



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Yasmin Petter da Veiga

Abordagem Integrada Para o Estudo de Compostos Quinoxalínicos: Síntese
Fotoquímica e Avaliação *In Silico* e *In Vitro*

Florianópolis

2026

Yasmin Petter da Veiga

**Abordagem Integrada Para o Estudo de Compostos Quinoxalínicos: Síntese
Fotoquímica e Avaliação *In Silico* e *In Vitro***

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Química.

Orientador(a): Prof. Dr. Ricardo Ferreira Affeldt

Florianópolis

2026

da Veiga, Yasmin Petter

Abordagem Integrada Para o Estudo de Compostos
Quinoxalínicos : Síntese Fotoquímica e Avaliação In Silico
e In Vitro / Yasmin Petter da Veiga ; orientador, Ricardo
Ferreira Affeldt, 2026.

112 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,
Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2026.

Inclui referências.

1. Química. 2. quinoxalinas. 3. síntese fotoquímica. 4.
docking molecular. 5. química medicinal. I. Affeldt,
Ricardo Ferreira. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III.
Título.

Yasmin Petter da Veiga

Abordagem Integrada Para o Estudo de Compostos Quinoxalínicos: Síntese
Fotoquímica e Avaliação *In Silico* e *In Vitro*

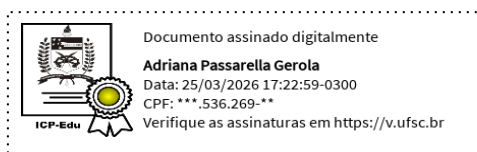
O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 26 de fevereiro de 2026, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Felipe Lange Coelho, Dr.(a)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

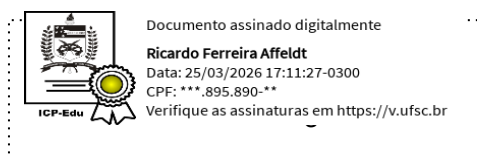
Prof.(a) Leonardo Bruno Federico, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Francisco Fávaro Assis, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestra em Química Orgânica.



Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Prof. Ricardo Ferreira Affeldt, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2026

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais e irmão que sempre me fornecerem apoio e conselhos e encorajamento quando mais precisei. Agradeço de coração meu namorado Diego por sempre me escutar desabafar e me incentivar a agir quando queria desistir. Aos meus melhores amigos, Paulo Gustavo (vulgo PG) e Sabrina por estarem ao meu lado a mais de década, deixando esse período muito mais leve e divertido, nunca esquecendo de mim quando eu sumia por um bom tempo.

Sempre serei grata a minha amiga Claudiana, por me auxiliar no projeto de pesquisa e proporcionar momentos felizes no laboratório, assim como Julia e Raquel, que formam um grupo de pesquisa incrível que trabalham muito bem juntas. Grupo esse liderado pelo meu orientador Ricardo, a quem devo um agradecimento especial por ser o grande idealizador do projeto de pesquisa o qual faço parte. Obrigada por ter me fornecido conhecimento, ensinamentos, apoio e incentivo durante a pesquisa, e de ser um bom amigo além de orientador.

Um grande agradecimento aos meus colegas e professores do LaCFI, pois graças a eles pude trabalhar num ambiente colaborativo, acolhedor e motivador. Agradecimento especial à UFSC e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ), pois sem eles não teria realizado minha caminhada acadêmica. À Central de Análise por ter participação nos resultados que obtive no projeto.

E por último e não menos importante, a CAPES e FAPESC pelo auxílio financeiro, que permitiu o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

Este trabalho investiga compostos de núcleo quinoxalínico por meio de uma abordagem integrada, envolvendo síntese fotoquímica, estudos *in silico* e avaliações *in vitro*, com o objetivo de compreender a relação entre estrutura química, propriedades físico-químicas e interação com o DNA. A síntese dos derivados quinoxalínicos é realizada por metodologia fotoquímica, visando a obtenção das moléculas em condições brandas e alinhadas aos princípios da química sustentável. As propriedades farmacocinéticas e o comportamento de permeabilidade são avaliados por meio de ferramentas computacionais, incluindo previsões de ADME e análises de partição em membranas utilizando modelos de bicamada lipídica. Adicionalmente, estudos de *docking* molecular são empregados para investigar os possíveis modos de interação entre os compostos e o DNA, permitindo a identificação de interações relevantes, como interações π - π e ligação de hidrogênio. A interação experimental dos derivados quinoxalínicos com o DNA é avaliada por técnicas espectroscópicas de absorção no UV-Vis e emissão de fluorescência, fornecendo informações sobre afinidade e possíveis mecanismos de ligação, principalmente de forma superficial. A análise conjunta dos resultados computacionais e experimentais permite discutir a influência de diferentes substituintes no núcleo quinoxalínico sobre a permeabilidade, o perfil farmacocinético e a interação com o DNA. De forma geral, o estudo evidencia o potencial do núcleo quinoxalínico como plataforma molecular para o desenvolvimento de compostos bioativos, além de destacar a importância da integração entre síntese, modelagem molecular e técnicas espectroscópicas como estratégia racional na investigação de novas moléculas de interesse biológico.

Palavras-chave: quinoxalinas; síntese fotoquímica; *docking* molecular; química medicinal.

ABSTRACT

This work investigates quinoxaline-core compounds through an integrated approach involving photochemical synthesis, *in silico* studies, and *in vitro* evaluations, with the aim of understanding the relationship between chemical structure, physicochemical properties, and DNA interaction. The synthesis of quinoxaline derivatives is carried out using a photochemical methodology, aiming to obtain the molecules under mild conditions aligned with the principles of sustainable chemistry. Pharmacokinetic properties and permeability behavior are evaluated using computational tools, including ADME predictions and membrane partition analyses employing lipid bilayer models. Additionally, molecular docking studies are used to investigate possible modes of interaction between the compounds and DNA, allowing the identification of relevant interactions such as π - π interactions and hydrogen bonding. The experimental interaction of quinoxaline derivatives with DNA is evaluated using UV-Vis absorption and fluorescence emission spectroscopic techniques, providing information on affinity and possible binding mechanisms, mainly in a superficial manner. The combined analysis of computational and experimental results allows discussion of the influence of different substituents on the quinoxaline core on permeability, pharmacokinetic profile, and DNA interaction. Overall, the study highlights the potential of the quinoxaline core as a molecular platform for the development of bioactive compounds, as well as emphasizing the importance of integrating synthesis, molecular modeling, and spectroscopic techniques as a rational strategy in the investigation of new molecules of biological interest.

Keywords: quinoxalines; photochemical synthesis; molecular docking; medicinal chemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –Etapas desenvolvimento de fármacos	4
Figura 2 – Ilustração Gráficos BOILED-Egg e Bioavailability Radar	6
Figura 3 – Processo de <i>docking</i> molecular simplificado.	8
Figura 4 – Interação imidazo[1,2-a]piridinas (rosa) e diarilquinoxalinas (azul) com AKT1 (verde) obtido por <i>docking</i> molecular, evidenciando a interação com Trp-80 (amarelo)	9
Figura 5 – Exemplos de compostos heterociclos nitrogenados	10
Figura 6 – Estrutura do núcleo quinoxalínico	12
Figura 7 – Derivados quinoxalínicos aplicados para sondas fluorescentes	12
Figura 8 – Metodologias para a síntese de quinoxalinas a partir de diaminobenzeno e compostos dicarbonílicos	14
Figura 9 – Formação do estado excitado por absorção de luz	17
Figura 10 – Representação simplificada do Diagrama de Jablonski.....	18
Figura 11 – Esquema resumido de reações fotoquímicas	19
Figura 12 – Representação de transições eletrônicas em compostos carbonilados e alcenos	20
Figura 13 – Exemplos de reações por via fotoquímica	21
Figura 14 – Estrutura eletrônica da carbonila	22
Figura 15 – Fotorreator Penn PhD Photoreactor M2	31
Figura 16 – Diferentes substituintes dos derivados de 1,2-difenilquinoxalina	35
Figura 17 – Gráfico BOILED-EGG	36
Figura 18 – Relação valores WLogP entre derivados quinoxalínicos	38
Figura 19 – Relação valores TPSA entre derivados quinoxalínicos.....	39
Figura 20 – Gráfico Bioavailability Radar para padrão 1,2-difenilquinoxalina (QNX001)	40
Figura 21 – Gráfico energia (kcal/mol) vs. caminho da membrana para 1,2-difenilquinoxalina (QNX001).....	41
Figura 22 – Gráfico energia (kcal/mol) vs. caminho da membrana para QNX173	42
Figura 23 – Interação do Composto QNX002 – R ³ = 4-OCH ₃ (vermelho) e QNX003 – R ³ = 4-COCH ₃ (azul) com o sulco menor e maior do DNA, respectivamente, obtidas pelo software Discovery Studio.	45

Figura 24 – Tipos de interação de composto QNX004 com o DNA evidenciando interações com adenina (A), guanina (G), citosina (C) e timina (T). Obtidas pelo software Discovery Studio.....	46
Figura 25 – Espectro de absorção do ctDNA livre e sua respectiva curva de calibração em Tampão Tris (50 mM, pH = 7,45) e NaCl (100 mM).....	56
Figura 26 – Espectro de absorção da 1,2-difenilquinoxalina livre e na presença de concentrações crescentes de ctDNA	57
Figura 27 – Espectro de absorção da (4-hidroxifenil)1,8(2H,5H)-acridinodiona) livre e na presença de concentrações crescentes de ctDNA	58
Figura 28 – Espectro de emissão de fluorescência do 1,2-difenilquinoxalina (composto 1) livre e na presença de concentrações crescentes de ctDNA.....	59
Figura 29 – Espectro de absorção da ctDNA livre e na presença de concentrações crescentes de 1,2-difenilquinoxalina (composto 1)	60

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Síntese de cinolinas	11
Esquema 2 – Síntese da quinoxalina desenvolvida por A) Hinsberg e Körner B) Haddadin e Issidoride	13
Esquema 3 – Reação de produção da vitamina D ₃	15
Esquema 4 – Síntese de quinoxalinas por via fotoquímica.....	24
Esquema 5 – Síntese da 1,2-difenilquinoxalina.....	31
Esquema 6 – Síntese do dibenzoil	32
Esquema 7 – Síntese do difenilacetileno.....	33
Esquema 8 – Diferentes reações para a obtenção de 1,2-difenilquinoxalina.....	48
Esquema 9 – Mecanismo da reação de síntese do dibenzoil	50
Esquema 10 – Mecanismo de síntese do difenilacetileno	52
Esquema 11– Reação <i>one-pot</i> otimizada para a obtenção de 1,2-difenilquinoxalina	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Otimização das condições reacionais para a síntese da 1,2-difenilquinoxalina (composto 1)	48
Tabela 2 – Otimização das condições reacionais para a síntese do dibenzoil (composto 3)	51
Tabela 3 – Otimização das condições reacionais para a síntese do difenilacetileno (composto 5)	52
Tabela 4 – Otimização das condições reacionais para a síntese <i>one-pot</i> da 1,2-difenilquinoxalina (composto 1)	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADME	Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção
ATP	Trifosfato de adenosina
BBB	<i>Blood-Brain Barrier</i>
BE	Brometo de Etídio
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CI	Conversão Interna
CIS	Conversão Intersistema
^{13}C RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
E	Energia
GC-MS	<i>Gas chromatography-mass spectrometry</i>
$h\nu$	Representação de energia proveniente de radiação eletromagnética/fótons
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
^1H RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
IV	Infravermelho
LUMO	<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (Reduzida)
OLEDs	<i>Organic Light-Emitting Diodes</i>
P-gp	Glicoproteína-P
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
pH	Potencial de hidrogênio
S_0	Estado singlete fundamental
S_1	Estado singlete excitado 1
S_2	Estado singlete excitado 2
SAR	<i>Structure-Activity Relationship</i>
SBDD	<i>Structure-Based Drug Design</i>
SMILES	<i>Simplified Molecular Input Line Entry System</i>
SNC	Sistema nervoso Central
T_1	Estado triplete excitado 1
TFD	Teoria Funcional da Densidade
TPSA	<i>Topological Polar Surface Area</i>
t.a.	Temperatura ambiente

UV-Vis Ultravioleta-Visível
WLogP *Wildman–Crippen LogP*
 ε Coeficiente de Absortividade Molar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1	QUÍMICA MEDICINAL: DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS ...	3
2.1.1	Estudos de Predição.....	5
2.1.2	<i>Docking</i> Molecular	7
2.2	COMPOSTOS NITROGENADOS	9
2.2.1	Heterociclos Nitrogenados.....	9
2.2.2	Quinoxalinas	11
2.3	FOTOQUÍMICA.....	14
2.3.1	Fotofísica e fotoquímica	15
2.3.2	Diagrama de Jablonski	17
2.3.3	Reações fotoquímicas	18
2.3.4	Síntese de quinoxalinas por via fotoquímica.....	23
3	OBJETIVOS	26
3.1	OBJETIVO GERAL	26
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4	METODOLOGIA.....	27
4.1	INSTRUMENTAÇÃO E REAGENTES	27
4.2	ESTUDOS <i>IN SILICO</i>	27
4.2.1	SwissADME	28
4.2.2	<i>Docking</i> Molecular	29
4.2.3	Permeabilidade da membrana plasmática (PerMM)	29
4.3	METODOLOGIA SINTÉTICA.....	30
4.3.1	Síntese da 1,2-difenilquinoxalina.....	31
4.3.2	Síntese do dibenzoil	32
4.3.3	Síntese do difenilacetileno	32
4.4	ESTUDOS <i>IN VITRO</i>	33
4.4.1	Determinação da concentração da solução estoque de ct-DNA	33
4.4.2	Interação ligante e ctDNA.....	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1	ESTUDO <i>IN SILICO</i>	35
5.1.1	Estudos de Predição.....	35
5.1.2	<i>Docking</i> Molecular	43

5.2	OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES REACIONAIS DE SÍNTESE DA 1,2-DIFENILQUINOXALINA	47
5.3	ESTUDO IN VITRO	55
6	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	61
	PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS.....	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXOS.....	72

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novas moléculas bioativas permanece como um dos principais desafios da química medicinal contemporânea, especialmente diante da necessidade de compostos mais seletivos, eficientes e obtidos por metodologias sintéticas sustentáveis. Nesse contexto, sistemas heterocíclicos aromáticos têm se destacado por sua ampla diversidade estrutural e por apresentarem propriedades físico-químicas compatíveis com aplicações biológicas. Dentre esses sistemas, os compostos contendo o núcleo quinoxalínico despertam grande interesse científico, uma vez que essa unidade estrutural está presente em diversas moléculas com atividades biológicas relevantes, incluindo propriedades antimicrobianas, antitumorais, antivirais e moduladoras de processos celulares fundamentais.

A versatilidade do núcleo quinoxalínico está diretamente relacionada à sua estrutura conjugada e à possibilidade de introdução de diferentes substituintes, permitindo a modulação racional de propriedades eletrônicas, ópticas e biológicas. Essa característica torna esses compostos particularmente atrativos tanto para estudos fundamentais de interação com biomoléculas quanto para aplicações em química medicinal e no desenvolvimento de sondas moleculares. Em especial, a interação com o DNA representa um eixo central de investigação, uma vez que esse biopolímero constitui um alvo estratégico para fármacos capazes de modular a expressão gênica, interferir na replicação celular ou atuar em processos relacionados ao ciclo celular.

Paralelamente, o avanço de ferramentas computacionais tem transformado a forma como novos compostos são concebidos e avaliados. Abordagens *in silico*, como predições de propriedades ADME, estudos de permeabilidade por modelos de membrana e simulações de *docking* molecular, permitem uma análise preliminar detalhada do comportamento de moléculas bioativas antes da realização de ensaios experimentais mais complexos e dispendiosos. Essas estratégias contribuem para uma compreensão mais aprofundada da relação entre estrutura química e função biológica, além de auxiliarem na seleção racional de compostos com maior potencial farmacológico.

No âmbito experimental, técnicas espectroscópicas como absorção na região do UV-Vis e emissão de fluorescência desempenham papel fundamental na investigação de interações entre pequenas moléculas e o DNA, fornecendo

informações relevantes sobre modos de ligação, afinidade e alterações conformacionais induzidas no biopolímero. A combinação dessas técnicas com estudos computacionais permite uma abordagem integrada e complementar, fortalecendo a interpretação dos dados e aumentando a robustez das conclusões obtidas. Dessa forma, a convergência entre métodos teóricos e experimentais se apresenta como uma estratégia eficaz para a investigação de novos sistemas moleculares bioativos.

Além disso, a busca por metodologias sintéticas mais sustentáveis tem impulsionado o uso de reações fotoquímicas como alternativa às rotas térmicas convencionais. A síntese fotoquímica oferece vantagens significativas, como condições reacionais mais brandas e potencial redução do consumo energético. A aplicação dessas metodologias na obtenção de derivados quinoxalínicos representa não apenas um avanço do ponto de vista sintético, mas também um alinhamento com os princípios da química verde, cada vez mais valorizados no contexto científico atual.

Diante desse cenário, o presente trabalho propõe a investigação de compostos de núcleo quinoxalínico por meio de uma abordagem interdisciplinar, integrando síntese fotoquímica, estudos *in silico* e avaliações *in vitro* baseadas em técnicas espectroscópicas. Essa estratégia visa contribuir para a compreensão das relações entre estrutura, propriedades físico-químicas e interação com o DNA, além de fornecer subsídios para o desenvolvimento racional de novas moléculas com potencial aplicação biológica. Assim, este estudo se insere no esforço contínuo de ampliar o conhecimento sobre sistemas heterocíclicos bioativos e de explorar metodologias inovadoras para sua obtenção e caracterização.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 QUÍMICA MEDICINAL: DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS

O desenvolvimento de novos fármacos constitui um processo complexo, oneroso e de longa duração, podendo estender-se por várias décadas e demandar altos investimentos financeiros, tanto da iniciativa pública quanto da privada. Apesar desses esforços, a taxa de falhas permanece expressiva, uma vez que aproximadamente apenas 10% dos candidatos a fármacos alcançam, de fato, a introdução no mercado.¹ O planejamento do desenvolvimento farmacêutico inicia-se na identificação do alvo terapêutico, prosseguindo por etapas que incluem a descoberta e otimização de melhores candidatos, estudos pré-clínicos, ensaios clínicos em humanos e, por fim, os processos de regulamentação e autorização para fabricação e comercialização. Nesse contexto, um dos principais desafios enfrentados pela comunidade científica e pela indústria farmacêutica consiste na implementação de estratégias mais eficientes e racionalizadas que permitam otimizar o processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, reduzindo custos, tempo e taxas de falha.^{2,3}

Grande parte dos estudos voltados ao aperfeiçoamento dos processos de descoberta e desenvolvimento de fármacos é conduzida no campo da Química Farmacêutica e Medicinal, uma área interdisciplinar que integra conhecimentos de química, medicina, biologia, toxicologia, entre outras disciplinas relacionadas. Tais conhecimentos são empregados no planejamento, síntese e desenvolvimento de agentes químicos com finalidade terapêutica, permitindo a identificação e a compreensão das relações entre características estruturais e atividade biológica (SAR – do inglês *structure–activity relationships*), bem como a avaliação de suas propriedades físico-químicas relevantes.^{4,5}

O modelo clássico que descreve a interação entre um ligante e uma biomacromolécula é conhecido como modelo chave–fechadura, originalmente proposto para explicar o reconhecimento entre enzimas e seus substratos. De acordo com essa analogia, a “fenda” ou sítio de ligação do receptor apresenta afinidade apenas pelo fármaco considerado a “chave” capaz de promover um encaixe molecular exato, resultando na ativação de uma resposta biológica específica. Embora esse modelo forneça uma descrição simples e intuitiva do mecanismo de ação dos

fármacos, ele não representa o comportamento exato das interações intermoleculares, uma vez que desconsidera aspectos fundamentais como a flexibilidade conformacional das moléculas envolvidas.^{6,7}

O processo de desenvolvimento de novos medicamentos fundamentados nos conceitos de interação molécula-alvo biológico é denominado *design* de medicamentos (do inglês, *drug design*). Nesse contexto, a modelagem computacional tem sido amplamente utilizada como ferramenta estratégica para aumentar a eficácia e a segurança dos candidatos a fármacos, contribuindo para a otimização e o aprimoramento dos métodos tradicionais de desenvolvimento farmacêutico.^{6,8} O processo de descoberta de fármacos inicia-se com a identificação e validação do alvo terapêutico, seguido pela descoberta de substância ativa (do inglês *hits*), otimização de melhores candidatos e pelas etapas de desenvolvimento pré-clínico e clínico (Figura 1). Quando bem-sucedido, o candidato é submetido às fases de ensaios clínicos em humanos e, posteriormente, à aprovação regulatória para sua introdução no mercado.⁹

Figura 1 – Etapas desenvolvimento de fármacos. Adaptado de CHANG, *et al.*⁹



Os ensaios *in vitro* e *in vivo* são etapas essenciais para assegurar a eficácia e a segurança dos medicamentos, entretanto, são procedimentos custosos e demorados. Embora não substituam as metodologias experimentais, as abordagens computacionais oferecem vantagens significativas, destacando-se pela rapidez, menor custo e caráter sustentável, além de possibilitarem a predição de propriedades biológicas de compostos ainda não testados experimentalmente. Diversos modelos computacionais têm sido constantemente desenvolvidos com o objetivo de avaliar a segurança de candidatos a fármacos em estágios iniciais, ainda antes de sua síntese e aplicação, permitindo a investigação de sua interação com o alvo biológico, de potenciais efeitos toxicológicos e da otimização da estrutura molecular.¹⁰

Dentro das abordagens *in silico* da química medicinal, há diversas ferramentas que se diferem em relação aos seus objetivos e tipos de informações geradas. Em metodologias de predição, são utilizadas abordagens estatísticas ou

baseadas em dados, cujo objetivo principal é prever propriedades ou atividades biológicas de compostos a partir de padrões já existentes, fornecendo probabilidades ou tendências, não descrevendo explicitamente o mecanismo molecular. Nas metodologias fundamentadas em cálculos teóricos, as abordagens empregadas baseiam-se em princípios físico-químicos com o objetivo de descrever e compreender o comportamento molecular. Os resultados obtidos por essas abordagens permitem avaliar a existência de interações intermoleculares, bem como elucidar como estas ocorrem.^{9,11}

2.1.1 Estudos de Predição

Dentro da farmacologia, ciência que estuda a ação dos fármacos no organismo, destacam-se duas áreas fundamentais para a compreensão e o desenvolvimento de novos medicamentos: a farmacodinâmica e a farmacocinética. A farmacodinâmica é o ramo que estuda os efeitos bioquímicos e fisiológicos dos fármacos no organismo, bem como seus mecanismos de ação. Ela descreve como o fármaco interage com seus alvos biológicos, como receptores e enzimas, e como essas interações se traduzem em respostas terapêuticas ou adversas. Além disso, a farmacodinâmica analisa a relação entre dose, concentração e efeito, permitindo a avaliação de parâmetros como potência, eficácia e afinidade, fundamentais para a compreensão da ação e do perfil farmacológico de um medicamento.¹²

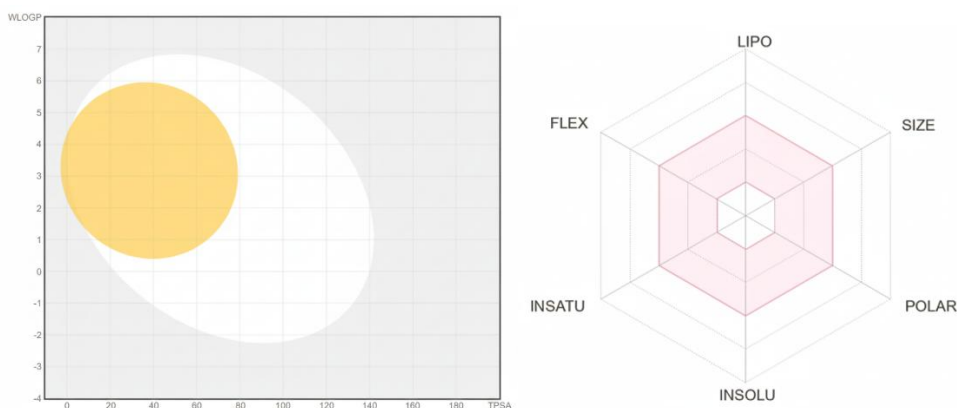
A farmacocinética é o âmbito da farmacologia que investiga a ação dos fármacos no organismo ao longo do tempo, buscando compreender como o fármaco é absorvido, como se distribui entre os tecidos, de que forma é biotransformado e como é eliminado do corpo. Essa área descreve os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME). Essas propriedades são baseadas em princípios físico-químicos que determinam se um composto será adequadamente absorvido, capaz de alcançar o sítio de ação, metabolicamente estável e eliminado de forma segura. A avaliação de ADME é essencial no desenvolvimento de fármacos, pois influencia diretamente a biodisponibilidade, a eficácia terapêutica e o perfil de segurança do medicamento.^{13,14}

Existem diversas ferramentas disponíveis para a predição das propriedades ADME, muitas delas gratuitas, dentre eles é possível destacar pkCSM, ADMETlab e admetSAR. O SwissADME é uma ferramenta *in silico* gratuita e amplamente utilizada

em Química Medicinal para a avaliação preliminar de propriedades físico-químicas e potencial farmacológico de compostos químicos. Entre os principais dados obtidos pelo SwissADME estão: propriedades como LogP, solubilidade, *topological polar surface area* (TPSA), parâmetros de ADME (absorção gastrointestinal, permeabilidade pela barreira hematoencefálica, interação com glicoproteína-P), predição de metabolismo (inibição de isoformas do citocromo P450) e critérios de *drug-likeness*, como as regras de Lipinski, Veber e Ghose.¹⁴

Além disso, o software fornece visualizações gráficas, como o BOILED-Egg (*Brain Or Intestinal EstimateD permeation* – Figura 2), que facilitam a interpretação do comportamento farmacocinético do composto. Esse modelo correlaciona a lipofilicidade (WLOGP) e a área de superfície polar topológica (TPSA) dos compostos, permitindo a classificação das moléculas em regiões associadas à absorção gastrointestinal e à penetração no sistema nervoso central. De forma complementar, também são avaliadas outras propriedades físico-químicas, incluindo a lipofilicidade, tamanho, polaridade, insolubilidade, insaturação e flexibilidade. Cada um desses atributos é representado em um dos vértices de um hexágono (Figura 2), de acordo com os valores calculados para cada uma das propriedades avaliadas. A probabilidade de apresentar um perfil favorável para o desenvolvimento como candidato a fármaco, é então deduzida a partir de uma posição relativa a uma região de referência destacada em rosa no interior do hexágono.

Figura 2 – Ilustração Gráficos BOILED-Egg e Bioavailability Radar.



2.1.2 Docking Molecular

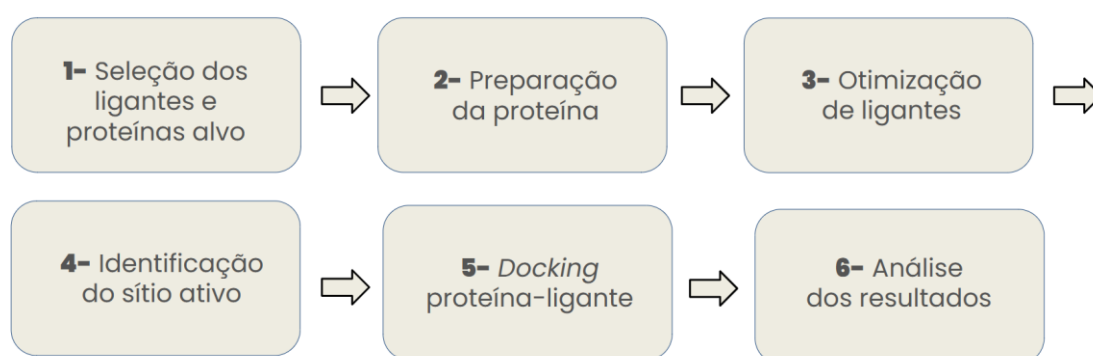
O *docking* molecular consolidou-se, nos últimos anos, como uma ferramenta essencial no desenvolvimento de fármacos, sendo amplamente empregado como abordagem *in silico* para a identificação de compostos promissores, compreensão de modos de ligação, avaliação da seletividade e o direcionamento da otimização estrutural de candidatos a fármacos. Essa técnica baseia-se na predição das interações entre pequenas moléculas e macromoléculas biológicas em nível atômico, possibilitando o estudo do comportamento dos ligantes no sítio de ligação de biomoléculas e a compreensão dos processos bioquímicos provenientes dessas interações. No contexto da descoberta de fármacos, o *docking* molecular destaca-se por permitir a triagem rápida de extensas bibliotecas químicas, reduzindo significativamente os custos e o tempo associados às etapas experimentais, e contribuindo de forma significativa para a aceleração das fases iniciais do desenvolvimento de novos medicamentos, se tornando assim, parte fundamental da estratégia SBDD (*design* de fármacos baseado em estrutura - do inglês *structure-based drug design*).^{15,16}

O *docking* molecular tem como objetivo prever a formação e estabilidade do complexo ligante–receptor por meio de abordagens computacionais. Esse processo envolve, de modo geral, duas etapas principais: a amostragem conformacional do ligante e a aplicação de funções de pontuação. Os algoritmos de amostragem são responsáveis por identificar as conformações e orientações energeticamente mais favoráveis do ligante no sítio ativo da proteína, considerando os possíveis modos de ligação entre as espécies envolvidas.¹⁷ A predição da afinidade de ligação baseia-se na conformação e orientação do ligante, isto é, na sua *pose* dentro do sítio de ligação da macromolécula. Dessa forma, torna-se possível avaliar como o ligante se acomoda e interage com o sítio ativo ou com um domínio específico de ligação do receptor, fornecendo informações relevantes sobre o reconhecimento molecular.^{15,18}

O estudo de *docking* molecular tem início com a obtenção da estrutura tridimensional (3D) do ligante, a qual pode ser gerada por programas específicos a exemplo do ChemDraw, ou obtida a partir de bancos de dados de acesso gratuito, como PubChem. O alvo biológico, por sua vez, é frequentemente selecionado a partir de bancos de dados cristalográficos como Protein Data Bank (PDB) ou determinado por meio de modelagem comparativa. A partir dessas informações, procede-se à

otimização da conformação e da orientação do ligante, com o ajuste dos ângulos diedros das ligações rotacionáveis e, quando aplicável, de resíduos de aminoácidos do sítio de ligação, visando identificar o modo de ligação mais estável energeticamente e estimar o valor de afinidade do complexo formado entre o ligante e o alvo molecular.¹⁷ Apesar das diferenças metodológicas, diversos softwares de *docking* estão disponíveis, cada um baseado em algoritmos específicos, mas apresentando similaridades na organização geral do processo (Figura 3), especialmente no que se refere à geração de poses e à avaliação da afinidade por meio de funções de pontuação (*scores*). Alguns exemplos que podem ser citados são GOLD, GLIDE, AutoDock Vina, AutoDock 4, DockThor e SwissDock, entre outros.^{17,18}

Figura 3 – Processo de *docking* molecular simplificado. Adaptado de AGU, et al.¹⁷



Recentemente, o grupo de pesquisa do Prof. Ricardo Ferreira Affeldt investigou, por meio de simulações computacionais, o potencial antitumoral de duas classes de *N*-heterociclos — imidazo[1,2-*a*]piridinas e diarilquinoxalinas (Figura 4). Avaliando sua interação com a cinase humana AKT1, uma enzima diretamente associada a processos de desenvolvimento e progressão do câncer, sendo sua inibição previamente atribuída a compostos heterocíclicos. Esses inibidores alostéricos apresentam alta afinidade de ligação com o resíduo triptofano-80, além de interagir com outros aminoácidos presentes no sítio ativo da proteína. As simulações por *docking* molecular (AutoDock) revelaram alta afinidade dessas moléculas pelo sítio ativo da proteína para ambas as classes, além de interações π – π consistentes entre os anéis heteroaromáticos e o Trp-80. Além da interação com a AKT1, as imidazo[1,2-*a*]piridinas também obtiveram resultados promissores em estudos

publicados relacionados ao seu efeito citotóxico contra células relacionados ao linfoma de Burkitt.¹⁹

Figura 4 – Interação imidazo[1,2-a]piridinas (rosa) e diarilquinoxalinas (azul) com AKT1 (verde) obtido por *docking* molecular, evidenciando a interação com Trp-80 (amarelo).

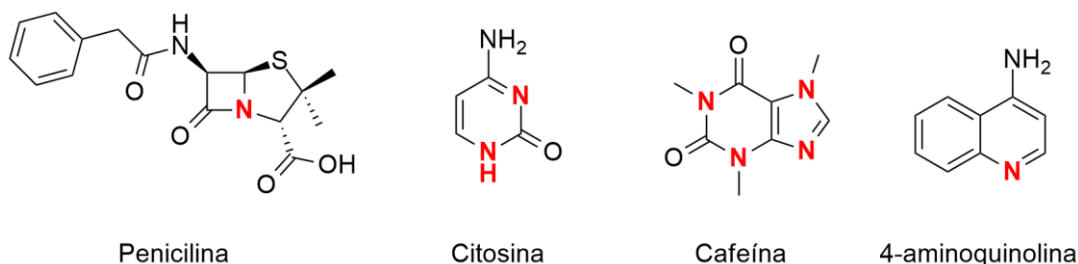


2.2 COMPOSTOS NITROGENADOS

2.2.1 Heterociclos Nitrogenados

Os heterociclos nitrogenados constituem uma classe de compostos orgânicos caracterizada pela presença de átomos de nitrogênio incorporados à estrutura cíclica. Essa classe abrange uma ampla diversidade de moléculas, que variam quanto ao número de heteroátomos, ao tamanho do anel e à natureza dos substituintes (Figura 5). Tais compostos são amplamente encontrados em produtos naturais, integrando a estrutura de hormônios e vitaminas do tipo B, além de presentes na composição de inúmeros fármacos. Os heterociclos nitrogenados desempenham papel fundamental na constituição do material genético, uma vez que compõem as bases nitrogenadas do DNA, como adenina, guanina, citosina e timina. Devido às suas propriedades químicas e biológicas, essa classe de compostos apresenta elevado interesse industrial e farmacêutico, sendo associada a atividades farmacológicas que incluem ações antibiótica, antiviral, anti-inflamatória e analgésica.^{20,21}

Figura 5 – Exemplos de compostos heterociclos nitrogenados



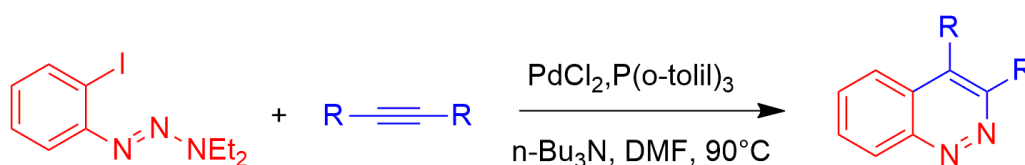
Diversos estudos têm sido direcionados à investigação dos heterociclos nitrogenados no contexto farmacológico, evidenciando sua relevância no desenvolvimento de agentes terapêuticos. O interesse pelas propriedades biológicas dessa classe de compostos remonta a várias décadas, com registros iniciais de sua aplicação datados de 1928, com a descoberta da penicilina pelo médico escocês Alexander Fleming, que se tornou o primeiro antibiótico amplamente utilizado na medicina, graças aos estudos posteriores de Howard Florey e Ernst Chain, desenvolvendo o composto para uso clínico.²² Posteriormente, esses compostos também passaram a ser explorados no tratamento de outras patologias, como o glaucoma, com medicamentos registrados na década de 1980, e a esclerose múltipla, com aplicações terapêuticas na década de 1990, e com registros mais recentes a partir de 2010.²³ Outro exemplo é 4-aminoquinolina, o principal agente antimalárico utilizado por mais de 50 anos, composto utilizado como precursor de medicamentos como cloroquina, amodiaquina e piperaquina.^{24,25}

Os principais motivos para a ampla utilização desses compostos para o desenvolvimento de fármacos são a sua maior estabilidade metabólica, biodisponibilidade e especificidade para o alvo, sendo essas características possíveis devido à sua estrutura que muitas vezes podem possuir maior resistência a oxidação, rigidez estrutural, ionização parcial em pH fisiológico, dentre outros fatores. Outro aspecto relevante associado à atividade farmacológica desses compostos, está relacionado à sua capacidade de estabelecer interações intermoleculares fortes com macromoléculas biológicas. Tais interações ocorrem predominantemente por meio de ligações de hidrogênio, favorecidas pela presença de átomos de nitrogênio em sua estrutura molecular, os quais atuam como doadores de pares de elétrons.^{20,26}

Muitos compostos heterocíclicos nitrogenados têm origem em produtos naturais, como os alcaloides, o que historicamente motivou estudos voltados à síntese

total dessas estruturas, visando reduzir a dependência exclusiva de fontes naturais.²⁰ Nesse contexto, diversas metodologias sintéticas têm sido desenvolvidas e aprimoradas ao longo dos anos para a obtenção desses compostos. Dentre elas, destacam-se as reações multicomponentes (MCRs), empregadas por permitirem a combinação de três ou mais reagentes em um único meio reacional (*one-pot*), resultando em metodologias mais eficientes, rápidas e alinhadas aos princípios da química verde.²⁷ Além disso, há também na literatura o desenvolvimento de rotas sintéticas que utilizam alcinos como materiais de partida, frequentemente associadas ao emprego de catalisadores metálicos (Esquema 1).²⁸

Esquema 1 – Síntese de cinolinas. Adaptado de NETO e ZENI, 2020.²⁸

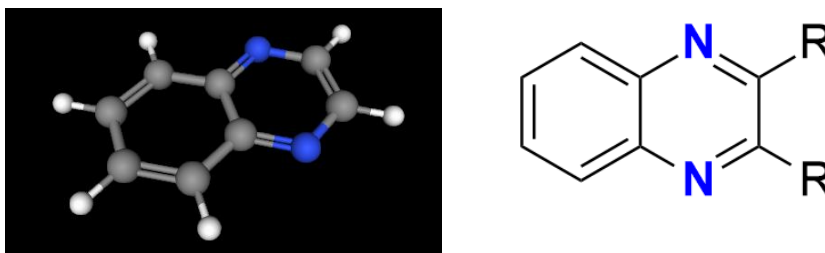


2.2.2 Quinoxalinas

Dentro da classe dos heterociclos nitrogenados existem as quinoxalinas (Figura 6), sendo também conhecidas na literatura pelo nome de benzopirazina. Assim como ocorre com outros sistemas heterocíclicos, os derivados quinoxalínicos têm despertado um grande interesse de pesquisadores devido a suas diversas atividades biológicas, dentre elas propriedades antitumorais, antivirais, antibacterianas, analgésicas e antifúngicas. O anel quinoxalínico faz parte da estrutura de uma série de antibióticos como *echinomycin*, *levomycin* e *actinomycin*, os quais são conhecidos por sua eficácia na inibição do crescimento de bactérias Gram-positivas.^{29,30}

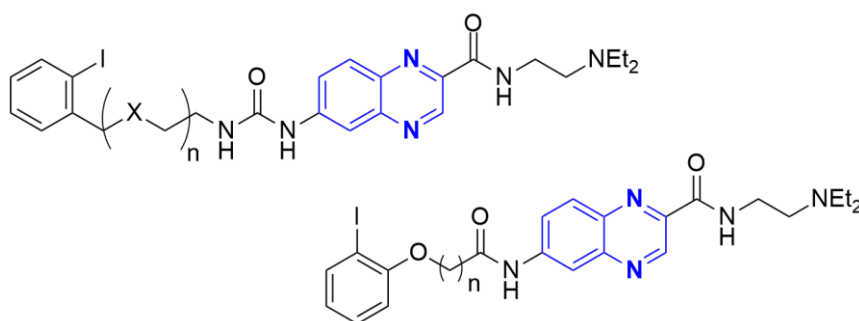
Sua estrutura é baseada em uma molécula bicíclica que consiste em um benzeno condensado a uma pirazina, anel aromático que possui dois heteroátomos de nitrogênio nas posições 1 e 4. Destaca-se também sua alta estabilidade eletrônica e planaridade estrutural, favorecendo empilhamento π . Este tipo de estrutura permite que estes compostos possuam características fluorescentes e fosforescentes, aumentando sua aplicabilidade para a área tecnológica.²⁹

Figura 6 – Estrutura do núcleo quinoxalínico.



Estudos na literatura indicam que derivados de quinoxalina podem apresentar propriedades de cristais líquidos, tais como OLEDs (Diodo Orgânico Emissor de Luz – do inglês *Organic Light-Emitting Diode*). Essas propriedades são especialmente, em sistemas funcionalizados com substituintes constituídos por cadeias flexíveis, capazes de se organizar e formar fases cristalinas em função de interações intermoleculares do tipo dipolo–dipolo e empilhamento π .^{31,32} Outra aplicação relevante desses compostos refere-se ao seu emprego em sondas fluorescentes (Figura 7), como a exemplo de sua utilização para detecção de células tumorais de melanoma, estudos estes já avançados para a fase *in vivo*, a partir de técnicas de imagem por fluorescência.³³

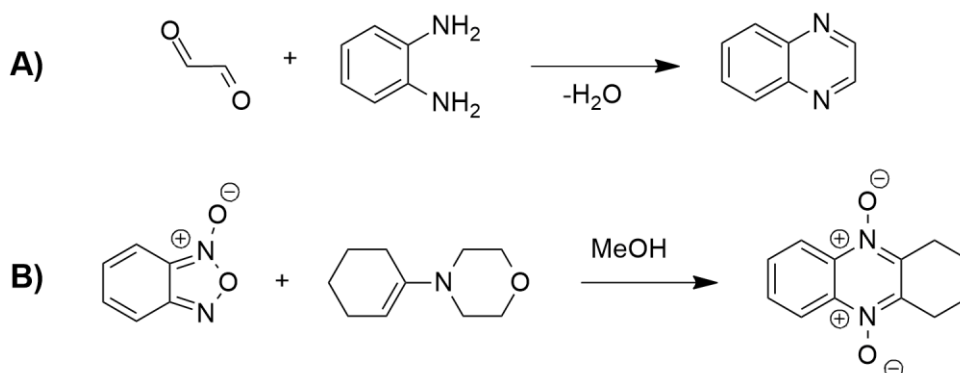
Figura 7 – Derivados quinoxalínicos aplicados para sondas fluorescentes. Adaptado de El Aisso, Radhia *et al.*³³



O primeiro registro de uma reação para obter o núcleo quinoxalínico foi em 1884, pelos estudos de Hinsberg e Körner, que nomearam essa molécula de quinoxalina devido a sua semelhança ao núcleo quinolina e pela utilização do reagente de partido glioal (**quinolina** + **glioal** + **ina**). A rota de síntese foi definida por eles como o produto da condensação entre um composto α , β -carbonilado, neste caso o glioal, e o 1,2-diaminobenzeno (Esquema 2A).²⁹ Outra rota sintética relatada

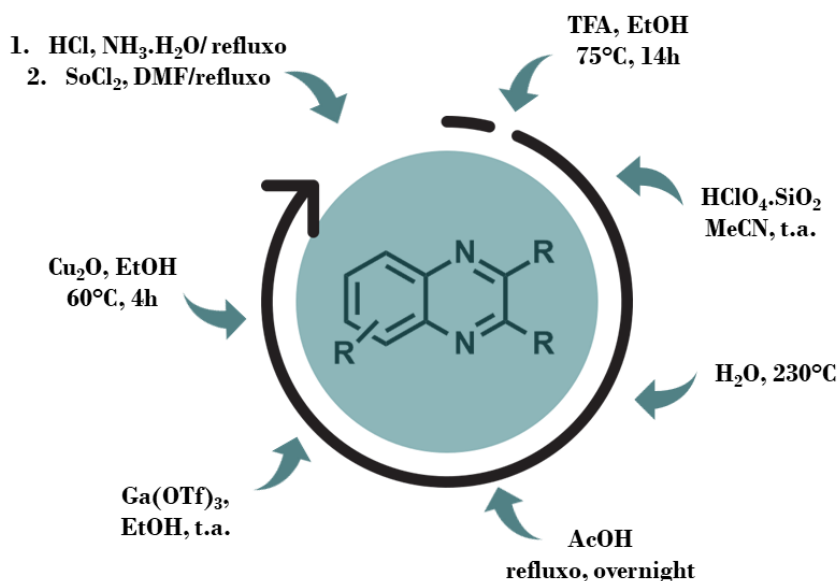
faz uso da reação de Beirut, sendo seu primeiro registro em 1965, quando Haddadin e Issidorides observaram que a condensação do óxido de benzofurazano com uma enamina em metanol, gerava um composto de quinoxalina (Esquema 2B).³⁴

Esquema 2 - Síntese da quinoxalina desenvolvida por A) Hinsberg e Körner²⁹ B) Haddadin e Issidoride.³⁴



Atualmente, a maioria dos estudos envolvendo quinoxalinas utilizam a condensação de compostos 1,2-dicarbonílicos com fenilenodiaminas. Devido a sua alta gama de aplicações, há diversos estudos relacionados a otimização das metodologias de síntese, buscando sempre o melhor rendimento alterando suas condições reacionais. Entretanto, muitos desses procedimentos envolvem o uso de altas temperaturas e longos tempos reacionais, além de oxidantes e ácidos fortes, resultando em sínteses com alta gasto energético e não sustentáveis ao meio ambiente (Figura 8).³⁵ Uma das alternativas para reduzir estes inconvenientes, é a utilização de uma metodologia por **via fotoquímica**.

Figura 8 – Metodologias para a síntese de quinoxalinas a partir de diaminobenzeno e compostos dicarbonílicos. Adaptado das literaturas [35-41].



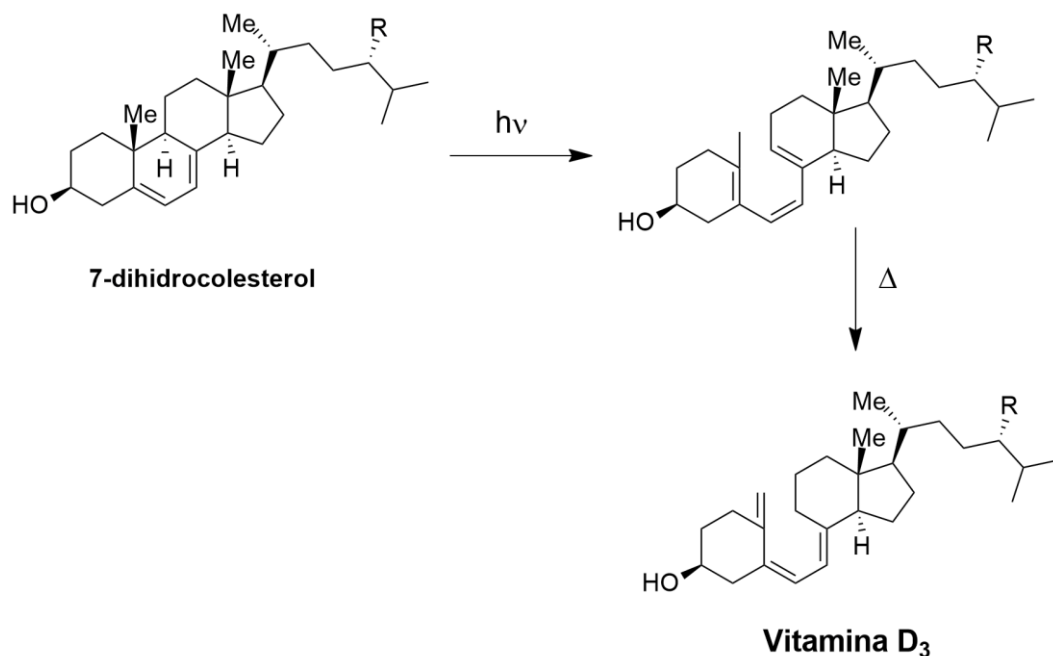
2.3 FOTOQUÍMICA

A luz é uma radiação eletromagnética que se propaga por campos elétrico e magnético oscilantes, cuja energia dos fótons é proporcional à frequência e inversamente proporcional ao comprimento de onda, permitindo a organização das radiações no espectro eletromagnético. A região do visível, perceptível ao olho humano, situa-se aproximadamente entre 400 e 700 nm, abrangendo radiações do violeta ao vermelho e distinguindo-se de faixas não visíveis, como o ultravioleta e o infravermelho, com grande relevância em processos fotoquímicos.^{42,43}

Na natureza existem processos relacionados a transformação de energia a partir da absorção da radiação eletromagnética. A fotossíntese é um dos fenômenos naturais mais conhecidos, baseando-se no uso da energia luminosa para sintetizar ATP (trifosfato de adenosina) e NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato), responsáveis pela produção de oxigênio e glicose, sustentando a sobrevivência de praticamente todas as formas de vida na Terra.⁴⁴ Processos fotoquímicos também ocorrem no organismo humano, como a síntese de vitamina D na pele (Esquema 3). Nessa etapa, o 7-diidrocolesterol presente na epiderme absorve radiação UVB (280–315 nm), promovendo uma clivagem fotoinduzida seguida de isomerização térmica,

resultando na formação da vitamina D₃, processo viabilizado pela presença de um dieno conjugado e pela geometria rígida da molécula.⁴⁵

Esquema 3 – Reação de produção da vitamina D₃. Adaptado de Beaudry, *et al.*⁴⁵



2.3.1 Fotofísica e fotoquímica

Os processos fotofísicos e fotoquímicos descrevem o comportamento das moléculas após a absorção de radiação eletromagnética em diferentes comprimentos de onda, sendo fundamentais para compreender os processos radiativos. Os processos fotofísicos referem-se aos eventos que ocorrem após a absorção de luz por uma molécula sem que haja alteração permanente de sua estrutura química. Nesses processos, a energia absorvida promove transições entre estados eletrônicos, seguida por mecanismos de relaxação não-radiativos ou radiativos como a fluorescência e a fosforescência. A compreensão desses fenômenos é essencial para explicar a emissão de luz, o tempo de vida dos estados excitados e a eficiência de materiais e sistemas fotoativos.⁴⁶

Os processos fotofísicos estão amplamente presentes no meio ambiente e em diversas aplicações tecnológicas. Na natureza, um exemplo muito conhecido é a bioluminescência, na qual processos de emissão de luz são realizadas por

organismos vivos como águas-vivas, vagalumes e bactérias.⁴⁷ Em aplicações gerais, os processos fotofísicos são explorados em dispositivos optoeletrônicos (LEDs, OLEDs e células solares), sensores fluorescentes, marcadores biológicos, lasers, e técnicas espectroscópicas, onde a emissão e o controle da luz são fundamentais para a detecção, visualização e conversão de energia.^{48,49,50}

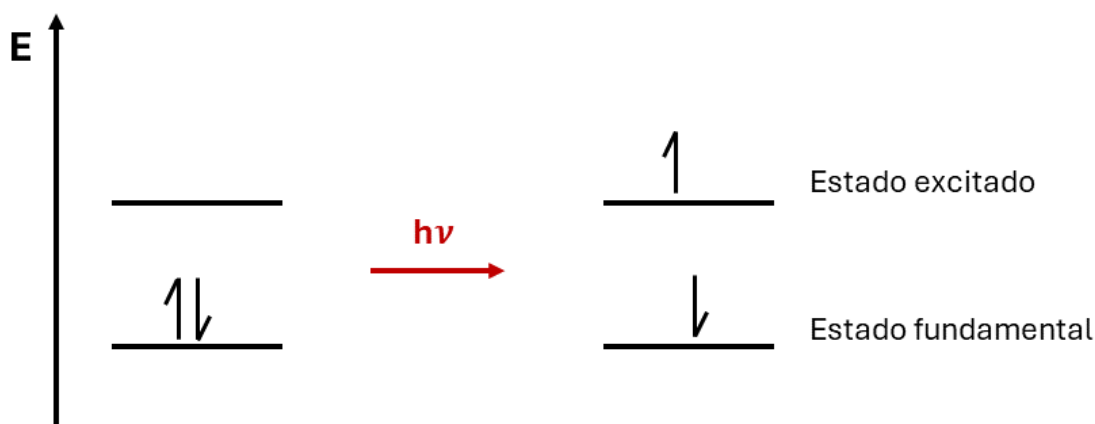
Já os processos fotoquímicos envolvem a absorção da radiação ultravioleta ou visível e a conversão dessa energia para promover mudanças estruturais ou reações químicas, como isomerizações, quebras de ligação ou reações eletrocíclicas, resultando na formação de novas espécies químicas. Diferentemente dos processos fotofísicos, nos quais a molécula retorna ao estado fundamental sem mudança estrutural, os processos fotoquímicos resultam em transformações químicas permanentes, sendo governados pela natureza do estado excitado, pela simetria molecular e pelas superfícies de energia potencial envolvidas.⁵¹ Nas últimas décadas a fotoquímica se mostrou uma ferramenta muito útil dentro da química orgânica sintética, podendo ser aplicada em diversas reações como formação de ligações C-C e C-heteroátomos, funcionalização de peptídeos, ativações C-H e não menos importante, a síntese de heterociclos.^{46,52}

Diversas leis fundamentais auxiliam na compreensão dos fenômenos e reações que envolvem a interação da luz com a matéria. A lei de Grotthuss–Draper, também denominada primeira lei da fotoquímica, estabelece que apenas a radiação efetivamente absorvida por um sistema é capaz de provocar uma transformação química. A lei de Lambert–Beer (Equação 1), por sua vez, descreve a relação linear entre a quantidade de radiação absorvida (A), a concentração da espécie absorvente (c) e o caminho óptico (b), constituindo a base da espectroscopia de absorção.⁴⁶

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (1)$$

A lei de Stark–Einstein (ou lei da equivalência fotoquímica) afirma que, para cada fóton absorvido, apenas uma molécula é promovida a um estado excitado, tornando-se potencialmente reativa em um processo fotoquímico. Quando o fóton incidente apresenta energia compatível com a diferença energética entre dois níveis eletrônicos, ocorre a promoção de um elétron para um estado excitado de maior energia, o que pode resultar em uma transformação química (figura 9).⁵¹

Figura 9 – Formação do estado excitado por absorção de luz.



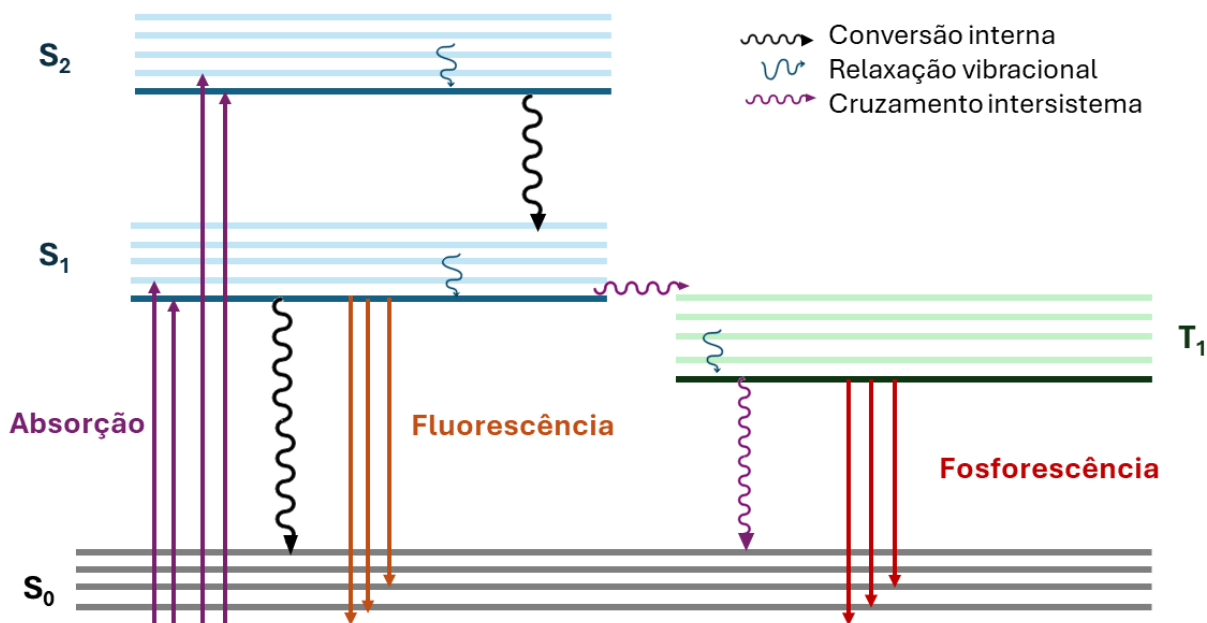
2.3.2 Diagrama de Jablonski

Os processos que envolvem a absorção e a emissão de luz são comumente representados por meio do Diagrama de Jablonski (Figura 10), assim denominado em homenagem ao professor Alexander Jablonski, reconhecido como um dos pioneiros da espectroscopia de fluorescência. Nesse diagrama, o estado singlete fundamental é representado por S_0 , enquanto os estados excitados de menor energia são indicados por S_1 e S_2 . Cada estado eletrônico possui, ainda, subníveis vibracionais, geralmente representados por 0, 1 e 2.⁵³

As transições eletrônicas ocorrem a partir da absorção de radiação eletromagnética e são ilustradas por setas verticais, correspondendo à promoção do elétron do estado S_0 para S_1 ou S_2 . Quando a excitação ocorre para o estado S_2 , é comum a ocorrência de conversão interna (CI), um processo não radiativo no qual há dissipação de energia e o elétron relaxa para o estado S_1 .⁵³

Após a excitação, a energia pode ser dissipada por meio da fluorescência, processo radiativo no qual o sistema retorna do estado S_1 ao estado S_0 . Em determinadas situações, pode ocorrer o cruzamento intersistema (CIS), caracterizado por uma mudança na multiplicidade de spin, promovendo a transição do elétron do estado singlete S_1 para o estado tripleto T_1 . O retorno ao estado fundamental a partir do estado tripleto resulta na liberação de energia de menor intensidade quando comparada à fluorescência, originando o fenômeno da fosforescência.⁵³

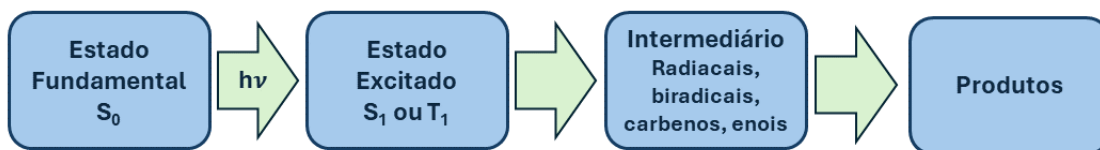
Figura 10 – Representação simplificada do Diagrama de Jablonski. Adaptado de LAKOWICZ.⁵³



2.3.3 Reações fotoquímicas

As reações fotoquímicas ocorrem quando uma molécula absorve um fóton de energia adequada, promovendo um elétron do estado fundamental para um estado eletrônico excitado. Essa excitação altera a distribuição eletrônica e a geometria molecular, tornando-a mais reativa do que no estado fundamental. Nos estados excitados, ligações químicas podem ser enfraquecidas ou fortalecidas, possibilitando rearranjos estruturais, clivagens homolíticas ou transferências eletrônicas que não ocorreriam termicamente. Nesse estado, pode haver formação de espécies intermediárias que acabam viabilizando a reação, como radicais, carbenos e enóis (Figura 11). Assim, a absorção de luz permite acessar caminhos reacionais alternativos, governados pelas propriedades eletrônicas e pela curta vida dos estados excitados.^{54,55}

Figura 11 – Esquema resumido de reações fotoquímicas. Adaptado de Scaiano.⁵⁵

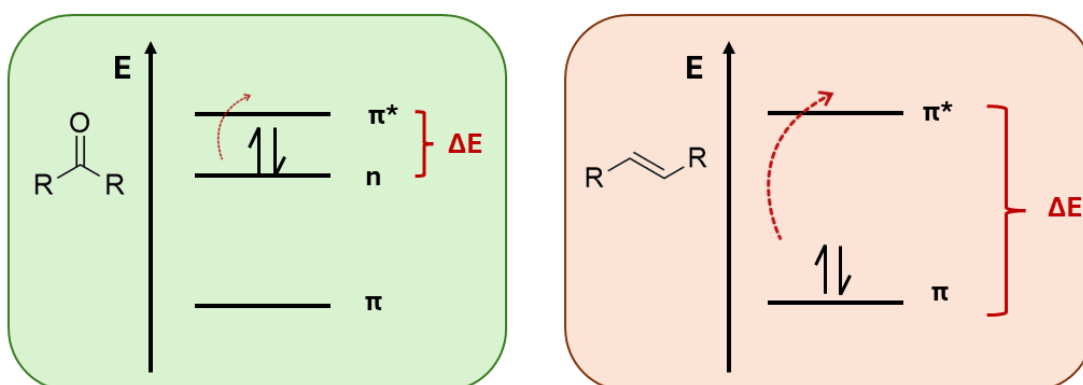


A fotoquímica apresenta como principais vantagens a possibilidade de promover reações sob condições brandas de temperatura e pressão, possibilitar reações que não são viáveis por ativação térmica e o alto grau de seletividade, uma vez que a excitação pode ser controlada pelo comprimento de onda da luz. Além disso, a luz pode atuar como reagente limpo, reduzindo a necessidade de ativadores químicos agressivos. Também é importante destacar que apesar de existirem reatores específicos para este tipo de reação, muitas delas podem ser realizadas por lâmpadas comerciais e até mesmo a luz do sol. Por outro lado, as desvantagens são atribuídas a baixa penetração da luz em meios concentrados, a dificuldade de controle e escalonamento dos processos, a curta vida dos estados excitados e a possibilidade de reações paralelas ou degradação fotoquímica, o que pode comprometer o rendimento e a reprodutibilidade das reações.⁵⁶

Para que reações por via fotoquímica ocorram, são necessárias características fundamentais dos reagentes, tais como a capacidade de absorver radiação eletromagnética e a presença de estados excitados com tempo de vida suficientemente longo para permitir a ocorrência da reação. Determinadas características estruturais dos reagentes favorecem esse tipo de reação, como por exemplo o elevado grau de conjugação, o qual contribui para a redução da diferença energética entre os orbitais HOMO (Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia – do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia – do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Além dos aspectos estruturais, condições experimentais também desempenham papel relevante, como baixas concentrações, que facilitam a penetração da radiação luminosa, e a utilização de solventes fotoquimicamente inertes. Em situações específicas, torna-se necessária a utilização de fotossensibilizadores, moléculas capazes de absorver luz e transferir energia para outras espécies químicas, viabilizando ou intensificando o processo fotoquímico.^{46,51}

O conhecimento do comprimento de onda no qual os reagentes absorvem radiação é essencial para a ocorrência eficiente de reações fotoquímicas. Embora, em muitos casos, sejam utilizadas lâmpadas de luz branca, que emitem em uma ampla faixa do espectro, a seleção específica do comprimento de onda irradiado pode aumentar significativamente a eficiência e a seletividade da reação. Em compostos carbonílicos, como cetonas e aldeídos, a absorção ocorre tipicamente na faixa de 280 a 330 nm, sendo atribuída à transição eletrônica $n \rightarrow \pi^*$. Nesse caso, os pares de elétrons não ligantes do átomo de oxigênio (orbital n) são promovidos ao orbital antiligante π^* da ligação C=O. A diferença energética entre os orbitais n e π^* é relativamente menor quando comparada à transição $\pi \rightarrow \pi^*$, característica de sistemas insaturados e conjugados, como alcenos e compostos aromáticos. Essa menor diferença de energia explica a absorção em comprimentos de onda mais longos, tipicamente próximos a 300 nm, considerando que a energia da radiação é inversamente proporcional ao comprimento de onda (Figura 12).^{46,51}

Figura 12 – Representação de transições eletrônicas em compostos carbonílicos e alcenos.

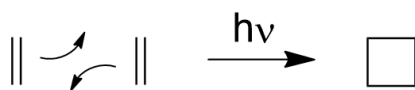


Na química orgânica, a formação de estados excitados pela absorção de luz, viabiliza uma ampla variedade de transformações, incluindo reações eletrocíclicas, nas quais sistemas π conjugados sofrem abertura ou fechamento de anéis de acordo com as regras de simetria orbital, e cicloadições fotoquímicas [2+2], que se tornam permitidas apenas no estado excitado, ao contrário do que ocorre em condições térmicas.⁵⁷ Também são comuns fotoisomerizações *cis-trans* de alcenos, resultantes da redução da barreira de rotação da dupla ligação no estado excitado,

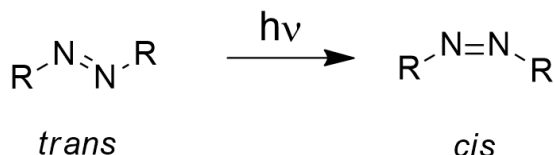
além de fotoclivagens homolíticas de ligações C–X, que geram espécies radicalares altamente reativas. Em compostos carbonílicos, destacam-se as reações de Norrish tipo I, envolvendo clivagem α à carbonila, e Norrish tipo II, caracterizadas por abstração intramolecular de hidrogênio seguida de rearranjos ou fragmentações. Esses processos podem ocorrer por mecanismos radicalares ou concertados, dependendo se o estado excitado é singlete ou tripleto, permitindo o acesso a produtos e rotas mecanísticas indisponíveis por ativação térmica convencional (Figura 13).^{58,59}

Figura 13 – Exemplos de reações por via fotoquímica. Adaptado de [57-59].

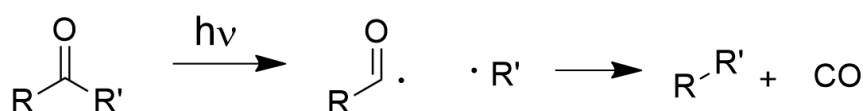
Cicloadição [2+2]



Fotoisomerização



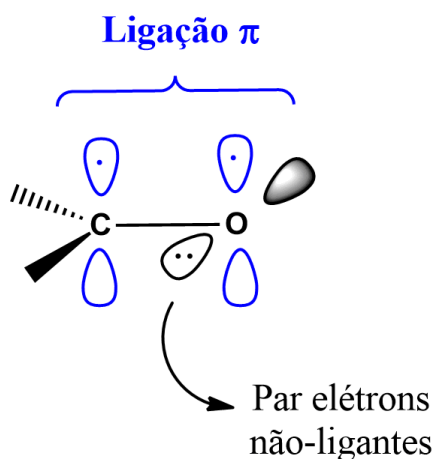
Norrish tipo I



Assim como reações de Norrish tipo I e II, diversas reações por via fotoquímica fazem uso de compostos carbonílicos. Como exemplo, há a fotorredução de carbonilas, frequentemente mediada por doadores de hidrogênio, bem como o uso de cetonas aromáticas como sensibilizadores em reações de abstração de hidrogênio e transferência de energia, tal como a benzofenona. Em comum, essas reações utilizam radiação UV ou UV-vis, condições brandas de temperatura, solventes capazes de estabilizar estados excitados ou radicais e, muitas vezes, atmosfera inerte para evitar desativação do estado excitado pelo oxigênio molecular.⁶⁰

Determinadas características estruturais desses compostos são fundamentais para viabilizar a ocorrência de reações por via fotoquímica. As carbonilas são constituídas por uma estrutura σ localizada entre um carbono e um oxigênio, por um sistema π deslocalizado envolvendo ambos os átomos e orbitais não ligantes (n) centrados principalmente no oxigênio (Figura 14). Em compostos carbonílicos conjugados, essa organização básica é preservada, porém o sistema π se estende por um número maior de átomos, alterando as propriedades eletrônicas e espectroscópicas. A absorção de luz na região do ultravioleta promove transições eletrônicas características, destacando-se a transição $n \rightarrow \pi^*$, fraca, mas crucial para a fotoquímica de cetonas saturadas, e transições de maior energia como $\pi \rightarrow \pi^*$. A excitação eletrônica, especialmente do tipo $n \rightarrow \pi^*$, provoca mudanças significativas na geometria molecular, no comprimento da ligação C=O e na distribuição de carga, resultando em estados excitados com propriedades estruturais e eletrônicas muito distintas do estado fundamental, o que explica a elevada reatividade fotoquímica dos compostos carbonílicos.⁶¹

Figura 14 – Estrutura eletrônica da carbonila. Adaptado de Swenton.⁶¹



Em determinados sistemas, as reações não ocorrem espontaneamente por via fotoquímica, tornando necessária a utilização de fotocatalisadores, sendo estes compostos capazes de absorver radiação eletromagnética e converter essa energia em reatividade química.⁶² Entre os fotocatalisadores mais empregados destacam-se os complexos metálicos de metais de transição, especialmente aqueles à base de rutênio e irídio, os quais apresentam forte absorção na região do visível e propriedades fotoquímicas favoráveis. Adicionalmente, fotocatalisadores orgânicos, como eosina Y

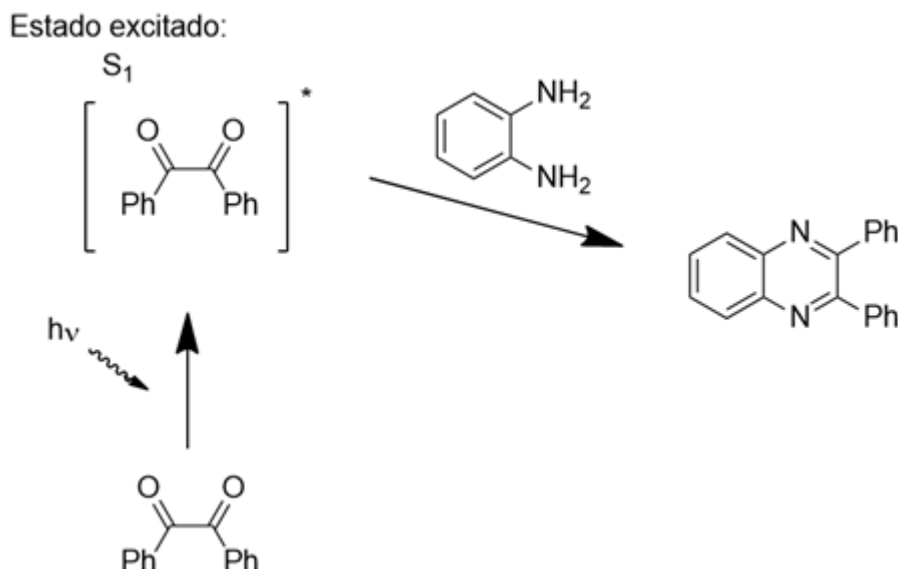
e rosa-de-bengala, têm sido amplamente utilizados, ganhando destaque por apresentarem menor toxicidade e maior sustentabilidade. Muitos desses catalisadores atuam por mecanismos que envolvem a formação de espécies radicalares, altamente reativas, responsáveis por iniciar e propagar as transformações químicas.⁶³ Como exemplo, compostos que contêm ligações dissulfeto podem, após a absorção de radiação UV-Vis, sofrer clivagem homolítica da ligação S-S, gerando radicais tioíla, os quais são capazes de abstrair átomos de hidrogênio, adicionar-se a ligações π ou iniciar cadeias de reações radicalares.⁶⁴

Atualmente, as reações fotoquímicas estão presentes em diversas áreas do conhecimento, incluindo aplicações tecnológicas e comerciais. Entre os exemplos destacam-se a fotólise da água para a produção de hidrogênio (H_2) e as reações de fotopolimerização empregadas na fabricação de resinas poliméricas.^{65,66} Outra aplicação relevante dos processos fotoativados no campo biomédico é a terapia fotodinâmica (TFD), um tratamento que combina um fotossensibilizador, radiação luminosa e oxigênio molecular para a geração de espécies reativas, capazes de promover a destruição seletiva de células doentes. Essa abordagem é utilizada principalmente no tratamento de diferentes tipos de câncer e de doenças dermatológicas.⁶⁷

2.3.4 Síntese de quinoxalinas por via fotoquímica

Conforme mencionado anteriormente, a maioria dos estudos envolvendo compostos quinoxalínicos emprega a condensação entre compostos 1,2-dicarbonílicos e fenilenodiaminas. Em geral, essas reações são conduzidas sob aquecimento térmico e na presença de agentes oxidantes, além de apresentarem tempos reacionais prolongados, frequentemente da ordem de várias horas, o que implica em elevado consumo energético. Nesse contexto, a principal motivação para a realização dessa síntese por via fotoquímica consiste na redução do tempo de reação e na possibilidade de empregar condições mais brandas, tornando o processo mais eficiente e energeticamente favorável. Parte-se do princípio que os derivados de dibenzoil (compostos dicarbonílicos) absorvem na faixa de 260 nm, passando para um estado excitado S_1 , que reage com diaminas para obter produtos fotoativos derivados de quinoxalina (Esquema 4).⁶⁸

Esquema 4 - Síntese de quinoxalinas por via fotoquímica



O dibenzoil, ou 1,2-dicetonas, constituem moléculas versáteis amplamente consideradas na síntese de uma grande variedade de compostos. Tais espécies têm despertado especial interesse por atuarem como precursores eficientes na formação de heterociclos, os quais podem apresentar potencial aplicação farmacológica. Além disso, em razão da presença de dois grupos carbonílicos, essas moléculas podem exibir propriedades fotoquímicas relevantes, possibilitando sua utilização como sensibilizadores em diferentes processos fotoquímicos. Assim como a quinoxalina, a síntese desses compostos pode apresentar certa complexidade, frequentemente envolvendo condições reacionais mais agressivas sob os pontos de vista ambiental e econômico, como por exemplo a utilização de agentes oxidantes fortes, e muitas vezes resulta em baixos rendimentos reacionais.⁶⁹

Compostos derivados de dibenzoil não possuem uma conformação planar como sua forma mais estável, por conta de um grande impedimento estérico em sua estrutura. Em razão disso, essas moléculas possuem diferentes conformações no seu estado excitado em relação ao estado fundamental, e o processo de emissão desses compostos é dado justamente pela mudança de conformação na estrutura, já que em seu estado excitado é possível ocorrer a conjugação das duas metades da molécula.^{68,70}

A síntese de quinoxalinas a partir de compostos dicarbonílicos, já foi testada anteriormente dentro do grupo de pesquisa do Prof. Dr. Ricardo Ferreira Affeldt, reforçando a possibilidade de síntese dessa classe de compostos por essa

metodologia. Entretanto, em razão da utilização de um sistema reacional onde não permitisse o controle preciso de parâmetros como intensidade e distribuição da luz, tendo o emprego de sistemas pouco efetivos para o controle e definição dessas variáveis, bem como o uso de lâmpadas comerciais com emissão predominante na região do azul, faixa espectral não ideal para essa reação, os resultados obtidos mostraram-se insatisfatórios. Também é importante citar que a síntese do precursor dibenzoil utilizou uma metodologia alternativa a partir da através da clivagem oxidativa de chalconas, que também não mostrou rendimentos significativos.⁷¹

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Otimizar condições reacionais e sintetizar heterociclos nitrogenados fluorescentes derivados da 2,3-difenilquinoxalina, selecionados a partir de suas propriedades físico-químicas avaliadas com a utilização de ferramentas *in silico*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Desenvolver um banco de dados de derivados quinoxalínicos possíveis de serem sintetizados dentro do laboratório;
- II. Avaliar os derivados utilizando ferramentas *in silico* para triagem de fármacos, selecionando os melhores candidatos;
- III. Otimizar as condições reacionais buscando o melhor rendimento para a síntese de compostos com núcleo quinoxalínico por via fotoquímica, variando parâmetros como tempo de reação, estequiometria e comprimento de onda irradiado;
- IV. Caracterização dos compostos obtidos por técnicas físicas e espectroscópicas como infravermelho, ^1H RMN e ^{13}C RMN;
- V. Investigar o comportamento dos compostos sintetizados proveniente da interação com ctDNA com técnicas *in vitro* de espectroscopia na região do UV-Vis e emissão de fluorescência, comparando os resultados com os obtidos por *docking* molecular.

4 METODOLOGIA

4.1 INSTRUMENTAÇÃO E REAGENTES

Os materiais utilizados neste trabalho foram disponibilizados pelo Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais (LaCFI) do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Todos os solventes empregados são da marca Synth e possuem alto grau de pureza (P.A.), com destaque a acetonitrila, etanol, diclorometano e dimetilsulfóxido. Os reagentes utilizados em sua maioria foram adquiridos pela Sigma-Aldrich, com exceção do carbonato de potássio anidro proveniente da Vetec, e também possuem grau P.A.

As análises *in vitro* foram realizadas utilizando o espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary-50 e o espectrofluorímetro modelo Cary Eclipse da marca Varian (Agilent Technologies), disponibilizados pelo laboratório LaCFI. Os espectros na região do IV foram obtidos através do espectrofotômetro FT-IR da Bruker modelo Alpha em pastilha de KBr, e os espectros de RMN ^1H (400 MHz), ^{13}C (100 MHz) obtidos pelo espectrômetro Varian AS-400, ambos presentes na Central de Análise do Departamento de Química – UFSC. O equipamento de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) modelo Agilent 5975, foi disponibilizado pelo Laboratório de Eletroforese Capilar (LabECc). A síntese dos compostos foi realizada utilizando o fotorreator Penn PhD Photoreactor M2, desenvolvido pelo *The MacMillan Group* da *Princeton University* e vendido pela Merck, também presente no laboratório LaCFI.

4.2 ESTUDOS *IN SILICO*

Considerando os reagentes já disponíveis no Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais, criou-se um banco de dados de compostos de núcleo quinoxalínico, capazes de serem sintetizados a partir da metodologia proposta (tópico 4.3). Essas estruturas foram preparadas utilizando o software ChemDraw (versão 12.0), onde partindo das estruturas bidimensionais, os respectivos descritores moleculares foram convertidos para o formato SMILES (do inglês *Simplified Molecular Input Line Entry System*).

A partir desse banco de dados, realizou-se uma triagem dos compostos com a utilização de plataformas SwissADME, AutoDock-GPU e PerMM server, empregadas na avaliação de propriedades farmacocinéticas e físico-químicas, potencial interação com a DNA e predição da permeação em membranas celulares. Com base nos resultados combinados dessas análises, foram priorizados os compostos que apresentaram desempenho mais favorável nos diferentes critérios avaliados.

4.2.1 SwissADME

A avaliação *in silico* das propriedades físico-químicas dos compostos foi realizada utilizando a plataforma SwissADME (*Swiss Institute of Bioinformatics*), um software online e gratuito (www.swissadme.ch/), onde é possível obter dados das propriedades ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade). Os SMILES dos compostos foram inseridos diretamente na interface do software e as análises foram realizadas utilizando os parâmetros padrão do servidor, sem modificações adicionais nos algoritmos de predição.

O principal critério avaliado nesta metodologia foi a probabilidade de permeação da barreira hematoencefálica (BBB), estimada por meio do modelo gráfico BOILED-Egg (*Brain Or IntestinaL EstimateD permeation*). Os compostos posicionados na região amarela (gema) do gráfico foram considerados como apresentando perfil favorável à penetração no sistema nervoso central, representando as estruturas de principal interesse nessa primeira análise.

De forma complementar, também foram avaliadas outras propriedades farmacocinéticas e físico-químicas fornecidas pelo SwissADME, incluindo a lipofilicidade, tamanho, polaridade, insolubilidade, insaturação e flexibilidade, critérios estes utilizados no gráfico de Bioavailability Radar. Essas análises adicionais foram utilizadas como suporte à interpretação dos resultados principais, sem constituírem critérios eliminatórios primários.

Os dados obtidos foram organizados e comparados de forma qualitativa, permitindo a identificação de tendências estruturais associadas ao posicionamento dos compostos no gráfico BOILED-Egg, bem como a correlação entre características físico-químicas e o potencial de permeação da barreira hematoencefálica.

4.2.2 Docking Molecular

A partir dos resultados obtidos pelo SwissADME, selecionou-se uma série de compostos com maior probabilidade de permeação da barreira hematoencefálica (BBB). Estes foram direcionados ao estudo *in silico* das interações entre os derivados de 1,2-difenilquinoxalina e o DNA, realizado por meio de *docking* molecular. Utilizou-se a estrutura cristalográfica do DNA (código PDB: 5T4W), obtidas a partir do banco de dados RCSB Protein Data Bank. As simulações de *docking* molecular foram conduzidas utilizando o software AutoDock-GPU em um computador de alto desempenho com placa gráfica NVIDIA GeForce RTX4060 Ti 16GB DDR6. Previamente às simulações, as estruturas cristalográficas da macromolécula foram preparadas com o auxílio do software PyMOL (versão 2.7), realizando-se a remoção de íons, moléculas de água e ligantes presentes nos arquivos cristalográficos originais. As estruturas químicas dos derivados de 1,2-difenilquinoxalina foram inicialmente construídas no software ChemDraw, e posteriormente foram transferidas para o ChemDraw 3D, onde foram convertidas em modelos tridimensionais e salvas no formato *.mol*. Em seguida, os arquivos *.mol* foram convertidos para o formato *.pdb* por meio do software Open Babel, possibilitando sua utilização nas etapas subsequentes de preparo e simulação computacional.

O principal parâmetro de avaliação nesta metodologia consiste na capacidade dos ligantes de se associarem ao DNA, analisando-se as energias livres de ligação, as quais atuam como funções de *score* e refletem a afinidade e a estabilidade do complexo formado. Foram investigados os modos e a natureza das interações intermoleculares estabelecidas entre os derivados e o DNA e com base nesses parâmetros foram selecionados os compostos que apresentaram menor energia do complexo (estimada em kcal.mol⁻¹) e interações mais relevantes.

4.2.3 Permeabilidade da membrana plasmática (PerMM)

As simulações de permeação em membrana foram realizadas por meio do servidor online PerMM (*Permeability of Molecules across Membranes*), disponível em www.permm.phar.umich.edu, o qual emprega um modelo físico-químico contínuo para estimar o perfil de energia livre associado ao movimento de pequenas moléculas ao longo de uma bicamada lipídica modelo. As estruturas tridimensionais dos compostos

avaliados foram previamente preparadas e salvas no formato .pdb da mesma forma que na metodologia de *docking molecular*, contendo todos os hidrogênios explícitos e estados de ionização adequados às condições fisiológicas. Esses arquivos foram então submetidos individualmente ao servidor PerMM para o cálculo dos perfis energéticos de permeação.^{72, 73}

Os resultados obtidos de energia (kcal.mol^{-1}) pelo caminho da membrana (eixo Z - Å) foram fornecidos pelo software, assim como arquivos no formato pathway.pdb, os quais foram importados para o software Discovery Studio Visualizer para tratamento e análise visual dos dados. As informações energéticas fornecidas pelo PerMM foram então correlacionadas com as posições do composto ao longo do eixo Z, permitindo a interpretação conjunta dos perfis energéticos e da trajetória espacial de permeação.

4.3 METODOLOGIA SINTÉTICA

As metodologias de reações presentes nesse trabalho foram todas desenvolvidas em via fotoquímica. Para garantir a confiabilidade dos parâmetros utilizados fez-se uso do fotorreator Penn PhD Photoreactor M2 (Figura 15) em todas as sínteses apresentadas. As reações foram conduzidas em tubos de ensaio de quartzo utilizando lâmpadas 365, 395 ou 450 nm. As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) ou através da injeção das misturas reacionais em equipamento de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), retirando alíquotas a cada 10 minutos. Testes preliminares para a obtenção dos heterociclos 1,2-difenilquinoxalina adaptados da literatura foram também realizados como reação em etanol entre 1,2-diaminobenzeno (0,1 mmol) e diferentes compostos carbonílicos, como o dibenzoil,⁷⁴ benzoína⁷⁵ e benzaldeído⁷⁶, sendo o primeiro responsável pela formação do produto.

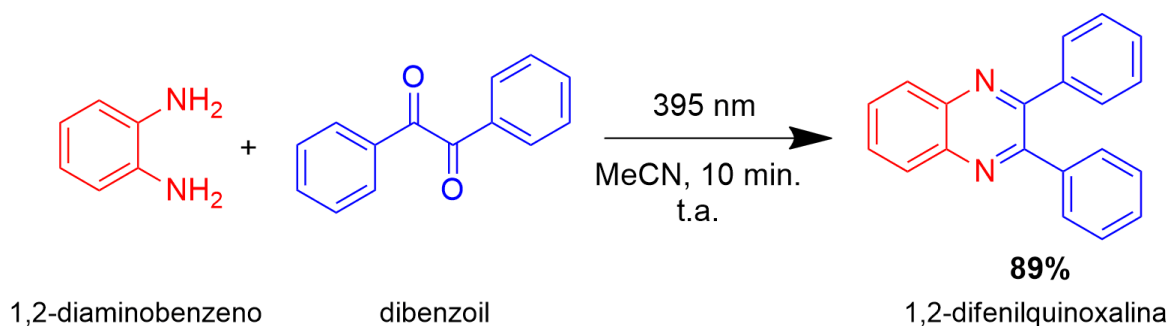
Figura 15 – Fotorreator Penn PhD Photoreactor M2



4.3.1 Síntese da 1,2-difenilquinoxalina

Em um tubo de ensaio de quartzo contendo uma barra de agitação magnética foi adicionado uma mistura de dibenzoil (0,25 mmol) e 1,2-diaminobenzeno (0,25 mmol), juntamente com 1 mL de acetonitrila. A reação foi introduzida no fotorreator Penn PhD M2e irradiada por 10 minutos por lâmpada LED de 395 nm. Após a síntese, o produto foi purificado por cromatografia em coluna utilizando sílica flash como fase estacionária e mistura 95:5 (hexano:acetato de etila) como eluente levando ao heterociclo com rendimento de 89%.⁷⁴ **RMN ¹H** (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 8,2-8,1 (m, 2H), 7,8-7,7 (m, 2H), 7,6-7,5 (m, 4H), 7,3-7,2 (m, 6H). **RMN ¹³C** (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm) = 153,6; 141,2; 139,1; 129,9; 129,8; 129,2; 128,8; 128,3. **IV** (ATR): ν (cm⁻¹) = 3100, 1346, 768, 689.

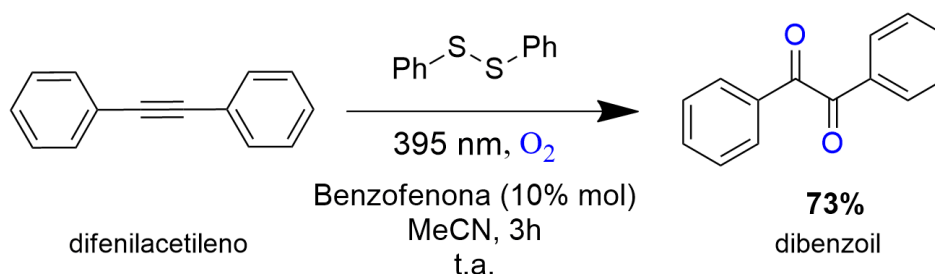
Esquema 5 – Síntese da 1,2-difenilquinoxalina



4.3.2 Síntese do dibenzoil

Em um tubo de ensaio de quartzo foram adicionados difenilacetileno (0,25 mmol), dissulfeto de difenila (0,25 mmol) e 10mol% de benzofenona em 1 mL de acetonitrila, sendo a fonte de oxigênio para a fotooxidação o próprio ar atmosférico (frasco aberto). A reação foi introduzida no fotorreator Penn PhD M2e irradiada por 3 horas por lâmpada LED de 395 nm. O produto foi purificado por meio de cromatografia em coluna utilizando sílica flash como fase estacionária e mistura 99:1 (hexano:acetato de etila) como eluente levando ao produto de fotooxidação em 73% de rendimento.⁷⁷ **RMN ¹H** (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 8,02-7,96 (m, 2H), 7,67 (t, 1H), 7,52 (t, 2H). **RMN ¹³C** (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm) = 194,8; 134,9; 133,1; 129,9; 129,0. **IV** (ATR): ν (cm⁻¹) = 3100.

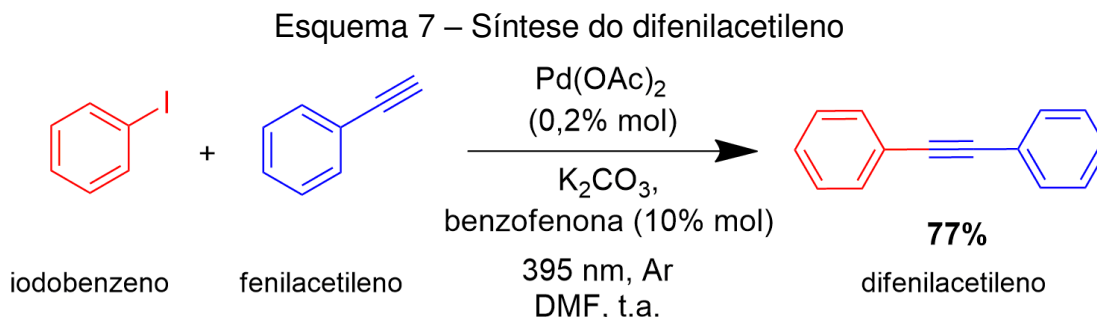
Esquema 6 – Síntese do dibenzoil



4.3.3 Síntese do difenilacetileno

Em um tubo de quartzo sob atmosfera de argônio, adicionou-se iodobenzeno (0,5 mmol) e fenilacetileno (0,75 mmol), juntamente com carbonato de potássio (0,75 mmol), acetato de paládio (0,2% mol) e benzofenona (10% mol) em dimetilformamida. A reação foi introduzida no fotorreator Penn PhD M2e irradiada por 6 horas por lâmpada LED de 395 nm. Após este tempo, foi realizada adição de água deionizada à mistura reacional e extraída com porções de acetato de etila, e o produto purificado por cromatografia em coluna utilizando sílica flash como fase estacionária e mistura 99:1 (hexano:acetato de etila) como eluente, levando à obtenção do respectivo produto de acoplamento em 77%.⁷⁸ **RMN ¹H** (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) = 7,56-7,52

(m, 2H), 7,38-7,32 (m, 3H). **RMN ^{13}C** (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm) = 131,6; 128,4; 128,3; 89,4. **IV** (ATR): ν (cm^{-1}) = 3100, 1667, 1596.



4.4 ESTUDOS *IN VITRO*

Com o objetivo de avaliar a interação entre a 1,2-difenilquinoxalina previamente sintetizada e o DNA, foram conduzidas análises espectrofotométricas com ctDNA comercialmente disponível (Timo de bezerro, Merck), devido as proporções das suas bases nitrogenadas terem grande similaridade com o DNA de placenta humana.

4.4.1 Determinação da concentração da solução estoque de ct-DNA

O ctDNA na sua forma de sal (Merck), foi preparado a partir da dissolução de 1 mg do material em 2 mL de solução tampão Tris (50 mM, pH 7,45) contendo NaCl (100 mM), com a finalidade de controlar a força iônica do meio. A solução estoque obtida foi mantida sob proteção da luz e armazenada sob refrigeração por 24h. Antes da realização dos ensaios com os compostos em estudo, a solução de ctDNA foi equilibrada à temperatura ambiente e submetida a banho de ultrassom por alguns minutos, visando garantir adequada homogeneização da amostra.

A concentração da solução estoque de ctDNA foi determinada por espectrofotometria UV-Vis com base no coeficiente de extinção molar de $6600 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, a partir do máximo de absorção em 260 nm. Para esse procedimento, uma alíquota inicial de 5 μL da solução de ctDNA foi diluída em 1000 μL de tampão Tris, e as leituras de absorvância foram realizadas a cada adição sucessiva de 5 μL de ctDNA à solução inicial, criando uma curva de calibração.⁷⁹

4.4.2 Interação ligante e ctDNA

As interações dos compostos avaliados com o ctDNA foram investigadas por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), utilizando solução tampão Tris, em pH 7,45, e solução estoque de 1,2-difenilquinoxalina 25 mM em DMSO, ambas à temperatura ambiente. A concentração dos ligantes foi mantida constante em 25 μ M, enquanto a concentração de ctDNA foi variada no intervalo de 0 a 100 μ M, de modo a estabelecer condições de meio insaturado, saturado e supersaturado em relação ao DNA. A leitura das soluções preparadas foi realizada após um tempo de incubação de 120 minutos, uma vez que foi observada variação na intensidade de absorção desde o momento da adição do ctDNA à cubeta. Após a estabilização do sistema, as medidas de absorção de cada ligante foram registradas na faixa espectral de aproximadamente 350 nm, correspondente à banda característica da transição eletrônica $\pi-\pi^*$. Paralelamente, foram realizadas medidas de fluorescência, considerando a emissão da ligante em 418 nm. Os espectros obtidos foram posteriormente processados e analisados com o auxílio do software OriginPro 8.^{80, 81, 82}

Também foram realizadas análises entre ct-DNA e a 1,2-difenilquinoxalina fixando a concentração da macromolécula e adicionando alíquotas da solução estoque do ligante no meio. Em uma solução de 2 mL de ct-DNA 30 μ M em tampão Tris, foram incorporadas concentrações de 0 a 30 μ M do ligante, e analisadas por espectrofotometria UV-Vis imediatamente após o preparo, observando a banda de 260 nm referente a absorção da macromolécula.⁸³

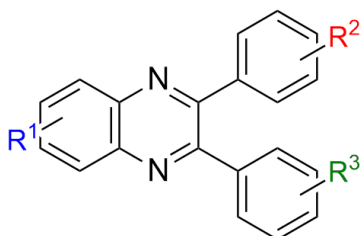
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO IN SILICO

5.1.1 Estudos de Predição

A partir do levantamento dos reagentes disponíveis no Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais (LaCFI), foi possível desenhar no software ChemDraw um total de 236 derivados de núcleo quinoxalínico (ANEXO 1), com diferentes substituintes provenientes de compostos diaminobenzeno, iodobenzeno e fenilacetileno (Figura 16).

Figura 16 – Diferentes substituintes dos derivados de 1,2-difenilquinoxalina



R¹ = 4-H; 4-F; 4-Cl; 4-Br; 4-NO₂; 3,5-CF₃

R² = 4-H; 4-OCH₃; 4-COCH₃; 2-NH₂; 4-NO₂; 2-OH-4-NO₂; 4-COOH; 2-CH₃

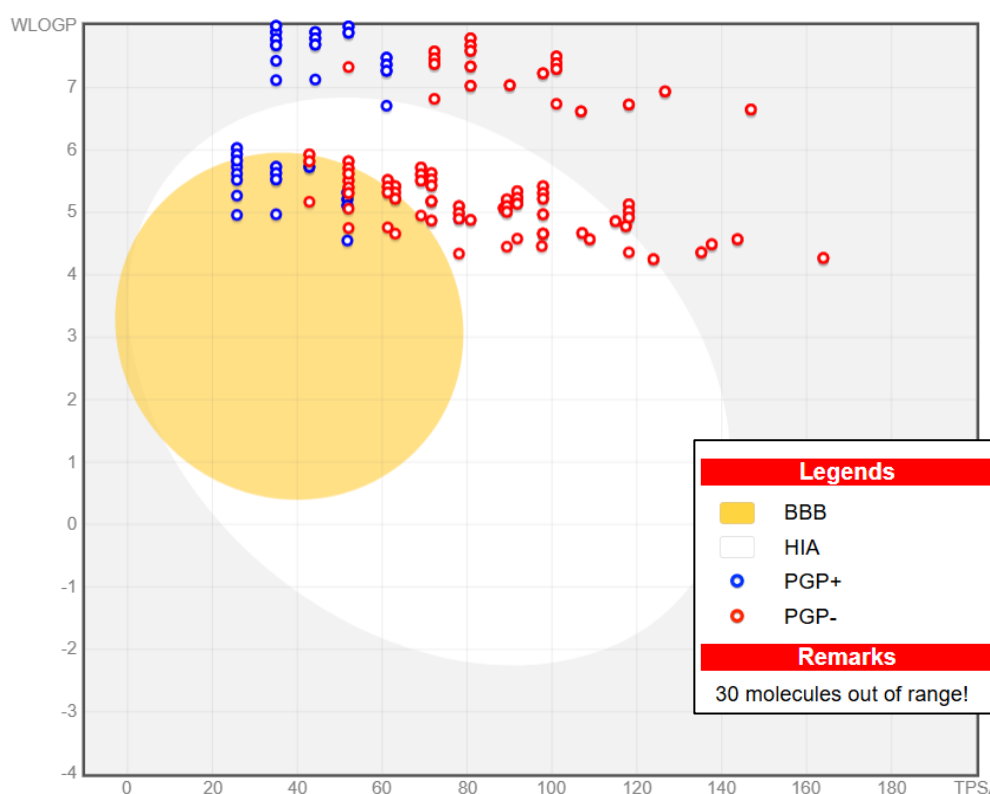
R³ = 4-H; 4-OCF₃; 4-COOCH₃

Todos os códigos SMILES das moléculas foram inseridos no software SwissADME, permitindo a geração de um conjunto de propriedades físico-químicas para cada composto, as quais também possibilitam comparações entre as diferentes estruturas. O gráfico BOILED-EGG obtido fornece uma visão global do conjunto de compostos analisados, permitindo a avaliação visual e comparativa das propriedades WLogP e TPSA. O WLogP (*Wildman–Crippen LogP*) estima a lipofilicidade molecular, ou seja, a afinidade relativa da molécula por fases lipídicas e aquosas, sendo valores mais baixos associados a compostos mais hidrofílicos e valores mais elevados indicativos de maior caráter hidrofóbico. O TPSA (Área de superfície polar topológica – do inglês *Topological Polar Surface Area*), por sua vez, está relacionado ao grau de polaridade da molécula e à sua capacidade de formar ligações de hidrogênio; valores baixos de TPSA estão associados a maior permeabilidade através de membranas

biológicas, enquanto valores elevados sugerem menor permeabilidade por difusão passiva.

A partir da análise do gráfico obtido (Figura 17) é possível observar que, de modo geral, os compostos quinoxalínicos analisados possuem valores variados de TPSA, enquanto tendem a exibir valores mais elevados de WLogP. Esse comportamento pode ser atribuído a características estruturais dos derivados de 1,2-difenilquinoxalina que favorecerem o caráter lipofílico, como presença de anéis aromáticos e baixo número e heteroátomos na estrutura molecular.

Figura 17 – Gráfico BOILED-EGG



A análise do gráfico revela que alguns compostos apresentaram predição positiva (P-gp⁺) e outros negativa (P-gp⁻) quanto à interação com a glicoproteína-P (P-gp). Essa proteína é uma bomba de efluxo transmembrana dependente de ATP, cuja função é proteger o organismo por meio da extrusão de xenobióticos e toxinas. A P-gp encontra-se expressa tanto em tecidos fisiológicos, como intestino, fígado, rins e barreira hematoencefálica, quanto em tecidos tumorais, desempenhando papel central na regulação da farmacocinética de fármacos, especialmente ao reduzir sua absorção e distribuição sistêmica. Os compostos preditos como P-gp⁺ são

reconhecidos como substratos dessa proteína, tendendo a ser ativamente transportados para fora das células, o que pode resultar em menor absorção gastrointestinal, redução da concentração intracelular e baixa penetração no sistema nervoso central. Em contraste, os compostos classificados como P-gp⁻ não são preditos como substratos da bomba de efluxo, apresentando maior retenção intracelular e, conseqüentemente, um perfil farmacocinético potencialmente mais favorável.

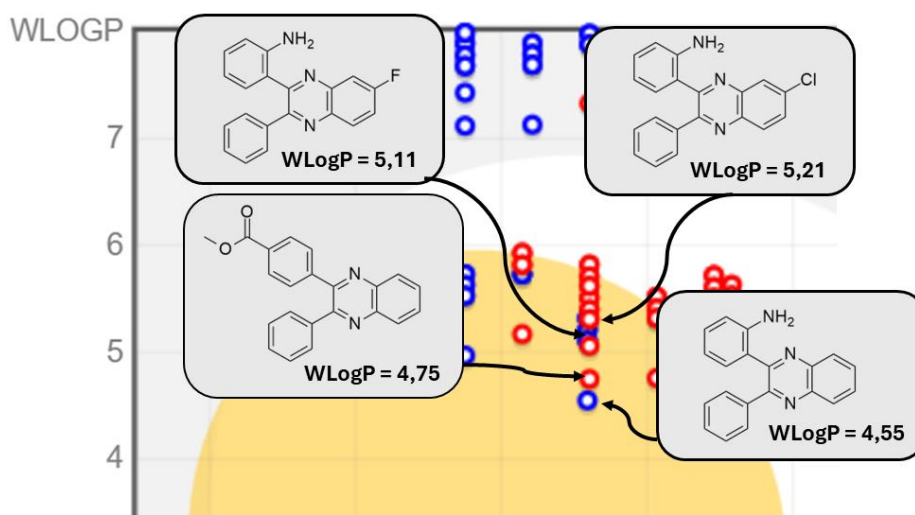
Destaca-se que, no presente estudo, 30 moléculas foram classificadas como “fora do domínio de aplicabilidade” da metodologia empregada, o que impossibilitou uma predição confiável da absorção gastrointestinal e da permeação da barreira hematoencefálica (BBB). Em termos práticos, essa condição indica que as propriedades físico-químicas desses compostos se encontram fora das faixas estabelecidas de lipofilicidade (WLogP) e polaridade (TPSA) consideradas pelo modelo. De acordo com essa análise, verificou-se que os compostos não classificados pelo modelo BOILED-Egg apresentavam, majoritariamente, substituintes trifluormetil (CF₃) e trifluormetoxi (OCF₃). A presença desses grupos promoveu um aumento significativo da lipofilicidade, elevando os valores de WLogP e deslocando os parâmetros físico-químicos para fora do domínio de aplicabilidade do método.

Ao todo, 44 moléculas localizaram-se na região da “gema” do gráfico BOILED-Egg (ANEXO 2), sendo, portanto, selecionadas como estruturas de maior interesse para a realização de estudos *in silico* subsequentes. Essa distribuição indica que tais compostos apresentam um perfil físico-químico compatível com a permeação da barreira hematoencefálica, sugerindo potencial acesso ao sistema nervoso central por difusão passiva. Esses compostos apresentaram valores de WLogP entre 4,66 e 5,53 e de TPSA entre 25,78 e 63,08 Å², os quais, embora indiquem lipofilicidade relativamente elevada, permanecem dentro dos limites considerados favoráveis à permeação da barreira hematoencefálica.

As diferenças observadas nos valores de WLogP estão diretamente relacionadas às características estruturais dos substituintes presentes nas moléculas analisadas. A avaliação do comportamento dos compostos evidencia um aumento da lipofilicidade naqueles que apresentam substituintes mais apolares, uma vez que tais grupos favorecem interações hidrofóbicas com a membrana lipídica, facilitando o processo de permeação (Figura 18). Como exemplo, moléculas contendo grupos amina tendem a apresentar maior polaridade, em função de sua capacidade de doar

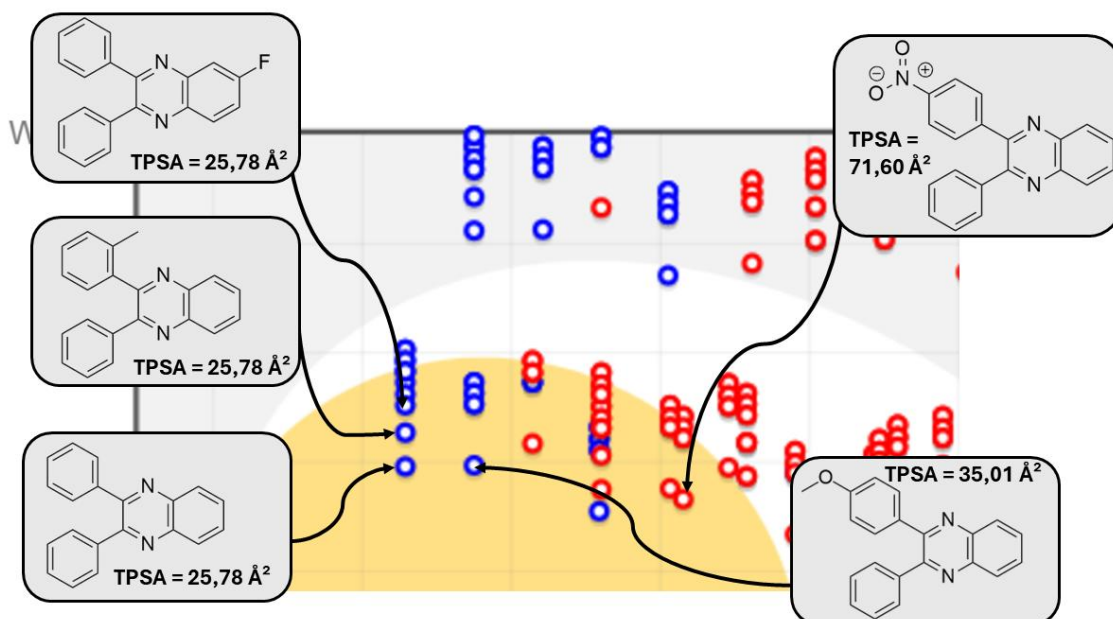
e aceitar ligações de hidrogênio, o que resulta em valores de WLogP inferiores quando comparadas a compostos substituídos por ésteres, que exibem caráter relativamente mais hidrofóbico. Outro fator relevante nessa análise refere-se ao tamanho dos substituintes. No caso de halogênios, observa-se que o flúor, apesar de altamente eletronegativo, forma uma ligação C–F pouco polarizável, contribuindo de maneira limitada para a lipofilicidade. Em contraste, essa contribuição aumenta com o crescimento do raio atômico, como observado para cloro e halogênios mais pesados, devido ao fortalecimento das interações de dispersão com as fases lipídicas.

Figura 18 – Relação valores WLogP entre derivados quinoxalínicos.



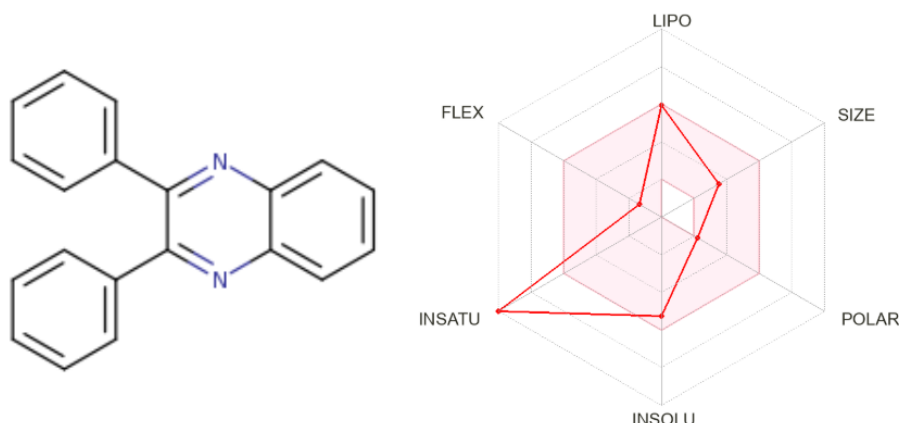
No que se refere às diferenças nos valores de TPSA, deve-se considerar principalmente a contribuição dos átomos polares presentes na molécula, e não o seu tamanho global. Compostos que apresentam substituintes contendo heteroátomos, especialmente oxigênio (O) e nitrogênio (N), exibem valores mais elevados de TPSA, em razão de sua maior capacidade de doar e/ou aceitar ligações de hidrogênio (Figura 19). Em contraste, moléculas contendo substituintes exclusivamente carbônicos não apresentam aumento significativo de TPSA, uma vez que esses grupos são fracamente polares. De modo semelhante, substituintes halogenados, embora constituídos por átomos de elevada eletronegatividade, não doam nem aceitam ligações de hidrogênio, não contribuindo de forma relevante para interações com a fase polar do meio biológico e, conseqüentemente, para o aumento do valor de TPSA.

Figura 19 - Relação valores TPSA entre derivados quinoxalínicos.



Além dos resultados obtidos por meio do gráfico BOILED-Egg, o software SwissADME forneceu informações adicionais relativas às propriedades físico-químicas dos compostos, incluindo lipofilicidade, tamanho molecular, polaridade, solubilidade, grau de insaturação e flexibilidade, as quais são representadas graficamente no Bioavailability Radar (Figura 20). A análise desse gráfico revelou que a maioria dos 236 compostos apresentou um perfil bastante semelhante, com as propriedades de tamanho, polaridade, solubilidade, flexibilidade e lipofilicidade situadas dentro da “zona ideal” (região em rosa), considerada favorável para uma boa absorção por via oral. Entretanto, todos os compostos exibiram valores elevados de insaturação, atribuídos principalmente à presença de múltiplos anéis aromáticos em suas estruturas, o que os posiciona fora da faixa considerada ideal para esse parâmetro. Na prática, essa característica está associada a baixa solubilidade aquosa e a interações menos eficientes com ambientes biológicos, limitações que podem ser contornadas por meio de estratégias de sistema de liberação de fármacos (do inglês *drug delivery*), como a encapsulação em nanopartículas poliméricas ou pela utilização de macromoléculas.⁸⁴

Figura 20 – Gráfico Bioavailability Radar para padrão 1,2-difenilquinoxalina (QNX001).



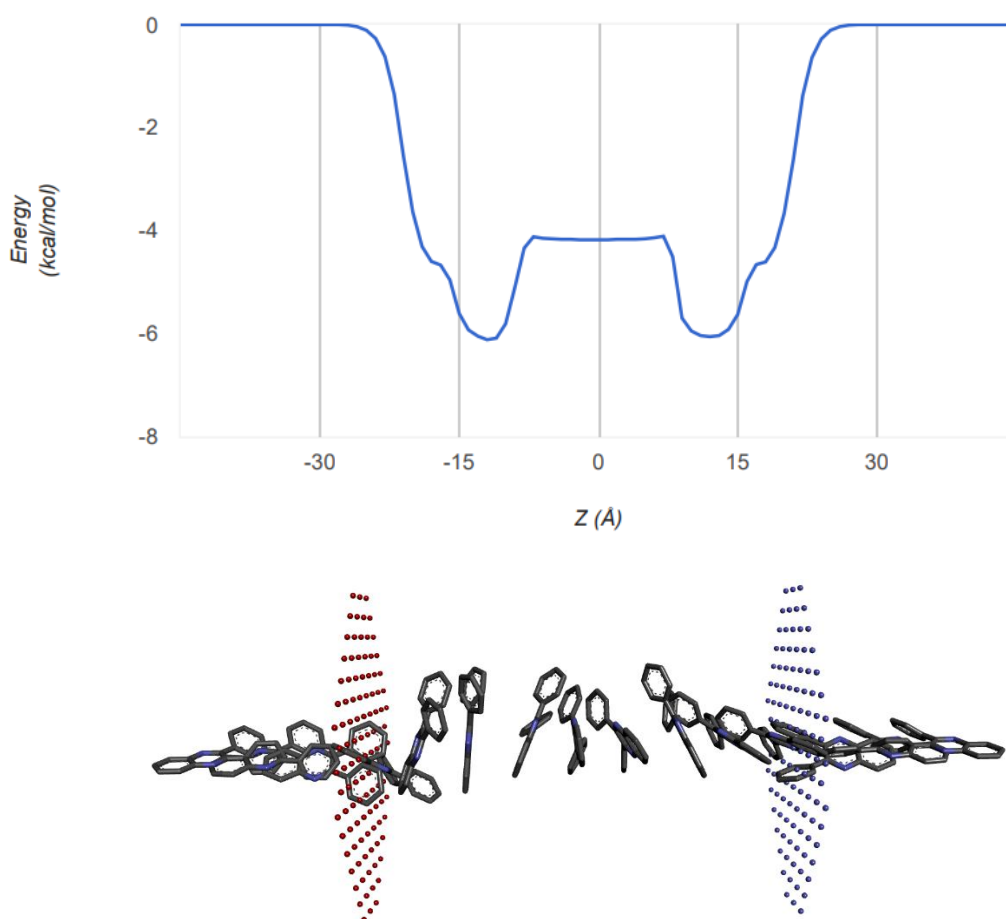
Os 44 compostos selecionados pelo SwissADME como promissores para permeação da barreira hematoencefálica (BBB) foram então direcionados para uma análise adicional na plataforma PerMM, obtendo assim valores de energia livre (kcal mol^{-1}) resultantes da permeação em um modelo genérico de bicamada lipídica (ANEXO 3). Enquanto o PerMM fornece uma análise mecanística e energética da permeação através de uma bicamada lipídica idealizada, o SwissADME oferece uma avaliação preditiva global da capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. Assim, os dois métodos são complementares, sendo o PerMM útil para compreender o comportamento energético da permeação lipídica, enquanto o SwissADME permite inferir a probabilidade de penetração no sistema nervoso central.

Obteve-se então, valores de energia livre de inserção/associação do composto com uma bicamada lipídica modelo de DOPC (1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina), para cada um dos 44 compostos. Esses valores variaram dentro de -6,54 e -3,19 kcal/mol , indicando afinidade lipídica de moderada a elevada para os compostos avaliados. Essa variação reflete diferenças estruturais que influenciam a partição água–membrana, podendo favorecer tanto a inserção na bicamada quanto, em casos de interações mais fortes, o aprisionamento interfacial do composto.

Após a análise, é fornecido um gráfico de energia (kcal mol^{-1}) pelo caminho da membrana (eixo Z - Å), permitindo visualizar a trajetória da permeação. Nesse gráfico o caminho é representado os extremos positivos e negativos como sendo o meio aquoso, e a posição 0 o núcleo hidrofóbico da membrana. Dentro dessa análise, a maioria dos compostos obteve um perfil semelhante ao padrão 1,2-difenilquinoxalina

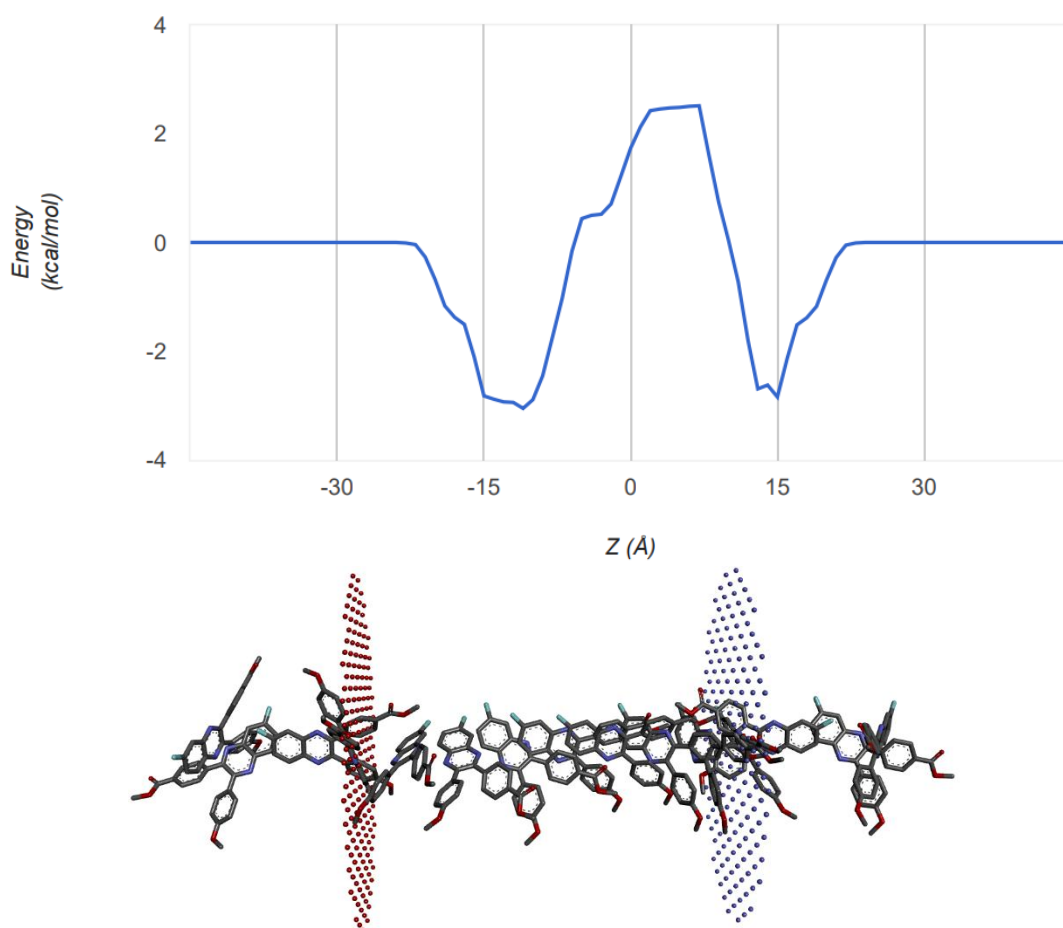
(Figura 21), onde há uma interação favorável com a membrana indicado pela diminuição do valor de energia livre.

Figura 21 – Gráfico energia (kcal.mol^{-1}) vs. caminho da membrana para 1,2-difenilquinoxalina (QNX001).



Alguns compostos obtiveram um comportamento diferente, onde o valor de energia no interior da membrana era superior ou muito próxima à do meio aquoso (Figura 22). Neste caso, indica que o composto não é energeticamente favorecido dentro da bicamada lipídica, tendendo a ficar na fase aquosa. Esse comportamento está relacionado a composto com a presença de átomos eletronegativos, que interagem melhor em ambientes polares, e substituintes como ésteres e metoxi, onde a molécula é polar o suficiente para sofrer alto custo de desolvatação, mas não lipofílica o bastante para estabilizar-se no núcleo da bicamada.

Figura 22 - Gráfico energia (kcal.mol⁻¹) vs. caminho da membrana para QNX173.



O software PerMM também fornece dados adicionais de Logaritmo do coeficiente de permeabilidade através de uma *Black Lipid Membrane* (BLM), um modelo experimental clássico de membrana lipídica artificial. Em resumo, esse dado apresenta a capacidade de difusão passiva através de uma membrana lipídica “pura”, ou seja, um modelo próximo da bicamada fosfolipídica idealizada. Os valores obtidos apresentaram ampla variação, situando-se entre -2,12 e 2,86, sendo que valores positivos são considerados mais desejáveis nesse tipo de análise, por indicarem maior afinidade com a região hidrofóbica da membrana. Os compostos que exibiram valores mais negativos apresentavam, em sua estrutura, substituintes altamente eletronegativos, como flúor e cloro, os quais geram dipolos locais intensos que favorecem a interação com a fase aquosa. De modo semelhante, compostos contendo grupos ácido carboxílico também apresentaram valores negativos, possivelmente em

razão da ionização do grupo carboxilato ($-\text{COO}^-$), que, ao perder o próton, torna-se mais hidrofílico e apresenta menor afinidade pelo núcleo hidrofóbico da membrana.

Adicionalmente, também é fornecido um valor de coeficiente de permeabilidade através da barreira hematoencefálica (BBB), expressa como $\log P_o$, sendo valores menos negativos ou próximos de zero indicam maior probabilidade de penetração no sistema nervoso central, enquanto valores mais negativos refletem baixa permeabilidade, geralmente associada a elevada polaridade, alta TPSA ou ionização. Esses resultados são qualitativamente compatíveis com o modelo BOILED-Egg do SwissADME, no qual compostos localizados na “gema” tendem a apresentar valores de $\log P_o$ menos negativos, indicando maior probabilidade de permeação pela barreira hematoencefálica (BBB), enquanto compostos fora dessa região exibem valores mais negativos, associados a menor penetração no SNC. Os valores obtidos nessa análise variaram entre $-3,64$ e $-1,89$, indicando permeabilidade moderada pela barreira hematoencefálica (BBB), possivelmente associada à presença de heteroátomos na estrutura e a outros fatores, como a rigidez estrutural das moléculas.

5.1.2 *Docking Molecular*

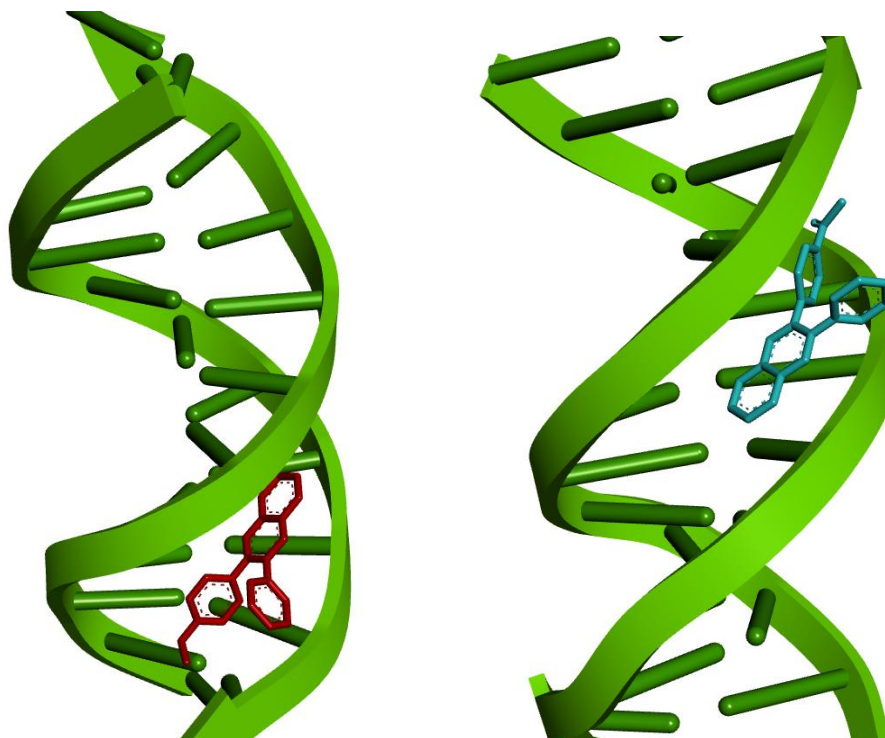
Os 44 compostos selecionados como sendo de maior probabilidade de permeação da barreira hematoencefálica (BBB), foram então direcionados para a realização de simulações teóricas de interação com DNA (PDB: 5T4W), utilizando o software AutoDock-GPU. Estudos de *docking* molecular da interação de ligantes com o DNA são realizados para compreender e prever, em nível molecular, os modos de ligação e a afinidade de compostos por diferentes regiões da dupla hélice, como sulcos maior e menor ou por intercalação entre pares de bases. Essa abordagem permite identificar interações-chave, como ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e empilhamento $\pi-\pi$, além de comparar racionalmente diferentes ligantes quanto ao potencial de reconhecimento e estabilização do DNA, orientando a seleção e otimização de moléculas bioativas.

Parte-se do princípio de que os compostos selecionados apresentam boa ou moderada permeação de membranas, permitindo atingir com maior facilidade o interior da célula, onde se encontra o DNA. Além disso, os dados obtidos podem ser posteriormente comparados com resultados de estudos *in vitro* com ctDNA.

Os resultados obtidos de energias livres de ligação (ANEXO 4) variaram entre -5,13 e -8,42 kcal mol⁻¹, indicando uma interação favorável e energeticamente estável entre o ligante e o DNA. Em geral, esses valores sugerem afinidade moderada a boa, compatível com interações não covalentes e ligações de hidrogênio. Quanto mais negativo o valor, maior a estabilidade do complexo DNA–ligante e maior a probabilidade de interação biologicamente relevante. De forma comparativa, foi realizado o mesmo tipo de análise, porém utilizando um composto conhecido como DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol), originalmente presente na estrutura do PDB utilizada, um corante fluorescente que se liga ao sulco menor da fita dupla do DNA e em algumas condições específicas pode interagir por meio de intercalação.⁸¹ O valor obtido foi -7,93 kcal/mol, semelhante aos de derivado de quinoxalina e compatível com a estrutura cristalográfica original, reforçando a provável interação com a macromolécula.

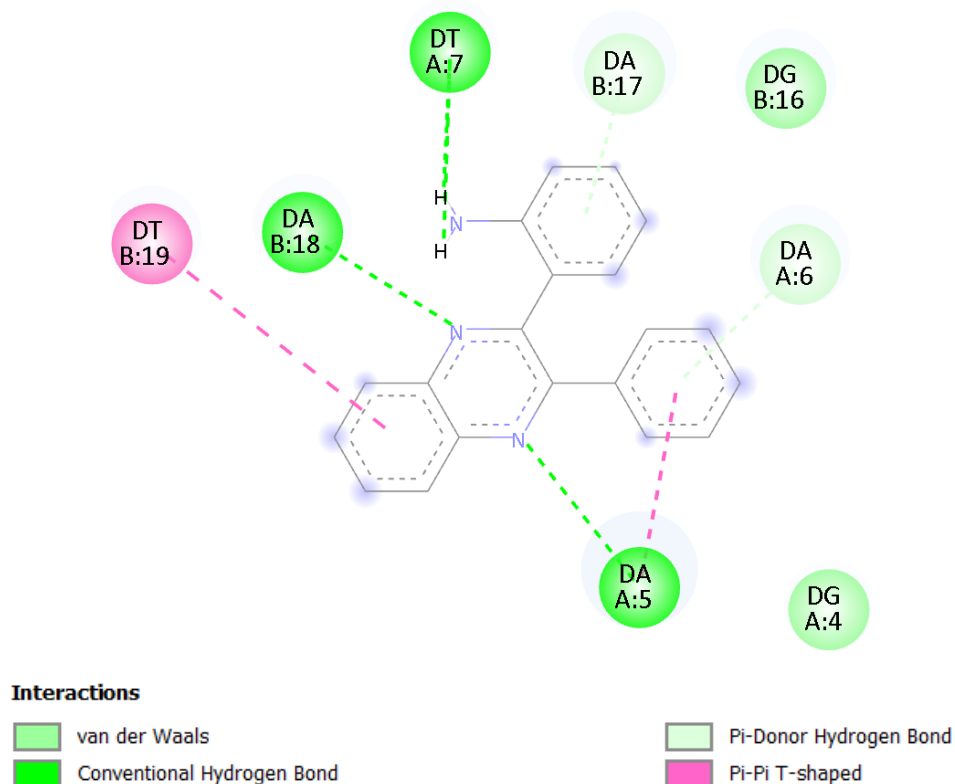
As interações dos compostos com o DNA ocorreram tanto no sulco menor quanto maior da dupla fita (ANEXOS 4 e 5). De forma prática, ligantes do sulco menor tendem a modular a expressão gênica de forma seletiva, ou seja, a capacidade do composto em alterar a transcrição de genes específicos, sendo este ideal para acomodar moléculas pequenas, por ser mais estreito e profundo.^{85,86} Enquanto o sulco maior é mais largo e raso, e suas bases nitrogenadas ficam mais expostas, ocorrendo diversas interações do tipo ligação de hidrogênio, comuns para interações com proteínas (transcrição).⁸⁷ Ambos os tipos de interação são válidos no desenvolvimento de fármacos, sendo que a escolha depende diretamente do mecanismo de ação desejado para o composto. É importante ressaltar que, para todos os compostos avaliados, as interações observadas com o DNA foram predominantemente de natureza superficial, não havendo evidências de interação por intercalação entre as bases nitrogenadas (Figura 23).

Figura 23 – Interação do Composto QNX002 – $R^3 = 4\text{-OCH}_3$ (vermelho) e QNX003 – $R^3 = 4\text{-COCH}_3$ (azul) com o sulco menor e maior do DNA, respectivamente, obtidas pelo software Discovery Studio.



Quanto ao tipo de interação estabelecida entre os ligantes e o DNA, observou-se uma variação significativa, atribuída principalmente às diferenças estruturais entre os substituintes dos compostos avaliados. As interações mais frequentes foram ligações de hidrogênio e interações do tipo $\pi\text{-}\pi$, o que já era esperado para essa classe de compostos (Figura 24). Tal comportamento acontece devido a presença do núcleo quinoxalínico, formados por sistemas aromáticos que proporcionam uma região rica em elétrons π , além da presença de átomos de nitrogênio em todas as estruturas, os quais favorecem interações eletrostáticas e a formação de ligações de hidrogênio.

Figura 24– Tipos de interação de composto QNX004 com o DNA evidenciando interações com adenina (A), guanina (G), citosina (C) e timina (T). Obtidas pelo software Discovery Studio.



Também foram observados outros tipos de interações intermoleculares. Em compostos contendo substituintes halogenados, identificaram-se interações não covalentes entre o halogênio do ligante e átomos eletronegativos do DNA, como oxigênio ou nitrogênio. Adicionalmente, foram detectadas interações envolvendo sistemas π , incluindo contatos com grupos alquila das bases nitrogenadas, baseadas por forças de dispersão do tipo van der Waals, bem como interações π -doador com pares de elétrons não ligantes de átomos de O ou N. Interações mais fracas, como contatos do tipo $C-H \cdots X$ ($X = O$ ou N), também estiveram presentes, embora individualmente pouco significativas, a soma dessas interações pode contribuir para a estabilidade do complexo ligante–DNA.

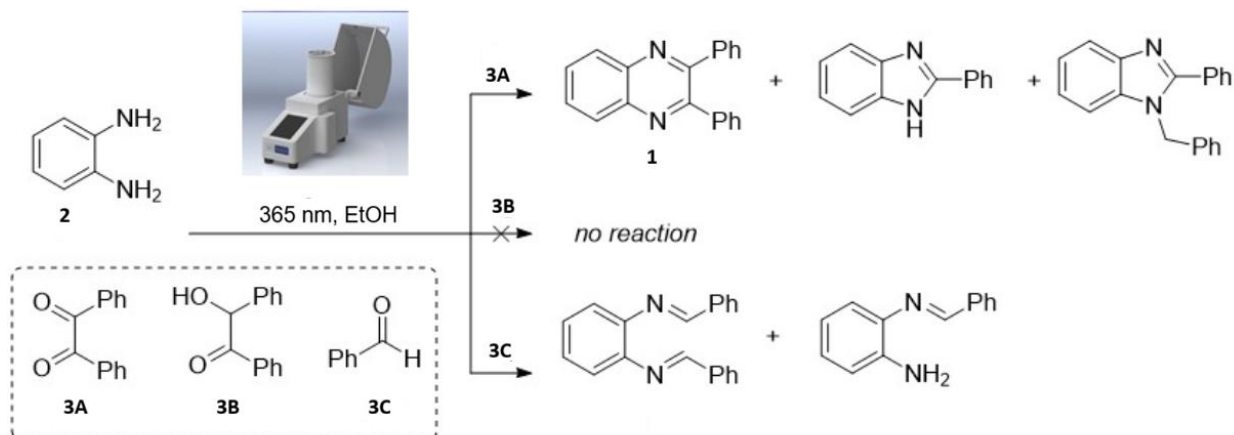
5.2 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES REACIONAIS DE SÍNTESE DA 1,2-DIFENILQUINOXALINA

Foram testadas inicialmente diferentes metodologias para a síntese do produto 1,2-difenilquinoxalina (Esquema 8). Para isso, as reações foram conduzidas em tubos de ensaio de quartzo sob agitação, irradiadas no comprimento de onda de 365 nm, verificando a formação de produtos de forma qualitativa por cromatografia em camada delgada (CCD) e injetando no equipamento de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), retirando alíquotas a cada 10 minutos, totalizando 30 minutos.

A primeira metodologia fez uso do 1,2-diaminobenzeno (0,1 mmol) e dibenzoil (0,1 mmol) adicionados simultaneamente no tubo de ensaio.⁷⁴ As outras duas metodologias também fizeram uso de 1,2-diaminobenzeno (0,1 mmol), porém a segunda fez uso de benzoína⁷⁵ (0,1 mmol) e a terceira utilizou a proporção molar 1:2 de benzaldeído⁷⁶ (0,2 mmol). Todas as reações foram realizadas utilizando etanol como solvente.

As reações iniciais (Esquema 8), monitoradas por GC-MS, forneceram resultados qualitativos quanto à formação do produto desejado. A metodologia que empregou o dibenzoil (3A) resultou na obtenção do produto alvo, juntamente com subprodutos derivados de anéis de cinco membros. Em contrapartida, a reação utilizando benzoína (3B) não apresentou conversão, enquanto aquela com benzaldeído (3C) levou à formação de produtos não ciclizados distintos, sem o núcleo quinoxalínico. Diante desses resultados, a investigação foi direcionada para a metodologia baseada em compostos 1,2-dicarbonílicos.

Esquema 8 – Diferentes reações para a obtenção de 1,2-difenilquinoxalina.



A reação alvo desse estudo foi a síntese do composto 1,2-difenilquinoxalina (composto 1) por via fotoquímica, baseando-se no princípio de absorção de energia dos compostos dicarbonílicos com banda de absorção com máximo centrado na região do UV (~280 nm) e menor intensidade na região do visível entre o violeta e azuldo espectro (300-400 nm), substituindo assim o fornecimento de energia térmica pela irradiação de luz nesta faixa. Alterando alguns parâmetros da reação, foram obtidos rendimentos entre 60-89% (Tabela 1) considerados satisfatórios para os curtos tempos de reação.

Tabela 1 – Otimização das condições reacionais para a síntese da 1,2-difenilquinoxalina (composto 1)

Entrada	Solvente	λ (nm)	t (min)	Rendimento (%)
1	MeCN	365	60	83
2	EtOH	365	60	79
3	DCM	365	60	81
4	DMSO	365	60	60
5	MeCN	365	10	78

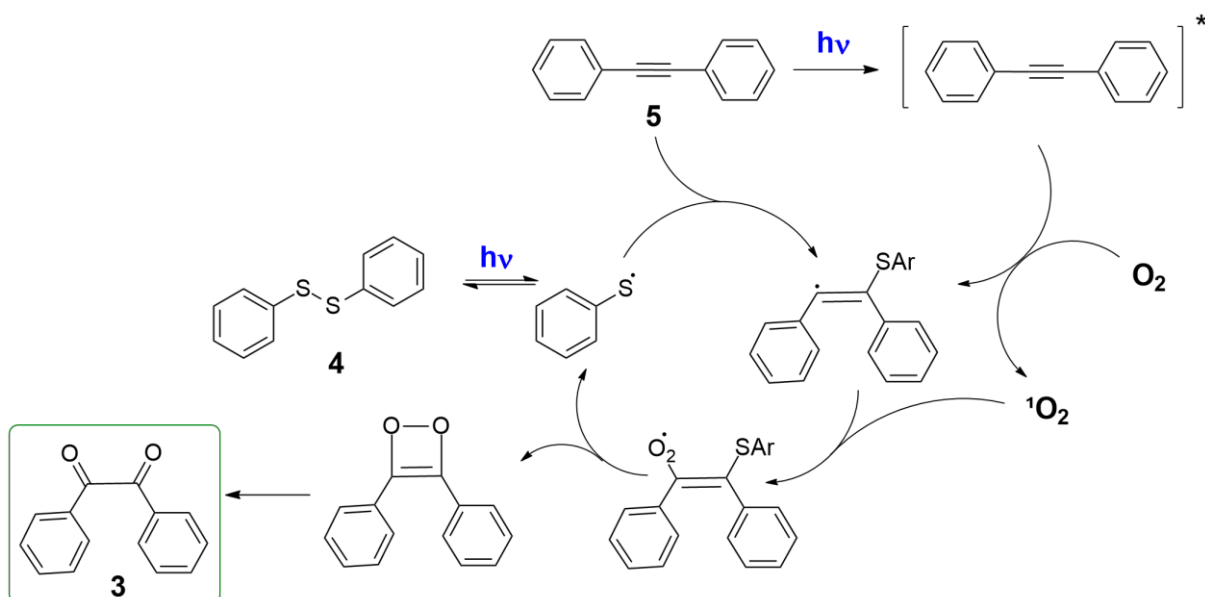
6	EtOH	365	10	82
7	MeCN	395	10	89

Após testes com diferentes solventes no período de 1 hora, foi observado que a reação muitas vezes ocorria muito rapidamente, obtendo uma coloração escura no meio reacional, característico em reações de ciclização. Foram realizados então, ensaios com apenas 10 minutos de reação, o que mostrou rendimentos muito semelhantes as entradas de 1 hora. Também, avaliou-se a utilização de um comprimento de onda maior, de 395 nm, visando sínteses futuras que empregam metodologias *one-pot*.

Paralelamente às sínteses realizadas por via fotoquímica, também foram conduzidos experimentos utilizando os mesmos parâmetros reacionais, porém na ausência de luz (no escuro), com o objetivo de validar comparativamente a metodologia. Observou-se, nesses casos, uma leve diminuição nos valores de rendimento, indicando que a síntese é mais eficiente sob irradiação luminosa, embora o mecanismo reacional não seja totalmente dependente da adição de luz. Diante disso, a melhor condição reacional selecionada foi aquela que emprega 10 minutos de reação em acetonitrila (entrada 7), destacando-se pelo curto tempo reacional e pela não utilização de catalisadores ou outros aditivos.

Para a síntese do dibenzoil (composto 3), foi empregada uma metodologia baseada no uso do fotoiniciador dissulfeto de difenila (composto 4), o qual permite a condução da reação a partir da absorção de luz na região do azul. Essa absorção promove a clivagem da ligação dissulfeto, gerando espécies radiculares altamente reativas. A escolha do oxigênio atmosférico como fonte de oxigênio, em substituição a agentes oxidantes convencionais, baseia-se na capacidade do difenilacetileno atuar como fotossensibilizador, transferindo energia ao oxigênio molecular no estado fundamental (triplete) e promovendo a formação de oxigênio singlete excitado ($^1\text{O}_2$), espécie significativamente mais reativa (Esquema 9). Após essa etapa, o difenilacetileno reage tanto com a espécie radical formada quanto com o $^1\text{O}_2$, passando por um processo de ciclização intramolecular com eliminação do radical. Por fim, ocorre um rearranjo estrutural que conduz à formação do produto final, o dibenzoil.⁷⁷ Importante salientar que o uso de oxigênio molecular é importante pois reações conduzidas sob atmosfera inerte resultam em adição radicalar do átomo de calcogênio ao alcino.⁸⁸

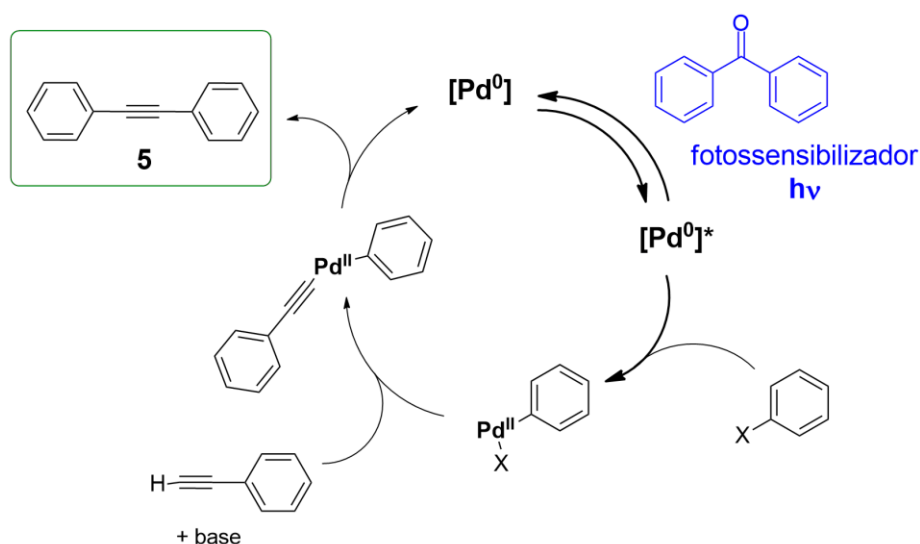
Esquema 9 – Mecanismo da reação de síntese do dibenzoil. Adaptado de Zhu & Wang.⁷⁷



Para todas as tentativas de síntese do dibenzoil (Tabela 2) foi utilizado o solvente acetonitrila, amplamente empregado em reações fotoquímicas devido à sua elevada estabilidade química sob irradiação. O primeiro objetivo consistiu em reduzir o tempo reacional proposto na literatura, entretanto, a partir dos rendimentos obtidos, observou-se que o tempo de reação exerce papel determinante na eficiência do processo. Mesmo após o aumento do tempo reacional, os rendimentos permaneceram insatisfatórios, motivando a investigação de estratégias para sua melhoria, como o uso de excesso do iniciador radicalar e a adição de fotossensibilizadores.

Dentre as condições avaliadas, a melhor foi identificada como aquela que empregou 10% molar de benzofenona como fotossensibilizador, com tempo de reação de 3 horas. Inicialmente, a síntese foi conduzida sob irradiação em 450 nm, porém, também foi avaliado o comprimento de onda de 395 nm, por se tratar de uma região intermediária entre a faixa do azul, típica de reações que empregam compostos dissulfeto, e a região do ultravioleta (395 nm), utilizada na síntese das quinoxalinas.

Esquema 10 – Mecanismo de síntese do difenilacetileno. Adaptado de Firouzeh, et al.⁷⁸



Inicialmente, avaliou-se o efeito do aumento do tempo reacional sobre o rendimento final, porém percebeu-se que tempos mais longos não eram necessários (Tabela 3). A metodologia também foi investigada quanto à importância do uso do catalisador e da irradiação luminosa, sendo evidenciada a necessidade de ambos, uma vez que na ausência de qualquer um deles não houve formação do produto. Ao final, a melhor condição foi a que empregou benzofenona (10% mol) e o catalisador $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (entrada 2), no comprimento de onda de 395 nm. Ressalta-se ainda que a reação requer atmosfera inerte, a fim de evitar a desativação do catalisador por oxidação do paládio na presença de oxigênio.

Tabela 3 – Otimização das condições reacionais para a síntese do difenilacetileno (composto 5).

Entrada	Aditivos	Solvente	λ (nm)	t (h)	Rendimento (%)
1	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ + Benzofenona	DMF	395	overnight	47

2	Pd(OAc) ₂ + Benzofenona	DMF	395	6	77
3	Benzofenona	DMF	395	6	NR
4	Pd(OAc) ₂	DMF	escuro	6	NR
5	Pd(OAc) ₂ + Benzofenona	MeCN	450	6	26

Após o processo de otimização da síntese dos precursores e do composto alvo, investigou-se a possibilidade de realizar as três reações por meio de uma metodologia *one-pot*, com o objetivo de otimizar ainda mais o processo, permitindo a execução de toda a sequência reacional em apenas um dia e reduzindo o número de etapas de purificação. Essa abordagem mostrou-se viável pelo fato de todas as reações serem promovidas pela absorção do mesmo comprimento de onda (395 nm) e utilizarem o mesmo solvente (Tabela 4).

Partindo-se de 0,5 mmol de iodobenzeno (6) e fenilacetileno (7), os cálculos das quantidades adicionadas de dissulfeto de difenila (4) e 1,2-diaminobenzeno (2) foram realizados assumindo rendimentos teóricos de 100% para a formação dos intermediários difenilacetileno (5) e dibenzoil (3). O uso de um excesso do catalisador dissulfeto em relação ao paládio foi favorecido, uma vez que pode ocorrer a formação de um complexo estável entre essas duas espécies, o que influencia diretamente a eficiência do processo reacional.

Tabela 4 – Otimização das condições reacionais para a síntese *one-pot* da 1,2-difenilquinoxalina (composto 1).

Entrada	Solvente	λ (nm)	t total	Rendimento (%)
1	MeCN	395	9h10	NR
2	DMF	395	9h10	NR

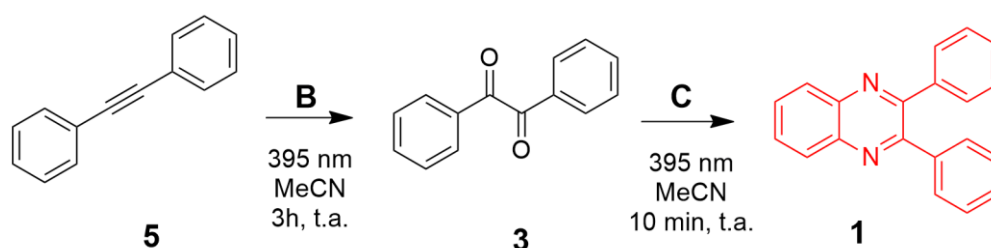
A reação foi inicialmente conduzida utilizando acetonitrila como solvente, porém não foi observada a formação do produto desejado. Esse não sucesso pode ser atribuído a diversos fatores, entre eles o baixo rendimento da primeira etapa (A)

em acetonitrila, o que comprometeu a sequência reacional subsequente. Além disso, a necessidade de alteração da atmosfera ao longo do processo pode ter desempenhado um papel crítico, uma vez que a etapa A requer atmosfera inerte de argônio, enquanto a etapa seguinte (B) demanda um meio rico em oxigênio, que atua como um dos reagentes. Dessa forma, é possível que o oxigênio necessário não tenha conseguido acessar de maneira eficiente o meio reacional, dificultando a progressão da reação e a formação do produto final.

Devido ao possível baixo rendimento da primeira etapa, a reação também foi avaliada utilizando dimetilformamida (DMF) como solvente, pois indicava bons rendimentos para a síntese do difenilacetileno. Entretanto, o resultado obtido foi semelhante ao da tentativa anterior, não sendo observada a formação do produto desejado. Outra possível explicação para o insucesso da reação está relacionada à elevada complexidade do meio reacional no sistema *one-pot*, o que pode favorecer a ocorrência de múltiplas reações paralelas e a formação de diferentes subprodutos, dificultando a progressão da rota desejada e a obtenção do composto final.

Com isso, investigou-se a otimização da metodologia *one-pot* envolvendo apenas as etapas B e C, uma vez que ambas não requerem atmosfera inerte e considerando a simplicidade da etapa final, que ocorre rapidamente após a adição dos reagentes (Esquema 11). Observou-se a formação do produto desejado e, após purificação por coluna flash utilizando hexano:acetato de etila (95:5), obteve-se um rendimento de 50%, valor considerado satisfatório para reações que utilizam metodologia *one-pot*.

Esquema 11 – Reação *one-pot* otimizada para a obtenção de 1,2-difenilquinoxalina.



Concluiu-se que a metodologia mais eficiente para a síntese da 1,2-difenilquinoxalina envolve, inicialmente, a obtenção do difenilacetileno (5) por meio da reação de Sonogashira–Hagihara via fotoquímica e, em seguida, a síntese do produto final empregando a estratégia *one-pot*. O objetivo final é aplicar essa metodologia à

síntese de derivados de 1,2-difenilquinoxalinas, a partir de iodobenzenos e fenilacetilenos substituídos, bem como de diferentes derivados de 1,2-diaminobenzeno.

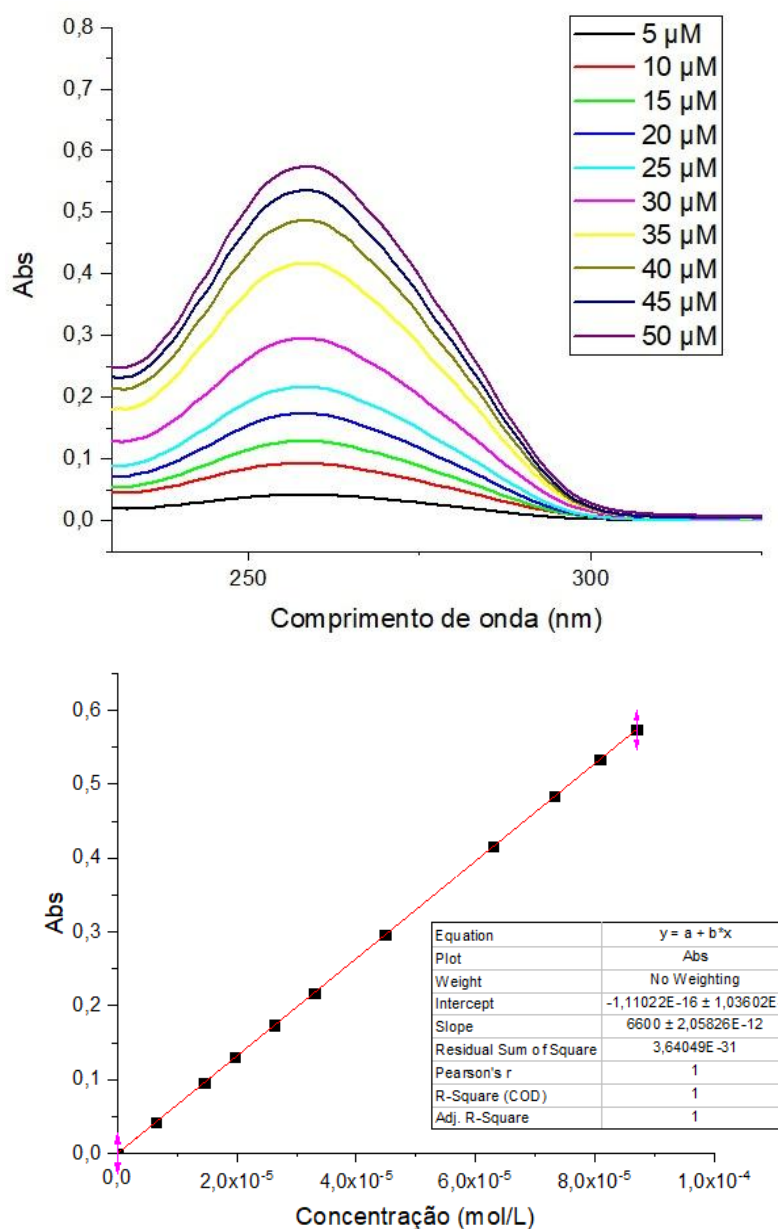
Importante mencionar que para a 1,2-difenilquinoxalina não foram realizados estudos fotofísicos, uma vez que já foram realizados anteriormente em um outro trabalho realizado pelo grupo⁷¹, que indicou que a modificação dos substituintes não resultava em alterações significativas nos dados fotofísicos.

5.3 ESTUDO IN VITRO

Avaliou-se, por metodologias *in vitro*, a interação das 1,2-difenilquinoxalinas com o DNA, comparando os resultados experimentais com os dados obtidos no estudo teórico de *docking* molecular. Para isso, utilizou-se o DNA de timo de bezerro (*Calf Thymus DNA*, ctDNA), amplamente empregado como substrato em ensaios enzimáticos e estudos de interação molecular. A investigação da interação com o DNA é relevante para compostos com potencial farmacológico, uma vez que essa macromolécula controla processos celulares fundamentais, como replicação e transcrição. A interferência nesses processos pode levar à inibição do crescimento ou à morte celular. Por esse motivo, diversos fármacos exploram o DNA como alvo terapêutico, especialmente no tratamento de doenças associadas à proliferação celular descontrolada ou à elevada dependência dos processos celulares controlados pelo material genético, como o câncer e infecções bacterianas e virais.

O primeiro passo antes de iniciar as análises *in vitro* foi a calibração das soluções estoque de ctDNA utilizadas nos experimentos. Para isso, obtiveram-se os espectros de absorção de diferentes concentrações de ctDNA e, a partir desses dados, construiu-se uma curva de calibração (Figura 25). Essa análise permitiu determinar que as soluções apresentavam concentrações na faixa de 10^{-3} mol L⁻¹.

Figura 25 - Espectro de absorção do ctDNA livre e sua respectiva curva de calibração em Tampão Tris (50 mM, pH = 7,45) e NaCl (100 mM).

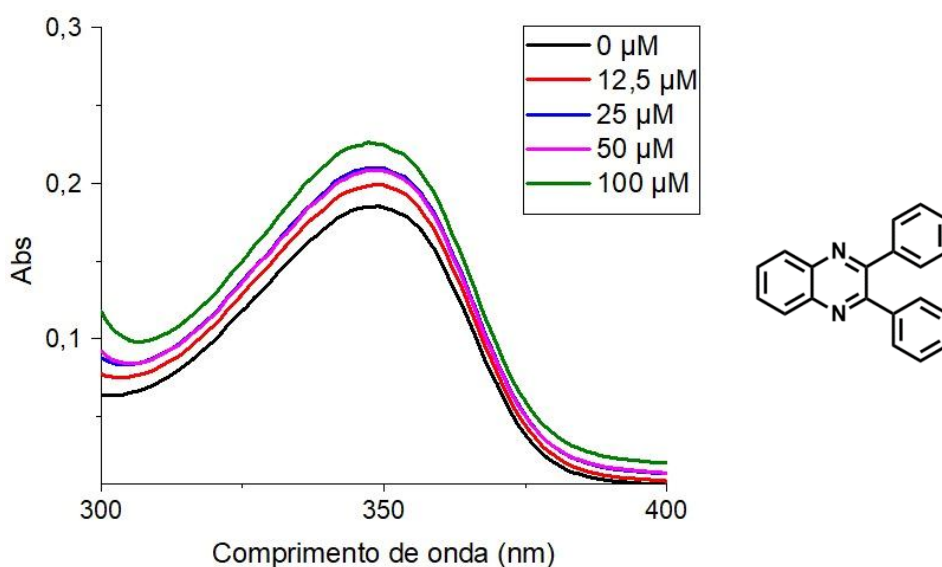


Para avaliar o mecanismo dominante de interação com o ctDNA, utilizou-se inicialmente a espectroscopia de absorção na região do UV-Vis. Sabe-se que o ctDNA apresenta uma banda característica em 260 nm, atribuída às transições eletrônicas dos grupos cromóforos das bases nitrogenadas purinas (adenina e guanina) e pirimidinas (citosina e timina). Já a 1,2-difenilquinoxalina (composto 1) apresenta uma banda bem definida em 350 nm, associada à transição eletrônica do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. Dessa forma, essa banda foi monitorada enquanto proporções crescentes de ctDNA

eram adicionadas ao meio reacional (0, 12,5, 25, 50 e 100 μM), permitindo a avaliação do processo de interação entre o ligante e o DNA.

Observando-se a banda de absorção obtida, é possível notar um aumento progressivo da intensidade de absorção (efeito hipercrômico) à medida que a concentração de ctDNA é aumentada (Figura 26). Esse comportamento indica que houve uma interação do ligante com o DNA, por meio de interações eletrostáticas ou ligações no sulco da dupla hélice, que podem causar contrações e danos na estrutura geral da dupla hélice. Moléculas que se ligam nos sulcos contêm sistemas aromáticos conectados por ligações que possuem certa liberdade rotacional a fim de adotar uma conformação apropriada que corresponda à volta helicoidal dos sulcos do DNA.⁸⁹ O resultado obtido corrobora os dados de *docking* molecular, que já indicava a interação entre o ligante e o DNA.

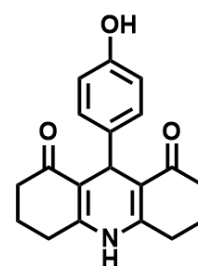
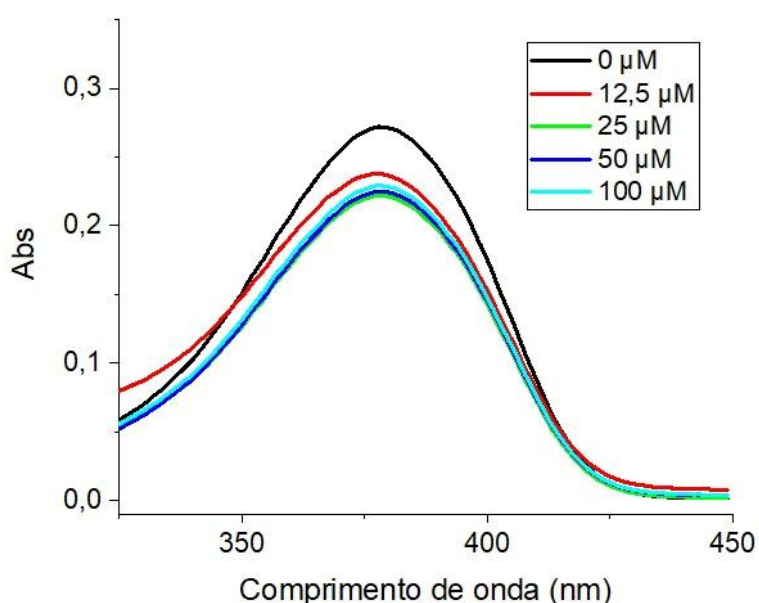
Figura 26 - Espectro de absorção da 1,2-difenilquinoxalina livre e na presença de concentrações crescentes de ctDNA.



Para fins comparativos, realizou-se a mesma análise utilizando um composto já conhecido por interagir com o DNA. Para isso, empregou-se um composto da classe das acridinodionas, estudado pelo grupo de pesquisa em trabalhos anteriores.⁹⁰ No espectro de absorção obtido, observa-se um efeito hipocrômico (diminuição da absorbância), em contraste com o comportamento da 1,2-difenilquinoxalina (Figura 27). Esse efeito também indica a formação de complexo ligante-DNA e está associado à intercalação do ligante entre os pares de bases do DNA, na qual ocorre intenso

empilhamento π - π entre o sistema aromático do ligante e as bases nitrogenadas, porém este efeito geralmente é somado a um deslocamento para comprimentos de onda maiores (efeito batocrômico). Esse empilhamento promove o acoplamento dos orbitais π , reduzindo a probabilidade das transições eletrônicas permitidas do cromóforo, o que se reflete diretamente na diminuição da absorbância observada no espectro UV-Vis.⁸⁰

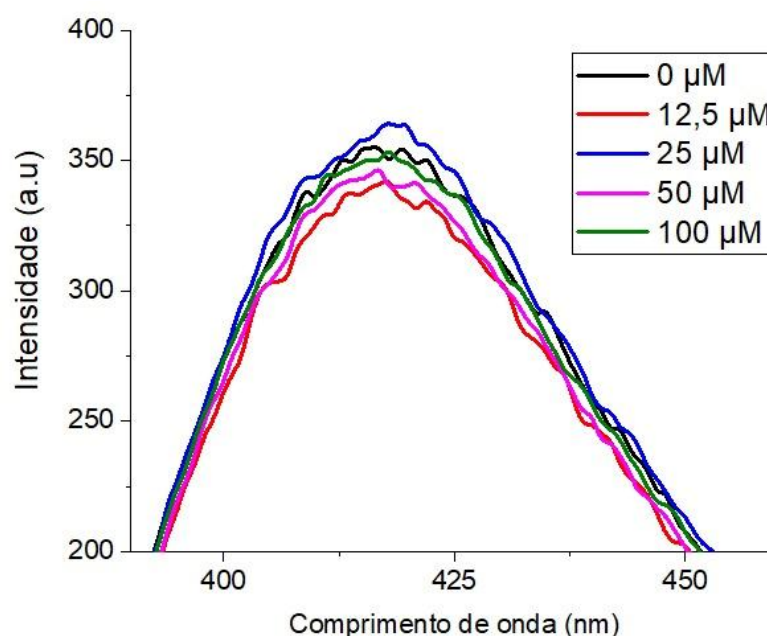
Figura 27 - Espectro de absorção da (4-hidroxifenil)-1,8-(2*H*,5*H*)-acridinodiona) livre e na presença de concentrações crescentes de ctDNA.



Utilizando as mesmas soluções de 1,2-difenilquinoxalina (composto 1), realizou-se a análise de fluorescência, observando-se uma banda de emissão em 418 nm (Figura 28). Diferentemente do comportamento observado por UV-Vis, verificou-se uma leve diminuição na intensidade da emissão de fluorescência com o aumento da concentração de ctDNA, exceto na proporção molar 1:1, sugerindo que, nessa condição, o complexo adota uma conformação mais favorável à emissão. As análises de fluorescência também auxiliam na elucidação do mecanismo de interação do complexo com o DNA. Nesse contexto, seriam relevantes estudos adicionais, como ensaios com brometo de etídio (BE), estudo este já realizado no laboratório com compostos da classe das dihidropiridinas.⁹¹ O BE apresenta baixa emissão de fluorescência em solução, mas sua emissão é intensificada quando intercalado ao DNA. Em uma titulação do complexo BE-DNA com a 1,2-difenilquinoxalina, a

ausência de alterações significativas na banda de emissão do BE indicaria que o ligante não compete pela intercalação entre as bases nitrogenadas, reforçando a hipótese de uma interação predominantemente superficial.⁹¹

Figura 28 - Espectro de emissão de fluorescência do 1,2-difenilquinoxalina (composto 1) livre e na presença de concentrações crescentes de ctDNA.



Por fim, realizaram-se ensaios de UV-Vis empregando uma concentração fixa de ctDNA (30 μM), acompanhando as alterações na sua banda de absorção à medida que concentrações crescentes do ligante eram adicionadas (0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 μM) (Figura 29). Observou-se um discreto aumento da absorbância (efeito hiperocrômico) com o aumento da concentração do ligante, exceto para a condição de 30 μM , correspondente à proporção molar 1:1 (DNA:ligante), na qual não se verificou alteração significativa em relação ao espectro do ctDNA isolado. Esse comportamento indica a ocorrência de interações entre o DNA e a 1,2-difenilquinoxalina, promovendo perturbações na estrutura secundária do DNA, podendo causar desenrolamento parcial da estrutura helicoidal. Entretanto, na razão 1:1, é possível a formação de um estado de equilíbrio estrutural do complexo DNA-ligante, no qual o ligante se acomoda em sítios específicos sem causar alterações relevantes no empilhamento das bases nitrogenadas.⁷⁹ Ressalta-se que, para essa metodologia, não é possível

6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos ao longo deste trabalho demonstram que os compostos de núcleo quinoxalínico investigados apresentam um perfil promissor quando avaliados de forma integrada, combinando abordagens *in silico*, *in vitro* e sintéticas. A estratégia adotada permitiu compreender não apenas o potencial biológico dessas moléculas, mas também aspectos fundamentais relacionados à sua obtenção, propriedades físico-químicas e comportamento frente a alvos biomoleculares. A síntese fotoquímica mostrou-se uma rota eficiente e alinhada a princípios de química sustentável, possibilitando a obtenção dos derivados quinoxalínicos em condições brandas, com boa seletividade e menor dependência de aquecimento e atmosferas rigorosamente inertes.

Do ponto de vista *in silico*, as análises de ADME indicaram que a maioria dos compostos apresenta parâmetros compatíveis com boa biodisponibilidade oral, destacando-se valores adequados de área de superfície polar topológica e flexibilidade molecular, além de uma série de compostos indicarem uma probabilidade de permeação da barreira hematoencefálica (BBB). Os perfis obtidos pelo PerMM revelaram um comportamento de partição favorável na interface membrana–meio aquoso, sugerindo que a presença de substituintes específicos no núcleo quinoxalínico influencia diretamente a permeabilidade passiva e a afinidade pela bicamada lipídica. Adicionalmente, os estudos de *docking* molecular evidenciaram interações relevantes com o DNA, principalmente com interações π – π e ligação de hidrogênio, reforçando o potencial desses compostos como moduladores de processos biológicos associados a esse alvo.

Complementarmente, os ensaios *in vitro* por espectroscopia de absorção no UV-Vis e fluorescência corroboraram os resultados computacionais, indicando interações efetivas entre os derivados quinoxalínicos e o DNA. As alterações espectrais observadas, como mudanças na intensidade de absorção e nos perfis de emissão de fluorescência, sugerem mecanismos de interação que podem envolver ligação no sulco, em consonância com as poses e interações previstas pelos estudos de *docking*. Dessa forma, a convergência entre os dados experimentais e computacionais fortalece a confiabilidade do modelo proposto e evidencia a relevância da abordagem multidisciplinar adotada neste trabalho.

Como perspectivas futuras, propõe-se o aprofundamento da avaliação biológica dos derivados quinoxalínicos mais promissores por meio de ensaios *in vitro* adicionais, como testes de citotoxicidade, seletividade celular e estabilidade metabólica, de modo a validar e complementar as previsões obtidas pelas ferramentas *in silico*. Estudos mais avançados, como dinâmica molecular, também podem ser empregados para investigar a estabilidade e a natureza temporal das interações observadas no *docking* molecular. No âmbito sintético, a metodologia fotoquímica utilizada neste trabalho pode ser explorada para a obtenção de novas séries de compostos, selecionados previamente a partir das análises *in silico*. Dessa forma, a continuidade desta abordagem integrada entre síntese, modelagem molecular e técnicas espectroscópicas apresenta grande potencial para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos ou sondas bioativas baseadas no núcleo quinoxalínico.

PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

Trabalho publicados e apresentados durante o período

1. CONCEICAO, D. K. S. ; VEIGA, Y. P. ; DOTTI, C. ; GARCIA-RIO, LUIS ; GEROLA, ADRIANA ; SILVA, H. ; Rodembusch, F. S. ; **FERREIRA AFFELDT, RICARDO** ; MORO, A. V. . Responsive Supramolecular Sensors Based on Pillar[5]arene-BTD Complexes for Aqueous Sensing: From Static Quenching to Anion and DNA Recognition. ACS Omega. v. 11, n. 1, p. 1849, 2025.
2. **VEIGA, Y. P.**; DOTTI, C. ; ZEFERINO, R. C. ; SALLES, H. D. ; PEDROSA, R. Z. ; AFFELDT, R. F. . Photochemical Synthesis and Evaluation of the Interaction Between Quinoxaline Derivatives and DNA : *In Vitro* and *In Silico* Approaches. XII BrazMedChem. 2025.
3. SALLES, H. D. ; ZEFERINO, R. C. ; **VEIGA, Y. P.** ; PEDROSA, R. Z. ; LOUSA, D. ; SOARES, C. M. ; AFFELDT, R. F. . Molecular docking and dynamics of AKT1 and N-heterocycles on the search for novel anticancer compounds. 19th Brazilian Meeting on Organic Synthesis. 2024.
4. **VEIGA, Y. P.**; ZEFERINO, R. C. ; SALLES, H. D. ; PEDROSA, R. Z. ; LOUSA, D. ; SOARES, C. M. ; AFFELDT, R. F. . Interações moleculares entre AKT1 e N-heterociclos: perspectivas para o desenvolvimento de novos fármacos anticancerígenos. III Simpósio de Graduação e Pós-Graduação em Química da UFSC. 2025. (Trabalho Premiado).

REFERÊNCIAS

- [1] WOUTERS, Olivier J.; MCKEE, Martin; LUYTEN, Jeroen. Estimated research and development investment needed to bring a new medicine to market, 2009-2018. **Jama**, v. 323, n. 9, p. 844-853, 2020.
- [2] ZHANG, Zhoupeng; TANG, Wei. Drug metabolism in drug discovery and development. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 8, n. 5, p. 721-732, 2018.
- [3] OCANA, Alberto et al. Integrating artificial intelligence in drug discovery and early drug development: a transformative approach. **Biomarker Research**, v. 13, n. 1, p. 45, 2025.
- [4] WESS, Günther; URMANN, Matthias; SICKENBERGER, Birgitt. Medicinal chemistry: challenges and opportunities. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n. 18, p. 3341-3350, 2001
- [5] HOU, Jingli et al. The impact of click chemistry in medicinal chemistry. **Expert opinion on drug discovery**, v. 7, n. 6, p. 489-501, 2012.
- [6] BARREIRO, Eliezer J.; FRAGA, Carlos Alberto Manssour. Química Medicinal-: As bases moleculares da ação dos fármacos. Artmed Editora, 2014.
- [7] PATRICK, Graham L. An introduction to medicinal chemistry. Oxford university press, 2023.
- [8] DALTON, Samuel E.; DI PIETRO, Ornella; HENNESSY, Elisabeth. A medicinal chemistry perspective on FDA-approved small molecule drugs with a covalent mechanism of action. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 68, n. 3, p. 2307-2313, 2025.
- [9] CHANG, Yiqun et al. A guide to in silico drug design. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, p. 49, 2023.
- [10] YANG, Hongbin et al. In silico prediction of chemical toxicity for drug design using machine learning methods and structural alerts. **Frontiers in chemistry**, v. 6, p. 30, 2018.
- [11] SHAKER, Bilal et al. In silico methods and tools for drug discovery. **Computers in biology and medicine**, v. 137, p. 104851, 2021.
- [12] VAN DEN MAAGDENBERG, Helle W. et al. Integrating Pharmacokinetics and Quantitative Systems Pharmacology Approaches in Generative Drug Design. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 65, n. 10, p. 4783-4796, 2025.
- [13] CHAN, H. C. Stephen; SHAN, Hanbin; DAHOUN, Thamani; VOGEL, Horst; YUAN, Shuguang. Advancing Drug Discovery via Artificial Intelligence. **Trends in Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 40, n. 8, p. 592–604, 2019.

- [14] VAN DE WATERBEEMD H, Gifford E. ADMET in silico modelling: towards prediction paradise? **Nat. Ver. Drug Discov.** V. 2, p.192-204, 2003.
- [15] STANZIONE Francesca, Giangreco Ilenia, Cole C. Jason. Use of Molecular Docking Computational tools in Drug Discovery. **Progress in Medicinal Chemistry.** V. 60, p. 273-343, 2021.
- [16] CABALLERO, Julio. The latest automated docking technologies for novel drug discovery. **Expert opinion on drug discovery**, v. 16, n. 6, p. 625-645, 2021.
- [17] AGU, Peter Chinedu et al. Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. **Scientific reports**, v. 13, n. 1, p. 13398, 2023.
- [18] FAN, Jiyu; FU, Ailing; ZHANG, Le. Progress in molecular docking. **Quantitative Biology**, v. 7, n. 2, p. 83-89, 2019.
- [19] DE OLIVEIRA SILVA, Lisandra et al. Imidazopyridine DSH65 induces intrinsic apoptosis and cell cycle arrest in burkitt lymphoma cells. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, p. 1-12, 2025.
- [20] HERAVI, Majid M.; ZADSIRJAN, Vahideh. Prescribed drugs containing nitrogen heterocycles: an overview. **RSC advances**, v. 10, n. 72, p. 44247-44311, 2020.
- [21] DWIVEDI, Jaya; SHARMA, Swapnil; JAISWAL, Shivangi. Structural insights in development of antiviral agents derived from the condensed nitrogen heterocycles: Synthesis and biological properties. **Journal of Molecular Structure**, p. 143948, 2025.
- [22] HALDAR, Jayanta; MOBASHERY, Shahriar. In Recognition of the 80th Anniversary of Nobel Prize for Discovery of Penicillin: Call for Papers for a Special Issue. **ACS Infectious Diseases**, 2025.
- [23] NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of natural products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.
- [24] KALARIA, Piyush N.; KARAD, Sharad C.; RAVAL, Dipak K. A review on diverse heterocyclic compounds as the privileged scaffolds in antimalarial drug discovery. **European journal of medicinal chemistry**, v. 158, p. 917-936, 2018.
- [25] HANDFORD, Mason J. et al. Discovery of Amodiachins, a Novel Class of 4-Aminoquinoline Antimalarials Active against Multidrug-Resistant Plasmodium falciparum. **Journal of medicinal chemistry**, v. 68, n. 20, p. 21156-21171, 2025.
- [26] SHAJARI, Nahid; ESKANDARI, Parvin. A comprehensive overview of the recent development of privileged 1, 3, 4-oxadiazole derivatives and their biological activities. **Journal of Molecular Structure**, p. 143639, 2025.

- [27] MALLAPPA et al. Recent advances in the synthesis of nitrogen-containing heterocyclic compounds via multicomponent reaction and their emerging biological applications: a review. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 22, n. 1, p. 1-33, 2025.
- [28] NETO, José Sebastião Santos; ZENI, Gilson. Ten years of progress in the synthesis of six-membered N-heterocycles from alkynes and nitrogen sources. **Tetrahedron**, v. 76, n. 4, p. 130876, 2020.
- [29] MAMEDOV, Vakhid A. Quinoxalines: synthesis, reactions, mechanisms and structure. Springer, 2016.
- [30] GUO, Wen-Xue et al. An efficient catalyst-free protocol for the synthesis of quinoxaline derivatives under ultrasound irradiation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 1674-1679, 2009.
- [31] VISHWAKARMA, Vinod Kumar; SUDHAKAR, Achalkumar Ammathnadu. Structure–property relationships of quinoxaline-based liquid crystals. **Soft Matter**, v. 17, n. 36, p. 8221-8257, 2021.
- [32] REDDY, M. Rajeshkumar et al. Synthesis and characterization of quinoxaline derivative for high performance phosphorescent organic light-emitting diodes. **Dyes and Pigments**, v. 153, p. 132-136, 2018.
- [33] EL AISSI, Radhia et al. Synthesis and biological evaluation of new quinoxaline derivatives of ICF01012 as melanoma-targeting probes. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 5, n. 5, p. 468-473, 2014.
- [34] SAGADEVAN, Arunachalam; RAGUPATHI, Ayyakkannu; HWANG, Kuo Chu. Visible-light-induced, copper (I)-catalysed CN coupling between o-phenylenediamine and terminal alkynes: one-pot synthesis of 3-phenyl-2-hydroxy-quinoxalines. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 12, n. 12, p. 2110-2118, 2013.
- [35] AMAYA-GARCÍA, Fabián et al. Green hydrothermal synthesis of fluorescent 2, 3-diarylquinoxalines and large-scale computational comparison to existing alternatives. **ChemSusChem**, v. 14, n. 8, p. 1853-1863, 2021.
- [36] LIU, Yuting et al. Antibacterial activity of the structurally novel C-2 amine-substituted analogues based on quinoxaline. **RSC Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 2, p. 812-825, 2025.
- [37] KUSUMA, Suman et al. An Efficient and Eco-Friendly Protocol for Synthesis of 2-Substituted Benzimidazole and Quinoxaline Derivatives by Using Nanostructured Cu₂O as Recyclable Catalyst. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 39, n. 3, p. e70038, 2025.
- [38] ZHANG, Libin et al. Enhanced π -conjugation and multi-electron transfer organic cathodes enabled high-performance zinc-ion storage. **Journal of Colloid and Interface Science**, p. 138818, 2025.

- [39] SU, Jiaqi et al. Enabling an ultra-specific lysosomal polarity fluorescence response via intramolecular π – π stacking-mediated conformational locking. **Chemical Communications**, 2025.
- [40] DAS, Biswanath et al. An efficient and convenient protocol for the synthesis of quinoxalines and dihydropyrazines via cyclization–oxidation processes using $\text{HClO}_4 \cdot \text{SiO}_2$ as a heterogeneous recyclable catalyst. **Tetrahedron letters**, v. 48, n. 31, p. 5371-5374, 2007
- [41] CAI, Jing-Jing et al. Gallium (III) triflate-catalyzed synthesis of quinoxaline derivatives. **Tetrahedron Letters**, v. 49, n. 52, p. 7386-7390, 2008.
- [42] DUNCAN, Susan E.; CHANG, Hao-Hsun. Implications of light energy on food quality and packaging selection. **Advances in food and nutrition research**, v. 67, p. 25-73, 2012.
- [43] HALLIDAY, David; RESNICK, Robert; WALKER, Jearl. Fundamentos de Física, v. 4, 8 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009.
- [44] NELSON, Nathan. Photosystems and global effects of oxygenic photosynthesis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1807, n. 8, p. 856-863, 2011.
- [45] BEAUDRY, C. M., MALERICH, J. P. & TRAUNER, D.; Biosynthetic and biomimetic electrocyclizations.; **Chemical Reviews**; v. 105; p. 4757–4778, 2005.
- [46] Wardle. Brian. Principles and Applications of Photochemistry. John Wiley & Sons, Ltd, 2009.
- [47] KS, Nikhil Reddy et al. Bioluminescent Diversity: From Microbes to Insects. **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, v. 27, n. 11, p. 1170-1179, 2024.
- [48] LIU, Sha et al. Near-Infrared-II Fluorescent Probes for Analytical Applications: From In Vitro Detection to In Vivo Imaging Monitoring. **Accounts of Chemical Research**, v. 58, n. 4, p. 543-554, 2025.
- [49] Patel, Sanyukta et al. Recent development in nanomaterials fabricated paper-based colorimetric and fluorescent sensors: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 31, 2021.
- [50] Jiang, He et al. Organic Resonance Materials: Molecular Design, Photophysical Properties, and Optoelectronic Applications. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 11, p. 7739–7754, 2020.
- [51] Rohatgi-Mukherjee, K. K. Fundamentals of Photochemistry. New Age International, 1978.
- [52] CAÑELLAS, Santiago; NUÑO, Manuel; SPECKMEIER, Elisabeth. Improving reproducibility of photocatalytic reactions—how to facilitate broad application of new methods. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 307, 2024.
- [53] J. R. LAKOWICZ. Principles of Fluorescence Spectroscopy. Springer; 33; 1– 5; 2006

- [54] Atkins, Peter; PAULA, Julio de. Physical Chemistry. 8 ed. p. 845-860. W. H. Freeman and Company, Nova York, 2006.
- [55] SCAIANO, Juan C. A beginners guide to understanding the mechanisms of photochemical reactions: things you should know if light is one of your reagents. **Chemical Society Reviews**, v. 52, n. 18, p. 6330-6343, 2023.
- [56] MOHAMADPOUR, Farzaneh; AMANI, Ali Mohammad. Photocatalytic systems: reactions, mechanism, and applications. **RSC advances**, v. 14, n. 29, p. 20609-20645, 2024.
- [57] Mandal, Dipak K. Pericyclic Reactions: Introduction, Classification and the Woodward–Hoffmann Rules. Pericyclic Chemistry, Elsevier, p. 63–106, 2018.
- [58] SHAIDULLINA, Amina F. et al. Photoisomerization of 1, 2-Di (4-pyridyl) ethylene According to NMR and UV Spectroscopy Data and Density Functional Modeling. **Photochemistry and Photobiology**, v. 99, n. 6, p. 1378-1383, 2023.
- [59] OELGEMÖLLER, Michael; HOFFMANN, Norbert. Studies in organic and physical photochemistry—an interdisciplinary approach. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 14, n. 31, p. 7392-7442, 2016.
- [60] DANTAS, Juliana A. et al. Photochemistry of Carbonyl Compounds: Application in Metal-Free Reactions. **ChemPhotoChem**, v. 3, n. 7, p. 506-520, 2019.
- [61] SWENTON, John S. Photochemistry of organic compounds. II, Carbonyl compounds. **Journal of Chemical Education**, v. 46, n. 4, p. 217, 1969.
- [62] BALZANI, Vincenzo; BERGAMINI, Giacomo; CERONI, Paola. Photochemistry and photocatalysis. **Rendiconti Lincei**, v. 28, n. Suppl 1, p. 125-142, 2017.
- [63] HARI, Durga Prasad; KÖNIG, Burkhard. Synthetic applications of eosin Y in photoredox catalysis. **Chemical Communications**, v. 50, n. 51, p. 6688-6699, 2014.
- [64] PATEHEBIEKE, Yeersen . An overview on disulfide-catalyzed and -cocatalyzed photoreactions. Beilstein. **The Journal of Organic Chemistry**. v. 16, p. 1418–1435, 2020.
- [65] ZONDAG, Stefan DA; MAZZARELLA, Daniele; NOËL, Timothy. Scale-up of photochemical reactions: transitioning from lab scale to industrial production. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 14, n. 1, p. 283-300, 2023.
- [66] CORRIGAN, Nathaniel et al. Seeing the light: advancing materials chemistry through photopolymerization. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 58, n. 16, p. 5170-5189, 2019.

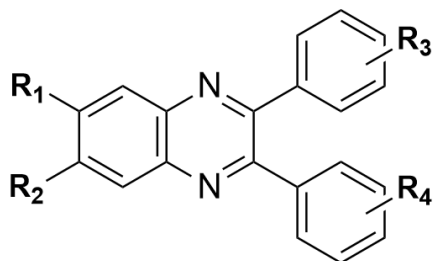
- [67] ROBERTSON, Claudine A.; EVANS, D. Hawkins; ABRAHAMSE, Heidi. Photodynamic therapy (PDT): a short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 96, n. 1, p. 1-8, 2009.
- [68] SINGH, Ajay K.; PALIT, Dipak K.; MITTAL, Jai P. Conformational relaxation dynamics in the excited electronic states of benzil in solution. **Chemical physics letters**, v. 360, n. 5-6, p. 443-452, 2002.
- [69] BANSODE, A. H. & SURYAVANSHI, G.; Iodine-Mediated Oxidative Rearrangement of α,β Unsaturated Diaryl Ketones: A Facile Access to 1,2-Diaryl Diketones. **ACS Omega**. v. 4, p. 9636–9644, 2019.
- [70] MORANTZ, D.J. & WRIGHT, A.J. C.; Structures of the excited states of benzil and related dicarbonyl molecules.; **The Journal of Chemical Physics**. v. 54, p. 692–697, 1971.
- [71] RAMOS, Jennifer Kupas. Síntese e caracterização de compostos fluorescentes derivados da 2,3-difenilquinoxalina através de reações fotoquímicas. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.
- [72] LOMIZE, Andrei L.; POGOZHEVA, Irina D. Physics-based method for modeling passive membrane permeability and translocation pathways of bioactive molecules. **Journal of chemical information and modeling**, v. 59, n. 7, p. 3198-3213, 2019.
- [73] LOMIZE, Andrei L. et al. PerMM: a web tool and database for analysis of passive membrane permeability and translocation pathways of bioactive molecules. **Journal of chemical information and modeling**, v. 59, n. 7, p. 3094-3099, 2019.
- [74] FONSECA, Tatiana et al. Synthesis and antiviral evaluation of benzimidazoles, quinoxalines and indoles from dehydroabiatic acid. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 12, n. 1, p. 103-112, 2004.
- [75] YASHWANTRAO, Gauravi; SAHA, Satyajit. Recent advances in the synthesis and reactivity of quinoxaline. **Organic Chemistry Frontiers**, v. 8, n. 11, p. 2820-2862, 2021.
- [76] SEO, Ue Ryung; CHUNG, Young Keun. Poly (4-vinylimidazolium) iodides: A highly recyclable organocatalyst precursor for benzoin condensation reaction. **RSC Advances**, v. 4, n. 61, p. 32371-32374, 2014.
- [77] ZHU, Xianjin et al. Thiyl radical catalyzed oxidation of diarylalkynes to α -diketones by molecular oxygen under visible-light irradiation. **Green Chemistry**, v. 18, n. 23, p. 6373-6379, 2016.
- [78] FIROUZEH, Ebrahim et al. Visible photosensitized sonogashira-hagihara coupling through in situ prepared palladium catalyst in N, N-dimethylformamide under copper and amine-free additives. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 431, p. 114002, 2022.

- [79] SHAHABADI, Nahid; HADIDI, Saba. Spectroscopic studies on the interaction of calf thymus DNA with the drug levetiracetam. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 96, p. 278-283, 2012.
- [80] HAN, Lina et al. A multi-spectroscopic approach to investigate the interaction of prodigiosin with ct-DNA. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 123, p. 497-502, 2014.
- [81] WILSON, W. David et al. Binding of 4', 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) to GC and mixed sequences in DNA: intercalation of a classical groove-binding molecule. **Journal of the American Chemical Society**, v. 111, n. 13, p. 5008-5010, 1989.
- [82] SAVARIZ, Franciele Cristina et al. Synthesis and antitumor activity of novel 1-substituted phenyl 3-(2-oxo-1, 3, 4-oxadiazol-5-yl) β -carbolines and their Mannich bases. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 22, n. 24, p. 6867-6875, 2014.
- [83] BENASSI, Jean C. et al. Novel dihydropyrimidinone-derived selenoesters as potential cytotoxic agents to human hepatocellular carcinoma: molecular docking and DNA fragmentation. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents**, v. 21, n. 6, p. 703-715, 2021.
- [84] KHAN, Kifayat Ullah et al. Overview of nanoparticulate strategies for solubility enhancement of poorly soluble drugs. **Life sciences**, v. 291, p. 120301, 2022.
- [85] CHAKRABARTI, Sukanya; BHATTACHARYYA, Dhananjay; DASGUPTA, Dipak. Structural basis of DNA recognition by anticancer antibiotics, chromomycin A3, and mithramycin: Roles of minor groove width and ligand flexibility. **Biopolymers: Original Research on Biomolecules**, v. 56, n. 2, p. 85-95, 2000.
- [86] BROSSARD, E. E.; CORCELLI, S. A. Molecular mechanism of ligand binding to the minor groove of DNA. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 14, n. 19, p. 4583-4590, 2023.
- [87] HAMILTON, Paris L.; ARYA, Dev P. Natural product DNA major groove binders. **Natural product reports**, v. 29, n. 2, p. 134-143, 2012.
- [88] WEBER, Andressa CH et al. Visible-Light Promoted Stereoselective Arylselanyl Functionalization of Alkynes. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2018, n. 47, p. 6738-6742, 2018.
- [89] SIRAJUDDIN, Muhammad; ALI, Saqib; BADSHAH, Amin. Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 124, p. 1-19, 2013.
- [90] PERONI, Pedro H. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ACRIDINODIONAS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL in vitro. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

[91] PACHECO, Isadora B. Estudo molecular e espectroscópico da interação de derivados dihidropiridínicos com o DNA. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2023.

ANEXOS

Tabela ANEXO 1 – Código e estruturas do banco de dados de quinoxalinas.



CÓDIGO	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
QNX001	4-H	4-H	4-H	4-H
QNX002	4-H	4-H	4-OCH ₃	4-H
QNX003	4-H	4-H	4-COCH ₃	4-H
QNX004	4-H	4-H	2-NH ₂	4-H
QNX005	4-H	4-H	4-NO ₂	4-H
QNX006	4-H	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-H
QNX007	4-H	4-H	4-COOH	4-H
QNX008	4-H	4-H	2-CH ₃	4-H
QNX009	Br	4-H	4-H	4-H
QNX010	Br	4-H	4-OCH ₃	4-H
QNX011	Br	4-H	4-COCH ₃	4-H
QNX012	Br	4-H	2-NH ₂	4-H
QNX013	Br	4-H	4-NO ₂	4-H
QNX014	Br	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-H
QNX015	Br	4-H	4-COOH	4-H
QNX016	Br	4-H	2-CH ₃	4-H
QNX017	4-H	Br	4-OCH ₃	4-H

QNX018	4-H	Br	4-COCH ₃	4-H
QNX019	4-H	Br	2-NH ₂	4-H
QNX020	4-H	Br	4-NO ₂	4-H
QNX021	4-H	Br	2-OH-4-NO ₂	4-H
QNX022	4-H	Br	4-COOH	4-H
QNX023	4-H	Br	2-CH ₃	4-H
QNX024	4-H	4-H	4-H	4-OCF ₃
QNX025	4-H	Br	4-H	4-OCF ₃
QNX026	Br	4-H	4-H	4-OCF ₃
QNX027	4-H	4-H	4-OCH ₃	4-OCF ₃
QNX028	4-H	4-H	4-COCH ₃	4-OCF ₃
QNX029	4-H	4-H	2-NH ₂	4-OCF ₃
QNX030	4-H	4-H	4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX031	4-H	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX032	4-H	4-H	4-COOH	4-OCF ₃
QNX033	4-H	4-H	2-CH ₃	4-OCF ₃
QNX034	Br	4-H	4-OCH ₃	4-OCF ₃
QNX035	Br	4-H	4-COCH ₃	4-OCF ₃
QNX036	Br	4-H	2-NH ₂	4-OCF ₃
QNX037	Br	4-H	4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX038	Br	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX039	Br	4-H	4-COOH	4-OCF ₃
QNX040	Br	4-H	2-CH ₃	4-OCF ₃
QNX041	4-H	Br	4-OCH ₃	4-OCF ₃
QNX042	4-H	Br	4-COCH ₃	4-OCF ₃
QNX043	4-H	Br	2-NH ₂	4-OCF ₃
QNX044	4-H	Br	4-NO ₂	4-OCF ₃

QNX045	4-H	Br	2-OH-4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX046	4-H	Br	4-COOH	4-OCF ₃
QNX047	4-H	Br	2-CH ₃	4-OCF ₃
QNX048	Cl	4-H	4-H	4-H
QNX049	Cl	4-H	4-OCH ₃	4-H
QNX050	Cl	4-H	4-COCH ₃	4-H
QNX051	Cl	4-H	2-NH ₂	4-H
QNX052	Cl	4-H	4-NO ₂	4-H
QNX053	Cl	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-H
QNX054	Cl	4-H	4-COOH	4-H
QNX055	Cl	4-H	2-CH ₃	4-H
QNX056	4-H	Cl	4-OCH ₃	4-H
QNX057	4-H	Cl	4-COCH ₃	4-H
QNX058	4-H	Cl	2-NH ₂	4-H
QNX059	4-H	Cl	4-NO ₂	4-H
QNX060	4-H	Cl	2-OH-4-NO ₂	4-H
QNX061	4-H	Cl	4-COOH	4-H
QNX062	4-H	Cl	2-CH ₃	4-H
QNX063	4-H	Cl	4-H	4-OCF ₃
QNX064	Cl	4-H	4-H	4-OCF ₃
QNX065	Cl	4-H	4-OCH ₃	4-OCF ₃
QNX066	Cl	4-H	4-COCH ₃	4-OCF ₃
QNX067	Cl	4-H	2-NH ₂	4-OCF ₃
QNX068	Cl	4-H	4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX069	Cl	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX070	Cl	4-H	4-COOH	4-OCF ₃
QNX071	Cl	4-H	2-CH ₃	4-OCF ₃

QNX072	4-H	Cl	4-OCH ₃	4-OCF ₃
QNX073	4-H	Cl	4-COCH ₃	4-OCF ₃
QNX074	4-H	Cl	2-NH ₂	4-OCF ₃
QNX075	4-H	Cl	4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX076	4-H	Cl	2-OH-4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX077	4-H	Cl	4-COOH	4-OCF ₃
QNX078	4-H	Cl	2-CH ₃	4-OCF ₃
QNX079	F	4-H	4-H	4-H
QNX080	F	4-H	4-OCH ₃	4-H
QNX081	F	4-H	4-COCH ₃	4-H
QNX082	F	4-H	2-NH ₂	4-H
QNX083	F	4-H	4-NO ₂	4-H
QNX084	F	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-H
QNX085	F	4-H	4-COOH	4-H
QNX086	F	4-H	2-CH ₃	4-H
QNX087	4-H	F	4-OCH ₃	4-H
QNX088	4-H	F	4-COCH ₃	4-H
QNX089	4-H	F	2-NH ₂	4-H
QNX090	4-H	F	4-NO ₂	4-H
QNX091	4-H	F	2-OH-4-NO ₂	4-H
QNX092	4-H	F	4-COOH	4-H
QNX093	4-H	F	2-CH ₃	4-H
QNX094	4-H	F	4-H	4-OCF ₃
QNX095	F	4-H	4-H	4-OCF ₃
QNX096	F	4-H	4-OCH ₃	4-OCF ₃
QNX097	F	4-H	4-COCH ₃	4-OCF ₃
QNX098	F	4-H	2-NH ₂	4-OCF ₃

QNX099	F	4-H	4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX100	F	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX101	F	4-H	4-COOH	4-OCF ₃
QNX102	F	4-H	2-CH ₃	4-OCF ₃
QNX103	4-H	F	4-OCH ₃	4-OCF ₃
QNX104	4-H	F	4-COCH ₃	4-OCF ₃
QNX105	4-H	F	2-NH ₂	4-OCF ₃
QNX106	4-H	F	4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX107	4-H	F	2-OH-4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX108	4-H	F	4-COOH	4-OCF ₃
QNX109	4-H	F	2-CH ₃	4-OCF ₃
QNX110	NO ₂	4-H	4-H	4-H
QNX111	NO ₂	4-H	4-OCH ₃	4-H
QNX112	NO ₂	4-H	4-COCH ₃	4-H
QNX113	NO ₂	4-H	2-NH ₂	4-H
QNX114	NO ₂	4-H	4-NO ₂	4-H
QNX115	NO ₂	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-H
QNX116	NO ₂	4-H	4-COOH	4-H
QNX117	NO ₂	4-H	2-CH ₃	4-H
QNX118	4-H	NO ₂	4-OCH ₃	4-H
QNX119	4-H	NO ₂	4-COCH ₃	4-H
QNX120	4-H	NO ₂	2-NH ₂	4-H
QNX121	4-H	NO ₂	4-NO ₂	4-H
QNX122	4-H	NO ₂	2-OH-4-NO ₂	4-H
QNX123	4-H	NO ₂	4-COOH	4-H
QNX124	4-H	NO ₂	2-CH ₃	4-H
QNX125	4-H	NO ₂	4-H	4-OCF ₃

QNX126	NO ₂	4-H	4-H	4-OCF ₃
QNX127	NO ₂	4-H	4-OCH ₃	4-OCF ₃
QNX128	NO ₂	4-H	4-COCH ₃	4-OCF ₃
QNX129	NO ₂	4-H	2-NH ₂	4-OCF ₃
QNX130	NO ₂	4-H	4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX131	NO ₂	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX132	NO ₂	4-H	4-COOH	4-OCF ₃
QNX133	NO ₂	4-H	2-CH ₃	4-OCF ₃
QNX134	4-H	NO ₂	4-OCH ₃	4-OCF ₃
QNX135	4-H	NO ₂	4-COCH ₃	4-OCF ₃
QNX136	4-H	NO ₂	2-NH ₂	4-OCF ₃
QNX137	4-H	NO ₂	4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX138	4-H	NO ₂	2-OH-4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX139	4-H	NO ₂	4-COOH	4-OCF ₃
QNX140	4-H	NO ₂	2-CH ₃	4-OCF ₃
QNX141	CF ₃	CF ₃	4-H	4-H
QNX142	CF ₃	CF ₃	4-OCH ₃	4-H
QNX143	CF ₃	CF ₃	4-COCH ₃	4-H
QNX144	CF ₃	CF ₃	2-NH ₂	4-H
QNX145	CF ₃	CF ₃	4-NO ₂	4-H
QNX146	CF ₃	CF ₃	2-OH-4-NO ₂	4-H
QNX147	CF ₃	CF ₃	4-COOH	4-H
QNX148	CF ₃	CF ₃	2-CH ₃	4-H
QNX149	CF ₃	CF ₃	4-H	4-OCF ₃
QNX150	CF ₃	CF ₃	4-OCH ₃	4-OCF ₃
QNX151	CF ₃	CF ₃	4-COCH ₃	4-OCF ₃
QNX152	CF ₃	CF ₃	2-NH ₂	4-OCF ₃

QNX153	CF ₃	CF ₃	4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX154	CF ₃	CF ₃	2-OH-4-NO ₂	4-OCF ₃
QNX155	CF ₃	CF ₃	4-COOH	4-OCF ₃
QNX156	CF ₃	CF ₃	2-CH ₃	4-OCF ₃
QNX157	4-H	4-H	4-H	4-COOCH ₃
QNX158	Br	4-H	4-H	4-COOCH ₃
QNX159	4-H	Br	4-H	4-COOCH ₃
QNX160	Cl	4-H	4-H	4-COOCH ₃
QNX161	4-H	Cl	4-H	4-COOCH ₃
QNX162	F	4-H	4-H	4-COOCH ₃
QNX163	4-H	F	4-H	4-COOCH ₃
QNX164	NO ₂	4-H	4-H	4-COOCH ₃
QNX165	4-H	NO ₂	4-H	4-COOCH ₃
QNX166	CF ₃	CF ₃	4-H	4-COOCH ₃
QNX167	4-H	4-H	4-OCH ₃	4-COOCH ₃
QNX168	Br	4-H	4-OCH ₃	4-COOCH ₃
QNX169	4-H	Br	4-OCH ₃	4-COOCH ₃
QNX170	Cl	4-H	4-OCH ₃	4-COOCH ₃
QNX171	4-H	Cl	4-OCH ₃	4-COOCH ₃
QNX172	F	4-H	4-OCH ₃	4-COOCH ₃
QNX173	4-H	F	4-OCH ₃	4-COOCH ₃
QNX174	NO ₂	4-H	4-OCH ₃	4-COOCH ₃
QNX175	4-H	NO ₂	4-OCH ₃	4-COOCH ₃
QNX176	CF ₃	CF ₃	4-OCH ₃	4-COOCH ₃
QNX177	4-H	4-H	4-COCH ₃	4-COOCH ₃
QNX178	Br	4-H	4-COCH ₃	4-COOCH ₃
QNX179	4-H	Br	4-COCH ₃	4-COOCH ₃

QNX180	Cl	4-H	4-COCH ₃	4-COOCH ₃
QNX181	4-H	Cl	4-COCH ₃	4-COOCH ₃
QNX182	F	4-H	4-COCH ₃	4-COOCH ₃
QNX183	4-H	F	4-COCH ₃	4-COOCH ₃
QNX184	NO ₂	4-H	4-COCH ₃	4-COOCH ₃
QNX185	4-H	NO ₂	4-COCH ₃	4-COOCH ₃
QNX186	CF ₃	CF ₃	4-COCH ₃	4-COOCH ₃
QNX187	4-H	4-H	2-NH ₂	4-COOCH ₃
QNX188	Br	4-H	2-NH ₂	4-COOCH ₃
QNX189	4-H	Br	2-NH ₂	4-COOCH ₃
QNX190	Cl	4-H	2-NH ₂	4-COOCH ₃
QNX191	4-H	Cl	2-NH ₂	4-COOCH ₃
QNX192	F	4-H	2-NH ₂	4-COOCH ₃
QNX193	4-H	F	2-NH ₂	4-COOCH ₃
QNX194	NO ₂	4-H	2-NH ₂	4-COOCH ₃
QNX195	4-H	NO ₂	2-NH ₂	4-COOCH ₃
QNX196	CF ₃	CF ₃	2-NH ₂	4-COOCH ₃
QNX197	4-H	4-H	4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX198	Br	4-H	4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX199	4-H	Br	4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX200	Cl	4-H	4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX201	4-H	Cl	4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX202	F	4-H	4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX203	4-H	F	4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX204	NO ₂	4-H	4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX205	4-H	NO ₂	4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX206	CF ₃	CF ₃	4-NO ₂	4-COOCH ₃

QNX207	4-H	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX208	Br	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX209	4-H	Br	2-OH-4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX210	Cl	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX211	4-H	Cl	2-OH-4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX212	F	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX213	4-H	F	2-OH-4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX214	NO ₂	4-H	2-OH-4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX215	4-H	NO ₂	2-OH-4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX216	CF ₃	CF ₃	2-OH-4-NO ₂	4-COOCH ₃
QNX217	4-H	4-H	4-COOH	4-COOCH ₃
QNX218	Br	4-H	4-COOH	4-COOCH ₃
QNX219	4-H	Br	4-COOH	4-COOCH ₃
QNX220	Cl	4-H	4-COOH	4-COOCH ₃
QNX221	4-H	Cl	4-COOH	4-COOCH ₃
QNX222	F	4-H	4-COOH	4-COOCH ₃
QNX223	4-H	F	4-COOH	4-COOCH ₃
QNX224	NO ₂	4-H	4-COOH	4-COOCH ₃
QNX225	4-H	NO ₂	4-COOH	4-COOCH ₃
QNX226	CF ₃	CF ₃	4-COOH	4-COOCH ₃
QNX227	4-H	4-H	2-CH ₃	4-COOCH ₃
QNX228	Br	4-H	2-CH ₃	4-COOCH ₃
QNX229	4-H	Br	2-CH ₃	4-COOCH ₃
QNX230	Cl	4-H	2-CH ₃	4-COOCH ₃
QNX231	4-H	Cl	2-CH ₃	4-COOCH ₃
QNX232	F	4-H	2-CH ₃	4-COOCH ₃
QNX233	4-H	F	2-CH ₃	4-COOCH ₃

QNX234	NO ₂	4-H	2-CH ₃	4-COOCH ₃
QNX235	4-H	NO ₂	2-CH ₃	4-COOCH ₃
QNX236	CF ₃	CF ₃	2-CH ₃	4-COOCH ₃

Tabela ANEXO 2 – Valores de WLogP e TPSA para os compostos que apresentaram permeação da barreira hematoencefálica (BBB)

Código	WLOGP	TPSA
QNX001	4.96	25.78
QNX002	4.97	35.01
QNX003	5.17	42.85
QNX004	4.55	51.80
QNX007	4.66	63.08
QNX008	5.27	25.78
QNX009	5.73	25.78
QNX010	5.73	35.01
QNX012	5.32	51.80
QNX017	5.73	35.01
QNX019	5.32	51.80
QNX048	5.62	25.78
QNX049	5.63	35.01
QNX050	5.82	42.85
QNX051	5.21	51.80
QNX056	5.63	35.01
QNX057	5.82	42.85
QNX058	5.21	51.80
QNX079	5.52	25.78
QNX080	5.53	35.01
QNX081	5.73	42.85
QNX082	5.11	51.80
QNX085	5.22	63.08
QNX086	5.83	25.78
QNX087	5.53	35.01

QNX088	5.73	42.85
QNX089	5.11	51.80
QNX092	5.22	63.08
QNX093	5.83	25.78
QNX157	4.75	52.08
QNX158	5.51	52.08
QNX159	5.51	52.08
QNX160	5.40	52.08
QNX161	5.40	52.08
QNX162	5.31	52.08
QNX163	5.31	52.08
QNX167	4.76	61.31
QNX172	5.32	61.31
QNX173	5.32	61.31
QNX227	5.06	52.08
QNX230	5.71	52.08
QNX231	5.71	52.08
QNX232	5.62	52.08
QNX233	5.62	52.08

Tabela ANEXO 3 – Valores de Energia livre de ligação (DOPC), coeficiente de permeabilidade através de uma Black Lipid Membrane (BLM) e coeficiente de permeabilidade através da barreira hematoencefálica (BBB).

Código	Energia livre	Log. BLM	Log. BBB
QNX001	-6,33	2,79	-1,91
QNX002	-4,95	1,07	-2,52
QNX003	-5,77	0,99	-2,55
QNX004	-5,99	1,40	-2,40
QNX007	-5,75	-0,52	-3,08
QNX008	-6,44	2,86	-1,89
QNX009	-6,54	2,54	-2
QNX010	-5,16	0,86	-2,59
QNX012	-5,67	1,07	-2,52
QNX017	-5,13	0,92	-2,57
QNX019	-5,67	1,03	-2,53
QNX048	-6,23	2,25	-2,1
QNX049	-4,82	0,58	-2,69
QNX050	-5,73	0,48	-2,72
QNX051	-5,34	0,78	-2,62
QNX056	-4,78	0,59	-2,68
QNX057	-5,54	0,48	-2,72
QNX058	-5,34	0,79	-2,62
QNX079	-6,01	2,06	-2,17
QNX080	-4,53	0,38	-2,76
QNX081	-5,45	0,29	-2,79
QNX082	-5,09	0,59	-2,69
QNX085	-4,78	-1,23	-3,33
QNX086	-6,12	2,14	-2,14

QNX087	-4,49	0,41	-2,75
QNX088	-5,25	0,28	-2,8
QNX089	-5,08	0,58	-2,69
QNX092	-4,73	-1,14	-3,3
QNX093	-6,12	2,11	-2,15
QNX157	-4,96	0,51	-2,71
QNX158	-5,15	0,34	-2,78
QNX159	-5,18	0,22	-2,82
QNX160	-4,8	0,04	-2,88
QNX161	-4,84	-0,07	-2,92
QNX162	-4,51	-0,18	-2,96
QNX163	-4,55	-0,27	-2,99
QNX167	-3,94	-1,33	-3,36
QNX172	-3,19	-2,04	-3,61
QNX173	-3,19	-2,12	-3,64
QNX227	-4,99	0,58	-2,69
QNX230	-4,83	0,12	-2,85
QNX231	-4,87	0,01	-2,89
QNX232	-4,54	-0,1	-2,93
QNX233	-4,58	-0,19	-2,96

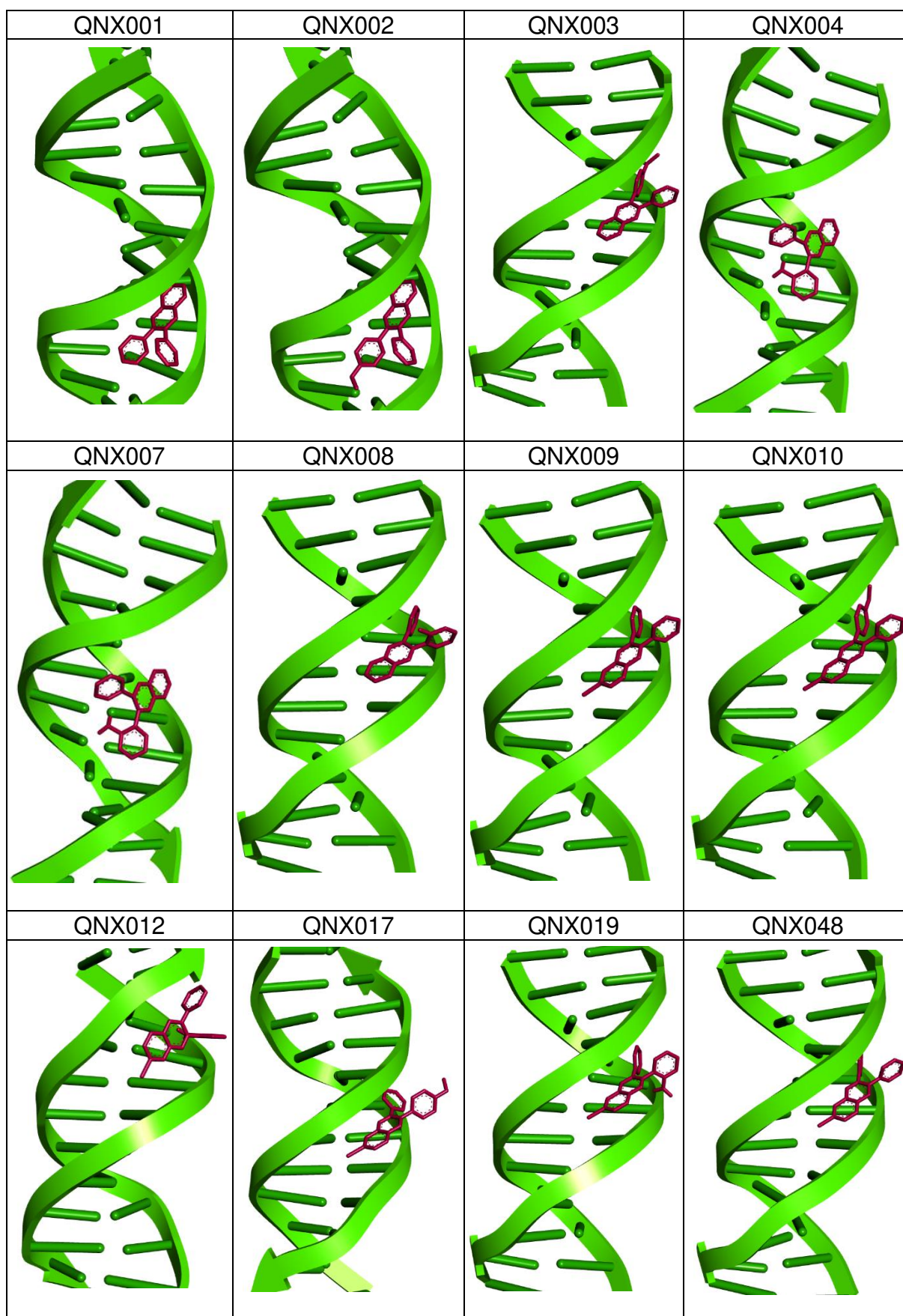
Tabela ANEXO 4 – Valores de energia livre, tipo e localização da interação de derivados quinoxalínicos com DNA, obtidos a partir de *docking* molecular.

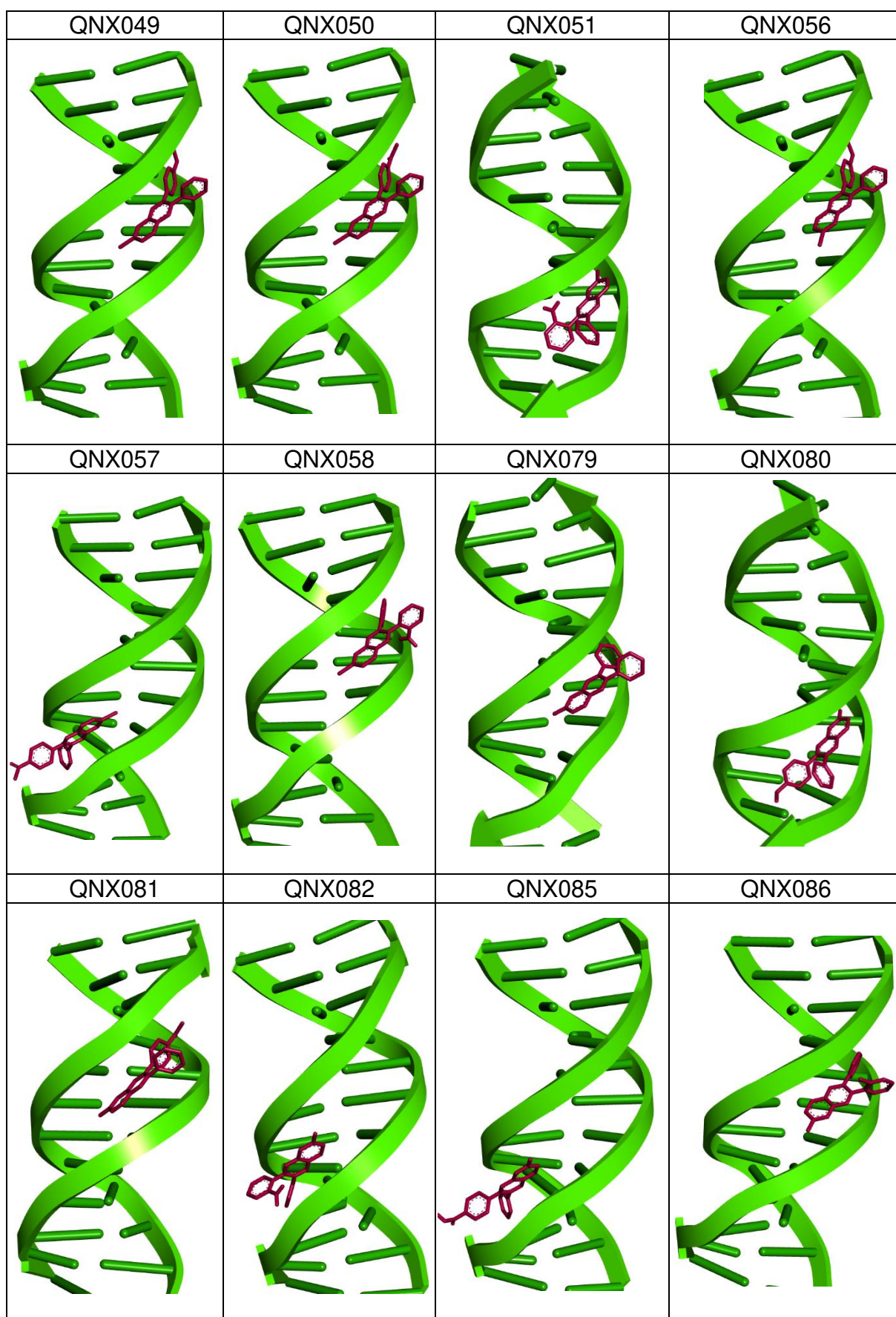
Código	Energia (kcal/mol)	Tipo de interação	Sulco menor/menor do DNA
QNX001	-7,50	π - π + ligação de hidrogênio	menor
QNX002	-7,40	π - π + ligação de hidrogênio + carbono-hidrogênio	menor
QNX003	-7,77	π - π + ligação de hidrogênio	maior
QNX004	-5,82	π - π + ligação de hidrogênio	menor
QNX007	-5,99	π - π + ligação de hidrogênio	menor
QNX008	-6,78	π - π + π -doador	maior
QNX009	-7,52	halogênio	maior
QNX010	-7,86	halogênio + carbono-hidrogênio + π -alquil	maior
QNX012	-6,31	π - π + ligação de hidrogênio + π -alquil	maior
QNX017	-7,21	π -alquil + carbono-hidrogênio	maior
QNX019	-7,46	ligação de hidrogênio	maior
QNX048	-7,37	π -alquil + halogênio	maior
QNX049	-7,78	π -alquil + halogênio	maior
QNX050	-8,42	π -alquil + halogênio + ligação de hidrogênio	maior
QNX051	-7,72	π - π + ligação de hidrogênio	menor
QNX056	-7,33	carbono-hidrogênio	maior
QNX057	-8,06	π - π + ligação de hidrogênio + π -alquil	menor

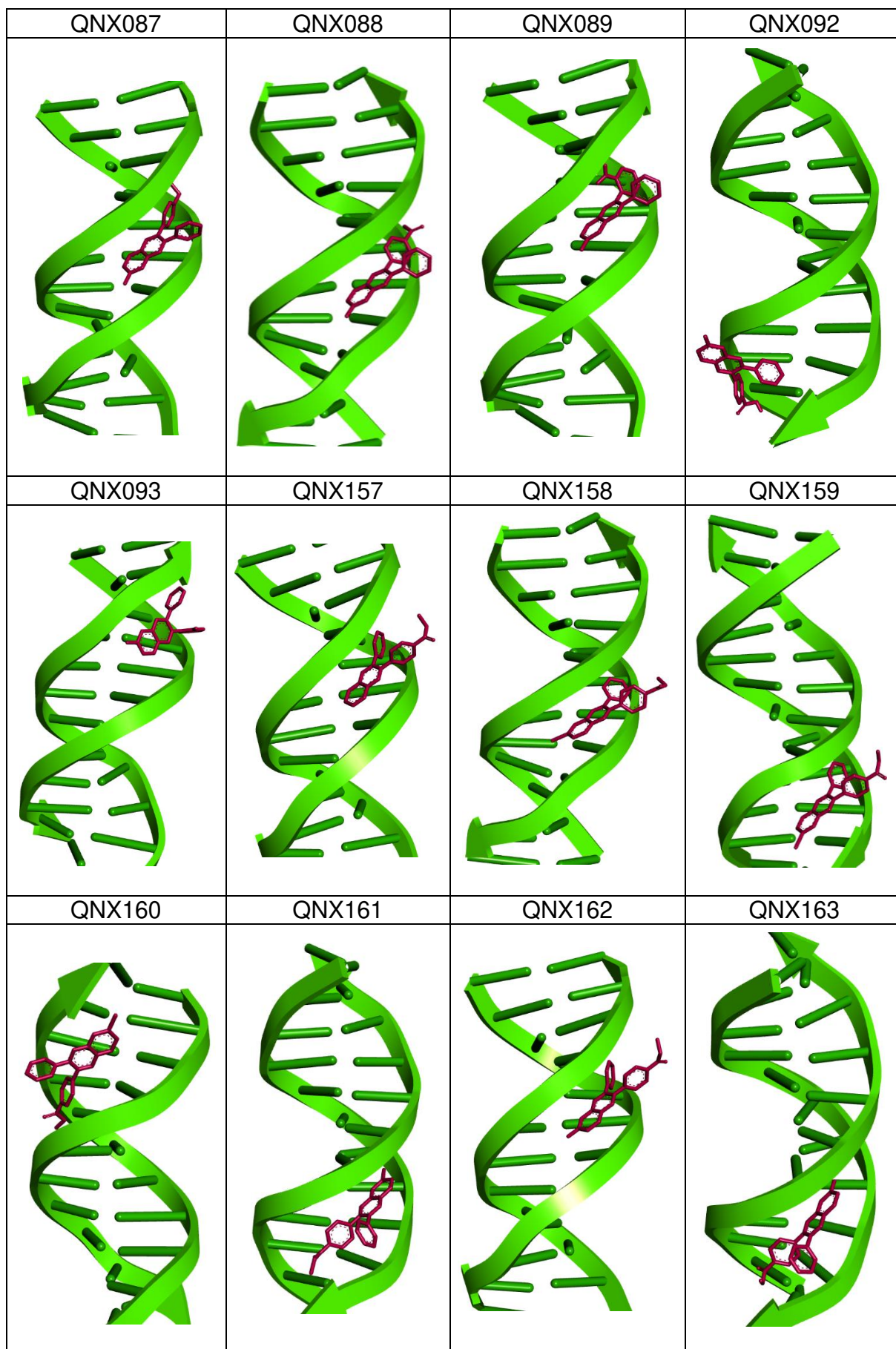
QNX058	-7,36	π - π + ligação de hidrogênio + π -alquil	maior
QNX079	-6,79	ligação de hidrogênio + carbono-hidrogênio	maior
QNX080	-7,3	π - π + ligação de hidrogênio + halogênio + carbono-hidrogênio	menor
QNX081	-7,78	π - π + ligação de hidrogênio + halogênio	maior
QNX082	-6,82	π - π + ligação de hidrogênio	menor
QNX085	-5,92	ligação de hidrogênio	menor
QNX086	-6,6	π - π + π -doador	maior
QNX087	-7,01	π - π + carbono-hidrogênio	maior
QNX088	-7,26	π - π	maior
QNX089	-7,21	interação π - π + ligação de hidrogênio	maior
QNX092	-5,13	π - σ + ligação de hidrogênio	menor
QNX093	-5,93	π - π + ligação de hidrogênio	maior
QNX157	-6,61	π - π	maior
QNX158	-6,69	π -alquil	maior
QNX159	-6,24	π - π + ligação de hidrogênio + carbono-hidrogênio	menor
QNX160	-6,6	π - π + ligação de hidrogênio + π -alquil	maior
QNX161	-8,37	π - π + ligação de hidrogênio + π -alquil	menor
QNX162	-6,62	halogênio + carbono-hidrogênio	maior

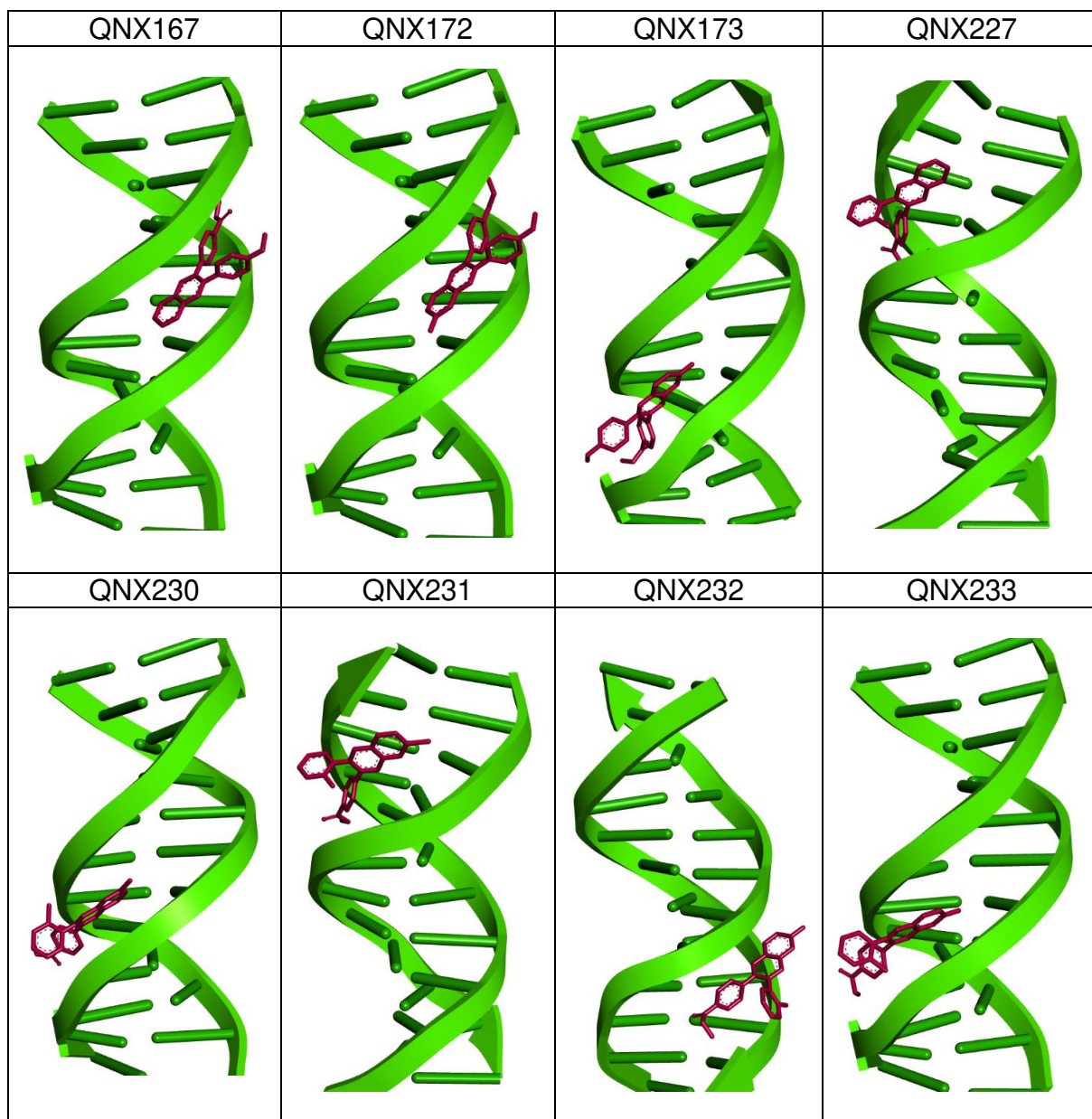
QNX163	-7,65	π - π + ligação de hidrogênio + halogênio	menor
QNX167	-6,85	π - π + ligação de hidrogênio + π -alquil	maior
QNX172	-6,93	ligação de hidrogênio + π -alquil + carbono-hidrogênio	maior
QNX173	-6,98	π - π + ligação de hidrogênio + halogênio	menor
QNX227	-6,47	π - π + ligação de hidrogênio + π -alquil + carbono-hidrogênio	maior
QNX230	-6,51	ligação de hidrogênio	menor
QNX231	-6,78	π - π + ligação de hidrogênio + π -doador	maior
QNX232	-6,71	ligação de hidrogênio + carbono-hidrogênio	menor
QNX233	-6,54	carbono-hidrogênio + halogênio	menor

ANEXO 5 – Interações ligantes (magenta) com os sulcos do DNA (verde).

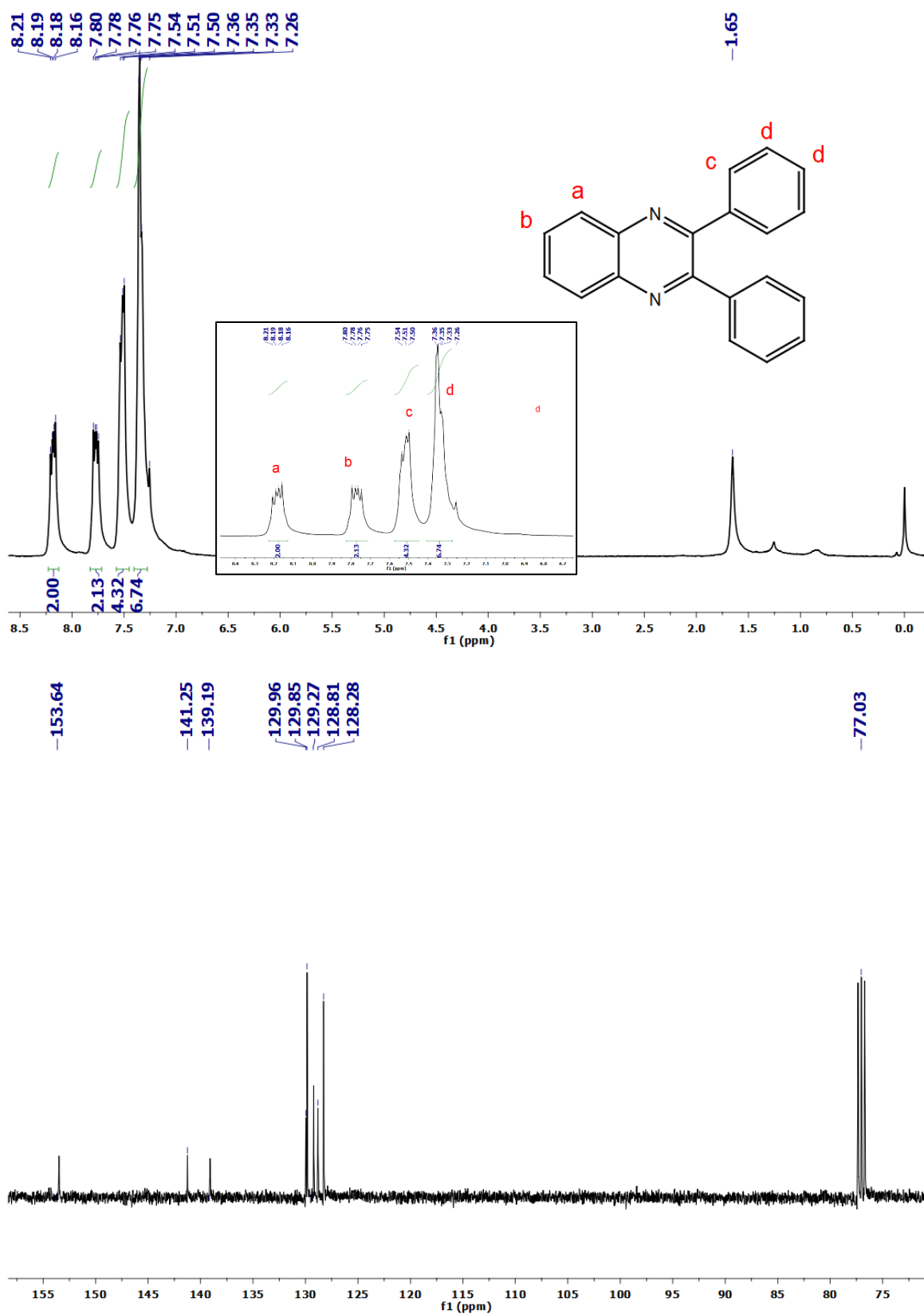


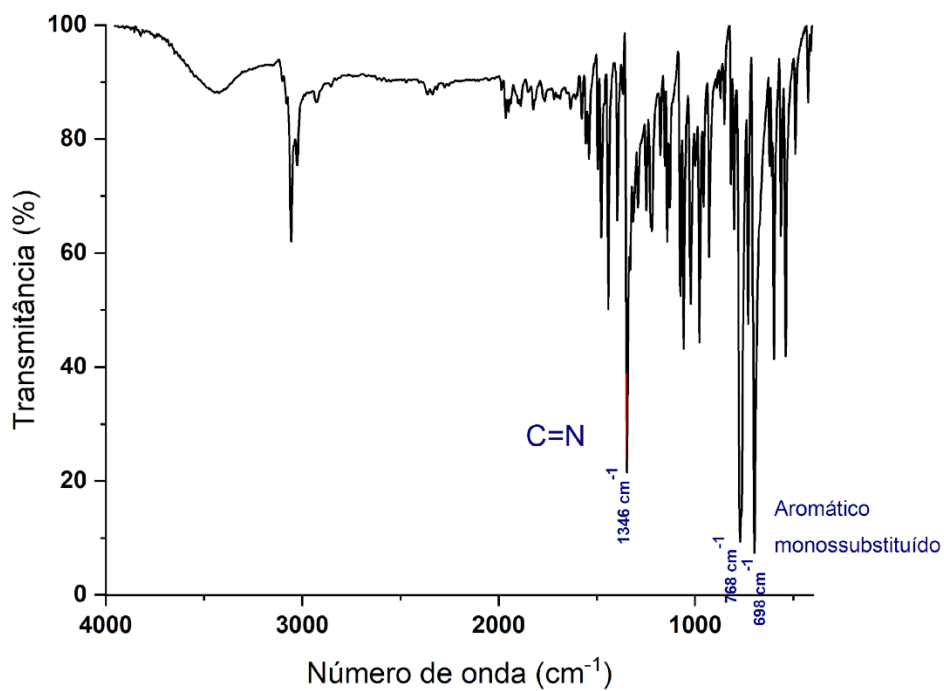




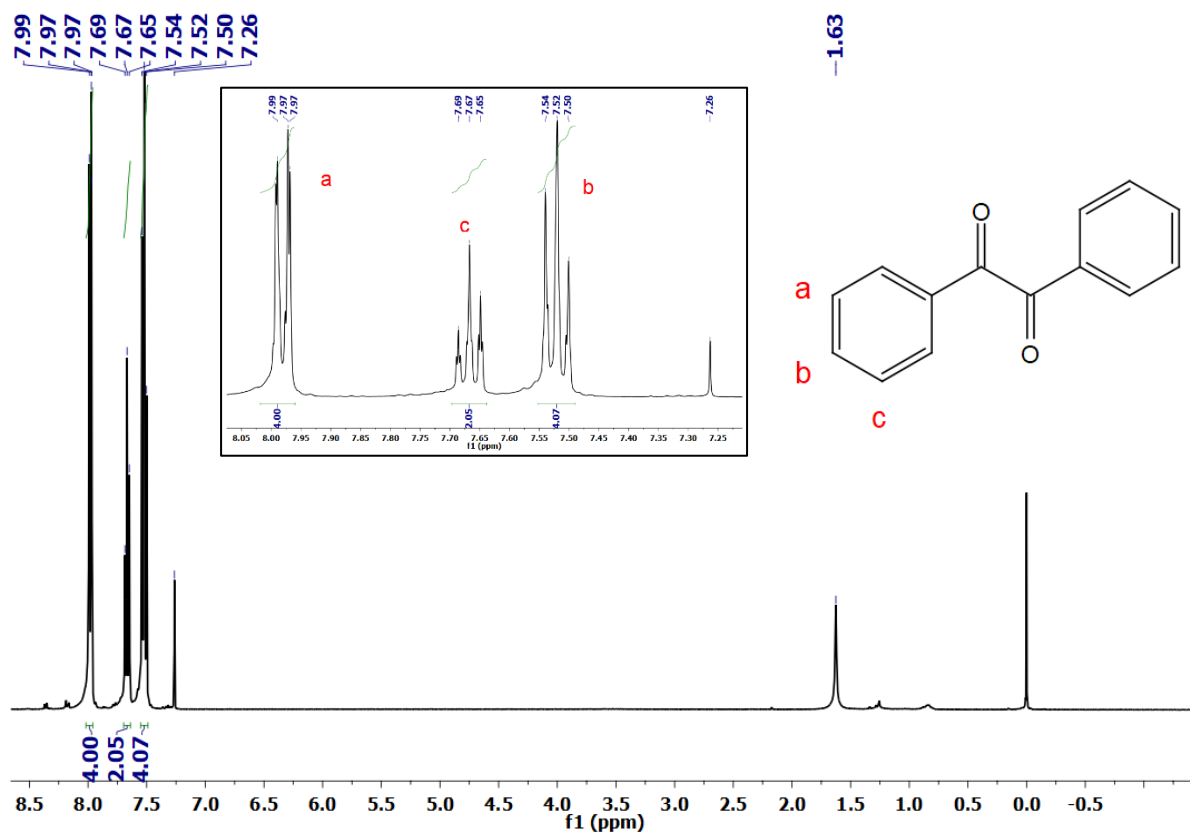


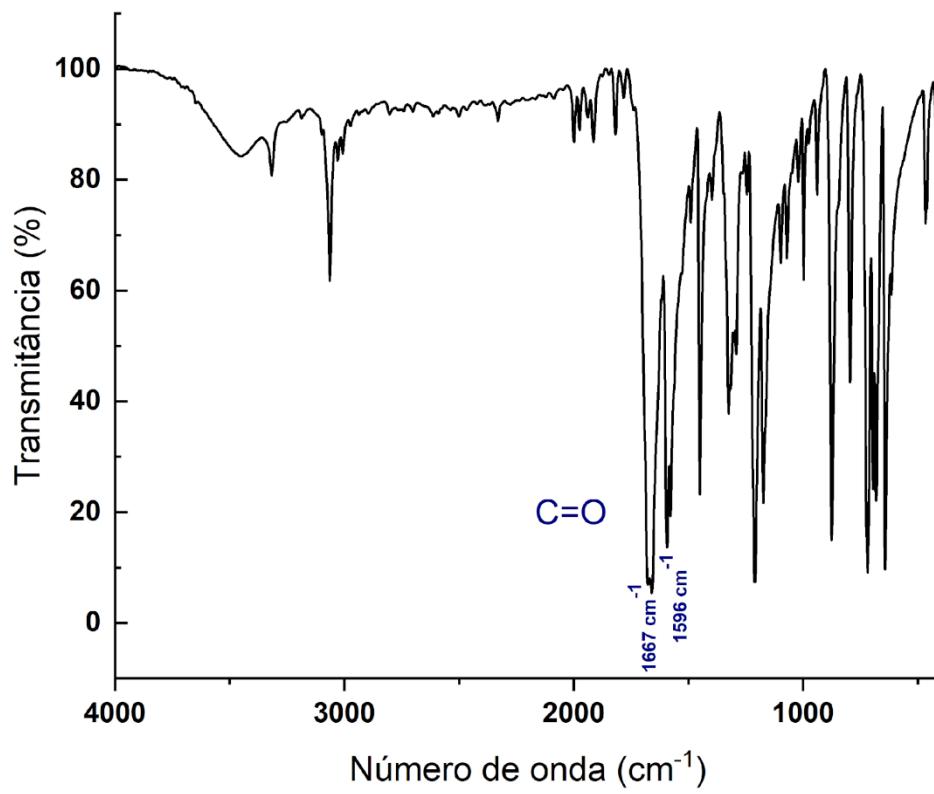
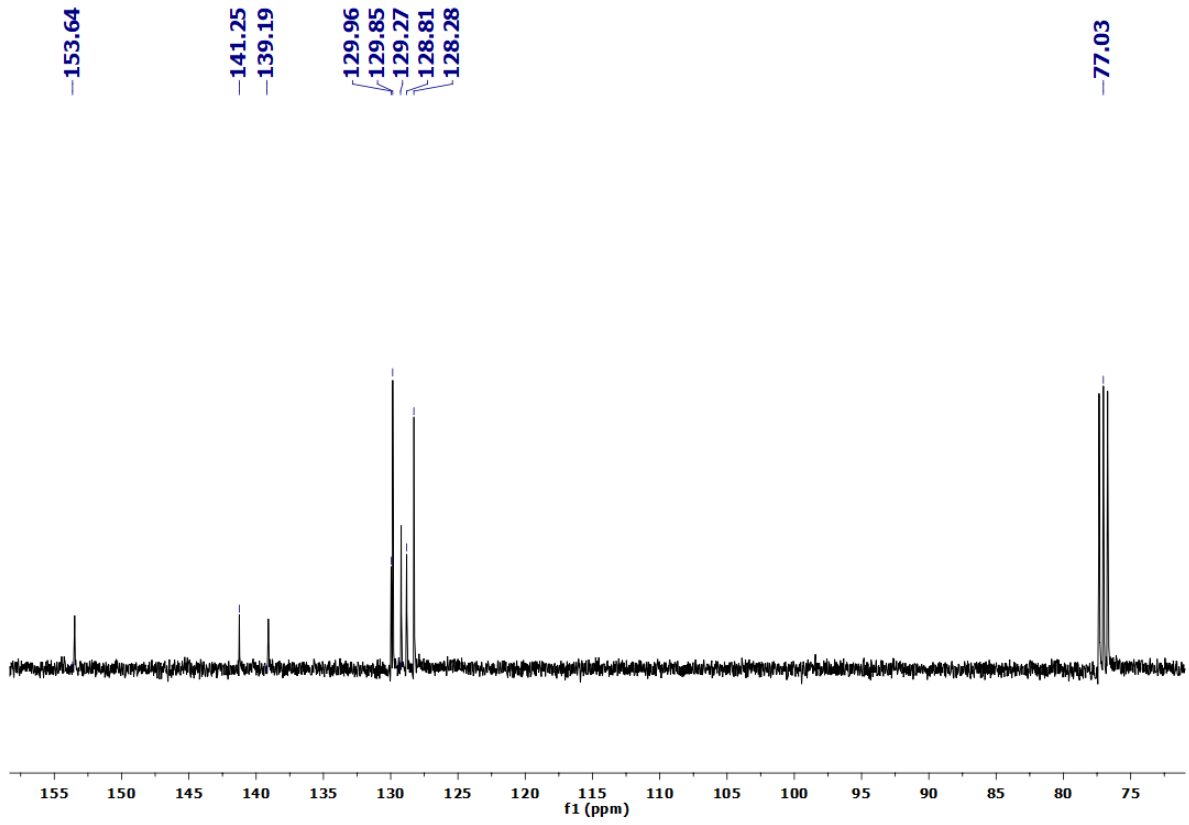
ANEXO 6 – Caracterizações ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) e espectro na região do Infravermelho (IV) para composto 1.





ANEXO 7 – Caracterizações ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) e espectro na região do Infravermelho (IV) para composto 3.





ANEXO 8 – Caracterizações ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) e espectro na região do Infravermelho (IV) para composto 5.

