fármacos (MELOUN; MORAVEK; KOSTKA, 1975; ZHAO et al., 2015). Trata-se de uma proteína globular não glicosilada de cadeia única composta por 585 resíduos de aminoácidos e 17 pontes de dissulfeto, devido a 34 cisteínas presentes na molécula. Sua estrutura pode ser dividida em três domínios homólogos I, II e III, sendo cada um destes subdividido em subdomínios A e B (KOCH-WESER; SELLERS, 1976; WANG et al., 2013). Os principais locais de interação à molécula ligante na HSA situam-se em cavidades hidrofóbicas nos subdomínios IIA e IIIA, que também são respectivamente denominados de local I e local II (Figura 6) (SUN; WANG, 2017).

Figura 6 - Estrutura da albumina do soro humano (HSA) com os respectivos locais de interação com ligantes destacados e cada subdomínio em cores distintas.



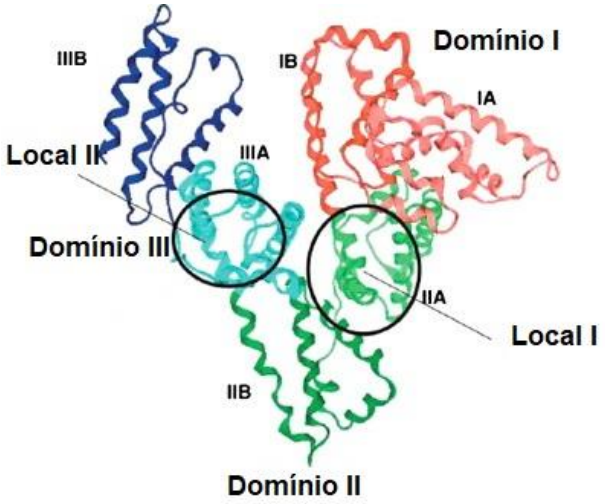
FONTE: MONDAL et al., 2017

As interações entre a albumina e as moléculas ligantes e sua capacidade de transportar e fornecer substâncias, sejam elas endógenas ou exógenas, pela corrente sanguínea até órgãos-

alvo vem sendo amplamente explorada no decorrer dos anos (SUN; WANG, 2017; GOUVEIA et al., 2018; SILVA et al., 2018; MENEZES et al., 2019; RIBEIRO et al., 2019; SALEM et al., 2019; YASREBI; TAKJOO; RIAZI, 2019; ERMAKOVA; DANILOVA; KHAIRUTDINOV, 2020). Grande parte desses estudos realizados utilizam além da HSA, a albumina do soro bovino (BSA), devido à similaridade de 76% na sequência de aminoácidos e homologia de 80% entre essas duas proteínas. Estas características somadas a ampla caracterização da BSA e apresentação das mesmas funções biológicas, a torna adequada para realização de estudos de interação proteína-ligante como pode ser notado nos estudos realizados com a HSA (GELAMO; TABAK, 2000; LIU et al., 2018; RAFOLS et al., 2018; KUMAR; MASRAN, 2019; SILVA-FILHO et al., 2019).

A BSA é composta por 582 aminoácidos, e também é dividida em 3 domínios homólogos e dispostos linearmente I-III, cada um deles é subdividido em A e B, estando unidos por 17 ligações dissulfetos, apresentando em sua estrutura 2 triptofanos localizados na posição 134 (no domínio I) e 212 (na bolsa hidrofóbica do domínio II), enquanto a HSA apresenta apenas o resíduo Trp-214, o que faz com que ambas apresentem uma fluorescência intrínseca. Os locais de ligação às substâncias endógenas ou exógenas da BSA encontram-se em cavidades hidrofóbicas presentes nos subdomínios IIA e IIIA, também chamados de local I e II semelhantes ao da HSA (METI et al., 2015; SURYAWANSHI et al., 2016; ROY et al., 2017) (Figura 7).

Figura 7 - Estrutura da albumina do soro bovino (BSA) com os respectivos locais de interação com ligantes destacados e cada domínio em cores distintas.



FONTE: CAI et al., 2010.

A interação ligante-proteína é de extrema importância para o entendimento das propriedades farmacológicas e farmacocinéticas dos medicamentos, a vasodilatação que ocorre no ambiente tumoral leva ao acúmulo relativamente alto de albumina no ambiente tumoral, esta pode ser considerada como um bom veículo na utilização de drogas anticâncer como o paclitaxel e a doxorrubicina (LI et al., 2014; GUHATHAKURTA et al., 2017). Além desses medicamentos utilizados na terapêutica, existem estudos que investigam a interação entre a albumina e potenciais candidatos à fármaco com atividade antitumoral (MONDAL et al., 2017; TAKARADA et al., 2017; SILVA et al., 2018; MEDJEDOVIC et al., 2019)

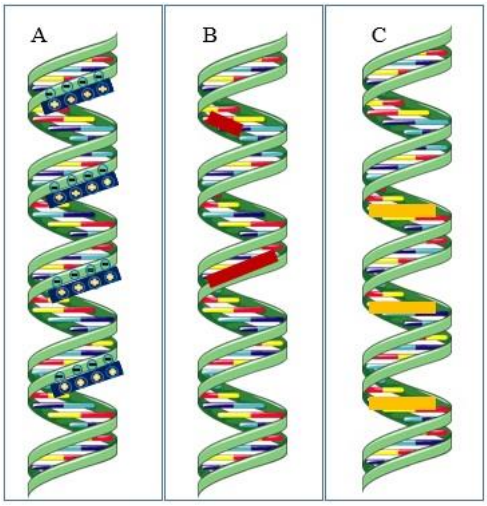
2.6 O DNA COMO ALVO FARMACOLÓGICO

Os mecanismos pelos quais essas moléculas candidatas à fármacos anticâncer atuam são bem diversificados, entre eles temos: inibições da enzima de ligação ao elemento regulador de esterol (SREBP) (XIANGYAN et al., 2014), inibição da formação de microtúbulos (RUGO et al., 2012; BROGDON; LEE; CANETTA, 2014), aumento das EROS (LEE et al., 2016; GUGGILAPU et al., 2017), inibição de proteínas quinases (DAS; SIKDAR; BAIRAGI, 2016), indução da degradação do HIF (WANG et al., 2016; HUSSEIN et al., 2017), inibição de VCP (BURSAVICH et al., 2010), inibição de ATX (BALUPURI et al., 2017) parada do ciclo celular na fase G2/M induzida por inibição de CDK1/ciclina B (PARRINO et al., 2017), inibição de anidrase carbônica IX (PEERZADA et al.,2018; ELDEHNA et al., 2018) inibição da topoisomerase (RIBEIRO et al.,2019) e intercalação com DNA (WANG et al., 2011; GUPTA et al., 2018; TOMCZYK; WALCZAK, 2018; JAFARI et al., 2019).

A interação entre fármacos e DNA, provoca mudanças fisiológicas nessa biomolécula, dessa forma esse mecanismo tem sido amplamente explorado e apresenta alta importância no desenvolvimento de novos medicamentos anticâncer. Essas moléculas, também chamadas de ligantes de DNA podem alterar a conformação do DNA, bem como impedir a replicação e transcrição dessa biomolécula, favorecendo dessa forma a inibição do crescimento das células tumorais (ALMEIDA et al., 2017; TOMCZYK; WALCZAK, 2018; JAFARI et al., 2019).

As três principais maneiras de interação reversível entre o ligante-DNA são: interações na espinha dorsal aniônica do DNA (sendo essas geralmente inespecíficas) (figura 8A), interações nos sulcos (maior ou menor) (figura 8B) e empilhamento entre os pares de base (figura 8C) (ALMEIDA et al., 2017; TOMCZYK; WALCZAK, 2018; MARQUES et al., 2019).

Figura 8 - Modos de interação e formação do complexo reversível ligante –DNA.



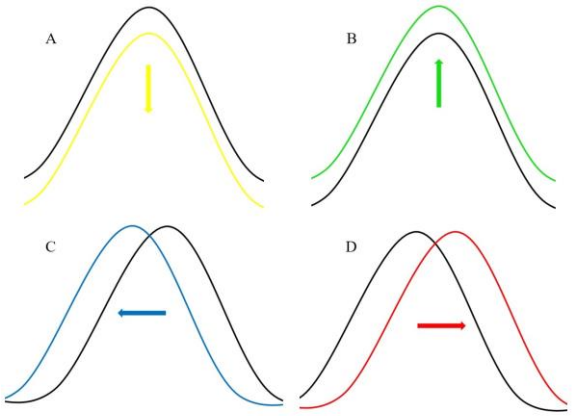
FONTE: O autor.

A primeira maneira (figura 8A) de interação é tida como inespecífica pois trata-se de uma interação baseada na atração eletrostática entre uma porção catiônica do ligante com a porção aniônica da face externa da dupla hélice do DNA, devido a presença do grupo fosfato. A segunda forma (figura 8B) é a interação nos sulcos, estas podem ocorrer tanto nos sulcos maiores ou menores e são classificadas como ligações não covalentes, assim como a terceiro tipo (figura 8C) que é a intercalação entre os pares de bases. Nessa última, os anéis aromáticos dos ligantes ocupam os espaços entre os pares de bases do DNA com consequente aumento a distância entre elas (KABIR; HOSSAIN; KUMAR, 2013; OZLUER; KARA, 2014; ALMEIDA et al. 2017).

Essas interações entre os ligantes e biomoléculas, seja albumina ou DNA, podem ser verificadas por meio de análises espectroscópicas de absorção e/ou fluorescência, onde a ocorrência de alterações nas intensidades dos picos, ou deslocamentos dos mesmos para outros comprimentos de onda servem como indícios de uma possível alteração na conformação/estrutura molécula em estudo. Essas alterações variam em 4 tipos e podem indicar qual o tipo de interação ocorre, a primeira delas é o hipocromismo (figura 9A), que corresponde a uma diminuição da intensidade da luz absorvida/emitida (BAS et al., 2018). A segunda é o hipercromismo (figura 9B), que também está relacionada a intensidade do pico formado, tratando-se então de um aumento na intensidade de luz absorvida/emitida (SHAHADABI; MAGHSUDI, 2014). O terceiro efeito é hipsocrômico (figura 9C), este ocorre quando o pico máximo é deslocado para a região que abrange menores comprimentos de onda (região do azul) (CANOVIC et al., 2017). Por fim, o efeito o batocrômico (figura

9D), ocorrendo quando o pico máximo de absorção é deslocado para um comprimento de onda mais longo (região do vermelho) (PAWAR; OTTOOR, 2018).

Figura 9 - Alterações observáveis em espectros de absorção e fluorescência que estão relacionadas à interação ligante-biomolécula, sendo A (hipocromismo), B (hipercromismo), C (hipsocromismo) e D (batocromismo).



FONTE: O autor.

Os efeitos exemplificados na figura 9 servem para avaliação da interação ligante-biomoléculas, podendo então fornecer dados relacionados tanto à farmacocinética, quando falamos da albumina, quanto dados farmacodinâmicos quando se trata da interação com o DNA, estes dados podem ainda servir como indícios de possíveis mecanismos de ações de moléculas candidatas à fármacos antitumorais (ALMEIDA et al., 2017; VARRICA et al., 2018; JAFARI et al., 2019).

2.7 A NECESSIDADE DE NOVOS FÁRMACOS PARA COMBATER OS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DO CÂNCER

A busca por novos agentes antitumorais é justificada pela alta incidência de câncer somada a altas taxas de mortalidade, sendo a segunda principal causa de morte no mundo e responsável por mais de 9,6 milhões de mortes em 2018 (BRASIL, 2018). Diversos mecanismo estão sendo estudados para uma maior elucidação de como essa doença consegue vencer as barreiras do sistema imunológico, mantendo-se em progressão e por muitas vezes até tornando-se resistente aos medicamentos utilizados na prática clínica (YOUSSIF et al., 2018; GUO et al., 2019; MARQUES et al., 2019).

Para um melhor entendimento de como ocorrem essas adaptações no microambiente tumoral, Hanahan e Weinberg (2011) elencaram as dez principais características do câncer

(Figura 10), tais estratégias para perpetuação do tumor passaram a servir como alvos terapêuticos, e várias moléculas sintéticas vem sendo desenvolvidos de maneira racional objetivando a atuação das mesmas em alvo-específicos, diminuindo assim a toxicidade do tratamento antitumoral (GALDINO-PITTA et al., 2017; HAMDY et al., 2017; GOUVEIA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019; SILVA-FILHO et al., 2019).

Figura 10 - As características do câncer.

FONTE: HANAHAN; WEINBERG, 2011.

Entre os tipos de câncer, o que atinge as células mamárias é o segundo mais frequente em mulheres, perdendo apenas para o câncer de pele não melanoma. Foram 2,09 milhões de casos de câncer de mama registrados em 2018 e cerca de 627 mil mortes à nível mundial, para o triênio 2020-2022 estima-se para cada ano o surgimento de 66.280 casos novos desse tipo de câncer no Brasil (BRASIL, 2018; INCA, 2019). Existem outras alternativas terapêuticas além da quimioterapia, como por exemplo a cirurgia, radioterapia, hormonioterapia e imunoterapia. Entretanto é comum a utilização dessas modalidades de maneira combinada, tendo ainda a quimioterapia adjuvante (pós-cirurgia) mostrado resultados satisfatórios na diminuição de recorrência local e dos casos de morte. Nos esquemas combinados são utilizados mais de um medicamento para promover a redução da toxicidade e resistência, além de aumentar a eficácia do tratamento. É comum a ocorrência de mielossupressão, alopecia, náusea, diarreia, neuropatia, cardiotoxicidade, reações alérgicas graves e infertilidade, o que ressalta mais uma vez a importância do desenvolvimento de novos agentes antitumorais com menor toxicidade e maior eficácia. (CARNEIRO et al., 2018; CHOPRA; DAVIES, 2019).

3 DELINEAMENTO DA ESTRATÉGIA DE SÍNTESE

Com base nos resultados obtidos por Oliveira e colaboradores em 2017, que sintetizou uma série de indóis-tiossemicarbazonas, foi idealizada a rota sintética adotada para a obtenção dos derivados (1*H*-indol-3il)-metileno)-hidrazina)-4-fenil-3-(*p*-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS). A presença do núcleo indol contribuiu para bom resultados de $GI_{50,}$ como por exemplo o derivado LqIT/LT 53 apresentou um GI_{50} para K-562 (leucemia) de 0.16µM, para MCF-7 (mama) de 2,52 µM e para HT-29 (colon) de 1.45µM (PEDROSA, 2017). Para sintetizar a tiossemicarbazona LqIT/LT-53 foi utilizada a estratégia de expansão molecular da tiossemicarbazida LqIT/LT-45 com o aldeído 3-indol carboxaldeído.

Para o desenvolvimento da série (1*H*-indol-3il)-metileno)-hidrazina)-4-fenil-3-(*p*-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS) foi utilizada a estratégia de restrição molecular do LqIT/LT-53 que conduziu a formação do anel tiazol, onde na posição 4 teremos um grupamento fenilico na posição *para* R. Onde R pode ser hidrogênio (não substituído), e/ou grupos que atuam como retiradores de elétrons, tais como os grupamentos NO_2 e CF_3 que desempenham eletronicamente a mesma função, núcleo fenil, e/ou halogênios (F, Cl, Br) que mesmo apresentando efeito indutivo retirador ativam o anel em *orto/para*, e/ou grupamentos -OCH_3 e Ph que atuam como doadores de elétrons também foram utilizados nesse estudo. Tais substituintes são amplamente utilizados nas pesquisas realizadas pelo grupo do laboratório LqIT e têm apresentado bons resultados, mostrando-se potencialmente ativos contra linhagens celulares tumorais.

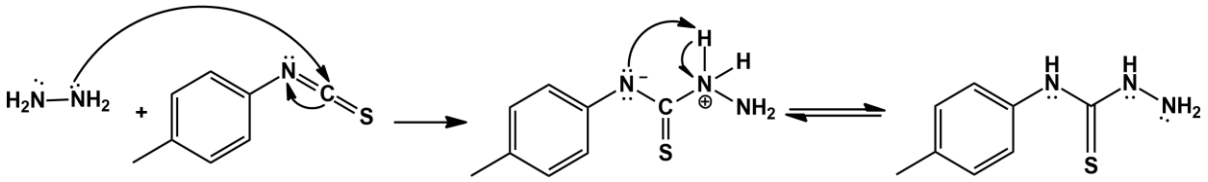
3.1 MECANISMOS REACIONAIS

3.1.1 Mecanismo reacional para formação do derivado hidrazina tiossemicarbazida (LqIT/LT-45)

Na síntese do *N*-(*p*-toluil)-hidrazina-carbotioamida (LqIT/LT-45), o mecanismo geral representa a formação do composto intermediário, ou seja, a tiossemicarbazida que é caracterizado por um ataque simultâneo do nitrogênio da hidrazina ao carbono da tiocarbonila e a deslocalização dos elétrons π (pi) para o nitrogênio vizinho conduzindo a síntese da tiossemicarbazida (figura 11). Após a ruptura da ligação π, ocorre a passagem dos elétrons da ligação C=N para o nitrogênio, este por sua vez torna-se negativo, desprotonando o nitrogênio que apresenta carga positiva, estabelecendo uma carga formal zero em toda a molécula promovendo a formação da tiossemicarbazida (TENORIO et al, 20005; AQUINO, 2007;

PEDROSA, 2017). A presença do grupamento NH_2 torna a tiossemicarbazidas em moléculas com potencial tóxico, sendo utilizadas na química medicinal como compostos intermediários

Figura 11 - Esquema do mecanismo de reação para síntese da tiossemicarbazida LqIT/LT-45.

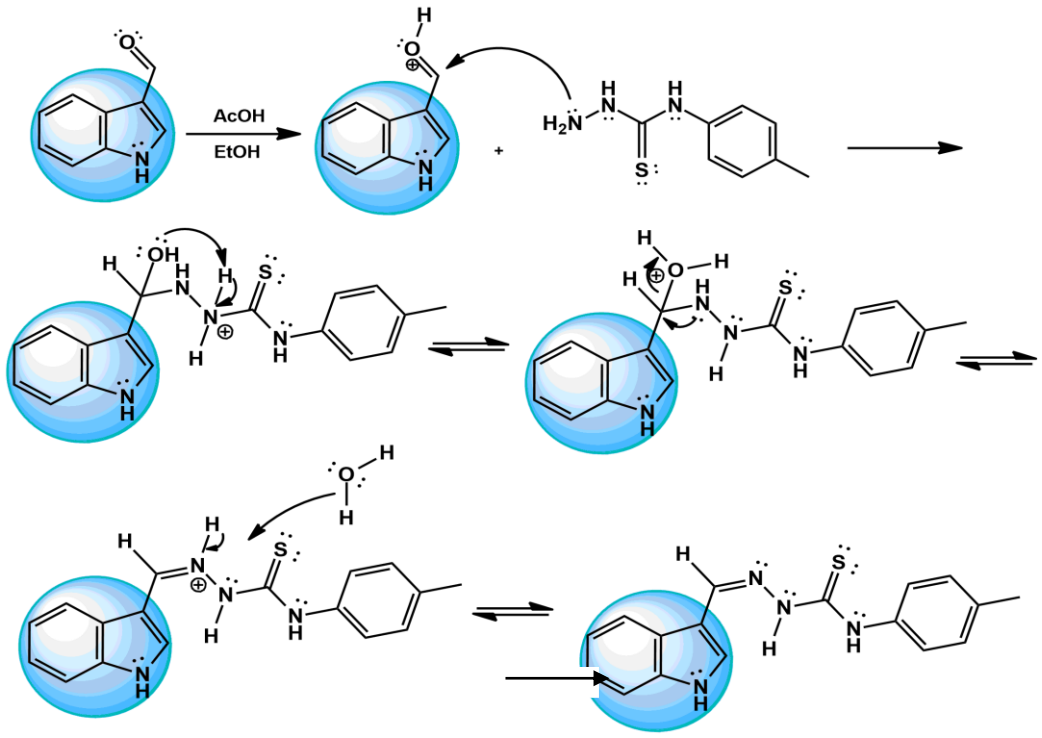


FONTE: O autor.

3.1.2 Mecanismo reacional para formação do 2-(5-bromo-1*H*-indol-3-il-metileno)-*N*-(*p*-toluil)-hidrazina-carbotioamida (LqIT/LT-53)

A síntese do derivado 2-(1*H*-indol-3-il-metileno)-*N*-(*p*-toluil)-hidrazina-carbotioamida (LqIT/LT-53), a partir do *N*-(*p*-toluil)-hidrazina-carbotioamida (LqIT/LT-45), caracteriza-se por uma reação de condensação. O ácido acético atua como catalisador protonando a carbonila da função aldeído do indol formando o íon oxônio. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio N-1 da hidrazina ao carbono positivo do aldeído formando um hemiaminal protonado e uma rápida transferência do próton do nitrogênio para o oxigênio (fenômeno denominado prototropismo). Decorrente a isto, ocorre a deslocalização dos elétrons do nitrogênio com posterior eliminação de água. Por fim, o nitrogênio que agora se encontra positivo é desprotonado pela molécula de água gerando um composto com a função imina (ligação azometínica), formando o derivado indólico-tiossemicarbazona (figura 12) (PEDROSA, 2017).

Figura 12 - Esquema do mecanismo de ação para síntese de LqIT/LT-53.



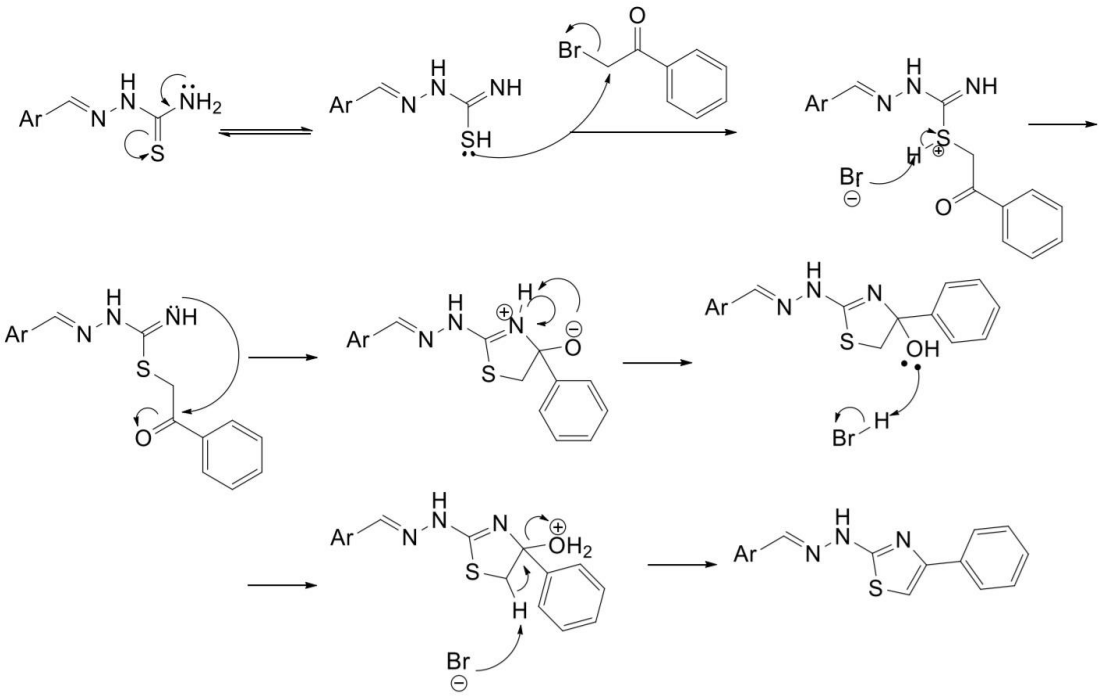
FONTE: O autor.

3.1.3 Mecanismo reacional para formação dos derivados 2-((1*H*-indol-3il)-metileno)-hidrazina)-4-fenil-3-(*p*-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS)

O mecanismo reacional para obtenção dos derivados 2-((1*H*-indol-3il)-metileno)-hidrazina)-4-fenil-3-(*p*-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS) foi descrito inicialmente por Hantzsch em 1887 (SOUZA et al., 2005). Entre os métodos possíveis para obtenção destaca-se a reação de ciclização intramolecular utilizando compostos α-halocarbonílicos com tiossemicarbazonas substituídas (CARDOSO, et al., 2014). A reação tem como ponto de partida o tautomerismo da tiocarbonila e formação de uma imina. Em seguida, ocorre um ataque nucleofílico por meio do par de elétrons livres do átomo de enxofre ao carbono α-halogenado da acetofenona, resultando na saída do halogênio, funcionando como grupo abandonador que logo abstrai o próton ligado ao enxofre. Em continuidade ao mecanismo, o nitrogênio com par de elétrons livres promove um ataque nucleofílico na carbonila, formando assim o anel de cinco membros. Posteriormente, o oxigênio com carga negativa abstrai os hidrogênios ligados ao nitrogênio que apresentava carga positiva e do HBr formado anteriormente. Por fim, ocorre uma reação de desidratação conduzindo a formação do tiazol

como composto final da reação (HALIMEHJANI et al., 2016; LIU et al., 2011; ZHOU et al., 2017; NASCIMENTO et al., 2017).

Figura 13 - Esquema do mecanismo de ação para sínteses dos derivados indol-tiazólicos.



FONTE: NASCIMENTO, 2017

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar, caracterizar e avaliar a potencial atividade antitumoral de novos derivados indol-tiazólicos da série LqIT/CS's.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a síntese de 8 novos derivados indol-tiazólicos da série LqIT/CS;
- Determinar as características físico-químicas dos derivados por meio de ferramentas analíticas como ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono (RMN ^{1}H e RMN ^{13}C) e infravermelho (IV);
- Analisar as propriedades farmacocinéticas ADMET *in sílico* dos compostos da série LqIT/CS's;
- Avaliar o possível perfil de interação dos novos derivados com o ssDNA e a BSA por meio de técnicas espectroscópicas de absorção UV-Vis e emissão de fluorescência;
- Avaliar a viabilidade celular e citotoxicidade *in vitro* dos novos derivados sintetizados em linhagens de células não transformadas macrófagos J774 e em células tumorais mamárias MCF-7.

5 METODOLOGIA

5.1 SEÇÃO EXPERIMENTAL QUÍMICA

5.1.2 Reagentes e solventes

A síntese dos derivados tiazolínicos ocorreu em 3 etapas, onde foram utilizados os seguintes reagentes e solventes: p-toluil-isotiocianato (CAS: 622-59-3 – Sigma-Aldrich®) e hidrazina (CAS: 10217-52-4 – Acros®), cloreto de metileno (CAS: 75-09-2 – Quimex®), indol-3-carboxaldeido (CAS: 487-89-8 – Sigma Aldrich®), álcool etílico (CAS: 64-17-5 – Química Moderna®), ácido acético glacial (CAS: 1186-52-3 – Dinâmica®), 2-bromo-4-fluoracetofenona (CAS: 403-29-2 – Sigma Aldrich®), 2-bromo- 4-cloroacetofenona (CAS: 536-38-9 – Sigma Aldrich®), 2-bromo-4-nitroacetofenona (CAS: 99-81-0 – Sigma Aldrich®), 2,4-dibromoacetofenona (CAS: 99-73-0 – ACROS®), 2-bromoacetofenona (CAS: 70-11-1 – Sigma Aldrich®), 2-bromo-4-fenilacetofenona (CAS: 135-73-9 - ACROS®), 2-bromo-4-trifluoroacetofenona (CAS: 383-53-9 – Sigma Aldrich®), 2-cloro-4-metóxi-acetofenona (CAS: 2196-99-8 – Sigma Aldrich®).

5.1.3 Caracterização estrutural

Foram realizadas leituras utilizando o método de cromatografia em camada delgada (CCD) em placas cromatográficas Polygram Sil G/UV 254 com espessura de 0,20 mm, posteriormente reveladas através de radiação de luz ultravioleta (UV) no comprimento de onda (λ) de 254nm na câmara de radiação ultravioleta Vilber Lourmat®. O monitoramento das reações permitiu a visualização do término após verificação do desaparecimento dos reagentes utilizados inicialmente. A etapa de mensuração do ponto de fusão (P.F) foi realizada em um fusiômetro (Fisatom 431D)através do uso de capilares de vidro com uma das extremidades fechadas.

As análises para caracterização estrutural foram realizadas através das técnicas de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN ^{1}H) e carbono (RMN ^{13}C), utilizando o Agilent ProPulse 300MHz e 75 MHz, respectivamente, a partir de soluções dos compostos em solvente DMSO – d6 , Espectroscopia de Infra-vermelho (IV) na região de 4000-400 cm^{-1} utilizando o equipamento FT-IR/FT-NIR (PerkinElmer, Spectrum 400) à temperatura ambiente

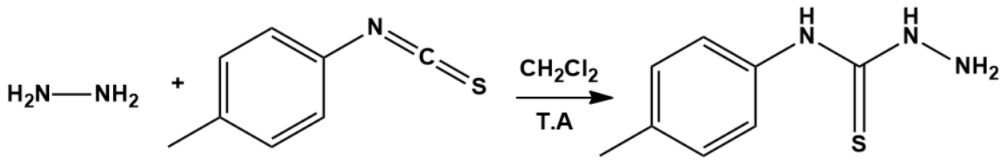
5.1.4 Procedimento químico experimental

5.1.4.1 Síntese da tiossemicarbazida

A primeira etapa consistiu na obtenção da tiossemicarbazida (LqIT/LT-45) seguindo a metodologia aplicada por Gürsoy, Terzioglul, Ötük (1997) e Liesen e colaboradores (2010), onde ocorre uma adição nucleofílica entre a hidrazina e o isotiocianato em proporção molar de 2:1 obtidos comercialmente (Sigma®) (figura 14). Em um balão de fundo redondo de 100mL foi adicionado 20mL de cloreto de metileno/diclorometano e posteriormente adicionou-se 0,98mL (6.701 mmol) do p-toluil-isotiocianato, o balão foi fechado e permaneceu sob agitação à temperatura ambiente, após 10 min. adicionou-se aos poucos (gotejando) 0,41mL (0.429mol) de hidrazina. As condições reacionais foram mantidas e após poucos minutos observou-se a presença de uma turbidez na amostra e logo depois tornou-se possível a visualização da formação de um precipitado branco.

A reação foi acompanhada através de CCD e após 1 hora foi verificado o fim da reação, caracterizado por desaparecimento do isotiocinato inicialmente utilizados. Em seguida, adicionou-se hexano no balão para favorecer a precipitação e então o precipitado foi filtrado em papel de filtro com auxílio de um funil sinterizado e purificado por meio de sucessivas lavagens com cloreto de metileno.

Figura 14 - Obtenção da tiossemicarbazida (LqIT/LT-45)

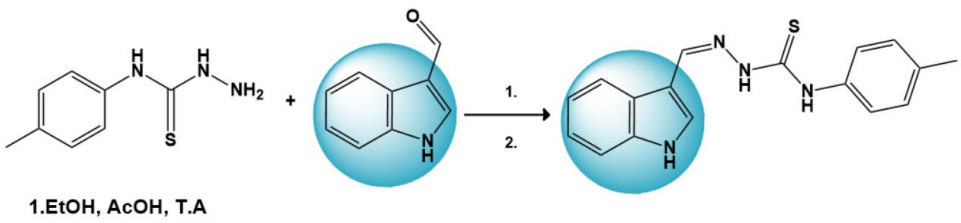


FONTE: O autor

5.1.4.2 Síntese da tiossemicarbazona

A segunda etapa centrou-se na obtenção da tiossemicarbazona (LqIT/LT-53) seguindo a metodologia de Pedrosa (2017) obedecendo à proporção reacional de 1:1 (figura 15).

Figura 15 - Obtenção da tiossemicarbazona (LqIT/LT-53)



FONTE: O autor

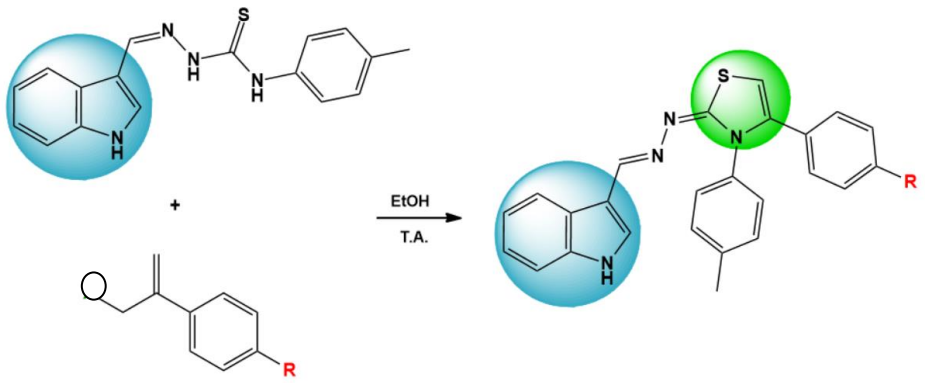
Em um balão de fundo redondo de 100mL adicionou-se 10mL de etanol, e 0,56g (3.862mmol) de 3-indol-carboxaldeído, adicionou-se 1mL de ácido acético glacial gota-a-gota. Então o balão foi fechado e permaneceu sob agitação e temperatura ambiente. Após solubilização do primeiro reagente adicionou-se 0,70g (3.862mmol) da tiossemicarbazida (LqIT/LT-45) obtido na etapa anterior. Através do acompanhamento por CCD foi verificado o desaparecimento dos reagentes iniciais após 2h. O precipitado obtido foi filtrado e purificado através de lavagens com etanol absoluto gelado.

5.1.4.3 Sínteses dos derivados indol-tiazólicos

A terceira e última etapa consistiu na obtenção dos derivados indol-tiazólicos (figura 16). Esta etapa realizou-se por meio da Síntese de Hantzsch cujo mecanismo visa a obtenção de tiazóis a partir de α-halocarbonilas e aminotioureias. Em um balão de 100mL adicionou-se 15mL de etanol e logo depois o LqIT/LT-53 sintetizado anteriormente, após 10 minutos foram adicionadas as respectivas acetofenonas para a formação de cada um dos 8 compostos finais (LqIT/CS-01 ao LqIT/CS-08), o sistema permaneceu sob agitação e refluxo à temperatura de 70-75ºC. Após testes realizados, verificou-se que a melhor proporção para otimização do resultado foi de 1,1:1 LqIT/LT-53: Acetofenona.

Houve variação quanto ao tempo reacional entre 3-9h para obtenção dos 8 compostos finais. Para promover a precipitação dos compostos que não precipitaram naturalmente foi utilizado água destilada, e posterior lavagem com éter etílico (NASCIMENTO, 2017).

Figura 16 - Obtenção dos derivados tiazólicos e suas respectivas substituições



Composto	X	R
LQIT/CS-01	Br	F
LQIT/CS-02	Br	Cl
LQIT/CS-03	Br	NO_2
LQIT/CS-04	Br	Br
LQIT/CS-05	Br	H
LQIT/CS-06	Br	Ph
LQIT/CS-07	Br	CF_3
LQIT/CS-08	Cl	OCH_3

FONTE: O autor

Síntese do (E)-2-((E)-((1H-indol-3il)metileno)hidrazina)-4-(4-fluorofenil)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-01): A mistura de 2-(1H-indol-3-il-metileno)-N-(p-toluil)-hidrazina-carbotioamida (0,110g, 0.35mmol), 2-bromo-4-flúor-acetofenona (0,070g, 0.324 mmol), etanol (15 mL) foram mantidos sob agitação e refluxo na temperatura de 72ºC por 3-4 horas.

Síntese do (E)-2-((E)-((1H-indol-3il)metileno)hidrazina)-4-(4-clorofenil)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-02): A mistura de 2-(1H-indol-3-il-metileno)-N-(p-toluil)-hidrazina-carbotioamida (0,110g, 0.35mmol), 2-bromo-4-cloro-acetofenona (0,075g, 0.324 mmol), etanol (15 mL) foram mantidos sob agitação e refluxo na temperatura de 72ºC por 3-4 horas.

Síntese do (E)-2-((E)-((1H-indol-3il)metileno)hidrazina)-4-(4-nitrofenil)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-03): A mistura de 2-(1H-indol-3-il-metileno)-N-(p-toluil)-hidrazina-

carbotioamida (0,110g, 0.35mmol), 2-bromo-4-nitro-acetofenona (0,094g, 0.324 mmol), etanol (15 mL) foram mantidos sob agitação e refluxo na temperatura de 72ºC por 2-3 horas.

Síntese do (E)-2-((E)-((1H-indol-3il)metileno)hidrazina)-4-(4-bromofenil)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-04): A mistura de 2-(1H-indol-3-il-metileno)-N-(p-toluil)-hidrazina-carbotioamida (0,110g, 0.35mmol), 2,4-dibromo-acetofenona (0,089g, 0.324), etanol (15 mL) foram mantidos sob agitação e refluxo na temperatura de 72ºC por 2-3 horas.

Síntese do (E)-2-((E)-((1H-indol-3il)metileno)hidrazina)-4-fenil-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-05): A mistura de 2-(1H-indol-3-il-metileno)-N-(p-toluil)-hidrazina-carbotioamida (0,110g, 0.35mmol), 2-bromo-acetofenona (0,064g, 0.324), etanol (15 mL) foram mantidos sob agitação e refluxo na temperatura de 72ºC por 3-4 horas.

Síntese do (E)-2-((E)-((1H-indol-3-il)metileno)hidrazina)-4-([1,1'-bifenil]-4-il)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-06): A mistura de 2-(1H-indol-3-il-metileno)-N-(p-toluil)-hidrazina-carbotioamida (0,110g, 0.35mmol), 2-bromo-4-fenil-acetofenona (0,089g, 0.324), etanol (15 mL) foram mantidos sob agitação e refluxo na temperatura de 72ºC por 8-9 horas.

Síntese do (E)-2-((E)-((1H-indol-3il)metileno)hidrazina)-4-(4-trifluorometil-fenil)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-07): A mistura de 2-(1H-indol-3-il-metileno)-N-(p-toluil)-hidrazina-carbotioamida (0,110g, 0.35mmol), 2-bromo-4-trifluorometil-acetofenona (0,086g, 0.324), etanol (15 mL) foram mantidos sob agitação e refluxo na temperatura de 72ºC por 2-3 horas.

Síntese do (E)-2-((E)-((1H-indol-3il)metileno)hidrazina)-4-(4-metoxi-fenil)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-08): A mistura de 2-(1H-indol-3-il-metileno)-N-(p-toluil)-hidrazina-carbotioamida (0,110g, 0.35mmol), 2-bromo-4-metoxi-acetofenona (0,059g, 0.324 mmol), etanol (15 mL) foram mantidos sob agitação e refluxo na temperatura de 72ºC por 2-3 horas.

5.1.5 Estudo *in sílico* das propriedades farmacocinéticas

As propriedades farmacocinéticas de ADME (absorção, distribuição, metabolização e excreção) dos compostos sintetizados foram obtidas através das plataformas on-line SwissADME e pkCSM, primeiramente foram analisadas sob a ótica da RO5 (regra dos cinco) de Lipinski, que determina parâmetros físico-químicos aceitáveis para o desenvolvimento de moléculas com capacidade de se tornarem futuros medicamentos com administração oral

(VEBER, 2002; LIPINSKI, 2004). De acordo com essa regra os compostos se enquadram como promissores quando apresentam as seguintes características: peso molecular ≤ 500g/mol, número total de doadores de ligação de hidrogênio ≤ 5, número total de aceptores de hidrogênio ≤10, logP ≤ 5 (LIPINSKI, 2004).

Além dessa avaliação também foram observados os parâmetros específicos que não se enquadram dentro da RO5, mas que também são importantes na compreensão da biodisponibilidade oral dos compostos examinados como a TPSA (área de superfície polar topológica) que deve ser ≤ 140 $Å^2$, o número de ligações rotacionáveis ≤ 10 (VEBER et al., 2002; TRIFUNÖVIC et.al., 2016).

5.2 SEÇÃO EXPERIMENTAL BIOLÓGICA

5.2.1 Materiais e Equipamentos

O DNA de esperma de salmão (ssDNA), o hidroximetilaminometano (Tris) e a albumina de soro bovino (BSA) foram adquiridos comercialmente da Sigma-Aldrich. O DMSO foi adquirido da Quimex e utilizado como solvente para preparação das soluções estoque. A obtenção dos espectros de UV-vis foi realizada com o espectrofotômetro Ultraspec 3000 PRO UV-Visible, o espectro de emissão de fluorescência foi obtido utilizando o aparelho JASCO FP-6300 e o dicroísmo molecular realizado através do JASCO (J-815 CD Spectrometer).

5.2.2 Preparo da solução estoque

Antes da realização dos ensaios biológicos foi necessário realizar a preparação de uma solução estoque para cada composto. Para tal, foi realizado um cálculo para que a concentração final dessa solução fosse de 1µM. Após o preparo todas foram mantidas em seus respectivos frascos-âmbar.

5.2.3 Preparo das soluções de DNA e BSA

A solução de ssDNA foi preparada a partir da dissolução do mesmo em tampão Tris-HCl (50M, pH 8,0), e deixada em repouso por 24h, à 8 ºC. Depois desse período a solução foi sonicada por 30 minutos, em seguida teve a concentração determinada por meio do cálculo do coeficiente de extinção molar 6600 M^{-1} cm $^{-1}$ a 260 nm, como foi feito por Wolfe e colaboradores (1987). O grau de pureza da solução obtida é medido pela razão dos valores de

absorbância em 260 e 280 nm. Após essas etapas a solução obtida permanece armazenada sob refrigeração. A BSA foi pesada e posteriormente também foi diluída em tampão Tris-HCl (0,1 M, pH 7,6) para obtenção de uma concentração de 1mM.

5.2.4 Espectroscopia de absorção eletrônica do composto livre

A solução estoque de cada composto foi utilizada para preparo das soluções teste para varredura (composto livre), sendo estas obtidas por diluição em Tris-HCl, as concentrações obtidas foram de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 µM. Esse processo foi realizado em triplicata para observação do perfil de absorção dos compostos e escolha de uma concentração para realização dos testes de interação.

5.2.5 Espectroscopia de absorção eletrônica dos compostos com ssDNA e BSA

Esse experimento foi realizado fixando os novos derivados na concentração de 20 µM e expostos à solução de ssDNA nas seguintes concentrações: 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µM. Após a adição da biomolécula as soluções testes (ssDNA + composto) foram homogeneizadas e permaneceram em repouso, à temperatura ambiente durante 10 minutos para estabilização das substâncias no tampão. Todas amostras foram preparadas em triplicata e seguiram para análise no Ultraspec 3000 PRO, utilizando uma cubeta de quartzo retangular com comprimento de 1 cm óptico de percurso.

Após obtenção dos dados espectroscópicos foram calculados os valores das costantes de ligação, que servem como reveladores de afinidade entre a biomolécula e o composto testado. A constante de ligação intrínseca (Kb) foi obtida utilizando a equação de Mcghee, Hippel (1974) descrita abaixo:

$$[CSs] / (\varepsilon a - \varepsilon f) = [CSs] / (\varepsilon b - \varepsilon f) + 1 / Kb\ (\varepsilon b - \varepsilon f)$$

$$[DNA] / (\varepsilon a - \varepsilon f) = [DNA] / (\varepsilon b - \varepsilon f) + 1 / Kb\ (\varepsilon b - \varepsilon f)$$

Onde, εa, εb e εf são coeficientes de extinção aparente, ligado e livre, respectivamente. Para obtenção dos valores de Kb a partir da razão entre a inclinação e o intercepto foram utilizados os gráficos dos [CSs] / (εa – εf) versus [CSs] e [DNA] / (εa – εf) versus [DNA]. Os dados de ligação e gráficos foram por meio do software SigmaPlot 10.0.

Possíveis alterações nos espectros de absorção de interação dos novos derivados sintetizados após a interação com as biomoléculas, bem como os valores das constantes de ligação, podem fornecer informações relativas ao perfil de interação alcançado.

Posteriormente foi realizado o teste com a BSA na concentração de 20 µM e os compostos utilizados nas seguintes concentrações: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 µM. Os sistemas foram preparados em triplicata, homogeneizados e deixados em repouso à temperatura ambiente durante 10 minutos para estabilização no tampão Tris-HCl, antes de serem encaminhados para a leitura no espectrofotômetro de absorção na faixa de comprimento de onda que variou entre 200-600nm.

5.2.6 Espectroscopia de emissão de fluorescência do composto livre

O perfil de fluorescência das moléculas pertencentes à série LqIT/CSs foram estabelecidos perante a preparação de amostras contendo os compostos e a solução tampão Tris-HCl (0,1 M pH 7,6) em triplicata, em concentrações que variaram de 5 a 40 µM, com intervalos de 5 µM entre estas, na faixa de comprimento de onda de 220-700nm, com bandas de excitação e emissão respectivamente de 5 e 5nm ou de 5 e 10 nm em alguns casos e alta sensibilidade.

5.2.7 Espectroscopia de emissão de fluorescência com ssDNA e BSA

O perfil de fluorescência dos derivados LqIT/CSs com as biomoléculas foi realizado a 25ºC em uma cubeta de quartzo retangular com um comprimento de caminho de 1 cm em triplicata. Para o teste realizado com a albumina os espectros de emissão de fluorescência foram registrados na região de 310-400 nm em um comprimento de onda de excitação de 285nm, com bandas de excitação e de emissão de 2,5 nm, em concentrações de (5-40 µM) e concentração fixada da BSA em 20 µM.

Para realização da titulação de fluorescência com o ssDNA foram utilizadas soluções do mesmo nas concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µM enquanto o composto foi fixado em 20 µM. As diferentes intensidades obtidas após a exposição do composto ao ssDNA foram utilizadas para calcular a constante de Stern-Volmer (Ksv), pela seguinte equação Lakowicz (2006):

$$\mathbf{F_0 / F = 1 + Ksv[Q]}$$

Onde, F0 e F são as intensidades de fluorescência no estado estacionário de compostos na ausência e na presença dos compostos, respectivamente, Ksv é a constante de Stern-Volmer, e [Q] é a concentração do ssDNA em μM. A constante de regressão linear foi obtida através do gráfico de intensidade de emissão relativa (F_0 / F) versus [Q]. O software utilizado para obtenção dos dados de ligação também foi o SigmaPlot 10.0.

5.2.8 Citotoxicidade *in vitro* em linhagens de células tumorais MCF-7 e viabilidade celular em macrófagos J774

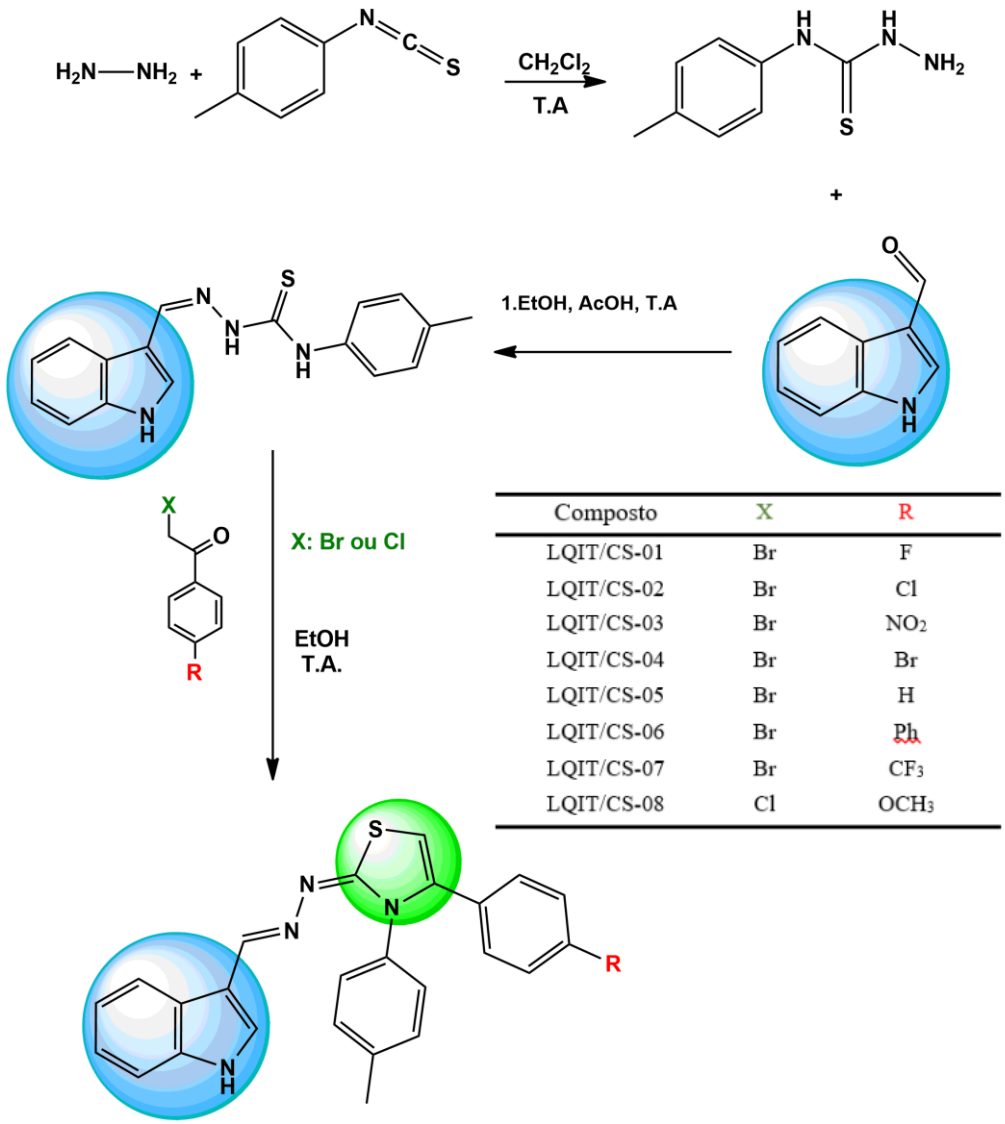
Para verificação da potencial atividade citotóxica e viabilidade celular, foram utilizados 50μM de cada uma das substâncias sintetizadas em um screening inicial por meio do método de MTT. As células foram plaqueadas em placas de 96 poços nas concentrações $1x10^5$. As substâncias previamente dissolvidas em DMSO serão diluídas em série no meio RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibiótico (estreptomicina + penicilina) para obtenção das concentrações finais e adicionadas em placa de 96 poços (100 μL/ poço), como controle positivo foi utilizada a amsacrina e o controle negativo foram as células não-tratadas. Após um período de incubação de 48h, o sobrenadante foi aspirado e foram adicionados 150 μL de solução de MTT 10% em RPMI 1640, sendo a placa colocada na estufa a 5% de CO_2 por um período entre 2 e 3h. Em seguida, o sobrenadante foi aspirado e seu precipitado ressuspendido em 150 μL de DMSO e agitado até completa dissolução dos cristais de formazan. As placas foram lidas no espectrofotômetro de placa a um comprimento de onda de 595nm.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 SEÇÃO QUÍMICA

A rota sintética empregada teve sua aplicabilidade confirmada com a obtenção dos 8 novos derivados indol-tiazólicos, que formaram precipitados após adição de água destilada no meio reacional e passaram apenas por processo de lavagem com éter etílico quando necessário para remoção de subprodutos (figura 17).

Figura 17 - Esquema da rota de síntese geral



Composto	X	R
LQIT/CS-01	Br	F
LQIT/CS-02	Br	Cl
LQIT/CS-03	Br	NO_2
LQIT/CS-04	Br	Br
LQIT/CS-05	Br	H
LQIT/CS-06	Br	Ph
LQIT/CS-07	Br	CF_3
LQIT/CS-08	Cl	OCH_3

FONTE: O autor

6.1.2 Características físico-químicas dos compostos sintetizados

Após a síntese dos intermediários e produtos da rota de síntese, todos foram submetidos a análises iniciais referentes às suas características físico-químicas e rendimentos reacionais, tendo seus respectivos resultados apresentados na tabela abaixo.

Tabela 3 - Características físico-químicas e rendimentos do composto intermediário LqIT/LT-53 e dos compostos finais da série LqIT/CS's

Composto	Aspecto	Rendimento	Faixa de P.F. (º C)	Rf/Eluente
LqIT/LT-53	Pó amarelo	69%	197-198	0,7 (n-Hex/AcOEt. 4:6)
LqIT/CS-01	Pó esbranquiçado	68,21%	279-280	0,43 (n-Hex/AcOEt. 6,5:3,5)
LqIT/CS-02	Pó amarelo claro	45,83%	269-271	0,55 (n-Hex/AcOEt. 6,5:3,5)
LqIT/CS-03	Pó vermelho	70,67%	259-260	0,53 (n-Hex/AcOEt. 6,5:3,5)
LqIT/CS-04	Pó amarelo claro	75,62%	272-274	0,62 (n-Hex/AcOEt. 6:4)
LqIT/CS-05	Pó amarelo claro	71%	265-267	0,40 (n-Hex/AcOEt. 6,5:3,5)
LqIT/CS-06	Pó esbranquiçado	33%	255-256	0,69(n-Hex/AcOEt. 6,5:3,5)
LqIT/CS-07	Pó amarelo claro	49,8%	295-296	0,66 (n-Hex/AcOEt. 6:4)
LqIT/CS-08	Pó amarelo escuro	50,41%	247-249	0,54 (n-Hex/AcOEt. 6:4)

FONTE: O autor

A faixa de fusão e Rf do LqIT/LT-53 corroboram com dados já descritos após a síntese realizada por PEDROSA (2017). Os compostos da série LqIT/CS's apresentaram rendimentos que variaram entre 33% a 75,62%, todos os novos derivados apresentaram os pontos de fusão variando no máximo em 2ºC e fatores de retenção entre 0,40 e 0,7 em mistura de hexano e acetato de etila. Após realização dessas análises iniciais os novos compostos foram encaminhados para a etapa de caracterização estrutural onde foram realizados ensaios através das técnicas de RMN ^{1}H, RMN ^{13}C e IV. Para exemplificação da caracterização serão comentados os resultados obtidos a partir do composto LqIT/CS-01, servindo como base para correlação com os resultados das demais moléculas.

6.1.3 Caracterização por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^{1}H) e de carbono (RMN ^{13}C)

Os deslocamentos químicos dos sinais referentes aos hidrogênios e carbonos presentes nas moléculas foram reportados em ppm e a multiplicidade dos sinais encontrados estão representadas da seguinte forma: singleto (s), dubleto (d), duplo dubleto (dd), tripleto (t),

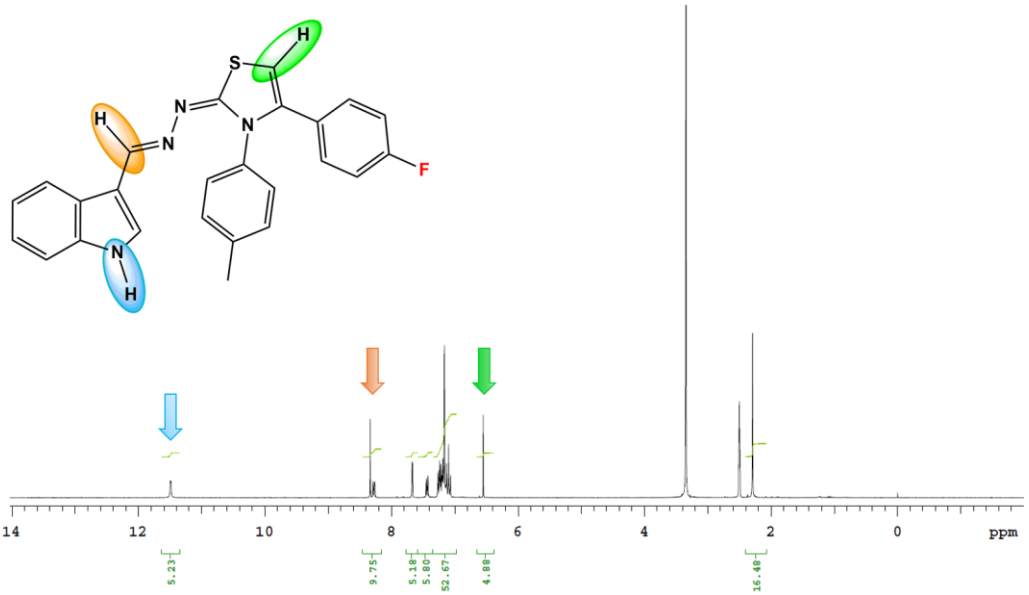
quarteto (q) e multipleto (m), devido à presença de núcleos aromáticos nas moléculas alguns sinais apareceram muito próximos, mas apesar disso foi possível a identificação dos principais sinais, também conhecidos como sinais diagnósticos.

Os novos derivados indol-tiazólicos variaram entre si em apenas uma região da molécula, a saber, a posição *para* (-p) do anel aromático ligado na posição quatro do anel tiazólico, sendo todas os outros sinais com valores muito aproximados devido a similaridade estrutural dos compostos da série.

Todos os compostos finais apresentaram os sinais referentes a quantidade respectiva de hidrogênios de cada molécula proposta. Os sinais presentes na região de campo baixo em forma de singleto com valores próximos de 11,50 ppm foram atribuídos ao hidrogênio da porção indol, que está ligado ao nitrogênio, este encontra-se bastante desblindado, apresentando, em alguns casos, um sinal mais alargado, isso pode ser explicado através da labilidade da ligação N-H, devido às transferências rápidas (alta frequência) dos hudrogênios que acabam causando desacoplamento de spins. Esses achados corroboram com os dados encontrados por PEDROSA (2017). Em posição vicinal ao nitrogênio da porção indol existe um carbono sp^2 que está ligado a um hidrogênio que pode tanto se apresentar como um dupleto, quando acopla com o hidrogênio ligado ao nitrogênio com um J=3,0Hz, ou pode ainda aparecer como um singleto variando entre 7,66 e 7,69 ppm.

Foi constatada em todos os compostos a presença de um singleto entre 2,28 e 2,35 integrando para três hidrogênios, referentes ao único CH_3 presentes nas moléculas na porção *p*-toluil. Entre 6,55 e 6,88 foi observado um singleto integrando para um hidrogênio que se refere ao que está presente na posição C_5 do anel tiazol, sendo assim um indicador de que houve a formação do anel, como também foi observado no trabalho de SILVA (2014). Também foi observado entre 8,33 e 8,58 a presença de um singleto referente ao hidrogênio da porção azometínica, como descrito na pesquisa de PEDROSA (2017) e Oliveira e colaboradores (2017). Os demais sinais são referentes aos hidrogênios aromáticos que compreende a região entre 7 e 9 ppm (Figura 18).

Figura 18 - Espectroscopia de RMN ^{1}H do composto LqIT/CS-01



FONTE: O autor

Devido à presença de muitos hidrogênios aromáticos em algumas moléculas, houve junção de sinais dando origem a multipletos que integraram para uma quantidade de hidrogênio acima de seis. Os hidrogênios presentes na porção indol também apareceram dispostos nessa região de hidrogênio ligado aos carbonos sp^2. Os sinais diagnósticos estão destacados na tabela abaixo e os espectros de RMN ^{1} H dos demais compostos se encontram nos apêndices A, B, C e D.

Tabela 4 - Sinais diagnósticos de RMN ^{1} H que indicam a formação dos derivados indol-tiazólicos

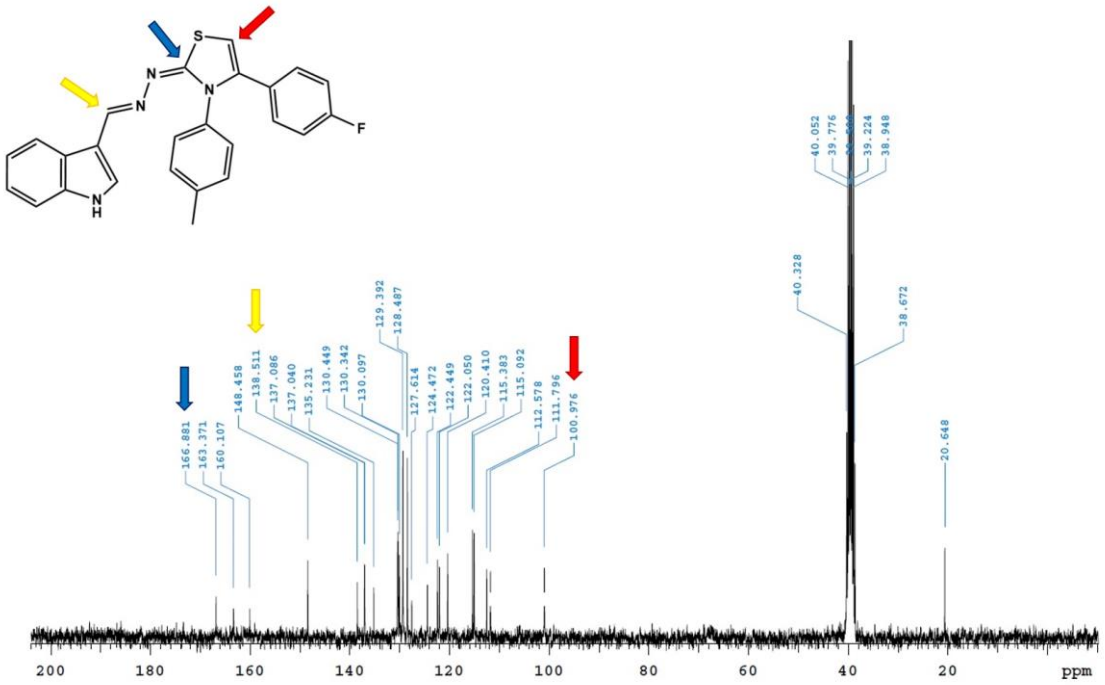
Composto	N-H (indol)	HC=N (Azometinico)	C-H (tiazol)	Substituinte
LqIT/CS-01	11,48	8,33	6,55	F
LqIT/CS-02	11,50	8,34	6,60	Cl
LqIT/CS-03	11,51	8,37	6,88	NO_2
LqIT/CS-04	11,52	8,36	6,63	Br
LqIT/CS-05	11,48	8,34	6,55	H

LqIT/CS-06	11,85	8,58	6,64	Ph
LqIT/CS-07	11,53	8,37	6,77	CF_3
LqIT/CS-08	11,52	8,35	6,44	OCH_3

FONTE: O autor

Na análise espectroscópica de RMN ^{13}C todas as moléculas em DMSO-d6 mostraram deslocamentos químicos em concordância com as estruturas propostas. Os sinais referentes ao C_5 (CH), C_2 (N=C-S) e C azometínico (HC=N) indicando a formação dos novos derivados corroboram com dados encontrados na análise de RMN ^{1}H e com os trabalhos do grupo de pesquisa do LqIT (PEDROSA, 2017; OLIVEIRA et al., 2017; LAFAYETTE et al., 2017). O espectro do composto LqIT/CS-01 (figura 19) mostra a posição dos deslocamentos abordados anteriormente utilizando seta vermelha, azul e amarela, respectivamente.

Figura 19 - Espectroscopia de RMN ^{13}C do composto LqIT/CS-01



FONTE: O autor

A tabela 5 apresenta os sinais diagnósticos dos compostos da série LqIT/CS. Todos seguiram o mesmo padrão observado acima, apresentando valores para C_5 entre 100,14-110,66, para C_2 a variação foi de 166,51-167,86 e para o C azometínico foi de 138,34-139,96.

Tabela 5 - Sinais diagnósticos de RMN ^{13}C que indicam a formação dos derivados indol-tiazólicos

Composto	C_2 (tiazol)	C_5 (tiazol)	HC=N (Azometinico)	Substituinte
LqIT/CS-01	166,88	100,97	138,51	F
LqIT/CS-02	166,77	101,72	138,34	Cl
LqIT/CS-03	166,51	105,12	138,84	NO_2
LqIT/CS-04	167,28	102,28	138,91	Br
LqIT/CS-05	166,98	100,96	139,59	H
LqIT/CS-06	167,86	110,66	139,96	Ph
LqIT/CS-07	167,18	103,94	138,63	CF_3
LqIT/CS-08	167,60	100,14	139,97	OCH_3

FONTE: O autor

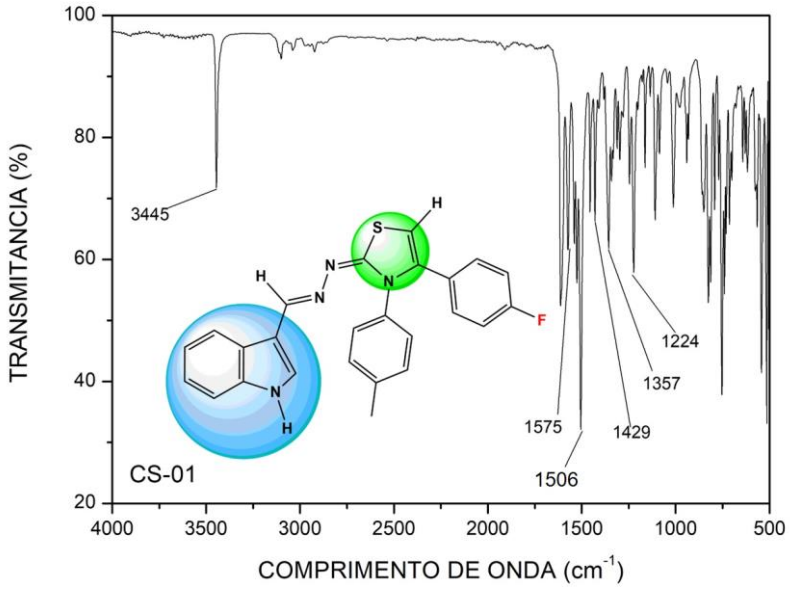
Os espectros evidenciando os descolamentos dos demais compostos sintetizados estão dispostos nos apêndices E, F, G e H.

6.1.4 Caracterização por infravermelho por transformada de Fourrier

A técnica de IV permitiu identificar as bandas de absorção que evidenciam ligações diagnósticas dos compostos formados como uma banda de média intensidade em 3445 cm^{-1} referente à ligação NH, também foram evidenciadas bandas de forte intensidade em 1541-1575 cm^{-1} que são estiramentos característicos de ligação C=N azometínico e em 1429 que se refere ao C=N exocíclico. Uma banda de média intensidade foi observada em 1357 cm^{-1}, correspondente ao grupo funcional NCS, e outra em 1225 cm^{-1} em média intensidade caracterizando a ligação N-N=C (figura 20).

As demais bandas observadas estão relacionadas com as ligações C=C de carbonos aromáticos como também foi observado nos trabalhos de SILVA (2009), PEDROSA (2017), OLIVEIRA e colaboradores (2017) e GALDINO e colaboradores (2019).

Figura 20 - Espectro de infravermelho do LqIT/CS-01



FONTE: O autor

Os espectros de infravermelho de todas as moléculas estão dispostos nos apêndices I, J, K e L. mas a tabela 6 apresenta as ligações diagnósticas que evidenciam a formação dos derivados indol-tiazólicos da série LqIT/CS, seguindo sempre o padrão apresentado e detalhado acima do composto LqIT/CS-01.

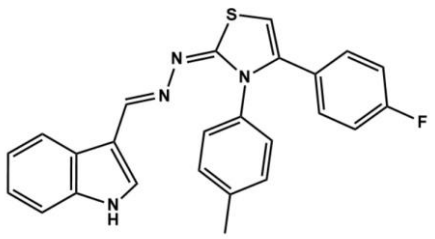
Tabela 6 - Sinais diagnósticos de IV para caracterização dos novos derivados da série LqIT/CS.

Composto	N-H (indol)	C=N(*v*) (Azometinico)	C=N(*v*) (Exocíclico)	N-N=C (*v*)	N=C-S	Substituinte
LqIT/CS-01	3445	1541-1575	1429	1224	1357	F
LqIT/CS-02	3307	1543-1557	1428	1220	1321	Cl
LqIT/CS-03	3307	1542	1427	1196-1247	1325	NO_2
LqIT/CS-04	3190	1558-1576	1440	1247	1356	Br
LqIT/CS-05	3154-3104	1542-1568	1444	1248	1359	H
LqIT/CS-06	3173	1539	1441	1357	1298	Ph
LqIT/CS-07	3178	1575-1537	1440	1323	1372	CF_3
LqIT/CS-08	3338	1575-1538	1440	1247	1335	OCH_3

FONTE: O autor

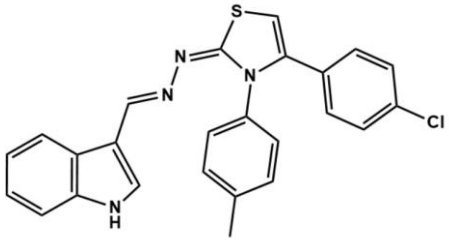
6.1.5 Dados espectroscópicos e espectrométricos dos derivados indol-tiazolicos

2-(1H-indol-3-il-metileno-hidrazono) -4-(4-fluorofenil) -3-(p-toluil) - 2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-01)



- Fórmula molecular: $C_{25}H_{19}FN_4S$
- Massa molecular: 426,13
- RMN ^1H (δppm, DMSO-d_6 300MHz): 11,48 (s, 1H, NH), 8,33 (s, 1H, HCN), 8,26-8,29 (m, 1H, indol), 7,66 (d, 1H, J=3Hz, indol), 7,42-7,45 (m, 1H, indol), 7,06-7,26 (m, 10H, *p*-fenil, *p*-toluil, indol), 6,55 (s, 1H, tiazol), 2,29 (s, 3H, metila).
- RMN ^{13}C (δppm, DMSO-d_6 75MHz): 166,88 (C_2 tiazol), 100,97 (C_5 tiazol), 138,51 (C azometíníco);
- IV (v cm^{-1} KBr): 3445 (N-H), 1541-1575 (C-N azometínico), 1429 (C=N exocíclico), 1357 (NCS), 1224 (N-N=C);

2-(1H-indol-3-il-metileno-hidrazono)-4-(4-clorofenil)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-02)

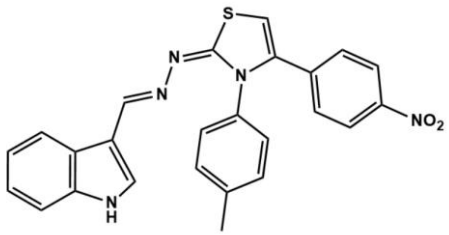


- Fórmula molecular: $C_{25}H_{19}ClN_4S$
- Massa molecular: 442,10
- RMN ^1H (δppm, DMSO-d_6 300MHz): 11,50 (s longo, 1H, NH), 8,34 (s, 1H, HCN), 8,26-8,29 (m, 1H, indol), 7.67 (d, 1H, J=2,4Hz, indol), 7,42-7,45 (m, 1H, indol), 7,30-

7,32 (d, 2H, J=8,4Hz, p-cloro) 7,13-7,22 (m, 8H, *p*-cloro, *p*-toluil, indol), 6,60 (s, 1H, tiazol), 2,29 (s, 3H, metila).

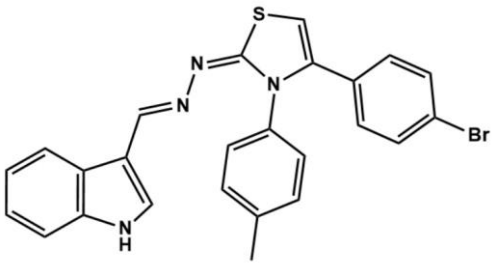
- RMN ^{13}C (δppm, DMSO-d_6 75MHz): 166,77 (C_2 tiazol), 101,72 (C_5 tiazol), 138,34 (C azometíníco);
- IV (v cm^{-1} KBr): 3307 (N-H), 1543-1557 (C-N azometínico), 1428 (C=N exocíclico), 1321 (NCS), 1220 (N-N=C);

2-(1H-indol-3-il-metileno-hidrazono)-4-(4-nitrofenil)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-03)



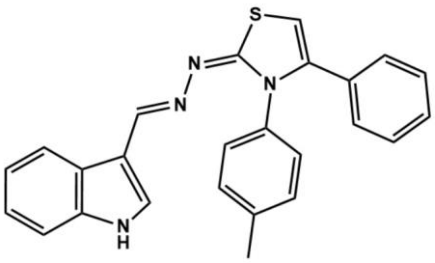
- Fórmula molecular: $C_{25}H_{19}N_5O_2S$
- Massa molecular: 453,12
- RMN ^{1}H (δppm, DMSO-d_6 300MHz): 11,51 (s, 1H, NH), 8,37 (s, 1H, HCN), 8,26-8,28 (m, 1H, indol), 8,07 (d, 2H, J=9,0Hz, *p*-nitro), 7,69 (d, 1H, J=3Hz , indolico), 7,41-7,46 (m, 3Hz, indólico e *p*-toluil), 7,08-7,23 (m, 6H, *p*-nitro e *p*-toluil), 6,88 (s, 1H, tiazol), 2,29 (s, 3H, metila)
- RMN ^{13}C (δppm, DMSO-d_6 75MHz): 166,51 (C_2 tiazol), 105,12 (C_5 tiazol), 138,84 (C azometíníco);
- IV (v cm^{-1} KBr): 3307 (N-H), 1542 (C-N azometínico), 1427 (C=N exocíclico), 1325 (NCS), 1196-1247 (N-N=C);

2-(1H-indol-3-il-metileno-hidrazono)-4-(4-bromofenil)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-04)



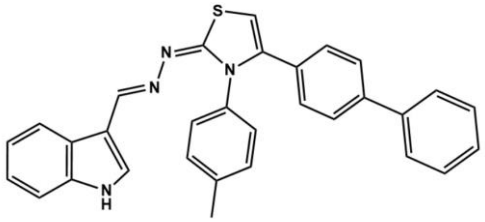
- Fórmula molecular: $C_{25}H_{19}BrN_4S$
- Massa molecular: 486,05
- RMN ^1H (δppm, DMSO-d_6 300MHz): 11,52 (s, 1H, NH), 8,36 (s, 1H, HCN), 8,28-8,30 (d, 1H, J=3Hz indol), 7,69 (d, 1H, d=3Hz), 7,44-7,46 (m, 3H, indólico), 7,13-7,23 (m, 8H, *p*-bromo e *p*-toluil), 6,63 (s, 1H, tiazol), 2,30 (s, 3H, metila)
- RMN ^{13}C (δppm, DMSO-d_6 75MHz): 167,28 (C_2 tiazol), 102,28 (C_5 tiazol), 138,91 (C azometíníco);
- IV (v cm^{-1} KBr): 3190 (N-H), 1576-1558 (C-N azometínico), , 1440 (C=N exocíclico), 1356 (NCS), 1247 (N-N=C);

2-(1H-indol-3-il-metileno-hidrazono) -4-fenil-3-(p-toluil) -2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-05)



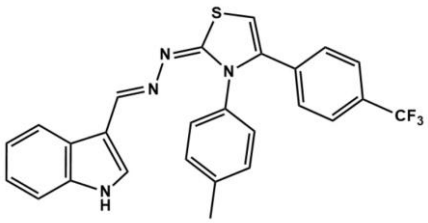
- Fórmula molecular: $C_{25}H_{20}N_4S$
- Massa molecular: 408,14
- RMN ^1H (δppm, DMSO-d_6 300MHz): 11,48 (s, 1H, NH), 8,34 (s, 1H, HCN), 8,27-8,30 (m, 1H, indol), 7,67 (s, 1H, indolico), 7,42-7,45 (m, 1H, indólico), 7,15-7,23 (m, 11H, fenil, indólico, *p*-toluil), 6,55 (s, 1H, tiazol), 2,28 (s, 3H, metila)
- RMN ^{13}C (δppm, DMSO-d_6 75MHz): 166,98 (C_2 tiazol), 100,96(C_5 tiazol), 139,59 (C azometíníco);
- IV (v cm^{-1} KBr): 3154-3104 (N-H), 1568-1542 (C-N azometínico), 1444 (C=N exocíclico), 1359 (NCS), 1248 (N-N=C);

2-(1H-indol-3-l)metileno-hidrazono)-4-([1,1'-bifenil]-4-il)-3-(p-toluil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-06)



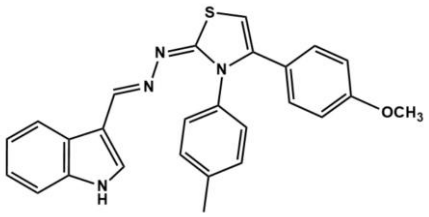
- Fórmula molecular: $C_{31}H_{24}N_4S$
- Massa molecular: 484,17
- RMN ^1H (δppm, DMSO-d_6 300MHz): 11,85 (s longo, 1H, NH), 8,58 (s, 1H, HCN), 8,18-8,21 (m, 1H, indol), 7,94 (d, 1H, J=3,0Hz), 7,60-7,66 (m, 4H, *p*-fenil), 7,23-7,52 (m, 13H,*p*-fenil, indólico, tiazolico), 2,35 (s, 3H, metila)
- RMN ^{13}C (δppm, DMSO-d_6 75MHz): 167,86 (C_2 tiazol), 110,66 (C_5 tiazol), 139,96 (C azometíníco);
- IV (v cm^{-1} KBr): 3173 (N-H), 1539 (C-N azometínico), 1441 (C=N exocíclico), 1357 (NCS), 1298 (N-N=C);

2-(1H-indol-3-il)metileno-hidrazono)-3-(p-toluil)-4-(4-(trifluorometil)fenil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-07)



- Fórmula molecular: $C_{26}H_{19}F_3N_4S$
- Massa molecular: 476,12
- RMN ^1H (δppm, DMSO-d_6 300MHz): 11,53 (s, 1H, NH), 8,37 (s, 1H, HCN), 8,28 (s, 1H, indol), 7,70 (s, 1H, indol), 7,62-7,63 (d, 2H, J=3Hz), 7,41-7,46 (m, 3Hz, indólico e *p*-toluil), 7,17-7,19 (m, 6H, *p*-trifluorometil e *p*-toluil), 6,77 (s, 1H, tiazol), 2,30 (s, 3H, metila)
- RMN ^{13}C (δppm, DMSO-d_6 75MHz): 167,18 (C_2 tiazol), 103,94 (C_5 tiazol), 138,63 (C azometíníco);
- IV (v cm^{-1} KBr): 3178 (N-H), 1575-1537 (C-N azometínico), 1440 (C=N exocíclico), 1372 (NCS), 1323 (N-N=C);

2-(1H-indol-3-il)metileno-hidrazono)-3-(p-toluil)-4-(4-(metoxi)fenil)-2,3-dihidrotiazol (LqIT/CS-08)



- Fórmula molecular: $C_{26}H_{22}N_4OS$
- Massa molecular: 438,15
- RMN ^1H (δppm, DMSO-d_6 300MHz): 11,52 (s, 1H, NH), 8,35 (s, 1H, HCN), 8,30-8,31 (d, 1H, J=3Hz, indol), 7,11-7,23 (m, 8H, *p*-metóxi, *p*-metil e *p*-indol), 7,68 (d, 1H, J=3Hz), 6,44 (s, 1H, tiazol), 2,30 (s, 3H, metila), 7,45-7,46 (s, 1H, indol), 6,79-6,80 (m, 2H, p-metil), 3,7 (s, 3H, metóxi);
- RMN ^{13}C (δppm, DMSO-d_6 75MHz): 167,60 (C_2 tiazol), 100,14 (C_5 tiazol), 139,97 (C azometíníco);
- IV (v cm^{-1} KBr): 3338(N-H), 1575-1538 (C-N azometínico), 1440 (C=N exocíclico), 1335 (NCS), 1247 (N-N=C).

6.1.6 Estudo *in sílico* das propriedades farmacocinéticas

Os parâmetros físico-químicos podem interferir diretamente nas características farmacocinéticas das moléculas. Portanto, esses dados foram previamente avaliados e encontram-se descritos na tabela 7, posteriormente foram avaliados dados referentes a farmacocinética de cada um dos derivados (tabela 8).

Tabela 7 - Verificação dos parâmetros físico-químicos de acordo com RO5

Composto	**Peso molecular[a]**	**DLH[b]**	**ALH[c]**	**MLog P[d]**	**TPSA (Å^2)[e]**	**Ligações rotativas[f]**
CS-01	426,51	1	3	4,65	73,68	4
CS-02	442,96	1	2	4,75	73,68	4
CS-03	453,52	1	4	3,19	119,50	5
CS-04	487,41	1	2	4,85	73,68	4
CS-05	408,52	1	2	4,28	73,68	4

CS-06	484,61	1	2	5,27	73,68	5
CS-07	476,52	1	5	5,00	73,68	5
CS-08	438,54	1	3	3,92	82,91	5

[a]SwissADME peso molecular; [b]SwissADME doadrores de ligações de hidrogênio; [c]SwissADME aceptores de ligações de hidrogênio; [d]SwissADME log do coeficiente de partição ocatanol-água; [e]SwissADME cálculo da área de superfície polar topológica; [f]SwissADME número de ligações rotativas. FONTE: O autor

Analisando os dados obtidos podemos verificar que, com exceção do CS-06, todos os compostos se enquadram dentro dos parâmetros pré-estabelecidos por Lipinski, apresentando pesos moleculares entre 408,52 a 487,41g/mol, o número de doadores de ligação de hidrogênio foi o mesmo para todos os compostos, enquanto o número de aceptores de ligação de hidrogênio variou entre 2 e 5. Quanto ao logP, sete dos oito compostos apresentaram valores entre 3,19 e 5,00, trazendo assim valores de lipofilicidade de acordo com o recomendado, a única exceção foi o CS-06 que apresentou um logP de 5,27. Tal valor pode ser atribuído devido à presença de um anel aromático (fenil) a mais que está presente em sua estrutura, quando comparado ao composto não substituído CS-05. Todos os compostos, sem exceção, apresentaram uma TPSA menor que 140, variando entre 73,68 e 119,50, e número de ligações rotativas variando entre 4 e 5. Estes resultados se encontram dentro dos limites pré-determinados sugerindo uma boa biodisponibilidade oral e boa absorção intestinal (VEBER et al., 2002; LIPINSKI, 2004; ALMEIDA JÚNIOR et al., 2019)

Após a avaliação por meio da RO5, também foi realizada uma análise quanto aos parâmetros farmacocinéticos que envolvem as propriedades de absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade dos compostos sintetizados, bons resultados desses aspectos são essenciais para moléculas candidatas à fármaco (LARIK et al., 2019). Os valores preditivos, encontram-se descritos na tabela 8. A significância desses dados será melhor explanada abaixo.

Tabela 8 - Valores farmacocinéticos preditivos das propriedades farmacocinéticas obtidos através da plataforma pkCSM

	ADMET	**CS-01**	**CS-02**	**CS-03**	**CS-04**	**CS-05**	**CS-06**	**CS-07**	**CS-08**
	WS (logmol/L)	-5,919	-5,906	-5,831	-5,905	-5,979	-5,649	-5,756	-5,783

A	IS (%abs)	92,86	91,90	89,25	91,83	93,41	93,35	90,14	93,68
	SP (log Kp)	-2,737	-2,739	-2,736	-2,739	-2,740	-2,735	-2,737	-2,732
	Perm. Caco2(log papp 10^{-6} cm/s)	1,069	1,023	0,294	1,021	1,031	0,983	1,036	1,071
D	VDss (log L/kg)	0,126	0,177	-0,138	0,191	0,105	-0,315	0,197	0,228
	FFREE	0,22	0,204	0,195	0,204	0,203	0,286	0,194	0,195
M	Inibidor CYP3A4	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
E	CT (log ml/min/kg)	0,016	0,147	0,215	0,125	0,277	0,237	0,200	0,194
T	Tox. AMES	Sim	Não	Não	Sim	Não	Não	Sim	Sim
	HT	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
	SS	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não

Abreviações das propriedades farmacocinéticas e dos valores preditivos obtidos na plataforma pkCSM: A (Absorção), D (Distribuição), M (Metabolização), WS (Solubilidade em água); IS (Solubilidade intestinal); SP (Permeabilidade cutânea); VDss (log de liberação total do fármaco); FFREE: Fração livre; CT (depuração total); HT (Hepatotoxicidade) e SS (Sensibilização cutânea). FONTE: O autor

A absorção é a primeira etapa da farmacocinética e alguns parâmetros são limitantes para que tal ação ocorra, como é o caso da solubilidade. Os valores preditivos obtidos mostram que todos os compostos são moderadamente solúveis, apresentando valores entre -5,649 e -5,979 (LAMBERTUCCI et al., 2018; RIBEIRO et al.,2019). Somado a esse parâmetro temos a absorção intestinal e as permeabilidades cutânea e nas células Caco2 que também são consideradas relevantes para a obtenção de resultados *in sílico* dos compostos (LARIK et al., 2019). Todos os compostos apresentaram valores referentes à absorção intestinal acima de 89% chegando até 93%, para os compostos LqIT/CS-05,06 e 08. Dessa

forma esses compostos apresentam alta capacidade para atravessar a barreira intestinal (SELICK et al.,2002; LARIK et al., 2019).

A primeira etapa da farmacocinética também é avaliada utilizando-se células da linhagem Caco-2, que são enterócitos, para avaliação da absorção oral de medicamentos, uma alta absorção está atribuída à valores de log Papp> 0,90. Apenas o composto LqIT/CS-03 apresentou valor inferior ao especificado, nota-se também que esse composto foi o que apresentou uma menor taxa de absorção intestinal, levando à conclusão de que a presença do grupo nitro em relação aos demais substituintes pode promover uma diminuição da absorção intestinal do composto, devido a ionização que esse grupo sofre no ambiente biológico. Quanto aos demais derivados analisados, todos apresentaram valores acima de 0,98 indicando boa permeabilidade das moléculas através da mucosa entérica (CUI et al., 2016), corroborando com os dados obtidos anteriormente sob a ótica de VEBER (2002).

A segunda etapa farmacocinética é a distribuição e ela pode ser avaliada *in sílico* por meio de parâmetros como a volume de distribuição aparente (VDss) e análise da fração livre. O VDss é um dos parâmetros mais importante junto com a fração livre (FFREE) para caracterizar a distribuição de uma molécula, enquanto um determina a extensão de distribuição o outro determina quantitativamente a porção da molécula que não está ligada à proteína (ALMEIDA JÚNIOR et al. 2019). Os valores de VDss> 0,45 indicam uma maior distribuição nos tecidos enquanto valores de VDss<-0,15 indicam uma maior distribuição no plasma (ZHIVKOVA et al., 2012; AMO et al., 2013; LAMBERTUCCI et al., 2018).

Apenas o composto LqIT/CS-06 apresentou um valor de VDss (-0,315) que estabelece uma maior distribuição no plasma, enquanto todos os outros compostos apresentam valores de intermediários de VDss apresentando um perfil com bons resultados de fração livre variando entre 0,19 e 0,28 (ALMEIDA JÚNIOR et al. 2019). Esses valores indicam que essas moléculas se encontrarão disponíveis em boas quantidades para atuar sobre o possível alvo farmacológico. O valor mais alto da fração livre foi encontrado para a molécula com a maior distribuição no plasma de acordo com os parâmetros utilizados, que é o LqIT/CS-06.

A avaliação do metabolismo foi feita de maneira categórica, sendo de grande importância a avaliação do citrocromo P450, já que a maioria dos medicamentos é metabolizada por esse sistema enzimático agindo como indutores ou inibidores podendo potencialmente levar a existência de interações farmacocinéticas (LANDMARK; PATSALOS, 2010) e até mesmo à produção de metabólitos tóxicos (MATIAS et al., 2017).

Entre as enzimas que este citocromo possui, temos a CYP3A4 que é responsável pelo metabolismo de mais de 50% dos medicamentos e pode sofrer processos de indução ou inibição ao interagir com compostos endógenos ou xenobióticos. Após avaliação, verificamos que todos os compostos, com exceção do LqIT/CS-06, possuem capacidade de inibir a CYP3A4 e isso pode ser um fator a se olhar com atenção para evitar possíveis problemas metabólicos e evitar interações com medicamentos, podendo potencialmente impedir que alguns fármacos sejam metabolizados e excretados, aumentando suas toxicidades ou até mesmo em alguns casos impedindo a ativação das moléculas e consequentemente o efeito farmacológico.

Na avaliação da excreção, foi utilizado o parâmetro de *clearence* total também chamado de depuração, compreendido como o volume de fluído corporal do qual uma substância é completamente removida por unidade de tempo. A soma da depuração renal com a depuração hepática indica a taxa de eliminação renal. Este parâmetro foi observado constatando uma boa eliminação renal dos compostos sintetizados mostrando valores compreendidos entre 0,016 e 0,277 log ml/min/kg (ALMEIDA JÚNIOR et al. 2019).

O último parâmetro avaliado *in sílico* foi a toxicidade, sendo de elevada importância e, por isso, deve ser avaliado desde a concepção da uma molécula candidata à fármaco até a possível comercialização como medicamento inovador. O teste de AMES consiste na avaliação da atividade mutagênica de compostos (NAVEN et al., 2010; MATIAS et al.2017). De acordo com os dados obtidos quatro dos compostos apresentam potencial atividade mutagênica (LqIT/CS-01,04,07 e 08) e os demais apresentaram resultados negativos.

Também foi avaliada a potencial hepatotoxicidade, já que tal parâmetro está associado a possíveis problemas sérios associados a medicamentos (BJÖRNSSON, 2008) e verificou-se que, com exceção do composto LqIT/CS-06, todos os demais apresentam uma potencial toxicidade hepática, sugerindo que devem ser estudados de maneira mais cuidadosa e profunda na tentativa de elucidar melhor os dados obtidos e possíveis mecanismos envolvidos (MATIAS et al., 2017). Por fim, também foi avaliado o potencial de sensibilização da pele e concluiu-se que com exceção do LqIT/CS-01 os demais compostos não provocam efeito sensibilizante na pele (LARIK et al., 2019)

6.2 SEÇÃO BIOLÓGICA

6.2.1 Varredura dos compostos

Nos testes de varredura, os compostos apresentaram absorção entre 320 e 420nm, corroborando com resultados já descritos na literatura para os compostos que apresentam em suas estruturas anéis aromáticos, heterocíclicos insaturados e/ou grupos de átomos portadores de pares de elétron desemparelhados (KUMAR, 2006; LAKOWICZ, 2006). Foi possível traçar o perfil absortivo de todos os compostos, enquanto os perfis de fluorescência só foram obtidos para sete dos oito compostos, a única exceção foi o LqIT/CS-04, que não apresentou um perfil que permitisse a visualização dos picos, mesmo após alguns ajustes na metodologia.

6.2.2 Interação com o ssDNA

6.2.2.1 Espectroscopia de absorção UV-Vis

Todos os compostos da série LqIT/CS's foram utilizados nos estudos de interação por meio da absorção, após realização da varredura, sendo expostos a quantidades crescentes de ssDNA, variando entre 0 a 100μM. Após a verificação dos gráficos foi possível observar a presença dos efeitos hipercrômico (BALTAZAR et al., 2018), hipocrômico (GAO et al., 2010) e hipsocrômico (JANESARI et al., 2013).Tais efeitos servem como indicadores de uma possível formação de um complexo DNA-ligante, servindo até como dados iniciais para elucidação do mecanismo de ação pelo qual ocorre a interação de pequenas moléculas com o DNA (ALMEIDA et al., 2015; LAFAYETTE et al., 2017; SANKARGANESH et al., 2018; BALTAZAR et al., 2018; WANG et al., 2019).

Os dados espectroscópicos obtidos estão presentes na tabela 9, onde podemos comparar a absorção máxima dos compostos livres e interagindo com o ssDNA, bem como observamos o valor da constante de ligação de cada um desses dos compostos, o que serve como parâmetro de força de interação entre moléculas e o DNA, sendo aplicado para comparar moléculas estruturalmente diferentes, além de indicar os modos de interação com o DNA (MCGHEE; HIPPEL, 1974; PLSIKOVA et al., 2012; LAFAYETTE et al., 2013). Os valores referentes a intercaladores típicos estão compreendidos no intervalo entre 10^4 e 10^6 M^{-1} (THALMILARASAN et al., 2016; ALMEIDA et al., 2017). Os espectros de absorção dos compostos interagindo com o DNA encontram-se no apêndice M.

Tabela 9 - Dados espectroscópicos de absorção UV-Vis dos compostos LqIT/CS's livres e interagindo com o ssDNA

	λmáx livre (nm)	**λmáx** interagindo (nm)	**Δλ** (nm)	Hipercromismo (%)	Hipocromismo (%)	Kb(M^{-1})	
CS-01	367	366	1	22,61	-	$6,26x10^4$	p-F
CS-02	365	366	1	-	7,24	$3,11\ x10^4$	p-Cl
CS-03	363	363	0	29,06	-	$3,07\ x10^4$	p-NO_2
CS-04	363	363	0	16,13	-	$3,71\ x10^5$	p-Br
CS-05	368	366	2	17,88	-	$6,78\ x10^5$	p-H
CS-06	364	363	1	-	27,47	$8,81\ x10^4$	p-Ph
CS-07	369	361	8	29,29	-	$4,08\ x10^4$	p-CF_3
CS-08	367	367	0	-	3,22	$3,95\ x10^4$	p-OCH_3

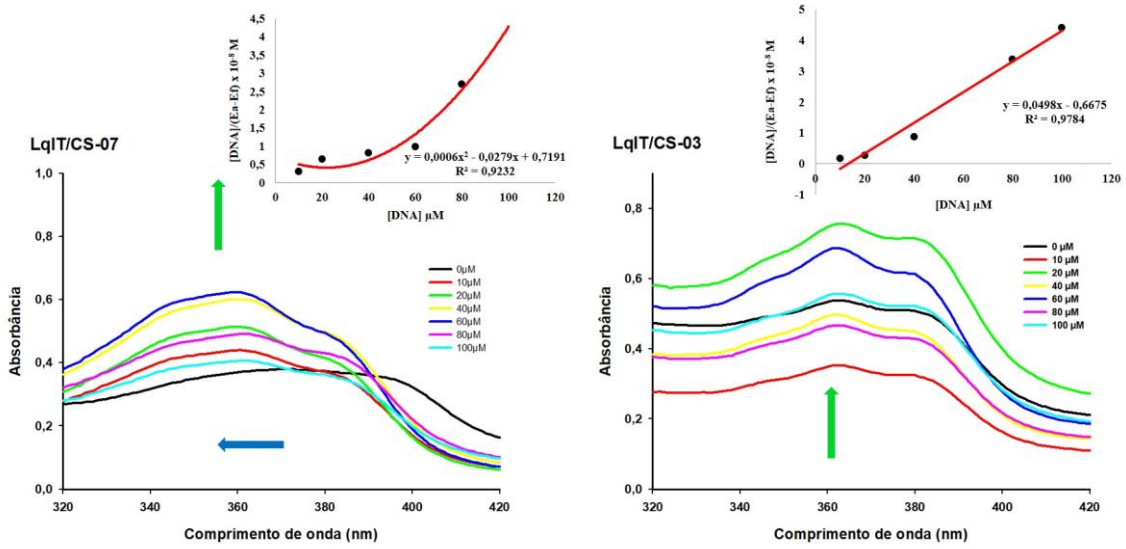
FONTE: O autor

A presença de efeitos hipercrômicos ou hipocrômicos caracteriza alterações na estrutura da dupla hélice do DNA após ligação com outras moléculas (LAFAYETTE, 2013; SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013). Foi observado que cinco dos oito compostos apresentaram hipercromismo e apenas três deles apresentaram hipocromismo. Quanto a variação da região do comprimento de onda, o composto que apresentou um maior desvio foi o LqIT/CS-07, caracterizando um efeito hipsocrômico, que pode estar relacionado a presença dos três átomos de flúor presentes no substituinte retirador de elétrons trifluorometil (CF_3). Esta molécula ainda apresentou a maior elevação no pico absortivo quando conjugada ao DNA, semelhante ao perfil encontrado na avaliação do fármaco Flutamida (TEMERK; IBRAHIM, 2015), droga antitumoral utilizada no combate ao câncer de próstata que também apresenta em sua estrutura o substituinte (CF_3).

Entre os demais compostos que apresentaram hipercromismo, com destaque para o LqIT/CS-03, que apresentaram uma porcentagem de variação na intensidade dos picos absortivos muito próxima do LqIT/CS-07 (figura 21) sugerindo que esses cinco compostos, que apresentaram um aumento do pico absortivo, se ligam ao ssDNA por ligações parciais por contatos externos via fosfato ou nos sulcos (ARSHAD et al.,2017; BALTAZAR et al.,2018). Esse tipo de interação é mais intensa quando há presença de fortes cargas positivas, neste caso o fato de ambas moléculas apresentam em comum a substituição com grupamentos que são

fortes retiradores de elétrons, nas posições *p*-trifluorometil e *p*-nitro, respectivamente, está diretamente relacionada ao perfil apresentado (ARJMAND; JAMSHEERA, 2011)

Figura 21 - Espectros de absorção dos compostos LqIT/CS-07 e LqIT/CS-03 na presença de quantidades crescentes de ssDNA. [DNA]=0,10,20,40,60,80,100. As setas apontando para cima e para a esquerda indicam respectivamente a presença do efeito hipercrômico e hipsocrômico, respectivamente. Inserção: correspondente ao gráfico de [DNA]/(Ea - Ef) em função da concentração de DNA, conforme determinado a partir dos dados espectrais.

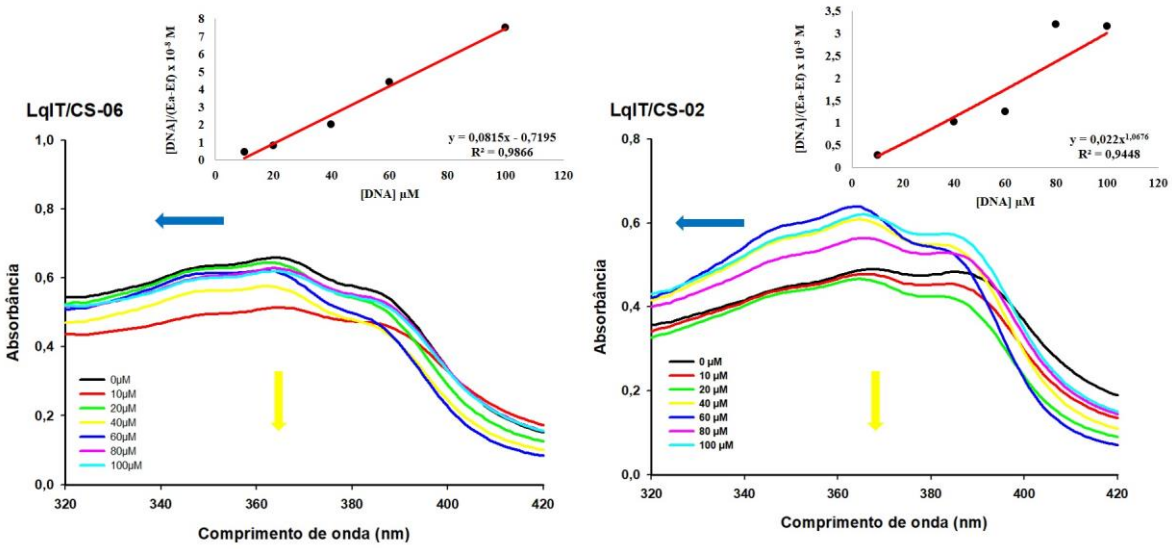


FONTE: O autor

Para os três compostos que apresentaram hipocromismo, LqIT/CS-02 e 06 e 08, cujas variações foram de 7,24%, 27,47% e 3,22%, respectivamente, pode-se atribuir o efeito de diminuição do pico absortivo à intercalação ao ssDNA envolvendo interações de empilhamentos de elétrons π entre os anéis aromáticos presentes nas estruturas desses derivados testados e os pares de base do fDNA (OZULER, KARA, ET AL.,2014; LIU et al., 2014; NARVA et al., 2016; MA et al., 2018). O LqIT/CS-06 apresentou um maior efeito hipsocrômico, isso pode ser explicado devido a presença de um anel fenil na posição –p, o que consequentemente leva a uma estabilização do complexo ligante-ssDNA formado (figura 21). Além de alterações na intensidade dos picos de absorção, foi observado para o LqIT/CS-02 e 06 uma variação quanto ao comprimento de onda de 1nm, caracterizando assim a presença de um leve efeito hipsocrômico, ou seja, um desvio para regiões que apresentam menores comprimentos de onda (deslocamento para região do azul). Estas variações não foram encontradas para o LqIT/CS-08, que por sua vez apresenta em sua estrutura o

grupamento metóxi, que é um doador de elétrons, diferente do substituintes Cl (LqIT/CS-02) e CF_3 (LqIT/CS-07) que são retiradores de elétrons.

Figura 22 - Espectros de absorção dos compostos LqIT/CS-06 e LqIT/CS-02 na presença de quantidades crescentes de ssDNA. [DNA]=0,10,20,40,60,80,100. As setas apontando para baixo e para a esquerda indicam respectivamente a presença do efeito hipocrômico e hipsocrômico, respectivamente. Inserção: correspondente ao gráfico de [DNA]/(Ea - Ef) em função da concentração de DNA, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



FONTE: O autor

O grau de afinidade biomolécula-ligante foi calculado por meio do Kb, que é a constante intrínseca que reflete quão intensa é a força de ligação entre os compostos da série LqIT/CS's e o ssDNA, para isso foram utilizados os dados das alterações de absorbâncias apresentadas pelos compostos quando expostos a quantidades crescentes de ssDNA, conforme o método de Mcghee e Von Hippel (1974). O composto LqIT/CS-03 apresentou um menor valor de Kb, em continuidade a ordem crescente observada para os derivados da série LqIT/CS's foi: 02 < 08 < 07 < 01 < 06 < 04, e o que apresentou maior valor de Kb foi o 05, que é o derivado sem substituição, quanto maior o valor do K_b, mais forte é a interação entre a molécula e os pares de base do DNA, caracterizando uma possível boa afinidade por intercalação (KUMAR et al., 2019). Os resultados obtidos indicam que a presença das substituições diminuiu a força de interação ssDNA-ligante, mas não exclui a capacidade de ligação entre os demais compostos e o ssDNA , pois os valores para intercaladores típicos que

interagem com o DNA estão na faixa de 10^4 e 10^6 M^{-1} (IHMELS; OTTO, 2005) indicando assim que todos os compostos da série apresentam capacidade de interação com o DNA, o que pode indicar um possível mecanismo de ação.

6.2.2.2 Espectroscopia de fluorescência

Para confirmação da formação do complexo de interação ligante-DNA, todos os compostos foram submetidos a análises de fluorescência, que pode ser utilizada como uma técnica complementar nos estudos de interação entre pequenas moléculas e o DNA, apresentando como vantagem uma alta taxa de sensibilidade, grande faixa de concentração linear e seletividade (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013; RIBEIRO et al., 2019).

Devido à baixa propriedade de fluorescência endógena do DNA foi investigada a possibilidade de avaliação dos espectros de fluorescência dos compostos, como foi realizado no estudo de SINGHAL, KHANNA e KHANNA (2019). Quando analisados isoladamente na ausência do ssDNA na concentração de 20 μM a maioria dos compostos apresentou fluorescência na faixa de 420 a 520 nm, com um único pico de emissão (tabela 10), a única exceção foi o composto LqIT/CS-04, pois não foi possível evidenciar a formação de um pico de fluorescência, o que consequentemente também impediu a visualização da interação desse composto com o DNA, necessitando que para tal composto sejam utilizadas outras técnicas complementares como a calorimetria de titulação isotérmica (ITC) em estudos futuros. Todos os espectros de emissão fluorescente estão dispostos no apêndice N.

A análise dos demais compostos com o DNA em diferentes concentrações, como pode-se observar na tabela 8, provocou um hipercromismo regular que aumentou de acordo com a concentração nos compostos LqIT/CS-01,02 e 03, enquanto nos compostos LqIT/CS-05,06 e 07 ocorreu um aumento da fluorescência até a concentração de 80 μM, acima disso iniciou-se um hipocromismo, e no composto LqIT/CS-08 a fluorescência estabilizou-se mostrando-se inalterada nas concentrações de 80 e 100 μM.

Tabela 10 - Dados espectroscópicos de emissão fluorescente dos compostos LqIT/CS's livres e interagindo com o ssDNA em concentrações crescentes.

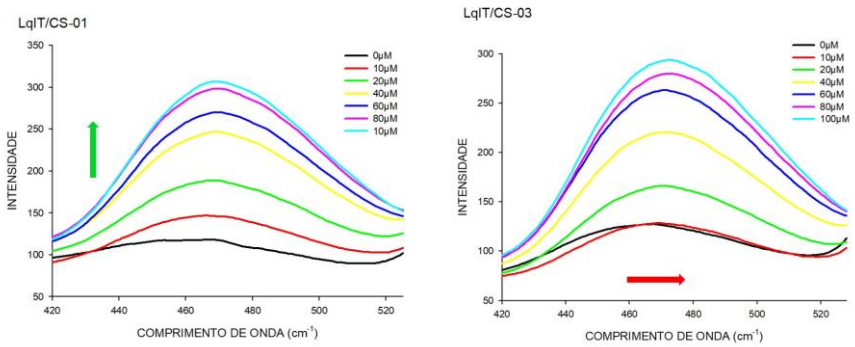
	λmáx livre (nm)	**λmáx** ligado (nm)	**Exc. (nm)**	**Emi. (nm)**	**Δλ (nm)**	Hipercromismo (%)	Bandas Exc/Emi (nm)	
CS-01	467	469	273	449	2	37,58	5_5	p-F

CS-02	467	469	273	452	2	17,45	5_5	p-Cl
CS-03	468	471	272	451	3	23,40	5_5	p-NO_2
CS-04	-	-	-	-	-	-	-	p-Br
CS-05	467	469	276	450	2	17,73	5_5	p-H
CS-06	469	469	275	440	0	35,56	5_5	p-Ph
CS-07	469	470	277	454	1	34,26	5_5	p-CF_3
CS-08	467	467	277	451	0	17,69	5_5	p-OCH_3

FONTE: O autor

No que se diz respeito a alteração na intensidade do pico fluorescente, esta pode ter ocorrido devido à diminuição da flexibilidade conformacional da nova estrutura formada (ligante-DNA) (FAULHABER et al., 2011). A maior elevação foi observada após interação do composto LqIT/CS-01 (figura 23), e foi decrescendo segundo a ordem: LqIT/CS-06 > 07 > 03 > 05 > 08 e o de menor efeito hipercrômico foi o 02. Esse aumento de fluorescência pode estar relacionado a uma maior ligação no local de intercalação com o DNA (FAULHABER et al., 2011).

Figura 23 - Efeitos hipercrômico e batocrômico evidenciado nos compostos LqIT/CS-01 e CS-03 respectivamente



FONTE: O autor

Com exceção dos compostos LqIT/CS-06 e 08, que não apresentaram nenhum deslocamento para outras regiões de comprimentos de onda, os demais apresentaram efeito batocrômico leve, que é um dos indícios de intercalação (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013, HUANG et al., 2019), deslocando o pico para a região do vermelho, sendo o LqIT/CS-03 o que apresentou o desvio mais elevado de 3nm.

Devido a variação da intensidade fluorescente não ter obedecido o aumento da concentração, não houve uma linearidade, dessa forma não foi possível calcular o Ksv dos compostos, necessitando então de uma análise por outro método para confirmação da interação, que serão realizados em estudos futuros. Contudo os resultados preliminares alcançados não excluem o indício de formação do complexo ligante-DNA, pois é notório que os compostos tiveram a fluorescência intrínseca modificada na presença do DNA.

Este comportamento se assemelha ao evidenciado pelas sondas fluorescentes utilizadas para estudos de fluorescência como o Brometo de Etídeo (BE) ou 4',6'-diamino-2-fenil-indol (DAPI) que se ligam ao DNA por intercalação nas cadeias duplas de DNA e promovem um aumento da intensidade fluorescente do complexo formado, a elevação do pico fluorescente tende a ser diminuída após a adição de uma outra molécula, causando assim a supressão da fluorescência e possibilitando o cálculo da extinção de fluorescência, tendo em vista a competição entre a sonda fluorescente e a biomolécula pelos locais de ligação ao DNA (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013; MA et al., 2018). A presença do anel indólico nas estruturas das moléculas testadas pode ter contribuído para a fluorescência dos compostos.

O composto LqIT/CS-06 apresentou um hipocromismo mais acentuado na análise de absorção e também o maior pico na fluorescência com o DNA o que serve como indício para evidenciar a intercalação entre o ligante estudado e o DNA. É importante destacar também que o composto LqIT/CS-05 que apresentou o maior valor de K_b também apresentou um valor intermediário de hipercromismo e um leve efeito batocrômico, ambos indicativos de interação por intercalação com o DNA (JIANG et al., 2015).

6.2.3 Interações com BSA

A ligação de fármacos a proteínas é um fator importante que tem impacto sobre a sua farmacocinética e sua farmacodinâmica, tornando possível o esclarecimento tanto de efeitos farmacocinéticos, como também farmacodinâmicos (BUDDANAVAR, NANDIBEWOOR, 2017). A albumina é a proteína encontrada em maior quantidade no plasma sanguíneo, tem papeis muito importantes dentro do organismo, entre elas o de transportar substâncias, o que tem feito dela objeto de estudo de diversos grupos de pesquisa com intuito de investigar o perfil de interação entre ligante-albumina através de técnicas espectroscópicas que permitem a observação de mudanças nos perfis absortivos e fluorescentes da mesma quando livre e

quando interagindo com moléculas (BUDDANAVAR, NANDIBEWOOR, 2017; POÓR et al.,2018; DÉRDAK et al., 2019; SHAGHAGHI et al.,2019).

Os dados obtidos após realização da varredura, descrita no item 5.2.1 foram utilizados também para verificação de interação entre as moléculas da série LqIT/CS e a BSA que tem sido estudada devido à sua similaridade estrutural com a HSA (MOREIRA et al., 2014).

6.2.3.1 Espectroscopia de Absorção UV-Vis

A utilização dessa técnica é uma forma de investigar a interação ligante-BSA, utilizando como padrão os parâmetros da proteína, pois ela já é amplamente caracterizada (LIU et al., 2018; RAFOLS et al., 2018; KUMAR; MASRAN, 2019; SILVA-FILHO et al., 2019) apresentando um pico de absorção relacionado à absorção de aminoácidos (Trp, Tyr e Phe) em torno de 278-280nm, este pode sofrer alterações quando interage com outras moléculas (CHATURVEDI et al 2015; MOHAMADI et al., 2015; CAO et al., 2018;; RIBEIRO et al., 2019).

Os dados espectroscópicos referentes à absorção UV-vis da BSA livre bem como exposta a concentrações crescentes (0-40 μM) dos novos derivados indol-tiazólicos estão dispostos na tabela 11.

Tabela 11 - Dados espectroscópicos de absorção UV-vis da BSA livre e interagindo com quantidades crescentes dos derivados da série LqIT/CS's (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 μM).

	λmáx livre (nm)	**λmáx** interagindo (nm)	**Δλ (nm)**	Hipercromismo (%)	Hipocromismo (%)	Kb(M^{-1})	
CS-01	278	278	0	52,88	-	$1,30x10^5$	p-F
CS-02	278	278	0	52,10	-	$1,41x10^5$	p-Cl
CS-03	278	278	0	64,15	-	$1,29x10^4$	p-NO_2
CS-04	278	277	1	47,01	-	$1,14x10^5$	p-Br
CS-05	278	278	0	43,50	-	$1,14x10^5$	p-H
CS-06	278	278	0	61,14	-	$1,45x10^5$	p-Ph
CS-07	278	278	0	61,58	-	$1,39x10^5$	p-CF_3
CS-08	278	278	0	56,45	-	$1,38x10^5$	p-OCH_3

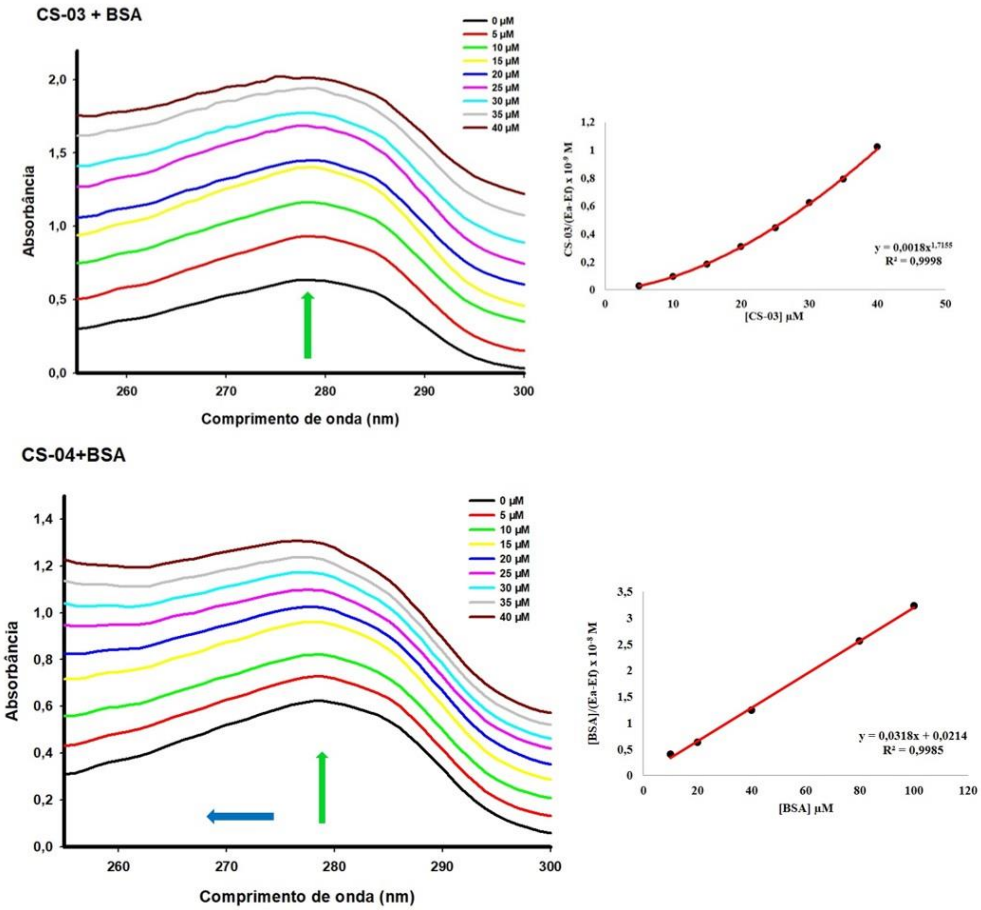
Fonte: O autor

Após a adição dos compostos a solução de BSA, apenas em um caso houve um leve efeito hipsocrômico, variando 1 nm para o composto LqIT/CS-04, este deslocamento alinhado com um efeito hipercrômico de 47,01% (figura 24), deve-se a interação de maneira não covalente e provavelmente através do empilhamento de elétrons π entre os anéis aromáticos dos novos derivados e resíduos de aminoácidos na cavidade de ligação da BSA (SINGLA; LUXAMI; PAUL et al., 2016). Podemos inferir ainda que o sítio ativo da proteína, disponível para ligação dos compostos, está exposto em um ambiente hidrofóbico, provavelmente próximo ao resíduo Trp-212 (BELATIK et al., 2012; RAJA; BHUVANESH; NATARAJAN et al., 2011).

Segundo os dados da tabela 11, os valores de K_b variaram entre 1,29 x 10^4 a 1,45 x 10^5 M^{-1}, indicando um bom grau de afinidade com a BSA (SILVA-FILHO et al., 2019), a ordem crescente de força de ligação foi **CS-03** (nitro) < **CS-05** (não substituído) < **CS-04** (bromo) < **CS-01** (flúor) < **CS-08** (metóxi) < **CS-07** (trifluorometil) < **CS-02** (cloro) < **CS-06** (fenil). O composto que causou maior elevação do pico de absorção foi o LqIT/CS-03 (figura 24), que por sua vez teve o menor K_b, o que nos leva a concluir que a presença do grupamento nitro, contribui diretamente para uma maior absorção, porém em comparação com as demais moléculas, este derivado não se liga tão fortemente a BSA, o que pode estar diretamente relacionado ao caráter iônico desse susbstituinte.

Com exceção dos compostos CS-04 e CS-05 todos os demais promoveram um aumento de intensidade do pico absortivo acima de 50% o que é indicativo de uma boa interação ligante-BSA, e não exclui a interação desses dois compostos, pois eles apresentaram uma força de ligação intermediária (ALMEIDA et al., 2017. Estes compostos podem ter interagido com a BSA promovendo uma maior exposição dos resíduos de aminoácidos, Trp-134 eTrp-212, que estavam inicialmente situados em bolsões hidrofóbicos, mas foram mais expostos devido a modificação na estrutura terciária da proteína (SAMARI et al., 2012; ALMEIDA et al., 2017; ASADI et al., 2020). Os demais espectros de absorção da BSA na presença dos compostos encontram-se dispostos no apêndice O.

Figura 24 - Espectros de absorção da BSA na presença de LqIT/CS-03 e 04 em quantidades crescentes de [LqIT/CS]=0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40. As setas apontando para cima e para a esquerda indicam respectivamente a presença do efeito hipercrômico e hipsocrômico, respectivamente. Inserção: correspondente ao gráfico de [LQIT/JF]/(Ea - Ef) em função da concentração do derivado, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



FONTE: O autor.

6.2.3.2 Espectroscopia de fluorescência

O estudo de possível ligação entre a BSA e compostos químicos pode ser realizada também pela técnica de fluorescência, através da supressão dos picos de fluorescência (GOUVEIA et al., 2018, SILVA-FILHO et al.,2019; RIBEIRO et al., 2019). Este efeito deve-se a interação com a estrutura terciária da BSA levando a alterações do ambiente hidrofóbico onde o Trp está presente, devido a ligação estabelecida entre o composto e a BSA, causando assim a supressão da fluorescência (SHI et al., 2016; GOUVEIA et al., 2018). A realização dessa análise na região de fluorescência da proteína foi idealizada, pois os compostos sintetizados pertencentes a série LqIT/CS's, quando tiveram seus perfis de fluorescência avaliados não apresentaram picos nessa região, o que descarta a existência de possíveis interferentes. A tabela 12 apresenta os resultados obtidos após a realização dessa análise em triplicata. Os demais espectros estão dispostos no apêndice P.

Tabela 12 - Dados espectroscópicos de emissão fluorescente da BSA livre e interagindo com quantidades crescentes dos derivados da série LqIT/CS's (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 µM).

	Exc. (nm)	Bandas Exc Emi (nm)	λmáx livre (nm)	λmáx ligado (nm)	Δλ (nm)	Hipocromismo (%)[a]	KSV (M^{-1})	
CS-01	285	2,5_2,5	342	339	3	70,7	10,41 $x10^4$	p-F
CS-02	285	2,5_2,5	342	338	4	59,74	5,22 $x10^4$	p-Cl
CS-03	285	2,5_2,5	342	340	2	46,53	5,98 $x10^4$	p-NO_2
CS-04	285	2,5_2,5	342	341	1	50,18	7,42 $x10^4$	p-Br
CS-05	285	2,5_2,5	342	339	3	44,94	6,19 $x10^4$	p-H
CS-06	285	2,5_2,5	342	339	3	61,45	12,65$x10^4$	p-Ph
CS-07	285	2,5_2,5	342	336	6	47,91	5,29$x10^4$	p-CF_3
CS-08	285	2,5_2,5	342	338	4	51,37	6,02$x10^4$	p-OCH_3

FONTE: O autor

Como pode-se observar na tabela 12, todos os compostos ao serem adicionados ao meio contendo a BSA promoveram extinção da fluorescência, caracterizada por um intenso hiprocromismo, variando entre 44% a 70,7%. O maior hipocromismo foi evidenciado pelo composto LqIT/CS-01 (figura 25), nesse caso pode-se observar que o hiprocromismo seguiu uma ordem decrescente de acordo com a diminuição da eletrofilicidade dos compostos halogenados, pois o LqIT/CS-02, substituído com o p-Cl, apresentou resultado inferior ao substituído com o p-F, e superior ao hiprocromismo apresentado pelo LqIT/CS-04, substituído com o p-bromo.

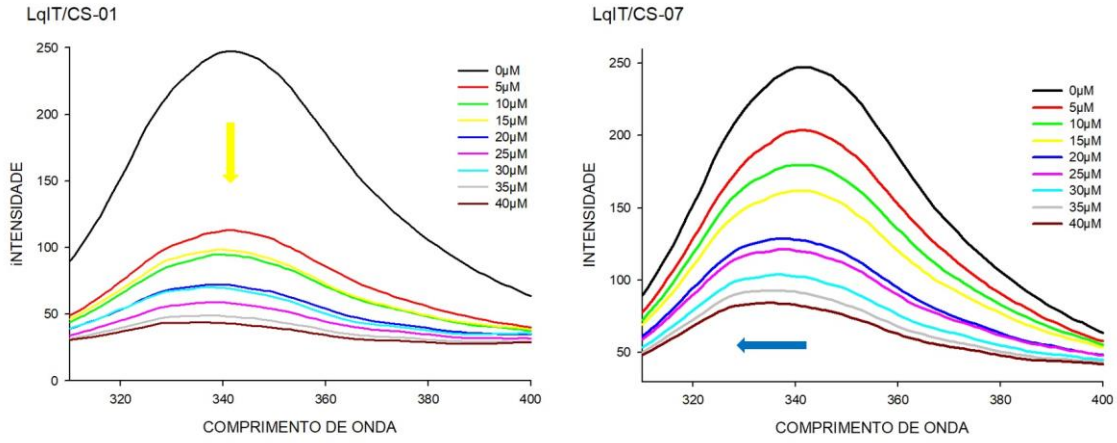
A extinção da fluorescência da BSA é evidenciada após a adição de sondas fluorescentes (GHOSH; RATHI; ARORA, 2016), como todos os compostos se comportaram dessa forma, inclusive na análise com o DNA (promovendo um aumento da fluorescência do mesmo), é mais um fator que confirma a interação das moléculas sintetizadas com o DNA, apesar da impossibilidade calcular a K_{sv}.

O cálculo da constante de Stern-Volmer (K_{sv}) mostrou que o maior valor, 12,65 x 10^4 está atribuído ao LqIT/CS-06, que por sua vez é o composto que apresenta maior hidrofobicidade, corroborando com os resultados encontrados por Gouveia e colaboradores (2018). Enquanto o LqIT/CS-02 apresentou o menor valor de K_{sv} e um percentual hipercrômico intermediário.

Além disso, foi observado também a presença do efeito hipsocrômico, sendo mais intenso (6nm) para o LqIT/CS-07 (figura 25), o que também é indicativo de interação entre a

BSA e o ligante (RIBEIRO et al., 2019). A presença dos efeitos hipercrômico na absorção e hipocrômico na fluorescência são indicativos de que ocorreu alguma provável mudança na estrutura secundária da proteína após interação (KALAIARASI et al., 2016; MURALISANKAR et al., 2016).

Figura 25 - Espectros de absorção da BSA na presença de LqIT/CS-01 e 07 em quantidades crescentes de [LqIT/CS]=0, 5, 10,15, 20, 25, 30, 35, 40. As setas apontando para baixo e para a esquerda indicam respectivamente a presença do efeito hipercrômico e hipsocrômico, respectivamente.



FONTE: O autor

Nota-se nos resultados da tabela 12 que o composto LqIT/CS-05 apresentou um menor valor de fluorescência, bem como de absorbância, apesar de apresentar valores de K_b e K_{sv} intermediários, provavelmente a ausência de um substituinte na posição –p, diferente dos demais compostos acabou causando uma menor exposição do Trp, gerando então uma baixa absorção e baixa fluorescência, o que não exclui o fato de ocorrer ligação entre o composto e a molécula com força intermediária, se comparado aos demais compostos da série.

6.2.4 Viabilidade celular em macrófagos J774

Observou-se que todos os compostos foram capazes de induzir alguma toxicidade nas células testadas, os valores respectivos do percentual inibitório de cada um dos compostos podem ser observados na tabela 13.

Tabela 13 - Viabilidade celular em porcentagem do controle positivo utilizado e dos compostos da série LqIT/CS com seus respectivos substituintes frente a linhagem de macrófagos J774.

Composto	Viabilidade(%)	Substituinte
m-AMSA	13,02	-
LqIT/LT-53	10,98	-
LqIT/CS-01	6,91	(*p*-F)
LqIT/CS-02	21,69	(*p*-Cl)
LqIT/CS-03	43,90	(*p*-NO_2)
LqIT/CS-04	44,35	(*p*-Br)
LqIT/CS-05	10,95	(*p*-H)
LqIT/CS-06	63,42	(*p*-Ph)
LqIT/CS-07	10,05	(*p*-CF_3)
LqIT/CS-08	31,92	(*p*-OCH_3)

FONTE: O autor

O controle positivo (*m*-AMSA), esta diminuiu a viabilidade celular para aproximadamente 13%, comparando-a com os demais resultados observamos que o composto intermediário LqIT/LT-53 apresentou-se mais tóxicos para a linhagem testada e que a estratégia de formação do tiazol proporcionou uma diminuição na toxicidade contra esta linhagem celular, ressaltando que a inserção de 5 dos 8 substituintes promoveu uma melhora nesse perfil de viabilidade, tendo como destaque os compostos substituídos com um grupo p-fenil (LqIT/**CS-06**), o p-bromo (LqIT/**CS-04**).

Estes compostos promoveram respectivamente uma viabilidade em torno de 63,42% e 44,35% esses resultados podem estar diretamente relacionados à elevada hidrofobicidade destes. A redução da viabilidade em 43,90% para o (LqIT/**CS-03**) pode estar relacionada a geração de espécies reduzidas de nitrogênio (PAULA; SERRANO; TAVARES, 2009).

A não substituição do **CS-05** contribui para uma diminuição da viabilidade celular, tal fato concorda com os valores observados nos compostos que apresentaram como substituintes átomo (s) de flúor, estes diminuíram ainda mais a viabilidade celular, que é o caso do **CS-01** (1 átomo de flúor) e o **CS-07** (3 átomos de flúor – o que atribui a esse substituinte um

tamanho semelhante ao átomo de Cl). A proximidade entre os valores desses três compostos está correlacionada ao fato de que o flúor na química medicinal é considerado como um bioisostero não-clássico do átomo de hidrogênio (LIMA; BARREIRO, 2005; MENG; QING, 2006; HERNANDES et al., 2010).

Correlacionando os resultados das substituições com halogênios, notou-se que a diminuição da eletrofilicidade favoreceu um aumento da viabilidade celular. Dessa forma o resultado apresentado pelo **CS-02** (p-cloro) foi intermediário quando comparado aos substituídos com F e com Br, o que pode ser explicado pelas características intermediárias do halogênio Cl, apresentando-se com um volume aumentado em relação ao flúor, o que pode promover uma melhor acomodação nos sítios-alvo de ligação, podendo se acomodar em locais mais apertados e cavidades hidrofóbicas mais profundas (SIEGAL; SCHULTZ, 2007; HERNANDES et al., 2010).

Enquanto isso, o composto **CS-08** apresenta em sua estrutura um forte grupamento doador de elétrons (p-metoxi), apresentando um valor duas vezes maior que o controle, apresentando também um resultado intermediário quando comparado as demais moléculas. Esta característica pode também inferir uma boa atividade antitumoral quando comparada com moléculas com grupamentos retiradores de elétrons (RAKESH et al., 2019). De maneira geral a substituição na posição *p*-fenil possibilitou um aumento da viabilidade em células de macrófagos J774, com exceção da substituição p-flúor (CS-01)

6.2.5 Citotoxicidade com linhagem tumoral MCF-7

A avaliação da atividade antitumoral dos novos derivados indol-tiazólicos sintetizados foi também realizada por uma triagem utilizando 50µM dos compostos em linhagens de células de adenocarcinoma de mama humano (MCF-7), através da técnica de MTT e utilizando a m-AMSA como controle positivo e células transformadas não tratadas como controle negativo. Os valores de viabilidade celular em percentual podem ser observados na tabela 14.

Tabela 14 - Viabilidade celular em porcentagem do controle positivo utilizado e dos compostos da série LqIT/CS com seus respectivos substituintes frente a linhagem de células MCF-7.

Composto	Viabilidade(%)	Substituinte

m-AMSA	31,20	-
LqIT/CS-01	21,17	(*p*-F)
LqIT/CS-02	11,07	(*p*-Cl)
LqIT/CS-03	23,04	(*p*-NO_2)
LqIT/CS-04	13,54	(*p*-Br)
LqIT/CS-05	22,16	(*p*-H)
LqIT/CS-06	23,53	(*p*-Ph)
LqIT/CS-07	7,64	(*p*-CF_3)
LqIT/CS-08	31,30	(*p*-OCH_3)

FONTE: O autor

O controle positivo mostrou uma viabilidade de 31,20% de células MCF-7, esse valor foi muito semelhante ao **CS-08** (metóxi) que apresentou 31,30%, contrariando os resultados encontrados por Rakesh e colaboradores (2019), pois esse resultado de um substituinte com um forte grupo doador de elétrons mostrou-se inferior, no que se diz respeito ao potencial antitumoral, aos valores apresentados pelos substituintes caracterizados como retiradores de e-

.

O composto que se destacou, sendo aproximadamente quatro vezes mais potente que o controle positivo foi o **CS-07**, diminuindo a viabilidade das células MCF-7 para 7,64% numa concentração de 50µM (tabela 14). A única diferença entre este e os demais compostos da série está na substituição com o grupamento trifluorometil, presente em várias pesquisas de moléculas com potencial atividade antitumoral (AL-JAMEEL; YOUSSEF, 2018 SANTANA et al., 2018; ELKAMHAWY et al., 2019) e em fármacos já utilizados na prática clínica para o tratamento do câncer como é o caso da enzalutamida, do regorafenibe, do ponatinibe e do sorafenib (AKHTAR et al., 2017; LUZINA; POPOV, 2009).

A presença de átomos de flúor contribui para melhorar a seletividade, eficácia e facilita a administração. Pesquisas voltadas a fármacos antitumorais que contenham o trifluorometil na estrutura molecular têm se destacado mostrando uma potente atividade antitumoral (ISANBOR; O'HAGAN, 2006; ZHU et al., 2014; SANTANA et al., 2018). Dessa forma o resultado encontrado frente à linhagem de células transformadas testadas corrobora com os dados descritos na literatura, sugerindo o **CS-07** como um composto com grandes

potenciais para testes avançados antitumorais, possivelmente agindo por outros mecanismos que serão futuramente investigados como a inibição da topoisomerase IIα.

Continuando a análise, pode-se notar que a presença de uma substituição com o *p*-Br, no caso do **CS-04**, mostrou-se na forma de atividade citotóxica intermediária em comparação com os demais halogênios, mas em relação ao controle esse composto mostrou resultados mais de duas vezes superiores. Esses resultados podem ser explicados pelo impedimento estérico gerado devido ao grande volume ocupado pelo átomo de bromo com diminuição da atividade quando comparado ao **CS-07**. O efeito eletronegativo exercido pelo Br ainda assim é tido como essencial para a existência da atividade antitumoral (NASR; BONDOCK; TOUNS et al., 2014).

O **CS-02** substituído com *p*-cloro apresentou resultados satisfatórios, que corroboram com os encontrados por SILVA e colaboradores (2017) em linhagem tumoral de carcinoma hepatocelular (HepG2) quando utilizaram esse halogênio em p-substituição. A capacidade melhor acomodação em cavidades hidrofóbicas profundas pode ter influenciado em um resultado superior quando comparado com o **CS-01** (SIEGAL; SCHULTZ, 2007; HERNANDES et al., 2010).

Os resultados apresentados pelo **CS-01** (*p*-flúor) e **CS-05** (não substituídos), foram extremamente semelhantes, 21,17% e 22,16%, respectivamente, confirmando os resultados encontrados nos testes com macrófagos e ressaltando o bioisosterismo entre essas duas porções utilizadas na química medicinal (LIMA; BARREIRO, 2005; HERNANDES et al., 2010), sendo empregado no desenvolvimento de fármacos antivirais e antitumorais (MENG; QING, 2006). A capacidade do flúor de mimetizar o hidrogênio deve-se ao raio de Vander Waals ser de 1,35 Å e o do hidrogênio de 1,10 Å, promovendo assim um mínimo aumento em efeitos estéricos, o que mostrou resultado ligeiramente superior ao composto não substituído (DUSCHINSKY, PLEVEN; HEIDELBERGER, 1957). Este resultado também foi evidenciado na pesquisa realizada por Silva e colaboradores (2017) utilizando essa mesma linhagem de células transformadas.

A adição do grupamento fenil, derivado **CS-06,** foi pouco significativa quando comparada com o composto **CS-05**, levando a conclusão que o aumento da hidrofobicidade não foi tão significativo para uma melhoria da atividade tóxica sobre as células transformadas, embora tenha apresentado bons resultados com os macrófagos, a presença de grupos doadores de elétron, como o fenil, favorece a existência de uma atividade antitumoral intermediária (ARAFA et al., 2013; LI et al., 2013).

A atividade atribuída ao **CS-03** pode estar relacionada a formação de espécies reativas de nitrogênio (ERN's), como o óxido nítrico (NO^+), o dióxido de nitrogênio (NO_2) e o ânion peroxinitrito ($ONOO^-$), que acabam por desempenhar efeitos semelhantes as ERO's , ativando assim vias de morte celular através de mecanismos como, por exemplo, ativação da apoptose intrínseca dependente de caspases (PAULA; SERRANO; TAVARES, 2009). A biorredução do grupo nitro é um processo que tem se mostrado fundamental para o estabelecimento de suas atividades biológicas, sendo uma das estratégias que vem sendo utilizadas no combate ao câncer (PAULA; SERRANO; TAVARES, 2009).

Os indícios de atividade intercalativa, observados nos testes espectroscópicos, somados às capacidades inibitórias dos novos derivados indol-tiazólicos os classificam como potenciais fármacos, tendo um destaque maior para o **CS-07** nessa análise, apesar da toxicidade observada nos macrófagos, sendo necessária a realização de testes complementares para uma maior elucidação dos mecanismos envolvidos.

Analisando os resultados observados frente às duas linhagens inicialmente testadas os compostos **CS-04**, **CS-06** e **CS-07** se mostraram como destaques quando comparados aos demais compostos, podendo apresentar resultados mais detalhados após a realização do IC_{50}, tornando assim possível a escolha de um composto *hit* para a série LqIT/CS.

7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

- ✓ Foi sintetizada uma série com oito novos compostos inéditos pertencentes à classe indol-tiazólicos, variando em substituições com grupos retiradores ou doadores de elétrons na posição p-fenil, e um deles sendo não substituído;, confirmando que a estratégia aplicada foi efetiva.
- ✓ Os compostos foram obtidos através de metodologias eficientes e purificados, apresentando a maioria deles rendimentos satisfatórios. Todos foram caracterizados físico-quimicamente, bem como por métodos espectroscópicos, e os espectros se apresentam consistentes com as respectivas estruturas químicas;
- ✓ Todos os compostos tiveram suas propriedades farmacocinéticas avaliadas *in sílico* apresentando resultados satisfatórios, semelhantes à fármacos já comercializados;
- ✓ Na avaliação por absorção com o ssDNA todos os compostos apresentaram valores de K*b* condizentes com os de agentes intercaladores sendo indicativo de um possível mecanismo de ação. Na fluorescência não foi possível calcular a constante de extinção da emissão da fluorescência, sendo necessária a implementação de uma nova técnica;
- ✓ Na avaliação com a BSA foi possível calcular todas as constantes e verificado que todos os compostos interagem satisfatoriamente com a proteína;
- ✓ Na avaliação da viabilidade celular em macrófagos J774 foi visto que 5 dos 8 compostos mostraram um perfil menos agressivo que o controle positivo utilizado (*m*-AMSA);
- ✓ Na avaliação da viabilidade celular em células transformadas de MCF-7 foi visto que todos os 8 compostos foram mais efetivos que o controle utilizado, tendo como destaque o composto **LqIT/CS-07**, que difere dos demais por apresentar o substituinte CF_3;
- ✓ Os compostos **LqIT/CS-04, LqIT/CS-06** e **LqIT/CS-07** apresentaram os melhores resultados da série, sendo necessária a realização do IC_{50} para definição do composto *hit* da série.

Diante dos resultados e conclusão apresentados nesta pesquisa, verifica-se a necessidade de dar continuidade aos estudos com estes novos compostos indol-tiazólicos. Tendo então como perspectivas:

- ✓ Realizar testes com as células para verificação do IC_{50} dos compostos sintetizados, não apenas na MCF-7, mas também em outras linhagens de mama transformadas e não transformadas;
- ✓ Utilizar técnicas de espectroscopia de dicroísmo circular, viscosidade e ITC com os compostos da série LqIT/CS's, para ampliar os resultados existentes sobre a interação com o ssDNA;
- ✓ Verificar o potencial de inibição da topoisomerase IIα, para assim termos uma maior clareza quanto ao possível mecanismo de ação dessas moléculas.

REFERÊNCIAS

ABU-MELHA, S. Synthesis and biological evaluation of some novel thiazole-based heterocycles as potential anticancer and antimicrobial agents. Molecules, v.24, p.1-15, 2019.

AJANI, O.O. et al. Functionalized benzimidazole scaffolds: privileged heterocycle for drug design in therapeutic medicine. **Archiv der Pharmazie**, v.349, p.1-32, 2016.

AKHTAR J. et al. Structure-activity relationship (SAR) study and design strategies of nitrogen-containing heterocyclic moieties for their anticancer activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.125, p.143-189, 2017.

AL-JAMEEL, S.S.; YOUSSEF, T.E. Investigations on the antitumor activity of classical trifluoro-substituted zinc phthalocyanines derivatives. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, p.34-52, 2018.

ALMEIDA, S.M.V. et al. 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.

ALTINTOP, M. D.; SEVER, B.; ÇIFTÇI, G. A.; ÖZDEMIR, A. Design, Synthesis, and Evaluation of a New Series of Thiazole-Based Anticancer Agents as Potent Akt Inhibitors. **Molecules,** v.23, p.2-17.

ANDRADE, C. H.; KÜMMERLE, A. E.; GUIDO, R. V. C. Perspectivas da química medicinal para o século XXI: desafios e oportunidades. **Química Nova**, v. 41, p.476-483, 2018.

ANDRICOPULO, A.D.; SALUM, L.B.; ABRAHAM, D.J. Structure-based drug design strategies in medicinal chemistry. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v.9, n.9, p.771-90, 2009.

ARAFA, R.K. et al. Synthesis and *in vitro* antiproliferative effect of novel quinolone-based potential anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.63, p.826-832, 2013.

ARJMAND, F.; JAMSHEERA, A. DNA binding studies of new valine derived chiral complexes of tin(IV) and zirconium(IV). **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.78, n.1, p.45-51, 2011.

ASADI, Z. et al. A novel Cu(II) distorced cubane complex containing Cu_4O_4 core as the first tetranuclear catalyst for temperature dependent oxidation of 3,5-di-*tert*-butyl catechol and in interaction with DNA & protein (BSA). **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.277, 2020.

AYATI, A. et al. 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, p. 699-718, 2015.

BAS, H. et al. Synthesis, DNA interaction, topoisomerase I, II inhibitory and cytotoxic effects of water soluble silicon (IV) phthalocyanine and napthalocyanines bearing 1- acetylpiperazine units. **Dyes and Pigments**, v. 160, p. 136–144, 2018.

BARLUENGA, J.; VALD'ES, C. Five-membered heterocycles: indole and related systems. **Modern Heterocyclic Chemistry**, p.377-531, 2011.

BAYTAS, S.N. et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of *trans*-indole-3-acrylamide derivatives, a new class of tubulin polymerization inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.22, n.12, p. 3096-3104, 2014.

BRAGA, S. F. P. et al. Synthesis and cytotoxicity evaluation of thiosemicarbazones and their thiazole derivatives. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v.52, p.299-307, 2016.

BRASIL. Organização Mundial da Saúde – OMS. Organização Pañ-Americana da Saúde – OPAS. Folha informativa – Câncer. 2018. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5588:folha-informativa-cancer&Itemid=1094. Acesso em: 09 Jan 2020.

BROGDON, C.F.; LEE, F.Y.; CANETTA, R.M. Development of Other Microtubule-Stabilizer Families: The Epothilones and Their Derivatives. **Anti-Cancer Drugs**, v.25, n.5, p. 599-609, 2014.

CAI, H.H. et al. Probing site-selective binding of rhodamine B to bovine serum albumin. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.372, p.35-40, 2010.

CANOVIC, P. et al. Impact of aromaticity on anticancer activity of polypyridyl ruthenium (II) complexes: synthesis , structure , DNA / protein binding , lipophilicity and anticancer activity. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 22, n. 7, p. 1007–1028, 2017.

CARDOSO, M. V. O.; SIQUEIRA, L. R. P.; SILVA, E. B. et al. 2-pyridil thiazoles as novel anti-trypanosoma cruzi agents: Structural design, synthesis and pharmacological evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.86, p.48-59, 2014.

CARRILLO-MUÑOZ, A.J. et al. Antifungal agentes: mode of action in yeast cells. **Revista Española de Quimioterapia**, v.19, n.2, p. 130-139, 2006.

CARTER, D.C.; HO, J.X. Structure of serum albumin. **Advances in Protein Chemistry**, v.45, p.153-203, 1994.

CHATURVEDI, S.K. et al. Elucidating the interaction of limonene with bovine serum albumin: a multi-technique approach. **Molecular BioSystems**, v.11, n.1, p.307-316, 2015.

CHHABRIA, M.T. et al. Thiazole: A Review on Chemistry, Synthesis and Therapeutic Importance of its Derivatives. **Current topics in Medicinal Chemistry,** v.16, p.2841-2862, 2016.

CHOPRA, S.; DAVIES, E. L. Breast Cancer. Medicine. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2019.11.009. Acesso em: 09 Jan 2020.

COLIN-JONES, D.G. The role and limitations of H2-receptor antagonists in the treatment of gastro-oesophageal reflux disease. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v.9, Suppl. 1, p. 9-14, 1995.

COOPER, A. B. et al. 1-Thiazol-2-yl-N—3-methyl-1H-pyrozole-5-carboxylic acid derivatives as antitumor agents, **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.27, p.4471-4477, 2017.

CUI, X.Y. et al. Advances in in vitro methods to evaluate oral bioaccessibility of PAHs and PBDEs in environmental matrices. **Chemosphere**, v.150, p.378-389, 2016.

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

DAS, D.; SIKDAR, P.; BAIRAGI, M. Recent developments of 2-aminothiazoles in medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.109, p. 89-98, 2016.

DATUSALIA, A.K.; KHATIK, G.L. Thiazole heterocycle: a privileged scaffold for drug design and discovery. **Current Drug Discovery Technologies**, v.13, n.3, 2018.

DESAI, N.C.; MAKWANA, A. H.; RAJPARA, K.M. Synthesis ans study of 1,3,5-triazine based thiazole derivatives as antimicrobial agents. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 20, p.334-341, 2016.

DUSCHINSKY, R.; PLEVEN, E.; HEIDELBERGER, C. The synthesis of 5-fluoropyrimidines. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 79, n. 16, p. 4559-4560, 1957.

EJAZ, S.A. et al. Distinctive inhibition of alcaline phosphatase isozymes by thiazol-2-ylidene-benzamide derivatives: functional insights into their anticancer role. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.119, n.8, p.6501-6513, 2018.

ELDEHNA, W.M. et al. Tumor-associated carbonic anhydrase isoform IX and XII inhibitory properties of certain isatin-bearing sulfonamides endowed with *in vitro* antitumor activity towards colon cancer. **Bioorganic Chemistry**, v.81, p.425-432, 2018.

ELKAMHAWY, A. et al. EGFR inhibitors from cancer to inflammation: discovery of 4-fluoro-*N*-(4-(3-(trifluoromethyl)phenoxy)pyrimidin-5-yl)benzamide as a novel anti-inflammatory EGFR inhibitor. **Bioorganic Chemistry**, v.86, p.112-118, 2019.

ERMAKOVA, E.A.; DANILOVA, A.G.; KHAIRUTDINOV, B. I. Interaction of ceftriaxone and rutin with human sérum albumin. WaterLOGSY-NMR and molecular docking study. **Journal of Molecular Structure**, v.1203, 2020.

GABA, M.; SINGH, S.; MOHAN, C. Benzimidazole: An emerging scaffold for analgesic and anti-inflammatory agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.76, p. 494-505, 2014.

GALDINO-PITTA, M.R. et al. Synthesis of Thiazacridine Derivatives as Anticancer Agents against Breast and Hematopoietic Neoplastic cells. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.36, p.59-67, 2017.

GALLANT, J.E. et al. Cobistat versus Ritonavir as a Pharmacoenhancer of Atazanavir plus Emtricitabine/Tenofovir Disoproxil Fumarate in Treatment-Naive HIV Type 1-Infected Patients: Week 48 Results. **The Journal of Infectious Diseases**, v.208, n.1, p. 32-39, 2013.

GELAMO, E.L.; TABAK, M. Spectroscopic studies on the interaction of bovine (BSA) and human (HSA) serum albumins with ionic surfactants. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.56, n.11, p.2255-2271, 2000.

GHONIM, A.E. et al. Structure-activity relationships of thiazole and benzothiazole derivatives as selective cannabinoid CB2 agonists with *in vivo* anti-inflammatory properties. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 180, p. 154-170, 2019.

GHOSH, K.; RATHI, S; ARORA, D. Fluorescence spectral studies on interaction of fluorescent probes with bovine serum albumin (BSA). V.175, p.135-140, 2016.

GOMHA, S. M. et al. A facile access and evaluation of some novel thiazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives incorporating thiazole moiety as potent anticancer agentes. **Chemistry Central Journal,** v.11, p. 1-8, 2017.

GOUVEIA, R.G. et al. Synthesis, DNA and protein interactions and human topoisomerase inhibition of novel Spiro-acridine derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.339, p.1-32, 2018.

GUGGILAPU, S.D. et al. Synthesis of thiazole linked indolyl-3-glyoxylamide derivatives as tubulin polymerization inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.138, p. 83-95, 2017.

GUHATHAKURTA, B. et al. Spectroscopic and molecular docking studies on the interaction of human serum albumin with copper(II) complexes. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.173, p.740-748, 2017.

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

GUO, Z. et al. Design, synthesis and evaluation of novel (S)-tryptamine derivatives containing an allyl group and an aryl sulfonamide unit as anticancer agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.29, p.1133-1137, 2019.

GUPTA, S. et al. Synthesis and bio-evaluation of indole-chalconebased benzopyrans as promising antiligase and antiproliferative agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.143, p. 1981-1996, 2018.

HALIMEHJANI, A. Z. et al. Dithiocarbamates as as efficient intermediate for the synthesis of 2-(alkylsulfanyl)thiazoles in water. **Tetrahedron Letters**, v.57, p.883-886, 2016.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v.144, p.646-674, 2011.

HAMDY, R. et al. Synthesis and evaluation of 5-(1H-indol-3-yl)-N-aryl-1,3,4-oxadiazol-2-amines as Bcl-2 inhibitory anticancer agents. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v.27, p.1037-1040, 2017.

HERNANDES, M.Z. et al. Halogen atoms in the modern medicinal chemistry: hints for the drug design. **Current Drug Targets**, v.11, n.3, p.303-314, 2010.

HUANG, S. et al. Comparable investigation of *in vitro* interactions between three ruthenium(II) arene complexes with curcumin analogs and ctDNA. **Polyhedron**, v.167, p.51-61, 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Estimativa 2020 de cancer no Brasil**. Disponível em: https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf. Acesso em: 09 Jan 2020.

ISANBOR, C.; O'HAGAN, D. Fluorine in medicinal chemistry: A review of anti-cancer agents. **Journal of Fluorine Chemistry**, v.127, n.3, p.303-319, 2006.

JAFARI, F. et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel benzo-ad tetrahydrobenzeno-[h]quinolone derivatives as potential DNA-intercalating antitumor agents. European Journal of Medicinal chemistry, v. 164, p. 292-303, 2019.

JIANG, X. et al. Spectrometric and voltammetric investigation of interaction of neutral red with calf thymus DNA: pH effect. **Biophysical Chemistry**, v.118, n.1, p.42-50, 2005.

KABIR, A.; HOSSAIN, M.; KUMAR, G.S. Thermodynamics of the DNA binding of biogenic polyamines: Calorimetric and spectroscopic investigations. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v.57, p.445-453, 2013.

KALAIARASI, G. et al. DNA (CT), protein (BSA) binding studies, anti-oxidant and cytotoxicity studies of new binuclear Ni (II) complexes containing 4(N)-substituted thiosemicarbazones. **Inorganica Chimica Acta**, v.453, p.547-558, 2016.

KANTARIJAN H. et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. **The New England Journal of Medicine**, v.362, n.24, p.2260-2270, 2010.

KASHYAP, S.J. et al. Thiazoles: having diverse biological activities. **Medicinal Chemistry Research**, v.21, n.8, p. 2123-2132, 2012.

KAUSHIK, N.K. et al. Biomedical Importance of Indoles. **Molecules**, v.18, n.6, p.6620-6662, 2013.

KOCH-WESER, J.; SELLERS, E.M. Binding of drugs to serum albumin (first of two parts). **The New England Journal of Medicine**, v.294, n.6, p.311-316, 1976.

KUMAR, M. et al. Structure, DNA/proteins binding, docking and cytotoxicity studies of copper(II) complexes with the first quinolone drug nalidixic acid and 2,2´-dipyridylamine. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.212, p.94-104, 2019.

KUMAR, M.; MASRAM, D.T. Evaluation of DNA, BSA, and HSA binding propensity of copper (II) complex with N-donor ligand 2,2′-dipyridylamine. **Polyhedron**, v.157, p.511-520, 2019.

KUMARI, A.; SINGH, R. K. Medicinal chemistry of indole derivatives: Current to future therapeutic prospectives. **Bioorganic Chemistry**, v. 89, 2019.

KUTHYALA, S. et al. Crystal, Hirshfeld, ADMET, drug-like and anticâncer study of some newly synthesized imidazopyridine containing pyrazoline derivatives. Journal of Molecular Structure, v.1197, p.65-72, 2019.

KRYSHCHYSHYN, A. et al. Thiopyrano[2,3-d]Thiazoles as New Efficient Scaffolds in Medicinal Chemistry. **Scientia Pharmaceutica**, v. 86, p.1-24, 2018.

LAFAYETTE, E. A. et al. 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.

LARIK, F. A. et al. Investigation on the effect of alkyl chain linked mono-thioureas as Jack bean urease inhibitors, SAR, pharmacokinetics ADMET parameters and molecular docking studies. **Bioorganic Chemistry**, v.86, p. 473-481, 2019.

LI, M.J. et al. Synthesis, characterization, DNA binding, cleavage activity and cytotoxicity of copper(II) complexes. **Dalton Transactions**, v.43, n.7, p.2789-2798, 2014.

LI, S. et al. Design, synthesis and antitumor activity of bisquinoline derivatives connected by 4-oxy-3-fluoroaniline moiety. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.64, p.62-73, 2013.

LIMA, L.M.; BARREIRO, E.J. Bioisosterism: a useful strategy for molecular modification and drug design. **Current Medicinal Chemistry**, v.12, n.1, p.23-49, 2005.

LINO, C. I. et al. Synthesis, molecular modeling studies and evaluation of antifungal activity of a novel series of thiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.151, p.248-260, 2018.

LIU, C. et al. Differential recognition and quantification of HSA and BSA based on two red-NIR fluorescent probes. **Journal of Luminescence**, v.197, p.193-199, 2018.

LIU, H.B. et al. Tulongicin, an Antibacterial Tri-Indole Alkaloid from a Deep-Water Topsentia sp. Sponge. **Journal of Natural Products**, v.80, n.9, p. 2556−2560, 2017.

LIU, X.Y. et al. Docking and molecular dynamics simulations of peroximose proliferator activated receptors interacting with pan agonist sodelglitazar. **Protein & Peptide Letters**, v.18, n.10, p. 1027-1027, 2011.

LIU, Z. et al. Design, synthesis and pharmacological evaluation of 2-(thiazol-2-amino)-4-arylaminopyrimidines as potent anaplastic lymphomakinase (ALK) inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.86, p.438-448, 2014.

LUZINA, E.L.; POPOV, A.V. Synthesis and anticâncer activity of N-bis(trifluoromethyl)alkyl-N'-thiazolyl and N-bis(trifluoromethyl)alkyl-N'-benzothiazolyl ureas. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.44, n.12, p.4944-4953, 2009.

MA, F.F. et al. Synthesis, photophysical properties, and DNA-binding of novel A-π-D-π-A' two-photon absorption chromophores. **Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry**, v.364, p.705-714, 2018.

MABKHOT, Y. N. et al. Stereoselective synthesis, X-ray analysis, computational studies and biological evaluation of new thiazole derivatives as potential anticancer agentes. **Chemistry Central Journal**. v.12, n.56, p.1-9, 2018.

MANN, T. et al. Structure-Activity Relationships of Thiazolyl Resorcinols, Potent and Selective Inhibitors of Human Tyrosinase. **Molecular Sciences**, v. 19, p.690, 2018.

MARQUES, K.M.R. et al. 5-Nitro-Thiophene-Thiosemicarbazone Derivatives Present Antitumor Activity Mediated by Apoptosis and DNA Intercalation. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v.19, n.13, p.1075-1091, 2019.

MARTINO, G. et al. New Arylthioindoles: Potent Inhibitors of Tubulin Polymerization. 2. Structure-Activity Relationships and Molecular Modeling Studies. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.49, n.3, p. 947-954, 2006.

MARTINS, P. et al. Heterocyclic Anticancer Compounds: Recent Advances and the Paradigm Shift towards the Use of Nanomedicine's Tool Box. **Molecules,** v. 20, p.16852-16891, 2015.

MATIAS, M. et al. Screening of pharmacokinetic properties of fifty dihydropyrimidin(thi)one derivatives using a combo of in vitro and in silico assays. **European Journal of Pharmaceutical Sciences,** v. 109, p. 334-346, 2017.

MEDJEDOVIÉ, M. et al. Dinuclear Ru(II) polypyridyl complexes: mechanistic study with biomolecules, DNA/BSA interactions and cytotoxic activity. Polyhedron, v.178, p. 114334, 2019.

MEHNDIRATTA, S.; NEPALI, K.; SATAPATHY, M.K. Hydroxamic acids as potent antioxidants and their methods of evaluation. In: **Oxidative Stress: Diagnostic Methods and Applications in Medical Science**. Springer, Singapore, p. 97-112, 2017.

MEIERJOHANN, S. Oxidative stress in melanocyte senescence and melanoma transformation. **European journal of cell biology**, v. 93, n. 1–2, p. 36–41, 2014

MELOUN, B.; MORÁVEK, L.; KOSTKA, V. Complete amino acid sequence of human serum albumin. **FEBS Letters**, v.58, n.1, p.134-137, 1975.

MENEZES, T.M. et al. Spiro-acridine inhibiting tyrosinase enzyme: Kinetic, protein-ligand interaction and molecular docking studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.122, p.289-297, 2019.

MENG, W. D.; QING, F. L. Fluorinated Nucleosides as Antiviral and Antitumor Agents. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 6, n. 14, p. 1499-1528, 2006.

MERLOT, A.M.; KALINOWSKI, D.S.; RICHARDSON, D.R. Unraveling the mysteries of serum albumin-more than just a serum protein. **Frontiers in Physicology**, v.5, p. 299-305, 2014.

METI, M.D. et al. Multi-spectroscopic investigation of the binding interaction of fosfomycin with bovine serum albumin. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v.5, n.4, p.249-255, 2015.

MODICA-NAPOLITANO, J. S.; WEISSIG, V. Treatment strategies that enhance the efficacy and selectivity of mitochondria-targeted anticancer agents. International **Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 8, p. 17394–17421, 2015.

MOHAREB, R. M.; ZAKI, M. Y.; ABBAS, N. S. Synthesis, anti-inflammatory and anti-ulcer evaluations of thiazole, thiophene, pyridine and pyran derivatives derived from androstenedione. **Steroids**, v.98, p.80-91, 2015.

MOHAREB, R. M.; ABDALLAH, A. E. M.; MOHAMED, A. A. Synthesis of Novel Thiophene, Thiazole and Coumarin Derivatives Based on Benzimidazole Nucleus and Their Cytotoxicity and Toxicity Evaluations. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.66, p.309-318, 2018.

MONDAL, M. et al. Molecular interaction between human serum albumin (HSA) and phloroglucinol derivative that shows selective anti-proliferative potential. **Journal of Luminescence**, v.192, p.990-998, 2017.

MORASKI, G.C. et al. Arrival of imidazo[2,1-*b*]thiazole-5-carboxamides: Potent anti-tuberculosis agents that target QcrB. **ACS Infectious Diseases**, v. 2, p.393-398, 2016.

MURALISANKAR, M. et al. Synthesis and crystal structure of new monometallic and bimetallic copper (II) complexes with N-substituted isatin thiosemicarbazone ligands: effects of the complexes on DNA/protein-binding property, DNA cleavage study and in vitro anticancer activity. **Polyhedron**, v.118, p.103-117, 2016.

MYZNIKOV, L.V.; HRABALEK, A.; KOLDOBSKII, G.I. Drugs in the tetrazole series. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v.43, n.1, p. 1-9, 2007.

NASCIMENTO, I. J. S. **Síntese, caracterização estrutural e relação estrutura-atividade de novos compostos cíclicos tiazolidínicos e tiazínicos derivados de tiossemicarbazonas planejados como portótipo de fármaco leishmanicida**.2017 Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas). Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2017.

NASR, T.; BONDOCK, S.; YOUNS, M. Anticancer activity of new coumarin substituted hydrazide-hydrazone derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.76, p.539-548, 2014.

O'DEA, A. et al. A series of indole-thiazole derivatives act as GPER agonists and inhibit breast cancer cell growth. ACS Medicinal Chemistry Letters, v.1, p.1-7, 2018.

OLIVEIRA, J.F. et al. Thiosemicarbazones and 4-thiazolidinones índole-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.

OZDEMIR, A. et al. Synthesis and evaluation of new indole-based chalcones as potential antiinflammatory agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.89, p. 304-309, 2015.

OZLUER, C.; KARA, H.E.S. *In vitro* DNA binding studies of anticancer drug idarubicin using spectroscopic techniques. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.138, p.36-42, 2014.

PACCA, C. C. et al. Thiosemicarbazones and Phthalyl-Thiazoles compounds exert antiviral activity against yellow fever virus and Saint Louis encephalitis vírus. **Biomedicine & Pharmacoterapy**, v.87, 381-387, 2017.

PANDA, S.K. et al. Phyto-pharmacognostical studies and quantitative determination of reserpine in different parts of *Rauwolfia* (spp.) of Eastern Odisha by UV spectroscopy method. **Asian Journal of Plant Science and Research**, v.2, n.2, p. 151-162, 2012.

PARRINO, B. et al. Synthesis, antitumor activity and CDK1 inhibiton of new thiazole nortopsentin analogues. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.138, p. 371-383, 2017.

PATIL, P.O.; BARI, S.B. Synthesis, characterization and screening for antidepressant and anticonvulsant activity of 4,5-dihydropyrazole bearing índole derivatives. **Arabian Journal of Chemistry**, v.9, n.4, p. 588-595, 2016.

PATIL, S.A.; PATIL, S.A.; PATIL, R. Medicinal applications of (benz) imidazole- and indole-based macrocycles. **Chemical Biology & Drug Design**, v.89, n.4, p.639-649, 2017.

PAULA, F. R.; SERRANO, S. H. P.; TAVARES, L. C. Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1013– 1020, 2009.

PAWAR, S.; OTTOOR, D. Spectroscopic and molecular docking study to understand the binding interaction of rosiglitazone with bovine serum albumin in presence of valsartan. **Journal of Luminescence**, v. 197, p. 200–210, 2018.

PEDROSA, S. C. B. L. **Síntese, caracterização estrutural e estudos de mecanismos de ação antitumoral de derivados indólico**. 2017. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017

.

PEERZADA, M. N. et al. Synthesis, characterization and Biological evaluation of tertiary sulfonamide derivatives of pyridyl-indole based heteroaryl chalcone as potential carbonis anhydrase IX inhibitors and anticâncer agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry,** v. 155, p. 13-23, 2018.

RÀFOLS, C.P. et al. Molecular interactions between warfarin and human (HSA) or bovine (BSA) serum albumin evaluated by isothermal titration calorimetry (ITC), fluorescence spectrometry (FS) and frontal analysis capillary electrophoresis (FA/CE). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.150, p.452-459, 2018.

RAKESH, K.P. et al. Anticancer and DNA binding studies of potential amino acids based quinazolinone anlogs: synthesis, SAR and molecular docking. **Bioorganic Chemistry**, v.87, p.252-264, 2019.

REDDY, G. M. et al. Synthesis, antimicrobial activity and advances in structure-activity relationships (SARs) of novel tri-substituted thiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.123, p.508-513, 2016.

RIBEIRO, A.G. et al. Novel 4-quinoline-thiosemicarbazone derivatives: Synthesis, antiproliferative activity, *in vitro* and *in silico* biomacromolecule interaction studies and topoisomerase inhibition. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.182, p.111592-111609, 2019.

ROUF, A.; TANYELI, C. Bioactive thiazole and benzothiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.97, p.911-927, 2015.

ROY, S. et al. Binding interaction of phosphorus heterocycles with bovine serum albumin: A biochemical study. **Journal of Pharmaceutical analysis**, v.7, p. 19-26, 2017.

RUGO, H.S. et al. CALGB 40502/NCCTG N063H: Randomized phase III trial of weekly paclitaxel (P) compared to weekly nanoparticle albumin bound nab-paclitaxel (NP) or ixabepilone (Ix) with or without bevacizumab (B) as first-line therapy for locally recurrent or metastatic breast cancer (MBC). **Journal of Clinical Oncology**, v.30, Suppl. 15, 2012.

SACHS, G.; SHIN, J.M.; HOWDEN, C.W. Review article: the Clinical Pharmacology of Proton Pump Inhibitors. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v.23, Suppl. 2, p. 2-8, 2006.

SALEM, A.A. et al. Characterization of human serum albumin's interactions with safranal and crocin using multi-spectroscopic and molecular docking techniques. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v.20, p.1-13, 2019.

SANG, C. et al. Synthesis and biological evaluation of 4b-(thiazol-2-yl)amino-40-Odemethyl-4-deoxypodophyllotoxins as topoisomerase-II inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,** v. 28, p. 71-76, 2018.

SANNA, G. et al. Sunthesis and biological evaluation of novel indole-derived thioureas. **Molecules**, v.23, n.10, p.2554-2571, 2018.

SANTANA, T.I. et al. Synthesis, anticancer activity and mechanism of action of new thiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.144, p.874-886, 2018.

SANTOS, T.A.R. et al. Antitumor and immunomodulatory activities of thiosemicarbazones and 1,3-thiazoles in jurkat and HT-29 cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.82, p.555-560, 2016.

SCHUMACHER, H.R. et al. Phase II, dose response, safety and efficacy clinical trial of a new oral xanthine oxidase inhibitor TMX-67 (febuxostat) in subjects with gout. **American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting**, Atlanta, United States, p.24-29, 2002.

SCUOTTO, M. et al. Discovery of novel multi-target índole-based derivatives as potente and selective inhibitors of chikungunya vírus replication. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.25, n.1, p. 327-337, 2017.

SHAHABADI, N.; MAGHSUDI, M.; SHOHRE, S. Study on the interaction of food colourant quinoline yellow with bovine serum albumin by spectroscopic techniques. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1836-1841, 2012.

SHAVETA; S. M.; SINGH, P. Hybrid molecules: The privileged scaffolds for various pharmaceuticals. **European Journal of Medicinal Chemistry,** v. 124, p.500-536, 2016.

SHI, J.H. et al. Characterizing the binding interaction between antimalarial artemether (AMT) and bovine serum albumin (BSA): Spectroscopic and molecular docking methods. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.162, p.14-23, 2016.

SIEGAL, G.; AB, E.; SCHULTZ, J. Integration of fragment screening and library design. **Drug Discovery Today**, v.12, n.23-24, p.1032-1039, 2007.

SILVA-FILHO, F.A. et al. Topoisomerase inhibition and albumin interaction studies of acridine-thiosemicarbazone derivatives. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.138, p.582-589, 2019.

SILVA, E. B. **Concepção, síntese e caracterização de novos derivados piridil-1,3-tiazol como agentes antichagásicos**. 2014. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

SILVA, M. M. **Síntese, caracterização estrutural e avaliação da atividade anti-*trypanosoma cruzi* de derivados tiazolidínicos e imidazolidínicos**, 2009. Tese (Doutorado em ciências biológicas). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

SILVA, M.M. et al. Correlation between DNA/HSA-interactions and antimalarial activity of acridine derivatives: Proposing a possible mechanism of action. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.189, p.165-175, 2018.

SILVA, T. D. S. et al. Anti-liver cancer activity in vitro and in vivo induced by 2-pyridyl 2,3-thiazole derivatives. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 239, p.213-223, 2017.

SINGHAL, S.; KHANNA, P.; KHANNA, L. Synthesis, DFT studies, molecular docking, antimicrobial screening and UV fluorescence studies on ct-DNA for novel Schiff bases of 2-(1-aminobenzyl) benzimidazole. **Heliyon**, v.5, 2019.

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.

SOUZA, M.V.N. et al. Métodos de obtenção e aplicações sintéticas de tiazóis, uma importante classe de compostos heterocíclicos. **Química Nova**, v.28, n.1, p.77-84, 2005.

SUN, Y.; WANG, W. Study on the interaction of bioactive compound S-allyl cysteine from garlic with serum albumin. **Journal of food and drugs analysis**, v. 25, p. 385-390, 2017.

SURYAWANSHI, V.D. et al. Spectroscopic analysis on the binding interaction of biologically active pyrimidine derivative with bovine serum albumin. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v.6, n.1, p.56-63, 2016.

STOIČKOV, V. et al. QSAR study of 2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-ones derivatives as angiotensin II AT1 receptor antagonists based on the Monte Carlo method. **Struct Chem,** v.29, p.441-449, 2018.

SWATHI, K.; SARANGAPANI, M. Synthesis and antiepileptic activity of schiff's bases of dialkylamino alkoxy isatin derivatives. **Advances in Experimental Medicine and Biology,** v.822, p.119-128, 2015.

TAKARADA, J. E. et al. Ru/Fe bimetallic complexes: Synthesis, characterization, cytotoxicity and study of their interactions with DNA/BSA and human topoisomerase IB. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.636, p.28-41, 2017.

TERMEK, Y.; IBRAHIM, H. Electrochemical studies and spectroscopic investigations on the interaction of na anticâncer drug flutamide with DNA and its analytical applications. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.736, p.1-7, 2015.

THOMAS, S.E. et al. Structural Biology and the Design of New Therapeutics: From HIV and Cancer to Mycobacterial Infections A Paper Dedicated to John Kendrew. **J Mol Biol,** v.429, p.2677–2693, 2017.

TOMCZYK, M.D.; WALCZAK, K.Z. l,8-Naphthalimide based DNA intercalators and anticancer agents. A systematic review from 2007 to 2017. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.159, p.393-422, 2018.

TSAGRIS, D.J. et al. Trisubstituted thiazoles as potente and selective inhibitors of *plasmodium falciparum* protein kinase (P*f*PKG). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.28, p.3168-3173, 2018.

TURCK, D. et al. Clinical pharmacokinetics of meloxicam. **Arzneimittelforschung**, v.47, n.3, p. 253-258, 1997.

TZVETKOV, N.T. et al. Indazole- and Indole-5-carboxamides: Selective and Reversible Monoamine Oxidase B Inhibitors with Subnanomolar Potency. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.57, n.15, p. 6679-6703, 2014.

VARRICA, M.G. et al. DNA intercalators based on (1,10-phenanthrolin-2-yl)isoxazolidin-5-yl core with better growth inhibition and selectivity than cisplatin upon head and neck squamous cells carcinoma. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.143, p.583-590, 2018.

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

WANG, L.H. et al. SYP-5, a novel HIF-1 inhibitor, suppresses tumor cells invasion and angiogenesis. **European Journal of Pharmacology**, v.791, p.560-568, 2016.

WANG, Y. et al. Structural mechanism of ring-opening reaction of glucose by human serum albumin. **Journal of Biological Chemistry**, v.288, n.22, p.15980-15987, 2013.

WANG, Y.Q. et al. Design, synthesis and biological evaluation of substituted 11H-benzo[a]carbazole-5-carboxamides as novel antitumor agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.46, n.12, p.5878-5884, 2011.

WHITE, C.A. Nitazoxanide: a new broad spectrum antiparasitic agente. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v.2, n.1, p. 43-49, 2004.

XIANGYAN, L.; CHEN, Y..; HU, P.; HUANG, W. Fatostatin Displays High Antitumor Activity in Prostate Cancer by Blocking SREBP-Regulated Metabolic Pathways and Androgen Receptor Signaling. **Molecular Cancer Terapeutics**, v.13, p.855-866, 2014.

YASREBI, S.A.; TAKJOO, R.; RIAZI, G.H. HSA-interaction studies of uranyl complexes of alkyl substituted isothiosemicarbazone. **Journal of Molecular Structure**, v.1193, p.53-61, 2019.

YOUSSIF, B. G. M. et al. Design, synthesis, mechanistic and histopathological studies of small-molecules of novel indole-2-carboxamides and pyrazino[1,2-a]indol-1(2H)-ones as potential anticancer agents effecting the reactive oxygen species production. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.146, p. 160-273, 2018.

ZHAO, X. et al. Exploring the diameter and surface dependent conformational changes in carbon nanotube-protein corona and the related cytotoxicity. **Journal of Hazardous Materials**, v.292, p.98-107, 2015.

ZHANG, D. et al. Synthesis and cytotoxic studies of some novel compounds containing 3-(1*H*-indol-3-yl)-1*H*-pyrazole molecular scaffold. **Research on Chemical Intermediates**, v.41, n.9, p.6575-6587, 2014b.

ZHANG, I. et al. Comprehensive Review in Current Developments of Imidazole-Based Medicinal Chemistry. **Medicinal Research Reviews**, v.34, n.2, p.340-437, 2014a.

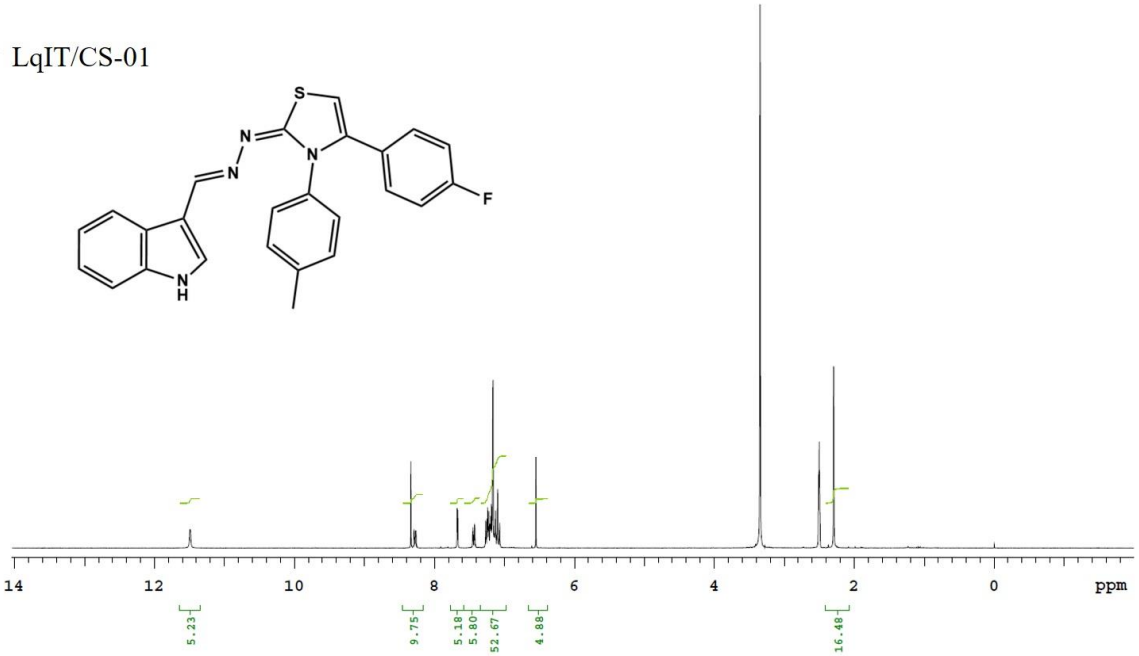
ZHANG, M.Z.; CHEN, Q.; YANG, G.F. A review on recent developments of indole-containing antiviral agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.89, p. 421-441, 2015.

ZHOU, J. et al. Trypsin-catalyzed multicomponent reaction: A novel and efficient one-pot synthesis of thiazole-2-imine derivatives. **Journal of Biotechnology**, v.241, p.14-21, 2017.

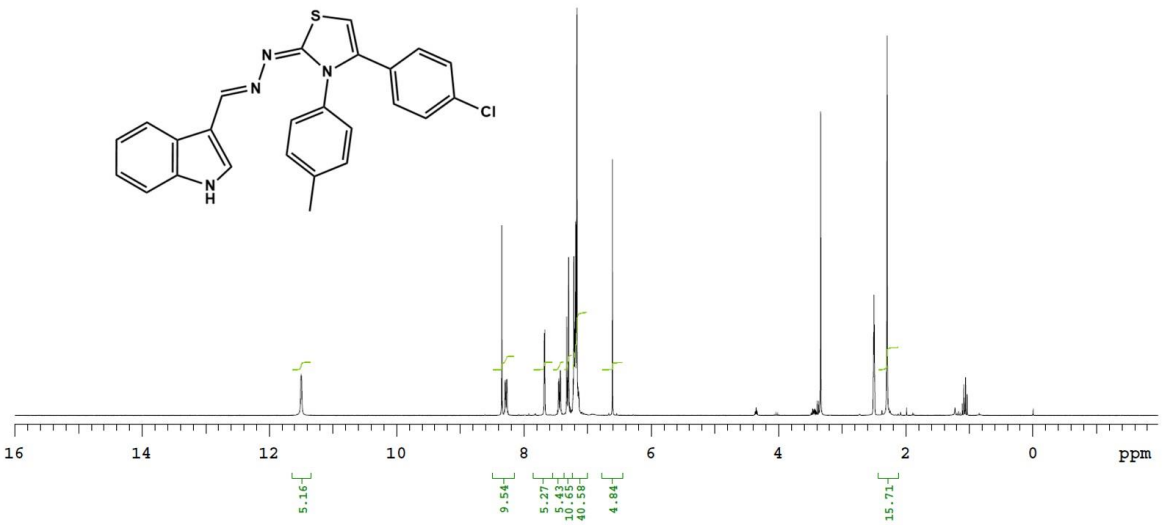
ZHU, W. et al. Recent advances in the trifluoromethylation methodology and new CF_3-containing drugs. **Journal of Fluorine Chemistry**, v.167, p.37-54, 2014.

APÊNDICE A – ESPECTROS DE RMN ^{1}H DOS COMPOSTOS LQIT/CS-01 E LQIT/CS-02

LqIT/CS-01

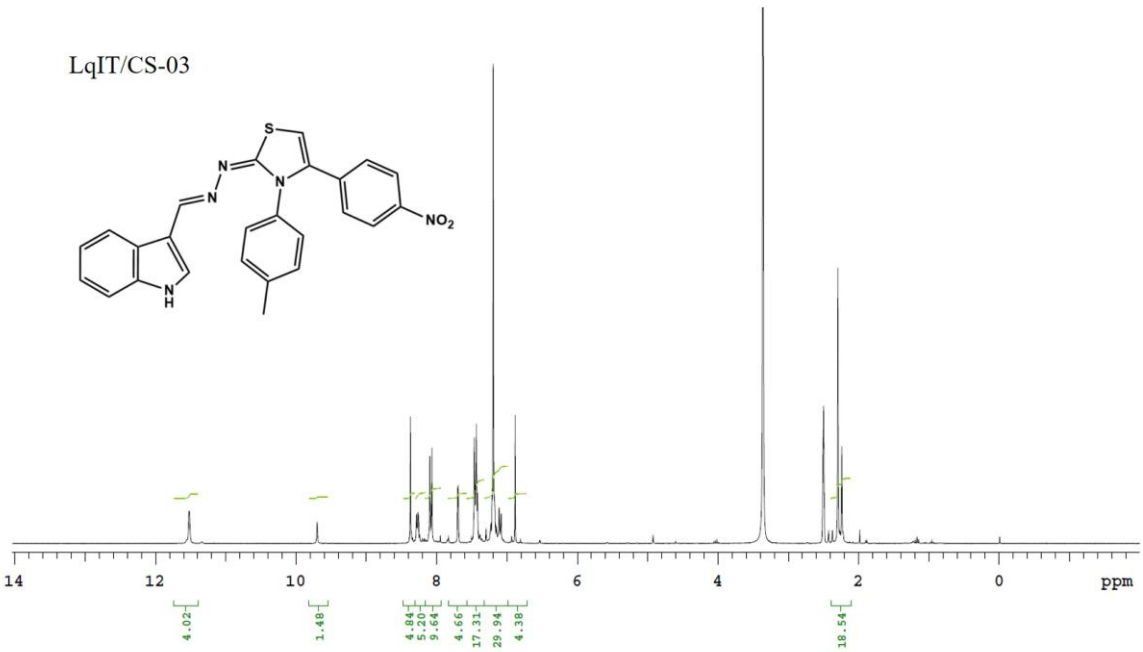


LqIT/CS-02

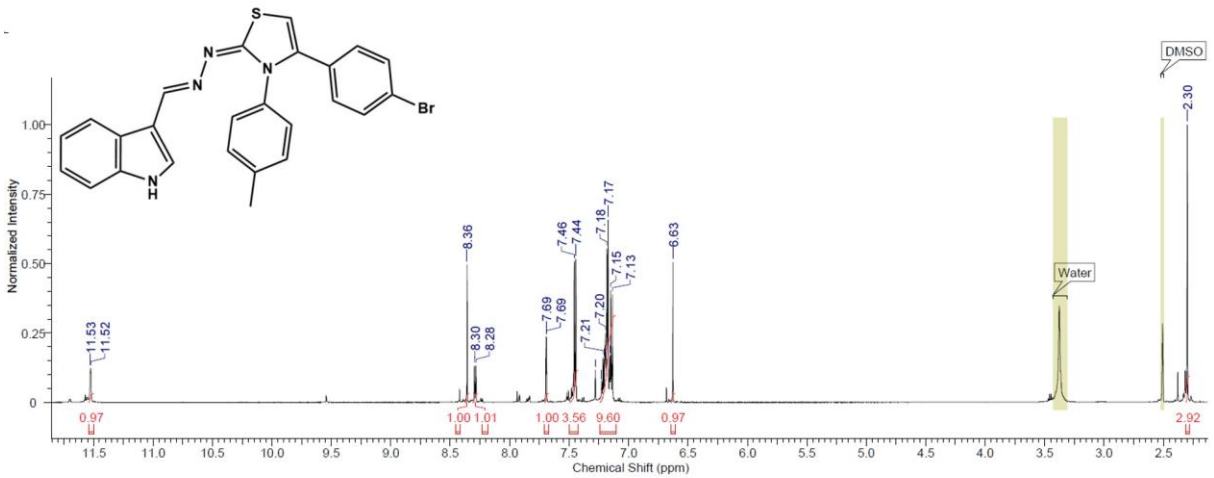


APÊNDICE B – ESPECTROS DE RMN ^{1}H DOS COMPOSTOS LQIT/CS-03 E LQIT/CS-04

LqIT/CS-03

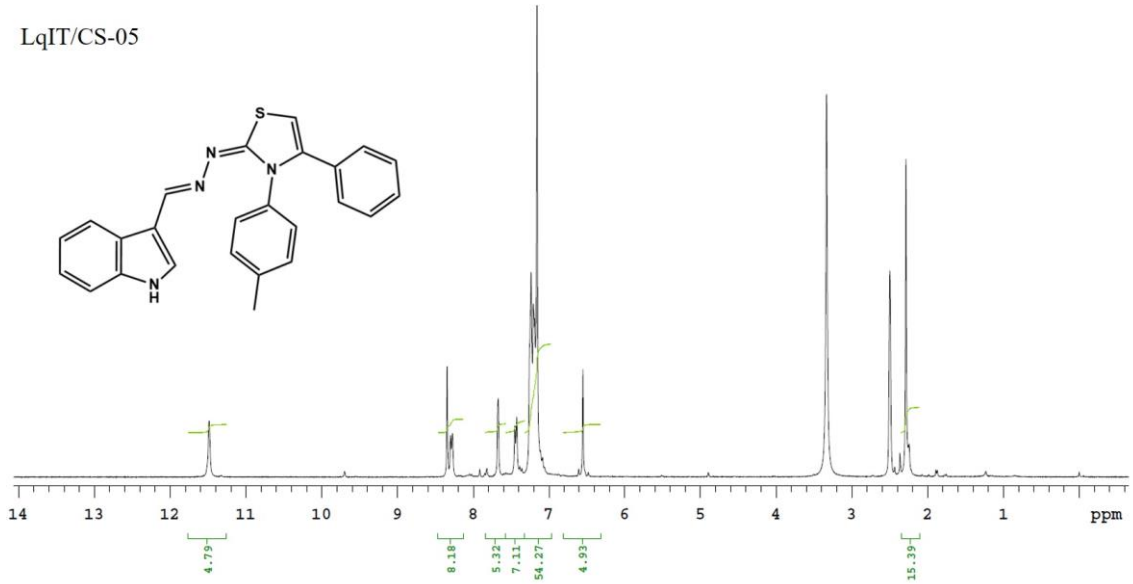


LqIT/CS-04

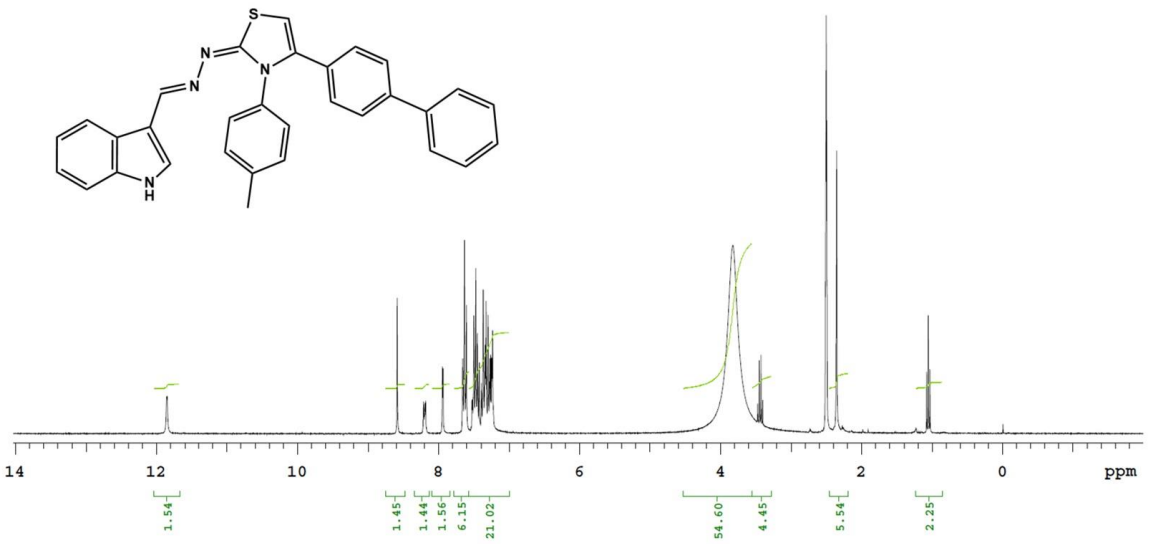


APÊNDICE C – ESPECTROS DE RMN ^{1}H DOS COMPOSTOS LQIT/CS-05 E LQIT/CS-06

LqIT/CS-05

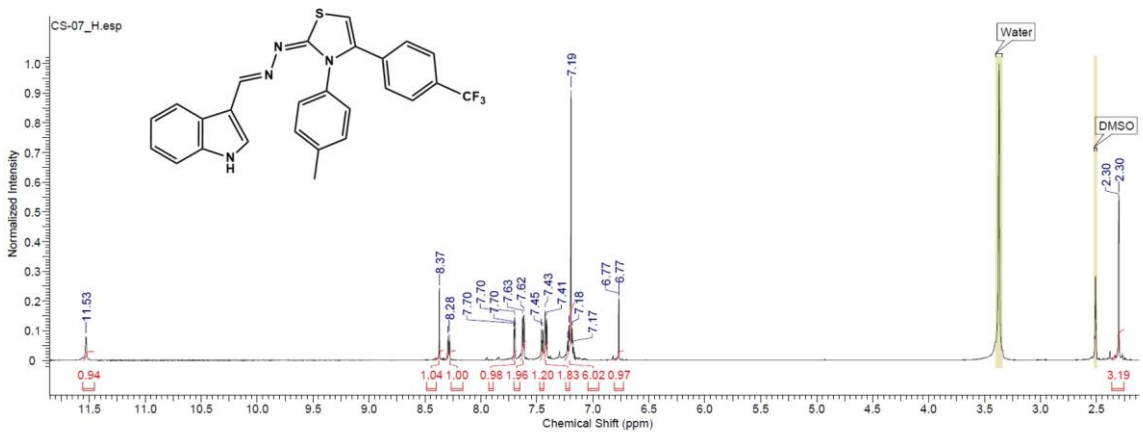


LqIT/CS-06

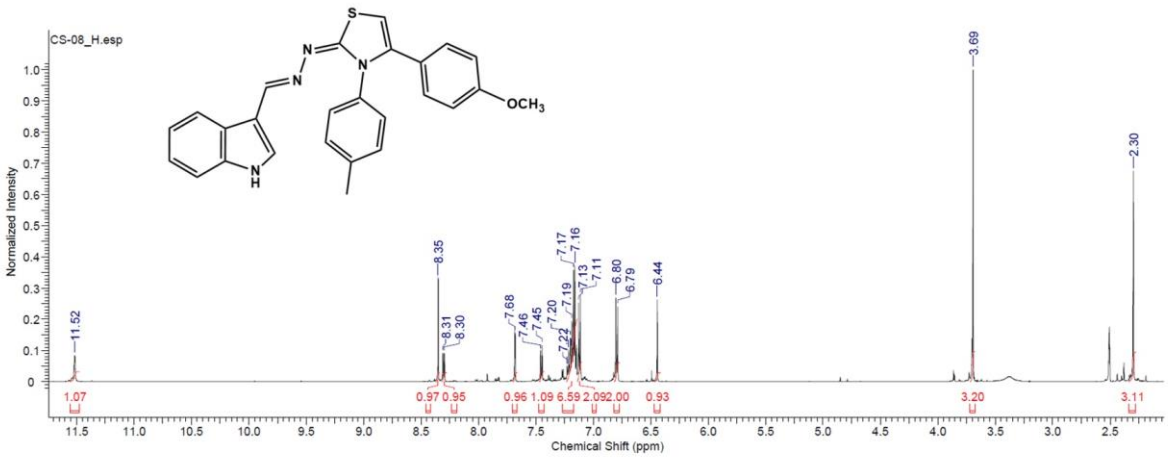


APÊNDICE D – ESPECTROS DE RMN ^{1}H DOS COMPOSTOS LQIT/CS-07 E LQIT/CS-08

LqIT/CS-07

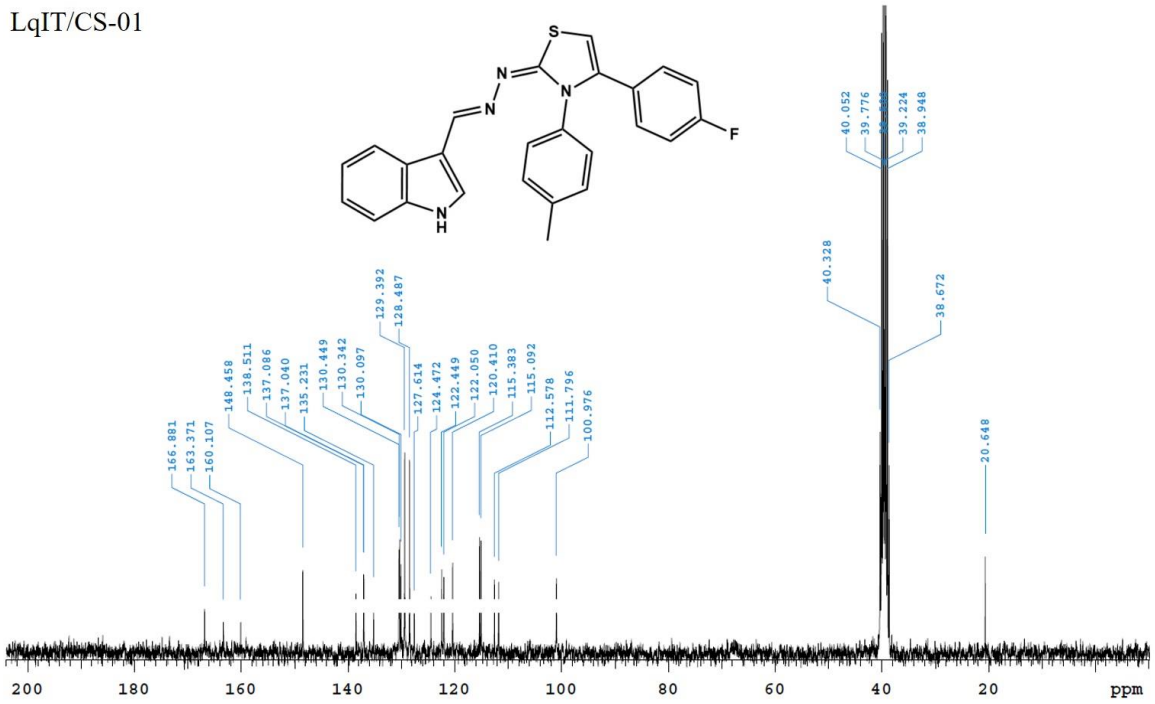


LqIT/CS-08

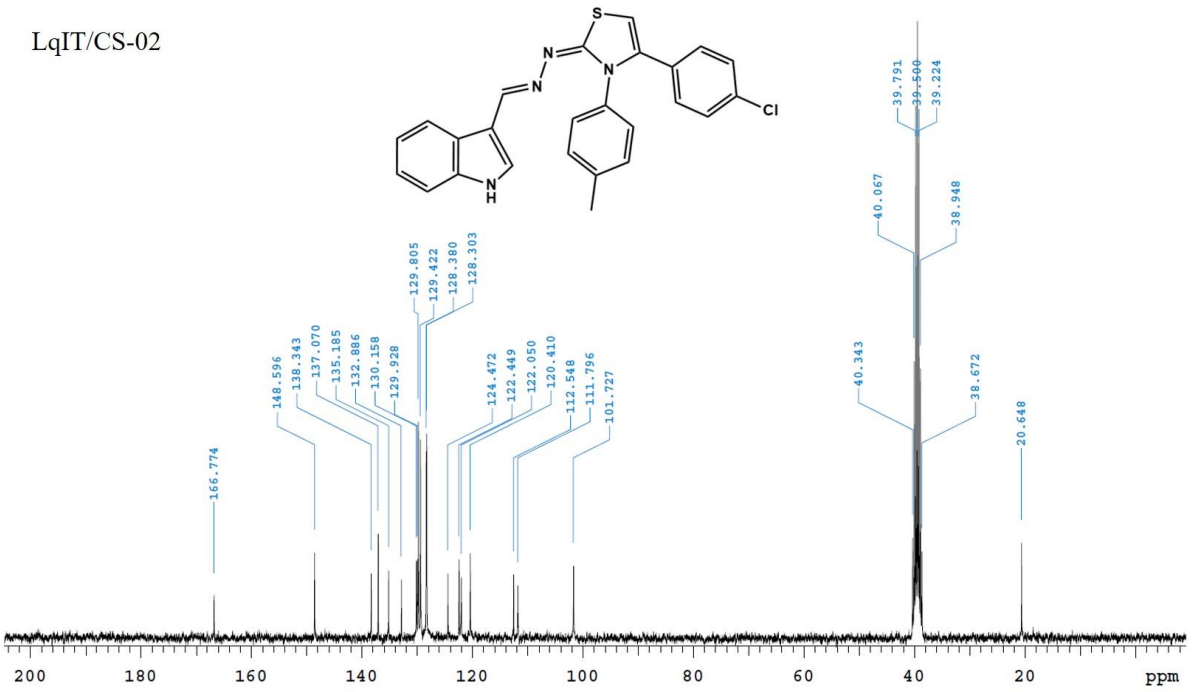


APÊNDICE E – ESPECTROS DE RMN ^{13}C DOS COMPOSTOS LQIT/CS-01 E LQIT/CS-02

LqIT/CS-01

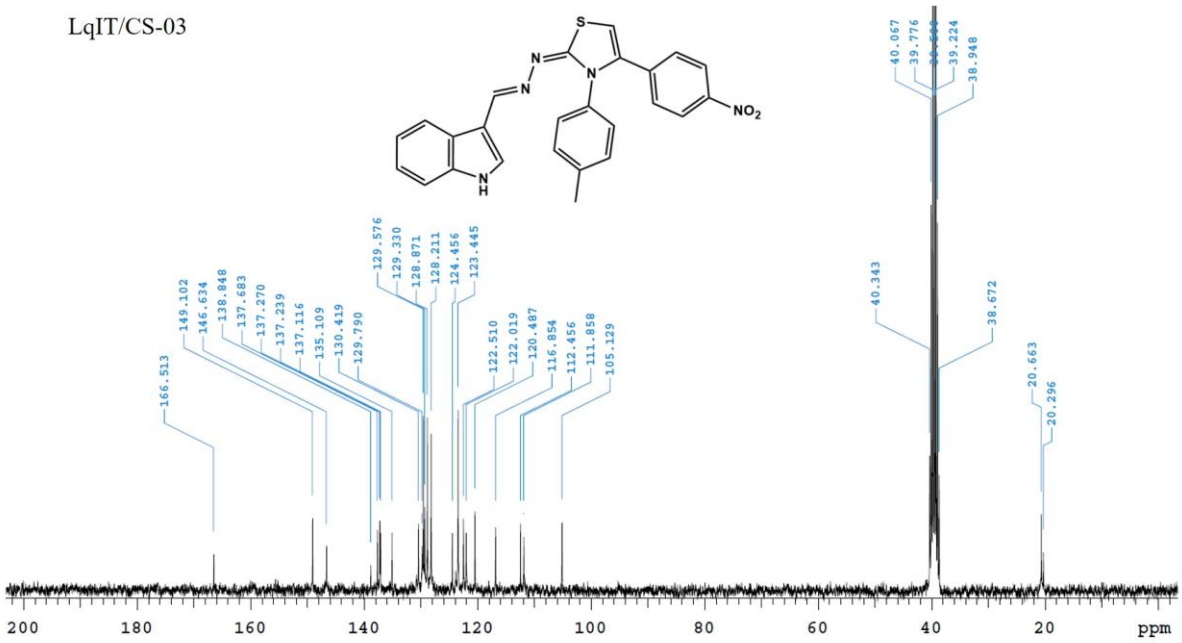


LqIT/CS-02

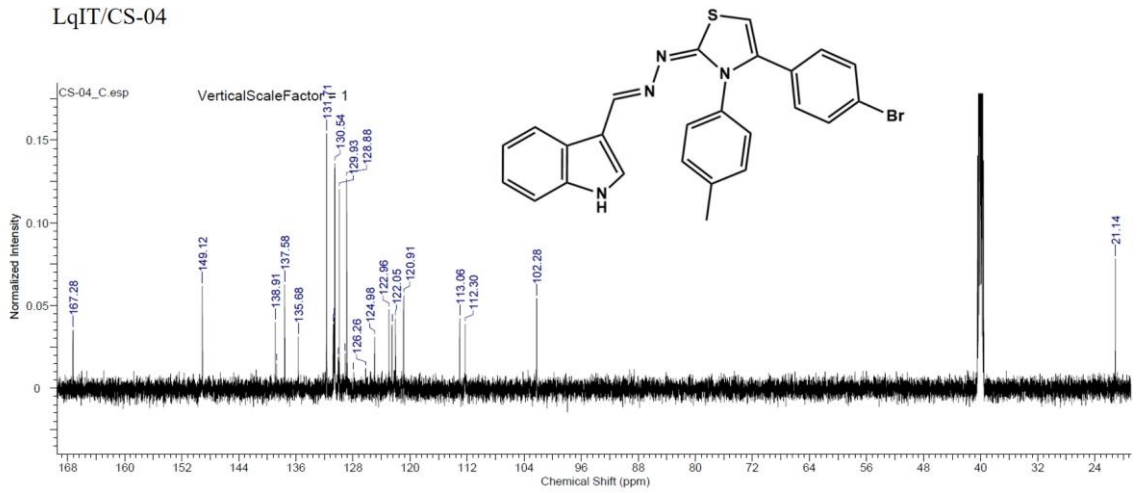


APÊNDICE F – ESPECTROS DE RMN ^{13}C DOS COMPOSTOS LQIT/CS-03 E LQIT/CS-04

LqIT/CS-03

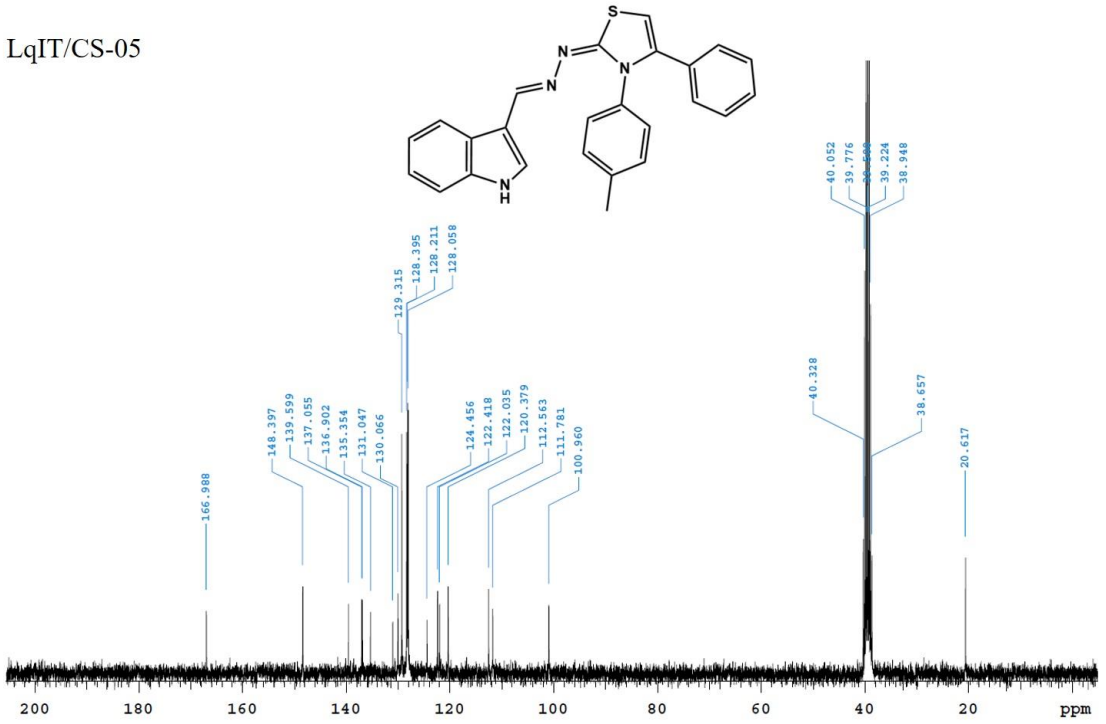


LqIT/CS-04

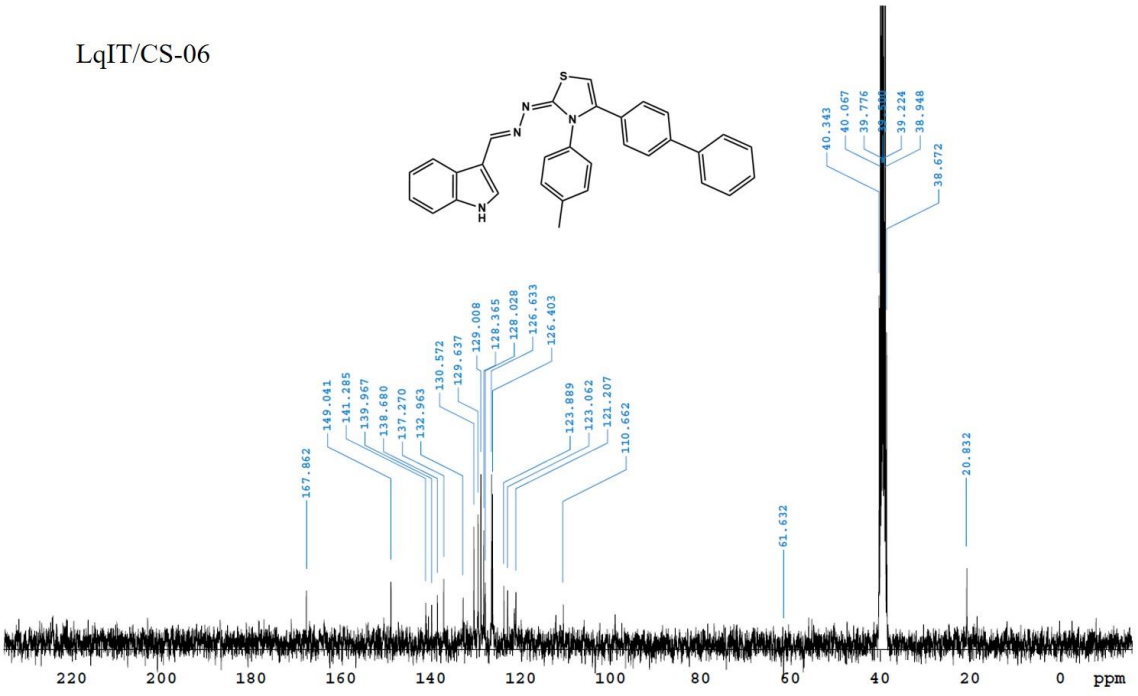


APÊNDICE G – ESPECTROS DE RMN ^{13}C DOS COMPOSTOS LQIT/CS-05 E LQIT/CS-06

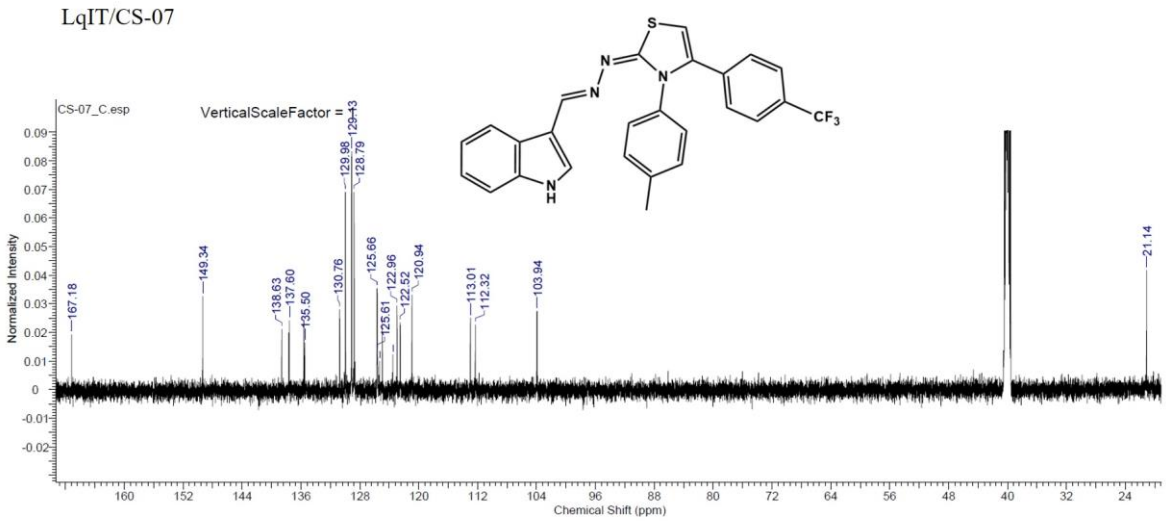
LqIT/CS-05

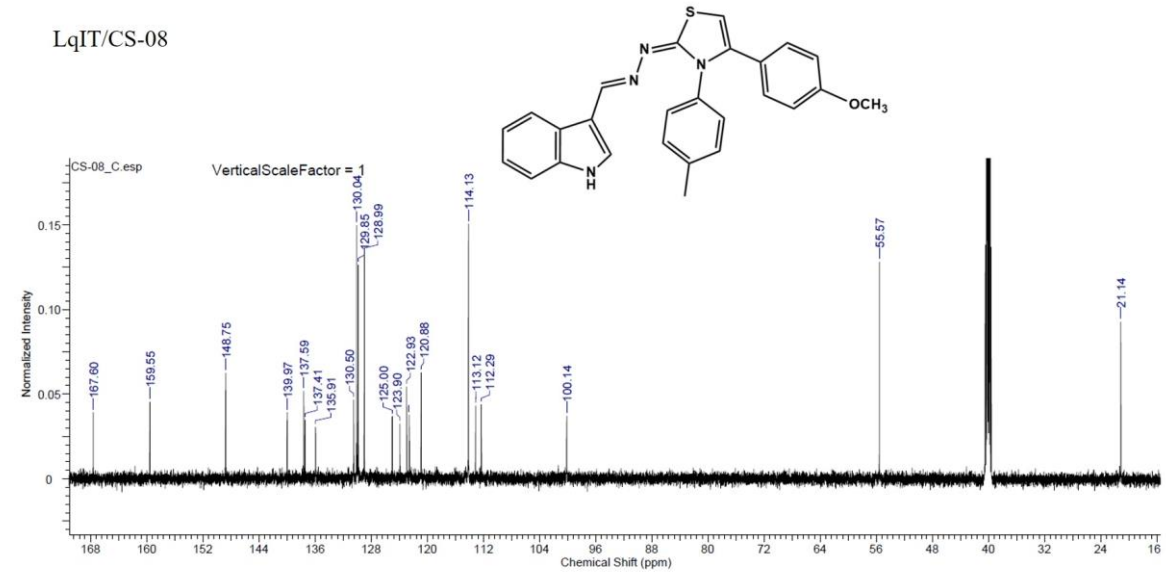


LqIT/CS-06

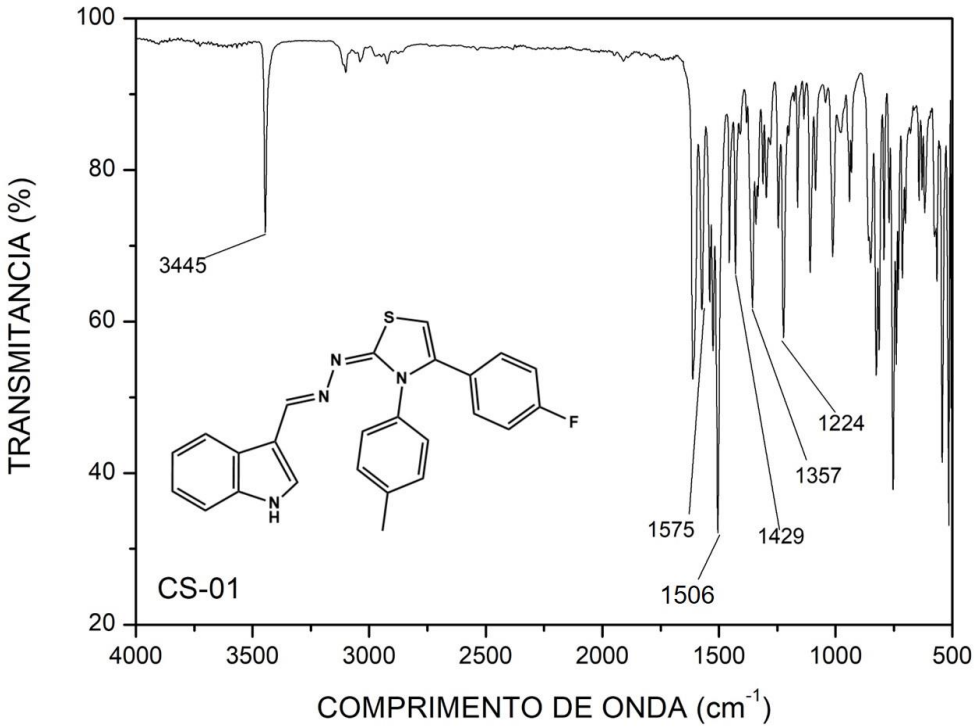


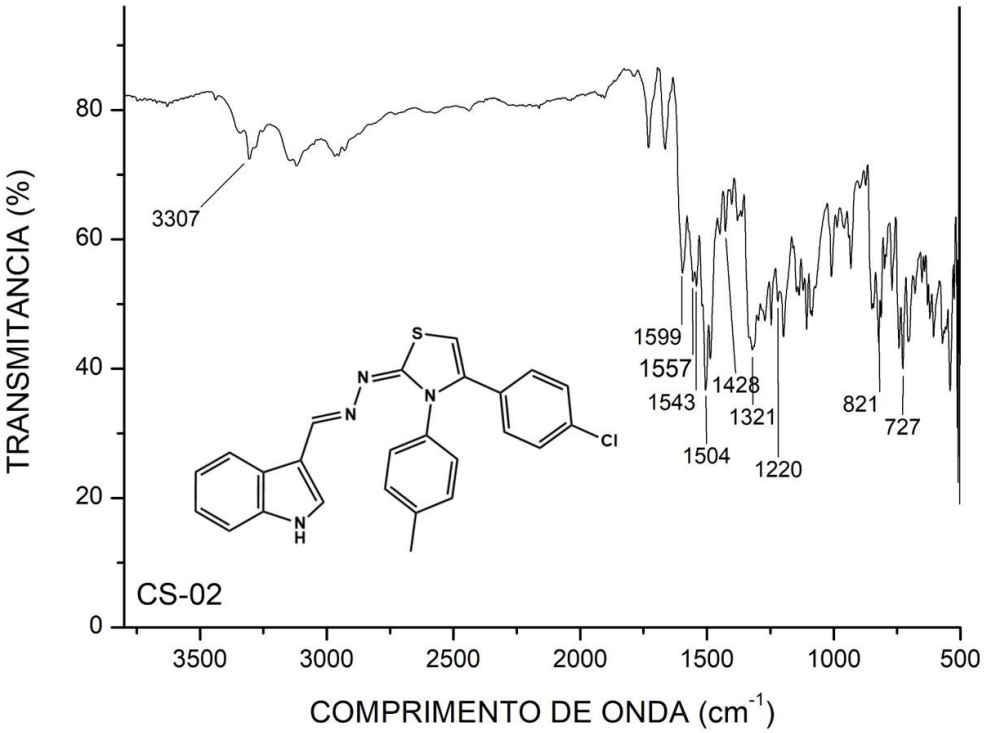
APÊNDICE H – ESPECTROS DE RMN ^{13}C DOS COMPOSTOS LQIT/CS-07 E LQIT/CS-08



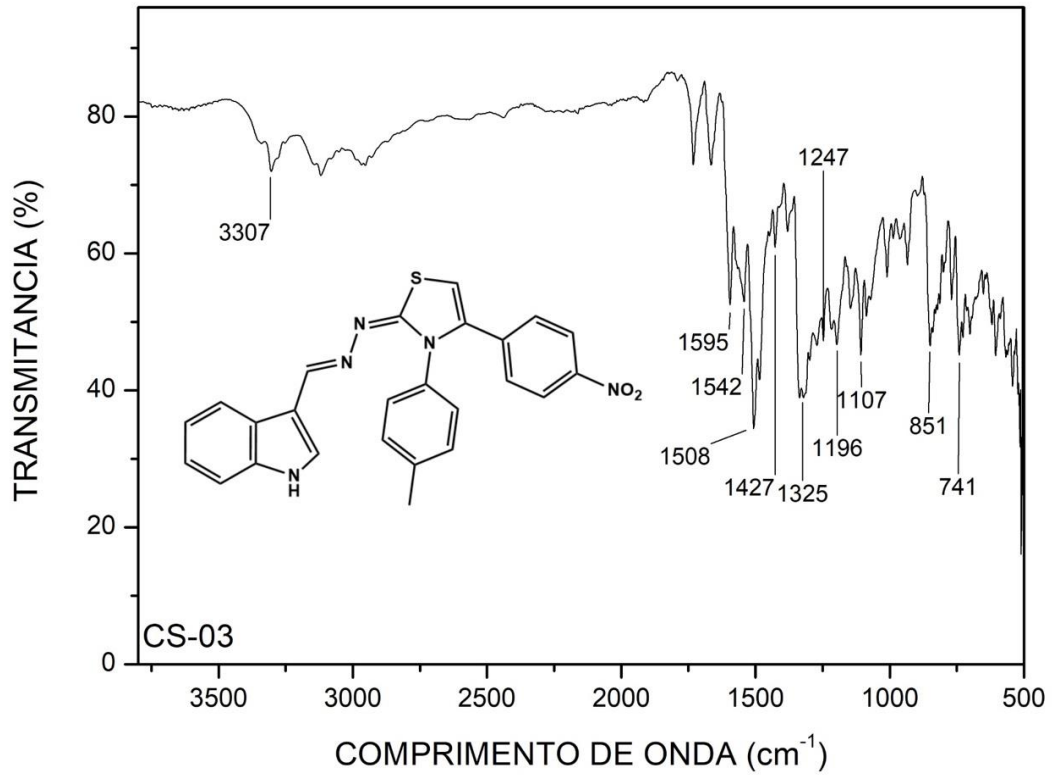


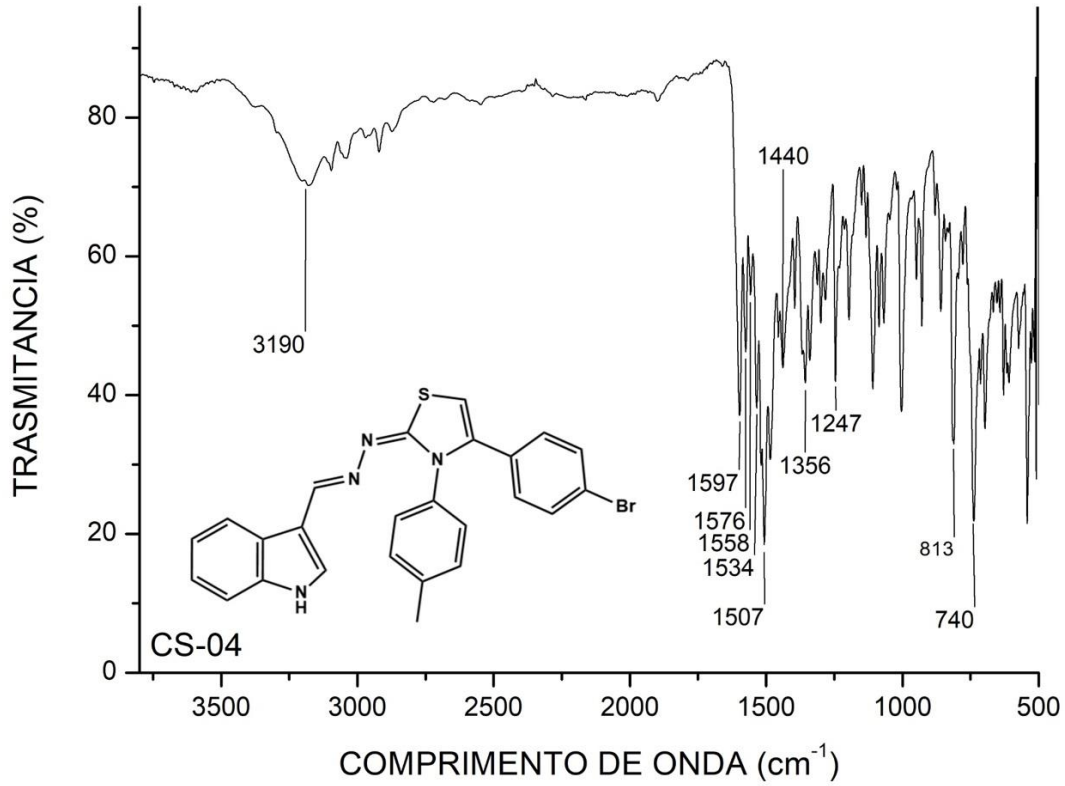
APÊNDICE I – ESPECTROS DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/CS-01 E LQIT/CS-02



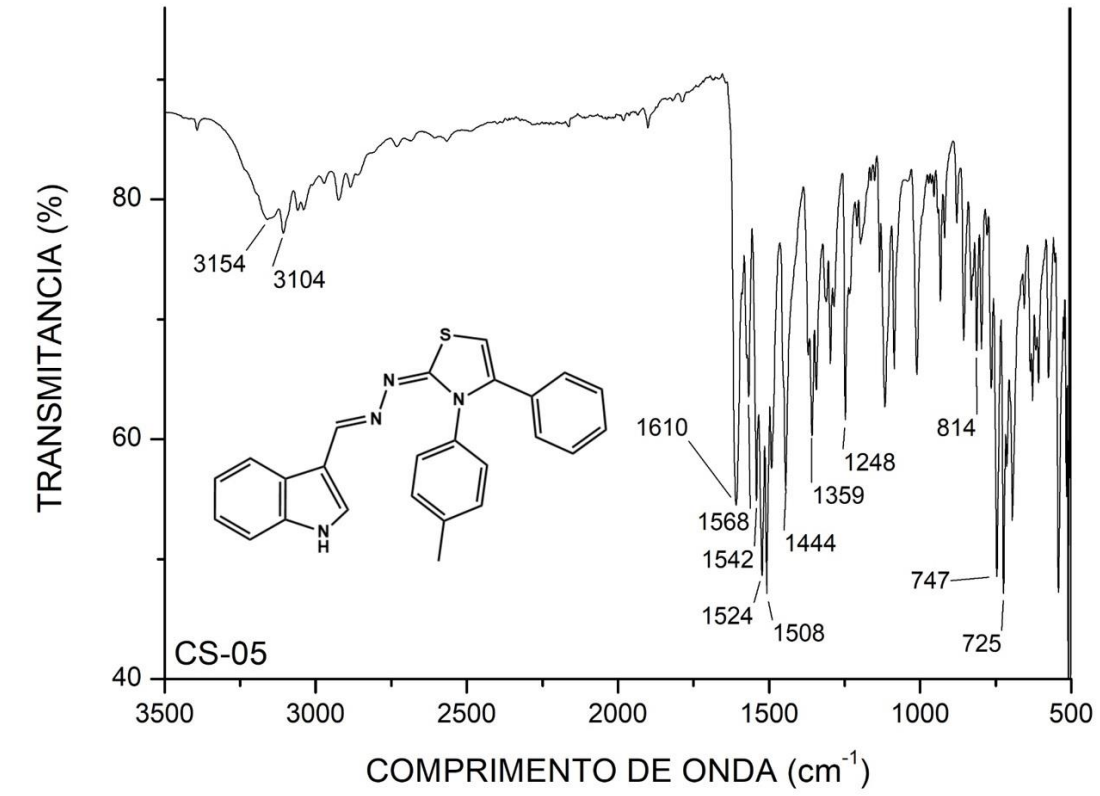


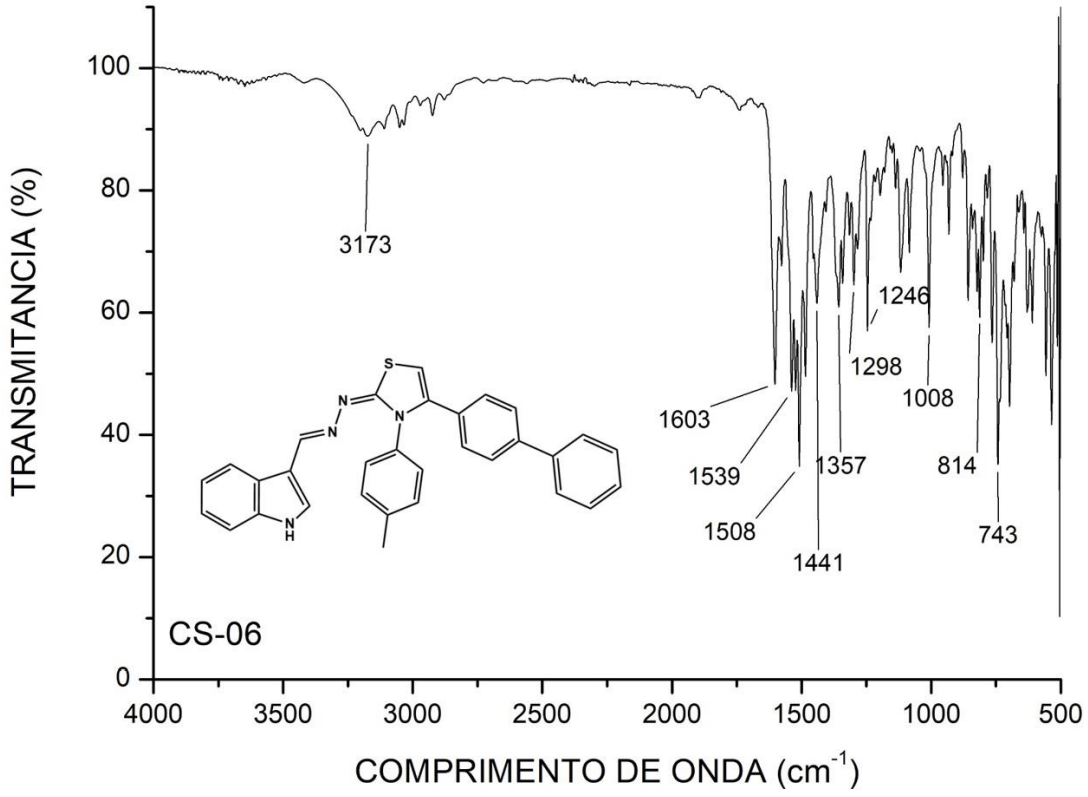
APÊNDICE J – ESPECTROS DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/CS-03 E LQIT/CS-04



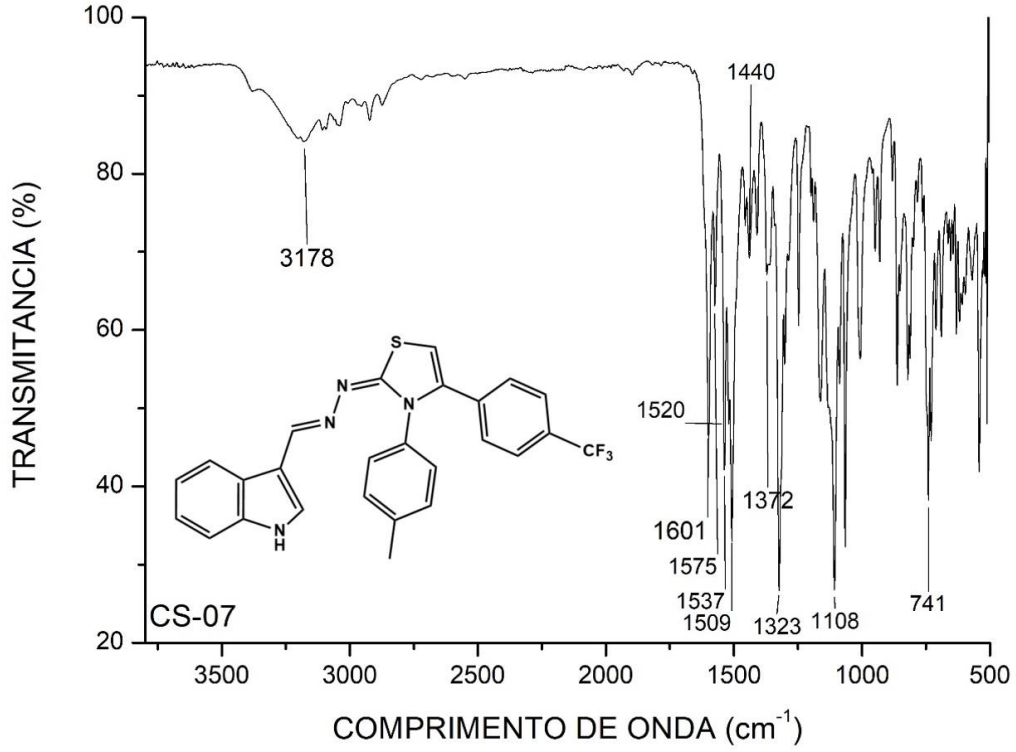


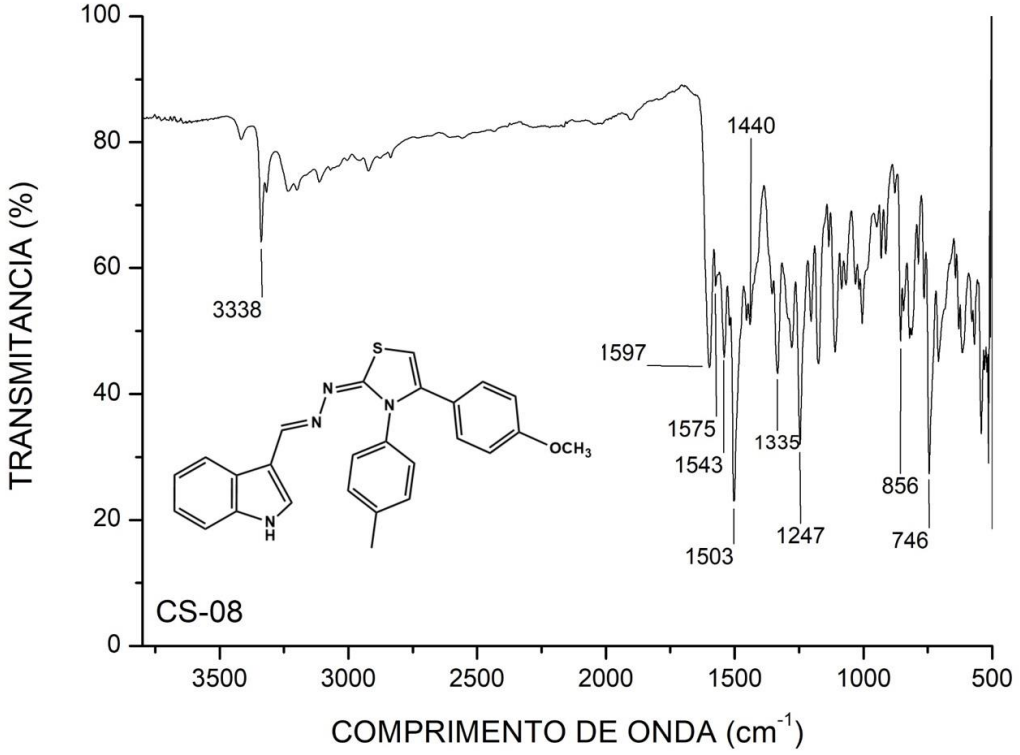
APÊNDICE K – ESPECTROS DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/CS-05 E LQIT/CS-06



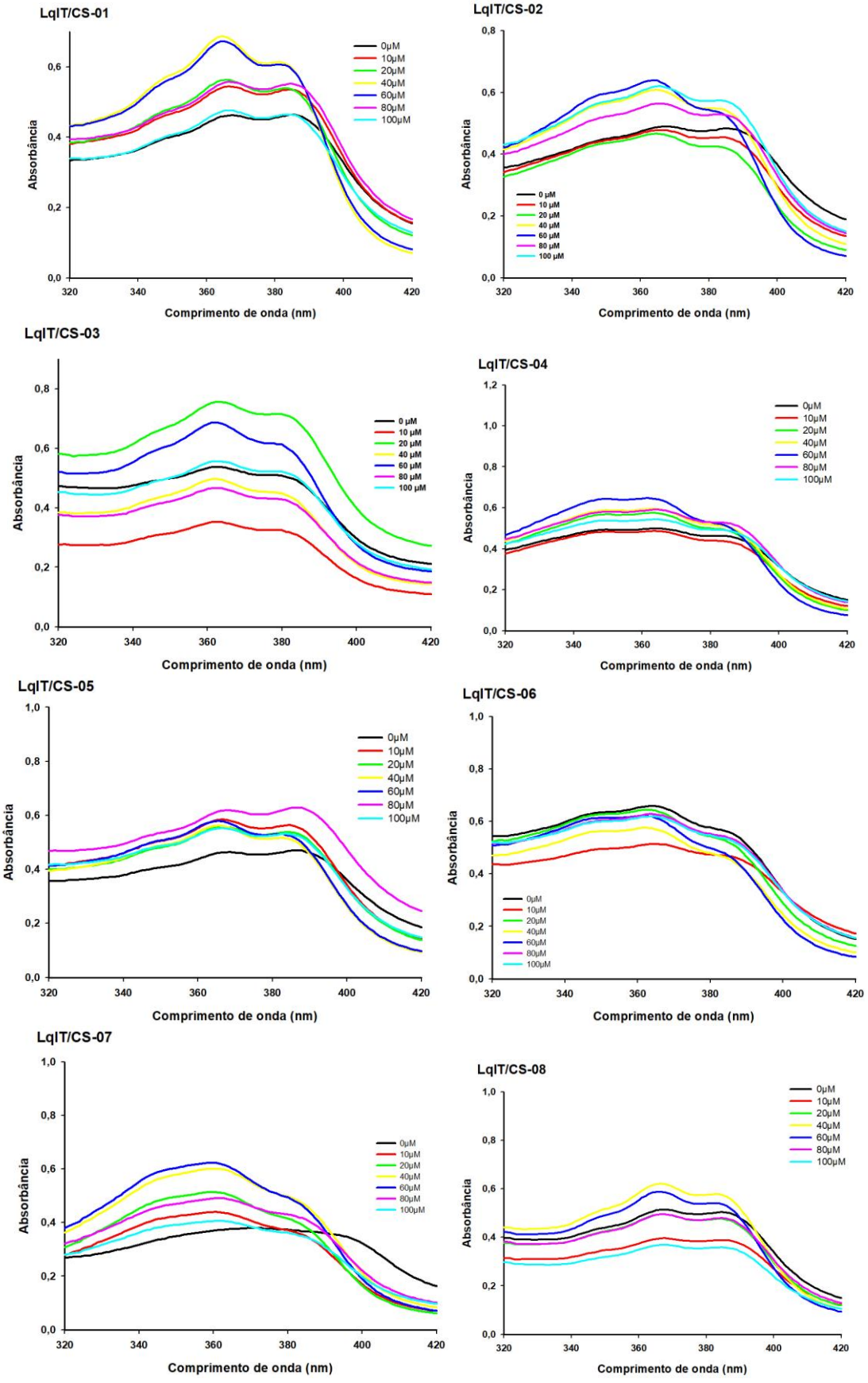


APÊNDICE L – ESPECTROS DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/CS-07 E LQIT/CS-08

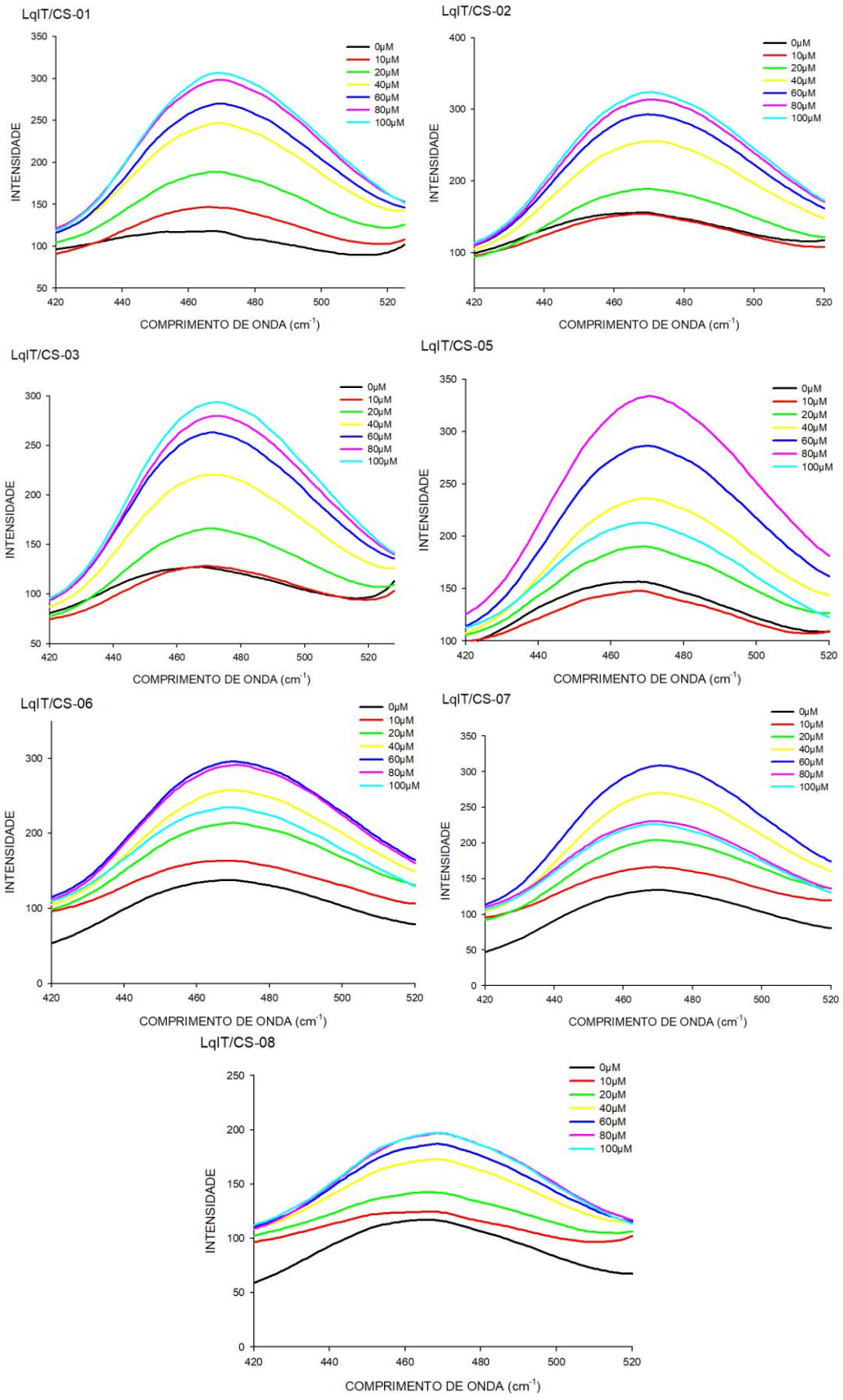




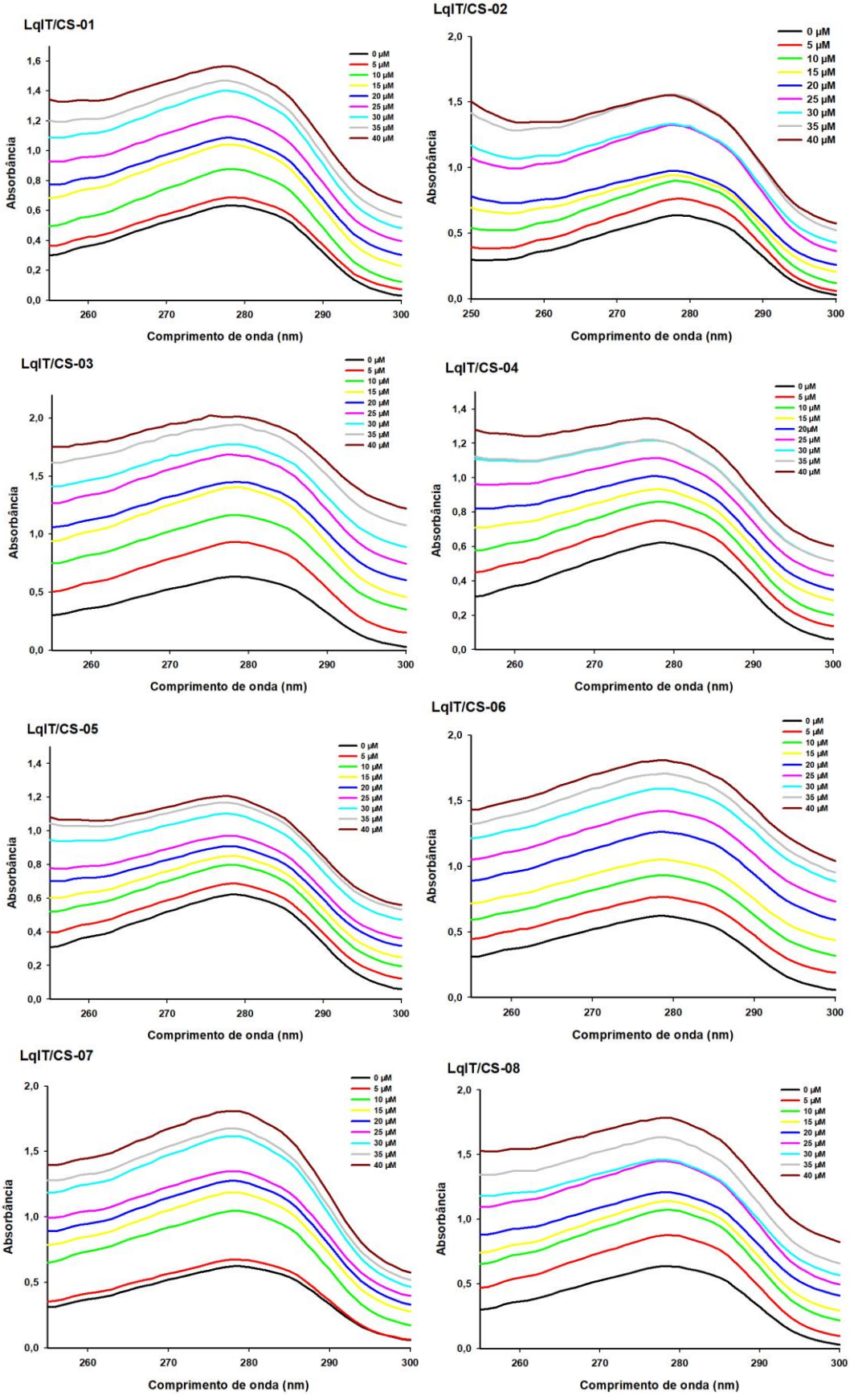
APÊNDICE M – ESPECTROS DE ABSORÇÃO DOS COMPOSTOS LQIT/CS's + DNA



APÊNDICE N – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA DOS COMPOSTOS LQIT/CS's + DNA

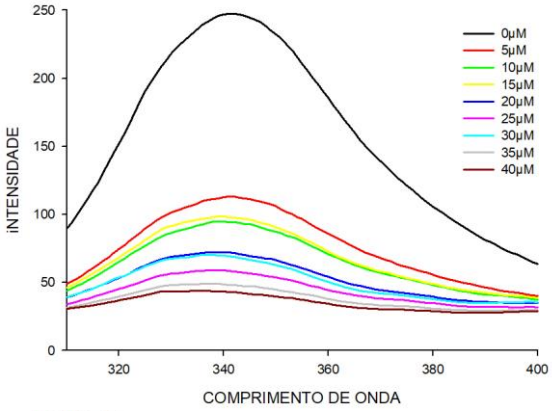


APÊNDICE O – ESPECTROS DE ABSORÇÃO DA BSA + COMPOSTOS LQIT/CS's

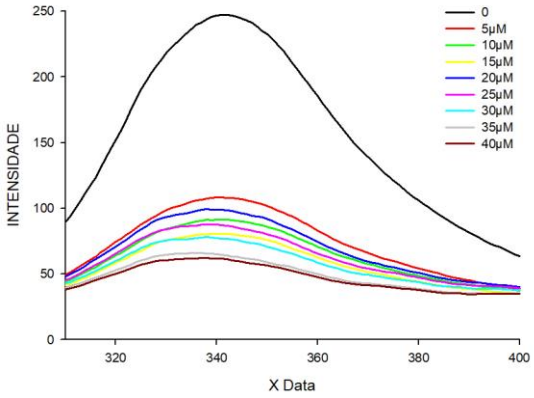


APÊNDICE P – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA DA BSA + COMPOSTOS LQIT/CS's

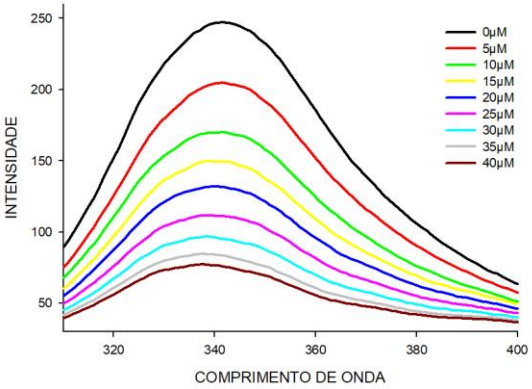
LqIT/CS-01



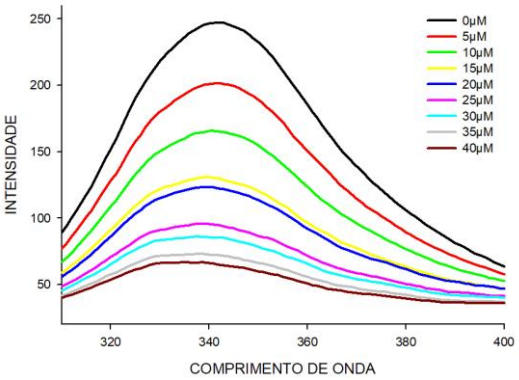
CS-02



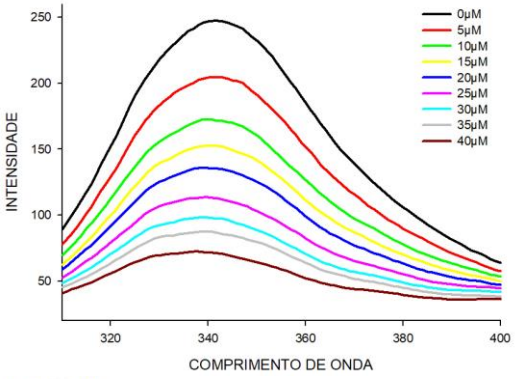
LqIT/CS-03



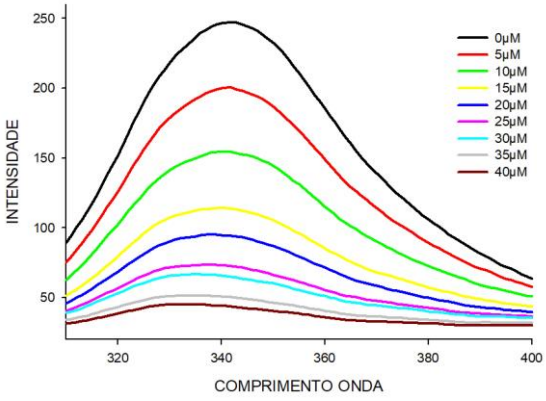
LqIT/CS-04



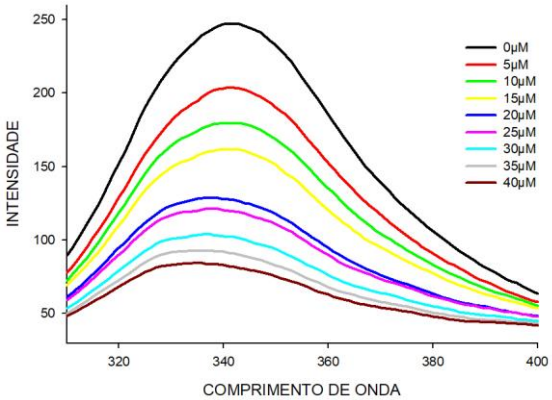
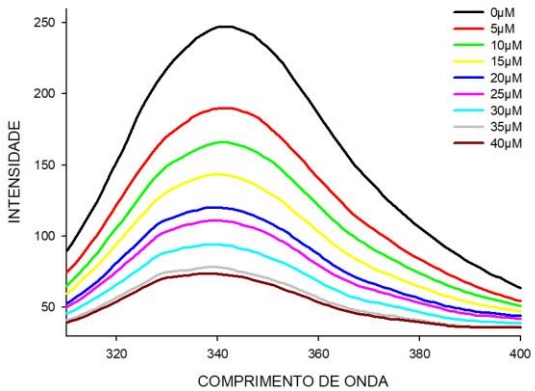
LqIT/CS-05



LqIT/CS-06



LqIT/CS-07



LqIT/CS-08