

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

ANDRÉA LOPES MELO

**SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS ACRIDÍNICOS E
MOSTARDAS COM POTENCIAL ATIVIDADE
ANTITUMORAL**

Maceió - AL

2015

ANDRÉA LOPES MELO

**SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS ACRIDÍNICOS E
MOSTARDAS COM POTENCIAL ATIVIDADE
ANTITUMORAL**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência.

Orientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti

Maceió - AL

2015

Catlogação na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade

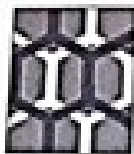
M527s Mello, Andréa Lopes.
Síntese de novos compostos acridínicos e mostardas com potencial
atividade antitumoral / Andréa Lopes Mello. – 2015.
119 f. : il. tabs e gráfs.

Orientador: Mario Roberto Meneghetti.
Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade
Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de
Pós-Graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2015.

Bibliografia: f. 86-89.
Apêndices: f. 90-114.
Anexos: f. 115-119.

1. Química medicinal. 2. Metalofármacos. 3. Complexos de paládio.
4. Acridinas. 5. Mostardas nitrogenadas - Atividade anticâncer.
6. Bases de Schiff. I. Título.

CDU: 547.835:615.011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Taboão das Maritimas
57073-900, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb@ufal.br

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese da Doutoranda **Andréa Lopes Melo**, intitulada: *"Síntese de novos compostos acridínicos e mostardas com potencial atividade antitumoral"* apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 04 de dezembro de 2015, às 09h, na Sala de Aulas de nº. 191 do IQB na Universidade Federal de Alagoas.

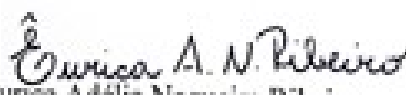
COMISSÃO JULGADORA


Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti
(Orientador - PPGQB/IQB/UFAL)


Prof. Dr. Monique Gabriella-Angelo da Silva
(PPGQB/IQB/UFAL)


Prof. Dr. Magna Suzana Alexandre Moreira
(ICBS/UFAL)


Prof. Dr. Gabriela Muniz de Albuquerque Melo
(Curso de Farmácia/Uninassau)


Prof. Dr. Eunice Adélia Nogueira Ribeiro
(Esenfar/UFAL)

Dedico aos meus filhos:
Matheus, Gabryelle e Bruna

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as oportunidades a mim concedidas e por estar sempre presente na minha vida;

Ao meu orientador Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti, pelo apoio e motivação;

A minha família Geraldo, Bruna, Gabryelle, minha mãe Maria Núbia, Luciene pela motivação, confiança e apoio;

Aos meus irmãos, seus cônjuges e meus sobrinhos por estarem sempre presente na minha vida;

As minhas cunhadas Iracy e Erica, e minha sogra Eulália pela motivação, apoio e acima de tudo pela amizade;

A todos os meus amigos por me ajudarem, apoiarem e motivarem, o meu sincero muito obrigado;

A Edriane por me ajudar, apoiar, motivar e acima de tudo pela amizade;

As minhas IC's Livia, Maria, Daniele e Nágila por todo o apoio, ajuda, compreensão e acima de tudo pela amizade no caminhar deste processo;

Aos amigos e colegas do GCar por me ajudarem, apoiarem e motivarem;

Em especial aos meus amigos da Química Medicinal, pela imensa contribuição no meu aprendizado e carinho, nos momentos mais difíceis: Gabriela, Raquel, Marta, Walleska, Rafael Omena, Jéssica Guedes, Alysson e Pooline. E ao pessoal das diversas outras linhas de pesquisa, que mesmo não contribuindo diretamente no meu trabalho, estavam sempre dispostos a ajudar: Ábner, Eid, Cristian, Genaro, Ícaro, Jhosianna, Larissa, Michele e Sarah;

Ao pessoal do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, em especial aos bolsistas: Mariel, Lucas, Michele e Alexandre pela disposição em ajudar;

Aos professores do Curso ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas;

Ao apoio financeiro fornecido pela CAPES.

Sonda-me

Senhor

Eu sei que tu me sondas

Sei também que me conheces

Se me assento ou me levanto

Conheces meus pensamentos

Quer deitado ou quer andando

Sabes todos os meus passos

E antes que haja em mim palavras

Sei que em tudo me conheces

Senhor, eu sei que tu me sondas...

Deus, tu me cercaste em volta

Tuas mãos em mim repousam

Tal ciência é grandiosa

Não alcanço de tão alta

Se eu subo até o céu

Sei que ali também te encontro

Se no abismo está minh'alma

Sei que aí também me amas

Senhor, eu sei que tu me sondas...

Senhor, eu sei que tu me amas...

Música: Padre Marcelo Rossi

Letra: Pastor Alison S. Ambrósio

RESUMO

O câncer é uma das doenças que mais mata no mundo e estima-se que em 2030 a incidência no mundo desta doença alcance 21,4 milhões de novos casos com 13,2 milhões de mortes. Devido à resistência, a não seletividade e a alta citotoxicidade, grande parte dos fármacos atuais produzem efeitos indesejáveis tais como: depressão na medula óssea, esterilidade, risco de leucemia não linfocítica, entre outros. Desta forma faz-se necessário o desenvolvimento de novos fármacos antitumorais que possuam menos efeitos agressivos. Assim, foram sintetizados seis novos compostos, sendo quatro derivados acridínicos, um derivado bis(cloroetila) e um complexo de paládio(II) acridínico, que tem como acrônimos, respectivamente, (Acrid)₂N, AcridPro, ACDMA, ACBr₂MAN, (Most)₂N e ACDMAPd. Todos esses compostos derivados de base de Schiff tiveram rendimentos satisfatórios e foram caracterizados pelas técnicas de RMN (¹H, ¹³C, COSY, *J* resolvido), espectroscopia na região do infravermelho, espectrometria de massas e Análise Elementar. As linhagens de células tumorais humanas utilizadas foram HT-29 (câncer de cólon humano), MCF-7 (câncer de mama humano), HEp-2 (carcinoma de laringe humana), NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano) e HL-60 (leucemia promielocítica aguda) e os derivados AcridPro, ACDMA, ACDMAPd e (Most)₂N apresentaram os melhores resultados de CI₅₀ para a células HL-60.

Palavras-chave: Química Medicinal. Metalofármacos. Complexos de paládio. Acridinas. Mostardas nitrogenadas. Atividade anticâncer. Bases de Schiff.

ABSTRACT

Cancer is a disease that kills the world and it is estimated that in 2030 the incidence of this disease in the world reach 21.4 million new cases with 13.2 million deaths. Due to the resistance, non-selectivity and high cytotoxicity, many of the current drugs produce side effects such as bone marrow depression, sterility, risk of non-lymphocytic leukemia, among others. Thus it is necessary to the development of new anticancer drugs that have less harmful effects. Thus, six new compounds were synthesized, four acridínicos derivative, a derivative of bis (cloroetila) and palladium (II) complex acridínico, whose acronyms, respectively (Acrid)₂N, AcridPro, ACDMA, ACBr₂MAN, (Most)₂N and ACDMAPd. All these compounds derived from Schiff base had satisfactory yields and characterized by NMR techniques (¹H, ¹³C, COSY, J solved) spectroscopy in the infrared, mass spectrometry and elemental analysis. The strains used human tumor cells were HT-29 (human colon cancer), MCF-7 (human breast cancer), Hep-2 (human larynx carcinoma), NCI-H292 (carcinoma human pulmonary mucoepidermoid) and HL -60 (acute promyelocytic leukemia) and derivatives AcridPro, ACDMA, (Most)₂N and ACDMAPd showed the best results of IC₅₀ for the HL-60 cells.

Keywords: Medicinal Chemistry. Metalodrug. Palladium complexes. Acridines. Nitrogen mustards. Anticancer activity. Schiff bases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Atividade dos agentes quimioterápicos antineoplásicos, dependendo da fase do ciclo celular e quais os eventos de cada fase	20
Figura 2 -	Algumas das ligações cruzadas que podem ocorrer entre um agente alquilante bifuncional e o DNA	21
Figura 3 -	Possíveis posições de ligações entrecruzamento das bases nitrogenadas contidas no DNA	22
Figura 4 -	Estrutura básica da mostarda nitrogenada	22
Figura 5 -	Exemplo de alquilação e entrecruzamento do DNA por uma mostarda nitrogenada	23
Figura 6 -	Estrutura de derivados bis(cloroetila): 1 mecloretamina; 2 melfalano; 3 clorambucil e 4 ciclofosfamida	24
Figura 7 -	Derivados de mostarda sesquiterpeno (5-6)	25
Figura 8 -	Mostardas de conjugados de benzodiazepina (7-8)	25
Figura 9 -	Derivado de mostarda (9)	26
Figura 10 -	Derivado de quinazolina de mostarda nitrogenada (10) e Sorafenib (11)	26
Figura 11 -	Estrutura da Mepacrina (12)	27
Figura 12 -	Estrutura de alguns derivados acridínicos e suas aplicações, como: antibacteriana (13-18), antiprotozoários (19-24), agentes antimalária – quinacrina (25) e anti-HIV – CGP40336A (26)	29
Figura 13 -	As estruturas de C-1311 (27), DACA (28), PZA (29), BRACO-19 (30) e m-AMSA (31) derivados das acridinas	30
Figura 14 -	Derivado 9-aryl-hexahydro-acridine-1,8-diona (32-36)	31
Figura 15 -	Derivados 6-cloro-2-metoxi-N[2-(piperazin-1-il)etil]acridin-9-ilamina (37-40)	31
Figura 16 -	Derivados 9-aminoacridinas (41-44)	32

Figura 17 - Derivados 3,6-bis((1-alkil-5-oxo-imidazolidin-2-ilideno)imino)acridinas (45-46)	32
Figura 18 - Derivados acridínicos com potencial anticâncer (47-49)	33
Figura 19 - Derivados de acridinas (50-54)	33
Figura 20 - Derivados acridina-tiazolidinas (55-58)	34
Figura 21 - Derivados tiazacridínicos (59 e 60)	34
Figura 22 - Estrutura da Cisplatina (61)	35
Figura 23 - Estruturas dos feroceno bases de Josiphos (62) e Walphos (63) ligados a difosfina quirais; J003: R1 = R2 = ciclo-hexilo; W001: R1 = fenila; R2 = 3,5-triflurmetilfenila	37
Figura 24 - Estrutura química do complexo paládio (II), [Pd(sac)(terpy)](sac) • 4H ₂ O (64)	38
Figura 25 - Complexos de paládio (63-68)	38
Figura 26 - Derivado de NHC de paládio II (69)	39
Figura 27 - Síntese da (Acridina) ₂ N	45
Figura 28 - Esquema de síntese das Acridina-Propil, Acridina-Dimetilamônio e Acridina-Dibrometo	46
Figura 29 - Síntese da (Most) ₂ N	49
Figura 30 - Síntese do complexo Acridina-Dimetilamônio-Paládio	50
Figura 31 - Reação global da acridina com uma amina	53
Figura 32 - Mecanismo de reação da acridina para a formação de imina, adaptada para os derivados, foi desenvolvido em 5 passos	54
Figura 33 - Espectro de RMN de ¹ H do (Acridina) ₂ N em CDCl ₃	57
Figura 34 - Espectro de RMN de ¹³ C do (Acridina) ₂ N em CDCl ₃	58
Figura 35 - Espectro de Infravermelho do (Acridina) ₂ N	60
Figura 36 - Espectro de RMN de ¹ H do Acridina-Propil em CDCl ₃	62
Figura 37 - Espectro de RMN de ¹³ C do Acridina-Propil em CDCl ₃	64
Figura 38 - Espectro de Infravermelho do Acridina-Propil	65

Figura 39 - Espectro de COSY do AcriPro em CDCl_3	67
Figura 40 - Espectro de RMN de ^1H do ACDMA em CDCl_3	69
Figura 41 - Espectro de RMN de ^{13}C do ACDMA em CDCl_3	70
Figura 42 - Espectro de Infravermelho do ACDMA	72
Figura 43 - Espectro de RMN de ^1H do ACBr_2MAN em CDCl_3	74
Figura 44 - Espectro de RMN de ^{13}C do ACBr_2MAN em CDCl_3	76
Figura 45 - Espectro de Infravermelho do ACBr_2MAN	77
Figura 46 - Espectro de COSY do ACBr_2MAN em CDCl_3	78
Figura 47 - <i>J</i> resolvido do ACBr_2MAN em CDCl_3	79
Figura 48 - Espectro de RMN de ^1H do $(\text{Most})_2\text{N}$ em CDCl_3	80
Figura 49 - Espectro de RMN de ^{13}C do $(\text{Most})_2\text{N}$ em CDCl_3	83
Figura 50 - Espectro de Infravermelho do $(\text{Most})_2\text{N}$	83
Figura 51 - Fórmulas estruturais dos estereoisômeros da possível forma dimérica do paladaciclo de seis membros do derivado ACDMA	84
Figura 52 - Espectro de RMN de ^1H do ACDMAPd em DMSO	85
Figura 53 - Espectro de Infravermelho do ACDMAPd	86
Figura 54 - Espectro de Infravermelho do ACDMA e ACDMAPd	87
Figura 55 - Os compostos ACDMA e ACDMAPd testadas na célula HL-60	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2014 para os homens, exceto pele não melanoma. Número arredondados de casos para 10 ou múltiplos de 10	18
Tabela 2 -	Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2014 para as mulheres, exceto pele não melanoma. Número arredondados de casos para 10 ou múltiplos de 10	18
Tabela 3 -	Causas, tipos de câncer ocasionados e prevenção/control	19
Tabela 4 -	Atividade anticâncer de Hdahmp e seus complexos nas duas linhagens de células contra o câncer de ovário humano (OV90) e (OVCAR-8).	36
Tabela 5 -	Atividade anticâncer do Hhmbt e os complexos [Ag(hmpbt)(PPh ₃)], [Rh(hmbt) ₂ (H ₂ O) ₂]Cl, [Pt(fen)(hmbt)]Cl e [Pd(fen)(hmbt)]Cl	37
Tabela 6 -	Locais das atividades experimentais	41
Tabela 7 -	Origem e fórmula molecular dos reagentes e solventes das sínteses dos derivados acridínicos, biscloroetila e do complexo acridínico	42
Tabela 8 -	Origem e fórmula molecular dos reagentes e solventes das atividades citotóxicas	43
Tabela 9 -	Modificação do tempo reacional e coloração dos derivados	46
Tabela 10 -	Dados de RMN de ¹ H do (Acrid) ₂ N em CDCl ₃	57
Tabela 11 -	Dados de RMN de ¹³ C do (Acrid) ₂ N em CDCl ₃	59
Tabela 12 -	Análise calculada para (Acrid) ₂ N	60
Tabela 13 -	Principais fragmentações e intensidades apresentadas por (Acrid) ₂ N	61
Tabela 14 -	Dados de RMN de ¹ H do AcridPro em CDCl ₃	63
Tabela 15 -	Dados de RMN de ¹³ C do AcridPro em CDCl ₃	64
Tabela 16 -	Análise calculada para AcridPro	66
Tabela 17 -	Principais fragmentações e Intensidades apresentadas por AcridPro	66
Tabela 18 -	Dados de RMN de ¹ H do ACDMA em CDCl ₃	69

Tabela 19 - Dados de RMN de ^{13}C do ACDMA em CDCl_3	71
Tabela 20 - Análise calculada para ACDMA	72
Tabela 21 - Principais fragmentações e intensidades apresentadas por ACDMA	73
Tabela 22 - Dados de RMN de ^1H do ACBr_2MAN em CDCl_3	75
Tabela 23 - Dados de RMN de ^{13}C do ACBr_2MAN em CDCl_3	76
Tabela 24 - Principais fragmentações e intensidades apresentadas por ACBr_2MAN	78
Tabela 25 - Dados de RMN de ^1H do $(\text{Most})_2\text{N}$ em CDCl_3	80
Tabela 26 - Dados de RMN de ^{13}C do $(\text{Most})_2\text{N}$ em CDCl_3	82
Tabela 27 - Análise calculada para $(\text{Most})_2\text{N}$	83
Tabela 28 - Dados de RMN de ^1H do ACDMAPd em DMSO	85
Tabela 29 - Percentagens das médias de inibição de crescimento (%IC) dos derivados $(\text{Acri})_2\text{N}$, AcriPro, ACDMA, ACBr_2MAN e $(\text{Most})_2\text{N}$ e o complexo ACDMAPd em concentração única de 25 $\mu\text{g/mL}$ sobre as linhagens de células HT-29, MCF-7, HEp-2, NCI-H292 e HL-60 através do ensaio MTT.	88
Tabela 30 - Determinação da concentração inibitória de 50% (CI_{50}) e intervalo de 95% de confiança (IC_{50}) em $\mu\text{g/mL}$ dos derivados $(\text{Acri})_2\text{N}$, AcriPro, ACDMA, ACBr_2MAN e $(\text{Most})_2\text{N}$ e o complexo ACDMAPd sobre as linhagens de células HT-29, MCF-7, HEp-2, NCI-H292 e HL-60 no ensaio MTT.	89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC ou Acri	9-acridinacarboxaldeído
ACDMA	<i>N</i> -(acridin-9-ilmetileno)-2,6-dimetilanilina
ACBr ₂ MAN	<i>N</i> -(acridin-9-ilmetileno)-2,6-dibromo-4-metilanilina
ACBr ₂ MANPd	Pd- <i>N</i> -(acridin-9-ilmetileno)-2,6-dibromo-4-metilanilina
(Acri) ₂ N	(<i>N</i> ¹ <i>Z</i> , <i>N</i> ² <i>Z</i>)- <i>N</i> ¹ , <i>N</i> ² -bis(acridin-9-ilmetileno)-etano-1,2-diamina
AcriPro	(<i>Z</i>)- <i>N</i> -(acridin-9-ilmetileno)-pro-2-in-1-amina
Br ₂ MAN	2,6-dibromo-4-metilanilina
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
Demo	Demonstração
DMA	2,6-dimetilanilina
DMSO-D6	Dimetilsulfóxido deuterado
HEp-2	Carcinoma de laringe humana
HL – 60	Leucemia promielocítica aguda
HT – 29	Câncer de cólon humano
IV	Infravermelho
MCF-7	Câncer de mama humano
MeOH	Metanol
Most	4-(bis-(2-cloroetil)amina)benzaldeído
(Most) ₂ N	(<i>N</i> ¹ <i>E</i> , <i>N</i> ² <i>E</i>)- <i>N</i> ¹ , <i>N</i> ² -bis-(4-(bis-(2-cloroetil)amina)benzilideno)etano-1,2-diamina
MTT	brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio
NCI-H 292	Carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano
OV-90	Células de câncer de ovário humano metastático-ascite
OVCAR-8	Células de câncer de ovário humano-epitelial (OVCAR-8),

Pro	Propargilamina
RMN ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio 1
RMN ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
SEM	Standard erro medium

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 Causas do câncer	19
1.2 Tratamento do câncer	20
1.3 Agentes alquilantes	21
1.3.1 Mostardas nitrogenadas.....	22
1.4 Acridinas	27
1.5 Metalofármacos	34
2 OBJETIVOS	40
2.1 Geral	40
2.2 Específicos	40
3 MATERIAIS E MÉTODOS	41
3.1 Atividades desenvolvidas e locais de realização	41
3.2 Reagentes e solventes	42
3.3 Instrumentação	43
3.4 Síntese	44
3.4.1 Síntese Acridina.....	44
3.4.1.1 Síntese da (Acri) ₂ N: (<i>N</i> ¹ <i>E</i> , <i>N</i> ² <i>E</i>)- <i>N</i> ¹ , <i>N</i> ² -bis(acridin-9-ilmetileno)-etano-1,2-diamina.....	44
3.4.1.2 Síntese da AcriPro: (<i>E</i>)- <i>N</i> -(acridin-9-ilmetileno)prop-2-in-1-amina; ACDMA: (<i>E</i>)- <i>N</i> -(acridin-9-ilmetileno)-2,6-dimetilanilina; ACBr ₂ MAN: (<i>E</i>)- <i>N</i> -(acridin-9-ilmetileno)-2,6-dibromo-4-metilanilina.....	45
3.4.2 Síntese Mostarda.....	48
3.4.2.1 Síntese da (Most) ₂ N: (<i>N</i> ¹ <i>E</i> , <i>N</i> ² <i>E</i>)- <i>N</i> ¹ , <i>N</i> ² -bis-(4-(bis-(2-cloroetil)amina)benzilideno)etano-1,2-diamina.....	48
3.4.3 Síntese do complexo ACDMAPd.....	49

3.5 Avaliação Citotóxica.....	50
3.5.1 Método.....	50
3.5.2 Linhagens.....	50
3.5.3 Ensaios <i>in vitro</i>	51
3.5.3.1 Manutenção das células tumorais.....	51
3.5.3.2 Ensaio de avaliação de atividade antitumoral.....	51
3.5.4 Método de análise dos resultados.....	51
3.5.5 Método para determinação da concentração inibitória (CI ₅₀).....	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
4.1 Caracterização dos derivados acridínico, bis(cloroetila), e o complexo de paládio acridínico.....	56
4.1.1 (Acrid) ₂ N.....	56
4.1.2 AcridPro.....	61
4.1.3 ACDMA.....	67
4.1.4 ACBr ₂ MAN.....	73
4.1.5 (Most) ₂ N.....	79
4.1.6 ACDMAPd.....	84
4.2 Avaliação da atividade antitumoral.....	87
5 CONCLUSÃO.....	91
REFERÊNCIAS.....	92
APÊNDICES.....	97
ANEXOS.....	122

1 INTRODUÇÃO

O Câncer é hoje em dia um dos principais problemas de saúde pública, considerado como a segunda maior causa de mortes mundial, estando atrás somente das doenças cardiovasculares (SONDHI et al, 2010, SILVA et al, 2012).

Câncer é o nome genérico dado ao conjunto de doenças de mais de uma centena de derivações que têm como característica comum o crescimento desordenado de células, a desdiferenciação e perda da função, invasividade e metástase, podendo ocorrer em qualquer parte do corpo (INCA - ESTIMATIVA, 2014; RANG, 2011; WHO, 2015).


Quando da ocorrência de uma ou mais mutações no DNA (ácido desoxirribonucleico) em células normais temos a possibilidade de câncer. Vários são os elementos que envolvem a carcinogênese, que em geral, podem ser uma ou mais alteração de fatores genéticos epigenéticos. Esses elementos por si só, não levam ao câncer, mas aumentam consideravelmente a probabilidade de uma ocorrência (RANG, 2011). Neoplasias, causadas por alterações celulares, podem ocorrer em genes especiais denominados proto-oncogenes, que, em células normais, a princípio são inativos. Uma vez ativados, transformam-se em oncogenes, sendo responsáveis pela malignização das células normais (ALMEIDA et al, 2005)

Estudos mostram que no ano de 2030 a ocorrência mundial de novos casos de câncer será de 21,4 milhões com uma mortalidade de 13,2 milhões de indivíduos decorrentes dessa patologia (INCA - ESTIMATIVA, 2014). Atualmente a África, Ásia e Américas Central e do Sul são responsáveis por mais de 60% dos novos casos de câncer sendo também responsáveis por 70% das mortes (WHO, 2015).

Estima-se que no Brasil apenas no ano de 2015 ocorrerá aproximadamente 576 mil casos, incluindo os casos de câncer de pele não melanoma, corroborando a magnitude do problema do câncer no país (INCA - ESTIMATIVA, 2014).

Os 5 tipos mais comuns de câncer no mundo que matam os homens são (em ordem de frequência): pulmão, estômago, fígado, cólon-retos e esôfago. Para as mulheres são (em ordem de frequência): mama, pulmão, estômago, cólon-retos e cólon do útero. O câncer cólon do útero é o câncer mais comum nos países em desenvolvimento (WHO, 2015). Abaixo nas tabelas 1 e 2, estão descritos os dados para o ano de 2015 no Brasil dos casos mais comuns de câncer para os homens e para as mulheres, respectivamente, com exceção do câncer de pele não melanoma.

Tabela 1 - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2014 para os homens, exceto pele não melanoma. Número arredondados de casos para 10 ou múltiplos de 10.

Localização primária	casos	%	
Próstata	68.800	22,8%	Homens 
Traqueia, Brônquio e Pulmão	16.400	5,4%	
Cólon e Reto	15.070	5,0%	
Estômago	12.870	4,3%	
Cavidade Oral	11.280	3,7%	
Esôfago	8.010	2,6%	
Laringe	6.870	2,3%	
Bexiga	6.750	2,2%	
Leucemias	5.050	1,7%	
Sistema Nervoso Central	4.960	1,6%	

Fonte: INCA - Estimativa, 2014 (adaptado).

Tabela 2 - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2014 para as mulheres, exceto pele não melanoma. Número arredondados de casos para 10 ou múltiplos de 10.

	Localização primária	casos	%
Mulheres 	Mama Feminina	57.120	20,8%
	Cólon e Reto	17.530	6,4%
	Colo do Útero	15.590	5,7%
	Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.930	4,0%
	Glândula Tireoide	8.050	2,9%
	Estômago	7.520	2,7%
	Corpo do Útero	5.900	2,2%
	Ovário	5.680	2,1%
	Linfoma não Hodgkin	4.850	1,8%
	Leucemias	4.320	1,6%

Fonte: INCA - Estimativa, 2014 (adaptado).

Acredita-se que mais de 30% dos cânceres poderiam ser evitados, sendo o tabagismo a maior causa evitável de câncer no mundo. O tabagismo é responsável por 22% das mortes mundiais. Um quinto de todas as ocorrências mundiais são causadas por infecção crônica, como por exemplo, o papiloma vírus humano (HPV) causador do câncer de cólon de útero, e do vírus da hepatite B cervical (HBV), responsável pelo câncer de fígado (WHO, 2015).

Câncer de mama, cólon do útero e do cólon-reto, que são de grande importância para a saúde pública, poderiam ser curados se detectados e tratados precocemente (WHO, 2015).

1.1 Causas do câncer

Os fatores socioambientais são responsáveis por cerca de 80% a 90% dos casos de câncer. Alguns desses fatores são bem conhecidos: o cigarro pode causar câncer de pulmão, a exposição excessiva ao sol pode causar câncer de pele, e alguns vírus podem causar leucemia. Outros estão em estudo, como alguns componentes dos alimentos processados e *in-natura* consumidos hoje em dia. O preocupante é que ainda são muitos os casos de cânceres cujas causas são por fatores desconhecidos (ALMEIDA et al, 2005; INCA - ESTIMATIVA, 2014). Os fatores de hereditariedade e/ou étnicos, são raros. Entretanto, o fator genético exercer um importante papel na oncogênese sendo ponto de referência na investigação das ocorrências (WHO, 2015).

Os indivíduos em geral, podem tomar medidas preventivas para a redução de um número considerável de novos casos de câncer. A tabela 3 apresenta a causa, o tipo de câncer ocasionado e as medidas para diminuir consideravelmente esta doença.

Tabela 3 - Causas, tipos de câncer ocasionados e prevenção/control.

Causa	Tipo de Câncer	Prevenção/control	Referências
Cigarro	Pulmão	Não fumar	WHO, 2015
Alimentação inadequada	Estômago e intestino	Ter uma alimentação mais saudável	INCA - ESTIMATIVA, 2014
Sexo inseguro	Cólon do útero Fígado	Conhecer seu parceiro e se vacinar contra o Papilomavírus humano (HPV) e Hepatite B.	INCA - ESTIMATIVA, 2014; WHO, 2015
Estilo de vida inadequado	Mama, próstata e intestino	Estilo de vida saudável, como alimentação adequada e prática de atividade física	INCA, 2015; INCA - ESTIMATIVA, 2014
Exposição excessiva ao sol	Pele	Uso de protetor solar e não ficar exposto ao sol no horário das 10 às 16h.	INCA - ESTIMATIVA, 2014

Fonte: Autora, 2015

1.2 Tratamento do câncer

Os principais procedimentos utilizados para o tratamento do câncer são: excisão cirúrgica – remoção do tumor, radioterapia – aplicação de radiação ionizante e quimioterapia – administração de fármacos. Recentemente novos tratamentos estão sendo utilizados: a terapia de fotorradiação com derivados hematoporfínicos (HTP) – eliminação do tumor através de radiação específica com fluorescência utilizando fibra óptica ou laser e a

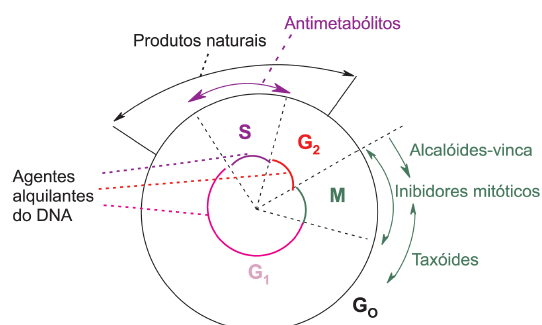
imunoterapia – promoção da estimulação do sistema imunológico. Esses procedimentos podem ser aplicados de forma isolada (monoterapia) ou associados entre si, que é a forma mais utilizada (ALMEIDA et al, 2005; RANG, 2011).

Dentre estes tipos de procedimentos elencados acima para o tratamento do câncer, destacamos a quimioterapia, por propiciar o desenvolvimento de fármacos específicos no tratamento da doença (ALMEIDA et al, 2005; RANG, 2011).

São inúmeros os fármacos desenvolvidos para o tratamento do câncer. A seguir serão descritos os principais fármacos que atuam no ciclo celular.

Os fármacos anticâncer podem ser divididos nas seguintes categorias: fármacos citotóxicos (agentes alquilantes, antimetabólitos, antibióticos citotóxicos e derivados de plantas), hormônios, anticorpos monoclonais, inibidores de proteínas quinase e diversos agentes (RANG, 2011). A figura 1 apresenta os agentes quimioterápicos, a fase em que atuam e quais os eventos de cada fase no ciclo celular.

Figura 1 – Atividade dos agentes quimioterápicos antineoplásicos, dependendo da fase do ciclo celular e quais os eventos de cada fase.



Fases	Eventos
G ₁	Preparação para a síntese de DNA
S	Síntese do DNA e duplicação do cromossomo
G ₂	Preparação para a divisão
Mitose (M)	Divisão em duas células-filhas
G ₀	Fora do ciclo celular, denominada quiescente (fase de repouso). Não há divisão.

Fonte: ALMEIDA et al, 2005; RANG, 2011.

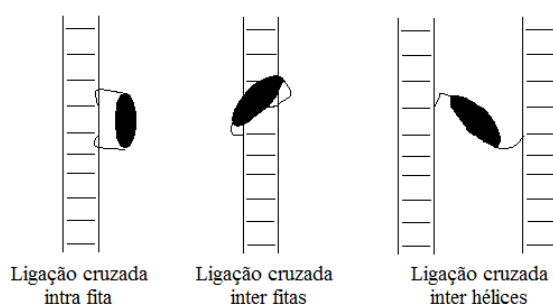
Dentre os agentes quimioterápicos que atuam no ciclo celular destaca-se os agentes alquilantes, pois atuam na fase S, G₁ e G₂ interagindo com o DNA. Por essa razão, atuando diretamente no DNA, têm sido um dos agentes mais estudados para o tratamento de câncer.

1.3 Agentes alquilantes

Em 1854 foi sintetizada a primeira mostarda de enxofre, entretanto, suas propriedades vesicantes só foram descritas em 1887. Durante a Primeira Guerra Mundial as mostardas tiveram uma atenção especial dos cientistas médicos militares, onde em suas pesquisas, foi observado pela primeira vez a ação das mostardas sobre a pele, os olhos e o trato respiratório. Os cientistas logo perceberam que a exposição às mostardas era seguida de grande toxicidade sistêmica. Posteriormente, constatou-se que essa toxicidade se caracterizava por leucopenia e, nos indivíduos submetido a necropsia, por aplasia da medula óssea, dissolução de tecido linfóide e ulceração do trato gastrointestinal (GOODMAN, 2010)

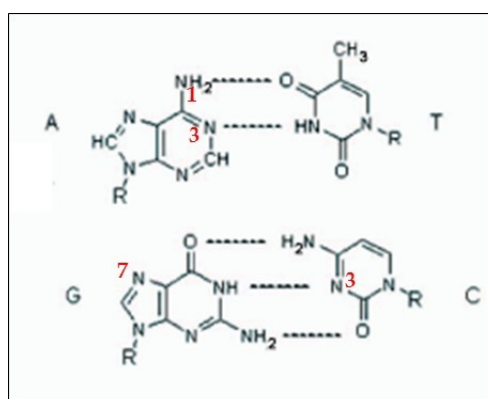
A maioria dos agentes alquilantes anticâncer citotóxicos são bifuncionais, ou seja, possuem dois grupos alquilantes. A capacidade de ação desses agentes é atribuída à formação de ligações entrecruzamento intra ou intercadeias no DNA (figura 2), das quatro bases nitrogenadas contidas no DNA, Adenina (A), Guanina (G), Citosina (C) e Timina (T), três interagem com os agentes alquilantes bifuncionais através da coordenação com o nitrogênio na posição 7 (N7) da guanina, embora possa ocorrer na posição N1 e N3 da adenina e N3 da citosina (figura 3). Desta forma, essas ligações podem interferir não só na transcrição, mas também na replicação do DNA (ALMEIDA et al, 2005, 2011; XU, 2015)

Figura 2 - Algumas das ligações cruzadas que podem ocorrer entre um agente alquilante bifuncional e o DNA



Fonte: ALMEIDA et al, 2005

Figura 3 - Possíveis posição de ligações entrecruzamento das bases nitrogenadas contidas no DNA



Fonte: ALMEIDA et al, 2005 - adaptado

Dado o uso prolongado dos agentes alquilantes, observa-se alguns efeitos adversos, sobretudo a depressão da gametogênese (sobretudo nos homens), que pode levar os indivíduos à esterilidade. Um outro efeito é o aumento do risco de desenvolvimento de leucemia não linfocítica aguda (RANG, 2011).

1.3.1 Mostardas nitrogenadas

A mostarda nitrogenada está associada historicamente ao “gás mostarda” usado durante a Primeira Guerra Mundial como arma química pelas forças da tríplice aliança. A estrutura química básica da mostarda nitrogenada: R-N-Bis(2-cloroetil) pode ser vista na figura 4.

Figura 4 - Estrutura básica da mostarda nitrogenada

Fonte: RANG et al, 2011

O mecanismo reacional da mostarda com a cadeia de DNA (RANG et al, 2011) está representado na figura 5.

Figura 5 - Exemplo de alquilação e entrecruzamento do DNA por uma mostarda nitrogenada.

Fonte: RANG et al, 2011

Em sua síntese ocorre primeiramente uma ciclização intramolecular em um dos dois cloroetil da mostarda, formando um cátion etileno imônio instável e liberando um Cl^- , sendo que a amina terciária é transformada em um composto de amônio quaternário. O anel tenso do intermediário etileno imônio abre-se formando um íon carbono reativo, que reage imediatamente com N7 da guanina, gerando 7-alkilguanina, e este N7 se converte em um amônio nitrogenado quaternário. Essas reações podem, então, repetir-se com o outro cloroetil, gerando um entrecruzamento (RANG et al, 2011)

Mostardas nitrogenadas são um dos agentes alquilantes anticâncer mais ativos e amplamente utilizados para o tratamento de todos os tipos de câncer, incluindo cólon do útero, de mama e câncer de próstata (SINGH et al, 2013).

Os agentes alquilantes são excelentes agentes anticancerígeno, mas a limitação de seu uso é que eles são tóxicos também para as células normais. Os derivados de mostardas nitrogenadas possuem enorme genotoxicidade interrompendo a biossíntese do DNA e danificando sua estrutura (Li et al, 2013).

O Mecloretamina é um dos mais antigos fármacos anticancerígenos sintéticos conhecidos, sendo usado principalmente em combinação com a oncovina (vincristina). O melfalano (mostarda fenilalanina) tem sido peça chave para o tratamento de mieloma múltiplo por várias décadas. Outros derivados, tais como clorambucil (Leukeran) e ciclofosfamida, são bem conhecidos por serem utilizados para tratamento do câncer na clínica (SHARMA et al, 2009; XU et al, 2015), as estruturas dos fármacos são mostradas na figura 6.

Figura 6 - Estrutura de derivados bis(cloroetila): 1 mecloretamina; 2 melfalano; 3 clorambucil e 4 ciclofosfamida

Fonte: XU et al, 2015

Entretanto, estas drogas não são seletivas em relação às células neoplásicas e produzem efeitos indesejáveis, tais como depressão da medula óssea e os sinais clínicos típicos incluindo eritema, formação de bolhas e de inflamação que ocorre após um período de latência característica (até 24 h), dependendo da concentração e quantidade do agente de alquilação (XU et al, 2015)

Outra desvantagem desses fármacos é a sua hidrofobicidade que não permite que a molécula atravesse a barreira hemato-encefálica (BHE) e, portanto, é ineficaz como agente antitumoral cerebral (SINGH et al, 2013).

A combinação das duas entidades farmacológicas num único composto foi utilizada como uma estratégia promissora para a concepção de fármacos com ações mais eficazes (SINGH et al, 2013).

A fim de minimizar estes efeitos indesejáveis, a ligação de mostardas nitrogenadas com um hormônio esteroide com afinidade para o seu receptor podem conduzir a agentes terapêuticos antineoplásicos altamente seletivos e menos tóxicos (SAHA et al, 2013).

Derivados bis(cloroetil) encontrados com atividade anticâncer

Os compostos 5 e 6 (figura 7) - mostardas do tipo sesquiterpeno, foram sintetizados como potenciais agentes anticâncer bifuncionais e mostraram atividades elevadas em diversas linhagens de células. Os estudos mostraram que esses compostos, em grande parte, poderiam induzir DNA *cross-linking*, que geralmente resultam na morte celular. Tomados em conjunto, a introdução de lactonas de sesquiterpeno em mostardas nitrogenadas aumentou a atividade

citotóxica e melhorou a seletividade em comparação com os compostos originais correspondentes (XU et al, 2015).

Figura 7 - Derivados de mostarda sesquiterpeno (5-6)

Fonte: XU et al, 2015 – adaptado

Ampliando os estudos, foi demonstrado que outros dois compostos, chamados 7 e 8 (figura 8), originados de mostardas de conjugados de benzodiazepina, são bastante promissoras, podendo conduzir ao desenvolvimento de agentes anticâncer ativos no Sistema Nervoso Central (SINGH et al, 2013).

Figura 8 - Mostardas de conjugados de benzodiazepina (7-8)

Fonte: SINGH et al, 2013

Novos compostos derivados de ureia mostraram uma atividade antitumoral significativa *in vitro* e *in vivo* atuando em vários xenoenxertos de tumor humano. Entre os derivados sintetizados o composto 9 (figura 9) mostrou ser o mais citotóxico contra linhas celulares de tumores sólidos (KAPURIYA et al, 2011).

Figura 9 - Derivado de mostarda (9)

Fonte: KAPURIYA et al, 2011

Li (2013) e seus colaboradores planejaram, sintetizaram e avaliaram treze novos compostos derivados de mostarda nitrogenada quinazolina quanto à sua atividade anticâncer *in vitro* e *in vivo*. Os seus ensaios de citotoxicidade foram realizados em cinco linhagens de células cancerígenas, tais como: HepG2 (carcinoma de fígado humano), SH-SY5Y (neuroblastoma humano), MCF-7 (câncer de mama humano), A549 (adenocarcinoma alveolar humano) e DU145 (câncer da próstata humano), e uma linhagem de células humanas normais (GES-1), em que o composto 10 apresentou valores muito baixos de CI_{50} para HepG2 (o valor do IC_{50} é 3,06 mM), valor esse menor do que Sorafenib (composto 11). Especula-se, que o composto 10 poderia inibir o ciclo celular na fase S e G2/M e induzir a apoptose celular. No modelo de xenoenxerto de HepG2, o composto 10 apresentou inibição significativa do crescimento do câncer com baixa toxicidade para o hospedeiro *in vivo* (LI et al, 2013), as estruturas dos compostos 10 e 11 são mostrados na figura 10.

Figura 10 - Derivado de quinazolina de mostarda nitrogenada (10) e Sorafenib (11)

Fonte: LI et al, 2013

1.4 Acridinas

Desde o início do século 20, derivados de acridina são estudados e utilizados por suas propriedades farmacológicas para o tratamento do câncer. Em torno da década de 1920, a descoberta de corante hetero-aromático com propriedades antibacterianas potentes conduziu ao desenvolvimento do tripaflavina tripanocida e do antisséptico acriflavina (GIORGIO et al, 2011). Na década de 1940, a mepacrina (12) foi desenvolvida após o aparecimento de

derivados antimaláricos (figura 11) tendo seu uso sido amplamente divulgado durante a Segunda Guerra Mundial (WAINWRIGHT, 2001)

Figura 11 - Estrutura da Mepacrina (12)

Fonte: WAINWRIGHT et al, 2001

Em meados dos anos 1960, a descoberta da capacidade da acridina para evitar o crescimento de células tumorais estimulou o estudo e a elaboração da síntese de novos derivados (GIORGIO et al, 2011).

A estrutura em anel plano da acridina torna sua interação forte com pares de bases de DNA, produzindo a interrupção do ciclo celular e apoptose (SONDHI et al, 2010; LI et al, 2014). Eles são capazes de interagir com o núcleo do DNA em uma forma específica de sequência e com alvos biológicos, tais como inibidores de topoisomerase (topo I e II), a telomerase ou quinase (BARROS et al, 2012; HEGAZY et al, 2011). As topoisomerasas topo I atuam fazendo uma ruptura transitória em uma cadeia de DNA, enquanto as do topo II produzem rupturas nas duas cadeias na estrutura de DNA, sendo responsáveis por controlar a topologia e desempenham um papel crítico no metabolismo do DNA. A sua atividade é um elemento essencial da replicação de DNA e da segregação cromossômica (JANOČKOVÁ et al, 2015).

Derivados de acridina constituem uma classe de compostos que são intensamente estudados como potenciais fármacos anticâncer. Os compostos de acridinas são bem conhecidos por sua alta atividade antitumoral. Numerosos métodos sintéticos estão focados na preparação de esqueletos acridina-alvo ou modificações de compostos naturais, tais como alcaloides acridona, que apresentam promissoras atividades anticâncer. Eles foram avaliados *in vitro* e *in vivo* para testar a sua importância para o tratamento do câncer e para estabelecer o mecanismo de ação, tanto em nível molecular quanto celular, que é necessário para a otimização das suas propriedades e consequente uso em quimioterapia (CHOLEWIŃSKI et al, 2011).

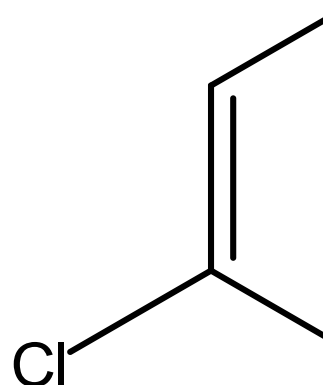
Numerosos grupos de pesquisadores têm-se centrado na síntese de novos compostos que possuem atividade anticancerígena. Análogos de acridina são conhecidos como

medicamentos anticâncer e agentes citotóxicos, e eles representam uma classe muito importante, mostrando outras formas de bioatividade (figura 12).

Acridinas e seus derivados também são bastantes conhecidos como compostos poliaromáticos com uma ampla variedade de propriedades biológicas, tais como quimioterápico, anticancerígeno, antimicrobianos, anti-inflamatórios, antimaláricos, antiviral, antifúngica e como compostos analgésicos (PIGATTO et al, 2011; BARROS et al 2012; HEGAZY et al, 2011). Também são uma importante classe de compostos orgânicos que encontram uso como corantes, materiais fluorescentes para visualização de biomoléculas, e em tecnologia laser, devido às suas propriedades espectroscópicas úteis (RAMESH; PASHA, 2014).

Segundo Hegazy (2011) e colaboradores, a quimioterapia de combinação com diferentes mecanismos de ação é um dos métodos que estão sendo mundialmente adotado para tratamento do câncer. Portanto, uma única molécula contém mais de um grupo farmacofórico, cada um com diferentes modos de ação, o que a torna mais eficiente e benéfica para o tratamento do câncer.

Figura 12 - Estrutura de alguns derivados acridínicos e suas aplicações, como: antibacteriana (13-18), antiprotozoários (19-24), agentes antimalária – quinacrina (25) e anti-HIV – CGP40336A (26).



Fonte: CHOLEWIŃSKI et al, 2011 – adaptado.

Em estudos recentes, fármacos à base de acridina/acridona entraram nos ensaios clínicos ou pré-clínicos, tais como Imidazoacridone (C-1311)(27), N-[2-(dimetilamino)-etil]-acridine-4-carboxamida (DACA)(28), pirazoloacridina (PZA)(29), 9-[4-(N, N-dimetilamino)

fenilamino]-3,6-bis(3-pyrrolodino-propionamido)acridina (BRACO-19)(30) e Amsacrina (m-AMSA)(31) figura 13 (LI et al, 2014; ZHANG et al, 2015)

Figura 13 - As estruturas de C-1311 (27), DACA (28), PZA (29), BRACO-19 (30) e m-AMSA (31) derivados das acridinas

Fonte: ZHANG et al. 2015

Amsacrina (31) é bastante ativa no tratamento de leucemias agudas e linfomas, mas é ineficaz em tumores sólidos. O uso clínico generalizado deste composto tem sido limitado por alguns problemas tais como: efeitos secundários, resistência a drogas e uma fraca biodisponibilidade. Esses problemas têm estimulado a outra modificação estrutural deste composto (SEDLÁČEK et al, 2012).

Derivados acridínicos com atividade anticâncer

Na figura 14 os compostos 32, 33, 35 e 36 apresentaram uma grande atividade para linhagens de células HepG2 (Células de carcinoma hepatocelular) e também mostraram-se, comparativamente, melhores em linhagens de células MCF-7 (Células de adenocarcinoma da mama humano), indicando assim serem potenciais fármacos anticâncer (RAMESH; PASHA, 2014).

Figura 14 - Derivado 9-aryl-hexa-hidro-acridin-1,8-diona (32-36)

Fonte: RAMESH; PASHA, 2014

A figura 15 mostra os novos derivados de acridina de 37-40, estes foram muito eficazes no combate de células humanas de leucemia promielocítica aguda (HL-60), sendo inibidores de topo duplo, atuando tanto como inibidores topo I e como inibidores catalíticos de topo II (JANOČKOVÁ et al, 2015).

Figura 15 - Derivados 6-cloro-2-metoxi-N[2-(piperazin-1-il)etil]acridin-9-ilamina (37-40)

Fonte: JANOČKOVÁ et al, 2015

De acordo com Li (2014) e colaboradores, derivados 9-aminoacridinas 41-44 (figura 16) apresentaram boa atividade antiproliferativa contra ambas as células K562 (células leucêmicas mieloide humana) e HepG2 (Células de carcinoma hepatocelular). O composto identificado 43 exibiu a sua atividade antitumoral através da ligação com o DNA e inibir a atividade de topo I, que pode ser desenvolvida em novos inibidores da topoisomerase.

Čížeková (2014) e seus colaboradores pesquisaram os derivados de 3,6-bis((1-alkil-5-oxo-imidazolidin-2-ilideno)imino) acridinas (AcrDIMs 45-46, figura 17) e confirmou que estes compostos têm propriedades de fotossensibilização atuando contra células de leucemia linfocítica de rato (L1210) e células de câncer de ovário humano (A2780), com uma atividade treze vezes superior à sua citotoxicidade no escuro.

Figura 16 - Derivados 9-aminoacridinas (41-44)

Fonte: LI et al, 2014

Figura 17 - Derivados 3,6-bis((1-alkil-5-oxo-imidazolidin-2-ilideno)imino)acridinas (45-46)

Fonte: ČIŽEKOVÁ et al, 2014

Os compostos 47, 48 e 49 (figura 18) apresentaram uma boa atividade antitumoral contra sete linhagens de células de câncer humano, tais como: mama (MCF-7), fígado (HEP-2), cólon (CÓLON-205, 502713, HCT-15), pulmão (A-549) e neuroblastoma (IMR-32) (SONDHI et al, 2010).

Figura 18 - Derivados acridínicos com potencial anticâncer (47-49)

Fonte: SONDHI et al, 2010.

Sedláček (2012) e seus colaboradores afirmaram que as acridinas sintetizadas 50-54 (figura 19) apresentaram atividade antiproliferativa *in vitro*. Os intercaladores livres têm valores de IC50 no intervalo de 0,6-6,8 $\mu\text{mol/L}$ em linhagens de células de tumores MCF-7 (câncer da mama), HepG-2 (carcinoma fígado hepatocelular) e PC-3 (adenocarcinoma da próstata).

Figura 19 - Derivados de acridinas (50-54)

Fonte: SEDLÁČEK et al, 2012

Os derivados de acridina-tiazolidinas 55-58 (figura 20) mostraram atividade citotóxica promissora. Embora menos ativo e seletivo do que o controle positivo amsacrina, todos eles exibiram citotoxicidade relativamente elevada, predominantemente no carcinoma do cólon e linhas celulares de tumores de glioblastoma, enquanto nenhuma atividade sobre leucemia, carcinoma da mama, ou células linfoblásticas normais foi observada (BARROS et al, 2012).

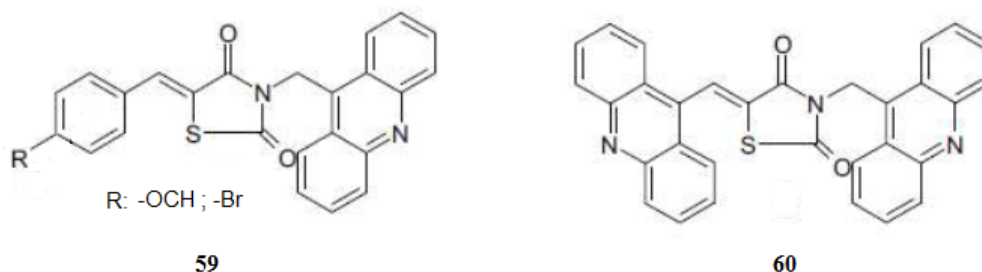
Figura 20 - Derivados acridina-tiazolidinas (55-58)

Fonte: BARROS et al, 2012

Galdino-Pitta (2013) vem realizando síntese de derivados tiazacridínicos, em que tem como base dois grupos potencialmente ativos: acridínicos e tiazolidinas, com vários substituintes e os mesmos foram testados nas linhagens de células de câncer do Sistema Nervoso Central – SNC (SF-295), carcinoma de cólon (HCT-8) e melanoma (MDA-MB435). Nos substituintes $-\text{OCH}_3$ ou Br (59) na posição 4 e no anel benzilidênico e em um bis-

acridínico (60) foi feito o IC_{50} e os compostos contendo o substituinte 4-Br apresentou o maior potencial citotóxico para a linhagem HCT-8 (figura 21).

Figura 21 - Derivados tiazacridínicos (59 e 60)



Fonte: Galdino-Pitta et al, 2013

1.5 Metalofármacos

A história de aplicação dos complexos metálicos como um fármaco terapêutico tem como referência cerca de 5000 anos atrás. Os complexos que contém ouro, prata, rutênio, paládio dentre outros metais, apresentam atividades antimicrobianas, antibacterianas, antifúngicas, antimaláricas e antitumorais. Tem-se estudado incessantemente compostos que contenham metais e os complexos metálicos provaram ser estruturas promissoras para aplicações biológicas. A descoberta da cisplatina 61 (figura 22) com atividade antitumoral já faz mais de 35 anos (DAHM et al, 2015; EMAMI et al, 2011).

Figura 22 - Estrutura da Cisplatina (61)

Fonte: ALMEIDA et al, 2005

As principais classes de fármacos anticancerígenos à base de metais incluem platina (II), paládio (II), ouro (I), ouro (III), metaloporfirinas, rutênio (II), rutênio (III), bismuto (III), e cobre (II) (EMAMI et al, 2011).

Complexos de prata, ouro, paládio ou platina estabilizados por meio de ligantes NHC demonstraram atividades antitumorais que superam a de cisplatina (DAHM et al 2015).

De fato, embora o uso de compostos de platina seja difundido em quimioterapia, os efeitos colaterais, assim como a resistência do tumor, a baixa estabilidade e solubilidade em meio biológico foram descritas (DAHM et al 2015), o que leva a procurar novos derivados com metais menos tóxicos e mais eficazes. Os complexos de paládio por possuírem uma atividade antitumoral significativa para as células de câncer, bem como efeitos secundários mais baixos em comparação com cisplatina estão sendo amplamente sintetizados e divulgados (ULUKAYA et al, 2011).

Derivados metalofármacos com atividades antitumorais

Novos complexos de 5,6-diamino-4-hydroxy-2-mercaptopyrimidine (Hdahmp) foram preparados e caracterizados. Os complexos, [Pd(bpy)(Hdahmp)]Cl₂, [Pt(bpy)(Hdahmp)]Cl₂ e [Ag₂(dahmp)₂] mostram alta eficácia contra as duas linhagens de células do câncer de ovário humano metastático-ascite (OV-90) e câncer de ovário humano-epitelial (OVCAR-8), conforme é mostrado na tabela 4 (EL-MORSY et al, 2014).

Tabela 4 - Atividade anticâncer de Hdahmp e seus complexos nas duas linhagens de células contra o câncer de ovário humano (OV90) e (OVCAR-8).

Compostos	IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
	Câncer de ovário	Câncer de ovário
	Humano (OV-90)	Humano (OVCAR-8)
Hdahmp	>100	89.00 ± 1.0
[Pd(bpy)(Hdahmp)]Cl ₂	8.41 ± 0.5	6.43 ± 1.0
[Pt(bpy)(Hdahmp)]Cl ₂	4.02 ± 0.1	3.08 ± 0.3
[Ag ₂ (dahmp) ₂]	3.00 ± 0.4	3.04 ± 0.4
Cisplatina	31.06 ± 0.4	30.86 ± 0.6

Fonte:Autora (2016) - Tabela adaptado do El-MORSY et al, 2014.

De acordo El-Asmy (2014) e seus colaboradores os novos complexos de 2-(2'-hidroxi-5'-metilfenil)-benzotriazole(hmbt) com Zn(II), Pd(II), Pt(II), Ag(I), Ru(II), Rh(III), MoO₂²⁺, WO₂²⁺ e UO₂²⁺, foram sintetizados e caracterizados. Os complexos de [Ag(hmbt)(PPh₃)], [Rh(hmbt)₂(H₂O)₂]Cl, [Pt(fen)(hmbt)]Cl e [Pd(fen)(hmbt)]Cl, mostram atividade promissora contra as linhagens de células do câncer de mama humano (MDA-MB231) e de câncer de ovário humano-epitelial (OVCAR-8), conforme a tabela 5.

Segapelo (2012) e seus colaboradores estudaram a citotoxicidade dos complexos de paládio e platina, onde revelou-se que os complexos contendo Josiphos 62 têm melhor citotoxicidade do que os seus homólogos Walphos 63, mas a seletividade entre as células mortas e normais para ambos os complexos é baixo, conforme a figura 23.

Tabela 5 - Atividade anticâncer do Hhmbt e os complexos [Ag(hmpbt)(PPh₃)], [Rh(hmbt)₂(H₂O)₂]Cl, [Pt(fen)(hmbt)]Cl e [Pd(fen)(hmbt)]Cl

Compostos	IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
	Câncer de Mama	Câncer de ovário
	Humano (MDA-MB231)	Humano (OVCAR-8)
Hhmbt	>100	87.55
[Pd(fen)(hmbt)]Cl	4.85	2.99
[Pt(fen)(hmbt)]Cl	5.24	3.00
[Ag(PPh ₃)(hmbt)]	1.37	1.75
[Rh(hmbt) ₂ (H ₂ O) ₂]Cl	7.52	8.50
Cis-platina	32.0	30.86

Fonte: Autora (2016) - Tabela adaptada do EL-ASMY et al, 2014

Figura 23 - Estruturas dos feroceno bases de Josiphos (62) e Walphos (63) ligados a difosfina quirais; J003: R1 = R2 = ciclo-hexilo; W001: R1 = fenila; R2 = 3,5-triflurmetilfenila

Fonte: SEGAPPELO et al, 2012

O complexo de paládio 64, mostrado na figura 24, apresentou uma boa atividade anticâncer contra células de câncer de mama (MCF-7 e MDA-MB231), induzindo a apoptose através de receptores de morte celular *in vitro*. O complexo é ainda capaz de reduzir significativamente o crescimento de células tumorais *in vivo*. Estes resultados sugerem que este novo complexo de paládio pode ser, pelo menos, um modelo promissor para o desenvolvimento de novos agentes anticâncer (ULUKAYA et al, 2011).

Figura 24 - Estrutura química do complexo paládio (II), [Pd(sac)(terpy)](sac) • 4H₂O (64)

Fonte: ULUKAYA et al, 2011

Seis novos complexos de paládio (II) (figura 25) foram sintetizados e caracterizados. A atividade antitumoral destes compostos provou que eles são altamente ativos contra células resistentes a cisplatina como o câncer de próstata humano (DU145) e necessitam de mais investigações para serem colocados no mercado como uma nova droga anticâncer. Eles também são ativos contra as diferentes bactérias gram positivas e gram negativas (KHAN et al, 2011).

Figura 25 - Complexos de paládio (65-70)

Fonte: KHAN et al, 2011.

Novos derivados de Carbeno N-heterocíclico (NHC) quelantes de paládio (II) e platina (II) foram preparados e caracterizados. A introdução de várias funcionalidades N-substituídas (isto é, álcool, nitrilo, éster ...) não influenciou a primeira esfera de coordenação dos complexos como a partir de estudos de difração de raios-X e de RMN. Funções éster podem ser facilmente desprotegidas, dando origem a espécies solúveis em água. O complexo 71 NHC de Pd (II) (figura 26), solúvel em água, tem sido investigado como potencial catalisador para acoplamento de Sonogashira, embora com atividade moderada (DAHM et al, 2015).

Figura 26 - Derivado de NHC de paládio II (71)

Fonte: DAHM et al, 2015

Desta forma objetivou-se por desenvolver novos derivados acridínicos, de mostardas nitrogenadas e do complexo de Pd (II) potencialmente ativos com avaliação da sua atividade citotóxica, que sejam mais seguros, eficazes, potentes e confiáveis, assim, justificando a elaboração deste trabalho de tese.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar derivados de acridinas, mostarda nitrogenada e complexo à base de paládio, e avaliar suas atividades antitumorais.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar derivados acridínicos e bis(cloroetila), com possível ação antitumoral e caracterizá-los através das técnicas espectrométricas;
- Sintetizar complexo de Pd(II) acridínico com possível ação antitumoral e caracterizá-los através das técnicas espectrométricas;
- Avaliar a atividade antitumoral dos derivados acridínicos, bis(cloroetila) e complexo de Pd(II), e selecionar os melhores compostos para a avaliação da CI_{50} .

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Atividades desenvolvidas e locais de realização

As atividades desenvolvidas neste trabalho e seus respectivos locais de realização encontram-se na tabela 6.

Tabela 6 - Locais das atividades experimentais

Atividades	Locais de realização
Síntese dos derivados acridínicos e bis(cloroetila); Síntese dos complexos acridínicos de paládio.	Laboratório do Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (IQB/UFAL)
Análises de espectroscopia de ressonância magnética nuclear	Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do IQB/UFAL
Análises por espectroscopia na região do infravermelho médio (espectrofotômetro Varian 660 - IR)	Laboratório do Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (IQB/UFAL)
Análises por espectrometria de massas (GC-2010 (gas chromatograph-Shimadzu) acoplado com GCMS-QP2010 Plus (gas chromatograph-Shimadzu mass spectrometer).	Laboratório do Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (IQB/UFAL)
Avaliação citotóxica dos complexos sintetizados.	Laboratório de Cultura de Células do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)
Análises elementares de C, H e N.	Central Analítica da Universidade de São Paulo (USP)

Fonte: Autora, 2015

3.2 Reagentes e solventes

Encontram-se listados na tabela 7 os reagentes e solventes utilizados nas sínteses dos derivados acridínicos, biscloroetila e do complexo acridínico de paládio.

Tabela 7 - Origem e fórmula molecular dos reagentes e solventes das sínteses dos derivados acridínicos, biscloroetila e do complexo acridínico.

Reagentes e Solventes	Fórmula Molecular	Origem
4-[bis-(2-cloroetil)amina]benzaldeído (Most)	$C_{11}H_{13}Cl_2NO$	Sigma-Aldrich
2,6-dibromo-4-metilnilina (Br_2MAN)	$C_7H_7NBr_2$	Sigma-Aldrich
2,6-dimetilanilina (DMA)	$C_8H_{11}N$	Sigma-Aldrich
Ácido acético P.A.	$C_2H_4O_2$	Dinâmica
Ácido clorídrico P.A.	HCl	Dinâmica
Acridina-9-carboxaldeído (Acri ou AC)	$C_{14}H_9NO$	Sigma-Aldrich
Cloreto de lítio	LiCl	Sigma-Aldrich
Cloreto de paládio(II)	$PdCl_2$	Sigma-Aldrich
Clorofórmio deuterado	$CDCl_3$	Cambridge Isotope Laboratories
Dimetilsulfóxido deuterado (DMSO)	C_2H_6OS	Cambridge Isotope Laboratories
Etanol	C_2H_6O	Dinâmica
Elilendiamina	$C_2H_8N_2$	Sigma-Aldrich
Éter	$C_4H_{10}O$	Dinâmica
Metanol	CH_4O	Dinâmica
Propargiamina (Pro)	C_3H_5N	Sigma-Aldrich

Fonte: Autora, 2015

Encontram-se listados na tabela 8 os reagentes e solventes utilizados nas atividades citotóxicas.

Tabela 8 - Origem e fórmula molecular dos reagentes e solventes das atividades citotóxicas

Reagentes e Solventes	Fórmula Molecular	Origem
Dimetilsulfóxido (DMSO)	C_2H_6OS	Vetec
Doxorrubicina	$C_{27}H_{29}NO_{11}$	Sigma-Aldrich
Estreptomicina e Penicilina	$C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ e $C_{16}H_{18}N_2O_4$	Gibco
Meio de cultura DMEM	-	Gibco
Meio de cultura RPMI	-	Himedia
MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio)	$C_{18}H_{16}N_5SBr$	Himedia
Soro fetal bovino	-	Gibco

Fonte: Autora, 2015

3.3 Instrumentação

3.3.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

As amostras foram preparadas em tubos de RMN e solubilizadas em solvente deuterado apropriado ($CDCl_3$ e DMSO, ambos da Sigma-Aldrich). As amostras foram analisadas por colaboradores do laboratório de RMN/IQB/UFAL, sob a coordenação do Prof. Dr. Edson de Souza Bento. O equipamento utilizado para as análises foi o Espectrômetro Bruker Avance 400. Os espectros foram obtidos a temperatura ambiente e operando na frequência de 400,13 MHz para núcleos de 1H e 100,61 MHz para núcleos de ^{13}C . Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos usando-se como referência tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0$).

3.3.2 Espectroscopia de absorção no infravermelho médio (IV)

As análises por espectroscopia na região do infravermelho médio foram realizadas no Espectrofotômetro Varian 660-IR empregando-se um acessório para pastilhas de KBr contendo cerca de 1% da amostra, os espectros abrangeram as regiões de 4000 a 400 cm^{-1} .

3.3.3 Espectrometria de Massas

As análises de Espectrometria de massas foram realizadas por colaboradores do laboratório do LABEN/IQB/UFAL, sob a coordenação da Profa. Dra. Janaína Heberle Bortoluzzi, Maceió/AL. O equipamento utilizado foi GC-2010 (gas chromatograph-Shimadzu) acoplado com GCMS-QP2010 Plus (gas chromatograph-Shimadzu mass spectrometer).

3.3.4 Ponto de fusão ou degradação

Os testes de ponto de fusão e degradação dos produtos sintetizados foram medidos em um aparelho de MS TECNOPON instrumentação científica, Modelo PFM II Digital.

3.3.5 Análise Elementar

As análises elementares de C, H e N foram realizadas junto a Central Analítica da Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, empregando-se uma unidade *Perkin-Elmer CHN 2400*.

3.3.6 Espectrofotômetro de microplacas

A leitura e cálculo dos resultados de ensaios de fotometria foram realizados em um aparelho THERMO PLATE, modelo TP-READER. As leituras foram feitas no comprimento de onda de 560 nm.

3.4 Síntese

3.4.1 Síntese Acridina

3.4.1.1 Síntese da (Acridin)₂N: (*N*¹*E,N*²*E*)-*N*^{1,N}²-bis(acridin-9-ilmetileno)etano-1,2-diamina

Em um balão de fundo redondo de 50 mL adicionou-se 0,4831 mmol (0,100 g) de 9-acridinacarboxaldeído em 10 mL metanol. Sobre a solução foram adicionados 0,2899 mmol (0,0174 g – 0,0193 mL) de etilenodiamina (excesso de 20%), sendo a solução mantida sob agitação em temperatura ambiente por 30 minutos, em apenas 10 minutos de reação forma-se o precipitado. Os voláteis foram retirados com o auxílio de uma bomba de alto vácuo. O sólido obtido foi lavado com éter gelado por 3 x 5 mL. Após secagem do material em alto

vácuo, obteve-se um sólido amorfo amarelo. A síntese baseou-se no trabalho de POPP (1960) com adaptações, conforme a figura 27.

Figura 27 - Síntese da (Acridin-9-ilmetileno)prop-2-ino-1-amina

Fonte: Autora, 2015

Fórmula molecular (F.M.): C₃₀H₂₂N₄. **Massa molecular (M.M.):** 438,52 g/mol. **Análise Elementar Teórico:** C: 82,17%; H: 5,06%; N: 12,78%. **Análise Elementar Experimental:** C: 79,79%; H: 5,22%; N: 11,74%. **Rendimento:** 91%. **Ponto de degradação:** 220 – 223 °C. **RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃, ppm):** δ 4,56 (s, 2H, H17); 7,10 (m, 2H, H5 e H11); 7,66 (m, 2H, H4, H12); 8,22 (dd, 4H, H3, H6, H10 e H13, *J* = 1,10 Hz e *J* = 5,06 Hz); 9,39 (s, 1H, H15). **RMN de ¹³C (100MHz, CDCl₃, ppm):** 62,87 (C17); 123,83 (C7 e C9); 124,78 (C5 e C11); 126,52 (C6 e C10); 129,88 (C3 e C13); 130,00 (C4 e C12); sf137,10 (C8); 148,75 (C2 e C14); 160,96 (C15). **IV (ν_{máx}/cm⁻¹, KBr):** 3058 (ν =C-H), 2919 (ν_{as} CH₂), 2852 (ν_s CH₂), 2000-1661 (bandas harmônicas aromáticas), 1643 (ν C=N), 1542 (ν C=C), 1519 (ν_{AR} C=N), 1456 (δ_s CH₂). **Massas m/Z (%):** 438 (M⁺, 20); 219 (100 - base), 205 (100 - base), 179 (20), 151 (20).

3.4.1.2 Síntese da Acridin-9-ilmetileno)prop-2-ino-1-amina; ACDMA: (E)-N-(acridin-9-ilmetileno)-2,6-dimetilanilina; ACBr₂MAN: (E)-N-(acridin-9-ilmetileno)-2,6-dibromo-4-metilanilina

A estratégia utilizada de síntese para a acridina Acridin-9-ilmetileno)prop-2-ino-1-amina foi a mesma para as sínteses apresentadas na figura 28. Assim, a seguir é descrita apenas a síntese da Acridin-9-ilmetileno)prop-2-ino-1-amina e os demais seguem a mesma estratégia modificando apenas o tempo reacional e coloração do sólido amorfo isolado, conforme a tabela 9.

Tabela 9 - Modificação do tempo reacional e coloração dos derivados

SÍNTESE	TEMPO REACIONAL	COLORAÇÃO
AcriPro	10 min	Dourado
ACDMA	2 horas	Laranja
ACBr ₂ MAN	24 horas	Amarelo

Fonte: Autora, 2015

Em um balão de fundo redondo de 50 mL adicionou-se 0,483 mmol (0,100 g) de 9-acridinacarboxaldeído, 10 mL metanol e 0,2 mL de ácido acético até completa dissolução. Em seguida, foram adicionados 0,580 mmol (0,0319 g – 0,0371 mL) de propargilamina (excesso 20%), sendo a solução mantida sob agitação e em temperatura ambiente por 10 minutos, em apenas 5 minutos de reação forma-se o precipitado. Secou-se em uma bomba de alto vácuo, lavou-se com metanol gelado por 3 x 5mL, após as lavagens coloca-se novamente o material para secar em uma bomba de alto vácuo, obtendo-se um sólido, (POPP, 1960 e CAREY, 2011) com adaptações.

Figura 28 - Esquema de síntese das AcriPro, ACDMA e ACBr₂MAN

Fonte: Autora, 2015

AcriPro

Fórmula molecular (F.M.): C₁₇H₁₂N₂. **Massa molecular (M.M.):** 244,10 g/mol. **Análise Elementar Teórico:** C: 83,58%; H: 4,95%; N: 11,47%. **Análise Elementar Experimental:** C: 81,58%; H: 5,30%; N: 10,71%. **Rendimento:** 89%. **Ponto de degradação:** 125 – 127 °C. **RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃, ppm):** δ 2,69 (t, 1H, H19, *J* = 2,40 Hz); 4,85 (t, 2H, H17, *J* = 2,32 Hz); 7,53 (m, 2H, H5 e H11); 7,74 (m, 2H, H4 e H12); 8,21 (d, 2H, H6 e H10, *J* = 8,85 Hz); 8,35 (d, 2H, H3 e H13, *J* = 8,85 Hz); 9,74 (t, 1H, H15, *J* = 2,17 Hz). **RMN de ¹³C (100MHz, CDCl₃, ppm):** δ 47,25 (C17); 76,20 (C19); 76,84 (C18); 122,91 (C7 e C9); 123,81 (C5 e C11); 125,89 (C6 e C10); 128,92 (C3 e C13); 129,26 (C4 e C12); 142,19 (C8); 147,62 (C2 e C14); 158,97 (C15). **IV (ν_{máx}/cm⁻¹, KBr):** 3155 (ν ≡C-H), 3061 (ν =C-H), 2953 (ν_{as} CH₂), 2834 (ν_s CH₂), 2160 (ν C≡C); 1871-1676 (bandas harmônicas aromáticas), 1650 (ν C=N), 1604 (ν C=C), 1518 (ν_{AR} C=N), 1455 (δ_S CH₂), 1310 (bandas harmônicas ≡C-H). **Massas m/Z (%):** 244 (M⁺, 100 - base); 243(M⁺ -H, 100 - base); 204 (70), 178 (40), 151 (40), 39 (60).

ACDMA

Fórmula molecular (F.M.): C₂₂H₁₈N₂. **Massa molecular (M.M.):** 310,15 g/mol. **Análise Elementar Teórico:** C: 85,13%; H: 5,85%; N: 9,03%. **Análise Elementar Experimental:** C: 84,98%; H: 5,92%; N: 8,47%. **Rendimento:** 78%. **RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃, ppm):** δ 2,36 (s, 6H, H18 e H22); 7,08 (t, 1H, H20, *J* = 7,58 Hz); 7,19 (d, 2H, H19 e H21, *J* = 7,69 Hz); 7,65 (m, 2H, H5 e H11); 7,84 (m, 2H, H4 e H12); 8,32 (d, 2H, H6 e H10, *J* = 8,83 Hz); 8,80 (d, 2H, H3 e H13, *J* = 8,82 Hz); 9,49 (s, 1H, H15). **RMN de ¹³C (100MHz, CDCl₃, ppm):** δ 19,01 (C23 e C24); 124,27 (C7 e C9), 124,59 (C5 e C11); 124,67 (C6 e C10); 126,72 (C18 e C22); 127,43 (C20); 128,50 (C19 e C21); 130,02 (C3 e C13); 130,45 (C4 e C12); 135,42 (C8); 144,08 (C2 e C14); 149,07 (C17); 161,29 (C15). **IV (ν_{máx}/cm⁻¹, KBr):** 3016 (ν =C-H), 2915 (ν_{as} CH₃), 2853 (ν_s CH₃), 2000-1650 (bandas harmônicas aromáticas), 1631 (ν C=N), 1543 (ν C=C), 1518 (ν_{AR} C=N). **Massas m/Z (%):** 310 (M⁺, 100 - base); 309(M⁺ -H, 100 - base); 293 (20), 205 (10), 179 (15), 77 (60).

ACBr₂MAN

Fórmula molecular (F.M.): C₂₁H₁₄Br₂N₂. **Massa molecular (M.M.):** 454,16 g/mol. **Análise Elementar Teórica:** C: 55,54%; H: 3,11%; N: 6,17%; Br: 35,19%. **Rendimento:** 38%. **RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, ppm):** δ 2,39 (d, 3H, H25, 0,76 Hz); 7,52 (d, 2H, H19 e H21, *J* = 0,77 Hz); 7,67 (m, 2H, H5 e H11); 7,84 (m, 2H, H4 e H12); 8,31 (m, 2H, H6 e H10); 8,96 (d, 2H, H3 e H13, *J* = 8,84 Hz); 9,55 (s, 1H, H15). **RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm):** δ 20,39 (C25); 113,96 (C23 e C24); 124,30 (C7 e C9), 125,11 (C5 e C11); 127,54 (C6 e C10); 130,05 (C3 e C13); 130,34 (C4 e C12); 132,95 (C19 e C21); 134,73 (C8); 137,15 (C20); 147,66 (C2 e C14); 148,96 (C17); 165,77 (C15). **IV (ν_{máx}/cm⁻¹, KBr):** 3061 (ν =C-H), 2922 (ν_{as} CH₃), 2840 (ν_s CH₃), 1958-1656 (bandas harmônicas aromáticas), 1632 (ν C=N), 1544 (ν C=C), 1518 (ν_{AR} C=N). **Massas m/Z (%):** 454 (M⁺, 100 - base); 293 (20), 205 (40), 178 (60), 89 (70).

3.4.2 Síntese Mostarda

3.4.2.1 Síntese da (Most)₂N: *N*¹,*N*²-bis(4-(bis(2-cloroetil)amino)benzilideno) etano-1,2-diamina

Em um balão de fundo redondo de 50 mL adicionou-se 0,4065 mmol (0,100 g) de 4-[bis-(2-cloroetil)amina]benzaldeído (Most), 10 mL metanol e 0,05 mL de ácido clorídrico

concentrado aproximadamente uma gota, até completa dissolução, foi adicionado 0,2440 mmol (0,0146 g – 0,0163 mL) de etilenodiamina (excesso 20%), sendo a solução mantida sob agitação em temperatura de 81°C e refluxo por três horas. Retirou-se a mistura da agitação e colocou-se na geladeira por 48 horas, formou-se o precipitado com adição de água deionizada, deixou-se por 72 h, e lavou-se com metanol por 3 vezes e o material seco em uma bomba de alto vácuo, obtendo-se um sólido branco, a síntese foi descrita na figura 29.

Figura 29 - Síntese da (Most)₂N

Fonte: Autora, 2015

(Most)₂N

Fórmula molecular (F.M.): C₂₄H₃₀Cl₄N₄. **Massa molecular (M.M.):** 514,33 g/mol. **Análise Elementar Teórico:** C: 55,83%; H: 5,86%; N: 10,85%. **Análise Elementar Experimental:** C: 56,21%; H: 6,42%; Cl: 26,85%; N: 10,52%. **Rendimento:** 61%. **RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃, ppm):** δ 3,65 (t, 4H, H1 e H11, *J* = 6,71 Hz); 3,78 (t, 4H, H2 e H10, *J* = 7,94 Hz); 3,90 (s, 2H, H14); 6,67 (d, 2H, H5 e H9, *J* = 9,11 Hz); 7,61 (d, 2H, H6 e H8, *J* = 8,88 Hz); 8,17 (s, 1H, H12). **RMN de ¹³C (100MHz, CDCl₃, ppm):** δ 40,26 (C2 e C10) ; 53,34 (C1 e C11) ; 61,86 (C14) ; 111,43 (C5 e C9) ; 129,99 (C6 e C8) ; 146,39 (C4) ; 147,89 (C7) ; 161,92 (C12). **IV (ν_{máx}/cm⁻¹, KBr):** 3061 (ν =C-H), 2903 (ν_{as} CH₂), 2840 (ν_s CH₂), 1871-1676 (bandas harmônicas aromáticas), 1637 (ν C=N), 1562 (ν C=C), 1461(δ_S CH₂), 718 (ν C-Cl).

3.4.3 Síntese do complexo ACDMAPd

Inicialmente, preparou-se uma solução metanólica de Li₂PdCl₄ a partir do seguinte procedimento: solubilizou-se o cloreto de lítio (0,5 mmol; 0,0221 g) em metanol (5 mL). Essa solução foi adicionada a um segundo frasco contendo cloreto de paládio(II) (0,200 mmol ; 0,0354 g) que ficou sob agitação e aquecimento (T = 60 °C) por 10 min. Logo após, filtrou-se o material, recuperando-se a solução de coloração castanho-escura de Li₂PdCl₄. A essa solução foi adicionado o pré-ligante ACDMA (0,200 mmol; 0,0620 g) sob agitação, seguido

de aquecimento sob refluxo ($T = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 1 hora, figura 3.4. Após esse tempo, separou-se o precipitado do sobrenadante por filtração. O sólido obtido foi lavado com metanol até que o filtrado ficasse incolor. Por fim, secou-se o material em uma bomba de alto vácuo, síntese do complexo foi descrita na Figura 30.

Figura 30 - Síntese do complexo ACDMAPd

Fonte: Autora, 2015

Fórmula molecular (F.M.): $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{PdCl}$. **Massa molecular (M.M.):** 451,26 g/mol. **Análise Elementar Teórica:** C: 58,56%; H: 3,80%; N: 6,21%; Pd: 23,58%; Cl: 27,47%. **Cor:** laranja. **Rendimento:** 77%. **RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3 , ppm):** Δ 2,3 e δ 2,34 (d, 6H, H23 e H24, 3,78 Hz); Δ 7,07 (m, 1H, H20); Δ 7,20 (m, 2H, H19 e H21); Δ 7,74 e δ 7,80 (m, 1H, H6); Δ 7,91 e δ 8,03 (m, 2H, H5 e H11); Δ 8,28 e δ 8,37 (m, 2H, H4 e H12); Δ 8,85 e δ 8,91 (m, 2H, H3 e H13); Δ 9,67 e δ 9,63 e 9,73 (s, 1H, H15). **IV ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$, KBr):** 3067 (ν =C-H), 2953 (ν_{as} CH_3), 2915 (ν_{s} CH_3), 2000-1682 (bandas harmônicas aromáticas), 1632 (ν C=N), 1568 (ν C=C), 1525 (ν_{AR} C=N).

3.5 Avaliação Citotóxica

3.5.1 Método

A atividade antitumoral foi realizada através do método do MTT brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (ALLEY et al., 1988; MOSMANN, 1983). Este método é um ensaio colorimétrico baseado na viabilidade de redução enzimática da enzima mitocondrial succinato desidrogenase, quando reagem com a molécula de MTT. A formação de cristais formazan (produto formado pela redução de tetrazolium MTT) ocorre quando a molécula MTT é exposta a células viáveis. Dependendo da quantidade das células viáveis no meio, este varia de uma coloração azul intenso (maior) a uma coloração amarela (menor).

Este ensaio de MTT é amplamente comum em estudos de citotoxicidade devido à sua precisão, rapidez e simplicidade relativa (LOBNER,2000; MOSMANN,1983).

3.5.2 Linhagens

As linhagens de células tumorais humanas utilizadas foram: HEP-2 (carcinoma epidermóide de laringe), HT-29 (câncer de cólon), NCI-H292 (carcinoma mucoepidermóide de pulmão), MCF-7 (Câncer de mama humano) e HL-60 (leucemia promielocítica aguda) obtidas da seção de culturas celulares do Banco de Células do Rio de Janeiro e mantidas de acordo com o protocolo estabelecido pelo Laboratório de Cultura de Células do Departamento de Antibióticos da UFPE.

3.5.3 Ensaio *in vitro*

3.5.3.1 Manutenção das células tumorais

As linhagens HT-29 (câncer de cólon humano), MCF-7 (câncer de mama humano), HEP-2 (carcinoma de laringe humana), NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano) foram mantidas em meio de cultura DMEM e a linhagem HL-60 (leucemia promielocitica aguda) foi mantida em meio de cultura RPMI. Os meios foram suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de solução de antibiótico (penicilina e estreptomicina). As células foram mantidas em estufa a 37 °C em atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO₂.

3.5.3.2 Ensaio de avaliação de atividade antitumoral

As células HT-29, MCF-7, HEP-2 e NCI-H292 (10^5 células/mL) e HL-60 ($0,3 \times 10^6$ células/mL) foram plaqueadas em placas de 96 poços e incubadas por 24h. Em seguida os derivados acridínicos (Acri)₂N, AcriPro, ACDMA e ACBr₂MAN, a bis(cloroetila) (Most)₂N, bem como o complexo ACDMAPd foram dissolvidas em DMSO (0,5%) e adicionadas aos poços em concentração final de 25 µg/mL. O fármaco doxorrubicina (5 µg/mL) foi utilizada como padrão. Após 72 h de reincubação foi adicionado 25 µL de MTT (5 mg/mL) e depois de 3 h de incubação, o meio de cultura com o MTT foi aspirado e 100 µL de DMSO foi adicionado a cada poço. A absorbância foi medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 560 nm.

3.5.4 Método de análise dos resultados

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras com atividade (95 a 100 % de inibição de crescimento), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 70 a 90%) e sem atividade (inibição de crescimento menor que 50 %) (RODRIGUES et. al., 2014).

Os experimentos foram realizados em quadruplicatas e a percentagem de inibição de crescimento foi calculada no programa *GraphPad Prism 5.0* (Demo).

3.5.5 Método para determinação da concentração inibitória (CI₅₀)

Os derivados (Acri)₂N, AcriPro, ACDMA e ACBr₂MAN, a bis(cloroetila) (Most)₂N, bem como o complexo ACDMAPd nas concentrações (0,098 – 25 µg/mL) que apresentarem atividade moderada (> 70% de inibição) em duas linhagens aderidas e uma linhagem em suspensão foram submetidos a determinação da concentração que inibe 50 % do crescimento em relação ao controle negativo (CI₅₀). A doxorrubicina (0,009 – 1,25 µg/mL) foi utilizada como padrão. A CI₅₀ e os respectivos intervalos de confiança (IC 95%) foram calculados a partir da regressão não linear no programa *GraphPad Prism 5.0* (Demo).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A elaboração de novos fármacos antitumorais mais eficazes e com poucos efeitos adversos tem sido um ponto importante em várias pesquisas. Nesse mesmo contexto, buscou-se modificar a estrutura da acridina e da bis(cloroetila), permitindo assim coordenar o metal paládio, para aumentar a atividade antitumoral e diminuir a toxicidade desses novos derivados.

A metodologia de síntese dos derivados acridínicos e mostardas nitrogenadas desenvolvidas neste trabalho se baseou nos trabalhos descritos por Popp (1960) e Carey (2011) e para os complexos de Paládio (II), descrito por Barros (2012).

A síntese dos derivados acridínicos 9-C-metilimínicos e mostarda N-substituída foi possível a partir de uma reação clássica para a obtenção de iminas N-substituídas, também chamadas de Bases de Schiff, como mostrada na figura 31. Esta reação consiste no tratamento de uma amina primária por uma base na presença de um composto carbonílico, como mostrado na figura 32, a qual mostra, em 5 passos, o mecanismo reacional tomando a 9-acridinacarboxaldeído com as aminas utilizadas nesta tese.

Figura 31 - Reação global da acridina com uma amina

Figura 32 - Mecanismo de reação da acridina para a formação de imina, adaptada para os derivados, foi desenvolvido em 5 passos.

Passo 1. A amina age como um nucleófilo, adicionando-se ao grupo carbonila da acridina e formando uma ligação C-N. Precisa estar em torno de pH 4,5 a 5.

Passo 2. Em um solvente metanol, as transferências de próton resultam na carbinolamina.

Passo 3. O estágio de desidratação se inicia com a protonação no oxigênio da carbinolamina da acridina.

Passo 4. A carbinolamina protonada no oxigênio perde água para resultar em um carbocátion estabilizado por nitrogênio. Esta etapa determina a velocidade da reação e precisa estar em meio ácido.

Passo 5. O carbocátion estabilizado por nitrogênio é o ácido conjugado da imina. A transferência de próton para o solvente resulta na imina.

Fonte: Autora, 2015

Durante o procedimento reacional constatou-se que uma solução muito ácida bloqueia o passo 1 e muito básica reduz a velocidade do passo 4 (CAREY, 2011).

O mecanismo de síntese é semelhante para as mostardas nitrogenadas, mudando no processo a substituição da 9-acridinacarboxialdeído (passo 1) pelo 4-[bis-(2-cloroetil)amina]benzaldeído.

Popp (1960) e Carey (2011) usaram como solvente etanol e água, respectivamente, diferentemente do nosso procedimento que apresentou melhor resultado quando usado metanol como solvente, além dos diferentes tempos reacionais e/ou nas relações estequiométricas.

A procura por novos fármacos de acridinas e mostardas nitrogenadas vem motivando a síntese por novos derivados destes núcleos e novos complexos de paládio com o núcleo acridínico. Poucas citações do complexo de paládio com os núcleos acridínicos e mostardas

nitrogenadas foram encontradas na literatura o que demonstra ser ainda uma área carente de estudos.

Todos os derivados de acridina e mostardas nitrogenadas e o complexo de paládio acridínico sintetizados são inéditos, sólidos à temperatura ambiente e apresentam uma coloração que varia do branco ao laranja escuro.

4.1 Caracterização dos derivados acridínico, bis(cloroetila), e o complexo de paládio acridínico

Os derivados acridínicos e bis(cloroetila), e o complexo de paládio acridínico sintetizados foram caracterizados por ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN de ^1H), ^{13}C (RMN de ^{13}C), espectroscopia de absorção na região do infravermelho e espectrometria de massas, e outros para complementar as caracterizações como COSY e *J* resolvido.

4.1.1 (Acri)₂N

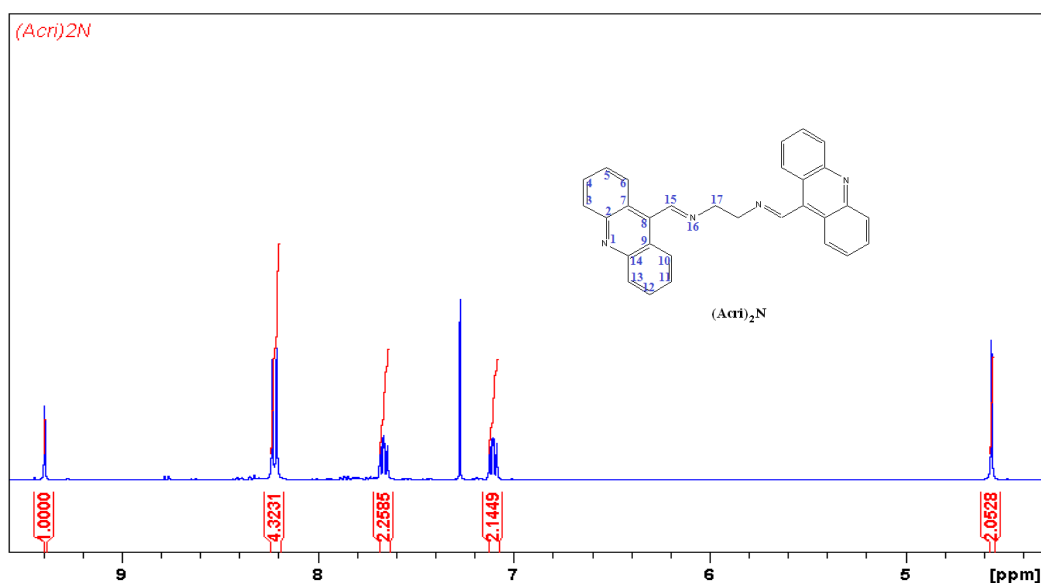
A estrutura da (Acri)₂N mostrada na figura 27 apresenta uma isomeria geométrica de configuração *E* predominantemente. É dada pela presença de duas insaturações ligadas a grupos volumosos nas suas extremidades o que caracterizaria uma maior estabilidade ao composto devido ao menor impedimento estérico.

4.1.1.1 RMN de ^1H

A figura 33 demonstra o espectro de RMN de ^1H do (Acri)₂N. Nela foi observado os seguintes sinais referentes aos hidrogênios do anel acridínico, multiplete atribuídos aos H3, H6, H10 e H13, com deslocamento químico (δ) de 8,22 ppm. Na região de 7,66 ppm observou-se um multiplete atribuídos aos H5 e H11, e o δ de 7,10 ppm atribuído a H4 e H12, como multiplete. Esses δ aqui descritos para o H do anel acridínico foram semelhantes àqueles descritos na literatura e mostrado na tabela 10 (SILVA et al, 2001). Um sinal mais blindado foi atribuído aos hidrogênios do grupamento CH₂, com δ de 4,56 ppm, referente ao H17. Um sinal fortemente desblindado foi atribuído ao hidrogênio do carbono ligado a imina, com δ de 9,39 ppm, referente ao H15. Todos os sinais de hidrogênio da molécula foram identificados e o número total de hidrogênios, calculado através da curva de integração, o que permitiu confirmar a molécula, conforme a tabela 10. A ausência de um sinal fortemente desblindado do H aldeídico foi observado na faixa de 11 ppm e a presença de um sinal com δ

de 9,39 ppm. O sinal da imina esperado aparece na faixa de 9 ppm, o que evidenciou a sua formação. A espectrometria de massa realizada observou-se a formação do pico do íon molecular, Apêndice D, o que sugeriu a massa molecular esperada para o composto experimental.

Figura 33 - Espectro de RMN de ^1H do $(\text{Acrid})_2\text{N}$ em CDCl_3



Fonte: Autora, 2015

Tabela 10 - Dados de RMN de ^1H da $(\text{Acrid})_2\text{N}$ em CDCl_3

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição	SILVA et al, 2001
4,56 (s)	2H	-	H17	
7,10 (m)	2H	-	H5 e H11	7,72 (m, 2H)
7,66 (m)	2H	-	H4 e H12	7,94 (m, 2H)
8,22 (m)	4H	-	H6 e H10	8,11 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz)
			H3 e H13	8,26 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz)
9,39 (s)	1H	-	H15	

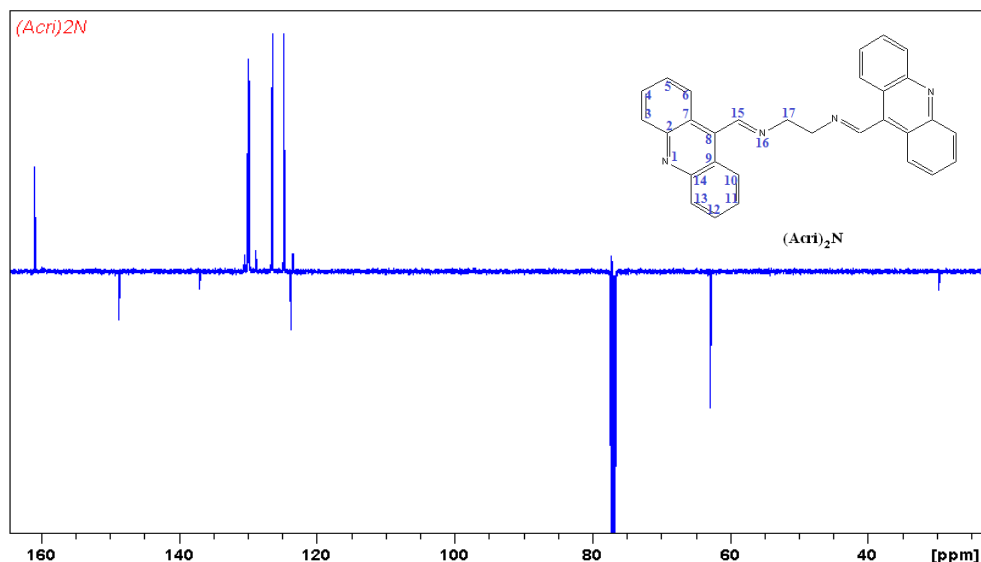
Fonte: Autora, 2015

4.1.1.2 RMN de ^{13}C

Observou-se na figura 34 e na tabela 11 o espectro de RMN de ^{13}C . São mostrados os sinais do CH_2 em δ 62,87 ppm para C17 e da imina 160,96 ppm para C15. Os sinais 123,83; 124,78; 126,52; 129,88; 130,00; 137,10 e 148,75 ppm, foram atribuídos respectivamente aos átomos de carbono C7 e C9; C5 e C11; C6 e C10; C3 e C13; C4 e C12; C8; C2 e C14; do anel acridínico, essas atribuições foram semelhantes ao descrito na literatura para o anel acridínicos (SONDHI et al, 2010; RAMESH et al, 2014). Foi observado também a ausência de um sinal com δ na faixa de 190 ppm que caracteriza o átomo de C do aldeído e a presença

de um sinal em 160,96 ppm. Como o sinal da imina aparece na faixa de 160 ppm, isso evidencia a formação da imina do composto experimental.

Figura 34 - Espectro de RMN de ^{13}C do $(\text{Acrid})_2\text{N}$ em CDCl_3 .



Fonte: Autora, 2015

Tabela 11 - Dados de RMN de ^{13}C da $(\text{Acrid})_2\text{N}$ em CDCl_3

δ (ppm)	Atribuição
62,87	C17
123,83	C7 e C9
124,78	C5 e C11
126,52	C6 e C10
129,88	C3 e C13
130,00	C4 e C12
137,10	C8
148,75	C2 e C14
160,96	C15

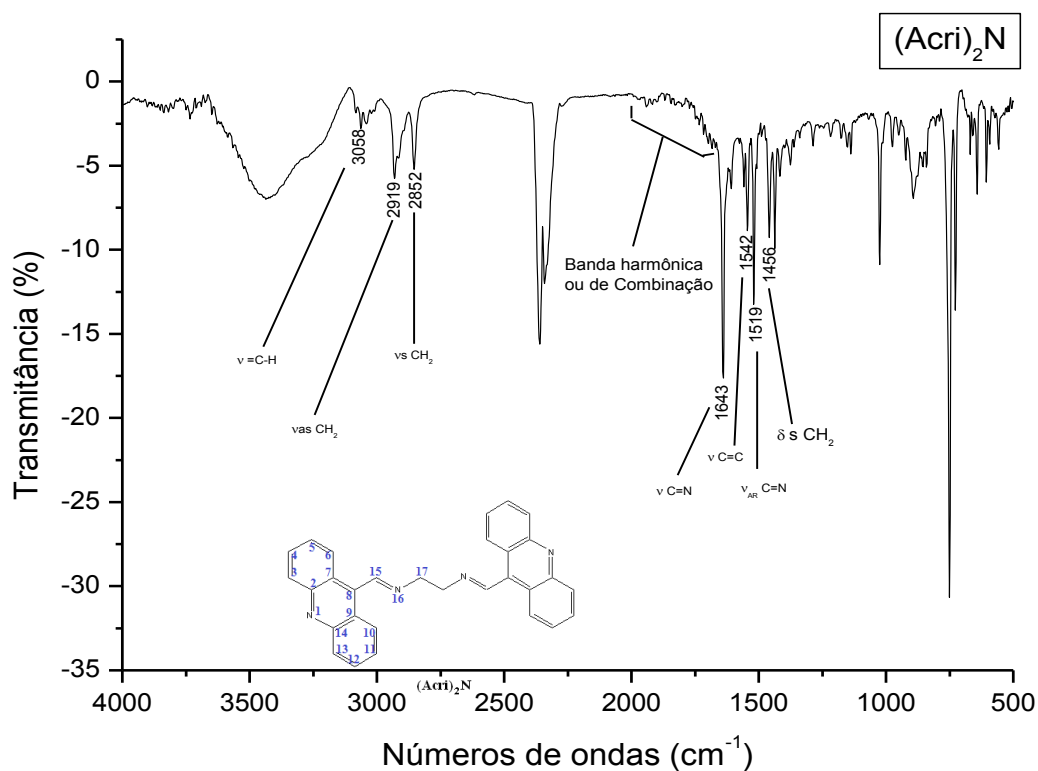
Fonte: Autora, 2015

4.1.1.3 IV

De acordo com a figura 35 no espectro de infravermelho do $(\text{Acrid})_2\text{N}$ foram observadas bandas de estiramento do anel acridínico, semelhantes aos descritos na literatura para o anel acridínico (SONDHI et al, 2010; RAMESH et al, 2014), na região de 3058 cm^{-1} para a ligação $=\text{C}-\text{H}$, bandas harmônicas ou de combinação das deformações angulares fora do plano a faixa de absorção de $2000-1661\text{ cm}^{-1}$, observou-se também na região de 1542 cm^{-1} um estiramento de intensidade variável na ligação $\text{C}=\text{C}$, 1519 cm^{-1} de intensidade variável para a ligação $\text{C}=\text{N}$ do aromático. A banda de absorção do CH_2 assimétrico encontra-se na região de 2919 cm^{-1} , CH_2 simétrico na região de 2852 cm^{-1} e deformação angular simétrica do

CH₂ na faixa de absorção de 1456 cm⁻¹. Na região de 1643 cm⁻¹ observou-se um estiramento de intensidade variável para a ligação da imina (-HC=N), além disso a ausência da banda da carbonila evidencia a formação da imina.

Figura 35 - Espectro de Infravermelho do (Acri)₂N



Fonte: Autora, 2015

4.1.1.4 Análise elementar

Na tabela 12 encontra-se os resultados teórico da análise elementar para a (Acri)₂N.

Tabela 12 - Análise calculada para (Acri)₂N

	% Carbono	% Hidrogênio	% Nitrogênio
Valor Teórico	82,17	5,06	12,78
Valor Experimental	79,79	5,22	11,74

Fonte: Autora, 2015

Como observado os valores experimentais obtidos na análise elementar foram bem próximos aos valores calculados teoricamente.

4.1.1.5 Espectrometria de Massas

As principais fragmentações do composto (Acri)₂N encontradas na espectrometria de massa estão mostradas na tabela 13.

Tabela 13 - Principais fragmentações e intensidades apresentadas por (Acri)₂N

Fragmentação					
m/Z	438	234	219	205	179
Intensidade %	20	40	95	100 (base)	40

Fonte: Autora, 2015

Como pode ser observado na tabela acima, o pico do íon de massa de 438 caracteriza a massa molecular do composto experimental e o pico base de intensidade 100 corresponde ao fragmento do íon de base.

4.1.2 AcriPro

A estrutura da AcriPro mostrada na figura 28 apresenta um possível acoplamento espacial, o espectro de Cosy (figura 39) mostra a correlação entre os hidrogênios acoplados, apresentando um acoplamento em longa distância ou acoplamento de quatro ligações. Devido a este acoplamento, possivelmente a configuração *E* predomina.

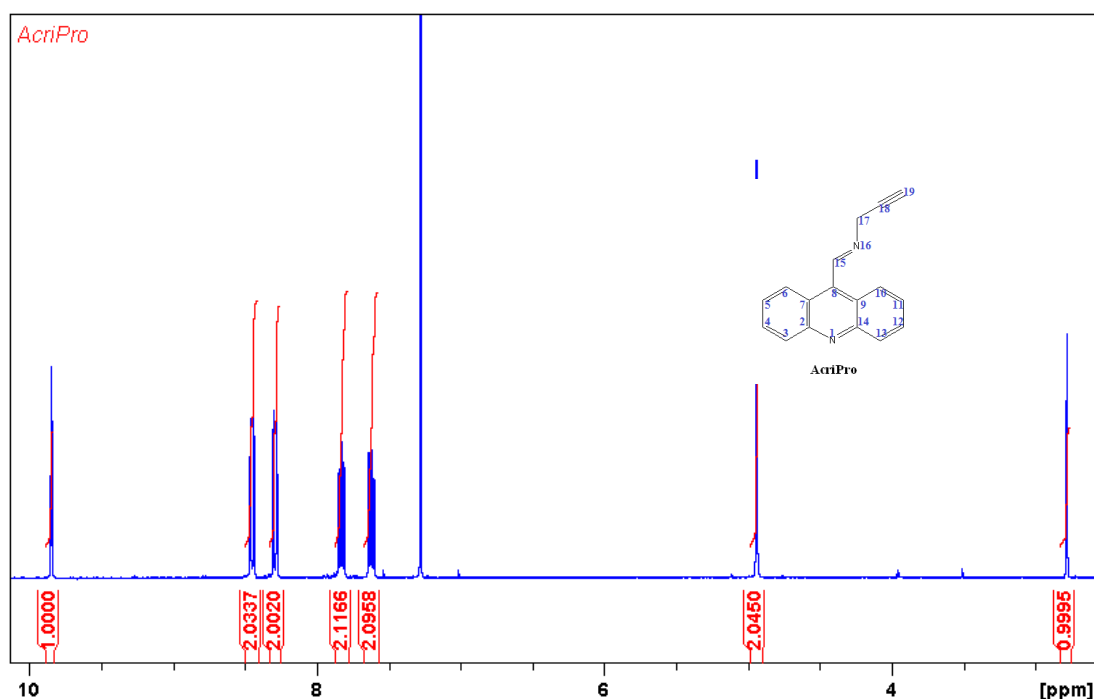
4.1.2.1 RMN de ¹H

O espectro de RMN de ¹H do AcriPro é mostrado na figura 36. Nela observou-se os seguintes sinais referentes aos hidrogênios do anel acridínico, multipletos atribuídos aos H3 e H13, com deslocamento químico (δ) de 8,35 ppm. Na região de 8,21 ppm observou-se um dubleto atribuídos aos H6 e H10 com $J=8,85$ Hz, na região de δ 7,74 ppm foram observados multipletos do H4 e H12, o δ de 7,53 ppm como multipletos atribuídos aos H5 e H11. O AcriPro apresentou um espectro de RMN de ¹H muito semelhante ao composto anterior, na região do anel acridínico. Em uma região de campo mais alto, observou-se um sinal atribuído aos hidrogênios da tripla ligação $\equiv\text{CH}$ com δ de 2,69 ppm como tripleto ao H19 com $J = 2,36$ Hz e os hidrogênios do CH₂, com δ de 4,85 ppm, referente ao H17 com $J = 2,32$ Hz. Em uma região de campo mais baixo, observou-se um sinal atribuído ao hidrogênio do carbono ligada a imina com δ de 9,74 ppm, como tripleto referente ao H15 com $J = 2,23$ Hz.

Todos os sinais de hidrogênio da molécula foram identificados e o número total de hidrogênios, calculado através da curva de integração, o que permite confirmar a molécula AcriPro, conforme a tabela 14.

A ausência de um sinal fortemente desblindado na faixa de 11 ppm do H aldeídico e a presença de um sinal em 9,74 ppm, o sinal da imina aparece numa faixa de 9 ppm, evidenciou a formação do composto. A formação também foi confirmada pela espectrometria de massas através do pico do íon molecular, Apêndice H, bem como a análise elementar experimental para este composto.

Figura 36 - Espectro de RMN de ^1H do AcriPro em CDCl_3



Fonte: Autora, 2015

Tabela 14 - Dados de RMN de ^1H da AcriPro em CDCl_3

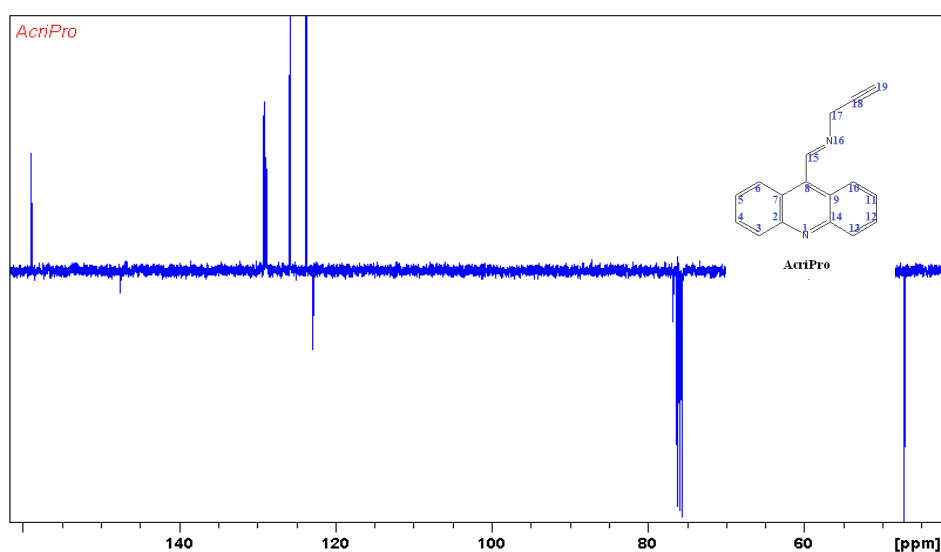
δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
2,69 (t)	1H	2,40	H19
4,85 (t)	2H	2,32	H17
7,53 (m)	2H	-	H5 e H11
7,74 (m)	2H	-	H4 e H12
8,21 (d)	2H	8,85	H6 e H10
8,35 (d)	2H	8,85	H3 e H13
9,74 (t)	1H	2,17	H15

Fonte: Autora, 2015

4.1.2.2 RMN de ^{13}C

Da mesma forma que o composto anterior, a região do anel acridínico do AcriPro apresentou semelhança nos sinais de atribuição do RMN de ^{13}C , assim, foram observadas na figura 37 os sinais de atribuição do CH_2 em δ 47,2 ppm para C17 e da imina 158,97 ppm para C15. Os sinais da tripla ligação, $\text{C}\equiv\text{C}$, são atribuídos em 76,20 e 76,84 ppm, são respectivamente para C19 e C18. Os sinais em 122,91; 123,81; 125,89; 128,92; 129,26; 142,19 e 147,62 ppm, foram atribuídos respectivamente aos átomos de carbono C7 e C9; C5 e C11; C6 e C10; C3 e C13; C4 e C12; C8; C2 e C14; do anel acridínico, de acordo com a tabela 15. A ausência de um sinal na faixa de 190 ppm do C do aldeído do reagente e a presença de um sinal em 158,97 ppm, que o sinal da imina aparece na faixa de 160 ppm, evidenciou a formação da imina do composto AcriPro.

Figura 37 - Espectro de RMN de ^{13}C do AcriPro em CDCl_3



Fonte: Autora, 2015

Tabela 15 - Dados de RMN de ^{13}C da AcriPro em CDCl_3

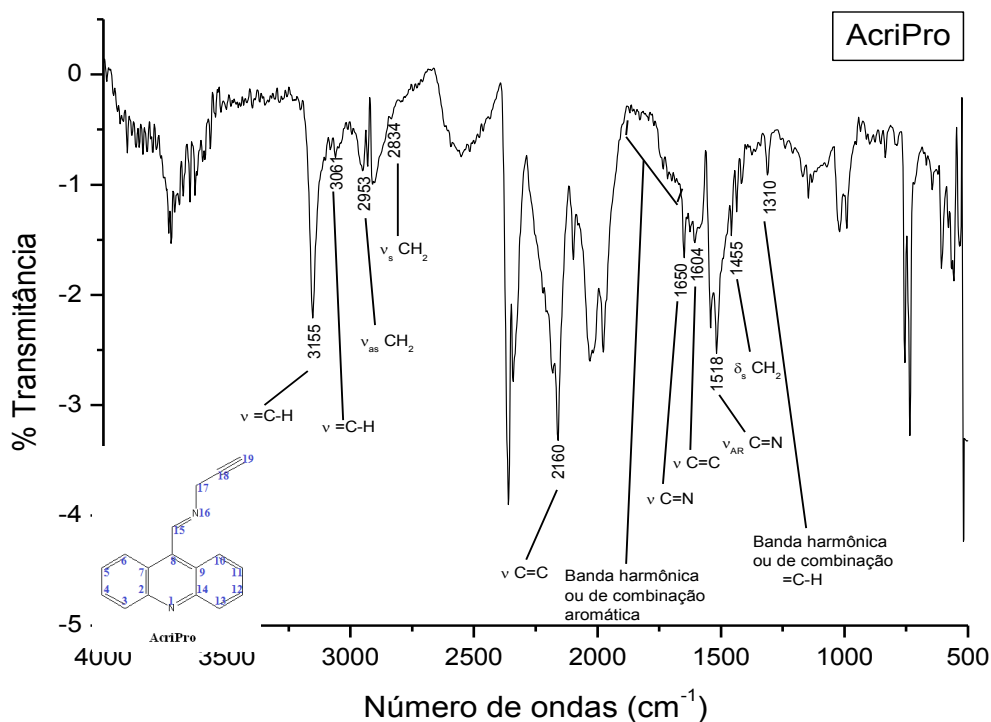
δ (ppm)	Atribuição
47,25	C17
76,20	C19
76,84	C18
122,91	C7 e C9
123,81	C5 e C11
125,89	C6 e C10
128,92	C3 e C13
129,26	C4 e C12
142,19	C8
147,62	C2 e C14
158,97	C15

Fonte: Autora, 2015

4.1.2.3 IV

Através da figura 38 são observadas no espectro de infravermelho do AcriPro uma semelhança da análise anterior e as bandas de estiramento do anel acridínico nas regiões de 3061 cm^{-1} para a ligação $=\text{C-H}$, bandas harmônicas ou de combinação das deformações angulares fora do plano a faixa de absorção de $1884\text{-}1662\text{ cm}^{-1}$; Na região de 1604 cm^{-1} observasse um estiramento de variação ($\nu\text{ C=C}$), 1518 cm^{-1} de intensidade variável para a ligação C=N do aromático. A banda de absorção do CH_2 assimétrico encontra-se na região de 2953 cm^{-1} e CH_2 simétrico na região de 2834 cm^{-1} e deformação angular simétrica do CH_2 na faixa de absorção de 1455 cm^{-1} . As bandas de estiramento do $\text{C}\equiv\text{C}$ observasse na região de intensidade variável em 3155 cm^{-1} para ligação $\equiv\text{C-H}$, as vibrações de estiramento de intensidade variável em 2160 cm^{-1} para $\text{C}\equiv\text{C}$ e banda harmônica para ligação $\equiv\text{C-H}$ na região de 1310 cm^{-1} . Na região de 1650 cm^{-1} observasse um estiramento de intensidade variável para a ligação da imina ($-\text{HC=N}$), além disso a ausência da banda da carbonila evidencia a formação da imina.

Figura 38 - Espectro de Infravermelho do AcriPro



4.1.2.4 Análise elementar

Na tabela 16 encontra-se os resultados teórico da análise elementar para a AcriPro. Desta forma confirmando o composto.

Tabela 16 - Análise calculada para AcriPro

	% Carbono	% Hidrogênio	% Nitrogênio
Teórico	83,58	4,95	11,47
Experimental	81,58	5,30	10,71

Fonte: Autora, 2015

Observou-se que os valores experimentais obtidos na análise elementar foram bem próximos aos valores calculados teoricamente.

4.1.2.5 Massas

As principais fragmentações do composto AcriPro encontra-se na tabela 17

Tabela 17 - Principais fragmentações e Intensidades apresentadas por AcriPro

Fragmentação				
m/Z	244	204	178	39
Intensidade %	100 (base)	70	40	60

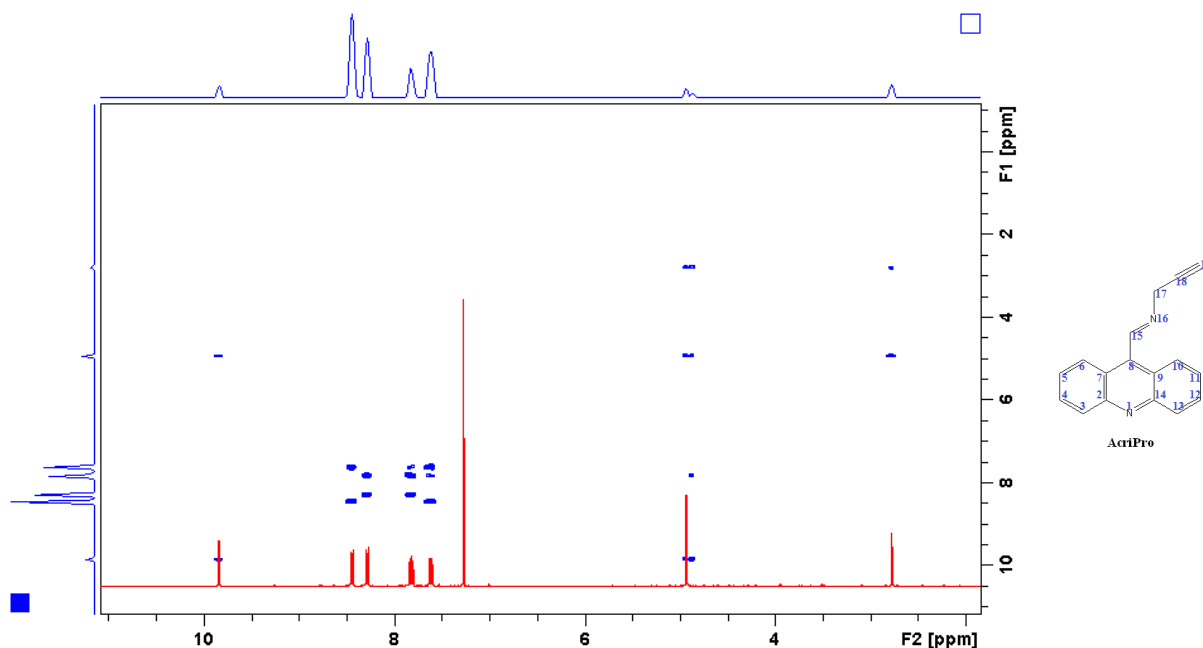
Fonte: Autora, 2015

Observou-se pela tabela 17 o pico do íon de molecular de 244 caracteriza a massa molecular do composto experimental e o pico base de intensidade 100% corresponde ao fragmento do íon de base.

4.1.2.6 COSY

De acordo com a figura 38 esse espectro comprova o acoplamento do hidrogênio que se encontra ligado ao carbono da imina com o hidrogênio do CH₂ ligado a imina, formando um triplete, o hidrogênio da tripla (C≡C-H) também se acopla ao hidrogênio do CH₂ ligado a imina também formando um triplete, e por sua vez, o hidrogênio do CH₂ se acopla ao hidrogênio da tripla (C≡C-H) e também ao hidrogênio que se encontra ligado ao carbono da imina (H-C=N), com multiplicidade triplete.

Figura 39 - Espectro de COSY do AcriPro em CDCl_3



Fonte: Autora, 2015

4.1.3 ACDMA

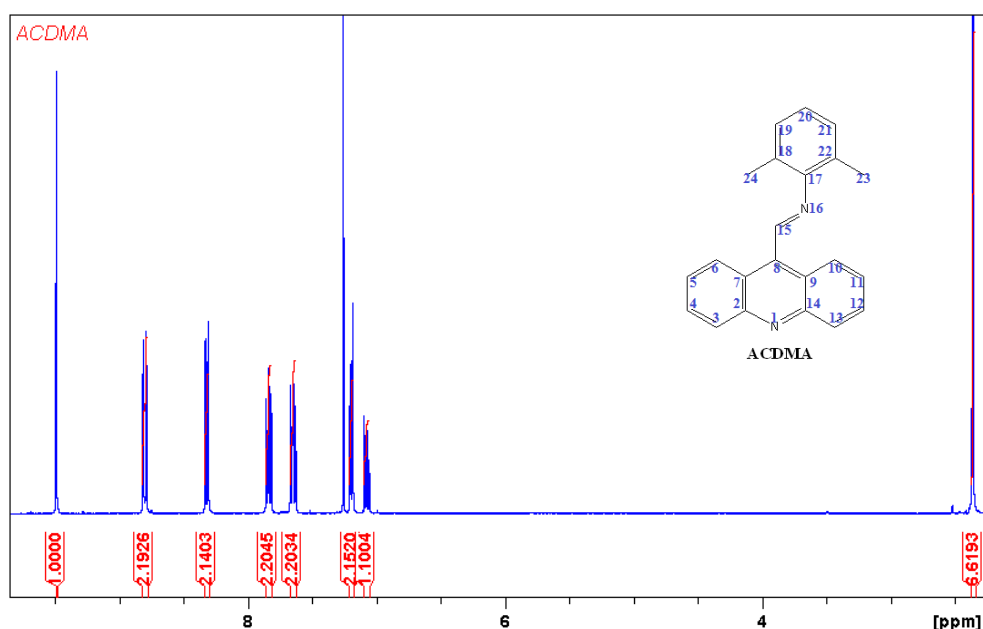
A estrutura da ACDMA mostrada na figura 28 apresenta uma isomeria geométrica possivelmente com configuração *E* predominantemente dada à presença de dois grupos volumosos ligados ao carbono insaturado, o que caracterizaria uma maior estabilidade ao composto devido ao menor impedimento estérico.

4.1.3.1 RMN de ^1H

Para o derivado ACDMA observou-se o espectro de RMN de ^1H que está representado na figura 40. Os seguintes sinais são observados referentes aos hidrogênios do anel acridínico, como duplete com $J = 8,82$ Hz, atribuído aos H3 e H13, com deslocamento químico (δ) de 8,80 ppm. Na região de 8,32 ppm observou-se um duplete com $J = 8,83$ Hz, atribuídos aos H6 e H10. Na região de δ 7,84 ppm como multipletos do H4 e H12 e o δ de 7,65 ppm como multipletos atribuídos aos H5 e H11. Observou-se que nos compostos anteriores existem uma semelhança nos sinais atribuídos ao anel acridínico. Observou-se um sinal atribuído aos hidrogênios da metila com δ de 2,36 ppm como singlete ao H23 e H24. Os hidrogênios do aromático com δ de 7,19 ppm observa-se um duplete referente ao H19 e H21 com $J = 7,69$ Hz e o sinal atribuído ao hidrogênio H20 teve δ 7,08 ppm como triplete com $J = 7,58$ Hz. Observou-se um sinal atribuído ao hidrogênio do carbono ligada a imina com δ de 9,49 ppm,

como singleto referente ao H15. Todos os sinais de hidrogênio da molécula foram identificados e o número total de hidrogênios, calculado através da curva de integração, o que permite confirmar a molécula ACDMA, conforme a tabela 18. A ausência de um sinal fortemente desblindado do H aldeídico foi observado na faixa de 11 ppm e a presença de um sinal com δ de 9,49 ppm. O sinal da imina esperado aparece na faixa de 9 ppm, o que evidenciou a sua formação. A espectrometria de massa realizada observou-se a formação do pico do íon molecular, Apêndice M, o que sugeriu a massa molecular esperada para o composto experimental.

Figura 40 - Espectro de RMN de ^1H do ACDMA em CDCl_3



Fonte: Autora, 2015

Tabela 18 - Dados de RMN de ^1H da ACDMA em CDCl_3

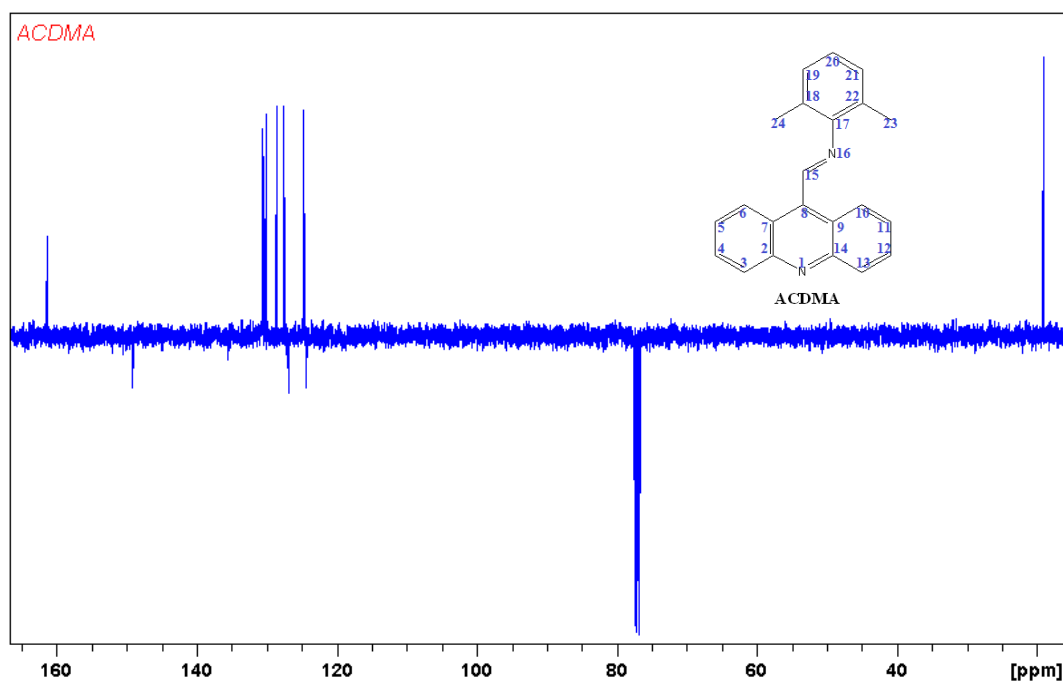
δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
2,36 (s)	6H	-	H23 e H24
7,08 (t)	1H	7,58	H20
7,19 (d)	2H	7,69	H19 e H21
7,65 (m)	2H	-	H5 e H11
7,84 (m)	2H	-	H4 e H12
8,32 (d)	2H	8,83	H6 e H10
8,80 (d)	2H	8,82	H3 e H13
9,49 (s)	1H	-	H15

Fonte: Autora, 2015

4.1.3.2 RMN de ^{13}C

Na figura 41 observa-se o espectro e a tabela 19 os dados de RMN de ^{13}C do ACDMA. Os sinais são observados do CH_3 em δ 19,01 ppm para C23 e C24; da imina 161,64 ppm para C15. A ausência de um sinal na faixa de 190 ppm do C do aldeído do reagente e a presença de um sinal em 161,64 ppm, que o sinal da imina sai na faixa de 160 ppm, evidenciou a formação do composto. Os sinais aromático são atribuídos em 126,72; 127,43; 128,50; 149,07 ppm, são respectivamente para C18 e C22; C20; C19 e C21; C17. Os sinais em 124,27; 124,59; 124,67; 130,02; 130,45; 135,42 e 144,08 ppm, foram atribuídos respectivamente aos átomos de carbono C7 e C9; C5 e C11; C6 e C10; C3 e C13; C4 e C12; C8; C2 e C14; do anel acridínico. Os sinais atribuídos ao anel acridínico são semelhantes aos compostos anteriores.

Figura 41 - Espectro de RMN de ^{13}C do ACDMA em CDCl_3



Fonte: Autora, 2015

Tabela 19 - Dados de RMN de ^{13}C da ACDMA em CDCl_3

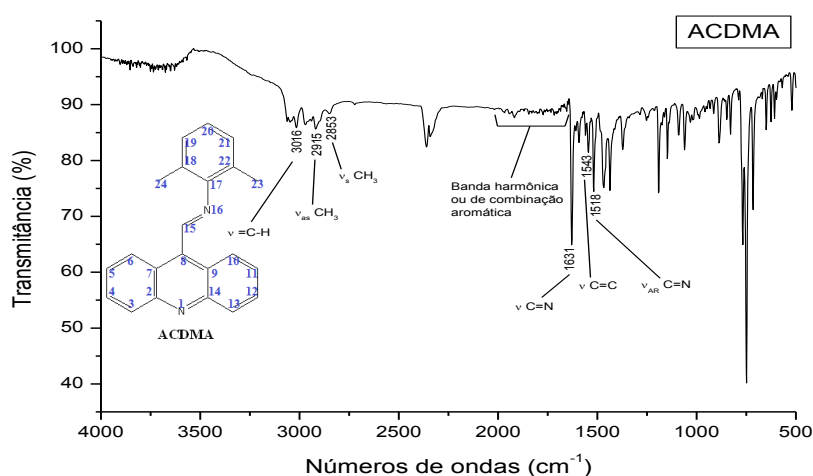
δ (ppm)	Atribuição
19,01	C23 e C24
124,27	C7 e C9
124,59	C5 e C11
124,67	C6 e C10
126,72	C18 e C22
127,43	C20
128,50	C19 e C21
130,02	C3 e C13
130,45	C4 e C12
135,42	C8 e C17
144,08	C2 e C14
149,07	C17
161,29	C15

Fonte: Autora, 2015

4.1.3.3 IV

A figura 42 demonstra o espectro de infravermelho do ACDMA, são observadas as bandas de estiramento do anel acridínico nas regiões de 3016 cm^{-1} para a ligação $=\text{C-H}$, bandas harmônicas ou de combinação das deformações angulares fora do plano a faixa de absorção de $2000\text{-}1643\text{ cm}^{-1}$, na região de 1543 cm^{-1} observasse um estiramento de variação ($\nu\text{ C}=\text{C}$) e 1518 cm^{-1} de intensidade variável para a ligação $\text{C}=\text{N}$ do aromático, são semelhantes as bandas nas regiões do anel acridínicos aos compostos anteriores. A banda de absorção do CH_3 assimétrico encontra-se na região de 2915 cm^{-1} e CH_3 simétrico na região de 2853 cm^{-1} . A vibração de estiramento da imina observasse na região 1631 cm^{-1} . Além disso, a ausência da banda da carbonila evidencia a formação da imina.

Figura 42 - Espectro de Infravermelho do ACDMA



Fonte: Autora, 2015

4.1.3.4 Análise elementar

Na tabela 20 encontra-se os resultados teórico da análise elementar para a ACDMA. Desta forma confirmando o composto.

Tabela 20 - Análise calculada para ACDMA

	% Carbono	% Hidrogênio	% Nitrogênio
Teórico	85,13	5,85	9,03
Experimental	84,98	5,92	8,47

Fonte: Autora, 2015

Como observado os valores experimentais obtidos na análise elementar foram bem próximos aos valores calculados teoricamente.

4.1.3.5 Massas

Os principais fragmentos do composto ACDMA encontra-se na tabela 21.

Tabela 21 - Principais fragmentações e intensidades apresentadas por ACDMA

Fragmentação					
m/Z	310	293	205	179	77
Intensidade %	100 (base)	20	10	15	30

Fonte: Autora, 2015

Observou-se pela tabela 21 o pico do íon de molecular de 310 caracteriza a massa molecular do composto experimental e o pico base de intensidade 100% corresponde ao fragmento do íon de base.

4.1.4 ACBr₂MAN

A estrutura da ACBr₂MAN mostrada na figura 28 apresenta uma isomeria geométrica devido a presença da insaturação, possivelmente com configuração *E* predominantemente devido à presença dos dois grupos volumosos ligado ao carbono insaturado o que caracterizaria uma maior estabilidade ao composto devido ao menor impedimento estérico.

1.4.1 RMN de ^1H

Para o derivado ACBr_2MAN observa-se o espectro de RMN de ^1H que está representado na figura 43. Os seguintes sinais são observados referentes aos hidrogênios do anel acridínico, como duplete com $J = 8,84$ Hz, atribuído aos H3 e H13, com deslocamento químico (δ) de 8,96 ppm, na região de 8,31 ppm observou-se um multipletto atribuído aos H6 e H10, na região de δ 7,84 ppm com mo multipletos do H4 e H12 e o δ de 7,67 ppm como multipletos atribuídos aos H5 e H11. Nos compostos anteriores existem uma semelhança nos sinais atribuídos ao anel acridínicos do ACBr_2MAN . Em uma região de campo mais alto, observou-se um sinal atribuído aos hidrogênios da metila com δ de 2,39 ppm como duplete ao H25 com $J = 0,76$. Os hidrogênios do aromático com δ de 7,52 ppm observa-se um duplete referente ao H19 e H21 com $J = 0,77$ Hz. Todos os sinais de hidrogênio da molécula foram identificados e o número total de hidrogênios, calculado através da curva de integração, o que permite confirmar a molécula ACBr_2MAN , conforme a tabela 22. A ausência de um sinal fortemente desblindado do H aldeídico foi observado na faixa de 11 ppm e a presença de um sinal com δ de 9,55 ppm. O sinal da imina esperado aparece na faixa de 9 ppm, o que evidenciou a sua formação. A espectrometria de massa realizada observou-se a formação do pico do íon molecular, Apêndice Q, o que sugeriu a massa molecular esperada para o composto experimental.

Figura 43 - Espectro de RMN de ^1H do ACBr_2MAN em CDCl_3

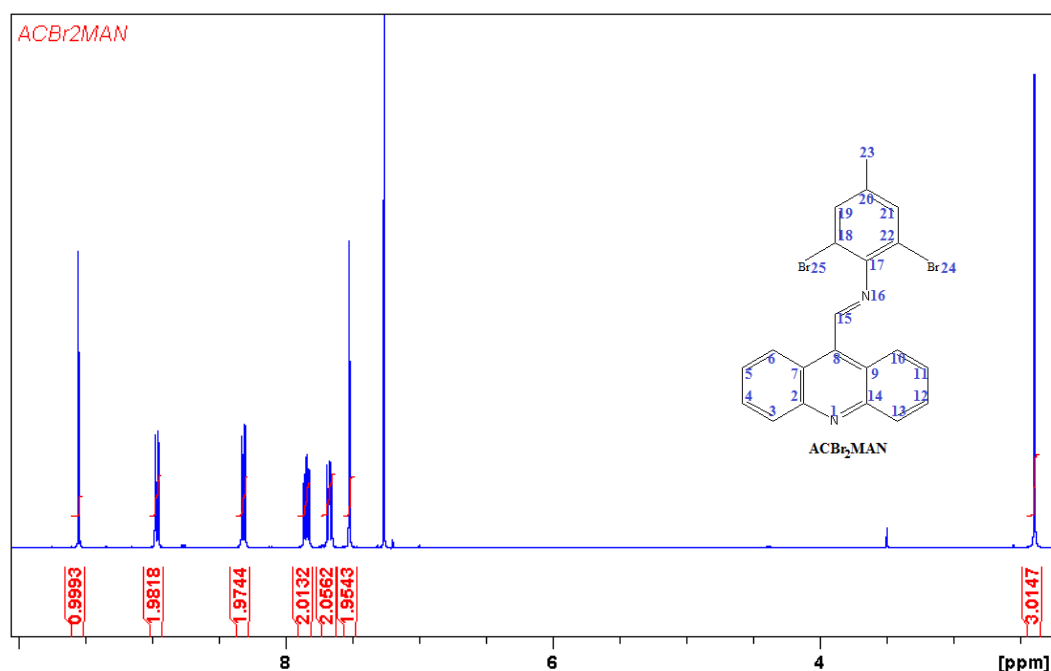


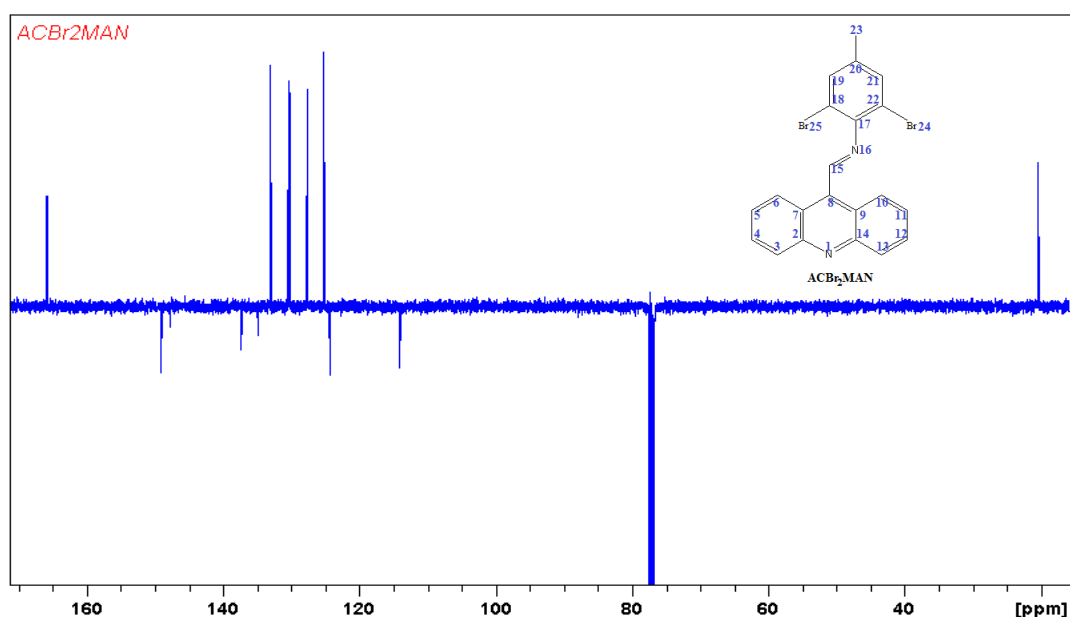
Tabela 22 - Dados de RMN ^1H do ACBr_2MAN em CDCl_3

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
2,39 (d)	3H	0,76	H23
7,52 (d)	2H	0,77	H19 e H21
7,67 (m)	2H	-	H5 e H11
7,84 (m)	2H	-	H4 e H12
8,31 (m)	2H	-	H6 e H10
8,96 (d)	2H	8,84	H3 e H13
9,55 (s)	1H	-	H15

Fonte: Autora, 2015

4.1.4.2 RMN de ^{13}C

Na figura 44 observa-se o espectro e a tabela 23 os dados de RMN de ^{13}C que é bem semelhante aos compostos anteriores. Os sinais são observados do CH_3 em δ 20,39 ppm para C25 e da imina 165,77 ppm para C15. Os sinais do aromático, $\text{C}=\text{C}$, são atribuídos em 113,96; 132,95; 137,15 e 148,96 ppm, são respectivamente para C18 e C22; C19 e C21; C20; C17. Os sinais em 124,30; 125,11; 127,54; 130,05; 130,34; 134,73 e 147,66 ppm, foram atribuídos respectivamente aos átomos de carbono C7 e C9; C5 e C11; C6 e C10; C3 e C13; C4 e C12; C8; C2 e C14; do anel acridínico. A ausência de um sinal na faixa de 190 ppm do C do aldeído do reagente e a presença de um sinal em 165.77 ppm, que o sinal da imina sai na faixa de 160 ppm, evidenciou a formação do composto.

Figura 44 - Espectro de RMN de ^{13}C do ACBr_2MAN em CDCl_3 

Fonte: Autora, 2015

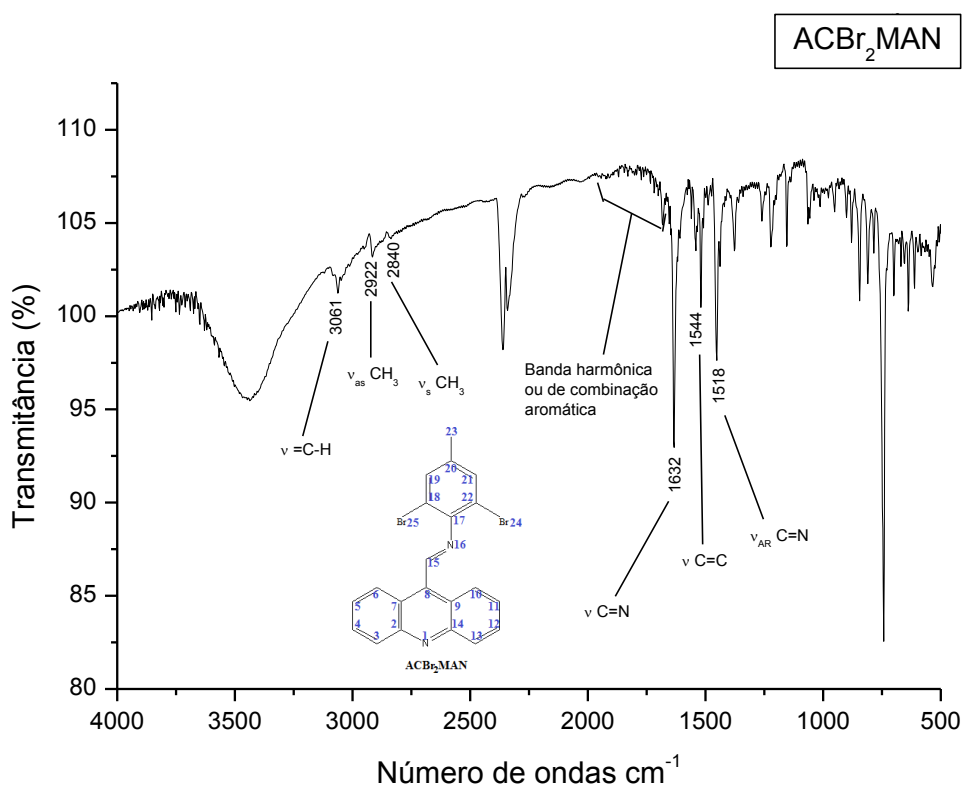
Tabela 23 - Dados de RMN ^{13}C do ACBr_2MAN em CDCl_3

δ (ppm)	Atribuição
20,39	C23
113,96	C18 e C22
124,30	C7 e C9
125,11	C5 e C11
127,54	C6 e C10
130,05	C3 e C13
130,34	C4 e C12
132,95	C19 e C21
134,73	C8
137,15	C20
147,66	C2 e C14
148,96	C17
165,77	C15

Fonte: Autora, 2015

4.1.4.3 IV

A figura 45 demonstra o espectro de infravermelho do ACBr_2MAN que tem muita semelhança com os já descritos para os compostos anteriores, são observadas as bandas de estiramento do anel acridínico nas regiões de 3061 cm^{-1} para a ligação $=\text{C-H}$, bandas harmônicas ou de combinação das deformações angulares fora do plano a faixa de absorção de $1958\text{-}1656\text{ cm}^{-1}$, na região de 1544 cm^{-1} observasse um estiramento de variação ($\nu\text{ C}=\text{C}$) e 1518 cm^{-1} de intensidade variável para a ligação $\text{C}=\text{N}$ do aromático. A banda de absorção do CH_3 assimétrico encontra-se na região de 2922 cm^{-1} e CH_3 simétrico na região de 2840 cm^{-1} . A vibração de estiramento da imina observasse na região 1632 cm^{-1} . Além disso, a ausência da banda da carbonila evidencia a formação da imina.

Figura 45 - Espectro de Infravermelho do ACBr₂MAN

Fonte: Autora, 2015

4.1.4.4 Massas

Os fragmentos do composto ACBr₂MAN encontra-se na tabela 24.

Tabela 24 - Principais fragmentações e intensidades apresentadas por ACBr₂MAN

Fragmentação					
m/Z	454	293	205	178	89
Intensidade %	100 (base)	20	40	60	70

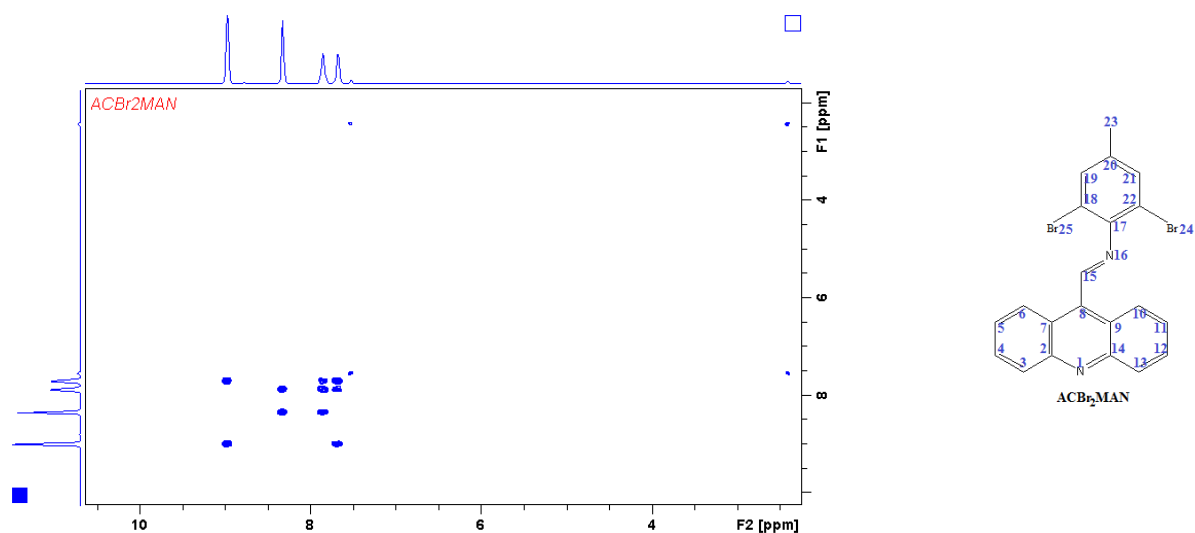
Fonte: Autora, 2015

Como pode ser observado pela tabela 24 o pico do íon de molecular de 454 caracteriza a massa molecular do composto experimental e o pico base de intensidade 100% corresponde ao fragmento do íon de base.

4.1.4.5 COSY

Conforme a figura 46 esse espectro comprova o acoplamento do hidrogênio que se encontra no aromático =C-H com o CH₃ ligado ao anel formando-se um dubleto.

Figura 46 - COSY do ACBr₂MAN em CDCl₃

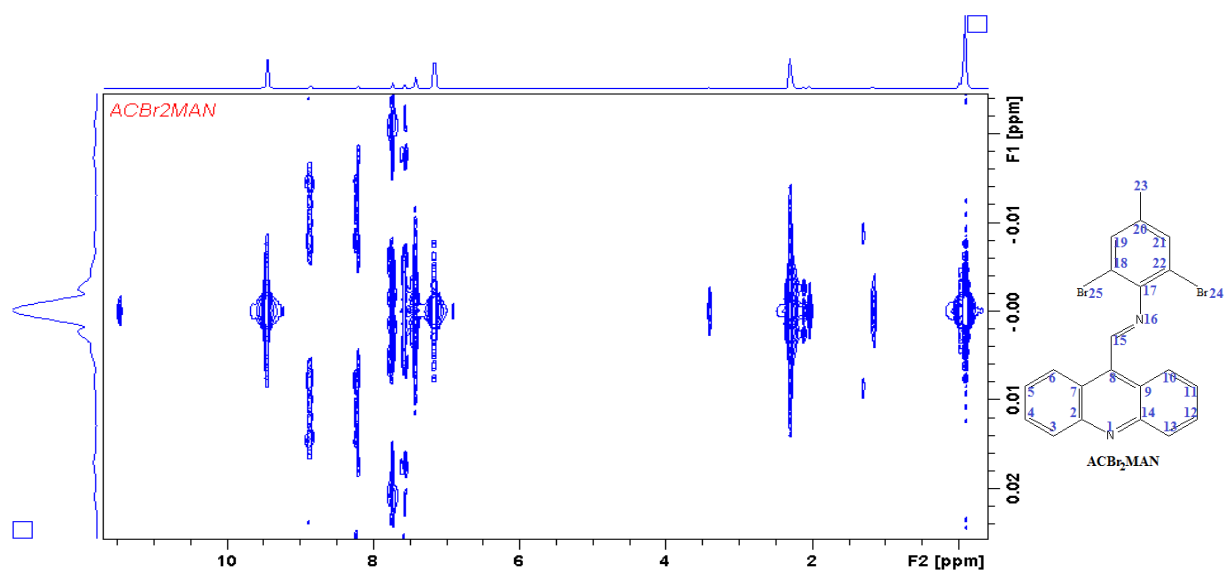


Fonte: Autora, 2015

4.1.4.6 *J* resolvido

Foi observado na figura 47 a multiplicidade para do composto ACBr₂MAN.

Figura 47 - *J* resolvido do ACBr₂MAN em CDCl₃



Fonte: Autora, 2015

4.1.5 (Most)₂N4.1.5.1 RMN de ¹H

A Figura 48 demonstra o espectro de RMN de ¹H do (Most)₂N. Pode-se observar os seguintes sinais referente ao hidrogênio do anel, como dubleto, atribuído aos H6 e H8, com deslocamento químico (δ) de 7,61 ppm e na região de 6,67 ppm observou-se um dubleto atribuídos aos H5 e H9. Em uma região de campo mais alto, observou-se um sinal atribuído aos hidrogênios da bis(cloroetil) amina, com deslocamento químico de 3,65 e 3,78 ppm ambos como tripletos, com $J = 6,71$ Hz atribuídos aos H1 e H11 e $J = 7,94$ Hz atribuídos aos H2 e H10, respectivamente. Observa-se um sinal do grupamento CH₂, com δ de 3,90 ppm, referente ao H14 como singleto. Todos os sinais de hidrogênio da molécula foram identificados e o número total de hidrogênios, calculado através da curva de integração, o que permite confirmar a molécula (Most)₂N, conforme a tabela 25. A ausência de um sinal fortemente desblindado do H aldeídico foi observado na faixa de 10 ppm e a presença de um sinal com δ de 8,17 ppm. O sinal da imina esperado aparece na faixa de 8 ppm, o que evidenciou a sua formação. A espectrometria de massa realizada observou-se a formação do pico do íon molecular, Apêndice M, o que sugeriu a massa molecular esperada para o composto experimental.

Figura 48 - Espectro de RMN de ¹H do (Most)₂N em CDCl₃

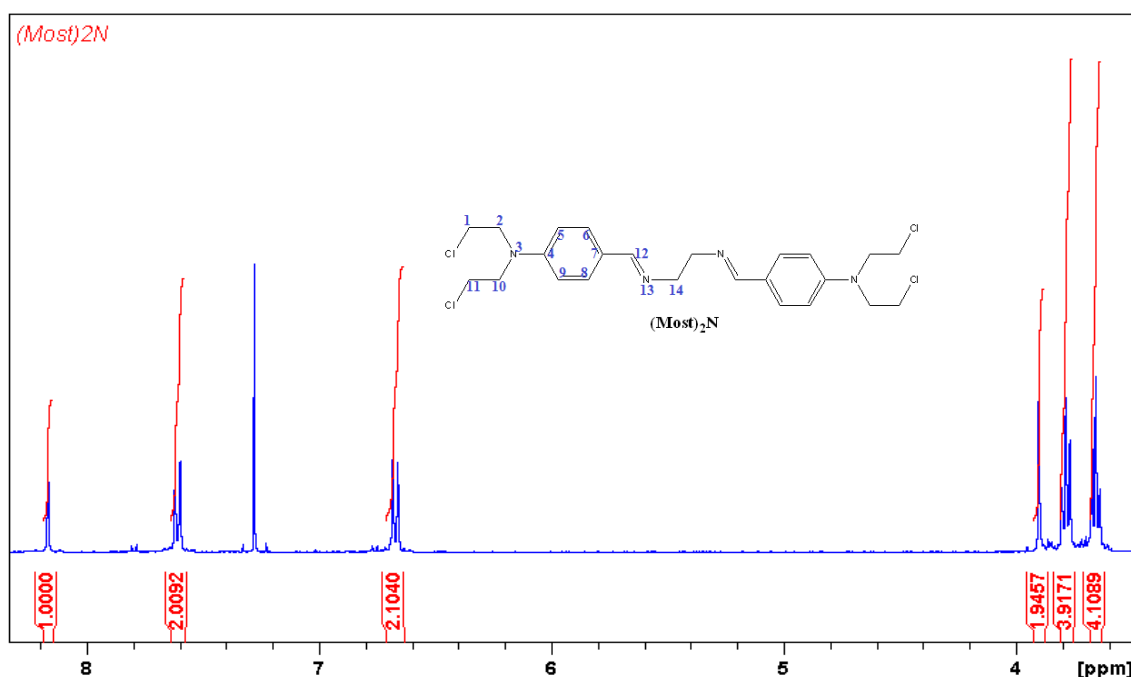


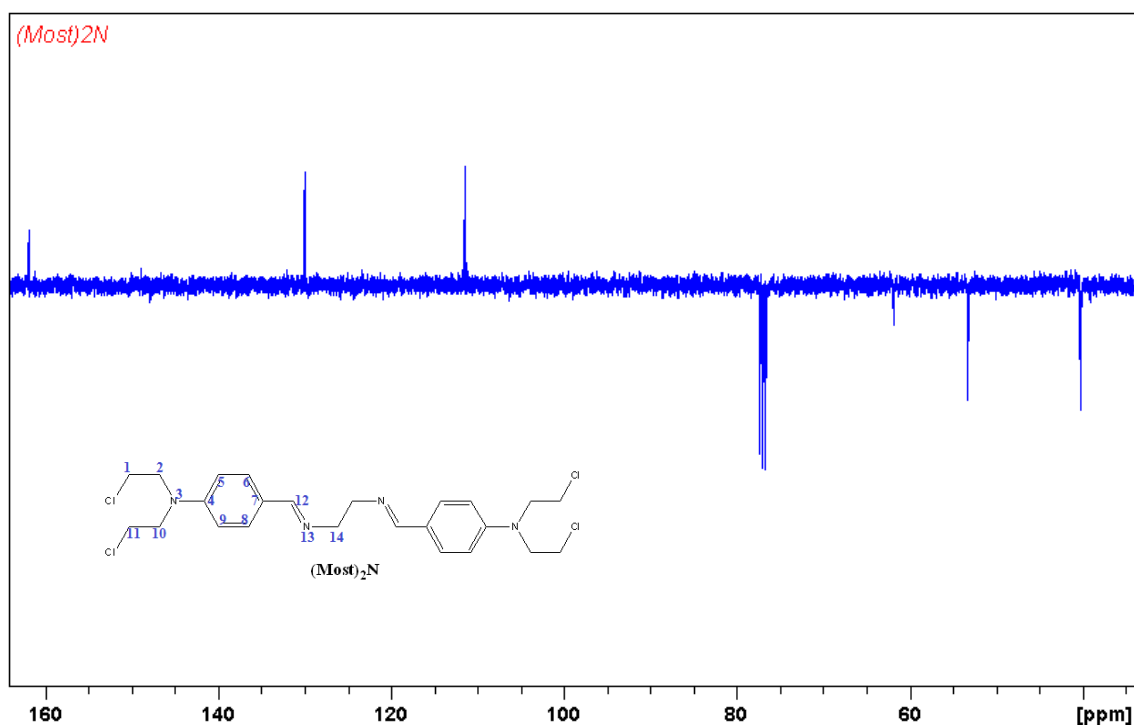
Tabela 25 - Dados de RMN de ^1H da $(\text{Most})_2\text{N}$ em CDCl_3

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
3,65 (t)	4H	6,71	H1 e H11
3,78 (t)	4H	7,94	H2 e H10
3,90 (s)	2H	-	H14
6,67 (d)	2H	9,11	H5 e H9
7,61 (d)	2H	8,88	H6 e H8
8,17 (s)	1H	-	H12

Fonte: Autora, 2015

4.1.5.2 RMN de ^{13}C

Na figura 49 observa-se o espectro e a tabela 26 os dados de RMN de ^{13}C do $(\text{Most})_2\text{N}$. Os sinais são observados do CH_2 em δ 61,86 ppm para C14 e da imina 161,92 ppm para C12. Os sinais da bis(cloroetil)amina, são atribuídos em 40,26 e 53,34 ppm, são respectivamente para C2 e C10; C1 e C11. Os sinais em 111,43 e 129,99 ppm, foram atribuídos respectivamente aos átomos de carbono C5 e C9; C6 e C8 do anel aromático e os sinais 146,39 e 147,89 ppm foram atribuídos para os C4 e C7, respectivamente. A ausência de um sinal na faixa de 190 ppm do C do aldeído do reagente e a presença de um sinal em 161,92 ppm, que o sinal da imina sai na faixa de 160 ppm, evidenciou a formação do composto.

Figura 49 - Espectro de RMN de ^{13}C do $(\text{Most})_2\text{N}$ em CDCl_3 

Fonte: Autora, 2015

Tabela 26 - Dados de RMN de ^{13}C do $(\text{Most})_2\text{N}$ em CDCl_3

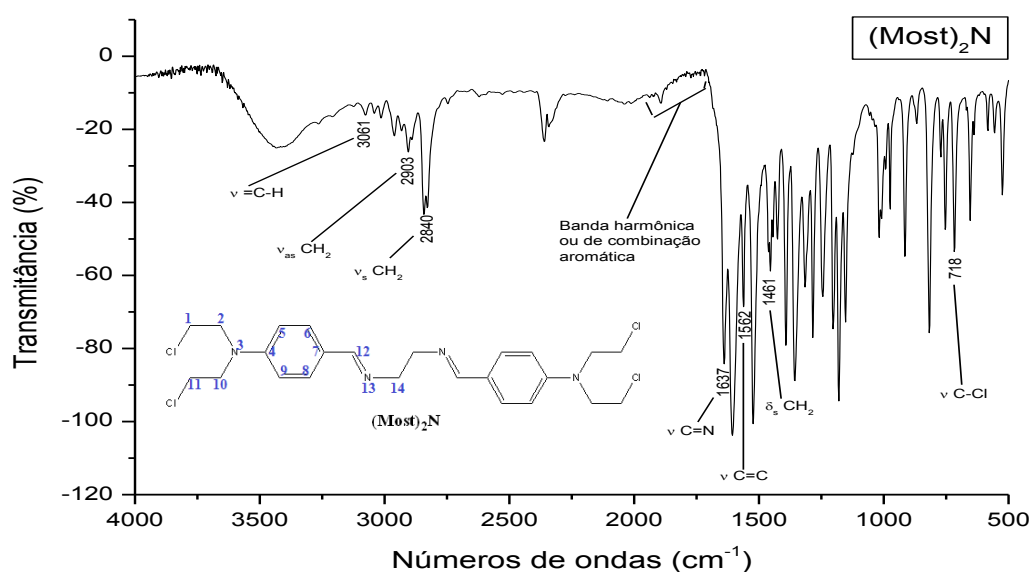
δ (ppm)	Atribuição
40,26	C2 e C10
53,34	C1 e C11
61,86	C14
111,43	C5 e C9
129,99	C6 e C8
146,39	C4
147,89	C7
161,92	C12

Fonte: Autora, 2015

4.1.5.3 IV

A figura 50 demonstra o espectro de infravermelho do $(\text{Most})_2\text{N}$, são observadas as bandas de estiramento do anel nas regiões de 3061 cm^{-1} para a ligação $=\text{C-H}$, bandas harmônicas ou de combinação das deformações angulares fora do plano a faixa de absorção de $1871\text{-}1676\text{ cm}^{-1}$, na região de 1562 cm^{-1} observasse um estiramento de variação ($\nu\text{ C=C}$). A banda de absorção do CH_2 assimétrico encontra-se na região de 2903 cm^{-1} , CH_2 simétrico na região de 2840 cm^{-1} e deformação angular simétrica do CH_2 na faixa de absorção de 1461 cm^{-1} . A vibração de estiramento da imina observasse na região 1637 cm^{-1} . Além disso a ausência da banda da carbonila evidencia a formação da imina. Na região de 718 cm^{-1} de intensidade variável para a ligação C-Cl .

Figura 50 - Espectro de Infravermelho do $(\text{Most})_2\text{N}$



Fonte: Autora, 2015

4.1.5.4 Análise elementar

Na tabela 27 encontra-se os resultados teórico da análise elementar para a $(\text{Most})_2\text{N}$. Desta forma confirmando o composto.

Tabela 27 - Análise calculada para $(\text{Most})_2\text{N}$

	% Carbono	% Hidrogênio	% Nitrogênio
Teórico	55,83	5,86	10,85
Experimental	56,21	6,42	10,52

Fonte: Autora, 2015

Observou-se que os valores experimentais obtidos na análise elementar foram bem próximos aos valores calculados teoricamente.

4.1.6 ACDMAPd

A reação de paladaciclo de seis membros da ACDMAPd forma um dímero. Este dímero pode ser transóide ou cisóide ou uma mistura deles (figura 51). O complexo sintetizado apresentou a mistura das formas e tem uma proporção de 6:1 através da integração entre os sinais majoritários e minoritários. Os sinais de hidrogênios foram atribuídos conforme a tabela 28.

Figura 51 - Fórmulas estruturais dos estereoisômeros da possível forma dimérica do paladaciclo de seis membros do derivado ACDMA

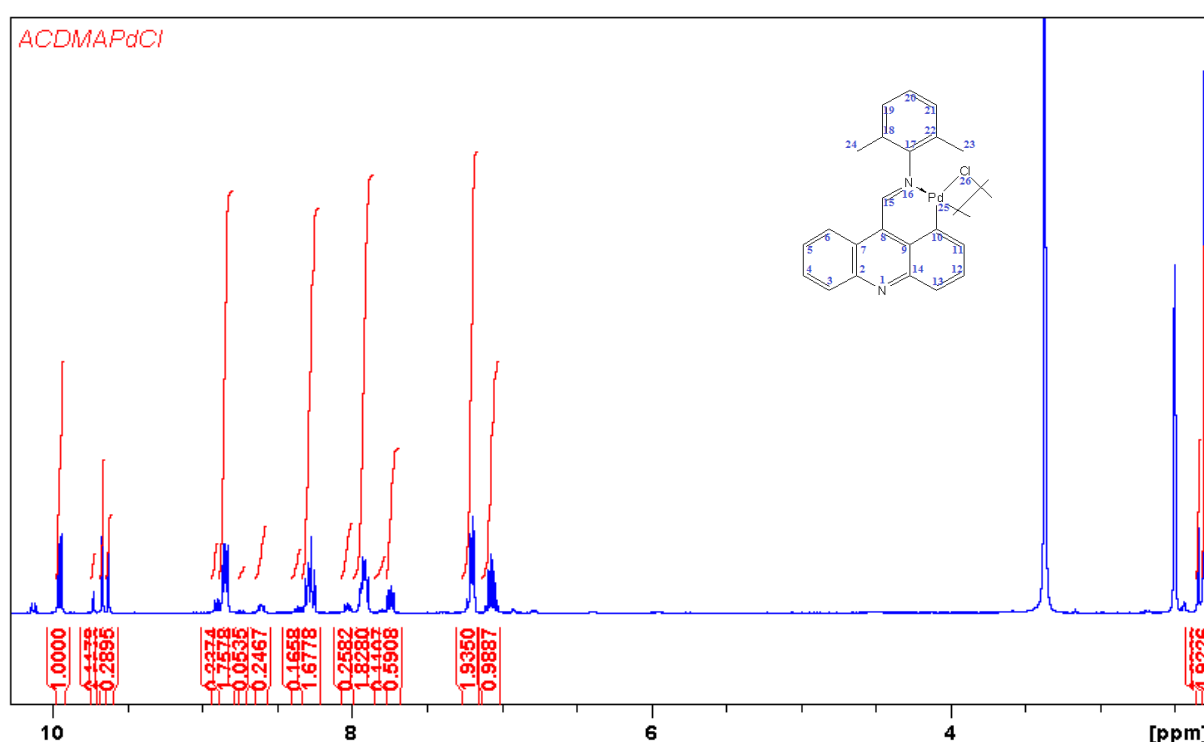
Fonte: Autora, 2015

4.1.6.1 RMN de ^1H

Estudando o complexo ACDMAPd, observou-se o espectro de RMN de ^1H (figura 52) do paladaciclo dimérico. O espectro apresentou-se de difícil leitura devido à fluxionalidade do

complexo sintetizado apresentando ainda à interconversão entre os isômeros cisóide e transóide em solução, resultando em um espectro com vários sinais superpostos e/ou alargados. Alguns desses sinais ocorreram para os hidrogênios do aromático, com δ de 7,07 ppm observou-se um multiplete referente ao H20 e o sinal atribuído aos hidrogênios H19 e H21 teve δ 7,20 ppm como multiplete. Observou-se um sinal atribuído ao hidrogênio do carbono ligada a imina com δ de 9,67 ppm, como singlete referente ao H15. A ausência de um átomo de hidrogênio atribuído ao H10 do derivado ACDMA no anel aromático sugeriu a formação do complexo.

Figura 52 - Espectro de RMN de ^1H do ACDMAPd em DMSO



Fonte: Autora, 2015

Tabela 28 - Dados de RMN de ^1H do ACDMAPd em DMSO

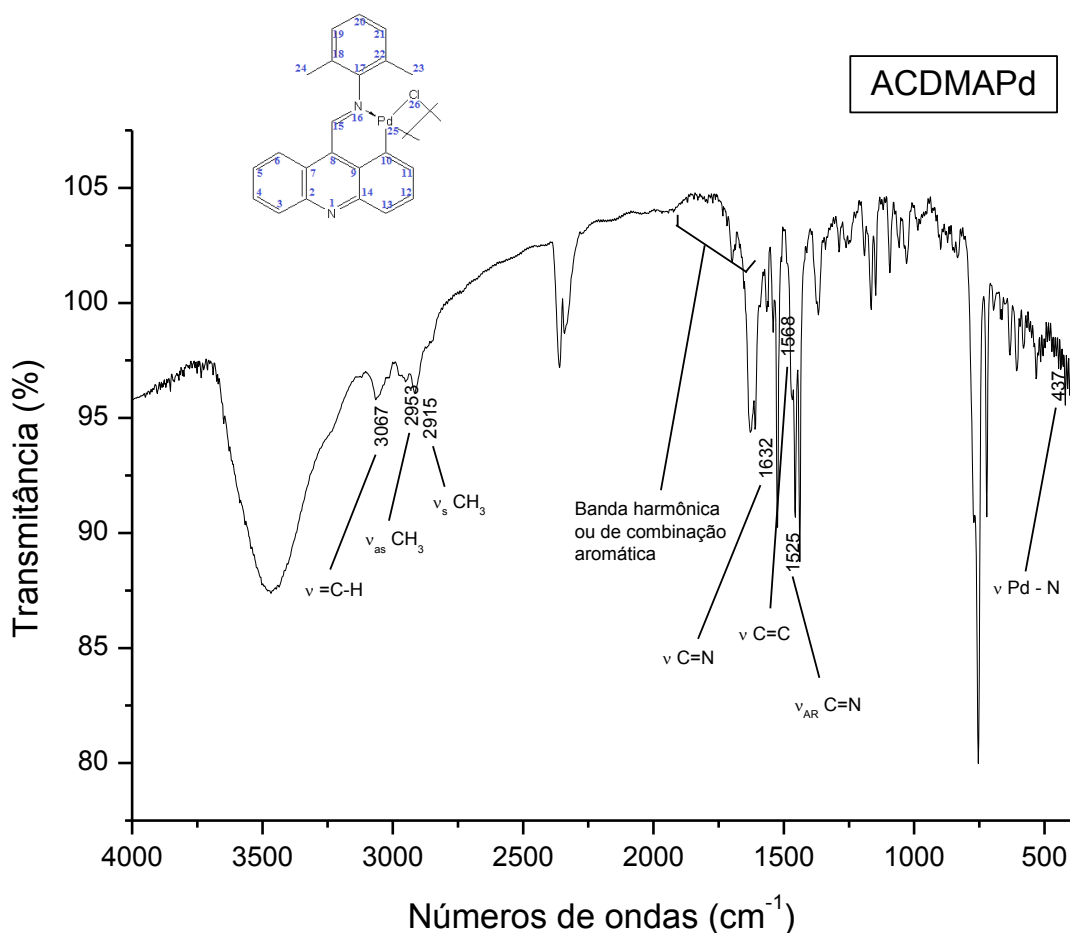
Δ Majoritário	δ Minoritário	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
2,30	2,34	d	6H	3,78	H23 e H24
7,07		m	1H	-	H20
7,20		m	2H	-	H19 e H21
7,74	7,80	m	1H	-	H6
7,91	8,03	m	2H	-	H5 e H11
8,28	8,37	m	2H	-	H4 e H12
8,85	8,91	m	2H	-	H3 e H13
9,67	9,63 e 9,73	s	1H	-	H15

Fonte: Autora, 2015

4.1.6.2 IV

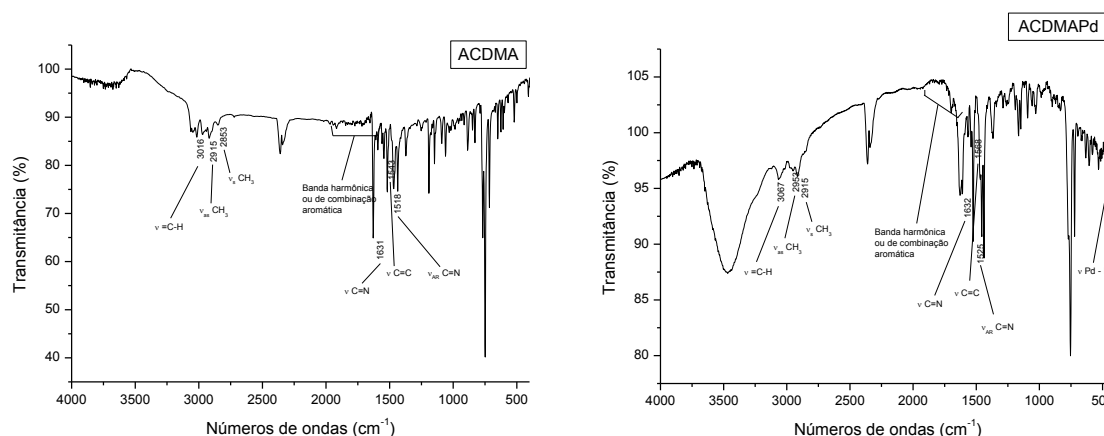
A figura 53 demonstra o espectro de infravermelho do ACDMAPd, são observadas as bandas de estiramento do anel acridínico nas regiões de 3067 cm^{-1} para a ligação $=\text{C-H}$, bandas harmônicas ou de combinação das deformações angulares fora do plano a faixa de absorção de $2000\text{-}1682\text{ cm}^{-1}$, na região de 1568 cm^{-1} observasse um estiramento de variação ($\nu\text{ C=C}$) e 1525 cm^{-1} de intensidade variável para a ligação C=N do aromático. A banda de absorção do CH_3 assimétrico encontra-se na região de 2953 cm^{-1} e CH_3 simétrico na região de 2915 cm^{-1} . A vibração de estiramento da imina observasse na região 1632 cm^{-1} . São observadas bandas de estiramento variável ($\nu\text{ Pd-N}$) na região de 437 cm^{-1} , semelhantes aos descritos na literatura por El-Asmy (2014) e colaboradores, sendo que no estudo destes as bandas foram observadas na região de 438 cm^{-1} .

Figura 53 - Espectro de Infravermelho do ACDMAPd



Comparando o espectro de infravermelho dos compostos ACDMA (ligante) e ACDMAPd (complexo), são observadas bandas de estiramento variável (ν Pd-N) de 437 cm^{-1} no complexo e a ausência desta banda no ligante. As bandas de estiramento do anel acridínico na região de 3016 cm^{-1} para a ligação =C-H para o ligante e para o complexo de 3067 cm^{-1} conforme a figura 54.

Figura 54 - Espectro de Infravermelho do ACDMA e ACDMAPd



Fonte: Autora, 2015

4.2 Avaliação da atividade antitumoral

A determinação da atividade antitumoral foi realizado pelo método colorimétrico utilizando o MTT. Foram utilizados para este ensaio as linhagens de células tumorais HT-29 (câncer de cólon humano), MCF-7 (câncer de mama humano), HEP-2 (carcinoma de laringe humana), NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano), HL-60 (leucemia promielocítica aguda). Os compostos testados foram o (Acri)₂N, AcriPro, ACDMA, ACBr₂MAN e (Most)₂N e o complexo ACDMAPd, todos na concentração única de $25\text{ }\mu\text{g/mL}$. Os resultados obtidos do percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras encontram-se na Tabela 29.

Tomando as células NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano) e HL-60 (leucemia promielocítica aguda) foi observado que os melhores resultados foram alcançados pelos compostos AcriPro e (Most)₂N, que apresentaram maior percentagem de inibição de crescimento frente aos demais compostos testados. Para as células HEP-2 (carcinoma de laringe humana) os compostos que apresentaram melhores resultados foram AcriPro, ACDMA e (Most)₂N, inclusive índice melhor que o fármaco utilizado na clínica. Os

derivados AcriPro e (Most)₂N também apresentaram percentagem de inibição de crescimento frente as células HT-29 (câncer de cólon humano). Para as células MCF-7 (câncer de mama humano) observou-se também que os compostos AcriPro, ACDMA e (Most)₂N e o complexo ACDMAPd tiveram uma percentagem de inibição de crescimento.

Comparando o derivado ACDMA e o complexo ACDMAPd observou-se que a introdução do metal paládio levou a diminuição da inibição de crescimento das células tumorais (tabela 29).

Analisando os demais derivados sintetizados observou-se que a modificação na sua estrutura levou a maior inibição das células tumorais e que mesmo as moléculas parecidas tiveram diferença nas inibições de crescimento ACDMA e ACBr₂MAN. Importante enfatizar que o derivado AcriPro, que teve ao longo do experimento as maiores inibições de crescimento, sugere que teve sua performance elevada devido a um grupamento C≡C de carbono terminal.

Tabela 29 - Percentagens das médias de inibição de crescimento (%IC) dos derivados (Acri)₂N, AcriPro, ACDMA, ACBr₂MAN e (Most)₂N e o complexo ACDMAPd em concentração única de 25 µg/mL sobre as linhagens de células HT-29, MCF-7, HEP-2, NCI-H292 e HL-60 através do ensaio MTT.

Amostras	Linhares celulares (IC%)				
	NCI-H292	HEP-2	HL-60	HT-29	MCF-7
Doxorrubicina	94,1±1,99	79,4±2,6	92,9±0,6	64,1±1,1	74,7±2,1
(Acri) ₂ N	49,9 ±2,4	23,3±0,0	68,8±0,0	31,2±3,3	66,0±4,3
AcriPro	88,8 ±0,5	100,0±0,0	94,9±0,6	100,0±0,0	100,0±0,0
ACDMA	41,9 ±2,2	93,9±1,6	97,6±0,1	35,7±0,9	73,3±4,3
ACBr ₂ MAN	42,8 ±0,0	51,2±1,5	23,5±3,7	16,0±0,0	20,6±0,6
ACDMAPd	41,1 ±3,8	16,3±0,0	98,5±0,1	46,7±1,1	71,6±1,1
(Most) ₂ N	80,0 ±2,2	96,2±0,7	100,0±0,0	88,9±1,1	74,4±0,6

Doxorrubicina foi usado como controle positivo. Os experimentos foram realizados em quadruplicatas e a percentagem de inibição de crescimento são expressos com média ± erro padrão médio.

Fonte: Autora, 2015

Neste estudo, apenas os compostos AcriPro, ACDMA, (Most)₂N e o complexo ACDMAPd foram selecionados para a determinação do CI₅₀ (tabela 30), pois apresentaram percentual de inibição do crescimento tumoral maior que 70% nas linhagens das células utilizadas.

Foi realizado ensaio de MTT como um estudo preliminar da atividade citotóxica. Após o tratamento com os compostos, esse ensaio colorimétrico transformará o tetrazólio amarelo

reduzido por células viáveis em uma substância de formazano púrpura. Este procedimento é ativado pela presença de desidrogenase mitocondrial em células viáveis. O objetivo deste ensaio é determinar o valor do IC_{50} , que é a concentração da droga que pode inibir ou matar 50% das células totais. Os resultados deste ensaio constata também que esta droga afeta o potencial mitocondrial destas linhagens de células de câncer (NADIAH, 2013).

Os derivados AcriPro, ACDMA, ACDMAPd e (Most)₂N apresentaram CI_{50} para a células HL-60 (leucemia promielocítica aguda) abaixo de 4 $\mu\text{g/mL}$ (figura 30).

Tabela 30 - Determinação da concentração inibitória de 50% (CI_{50}) e intervalo de 95% de confiança (IC_{50}) em $\mu\text{g/mL}$ dos derivados AcriPro, ACDMA e (Most)₂N e o complexo ACDMAPd sobre as linhagens de células HT-29, MCF-7, HEP-2, NCI-H292 e HL-60 no ensaio MTT.

Produto teste	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) (Intervalo de confiança)				
	HEP-2	MCF-7	HL-60	NCI-H292	HT-29
Doxorrubicina	0,31 (0,26 -0,36)	0,12 (0,08 -0,15)	0,06 (0,05 - 0,07)	0,08 (0,06 -0,12)	1,81 (1,4 -2,4)
AcriPro	9,1 (7,2- 11,6)	12,9 (11,0 - 15,1)	1 (0,8 - 1,2)	12,5 (10,1 - 15,6)	12,9 (10,4 - 16,0)
ACDMA	TNR	TNR	1,2 (1,0 - 1,5)	-	-
ACDMAPd	-	TNR	1,7 (1,5 - 1,9)	-	-
(Most) ₂ N	16,3 (14,1 - 18,8)	13,7 (10,9 - 17,2)	0,6 (0,5 - 0,7)	5,1 (4,3 - 6,1)	14,0 (11,9 - 16,3)

A CI_{50} e os respectivos intervalos de confiança (IC 95%) foram calculados a partir da regressão não linear no programa GraphPad Prism5.0. (Demo). Foram consideradas ativas aquelas que apresentaram $CI_{50} < 4 \mu\text{g/mL}$. TNR teste não realizado.

Fonte: Autora, 2015

A atividade citotóxica, considerada boa, dos compostos pode ser atribuída pela presença da acridina - moléculas biologicamente ativas já comprovadas. Isso se deve ao fato de que ao longo das últimas décadas um grande número de acridinas foram sintetizadas e testadas, reconhecendo sua atividade citotóxica (BARROS, 2012; GALDINO-PITTA, 2013; LI, 2014). Da mesma forma, as mostardas também apresentam uma boa atividade citotóxica, já comprovadas por estudos anteriores (KAPURIYA, 2011; LI, 2013). O que vai depender apenas será o grupo substituinte que fica ligado a acridina e a mostarda.

A figura 55 mostram os compostos ACDMA e ACDMAPd que foram testados na célula HL-60 e os resultados obtidos, 1,2 e 1,7 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, mostra que com a adição do metal paládio no composto ACDMAPd diminuiu CI_{50} .

Figura 55 - Os compostos ACDMA e ACDMAPd testadas na célula HL-60

Fonte: Autora, 2015

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que as metodologias empregadas para obtenção dos 6 novos compostos, sendo quatro derivados acridínicos, um derivado bis(cloroetila) e um de complexo de paládio(II) acridínico, foram eficientes para a formulação destes compostos, uma vez que, a formação dos mesmos foram validadas através das técnicas de RMN ^1H , ^{13}C , COSY, *J* resolvido, infravermelho e massas. Os derivados de bases de Schiff apresentaram um rendimento satisfatório. A atividade citotóxica dos compostos sintetizados AcriPro, ACDMA e (Most)₂N e o complexo ACDMAPd apresentou valores da IC₅₀ frente as linhagens HT-29 (câncer de cólon humano), MCF-7 (câncer de mama humano), HEp-2 (carcinoma de laringe humana), NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano) e HL-60 (leucemia promielocítica aguda), sempre menores a doxorrubicina, utilizada como padrão, sendo os compostos mais seletivo para HL-60 com o IC₅₀ variando de 0,6 a 1,7 µg/mL.

Numa próxima fase de estudo, esses compostos serão úteis em desenvolver novos fármacos para o tratamento de certos tipos de cânceres, servindo de base de estudo para novos pesquisadores, mostrando os pontos de acertos que certamente otimizarão esses estudos.

REFERÊNCIAS

- ALLEY, M. C. et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. **Cancer Research**, v. 48, p. 589- 601, 1988.
- ALMEIDA, V. L. et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Quim. Nova**. v. 28, n. 1, 118-129, 2005.
- BARROS, F. W. A. et al. Synthesis and cytotoxic activity of new acridine-thiazolidine derivatives. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 20, p. 3533-3539, 2012.
- BARROS, W. B. Z. G. **Síntese, caracterização estrutural e avaliação da atividade anticonvulsivante de complexos de paládio(II) derivados do diazepam**. Maceió-AL. 2012. Dissertação (Mestre em Ciências) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2015.
- CAREY, F.A. **Química Orgânica**. 7. ed. Porto Alegre: AMGH, 2011. v. 2.
- CHIRON, J.; GALY, J-P. Reactivity of the Acridine Ring: **A Review Synthesis**. n. 3, p. 313-325, 2004.
- CHOLEWIŃSKI, G. et al. Natural and synthetic acridines/acridones as antitumor agents: their biological activities and methods of synthesis. **Pharmacological Reports**. v. 63, p. 305-336, 2011.
- ČIŽEKOVÁ et al. Novel 3,6-bis(imidazolidine)acridines as effective photosensitizers for photodynamic therapy. **Bioorg. Med. Chem**. v. 22, p. 4684-4693, 2014.
- DAHM, G. et al. Synthesis, structural characterization and in vitro anti-cancer activity of functionalized N-heterocyclic carbene platinum and palladium complexes. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 794, p. 115-124, 2015.
- EL-ASMY, H. A. et al Zinc(II), ruthenium(II), rhodium(III), palladium(II), silver(I), platinum(II) and MoO_2^{2+} complexes of 2-(2'-hydroxy-5'-methylphenyl)-benzotriazole as simple or primary ligand and 2,2'-bipyridyl, 9,10-phenanthroline or triphenylphosphine as secondary ligands: Structure and anticancer activity. **Journal of Molecular Structure**, v. 1059, p. 193-201, 2014.
- EL-MORSY, F. A. et al. Synthesis, characterization and anticancer activity of new zinc(II), molybdate(II), palladium(II), silver(I), rhodium(III), ruthenium(II) and platinum(II) complexes of 5,6-diamino-4-hydroxy- 2-mercaptopyrimidine. **Inorganica Chimica Acta**, v. 423, p. 144-155, 2014.
- EMAMI, S. et al. Release of Cyt c from the model membrane due to conformational change induced by anticancer palladium complex. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, p. 243-248, 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2014**: incidência de câncer no Brasil / Rio de Janeiro, 2014.

GERAN, R. I. et al. Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems. **Cancer Chemoth Rep.**, v. 33: p. 1-17, 1972.

GOODMAN & GILMAN: as bases farmacológicas da terapêutica. 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005.

GIORGIO, C. D., et al. Evaluation of the mutagenic/clastogenic potential of 3,6-di-substituted acridines targeted for anticancer chemotherapy. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 2773-2779, 2011.

HEGAZY, G. H, ALMUTAIRI, M. S., ABDULLAH, E. S. A. Design and Synthesis of Acridine-4-Carboxamide and Acridine-4- Carboxylate Derivatives as tyrosine Kinase Inhibitors. **Life Science Journal**, v. 8, n. 3, p. 192-198, 2011

HIGGINS, J. D.; NEELY, L.; FRICKER, S. Journal Inorganic Biochemistry. v. 49, p. 149-153, 1993

Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2014 – Incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>> acesso em: 19 outubro 2015

Instituto Nacional do Câncer. O que é o câncer? 2014. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/cancer/site/oquee>>. Acesso em: 16 set. 2015.

JANOČKOVÁ, J. et al. Inhibition of DNA topoisomerases I and II and growth inhibition of HL-60 cells by novel acridine-based compounds. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 76, p. 192-202, 2015.

KAPURIYA et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel water-soluble N-mustards as potential anticancer agents. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 19, p. 471-485, 2011.

KHAN, H. et al. Synthesis, characterization and anticancer studies of mixed ligand dithiocarbamate palladium(II) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 4071-4077, 2011.

LIAO, S.-R. et al. 12-N-Methylated 5,6-dihydrobenzo[c]acridine derivatives: A new class of highly selective ligands for c-myc G-quadruplex DNA. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 52-63, 2012.

LI, B. et al. Novel synthetic acridine-based derivatives as topoisomerase I inhibitors. **Chinese Chemical Letters**, v. 25, 1021-1024, 2014.

LI, S. et al. Design and synthesis of novel quinazoline nitrogen mustard derivatives as potential therapeutic agents for cancer. **European Journal of Medicinal Chemistry**.v. 67, p. 293-301, 2013.

LOBNER, D. Comparison of the LDH and MTT assays for quantifying cell death: validity for neuronal apoptosis? **Journal of Neuroscience Methods**, v. 96, n. 2, p. 147-152, 2000.

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

NADIAH, A. et al. 3-Bromo-1-Hydroxy-9,10-Antraquinone (BHAQ) Inhibits Growth and Migration of the Human Breast Cancer Cell Lines MCF-7 and MDA-MB231. **Molecules**, v. 18, p.10367-10377, 2013.

NAVARRO-RANNINGER, C. et al. Analysis of two cycloplatinated compounds derived from N-(4-methoxyphenyl)-.alpha.-benzoylbenzylidenamine. Comparison of the activity of these compounds with other isostructural cyclopalladated compounds. **J. Med. Chem.**, v. 36, 3795-3801, 1993.

PIGATTO, M. C. et al. Pre-clinical pharmacokinetics of the acridine antitumour candidate AC04 and its 1-oxo-metabolite plasma profile. **Xenobiotica**, v. 42, n. 7, 701-707, 2011.

PITTA, M. G. R. et al., Synthesis and in vitro anticancer activity of novel thiazacridine derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 5, p. 2421-2429, 2013.

POPP, F. D. Synthesis of potential anticancer agents. II. Some Schiff Bases. *Journal of Organic Chemistry*, v. 26, p. 1566-1568, 1961.

RAMESH, K. B.; PASHA, M. A. Study on one-pot four-component synthesis of 9-aryl-hexahydroacridine-1,8-diones using SiO₂-I as a new heterogeneous catalyst and their anticancer activity. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 24, p. 3907-3913, 2014

RANG, H. P. et al. **Farmacología**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

RODRIGUES, F. A. R. et al. Mefloquine-oxazolidine derivatives: a new class of anticancer agents. **Chem. Biol. Drug Des.**, v. 83, p. 126-131, 2014.

SAHA, P. et al. Steroid-linked nitrogen mustards as potential anticancer therapeutics: A review. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v. 137, p. 271- 300, 2013.

SEDLÁČEK et al. Polymer conjugates of acridine-type anticancer drugs with pH-controlled activation. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 20, p. 4056-4063, 2012.

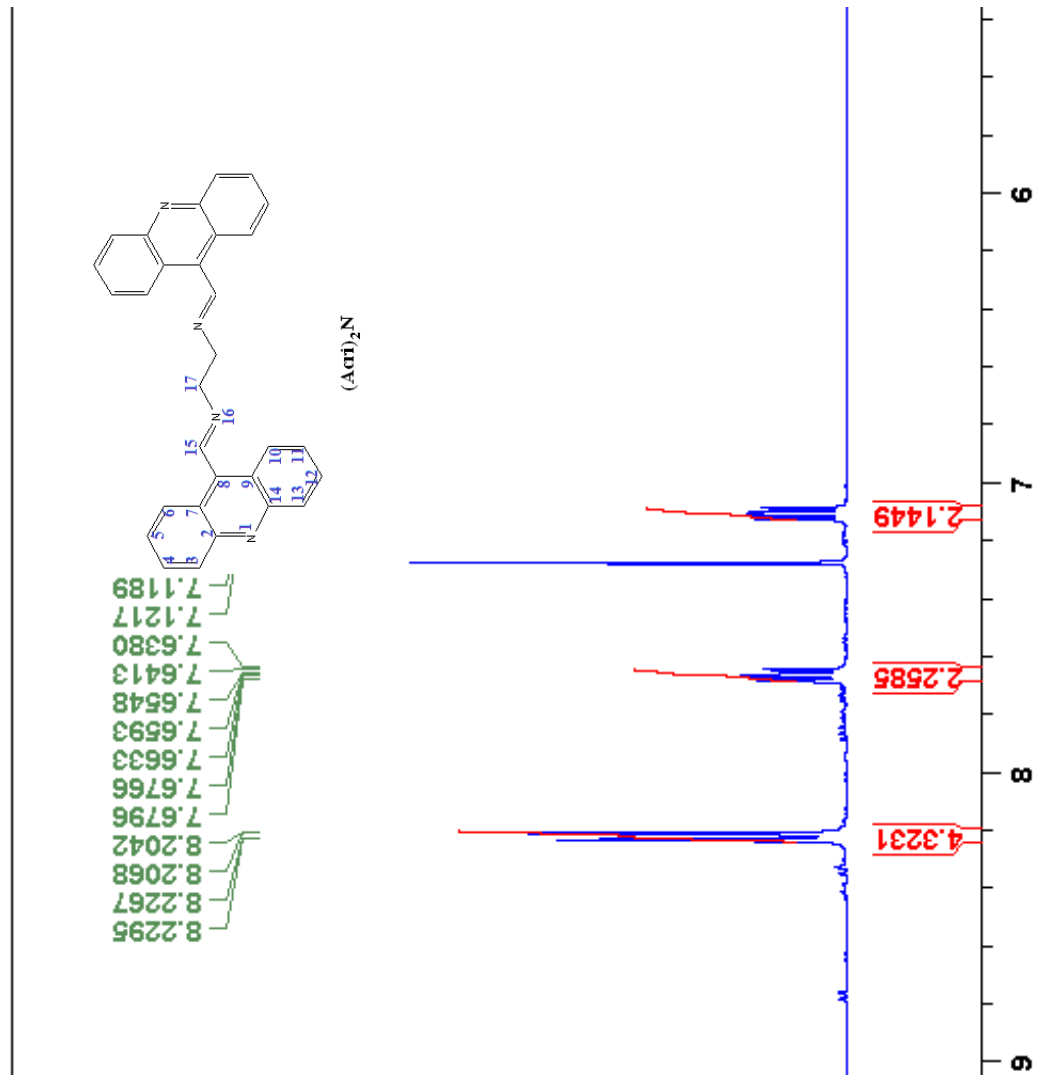
SEGAPELO, T. V. et al. Palladium(II), platinum(II) and gold(I) complexes containing chiral diphosphines of the Josiphos and Walphos families – Synthesis and evaluation as anticancer agents. **Polyhedron**, v. 36, p. 97-103, 2012.

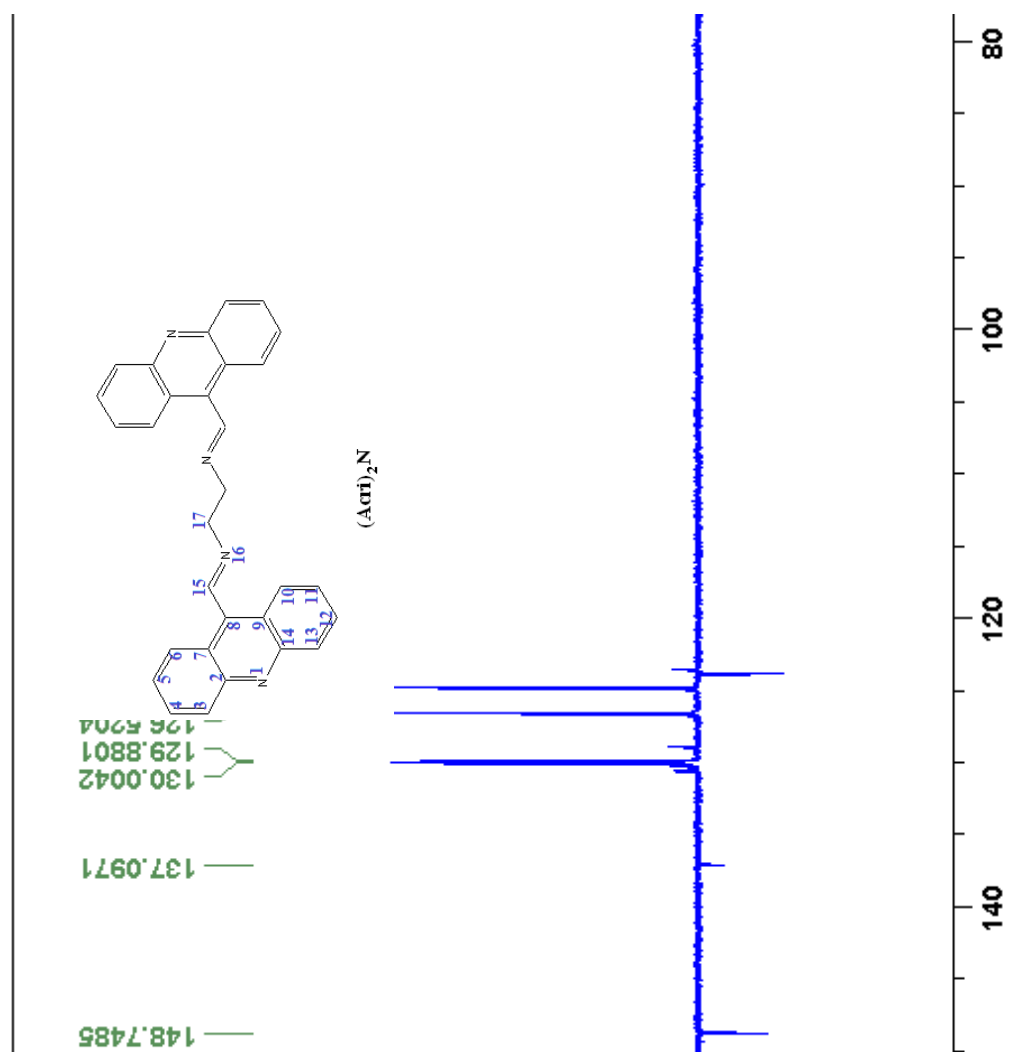
SHARMA, M. et al. DRDE-07 and its analogues as promising cytoprotectants to nitrogen mustard (HN-2): an alkylating anticancer and chemical warfare agent. **Toxicology Letters**, v. 188, p. 243-250, 2009

SKEHAN, P. et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer : drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 13, n. 82, p. 1107-1112, 1990.

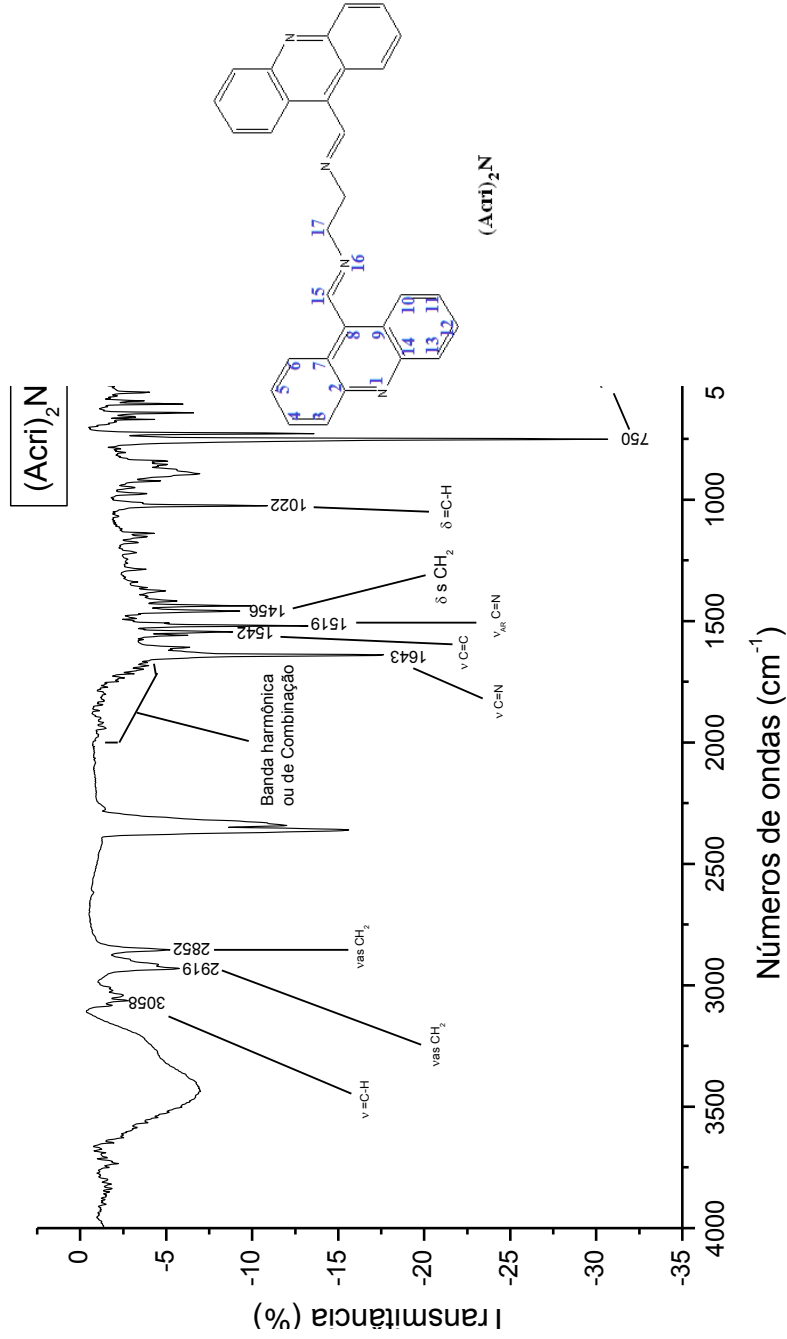
- SILVA, L. L. et al. Investigação eletroquímica e calorimétrica da interação de novos agentes antitumorais biscatiônicos com DNA. **Química Nova**, v. 35, n. 7, 2012.
- SILVA, T. G. et al. Synthesis and structural elucidation of new benzylidene imidazolidines and acridinylidene thiazolidines. **Heterocyclic Communications**, v. 7, n. 6, p. 523-528, 2001.
- SINGH, R.K. et al., Design, synthesis and in vitro cytotoxicity study of benzodiazepine-mustard conjugates as potential brain anticancer agents, **Journal of Saudi Chemical Society**, Nov. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2013.10.004>
- SONDHI, S.M. et al. Synthesis, anti-inflammatory and anticancer activity evaluation of some novel acridine derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 555-563, 2010.
- ULUKAYA, E. et al. Anti-cancer activity of a novel palladium(II) complex on human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 4957-4963, 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Facts on cancer. Genebra, 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/features/factfiles/cancer/facts/en/index9.html>> Acesso em: 28 set. 2015.
- XU, Y.-Z. et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel sesquiterpene mustards as potential anticancer agentes. **European Journal of Medicinal Chemistr**, v. 94, p. 284-297, 2015.
- ZHANG, B et al. Molecular design, synthesis and biological research of novel pyridyl acridones as potent DNA-binding and apoptosis-inducing agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 93, 214-226, 2015

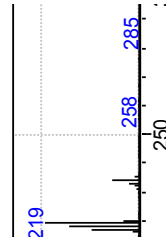
APÊNDICES

APÊNDICE A - Espectro de RMN de ^1H do $(\text{Acri})_2\text{N}$ em CDCl_3 

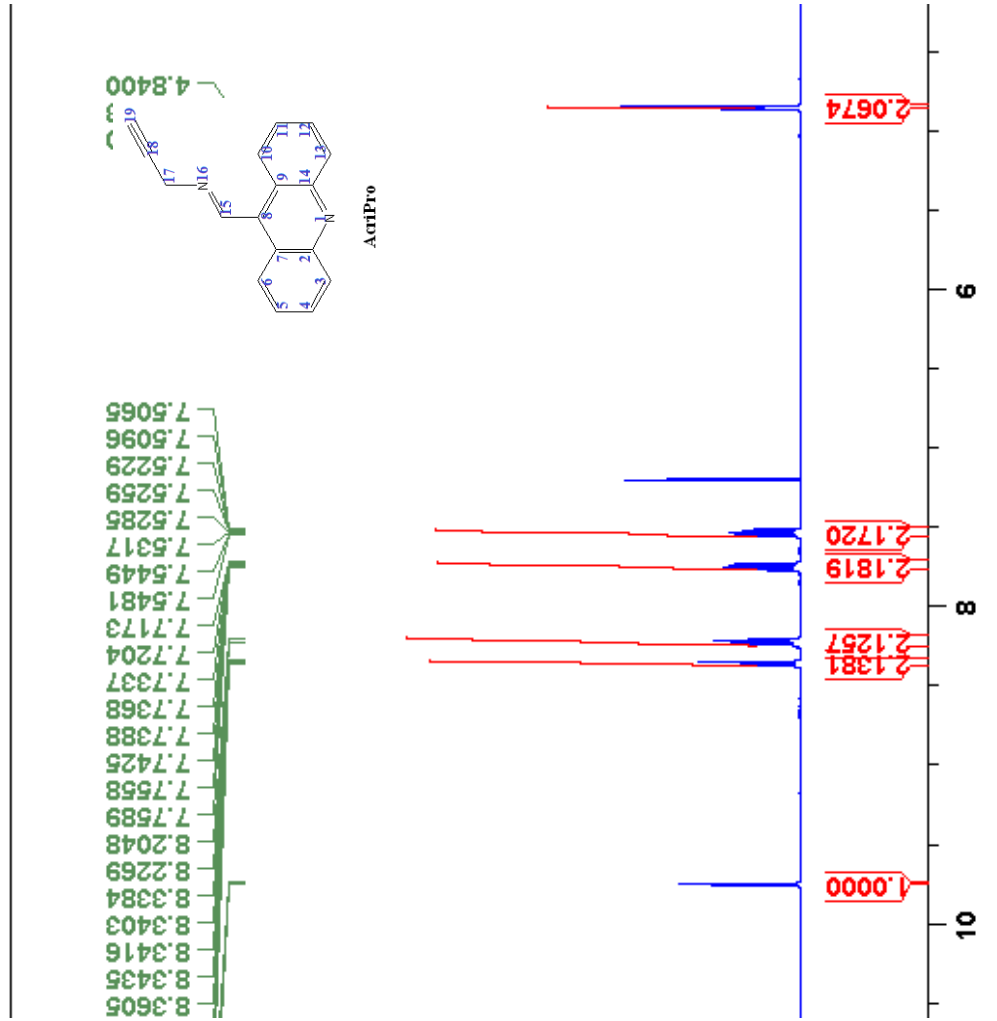
APÊNDICE B - Espectro de RMN de ^{13}C do $(\text{Acri})_2\text{N}$ em CDCl_3 

APÊNDICE C - Espectro de Infravermelho (Acrid)₂N

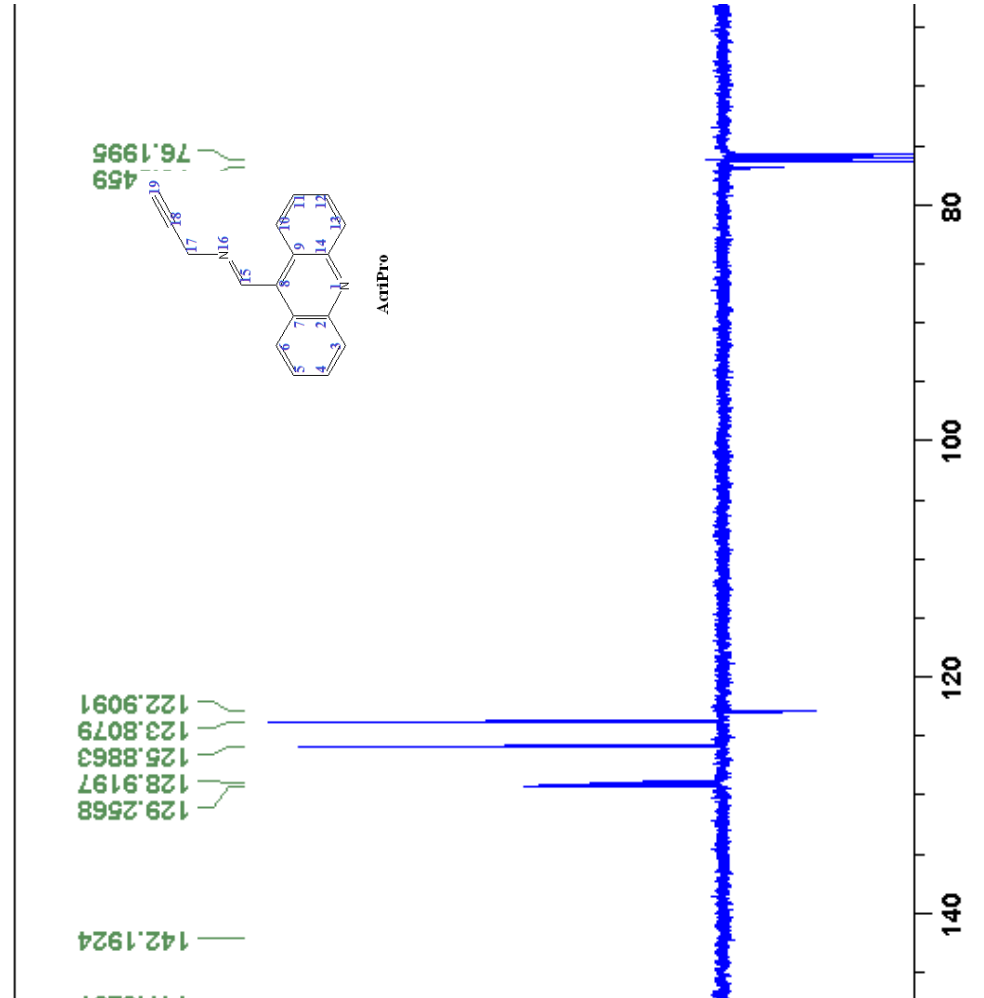


APÊNDICE D - Espectro de Massas (Acri)₂N

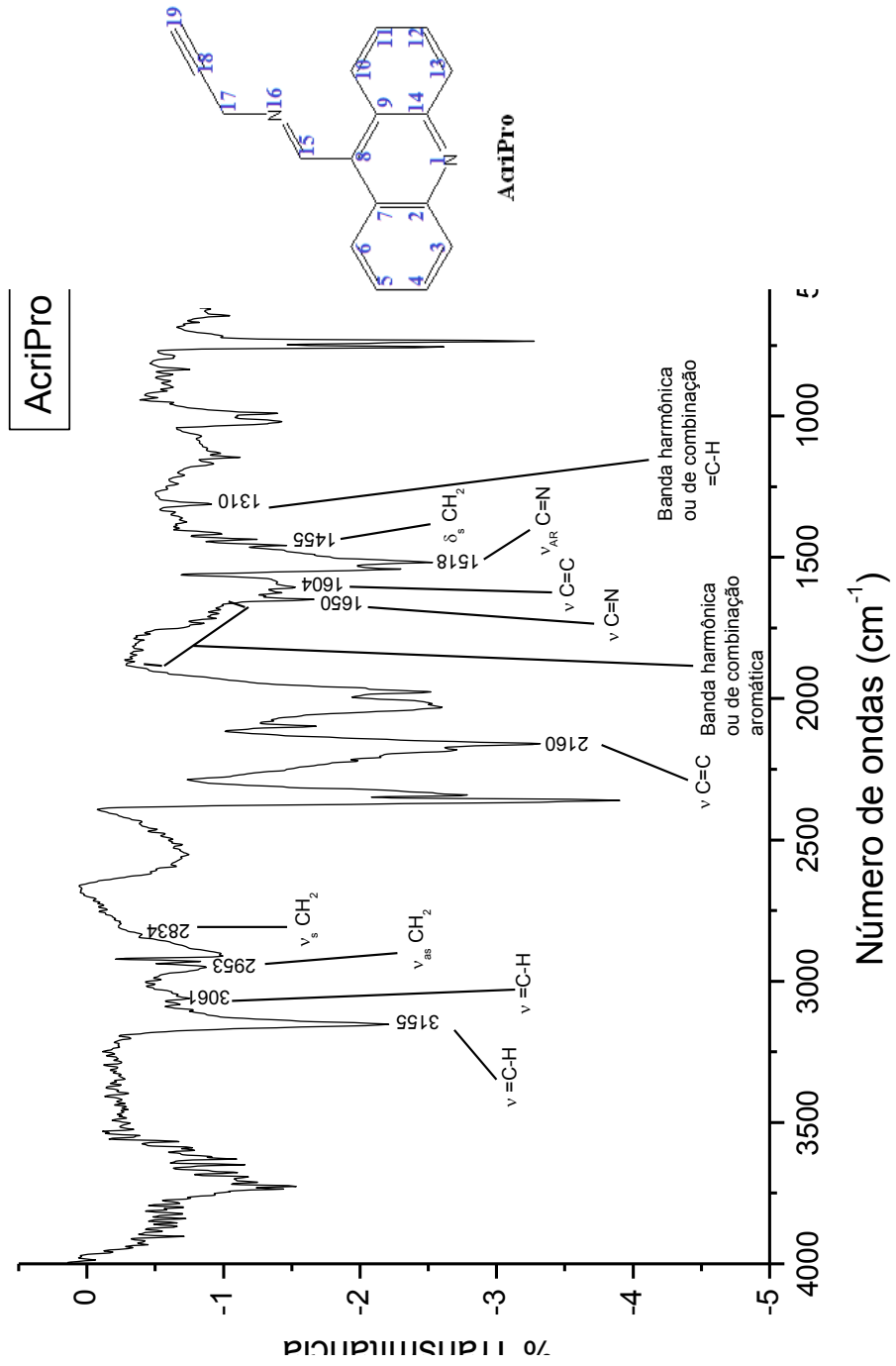
APÊNDICE E - Espectro de RMN de ¹H do AcriPro em CDCl₃

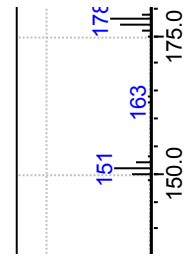


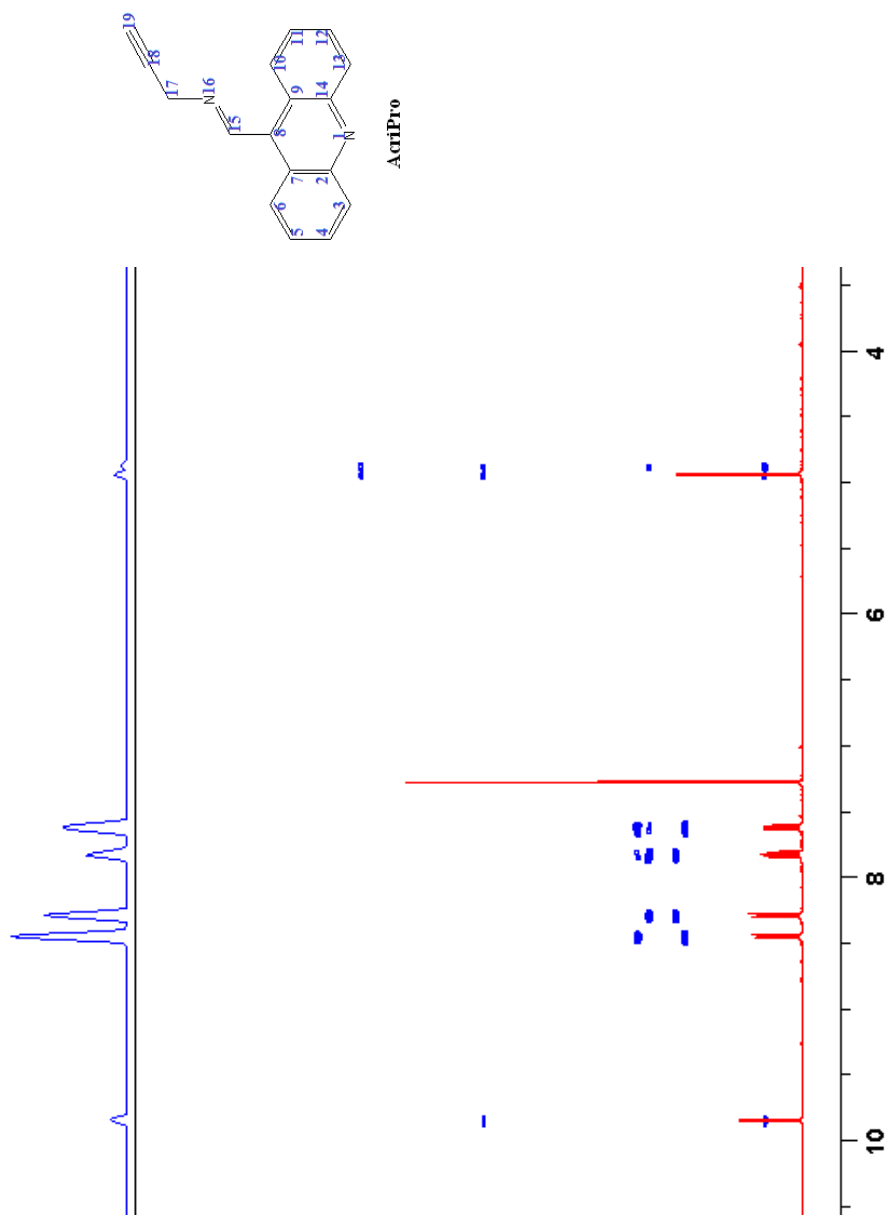
APÊNDICE F - Espectro de RMN de ^{13}C do AcriPro em CDCl_3

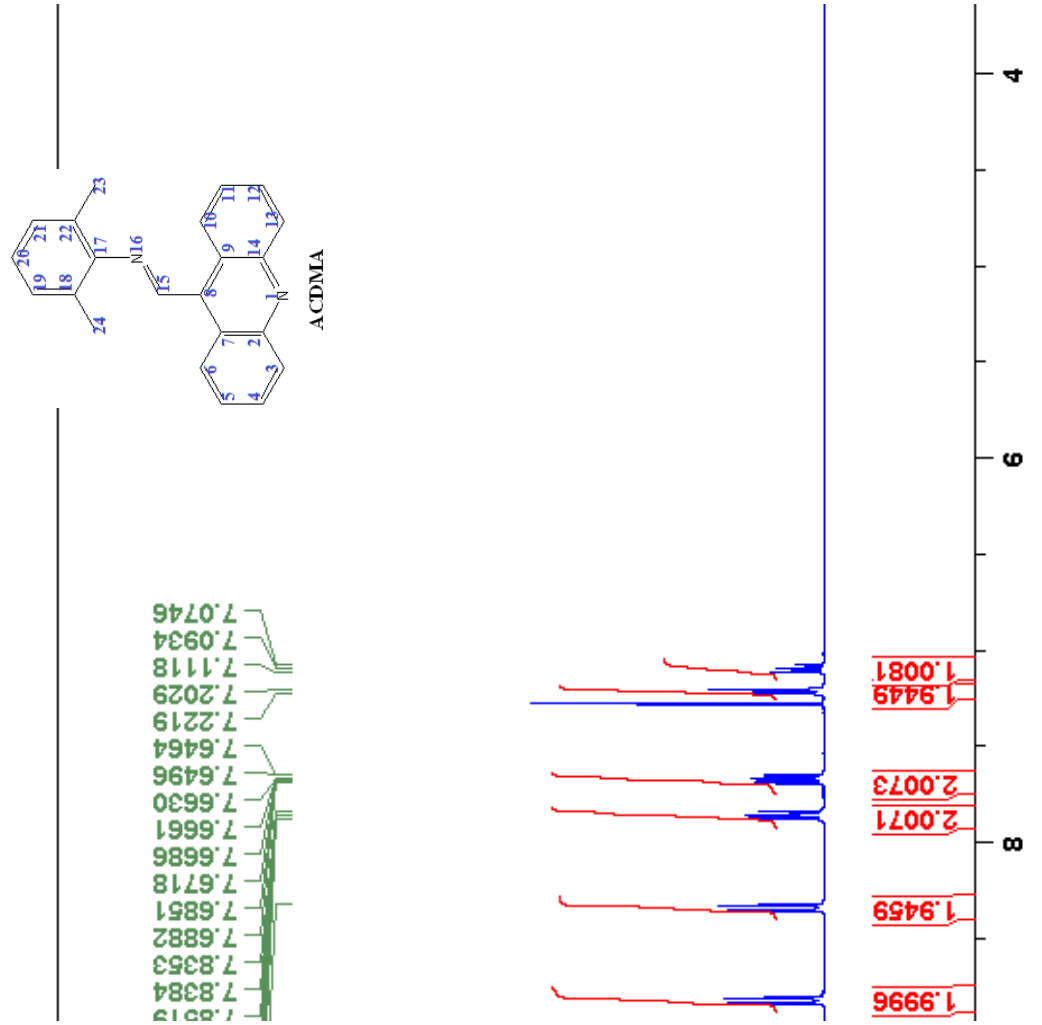


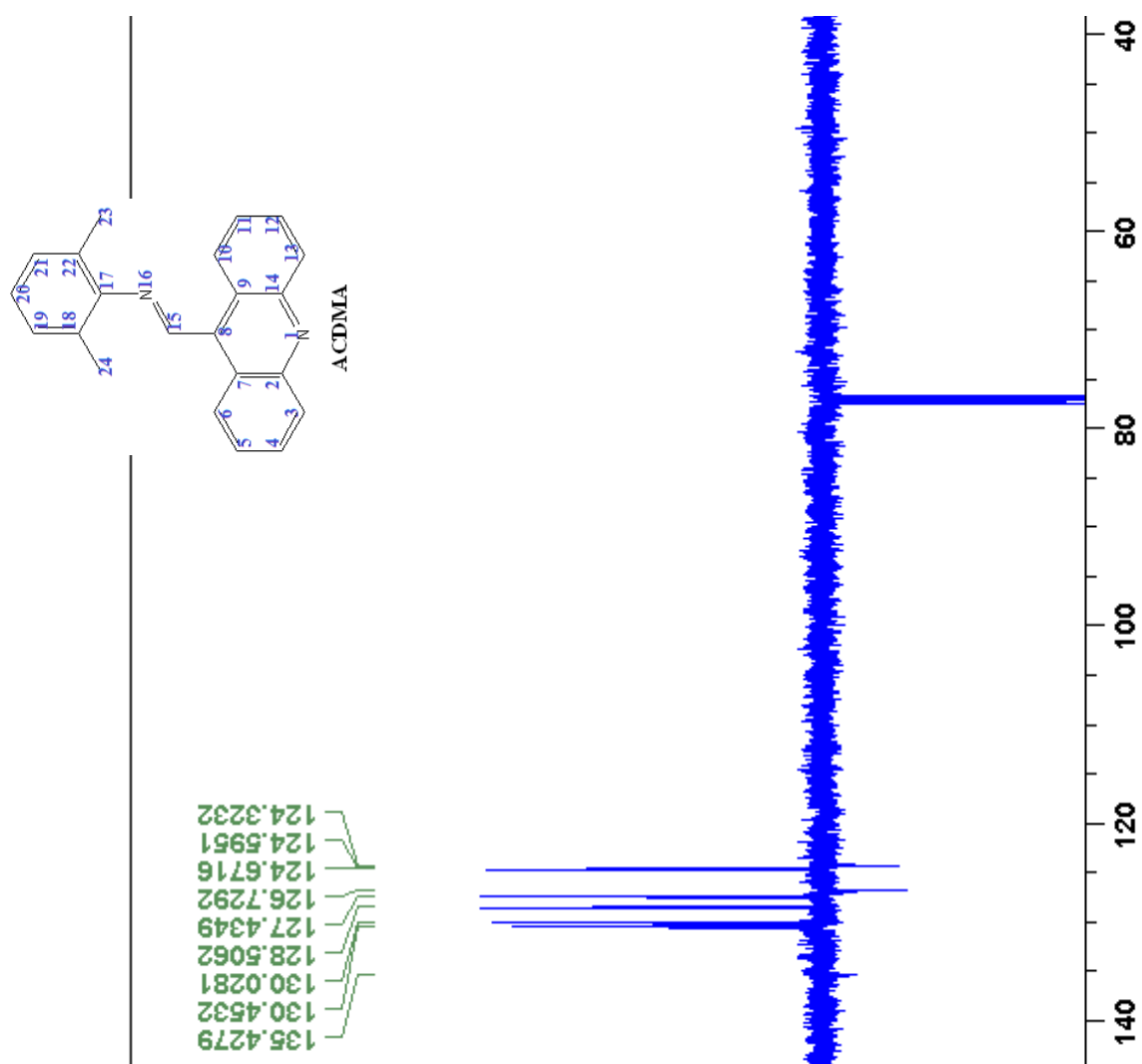
APÊNDICE G - Espectro de Infravermelho AcriPro



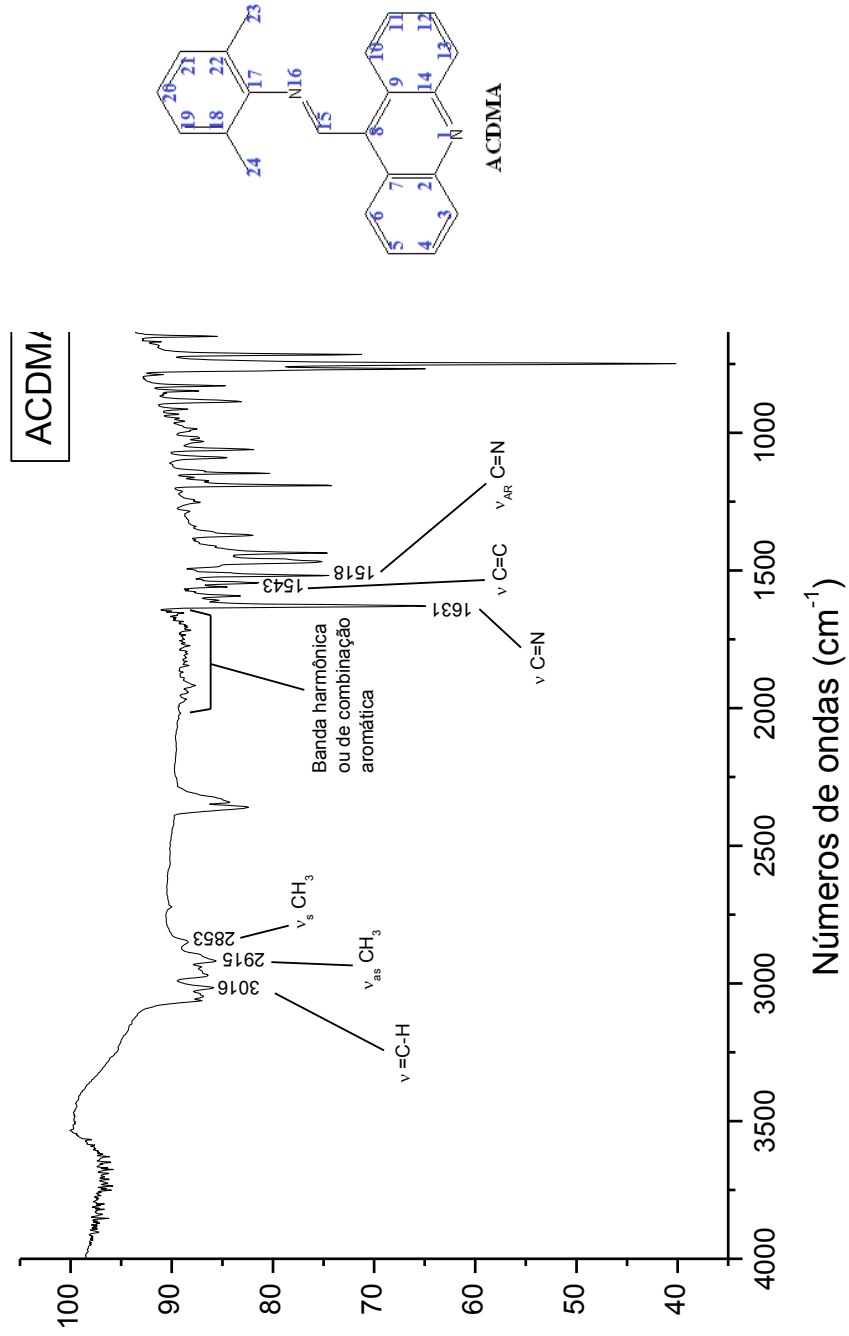
APÊNDICE H - Espectro de Massas AcriPro

APÊNDICE I - Espectro de Cosy do AcriPro em CDCl₃

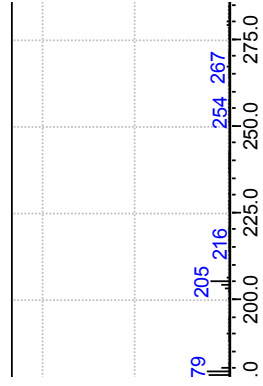
APÊNDICE J - Espectro de RMN de ^1H do ACDMA em CDCl_3 

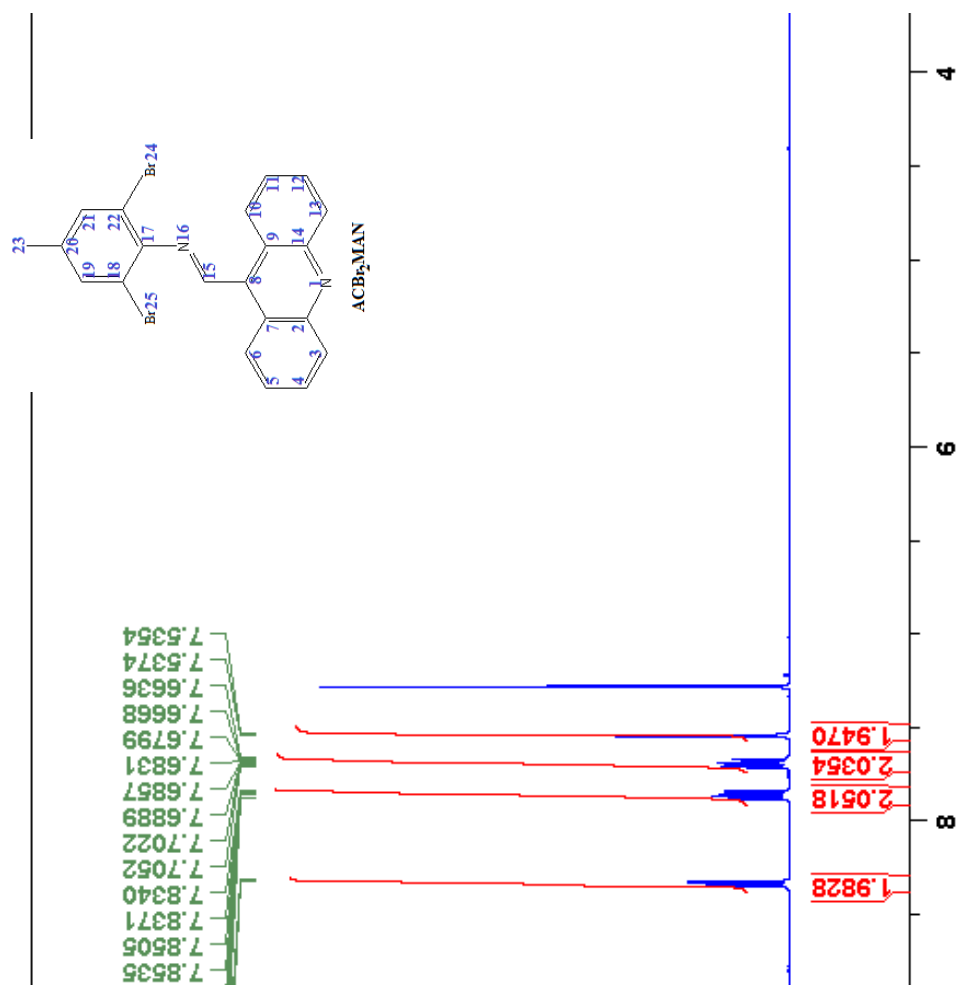
APÊNDICE K - Espectro de RMN de ^{13}C do ACDMA em CDCl_3 

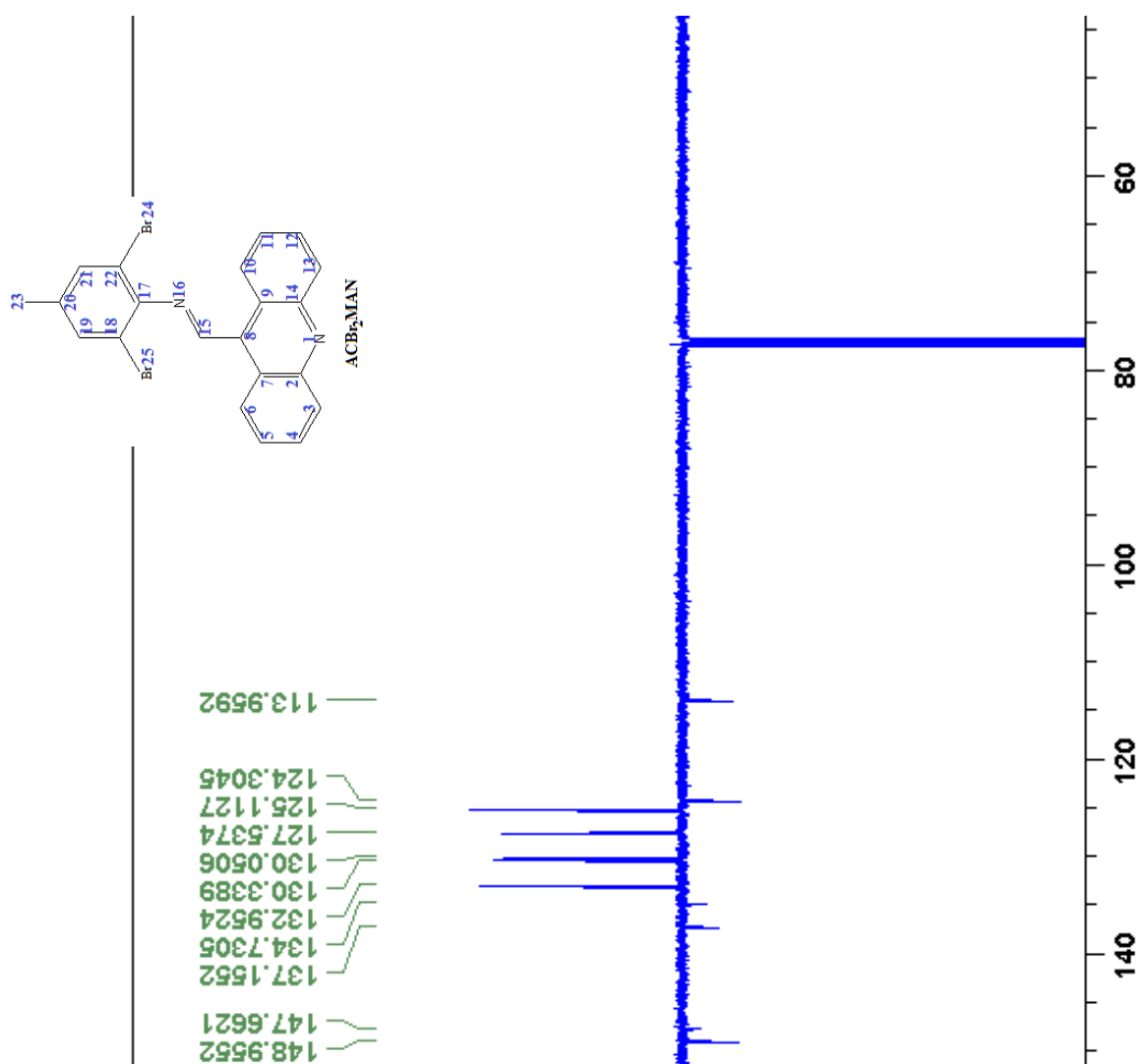
APÊNDICE L - Espectro de Infravermelho ACDMA



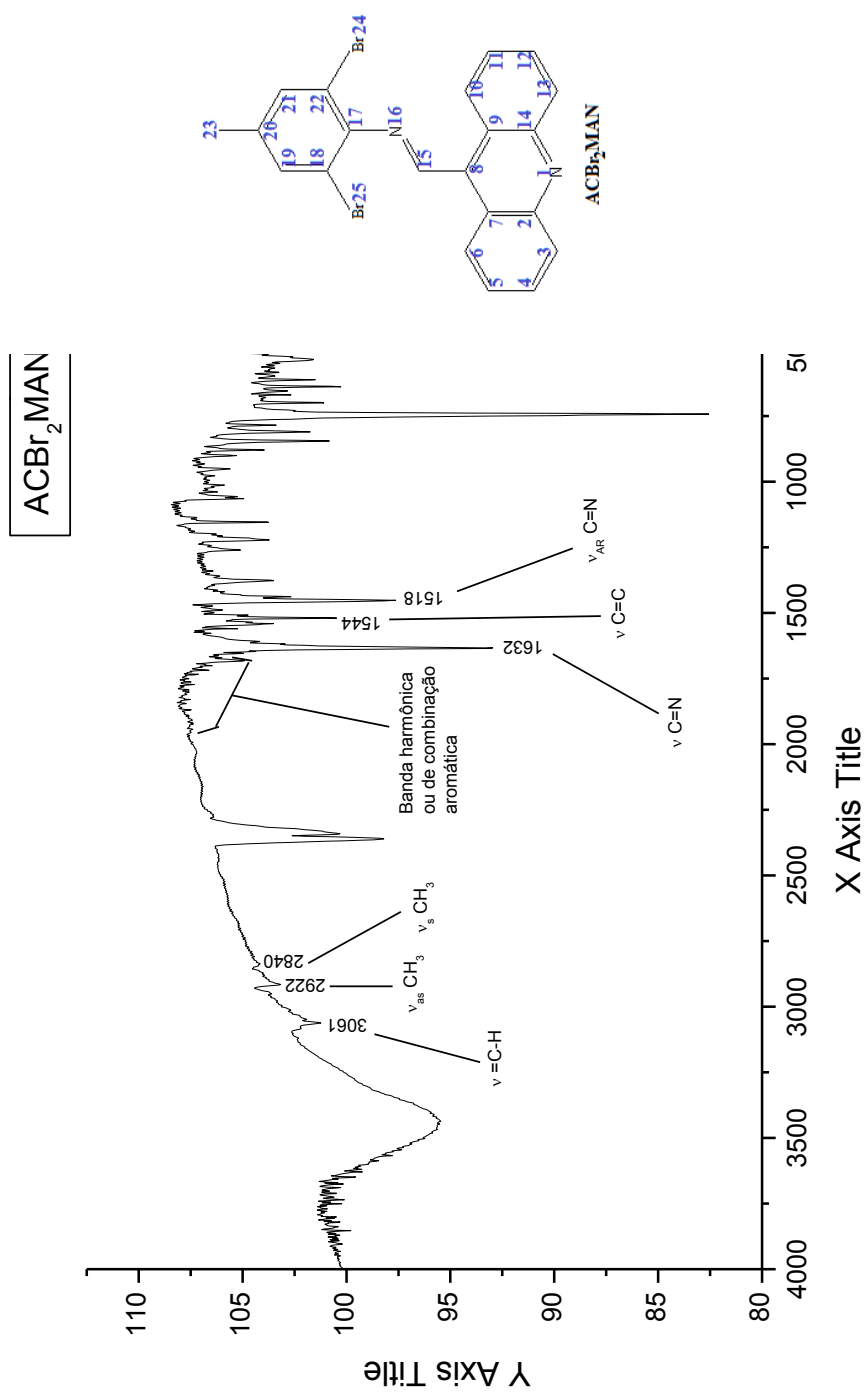
APÊNDICE M - Espectro de Massas ACDMA

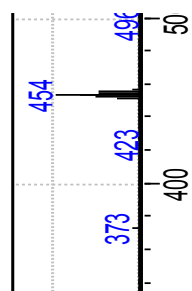


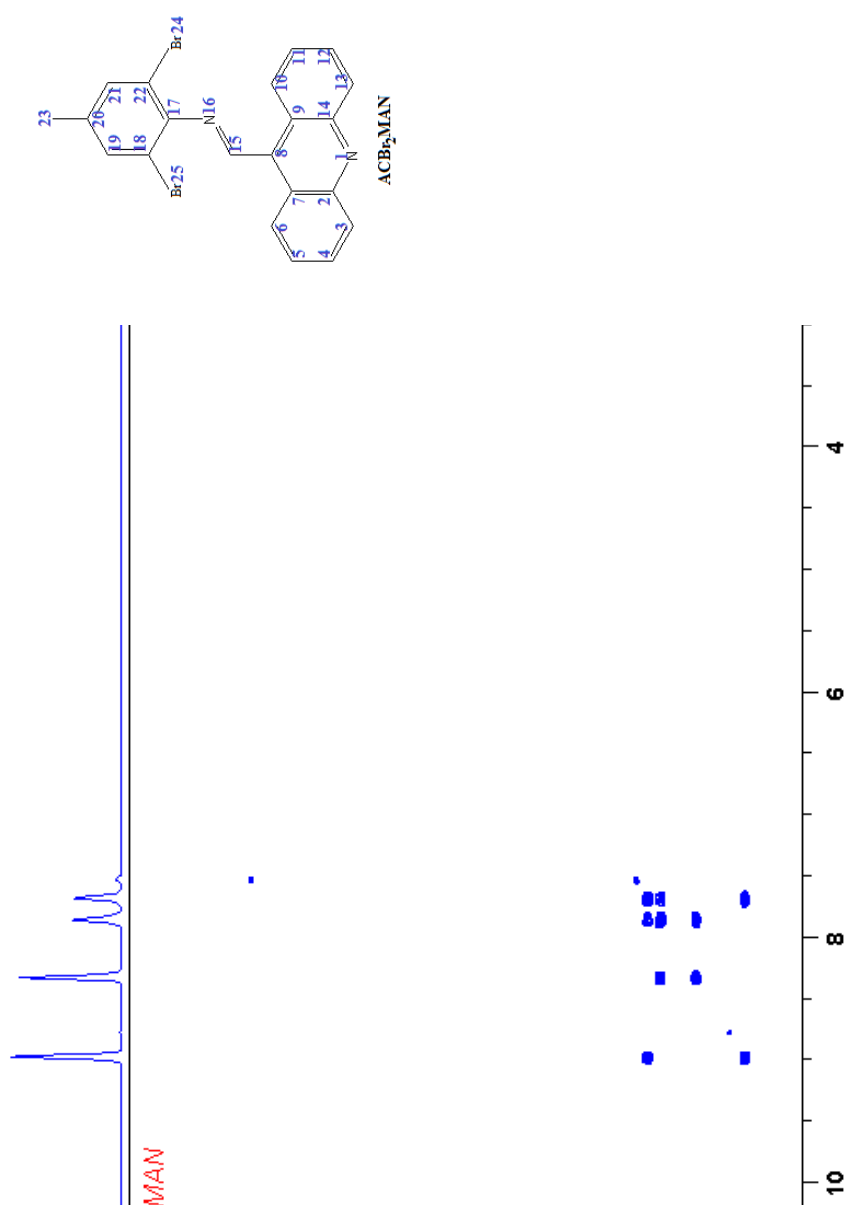
APÊNDICE N - Espectro de RMN de ^1H do ACBr_2MAN em CDCl_3 

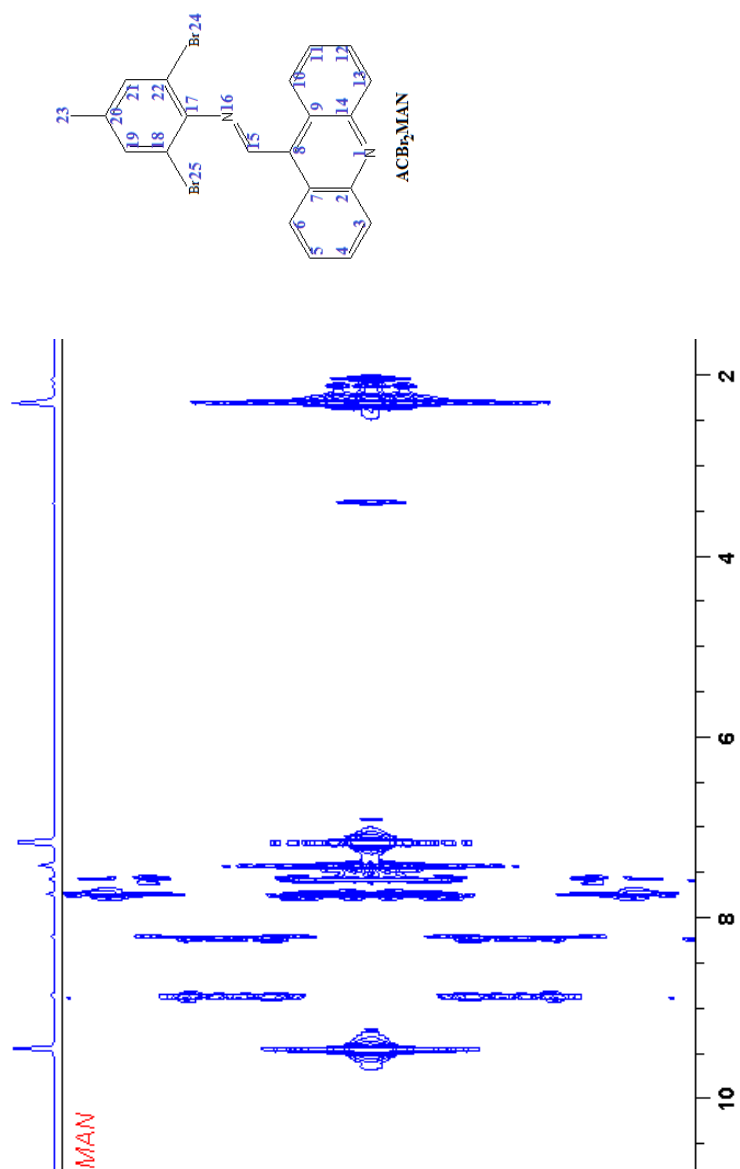
APÊNDICE O - Espectro de RMN de ^{13}C do ACBr_2MAN em CDCl_3 

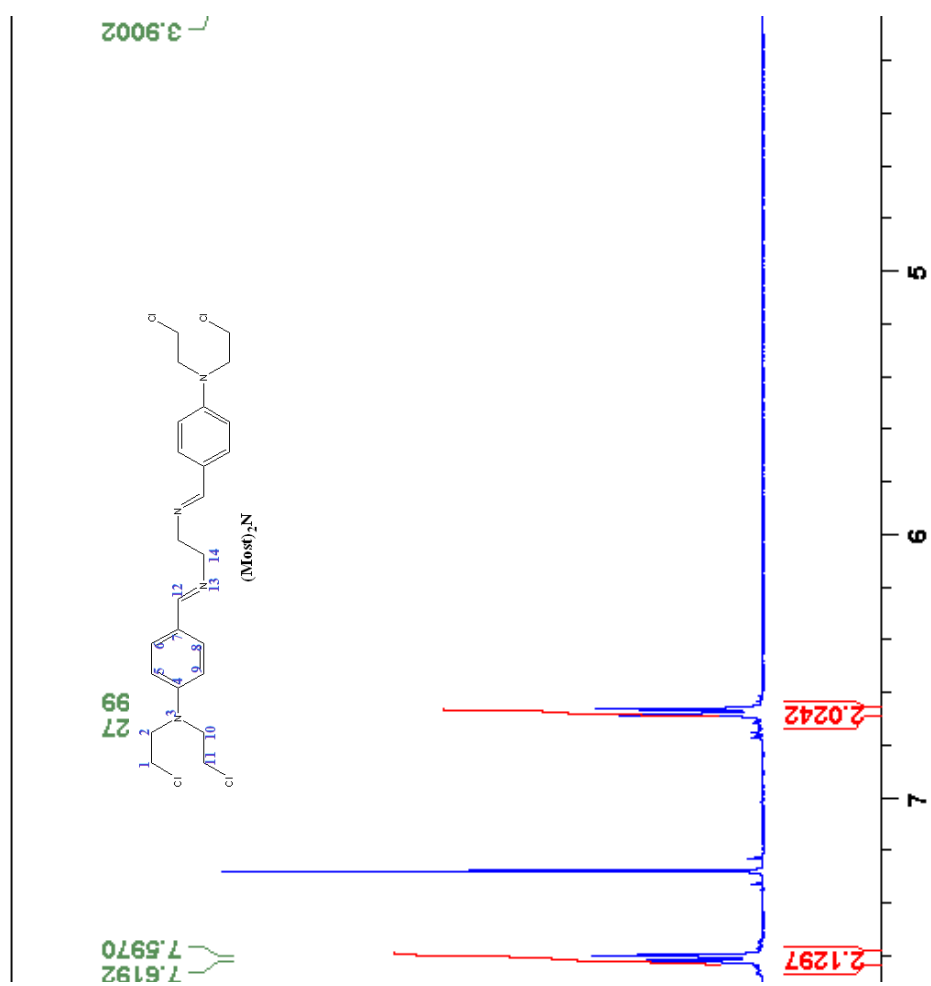
APÊNDICE P - Espectro de Infravermelho ACBr₂MAN

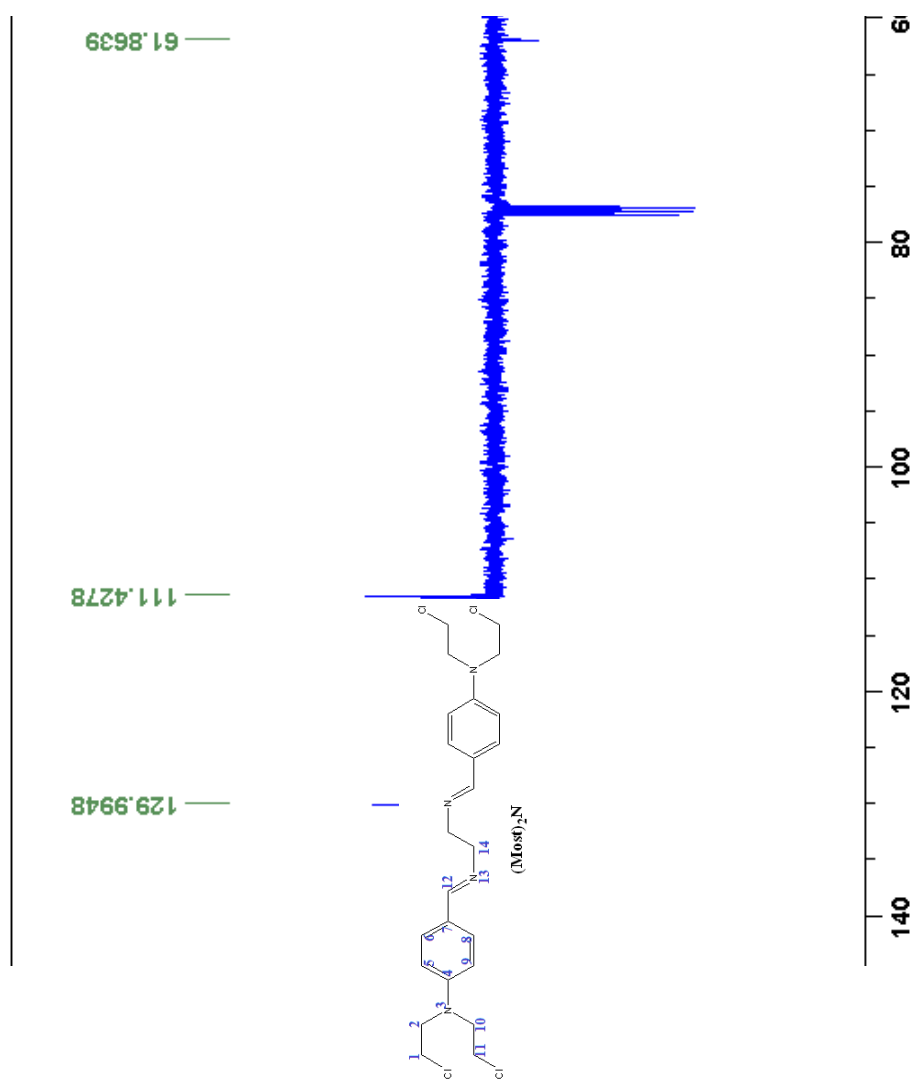


APÊNDICE Q - Espectro de Massas ACBr₂MAN

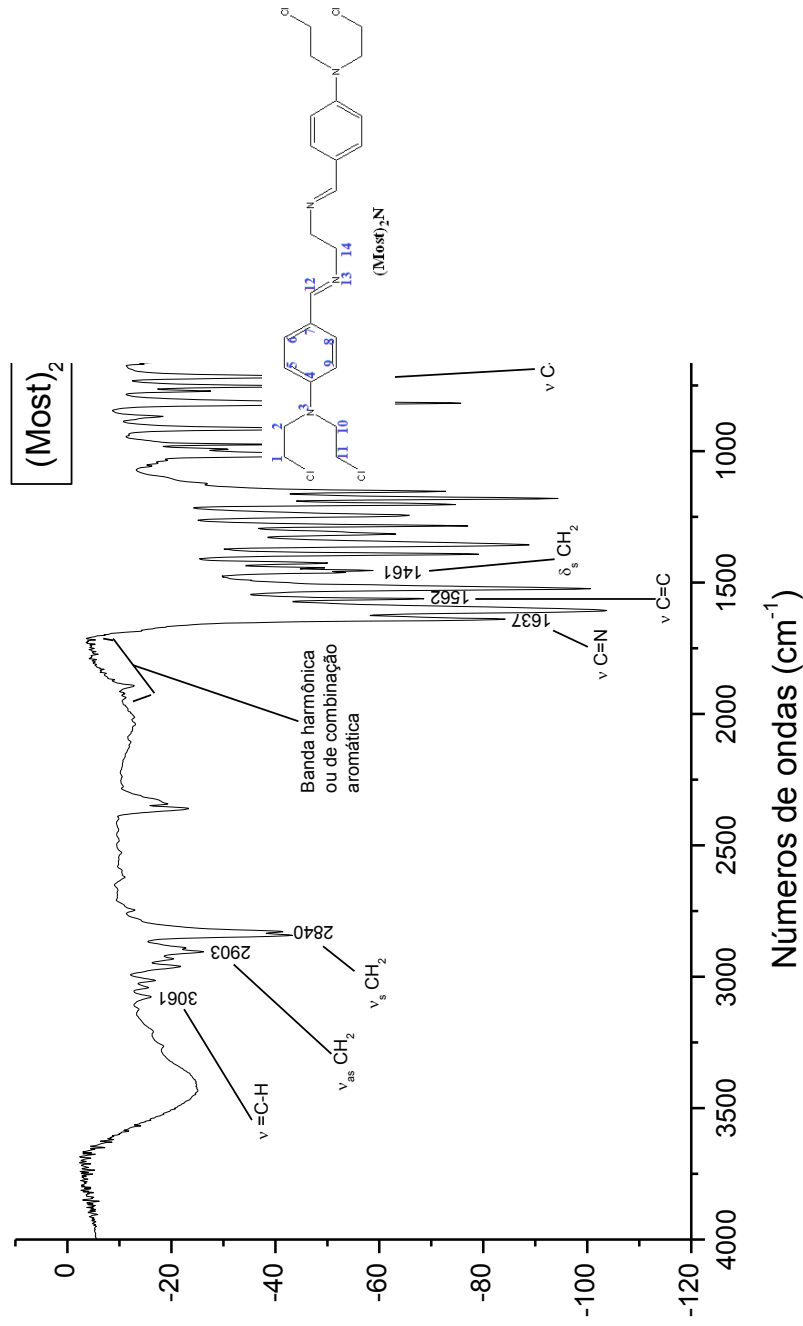
APÊNDICE R - Espectro de COSY do ACBr₂MAN em CDCl₃

APÊNDICE S - Espectro de J resolvido do ACBr₂MAN em CDCl₃

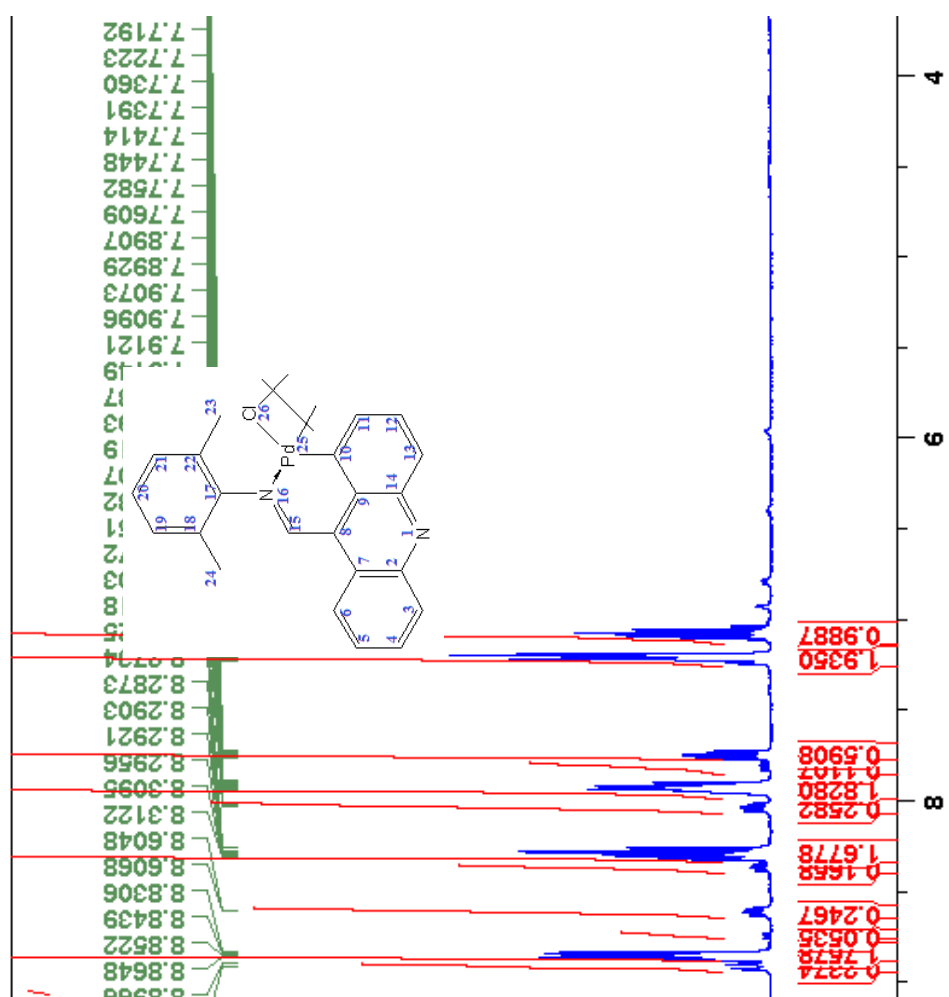
APÊNDICE T - Espectro de RMN de ^1H do $(\text{Most})_2\text{N}$ em CDCl_3 

APÊNDICE U - Espectro de RMN de ^{13}C do $(\text{Most})_2\text{N}$ em CDCl_3 

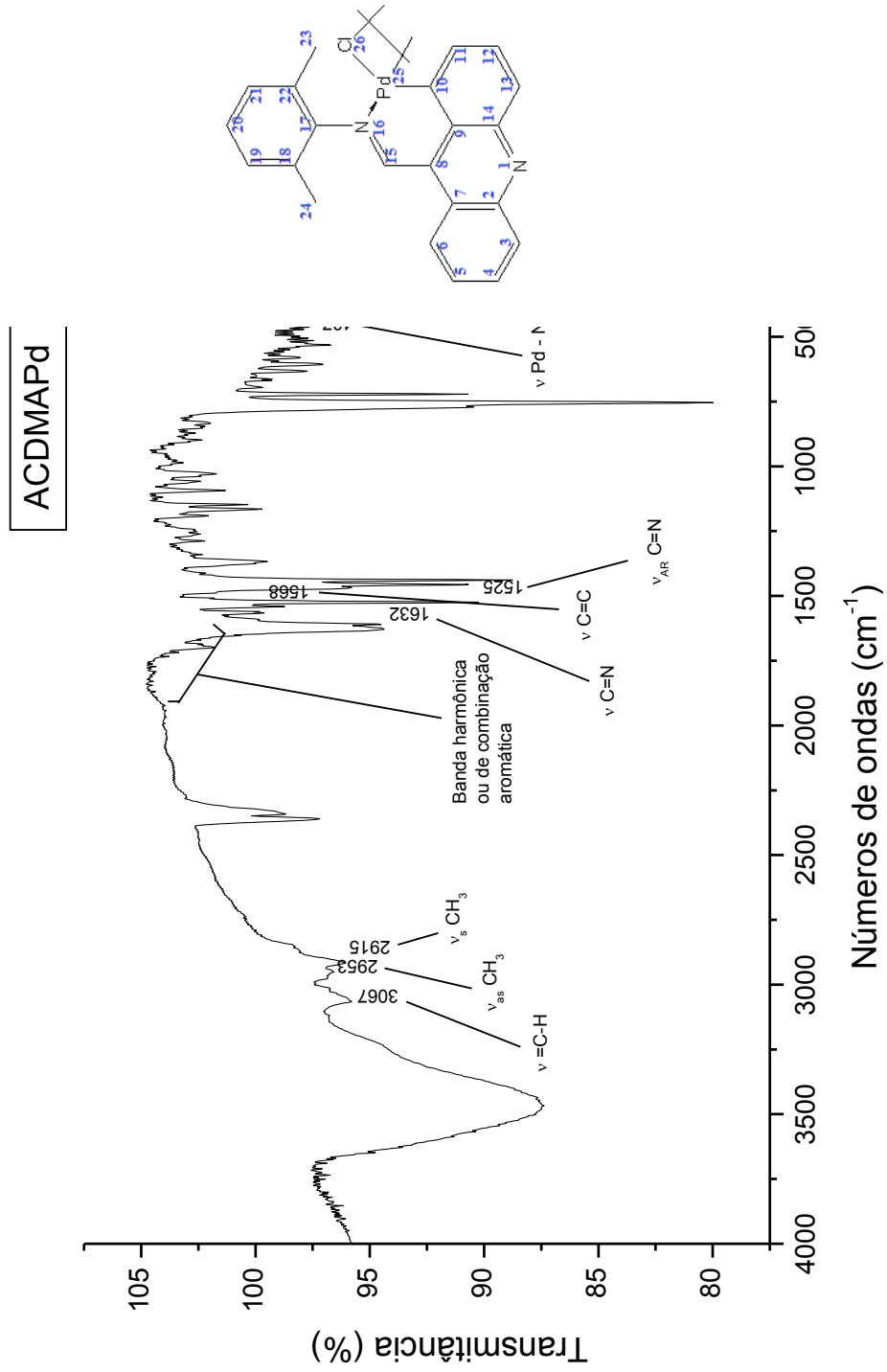
APÊNDICE V - Espectro de Infravermelho (Most)₂N



APÊNDICE W - Espectro de RMN de ^1H do ACDMAPd em DMSO-D₆



APÊNDICE X - Espectro de Infravermelho ACDMAPd



ANEXOS

ANEXO A – Análise Elementar do $(\text{MoSt})_2\text{N}$ 

Data: 05/10/2015 20:01

Amostra	%Carbono	%Hidrogenio	%Nitrogenio
B223-MosIN2-Mario	56,30	6,42	10,59
B223-MosIN2-Mario	56,12	6,42	10,46

ANEXO B – Análise Elementar do (Acrid)2N



Data: 21/07/2016 20:09

Analisado por: Marco

Amostra	%Carbono	%Hidrogenio	%Nitrogenio
5408-SACN2054-Marco	79,23	4,79	11,76
5408-SACN2054-Marco	79,79	5,22	11,74

ANEXO C – Análise Elementar do AcriPro



Data: 21/07/2016 19:55

Amostra	%Carbono	%Hidrogenio	%Nitrogenio
8227-ACP-Merio	81,58	5,30	10,71

ANEXO D – Análise Elementar do ACDMA



Data: 21/07/2016 19:55

Amostra	%Carbono	%Hidrogenio	%Nitrogenio
B226-ACDMA-Mario	84,94	5,62	8,71
B226-ACDMA-Mario	85,03	6,22	8,24