

Síntese e avaliação da atividade citotóxica in vitro de análogos de alcalóides 3 - alquilpiridínicos contendo o grupo tiossemicarbazona

Synthesis and in vitro cytotoxic evaluation of 3-alkylpyridine alkaloids analogs linked to a thiosemicarbazone group.

Paulo Otávio Lourenço Moreira¹, Camila de Souza Barbosa¹, Karen Cipriano da Silva², Alessandra Mirtes Marques Neves Gonçalves³, Luciana Maria Silva⁴, Gustavo Henrique Ribeiro Viana^{5*} e Fernando de Pilla Varotti^{6*}

¹ Aluno(a) de graduação do curso de Bioquímica da UFSJ

² Mestre em Biotecnologia pela UFSJ

³ Mestre em Ciências da Saúde pela UFSJ

⁴ Doutora em Biologia Celular pela UFMG. Pesquisadora da Fundação Ezequiel Dias (FUNED)

⁵ Doutor em Química pela UFMG. Pesquisador do Núcleo de Pesquisa em Química Biológica da UFSJ (NQBio)

⁶ Doutor em Farmacologia Bioquímica e Molecular pela UFMG. Pesquisador do Núcleo de Pesquisa em Química Biológica da UFSJ (NQBio).

RESUMO

O câncer continua sendo uma doença devastadora e de abrangência mundial. Uma característica do câncer é o crescimento rápido de células anormais, invadindo regiões adjacentes do corpo e se espalhando para outros órgãos. O aumento no número de casos de câncer tem impulsionado a busca por novos compostos antitumorais. O objetivo da quimioterapia é destruir as células neoplásicas, preservando as normais. Entretanto, a maioria dos agentes quimioterápicos possui uma ação não-específica, danificando tanto células malignas quanto normais. Neste contexto, compostos com ação dual planejados por hibridização molecular são de grande interesse terapêutico. Neste trabalho, cinco novos compostos, planejados e sintetizados por hibridização molecular de análogos sintéticos de alcalóides 3-alquilpiridínicos (3-APA) ligados covalentemente a um grupo tiossemicarbazona, foram testados in vitro contra duas linhagens celulares tumorais humanas: câncer de cólon (RKO-AS-45-1) e carcinoma do colo do útero (HeLa). Os ensaios de citotoxicidade foram realizados pelo método colorimétrico MTT. O composto **3d** foi o mais ativo da série, tanto para a linhagem HeLa ($IC_{50} = 19,48\mu M$) quanto para a linhagem RKO-AS-45-1 ($IC_{50} = 22,28\mu M$). Além disso, foi possível inferir uma correlação no aumento da atividade citotóxica de acordo com o aumento da cadeia lateral dos compostos híbridos. Em conclusão, a síntese de compostos híbridos obtidos por meio de metodologias sintéticas clássicas, gerando produtos limpos e com bons rendimentos, mostrou-se uma estratégia promissora para o desenvolvimento de novos agentes antitumorais.

ABSTRACT

Cancer remains a devastating worldwide disease. One characteristic of cancer is the rapid growth of abnormal cells, invading adjacent regions of the body and spreading to other organs. The increase number of cancer cases has driven the search for new antitumor compounds. The goal of chemotherapy is to eliminate cancer cells, preserving the health ones. However, most chemotherapeutic agents has a non-specific action, killing both normal and malignant cells. In this context, compounds with dual action planned by molecular hybridization has a great therapeutic interest. In this work, five new synthetic compounds designed by molecular hybridization of analogs of 3-Alkylpyridine alkaloids covalently linked to a thiosemicarbazone group were tested in vitro against two human tumor cell lines: colon cancer (RKO-AS-45-1) and cervical malignant (HeLa). Cytotoxicity assays were performed by MTT colorimetric method. Compound **3d** was the most active of the serie for HeLa ($IC_{50} = 19,48\mu M$) and RKO-AS-45-1 strain ($IC_{50} = 22,28\mu M$). Moreover, it was possible to deduce a correlation between the cytotoxic activity and the side chain's size of hybrid compounds. In conclusion, the synthesis of hybrid compounds obtained by classical synthetic methods, generating clean products with good yields, is a promising strategy for the development of new antitumor agents.

Endereço:

Núcleo de Pesquisa em Química Biológica (NQBio)– UFSJ - Campus Centro - Oeste
Av. Sebastião Gonçalves Coelho, 400 - Divinópolis-MG - CEP:35.501-296

telefone: (37) 3221-1610; fax: (37) 3221-1402 - e-mail dos autores correspondentes: viana@ufs.ju.br, varotti@ufs.ju.br

INTRODUÇÃO

O câncer continua sendo uma doença devastadora e de abrangência mundial. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer representa uma das principais causas de morte no mundo (1). Uma característica típica do câncer é o crescimento rápido de células anormais que ultrapassam seus limites habituais, podendo então invadir regiões adjacentes do corpo e se espalhar para outros órgãos (2).

As neoplasias surgem devido a mutações genéticas espontâneas ou induzidas por agentes patogênicos (3). Essas alterações no material genético podem provocar uma desordem no ciclo celular, elevando a taxa de proliferação e reduzindo as taxas de morte celular, resultando na seleção de clones de células neoplásicas (4).

O aumento no número de casos e de mortes por câncer tem impulsionado a busca por novos compostos antitumorais (5). Embora a radioterapia e a cirurgia continuem a ser empregadas como estratégias no tratamento, as taxas de recuperação dificilmente ultrapassaram 50% dos casos, levando a adoção de uma terapia baseada no emprego de compostos citotóxicos (6). O objetivo primário da quimioterapia é destruir as células neoplásicas, preservando as normais. Entretanto, a maioria dos agentes quimioterápicos possui uma ação não-específica, danificando tanto células malignas quanto normais (7). Além disso, outro obstáculo associado ao tratamento quimioterápico é a resistência dos tumores aos fármacos empregados no arsenal terapêutico, comprometendo a sobrevida dos pacientes (8).

Neste contexto, compostos com ação dual planejados por hibridação molecular são de grande interesse terapêutico (9). Os compostos híbridos possuem dois ou mais grupos farmacofóricos (sub-unidade estrutural responsável pelo efeito terapêutico) ligados entre si de forma covalente e atuam simultaneamente em um único alvo ou em dois alvos diferentes (10). Tais compostos apresentam vantagens como: custo reduzido, menor risco de interações medicamentosas, baixa toxicidade e muitas vezes podem superar as atividades da combinação de medicamentos isolados (11).

Em um trabalho anterior do nosso grupo de pesquisa foi demonstrado que análogos oxigenados de alcalóides do tipo 3-alkilpiridínicos (3-APA) foram capazes de induzir dano no DNA e alterar o padrão de polimerização dos filamentos de actina. Essa classe de alcalóides é caracterizada pela presença de um anel piridínico e uma cadeia alquílica diversamente funcionalizada ligada ao anel piridínico no carbono da posição 3 (12).

Outra classe de compostos capazes de interferir na proliferação celular são as tiossemicarbazonas. Compostos tais como a 1-formilisoquinolina tiossemicarbazona podem atuar como inibidores da enzima ribonucleosídeo difosfato redutase (RDR) (13). Essa enzima desempenha um papel importante na síntese do DNA e, consequentemente, na divisão celular.

OBJETIVOS

Neste trabalho apresentamos a síntese e avaliação da atividade citotóxica *in vitro* de 05 compostos planejados por hibridação molecular de análogos sintéticos de 3-APA ligados covalentemente a um grupo tiossemicarbazona, apresentada na Figura 1.

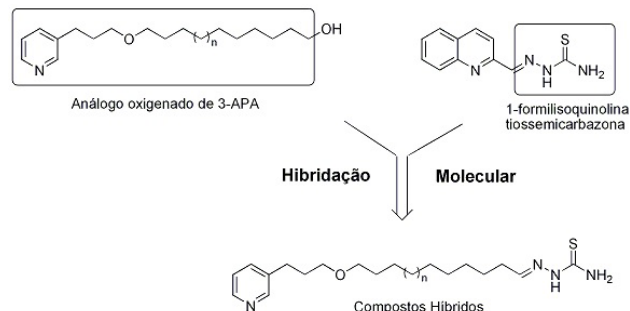


Figura 1 - Estrutura geral dos compostos híbridos com potencial ação citotóxica dual.

MATERIAIS E MÉTODOS

1) Síntese

1.1) Procedimento geral para a síntese dos aldeídos 2a-d e 5 utilizando-se a oxidação de Swern

Em um balão de 50 mL mantido a -60°C adicionou-se 10 mL de diclorometano seco e cloreto de oxalila (2,2 eq) sob atmosfera de nitrogênio. Em seguida, acrescentou-se lentamente o dimetilsulfóxido (4,4 eq) dissolvido em 5,0 mL de diclorometano seco. A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética por 10 minutos à -60°C . Após esse intervalo de tempo, adicionou-se a essa preparação o álcool **1a-d** e **4** (1,0 eq) dissolvido em 5,0 mL de diclorometano seco. A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética por 15 minutos e em seguida adicionou-se a trietilamina (5,0 eq). Deixou-se a preparação atingir a temperatura ambiente e então a mistura reagente foi lavada com solução salina saturada. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio, filtrada e seca sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi cromatografado em coluna de sílica gel (eluente: acetato de etila). A eliminação do solvente sob pressão reduzida forneceu os produtos **2a-d** e **5** puros.

2a; RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) δ 1,24-1,45 (m, 2H); 1,57-1,71 (m, 4H); 1,85-1,92 (m, 2H); 2,44-2,48 (m, 2H); 2,71 (t, 2H, J 7,4 Hz); 3,39-3,42 (m, 4H); 7,22-7,25 (m, 1H); 7,53 (d, 1H, J 7,77 Hz); 8,44-8,46 (m, 2H); 9,78 (s, 1H). RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3) δ 21,86; 25,91; 91,2; 9,47; 29,60; 30,90; 43,80; 123,36; 136,14; 137,33; 146,97; 149,61; 202,64. IV (KBr, 5c, cm^{-1}) = 2935; 2860; 2802; 1722; 1456; 1423; 1114; 950; 829. IES-EMAR: m/z calculado $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_2$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 236,1641; encontrado: 236,1606. **2b**; RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) δ 1,31-1,34 (m, 4H); 1,54-1,66 (m, 4H); 1,86-1,93 (m, 2H); 2,41-2,46 (m, 2H); 2,69 (t, 2H, J 7,9 Hz); 3,38-3,43 (m, 4H); 7,23-7,27 (m, 1H); 7,56 (d, 1H, J 7,7 Hz); 8,45-8,47 (m, 2H); 9,77 (s, 1H). RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3) δ 21,72; 21,92; 25,93; 28,77; 29,01; 29,12; 29,44; 29,58; 30,85; 43,79; 69,32; 70,88; 123,43; 136,49; 137,55; 146,50; 149,26;

202,74. IV (KBr, 5c, cm^{-1})= 2933; 2856; 2830; 1722; 1456; 1423; 1114; 956; 850. IES-EMAR: m/z calculado $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 264,1957; encontrado: 264,1964.

2c; RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) δ 1,29-1,34 (m, 4H); 1,51-1,62 (m, 4H); 1,83-1,93 (m, 2H); 2,40-2,44 (m, 2H); 2,71 (t, 2H, J 8,0 Hz); 3,37-3,43 (m, 4H); 7,20-7,23 (m, 1H); 7,52 (d, 1H, J 7,7 Hz); 8,44-8,46 (m, 2H); 9,76 (s, 1H). RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3) δ 21,98; 24,50; 24,59; 25,68; 26,10; 29,06; 29,51; 29,69; 29,90; 30,99; 43,90; 69,43; 70,92; 123,30; 135,95; 136,04; 147,21; 149,91; 202,91. IV (KBr, 5c, cm^{-1})= 2927; 2854; 2800; 1728; 1454; 1423; 1114; 952; 829. IES-EMAR: m/z calculado $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_2$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 292,2273; encontrado: 292,2232.

2d; RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) δ 1,26-1,34 (m, 4H); 1,53-1,62 (m, 4H); 1,89-1,98 (m, 2H); 2,41-2,45 (m, 2H); 2,91 (t, 2H, J 7,6 Hz); 3,38-3,45 (m, 4H); 7,70-7,78 (m, 1H); 8,12 (d, 1H, J 7,0 Hz); 8,54-8,73 (m, 2H); 9,77 (s, 1H). RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3) δ 21,98; 24,50; 24,59; 25,68; 26,10; 26,79; 28,79; 29,06; 29,33; 29,43; 29,60; 29,62; 29,94; 29,98; 30,18; 30,32; 43,83; 68,74; 71,13; 125,80; 140,32; 142,51; 143,45; 148,52; 202,96. IV (KBr, 5c, cm^{-1})=2924; 2852; 2804; 1728; 1451; 1423; 1111; 989; 835. IES-EMAR: m/z calculado $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{NO}_2$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 320,2584; encontrado: 320,2590.

5; RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ 2,82 (t, 2H, J = 6,5 Hz); 2,96 (t, 2H, J = 6,5 Hz); 7,19-7,28 (m, 1H); 7,53 (d, 1H, J = 7,8 Hz); 8,44-8,47 (m, 2H); 9,83 (s, 1H). RMN ^{13}C (50,32 MHz, CDCl_3) δ 25,1; 44,8; 123,5; 135,8; 136,0; 147,7; 149,7; 200,5. IV (KBr, 5c, cm^{-1})= 2927; 2899; 2833; 1722; 1479; 1390; 986. IES-EMAR: m/z calculado $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 136,0762; encontrado: 136,0768.

1.2) Procedimento geral para a síntese das tiossemicarbazonas 3a-d e 6

Em um balão contendo 10 mL de etanol foram adicionados o aldeído **2a-d** e **5** (1,0 eq), a tiossemicarbazida (1,0 eq) e 4 gotas de ácido acético glacial. A mistura reacional foi mantida sob refluxo por 8 horas. Decorrido esse intervalo de tempo o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi cromatografado em coluna de sílica gel (eluente: acetato de etila) para a obtenção dos produtos **3a-d** e **6** puros.

3a; IV (KBr, 5c, cm^{-1})= 3371; 2970; 2856; 1643; 1485; 1415; 1317; 997; 802. IES-EMAR: m/z calculado $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]: 331,1560; encontrado: 331,1569.

3b; IV (KBr, 5c, cm^{-1})= 3423; 2931; 2856; 1643; 1479; 1404; 1365; 952; 834. IES-EMAR: m/z calculado $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 337,2035; encontrado: 337,2017. IES/EM (m/z): $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}^+$] = 337,10.

3c; RMN ^1H (400MHz, DMSO) δ 1,35-1,49 (m, 4H); 1,76-1,86 (m, 6H); 2,50-2,52 (m, 2H); 2,63 (t, 2H, J 7,4 Hz); 3,31-3,35 (m, 4H); 7,30-7,33 (m, 1H); 7,40 (t, 1H, J 5,4 Hz); 7,64 (d, 1H, J 7,8 Hz); 7,98 (s, 1H); 8,39-8,43 (m, 2H); 11,05 (s, 1H). RMN ^{13}C (100MHz, DMSO) δ 25,66; 25,78; 28,56; 28,68; 28,76; 28,86; 28,95; 29,00; 29,15; 30,51; 31,63; 68,83; 69,92; 123,32; 135,83; 136,45; 146,05; 147,15; 149,38; 177,43. IES-EMAR: m/z calculado $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$]: 387,2183; encontrado: 387,2195.

3d; RMN ^1H (400MHz, DMSO) δ 1,35-1,49 (m, 4H); 1,77-1,86

(m, 6H); 2,51-2,52 (m, 2H); 2,65 (t, 2H, J 7,5 Hz); 3,31-3,35 (m, 4H); 7,22-7,27 (m, 1H); 7,40 (t, 1H, J 5,4 Hz); 7,72 (d, 1H, J 7,8 Hz); 7,96 (s, 1H); 8,44-8,47 (m, 2H); 11,04 (s, 2H). IV (KBr, 5c, cm^{-1})= 3415; 2922; 2850; 1643; 1454; 1429; 1361; 954; 821. IES-EMAR: m/z calculado $\text{C}_{21}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 393,2680; encontrado: 393,2610. IES/EM (m/z): $\text{C}_{21}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}^+$] = 393,10.

6; RMN ^1H (400MHz, DMSO) δ 2,50-2,56 (m, 2H); 2,85 (t, 2H, J 7,5 Hz); 7,29-7,33 (m, 1H); 7,45 (t, 1H, J 4,8 Hz); 7,66 (d, 1H, J 7,8 Hz); 8,00 (s, 1H); 8,39-8,47 (m, 2H); 11,10 (s, 2H). RMN ^{13}C (100MHz, DMSO) δ 28,37; 32,78; 123,32; 135,83; 136,45; 146,05; 147,15; 149,63; 177,52. IV (KBr, 5c, cm^{-1})= 3412; 2954; 2889; 1638; 1451; 1417; 1354; 1111; 986; 845. IES-EMAR: m/z calculado $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_4\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 209,0816; encontrado: 209,0851. IES/EM (m/z): $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_4\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}^+$] = 208,90.

2) Solubilização dos compostos para os ensaios de viabilidade celular

As amostras foram solubilizadas com dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma- Aldrich, St. Louis, MO, EUA) na concentração de 10mg/mL (solução estoque). Essa solução foi mantida em refrigeração a 4°C. No dia da realização dos testes de citotoxicidade, foram feitas diluições utilizando RPMI (Sigma/Aldrich) com 1% Soro Fetal Bovino (SFB) (Gibco, EUA) nas seguintes concentrações a partir da solução estoque: 1000µg/mL, 100µg/mL, 10µg/mL, 1µg/mL e 0,1 µg/mL. A concentração final de DMSO em contato com as células foi de 0,01%.

3) Manutenção das linhagens celulares

As linhagens celulares HeLa (ATCC# CCL-2) e RKO-AS-45-1 (ATCC# CRL-2579) foram cultivadas a partir de ampola criopreservada de um cultivo originalmente cedido pelo Dra. Luciana Maria Silva, da Fundação Ezequiel Dias. As células foram descongeladas a 37°C, seu conteúdo transferido para um tubo de 50mL com 20mL de meio RPMI. As células foram centrifugadas a 320g por 5min, o sobrenadante descartado e o sedimento ressuspenso em meio RPMI suplementado com 10% de Soro Bovino Fetal (SBF) e 40mg/L de gentamicina (meio completo). As células foram transferidas para garrafas de cultura de 200mL e acondicionadas em estufa de CO_2 a 37°C. O meio foi substituído a cada 2 dias. Após confluência de 70% a cultura foi utilizada nos ensaios de citotoxicidade.

4) Ensaio de viabilidade celular

As células foram tripsinizadas com 1,5mL de tripsina (Sigma), incubadas a 37°C por 5min, ressuspenso em 10mL de meio completo e centrifugadas a 320g por 5min. Descartou-se o sobrenadante e o sedimento foi ressuspenso em meio completo. As células foram distribuídas em microplacas de 96 poços (4×10^5 células/100µl por poço) e incubadas em estufa de CO_2 a 37°C por 24h para a adesão das células à placa. Em seguida adicionou-se 100µl de meio completo contendo diferentes concentrações dos compostos testados (1000-0,1µg/mL). As placas foram in-

cubadas por mais 24h. Após a incubação, adicionou-se MTT (Sigma, cat. # M5655) em concentração 5mg/mL, diluído em RPMI 1% SFB e a placa foi novamente incubada por 3h a 37°C. A leitura foi realizada em um leitor de microplacas SpectraMax M5E (Molecular Devices) a 550 nm (12).

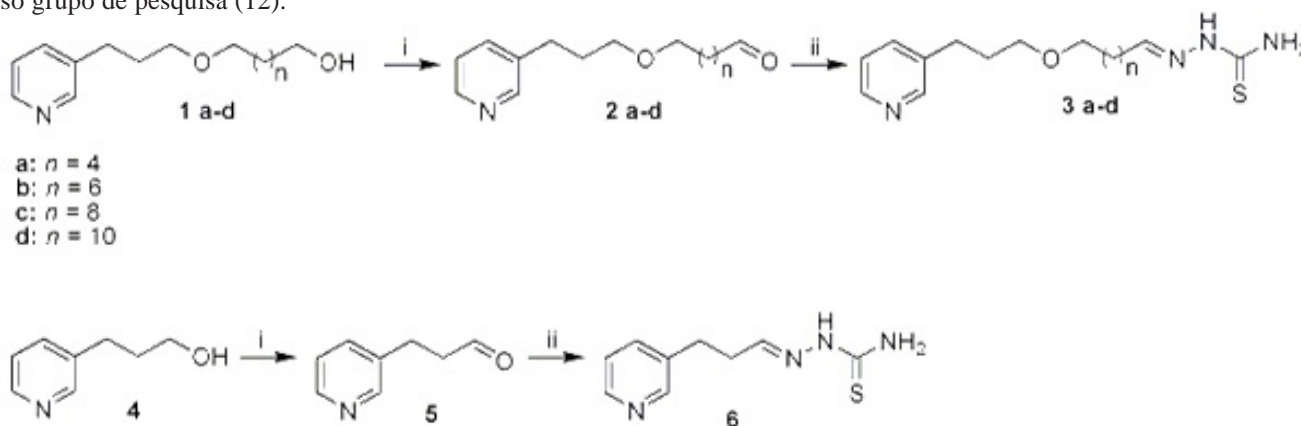
5) Determinação dos valores de IC_{50}

A inibição do crescimento de 50% das linhagens celulares (IC_{50}) foi obtida através de uma curva dose-resposta, em função da regressão linear. Foi utilizado o programa OriginPro versão 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA) para confecção das curvas de IC_{50} (14).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1) Síntese dos compostos

A síntese dos compostos híbridos (**3a-d** e **6**) está representada na Figura 2. Os compostos **1a-d** foram sintetizados de acordo com um procedimento descrito previamente por nosso grupo de pesquisa (12).



Reagentes e condições: i) $COCl_2$, Et_3N , DMSO; ii) Tiossemicarbazida, TsOH, EtOH, refluxo.

Figura 2 - Síntese dos compostos híbridos

Os aldeídos **2a-d** e **5** foram preparados a partir dos álcoois **1a-d** e **4** utilizando-se a oxidação de Swern que é um método clássico no qual um álcool primário é oxidado ao aldeído correspondente em condições brandas. Esta metodologia é limpa e forneceu os produtos desejados **2a-d** e **5** com bons rendimentos (60-95%), o que configura como uma vantagem na síntese de compostos bioativos. Em seguida, o tratamento dos aldeídos **2a-d** e **5** obtidos na etapa anterior com tiossemicarbazida em meio ácido levou à obtenção das tiossemicarbazonas correspondentes **3a-d** e **6**, com rendimentos variáveis de 35 a 82%.

2) Avaliação Biológica

Os resultados do ensaio de viabilidade dos compostos híbridos contra as linhagens HeLa e RKO-AS-45-1 estão indicados na Tabela 1. O composto **3d** foi o mais ativo da série, tanto para a linhagem HeLa ($IC_{50} = 19,48 \mu M$) quanto para a linhagem RKO-AS-45-1 ($IC_{50} = 22,28 \mu M$). A ação citotóxica de análogos sintéticos de alcalóides 3-APA está relacionada com dano no DNA e alteração no padrão de polimerização do citoesqueleto (12).

Tabela 1. Valores de IC_{50} dos compostos híbridos contra as linhagens celulares HeLa e RKO-AS-45-1 e clogP

Compostos	$IC_{50} (\mu M) \pm D.P.^*$		clogP
	HeLa	RKO-AS-45-1	
3a	$62,15 \pm 1,47$	N.D.**	3,39
3b	$30,84 \pm 4,07$	$35,29 \pm 18,68$	4,11
3c	$29,81 \pm 5,40$	$20,66 \pm 8,85$	4,83
3d	$19,48 \pm 9,92$	$22,28 \pm 3,81$	5,54
6	$48,57 \pm 28,89$	$115,71 \pm 30,15$	2,02

*D.P.: Desvio-Padrão, **N.D.: Não Determinado

plasmática é um requisito para compostos com ação em alvos intracelulares (16), sendo o clogP um descritor adotado para medir a lipofilicidade de um composto (17).

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 1, observa-se uma correlação no aumento da atividade citotóxica de acordo com o aumento da cadeia lateral dos compostos híbridos. O composto **3d** possui a maior cadeia lateral da série com 12 átomos de carbono, e consequentemente, o maior clogP (5,54). Esse mesmo padrão foi observado em análogos de alcalóides tetracíclicos de cistoditina, compostos citotóxicos capazes de se ligar ao DNA de células tumorais (18).

No entanto, os dados apresentados neste trabalho não foram suficientes para elucidar completamente qual a importância da cadeia carbônica lateral destes compostos. Bem como se os grupos funcionais presentes no término dessa cadeia foram capazes de modular a sua atividade citotóxica.

CONCLUSÃO

Em conclusão, os dados preliminares apresentados neste trabalho indicam que os compostos híbridos de

análogos sintéticos de 3-APA ligados covalentemente a um grupo tiossemicarbazona apresentaram ação citotóxica contra as linhagens HeLa e RKO-AS-45-1. Dentre os compostos sintetizados, o composto **3d** foi o mais ativo da série. A síntese de compostos híbridos obtidos por meio de metodologias sintéticas clássicas, gerando produtos limpos

e com bons rendimentos mostrou-se uma estratégia promissora para o desenvolvimento de novos agentes antitumorais.

AGRADECIMENTOS

CNPq e FAPEMIG

REFERÊNCIAS

1. Tohme R, Darwiche N, Gali-Muhtasib H. A journey under the sea: The quest for marine anti-cancer alkaloids. *Molecules*. 2011;16(11):9665–96.
2. Winer E, Gralow J, Diller L, Karlan B, Loehrer P, Pierce L, et al. Clinical cancer advances 2008: Major research advances in cancer treatment, prevention, and screening-a report from the american society of clinical oncology. *J Clin Oncol*. 2009;27(5):812–26.
3. Pietras K, Östman A. Hallmarks of cancer: Interactions with the tumor stroma. *Experimental Cell Research*. 2010. p. 1324–31.
4. Almog N. Molecular mechanisms underlying tumor dormancy. *Cancer Letters*. 2010. p. 139–46.
5. Molinski TF, Dalisay DS, Lievens SL, Saludes JP. Drug development from marine natural products. *Nat Rev Drug Discov*. 2009;8(1):69–85.
6. DeVita VT, Chu E. A history of cancer chemotherapy. *Cancer Research*. 2008. p. 8643–53.
7. De Almeida VL, Leitão A, Barrett Reina LDC, Montanari CA, Donnici CL, Lopes MTP. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução. *Quim Nova*. 2005;
8. Fukuda Y, Schuetz JD. ABC transporters and their role in nucleoside and nucleotide drug resistance. *Biochemical Pharmacology*. 2012. p. 1073–83.
9. Fortin S, Bérubé G. Advances in the development of hybrid anticancer drugs. *Expert Opin Drug Discov* [Internet]. 2013;8(8):1029–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23646979>
10. Manohar S, Rajesh UC, Khan SI, Tekwani BL, Rawat DS. Novel 4-aminoquinoline-pyrimidine based hybrids with improved in vitro and in vivo antimalarial activity. *ACS Med Chem Lett*. 2012;3(7):555–9.
11. Miller-Schiffmann A, Sticht H, Korth C. Hybrid compounds: From simple combinations to nanomachines. *BioDrugs*. 2012. p. 21–31.
12. Gonçalves AMMN, de Lima AB, da Silva Barbosa MC, de Camargos LF, de Oliveira JT, de Souza Barbosa C, et al. Synthesis and biological evaluation of novel 3-alkylpyridine marine alkaloid analogs with promising anticancer activity. *Mar Drugs* [Internet]. 2014;12(8):4361–78. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25089949>
13. Beraldo H. Semicarbazonas e tiossemicarbazonas: O amplo perfil farmacológico e usos clínicos. *Química Nova*. 2004. p. 461–71.
14. Silva V, @bullet G, Der MÉ, @bullet O, Resende RJ, Amanda @bullet, et al. Long-chain alkyltriazoles as antitumor agents: synthesis, physicochemical properties, and biological and computational evaluation.
15. Ali AA, Nimir H, Aktas C, Huch V, Rauch U, Schäfer KH, et al. Organoplatinum(II) complexes with 2-acetylthiophene thiosemicarbazone: Synthesis, characterization, crystal structures, and in vitro antitumor activity. *Organometallics*. 2012;
16. Chatterjee AK. Cell-based medicinal chemistry optimization of high-throughput screening (HTS) hits for orally active antimalarials. part 1: Challenges in potency and absorption, distribution, metabolism, excretion/pharmacokinetics (ADME/PK). *J Med Chem*. 2013;56(20):7741–9.
17. Pereira-Caro G, Mateos R, Saha S, Madrona A, Espartero JL, Bravo L, et al. Transepithelial transport and metabolism of new lipophilic ether derivatives of hydroxytyrosol by enterocyte-like Caco-2/TC7 cells. *J Agric Food Chem*. 2010;58(21):11501–9.
18. Fong HKH, Copp BR. Synthesis, DNA binding and antitumor evaluation of styelsamine and cystodytin analogues. *Mar Drugs*. 2013;11(2):274–99.