



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA**

MISAEEL DE AZEVEDO TEOTÔNIO CAVALCANTI

**PLANEJAMENTO *IN SILICO* DE DERIVADOS FENILIMINO-ACRIDÍNICOS E
DIFENILIMINO-QUINOLÍNICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL**

**CAMPINA GRANDE – PB
2022**

MISAEAL DE AZEVEDO TEOTÔNIO CAVALCANTI

**PLANEJAMENTO *IN SILICO* DE DERIVADOS FENILIMINO-ACRIDÍNICOS E
DIFENILIMINO-QUINOLÍNICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Área de Concentração: Química Farmacêutica

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura

**CAMPINA GRANDE
2022**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

C377p Cavalcanti, Misael de Azevedo Teotonio.
Planejamento *in silico* de derivados fenilimino-acridínicos e difenilimino-quinolínicos com potencial atividade antitumoral [manuscrito] / Misael de Azevedo Teotonio Cavalcanti. - 2022.
110 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

"Orientação : Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura , Departamento de Farmácia - CCBS."

1. Câncer. 2. Derivados acridínicos. 3. Derivados quinolínicos. 4. In silico. I. Título

21. ed. CDD 616.994

MISAEAL DE AZEVEDO TEOTÔNIO CAVALCANTI

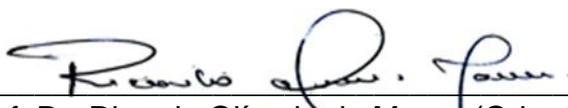
PLANEJAMENTO *IN SILICO* DE DERIVADOS FENILIMINO-ACRIDÍNICOS E
DIFENILIMINO-QUINOLÍNICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

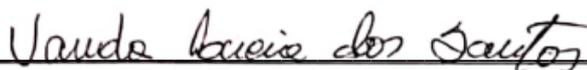
Área de Concentração: Química
Farmacêutica.

Aprovada em: 23/11/2022.

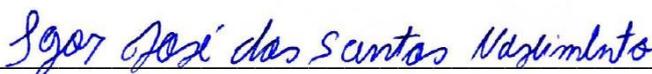
BANCA EXAMINADORA



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



Profa. Dra. Vanda Lúcia dos Santos
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Igor José dos Santos Nascimento
Centro de Estudos Superiores de Maceió (CESMAC)

DEDICATÓRIA

A Jeová Deus e à minha família, especialmente à minha mãe, Gilvanise, à minha irmã, Raquel, e ao meu pai, Manoel, sem os quais não chegaria aonde cheguei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Jeová Deus, que me deu forças nos momentos mais difíceis durante toda a minha trajetória acadêmica.

Agradeço aos meus pais, Manoel e Gilvanise, por tudo que fizeram por mim, por todos os esforços em me proporcionar uma boa educação e valores morais, que me permitiram ser quem eu sou hoje.

À minha irmã, Raquel, com quem eu posso contar em qualquer dificuldade e que sempre me apoia e me motiva, quando estou desanimado. Obrigado por tudo. Não sei o que eu seria sem você.

Aos meus amigos Rayane, Jessé, Yasmim, Karen, Pedro, Esdras, Alessandra, João Vitor, Walisson, Brenda e Larissa, que me acolheram e me ajudaram durante as dificuldades do curso. Obrigado por todos os momentos incríveis que passamos juntos e que vou guardar por toda a minha vida. Espero que ainda tenhamos muito mais.

À Analara, que foi uma companheira muito importante não só durante o curso, mas, principalmente, durante nosso tempo no laboratório. Você sabe o quão importante é para mim e, como você mesma disse, nós incentivamos o melhor um do outro. Vou sentir muito a sua falta no laboratório.

Aos meus colegas de laboratório, Mirelly, Jamire, Sonaly, Yvnni, Karla, Joilly e Renata. Obrigado pela paciência, por todos os ensinamentos transmitidos e pelo companheirismo durante os vários dias que passamos no laboratório, mesmo com tantas dificuldades.

Ao meu orientador, Ricardo, que me ensinou bastante durante esses dois anos e que, muitas vezes, teve a paciência e a disponibilidade para me ajudar com as minhas dificuldades. Obrigado por tudo e espero, futuramente, poder me tornar, pelo menos, metade do profissional que o senhor é hoje.

Aos professores Igor e Vanda, por aceitarem fazer parte da minha banca e por contribuírem para o meu trabalho.

A todos os professores do curso que me incentivaram a sempre me esforçar e que contribuíram bastante para a minha formação acadêmica e profissional.

A UEPB e a CNPq, pelo financiamento, que me permitiu desenvolver dois anos de pesquisa científica.

E, por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

*"I saw something they can't take away.
'Cause there were pages turned with the
bridges burned.
Everything you lose is a step you take.
So, make the friendship bracelets, take the
moment and taste it.
You've got no reason to be afraid.
You're on your own, kid.
You always have been."*

Taylor Swift – You're on your own, kid

RESUMO

O câncer é a segunda principal causa de morte em diversos países e seu tratamento possui limitações, como baixa seletividade, toxicidade e mecanismos de resistência. Nesse sentido, considerando a relevância dos núcleos de acridina e quinolina para o desenvolvimento de fármacos, este trabalho visa planejar novos compostos com potencial antitumoral, avaliando sua capacidade de interação com DNA e inibição da enzima topoisomerase (Topo) II α e do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), através de estudos *in silico*. Para o planejamento dos compostos acridínicos (ACF) e quinolínicos (QF), foi considerado o AMTAC-01, molécula previamente sintetizada pelo grupo de pesquisa, utilizando estratégias de simplificação e expansão molecular, seguidas de dissociação de anel aromático. Em seguida, o perfil farmacodinâmico dos derivados foi realizado por meio de *docking* molecular com DNA (ID: 1G3X e 1BNA), Topo II α (ID: 5GWK) e EGFR (ID: 4HJO), e os parâmetros farmacocinéticos dos compostos mais promissores foram preditos utilizando os serviços web SwissADME, pkCSM, ADMETlab 2.0 e XenoSite. Como resultado, todos os 20 derivados planejados foram capazes de interagir com o sulco menor do DNA e se intercalar com os nucleotídeos, sobretudo a série QF, que demonstrou resultados mais promissores de afinidade, em relação ao AMTAC-01 e à Amsacrina (*m*-AMSA). Com a Topo II α , as estratégias de modificação também foram favoráveis, pois a maioria dos compostos exibiu afinidade superior ao AMTAC-01, com destaque para a flexibilidade do sistema aromático, considerando o melhor perfil de ligação dos derivados quinolínicos QF-A1 e QF-A2. Já com o EGFR, todos os compostos apresentaram maior afinidade em relação ao AMTAC-01 e ao Erlotinibe, sendo os derivados acridínicos associados a porção de ácido acético (ACF-A1 e ACF-A2) mais promissores, devido à realização de ligações iônicas, que permitem maior estabilização do complexo com o alvo. Por fim, foi observada alta absorção intestinal, inibição de Glicoproteína-P (gp-P) e quantidade razoável de reações metabólicas, permitindo eliminação renal adequada, para os derivados ACF-C e QF-C, que podem gerar os compostos mais promissores como metabólitos. Diante disso, pode-se inferir que o planejamento de novos *hits* foi bem-sucedido, considerando seus promissores resultados de afinidade com alvos relevantes ao câncer e farmacocinética adequada.

Palavras-chave: Câncer; Derivados acridínicos; Derivados quinolínicos; *In silico*.

ABSTRACT

Cancer is the second leading cause of death in several countries and its treatment has limitations, such as low selectivity, toxicity, and resistance mechanisms. In that regard, considering the relevance of acridine and quinoline scaffolds for the development of drugs, this work aims to design new compounds with antitumor potential, evaluating their ability to interact with DNA and inhibition of enzyme topoisomerase (Topo) II α and epidermal growth factor receptor (EGFR), through *in silico* studies. For the design of the acridine (ACF) and quinoline (QF) compounds, AMTAC-01, a molecule previously synthesized by the research group, was considered, using strategies of molecular simplification and expansion, followed by aromatic ring dissociation. Then, the pharmacodynamic profile of the derivatives was performed through molecular docking with DNA (ID: 1G3X and 1BNA), Topo II α (ID: 5GWK) and EGFR (ID: 4HJO), and the pharmacokinetic parameters of the most promising compounds were predicted using SwissADME, pkCSM, ADMETlab 2.0 and XenoSite web services. As a result, all the 20 designed compounds were able to interact with the minor groove of DNA and intercalate with nucleotides, especially the quinoline derivatives, which showed more promising affinity results compared to AMTAC-01 and Amsacrine (*m*-AMSA). In regard of Topo II α , the molecular modification strategies were also favorable, as most compounds exhibited higher affinity than AMTAC-01, with emphasis on the flexibility of the aromatic system, considering the better binding profile of the quinolinic derivatives QF-A1 and QF-A2. In turn, for EGFR, all designed compounds showed greater affinity compared to AMTAC-01 and Erlotinib, with acridine derivatives associated with acetic acid moiety (ACF-A1 and ACF-A2) being more promising, due to the realization of ionic bonds, which allow greater stabilization of the complex with the target. Finally, high intestinal absorption was observed, P-glycoprotein (gp-P) inhibition and reasonable number of metabolic reactions were observed, allowing adequate renal elimination, for the ACF-C and QF-C derivatives, which can generate the most promising compounds as metabolites. Given this, it can be inferred that the design of new hits was successful, considering its promising affinity results with relevant targets for cancer, as well as adequate pharmacokinetics.

Keywords: Cancer; Acridine derivatives; Quinoline derivatives; *In silico*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Principais Características das Células Cancerígenas	17
Figura 2 –	Incidência e Mortalidade Mundial do Câncer em 2020	18
Figura 3 –	Estrutura Molecular do DNA	19
Figura 4 –	Principais Tipos de Interação com o DNA	20
Figura 5 –	Estrutura Química da Amsacrina e da Mitoxantrona	20
Figura 6 –	Estrutura Química da Talimustina e da Brostalicina	21
Figura 7 –	Formas Topológicas do DNA	22
Figura 8 –	Mecanismo de Ação da Topoisomerase II α	23
Figura 9 –	Cascata de Sinalização do EGFR	24
Figura 10 –	Exemplos de EGFR-TKIs	25
Figura 11 –	Exemplos de Bioisómeros Clássicos e Não Clássicos	26
Figura 12 –	Árvore de Topliss para Substituintes Aromáticos	27
Figura 13 –	Planejamento dos Derivados Espiro-Acridínicos (AMTAC)	30
Figura 14 –	Planejamento do Composto 6c	31
Figura 15 –	Planejamento dos Derivados Fenilimino-Acridínicos (Série ACF) e Difenilimino-Quinolínicos (Série QF)	32
Figura 16 –	Estruturas de <i>Redocking</i> para Acridina-9-Carboxaldeído (ID: 1G3X), Etoposídeo (ID: 5GWK A) e Erlotinibe (ID: 4HJO)	39
Figura 17 –	Diagrama 3D de intercalação dos derivados QF-E1 e QF-E2 com o DNA (PDB ID: 1G3X)	42
Figura 18 –	Diagrama 3D de intercalação do AMTAC-01 com o DNA (ID: 1G3X)	44
Figura 19 –	Perfil de Interações dos Derivados ACF-E1, ACF-E2, QF-E1 e QF-E2 com os Sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)	48
Figura 20 –	Interações de QF-D2 com os Sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)	49
Figura 21 –	Perfil de Interações dos Derivados QF-A1, QF-B1 e QF-C1 com os Sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)	50
Figura 22 –	Interações do AMTAC-01 com os Sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)	51
Figura 23 –	Interação dos Compostos com os Sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)	52

Figura 24 – Perfil de Interações dos Derivados ACF-E2 e QF-A2 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)	56
Figura 25 – Perfil de Interações dos Derivados ACF-A1 e ACF-A2 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)	57
Figura 26 – Perfil de Interações dos Derivados QF-A1 e QF-B1 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)	58
Figura 27 – Perfil de Interações dos Derivados ACF-B1 e ACF-C1 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)	59
Figura 28 – Perfil de Interações do Derivado AMTAC-01 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)	60
Figura 29 – Perfil de Interações dos Derivados ACF-D1 e QF-D1 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)	60
Figura 30 – Interações da <i>m</i> -AMSA com o complexo Topo II α -DNA (PDB ID: 5GWK A)	61
Figura 31 – Perfil de Interações do Etoposídeo com a Topo II α complexada com o DNA (PDB ID: 5GWK A)	63
Figura 32 – Perfil de Interações de ACF-A1 e ACF-A2 com o EGFR (ID: 4HJO)	68
Figura 33 – Perfil de Interações de ACF-D1 e ACF-D2 com o EGFR (ID: 4HJO)	68
Figura 34 – Interações de QF-B2 e QF-C2 com o EGFR (PDB ID: 4HJO)	69
Figura 35 – Interações de QF-B1 e QF-D1 com o EGFR (PDB ID: 4HJO)	70
Figura 36 – Modelo BOILED-Egg dos Derivados ACF-C e QF-C	73
Figura 37 – Pontos de Oxidação Estável dos Compostos ACF-C e QF-C	75
Figura 38 – Pontos de Oxidação Instável dos Compostos ACF-C e QF-C	76
Figura 39 – Pontos de Hidrólise dos Compostos ACF-C e QF-C	76
Figura 40 – Pontos de Glicuronidação de ACF-A, ACF-C, QF-A e QF-C	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Parâmetros de <i>docking</i> molecular utilizados para os alvos.....	34
Tabela 2 –	Estruturas Químicas dos Derivados Fenilimino-Acridínicos	36
Tabela 3 –	Estruturas Químicas dos Derivados Difenilimino-Quinolínicos	37
Tabela 4 –	Resultados de <i>docking</i> de intercalação dos compostos com DNA (ID: 1G3X)	40
Tabela 5 –	Perfil de intercalação das moléculas com o DNA (ID: 1G3X)	41
Tabela 6 –	Resultados de <i>docking</i> dos compostos com os sulcos do DNA (ID: 1BNA)	45
Tabela 7 –	Interações das moléculas com os sulcos do DNA (ID: 1BNA)	46
Tabela 8 –	Resultados de <i>docking</i> dos compostos com a Topo II α (ID: 5GWK A)	53
Tabela 9 –	Interações das moléculas com a Topo II α (ID: 5GWK A)	53
Tabela 10 –	Resíduos da Topo II α (PDB ID: 5GWK A) que interagem com os compostos	63
Tabela 11 –	Resultados de <i>docking</i> dos compostos com o EGFR (ID: 4HJO)	65
Tabela 12 –	Interações das moléculas com o EGFR (ID: 4HJO)	65
Tabela 13 –	Aminoácidos do EGFR (PDB ID: 4HJO) que interagem com os compostos	71
Tabela 14 –	Parâmetros de <i>Drug-likeness</i> dos Compostos ACF-C e QF-C, de acordo com a Regra dos Cinco de Lipinski	72
Tabela 15 –	Interação dos Compostos ACF-C e QF-C com as Isoformas de CYP450	74

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1	Câncer	17
3.2	Alvos relevantes no desenvolvimento de moléculas antitumorais ..	18
3.2.1	<i>Interação com DNA</i>	18
3.2.2	<i>Topoisomerase IIα</i>	21
3.2.3	<i>Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR)</i>	23
3.3	Planejamento molecular	25
3.3.1	<i>Bioisosterismo</i>	26
3.3.2	<i>Simplificação Molecular</i>	27
3.3.3	<i>Computer-Aided Drug Design (CADD)</i>	28
3.4	Derivados acridínicos	29
3.5	Derivados quinolínicos	30
4	METODOLOGIA	32
4.1	Planejamento dos Derivados	32
4.2	<i>Docking Molecular</i>	33
4.2.1	<i>Seleção dos Alvos</i>	33
4.2.2	<i>Preparo dos Ligantes</i>	33
4.2.3	<i>Preparo dos Alvos</i>	33
4.2.4	<i>Simulação de Docking Molecular</i>	34
4.2.5	<i>Validação da Metodologia (Redocking)</i>	34
4.3	Perfil Farmacocinético <i>In Silico</i>	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	Estruturas Químicas dos Derivados Planejados	36
5.2	<i>Docking Molecular</i>	38
5.2.1	<i>Redocking</i>	39
5.2.2	<i>Interação com DNA</i>	40
5.2.2.1	<i>Intercalação (PDB ID: 1G3X)</i>	40

5.2.2.2	<i>Interação com os sulcos (PDB ID: 1BNA)</i>	45
5.2.3	<i>Interação com Topo IIα (PDB ID: 5GWK)</i>	53
5.2.4	<i>Interação com EGFR (PDB ID: 4HJO)</i>	65
5.3	Perfil farmacocinético <i>in silico</i>	72
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
7	PERSPECTIVAS	80
	REFERÊNCIAS	81
	APÊNDICE A	88
	APÊNDICE B	88
	APÊNDICE C	89
	APÊNDICE D	89
	APÊNDICE E	90
	APÊNDICE F	90
	APÊNDICE G	91
	APÊNDICE H	91
	APÊNDICE I	92
	APÊNDICE J	92
	APÊNDICE K	93
	APÊNDICE L	93
	APÊNDICE M	94
	APÊNDICE N	94
	APÊNDICE O	95
	APÊNDICE P	95
	APÊNDICE Q	96
	APÊNDICE R	96
	APÊNDICE S	97
	APÊNDICE T	97
	APÊNDICE U	98
	APÊNDICE V	98
	APÊNDICE W	99
	APÊNDICE X	99
	APÊNDICE Y	100
	APÊNDICE Z	100

APÊNDICE AA	101
APÊNDICE AB	101
APÊNDICE AC	102
APÊNDICE AD	102
APÊNDICE AE	103
APÊNDICE AF	103
APÊNDICE AG	104
APÊNDICE AH	104
APÊNDICE AI	105
APÊNDICE AJ	105
APÊNDICE AK	106
APÊNDICE AL	106
APÊNDICE AM	107
APÊNDICE AN	107
APÊNDICE AO	108
APÊNDICE AP	108
APÊNDICE AQ	109
APÊNDICE AR	109
APÊNDICE AS	110

1 INTRODUÇÃO

O câncer consiste em um conjunto de diversas doenças malignas caracterizadas pelo crescimento desordenado de células, com formação de tumores, os quais, por sua vez, podem invadir tecidos adjacentes e se difundir para outras regiões do organismo (BRASIL, 2020). É a segunda principal causa de morte em diversos países, incluindo o Brasil, com aumento progressivo na incidência de casos, devido ao crescimento e ao envelhecimento populacional, bem como à exposição a fatores de risco, que incluem obesidade, sedentarismo, tabagismo, entre outros. Os tratamentos envolvem, sobretudo, cirurgia, radiação e quimioterapia, porém, devido à complexidade do câncer, ainda existem limitações, como baixa especificidade, toxicidade sistêmica, além de mecanismos de resistência (SUNG et al., 2021; ALMEIDA et al., 2021; CASTAÑEDA et al., 2022).

Assim, o desenvolvimento de novos fármacos para a terapia do câncer é imprescindível e, para isso, existem várias ferramentas que podem ser utilizadas, dentre as quais o planejamento auxiliado por computador (*Computer-Aided Drug Design* – CADD), utilizado para a descoberta de novas moléculas biologicamente ativas durante a etapa pré-clínica. Considerando que a identificação de um composto *lead* através de ensaios clínicos pode levar até 40 anos, com gastos em torno de 800 milhões de dólares, os estudos *in silico* demonstram ser bastante relevantes para a redução de custos e tempo. Nesse contexto, o *docking* molecular consiste em uma metodologia *in silico* que, baseada na estrutura do alvo, é capaz de determinar as interações e a afinidade de ligação de moléculas em alvos biológicos, auxiliando na triagem de compostos com potencial atividade biológica frente a um alvo cuja estrutura já é conhecida (SABE et al., 2021; PINZI & RASTELLI, 2019; LOHNING et al., 2017).

Para a descoberta de novos candidatos a fármacos, destacam-se os derivados acridínicos, compostos heterocíclicos com diversas propriedades farmacológicas, sobretudo atividade antitumoral, relacionada à capacidade do núcleo da acridina em se intercalar entre pares de bases nitrogenadas do DNA, distorcendo sua estrutura. Somado a isso, os derivados acridínicos podem ser capazes, também, de inibir a atividade de enzimas que atuam sobre o DNA, como as topoisomerasas, bem como a glicoproteína-P, associada à resistência de tumores a múltiplos medicamentos

(*Multiple Drug Resistance* – MDR), e proteínas quinases (NOWAK, 2017; ZHANG et al., 2014; CHOLEWIŃSKI et al., 2011).

Outro núcleo que merece destaque é a quinolina, que, também, consiste em um fragmento privilegiado associado a fármacos naturais ou sintéticos, com diversas atividades biológicas, como antineoplásica, anti-inflamatória, antiviral, antimicrobiana, antiparasitária, anticonvulsivante, entre outras. No caso da atividade antitumoral, os derivados quinolínicos apresentam vários mecanismos de supressão do crescimento celular, que incluem inibição de reparo do DNA, topoisomerase, tirosina quinases e polimerização de tubulinas (MOHASSAB et al., 2020; JAIN et al., 2019).

Considerando a relevância dos estudos *in silico* bem como dos núcleos de acridina e quinolina para o desenvolvimento de novos compostos ativos contra o câncer, este trabalho tem como objetivo planejar novos derivados acridínicos e quinolínicos com potencial atividade antitumoral, por meio de *docking* molecular.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Identificação de novos *hits*, por meio de estudos de CADD de derivados fenilimino-acridínicos e difenilimino-quinolínicos, planejados a partir da estrutura de um derivado espiro-acridínico com atividade antitumoral.

2.2 Objetivos Específicos

- Planejar novos derivados a partir da estrutura de um derivado espiro-acridínico com promissora atividade antitumoral.
- Realizar estudos de interação com DNA, em ambiente virtual, com os derivados planejados, por meio de *docking* molecular.
- Realizar estudo de *docking* molecular com os compostos em alvos relevantes para o câncer.
- Avaliar o perfil farmacocinético *in silico* dos quatro derivados mais promissores nos estudos de *docking* molecular, por meio de serviços web gratuitos.

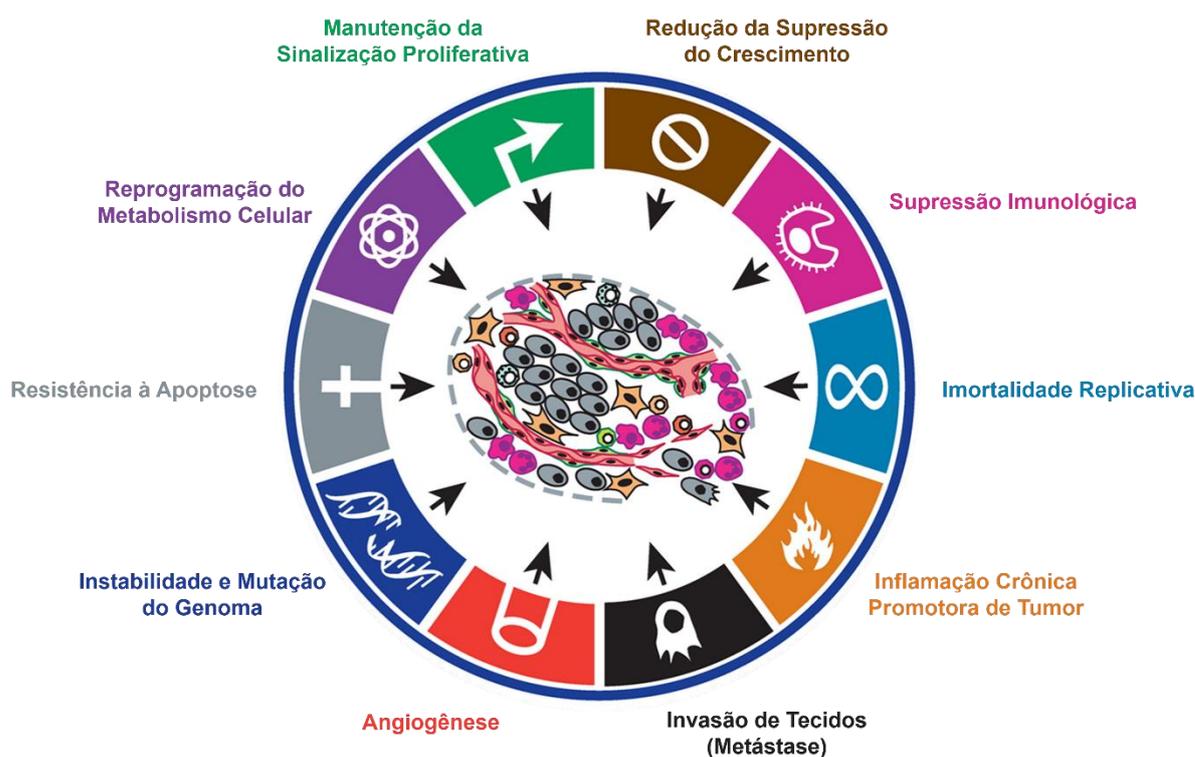
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Câncer

Ao longo da vida, a maioria das células do organismo são mantidas sob homeostase, por meio de divisões das células-tronco adultas, renovação tecidual através de sua diferenciação progressiva e morte celular programada (apoptose). Entretanto, alterações no genoma das células-tronco, por mutações, podem aumentar a expansão clonal de suas células-filhas, estimulando vias de proliferação, ao mesmo tempo que ocorre inibição de apoptose, no processo conhecido como carcinogênese (ACHA-SAGREDO et al., 2022; CURTI et al., 2017; GRUNT & VALENT, 2022).

Para isso, as células cancerígenas adquirem dez principais características (Figura 1), conhecidas como *Hallmarks*, que incluem manutenção da sinalização proliferativa, reduzida supressão do crescimento celular, imortalidade associada à replicação, resistência à apoptose, instabilidade e mutação de genes, inflamação crônica, reprogramação do metabolismo celular, supressão imunológica, angiogênese e metástase (GRUNT & VALENT, 2022; HANAHAN & WEINBERG, 2011).

Figura 1: Principais Características das Células Cancerígenas

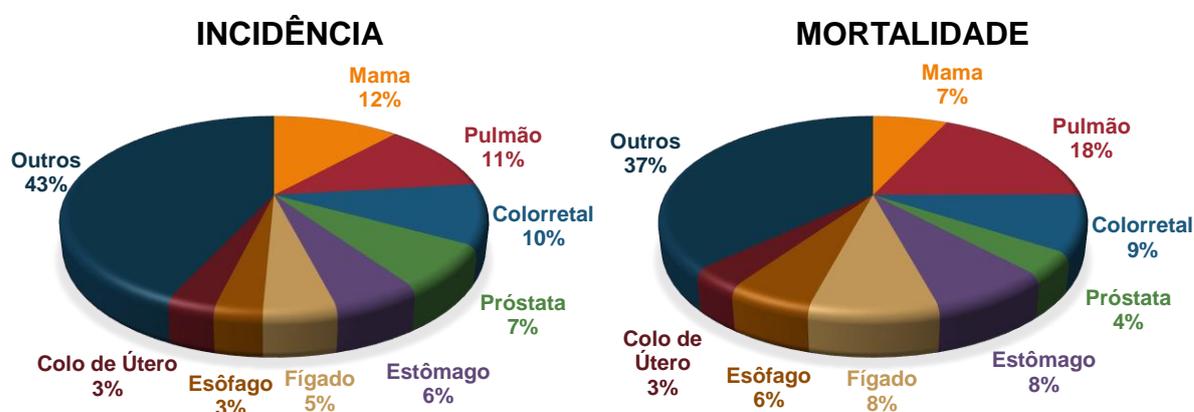


Fonte: Adaptado de HANAHAN & WEINBERG (2011).

De acordo com o *Global Cancer Observatory (GLOBOCAN)*, o câncer consiste na principal causa de morte em habitantes de 112 países, com menos de 70 anos, ocupando o primeiro ou o segundo lugar em mortalidade. Somado a isso, estima-se que houve aproximadamente 19,3 milhões de novos casos e cerca de 10 milhões de mortes por câncer, mundialmente, no ano de 2020 (SUNG et al., 2021).

Dentre os diversos tipos, o câncer de mama ocupa o primeiro lugar em incidência, seguido do câncer de pulmão, que apresenta a maior mortalidade por câncer (SUNG et al., 2021) (Figura 2).

Figura 2: Incidência e Mortalidade Mundial do Câncer em 2020



Fonte: Adaptado de SUNG et al. (2021).

Mediante essa crescente estimativa, o processo de descoberta e de desenvolvimento de novos fármacos tem sido uma busca constante para os pesquisadores no mundo inteiro e, para isso, o conhecimento de alvos moleculares relevantes para a fisiopatologia da doença é imprescindível.

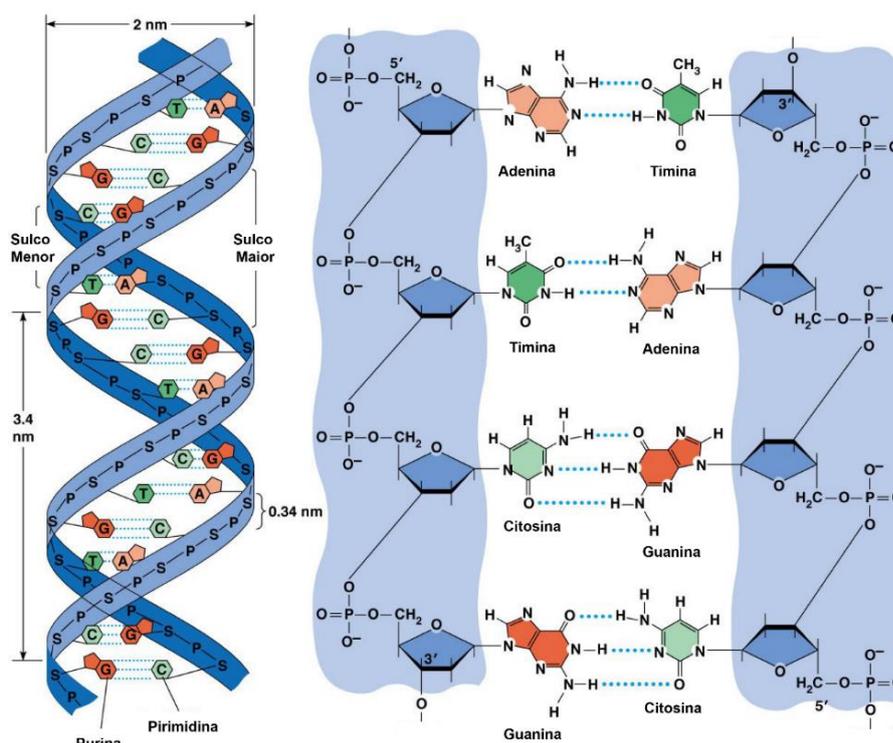
3.2 Alvos relevantes no desenvolvimento de moléculas antitumorais

3.2.1 Interação com DNA

O DNA é um polímero de nucleotídeos, que incluem adenina, citosina, guanina e timina, as quais são unidas por ligações fosfodiéster. A cadeia de fosfato mantém contato com o meio aquoso intracelular e as bases nitrogenadas permanecem no interior, devido ao seu caráter planar e hidrofóbico. Além disso, o DNA existe em forma de dupla hélice (Figura 3), sustentada por ligações de hidrogênio entre as bases

nitrogenadas, das quais três ocorrem entre citosina e guanina e duas são estabelecidas entre adenina e timina. Outras interações importantes compreendem a atração eletrostática entre os grupos fosfato e os cátions na solução aquosa, bem como ligações não covalentes, como interações π - π entre os anéis aromáticos (BARRA & NETO, 2015; BILGE et al., 2022; MOLLARASOULI et al., 2020).

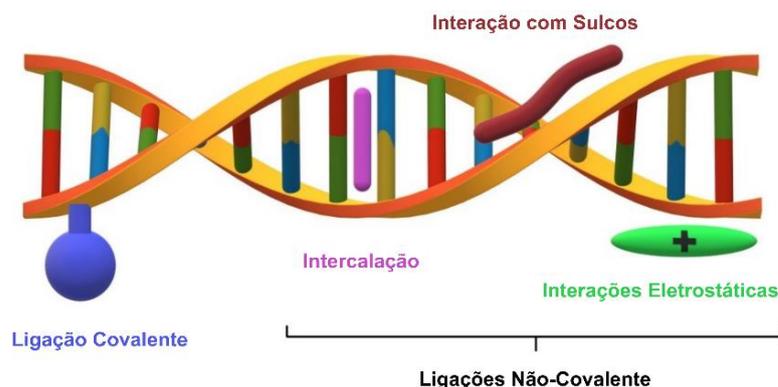
Figura 3: Estrutura Molecular do DNA



Fonte: Adaptado de ROY et al. (2019).

Devido ao seu papel em diversos processos biológicos, o DNA é um alvo promissor para o desenvolvimento de novos compostos com propriedades antiproliferativas. Pequenas moléculas orgânicas podem formar complexos com o DNA, por meio de diversos tipos de interação com a dupla-hélice, e, com isso, alterar suas propriedades funcionais e sua estabilidade, inibindo a replicação, a transcrição ou expressão gênica nas células-alvo, suprimindo a proliferação celular (ALMEIDA et al., 2017; MOLLARASOULI et al., 2020).

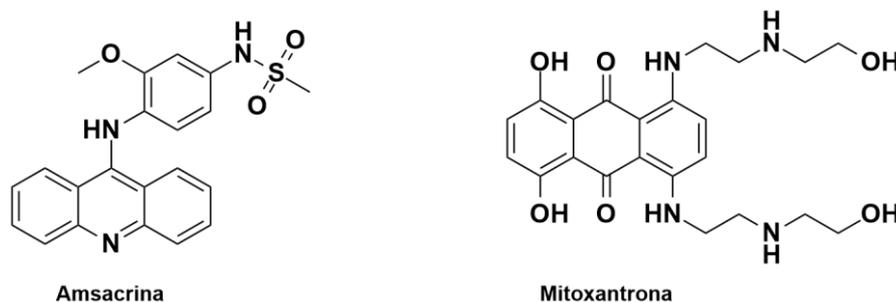
Para isso, existem quatro principais tipos de interação, ilustradas na Figura 4: ligação covalente, intercalação, interação com os sulcos maior ou menor, bem como interações eletrostáticas inespecíficas com as cargas negativas dos grupos fosfato (RAMOTOWSKA et al., 2021).

Figura 4: Principais Tipos de Interação com o DNA

Fonte: Adaptado de RAMOTOWSKA et al. (2021).

A intercalação consiste em uma interação não covalente entre compostos espacialmente planos e os pares de bases nitrogenadas da dupla hélice do DNA. Geralmente, os intercaladores contêm anéis aromáticos ou heteroaromáticos, que se posicionam perpendicularmente ao eixo helicoidal e promovem, principalmente, forças eletrostáticas e hidrofóbicas, com destaque para as interações de empilhamento π - π (RAMOTOWSKA et al., 2021).

A inserção do intercalador modifica a estrutura terciária do DNA, afetando os ângulos de torção relacionados aos grupos fosfato. Isso promove um afastamento das bases nitrogenadas, levando ao alongamento, enrijecimento e desenrolamento da dupla hélice, o que impede a replicação e, assim, inibe o crescimento tumoral. Exemplos de fármacos intercaladores incluem Amsacrina (*m*-AMSA) e Mitoxantrona, representados na Figura 5 (BARRA & NETO, 2015; ALMEIDA et al., 2017).

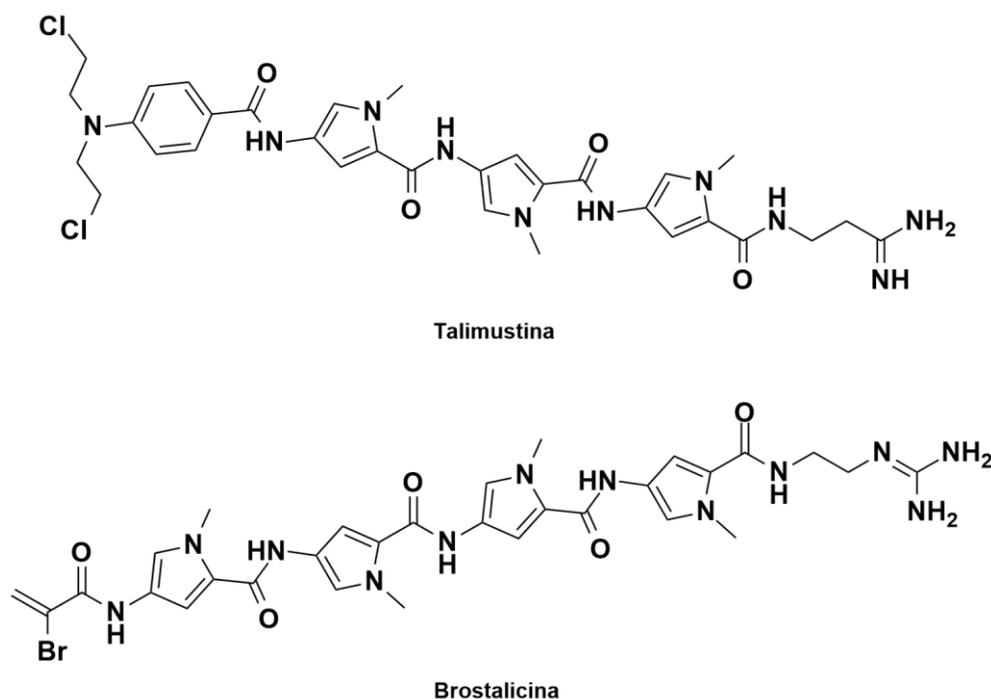
Figura 5: Estrutura Química da Amsacrina e da Mitoxantrona

Fonte: Adaptado de ALMEIDA et al. (2017).

Os compostos aromáticos com sistemas de anéis não fundidos, por sua vez, possuem maior flexibilidade e, conseqüentemente, podem assumir conformações

mais apropriadas para interagir com os sulcos do DNA. Esse tipo de interação ocorre em duas etapas: a molécula sofre uma transferência hidrofóbica da solução aquosa intracelular para os sulcos do DNA, para, depois, realizar ligações com as bases nitrogenadas (ALMEIDA et al., 2017; MOLLARASOULI et al., 2020). Exemplos de moléculas ativas contra o câncer e capazes de interagir com os sulcos do DNA incluem a Talimustina e a Brostalicina, representadas na Figura 6 (CAI et al., 2009).

Figura 6: Estrutura Química da Talimustina e da Brostalicina



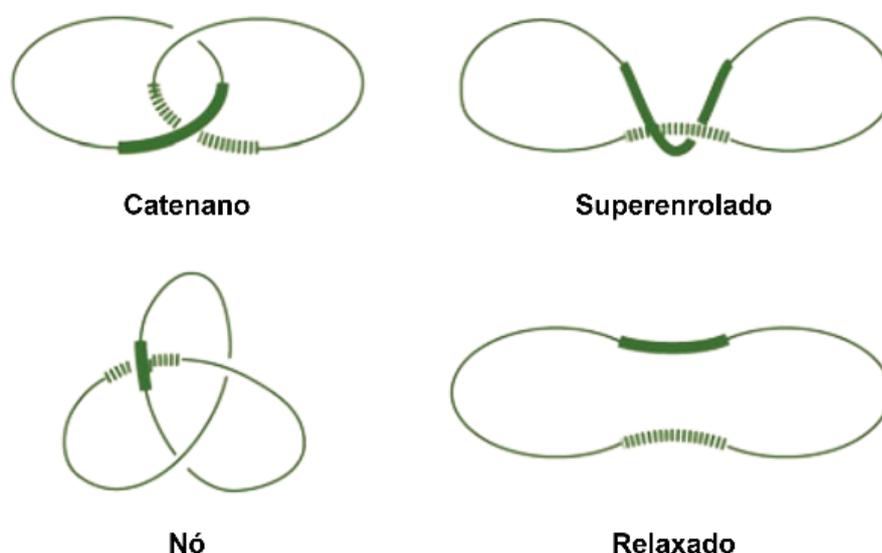
Fonte: Adaptado de CAI et al. (2009).

3.2.2 Topoisomerase IIa

A topoisomerase (Topo) é uma enzima nuclear que regula a topologia do DNA durante diversos processos celulares, como replicação, transcrição, condensação de cromossomos e segregação de cromatina. Para isso, ela reduz a tensão helicoidal e os nós, durante a compactação do genoma nas células, e o superenrolamento do DNA que ocorre nas regiões flanqueadoras onde as duas fitas são separadas pelas enzimas polimerase e helicase, que poderia levar à interrupção da replicação e da transcrição. Isso ocorre devido à estrutura de dupla hélice do DNA e à ausência de rotação livre no interior das células (ALMEIDA et al., 2017; POMMIER et al., 2010).

Além disso, durante a replicação, devido à estrutura de dupla hélice do DNA, ocorre a formação de catenanos (Figura 7), que devem ser desvinculados pela ação das topoisomerasas, no processo conhecido como decatenação, antes que ocorra a citocinese. Dessa forma, a Topo demonstra ser um alvo relevante para a terapia do câncer, uma vez que se apresenta em níveis elevados nos tumores, o que é essencial para a proliferação celular acelerada, uma das principais características do câncer (ALMEIDA et al., 2017; POMMIER et al., 2010).

Figura 7: Formas Topológicas do DNA

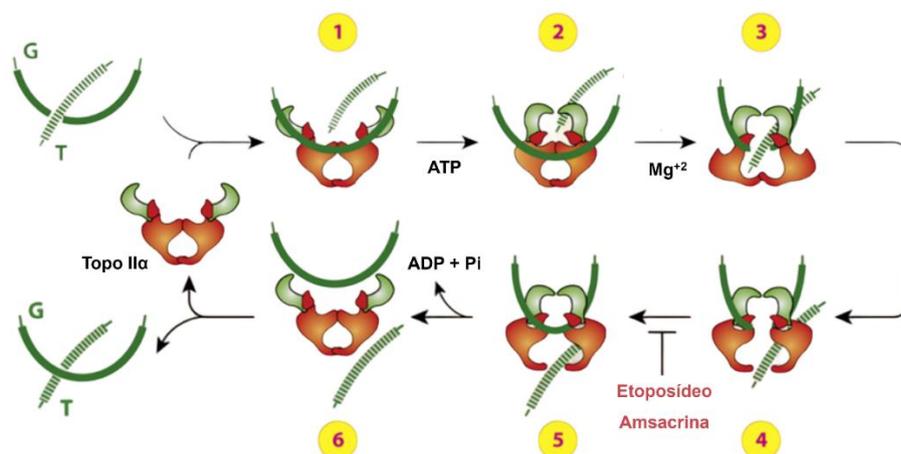


Fonte: Adaptado de POMMIER et al. (2010).

A topoisomerase pode ser classificada em dois tipos: Topo I e Topo II, sendo esta considerada mais relevante para a proliferação celular em relação à primeira, sobretudo a isoforma II α , que apresenta níveis elevados apenas em células proliferativas. A Topo II α consiste em um homodímero que promove a clivagem das duas fitas de DNA simultaneamente, utilizando Mg⁺² e ATP, e têm preferência por regiões de cruzamento de DNA, que, geralmente, contém formas topológicas de superenrolamento, nós e catenanos (KARKI et al., 2014; POMMIER et al., 2010).

Durante o processo de desenrolamento do DNA, por meio da ação da Topo II α (Figura 8), existem dois segmentos de DNA. O primeiro é o G (portão ou “gate”), que é clivado pela enzima, para que, depois, o segmento T (“transportado”) possa passar através do complexo Topo-DNA (POMMIER et al., 2010).

Figura 8: Mecanismo de Ação da Topoisomerase II α



Fonte: Adaptado de POMMIER et al. (2010).

Após a ligação com o ATP, a Topo II α sofre uma mudança conformacional, de sua forma aberta para grampo fechado (2ª Etapa), como representado na Figura 8. Em seguida, na presença de Mg²⁺, os resíduos de Tyr804 de cada monômero da enzima atacam ligações fosfodiéster nas extremidades 5' do segmento G, permitindo a passagem do segmento T (3ª e 4ª Etapas). Posteriormente, este é liberado do complexo Topo-DNA e as extremidades clivadas do segmento G são novamente vinculadas dentro do complexo homodimérico da Topo II α (5ª e 6ª Etapas). Por fim, a hidrólise de outra molécula de ATP promove a restauração da conformação de pinça aberta da enzima, com a liberação do segmento G (6ª Etapa) (POMMIER et al., 2010).

A inibição da Topo II α pode ocorrer de forma irreversível, por meio da ação dos venenos de topoisomerase, que tornam a clivagem transitória do DNA em permanente e, com isso, transformam a enzima em um “veneno celular”, promovendo a apoptose das células tumorais. Esse é o caso do Etoposídeo e da Amsacrina (*m*-AMSA), que inibem a religação do DNA, nas etapas 4 e 5 representadas na Figura 8. Os inibidores catalíticos da Topo II α , por sua vez, previnem a ligação entre o DNA e a Topo II α , para estabilizar os complexos não covalentes da topoisomerase com o DNA ou inibir o sítio de ligação ATPase (ALMEIDA et al., 2017; POMMIER et al., 2010).

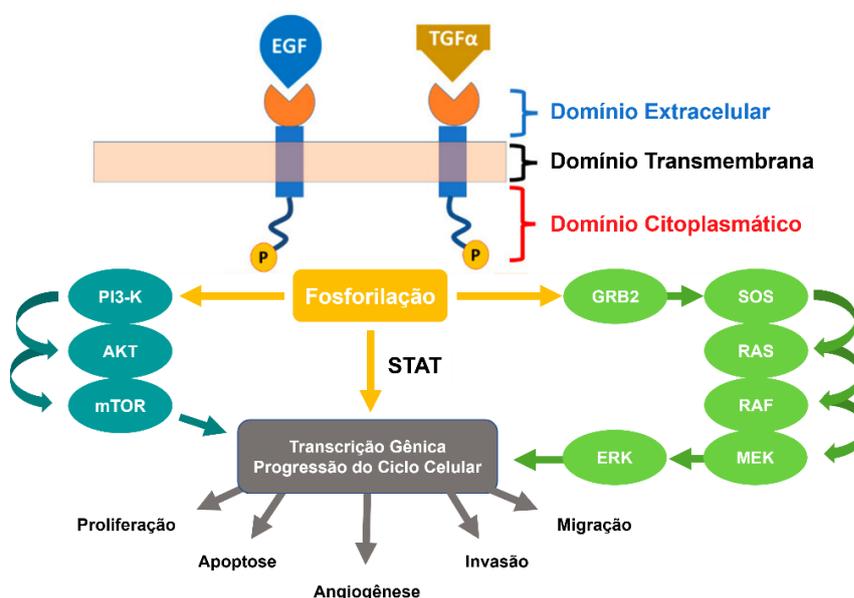
3.2.3 Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR)

O Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR), também conhecido como HER1 e ErbB-1, é uma proteína transmembrana que contém três domínios. O

primeiro consiste no domínio extracelular de ligação ao Fator de Crescimento Epidérmico (EGF), enquanto o segundo corresponde ao domínio transmembrana e o terceiro representa o domínio citoplasmático (Figura 9). Este, por sua vez, contém duas subunidades: proteína tirosina quinase (PTK) e fosforilação C-terminal (ABOUREHAB et al., 2021).

A via de sinalização do EGFR é essencial para o crescimento, a proliferação e a sobrevivência das células da epiderme. Seu mecanismo de ação consiste na ativação de cascatas de sinalização (Figura 9), após a ligação de agonistas como o EGF e o Fator de Crescimento Transformador α (TGF- α), seguido de dimerização e autofosforilação. Existem três principais cascatas, com ação anti-apoptose, são elas: sinalização mediada por fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K); progressão do ciclo celular, por meio do eixo RAS-RAF-MEK-ERK; e ativação de proteínas STATs, também relacionadas à proliferação e inibição de apoptose (LEE et al., 2018; ABOUREHAB et al., 2021; QUESNELLE et al., 2007).

Figura 9: Cascata de Sinalização do EGFR

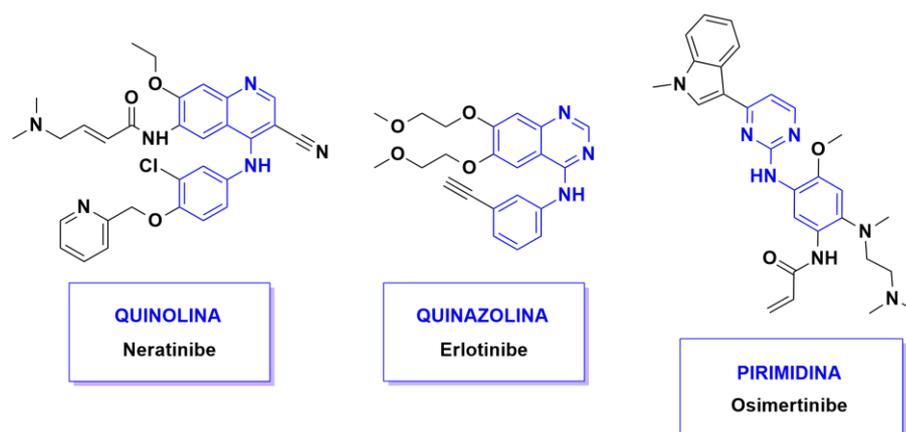


Fonte: Adaptado de ABOUREHAB et al. (2021).

O domínio PTK do EGFR é responsável pela transferência de um grupamento fosfato, a partir do ATP, para a hidroxila presente nos resíduos de tirosina das quinases, para iniciar as cascatas da sinalização proliferativa. Essa subunidade contém dois lobos, entre os quais está localizado o sítio de ligação com o ATP. Os inibidores de tirosina quinase (EGFR-TKI) promovem o bloqueio competitivo da

fosforilação, por mimetizarem o ATP, e podem ser classificados conforme sua estrutura química em derivados de quinolina, quinazolina e pirimidina. A Figura 10 mostra exemplos de EGFR-TKI aprovados pela FDA (ABOUREHAB et al., 2021; MARTIN-FERNANDEZ et al., 2019).

Figura 10: Exemplos de EGFR-TKIs



Fonte: Adaptado de ABOUREHAB et al. (2021).

A partir do conhecimento de alvos moleculares e alguns de seus ligantes, a química farmacêutica utiliza diversas ferramentas que podem auxiliar na descoberta e no desenvolvimento de novos candidatos a fármacos de forma planejada e eficiente.

3.3 Planejamento molecular

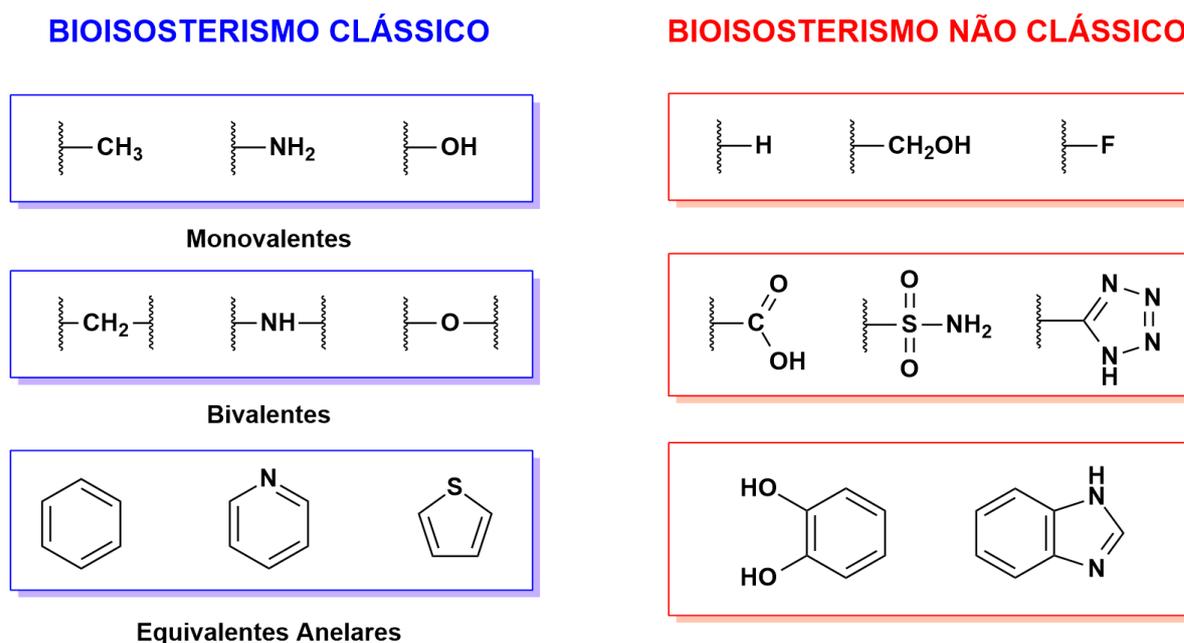
Historicamente, os fármacos eram descobertos apenas por meio do método de tentativa e erro, sendo obtidos, exclusivamente, através do isolamento de produtos oriundos de plantas ou microorganismos. Porém, com os avanços tecnológicos e científicos, houve o surgimento de técnicas computacionais, bem como a triagem de alto rendimento ou High-Throughput Screening (HTS). Com isso, tornou-se possível a síntese de bibliotecas de moléculas, avaliadas frente a um alvo biológico específico (PICCIRILLO & AMARAL, 2018; BERDIGALIYEV & ALJOFAN, 2020). O uso dessas diversas técnicas e o conhecimento de interações intermoleculares, energia de ligação e estereoquímica, durante a interação ligante-alvo, possibilitaram a descoberta de *leads*, protótipos com a atividade biológica desejada. Dentre as ferramentas utilizadas para o seu planejamento, o bioisosterismo é amplamente utilizado para o desenho de moléculas mais seguras e eficazes (JAYASHREE et al., 2022).

3.3.1 Bioisosterismo

Em 1932, Erlenmeyer estabeleceu o conceito de isósteros como átomos, moléculas ou íons que possuem idênticas camadas eletrônicas de valência. Já o conceito de Bioisosterismo surgiu na década de 1950, quando Friedman definiu os bioisósteros como todos os átomos e moléculas que se encaixam na definição ampla de isosterismo e possuem atividades biológicas similares. Em outras palavras, o bioisosterismo tem como objetivo identificar fragmentos moleculares que sejam intercambiáveis entre si, sem que haja comprometimento significativo na atividade biológica (JAYASHREE et al., 2022; BHATIA et al., 2011).

Em 1970, Alfred Burger classificou o bioisosterismo em dois subtipos: clássico e não clássico. A primeira categoria compreende os átomos e as moléculas que obedecem à definição de isosterismo de Erlenmeyer, possuindo mesma valência e equivalência anelar. Os bioisósteros não clássicos, por sua vez, são moléculas que não possuem o mesmo número de átomos nem obedecem às regras eletrônicas do isosterismo clássico, porém, conseguem produzir atividades biológicas semelhantes (JAYASHREE et al., 2022; BHATIA et al., 2011). Exemplos de ambos os tipos de Bioisosterismo podem ser visualizados na Figura 11.

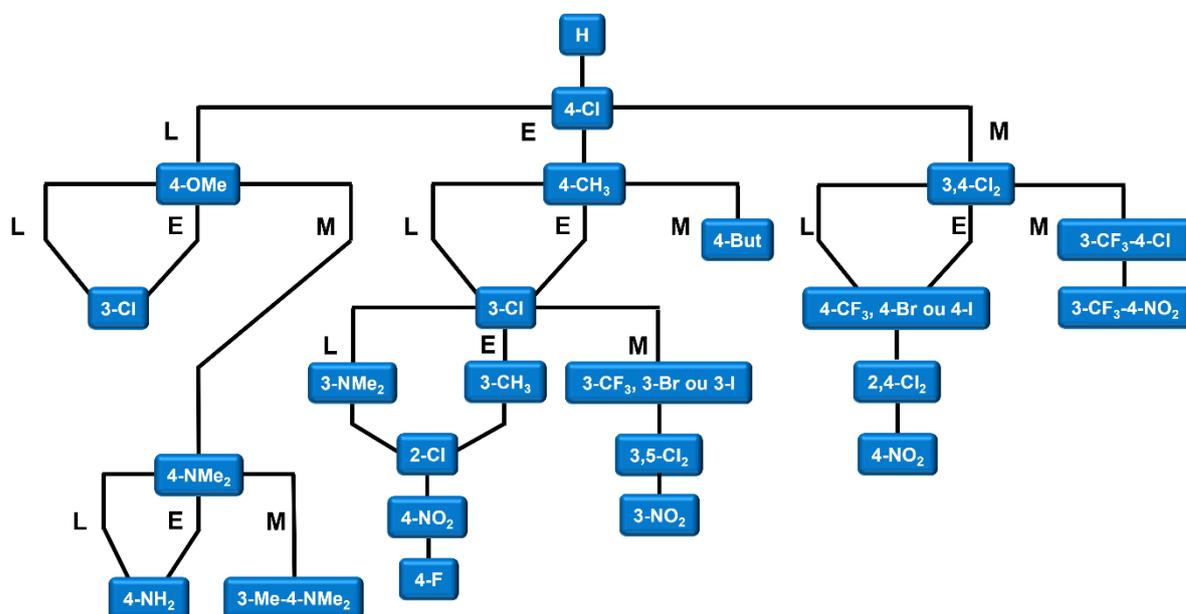
Figura 11: Exemplos de Bioisósteros Clássicos e Não Clássicos



Fonte: Adaptado de JAYASHREE et al. (2022).

Tendo em vista que existem diversos substituintes possíveis bem como posições no anel benzênico, existe uma certa dificuldade em estabelecer a melhor estratégia de substituição em sistemas aromáticos, para potencializar a atividade de uma molécula. Dessa forma, John Topliss desenvolveu uma metodologia para auxiliar na escolha de substituições para a otimização de compostos, levando em consideração a lipofilia e fatores estérico-eletrônicos. O método é conhecido como Árvore de Topliss e consiste em uma árvore de decisão que serve para orientar a substituição no planejamento e na síntese de novos derivados, partindo do substituinte 4-cloro (Figura 12) (TOPLISS, 1972; RICHTER, 2017).

Figura 12: Árvore de Topliss para Substituintes Aromáticos



Fonte: Adaptado de TOPLISS (1972). **Legenda:** L = Menor Potência, E = Potência Similar, M = Maior Potência.

3.3.2 Simplificação Molecular

A simplificação estrutural é uma estratégia de modificação molecular que reduz a complexidade de compostos naturais ou sintéticos, através da remoção de grupos não essenciais e da manutenção de grupos farmacofóricos. Seu principal objetivo consiste em identificar moléculas menos complexas com atividade biológica comparável ou superior ao derivado simplificado, além de otimizar suas propriedades físico-químicas e perfil farmacocinético. A eliminação de centros quirais, a redução do

número de anéis e a alteração de sua conectividade (anéis fusionados, ligados ou em ponte) são abordagens bastante utilizadas (WANG et al., 2019).

3.3.3 Computer-Aided Drug Design (CADD)

Considerando a complexidade dos sistemas biológicos, o desenvolvimento de novos compostos ativos é um processo desafiador, que exige colaboração entre diversas áreas da ciência, como biologia, química, farmacologia, pesquisa clínica, informática, entre outras. Para isso, o fluxo de descoberta de novos fármacos consiste em identificar o alvo, para selecionar os compostos mais promissores ou “hits” e, em seguida, otimizá-los em um composto lead, o qual deve ser submetido a ensaios pré-clínicos e clínicos. Todo esse processo necessita de alto custo financeiro, cerca de U\$ 2,5 bilhões, e demanda cerca de 10 a 17 anos (NASCIMENTO et al., 2022).

Nesse sentido, o planejamento de fármacos auxiliado por computador (CADD) surgiu com os avanços da tecnologia e tem sido amplamente utilizado com o intuito de agilizar o processo de desenvolvimento de fármacos, bem como reduzir os gastos e a taxa de falhas. Para essa finalidade, o CADD é uma ferramenta que utiliza recursos de computação, como bancos de dados, algoritmos, programas, serviços web e softwares de visualização 3D, e fornece suporte ao planejamento de pequenas moléculas direcionadas a alvos biológicos relevantes para a fisiopatologia de determinadas doenças (WANG et al., 2018; DAINA et al., 2021).

Além disso, com o surgimento da cristalografia de raios-X e da ressonância magnética nuclear, foi possível comprovar as estruturas de diversos alvos e, então, surgiu o planejamento de fármacos baseado na estrutura do alvo ou *Structure-Based Drug Design* (SBDD), que permite a visualização do processo de ligação de pequenas moléculas em alvos biológicos. Para isso, o SBDD utiliza algumas ferramentas do CADD, como o *docking* molecular, para determinar a energia livre de ligação (ΔG) e as interações envolvidas no reconhecimento molecular do alvo. Com isso, o *docking* pode prever a conformação energeticamente mais favorável dentro do sítio ativo e classificar os compostos de acordo com sua afinidade, através de funções de pontuação específicas (WANG et al., 2018; FERREIRA et al., 2015).

Ademais, falhas no processo de desenvolvimento de fármacos envolvem, também, propriedades farmacocinéticas inapropriadas, invalidando os compostos testados em ensaios *in vivo* ou clínicos. Dessa forma, propriedades de absorção,

distribuição, metabolismo e eliminação podem ser determinadas utilizando métodos computacionais (NASCIMENTO et al., 2022; FERREIRA et al., 2015).

Além dessas, existem diversas outras estratégias de planejamento molecular e otimização, que podem ser usadas isoladas ou associadas, de modo a garantir uma maior diversidade estrutural e probabilidade de encontrar uma molécula promissora a ser candidata a fármaco. Essas ferramentas podem ser aplicadas em estruturas ou subestruturas privilegiadas, como os derivados acridínicos e quinolínicos, *scaffolds* bastante discutidos na literatura.

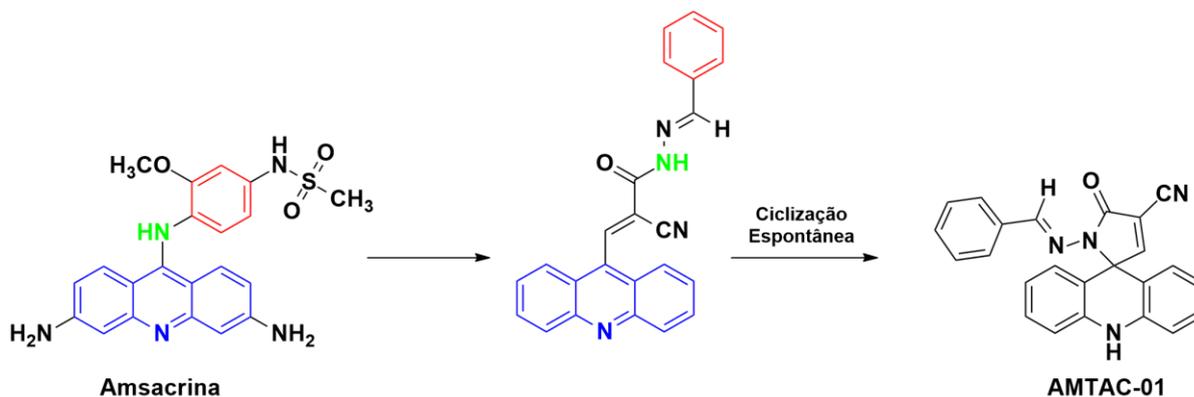
3.4 Derivados acridínicos

Os derivados acridínicos são uma classe de compostos heterocíclicos que contém uma ampla variedade de propriedades farmacológicas, as quais incluem atividade antimicrobiana, antiparasitária, antiviral e, sobretudo, antitumoral. Isso porque o núcleo de acridina demonstra ser um farmacóforo importante para a interação com o DNA, seja por intercalação, seja por interação com os sulcos, levando à inibição da replicação, da transcrição ou do reparo do DNA. Além disso, diversos compostos acridínicos também demonstraram inibição das enzimas Topo I e II, provocando danos ao DNA e, conseqüentemente, impedindo sua replicação, o que induz a apoptose celular (RESCIFINA et al., 2014).

A Amsacrina foi um dos primeiros derivados acridínicos introduzidos na clínica, sendo utilizada no tratamento de leucemia mieloide aguda refratária e dos linfomas de Hodgkin e não Hodgkin, devido à sua capacidade de intercalação com DNA e inibição seletiva da Topo II (RESCIFINA et al., 2014; ZEGHADA et al., ALMEIDA et al., 2017). Considerando a estrutura da Amsacrina, Almeida e col. (2016) planejaram e sintetizaram novos derivados espiro-acridínicos (AMTAC), por meio da condensação de intermediários N-acilidrazônicos com acridina-9-carboxaldeído e subsequente ciclização, para a formação do anel espiro (Figura 13).

O protótipo dos derivados espiro-acridínicos (AMTAC-01), foi capaz de formar complexo com o DNA de timo de bezerro (ctDNA), na concentração de 50 μM , evidenciado por hipocromicidade significativa (92,87%) e deslocamento hipsocrômico ($\Delta\lambda = 14 \text{ nm}$), em ensaio de titulação espectrofotométrica em tampão aquoso (pH 7,6). Somado a isso, o AMTAC-01 apresentou, também, constante de inibição (K_b) dentro da faixa de 10^4 M^{-1} , indicativo de intercalação com DNA (ALMEIDA et al., 2016).

Figura 13: Planejamento dos Derivados Espiro-Acridínicos (AMTAC)



Fonte: Adaptado de ZEGHADA et al. (2020); ALMEIDA et al. (2016).

Almeida e colaboradores (2016) demonstraram, também, que o AMTAC-01 atua como veneno de Topo II α , na concentração de 100 μ M, em comparação com a *m*-AMSA (50 μ M). Além disso, em ensaio colorimétrico de suforrodamina B, o derivado espiro-acridínico foi capaz de inibir o crescimento de diversas linhagens de câncer, como leucemia mieloide crônica (K-562), carcinoma de pulmão e mama (NCI-H460 e MCF-7), bem como câncer de cólon e próstata (HT-29 e PC-3), com valores de concentração inibitória de 50% do crescimento (GI₅₀) inferiores a 7 μ M.

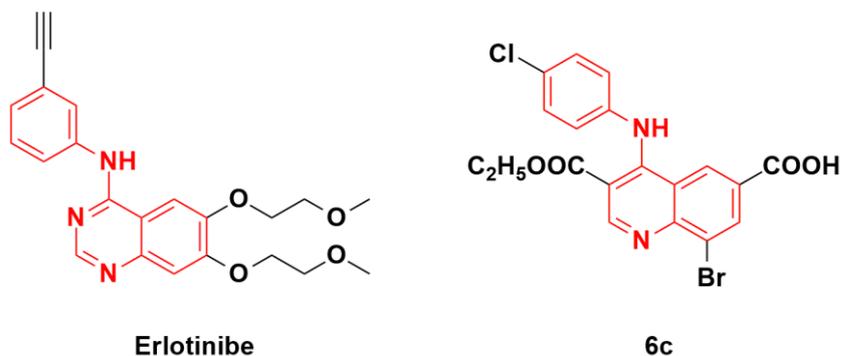
3.5 Derivados quinolínicos

A quinolina, benzopiridina ou benzazina é um *scaffold* bastante relevante para o desenvolvimento de fármacos, visto que está presente em moléculas com diversas atividades biológicas, sobretudo, antitumoral. Devido às suas características estérico-eletrônicas, a quinolina é uma estrutura bastante versátil, pois é capaz de promover e estabilizar interações com vários alvos biológicos relacionados à progressão do câncer, como microtúbulos, receptores hormonais, anidrase carbônica, timidilato sintase, receptores de tirosina quinase, topoisomerases, DNA, entre outros (ILAKIYALAKSHMI & NAPOLEON, 2022; LAURIA et al., 2021).

Nesse sentido, Abdellatif e colaboradores (2017) sintetizaram um novo derivado quinolínicos com atividade antitumoral, 6c (Figura 14), a partir da estrutura do Erlotinibe, inibidor de EGFR aprovado pela FDA. O composto 6c demonstrou atividade antitumoral para câncer de mama (MCF-7) e de pulmão (A549), em ensaio colorimétrico MTT, com valores de concentração inibitória de 50% (IC₅₀) de 3,42 μ M

e 5,97 μM , respectivamente, superando o Erlotinibe para inibição do crescimento do câncer de pulmão, que exibiu IC_{50} de 19,26 μM .

Figura 14: Planejamento do Composto 6c



Fonte: Adaptado de ABDELLATIF et al. (2017).

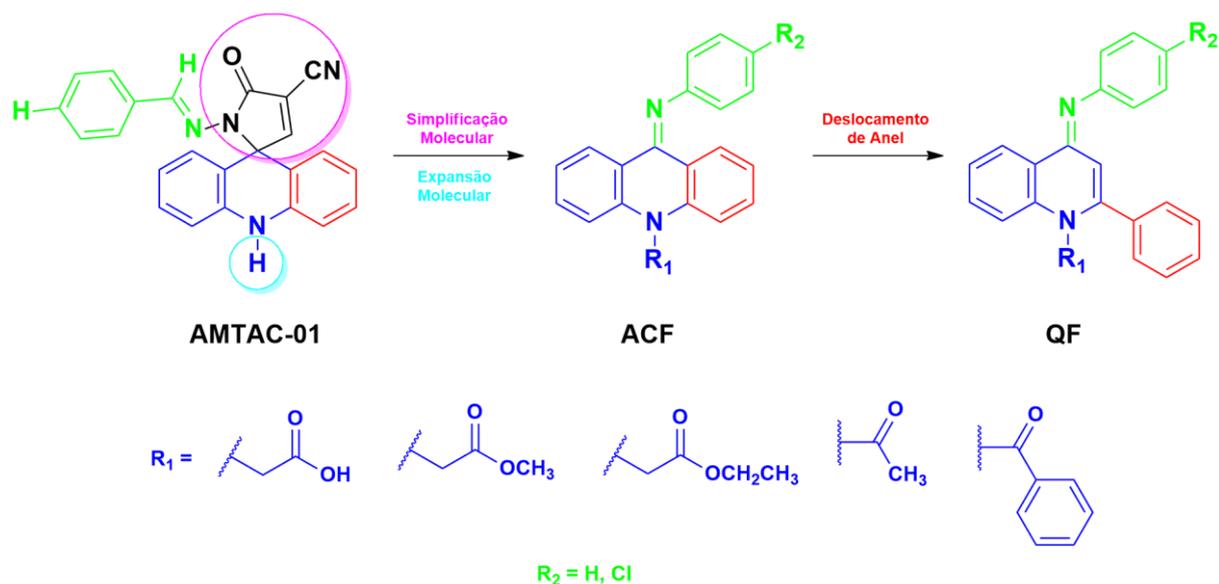
Portanto, é evidente a importância dos *scaffolds* de acridina e quinolina para o desenvolvimento de candidatos a fármacos com potencial atividade antitumoral, por meio de interação com DNA e inibição de alvos relevantes para a fisiopatologia do câncer, como a Topo II α e o EGFR. Logo, a proposta desse trabalho consiste em planejar novos derivados com possível atividade antineoplásica, considerando essas estruturas privilegiadas e as estratégias de modificação, como simplificação molecular e bioisosterismo. Além disso, foram utilizadas ferramentas *in silico*, como o *docking* molecular e serviços web gratuitos, a fim de avaliar sua afinidade frente aos alvos discutidos bem como sua farmacocinética, respectivamente.

4 METODOLOGIA

4.1 Planejamento dos Derivados

Para o planejamento dos novos derivados (Figura 15), foi considerada a estrutura do AMTAC-01, a partir do qual foi realizada, inicialmente, uma simplificação molecular, através de remoção do anel espiro 2-oxo-2,5-diidro-1H-pirrol-3-carbonitrila e substituição por um grupo imino, originando a série ACF. Subsequentemente, foi feita a dissociação do sistema de anéis fundidos da acridina, por meio do deslocamento de um dos anéis aromáticos, levando à formação da série QF.

Figura 15: Planejamento dos Derivados Fenilimino-Acrídnicos (Série ACF) e Difenilimino-Quinolínicos (Série QF)



Fonte: Aatoria (2022).

Além disso, foi feita uma expansão molecular, por meio da adição de diferentes grupamentos alquílicos ao nitrogênio endocíclico da acridina e da quinolina, que incluem um resíduo de ácido acético (A), ésteres de metila e etila (B e C), bem como cetonas metílica e fenílica (D e E), conforme ilustrado na Figura 15. Além disso, levando em consideração a árvore de decisão de Topliss, foi adicionado o substituinte cloro ao anel benzilidênico na posição *para*, a fim de avaliar sua contribuição para a afinidade com os alvos e para a farmacocinética, em comparação com o hidrogênio.

4.2 Docking Molecular

4.2.1 Seleção dos Alvos

Inicialmente, as estruturas cristalográficas do DNA de fita dupla foram obtidas a partir do *Protein Data Bank* (PDB). Para a avaliação de intercalação e interação com os sulcos, foram selecionadas as estruturas com os códigos ID 1G3X e 1BNA, respectivamente, levando em consideração que a primeira contém a acridina co-cristalizada em um sítio de intercalação (SHAHABADI & HADIDI, 2022) e a segunda é amplamente utilizada por grupos de pesquisa como um modelo de DNA de fita dupla para determinar regiões de ligação com os sulcos (CHAUDHARY et al., 2022).

Posteriormente, o banco de dados de proteínas *UniProt Knowledgebase* (UniProtKB) foi utilizado para a seleção dos alvos Topo II α (ID: 5GWK) e EGFR (ID: 4HJO), provenientes do PDB. Para isso, foram consideradas apenas estruturas que contêm inibidores co-cristalizados relevantes, cuja estrutura apresenta tamanho e estrutura química semelhantes aos derivados planejados. Além disso, foi utilizado, também, o fator R como indicador de qualidade para as estruturas cristalográficas analisadas, sendo selecionada a de menor valor (WARREN et al., 2012).

4.2.2 Preparo dos Ligantes

As moléculas foram desenhadas no *ChemDraw* e submetidas ao *Chem3D*, para minimização de energia, por meio do método de mecânica molecular e utilizando o campo de força MM2 (ALLINGER, 1977), a fim de obter a conformação mais estável e, assim, impedir a formação de interações não covalentes desvantajosas, comprimentos e ângulos de ligação desfavoráveis e rotações de torção prejudiciais (CHOWDHURY et al., 2020). Por fim, as moléculas foram adicionadas ao *software AutoDock Tools 1.5.6* (ADT) (MORRIS et al., 2009), para a atribuição de cargas de Gasteiger (GASTEIGER & MARSILI, 1980) e mesclagem de hidrogênios não polares.

4.2.3 Preparo dos Alvos

As estruturas dos alvos foram submetidas no *PyMol*, para remoção do ligante co-cristalizado, das moléculas de água e de íons que não fazem parte do sítio ativo.

Em seguida, através do ADT, os alvos foram processados no formato .pdbqt, necessário ao reconhecimento do software, por meio da adição dos hidrogênios polares e das cargas de Gasteiger (SRIRAMULU et al., 2020).

4.2.4 Simulação de Docking Molecular

Inicialmente, para a realização do *docking* molecular com os alvos, foi feita a identificação dos sítios ativos, utilizando o *AutoGrid 4.2*, presente no software ADT, com os valores de centro de grid, dimensão e espaçamento dispostos na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros de *docking* molecular utilizados para os alvos

PDB ID	Centro do Gridbox	Dimensões	Espaçamento
1G3X	58,632, 52,878 e 58,270 Å	60 x 60 x 60 Å	0,375 Å
1BNA	14,780, 20,976 e 8,807 Å	96 x 96 x 126 Å	0,375 Å
5GWK A	23,7, -38,695 e -60,34 Å	60 x 60 x 60 Å	0,375 Å
4HJO	24,407, 9,151 e -0,636 Å	40 x 40 x 40 Å	0,375 Å

Fonte: Aatoria (2022).

Após a localização do sítio ativo, o *docking* foi desenvolvido no *AutoDock 4.2*, com 100 operações de algoritmo genético Lamarckiano (MORRIS et al., 1998) e utilizando os parâmetros padrões do ADT, que incluem tamanho de população de 150, 2,5 milhões de avaliações de energia, 27 mil gerações, taxa de mutação gênica de 0,02 e taxa de crossover de 0,8 (SRIRAMULU et al., 2020). Com isso, foram gerados valores de Energia Livre de Ligação (ΔG) e Constante Inibitória Estimada (K_i), sendo selecionadas as conformações com menor valor de ΔG . Por fim, as estruturas dos complexos ligante-macromolécula resultantes das simulações de *docking* molecular foram submetidas ao *Discovery Studio 2021 Client* (BIOVIA, 2021), permitindo a determinação das regiões de ligação dos alvos com as moléculas bem como a análise dos tipos de interação e dos aminoácidos do sítio ativo que participam das ligações.

4.2.5 Validação da Metodologia (Redocking)

Já para a validação da metodologia, através de *redocking molecular*, foi selecionada a conformação do ligante com menor valor de Desvio Quadrático Médio

(RMSD) das distâncias entre os átomos e abaixo de 2,0 Å (BELL & ZHANG, 2019). Dessa forma, essa estrutura é comparada à conformação cristalográfica do ligante (SRIRAMULU & LEE, 2021), utilizando o *Discovery Studio 2021 Client*.

4.3 Perfil Farmacocinético *In Silico*

Para a análise farmacocinética dos compostos, foram feitas previsões *in silico* de parâmetros relevantes de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Eliminação, através de serviços web gratuitos, que incluem SwissADME (DAINA et al., 2017), pkCSM (PIRES et al., 2015), ADMETlab 2.0 (XIONG et al., 2021) e XenoSite (ZARETZKI et al., 2013). Dessa forma, foi possível estabelecer propriedades de lipofilicidade, *drug-likeness*, absorção intestinal, resistência a fármacos, permeabilidade através da barreira hematoencefálica e metabolismo por CYP450.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estruturas Químicas dos Derivados Planejados

As estruturas químicas dos compostos planejados foram desenhadas por meio do software ChemDraw e a nomenclatura foi dada para os códigos atribuídos às moléculas, segundo à União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry* - IUPAC), para facilitar a compreensão dos resultados. Tanto a nomenclatura IUPAC como as estruturas químicas, para ambas as séries ACF e QF, estão dispostas nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2: Estruturas Químicas dos Derivados Fenilimino-Acrídnicos

(continua)

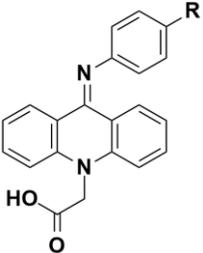
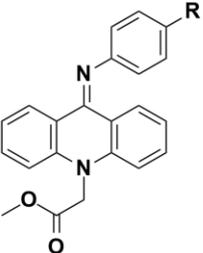
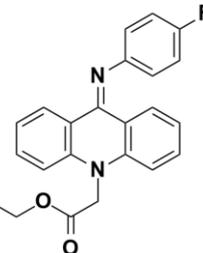
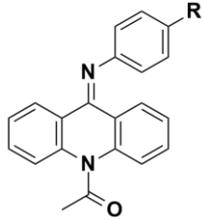
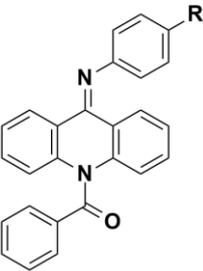
Nomenclatura IUPAC	Estrutura Química
<p>ACF-A1: ácido (2-[9-(fenilimino)-9,10-dihidroacridin-10-il]acético</p> <p>ACF-A2: ácido 2-{9-[(4-clorofenil)imino]-9,10-dihidroacridin-10-il}acético</p>	 <p>ACF-A1: R = H ACF-A2: R = Cl</p>
<p>ACF-B1: 2-[9-(fenilimino)-9,10-dihidroacridin-10-il]acetato de metila</p> <p>ACF-B2: 2-{9-[(4-clorofenil)imino]-9,10-dihidroacridin-10-il}acetato de metila</p>	 <p>ACF-B1: R = H ACF-B2: R = Cl</p>
<p>ACF-C1: 2-[9-(fenilimino)-9,10-dihidroacridin-10-il]acetato de etila</p> <p>ACF-C2: 2-{9-[(4-clorofenil)imino]-9,10-dihidroacridin-10-il}acetato de etila</p>	 <p>ACF-C1: R = H ACF-C2: R = Cl</p>

Tabela 2: Estruturas Químicas dos Derivados Fenilimino-Acrídnicos

(conclusão)

Nomenclatura IUPAC	Estrutura Química
<p>ACF-D1: 1-[9-(fenilimino)-9,10-dihidroacridin-10-il]etan-1-ona</p> <p>ACF-D2: 1-{9-[(4-clorofenil)imino]-9,10-dihidroacridin-10-il}etan-1-ona</p>	 <p>ACF-D1: R = H ACF-D2: R = Cl</p>
<p>ACF-E1: 10-benzoil-N-fenil-9,10-dihidroacridin-9-imina</p> <p>ACF-E2: 10-benzoil-N-(4-clorofenil)-9,10-dihidroacridin-9-imina</p>	 <p>ACF-E1: R = H ACF-E2: R = Cl</p>

Fonte: Aatoria (2022).

Tabela 3: Estruturas Químicas dos Derivados Difenilimino-Quinolínicos

(continua)

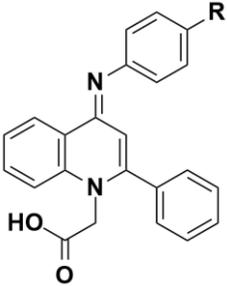
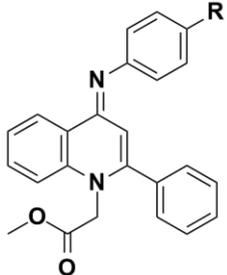
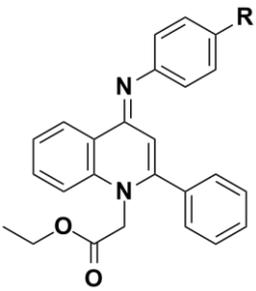
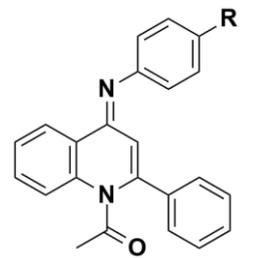
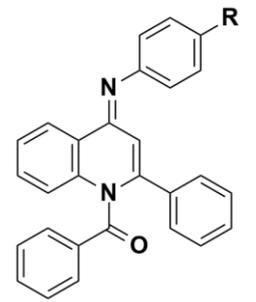
Nomenclatura IUPAC	Estrutura Química
<p>QF-A1: ácido 2-[(4E)-2-fenil-4-(fenilimino)-1,4-dihidroquinolin-1-il]acético</p> <p>QF-A2: ácido 2-[(4E)-4-[(4-clorofenil)imino]-2-fenil-1,4-dihidroquinolin-1-il]acético</p>	 <p>QF-A1: R = H QF-A2: R = Cl</p>
<p>QF-B1: 2-[(4E)-2-fenil-4-(fenilimino)-1,4-dihidroquinolin-1-il]acetato de metila</p> <p>QF-B2: 2-[(4E)-4-[(4-clorofenil)imino]-2-fenil-1,4-dihidroquinolin-1-il]acetato de metila</p>	 <p>QF-B1: R = H QF-B2: R = Cl</p>

Tabela 3: Estruturas Químicas dos Derivados Difenilimino-Quinolínicos

(conclusão)

Nomenclatura IUPAC	Estrutura Química
<p>QF-C1: 2-[(4E)-2-fenil-4-(fenilimino)-1,4-dihidroquinolin-1-il]acetato de etila</p> <p>QF-C2: 2-[(4E)-4-[(4-clorofenil)imino]-2-fenil-1,4-dihidroquinolin-1-il]acetato de etila</p>	 <p>QF-C1: R = H QF-C2: R = Cl</p>
<p>QF-D1: 1-[(4E)-2-fenil-4-(fenilimino)-1,4-dihidroquinolin-1-il]etan-1-ona</p> <p>QF-D2: 1-[(4E)-4-[(4-clorofenil)imino]-2-fenil-1,4-dihidroquinolin-1-il]etan-1-ona</p>	 <p>QF-D1: R = H QF-D2: R = Cl</p>
<p>QF-E1: (4E)-1-benzoil-N,2-difenil-1,4-dihidroquinolin-4-imina</p> <p>QF-E2: (4E)-1-benzoil-N-(4-clorofenil)-2-fenil-1,4-dihidroquinolin-4-imina</p>	 <p>QF-E1: R = H QF-E2: R = Cl</p>

Fonte: Aatoria (2022).

5.2 Docking Molecular

Para análise do perfil farmacodinâmico dos compostos, foi feito o *docking* molecular com o DNA, a enzima Topoisomerase II α e o Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR), alvos relevantes para a fisiopatologia de diversos tipos de câncer. Como resultado, foram obtidos valores de energia livre de ligação (ΔG) e constante inibitória estimada (K_i), para a triagem das moléculas mais promissoras em relação à afinidade e potência.

Para o encaixe de uma molécula em um determinado alvo, a variação da energia livre do sistema determina o grau de afinidade do ligante por esse receptor, levando em consideração que valores negativos de ΔG estão associados a processos espontâneos e a redução da energia livre do sistema indica o grau de estabilidade do

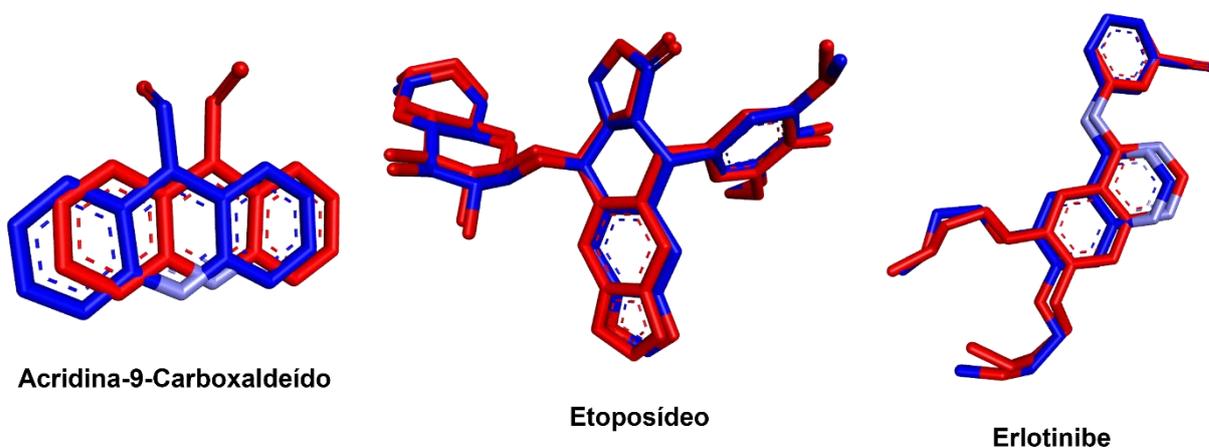
complexo ligante-macromolécula (DU et al., 2016). Além disso, a constante inibitória pode ser utilizada para comparar a potência de inibidores de um determinado alvo, cujos valores são inversamente proporcionais à intensidade das ligações do complexo ligante-receptor e, conseqüentemente, à magnitude da potência do inibidor (BURLINGHAM & WIDLANSKI, 2003).

5.2.1 Redocking

Ao retirar os ligantes co-cristalizados e realizar simulações de *docking* com estes, foi possível obter valores de RMSD de 1,04 Å, 0,48 Å e 0,54 Å para os alvos de DNA (ID: 1G3X), Topo II α A (ID: 5GWK A) e EGFR (ID: 4HJO), respectivamente. Com isso, a metodologia foi validada, levando em consideração que todos os valores de RMSD foram inferiores a 2,0 Å (BELL & ZHANG, 2019).

Por meio do *redocking*, foram geradas, ainda, estruturas com disposições espaciais bastante semelhantes às estruturas cristalográficas obtidas do PDB. Foram encontradas diferenças somente nas ligações σ e em grupamentos adjacentes, visto que estas interações são mais flexíveis que as ligações π e os sistemas aromáticos, que são planos. É possível realizar essa comparação através da análise da Figura 16, na qual estão dispostas as estruturas dos ligantes redocados (azul) e dos ligantes cristalográficos (vermelho) de cada alvo validado.

Figura 16: Estruturas de *Redocking* para Acridina-9-Carboxaldeído (ID: 1G3X), Etoposídeo (ID: 5GWK A) e Erlotinibe (ID: 4HJO)



Fonte: Aatoria (2022).

5.2.2 Interação com DNA

Após a validação da metodologia, por meio do *redocking*, foi realizado estudo de interação *in silico* com DNA para os derivados planejados, em comparação com os compostos controle AMTAC-01 e *m*-AMSA.

5.2.2.1 Intercalação (PDB ID: 1G3X)

Inicialmente, foi feito o *docking* molecular no sítio de intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X), cujos valores de energia livre de ligação e constante inibitória estão descritos na Tabela 4. Além disso, foram avaliados, também, a quantidade e os tipos de interações realizadas durante a formação dos complexos ligante-receptor, bem como as distâncias entre os grupamentos e os nucleotídeos do sítio de intercalação com o DNA, para justificar as diferenças de afinidade e potência entre os derivados. Estes dados estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 4: Resultados de *docking* de intercalação dos compostos com DNA (ID: 1G3X)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	ΔG	Ki	ΔG	Ki
A1	-8,82	342,25	-9,15	195,74
A2	-9,41	126,98	-9,53	103,72
B1	-8,43	657,07	-9,29	156,31
B2	-8,72	407,53	-9,68	80,87
C1	-8,36	745,77	-9,29	155,77
C2	-8,54	545,21	-10,02	45,39
D1	-9,41	127,27	-9,20	179,23
D2	-8,95	276,18	-9,81	64,97
E1	-9,72	75,54	-10,50	20,23
E2	-9,79	66,74	-11,05	7,93
Moléculas	ΔG	Ki		
AMTAC-01	-9,34	142,73		
Amsacrina	-10,28	29,21		

Fonte: Aatoria (2022). Legenda: ΔG = energia livre de ligação (kcal/mol); Ki = constante inibitória (nM).

Tabela 5: Perfil de intercalação das moléculas com o DNA (ID: 1G3X)

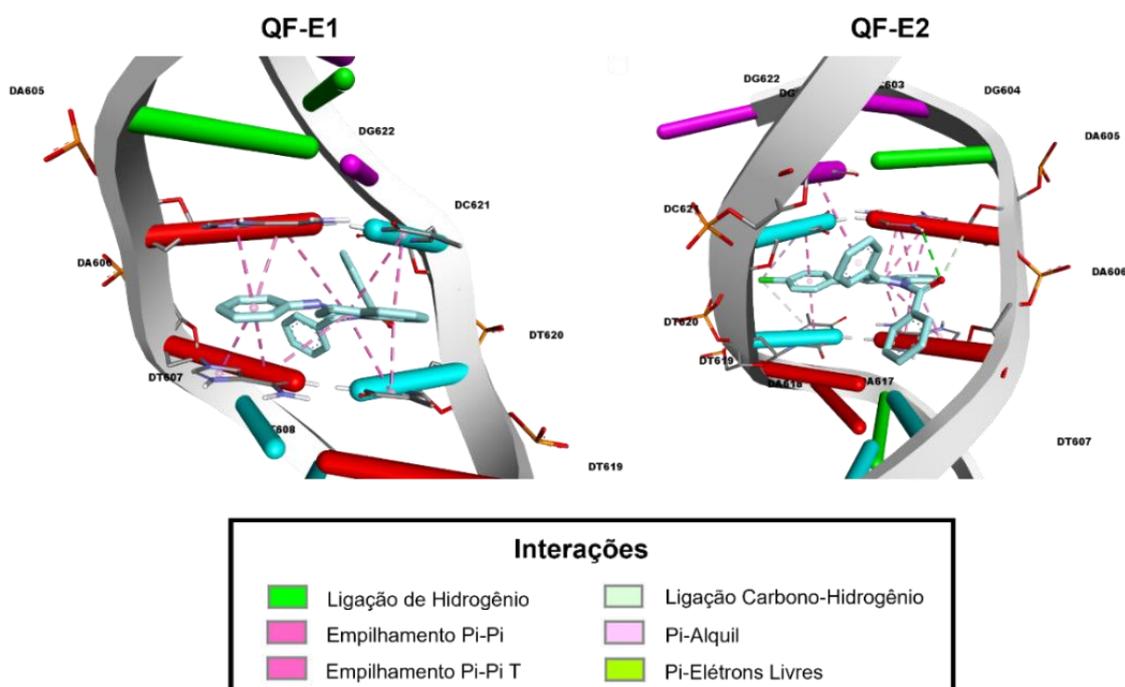
Moléculas	Série ACF		Série QF	
	Ligações	Distâncias (Å)	Ligações	Distâncias (Å)
A1	3 π-π 2 LH 1 π-EL	4,16 – 5,48 2,09 – 2,89 2,99	11 π-π 1 CH	3,39 – 4,82 3,45
A2	3 π-π 2 LH 1 π-EL 2 π-alquil	3,61 – 5,72 1,99 – 2,86 2,95 3,98 – 4,07	14 π-π 1 LH 1 π-σ 1 CH	3,48 – 5,60 2,98 3,70 3,23
B1	9 π-π 2 CH	3,54 – 5,94 3,19 – 3,21	10 π-π 2 π-alquil	3,47 – 5,19 4,55 – 5,29
B2	17 π-π 1 LH 2 π-alquil	3,60 – 5,92 1,64 4,58 – 5,04	10 π-π 1 LH 3 CH 2 π-alquil	3,42 – 4,83 1,77 3,22 – 4,55 3,60 – 4,31
C1	7 π-π 1 π-alquil 1 CH	3,50 – 5,65 5,48 3,70	11 π-π 1 LH 2 π-alquil 1 π-σ	3,56 – 6,00 2,09 4,70 – 5,11 3,89
C2	15 π-π 1 LH 2 π-alquil	3,42 – 5,87 2,22 4,49 – 5,02	10 π-π 4 π-alquil	3,45 – 5,23 4,35 – 5,23
D1	12 π-π 1 LH	3,42 – 4,78 2,91	10 π-π 1 π-π T 1 LH	3,46 – 5,18 5,35 2,09
D2	5 π-π 1 LH 1 CH	3,45 – 5,56 2,20 2,75	10 π-π 1 π-π T 1 LH 2 π-alquil	3,45 – 5,20 5,40 2,05 4,45 – 4,71
E1	19 π-π 1 CH	3,62 – 5,69 3,02	10 π-π	3,38 – 5,36
E2	13 π-π 1 π-EL 1 CH 1 π-alquil	3,39 – 5,74 2,93 2,92 5,42	10 π-π 1 π-π T 1 LH 2 π-alquil 1 CH	3,42 – 4,82 5,51 2,84 4,69 – 4,71 3,78
Moléculas	Ligações		Distâncias (Å)	
AMTAC-01	5 π-π 3 LH 1 CH		4,16 – 5,48 1,88 – 2,73 3,38	
<i>m</i> -AMSA	10 π-π 2 LH 2 π-enxofre 1 π-σ 3 π-alquil		3,66 – 5,54 2,07 – 2,20 5,11 – 5,27 3,45 3,67 – 4,38	

Fonte: Aatoria (2022). Legenda: LH = Ligação de Hidrogênio; CH = Carbono-Hidrogênio; π-EL = π-Elétrons Livres.

De acordo com os resultados das tabelas anteriores, observa-se que os derivados difenilimino-quinolínicos (Série QF) exibiram maior afinidade e potência em comparação com seus derivados equivalentes fenilimino-acridínicos (Série ACF), com exceção apenas do composto QF-D1. Logo, a dissociação de um dos anéis aromáticos da acridina foi uma estratégia de modificação molecular interessante para a intercalação com o DNA, provavelmente, devido ao aumento de ligações de empilhamento π - π e/ou encurtamento de suas distâncias, intensificando a afinidade com os nucleotídeos. Isso porque o empilhamento π - π é um tipo de interação dipolo-dipolo entre anéis aromáticos bastante relevante para a estabilização de complexos envolvendo bases nitrogenadas de ácidos nucleicos, como ocorre durante o processo de intercalação com o DNA (BARRA & NETO, 2015; FOKOUE et al., 2020).

Os melhores resultados de afinidade, para ambas as séries, foram obtidos com a porção de cetona fenólica (E), uma vez que o anel aromático adicional permitiu a adoção de uma conformação mais favorável para a realização de diversas interações π - π , com distâncias menores e, portanto, mais intensas. Isso pode ser constatado a partir da análise dos perfis de interação dos derivados QF-E1 e QF-E2 (Figura 17), que apresentaram resultados bastante expressivos de ΔG e K_i .

Figura 17: Diagrama 3D de intercalação dos derivados QF-E1 e QF-E2 com o DNA (PDB ID: 1G3X)



Fonte: Aatoria (2022).

Outro fator importante a ser mencionado é a contribuição lipofílica do substituinte *p*-cloro para o aumento da afinidade durante a intercalação com o DNA, tendo em vista que a maioria dos compostos clorados exibiram valores menores de ΔG quando complexados com DNA, em comparação com os não substituídos, à exceção somente do derivado ACF-D1.

Sua maior afinidade e potência pode estar relacionada à grande quantidade de ligações de empilhamento π - π , com menores distâncias, em comparação com seu análogo clorado, ACF-D2 (Apêndice D). Dessa forma, é possível estabelecer uma relação favorável entre o aumento da lipofilia e a intercalação com o DNA, desde que haja um perfil de empilhamento π - π apropriado, considerando que tanto o substituinte *p*-cloro como o anel aromático adicional da cetona fenílica, que são grupamentos lipofílicos, elevaram a afinidade da maioria dos compostos planejados.

Entretanto, é interessante pontuar que a adição de grupamentos alquílicos ao resíduo de ácido acético, nos derivados com anéis fusionados (Série ACF) prejudicou a afinidade com as bases nitrogenadas do DNA. Isso porque os compostos ACF-A são capazes de realizar interações de hidrogênio com os nucleotídeos e adotam uma conformação que permite a realização de interações π -elétrons livres com distâncias curtas, inferiores a 3,0 Å, o que lhes confere maior intensidade e, conseqüentemente, promove maior estabilização do complexo com o DNA. Os perfis de interações dos compostos ACF-A1, ACF-A2, ACF-B1, ACF-B2, ACF-C1 e ACF-C2 estão representados nos diagramas 3D dos Apêndices A, B e C.

Já para a Série QF, que contém um dos anéis dissociados, a substituição do resíduo de ácido acético por ésteres foi favorável à intercalação com o DNA. Isso pode ser justificado pela manutenção de um perfil semelhante de interações e distâncias para o empilhamento π - π com as bases nitrogenadas, bem como pelo surgimento de interações π -alquil adicionais, tipo de dipolo-dipolo entre um grupo alquila polarizado e os elétrons π de um anel aromático, que, embora seja fraca, pode ser relevante para a estabilidade de complexos formados com nucleotídeos (FOKOUÉ et al., 2020). Os perfis de interações dos derivados QF-A1, QF-A2, QF-B1, QF-B2, QF-C1 e QF-C2 podem ser visualizados nos diagramas 3D dos Apêndices F, G e H.

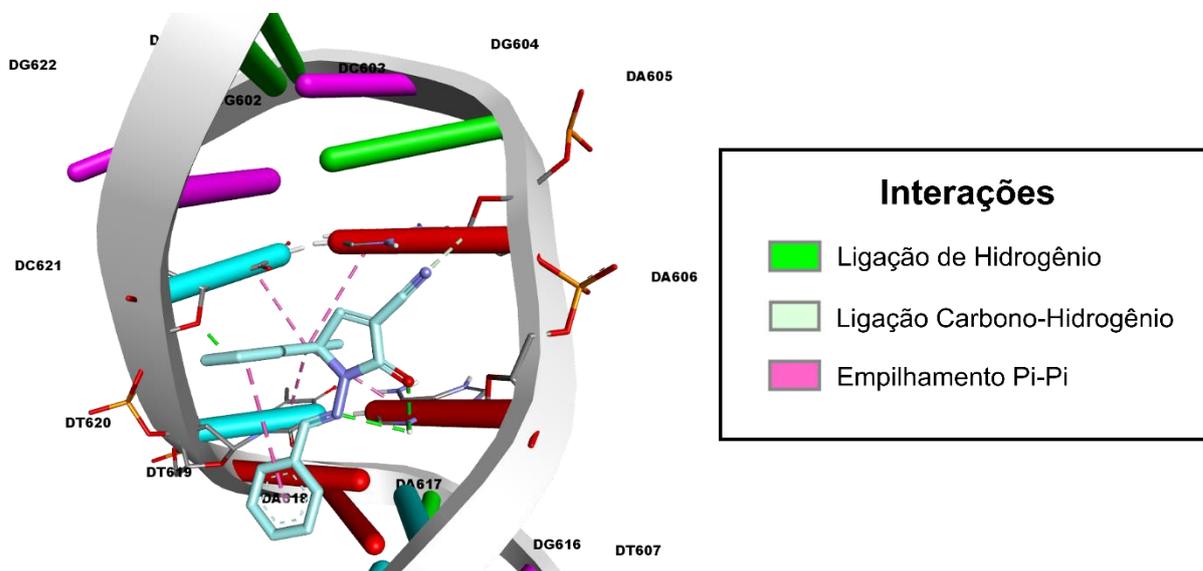
É importante ressaltar, também, que a simplificação do resíduo de acetato de metila por uma cetona metílica levou a um aumento de afinidade para a Série ACF, devido à realização de uma maior quantidade de interações de empilhamento π - π e/ou encurtamento de suas distâncias. Para a série QF, por sua vez, essa modificação

induziu um leve aumento nos valores de ΔG e K_i dos derivados não substituídos e isso, possivelmente, está relacionado à presença de ligações π -alquil, que podem auxiliar na estabilização do complexo de intercalação com o DNA. Porém, a adição do substituinte cloro, retirador de elétrons, possibilitou a adoção de uma conformação mais estável, devido à manutenção de ligações π -alquil e empilhamento π - π , bem como à realização de uma interação π - π T.

Observa-se, ainda, que todos os derivados quinolínicos obtiveram promissores resultados de ΔG e K_i , comparáveis ao AMTAC-01, e apenas os compostos QF-A1, QF-B1, QF-C1 e QF-D1 apresentaram valores inferiores de afinidade e potência em comparação com o derivado espiro-acridínico. Isso, possivelmente, está relacionado à ausência ou maior distância de ligações de hidrogênio entre estes derivados e o sítio de intercalação do DNA.

Contudo, devido à grande quantidade de interações de empilhamento π - π , a diferença de ΔG e K_i , em relação ao AMTAC-01, é irrelevante. O perfil de interações do AMTAC-01 durante a intercalação com o DNA pode ser visualizado na Figura 18.

Figura 18: Diagrama 3D de intercalação do AMTAC-01 com o DNA (ID: 1G3X)



Fonte: Aatoria (2022).

Já para os derivados acridínicos, somente os compostos ACF-A2, ACF-D1, ACF-E1 e ACF-E2 exibiram afinidade superior ao AMTAC-01 e isso pode estar associado à formação de ligações de hidrogênio com distâncias curtas e interações auxiliares do tipo π -alquil entre o primeiro derivado e os nucleotídeos do DNA. Os

outros compostos, por sua vez, apresentaram empilhamento π - π com uma grande quantidade de ligações com distâncias inferiores, tornando-as mais intensas, com destaque para as moléculas contendo a cetona fenólica (série E).

Por fim, em relação à *m*-AMSA, apenas os derivados QF-E1 e QF-E2 exibiram menores valores de ΔG e K_i , evidenciando promissora capacidade de intercalação com as bases nitrogenadas do DNA, comparável a um fármaco utilizado clinicamente na terapia antitumoral. A maior afinidade demonstrada pelos derivados quinolínicos está, principalmente, vinculada à realização de diversas interações de empilhamento π - π (Figura 17), essenciais para a intercalação com os nucleotídeos, cuja intensidade é favorecida por suas pequenas extensões.

Além disso, o composto mais promissor dentre todos, QF-E2, realizou, também, ligação de hidrogênio e interações π -alquil, que contribuem para uma maior afinidade com o DNA. O perfil de ligações da *m*-AMSA está representado no diagrama 3D presente no Apêndice K.

5.2.2.2 Interação com os sulcos (PDB ID: 1BNA)

Foi realizado, também, estudo de interação com os sulcos do DNA, tendo o AMTAC-01 e a *m*-AMSA como compostos controle. Os resultados de energia livre e constante inibitória estão dispostos na Tabela 6, enquanto as interações e suas distâncias, entre os compostos e o DNA, podem ser observadas na Tabela 7.

Tabela 6: Resultados de *docking* dos compostos com os sulcos do DNA (ID: 1BNA)

(continua)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	ΔG	K_i	ΔG	K_i
A1	-9,03	240,39	-9,74	72,49
A2	-9,08	222,29	-10,12	38,26
B1	-8,61	489,11	-9,28	156,82
B2	-8,92	289,64	-9,81	64,92
C1	-8,17	1.030	-9,09	217,49
C2	-8,65	454,83	-9,67	81,24
D1	-9,45	118,57	-10,04	43,95

Tabela 6: Resultados de *docking* dos compostos com os sulcos do DNA (ID: 1BNA)
(conclusão)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	ΔG	Ki	ΔG	Ki
D2	-9,32	148,57	-10,60	17,06
E1	-9,90	55,41	-9,26	162,15
E2	-10,17	35,2	-9,84	61,35
Moléculas	ΔG		Ki	
AMTAC-01	-7,56		2.880	
<i>m</i> -AMSA	-10,88		10,65	

Fonte: Aatoria (2022). Legenda: ΔG = energia livre de ligação (kcal/mol); Ki = constante inibitória (nM).

Tabela 7: Interações das moléculas com os sulcos do DNA (ID: 1BNA)

(continua)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	Ligações	Distâncias (Å)	Ligações	Distâncias (Å)
A1	2 LH	1,69 – 2,04	2 LH 1 π -ânion	1,69 – 2,04 3,54
	1 π -ânion	4,43		
	1 CH	3,43		
	1 N-N	5,41		
A2	1 LH	1,85	3 LH 1 π -ânion	1,61 – 2,85 4,63
	1 π - σ	3,37		
	1 CH	3,14		
	1 A-A	2,86		
B1	1 π - σ	3,14	1 LH 1 CH 2 π - σ	2,32 3,21 3,19 – 3,80
	2 CH	3,09 – 3,59		
B2	1 LH	2,96	1 LH 1 π - σ 2 CH	3,24 3,20 3,33
	2 π -ânion	4,46 – 4,58		
	1 π - π T	5,57		
	2 CH	3,59 – 3,70		
	1 π -D	2,27		
C1	1 π -ânion	4,85	1 π - σ 1 CH	3,03 2,90
	1 π - π T	5,52		
	1 π - σ	3,41		
C2	1 π -ânion	4,84	2 π - σ 1 CH	3,44 – 3,95 3,64
	1 π - π T	5,32		
	2 π - σ	3,49 – 3,92		
D1	2 π -ânion	4,33 – 4,46	1 LH 1 π -ânion 1 π - σ	3,25 3,27 3,56
	1 π - π T	5,57		
	1 π - σ	3,36		
	1 CH	2,75		

Tabela 7: Interações das moléculas com os sulcos do DNA (ID: 1BNA)

(conclusão)

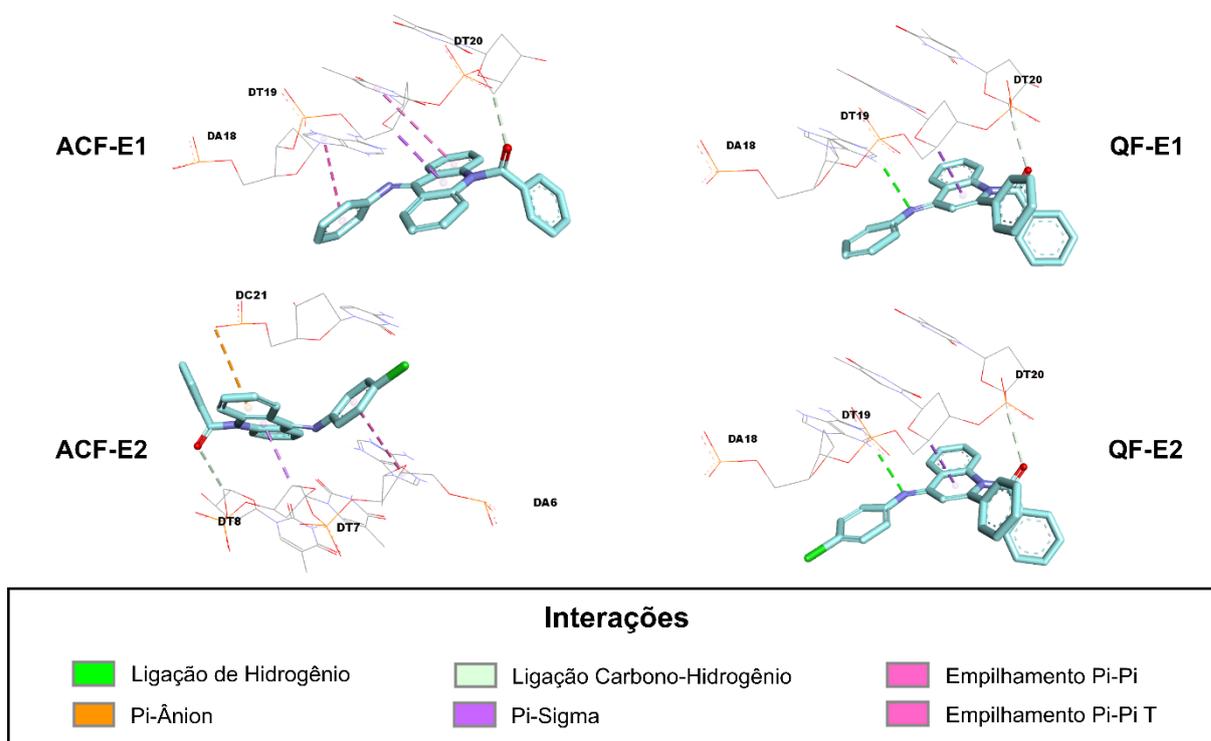
Moléculas	Série ACF		Série QF	
	Ligações	Distâncias (Å)	Ligações	Distâncias (Å)
D2	1 π - π T	5,95	1 LH	3,29
	2 π -alquil	4,98 – 5,23	1 π -ânion	3,27
	1 CH	2,94	1 π - σ	3,55
E1	1 CH	2,94	1 CH	3,59
	1 π - π	5,60	1 LH	2,82
	1 π - π T	5,64	1 π - σ	3,01
	1 π - σ	3,32	1 CH	2,87
E2	1 CH	2,90	1 CH	2,87
	1 π -ânion	4,80	1 LH	2,69
	1 π - π T	5,47	1 π - σ	3,10
	1 π - σ	3,41	1 CH	3,11
1 CH	3,29			
Moléculas	Ligações	Distâncias (Å)		
AMTAC-01	1 π -Ânion	3,80		
	1 π - σ	3,81		
	1 CH	3,78		
<i>m</i> -AMSA	1 π -Enxofre	5,58		
	3 LH	2,01 – 2,94		
	2 π - π T	5,72 – 5,85		
	3 CH	2,80 – 3,77		
	1 π - σ	3,60		

Fonte: Aatoria (2022). **Legenda:** LH = Ligação de Hidrogênio; CH = Carbono-Hidrogênio; N-N = Negativa-Negativa; A-A = Aceptor-Aceptor; π -D = π -Doador de Ligação de Hidrogênio.

Analisando as tabelas anteriores, observa-se que a maioria das moléculas planejadas foram capazes de interagir com os sulcos do DNA, com destaque para a série QF, que demonstrou resultados mais promissores de afinidade, em comparação com seus equivalentes da série ACF, à exceção dos derivados QF-E1 e QF-E2.

Logo, a flexibilização de um dos anéis aromáticos, associada à adição da cetona fenólica, dos derivados QF-E1 e QF-E2, foi uma estratégia desfavorável para a interação com os sulcos, pois impossibilitou a realização de interações relevantes, como empilhamento π - π e ligação π -ânion (Figura 19), com destaque para esta última, devido ao seu caráter eletrostático.

Figura 19: Perfil de Interações dos Derivados ACF-E1, ACF-E2, QF-E1 e QF-E2 com os Sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



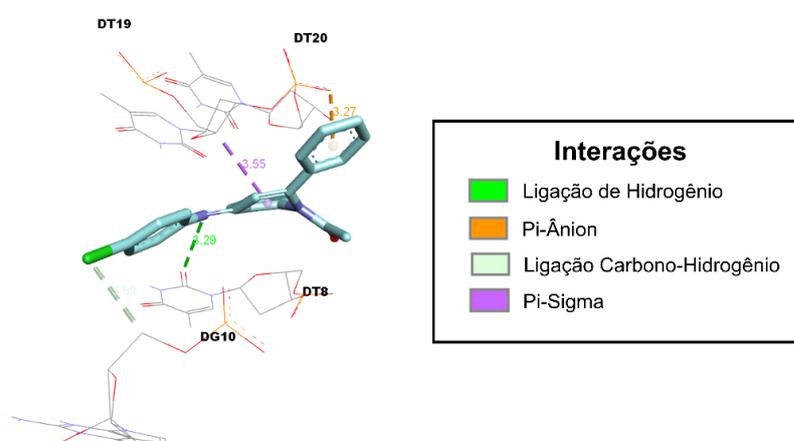
Fonte: Aatoria (2022).

Entretanto, os demais derivados difenilimino-quinolínicos foram capazes de interagir com os sulcos do DNA com valores inferiores de energia livre e constante inibitória, em relação aos derivados fenilimino-acridínicos. Sua maior afinidade pode ser justificada pela redução das distâncias de algumas interações relevantes para a estabilização do complexo ligante-alvo, como ligações de hidrogênio e π -ânion, bem como pela ausência de interações desfavoráveis acceptor-acceptor e negativa-negativa. Outro componente favorável é o encurtamento de ligações π - σ , que envolvem ligações π aromáticas e grupos alquila, sendo consideradas interações alquila-arila, importantes para estabilizar complexos com nucleotídeos (FOKOUÉ et al., 2020).

Houve redução, também, das extensões de ligações carbono-hidrogênio, formadas por meio de forças atrativas de dispersão entre dipolos induzidos de grupamentos apolares. Geralmente, essas interações são consideradas fracas, porém, podem ser relevantes ao reconhecimento molecular, pois podem promover significativas contribuições energéticas para a estabilização do complexo ligante-alvo, aumentando sua afinidade (BARREIRO & FRAGA, 2015).

O composto D2, por sua vez, demonstrou os melhores resultados de ΔG e K_i , em relação a todos os outros derivados planejados. Para justificar sua maior afinidade, pode-se observar, na Figura 20, a formação não só de uma ligação de hidrogênio, mas também de uma interação eletrostática do tipo π -ânion com extensão bastante reduzida (3,27 Å) em comparação com os outros compostos. Além disso, foram identificadas, também, interações auxiliares do tipo π - σ e carbono-hidrogênio, que, como mencionado anteriormente, podem contribuir para a afinidade com o DNA.

Figura 20: Interações de QF-D2 com os Sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



Fonte: Aatoria (2022).

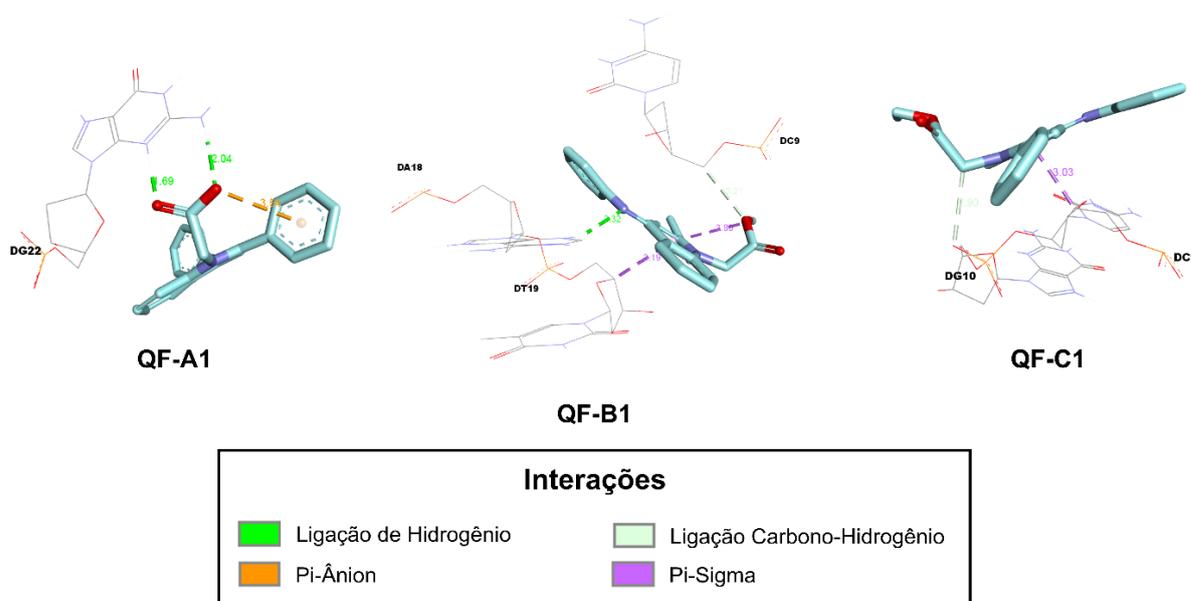
É relevante destacar, ainda, que, de maneira análoga ao estudo de intercalação com o DNA, o substituinte *p*-cloro promoveu um aumento na afinidade com os sulcos, considerando que os derivados clorados apresentaram menores valores de energia livre e constante inibitória, em relação aos não substituídos, com exceção apenas do composto ACF-D1.

Outra característica observada no perfil de ligação dos compostos foi a redução de afinidade e potência com a substituição do resíduo de ácido acético, de ambas as séries ACF e QF, por ésteres metílico e etílico. A maior flexibilidade da porção alquílica, possivelmente, impediu a adoção de uma conformação apropriada para o posicionamento de grupos funcionais importantes à realização de interações mais fortes, como ligações de hidrogênio e π -ânion.

Ao observar, por exemplo, o perfil de interações dos derivados QF-A1, QF-B1 e QF-C1 (Figura 21), é possível identificar a redução da quantidade de ligações de hidrogênio e de suas distâncias, bem como a perda de uma interação π -ânion

intramolecular, após a adição de uma metila. Essa mudança drástica está relacionada à perda da carga negativa do ânion carboxilato, considerando que ácidos carboxílicos, em pH fisiológico (7,4), estão na forma ionizada. Subsequentemente, houve a perda total de ligações de hidrogênio, após a expansão da metila para etila, em QF-C1.

Figura 21: Perfil de Interações dos Derivados QF-A1, QF-B1 e QF-C1 com os Sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



Fonte: Aatoria (2022).

É fundamental ressaltar, também, que a estratégia de simplificação do resíduo de acetato de metila em cetona metílica foi promissora, tendo em vista que reduziu os valores de ΔG e K_i em ambas as séries. Para justificar isso, é possível observar que os compostos do grupo D exibiram uma conformação favorável à realização de interações eletrostáticas do tipo π -ânion, que intensificam a afinidade e a potência das moléculas. Porém, o derivado ACF-D2 foi uma exceção, pois sua maior afinidade em relação ao ACF-D1 não está relacionada a ligações eletrostáticas, mas sim à realização de interações carbono-hidrogênio com menor distância, as quais são capazes de estabilizar o complexo com DNA. Os padrões de interações desses compostos podem ser visualizados nos Apêndices R, T, M e O.

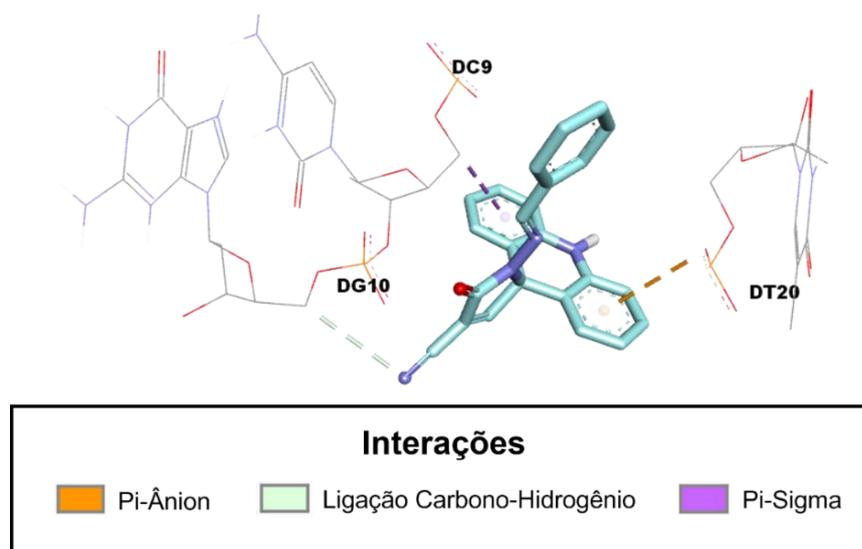
No entanto, nenhum derivado apresentou menor valor de ΔG e K_i em comparação com a *m*-AMSA, tendo em vista que esse fármaco demonstrou uma maior complementariedade com os sulcos do DNA. Isso pode ser observado no Apêndice V, na qual é possível identificar uma diversidade de interações, como ligações de

hidrogênio, π -enxofre, π - σ e de van der Waals, bem como distâncias reduzidas, o que lhes confere maior intensidade.

Isso também pode ser explicado pela maior capacidade de interações eletrostáticas que os sulcos podem realizar, em relação às interações hidrofóbicas, considerando que a *m*-AMSA tem maior possibilidade de realizar ligações eletrostáticas, devido ao grupamento metilssulfonamida, favorecendo sua afinidade com os sulcos do DNA.

Entretanto, todos os derivados planejados exibiram afinidade e potência superiores ao AMTAC-01, protótipo utilizado como referência para seu planejamento. Assim, é possível inferir que a presença do anel espiro promove restrição conformacional à molécula e, com isso, dificulta possíveis interações com os sulcos, considerando a ausência de ligações com esta região do derivado (Figura 22).

Figura 22: Interações do AMTAC-01 com os Sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



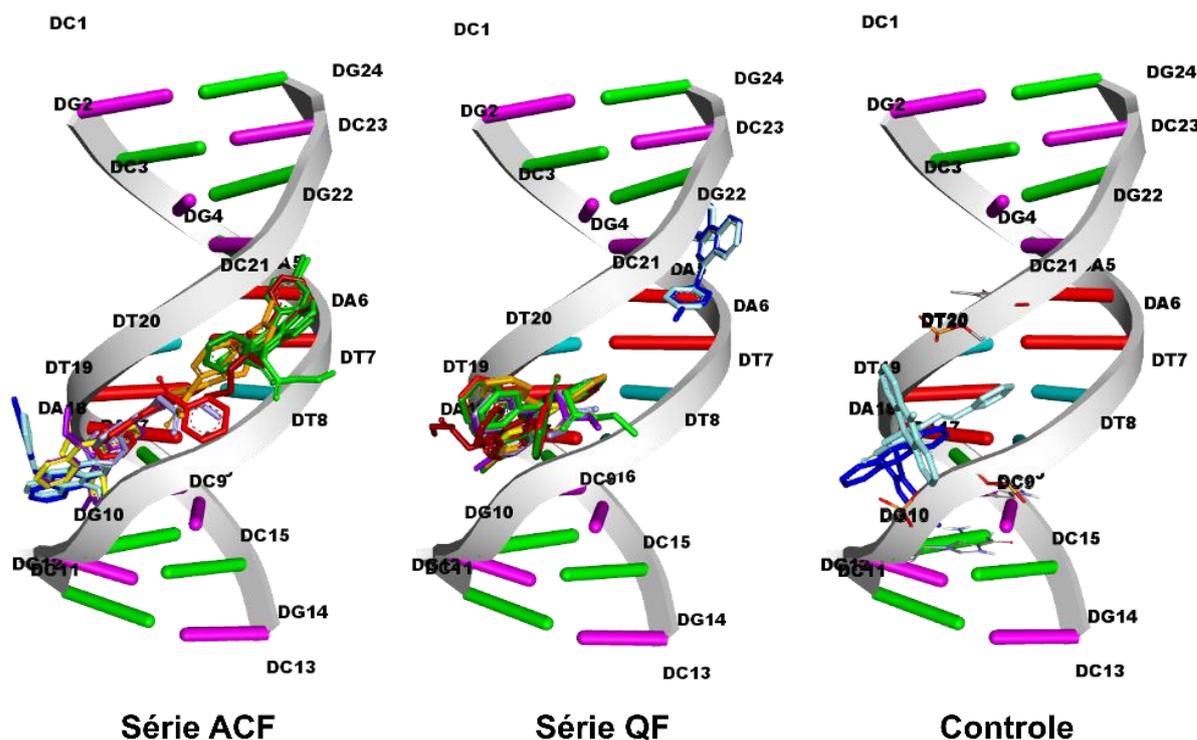
Fonte: Aatoria (2022).

Logo, foi favorável o planejamento dos novos compostos, via simplificação do anel espiro, uma vez que a flexibilização conformacional permitiu a adoção de uma estrutura apropriada ao enrolamento do DNA, essencial para a interação com os sulcos (ALMEIDA et al., 2017).

Por fim, cabe ressaltar, também, que todos os derivados analisados nesse estudo, incluindo os compostos controle (AMTAC-01 e *m*-AMSA), interagiram com o sulco menor (Figura 23), considerado como o principal local de ligação não covalente com o DNA.

Além disso, a maioria dos derivados, com destaque aos mais promissores em afinidade e potência (QF-D2 e ACF-E2), foram capazes de desenvolver os principais tipos de interações com o sulco menor do DNA, que incluem interações eletrostáticas, hidrofóbicas, de hidrogênio e de van der Waals (NIMAL et al., 2022).

Figura 23: Interação dos Compostos com os Sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



Fonte: Aatoria (2022). **Legenda:** Grupo A1 e AMTAC-01 (ciano), *m*-AMSA e Grupo A2 (azul-escuro), Grupo B1 (lilás), Grupo B2 (roxo), Grupo C1 (vinho), Grupo C2 (verde-claro), Grupo D1 (amarelo), Grupo D2 (laranja), Grupo E1 (vermelho) e Grupo E2 (verde-escuro).

Portanto, é possível inferir que a estratégia de simplificação do anel espiro associada à adição de ácidos, ésteres, e cetonas foi relevante, pois demonstrou resultados promissores de afinidade com os nucleotídeos do DNA e um perfil apropriado de empilhamento π - π .

Destaca-se, ainda, a estratégia de dissociação de um dos anéis aromáticos da acridina, uma vez que os derivados difenilimino-quinolínicos foram mais promissores nos estudos de interação com DNA em ambiente virtual, tanto por meio de intercalação com os pares de bases nitrogenadas como por interação com sulcos.

5.2.3 Interação com Topo II α (PDB ID: 5GWK)

Foi avaliada, ainda, a afinidade dos compostos com a Topo II α (ID: 5GWK A), através de resultados de ΔG e K_i (Tabela 8), bem como das interações com a enzima (Tabela 9), tendo AMTAC-01, *m*-AMSA e Etoposídeo (EVP) como compostos controle.

Tabela 8: Resultados de *docking* dos compostos com a Topo II α (ID: 5GWK A)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	ΔG	K_i	ΔG	K_i
A1	-10,30	28,26	-10,65	15,56
A2	-10,71	13,99	-10,93	9,75
B1	-8,70	422,75	-9,70	78,01
B2	-9,24	169,79	-10,13	37,41
C1	-8,97	268,24	-9,90	55,12
C2	-9,49	110,38	-10,38	24,83
D1	-9,04	238,13	-8,90	301,37
D2	-9,80	66,02	-9,26	162,51
E1	-10,32	27,16	-9,78	68,0
E2	-10,83	11,51	-10,27	29,67
Moléculas	ΔG	K_i		
AMTAC-01	-9,20	180,57		
<i>m</i> -AMSA	-10,01	46,31		
EVP	-11,69	2,70		

Fonte: Aitoria (2022). Legenda: ΔG = energia livre de ligação (kcal/mol); K_i = constante inibitória (nM).

Tabela 9: Interações das moléculas com a Topo II α (ID: 5GWK A)

(continua)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	Ligações	Distâncias (Å)	Ligações	Distâncias (Å)
A1	2 LH	1,68 – 2,48	1 LH	2,62
	1 CA	3,28	1 PS	1,70
	1 π -alquil	4,54	2 π -alquil	5,00 – 5,27
	1 CH	3,31	1 Amida- π	4,62
	1 π - π T	5,07	1 π -ânion	3,32
	9 π - π	4,18 – 5,49	4 π - π	3,72 – 5,97
			1 CH	3,57

Tabela 9: Interações das moléculas com a Topo II α (ID: 5GWK A)

(continua)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	Ligações	Distâncias (Å)	Ligações	Distâncias (Å)
A2	3 LH	1,98 – 3,03	1 LH	2,06
	1 CA	4,29	1 CA	3,66
	2 Amida- π	4,90 – 4,96	3 π -alquil	4,97 – 5,38
	2 π -alquil	4,53 – 4,82	2 Amida- π	4,35 – 4,82
	1 CH	3,30	5 π - π	3,92 – 5,13
	1 L-Hal	3,11	2 π - π T	5,63 – 5,70
	1 π - π	4,27	1 CH	3,36
	4 π - π T	5,38 – 5,93		
	1 π - σ	3,46		
B1	2 LH	2,21 – 3,36	1 LH	2,12
	2 CH	3,29 – 3,76	1 alquil	4,64
	7 π - π	4,26 – 5,66	3 π -alquil	4,13 – 5,45
	1 π - π T	4,92	11 π - π	4,13 – 5,82
	1 π - σ	3,88	1 LH	3,06
	2 π -alquil	4,03 – 4,82	1 π - σ	3,81
	1 alquil	4,02		
B2	1 LH	2,38		
	2 CH	3,06 – 3,22	2 LH	2,11 – 3,04
	1 Amida- π	4,76	11 π - π	4,11 – 5,77
	1 π - σ	3,76	2 π -alquil	4,05 – 4,49
	2 π -alquil	4,88 – 5,35	1 π - σ	3,85
	1 alquil	4,73		
	2 π - π	4,19 – 5,64		
1 π - π T	5,27			
C1	1 LH	2,11	1 LH	2,12
	1 alquil	4,39	1 alquil	4,28
	1 CH	3,30	11 π - π	4,15 – 5,94
	7 π - π	4,19 – 5,91	4 π -alquil	3,93 – 5,46
	1 π - π T	5,02		
	4 π -alquil	3,82 – 4,73		
C2	1 LH	2,61	2 LH	2,06 – 3,09
	1 Amida- π	4,61	1 Amida- π	4,20
	2 π -alquil	4,06 – 4,85	11 π - π	4,11 – 5,71
	1 alquil	4,41	3 π -alquil	3,84 – 4,48
	2 CH	2,97 – 3,00		
	2 π - π	4,33 – 5,67		
	1 π - π T	5,19		
D1	1 Amida- π	4,71	1 π -D	3,19
	1 π -alquil	5,37	1 π -alquil	4,68
	1 π - π	4,85	1 π -enxofre	5,98
	1 π - π T	4,90	2 π - π	3,71 – 3,94
	1 π -ânion	4,36		
	1 π - σ	3,76		

Tabela 9: Interações das moléculas com a Topo II α (ID: 5GWK A)

(conclusão)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	Ligações	Distâncias (Å)	Ligações	Distâncias (Å)
D2	2 LH	1,98 – 2,24	1 π -cátion	4,94
	1 π -cátion	4,55	1 π -D	3,07
	2 π -alquil	4,20 – 4,67	4 π -alquil	4,59 – 5,30
	3 Amida- π	3,80 – 4,18	2 Amida- π	4,31 – 5,25
	2 π - π T	4,68 – 5,71	1 CH	2,79
E1	1 π -D	2,78	4 π - π	3,91 – 5,82
	4 π - π	4,02 – 5,16	2 π - π T	5,61 – 5,79
	5 π - π T	4,43 – 5,80	1 LH	2,58
	5 π -alquil	4,47 – 5,29	2 π -ânion	3,55 – 3,96
			2 π - π	4,24 – 5,36
E2	1 π -D	2,81	3 π -alquil	4,71 – 5,32
	5 π - π	3,93 – 5,09	1 π - σ	3,86
	4 π - π T	4,33 – 5,81	1 CH	3,39
	3 π -alquil	4,54 – 5,22	1 π -enxofre	4,58
			1 Amida- π	4,07
Moléculas	Ligações	Distâncias (Å)		
AMTAC-01	3 LH	2,13 – 3,00		
	1 π -enxofre	4,81		
	4 π -alquil	4,38 – 4,96		
	5 π - π T	5,38 – 5,74		
	1 π -D	2,38		
<i>m</i> -AMSA	4 LH	1,94 – 2,75		
	1 CH	3,45		
	2 π -ânion	4,46 – 4,77		
	3 π -alquil	4,27 – 5,20		
	2 π - σ	3,73 – 3,86		
	2 π -enxofre	4,02 – 4,06		
EVP	3 π - π	4,73 – 5,42		
	5 LH	1,86 – 2,90		
	1 π -cátion	4,65		
	1 Amida- π	4,55		
	4 π - π	3,98 – 4,86		
	4 CH	3,13 – 3,79		
	5 π -alquil	4,65 – 5,33		
	1 alquil	5,02		

Fonte: Aatoria (2022). **Legenda:** LH = Ligação de Hidrogênio; CH = Carbono-Hidrogênio; PS = Ponte Salina; CA = Carga Atrativa ou Ligação Iônica; L-Hal = Ligação de Halogênio; π -D = π -Doador.

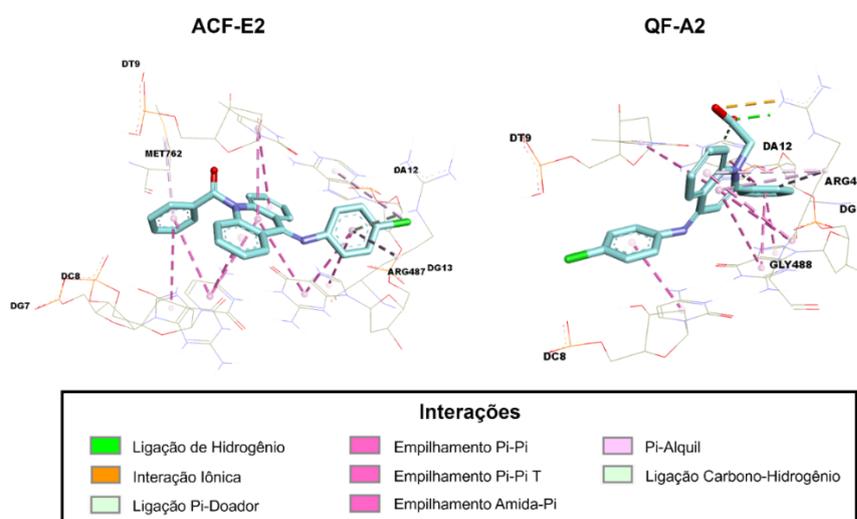
Esses resultados mostram que, dentre os derivados contendo as porções de ácido acético e acetatos de metila e etila, identifica-se que o *scaffold* de quinolina foi mais promissor em comparação com a acridina, enquanto o contrário foi observado para os compostos com os grupamentos de cetona metílica e fenílica.

Para justificar isso, é possível inferir que o aumento de interações de empilhamento π - π entre os compostos e as bases nitrogenadas do DNA foi responsável pela maior afinidade, mostrando que a simplificação do resíduo de acetato por uma cetona induziu uma conformação favorável à intercalação dos derivados acridínicos, porém, foi prejudicial para os derivados quinolínicos.

Igualmente, o derivado mais promissor, QF-A2, exibiu um perfil de empilhamento π - π com maior número de ligações, em comparação com seu análogo ACF-A2. Dessa forma, embora este tenha apresentado maior quantidade de interações de hidrogênio e uma ligação de halogênio com um grupo fosfato do DNA, o empilhamento entre os anéis aromáticos e os nucleotídeos demonstrou ser mais expressivo para a contribuição energética e estabilização do complexo DNA-Topo II α .

Tal hipótese pode ser confirmada, ainda, pela grande quantidade de interações de empilhamento π - π realizadas entre o DNA e o derivado ACF-E2, que demonstrou a segunda maior afinidade dentre os compostos, inferior apenas ao QF-A2, possivelmente, devido à formação de uma interação eletrostática de curta distância entre este e a Arg487 do sítio ativo da topoisomerase (Figura 24).

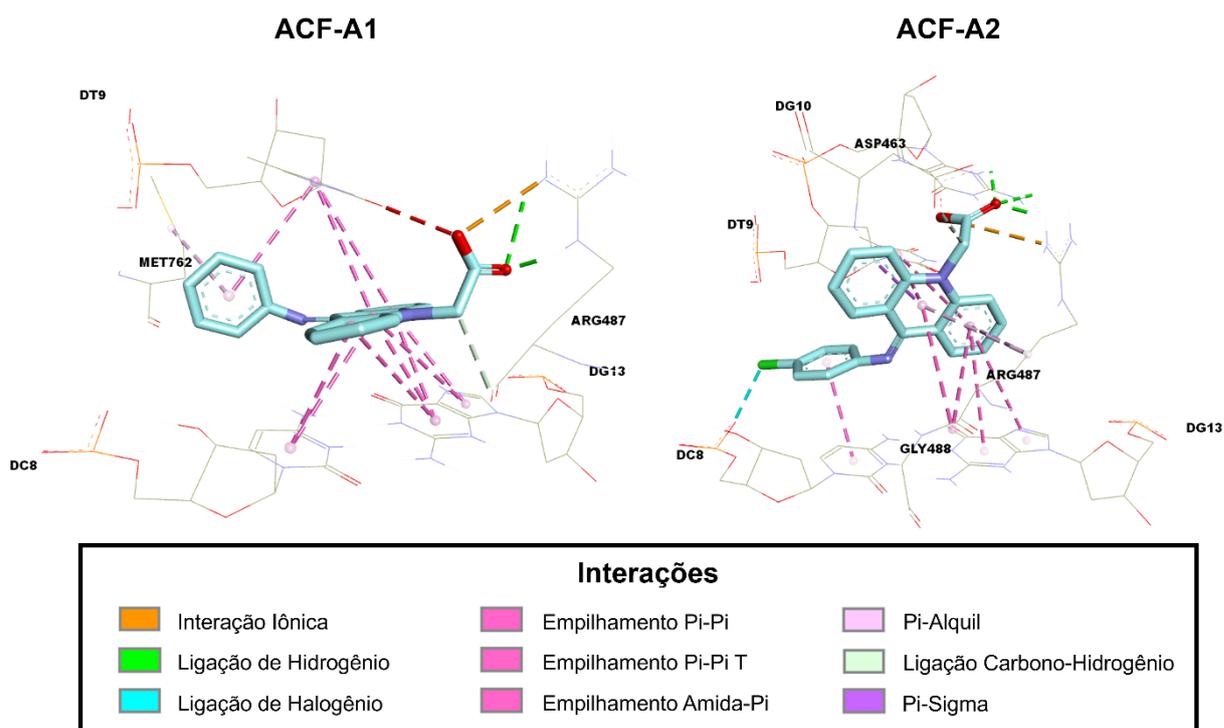
Figura 24: Perfil de Interações dos Derivados ACF-E2 e QF-A2 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



Fonte: Aatoria (2022).

É importante destacar, também, que o substituinte *p*-cloro foi capaz de elevar a afinidade dos compostos planejados com o complexo DNA-Topo II α , provavelmente, devido ao surgimento e/ou aumento da realização de interações dipolo-dipolo do tipo amida- π entre os derivados clorados e o alvo. Estas são estabelecidas entre ligações peptídicas de aminoácidos e um sistema de elétrons π polarizado, devido à presença de um heteroátomo, e podem ser relevantes para a afinidade e a potência de inibidores em relação ao seu alvo (FOKOUÉ et al., 2020). Para ilustrar isso, pode-se observar as diferentes conformações do ACF-A1 e do ACF-A2, sendo esta última favorável à realização de ligação amida- π (Figura 25).

Figura 25: Perfil de Interações dos Derivados ACF-A1 e ACF-A2 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



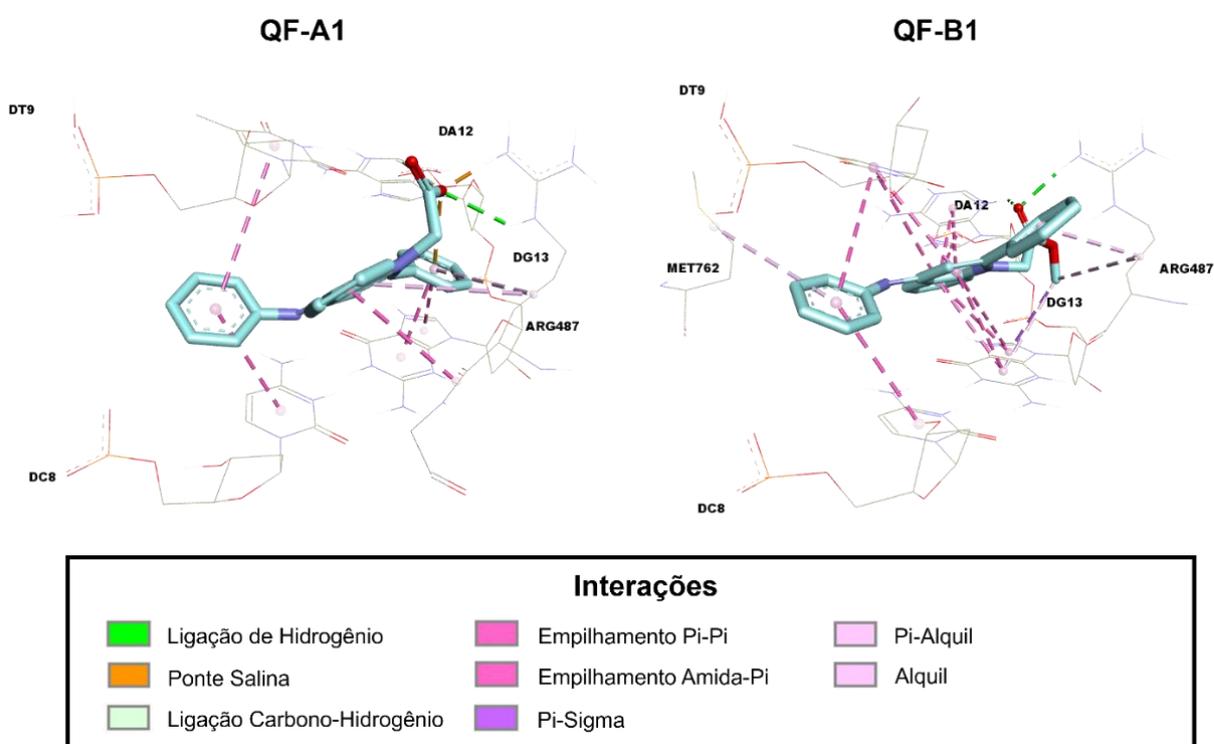
Fonte: Aatoria (2022).

Entretanto, as séries ACF-E e QF-B foram exceções para esta regra, visto que não exibiram ligações amida- π . Assim, para justificar a maior afinidade dos compostos clorados de ambas as séries, foi observada a redução das distâncias para os empilhamentos π - π e π - π T entre o ACF-E2 e o alvo, em comparação com seu análogo não substituído ACF-E1. Já QF-B2 exibiu maior quantidade de interações de

hidrogênio, com distâncias mais curtas, além de melhor perfil de empilhamento π - π e maior número de ligações auxiliares do tipo π -alquil.

Outro fator importante para ser mencionado é a influência da substituição do resíduo de ácido acético por ésteres de metila e etila. Comparando os derivados dos grupos A e B, observa-se que houve redução de afinidade após a adição da metila, para ambas as séries, possivelmente, devido à perda de ligações iônicas entre o ácido carboxílico carregado negativamente e o aminoácido Arg487 com carga positiva, do sítio ativo da enzima (Figura 26).

Figura 26: Perfil de Interações dos Derivados QF-A1 e QF-B1 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



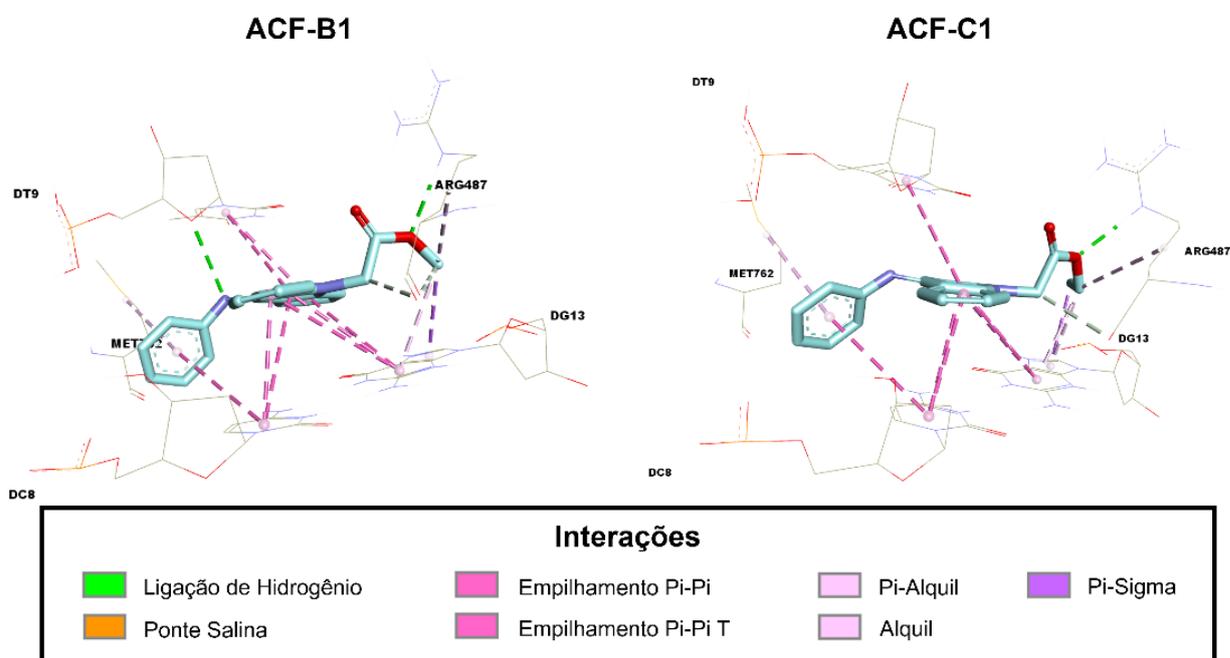
Fonte: Aatoria (2022).

Além disso, para a série ACF, houve, também, redução no número de ligações de hidrogênio e/ou encurtamento de suas distâncias, prejudicando sua intensidade. Na série QF, por sua vez, o resíduo de ácido acético permitiu, ainda, a adoção de uma conformação favorável à realização de ligações amida- π , relevantes para a estabilização do complexo com DNA e Topo II α .

Já a expansão do resíduo de éster, por meio da troca da metila por uma etila, foi favorável à interação com a enzima, para ambas as séries ACF e QF, embora sua

afinidade seja, ainda, inferior aos derivados contendo o ácido acético. Para justificar isso, é possível inferir que a maior estabilização do complexo DNA-Topo II α observada com os derivados do grupo C pode estar relacionada à manutenção de um perfil semelhante de ligações de hidrogênio e empilhamento π - π , associada a um aumento na quantidade de interações auxiliares do tipo π -alquil, com encurtamento de suas extensões. É possível visualizar esse padrão ao comparar, por exemplo, as interações dos compostos ACF-B1 e ACF-C1 (Figura 27).

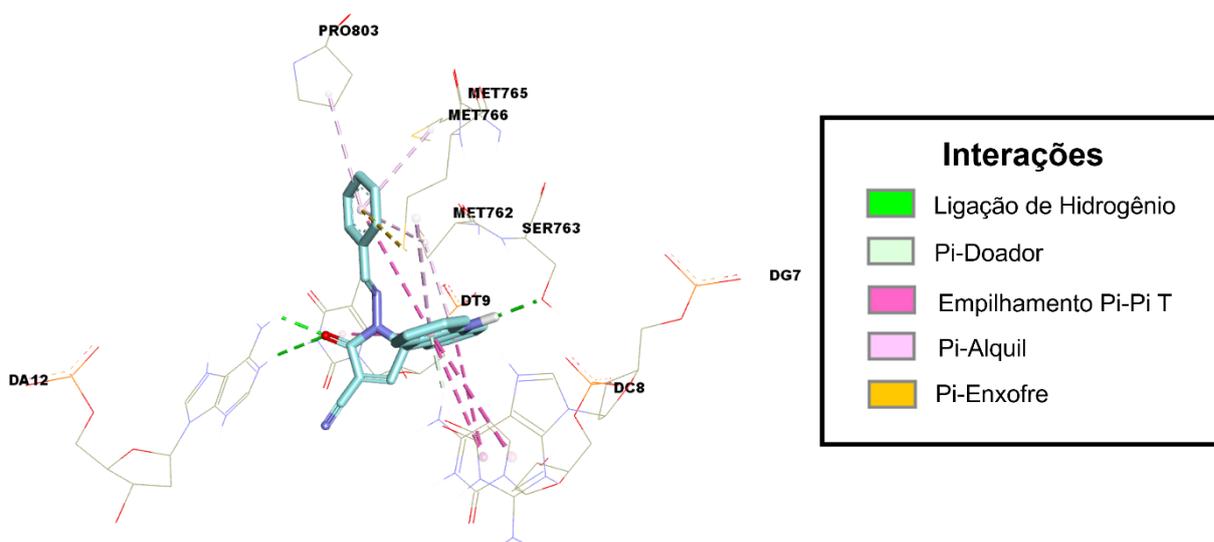
Figura 27: Perfil de Interações dos Derivados ACF-B1 e ACF-C1 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



Fonte: A autoria (2022).

É válido pontuar, também, que os compostos planejados apresentaram afinidade superior ao protótipo AMTAC-01, exceto apenas ACF-B1, ACF-C1, ACF-D1 e QF-D1. Isso porque, em comparação com os dois primeiros compostos, o derivado espiro-acridínico foi capaz de realizar mais interações de hidrogênio, com distâncias similares, mantendo um perfil de empilhamento π - π e ligações π -alquil semelhante, além de promover uma interação π -doador de ligação de hidrogênio (Figura 28). Esta é formada entre o hidrogênio doador e um sistema de elétrons π , que atua como acceptor, sendo bastante abundante em diversos sistemas biológicos e químicos, como a formação de complexos ligante-biorreceptor (NEKOEI & VATANPARAST, 2019).

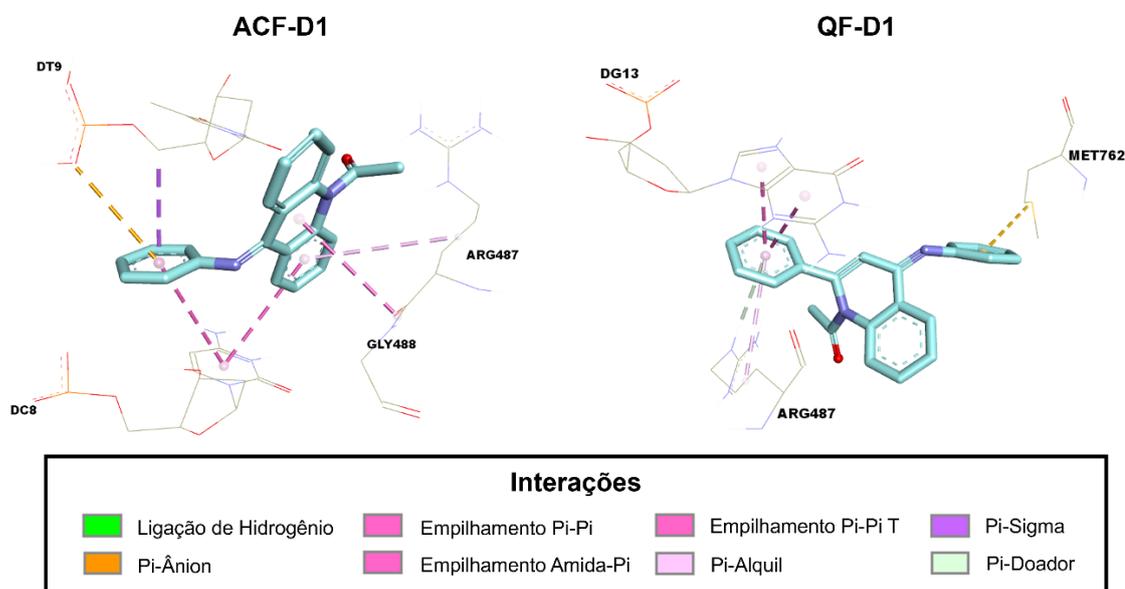
Figura 28: Perfil de Interações do Derivado AMTAC-01 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



Fonte: Aatoria (2022).

Ao comparar os padrões de interação de ACF-D1 e QF-D1, representados na Figura 29, é possível identificar que, embora tenham um perfil de empilhamento π - π e ligações π -alquil semelhante entre si, o derivado acridínico possui uma ligação eletrostática do tipo π -ânion com um grupo fosfato, o que justifica sua maior afinidade com o complexo DNA-Topo II α em comparação com o derivado quinolínico.

Figura 29: Perfil de Interações dos Derivados ACF-D1 e QF-D1 com a Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



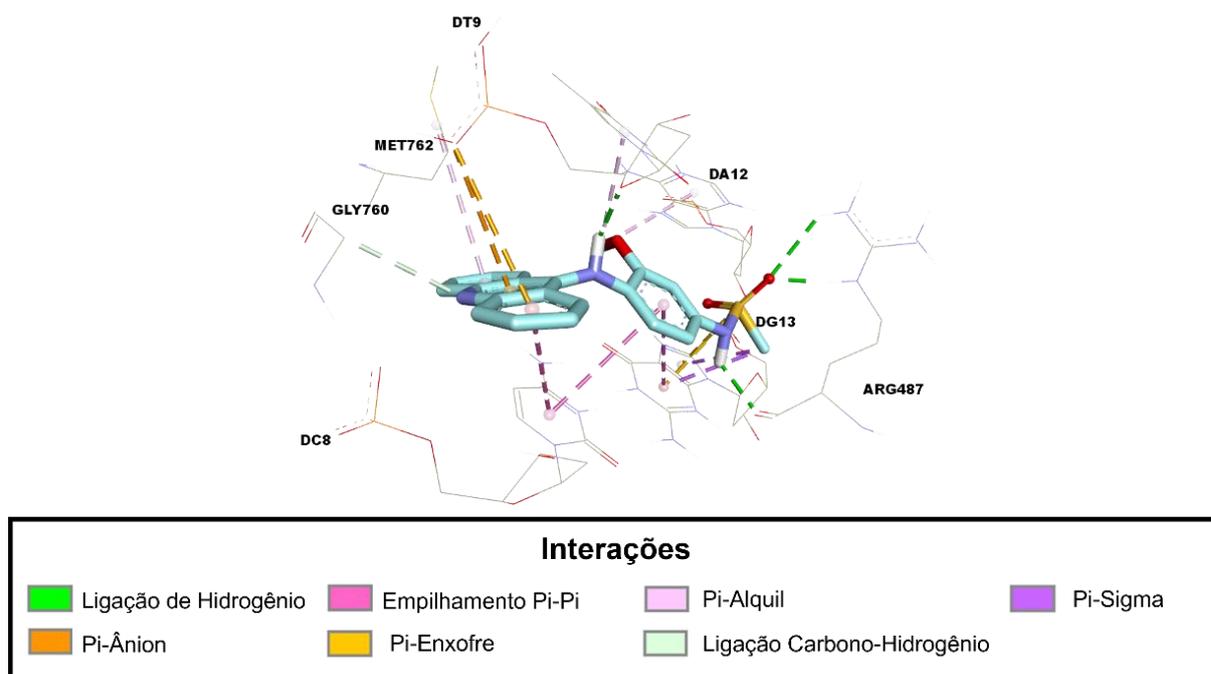
Fonte: Aatoria (2022).

Porém, ambos foram incapazes de realizar ligações de hidrogênio com o sítio ativo da enzima, bem como exibiram menor quantidade de interações do tipo empilhamento π - π e π -alquil, cujas extensões foram, também, maiores, em comparação com o AMTAC-01, o que justifica a maior afinidade deste com o alvo.

Dessa forma, pode-se deduzir que a estratégia de simplificação do anel espiro, associada à adição a porções de ácidos, ésteres e cetonas, foi favorável à interação com a Topo II α , uma vez que apenas quatro dentre os vinte compostos planejados exibiram menor afinidade com esta enzima, em relação ao AMTAC-01. Deve-se destacar, ainda, a série QF, levando em consideração a elevada afinidade demonstrada pela maioria dos derivados difenilimino-quinolínicos, em comparação com os derivados fenilimino-acridínicos, sendo apenas QF-D1 inferior ao AMTAC-01.

Outro aspecto fundamental a ser discutido consiste na maior afinidade dos derivados acridínicos associados aos resíduos de ácido e cetona fenólica, em relação à *m*-AMSA. Quanto aos primeiros, a porção ionizada do ácido foi fundamental para realizar interações iônicas, envolvendo duas espécies carregadas, o que torna esses compostos mais estáveis frente à Topo II α . Isso porque, embora a *m*-AMSA seja capaz de realizar ligações eletrostáticas, estas ocorrem entre anéis aromáticos polarizados e um grupo fosfato, envolvendo apenas uma espécie ionizada (Figura 30).

Figura 30: Interações da *m*-AMSA com o complexo Topo II α -DNA (PDB ID: 5GWK A)



Fonte: Aatoria (2022).

Além disso, ACF-A1 e ACF-A2 demonstraram interações de hidrogênios com menores distâncias, embora em menor quantidade, bem como um perfil de empilhamento π - π com maior número de ligações e menores distâncias. Ademais, o derivado clorado apresentou, ainda, interações complementares do tipo amida- π e ligação de halogênio (Figura 25), contribuindo para sua maior estabilidade frente à enzima complexada com DNA.

Já a maior afinidade dos compostos acridínicos contendo a cetona fenólica pode estar associada à maior quantidade de ligações envolvidas no empilhamento π - π , bem como suas dimensões mais curtas.

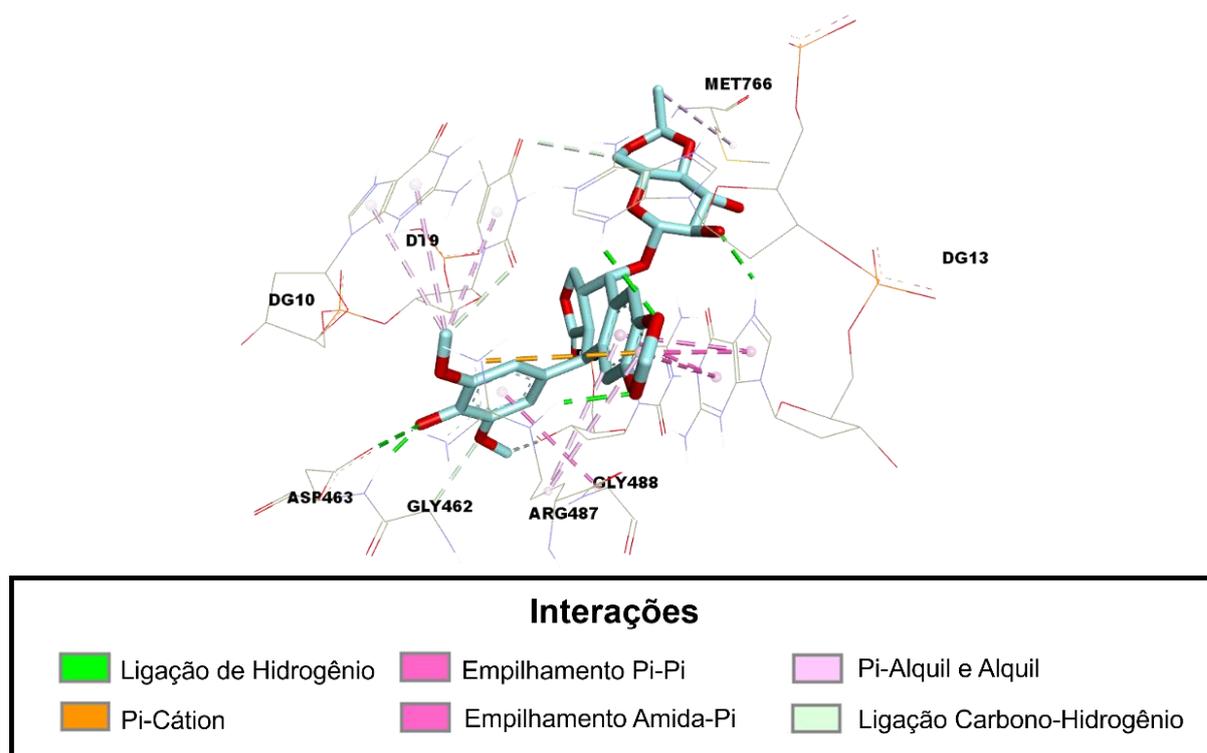
A série quinolínica, por sua vez, foi mais promissora em relação à *m*-AMSA, considerando que cinco dos dez derivados planejados demonstraram maior afinidade com o complexo Topo II α -DNA, sendo estes QF-A1, QF-A2, QF-B2, QF-C2 e QF-E2.

Todos exibiram maior quantidade de interações de empilhamento π - π com os nucleotídeos do complexo DNA-Topo II α , cuja estabilidade foi auxiliada, também, pela formação de ligações complementares do tipo amida- π , com distâncias curtas.

Além disso, de maneira similar a seus análogos acridínicos, os compostos quinolínicos mais promissores, QF-A1 e QF-A2, promoveram interações iônicas, estabelecidas entre dois grupamentos carregados. o que lhes confere um caráter eletrostático mais significativo em comparação com as ligações π -ânion da *m*-AMSA, que possuem um caráter misto, envolvendo um dipolo e uma espécie carregada.

No entanto, todos os derivados planejados demonstraram resultados de afinidade e potência inferiores ao EVP, inibidor potente da Topo II α , co-cristalizado com o alvo. Sua maior estabilidade com o complexo enzima-DNA pode estar relacionada à melhor complementariedade da molécula, que foi capaz de desenvolver um maior número de interações relevantes com a Topo II α (Figura 31), como ligações de hidrogênio, empilhamento π - π , amida- π , π -alquil, carbono-hidrogênio, bem como forças eletrostáticas do tipo π -cátion.

Figura 31: Perfil de Interações do Etoposídeo com a Topo II α complexada com o DNA (PDB ID: 5GWK A)



Fonte: Aatoria (2022).

Por fim, é interessante ressaltar que todos os derivados planejados interagiram com o aminoácido Arg487, por meio de ligações hidrofóbicas ou de hidrogênio, enquanto alguns demonstraram, também, interação com Asp463 e os nucleotídeos Timina-9, Adenina-12 e Guanina-13 (Tabela 10).

Os resíduos mencionados foram considerados relevantes para a inibição do sítio catalítico da Topo II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK), em um estudo que avaliou diversas pesquisas, dentro dos últimos cinco anos, envolvendo compostos com atividade *in vitro* e *in silico* de inibição seletiva de Topo II (GOMES et al., 2022).

Tabela 10: Resíduos da Topo II α (PDB ID: 5GWK A) que interagem com os compostos

(continua)

Moléculas	Série ACF	Série QF
A1	Arg487, Met762, C8, T9, G13	Arg487, C8, T9, A12, G13
A2	Arg487, Asp463, C8, T9, G10, G13	Arg487, C8, T9, A12, G13
B1	Arg487, Met762, C8, T9, G13	Arg487, Met762, C8, T9, A12, G13

Tabela 10: Resíduos da Topo II α (PDB ID: 5GWK A) que interagem com os compostos (conclusão)

Moléculas	Série ACF	Série QF
B2	Arg487, Asp463, Met762, C8, T9, G10, G13	Arg487, C8, T9, A12, G13
C1	Arg487, Met762, C8, T9, G13	Arg487, Met762, C8, T9, A12, G13
C2	Arg487, Asp463, Met762, C8, T9, G10, G13	Arg487, C8, T9, A12, G13
D1	Arg487, C8, T9	Arg487, Met762, G13
D2	Arg487, Glu461, C8, T9	Arg487, Gly462, C8, T9, G13
E1	Arg487, Met762, G7, C8, T9, A12, G13	Arg487, Asp463, Met762, Gly488, Gly760, Gly462, T9, G13
E2	Arg487, Met762, G7, C8, T9, A12, G13	Arg487, Met762, Met766, C8, T9, A12, G13
Moléculas	Resíduos	
AMTAC-01	Ser763, Met766, Met762, Met765, Pro803, G7, C8, T9, A12	
<i>m</i>-AMSA	Arg487, Met762, Gly760, C8, T9, A12, G13	
EVP	Arg487, Asp463, Gly462, Met766, C8, T9, G10, A12, G13	

Fonte: Aatoria (2022). **Legenda:** A = Adenina, T = Timina, C = Citosina, G = Guanina.

Além disso, Gomes e colaboradores (2022), comparando diversos compostos inibidores de topoisomerase, concluíram que a seletividade para o tipo II pode estar associada a moléculas de tamanho médio ou grande, bem como à presença de grupos aceptores/doadores de elétrons, como carbonilas e, sobretudo, nitrogênios terciários. Foi observada, também, a existência de anéis heteroaromáticos, com maior flexibilidade, bem como halogênios, como cloro, bromo e flúor.

Portanto, é possível deduzir que as estratégias de simplificação do anel espiro e adição de porção alquílicas, mantendo o grupo imina e acrescentando diversos grupamentos contendo carbonila, foram favoráveis para a afinidade com a enzima. Ademais, a flexibilização de um dos anéis aromáticos da acridina, bem como a substituição do hidrogênio por *p*-cloro, conforme a árvore de decisão de Topliss, foram modificações moleculares fundamentais, levando em consideração a estrutura do derivado planejado mais promissor, QF-A2.

5.2.4 Interação com EGFR (PDB ID: 4HJO)

Por fim, foi realizado *docking* molecular com o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR – ID: 4HJO), por meio da análise dos valores de ΔG e K_i obtidos, além dos perfis de interação com o alvo, em relação ao protótipo AMTAC-01 e o composto controle, Erlotinibe, um fármaco aprovado pela FDA, desde 2004, para o tratamento de câncer de pulmão de células não pequenas (ABOUREHAB et al., 2021).

Tabela 11: Resultados de *docking* dos compostos com o EGFR (ID: 4HJO)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	ΔG	K_i	ΔG	K_i
A1	-10,48	20,97	-9,82	63,80
A2	-10,88	10,56	-10,20	33,56
B1	-7,88	1.680,0	-8,28	851,21
B2	-8,59	506,27	-8,62	483,36
C1	-8,36	748,82	-8,55	543,54
C2	-8,69	425,40	-8,68	430,73
D1	-8,87	317,49	-8,57	523,52
D2	-8,62	480,80	-9,05	234,20
E1	-8,88	309,09	-9,24	169,75
E2	-9,22	174,67	-9,52	105,19
Moléculas	ΔG		K_i	
AMTAC-01	-7,82		1.850,0	
Erlotinibe	-7,85		1.760,0	

Fonte: Aatoria (2022). Legenda: ΔG = energia livre de ligação (kcal/mol); K_i = constante inibitória (nM).

Tabela 12: Interações das moléculas com o EGFR (ID: 4HJO)

(continua)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	Ligações	Distâncias (Å)	Ligações	Distâncias (Å)
A1	2 CA	3,09 – 4,74	1 LH	2,35
	2 LH	1,72 – 2,06	1 π -enxofre	5,75
	2 π - σ	3,63 – 3,72	3 π - σ	3,21 – 3,94
	4 π -alquil	4,78 – 5,25	8 π -alquil	3,46 – 5,35

Tabela 12: Interações das moléculas com o EGFR (ID: 4HJO)

(continua)

Moléculas	Série ACF		Série QF	
	Ligações	Distâncias (Å)	Ligações	Distâncias (Å)
A2	2 CA	3,08 – 4,72	1 LH	2,74
	2 LH	1,70 – 2,01	2 CH	2,88 – 2,96
	2 π - σ	3,49 – 3,66	1 π -enxofre	5,73
	6 π -alquil	4,71 – 5,45	1 π -ânion	3,61
	1 alquil	3,89	4 π - σ	3,17 – 3,94
B1			6 π -alquil	3,50 – 5,23
			2 alquil	3,62 – 4,71
	1 LH	2,40	1 LH	2,63
	5 π - σ	3,69 – 3,94	2 π - σ	3,24 – 3,68
	8 π -alquil	3,60 – 5,48	7 π -alquil	3,47 – 5,28
B2			2 alquil	4,34 – 4,69
	1 LH	1,98	1 LH	3,24
	1 π -enxofre	5,77	3 π - σ	3,64 – 3,89
	1 CH	3,16	4 π -alquil	3,43 – 5,12
	3 π - σ	3,01 – 3,89	2 alquil	3,92 – 4,50
C1	9 π -alquil	3,67 – 5,47		
	4 alquil	3,97 – 5,48		
	1 LH	2,07	1 LH	2,67
	4 π - σ	2,99 – 3,83	2 π - σ	3,17 – 3,65
C2	8 π -alquil	3,68 – 5,44	8 π -alquil	3,50 – 5,30
	2 alquil	4,61 – 5,24	2 alquil	4,57 – 4,64
	1 LH	2,08	1 LH	2,15
	3 π - σ	3,00 – 3,83	1 L-Hal	2,97
D1	10 π -alquil	3,68 – 5,35	1 CH	2,93
	4 alquil	4,09 – 4,75	4 π - σ	3,73 – 3,98
	1 LH	3,39	8 π -alquil	4,24 – 5,50
	5 π - σ	3,59 – 3,87	3 alquil	3,99 – 4,52
D2	6 π -alquil	3,40 – 5,47	1 π -cátion	4,85
	1 π -enxofre	5,73	2 π - σ	3,69 – 3,99
	4 π - σ	3,09 – 3,88	6 π -alquil	3,91 – 5,50
	8 π -alquil	3,70 – 5,50	1 alquil	4,03
E1	2 alquil	4,17 – 4,63		
	4 π - σ	3,46 – 3,86	1 π - π T	4,24
	10 π -alquil	3,73 – 5,42	4 π - σ	3,50 – 3,86
E2			8 π -alquil	4,02 – 5,27
	5 π - σ	3,47 – 3,99		
	11 π -alquil	3,74 – 5,48	1 π - π T	4,24
	1 alquil	4,08	4 π - σ	3,40 – 3,87
		8 π -alquil	4,03 – 5,28	
		1 alquil	5,09	

Tabela 12: Interações das moléculas com o EGFR (ID: 4HJO)

(conclusão)

Moléculas	Ligações	Distâncias (Å)
AMTAC-01	2 LH	1,77 – 2,32
	1 π -cátion	3,10
	1 π -EL	2,80
	1 π - π T	5,38
	1 π - σ	3,66
	3 π -alquil	4,14 – 4,80
Erlotinibe	2 LH	1,96 – 1,97
	2 π - σ	3,60 – 3,98
	7 π -alquil	3,52 – 5,42
	2 alquil	4,67 – 5,08
	2 CH	2,78 – 2,80

Fonte: Aatoria (2022). **Legenda:** LH = Ligação de Hidrogênio; CH = Carbono-Hidrogênio; CA = Carga Atrativa ou Ligação Iônica; L-Hal = Ligação de Halogênio; π -EL = π -Elétrons Livres.

Todos os derivados planejados demonstraram maior afinidade com o receptor EGFR, em comparação com os compostos-controle AMTAC-01 e Erlotinibe. Isso pode ser explicado pela ausência de interações iônicas e/ou menor quantidade de ligações alquila-arila, com maiores distâncias, em comparação com os compostos fenilimino-acridínicos e difenilimino-quinolínicos.

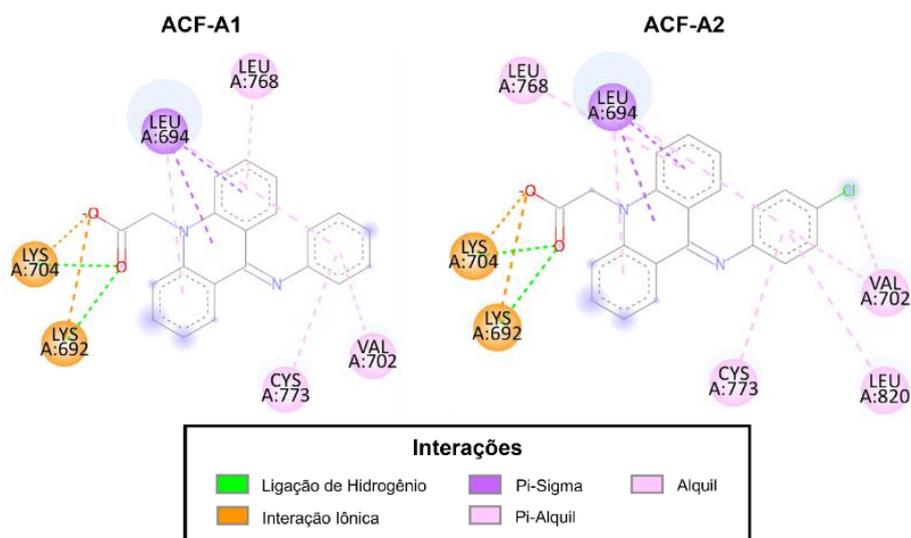
Dessa forma, pode-se deduzir que a simplificação do anel espiro foi uma estratégia relevante para a afinidade com esse alvo, considerando que as novas moléculas demonstraram melhor complementariedade com o sítio ativo.

Dentre os compostos planejados, seis derivados quinolínicos (B1, B2, C1, D2, E1 e E2) exibiram melhores resultados de energia livre e constante inibitória, enquanto apenas quatro moléculas da série ACF (A1, A2, C2 e D1) foram mais promissoras.

Entretanto, as maiores afinidades com o receptor EGFR foram estabelecidas em complexos com os compostos ACF-A1 e ACF-A2, uma vez que foram os únicos a realizar interações iônicas entre grupamentos carregados e em maior quantidade (Figura 32), o que lhes confere maior estabilidade frente ao alvo.

Além disso, foi identificada, também, a formação de duas ligações de hidrogênio com menores dimensões, em comparação com todas as outras moléculas avaliadas nesse estudo.

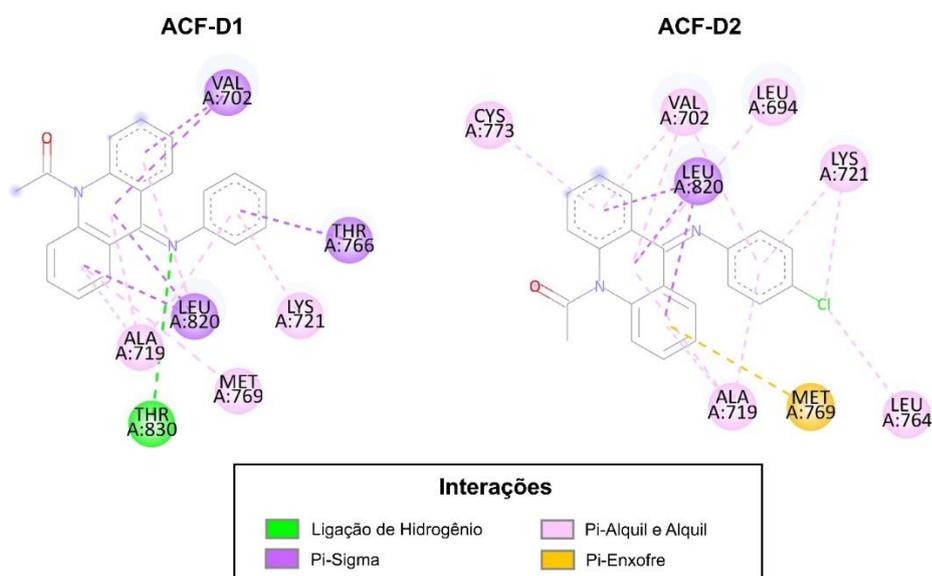
Figura 32: Perfil de Interações de ACF-A1 e ACF-A2 com o EGFR (ID: 4HJO)



Fonte: Aatoria (2022).

Outro aspecto importante a ser discutido é a influência do substituinte *p*-cloro, que foi capaz de elevar a afinidade com o receptor, indicando que os efeitos lipofílico e retirador de elétrons do halogênio induziram a uma conformação mais estável, para todos os derivados planejados, à exceção do ACF-D1. Para justificar isso, é possível identificar a perda da ligação de hidrogênio bem como o aumento das distâncias das ligações alquila-arila do tipo π -alquil e π - σ , no perfil de interações do derivado clorado ACF-D2 (Figura 33).

Figura 33: Perfil de Interações de ACF-D1 e ACF-D2 com o EGFR (ID: 4HJO)



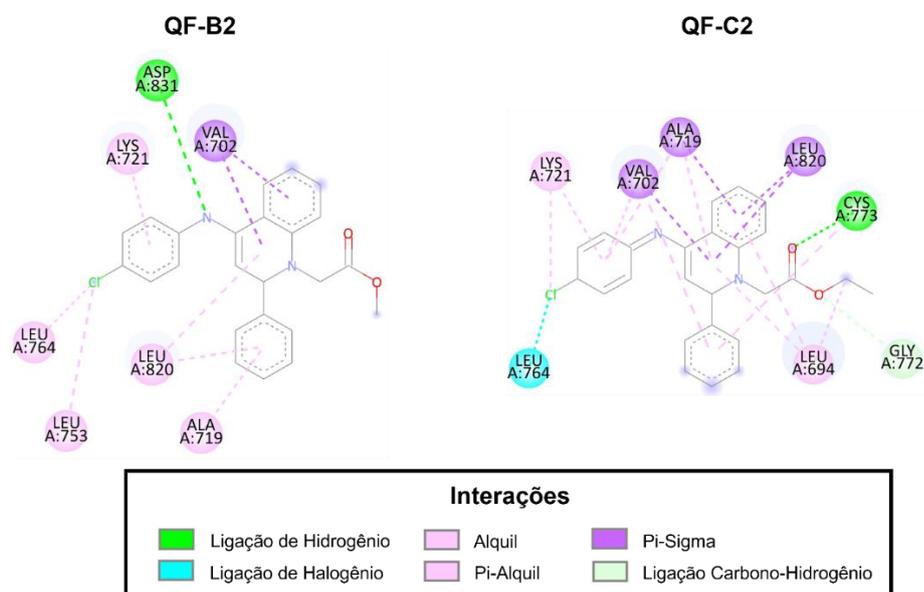
Fonte: Aatoria (2022).

A partir da análise da Tabela 12, é interessante destacar, também, que a substituição do resíduo de ácido acético por éster metílico reduziu a afinidade dos compostos do grupo A, possivelmente, devido à perda de interações iônicas, no caso dos derivados acridínicos, e ao aumento nas distâncias das ligações de hidrogênio, em ambas as séries. Quanto aos derivados quinolínicos, outra característica observada foi a menor quantidade de interações alquila-arila realizadas pelo grupo B, levando à adoção de uma conformação menos estável dentro do sítio ativo do receptor, em comparação com os compostos contendo a porção de ácido acético.

Subsequentemente, a troca de uma metila por uma etila, no resíduo de éster, promoveu uma elevação na afinidade e na potência dos compostos de ambas as séries ACF e QF (Tabela 11). Para a primeira, identificou-se redução nas extensões das interações de hidrogênio e aumento no número de ligações alquila-arila, para os derivados não substituídos e clorados, respectivamente, levando ao aumento de sua estabilidade, após a substituição da porção de acetato de metila por acetato de etila.

Já para os derivados difenilimino-quinolínicos, houve a preservação de um perfil similar de ligações de hidrogênio e π -alquil, com redução de suas distâncias, na formação do complexo com QF-C1. Porém, diferentemente deste, o derivado QF-C2 exibiu interação de hidrogênio com curta distância, ligação de halogênio e de van der Waals, bem como maior quantidade de interações π - σ e π -alquil, o que justifica seus menores valores de ΔG e K_i em comparação com QF-B2 (Figura 34).

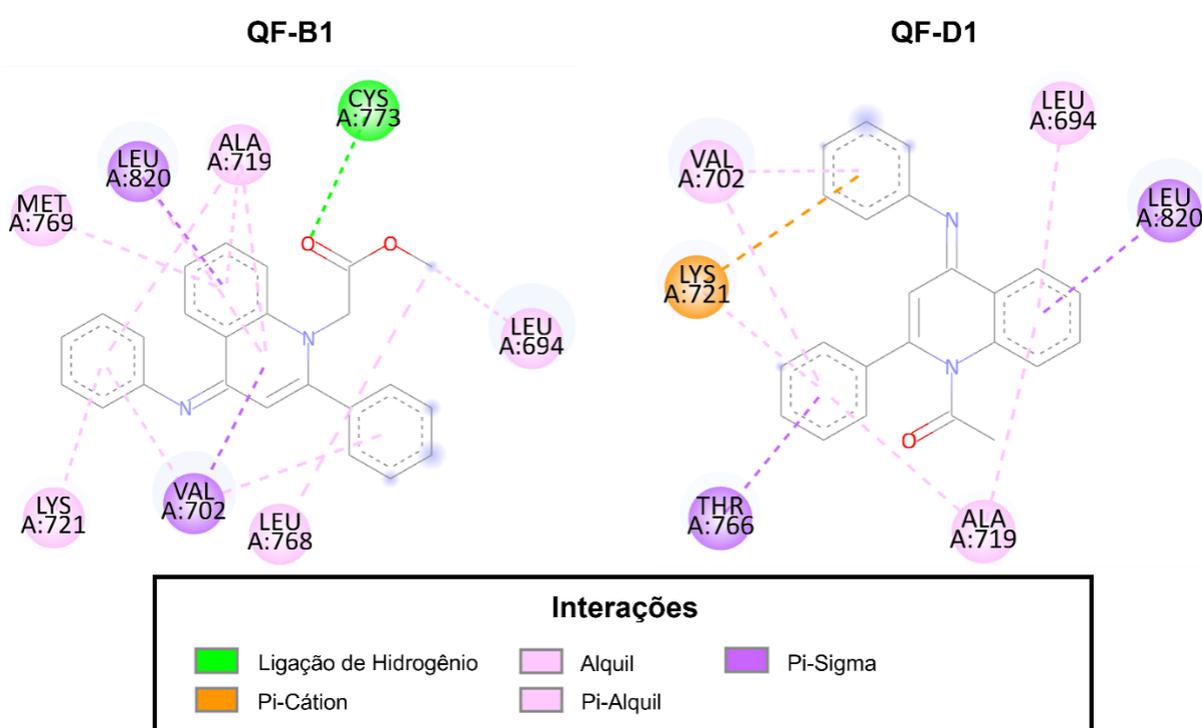
Figura 34: Interações de QF-B2 e QF-C2 com o EGFR (PDB ID: 4HJO)



Fonte: Aatoria (2022).

É válido enfatizar, ainda, que a simplificação do resíduo de acetato de metila em cetona metílica foi uma estratégia de modificação molecular favorável para a afinidade com o EGFR. Para justificar isso, observa-se, na Tabela 12, uma redução nas distâncias das ligações π -alquil, que podem auxiliar na estabilização do complexo com o EGFR, após a troca do éster pela cetona. Além disso, foi possível identificar, também, o surgimento de uma ligação π -cátion, no derivado QF-D1 (Figura 35), e isso pode explicar sua maior afinidade em comparação com QF-B1, considerando o caráter eletrostático dessa interação, que permite uma maior afinidade com o receptor.

Figura 35: Interações de QF-B1 e QF-D1 com o EGFR (PDB ID: 4HJO)



Fonte: Aatoria (2022).

Por fim, é fundamental pontuar que todos os derivados planejados foram capazes de interagir com aminoácidos em comum com o Erlotinibe (Tabela 13), com destaque para os resíduos Met769, Cys773, Val702, Leu 694 e Leu764, considerados relevantes para o receptor EGFR, devido à sua maior frequência de interação. Diferentemente do AMTAC-01, que exibiu ligações apenas com dois destes aminoácidos, Cys773 e Val702.

Dessa forma, é possível sugerir que as estratégias de simplificação do anel espiro e expansão molecular, por meio da adição a porções de ácidos, ésteres e

cetonas, foram favoráveis para a afinidade com o receptor EGFR, considerando o perfil de interações dos compostos planejados, bem como sua afinidade e potência, em comparação com o Erlotinibe. Além disso, ambas as séries demonstraram resultados promissores, uma vez que todos os derivados fenilimino-acridínicos e difenilimino-quinolínicos foram mais estáveis em complexo com o sítio ativo do EGFR.

Tabela 13: Aminoácidos do EGFR (PDB ID: 4HJO) que interagem com os compostos

Moléculas	Série ACF	Série QF
A1	Lys692, Lys704, Leu694, Cys773, Val702	Cys773, Leu820, Val702, Thr766, Met769, Ala719, Lys721
A2	Lys692, Lys704, Leu694, Cys773, Val702, Leu820, Leu768	Cys773, Gly772, Leu820, Val702, Leu694, Ala719, Met769, Lys721, Leu764, Leu753
B1	Cys773, Thr766, Leu820, Val702, Met769, Ala719, Lys721	Cys773, Leu820, Val702, Lys721, Ala719, Met769, Leu694, Leu768
B2	Met769, Leu820, Val702, Ala719, Lys721, Leu694, Leu764, Leu753	Asp831, Val702, Leu820, Ala719, Lys721, Leu764, Leu753
C1	Met769, Leu820, Val702, Ala719, Lys721, Leu694, Leu768	Cys773, Val702, Leu820, Ala719, Lys721, Met769, Leu768, Leu694
C2	Met769, Leu820, Ala719, Lys721, Val702, Leu694, Leu764, Leu768	Cys773, Leu764, Gly772, Leu820, Val702, Ala719, Leu694, Lys721
D1	Thr830, Leu820, Val702, Thr766, Met769, Ala719, Lys721	Lys721, Leu820, Thr766, Ala719, Leu694, Val702, Lys721
D2	Leu820, Met769, Cys773, Ala719, Val702, Leu694, Lys721, Leu764	Lys721, Leu820, Thr766, Ala719, Leu694, Val702, Arg817
E1	Leu820, Thr766, Ala719, Lys721, Val702, Leu694, Leu820, Met769	Val702, Leu694, Val702, Lys721, Ala719, Leu820, Cys751, Met769
E2	Leu820, Thr830, Thr766, Lys721, Ala719, Val702, Met769, Cys773, Leu694	Val702, Leu694, Val702, Lys721, Ala719, Leu820, Cys751, Met769
Moléculas	Resíduos de Aminoácidos	
AMTAC-01	Cys773, Asp831, Lys721, Arg817, Val702, Arg817, Leu820	
Erlotinibe	Met769, Cys773, Leu694, Leu820, Ala719, Val702, Lys721, Leu764, Gln767	

Fonte: Aatoria (2022).

Dessa forma, considerando os resultados de *docking* molecular, com Topo II α e EGFR, é possível identificar a maior afinidade dos compostos contendo a porção de ácido acético, sendo os derivados quinolínicos mais promissores para inibição de Topo II α , enquanto os acridínicos demonstram maior afinidade com o EGFR.

5.3 Perfil farmacocinético *in silico*

Embora os derivados ACF-A1, ACF-A2, QF-A1 e QF-A2 tenham apresentado resultados mais promissores, a proposta do estudo farmacocinético foi feita com os compostos contendo a porção de éster etílico, sendo estes: ACF-C1, ACF-C2, QF-C1 e QF-C2. Para justificar isso, foi considerado que, embora sejam menos ativos, há a possibilidade de hidrólise desse resíduo, por meio da ação de esterases, gerando metabólitos ativos e, com isso, prolongando o efeito farmacológico.

Inicialmente, foi realizada a avaliação das propriedades de *drug-likeness* para as moléculas planejadas. Nesse sentido, destaca-se a Regra dos Cinco, formulada por Lipinski, através da observação de determinados parâmetros que podem limitar a absorção de um composto por via oral, como alto peso molecular e lipofilicidade (Coeficiente de Partição Octanol-Água – Log P), bem como elevado número de grupos aceptores e doadores de ligação de hidrogênio, uma vez que afetam diretamente a solubilidade e a permeabilidade (POLLASTRI, 2010). Considerando os valores preditos para os derivados planejados mais promissores, descritos na Tabela 14, é possível concluir que todos apresentam características físico-químicas favoráveis a uma boa biodisponibilidade por via oral.

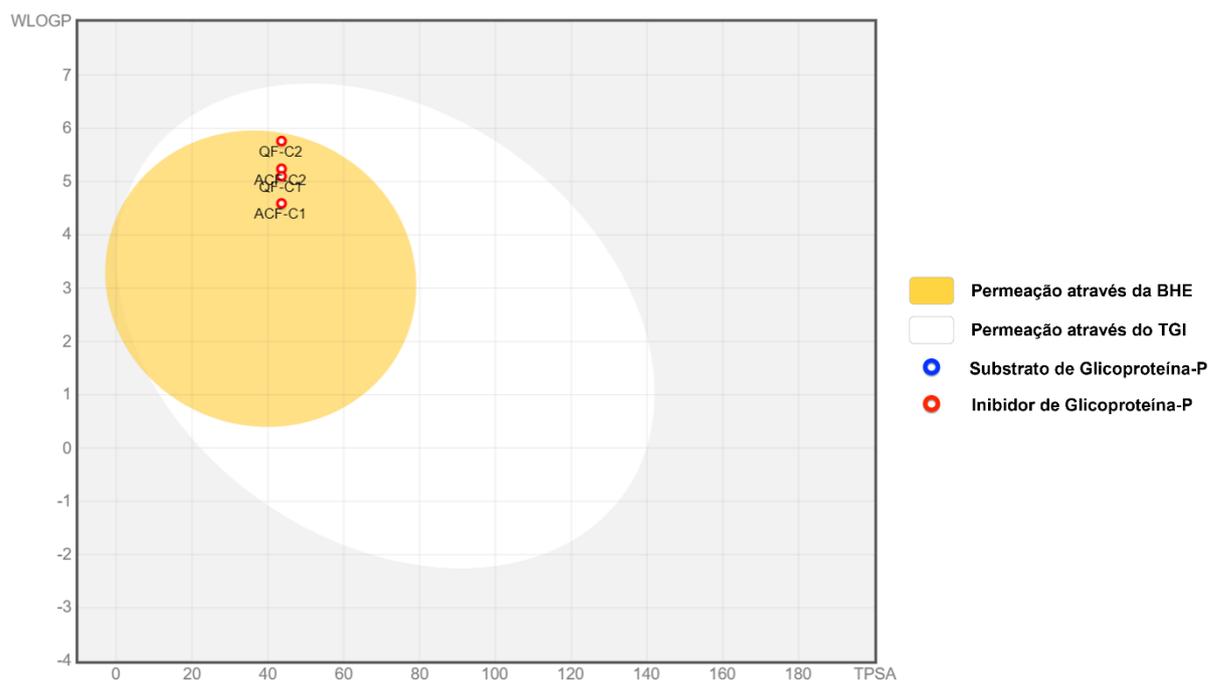
Tabela 14: Parâmetros de *Drug-likeness* dos Compostos ACF-C e QF-C, de acordo com a Regra dos Cinco de Lipinski

Molécula	PM	MLogP	DLH	ALH
ACF-C1	356,42	3,49	0	3
ACF-C2	390,86	3,97	0	3
QF-C1	382,45	3,60	0	3
QF-C2	416,90	4,08	0	3
Limite	≤ 500	≤ 5	≤ 5	≤ 10

Fonte: Aurtoria (2022). **Legenda:** PM: Peso Molecular (g/mol); MLogP: Log P. DLH: N^o de Doadores de Ligação de H; ALH: N^o de Aceptores de Ligação de H.

Para comprovar isso, os derivados mais promissores exibiram, ainda, alta taxa de absorção intestinal, com valores acima de 95%, bem como demonstraram capacidade de permeação através do trato gastrointestinal (TGI) e da barreira hematoencefálica (BHE), conforme o modelo de permeação cerebral ou intestinal estimada (*Brain or Intestinal Estimated permeation predictive model – BOILED-Egg*), gerado pelo SwissADME (Figura 36).

Figura 36: Modelo BOILED-Egg dos Derivados ACF-C e QF-C



Fonte: Aatoria (2022).

Este gráfico estabelece uma comparação entre a lipofilicidade e a polaridade dos compostos, por meio de seus valores de Log P e de Área de Superfície Polar Topológica (TPSA), respectivamente, a fim de estimar sua absorção intestinal e distribuição para o sistema nervoso central (SNC), importantes parâmetros farmacocinéticos (DAINA & ZOETE, 2016).

A permeação através da BHE seria interessante apenas em tumores cerebrais, visto que seria uma propriedade necessária para atingir o local de ação. Porém, no caso dos tipos de câncer com maior incidência, que afetam os pulmões, as mamas ou o cólon, destacados nesse estudo, essa propriedade não é interessante, pois as moléculas poderiam gerar neurotoxicidade, levando a efeitos adversos indesejáveis.

De acordo com a Figura 36, é possível identificar, ainda, que todos os derivados mais promissores foram capazes de inibir a Glicoproteína-P (gp-P), sem sofrer sua ação como substratos. A gp-P é uma proteína transportadora da família ABC, situada na membrana plasmática das células de diversos locais do organismo, como o cólon, o intestino delgado, o fígado, os rins, entre outros (ARAÚJO, 2015).

Essa proteína atua como uma bomba de efluxo de xenobióticos, servindo como barreira fisiológica por meio da expulsão dessas substâncias para fora das células. A superexpressão associada à gp-P é comum em diversas células tumorais, restringindo a entrada de fármacos antineoplásicos e, conseqüentemente, diminuindo seu efeito. Por isso, essa proteína está relacionada à resistência de tumores a múltiplos fármacos (*Multidrug Resistance* - MDR), uma das principais limitações do tratamento antitumoral (ARAÚJO, 2015).

Outra característica farmacocinética avaliada para os compostos foi a capacidade de promover inibição bem como sofrer a ação do principal sistema enzimático responsável pelo metabolismo oxidativo (Fase I) de fármacos no organismo humano, o Citocromo-P450 (CYP450), essencial para elevar a polaridade e permitir sua depuração renal (ZHANG et al., 2020; SCHAIK, 2008).

Assim, utilizando os serviços web ADMETlab (XIONG et al., 2021) e pkCSM (PIRES et al., 2015), foi possível obter o perfil de interação dos derivados com as diferentes isoformas de CYP450, por meio de inibição ou como substrato (Tabela 15).

Tabela 15: Interação dos Compostos ACF-C e QF-C com as Isoformas de CYP450

Molécula	ACF-C1	ACF-C2	QF-C1	QF-C2
Inibição	1A2	1A2		
	2C19	2C19	1A2	1A2
	2C9	2C9	2C19	2C19
	2D6	2D6	2C9	2C9
	3A4	3A4		
Substrato	3A4	3A4	3A4	3A4

Fonte: Autoria (2022).

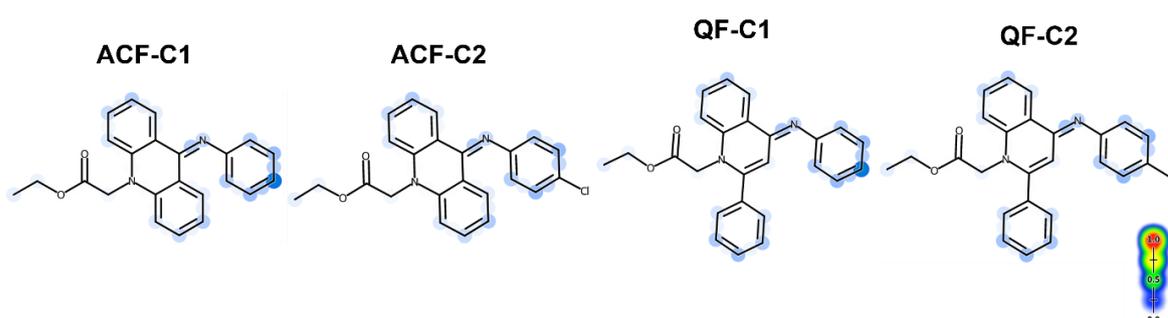
Considerando que CYP3A, CYP2D6 e CYP2C são as três subfamílias mais abundantes para a biotransformação, todos os compostos demonstraram ser substratos apenas da isoforma CYP3A4, envolvida com o metabolismo de cerca de 37% dos fármacos prescritos na clínica (SCHAIK, 2008; ZHANG et al., 2020).

Porém, quanto à inibição da CYP450, os derivados quinolínicos apresentaram um melhor perfil metabólico, promovendo inibição somente das isoformas CYP1A2, CYP2C19 e CYP2C9, enquanto os compostos acridínicos foram capazes de inibir todas as cinco isoformas avaliadas nesse estudo. Portanto, as moléculas planejadas podem promover interação com outros fármacos que sofrem metabolismo por essas isoformas, retardando-o e, conseqüentemente, reduzindo sua depuração renal, o que induz elevação em sua concentração sanguínea, podendo provocar toxicidade (ZHANG et al., 2020). Entretanto, os compostos da Série QF demonstraram menor possibilidade de interação medicamentosa, por meio de inibição das CYPs, apresentando um melhor perfil farmacocinético, em comparação com a Série ACF.

Por fim, foi feita a análise das reações metabólicas que podem ocorrer com os compostos mais promissores, bem como os principais sítios de metabolismo, isto é, grupamentos suscetíveis à biotransformação, por meio do serviço web Xenosite (ZARETZKI et al., 2013).

Primeiramente, foi observada a ocorrência de reações de oxidação estável, por meio da adição de oxigênio às moléculas, com formação de apenas um metabólito, nas regiões aromáticas e no grupamento imina (Figura 37). Estas reações incluem hidroxilação e epoxidação de anéis aromáticos, além de oxidação de nitrogênio (DANG et al., 2020).

Figura 37: Pontos de Oxidação Estável dos Compostos ACF-C e QF-C



Fonte: Aatoria (2022).

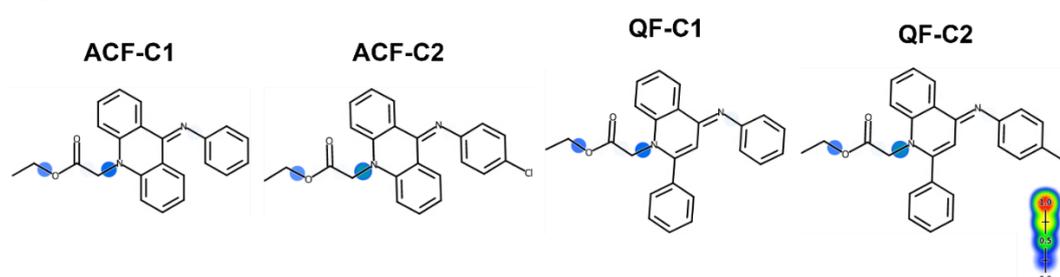
Dentre os derivados mais promissores, QF-A1 e QF-A2 apresentaram maior quantidade de regiões de oxidação estável, em relação a ACF-A1 e ACF-2, porém, todos demonstraram uma reatividade relativamente baixa, considerando a coloração mais azulada e que scores altos e moderados são associados às cores vermelho e verde, respectivamente.

Além disso, a presença do substituinte *p*-cloro reduz o número de possíveis regiões de oxidação estável, uma vez que impedem a ocorrência de hidroxilação aromática na posição *para*, que costuma exibir uma maior reatividade, em comparação com outros pontos de metabolismo.

Já as reações de oxigenação instável consistem em uma adição de oxigênio às moléculas, associada à desestabilização de uma ligação pesada, entre dois átomos não-hidrogênio, o que promove sua quebra, originando dois metabólitos, um contendo o oxigênio, enquanto o outro, não. As principais reações desse tipo consistem nas desalquilações de nitrogênio, oxigênio, enxofre e carbono (DANG et al., 2020).

Nesse sentido, foram identificados pontos de O e N-desalquilação na porção alquílica de éster, presente em todos os derivados analisados, porém, com baixa reatividade, devido à coloração azul nesses sítios metabólicos (Figura 38).

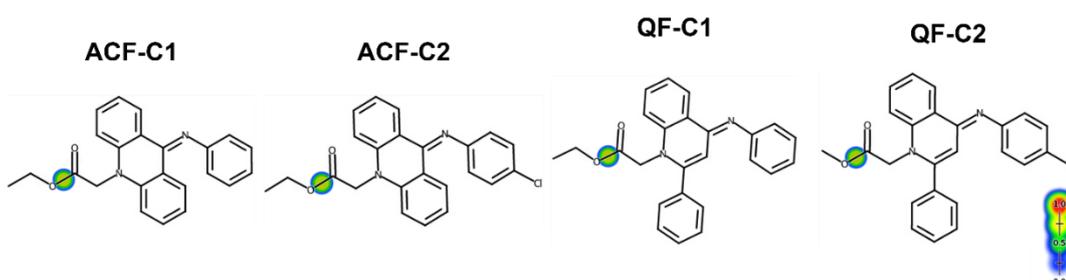
Figura 38: Pontos de Oxidação Instável dos Compostos ACF-C e QF-C



Fonte: Aatoria (2022).

Além disso, foi observada a possibilidade de ocorrência de hidrólise, uma reação metabólica de Fase I que ocorre por meio da quebra de ligações amida, éster ou éter, por meio da adição de uma molécula de água, originando dois metabólitos (DANG et al., 2020). Esse tipo de reação foi identificado nos compostos, na porção de éster etílico, com moderada reatividade, devido à coloração verde (Figura 39).

Figura 39: Pontos de Hidrólise dos Compostos ACF-C e QF-C



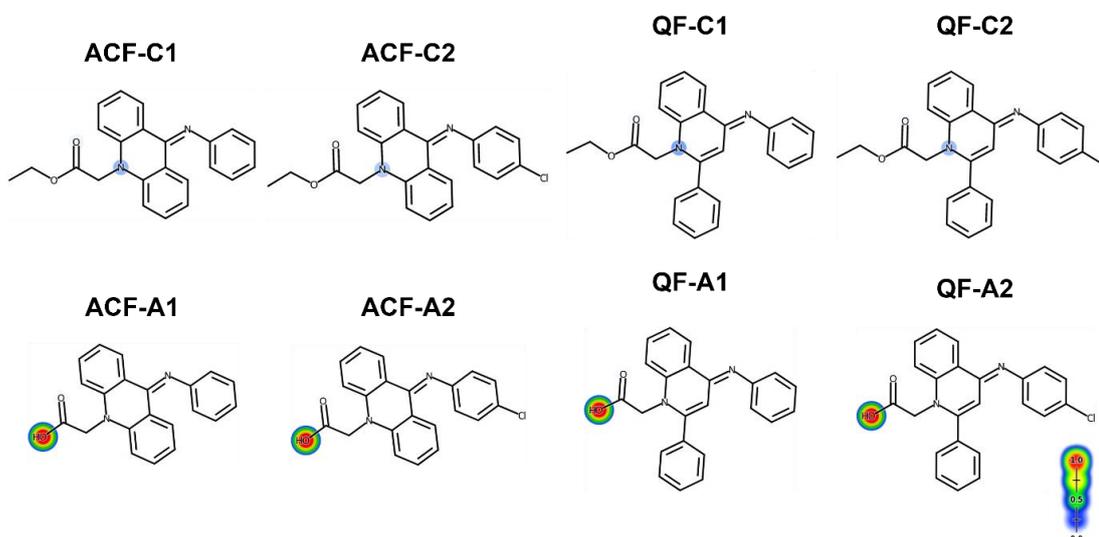
Fonte: Aatoria (2022).

Assim, é possível inferir que os derivados do grupo C são mais promissores, uma vez que possuem moderada afinidade com os alvos e podem gerar metabólitos com maior atividade, que, nesse caso, consistem nas moléculas contendo o resíduo de ácido acético.

Por fim, foi determinada, ainda, a possibilidade de conjugação com a enzima uridina difosfato glicuronosiltransferase (UGT), responsável pela catálise de reações de glicuronidação, principal mecanismo para o metabolismo de Fase II, que ocorre em cerca de 15% dos medicamentos aprovados pela FDA. A UGT catalisa a conjugação de ácido glicurônico em grupamentos polares, como hidroxila, carboxila, tiol e aminas, para aumentar a hidrossolubilidade de xenobióticos e moléculas endógenas, facilitando sua depuração renal (DANG et al., 2016; YANG et al., 2017).

Como resultado, os derivados contendo a porção éster exibiram baixa probabilidade de sofrer conjugação com glicuronídeo, entretanto, seus metabólitos ativos, ACF-A e QF-A, podem sofrer glicuronidação (Figura 40), para elevar sua polaridade e auxiliar na sua eliminação renal.

Figura 40: Pontos de Glicuronidação de ACF-A, ACF-C, QF-A e QF-C



Fonte: Autoria (2022).

De acordo com a Figura 40, observa-se a presença de pontos de glicuronidação diretamente nas hidroxilas dos resíduos de ácido acético e sua coloração vermelha evidencia, também, uma maior reatividade por meio desse tipo de reação, indicando alta probabilidade de ocorrência de conjugação com ácido glicurônico, para facilitar a eliminação renal dos compostos.

Portanto, é possível deduzir que os compostos mais promissores nos estudos de *docking* molecular exibiram um perfil farmacocinético apropriado, visto que demonstraram alta absorção intestinal, inibição de gp-P e um número razoável de vias metabólicas, para permitir tanto a formação de metabólitos mais ativos, como sua eliminação renal, evitando acúmulo no organismo e, com isso, toxicidade sistêmica.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As estratégias de modificação molecular foram bem-sucedidas, uma vez que os novos compostos planejados demonstraram resultados promissores de afinidade para alvos relevantes à sobrevivência e à proliferação de células tumorais.

Foi observada, também, a superioridade do núcleo quinolínico em relação à acridina, visto que uma maior quantidade de derivados difenilimino-quinolínicos obteve menores valores de energia livre e constante inibitória, em comparação com os compostos fenilimino-acridínicos, para todos os estudos de *docking*, ressaltando a importância da dissociação de um dos anéis aromáticos do *scaffold* da acridina.

Na interação com DNA, a simplificação do anel espiro e a adição de porções alquílicas foi importante para a realização de um perfil de empilhamento π - π favorável à intercalação e às interações com o sulco menor do DNA.

Igualmente, para o estudo de *docking* com a Topo II α complexada com DNA, foi possível constatar que a remoção do anel espiro e a adição de resíduos alquílicos ao núcleo heteroaromático, com a preservação da imina e a adição de grupos carbonílicos, foram favoráveis à inibição da enzima.

Com o receptor do fator de crescimento epidérmico, todos os compostos planejados demonstraram maior estabilidade durante a interação com o receptor, em comparação com o fármaco Erlotinibe e o AMTAC-01, sendo o núcleo acridínico mais favorável para a inibição do EGFR.

Por fim, os derivados mais promissores nos estudos de *docking* molecular, ACF-C e QF-C, exibiram alta absorção intestinal, inibição da gp-P e uma quantidade razoável de sítios de reações metabólicas de fase I e fase II, que permitem uma eliminação renal apropriada e previne seu acúmulo no organismo.

7 PERSPECTIVAS

- Sintetizar os derivados planejados, com destaque para os mais promissores, ACF-C1, ACF-C2, QF-C1 e QF-C2.
- Realizar a caracterização estrutural das moléculas, por meio de estudos de espectroscopia de RMN de ^{13}C e ^1H , bem como infravermelho e de massas.
- Avaliar a atividade antiproliferativa dos compostos em linhagens tumorais e não tumorais.
- Realizar estudos *in vitro* de interação com DNA e inibição de Topo II α , a fim de comprovar os resultados obtidos com os estudos *in silico*.
- Dar seguimento ao planejamento molecular baseado na árvore de decisão de Topliss, buscando a otimização dos *hits*.
- Publicação de artigos científicos.

REFERÊNCIAS

- ABDELLATIF, K. R. A.; ABDELALL, E. K. A.; ABDELGAWAD, M. A.; AMIN, D. M. E.; OMAR, H. A. Design, synthesis and biological evaluation of new 4-(4-substituted-anilino)quinoline derivatives as anticancer agents. **Medicinal Chemistry Research**, v. 26, n. 5, p. 929–939, 2017.
- ABOUREHAB, M.; ALQAHTANI, A. M.; YOUSSEF, B.; GOUDA, A. M. Globally Approved EGFR Inhibitors: Insights into Their Syntheses, Target Kinases, Biological Activities, Receptor Interactions, and Metabolism. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6677, 2021.
- ACHA-SAGREDO, A.; GANGULI, P.; CICCARELLI, F. D. Somatic variation in normal tissues: friend or foe of cancer early detection? **Annals of Oncology**, 2022.
- ALLINGER, N. L. Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 25, p. 8127–8134, 1977.
- ALMEIDA, L. C.; CALIL, F. A.; MACHADO-NETO, J. A.; COSTA-LOTUFO, L. V. DNA damaging agents and DNA repair: From carcinogenesis to cancer therapy. **Cancer Genetics**, v. 252–253, p. 6–24, 2021.
- ALMEIDA, S. M. V.; LAFAYETTE, E. A.; SILVA, W. L.; LIMA SERAFIM, V.; MENEZES, T. M.; NEVES, J. L.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; MOURA, R. O.; BELTRÃO, E. I. C.; CARVALHO JÚNIOR, L. B.; LIMA, M. C. A.; New spiro-acridines: DNA interaction, antiproliferative activity and inhibition of human DNA topoisomerases. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.92, p.467-475, 2016
- ALMEIDA, S. M. V.; RIBEIRO, A. G.; SILVA, G. C. L.; ALVES, J. E. F.; BELTRÃO, E. I. C.; OLIVEIRA, J. F.; CARVALHO, L. B.; LIMA, M. C. A. DNA binding and Topoisomerase inhibition: How can these mechanisms be explored to design more specific anticancer agents? **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1538–1556, 2017.
- ARAÚJO, A. P. L. M. G. O papel da glicoproteína-P nas interações fármaco-fármaco. 60 p. Dissertação (**Mestrado em Ciências Farmacêuticas**) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.
- BARRA, C. V.; NETO, A. V. G. Interações entre Complexos Antitumorais e o DNA e suas Ferramentas de Análise: um Enfoque nos Metalintercaladores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. 608 p.
- BELL, E. W.; ZHANG, Y. DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. **Journal of Cheminformatics**, v. 11, n. 1, p. 40, 2019.

BERDIGALIYEV, N.; ALJOFAN, M. An overview of drug discovery and development. **Future medicinal chemistry**, v. 12, n. 10, p. 939–947, 2020.

BHATIA, R.; SHARMA, V.; SHRIVASTAVA, B.; SINGLA, R. K. A Review on Bioisosterism: A Rational Approach for Drug Design and Molecular Modification. **Pharmacologyonline Newsletter**, v. 1, p. 272–299, 2011.

BILGE, S.; DOGAN-TOPAL, B.; TASKIN TOK, T.; ATICI, E. B.; SINAGŇ, A.; OZKAN, S. A. Investigation of the interaction between anticancer drug ibrutinib and double-stranded DNA by electrochemical and molecular docking techniques. **Microchemical Journal**, v. 180, p. 107622, 2022.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer – INCA. O que é câncer? **INCA - Instituto Nacional de Câncer**, 2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>>. Acesso em: 16 de jun. de 2022.

BURLINGHAM, B. T.; WIDLANSKI, T. S. An Intuitive Look at the Relationship of K_i and IC_{50} : A More General Use for the Dixon Plot. **Journal of Chemical Education**, v. 80, n. 2, p. 214, 2003.

CAI, X.; GRAY, P. J.; HOFF, D. D. V. DNA minor groove binders: Back in the groove. **Cancer Treatment Reviews**, v. 35, n. 5, p. 437–450, 2009.

CASTAÑEDA, A. M.; MELÉNDEZ, C. M.; URIBE, D.; PEDROZA-DÍAZ, J. Synergistic effects of natural compounds and conventional chemotherapeutic agents: recent insights for the development of cancer treatment strategies. **Heliyon**, v. 8, n. 6, 2022.

CHAUDHARY, S.; KUMAR, P.; KAUSHIK, M. Exploring the interaction of guanidine ligands Amiloride, Rimeporide and Cariporide with DNA for understanding their role as inhibitors of Na^+/H^+ exchangers (NHEs): A spectroscopic and molecular docking investigation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 213, p. 834–844, 2022.

CHOLEWIŃSKI, G.; DZIERZBICKA, K.; KOŁODZIEJCZYK, A. M. Natural and synthetic acridines/acridones as antitumor agents: their biological activities and methods of synthesis. **Pharmacological Reports**, v. 63, n. 2, p. 305–336, 2011.

CHOWDHURY, S. M.; HOSSAIN, M. N.; RAFF, M. R. *In silico* design and evaluation of novel 5-fluorouracil analogues as potential anticancer agents. **Heliyon**, 6, n. 9, p. e04978, 2020.

CURTI, V.; DI LORENZO, A.; DACREMA, M.; XIAO, J.; NABAVI, S. M.; DAGLIA, M. In vitro polyphenol effects on apoptosis: An update of literature data. **Seminars in Cancer Biology**, v. 46, p. 119–131, 2017.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 42717, 2017.

DAINA, A.; RÖHRIG, U. F.; ZOETE, V. Computer-Aided Drug Design for Cancer Therapy. *In*: WOLKENHAUER, O. **Systems Medicine**. [S. l.]: Elsevier, 2021. v. 2, cap. 11670, p. 386-401. ISBN 978-0-12-816078-7.

DAINA, A.; ZOETE, V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. **ChemMedChem**, v. 11, n. 11, p. 1117-1121, 2016.

DANG, N.; HUGHES, T. B.; KRISHNAMURTHY, V.; SWAMIDASS, S. J. A simple model predicts UGT-mediated metabolism. **Bioinformatics**, v. 32, n. 20, p. 3183–3189, 2016.

DANG, N. L.; MATLOCK, M. K.; HUGHES, T. B.; SWAMIDASS, S. J. The Metabolic Rainbow: Deep Learning Phase I Metabolism in Five Colors. **Journal of chemical information and modeling**, v. 60, n. 3, p. 1146–1164, 2020.

DU, X., LI, Y., XIA, Y.-L., AI, S.-M., LIANG, J., SANG, P., JI, X.-L., & LIU, S.-Q. Insights into Protein-Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 17, n. 2, p. 144, 2016.

FERREIRA, L. G.; SANTOS, R. N.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Molecular docking and structure-based drug design strategies. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 13384–13421, 2015.

FOKOUE, H.; PINHEIRO, P.; FRAGA, C.; SANT'ANNA, C. Há algo novo no reconhecimento molecular aplicado à química medicinal? **Química Nova**, v. 43, p. 78–89, 2020.

GASTEIGER, J.; MARSILI, M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity - a rapid access to atomic charges. **Tetrahedron**, v. 36, n. 22, p. 3219–3228, 1980.

GOMES, J. N. S.; SANTOS, M. B.; SILVA, Y. M. S. M.; ALBINO, S. L.; MOURA, R. O. Topoisomerase Enzyme Inhibitors as Potential Drugs Against Cancer: What Makes Them Selective or Dual? - A Review. **Curr Pharm Des.**, v. 28, n. 34, p. 2800-2824, 2022.

GRUNT, T. W.; VALENT, P. Cancer – A devastating disease, but also an eye-opener and window into the deep mysteries of life and its origins. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, 2022.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.

ILAKIYALAKSHMI, M.; NAPOLEON, A. A. Review on recent development of quinoline for anticancer activities. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 15, n. 11, p. 104168, 2022.

JAIN, S.; CHANDRA, V.; KUMAR JAIN, P.; PATHAK, K.; PATHAK, D.; VAIDYA, A. Comprehensive review on current developments of quinoline-based anticancer agents. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 4920–4946, 2019.

JAYASHREE, B. S.; NIKHIL, P. S.; PAUL, S. Bioisosterism in Drug Discovery and Development - An Overview. **Medicinal chemistry**, v. 18, n. 9, p. 915–925, 2022.

KARKI, R.; PARK, C.; JUN, K. Y.; JEE, J. G.; LEE, J. H.; THAPA, P.; KADAYAT, T. M.; KWON, Y.; LEE, E. S. Synthesis, antitumor activity, and structure–activity relationship study of trihydroxylated 2,4,6-triphenyl pyridines as potent and selective topoisomerase II inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 84, p. 555–565, 2014.

LAURIA, A.; MONICA, G.; BONO, A.; MARTORANA, A. Quinoline anticancer agents active on DNA and DNA-interacting proteins: From classical to emerging therapeutic targets. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 220, p. 113555, 2021.

LEE, D.; LIM, J.; WOO, K.-C.; KIM, K.-T. Piperonylic acid stimulates keratinocyte growth and survival by activating epidermal growth factor receptor (EGFR). **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 162, 2018.

LOHNING, A. E.; LEVONIS, S. M.; WILLIAMS-NOONAN, B.; SCHWEIKER, S. S. A Practical Guide to Molecular Docking and Homology Modelling for Medicinal Chemists. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 17, n. 18, p. 2023–2040, 2017.

MARTIN-FERNANDEZ, M. L.; CLARKE, D. T.; ROBERTS, S. K.; ZANETTI-DOMINGUES, L. C.; GERVASIO, F. L. Structure and Dynamics of the EGF Receptor as Revealed by Experiments and Simulations and Its Relevance to Non-Small Cell Lung Cancer. **Cells**, v. 8, n. 4, p. 316, 2019.

MOHASSAB, A. M.; HASSAN, H. A.; ABDELHAMID, D.; GOUDA, A. M.; YOUSSEF, B. G. M.; TATEISHI, H.; FUJITA, M.; OTSUKA, M.; ABDEL-AZIZ, M. Design and synthesis of novel quinoline/chalcone/1,2,4-triazole hybrids as potent antiproliferative agent targeting EGFR and BRAFV600E kinases. **Bioorganic Chemistry**, v. 106, p. 104510, 2021.

MOLLARASOULI, F.; DOGAN-TOPAL, B.; CAGLAYAN, M. G.; TASKIN-TOK, T.; OZKAN, S. A. Electrochemical, spectroscopic, and molecular docking studies of the interaction between the anti-retroviral drug indinavir and dsDNA. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 10, n. 5, p. 473–481, 2020.

MORRIS, G.M.; GOODSSELL, D.S.; HALLIDAY, R.S.; HUEY, R.; HART, W.E.; BELEW, R.K.; OLSON, A.J. Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function. **Journal of Computational Chemistry**, v.19, n. 14, p. 1639-1662, 1998.

MORRIS, G. M.; HUEY, R.; LINDSTROM, W.; SANNER, M. F.; BELEW, R. K.; GOODSSELL, D. S.; OLSON, A. J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated

docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009.

NASCIMENTO, I.; AQUINO, T.; SILVA-JÚNIOR, E. The New Era of Drug Discovery: The Power of Computer-aided Drug Design (CADD). **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 19, 2022.

NEKOEI, A.-R.; VATANPARAST, M. π -Hydrogen bonding and aromaticity: a systematic interplay study. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 21, n. 2, p. 623–630, 2019.

NIMAL, R.; NUR UNAL, D.; ERKMEN, C.; BOZAL-PALABIYIK, B.; SIDDIQ, M.; EREN, G.; SHAH, A.; USLU, B. Development of the electrochemical, spectroscopic and molecular docking approaches toward the investigation of interaction between DNA and anti-leukemic drug azacytidine. **Bioelectrochemistry**, v. 146, p. 108135, 2022.

NOWAK, K. Chemical structures and biological activities of bis- and tetrakis-acridine derivatives: A review. **Journal of Molecular Structure**, v. 1146, p. 562–570, 2017.

PICCIRILLO, E.; AMARAL, A. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Química Nova**, v. 41, p. 662–677, 2018.

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

PIRES, D. E. V; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066–4072, 2015.

POLLASTRI, M. P. Overview on the Rule of Five. **Current protocols in pharmacology**, v. 49, n. 1, p. 9.12.1–9.12.8, 2010.

POMMIER, Y.; LEO, E.; ZHANG, H.; MARCHAND, C. DNA Topoisomerases and Their Poisoning by Anticancer and Antibacterial Drugs. **Chemistry & Biology**, v. 17, n. 5, p. 421–433, 2010.

QUESNELLE, K. M.; BOEHM, A. L.; GRANDIS, J. R. STAT-mediated EGFR signaling in cancer. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 102, n. 2, p. 311–319, 2007.

RAMOTOWSKA, S.; CIESIELSKA, A.; MAKOWSKI, M. What Can Electrochemical Methods Offer in Determining DNA–Drug Interactions? **Molecules**, v. 26, n. 11, 2021.

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

RICHTER, L. Topliss Batchwise Schemes Reviewed in the Era of Open Data Reveal Significant Differences between Enzymes and Membrane Receptors. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 57, n. 10, p. 2575–2583, 2017.

ROY, T.; SZUTTOR, K.; SMIA TEK, J.; HOLM, C.; HARDT, S. Conformation and Dynamics of Long-Chain End-Tethered Polymers in Microchannels. **Polymers**, v. 11, n. 3, 2019.

SABE, V. T.; NTOMBELA, T.; JHAMB A, L. A.; MAGUIRE, G. E. M.; GOVENDER, T.; NAICKER, T.; KRUGER, H. G. Current trends in computer aided drug design and a highlight of drugs discovered via computational techniques: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 224, p. 113705, 2021.

SCHAIK, R. H. N. V. CYP450 pharmacogenetics for personalizing cancer therapy. **Drug Resistance Updates**, v. 11, n. 3, p. 77–98, 2008.

SHAHABADI, N.; HADIDI, S. Cu(I)-phospine complex exhibits temperature-dependent DNA intercalative binding: Insights from spectroscopic and molecular modeling studies. **Inorganica Chimica Acta**, v. 543, p. 121192, 2022.

SRIRAMULU, D. K.; LEE, S. G. Effect of molecular properties of the protein-ligand complex on the prediction accuracy of AutoDock. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 106, p. 107921, 2021.

SRIRAMULU, D. K.; WU, S.; LEE, S. G. Effect of ligand torsion number on the AutoDock mediated prediction of protein-ligand binding affinity. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 83, p. 359–365, 2020.

SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021.

TOPLISS, J. G. Utilization of operational schemes for analog synthesis in drug design. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 10, p. 1006–1011, 1972.

WANG, S.; DONG, G.; SHENG, C. Structural simplification: an efficient strategy in lead optimization. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 9, n. 5, p. 880–901, 2019.

WANG, X.; SONG, K.; LI, L.; CHEN, L. Structure-Based Drug Design Strategies and Challenges. **Current Topics In Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 12, p. 998–1006, 2018.

WARREN, G. L.; DO, T. D.; KELLEY, B. P.; NICHOLLS, A.; WARREN, S. D. Essential considerations for using protein–ligand structures in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 17, n. 23–24, p. 1270–1281, 2012.

XIONG, G.; WU, Z.; YI, J.; FU, L.; YANG, Z.; HSIEH, C.; YIN, M.; ZENG, X.; WU, C.; LU, A.; CHEN, X.; HOU, T.; CAO, D. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for

accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W5–W14, 2021.

YANG, N.; SUN, R.; LIAO, X.; AA, J.; WANG, G. UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) and their related metabolic cross-talk with internal homeostasis: A systematic review of UGT isoforms for precision medicine. **Pharmacological Research**, v. 121, p. 169–183, 2017.

ZARETZKI, J.; MATLOCK, M.; SWAMIDASS, S. J. XenoSite: Accurately predicting CYP-mediated sites of metabolism with neural networks. **Journal of chemical information and modeling**, v. 53, n. 12, p. 3373-3383, 2013.

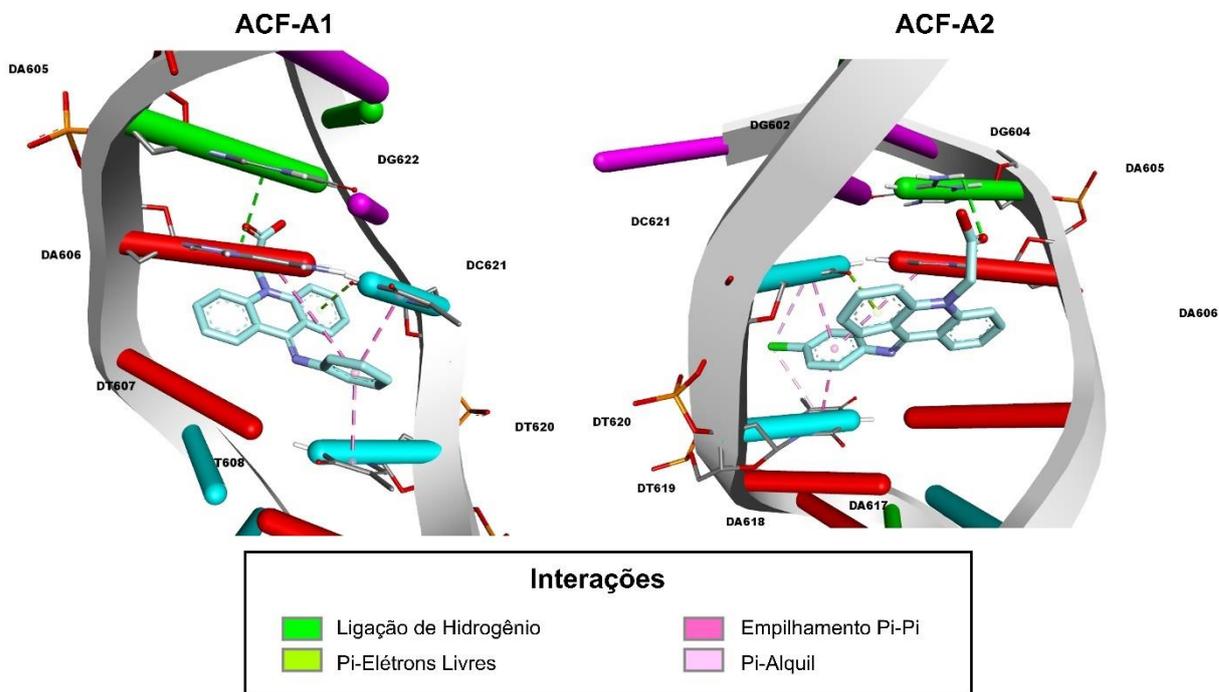
ZEGHADA, S.; BENTABED-ABABSA, G.; MONGIN, O.; ERB, W.; PICOT, L.; THIÉRY, V.; ROISNEL, T.; DORCET, V.; MONGIN, F. 2-Aminobenzaldehyde, a common precursor to acridines and acridones endowed with bioactivities. **Tetrahedron**, v. 76, n. 38, p. 131435, 2020.

ZHANG, B.; LI, X.; LI, B.; GAO, C.; JIANG, Y. Acridine and its derivatives: a patent review (2009 - 2013). **Expert opinion on therapeutic patents**, v. 24, n. 6, p. 647–664, 2014.

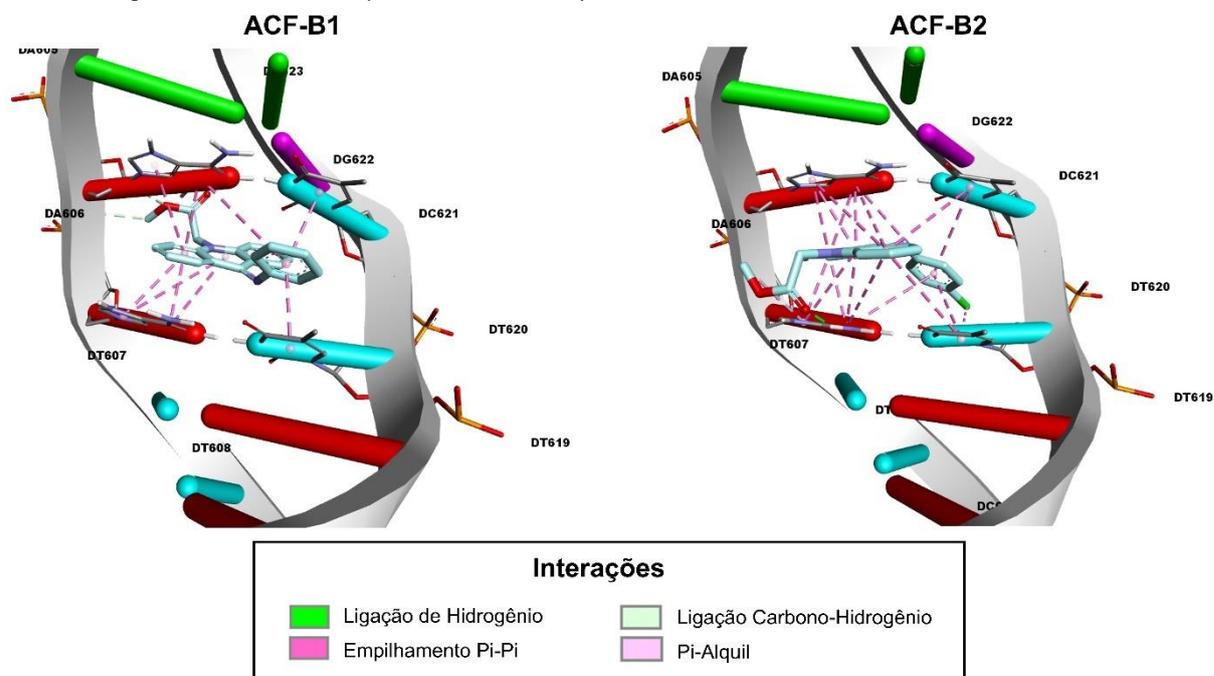
ZHANG, L.; XU, X.; BADAWEY, S.; IHSAN, A.; LIU, Z.; XIE, C.; WANG, X.; TAO, Y. A Review: Effects of Macrolides on CYP450 Enzymes. **Current drug metabolism**, v. 21, n. 12, p. 928–937, 2020.

APÊNDICES

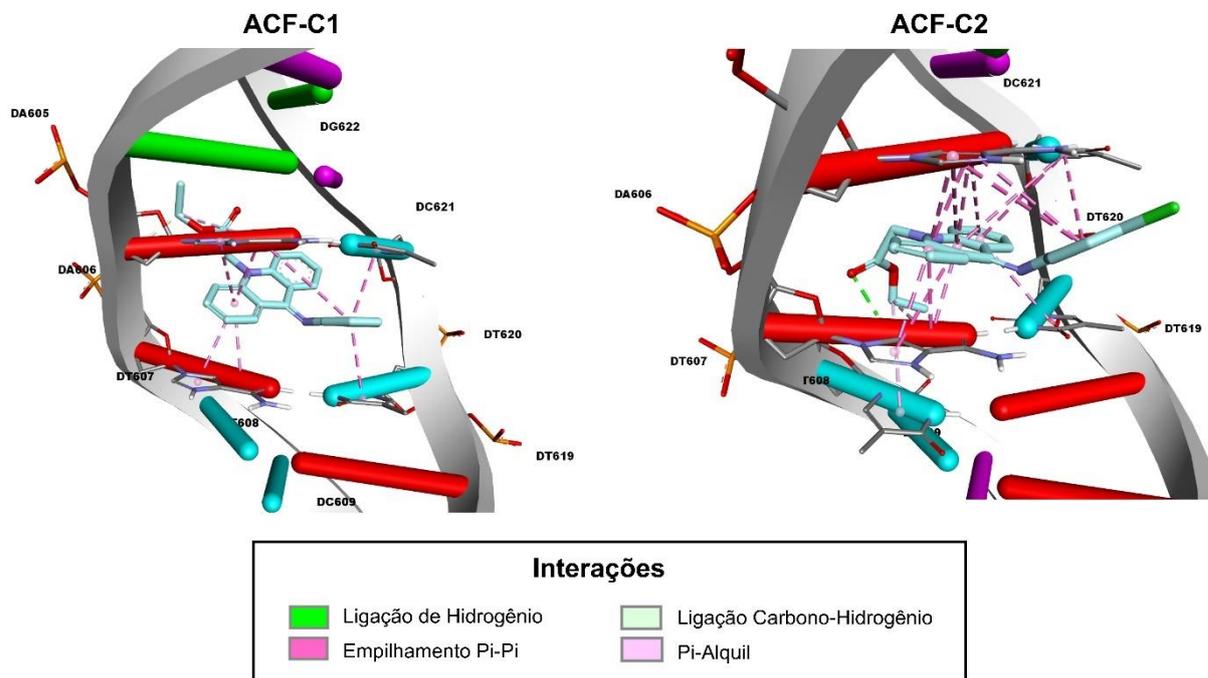
APÊNDICE A - Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-A1 e ACF-A2 para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



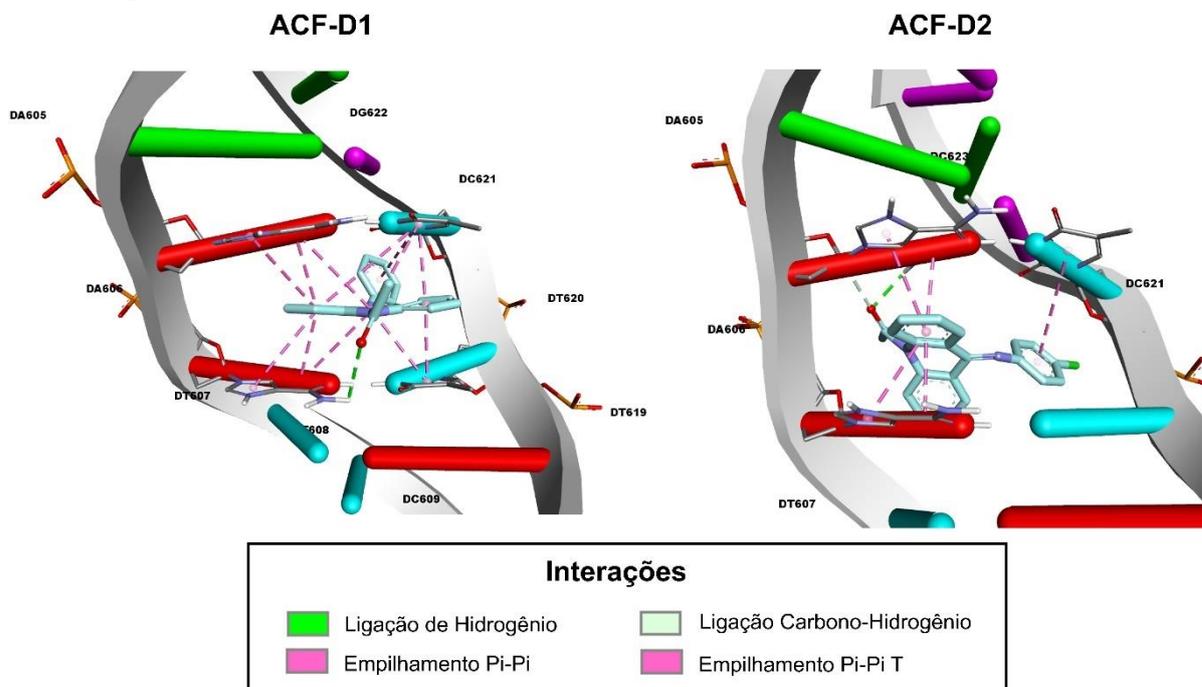
APÊNDICE B - Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-B1 e ACF-B2 para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



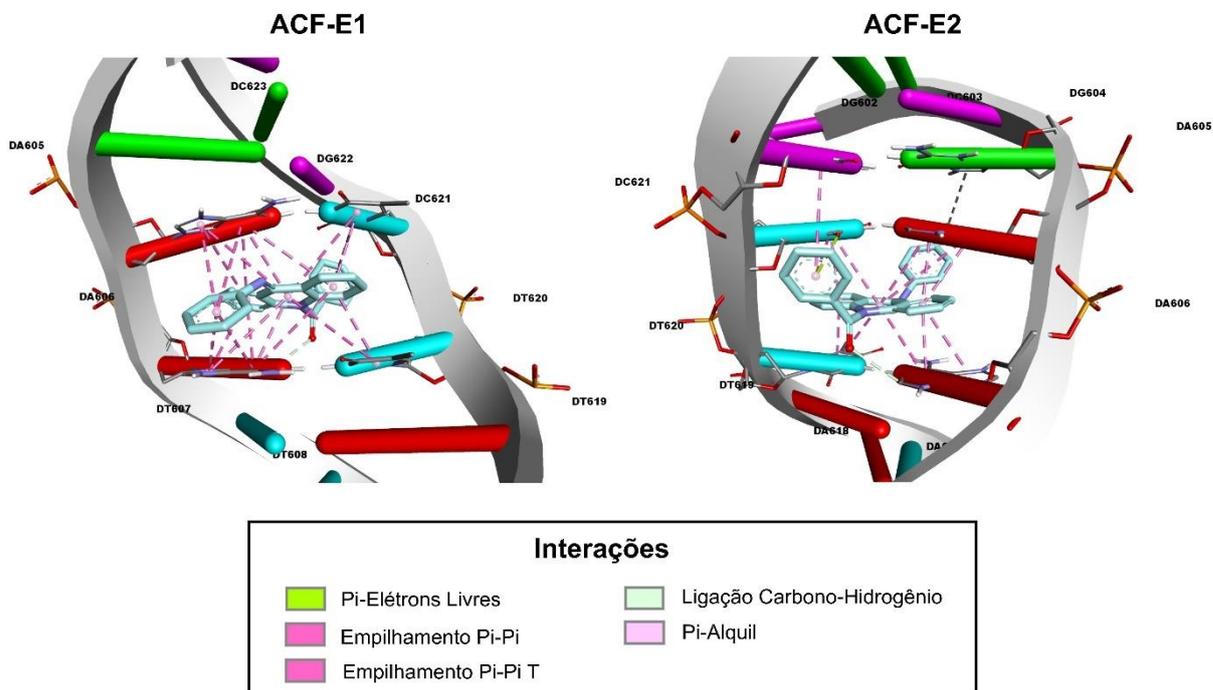
APÊNDICE C - Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-C1 e ACF-C2 para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



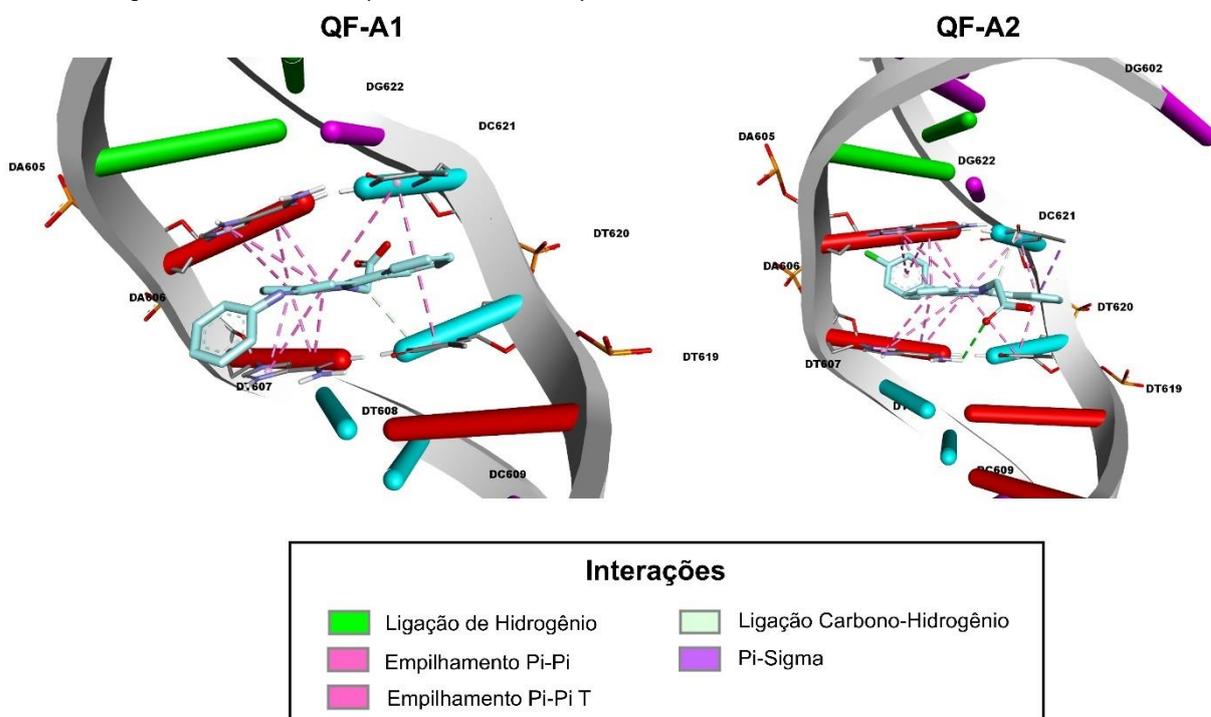
APÊNDICE D - Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-D1 e ACF-D2 para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



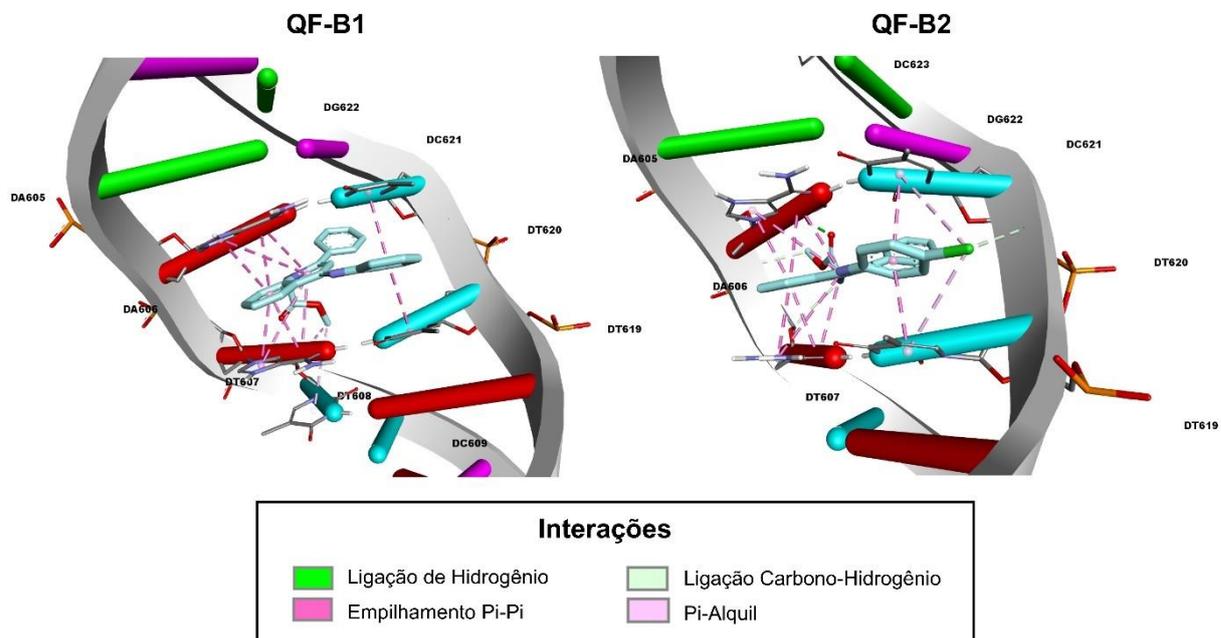
APÊNDICE E - Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-E1 e ACF-E2 para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



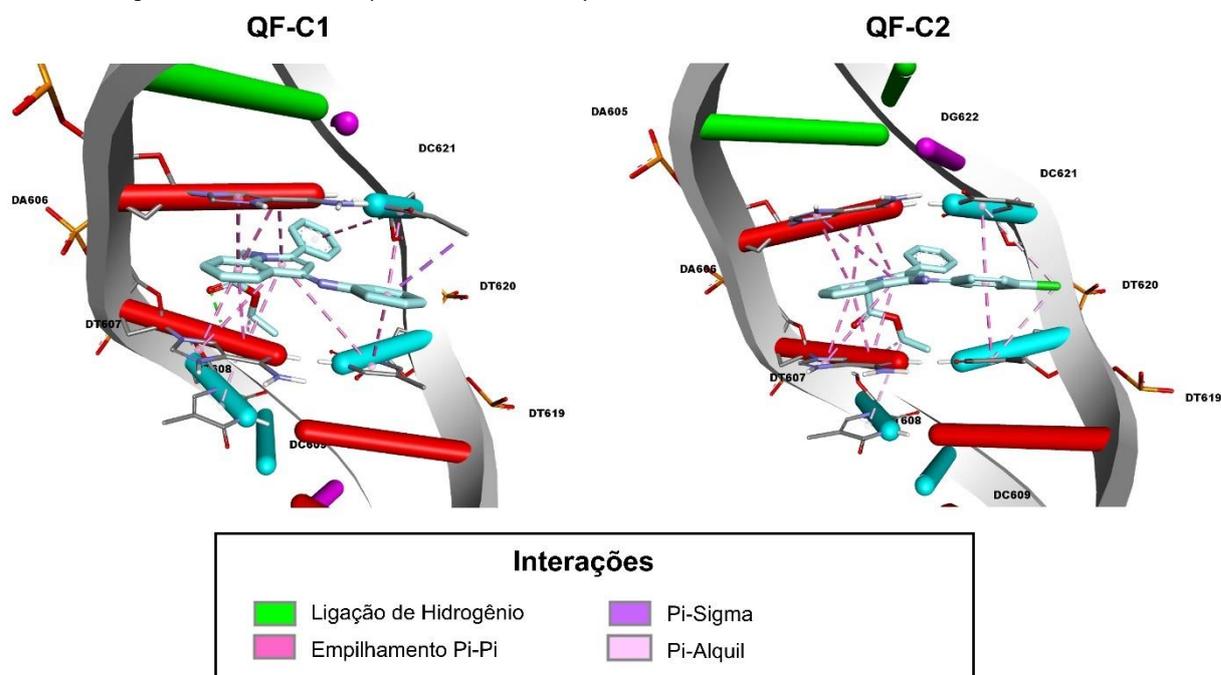
APÊNDICE F - Diagrama 3D de interações dos derivados QF-A1 e QF-A2 para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



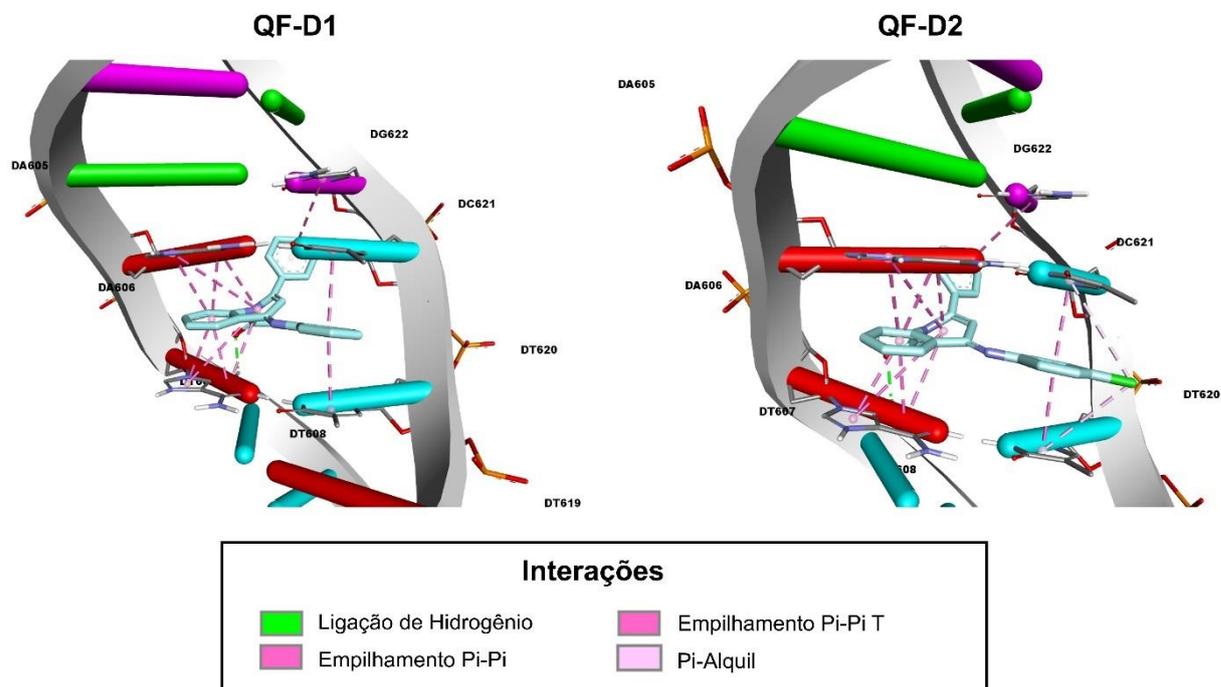
APÊNDICE G - Diagrama 3D de interações dos derivados QF-B1 e QF-B2 para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



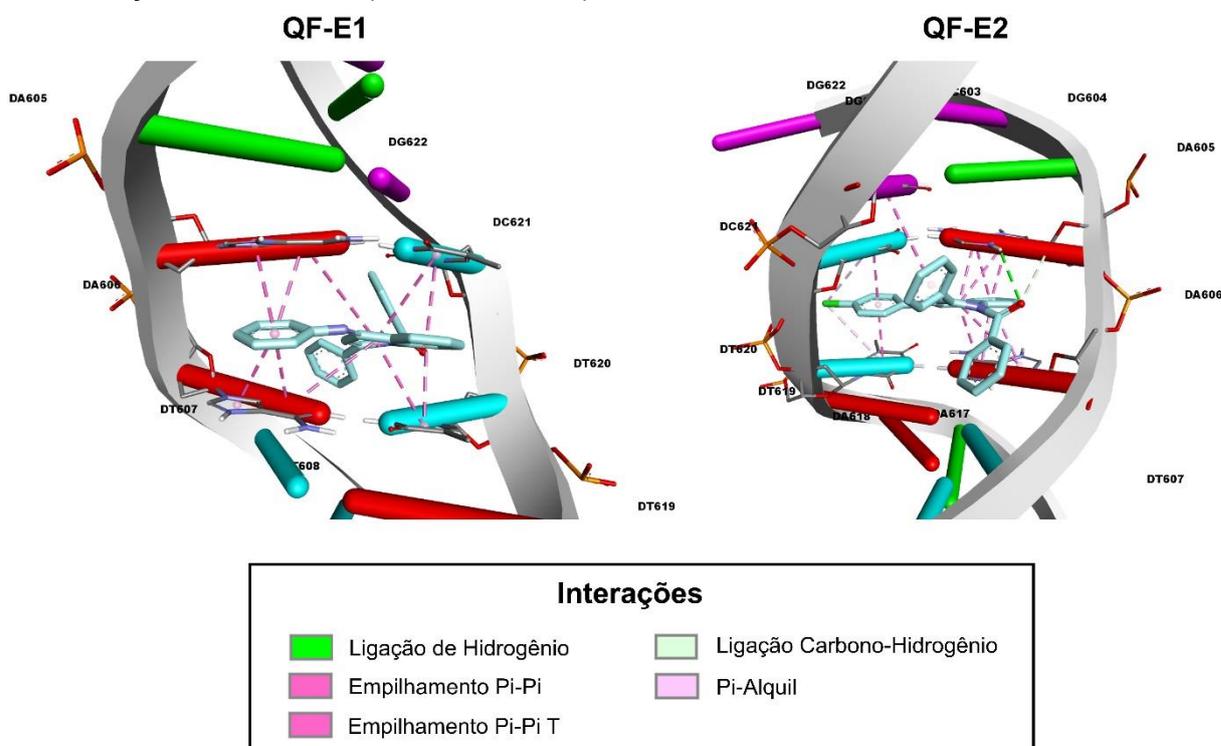
APÊNDICE H - Diagrama 3D de interações dos derivados QF-C1 e QF-C2 para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



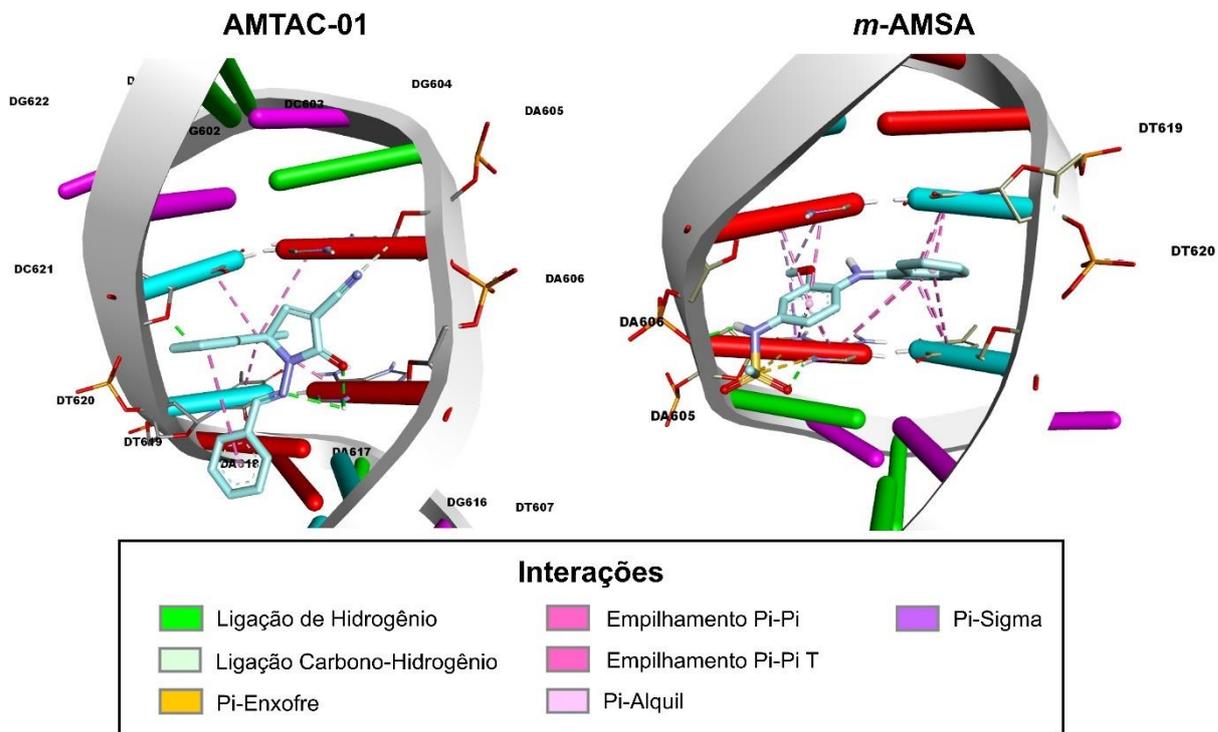
APÊNDICE I - Diagrama 3D de interações dos derivados QF-D1 e QF-D2 para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



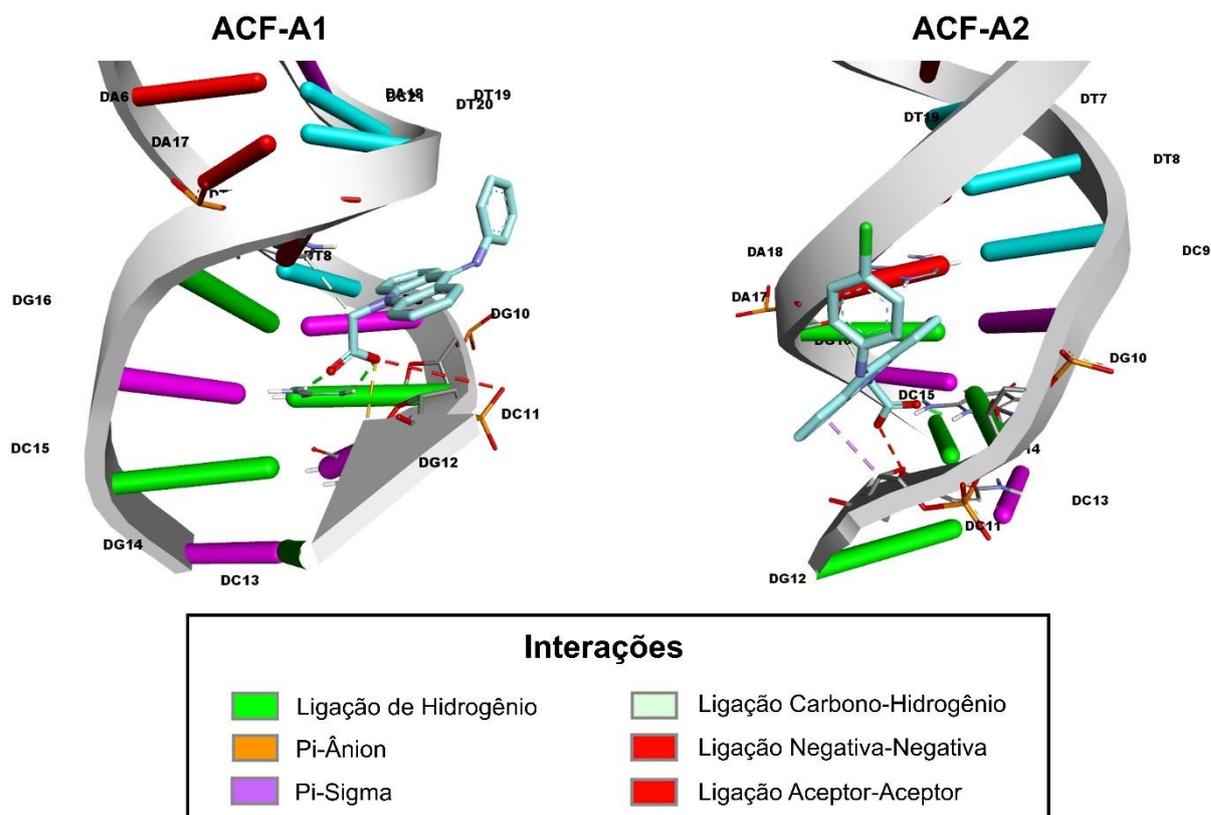
APÊNDICE J - Diagrama 3D de interações dos derivados QF-E1 e QF-E2 para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



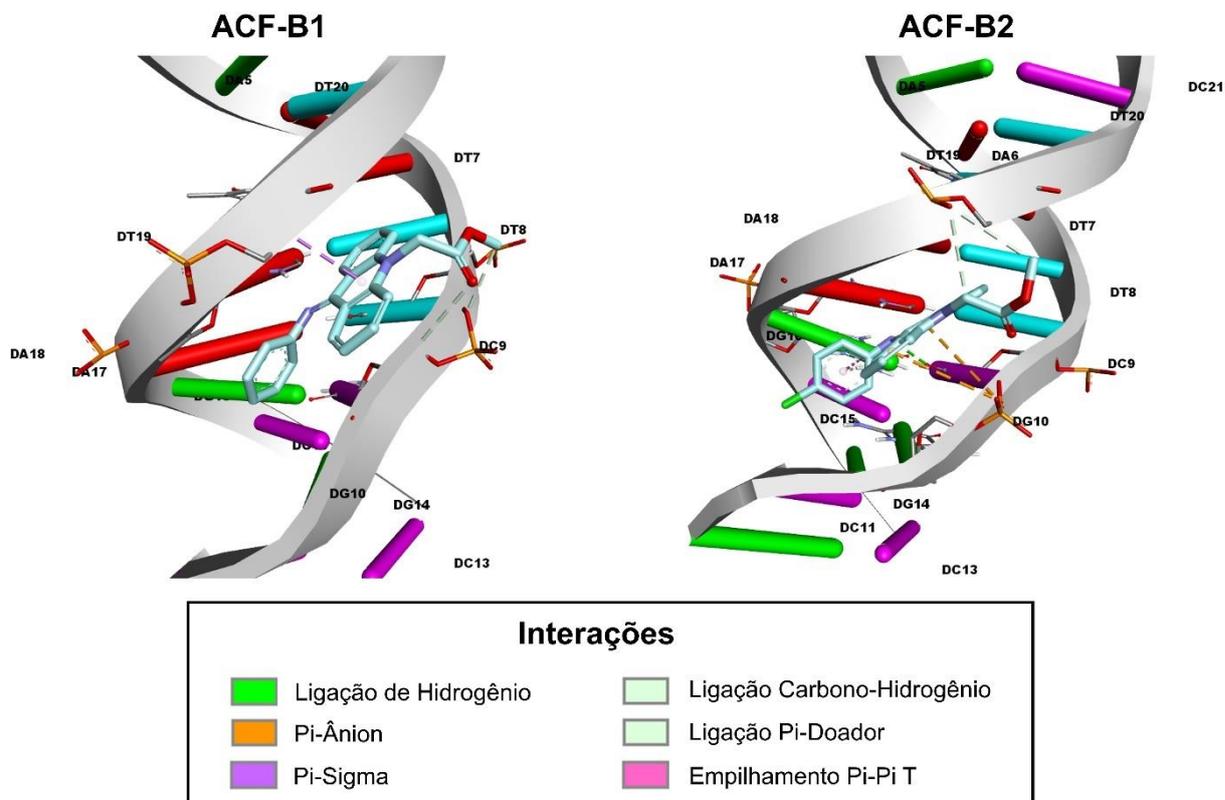
APÊNDICE K - Diagrama 3D de interações do AMTAC-01 e da Amsacrina para intercalação com o DNA (PDB ID: 1G3X)



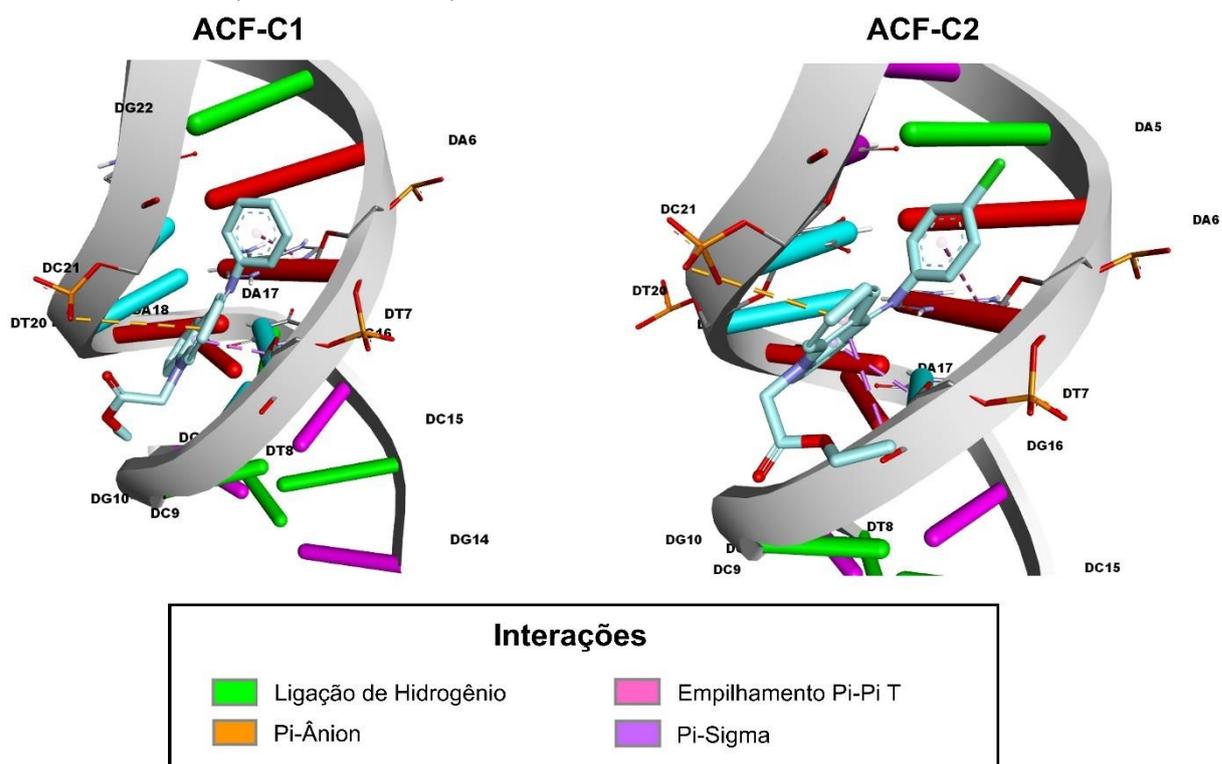
APÊNDICE L – Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-A1 e ACF-A2 com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



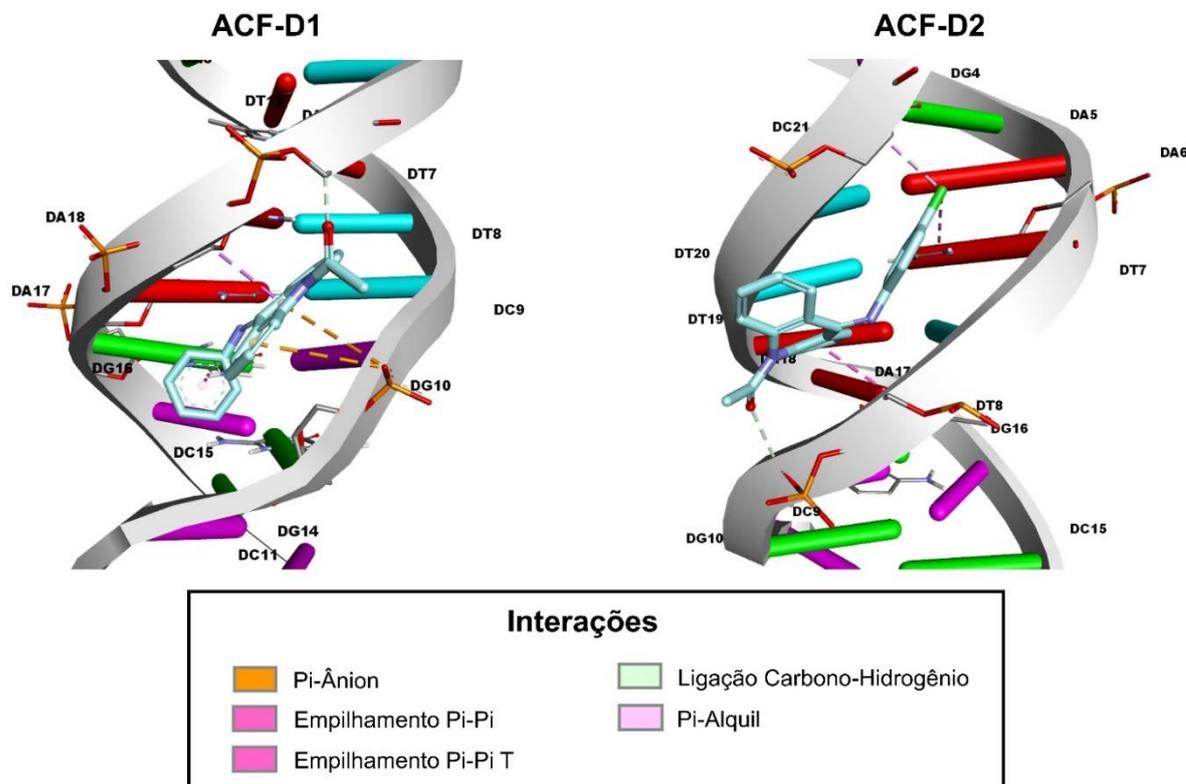
APÊNDICE M – Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-B1 e ACF-B2 com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



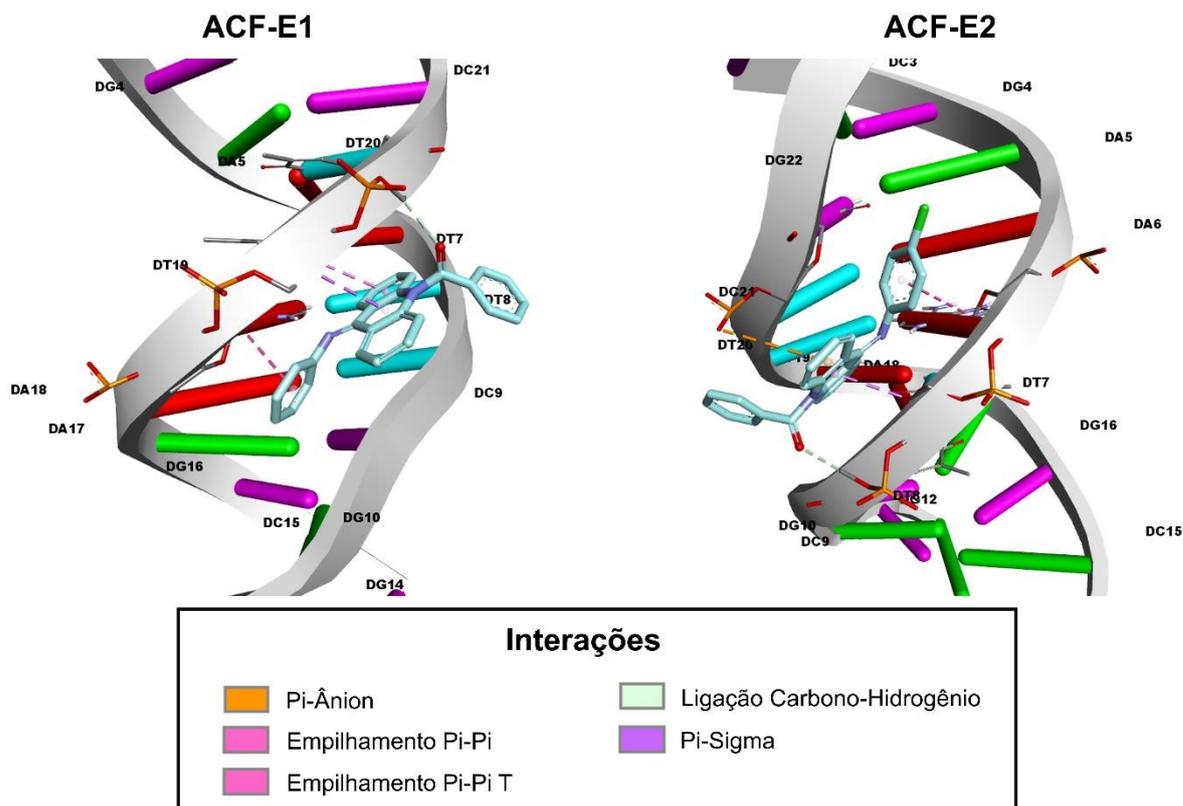
APÊNDICE N – Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-C1 e ACF-C2 com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



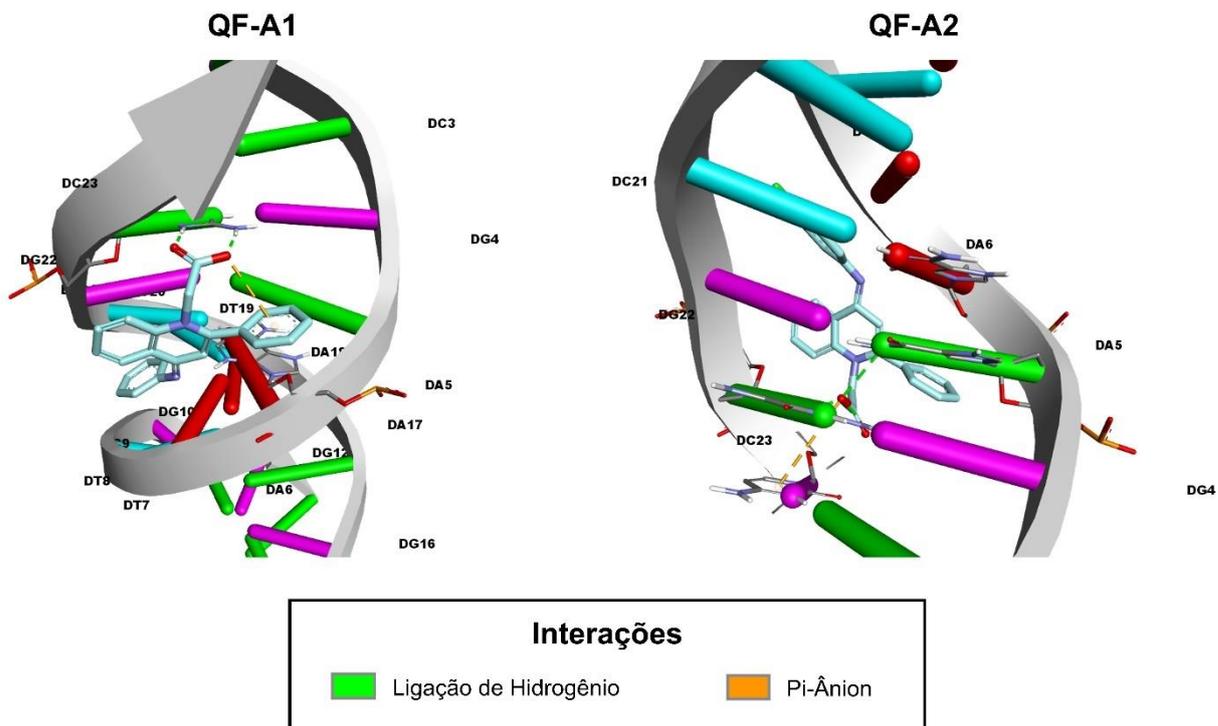
APÊNDICE O – Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-D1 e ACF-D2 com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



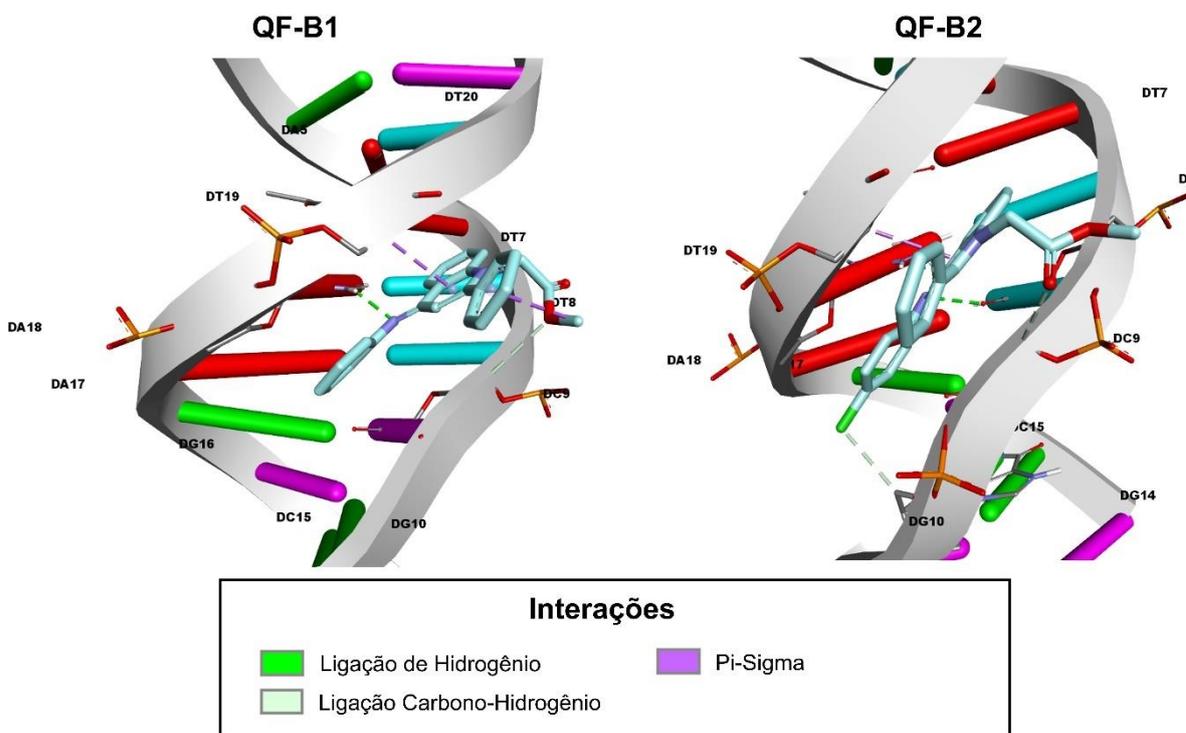
APÊNDICE P - Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-E1 e ACF-E2 com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



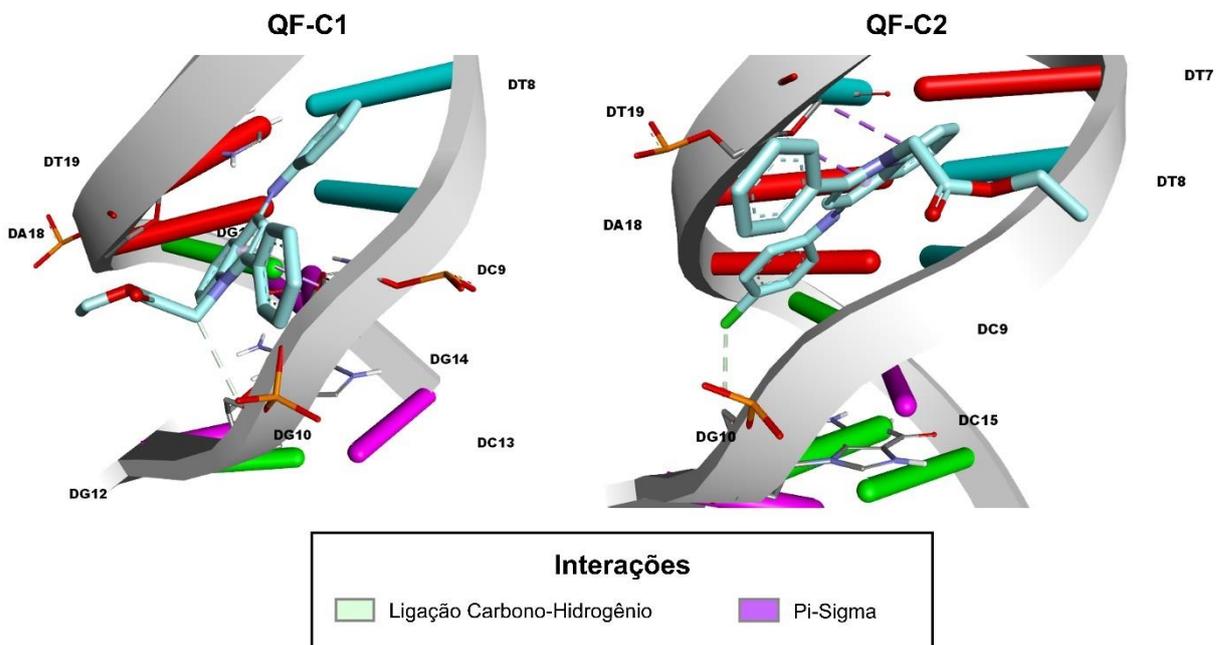
APÊNDICE Q – Diagrama 3D de interações dos derivados QF-A1 e QF-A2 com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



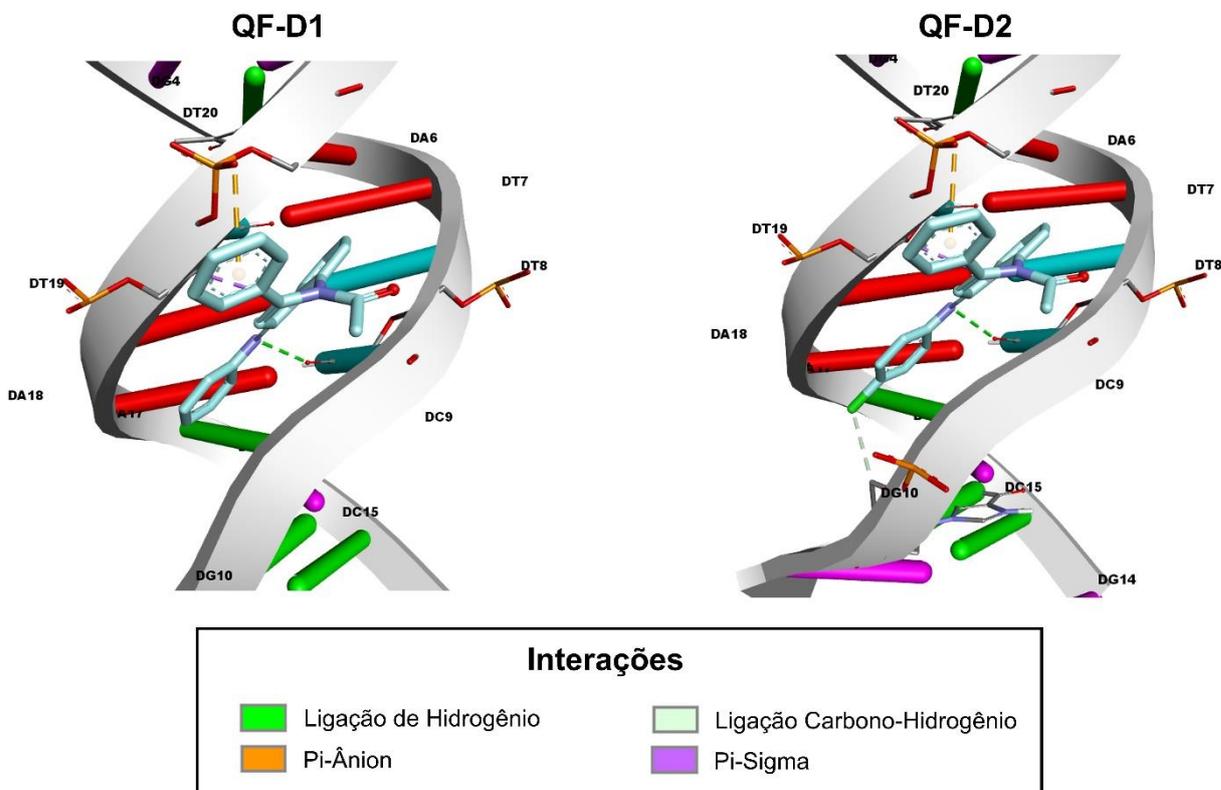
APÊNDICE R – Diagrama 3D de interações dos derivados QF-B1 e QF-B2 com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



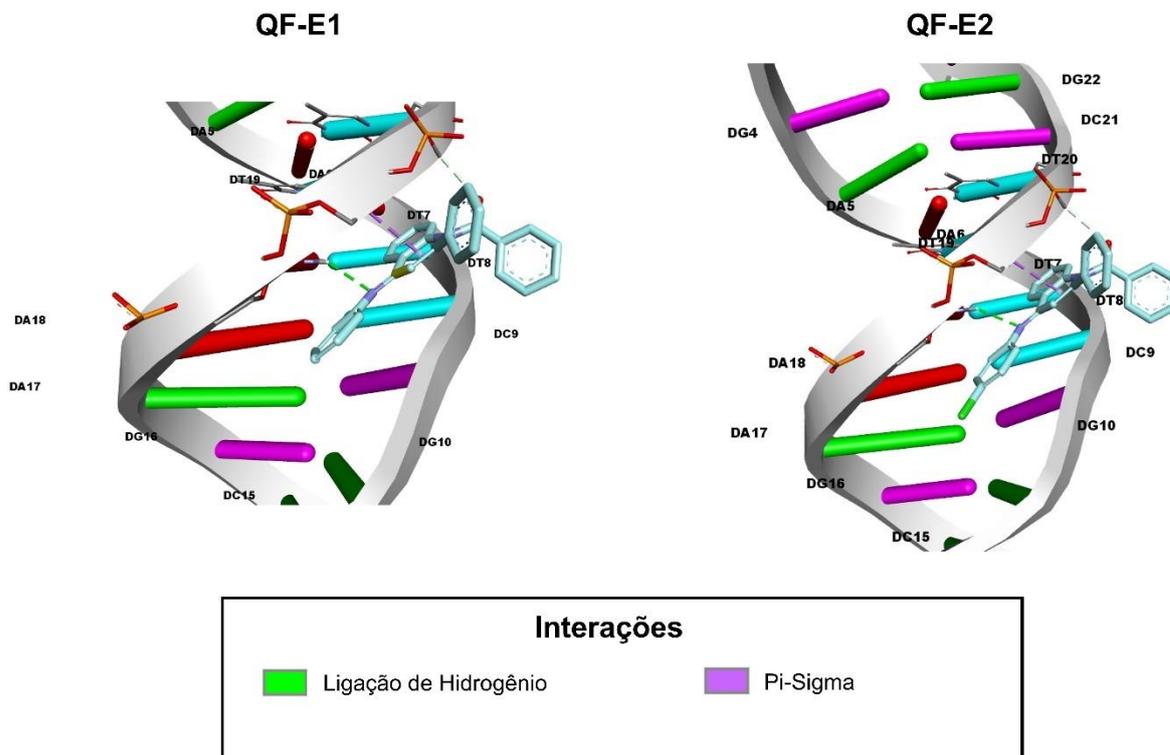
APÊNDICE S – Diagrama 3D de interações dos derivados QF-C1 e QF-C2 com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



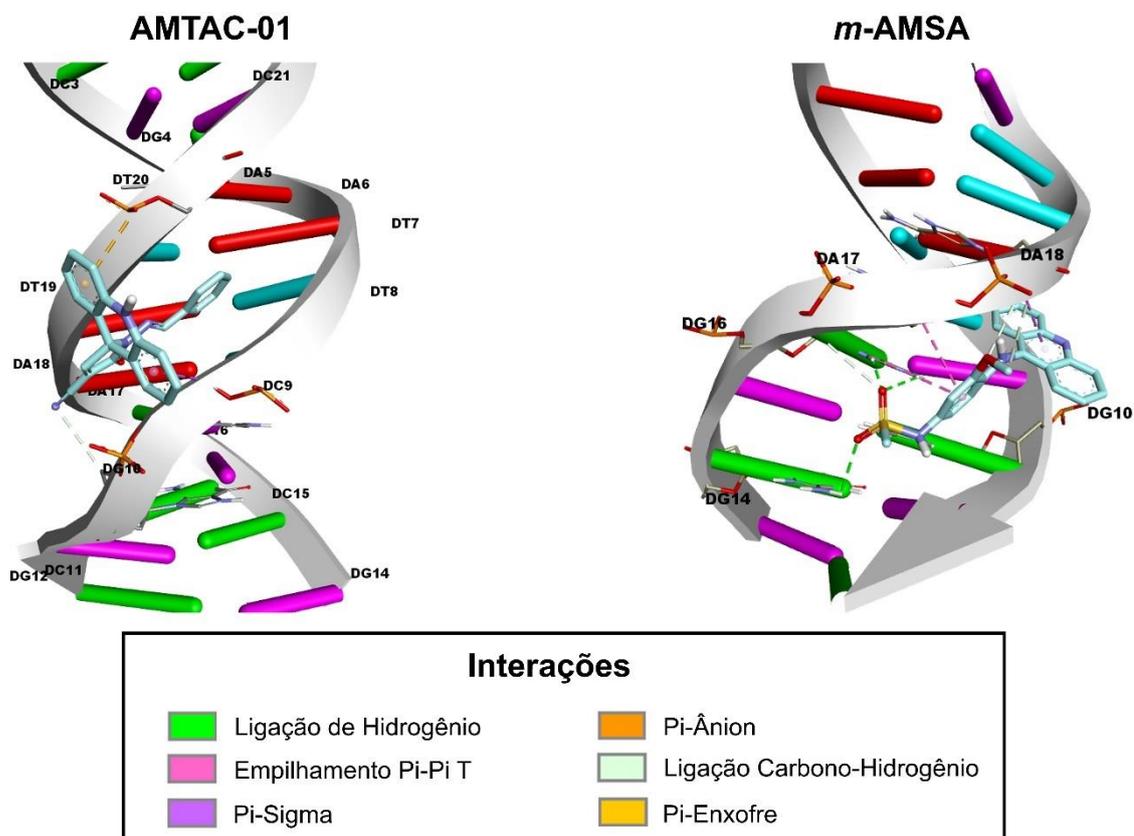
APÊNDICE T – Diagrama 3D de interações dos derivados QF-D1 e QF-D2 com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



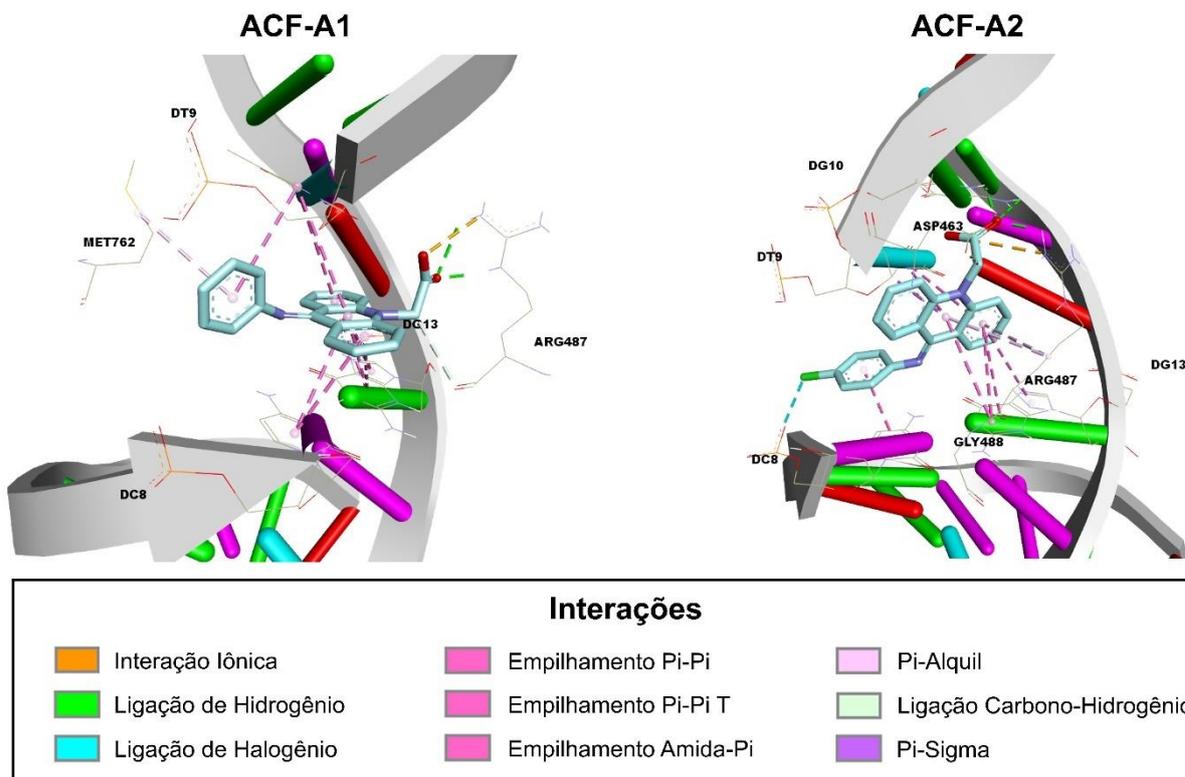
APÊNDICE U - Diagrama 3D de interações dos derivados QF-E1 e QF-E2 com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



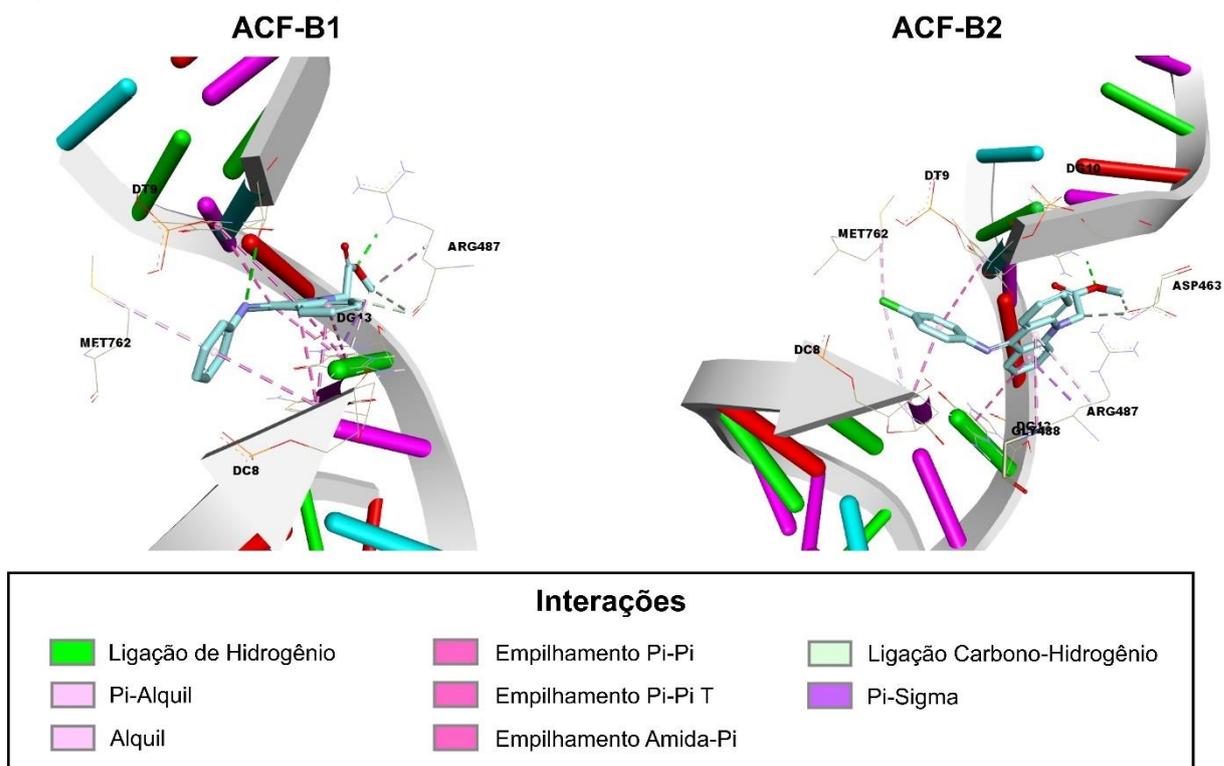
APÊNDICE V - Diagrama 3D de interações do AMTAC-01 e da Amsacrina com os sulcos do DNA (PDB ID: 1BNA)



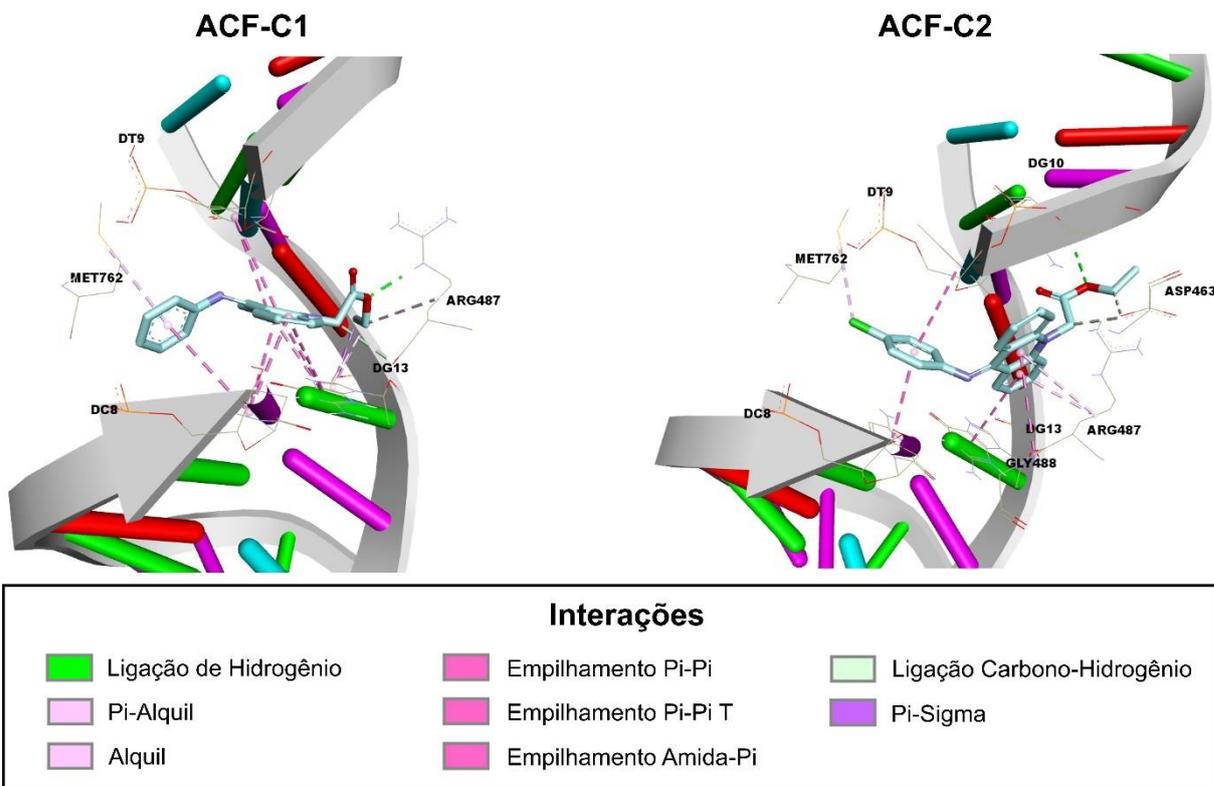
APÊNDICE W – Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-A1 e ACF-A2 com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



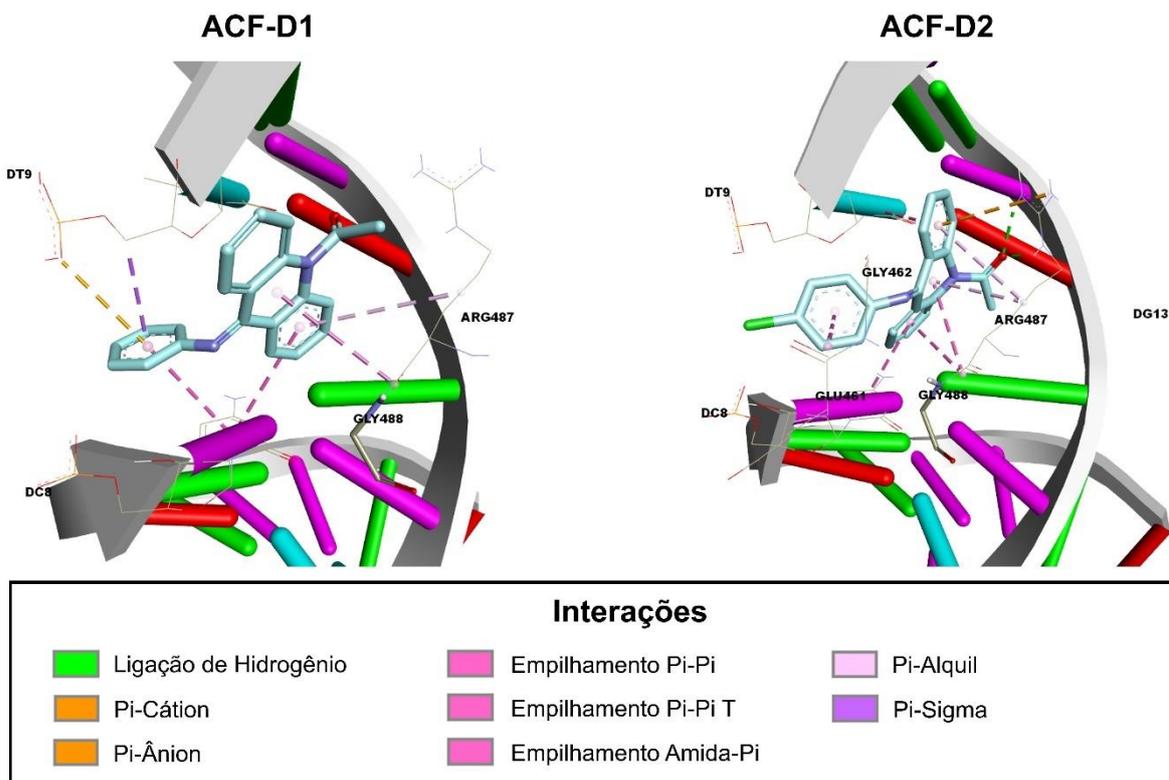
APÊNDICE X – Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-B1 e ACF-B2 com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



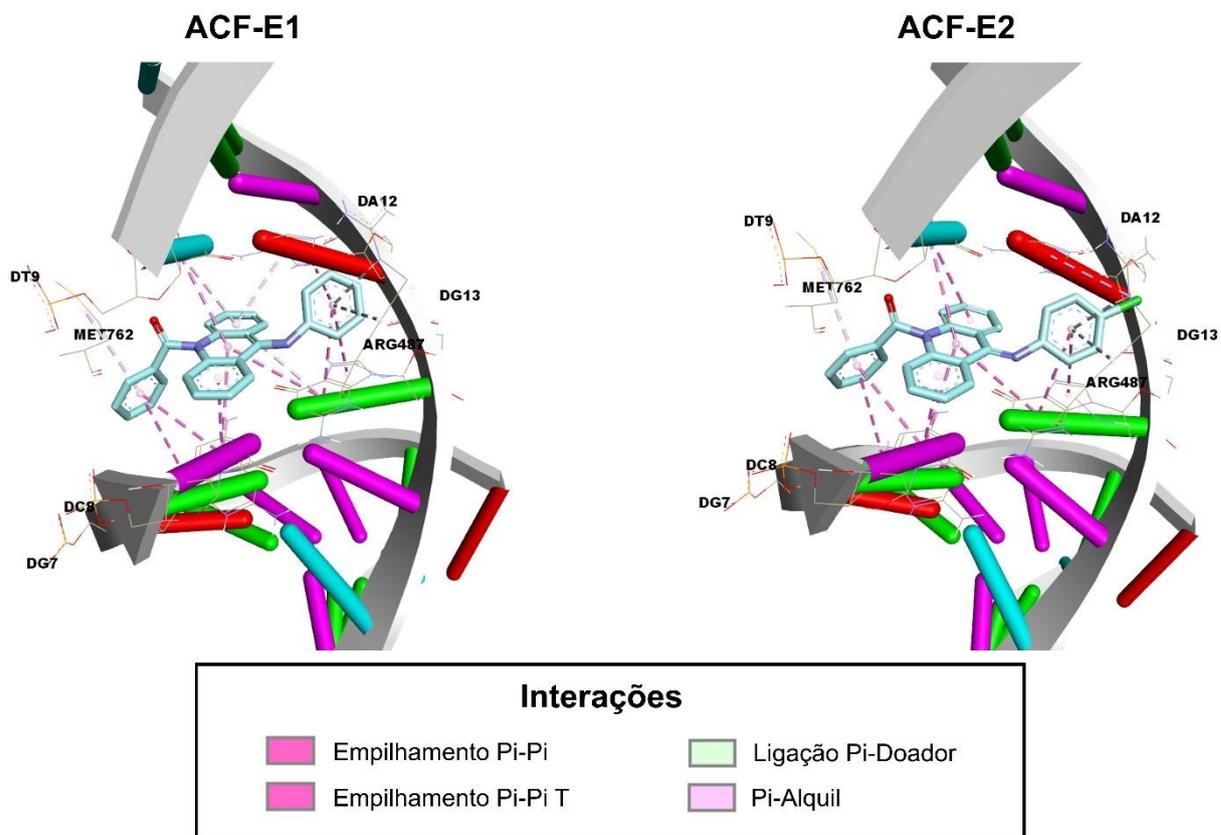
APÊNDICE Y – Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-C1 e ACF-C2 com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



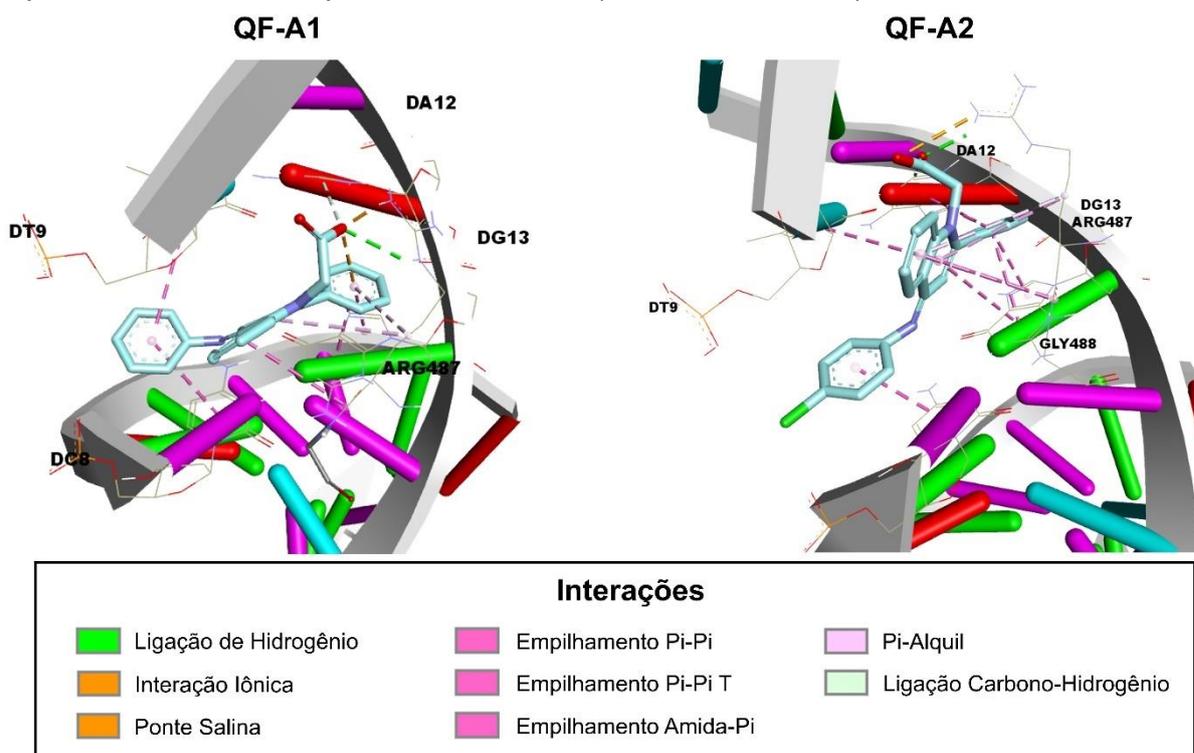
APÊNDICE Z – Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-D1 e ACF-D2 com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



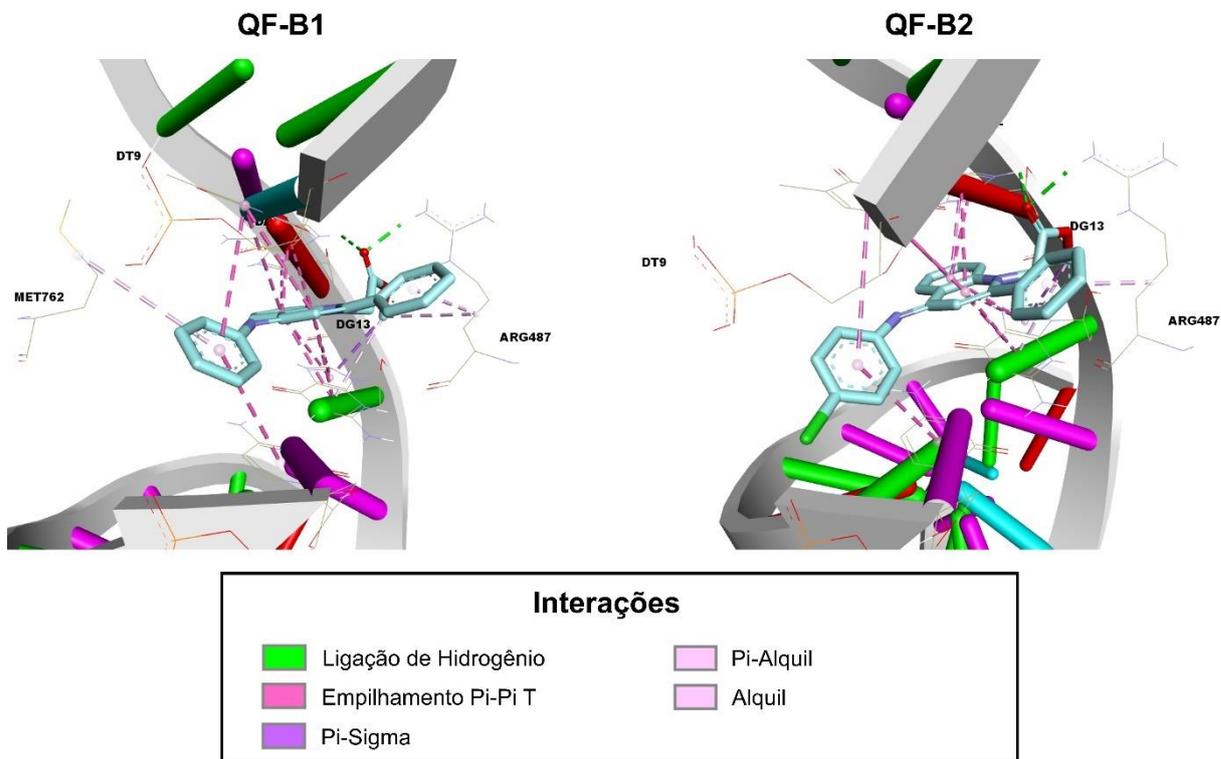
APÊNDICE AA - Diagrama 3D de interações dos derivados ACF-E1 e ACF-E2 com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



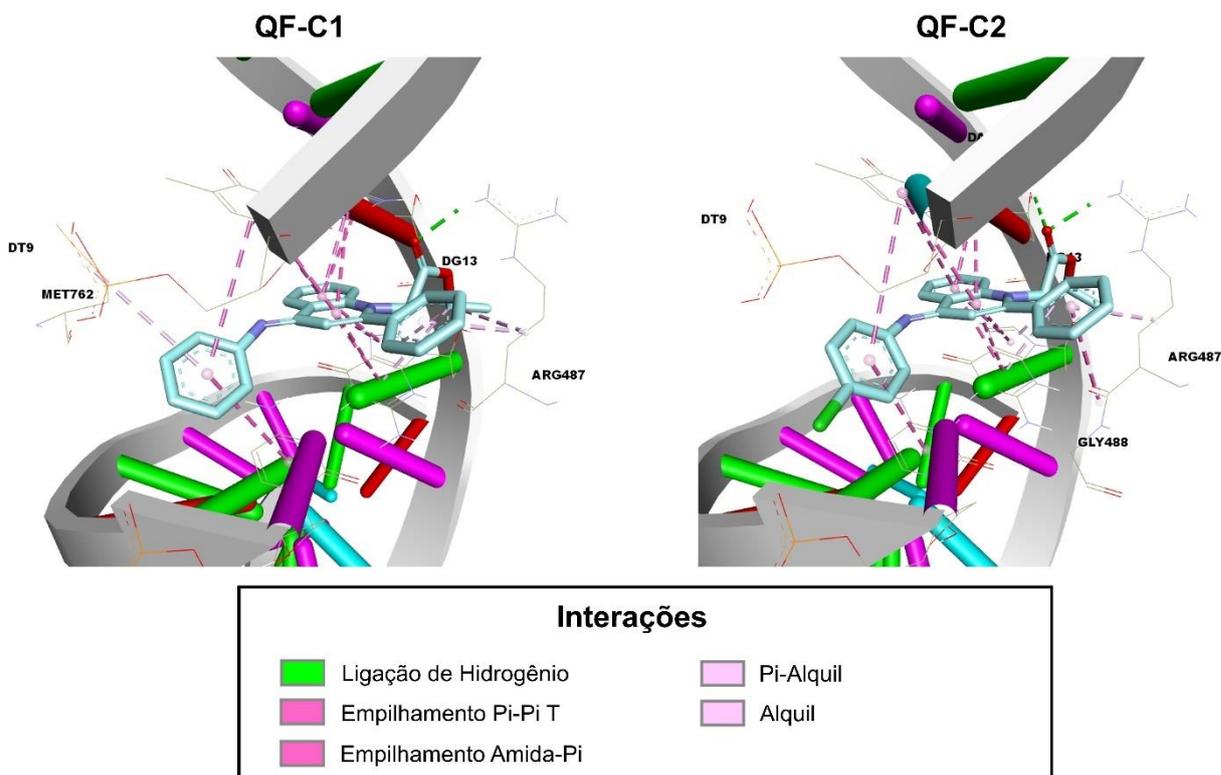
APÊNDICE AB – Diagrama 3D de interações dos derivados QF-A1 e QF-A2 com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



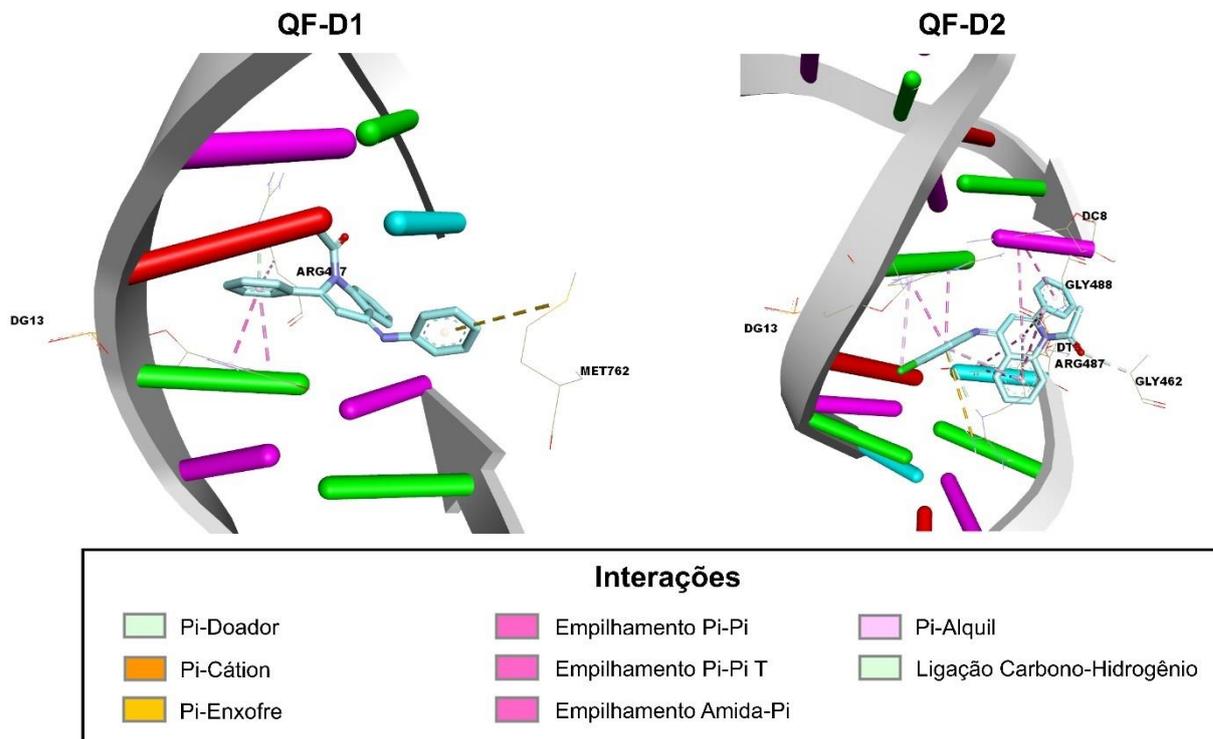
APÊNDICE AC – Diagrama 3D de interações dos derivados QF-B1 e QF-B2 com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



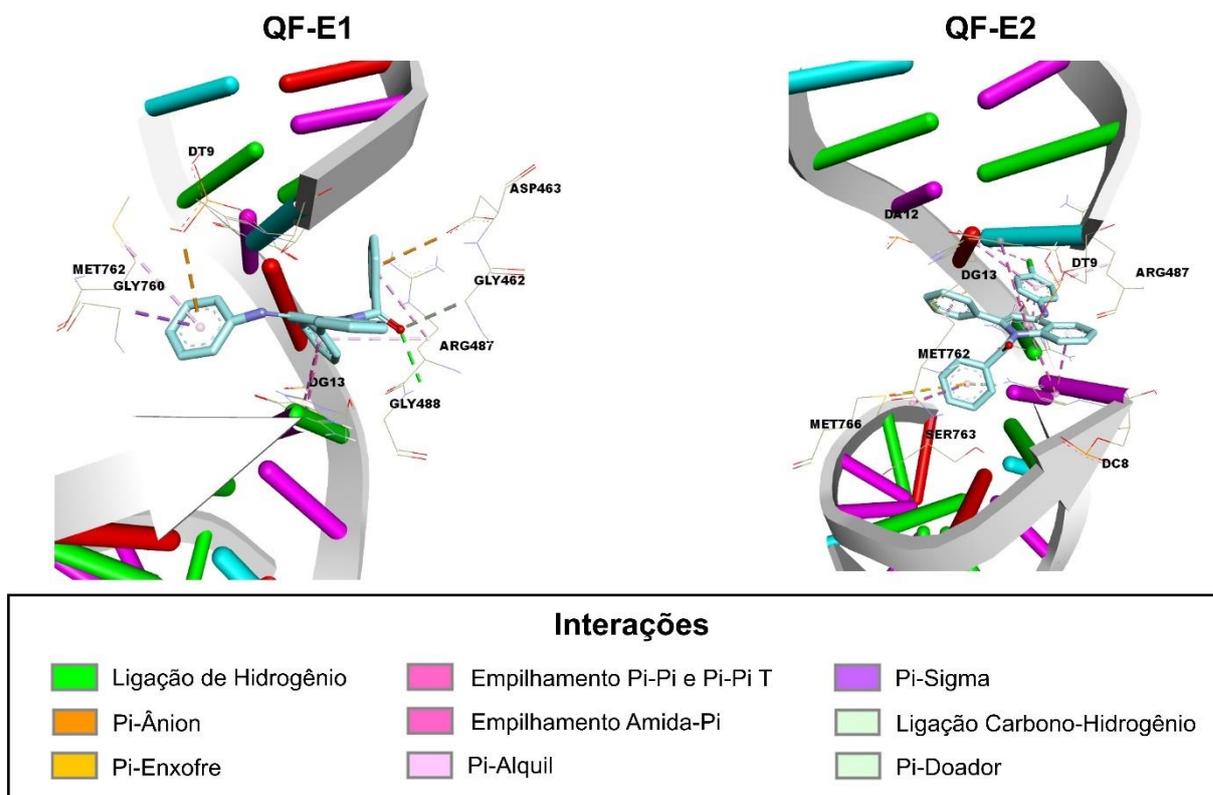
APÊNDICE AD – Diagrama 3D de interações dos derivados QF-C1 e QF-C2 com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



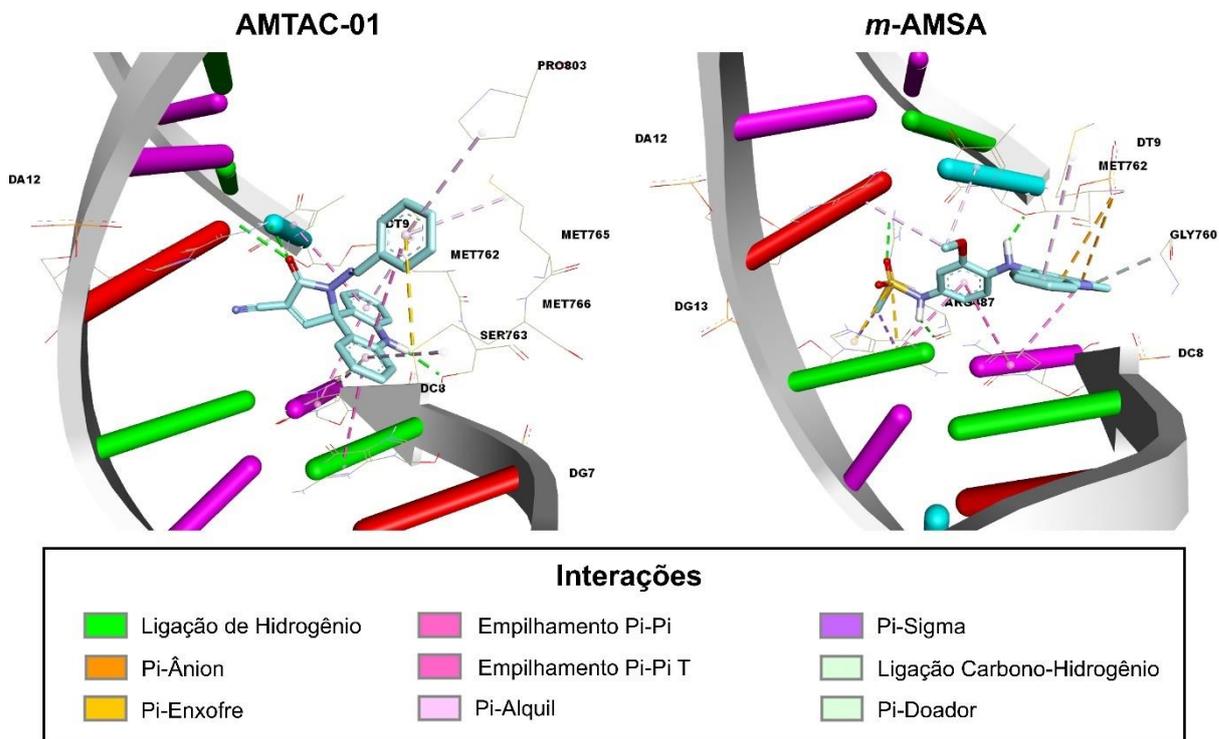
APÊNDICE AE – Diagrama 3D de interações dos derivados QF-D1 e QF-D2 com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



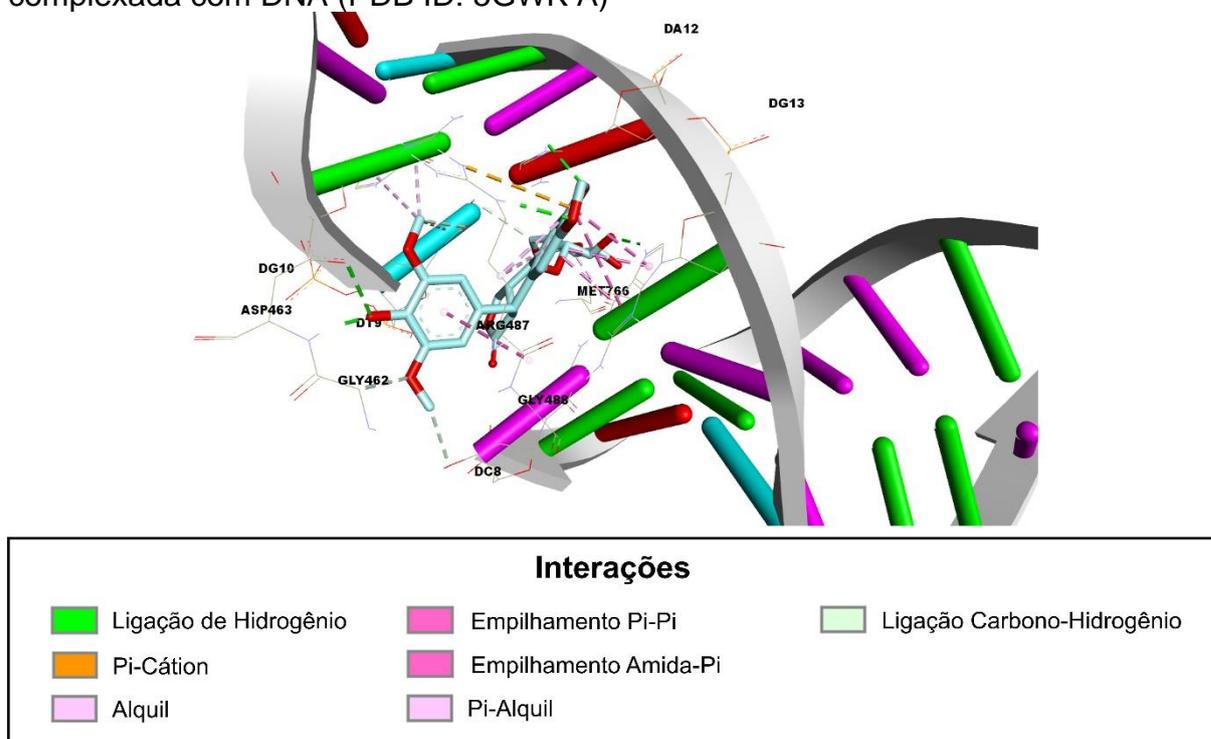
APÊNDICE AF - Diagrama 3D de interações dos derivados QF-E1 e QF-E2 com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



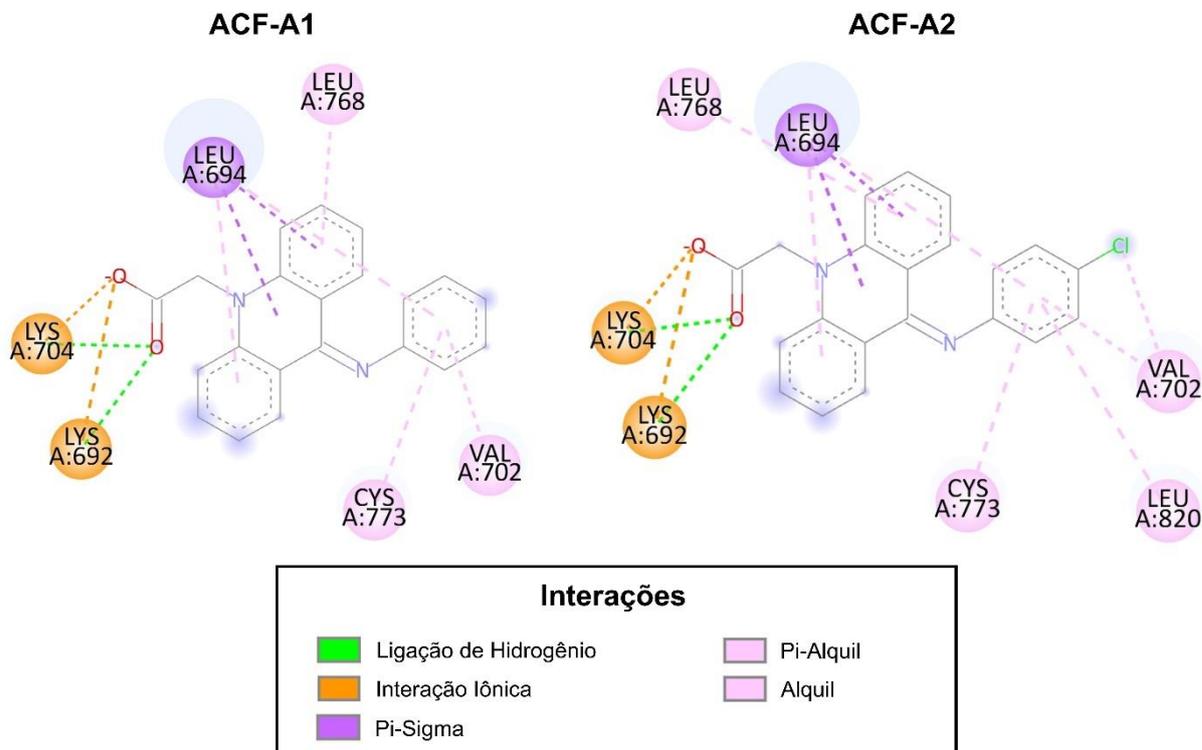
APÊNDICE AG - Diagrama 3D de interações do AMTAC-01 e da Amsacrina com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



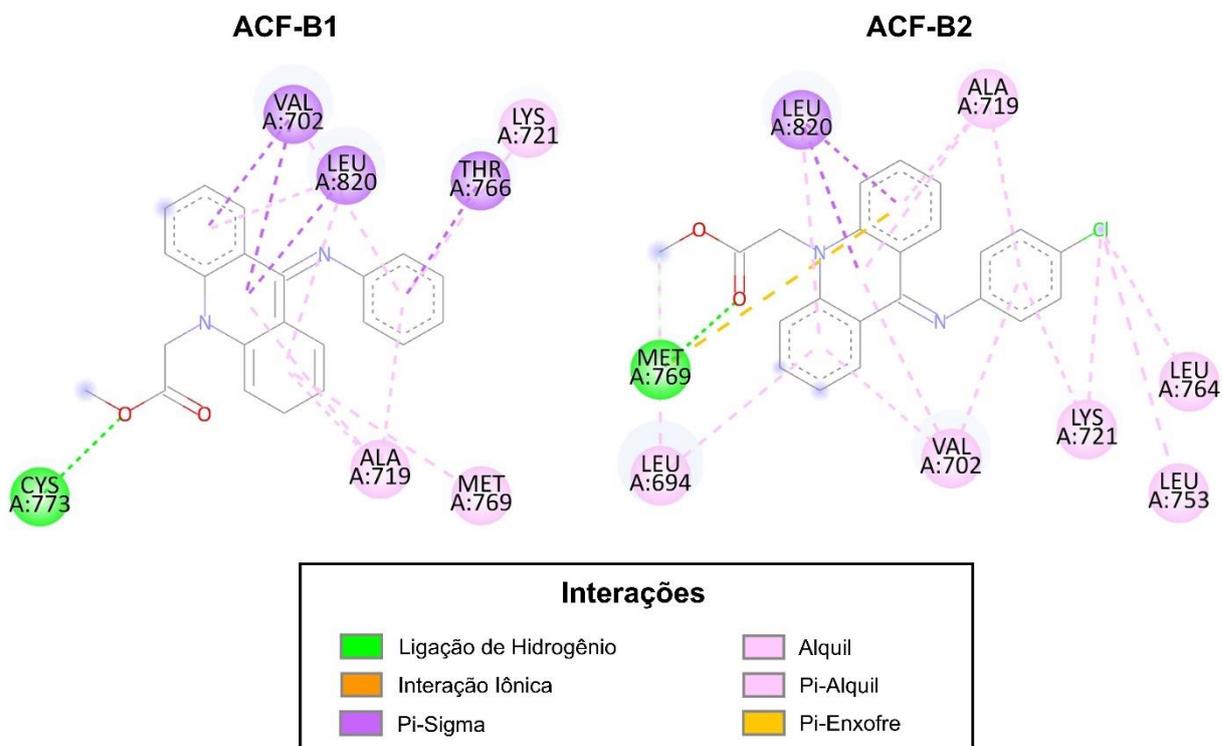
APÊNDICE AH - Diagrama 3D de interações do Etoposídeo com a topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK A)



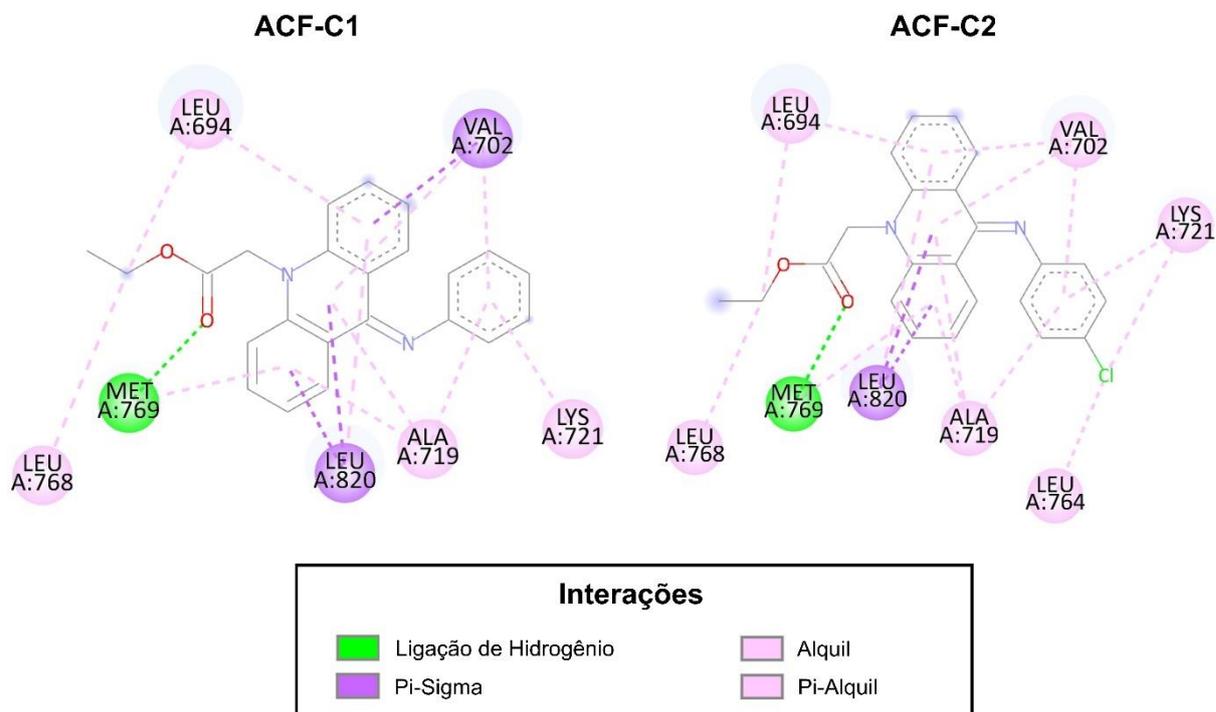
APÊNDICE AI - Diagrama 2D de interações dos derivados ACF-A1 e ACF-A2 com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)



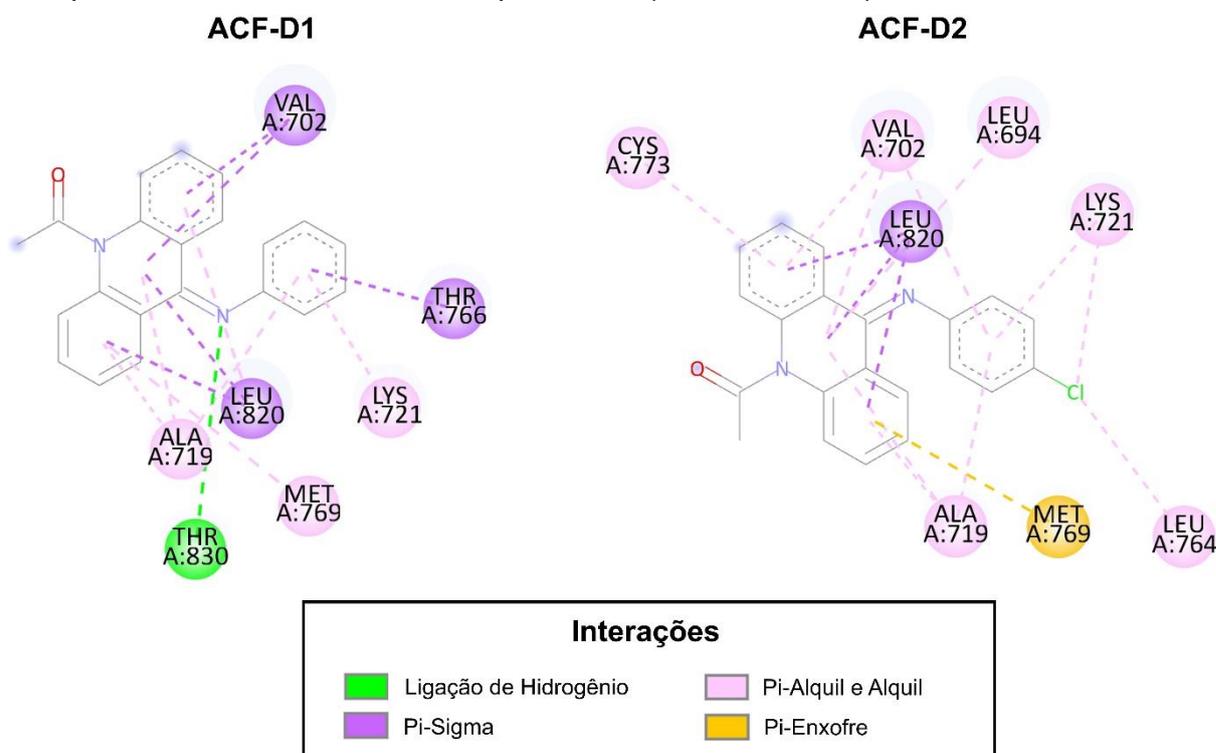
APÊNDICE AJ - Diagrama 2D de interações dos derivados ACF-B1 e ACF-B2 com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)



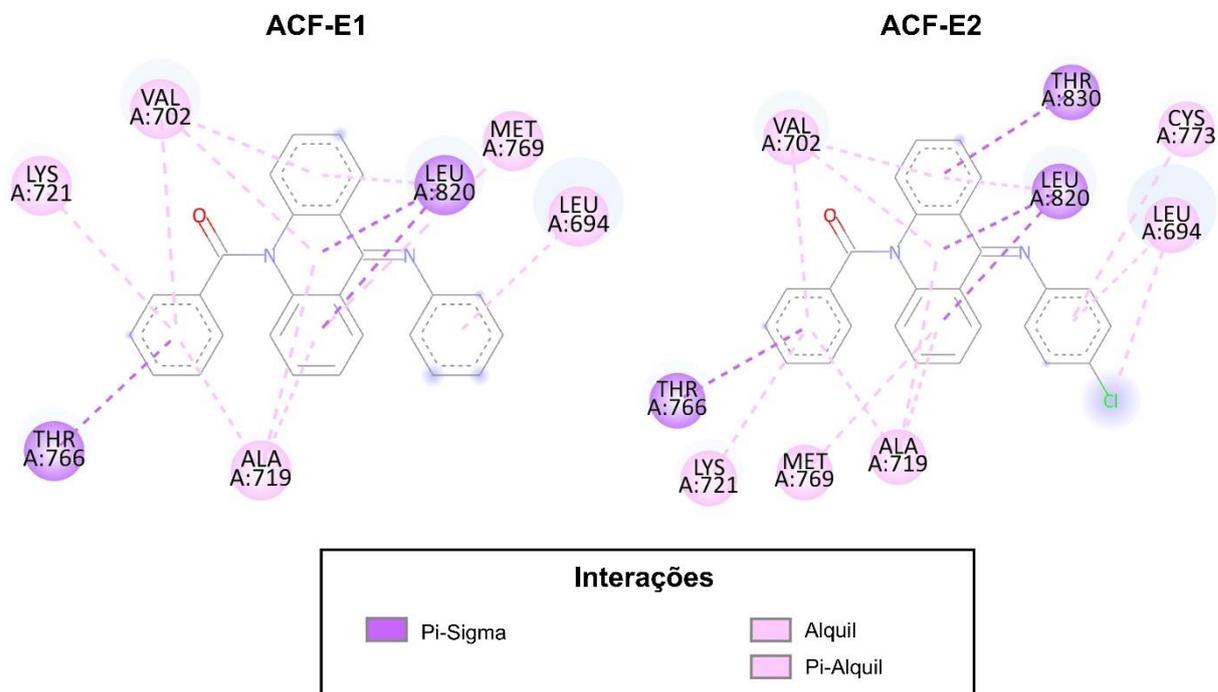
APÊNDICE AK - Diagrama 2D de interações dos derivados ACF-C1 e ACF-C2 com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)



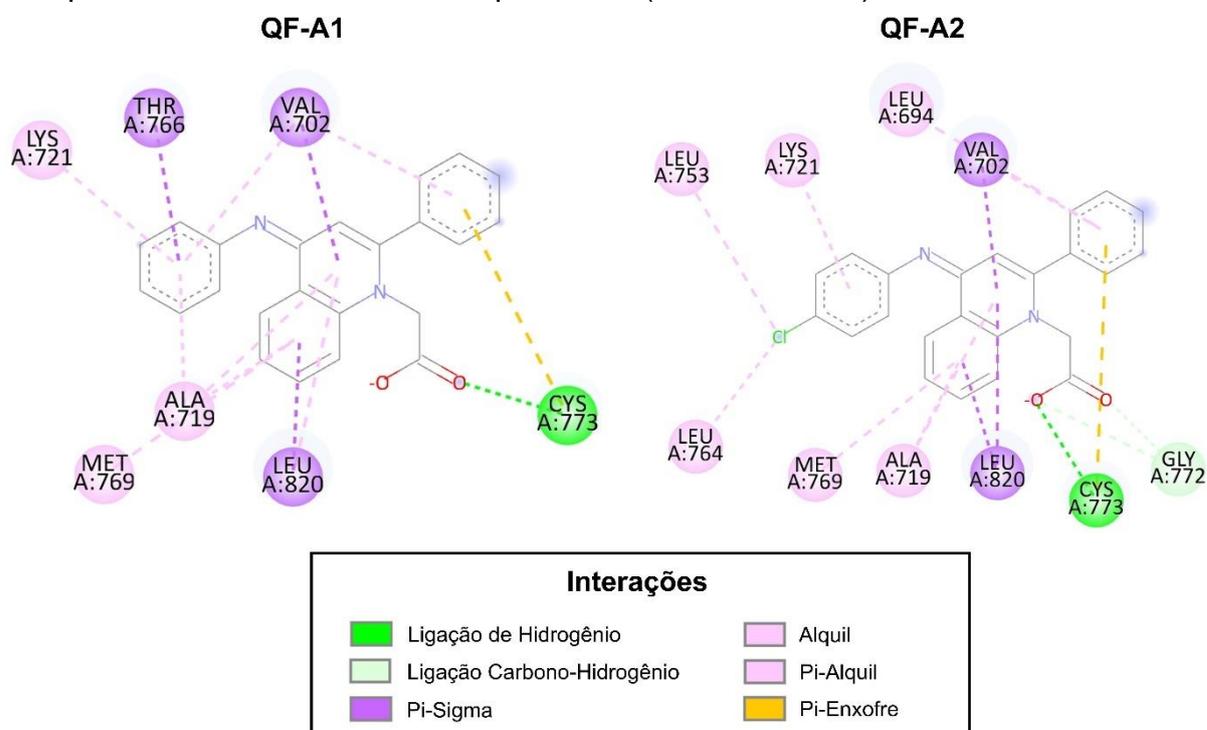
APÊNDICE AL - Diagrama 2D de interações dos derivados ACF-D1 e ACF-D2 com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)



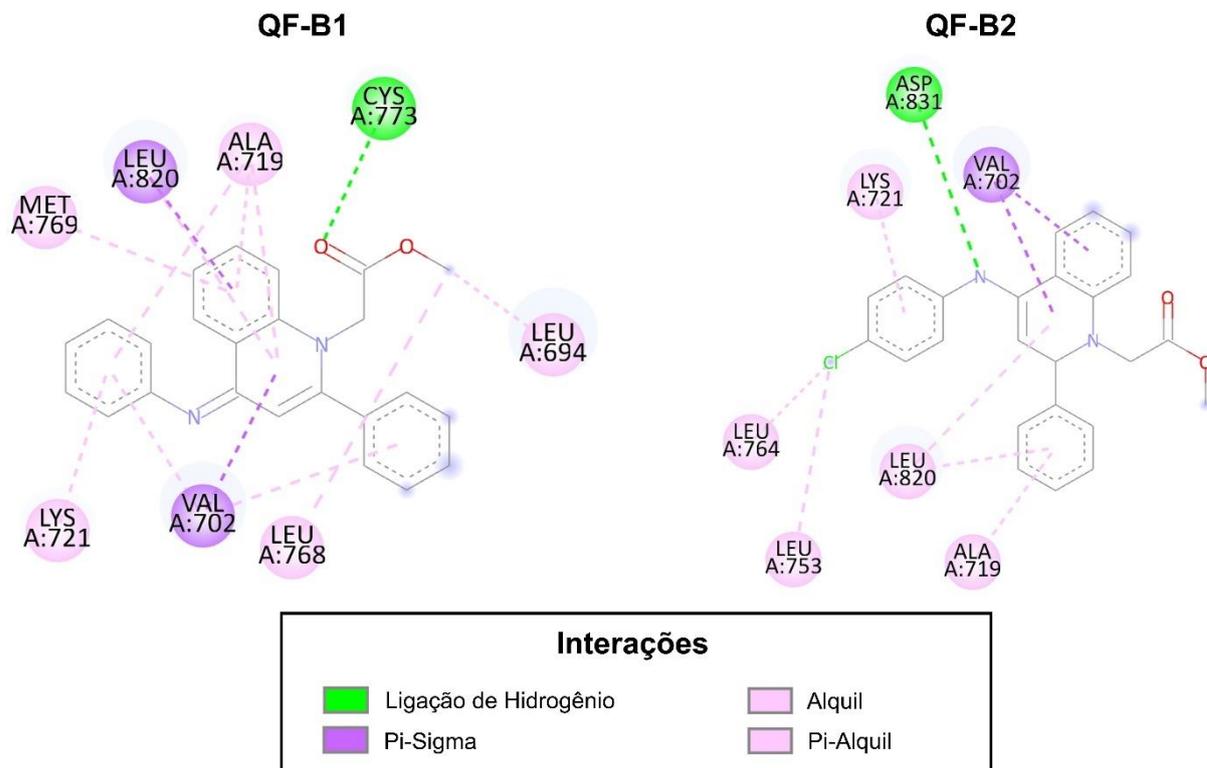
APÊNDICE AM - Diagrama 2D de interações dos derivados ACF-E1 e ACF-E2 com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)



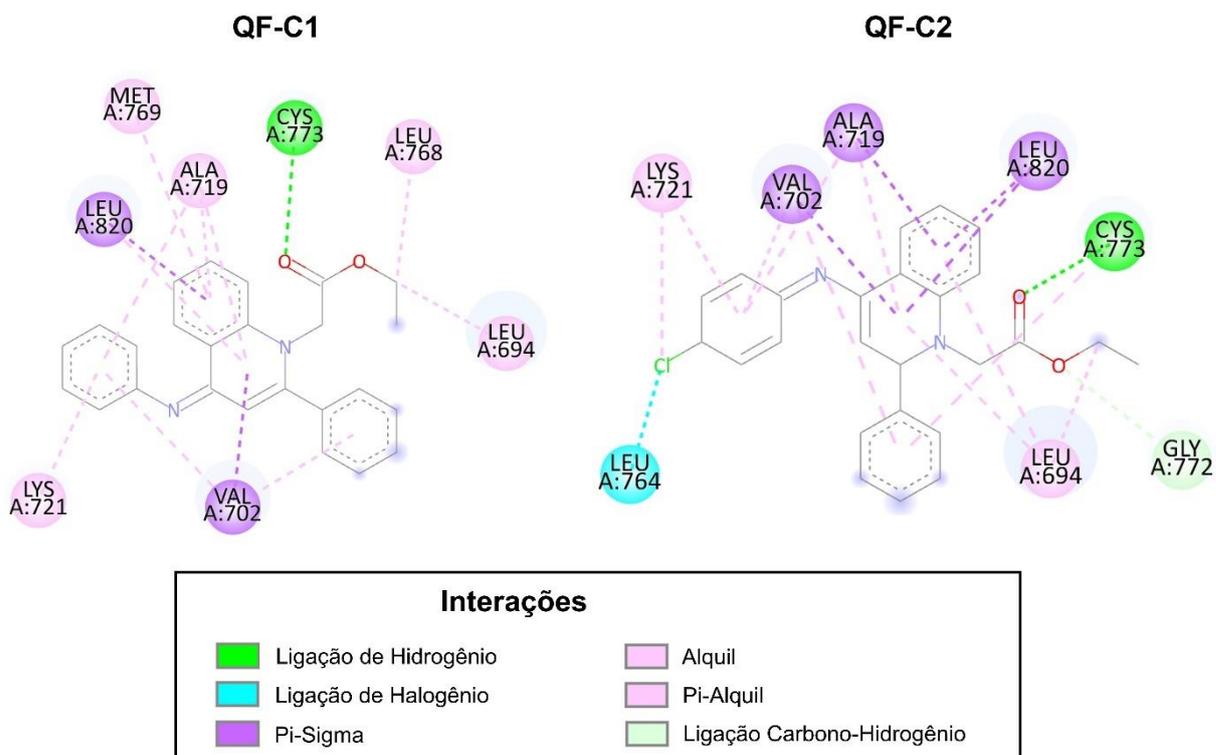
APÊNDICE AN - Diagrama 2D de interações dos derivados QF-A1 e QF-A2 com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)



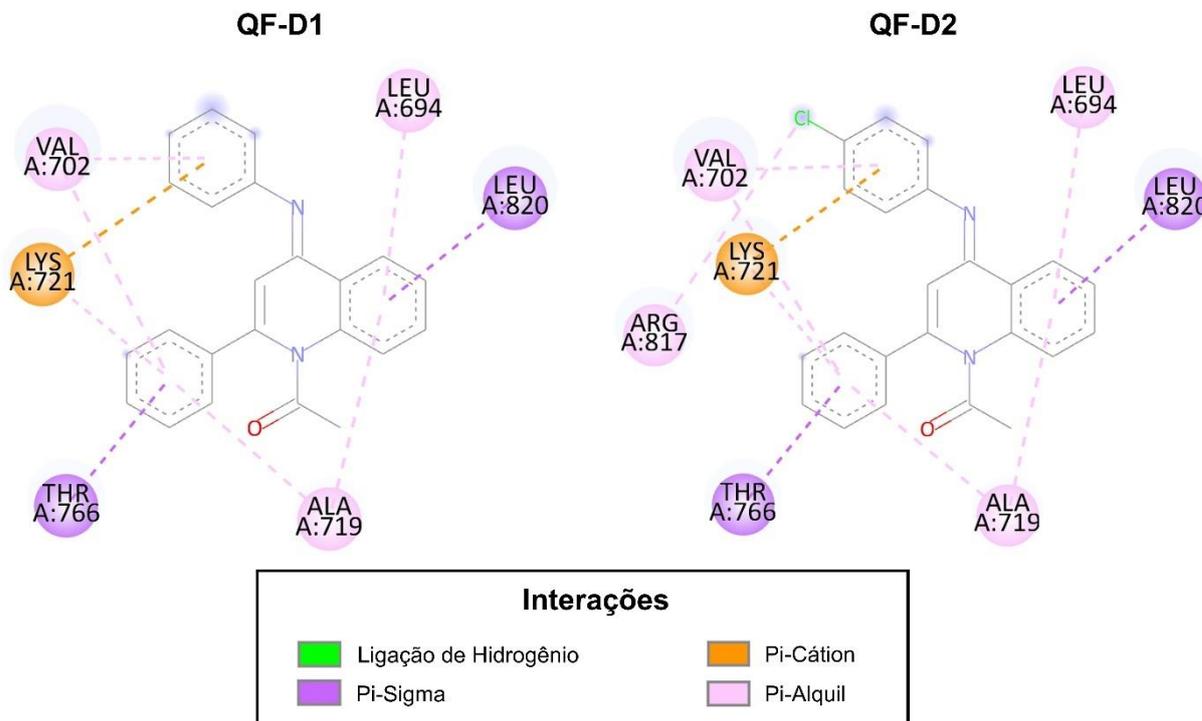
APÊNDICE AO - Diagrama 2D de interações dos derivados QF-B1 e QF-B2 com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)



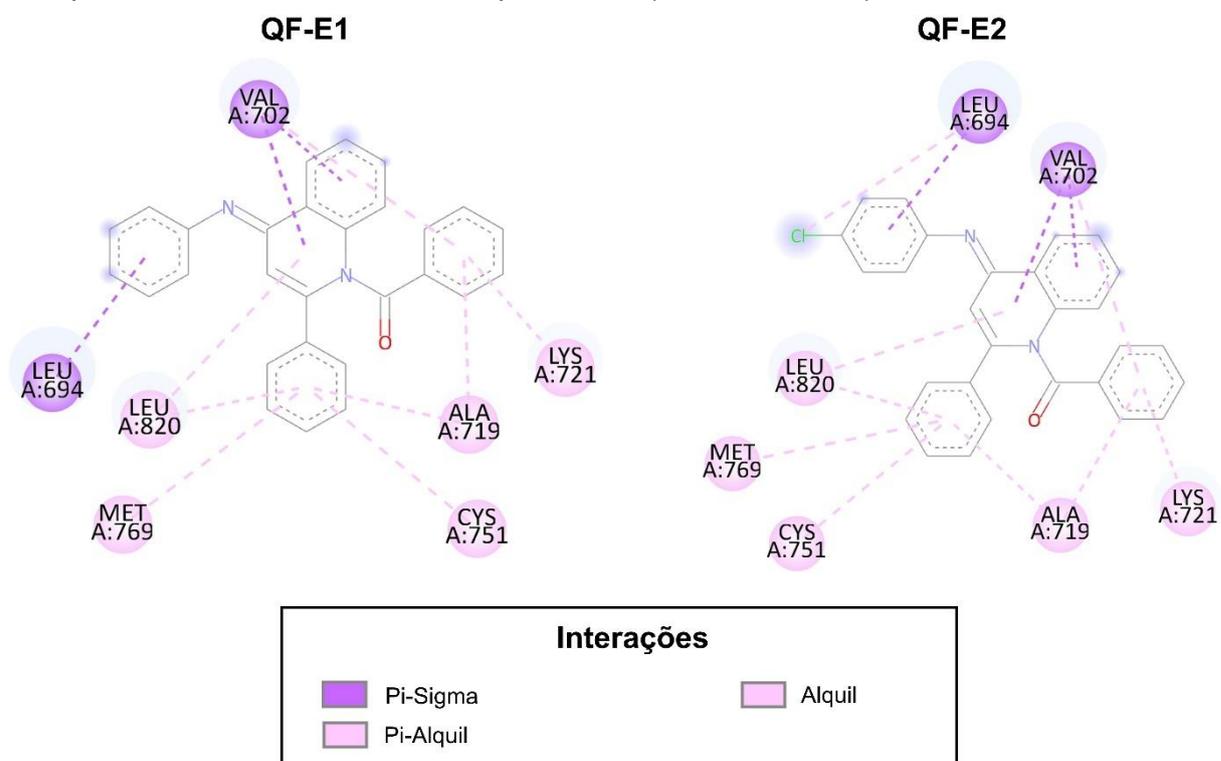
APÊNDICE AP - Diagrama 2D de interações dos derivados QF-C1 e QF-C2 com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)



APÊNDICE AQ - Diagrama 2D de interações dos derivados QF-D1 e QF-D2 com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)



APÊNDICE AR - Diagrama 2D de interações dos derivados QF-E1 e QF-E2 com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)



APÊNDICE AS - Diagrama 2D de interações do AMTAC-01 e do Erlotinibe com o receptor do fator de crescimento epidérmico (PDB ID: 4HJO)

