

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Isabela de Oliveira Souza

**SÍNTESE DE DERIVADOS AMINOQUINOLÍNICOS E AVALIAÇÃO DO EFEITO
EM PROTOZOÁRIOS**

Juiz de Fora 2017

Isabela de Oliveira Souza

**SÍNTESE DE DERIVADOS AMINOQUINOLÍNICOS E AVALIAÇÃO DO EFEITO
EM PROTOZOÁRIOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós- graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Adilson David da Silva

Co-Orientadora: Prof^ª. Dra. Elaine Soares Coimbra

Juiz de Fora 2017

“A voz de Deus nos diz constantemente: Uma falsa ciência faz um homem ateu, mas uma verdadeira ciência leva o homem a Deus.”

Voltaire

*“Só nos tornamos adultos quando perdemos o medo de errar.
Não somos apenas a soma das nossas escolhas, mas também
das nossas renúncias. ”*

Martha Medeiros

Dedico este trabalho aos meus pais Janio e Bete, meu irmão Eric e a minha vó Nilce (saudades), que sempre estiveram comigo me dando força e suporte para seguir em frente.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre iluminar meu caminho colocando pessoas boas e experiências que fizeram de mim uma pessoa melhor.

Aos meus pais, Janio e Bete, por tudo que fizeram por mim ao longo desses anos, toda dedicação, amor, carinho e convivência do dia a dia, fizeram com toda certeza a diferença na formação do ser humano que me tornei, vocês são meus exemplos e motivo de muito orgulho para mim.

Ao meu irmão, Eric, por todos os momentos de descontração que passamos juntos, pelas vezes que ia ao meu quarto quebrar um pouco do nervosismo com o seu violão, tudo bem que cantar não é o forte dele, mas o que realmente valeu foi estreitar ainda mais a nossa amizade compartilhando momentos de alegria e que fizeram a minha vida ter muito mais graça.

Aos meus tios e meus primos, pois sempre estiveram ao meu lado desde quando cheguei a Juiz de Fora, me dando apoio e incentivo para seguir em frente!

Ao meu orientador, Adilson, por toda a paciência que teve comigo ao longo desses anos (e põe paciência nisso rsrs). Depois de seis anos de convivência nos tornamos amigos, compartilhamos vários momentos bons no laboratório, muitas risadas e é isso que eu vou levar para minha vida toda, o exemplo de ser humano que você é! Mesmo sendo um excelente profissional você não deixou seu olhar humano de lado, sempre consegue ver e compreender nossos problemas da melhor maneira possível, Muito obrigada por tudo.

A minha coorientadora, Elaine, por toda orientação no decorrer do projeto, por me acolher tão bem em seu grupo de pesquisa, por toda paciência e dedicação.

Ao professor Alexandre Cuin, por toda orientação no preparo e caracterização dos complexos de prata, espero que nossa parceria científica possa continuar daqui para frente, foi um prazer trabalhar com você!

A aluna de doutorado Luciana, por me ensinar o passo a passo dos testes biológicos e da rotina em um laboratório novo.

Ao professor, Dr. Alexandre Cuin, pela parceria na síntese e caracterização dos complexos de prata.

Às professoras, Dra Fernanda Bombonato e Dra Juliana, pela atenção e contribuição no exame de qualificação e no decorrer do mestrado.

Aos meus amigos da química, Juliana, por me ensinar os primeiros passos dentro do laboratório, Nelson (doido), pelas conversas sempre muito divertidas acompanhadas sempre de um delicioso café, e, em especial gostaria de agradecer a amiga Arturene, não vou dizer que ela foi minha mãe científica pois ela é jovem para tal, nós nos identificamos desde o início e ela foi uma das responsáveis por eu estar aqui hoje, Muito obrigada por tudo!

Aos colegas do lab 3, Pedro, Raissa, Nicolas, Giovanna, Amanda e Yasmin, por tornarem o ambiente de trabalho agradável e divertido. Nós estabelecemos uma união muito bonita onde sabemos que podemos contar uns com os outros em qualquer momento, e isso é a melhor coisa que poderia ter um grupo de pesquisa, queremos ver todos vencendo e conquistando cada vez mais coisas, pois o sucesso de um é o sucesso do grupo!

As minhas amigas, Ana, Ju e Raissa, nós formamos o quarteto do NUPEQ, estreitamos os nossos laços de amizade nesses últimos anos, compartilhamos nossos problemas pessoais e do laboratório também. Vocês foram o presente mais valioso que o mestrado poderia ter me dado, de fato não sei se teria aguentado tanta pressão se não fossem vocês me fazendo rir e aguentando minhas loucuras do dia a dia, amo vocês meninas!

RESUMO

Este trabalho mostra a síntese de 26 derivados aminoquinolínicos e suas avaliações em protozoários.

Para uma melhor apresentação do projeto este foi dividido em três séries: a primeira está relacionada à síntese de hidrazonas e a segunda à síntese de bases de *Schiff*. Os dois núcleos bioativos foram conjugados envolvendo o conceito de hibridação molecular. Já a terceira série envolveu a síntese de complexos de prata, a partir dos ligantes 4-aminoquinolínicos. Todos os compostos foram devidamente caracterizados utilizando técnicas espectroscópicas que permitiram a identificação dos mesmos.

Os compostos sintetizados tiveram seu potencial antiparasitário avaliado em parasitos do gênero *Leishmania* e *Plasmodium*, que são responsáveis pelas doenças Leishmanioses e Malária, respectivamente. Além disto, tiveram sua toxidez avaliada em células de mamíferos, tendo sido escolhidos macrófagos peritoneais de camundongos. Em relação à atividade leishmanicida, parte dos compostos foram ativos em *Leishmania* sp, com destaque para o composto **1a** em formas amastigotas de *L. amazonensis* (CI₅₀ de 8,1 µM), resultado próximo ao fármaco utilizado como referência, Miltefosina (CI₅₀ de 4,15µM). A maioria dos compostos não apresentou citotoxicidade expressiva para os macrófagos, com exceção dos compostos **1b**, **1f** e **2d**. Os testes em *Plasmodium* ainda estão em fase de análise.

Os resultados aqui apresentados confirmam o potencial biológico de derivados aminoquinolinas e estimulam a continuidade dos estudos com esta classe de moléculas para o tratamento de doenças parasitárias.

Palavras Chave: 4-aminoquinolinas, bases de *Schiff*, hidrazonas, leishmanioses, malária.

ABSTRACT

This work demonstrates the synthesis of 26 aminoquinolinic derivatives and their evaluation in protozoa.

For a better display, the project was divided into three series: the first is related to hydrazone synthesis and the second to synthesis of Schiff bases. The two bioactive nuclei were conjugated involving the concept of molecular hybridization. The third series involved the synthesis of silver complexes from the 4-aminoquinoline ligands. All components were properly characterized using spectroscopic techniques that allowed their identification.

The synthesized compounds had their antiparasitic potential evaluated in parasites of the genus *Leishmania* and *Plasmodium*, which are responsible for Leishmaniasis and Malaria, respectively. In addition, their toxicity was evaluated in mammalian cells using murine peritoneal macrophages. Regarding the leishmanicidal activity, part of the compounds presented activity against *Leishmania* sp, with emphasis on compound **1a** in amastigotes of *L. amazonensis* (IC 50 of 8.1 μ M), a close result to the reference drug Miltefosine (IC 50 of 4.15 μ M). Most compounds did not present expressive cytotoxicity for macrophages, except for compounds **1b**, **1f** and **2d**. *Plasmodium* tests are still under review.

These results confirm the potential biological of aminoquinoline derivatives and stimulate further studies with this class of molecules for the treatment of parasitic diseases.

Keywords: 4-aminoquinolines, *Schiff* bases, hydrazones, leishmania, malaria

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Planejamento de compostos híbridos entre quinolina, isatina e tiossemicarbazidas	30
Esquema 2: Mecanismo de substituição nucleofílica aromática em quinolinas.....	31
Esquema 4: Mecanismo de formação de iminas	35
Esquema 4: Estruturas químicas gerais dos compostos sintetizados.....	39
Esquema 5: Síntese dos compostos 4-aminoquinolínicos 1 , 2 , 3 e 4	40
Esquema 6: Síntese de compostos pertencentes a classe das azometinas	41
Esquema 7: Esquema geral de uma S_NAr	43
Esquema 8: Mecanismo de S_NAr na 4,7-dicloroquinolina	44
Esquema 10: Síntese dos compostos 4-aminoquinolínicos.....	44
Esquema 10: Mecanismo para formação de uma hidrazona	47
Esquema 12: Síntese dos compostos 1a - j	48
Esquema 13: Mecanismo para formação de bases de <i>Schiff</i>	56
Esquema 14: Síntese dos compostos da 2ª série (2a-i).....	57
Esquema 15: Possíveis estruturas de ressonância dos composto 1a-i	58
Esquema 16: Síntese dos complexos de prata.....	64
Esquema 18: Estrutura dos compostos 2d e 1d	78
Esquema 20: Estrutura dos derivados 4-aminoquinolínicos	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biológico e modo de transmissão das <i>Leishmania spp.</i>	22
Figura 2: Estrutura dos fármacos do tratamento de primeira escolha	24
Figura 3: Estrutura química das drogas de segunda escolha e primeira droga oral miltefosina.....	25
Figura 4: Ciclo biológico de <i>Plasmodium spp</i>	27
Figura 5: Estrutura dos compostos antimaláricos isolados.....	28
Figura 6: Estrutura dos bioisómeros da cloroquina	32
Figura 7: Estrutura química do trans-resveratrol.....	33
Figura 8: Bioisosterismo no núcleo estilbenóide	34
Figura 9: Estrutura da sulfadiazina de prata.....	37
Figura 10: Espectro na região do infravermelho do composto 2	45
Figura 11: Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz) do composto 2	46
Figura 12: Espectro de RMN de ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 126 MHz) do composto 2	47
Figura 13: Espectro de infravermelho do composto 1e	50
Figura 14: Espectro de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz) do composto 1e	51
Figura 15: Mapa de contornos homonuclear COSY do composto 1e	52
Figura 16: Mapa de contornos HSQC do composto 1e	53
Figura 17: Espectro de ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 126 MHz) do composto 1e	53
Figura 18: Configurações <i>E</i> para os compostos da 1 ^a série.....	54
Figura 19: Mapa de contornos homonuclear NOESY do composto 1e	55
Figura 20: Configuração <i>E</i> -1 do composto 1e	55
Figura 21: Espectro na região do infravermelho do composto 2f	59
Figura 22: Espectro de RMN de ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz) do composto 2f	60
Figura 23: Mapa de contornos COSY do composto 2f	61
Figura 24: Mapa de contornos HSQC do composto 2f	62
Figura 25: Espectro de RMN de ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 126 Hz) do composto 2f	63
Figura 26: Tipos de sistemas cristalinos.....	65
Figura 27: Representação da unidade assimétrica do complexo 5	67
Figura 28: Representação do complexo 5 ao longo do eixo <i>c</i>	68
Figura 29: Representação das principais interações no complexo 5	68
Figura 30: Representação da unidade assimétrica do complexo 6	69
Figura 31: Representação da célula unitária do complexo 6	70
Figura 32: Representação das principais interações no complexo 6	70
Figura 33: Estrutura dos compostos 1b e 1f	73
Figura 34: Estrutura dos compostos 1a e 1c	76
Figura 35: Estrutura do composto 2d	77
Figura 36: Estrutura dos compostos 1a e 2a	79

LISTA DE TABELAS

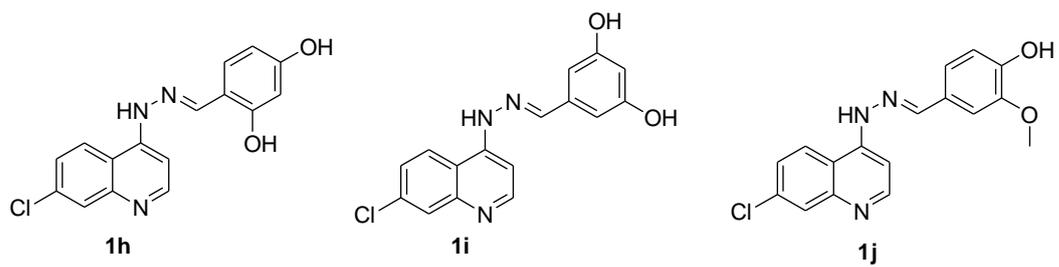
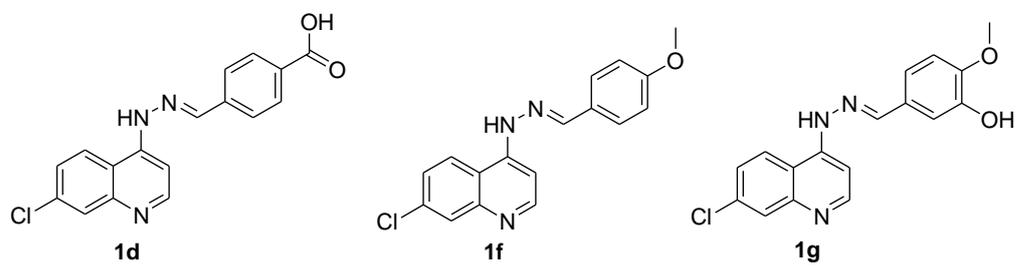
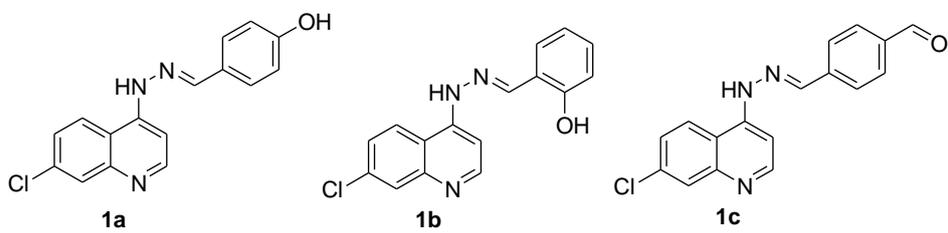
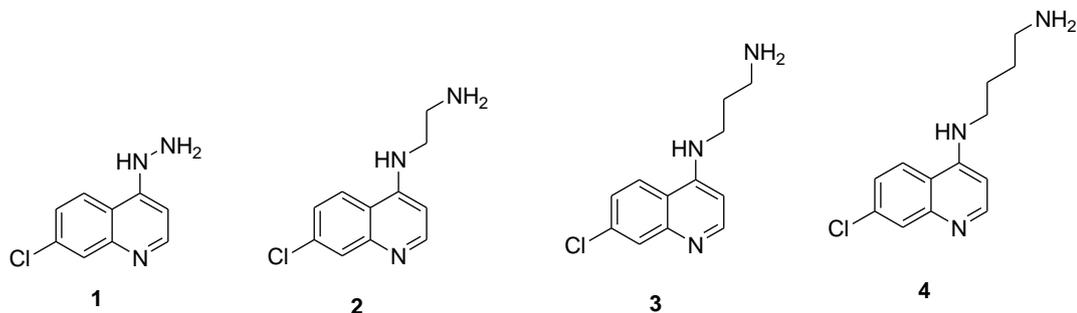
Tabela 1: Dados dos compostos 1 a 4	45
Tabela 2: Dados de RMN 1D (H-11 e C-11), IV (N=C), faixa de fusão e rendimento dos compostos 1a – i	49
Tabela 3: Dados de RMN 1D (H-11 e C-11), IV (N=C), faixa de fusão e rendimento dos compostos 2a – i	58
Tabela 4: Parâmetros de rede, volume, sistema cristalino e grupo espacial dos complexos de prata 5 e 6	66
Tabela 5: Relação entre ângulos e distâncias entre os átomos	67
Tabela 7: Resultados citotóxicos em macrófagos peritoneais dos compostos da 1 ^a série.....	72
Tabela 8: Efeito dos compostos em promastigotas e amastigotas de <i>Leishmania sp</i>	75
Tabela 9: Resultados da citotoxicidade dos compostos da 2 ^a série em macrófagos peritoneais.....	77
Tabela 10: Efeito dos compostos em promastigota e em amastigotas de <i>Leishmania sp</i>	79
Tabela 11: Resultados de citotoxicidade em macrófagos peritoneais dos complexos de prata.....	80
Tabela 12: Efeito dos compostos em promastigotas e em amastigotas de <i>Leishmania sp</i> dos compostos da 3 ^a série.....	81

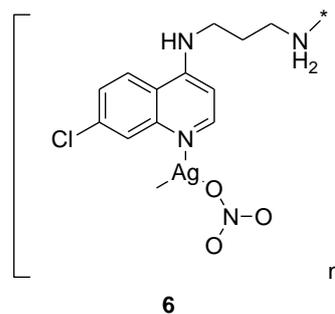
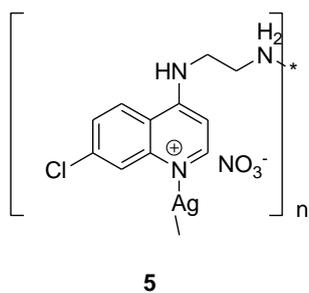
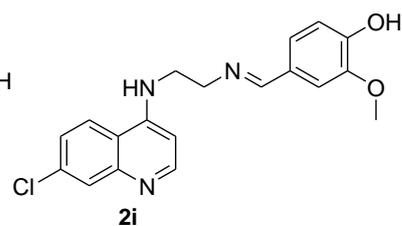
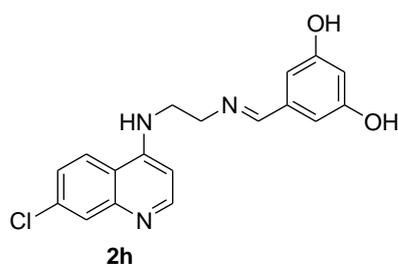
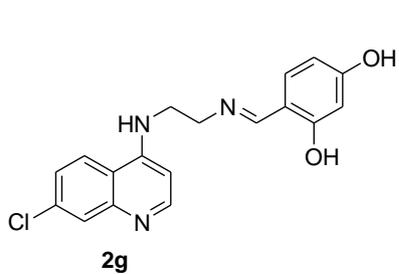
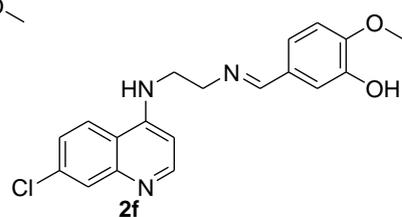
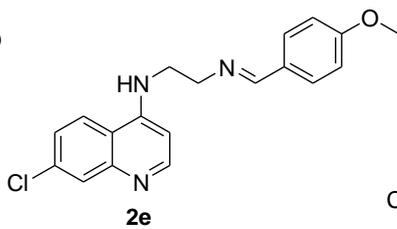
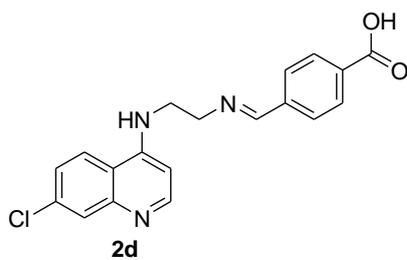
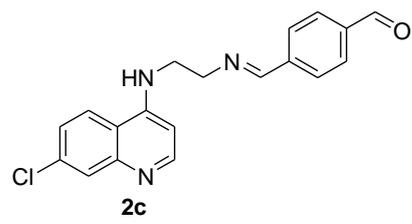
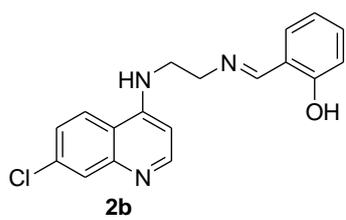
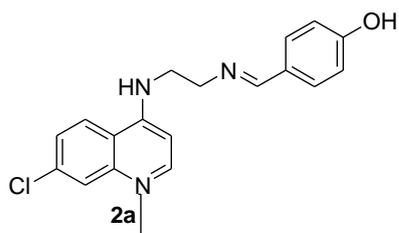
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CCD	Cromatografia em camada delgada
CC ₅₀	Concentração citotóxica
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
Eq	Equivalente
exp.	Experimental
EtOH	Etanol
F.M	Fórmula Molecular
g	Gramma
h	Hora
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IC ₅₀	Concentração Inibitória
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
MHz	Mega Hertz
mL	Mililitro
MM	Massa molar
mmol	Milimol
m	Multipleto
MTT	Ensaio de captação do corante Tetrazolium (atividade metabólica mitocondrial)
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
PBS	Fosfato Salino (Solução tampão)
ppm	Partes por milhão
R	Grupamento orgânico
R _f	Fator de retenção
RFP	Red Fluorescent Protein

RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN de ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
SBF	Soro Bovino Fetal
s	Simpleto
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
δ	Deslocamento químico
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius

LISTA DE MOLÉCULAS SINTETIZADAS NESTE TRABALHO





SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	19
1.1 HISTÓRICO DAS DOENÇAS CONCERNENTES A ESTE TRABALHO	20
1.1.1 Leishmaniose	20
1.1.2 Malária	25
1.2 ESTRATÉGIAS UTILIZADAS, NESTE TRABALHO, PARA OBTENÇÃO DE POTENCIAIS ANTIPARASITÁRIOS	29
1.2.1 Hibridação Molecular	29
1.2.2 Núcleo quinolínico	30
1.2.3 Polifenóis – Resveratrol	33
1.2.4 Bases de Schiff	34
1.2.5 Hidrazonas	35
1.2.6 Obtenção de complexos de prata a partir de ligantes 4-aminoquinolínico	36
2.0 JUSTIFICATIVA	37
3.0 OBJETIVO	38
3.1 OBJETIVO GERAL	38
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
4.0 METODOLOGIA	39
4.1 SÍNTESE DAS 4-AMINOQUINOLINAS	40
4.2 SÍNTESE DAS HIDRAZONAS E BASES DE <i>SCHIFF</i>	41
4.3 SÍNTESE DOS COMPLEXOS DE PRATA.....	42
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 COMPOSTOS 4-AMINOQUINOLÍNICOS.....	43
5.2 1ª SÉRIE - HIDRAZONAS	47
5.3 2ª SÉRIE – BASES DE <i>SCHIFF</i>	56
3ª SÉRIE – COMPLEXOS DE PRATA.....	63
6.0 ENSAIOS BIOLÓGICOS	71
6.1 RESULTADOS BIOLÓGICOS DA 1ª SÉRIE	71
6.1.1 Citotoxicidade em células de mamíferos	71
6.1.2 Resultado da atividade antiparasitária em <i>Leishmania sp</i>	74
6.1.3 Resultado da atividade antiparasitária em malária	76

6.2 RESULTADOS BIOLÓGICOS DA 2ª SÉRIE	76
6.2.1 Citotoxicidade em células de mamíferos	76
6.2.2 Resultados da atividade antiparasitária em <i>Leishmania sp</i>	78
6.3 RESULTADOS BIOLÓGICOS DA 3ª SÉRIE	80
6.3.1 Citotoxicidade em células de mamíferos	80
6.3.1 Resultados da atividade antiparasitária em <i>Leishmania sp</i>	81
7.0 CONCLUSÕES	82
8.0 PARTE EXPERIMENTAL	83
8.1 MATERIAIS E MÉTODOS GERAIS	83
8.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS	84
8.2.1 Preparação das 4-aminoquinolinas	84
8.2.2 Caracterização das 4-aminoquinolinas	85
8.2.3 Preparação das hidrazonas	87
8.2.4 Preparação das bases de <i>Schiff</i>	106
8.2.5 Preparação dos complexos de prata	125
9.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	126
ANEXOS	136

1.0 INTRODUÇÃO

Os protozoários são organismos vivos, unicelulares, eucariontes (apresentam núcleo, material nuclear envolvido por membrana) e pertencentes ao Reino Protista. Esses seres são importantes, visto serem causadores de várias doenças ao homem (DE ARAÚJO; BOSSOLAN, 2006).

As patologias causadas por agentes infecciosos e parasitários (vírus, bactérias, protozoários e helmintos) são endêmicas em populações de baixa renda vivendo, sobretudo em países em desenvolvimento como a África, Ásia e nas Américas. Essas recebem a designação de “doenças negligenciadas” com base no fato de que não despertam o interesse das grandes empresas farmacêuticas multinacionais, que não vêm nessas enfermidades compradores potenciais de novos medicamentos. Desse modo, há pouco investimento e financiamento pelas agências de fomento para combater tais endemias (AYDIN-SCHMIDT; THORSELL; WAHLGREN, 2010).

O termo “doenças negligenciadas” foi originalmente proposto na década de 1970, por um programa da Fundação Rockefeller como “the Great Neglected Diseases”, coordenado por Kenneth Warren. Hoje, o combate a essas enfermidades que atingem particularmente as populações marginalizadas é essencial para o cumprimento dos objetivos de desenvolvimento da Organização das Nações Unidas (DE SOUZA *et al.*; FIOCRUZ).

Segundo dados da OMS, mais de um bilhão de pessoas estão infectadas com uma ou mais doenças negligenciadas, o que representa um sexto da população mundial. No Brasil, em 2006 foi realizada a primeira oficina de prioridades no combate a essas enfermidades, através do início do programa de pesquisa e desenvolvimento em doenças negligenciadas no Brasil. Por meio de dados epidemiológicos, demográficos e o impacto da doença, foram definidas, entre as moléstias consideradas negligenciadas, sete prioridades de atuação que compõem o programa em doenças negligenciadas: dengue, doença de Chagas, esquistossomose, hanseníase, tuberculose, **leishmanioses** e **malária**. Destacam-se as duas últimas doenças, por serem o alvo principal desse trabalho (PÚBLICA, 2010; WHO, 2010).

1.1 HISTÓRICO DAS DOENÇAS CONCERNENTES A ESTE TRABALHO

1.1.1 Leishmaniose

Leishmanioses é o termo designado a um grupo de manifestações clínicas causadas por protozoários do gênero *Leishmania* (WHO, 2016). São doenças transmitidas por insetos vetores e consideradas como zoonoses, visto serem transmitidas entre homens e animais (RATH *et al.*, 2003). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) informa que as leishmanioses são um grupo de doenças endêmicas com altos índices de morbidade e mortalidade, prevalentes em países tropicais e subtropicais, do velho mundo (SAÚDE, 2000; WHO, 2010).

Estas doenças apresentam-se distribuídas em 98 países, na sua grande maioria, subdesenvolvidos, com cerca de 1,5 a 2 milhões de casos por ano, com um número estimado de 70.000 mortes por ano (WHO, 2016). Nestes países, as leishmanioses estão em intensa atividade dificultando a produtividade e o progresso sócio-econômico. Muitos deles são países em desenvolvimento (países pobres), que de antemão sofrem com sérios problemas econômicos, sociais e de saúde pública, tais como, Afeganistão, África, Iran, Arábia Saudita, Síria, Índia, Bangladesh, Sudão, Brasil, Bolívia e Peru. Nessas nações essas enfermidades vêm ganhando, anualmente, grandes proporções devido a fatores de risco tanto ambientais quanto a fatores culturais/comportamentais (SINKA *et al.*, 2010).

O Brasil é o país com maior incidência de novos casos da doença no continente americano e o terceiro país com o maior número de casos registrados no mundo (WHO, 2016). Em 2014 foram notificados 20.418 casos novos de leishmaniose cutânea e 3500 casos de leishmaniose visceral no Brasil (WHO, 2016), colocando em evidência o impacto destas doenças no país.

A principal forma de transmissão das leishmanioses para os hospedeiros vertebrados é feita por meio da inoculação das formas promastigotas infectantes, durante a picada do inseto vetor popularmente conhecido como mosquito palha, birigui ou tatuquira. Consistem de várias espécies do gênero *Lutzomia* (Novo Mundo) e *Phlebotomus* (Velho Mundo), que são pequenos mosquitos, com 1 a 3 mm de comprimento, somente as fêmeas são hematófagas enquanto os machos se alimentam de néctar das plantas. Outras possibilidades de transmissão

já foram descritas tais como a via cutânea, placentária, venérea e a transfusão de sangue (GRIMALDI; TESH, 1993; SINGH; SIVAKUMAR, 2004).

Existem mais de 20 espécies de *Leishmania* que podem infectar o homem e as manifestações clínicas das leishmanioses dependem de vários fatores, incluindo a espécie envolvida e a resposta imune do hospedeiro. Classicamente, estas manifestações podem ser classificadas em três formas: cutânea, mucocutânea e visceral (MONGE-MAILLO; LÓPEZ-VÉLEZ, 2013).

A forma cutânea é a forma mais comum e se apresenta com lesões nodulares não-ulcerativas encontradas principalmente na face, braços e pernas. As lesões podem resultar em deficiência física e cicatrizes permanentes (KOUZNETSOV *et al.*, 2012).

A forma mucocutânea ocorre frequentemente como uma doença metastática em meses ou anos, após a forma cutânea, e resulta em cicatrizes desfigurantes na face, afetando as membranas mucosas do nariz, boca e garganta (DO VALE; FURTADO, 2005).

A leishmaniose visceral, também conhecida como calazar ou “Febre Negra” é a forma mais grave e pode ser fatal se não tratada. Ocorre predominantemente em crianças e também como infecção oportunista em pacientes imunodeprimidos como aqueles infectados por HIV. O parasito infecta os órgãos ricos em macrófagos como baço, fígado e medula óssea. Os sinais clínicos são inespecíficos e incluem anorexia, febre, emagrecimento, hepatoesplenomegalia, epistaxe, diarreia e tosse. Os achados clínicos incluem anemia, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, leucopenia e trombocitopenia (SINGH; SIVAKUMAR, 2004; SOARES *et al.*, 2015).

1.1.1.1 Ciclo biológico *Leishmania*

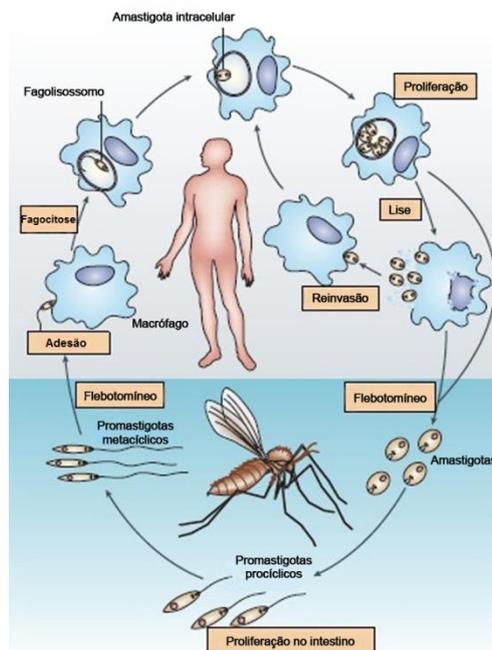
O ciclo de vida dos protozoários causadores das leishmanioses é complexo, do tipo heteroxênico, o qual se caracteriza pela alternância de formas parasitárias entre hospedeiros vertebrados (mamíferos, que incluem humanos, cães e animais silvestres) e hospedeiros invertebrados (insetos vetores) (CAMPOS, 2007).

As espécies do gênero *Leishmania* possuem características biológicas que permitem, que estas se apresentem essencialmente sob duas formas quando presentes em seus diferentes hospedeiros. Desse modo, quando são observadas no microscópio óptico, podem se apresentar sob as formas:

- Amastigotas – formas arredondadas, com um curto flagelo, mas que não é aparente na microscopia óptica, observadas dentro de macrófagos do hospedeiro vertebrado (homem ou cão) infectado; reproduzem-se assexuadamente através de divisão binária simples (NEVES, 2005; SAMARANAYAKE; FERNANDO; DISSANAYAKE, 2010).
- Promastigotas – formas extracelulares alongadas e flageladas observadas no sistema digestivo do hospedeiro invertebrado (mosquito flebotomídeos), e nos meios de cultivo (COURRET *et al.*, 2002).

Apesar do grande número de espécies de *Leishmania* que podem infectar o homem, todas têm um ciclo similar, a figura 1 mostra o ciclo biológico deste parasito.

Figura 1: Ciclo biológico e modo de transmissão das *Leishmania sp.*



Fonte: ADAPTADA DE (LEISHMANIA FACTS., 2006)

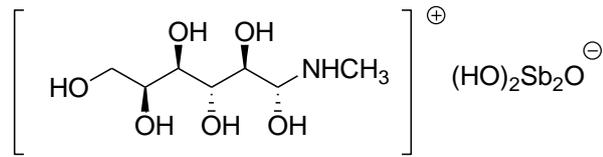
O inseto vetor, flebotomídeos, quando infectado pelo parasito *Leishmania*, irá inocular no momento da picada, as formas promastigotas infectivas. Estas, serão fagocitadas por macrófagos e no interior do vacúolo irão se transformar em amastigotas, que são formas intracelulares (GOMES, 2012). No interior dessas células, os amastigotas se dividem por divisão binária simples, até que haja o rompimento dos macrófagos, liberando os amastigotas para infectar outras células, o que propaga a infecção no hospedeiro vertebrado. O ciclo deste patógeno se completa quando insetos vetores picam um hospedeiro mamífero infectado por *Leishmania* e neste momento acaba ingerindo macrófagos contendo amastigotas intracelulares. No trato digestivo do mesmo, os amastigotas se convertem em promastigotas, que se dividem, também por divisão binária simples e sofrem uma série de mudanças metabólicas até originar os promastigotas metacíclicos, os quais serão transmitidos a um hospedeiro vertebrado durante o repasto sanguíneo do inseto (STEBUT, 2014).

Não há vacina contra as leishmanioses, assim como ainda não há para quaisquer doenças parasitárias humanas. Portanto, o controle baseia-se principalmente no diagnóstico e tratamento precoce dos indivíduos infectados, combate aos insetos vetores e aos reservatórios, no entanto, medidas dispendiosas nem sempre são praticadas em países subdesenvolvidos (SAÚDE, 2000; SINGH; SIVAKUMAR, 2004; SANTOS; DE ALBUQUERQUE, 2015).

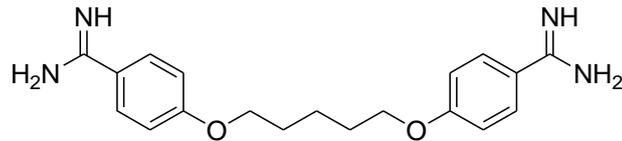
1.1.1.2 Tratamento

O tratamento de primeira escolha para todas as formas clínicas das leishmanioses envolve o uso de antimoniais pentavalentes, seja como antimoniato de meglumina (Glucantime)[®] ou estibugluconato de sódio (Pentostam) (Figura 2). Estas drogas são administradas por via parenteral, apresentam longo tempo de tratamento (20 a 30 dias), elevada toxicidade e vários efeitos colaterais (RATH *et al.*, 2003).

Figura 2: Estrutura dos fármacos do tratamento de primeira escolha



Antimoniato de meglumina (glucantime)

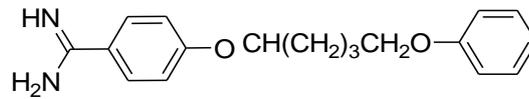


Estibugluconato de sódio (Pentostam)

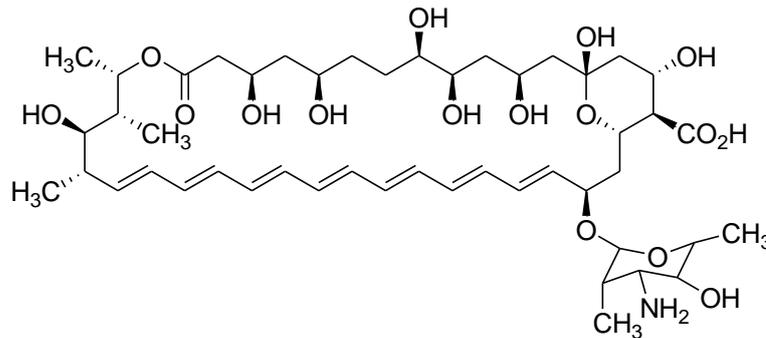
Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA.

Tem-se como drogas de segunda escolha a anfotericina B e a pentamidina (figura 3), as quais apresentam desvantagens similares. Outras drogas têm sido desenvolvidas, incluindo várias formulações lipídicas e coloidais. Mais recentemente a miltefosina, originalmente utilizada no tratamento do câncer, tem sido disponibilizada como a primeira droga oral para o tratamento de leishmaniose visceral na Índia (VISBAL *et al.*, 2008; SOUZA, 2014). Apesar de ser considerada menos tóxica do que as outras drogas empregadas no tratamento das leishmanioses, a miltefosina apresenta importantes efeitos colaterais gastrointestinais e tem mostrado teratogênica, não sendo, portanto recomendada a sua utilização por mulheres grávidas ou em idade fértil (MACHADO, 2013).

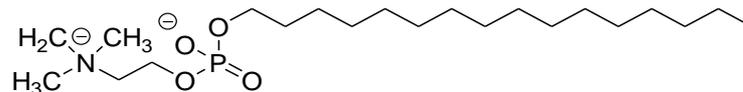
Figura 3: Estrutura química das drogas de segunda escolha e primeira droga oral miltefosina.



Isotiocianato de pentamidina



Anfotericina B



Miltefosina

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA.

Assim, devido às dificuldades relacionadas ao tratamento das leishmanioses, existe uma urgente necessidade da obtenção de terapias mais efetivas e seguras para tratar pacientes infectados com *Leishmania*.

1.1.2 Malária

A malária está entre as três principais doenças infecciosas de maior mortalidade no mundo, juntamente com a tuberculose e a síndrome da deficiência imuno-adquirida (SIDA). É uma doença infecciosa aguda ou crônica causada por protozoários parasitas do gênero *Plasmodium* e existem cinco espécies que infectam os seres humanos: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. knowlesi*. Destes, o *P. falciparum* é o mais nocivo, responsável por

mais de 90% dos casos graves e associado a altas taxas de morbidade e mortalidade (ROSENTHAL, 2003; SINKA *et al.*, 2010).

Metade da população mundial (3,5 bilhões de pessoas) está exposta à transmissão da malária em áreas de risco (HAY *et al.*, 2009). Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que a malária é endêmica em 95 países e territórios, distribuídos na sua grande maioria em países da África, Ásia e América Latina. No ano de 2015 a OMS estimou que o número de pessoas com malária foi de 214 milhões, com cerca de 438 mil mortes anuais (ORGANIZATION, 2015). Nas Américas, o Brasil é responsável por mais de 1/3 dos casos notificados, sendo assim um grande problema de saúde pública no país (BELLOTTI DE SOUZA *et al.*, 2012).

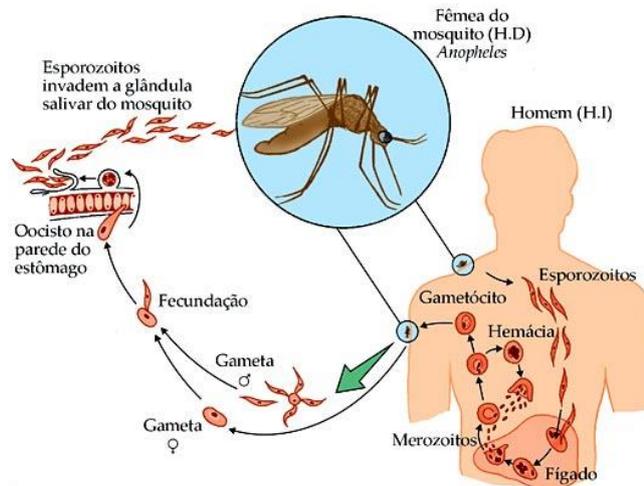
Apesar de haver uma redução dos casos de malária nos últimos anos, estes números ainda são alarmantes e estão associados à resistência dos parasitos aos antimaláricos disponíveis (DONDORP *et al.*, 2009; ENSERINK, 2010), a resistência dos mosquitos aos inseticidas (HANAFI-BOJD *et al.*, 2012) e a falta de política econômica e social para o controle e prevenção da doença. Assim, a malária consiste em um dos maiores problemas de saúde pública e representa uma das principais doenças infecciosas que aflige a espécie humana nos dias de hoje (ROSENTHAL; MARTY, 2003).

A transmissão se deve pela picada das fêmeas do mosquito *Anopheles*, que se contaminam com o plasmódio causador da doença ao picar os portadores, tornando-se assim o principal vetor de transmissão desta para outras pessoas (FERRAZ, 2002).

1.1.2.1 Ciclo biológico *Plasmódium sp*

O ciclo de vida deste protozoário (Figura 4) ocorre em dois hospedeiros. O mosquito fêmea do gênero *Anopheles* desenvolve o ciclo sexuado e, portanto, é considerado o hospedeiro invertebrado ou definitivo. Durante o repasto sanguíneo, estes mosquitos transmitem a malária ao homem (hospedeiro vertebrado), no qual se desenvolve o ciclo assexuado do *Plasmodium* (DURAND *et al.*, 2001).

Figura 4: Ciclo biológico de *Plasmodium spp*



Fonte: ADAPTADA DE (FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008)

De forma geral, o ciclo começa quando os esporozoítos entram na corrente sanguínea humana com a saliva do mosquito. Estes, vão para o fígado e invadem as células hepáticas, nas quais desenvolvem estágios amebóides. Cada parasita sofre fissão múltipla ou esquizogonia, produzindo milhares de merozoítos, que são liberados para o sangue e invadem as hemácias. Reproduzem-se novamente por fissão múltipla e causam ruptura ou *lise celular*, sendo liberados para invadir novas hemácias, nas quais repetirão o procedimento. Alguns merozoítos, entretanto, podem, dentro de certas hemácias, sofrer um processo de diferenciação celular e originar células denominadas gametócitos, que são precursoras de gametas. Os gametócitos são liberados para o sangue circulante e podem ser ingeridos por um mosquito quando este sugar o sangue do doente (FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008).

Como os plasmódios ficam presentes na circulação sanguínea durante a infecção, a transmissão da malária também pode ocorrer de forma induzida a partir de transfusões de sangue, de transplantes de órgãos, da utilização compartilhada de seringas por usuários de drogas endovenosas ou da gestante para o filho (SAÚDE, 2010).

Manifestações clínicas da doença caracterizam-se inicialmente por sintomas como dores de cabeça, fadiga, febre, calafrios, prostração e anemia que coincidem com a destruição maciça de hemácias e com a liberação de substâncias imunogênicas tóxicas na corrente sanguínea ao fim de cada ciclo reprodutivo do parasita. Estas crises são seguidas de tremores

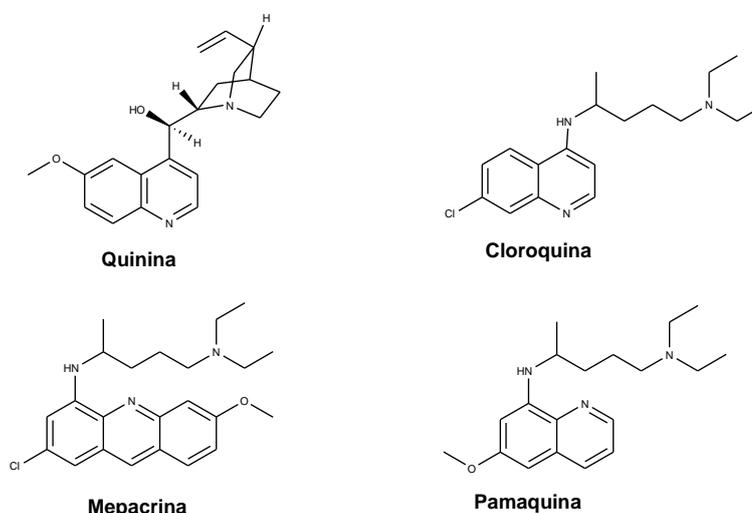
e febre de 41°C, terminando em vermelhidão da pele e suores abundantes, os quais são conhecidos como acesso malárico (HAY *et al.*, 2009). Os casos mais severos da doença incluem delírio, acidose metabólica, malária cerebral e falência múltipla dos órgãos podendo seguir por coma e morte (FIDOCK *et al.*, 2004).

1.1.2.2 Tratamento

Os medicamentos antimaláricos são usados principalmente para controlar a doença e também podem ser usados para preveni-la no caso de alguns grupos de alto risco, tais como, mulheres grávidas, portadores de anemia falciforme e os visitantes em regiões endêmicas que não possuem nenhuma imunidade natural (AYDIN-SCHMIDT; THORSELL; WAHLGREN, 2010).

Até o século passado o principal medicamento utilizado no tratamento da malária era a casca e semente da *Cinchona* sp em forma de pó, extrato ou infusão. Seu princípio ativo, o alcalóide quinina teve seu uso reduzido devido à alta toxidez e dificuldades na obtenção, sendo então substituída por drogas sintéticas mais eficientes, como compostos derivados de quinolina, pamaquina, mepacrina e cloroquina (Figura 5), principalmente este último. Estes medicamentos foram por muito tempo bem aceitos para o tratamento da malária (VALE, 2005).

Figura 5: Estrutura dos compostos antimaláricos isolados



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Devido ao surgimento de plasmódios resistentes às drogas existentes, principalmente os da espécie *P. falciparum*, agravou-se o problema causado pela malária e atualmente é uma das doenças infecciosas mais disseminadas do mundo, tornando-se necessário o desenvolvimento de fármacos mais eficazes para o tratamento da mesma (ROSENTHAL, 2003; SOLOMON *et al.*, 2007; SOARES *et al.*, 2015).

1.2 ESTRATÉGIAS UTILIZADAS, NESTE TRABALHO, PARA OBTENÇÃO DE POTENCIAIS ANTIPARASITÁRIOS

As estratégias utilizadas para obtenção de novos compostos com potencial biológico antiparasitário consistem na conjugação de dois núcleos bioativos, núcleo quinolínico e os compostos fenólicos, a partir do conceito da hibridação molecular. Para conjugar esse dois grupos utilizou-se como conectores as hidrazonas (descritos na 1ª série deste trabalho) e as bases de *Schiff* (descrito na 2ª série deste trabalho).

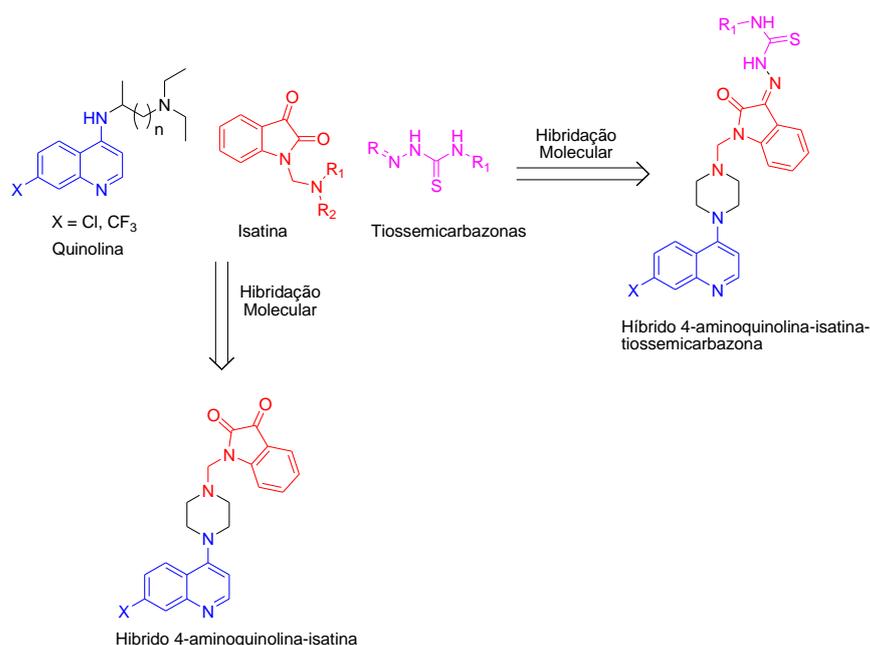
Outra estratégia utilizada foi a obtenção de complexos de metálicos (descritos na 3ª série deste trabalho) a partir de ligantes 4-aminoquinolínico, uma vez que a síntese de complexos de platina, já foi realizada pelo nosso grupo de pesquisa, e, os compostos obtidos tiveram bons resultados no crescimento de parasitos do gênero *Leishmania* e *Plasmodium* (CARMO *et al.*, 2011; DE SOUZA *et al.*, 2011).

1.2.1 Hibridação Molecular

No sentido de potencializar a atividade biológica de substâncias, surgiu o conceito de hibridação molecular, que é a união de características estruturais, parciais de duas substâncias bioativas distintas em uma nova molécula. Esta união origina uma nova substância que poderá apresentar a atividade de uma das substâncias originais ou conjugar ambas as atividades em uma única molécula (SOLOMON; HU; LEE, 2010). Nesta nova molécula, a estrutura de cada farmacóforo é mantida integralmente e os mesmos são unidos diretamente ou unidos por um grupamento espaçador através de ligações covalentes (MACHADO, 2016).

Na literatura há vários trabalhos que utilizam a hibridação molecular, pode-se citar o trabalho realizado por Solomon e colaboradores (esquema 1), onde aproveitou-se a atividade anticâncer dos farmacóforos tiossemicarbazidas, isatina e 4-aminoquinolina, preparando-se compostos híbridos contendo tais núcleos que se mostraram bastante promissores no desenvolvimento de uma nova classe de agentes anticâncer (SOLOMON; HU; LEE, 2010).

Esquema 1: Planejamento de compostos híbridos entre quinolina, isatina e tiossemicarbazidas



Fonte: ADAPTADO DE (SOLOMON; HU; LEE, 2010)

A seguir serão discutidos dois grupos farmacóforos que foram conjugados, neste trabalho, a partir do conceito de hibridação molecular.

1.2.2 Núcleo quinolínico

A quinolina é um heterociclo aromático composto por um anel benzênico fundido a um anel piridínico. Ela foi isolada pela primeira vez em meados de 1834, quando o químico francês Charles Gerhardt provocou a decomposição de um extrato de quinina, obtido de um arbusto da família das *Rubiáceas* (ACHESON, 1977). Posteriormente, Hoogewerff e Van

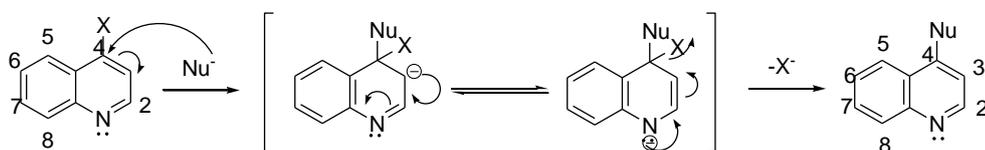
Dorp relatam a presença de mesmo composto em frações de alcatrão de hulha. Com propriedades combinadas da piridina e naftaleno, esse composto é um líquido incolor, com um forte odor característico, miscível em variados solventes orgânicos e útil como solvente de alto ponto de ebulição (LINS, 2006).

O núcleo quinolínico é encontrado com frequência em compostos naturais e está presente em inúmeras estruturas que possuem atividade biológica, sendo estudados e/ou utilizados, por exemplo, no controle de doenças relacionadas à desordem neurodegenerativa (MANFREDINI *et al.*, 2004), tratamento da malária (KOUZNETSOV; MÉNDEZ; GÓMEZ, 2005), controle de doenças antifúngicas (KOUZNETSOV *et al.*, 2012), HIV (AHMED *et al.*, 2010), e no tratamento da doença de chagas (KOUZNETSOV, 2009). Esta variedade de aplicações biológicas torna as quinolinas e seus derivados moléculas importantes na área medicinal e farmacológica (FOLEY; TILLEY, 1997).

Em síntese orgânica, as quinolinas são utilizadas como materiais de partida valiosos. Tratam-se de compostos reativos, as reações de substituição nucleofílica aromática (S_NAr) que ocorrem principalmente nas posições C-2 e C-4, pois o ataque nucleofílico nestas posições levam a um maior número de estruturas de ressonâncias que estabilizam a carga negativa gerada no anel (CUNHA, 2003).

Esquema 2: Mecanismo de substituição nucleofílica aromática em quinolinas

Ataque nucleofílico na posição 4



Nu = nucleófilo

X = grupo abandonador

Fonte: ADAPTADO DE (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2001).

Entretanto, mesmo com a alta potencialidade biológica que tal núcleo possui, a resistência de patógenos para alguns derivados quinolínicos já parece ser iminente (KAUR *et al.*, 2009)

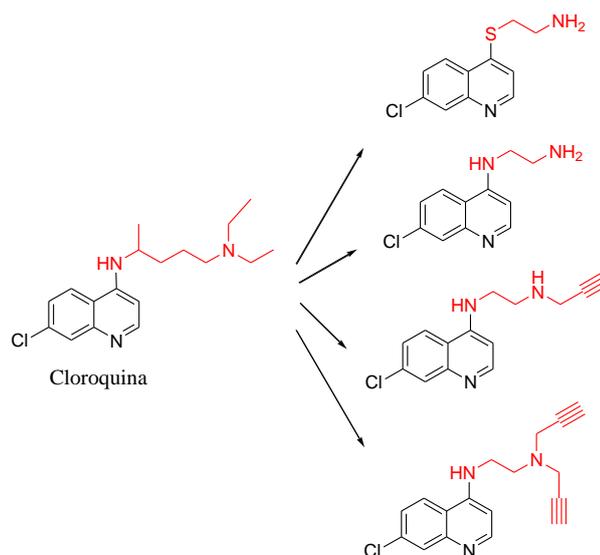
Uma alternativa atrativa para contornar a resistência, por parte dos parasitos, a alguns fármacos é dada pela troca de um grupo ou átomo na estrutura por outro que possua alguma semelhança em propriedades químicas e/ou físicas. Isto compreende a definição de isósteros, sendo que, para os “bioisósteros”, a substituição pode criar novos compostos com eficácia similar ou superior ao composto inicial e com menor toxicidade (PATANI; LAVOIE, 1996).

Dentro deste quadro, a presença de um átomo de nitrogênio ligado ao anel quinolínico mostrou-se uma alternativa interessante na busca de novas drogas substituídas. As aminoquinolinas são exemplos desta troca bioisostérica, e, esses análogos apresentam boa resposta antiparasitária e antibacteriana (CARMO *et al.*, 2011; ANTINARELLI *et al.*, 2015).

Nosso grupo de pesquisa obteve alguns bioisósteros da cloroquina e com os resultados biológicos apresentados por essas substâncias pode-se verificar que a atividade biológica foi mantida e por vezes até superada em comparação ao composto de referência, cloroquina (ANTINARELLI *et al.*, 2012; ANTINARELLI *et al.*, 2015; COIMBRA *et al.*, 2016).

Na figura 6, a seguir, estão representados alguns bioisósteros da cloroquina sintetizados pelo grupo de pesquisa.

Figura 6: Estrutura dos bioisósteros da cloroquina

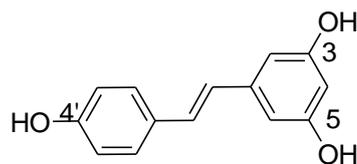


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

1.2.3 Polifenóis – Resveratrol

O resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno) é um estilbenóide largamente encontrado na pele da uva vermelha, em vinhos tintos e em muitas plantas (BURNS *et al.*, 2002; KANG *et al.*, 2009) (Figura 7). Trata-se de uma fitoalexina, substância produzida por plantas como resposta a ataque patogênico ou condições de stress e tem sido apontada como responsável por diversos benefícios a saúde humana, agindo como antioxidante (BAUR; SINCLAIR, 2006; FABRIS *et al.*, 2008; A SANTOS *et al.*, 2013), anti-inflamatório (ALARCON DE LA LASTRA; VILLEGAS, 2005), antitumoral (LARROSA; TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2004; BUSQUETS *et al.*, 2007), cardioprotetor (WU *et al.*, 2001) além de ser usado no tratamento da doença de Alzheimer (ANEKONDA, 2006; KIM; LEE; LEE, 2010).

Figura 7: Estrutura química do trans-resveratrol



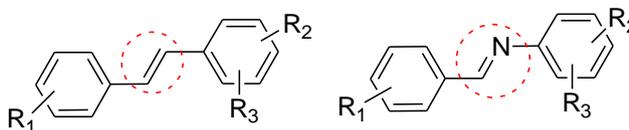
Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

No entanto, apesar da vasta aplicação biológica, o grande problema associado ao resveratrol é sua limitada biodisponibilidade devido ao seu rápido metabolismo no fígado que produz os derivados menos ativos 3-sulfato e 3-glicuronídeo. Como consequência, o resveratrol circulante possui tempo de meia-vida sérico de 8-14 minutos (YU *et al.*, 2002; KANG *et al.*, 2009; TORRES *et al.*, 2009). A busca por análogos e derivados do resveratrol é então justificada e muitas vezes planejada de modo a se obter compostos que possuam uma atividade biológica comparável à apresentada pelo resveratrol e que, ao mesmo tempo, possuam estruturas químicas menos passíveis de serem rapidamente metabolizadas a derivados menos ativos.

Nosso grupo de pesquisa tem reportado o uso do bioisosterismo para a construção dos aqui denominados “análogos bioisósteros do resveratrol” (figura 8). Os bioisósteros do resveratrol obtidos pelo nosso grupo apresentaram bons resultados antitubercular, antileishmania, e citotóxicos (A SANTOS *et al.*, 2013; COIMBRA *et al.*, 2016). Nestes

compostos há a troca da ligação C=C, pela ligação C=N, dando origem assim a iminas, que também podem receber o nome de bases de *Schiff*.

Figura 8: Bioisosterismo no núcleo estilbenóide



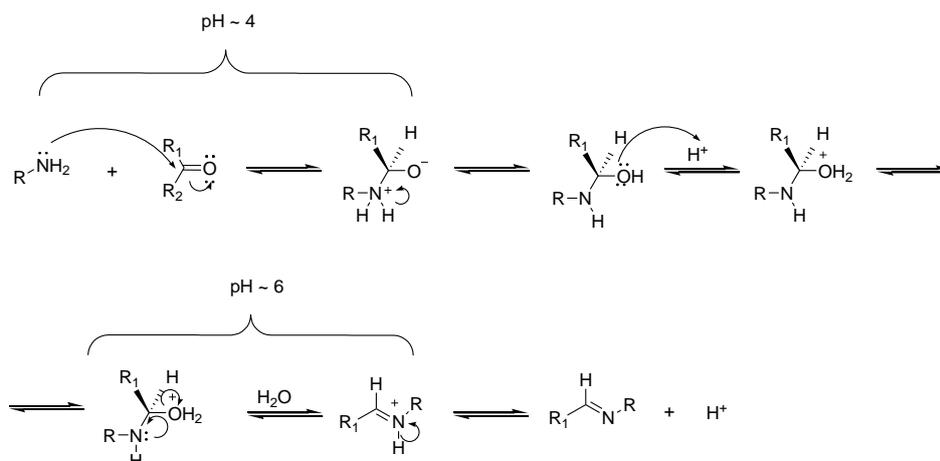
Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

1.2.4 Bases de *Schiff*

As bases de *Schiff* são iminas caracterizadas pela ligação – HC=N– entre um grupo aromático numa extremidade e outro grupo em outra extremidade. Esses compostos são bem conhecidos e sintetizados pela condensação de um aldeído com uma amina apropriada sob várias condições reacionais. Os reagentes são simplesmente introduzidos em proporções molares em um solvente anidro, como, por exemplo, etanol ou metanol na presença ou ausência de calor. No processo, a água é gerada como subproduto e a base de *Schiff* obtida pode ser purificada por recristalização em etanol, metanol ou acetona (COSTA; PILLI; PINHEIRO, 2003).

O mecanismo de formação de base de *Schiff* sendo classificada como imina aromática, é o mesmo mecanismo para a formação de iminas. A catálise ácida é utilizada para a formação de iminas. Sem um catalisador ácido a reação é lenta, pois assim ficará na dependência da saída do hidrogênio ácido da amina. O ácido não é necessário na etapa de adição do mecanismo, mas na etapa de eliminação de água pela remoção do grupo OH se faz necessário. Reação com aminas são rápidas em pH entre 4 e 6, mas abaixo de 4 a amina deve ser protonada e a primeira etapa será então lenta. Já em pH acima de 6 a concentração de próton é baixa para permitir a protonação do grupo OH de saída na etapa de hidratação. O mecanismo da reação de formação de iminas pode ser vista no esquema 4 (WAMSER, 2006; WIETHAUS, 2010).

Esquema 3: Mecanismo de formação de iminas



Fonte: ADAPTADO DE (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2001)

1.2.5 Hidrazonas

As hidrazonas são compostos pertencentes a uma classe caracterizada por conter o esqueleto $R_1R_2C=N-NR_3R_4$ e que apresentam uma variedade de aplicações químicas e farmacológicas. A obtenção destes compostos geralmente ocorre pela condensação de hidrazinas com cetonas ou aldeídos, sendo comumente necessária a utilização de catálise ácida (PACANSKY; MCLEAN; MILLER, 1990; MANIKANDAN; VISWANATHAMURTHI; MUTHUKUMAR, 2011).

Devido ao comportamento quelante dessas moléculas, as hidrazonas são usadas como reagentes analíticos para determinar quantidades traço de íons metálicos (PINTO; MORENO; GARCÍA-VARGAS, 2004). Além disso, esses compostos são usados no controle de pragas agrícolas, enquanto hidrazonas aromáticas são utilizadas em fotorreceptores eletrofotográficos de impressores a laser.

Um grande número de bioatividades têm sido relatado para derivados de hidrazonas, tais como atividades antimicrobiana (KÜÇÜKGÜZEL *et al.*, 2003), anti-inflamatória (VICINI *et al.*, 2006; SALGIN-GÖKŞEN *et al.*, 2007), anticonvulsivante (DIMMOCK; VASHISHTHA; STABLES, 2000), antimalárica (MELNYK *et al.*, 2006), antitumoral (SAVINI *et al.*, 2004), antituberculose (BEDIA *et al.*, 2006), analgésica (TODESCHINI *et al.*, 1998), dentre outras. Em muitos casos, as atividades biológicas

apresentadas são atribuídas às propriedades quelantes destas moléculas (RODRÍGUEZ-ARGÜELLES *et al.*, 2009).

1.2.6 Obtenção de complexos de prata a partir de ligantes 4-aminoquinolínico

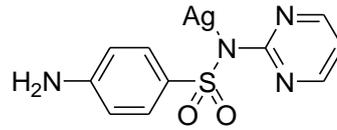
As atividades exercidas por íons metálicos nos meios biológicos têm estimulado a pesquisa e o desenvolvimento de compostos inorgânicos como agentes terapêuticos. O envolvimento destes compostos na medicina, principalmente aqueles contendo metais de transição, foi muito limitado até 1965, quando houve a clássica demonstração da atividade antitumoral do complexo denominado cisplatina, $[PtCl_2(NH_3)_2]$, por Rosenberg e colaboradores (COHEN, 2007).

A coordenação de metais a fármacos representa uma estratégia potencial considerável para aumentar o arsenal de drogas disponíveis para tratamento de uma série de enfermidades. A interação entre um íon metálico e um ligante dá a possibilidade de obter compostos com ampla variedade de números de coordenação, estados de oxidação e geometrias. Além disso, as características intrínsecas ao íon metálico, adicionadas aos aspectos cinéticos e termodinâmicos do composto obtido, permitem obter estruturas moleculares que possuem um amplo espectro de reatividade e isto deve ser bem explorado (BRUIJNINCX; SADLER, 2008).

Na literatura há estudos que comprovam que associar ligantes orgânicos a metais de transição tem demonstrado um resultado antiparasitário, antibacteriano e antitubercular bem satisfatório (BERN; MAGUIRE; ALVAR, 2008; DESPAIGNE *et al.*, 2009; MANIKANDAN; VISWANATHAMURTHI; MUTHUKUMAR, 2011).

Um bom exemplo de metal coordenado a fármaco é a sulfadiazina de prata, Figura 9, que é muito utilizada em pacientes queimados para evitar e tratar infecções. Este fármaco de uso tópico combina, num só composto, as propriedades antibacterianas do íon prata e da sulfadiazina que é um antibiótico de origem sintética. Como resultado, este composto possui amplo espectro de atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo muito eficiente contra *Pseudomonas aeruginosa* que é um dos principais organismos responsáveis por infecções decorrentes de queimaduras (CHOPRA, 2007).

Figura 9: Estrutura da sulfadiazina de prata



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

É interessante notar que sais de prata, como o AgNO_3 , foram utilizados durante séculos como agentes antimicrobianos e que o uso destes compostos diminuiu muito quando os antibióticos foram introduzidos nas práticas médicas. No entanto, eles mantiveram-se como um dos agentes mais populares para tratar infecções, especialmente em pacientes queimados. Em virtude do aumento de casos envolvendo resistência aos antibióticos, os compostos de prata, em especial o da sulfadiazina, vêm ganhando espaço (MARQUES *et al.*, 2007).

Recentemente o grupo de pesquisa demonstrou a síntese de complexos de platina utilizando compostos 4-aminoquinolínico como ligantes e foram obtidos bons resultados na avaliação a resposta antileishmanicida e antitubercular desses compostos (CARMO *et al.*, 2011; DE SOUZA *et al.*, 2011). Logo, analisar o comportamento desses ligantes frente ao íon prata (I) mostrou-se uma outra estratégia para obter boas respostas antiparasitárias para as doenças em questão neste trabalho.

2.0 JUSTIFICATIVA

A justificativa para a realização desse trabalho baseia-se na necessidade de obtenção de novos agentes antiparasitários para o tratamento de leishmanioses e malária, uma vez que estas são doenças negligenciadas que atingem a maioria da população de países subdesenvolvidos e ainda não apresentam, até o momento, nenhum tratamento terapêutico e/ou quimioterápico adequado. Além disso, vale ressaltar a experiência do grupo de pesquisa na síntese de análogos de cloroquina e resveratrol, que tiveram bons resultados no crescimento de parasitos do gênero *Leishmania* e *Plasmodium*.

3.0 OBJETIVO

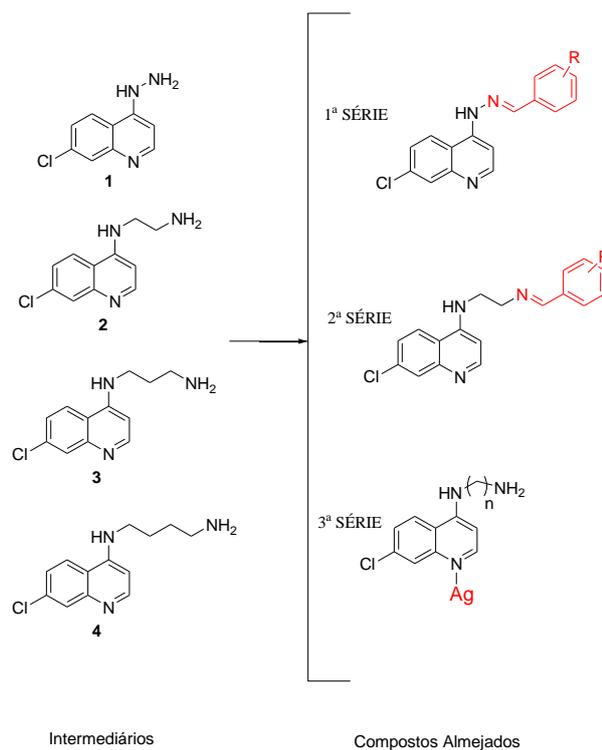
3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo geral empregar o conceito de hibridação molecular para obtenção de novos derivados 4-aminoquinolínicos conjugados a grupos fenólicos, obter complexos de prata, utilizando como ligantes os intermediários aminoquinolínicos e realizar os testes biológicos em parasitos do gênero *Leishmania* e *Plasmodium*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Obter hidrazina a partir da 4,7-dicloroquinolina;
- ✓ Obter diaminas a partir da 4,7-dicloroquinolina utilizando diaminas alquiladas (1,2-etilenodiamina, 1,3-propanodiamina);
- ✓ Síntese hidrazonas – 1ª Série (esquema 4);
- ✓ Síntese Bases de *Schiff* – 2ª Série (esquema 4);
- ✓ Síntese de Complexos de Prata – 3ª Série (esquema 4);
- ✓ Teste de citotoxicidade em macrófagos;
- ✓ Teste do efeito dos compostos em formas promastigota e amastigota de *Leishmania*;
- ✓ Teste em parasitos do gênero *Plasmodium*;

Esquema 4: Estruturas químicas gerais dos compostos sintetizados



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

4.0 METODOLOGIA

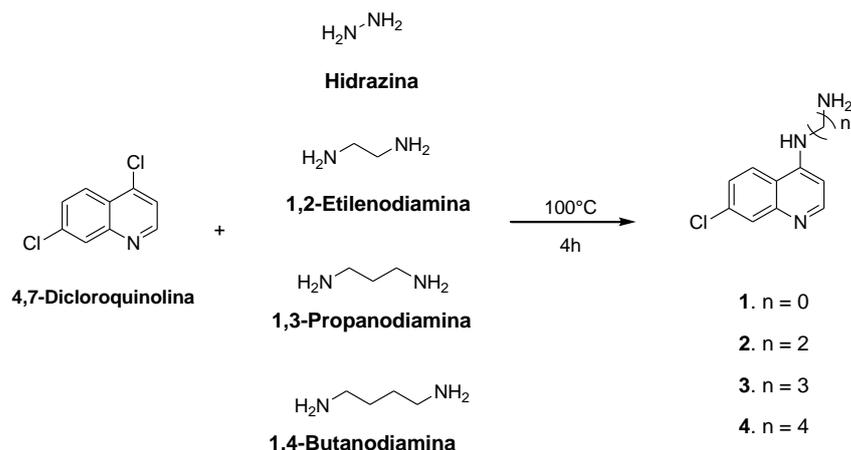
As metodologias utilizadas na obtenção dos compostos almejados neste trabalho envolveram: reação de substituição nucleofílica aromática e formação da ligação imínica.

Para sintetizar as três séries de compostos deste trabalho propôs-se inicialmente quatro intermediários 4-aminoquinolínicos como material de partida. Em contrapartida, as hidrazonas e as bases de Schiff foram planejadas por condensação de um aldeído aromático com os intermediários 4-aminoquinolínicos sob condições reacionais clássicas. Já os complexos de prata foram sintetizados a partir dos ligantes 4-aminoquinolínicos com nitrato de prata.

4.1 SÍNTESE DAS 4-AMINOQUINOLINAS

Inicialmente, propôs-se a síntese de quatro derivados aminaquinolínicos, compostos **1**, **2**, **3** e **4** via reação de substituição nucleofílica aromática (S_NAr), na posição 4 do anel quinolínico (esquema 5).

Esquema 5: Síntese dos compostos 4-aminoquinolínicos 1, 2, 3 e 4.



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRI AUTORA

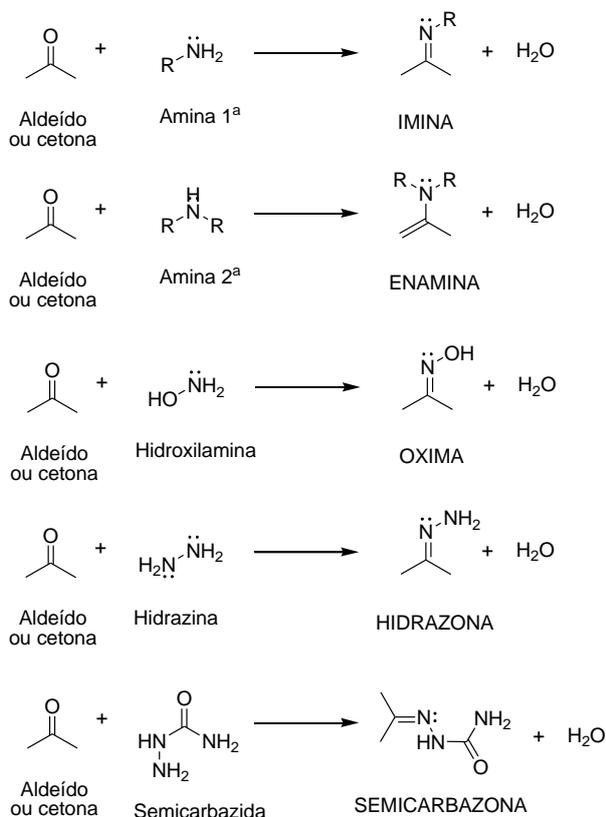
As aminas são utilizadas como nucleófilos nesta etapa, uma vez que são classificadas como base de Lewis ou de Brønsted-Lowry devido ao par de elétrons não compartilhados sobre o átomo de nitrogênio podem assim, aceitar um próton de um ácido, formando um sal de amônio (RODRIGUES, 2000).

Fatores estruturais que estabilizam o íon amônio em relação à amina deslocam o equilíbrio da reação favorecendo a formação do mesmo, conferindo maior basicidade à amina. Por sua vez, fatores estruturais que estabilizem a amina dificultam a formação do íon amônio e o equilíbrio permanecerá mais deslocado no sentido da amina, como uma base mais fraca. Os substituintes definem a basicidade das aminas através dos efeitos eletrônicos de indução e de ressonância. Grupos alquila são eletro-doadores por efeito indutivo, simbolizado por + I, que você já estudou e é devido à diferença de eletronegatividade na ligação C—N. Com a carga positiva, o átomo de nitrogênio tem sua eletronegatividade ainda maior e atrai os elétrons da ligação sigma C—N para uma maior proximidade, diminuindo a energia potencial do íon. Esse efeito é de estabilização do íon amônio, favorecendo sua formação e, como consequência, a basicidade sobre o átomo de nitrogênio (SOUTO; DUARTE, 2006).

4.2 SÍNTESE DAS HIDRAZONAS E BASES DE SHIFF

As hidrazonas, assim como as bases de *Schiff* pertencem a classe das azometinas que abrange diversos compostos tais como, oximas, semicarbazidas e enaminas. As hidrazonas diferenciam-se dos demais compostos dessa classe devido à presença de dois átomos de nitrogênio interligados. O esquema 6 ilustra a diferença estrutural desses compostos.

Esquema 6: Síntese de compostos pertencentes a classe das azometinas



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Esses compostos são bem conhecidos e podem ser sintetizados pela condensação de um aldeído com uma amina de interesse sob condições reacionais clássicas que são bem descritas na literatura (TIDWELL, 2008). Os reagentes são simplesmente introduzidos em proporções equimolares em um solvente anidro, como por exemplo, etanol ou metanol na presença ou ausência de calor. No processo, a água é gerada como subproduto e o produto pode ser purificado por recristalização com etanol, metanol ou cetona (SEGURA; MANCHEÑO; ZAMORA, 2016).

Neste trabalho os solventes utilizados foram adquiridos pela Sigma Aldrich, grau HPLC, e foram realizados testes com relação à estequiometria dos materiais de partida e ao solvente a fim de obter um melhor rendimento, para a síntese das bases de *Schiff* e hidrazonas (Tabela 1).

Tabela 1: Testes realizados para otimizar as reações de obtenção de bases de Schiff e hidrazonas

N° testes	Solvente	Estequiometria		Rendimento (%)
		Aldeído	Aminoquinolina	
1°	Etanol	1.0	1.0	59
2°	Etanol	1.0	1.2	44
3°	Etanol	1.2	1.0	80
4°	Metanol	1.0	1.0	51
5°	Metanol	1.0	1.2	39
6°	Metanol	1.2	1.0	71

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA.

Como pode ser visto na tabela 1, dentre os solventes testados, o etanol mostrou-se mais adequado uma vez que, os materiais de partida apresentaram melhor solubilidade e esta é uma condição fundamental pois é necessário que os compostos estejam bem solúveis para que precipite apenas o produto. Além disso, é importante destacar na tabela 1, a melhor condição estequiométrica foi a que utilizou-se excesso de aldeído.

4.3 SÍNTESE DOS COMPLEXOS DE PRATA

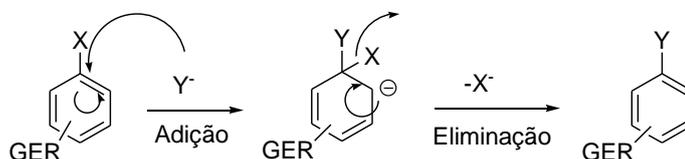
As sínteses dos complexos de prata foram realizadas em colaboração com o professor Dr. Alexandre Cuin do Departamento de Química da UFJF. A metodologia utilizada na obtenção desses compostos está de acordo com as condições reacionais já descritas na literatura (PAIVA *et al.*, 2013), pelo grupo de pesquisa do professor Cuin, que consiste em solubilizar o ligante, no caso os derivados 4-aminoquinolínicos, em etanol e adicionar uma quantia equimolar de nitrado de prata.

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPOSTOS 4-AMINOQUINOLÍNICOS

Na obtenção desses compostos foi realizada a reação de substituição nucleofílica aromática (S_NAr), a qual ocorre por um mecanismo de adição seguido de uma eliminação, por isso é dividido em duas etapas onde a primeira consiste ao ataque do nucleófilo, isto é, adição ao átomo de carbono do anel que contém o grupo de saída e a segunda é a eliminação do grupo abandonador (Esquema 7) (RICARDO, 2006).

Esquema 7: Esquema geral de uma S_NAr



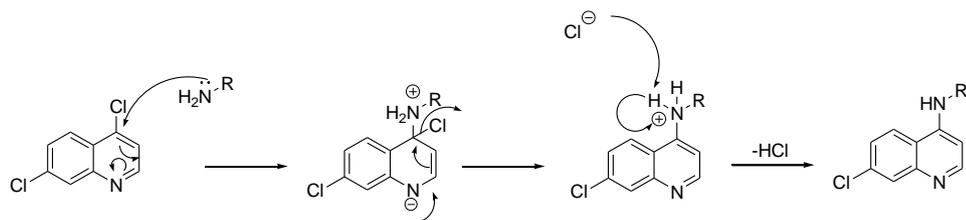
x = Grupo de saída; Y = Nucleófilo; GER = Grupo eletroretirador;

Fonte: ADAPTADO DE (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2001)

De modo geral, os anéis aromáticos não são propensos a sofrer substituições nucleofílicas, dada a elevada densidade eletrônica associada aos elétrons π deslocalizados sobre os anéis. No entanto, quando esses anéis possuem substituintes que são retiradores de elétrons, ou quando existe um heteroátomo eletronegativo incorporado ao anel aromático, a ocorrência de uma substituição nucleofílica poderá ser facilitada. Um exemplo deste último caso é a piridina, cujo caráter nucleofílico é significativamente superior ao do benzeno, devido à elevada eletronegatividade do átomo de nitrogênio inserido no anel aromático, assim, torna-se mais fácil realizar uma S_NAr sobre um anel de piridina do que sobre o anel benzênico (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2001).

No caso particular deste trabalho, a 4,7-dicloroquinolina é um composto formado por um anel benzênico unido a um anel piridínico, por isso o ataque nucleofílico acontece no carbono 4, mais eletrofílico, devido ao fato de estar simultaneamente ligado a um átomo que é bom grupo abandonador e em posição *para* em relação ao nitrogênio do anel heterocíclico (Esquema 8).

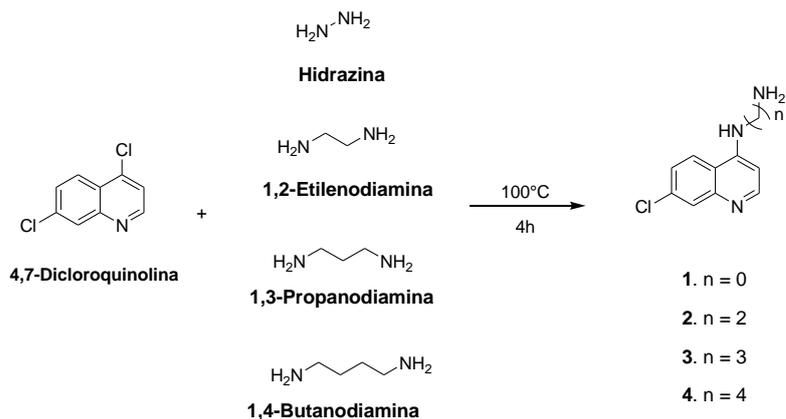
Esquema 8: Mecanismo de S_NAr na 4,7-dicloroquinolina



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Os nucleófilos utilizados nesse trabalho foram a hidrazina (solução etanólica 80%), 1,2-etilenodiamina, 1,3-propanodiamina e a 1,4-butanodiamina. Estas diaminas alquiladas são consideradas bons nucleófilos uma vez que tratam-se de aminas primárias onde o par de elétrons está disponível para atacar o carbono eletrofílico da 4,7-dicloroquinolina.

Esquema 9: Síntese dos compostos 4-aminoquinolínicos



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Os compostos **1** e **2** foram utilizados como materiais de partida para síntese das hidrazonas e das bases de *Schiff*, respectivamente, e, com exceção do composto **1**, todos os outros foram utilizados como ligantes nas sínteses de complexos de prata. A tabela 2 mostra a variação do ponto de fusão desses compostos assim como sua fórmula molecular e massa molar.

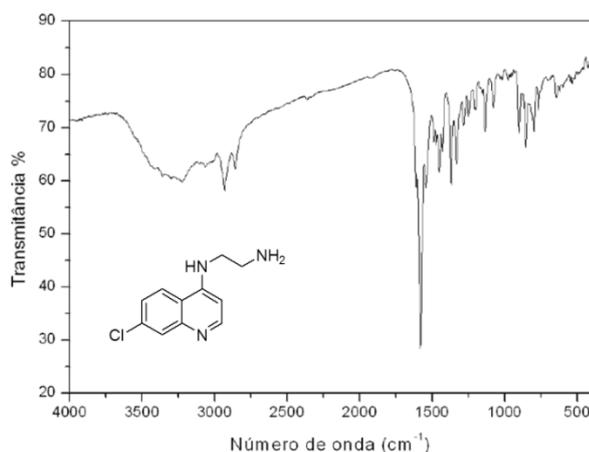
Tabela 2: Dados dos compostos **1** a **4**

Produto	Fórmula molecular e MM	Ponto de Fusão
1	C ₉ H ₈ ClN ₃ 193,63 g/mol	213°C
2	C ₁₁ H ₁₂ ClN ₃ 221,68 g/mol	141 °C
3	C ₁₂ H ₁₄ ClN ₃ 235,71 g/mol	97°C
4	C ₁₃ H ₁₆ ClN ₃ 249,74 g/mol	123°C

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Como todos os compostos já são reportados na literatura e, devido a semelhança estrutural dos mesmos, escolheu-se o composto **2** para fazer a discussão de seus dados espectroscópicos.

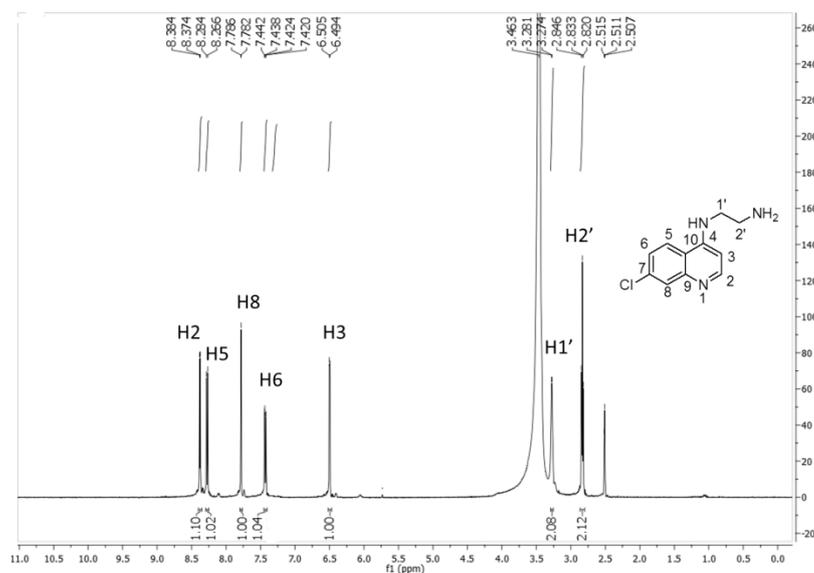
Figura 10: Espectro na região do infravermelho do composto **2**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

No espectro de infravermelho do composto obtido, Figura 10, observou-se a presença das bandas em 3300 cm⁻¹ características de estiramento de N-H de amina, em 3050 e 2930 cm⁻¹ tem-se os estiramentos característicos de C-H aromático e alifático, respectivamente, e em 1580 cm⁻¹ há uma banda intensa que pode ser atribuída aos estiramentos das contribuições C-C e C-N.

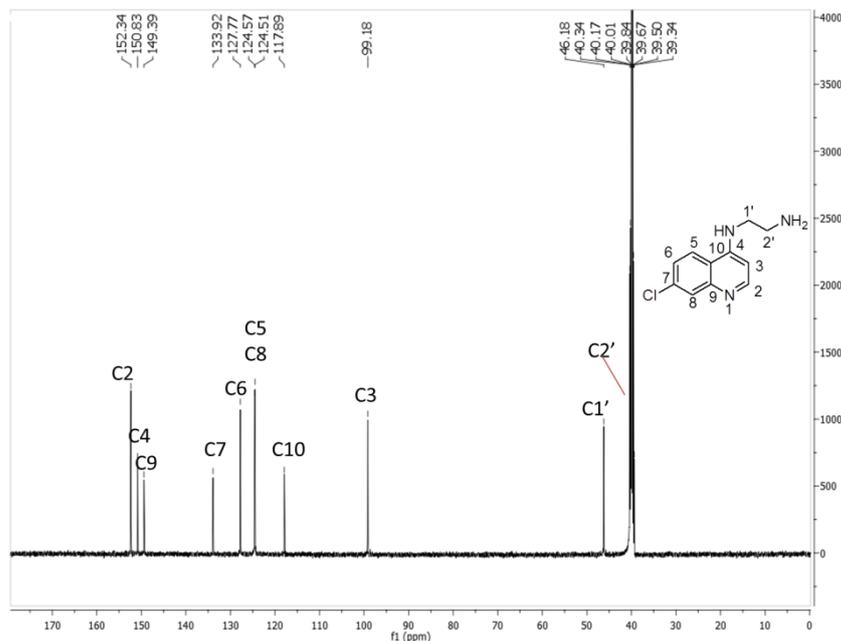
Figura 11: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do composto **2**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

A figura 11 mostra o espectro de RMN de ^1H do composto **2**, no qual, é possível observar na porção aromática cinco sinais referentes aos hidrogênios da porção quinolínica, onde em δ 8,379 verifica-se um duplete com $J = 5$ Hz referente ao H-2, duplete em δ 8,275 com $J = 9$ Hz atribuído ao H-5, um duplete em δ 7,784 com $J = 2$ Hz relacionado ao H-8, um duplo duplete em δ 7,431 com $J = 2$ Hz e 9 Hz referente ao H-6 e em δ 6,499 um duplete com $J = 5$ Hz referente ao H-3, que é o hidrogênio mais blindado do núcleo quinolínico. Na porção alifática do espectro notou-se a presença de dois tripletos em δ 3,281 e 2,833 ppm que são atribuídos aos hidrogênios metilênicos H-1' e H-2', respectivamente.

Figura 12: Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz) do composto **2**



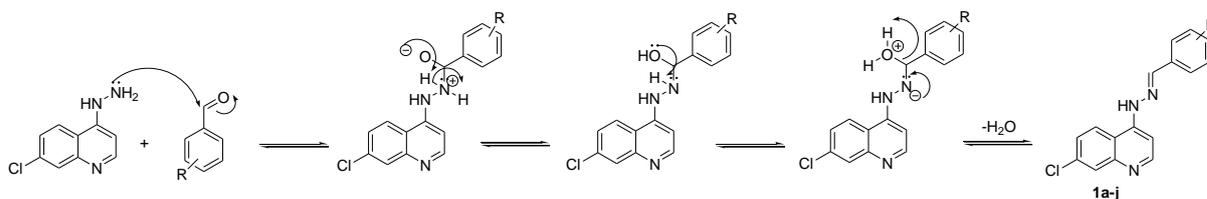
Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

A figura 12 mostra o espectro de RMN de ^{13}C do composto **2**, onde é possível observar na porção aromática, na região entre δ 152,34 e δ 99,18 os sinais dos carbonos do anel quinolínico, e em δ 46,18 e δ 40,34 observa-se sinais atribuídos aos hidrogênios metilênicos 1' e 2', respectivamente.

5.2 1ª SÉRIE - HIDRAZONAS

As hidrazonas podem ser obtidas através da reação entre aldeídos com aminas do tipo (R-NHNH₂). O mecanismo para obtenção desses compostos está descrito no esquema abaixo, no qual exemplificou-se a amina pelo composto **1** e o aldeído de forma geral, como o benzaldeído (Esquema 10).

Esquema 10: Mecanismo para formação de uma hidrazona



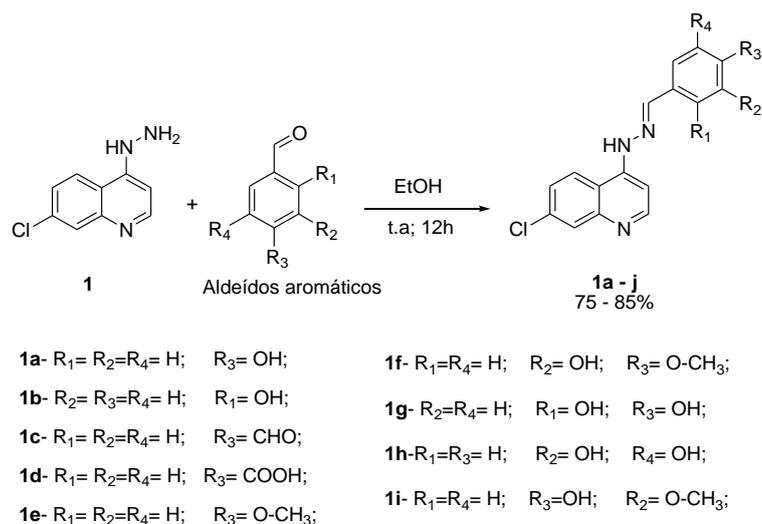
Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Sabe-se que o poder nucleofílico de aminas alifáticas esta associado ao valor do seu pKa. No caso da hidrazina, seu pKa é por volta de 8. Esse valor de pKa mostra que o poder nucleofílico desta amina é suficiente para atacar a carbolila e formar a hidrazona.

A maioria dos mecanismos que são reportados na literatura são em meio ácido, no entanto, mesmo sem o uso de ácido como catalisador há o ataque do nucleófilo, assim como ilustrado no esquema 10, porém a reação demora um pouco mais para acontecer. Essa reação de condensação é reversível e há a perda de uma molécula de água e, como esse processo ocorre sob controle de equilíbrio, é comum utilizar alguns recursos para remoção da água formada. Porém, no caso particular desse trabalho, foi realizado um teste com solvente grau HPLC, e foi observado um bom rendimento reacional, por isso não foi necessário o uso de nenhum recurso ou agente dessecante para remover a água gerada no meio reacional.

As hidrazonas foram obtidas através da reação entre o composto **1** com aldeídos mono e dissubstituídos em diferentes posições do núcleo aromático (esquema 12). Os aldeídos utilizados foram: 2-hidroxibenzaldeído, 3-hidroxi-*p*-anisaldeído, 2,4-dihidroxibenzaldeído, 4-hidroxibenzaldeído, 3,5-dihidroxibenzaldeído, 2-hidroxibenzaldeído, 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído, *p*-anisaldeído, Teraftaldialdeído e 4-carboxibenzaldeído.

Esquema 11: Síntese dos compostos **1a - j**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Foram obtidos, nesta primeira série 9 hidrazonas, compostos **1a** – **1i**, sendo que as hidrazonas **1a**, **1h** e **1i** são compostos inéditos e os demais já apresentam algum relato na literatura. No entanto, como a finalidade deste projeto vai além da síntese orgânica, uma vez que busca moléculas com atividade antimalárica e antileishmanicida, verificou-se que não havia nenhum estudo relacionado à atividade biológica desses compostos, por isso todos foram devidamente caracterizadas e submetidas a testes biológicos.

As condições reacionais utilizadas foram brandas, isto porque, a reação foi feita em temperatura ambiente e sem o uso de catalizadores. Escolheu-se como solvente o etanol, pois este é um dos solventes reportados na literatura que são utilizados para síntese de hidrazonas, além disso, utilizou-se um excesso de aldeído 1,2 equivalentes, pois nesta condição verificou-se que toda amina era consumida no meio reacional, o que é vantajoso na etapa de purificação do composto, uma vez que o produto precipita no meio reacional sendo assim possível remover o excesso de aldeído com diversas lavagens do produto em etanol.

A tabela a seguir mostra alguns dados espectroscópicos, faixa de fusão e rendimento de cada um dos compostos obtidos nessa série.

Tabela 3: Dados de RMN 1D (H-11 e C-11), IV (N=C), faixa de fusão e rendimento dos compostos **1a** – **1i**

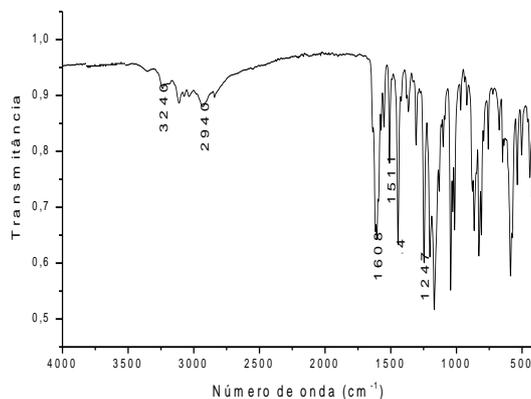
Composto	RMN 1D (δ)		IV (cm^{-1})	Faixa de Fusão ($^{\circ}\text{C}$)	Rendimento (%)
	H-11	C-11	N=C		
1a	8,314	143,7	1579	144,3 - 146,7 $^{\circ}\text{C}$	85
1b	8,357	142,4	1580	273,1 - 274,4 $^{\circ}\text{C}$	81
1c	8,45	143,2	1676	309,5 - 310,6 $^{\circ}\text{C}$	75
1d	8,45	143,8	1610	233,4 - 235,8 $^{\circ}\text{C}$	82
1e	8,575	143,6	1608	341,3 - 343,1 $^{\circ}\text{C}$	80
1f	8,37	146,0	1617	219,2 - 220,1 $^{\circ}\text{C}$	75
1g	8,59	143,5	1615	272,6 - 274,2 $^{\circ}\text{C}$	82
1h	8,22	144,1	1593	282,3 - 274,4 $^{\circ}\text{C}$	84
1i	8,31	144,5	1597	>360 $^{\circ}\text{C}$	79

Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

As hidrazonas obtidas não foram recristalizadas em nenhum solvente, apenas foi realizada uma filtração a vácuo e o sólido submetido a diversas lavagens com etanol a frio, a fim de remover o aldeído residual.

Devido à semelhança estrutural dos compostos **1a – j**, escolheu-se o composto **1e** para discussão dos dados espectroscópicos.

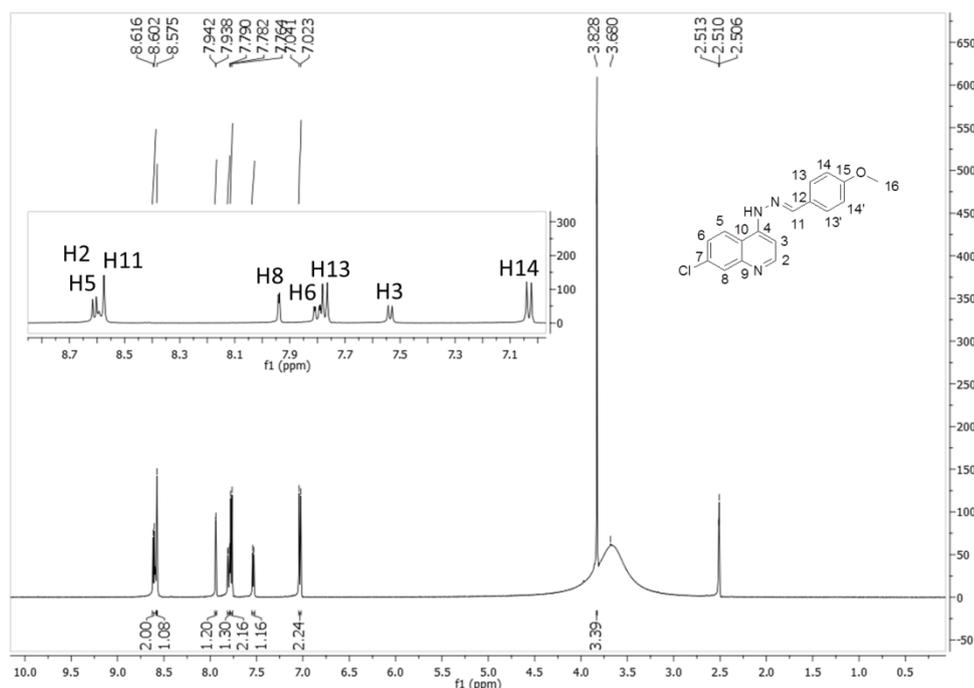
Figura 13: Espectro de infravermelho do composto **1e**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

A figura 13 mostra o espectro na região do infravermelho do composto **1e**, no qual é possível observar uma banda em 3240 cm⁻¹ referente a deformação axial da ligação NH, em 2940 cm⁻¹ tem-se uma absorção referente a deformação axial da ligação C-H, típica de grupos CH₂ e CH₃ alifáticos, em 1608 há uma banda intensa associada a deformação axial da ligação C=N presente com a formação da hidrazona, está absorção evidencia a formação do produto. As demais absorções em 1511 cm⁻¹ e 1247 cm⁻¹ são referentes aos estiramentos C=C do núcleo aromático e a deformação axial da ligação C-N presente no núcleo quinolínico.

Figura 14: Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do composto **1e**

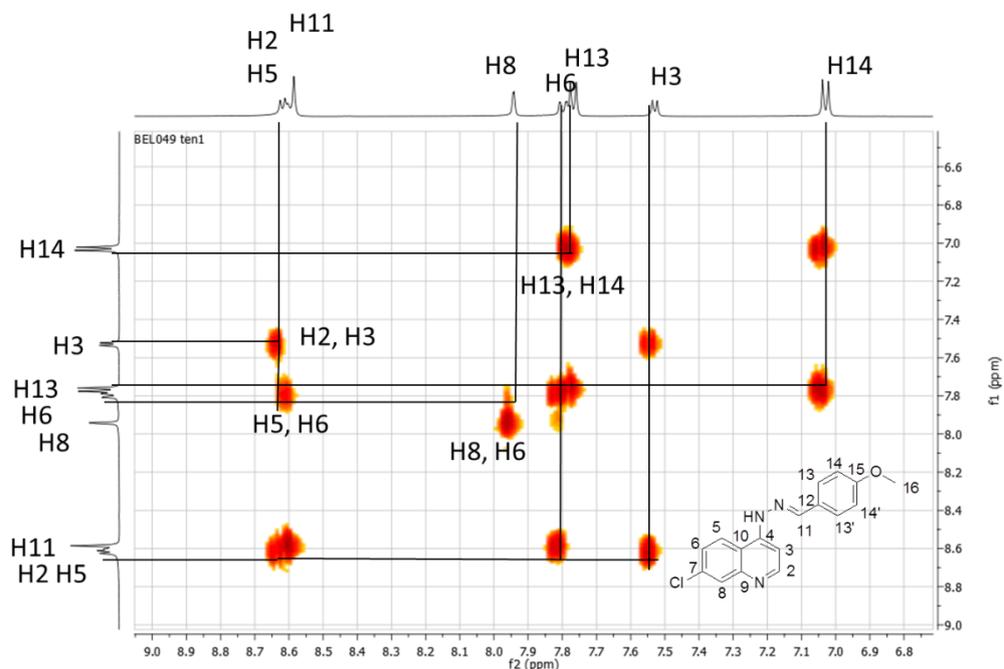


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

A figura 14 mostra o espectro de RMN ^1H do composto em questão. Na porção aromática do espectro é possível observar um simpleto em δ 8,57, sinal este que evidencia a formação do produto pois está relacionado ao hidrogênio da ligação imínica $-\text{C}=\text{N}-$. Ainda nessa região notou-se um duplete mais desblindado em δ 8,61, com $J = 7,0$ Hz, associado ao H-2 do núcleo quinolínico; um simpleto em δ 8,60 referente a H-5 (este sinal está sobreposto ao duplete referente ao H5); em δ 7,94 tem-se um duplete com $J = 2,0$ Hz, atribuído ao H-8; um duplo duplete em δ 7,80 com $J = 9,0$ e $2,0$ Hz, referente ao H-6, que apresenta tal multiplicidade devido ao fato de acoplar tanto com H-5 a ^3J quanto com H-6 a ^4J ; um duplete em δ 7,77 apresenta $J = 8,7$ Hz que está relacionado aos prótons do aldeído H-13 e H-13'; em δ 7,54 observou-se um duplete com $J = 7,0$ Hz que está relacionado ao H-3, hidrogênio mais blindado no núcleo quinolínico; em δ 7,03 tem-se um duplete com $J = 8,7$ Hz, que pode ser atribuído aos prótons mais blindados da porção aromática do aldeído, que são os H-14 e H-14'. Ainda nesse mesmo espectro, na porção alifática, pode-se observar em δ 3,82 um simpleto referente aos hidrogênios metoxílicos H-16.

Com a finalidade de confirmar as atribuições feitas no espectro de RMN ^1H , foi feito um espectro 2D cosy (Figura 15) do composto a fim de observar as correlações existentes entre os hidrogênios.

Figura 15: Mapa de contornos homonuclear COSY do composto **1e**

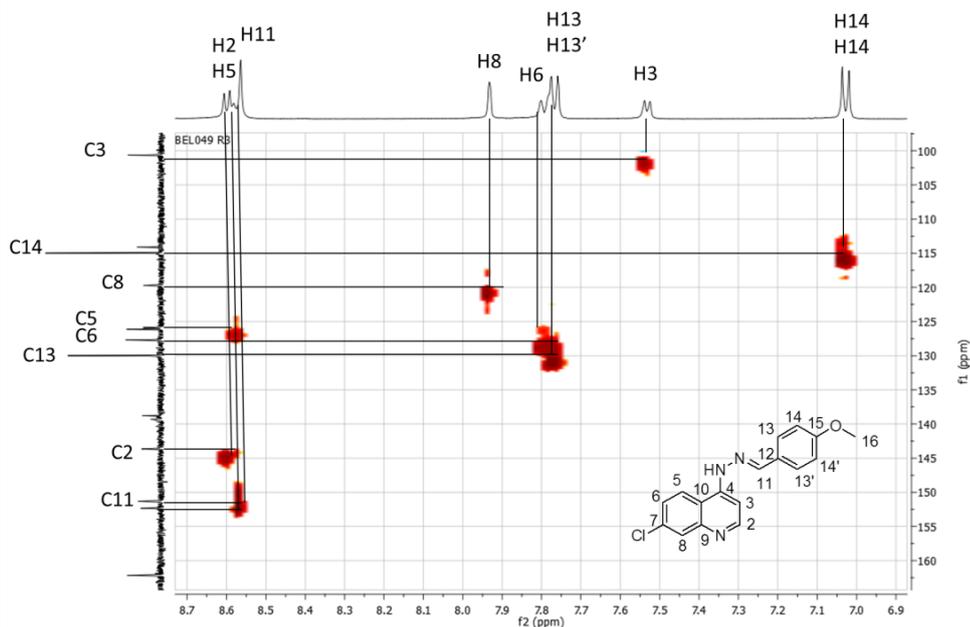


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

A partir da análise do mapa de contornos COSY foi possível observar a correlação existente entre o H8 (δ 7,94) e H6 (δ 7,80), tal fato justifica a multiplicidade destes hidrogênio, uma vez que acoplam a 4J e, por isso, apresentam-se como um duplete e um duplo duplete, respectivamente.

O mapa de contornos HSQC (Figura 16) do composto **1e**, foi realizado para que as correlações existentes entre os átomos de carbono e hidrogênio fossem observadas e assim, pudessem auxiliar nas atribuições feitas no espectro de ^{13}C do referido composto.

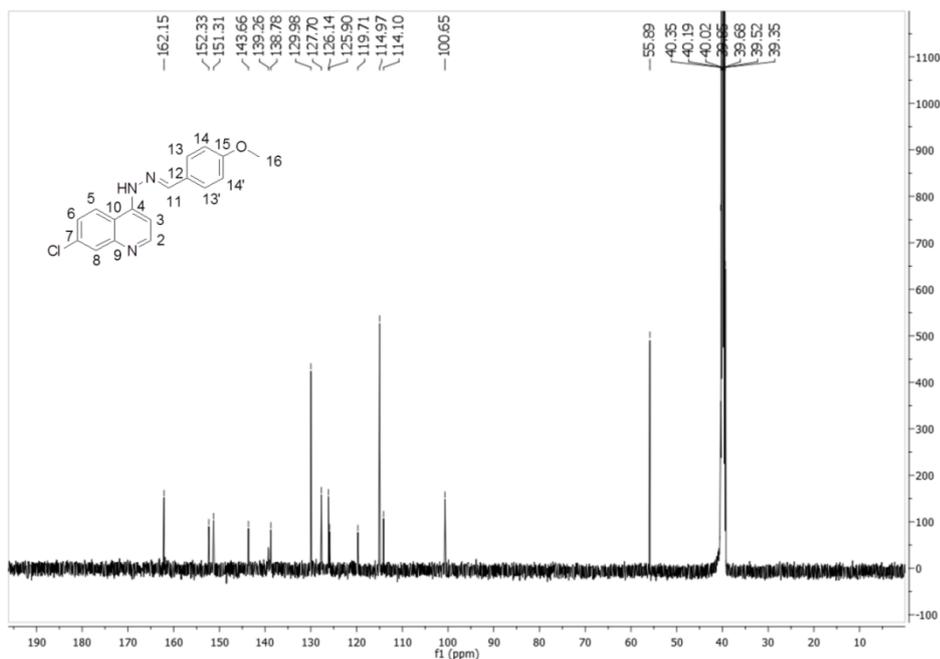
Figura 16: Mapa de contornos HSQC do composto **1e**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

A partir da análise do mapa de contornos HSQC do composto **1e**, foi possível atribuir os sinais dos carbonos hidrogenados, através das correlações observadas e, em seguida as demais atribuições foram feitas no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 17).

Figura 17: Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz) do composto **1e**

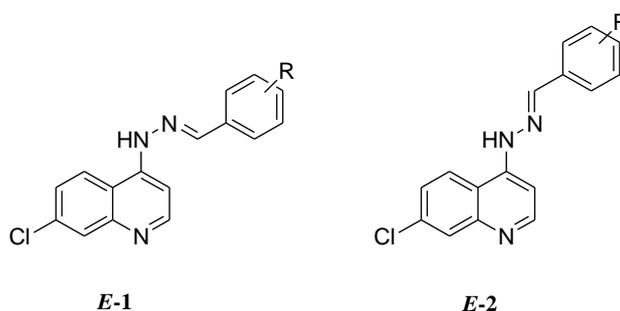


Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

A figura 17 mostra o espectro de RMN ^{13}C do composto em questão, observa-se um sinal em δ 151,3 referente ao carbono C-11, ligado ao hidrogênio da hidrazona, confirmando assim a formação do produto.

Pelo fato das hidrazonas apresentarem uma ligação dupla entre os átomos de nitrogênio e carbono pode-se falar em configurações *E* e *Z* para esses compostos. No entanto, segundo dados da literatura, sabe-se que a conformação mais estável para esses compostos é a *E*.

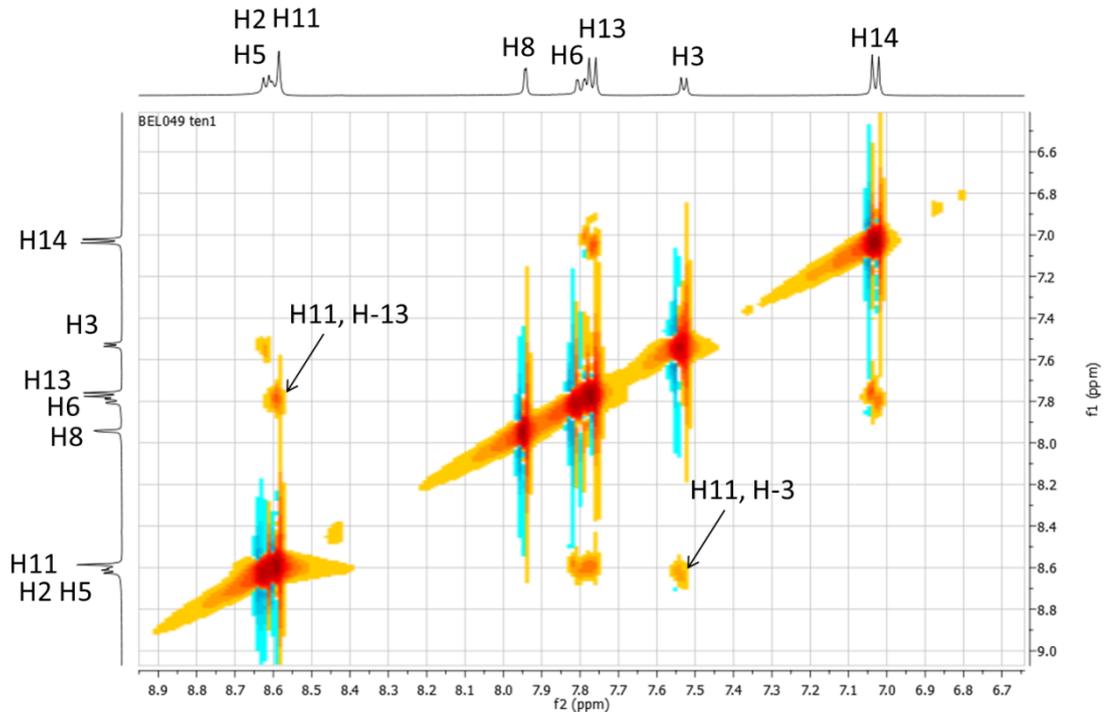
Figura 18: Configurações *E* para os compostos da 1ª série



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

A figura 18 mostra duas possíveis configurações *E*, aqui denominadas *E*-1 e *E*-2, para os compostos da primeira série, e, para determinar qual das configurações é a mais adequada foi realizado um mapa de contornos homonuclear NOESY (Figura 19) a fim de verificar correlações espaciais entre os hidrogênios.

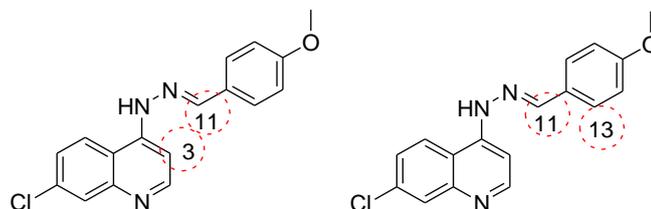
Figura 19: Mapa de contornos homonuclear NOESY do composto **1e**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Pela análise do mapa de contornos do composto **1e** é possível observar em 7,5 ppm a correlação espacial existente entre os hidrogênios H-3 e H-11, assim como em 8,6 ppm a correlação entre H-11 e H-13. Esses dados mostram que há proximidade espacial entre esses hidrogênios de tal maneira que configuração espacial do composto seja igual à reportada na figura a seguir.

Figura 20: Configuração *E*-1 do composto **1e**



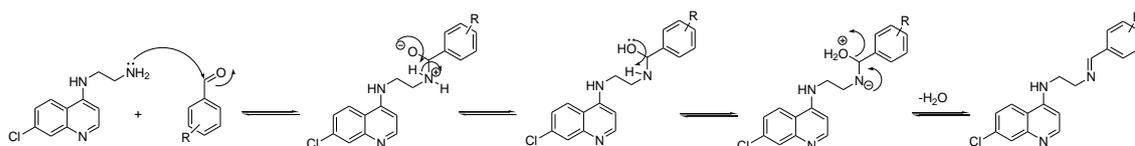
Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

5.3 2ª SÉRIE – BASES DE SCHIFF

A reação para a formação de uma imina é dada pela condensação reversível entre uma amina e um aldeído com a perda de uma molécula de água. Para realização desta série de compostos foi utilizada a amina de interesse, a 4-aminoquinolina derivada da 1,2-etilenodiamina, composto **2**, e os aldeídos selecionados foram os mesmos que os utilizados para síntese dos compostos da 1ª série.

A seguir, no esquema 13, está ilustrado o mecanismo para obtenção desses compostos, uma vez que a reação não sob catálise ácida (conforme o ilustrado no mecanismo da pág 47) no qual exemplificou-se a amina pelo composto **2** e o aldeído de forma geral, como o benzaldeído.

Esquema 12: Mecanismo para formação de bases de Schiff



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Esse mecanismo é igual ao mecanismo ilustrado no esquema 11, o qual mostra a formação das hidrazonas, a única diferença está relacionada ao tipo de nucleófilo utilizado.

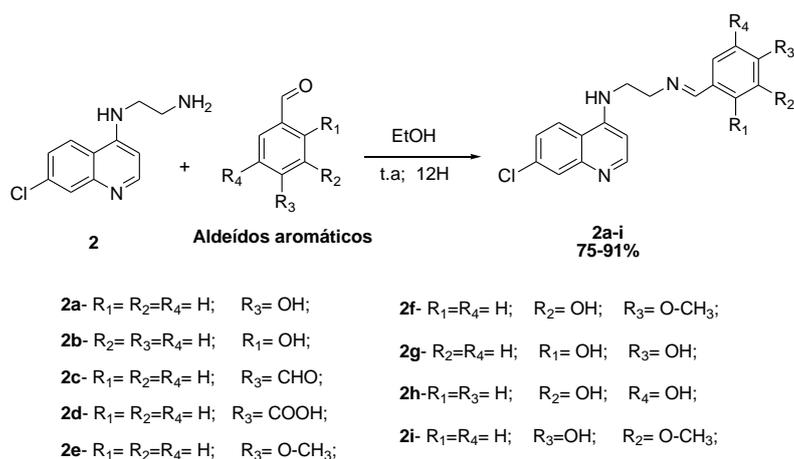
É importante ressaltar que a maioria dos procedimentos para obtenção de bases de Schiff são realizados em meio ácido, no entanto, o uso desses catalisadores nem sempre é vantajoso, uma vez que pode comprometer o rendimento da reação, conforme será descrito no experimento a seguir.

Foram realizados alguns testes utilizando ácido acético glacial a fim de observar como a reação iria proceder. O procedimento foi o mesmo do que o utilizado para obter as hidrazonas (1ª série), porém, após quatro horas de reação, fez-se uma placa cromatográfica, eluente diclorometano e metanol (9:1) e verificou-se que já havia produto formado, porém restavam ainda matérias de partida na mistura, sendo assim, adicionou-se uma gota de ácido acético à solução, e após 5 minutos observou-se a formação de um precipitado. Esse precipitado foi filtrado, lavado com etanol e depois seco na estufa a 70°C. O rendimento dessa reação foi calculado e comparado com o rendimento da mesma reação feita sem o uso de catalisador

com tempo reacional de 36 horas, e, observou-se que o rendimento foi maior cerca de 30% para a reação sem catalisador.

Foram obtidas 9 bases de *Schiff*, compostos **2a** – **2i**, dos quais nenhum apresenta relatos na literatura. A seguir, o esquema 14 mostra a síntese desses compostos.

Esquema 13: Síntese dos compostos da 2ª série (**2a-i**)



Fonte: ELABORADO PELA PROPRIA AUTORA

Como esses compostos são inéditos, todos foram devidamente caracterizados por técnicas espectroscópicas como infravermelho e ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C. Após a caracterização essas moléculas foram submetidas a testes biológicos em doenças infecto-parasitárias como malária e leishmaniose.

A tabela 4 a seguir mostra alguns dados espectroscópicos, ponto de fusão e rendimento dos compostos obtidos na 2ª série, bases de *Schiff*, desse trabalho.

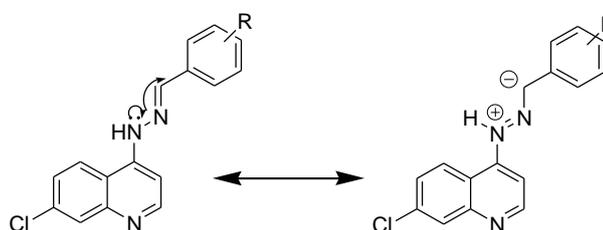
Tabela 4: Dados de RMN 1D (H-13 e C-13), IV (N=C), faixa de fusão e rendimento dos compostos **2a – i**

Composto	RMN 1D (δ)		IV (cm^{-1})	Faixa de Fusão ($^{\circ}\text{C}$)	Rendimento (%)
	H-13	C-13	N=C		
2a	8,196	162,1	1581	264,5 – 265,7 $^{\circ}\text{C}$	87
2b	8,196	161,0	1596	219,9 – 220,1 $^{\circ}\text{C}$	78
2c	8,361	162,2	1598	233,5 – 235,1 $^{\circ}\text{C}$	82
2d	8,196	162,2	1593	304,1 – 305,5 $^{\circ}\text{C}$	80
2e	8,01	161,6	1607	305,8 – 309,4 $^{\circ}\text{C}$	79
2f	8,173	162,2	1582	197,5 – 198,9 $^{\circ}\text{C}$	88
2g	8,333	162,2	1605	235,2 – 237,1 $^{\circ}\text{C}$	91
2h	8,143	162,9	1580	269,3 – 270,8 $^{\circ}\text{C}$	90
2i	8,18	162,2	1590	196,7 – 198,4 $^{\circ}\text{C}$	81

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

A partir da análise da tabela 4 é possível observar que em todos os compostos o deslocamento químico do hidrogênio imínico cai na região entre 8,1 a 8,5 ppm, e apresenta-se como um simpleto, assim como foi observado nos compostos da primeira série. Já o carbono imínico apresentou deslocamento químico na região entre 160 a 162 ppm, um pouco diferente do observado para os compostos da primeira série que apresentavam-se por volta de 143 ppm. Essa diferença entre os deslocamentos químicos nos sinais de carbono acontecem uma vez que na estrutura química das hidrazonas há dois átomos de nitrogênio que podem entrar em ressonância deixando o carbono com uma carga negativa, isto é, blindado, por isso cai numa região mais baixa no espectro.

Esquema 14: Possíveis estruturas de ressonância dos composto **1a-i**

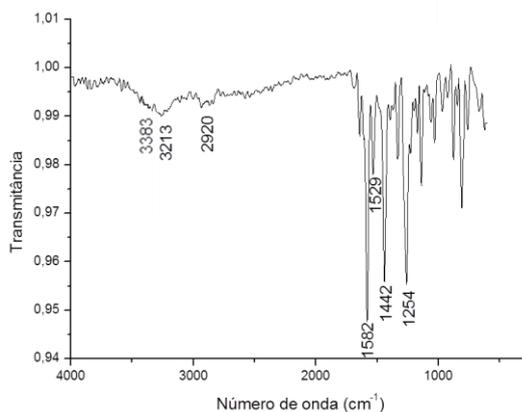


Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Tal fato não ocorre com os compostos da segunda série pois há a presença de espaçadores entre os dois nitrogênios presentes na molécula e isto faz com que não ocorra ressonância, sendo assim, o carbono dos compostos **2a-i** é mais desblindado.

Devido a similaridade estrutural existente entre os compostos **2a-i**, escolheu-se o composto **2f** para fazer a discussão de seus dados espectroscópicos.

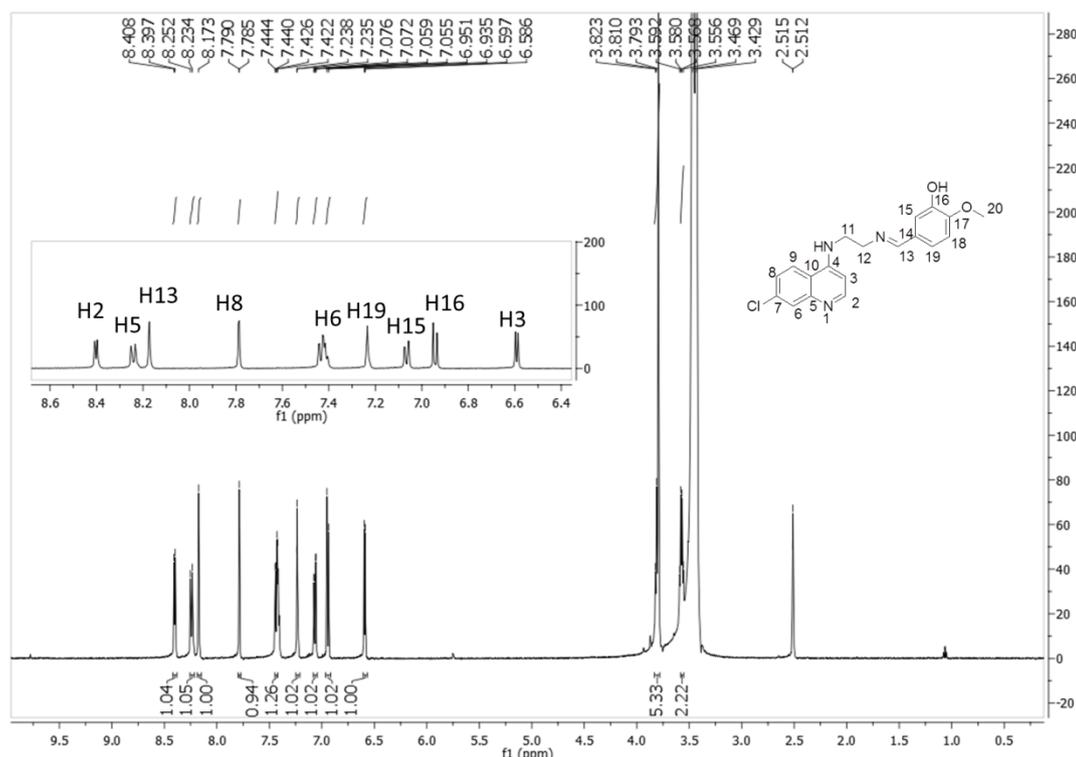
Figura 21: Espectro na região do infravermelho do composto **2f**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

A figura 21 mostra o espectro na região do infravermelho do composto **2f**, é possível observar uma banda em 3383 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação O-H do grupo hidroxila presente no composto, em 3213 cm^{-1} tem-se a deformação axial da ligação N-H de aminas secundárias, em 2920 cm^{-1} observa-se uma absorção referente a deformação axial da ligação C-H, típica de grupos CH_2 e CH_3 alifáticos, em 1582 cm^{-1} há uma banda intensa associada a deformação axial da ligação C=N de iminas, esta absorção sugere a formação do produto. As demais absorções em 1442 cm^{-1} e 1254 cm^{-1} são referentes a deformação angular, C=C do núcleo aromático e a deformação axial da ligação C-N presente no núcleo quinolínico.

Figura 22: Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do composto **2f**

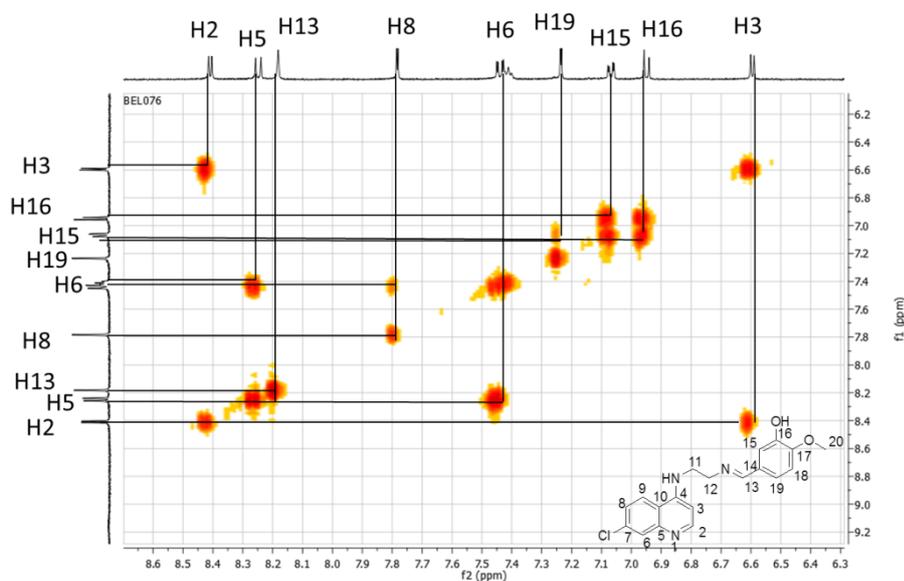


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Na figura 22, está ilustrado o espectro de RMN de ^1H do composto **2f**, no qual é possível observar um simpleto em δ 8,173 que evidencia a formação do produto uma vez que é atribuído ao próton imínico, H-13; o hidrogênio mais desblindado é o pertencente ao núcleo quinolínico, H-2, cujo sinal apresenta-se em δ 8,402 como um duplete, com $J = 2,0$ Hz; um duplete em δ 8,243 com $J = 9,0$ Hz está relacionado ao H-5; o H-8 acopla a 4J com H-6 e por isso apresenta-se como um duplete em δ 7,787; em δ 7,433 tem-se um duplo duplete com $J = 2,0$ e $9,0$ Hz referente ao H-6; um duplete em δ 7,236 com $J = 1,5$ é atribuído ao H-19 que apresenta tal multiplicidade devido ao seu acoplamento a 4J com H-15; um duplo duplete em δ 7,065 com $J = 2,0$ e $8,5$ Hz está relacionado com H-15; em δ 6,943 tem-se um duplete com $J = 8,0$ Hz atribuído ao H-16; um duplete em δ 6,590 com $J = 5,5$ Hz esta relacionado com H-3, hidrogênio mais desblindado da porção aromática da molécula; um multiplete é observado em δ 3,810 e nele estão os hidrogênios metilênicos H-12 assim como os hidrogênios metoxílicos H-20; em δ 3,574 tem-se um quarteto com $J = 6,0$ e $12,0$ Hz e está relacionado aos hidrogênios metilênicos H-11.

As atribuições dos sinais de hidrogênio foram feitas com base na multiplicidade dos sinais assim como nos valores das constantes de acoplamento, porém para se ter certeza das atribuições fez-se um espectro 2D COSY (Figura 23), a fim de observar as correlações existentes entre os hidrogênios desta molécula.

Figura 23: Mapa de contornos COSY do composto **2f**

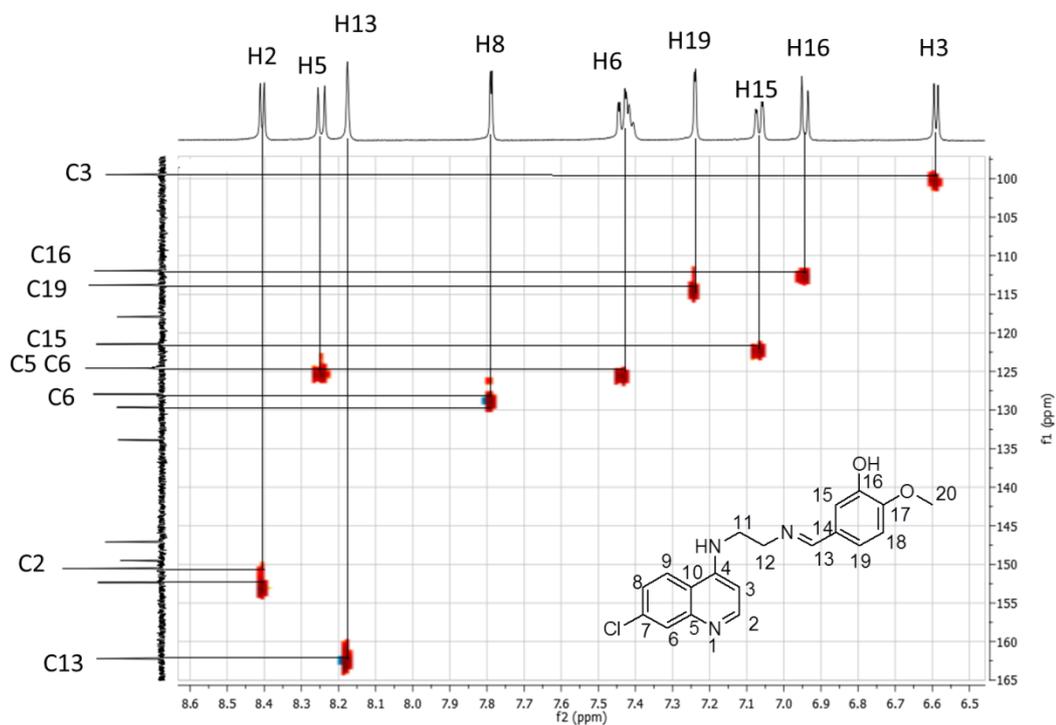


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

A partir da análise do mapa de contornos (Figura 23) é possível observar as correlações existentes entre os hidrogênios que estão a três e quatro ligações de distância, tais como os hidrogênios H15 e H19, que aparecem como duplete e duplo duplete, respectivamente, e, H6 e H8 que também apresentam-se como duplete e duplo duplete respectivamente, isto porque em ambos os casos tem-se um acoplamento a 4J . Todas as correlações observadas estão de acordo com o que já tinha sido estabelecido no espectro 1D deste composto.

O mapa de contornos HSQC (Figura 24), foi feito a fim de observar as correlações existentes entre carbono e hidrogênio presentes neste composto e assim conseguir atribuir corretamente os sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C .

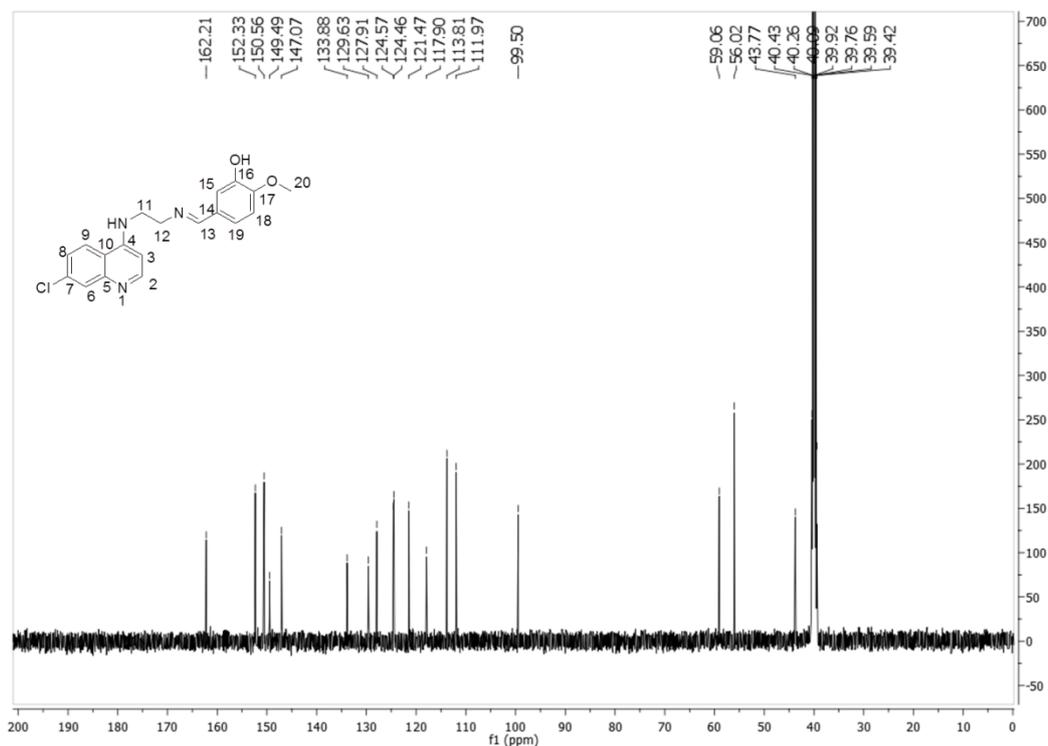
Figura 24: Mapa de contornos HSQC do composto **2f**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

A figura 24 ilustra o mapa de contornos HSQC do composto **2f** no qual pode-se atribuir os sinais dos carbonos hidrogenados, a partir das correlações observadas e, posteriormente, no espectro de carbono (Figura 25), foram feitas as demais atribuições para esse mesmo composto.

Figura 25: Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 Hz) do composto **2f**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Em δ 162,21 está o sinal atribuído ao C-13, carbono imínico, fato este que evidencia a formação do produto, e do outros sinais foram atribuídos de acordo com a blindagem de cada núcleo.

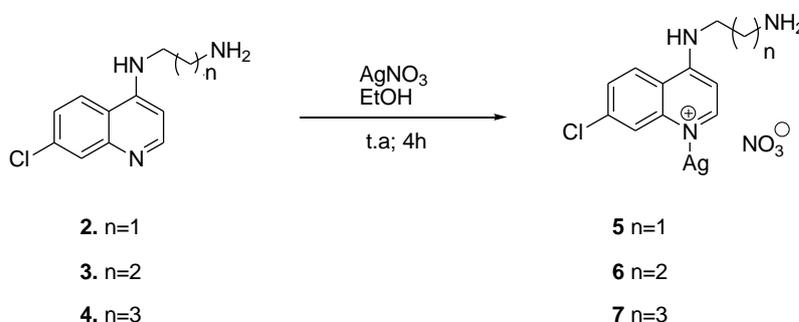
3ª SÉRIE – COMPLEXOS DE PRATA

A síntese e as caracterizações dos complexos de prata foram feitas em colaboração com o professor Dr. Alexandre Cui do Departamento de Química da UFJF.

Escolheu-se trabalhar com as 4-aminoquinolinas pois nosso grupo de pesquisa já sintetizou complexos de platina (CARMO *et al.*, 2011) com esses mesmos ligantes e verificou-se uma boa atividade biológica dos mesmos, sendo assim, essa série surgiu com o intuito de comparar o comportamento da prata frente aos resultados em testes biológicos em doenças como malária e leishmaniose.

Os complexos de prata foram sintetizados de acordo com condições reacionais já descritas na literatura. As 4-alkil-diaminoquinolinas (0,5 mmol), a saber, compostos **2**, **3** e **4**, foram solubilizados em 10 mL etanol e colocadas em agitação moderada a temperatura ambiente para que a solução se mantivesse homogênea. Posteriormente, uma quantidade equimolar de nitrato de prata (AgNO_3) foi solubilizada em 5 mL de etanol, adicionou-se 2 gotas de água destilada para aumentar a solubilidade do nitrato de prata. Esta solução foi vertida na solução etanólica contendo a 4-alkil-diaminoquinolina de interesse e cerca de 3 a 5 minutos após essa adição houve a formação do precipitado.

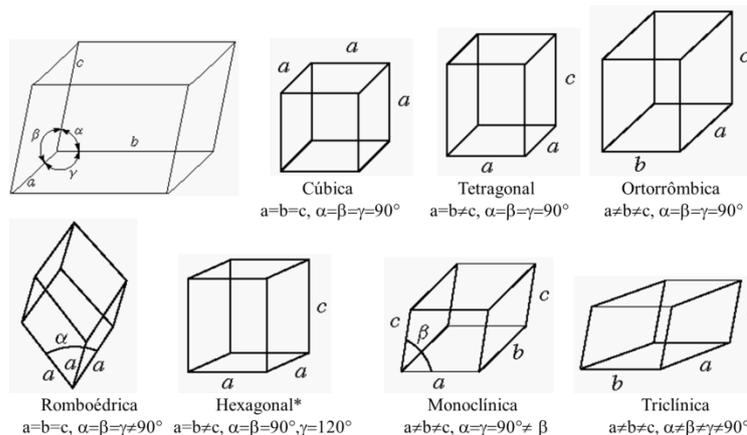
Esquema 15: Síntese dos complexos de prata



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

As estruturas cristalinas dos complexos de prata **5** e **6** foram devidamente elucidadas com auxílio da técnica de difração de raios X por policristais. No entanto, a estrutura cristalina do complexo com ligante 1,4-butanodiamina (complexo **7**) ainda encontra-se em estudo por esta técnica. De acordo com a análise dos dados contidos nos difratogramas dos complexos **5** e **6** foi possível, inicialmente, calcular os valores dos parâmetros de rede (a, b, e c, α , β , γ) e o grupo espacial correspondente através da análise de abstenções sistemáticas (PAWLEY, 1981). Em um segundo passo, procedeu-se *'simulated annealing'* (COELHO, 2000) onde as posições atômicas são definidas e, por fim, procedeu-se o refinamento da rede cristalina, dos parâmetros atômicos, dos dados ópticos do equipamento e possíveis defeitos intrínsecos do empacotamento da amostra, seguindo o método de refinamento de Rietveld (COPPENS, 1997).

Figura 26: Tipos de sistemas cristalinos



Fonte: ADAPTADO DE (MAFUD, 2006)

Em cristalografia, pode-se classificar um cristal quanto ao seu sistema cristalino (Figura 26) e grupo espacial. Sistemas cristalinos são definidos pelos parâmetros de rede (a , b , c , α , β e γ). O grupo espacial ou grupo cristalográfico é uma descrição da simetria do cristal, isto é, o grupo espacial é definido acordo com os elementos de simetria presentes.

Os complexos **5** e **6** foram analisados por DRXP (difração de raios X por policristais) e os dados cristalográficos e os parâmetros estatísticos de refinamento se encontram na tabela 5.

Tabela 5: Parâmetros de rede, volume, sistema cristalino e grupo espacial dos complexos de prata **5** e **6**

	Complexo 5	Complexo 6
Fórmula empírica	C ₁₁ H ₁₂ AgClN ₃	C ₁₂ H ₁₄ AgClN ₄ O ₃
Massa molar (g.mol ⁻¹)	329,55	405,59
T(K)		298
Comprimento de onda λ/Å		1.5418
Sistema cristalino	Triclínico	Monoclínico
Grupo espacial	<i>P-1</i>	<i>C₂/c</i>
<i>a</i> (Å)	7.792(8)	21.665(2)
<i>b</i> (Å)	7.634(8)	11.603(8)
<i>c</i> (Å)	11.217(1)	13.768(8)
<i>α</i> (°)	89.01(3)	90
<i>β</i> (°)	95.67(2)	125.14(5)
<i>γ</i> (°)	88.28(2)	90
V (Å ³)	663.6(1)	2830.3(4)
Z	2	8
d _{calc} (g cm ⁻³)	1.96(4)	1.90(1)
μ (mm ⁻¹)	14.3	13.3
Número de parâmetros	42	43
<i>R</i> _{Bragg} , <i>R</i> _{wp} , <i>GOF</i>	0.017, 0.06, 0.065	0.040, 0.065, 0.052

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

A tabela 6 mostra as principais distâncias e ângulos de ligação observados na estrutura os complexos.

Tabela 6: Relação entre ângulos e distâncias entre os átomos

Distância(Å)/ Ângulo(°)	Complexo	
	5	6
Ag-N ^q	2.165	2.301
Ag-N ^a	2.402	2.329
Ag-O	--	2.667
Ag-Ag	> 5	3.25
N ^q -Ag-N ^a	178.97	169.9
N ^q -Ag-O	---	90.9
N ^a -Ag-O	----	98.9

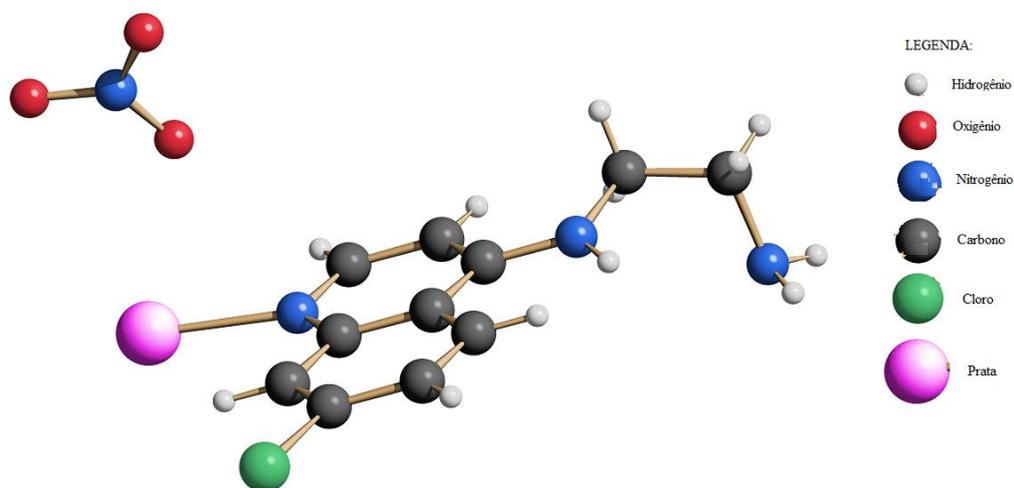
N^q(nitrogênio do núcleo quinolínico); N^a (nitrogênio aminina terminal)

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

- Descrição do Complexo 5

Os dados experimentais ilustrados na tabela 5 foram devidamente resolvidos e tratados de modo que a unidade assimétrica está ilustrada na figura abaixo.

Figura 27: Representação da unidade assimétrica do complexo 5

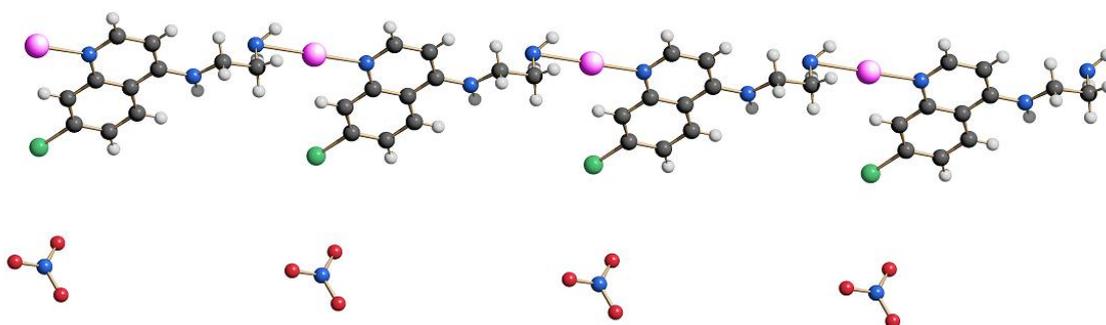


Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

O complexo 5 apresenta, na sua unidade assimétrica o íon prata(I), o ligante 4-aminoquinolínico e o ânion nitrato, que neste caso está como contra-íon, como pode ser visto

na figura 25. A prata está ligada ao nitrogênio quinolínico com distância de 2,165Å, além disso, verificou-se que o nitrogênio terminal do ligante interage com o íon prata(I) da outra unidade assimétrica, originando-se uma rede polimérica unidimensional ao longo do eixo c (Figura 28). Nesse polímero a prata apresenta uma geometria linear, uma vez que o ângulo de ligação N^q-Ag-N^a é de 178,98°.

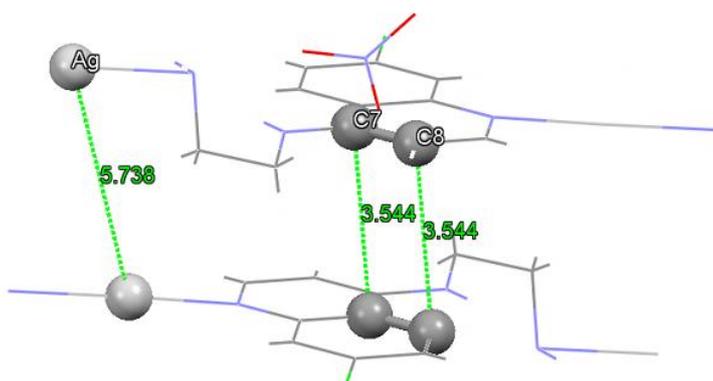
Figura 28: Representação do complexo **5** ao longo do eixo c.



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

No eixo b, há um empilhamento de unidades assimétricas onde existe uma interação π - π entre os anéis quinolínicos. No eixo a não foram encontradas interações relevantes.

Figura 29: Representação das principais interações no complexo **5**



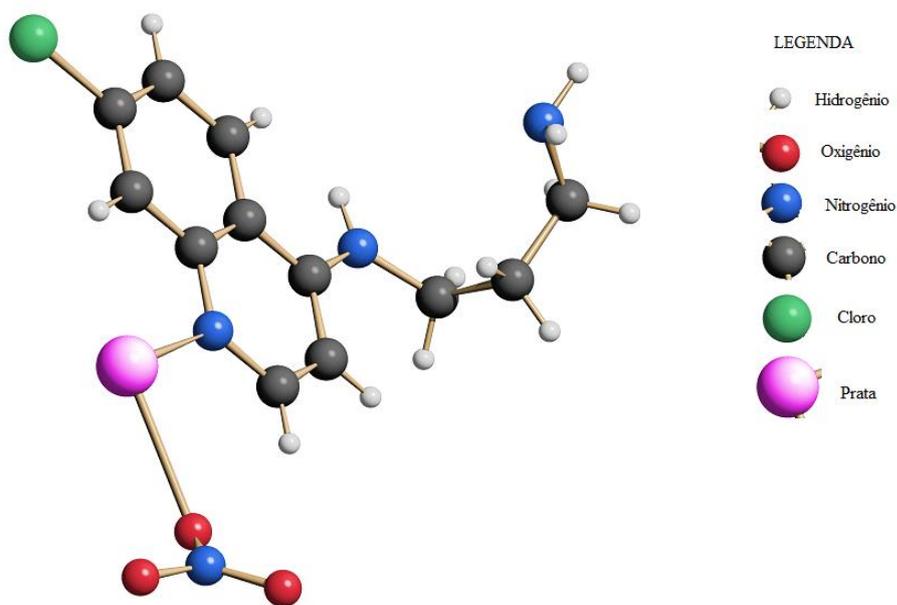
Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

A figura 29, mostra o empilhamento de unidades assimétricas onde é possível observar a distâncias em Å entre os anéis quinolínicos, responsáveis pela interação π - π .

- Complexo 6

O complexo cristaliza-se no sistema cristalino ortorrômbico e grupo espacial C_2/c . Os dados experimentais ilustrados na tabela 4 foram devidamente resolvidos e tratados de modo que a unidade assimétrica esta ilustrada na figura abaixo.

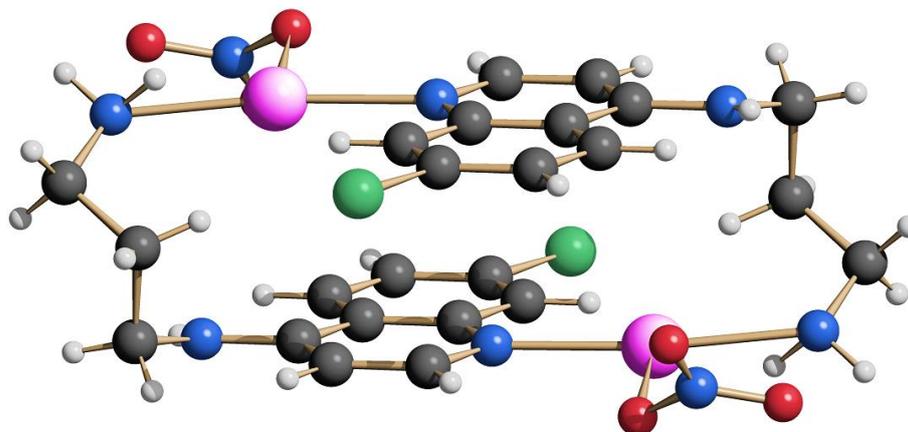
Figura 30: Representação da unidade assimétrica do complexo 6



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Assim como no complexo 5, o ligante se coordena ao íon Ag(I) também através do nitrogênio quinolínico com distância Ag-N^q igual a 2,301 Å. Porém, neste caso, o íon nitrato está diretamente ligado ao íon Ag(I) com distância da ligação Ag-O igual a 2,667Å, como pode ser visto na figura 27, assim como o nitrogênio terminal amínico também está coordenado ao íon Ag(I) de outra unidade assimétrica e, nesse caso, há a formação de dímeros discretos formados pela ligação Ag-N^q e Ag-N^a, conforme ilustrado na figura 30.

Figura 31: Representação da célula unitária do complexo 6

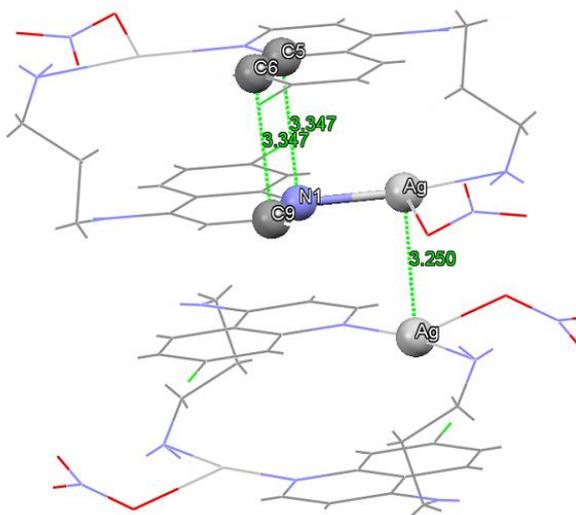


Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Na célula unitária (Figura 31) estão contidos 2 dímeros e a geometria da prata neste caso é trigonal plana distorcida pois, ela faz duas ligações com átomos de nitrogênio (N^q -Ag- N^a) e uma ligação com oxigênio do nitrato (N^a -Ag-O ou N^q -Ag-O).

Neste caso, o dímero apresenta interações π - π , também observado no complexo 5 devido aos orbitais dos núcleos quinolínicos e uma interação fraca Ag-Ag (3,25Å), conforme pode ser visto na figura 32 que mostra a distância entre essas ligações.

Figura 32: Representação das principais interações no complexo 6



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

6.0 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Todos os compostos sintetizados nesse trabalho tiveram seu potencial antiparasitário avaliado em parceria com a coorientadora prof^a. Dr^a. Elaine Soares Coimbra e com a prof^a. Dr^a. Clarice Abramo no laboratório do NUPEP (Núcleo de pesquisa em Parasitologia), Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFJF.

6.1 RESULTADOS BIOLÓGICOS DA 1ª SÉRIE

As moléculas sintetizadas na 1ª série de compostos desse trabalho foram avaliadas quanto a sua citotoxicidade em células de mamíferos e quanto a sua atividade antiparasitária em três espécies de parasitos do gênero *Leishmania*.

Todos esses testes foram realizados por mim com a supervisão da aluna de doutorado Luciana Antinarelli, sob a orientação da professora Dr^a. Elaine Soares Coimbra.

6.1.1 Citotoxicidade em células de mamíferos

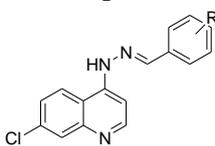
Inicialmente, como a *Leishmania* é um parasito intracelular obrigatório encontrado principalmente parasitando macrófagos, foi avaliado o efeito dos compostos em macrófagos peritoneais de camundongos Balb/c. Convém ressaltar que os macrófagos de camundongos são muito utilizados em estudos toxicológicos.

Como metodologia em resumo: após obtenção dos macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c, os mesmos foram contados em câmara de Neubauer e plaqueados em placas plásticas de 96 poços. As placas permaneceram por 16 horas em estufa com 5% de dióxido de carbono (CO₂) a 37°C, para a adesão dos macrófagos. Em seguida cada poço foi lavado com PBS estéril para a retirada das células não aderidas e os compostos foram adicionados em diferentes concentrações e mantidos na estufa com 5% de CO₂ a 37°C, onde permaneceram por 72 horas. A viabilidade celular foi mensurada após o uso do MTT, (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazólico), (Sigma-Aldrich), um indicador colorimétrico de

viabilidade celular, no qual o sal tetrazolium de cor amarela e solúvel em água é convertido em formazan, produto insolúvel e de cor lilás pela atividade das desidrogenases mitocondriais das células vivas, tornando-se posteriormente solúvel com a adição de solução de isopropanol/ácido clorídrico (MOSSMAN, 1983). Os testes foram realizados em duplicatas e em alguns poços não houve adição de compostos (controle). A viabilidade celular foi obtida após a leitura em espectrofotômetro (Multiskan EX -ThermoElectron Corporation, Waltham, Massachusetts, EUA) a 570 nm. Os resultados foram calculados como porcentagem de inibição do crescimento dos macrófagos em relação ao controle. Foi então determinado o CC₅₀ de cada composto, que representa a concentração molar que mata 50%. O CC₅₀ foi calculado com o auxílio do programa *GraFit5* (Erithacus Software Ltda., Horley, U.K). Miltefosina foi utilizada como fármaco de referência.

A tabela 7 a seguir mostra os resultados citotóxicos dos compostos da primeira série, sendo que todos os resultados foram expressos em CC₅₀, o qual representa a concentração de citotoxicidade que matou 50% das células.

Tabela 7: Resultados citotóxicos em macrófagos peritoneais dos compostos da 1^a série

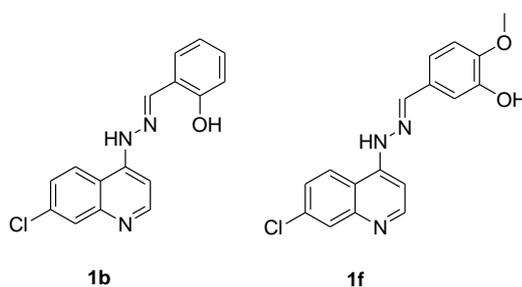
Compostos 	Macrófagos peritoneais CC ₅₀ (µM) (95% I.C)
1 a	>150,00
1b	57,38(46,99-70,06)
1c	>150
1d	>150
1e	>150
1f	15,15 (10,58 – 21,69)
1g	>150
1h	>150
1i	>150
Miltefosina	131,99±3,95
Anfotericina B	85,81±30,49

CC₅₀ (concentração citotóxica que mata 50% das células); I.C (concentração inibitória). Miltefosina e anfotericina B foram utilizadas como fármacos de referência.

Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Como pode ser observado na tabela 7, a grande maioria dos compostos testados não apresentaram citotoxicidade para macrófagos peritoneais até a concentração máxima testada (150 µg/mL), isto significa que os compostos não destruíram as células de defesa nem as prejudicaram com relação ao seu aspecto (espraiados). No entanto, os compostos **1b** e **1f**, não obtiveram resultados tão promissores, uma vez que os valores de CC₅₀ foram baixos, o que indica que a quantidade de macrófagos foi reduzida, ou seja, o composto destruiu as células de defesa o que o torna tóxico.

Figura 33: Estrutura dos compostos **1b** e **1f**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Ainda com base nos dados fornecidos pela tabela 6, nota-se que todos os compostos que tiveram uma boa resposta neste teste de citotoxicidade apresentam a posição *para* do núcleo aromático substituída, logo isto pode nos sugerir que tal posição seja responsável pela bom resultado apresentado por essas moléculas.

É importante lembrar que a escolha dos aldeídos utilizados nesse trabalho esta relacionada com o poder antioxidante do mesmo, devido à presença de hidroxilas em diferentes posições. Ressalta-se também que na introdução deste trabalho foi explicado a diferença entre citotoxicidade e antioxidante, sendo que compostos antioxidantes, na maioria das vezes, não são tóxicos além de trazer outros inúmeros benefícios ao organismo.

Com este trabalho sugerimos que o uso de compostos antioxidante possam atuar na preservação da célula hospedeira, macrófagos, e ainda assim atuar no combate ao parasita de maneira eficaz.

6.1.2 Resultado da atividade antiparasitária em *Leishmania sp*

Para avaliar a atividade leishmanicida, os ensaios foram realizados em formas promastigotas e em amastigota *Leishmania sp* e os resultados foram expressos em CI_{50} , o qual representa a concentração que inibe 50% do crescimento de parasito.

Inicialmente, para avaliar o efeito leishmanicida, os compostos foram testados nas formas promastigotas de três espécies de *Leishmania* relacionadas a manifestações cutâneas da doença: *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. major*.

No ensaio para avaliar a atividade em promastigotas, foram utilizadas várias espécies de *Leishmania* cultivadas em meio Warren (ou outro apropriado) suplementado com 10% de soro bovino fetal (SBF), à 26° C, e coletadas em fase exponencial de crescimento. Os parasitos foram contados em câmara de Neubauer e lançados em concentrações variadas, dependendo da espécie, em uma placa de 96 poços e incubados à 24°C. Após uma hora, adicionou-se as drogas em concentrações variadas (menos no controle). Os testes foram em triplicatas. Após três dias à 24°C, adicionou-se o MTT (Sigma-Aldrich).

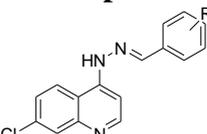
Após 4 horas a reação foi interrompida pela adição de isopropanol/ácido e lida em um espectrofotômetro à 570 nm. Os resultados foram mostrados em porcentagem de inibição em relação ao controle. A partir do teste de viabilidade celular foi determinada a concentração inibitória (CI_{50}) para cada composto que representa a concentração molar que inibe 50% do crescimento parasitário. Os valores de CI_{50} foram estimados a partir dos valores médios de três experimentos independentes, realizados em duplicata, por interpolação gráfica, utilizando-se os programas estatísticos Grafit 5 43 (Erithacus Software Ltd., Horley, U.K) e Probit (FINNEY, 1978) e Miltefosina (Cayman Chemical Company, Michigan, USA) foi utilizada como fármaco de referência e controle positivo.

No ensaio para avaliar a atividade em amastigotas intracelulares, os testes foram realizados em macrófagos peritoneais de camundongos infectados com *Leishmania* normal ou com *Leishmania* transfectadas com RFP (“Red Fluorescent Protein”). Os compostos foram adicionados em diferentes concentrações por 72 horas de tratamento e, nas cepas "normais", o efeito dos compostos foi observado após contagem, em microscópio óptico, dos parasitos intracelulares corados por giemsa. Nas *Leishmania*-RFP, como é fluorescente, o efeito

leishmanicida foi avaliado em fluorímetro de placas (Bio-Tek). Em seguida, foi determinada a concentração inibitória (CI₅₀) para cada composto que representa a concentração molar que inibe 50% do crescimento dos amastigotas. Miltefosina foi utilizado como fármaco de referência. Estes ensaios foram realizados pela aluna de doutorado Luciana MR Antinarelli.

A tabela 8 mostra os resultados dos ensaios promastigota (forma da doença encontrada no inseto vetor) e amastigota (forma encontrada no hospedeiro) para os compostos da primeira série.

Tabela 8: Efeito dos compostos em promastigotas e amastigotas de *Leishmania sp*

 Composto	Promastigota	Promastigota	Promastigota	Amastigota
	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. major</i>	<i>L. amazonensis</i>
	IC ₅₀ (μM) ^a	IC ₅₀ (μM) ^a	IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
	(95% I.C.) ^c	(95% I.C.) ^c	(95% I.C.) ^c	(95% I.C.) ^c
1 a	52,80±4,96	63,23±3,55	77,76±4,31	8,1 (6,7-9,9)
1b	> 100,0	> 100,0	> 100,0	> 10,0
1c	> 100,0	> 100,0	> 100,0	13,5 (9,3-19,6)
1d	> 100,0	> 100,0	> 100,0	> 100,0
1e	> 100,0	> 100,0	> 100,0	> 100,0
1f	> 100,0	> 100,0	> 100,0	> 100,0
1g	> 100,0	> 100,0	> 100,0	> 100,0
1h	> 100,0	> 100,0	> 100,0	> 100,0
1i	> 100,0	> 100,0	> 100,0	> 100,0
Miltefosina	21,39 ± 1,18	28,07 ± 0,47	20,00±0,52	4,15(2,90-5,96)

^aCI₅₀: concentração que inibe 50% do crescimento das formas promastigotas ou amastigotas de *L. amazonensis*.

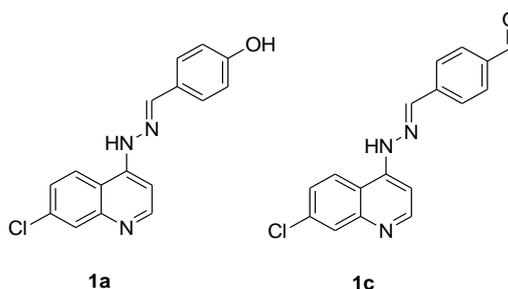
^bCI₅₀: concentração citotóxica, que mata 50% dos macrófagos. ^cIC (intervalo de confiança): os valores entre parêntesis representam o intervalo de confiança. Miltefosina foi usada como droga de referência.

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Existe um consenso de que os testes realizados nas formas amastigotas de *Leishmania*, as quais são as encontradas no hospedeiro humano e responsáveis pelas manifestações clínicas da doença, correlacionam-se melhor com a resposta *in vivo* e devem ser utilizados como “padrão-ouro” para a identificação de potenciais fármacos. Como pode ser visto na Tabela 8, somente os compostos **1a** e **1c** foram ativos contra *L. amazonensis* na forma amastigota intracelular com IC₅₀ expressivo de 8,1 e 13,5 μM, respectivamente. A partir dos dados obtidos sobre o efeito destes compostos em amastigotas e em macrófagos, foi possível analisar a seletividade do compostos **1a** e **1c**. O índice de seletividade (I.S = C.C₅₀ dos macrófagos/ I.C₅₀ dos amastigotas) mostra que o composto **1a** é muito seletivo para o

parasito, sendo cerca de 18 vezes mais ativo contra amastigotas intracelulares do que para as células hospedeiras (I.S> 18,5). A atividade biológica *in vitro* de um composto não está associado à citotoxicidade na célula hospedeira quando o índice de seletividade é maior que 10,0 (INACIO *et al.*, 2014).

Figura 34: Estrutura dos compostos **1a** e **1c**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.1.3 Resultado da atividade antiparasitária em malária

Os ensaios estão em fase final de análise e, por isto, não foram inseridos neste trabalho.

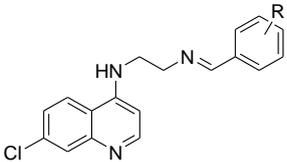
6.2 RESULTADOS BIOLÓGICOS DA 2ª SÉRIE

6.2.1 Citotoxicidade em células de mamíferos

A segunda série de compostos teve sua citotoxicidade avaliada através do mesmo procedimento que os compostos da primeira série, ou seja, com relação as células de defesa, macrófagos, obtidos da região peritoneal de camundongos BALB/c.

A tabela 9 mostra os resultados citotóxicos desses compostos, tendo como padrão os resultados da Miltefosina e da Anfotericina B, fármacos que já são utilizados no mercado no tratamento das leishmanioses.

Tabela 9: Resultados da citotoxicidade dos compostos da 2ª série em macrófagos peritoneais

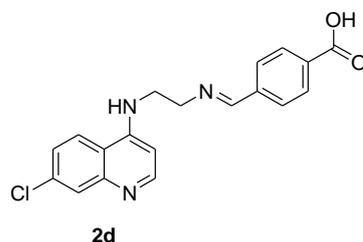
Compostos	Macrófagos peritoneais CC ₅₀ (µM) (95% I.C)
	
2 a	>150,0
2b	>150,0
2c	-
2d	102,4 (90,8-115,5)
2e	>150,0
2f	>150,0
2g	>150,0
2h	>150,0
2i	-
Miltefosina	131,99±3,95
Anfotericina B	85,81±30,49

CC₅₀ (concentração citotóxica que mata 50% das células); I.C (concentração inibitória). Miltefosina e anfotericina B foram utilizadas como fármacos de referência.

Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Os compostos 2c e 2i não tiveram sua citotoxicidade avaliada até o momento, no entanto analisando os resultados apresentadas dos demais compostos é possível observar que a maioria deles não é citotóxico, com exceção do composto **2d**.

Figura 35: Estrutura do composto **2d**

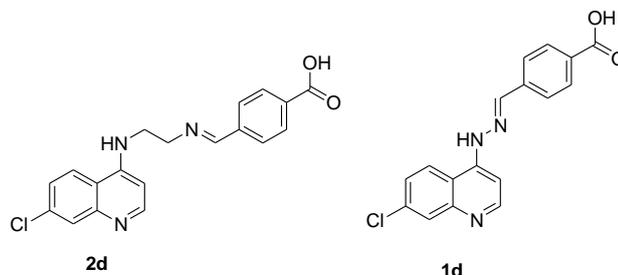


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Não é possível dizer que o grupo -COOH presente na posição para do anel aromático seja o responsável pela citotoxicidade, uma vez que o análogo a esse composto 1d, não apresentou tal resposta.

No entanto é possível supor que o uso de espaçadores, neste caso particular, tenha sido o responsável pela resposta citotóxica deste composto, aliado a presença desse grupo funcional e a outros fatores biológicos.

Esquema 16: Estrutura dos compostos **2d** e **1d**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.2.2 Resultados da atividade antiparasitária em *Leishmania sp*

Para avaliar a atividade em parasitos do gênero *Leishmania*, foram realizados ensaios nas formas promastigota e amastigota e os resultados obtidos foram expressos em IC₅₀, o qual representa a concentração que inibe 50% do crescimento dos parasitos.

O procedimento foi o mesmo do utilizado para os testes dos compostos da primeira série, no entanto, foram realizados testes em promastigotas de duas espécies de *Leishmania*, a *L. amazonensis* e a *L. braziliensis*.

A tabela 10 mostra a resposta dos compostos da segunda série para o crescimento de parasitos do gênero *Leishmania* nas formas promastigota e amastigota.

Tabela 10: Efeito dos compostos em promastigota e em amastigotas de *Leishmania sp*

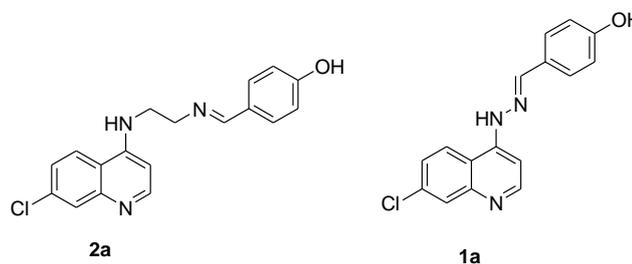
Composto	Promastigota <i>L. amazonensis</i> CI ₅₀ (μM) ^a (95% I.C.) ^c	Promastigota <i>L. braziliensis</i> CI ₅₀ (μM) ^a (95% I.C.) ^c	Amastigota <i>L. amazonensis</i> CI ₅₀ (μM) (95% I.C.) ^c
2 a	> 100,0	> 100,0	> 100,0
2b	> 100,0	> 100,0	> 100,0
2c	-	-	-
2d	> 100,0	> 100,0	48,9 (38,4-62,3)
2e	> 100,0	> 100,0	44,6 (37,6-52,9)
2f	> 100,0	> 100,0	> 100,0
2g	> 100,0	> 100,0	23,4 (16,9-32,5)
2h	> 100,0	> 100,0	40,5 (31,1-52,7)
2i	-	-	-
Miltefosina	21,39 ± 1,18	28,07 ± 0,47	4,15(2,90-5,96)

^aCI₅₀: concentração que inibe 50% do crescimento das formas promastigotas ou amastigotas de *L. amazonensis*.
^cIC (intervalo de confiança): os valores entre parêntesis representam o intervalo de confiança. Miltefosina foi usada como droga de referência.

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Pela análise dos dados fornecidos pela tabela acima é possível concluir que nenhum dos compostos apresentou atividade, em formas promastigotas, contra as espécies de *Leishmania* testadas. É importante ressaltar que na primeira série de compostos, o composto **1a** foi o que apresentou melhor resposta antiparasitária, no caso, o análogo deste composto, **2a**, não apresentou o mesmo resultado. Novamente pode-se inferir que o uso de espaçadores possa ter prejudicado a atividade biológica deste composto.

Figura 36: Estrutura dos compostos **1a** e **2a**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Nos resultados apresentados para os ensaios na forma amastigota, pode-se observar que a maioria dos compostos apresentaram uma resposta antiparasitária, sendo que os compostos **2a**, **2b** e **2f**, não apresentaram atividade significativa. Vale ressaltar que os ensaios

amastigotas são mais relevantes uma vez que tratam-se da forma na qual os parasitos são encontrados no hospedeiro humano.

Pode-se fazer uma comparação dos resultados apresentados pelos compostos da primeira série e os da segunda série. Enquanto na primeira os compostos **1a** e **2c** tiveram os melhores resultados, nos compostos da segunda verificamos atividades nos compostos **2d**, **2e**, **2f**, **2g** e **2h**, porém nenhum resultado superou o apresentado pelo composto **1a** cujo IC₅₀ foi de 8,1 µM, valor muito próximo do apresentado pela Miltefosina. Também vale ressaltar que esse valor de IC₅₀ para o composto **1a** não foi nem próximo ao valor do análogo **2a**.

6.3 RESULTADOS BIOLÓGICOS DA 3ª SÉRIE

6.3.1 Citotoxicidade em células de mamíferos

Os complexos de prata também tiveram sua atividade citotóxica avaliada da mesma maneira que os demais compostos descritos neste trabalho. A tabela 11 mostra os resultados de citotoxicidade dos complexos sintetizados.

Tabela 11: Resultados de citotoxicidade em macrófagos peritoneais dos complexos de prata

Compostos	Macrófagos peritoneais CC ₅₀ (µM) (95% I.C)
5	36,32 (30,38-43,42)
6	30,73 (25,55-36,97)
7	63,80 (54,43-74,80)
Miltefosina	131,99±3,95
Anfotericina B	85,81±30,49

CC₅₀ (concentração citotóxica que mata 50% das células); I.C (concentração inibitória). Miltefosina e anfotericina B foram utilizadas como fármacos de referência.

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Pela análise da tabela, pode-se observar que todos os complexos foram mais citotóxicos para as células de defesa do organismo na qual o parasito se hospeda, tendo como parâmetro os valores da Miltefosina e da Anfotericina B.

Como os resultados citotóxicos para os compostos **2**, **3** e **4** já foram publicados pelo nosso grupo de pesquisa (CARMO *et al.*, 2011) sabe-se que estes ligantes não eram citotóxicos, no entanto, ao formarem complexos com a prata os resultados já se mostraram bem diferentes.

6.3.1 Resultados da atividade antiparasitária em *Leishmania sp*

Para a avaliação das respostas antiparasitárias dos complexos de prata foram realizados ensaios promastigota e amastigota e os resultados foram expressos em IC₅₀, o qual representa a concentração que inibe 50% do crescimento do parasito.

A tabela 12 mostra os resultados antiparasitários dos complexos de prata sintetizados neste trabalho.

Tabela 12: Efeito dos compostos em promastigotas e em amastigotas de *Leishmania sp* dos compostos da 3ª série

Composto	Promastigota <i>L. amazonensis</i> CI ₅₀ (µM) ^a (95% I.C.) ^c	Promastigota <i>L. braziliensis</i> CI ₅₀ (µM) ^a (95% I.C.) ^c	Amastigota <i>L. amazonensis</i> CI ₅₀ (µM) (95% I.C.) ^c
5	28,81 (22,80-36,28)	53,40 (39,93-71,42)	>25,0
6	25,46 (20,7-31,30)	27,04 (22,22-32,91)	>25,0
7	53,82 (38,13-75,96)	57,92 (43,66-76,85)	>50,0
Miltefosina	21,39 ± 1,18	28,07 ± 0,47	4,15 (2,90-5,96)

^aIC₅₀: concentração que inibe 50% do crescimento das formas promastigotas ou amastigotas de *L. amazonensis*.

^cIC (intervalo de confiança): os valores entre parêntesis representam o intervalo de confiança. Miltefosina foi usada como droga de referência

Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Pela análise dos resultados apresentados na tabela acima observou-se nos ensaios promastigota que o complexo **7** tanto para espécie *L. amazonensis* quanto para a *L. braziliensis*, apresentou melhor resposta, uma vez que o seu valor é próximo do apresentado pela Miltefosina. Vale ressaltar que no caso dos complexos, o uso de um espaçador moderado foi benéfico para a resposta antiparasitária.

Entretanto, nos ensaios da forma amastigota nenhum dos complexos apresentou resultado significativo, sendo que este ensaio é um dos mais importantes uma vez que essa é a forma na qual o parasito é encontrado no hospedeiro humano.

7.0 CONCLUSÕES

Neste trabalho foram descritas a preparação de 26 compostos dos quais 15 são inéditos, a saber: compostos **1e**, **1h** e **1i** – 1ª série, compostos **2 a-i** – 2ª série e compostos **5**, **6** e **7** – 3ª série.

Utilizando o conceito de hibridação molecular foram preparados nove bases de *Schiff* e nove hidrazonas nos quais conjugou-se o núcleo quinolínico a aldeídos aromáticos fenólicos. Tais compostos foram planejados para conter unidades farmacofóricas que já possuíam atividade biológica descrita na literatura, sendo que o intuito foi obter um híbrido com atividade potencializada.

A maioria dos compostos não apresentou citotoxicidade expressiva para os macrófagos, com exceção dos compostos **1b**, **1f** e **2d**. Além disso apresentaram bons resultados leishmanicidas, vale destacar a atividade do composto **1a** em forma amastigota de 8,1 µM, resultado muito próximo ao do composto utilizado como referência, Miltefosina (4,15 µM).

Os resultados antiparasitários apresentados neste trabalho, para os compostos da 1ª série renderam quatro publicações nas revistas: *Chemical Biology & Drug Design* (2015), *Chemico-Biological Interactions* (2016), *Experimental Parasitology* (2016) *Letters in Drug Design & Discovery* (2017), os artigos podem ser vistos em anexo.

Os complexos de prata, por sua vez, foram sintetizados em parceria com o professor Dr. Alexandre Cuin, o intuito desta parceria foi observar o comportamento da prata frente aos ligantes 4-aminoquinolínicos, uma vez que foi obtido um polímero unidimensional (complexo **5**) e um dímero (complexo **6**), e, avaliar o potencial biológico desses compostos.

Todos os complexos de prata foram citotóxicos, e, não apresentaram resultado significativo contra parasitos do gênero *Leishmania*, no entanto os ensaios em *Plasmodium* ainda não foram concluídos e todos os compostos foram enviados para a UNICAMP, a fim de terem sua atividade antituberculose avaliada.

Por fim pode-se concluir que houve um crescimento científico significativo na execução deste projeto, uma vez que este mescla duas áreas da química, orgânica e inorgânica e ainda as correlaciona com avaliações biológica buscando entender e explicar as relações estrutura atividade de cada composto obtido.

Como perspectivas futuras, há o interesse do grupo em continuar a parceria estabelecida com o professor Alexandre Cuin, na síntese de complexos metálicos, uma vez que é possível contribuir com os conhecimentos já adquiridos em síntese orgânica e ainda conhecer, um pouco mais a fundo, as técnicas de caracterização envolvidas na química inorgânica.

8.0 PARTE EXPERIMENTAL

8.1 MATERIAIS E MÉTODOS GERAIS

Para a determinação das faixas de fusão dos compostos sintetizados utilizou-se um aparelho digital modelo MQAPF-301-Microquímica no Departamento de Química, ICE, UFJF.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , bem como os espectros de RMN em 2D foram obtidos em espectrômetro BRUKER AVANCE DRX300 HD 500 no Departamento de Química, ICE, UFJF. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm e referenciados pelo TMS ($\delta = 0$ ppm).

Para cromatografia em camada delgada de sílica utilizou-se sílica-gel 60G MERK contendo revelador fluoresceína para U.V. disposta em lâminas de vidro ou placas comerciais de TLC contendo indicador de fluorescência F254. Como reveladores para cromatografia em camada delgada foram utilizados vapor de iodo e lâmpada ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

Nos procedimentos de purificação por extração, recristalização e coluna cromatográfica, foram utilizados solventes P.A. marcas VETEC, QHEMIS e SYNTH. Foram utilizados reagentes de diferentes marcas, como Vetec, Merk e Aldrich.

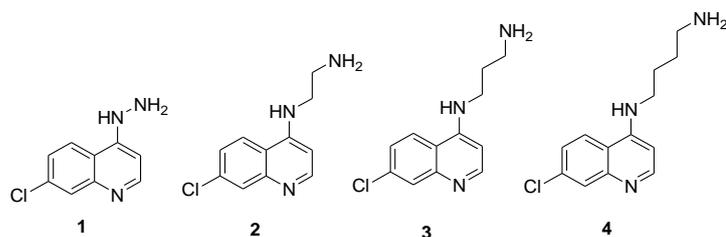
Os dados de difração de raios X por policristais foram coletados utilizando um difratômetro D8 Advance Da Vinci com geometria Bragg-Brentano θ - θ , tubo de cobre ($1,54056 \text{ \AA}$), filtro de Ni e detector linear LynxEye.

8.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS

8.2.1 Preparação das 4-aminoquinolinas

Uma mistura de 4,7-dicloroquinolina (2,0g, 10,1 mmol) com 50 mmol do diaminoalcano correspondente (hidrazina, 1,2-etanodiamina, 1,3-propanodiamina, 1,4-butanodiamina) foi deixada sob aquecimento à 80°C por 1 hora em agitação e, posteriormente, elevou-se a temperatura para 110°C por 3 horas até que se completasse a reação. Em seguida, após verificado por CCDS, adicionou-se CH_2Cl_2 assim que a mistura reagente atingiu a temperatura ambiente. A fase orgânica foi lavada sucessivas vezes com solução aquosa de NaOH (5%) e finalmente com água e NaCl. Através de CCDS, verificou-se a formação de um produto mais polar. O solvente orgânico foi removido sob pressão reduzida e os compostos foram obtidos com rendimentos em torno de 80%. As caracterizações estão de acordo com dados da literatura (BRAGA *et al.*, 2007; SOLOMON *et al.*, 2007).

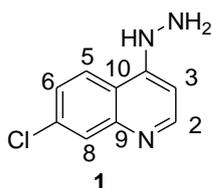
Esquema 17: Estrutura dos derivados 4-aminoquinolinicos



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

8.2.2 Caracterização das 4-aminoquinolinas

Composto 1:



F.M. = $C_9H_8ClN_3$

M.M. = $193,04 \text{ g. mol}^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo claro.

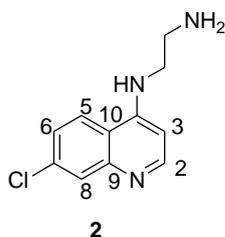
F.F. = $219^\circ\text{C} - 221^\circ\text{C}$.

R_f = 0,2 (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 95:5). **Revelador:** luz U.V.

RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*6) δ (ppm), **J (Hz):** 8,39 (d, $J = 5,5$, H-2); 8,18 (d, $J = 10$, H-9); 7,76 (d, $J = 2,0$, H-6); 7,39 (dd, $J = 9,0$ e $2,0$, H-8); 6,87 (d, $J = 5,5$, H-3).

RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 98,6 (C-3); 115,7 (C-5); 124,1 (C-8); 124,3 (C-9); 125,6 (C-6); 134,0 (C-7); 146,8 (C-10); 149,8 (C-2); 153,0 (C-4)

Composto 2:



F.M. = C₁₁H₁₂ClN₃

M.M. = 221,07 g. mol⁻¹.

C.F. = sólido amarelo claro.

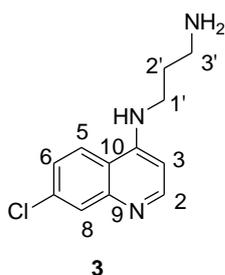
F.F. = 141°C – 143°C.

R_f = 0,2 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **Revelador:** luz U.V.

RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*6) δ (ppm), *J* (Hz): 8,37 (d, *J* = 5, H-2); 8,27 (d, *J* = 10, H-9); 7,78 (d, *J* = 2, H-6); 7,43 (dd, *J* = 2,0 e 9,0, H-8); 6,49 (d, *J* = 5, H-3); 2,83 (t, *J* = 6,5, H-1'); 2,51 (t, *J* = 6,5, H-2').

RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 152,3 (C-2); 120,8 (C-4); 149,3 (C-7); 133,9 (C-5); 127,7 (C-6); 124,5 (C-9); 117,8 (C-3); 46,1 (C-1'); 40,3 (C-2').

Composto 3:



F.M. = C₁₂H₁₄ClN₃

M.M. = 235,09 g. mol⁻¹.

C.F. = sólido amarelo claro.

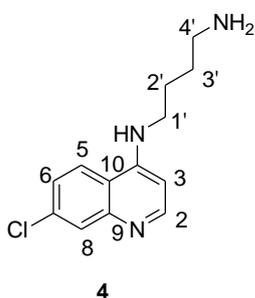
F.F. = 97°C – 99°C.

R_f = 0,2 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 95:5). **Revelador:** luz U.V.

RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-*d*6) δ (ppm), J (Hz): 8,37 (d, $J = 6,0$, H-2); 8,23 (d, $J = 9,0$, H-9); 7,78 (s, H-6); 7,44 (d, $J = 9,0$, H-8); 6,48 (d, $J = 6,0$, H-3); 3,06 (m, H-1'); 2,68 (m, H-3'); 1,72 (m, H-2').

RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 151,8 (C-2); 150,0 (C-4); 148,8 (C-5); 130,2 (C-7); 127,4 (C-6); 128,6 (C-8); 117,8 (C-9); 99,78 (C-3), 40,6 (C-1'), 39,5 (C-3'), 31,2 (C-2').

Composto 4:



F.M. = $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{ClN}_3$

M.M. = 249,74 g. mol $^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo claro.

F.F. = 123°C – 125°C.

R_f = 0,2 (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 95:5). **Revelador:** luz U.V.

RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-*d*6) δ (ppm), J (Hz): 8,45 (d, $J = 6,0$, H-2); 8,36 (d, $J = 9,0$, H-9); 7,84 (s, H-6); 7,50 (d, $J = 9,0$, H-8); 6,50 (d, $J = 6,0$, H-3); 2,85 (m, H-1'); 2,64 (m, H-4'); 1,71 (m, H-2'); 1,53 (m, H-3').

RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 151,9 (C-2); 150,1 (C-4); 149,1 (C-5); 133,1 (C-7); 127,4 (C-6); 124,1 (C-8); 117,5 (C-9); 99,6 (C-3); 42,4 (C-1'); 41,3 (C-4'); 30,7 (C-3'); 26,3 (C-2').

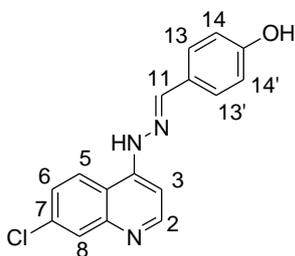
8.2.3 Preparação das hidrazonas

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram solubilizados 1,0 g (1,2 mmol) de aldeído em 5 mL de etanol. A seguir, em um béquer de 25 mL solubilizou-se 1,4 g (1,0 mmol)

de 7-cloro-4-hidrazinaquinolina (**1**). Verteu essa solução no balão reacional a temperatura ambiente e agitação moderada. Observou-se de imediato mudança de coloração da solução e então a mistura reacional foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) durante 4 horas. Como foi observado que ainda restavam materiais de partida a reação foi deixada por mais 18 horas e após esse período verificou-se a formação de um precipitado.

O precipitado formado foi filtrado em um funil de buchner com papel de filtro e lavado com etanol a fim de eliminar algum resíduo de aldeído na amostra.

Composto 1a:



F.M. = C₁₆H₁₂ClN₃O

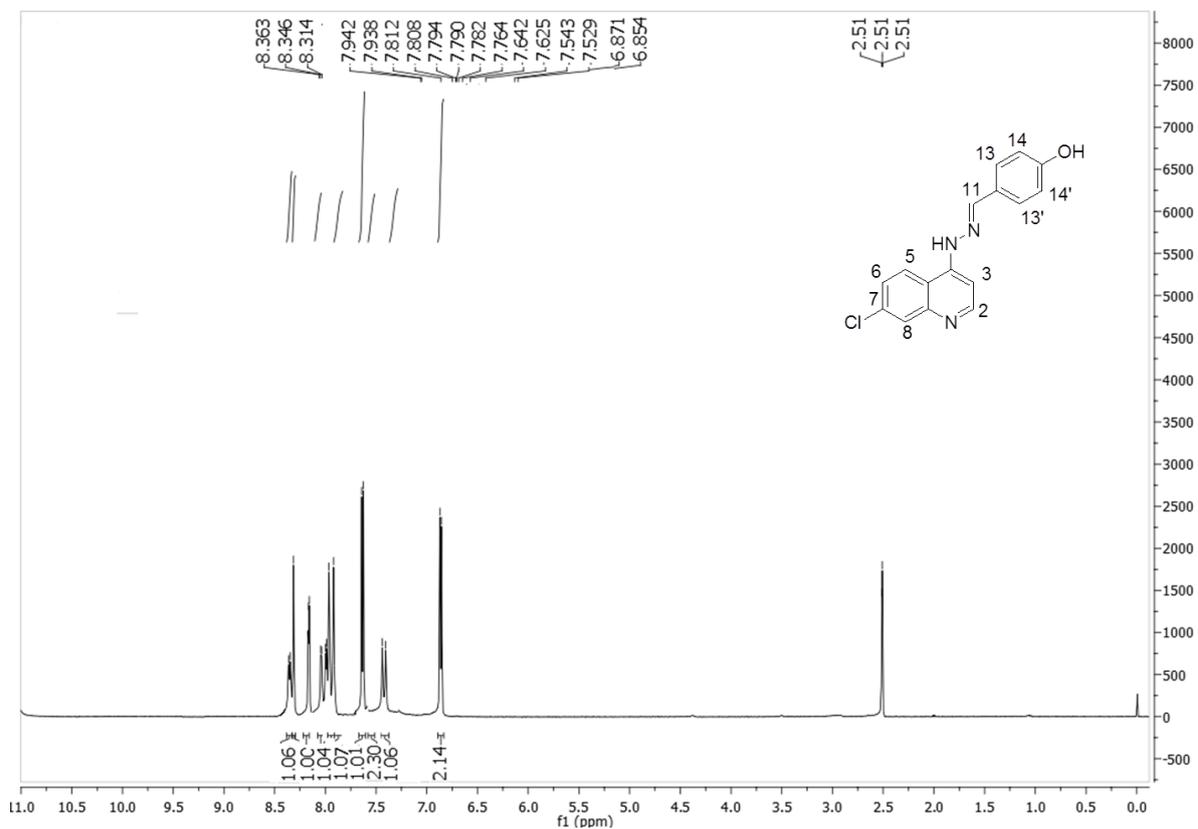
M.M. = 297,74 g. mol⁻¹.

C.F. = sólido amarelo.

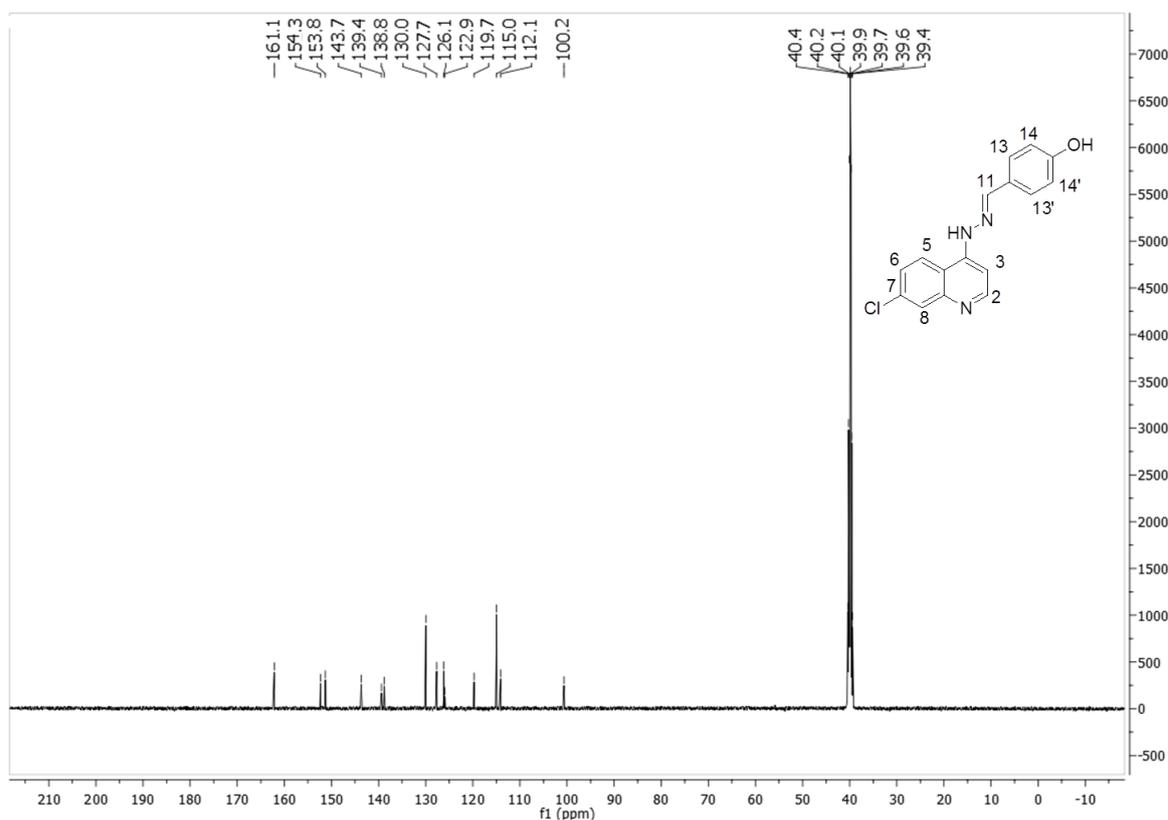
F.F. = 144°C – 146°C.

R_f = 0,6 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1). **Revelador:** luz U.V.

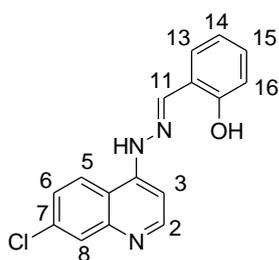
RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm), J (Hz): 8,354 (d, $J = 8,5$, H-2); 8,314 (s, H-11); 7,940 (d, $J = 2,0$, H-6); 7,801 (dd, $J = 2,0$ e $9,0$, H-8); 7,773 (d, $J = 9,0$, H-5); 7,633 (d, $J = 8,5$, H-13'); 7,536 (d, $J = 7,0$, H-3); 6,862 (d, $J = 8,5$, H-14').



RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 161,1 (C-15); 154,3 (C-2); 153,8 (C-4); 143,7 (C-11); 139,4 (C-9); 138,8 (C-7); 130,0 (C-13 e 13'); 127,7 (C-8); 126,1 (C-6); 122,9 (C-12); 119,7 (C-5); 115,0 (C-14'); 112,1 (C-10); 100,2 (C-3).



Composto 1b:



F.M. = C₁₆H₁₂ClN₃O

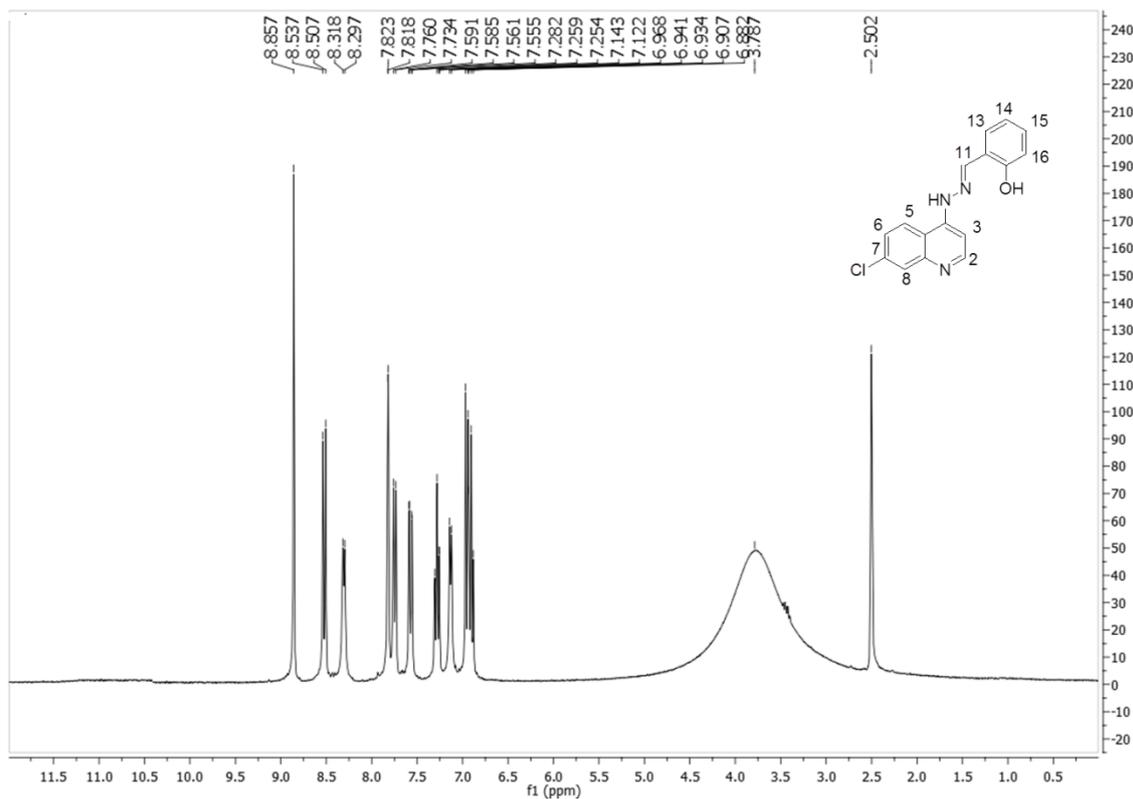
M.M. = 297,74 g. mol⁻¹.

C.F. = sólido amarelo.

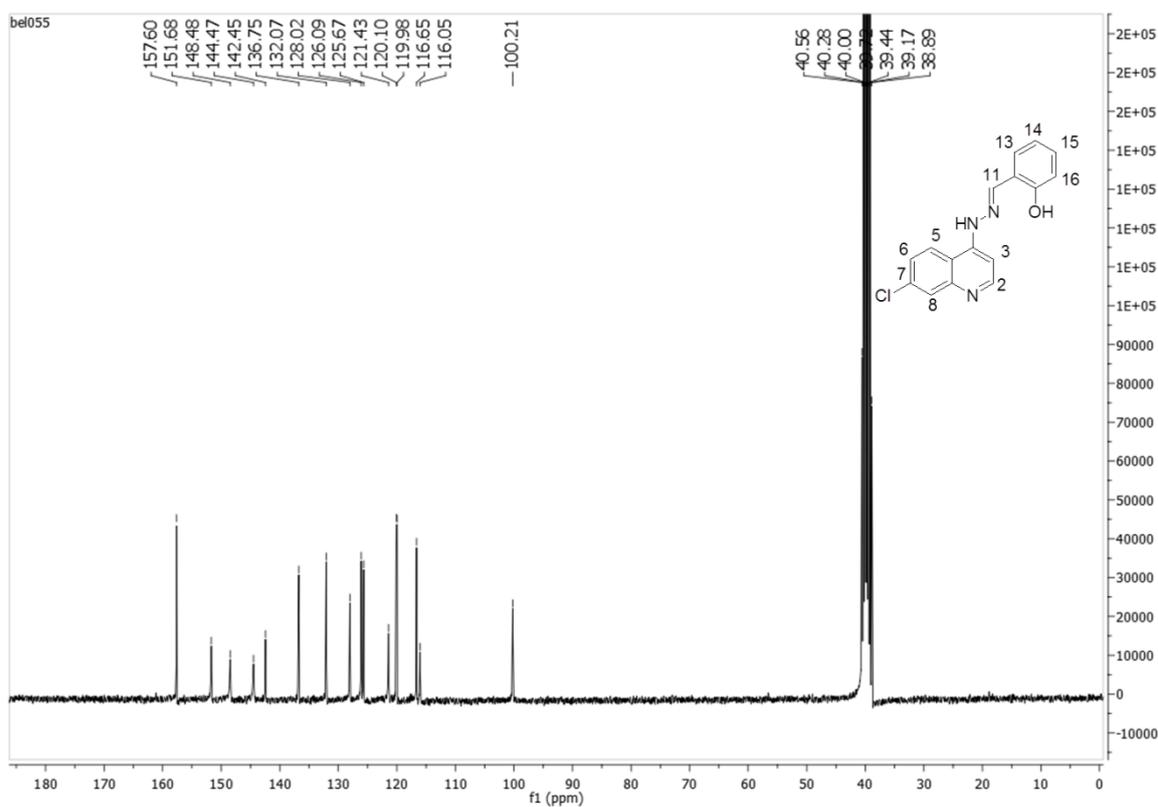
F.F. = 273°C – 276°C.

R_f = 0,6 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1). **Revelador:** luz U.V.

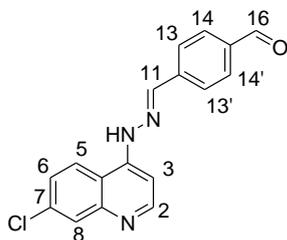
RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm), J (Hz): 8,357 (s, H-11); 8,522 (d, $J = 15,0$ H-5); 8,307 (d, $J = 10,5$, H-2); 7,820 (d, $J = 2,5$, H-8); 7,747 (d, $J = 13,0$, H-13); 7,573 (dd, $J = 3,0$ e $15,0$, H-6); 7,282 (t, $J = 11,5$, H-15); 7,132 (d, $J = 10,5$, H-3); 6,934 (m, H-14 e H-16).



RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 157,6 (C-17); 151,6 (C-2); 148,4 (C-4); 144,4 (C-9); 142,4 (C-11); 136,7 (C-7); 132,0 (C-15); 128,0 (C-13); 126,0 (C-8); 125,6 (C-6); 121,4 (C-5); 120,1 (C-14); 119,9 (C-10); 116,6 (C-12); 116,0 (C-16); 100,2 (C-3).



Composto 1c:



F.M. = C₁₇H₁₂ClN₃O

M.M. = 309,07 g. mol⁻¹.

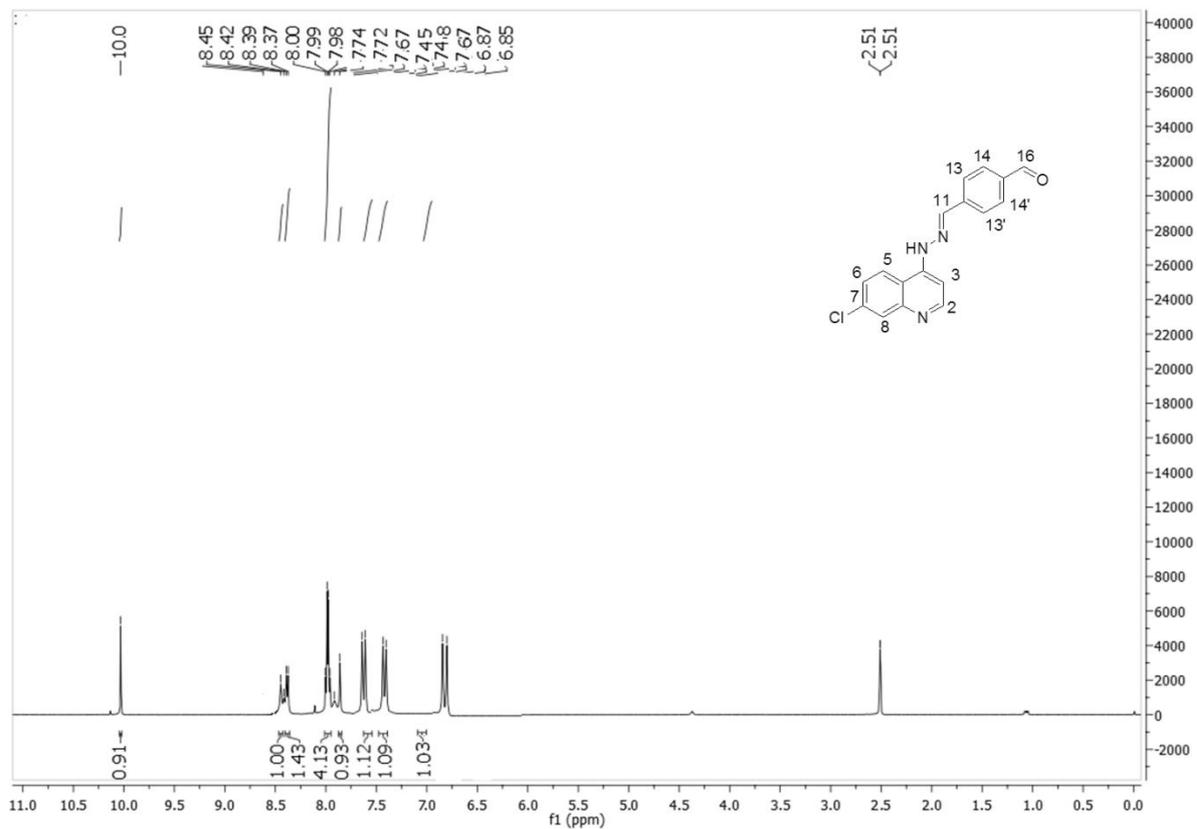
C.F. = sólido amarelo.

F.F. = 309°C – 311°C.

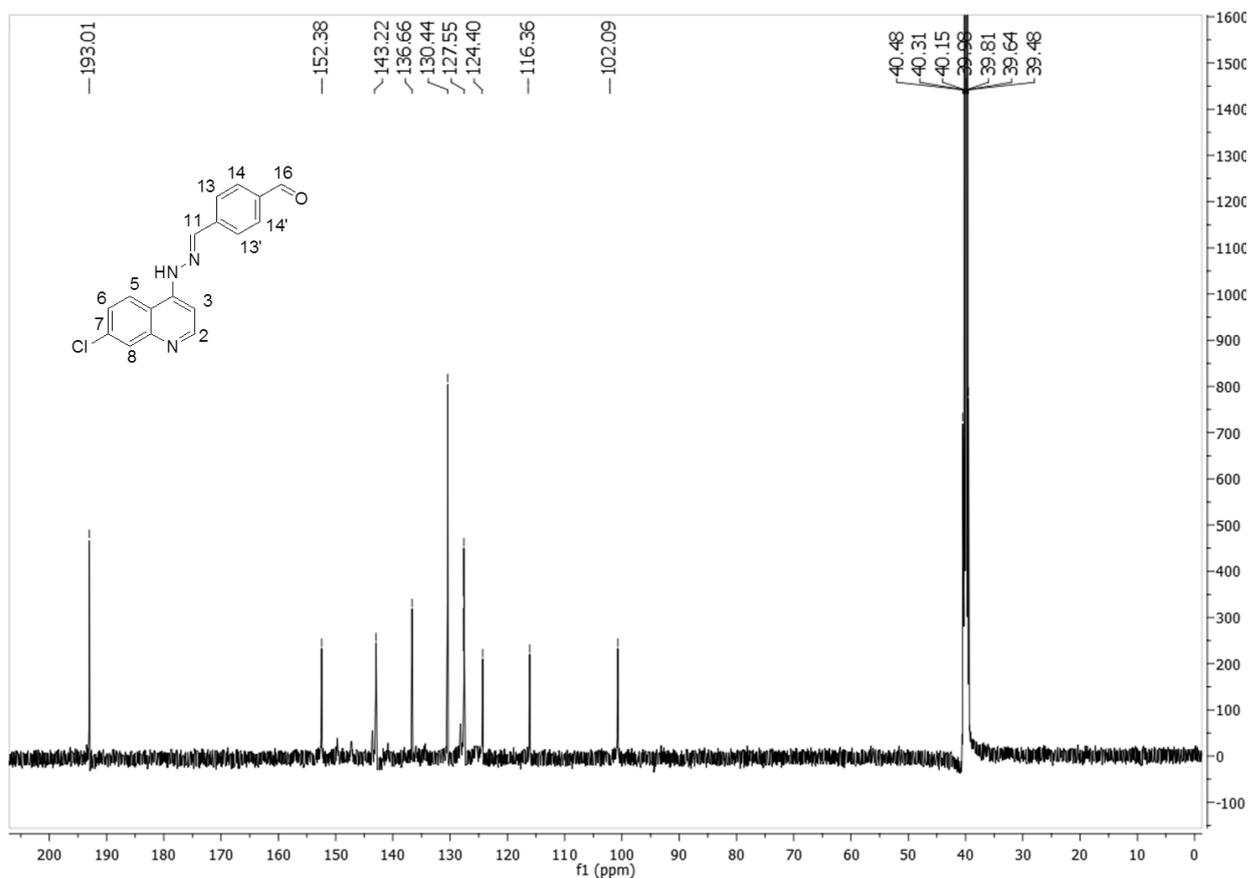
R_f = 0,7 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1).

Revelador: luz U.V.

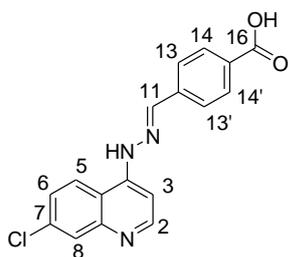
RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm), J (Hz): 10,03 (s, H-16); 8,45 (s, H-11); 8,38 (d, $J = 10,0$ H-2); 7,98 (m, H-13, H-13', H-14, H-14'); 7,72 (s, H-8); 7,66 (d, $J = 10,0$, H-6); 7,46 (d, $J = 10,0$, H-5); 6,86 (d, $J = 10,0$, H-3).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 196,6 (C-16); 152,3 (C-2); 143,2 (C-11); 136,6 (C-8); 130,4 (C-14 e C-14'); 127,5 (C-13 e C-13'); 124,4 (C-6); 116,3 (C-5); 102,0 (C-3).



Composto 1d:



F.M. = $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_2$

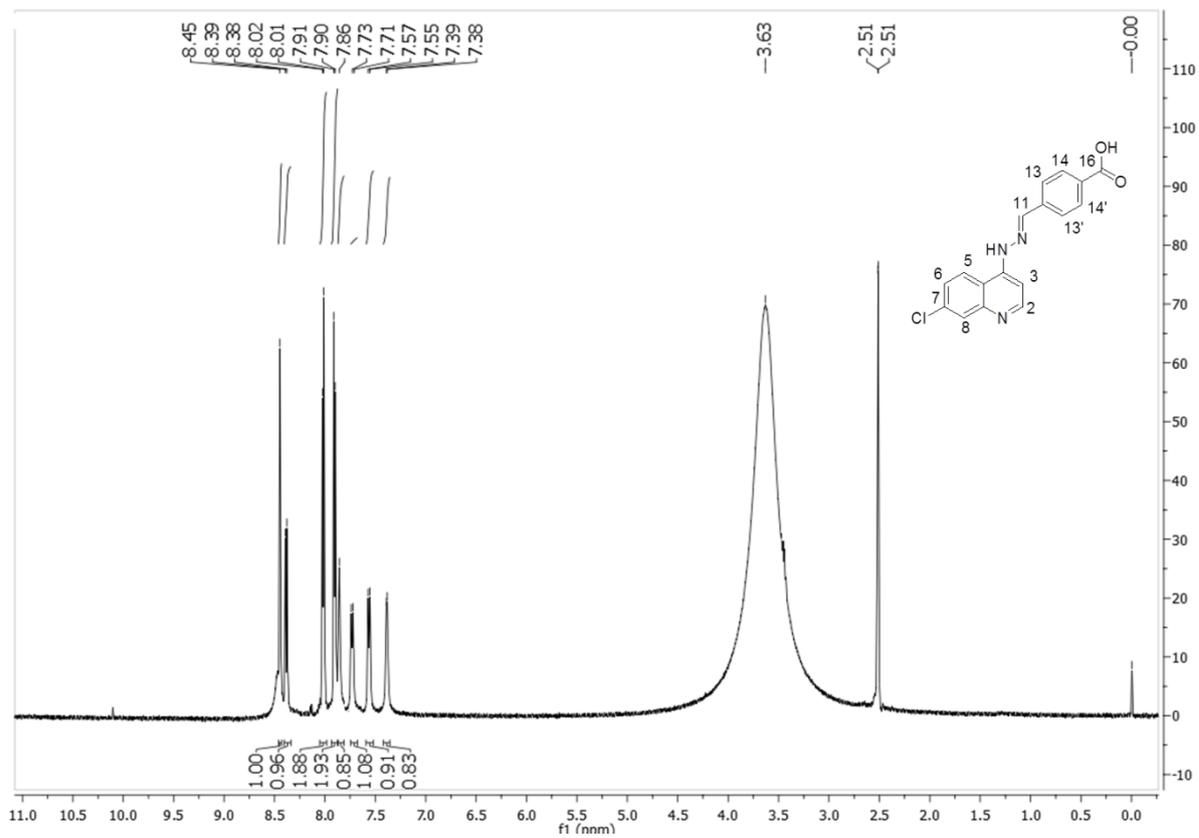
M.M. = $325,75 \text{ g. mol}^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

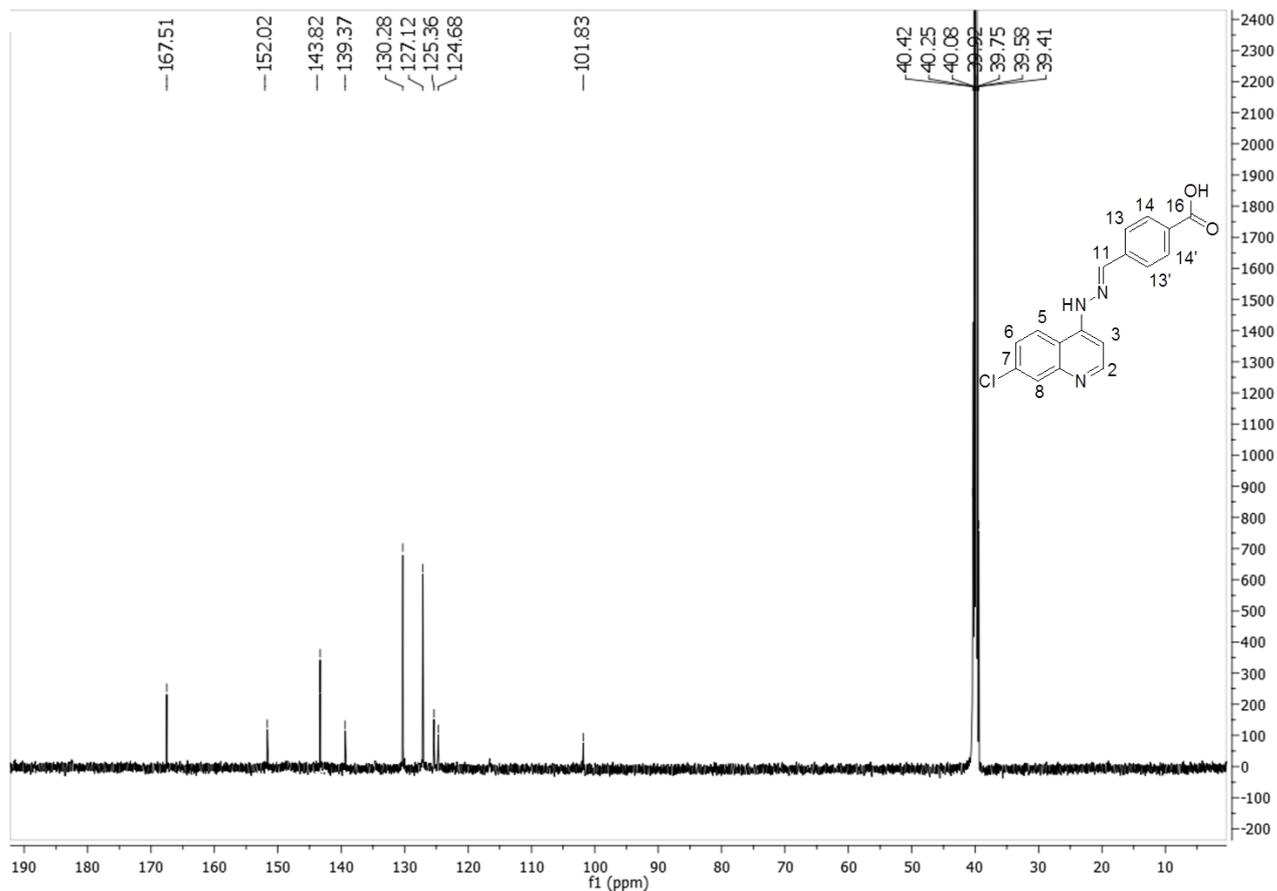
F.F. = $233^\circ\text{C} - 236^\circ\text{C}$.

$R_f = 0,7$ (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1). Revelador: luz U.V.

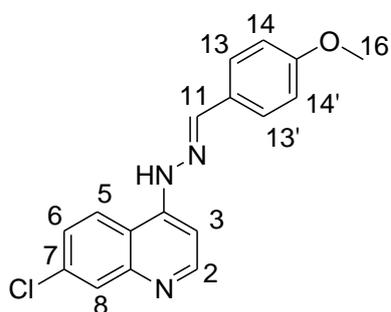
RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm), J (Hz): 8,45 (s, H-11); 8,39 (d, $J = 5,0$, H-2); 8,02 (d, $J = 5,0$, H-14 e H-14'); 7,91 (d, $J = 5,0$, H-13 e H-13'); 7,86 (s, H-8); 7,72 (d, $J = 10,0$, H-6); 7,56 (d, $J = 10,0$, H-5); 7,39 (d, $J = 5,0$, H-3).



RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 167,5 (C-16); 152,0 (C-2); 143,8 (C-11); 139,3 (C-8); 130,2 (C-14 e C-14'); 127,1 (C-13 e C-13'); 125,3 (C-6); 124,6 (C-5); 101,8 (C-3).



Composto 1e:



F.M. = C₁₇H₁₄ClN₃O₂

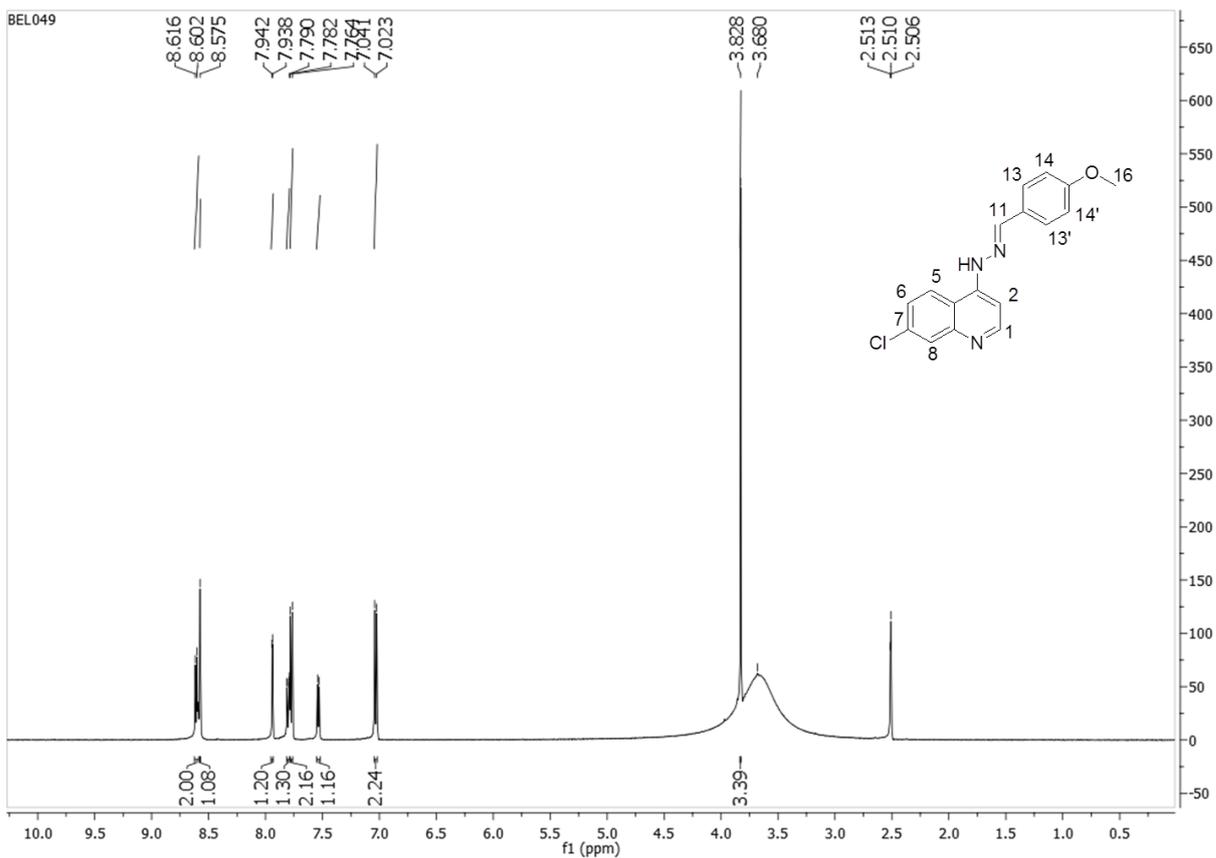
M.M. = 311,77 g. mol⁻¹.

C.F. = sólido amarelo.

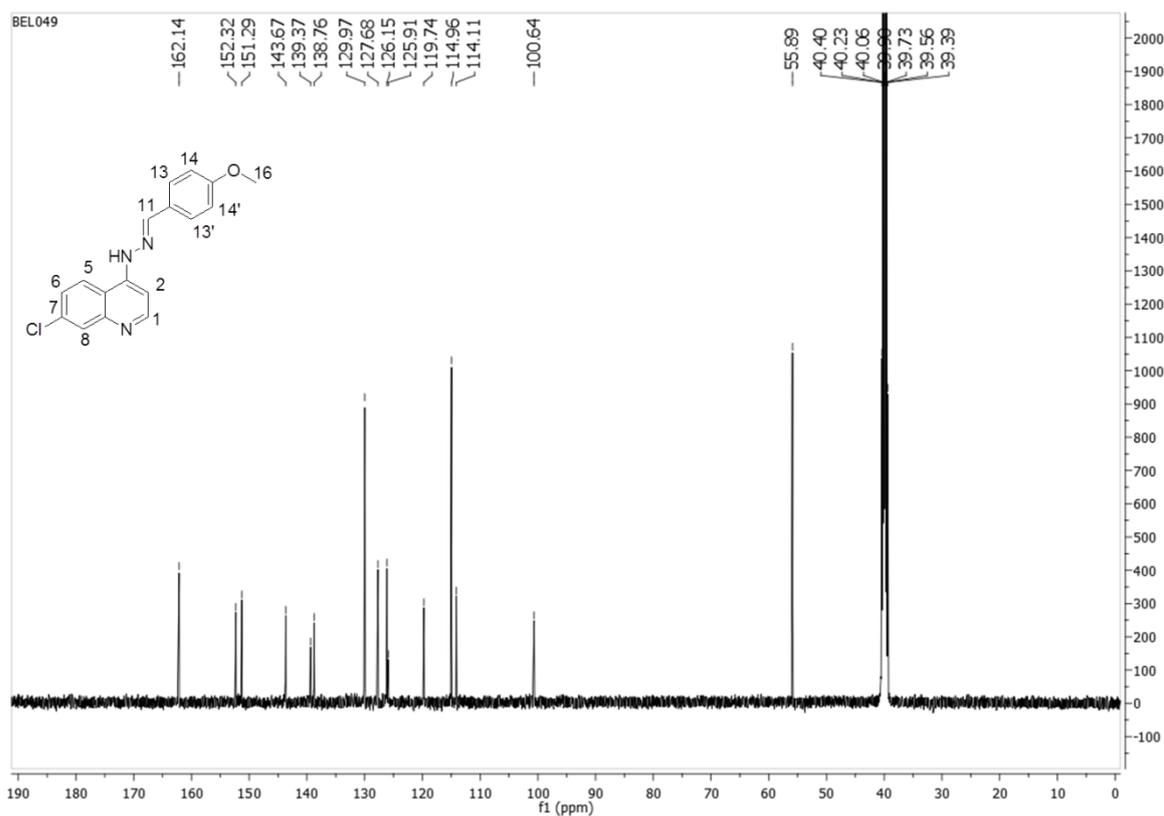
F.F. = 241°C – 245°C.

$R_f = 0,7$ (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1). **Revelador:** luz U.V.

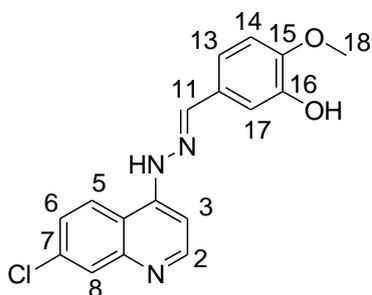
RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm), J (Hz): 8,609 (d, $J = 7,0$, H-2 e H-8); 8,575 (s, H-11); 7,940 (d, $J = 2,0$, H-6); 7,801 (d, $J = 2,0$ e $9,0$, H-6); 7,773 (d, $J = 9,0$, H-13 e H-13'); 7,536 (d, $J = 7,0$, H-3); 7,032 (d, $J = 9,0$, H-14 e H-14'); 3,828 (s, H-16).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 162,1 (C-15); 152,3 (C-2); 151,2 (C-4); 143,6 (C-11); 139,3 (C-9); 138,7 (C-7); 129,9 (C-13 e 13'); 127,6 (C-8); 126,1 (C-6); 125,9 (C-12); 119,7 (C-5); 114,9 (C-14 e 14'); 114,1 (C-10); 100,6 (C-3); 55,8 (C-16).



Composto 1f:



F.M. = $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_2$

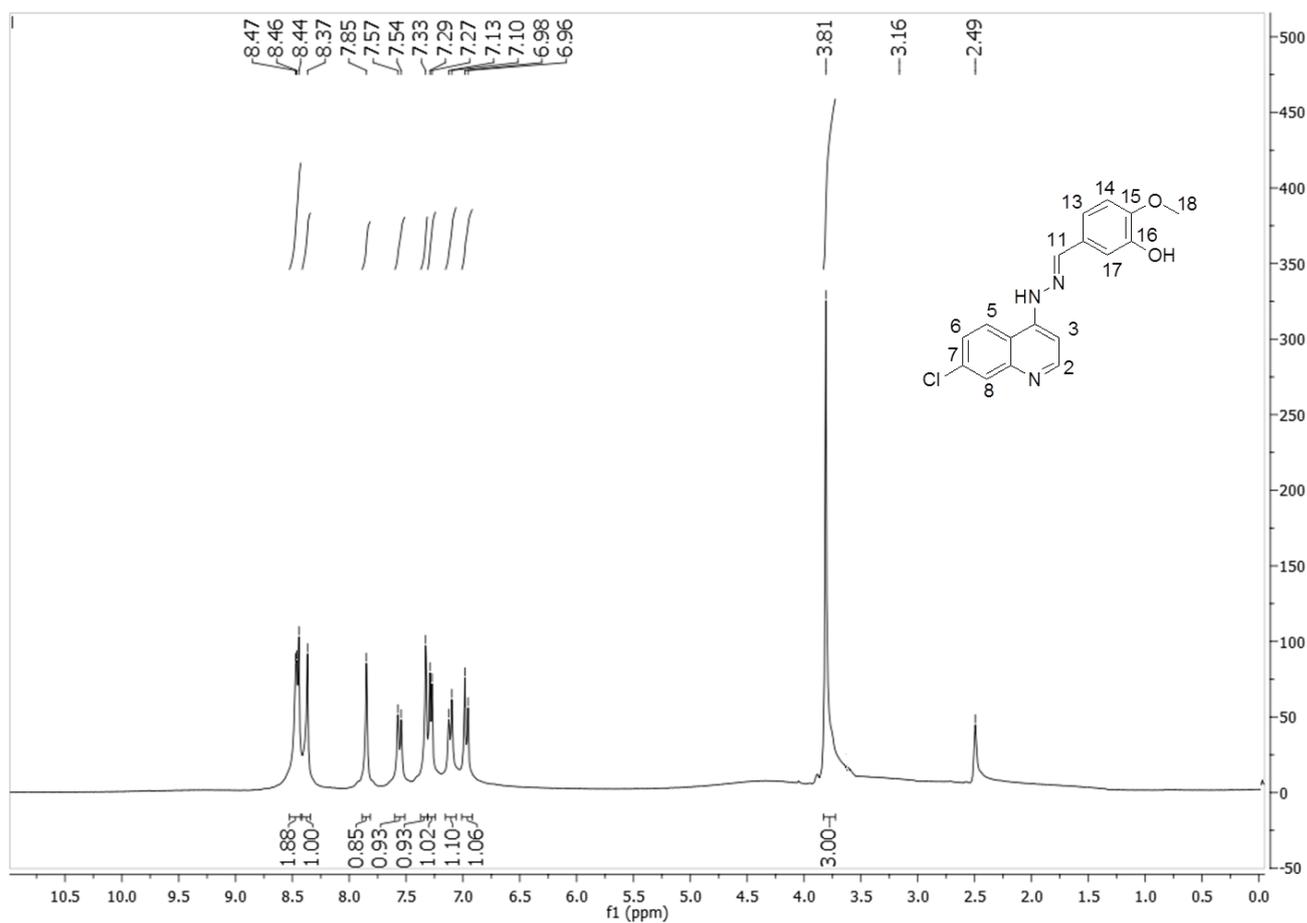
M.M. = 311,77 g. mol $^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

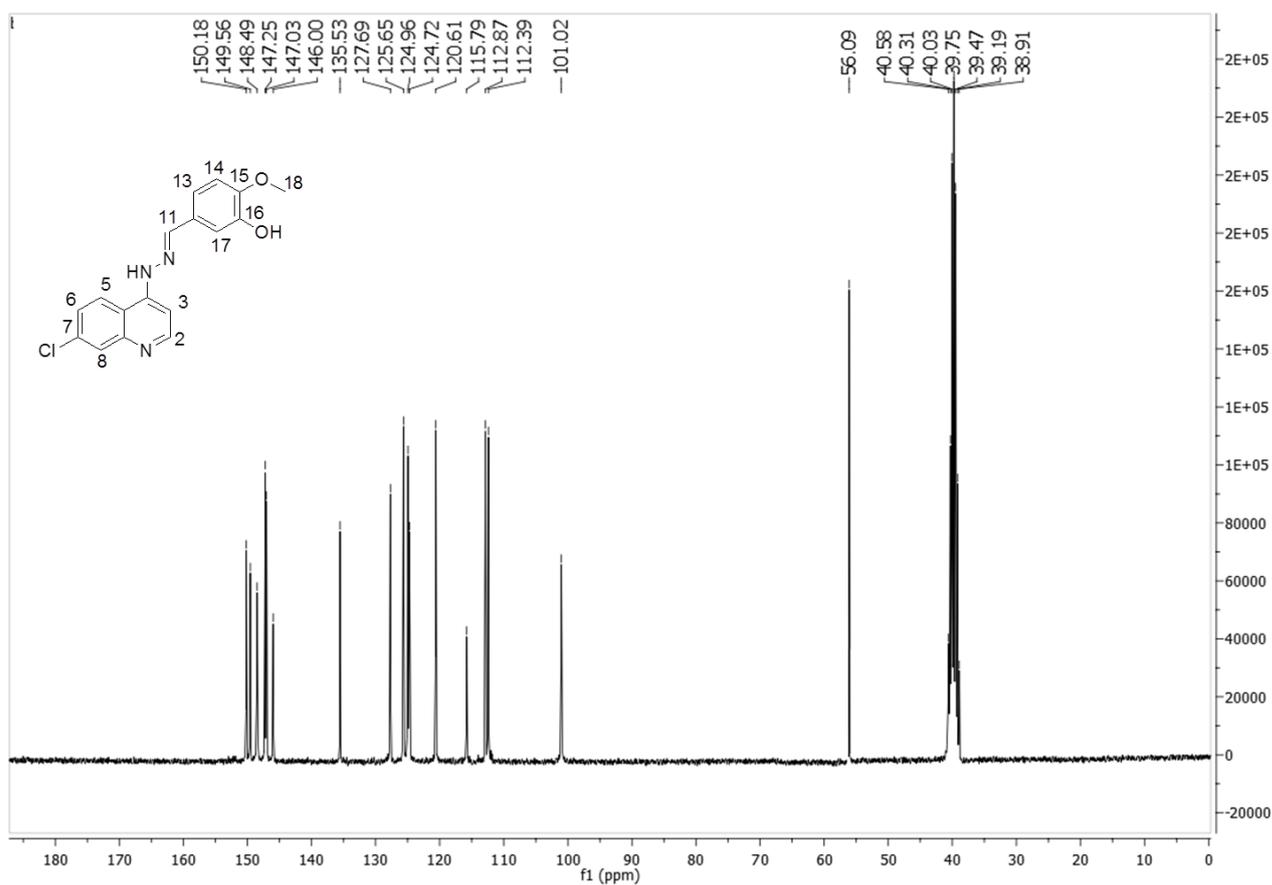
F.F. = 219°C – 221°C.

R_f = 0,7 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1). Revelador: luz U.V.

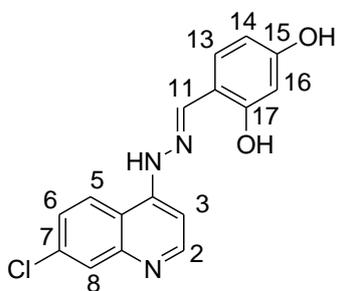
RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm), *J* (Hz): 8,47 (d, *J* = 5,0, H-2 e H-8); 8,37 (s, H-11); 7,85 (s, H-17); 7,55 (d, *J* = 15,0, H-13); 7,33 (s, H-6); 7,29 (d, *J* = 10,0, H-5); 7,12 (d, *J* = 15,0, H-14); 6,97 (d, *J* = 10,0, H-3); 3,81 (s, H-18).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 150,1 (C-15); 149,5 (C-2); 148,4 (C-4); 147,2 (C-9); 147,0 (C-16); 146,0 (C-11); 135,5 (C-7); 127,6 (C-8); 125,6 (C-6); 124,9 (C-12); 120,6 (C-5); 115,7 (C-10); 112,8 (C-14); 112,3 (C-17); 101,0 (C-3); 56,09 (C-18).



Composto 1g:



F.M. = $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_2$

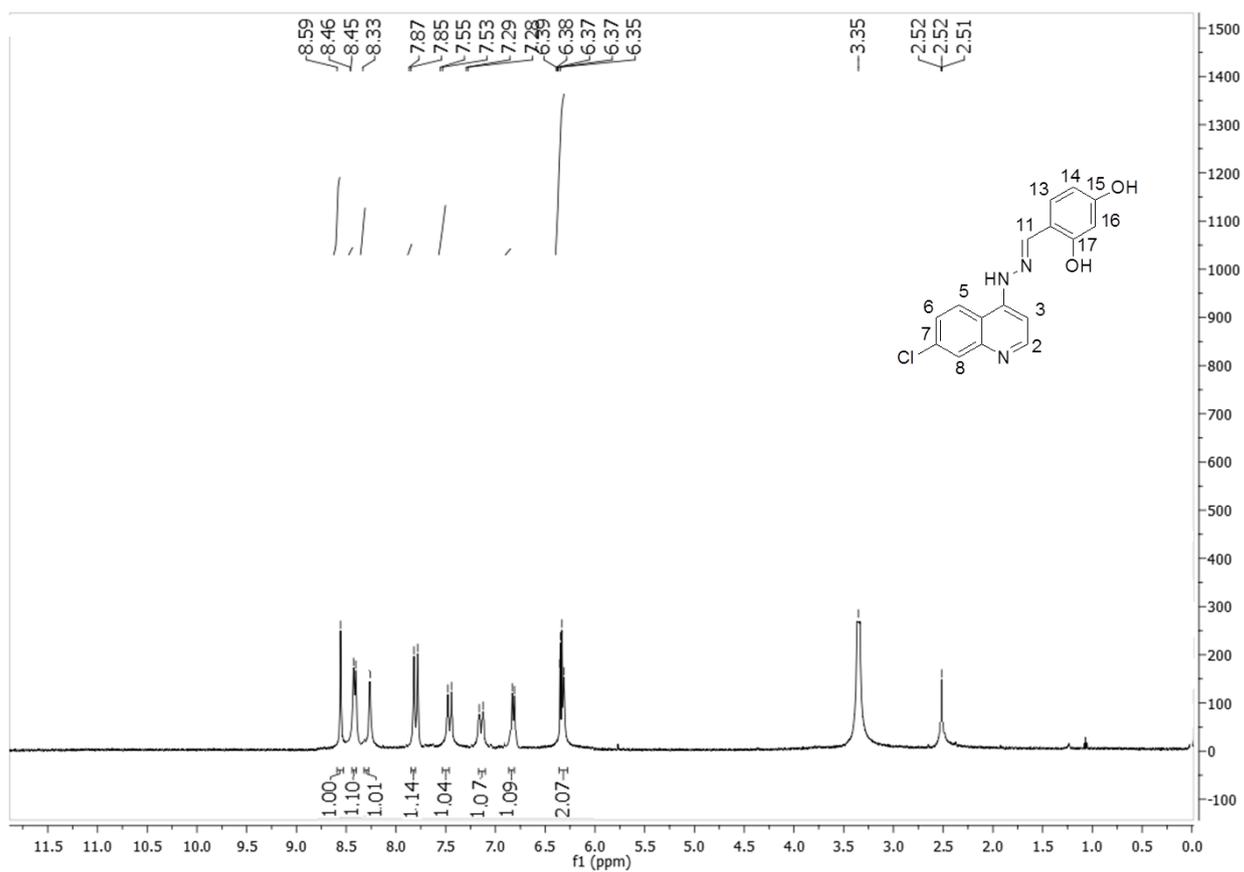
M.M. = $314,74 \text{ g. mol}^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

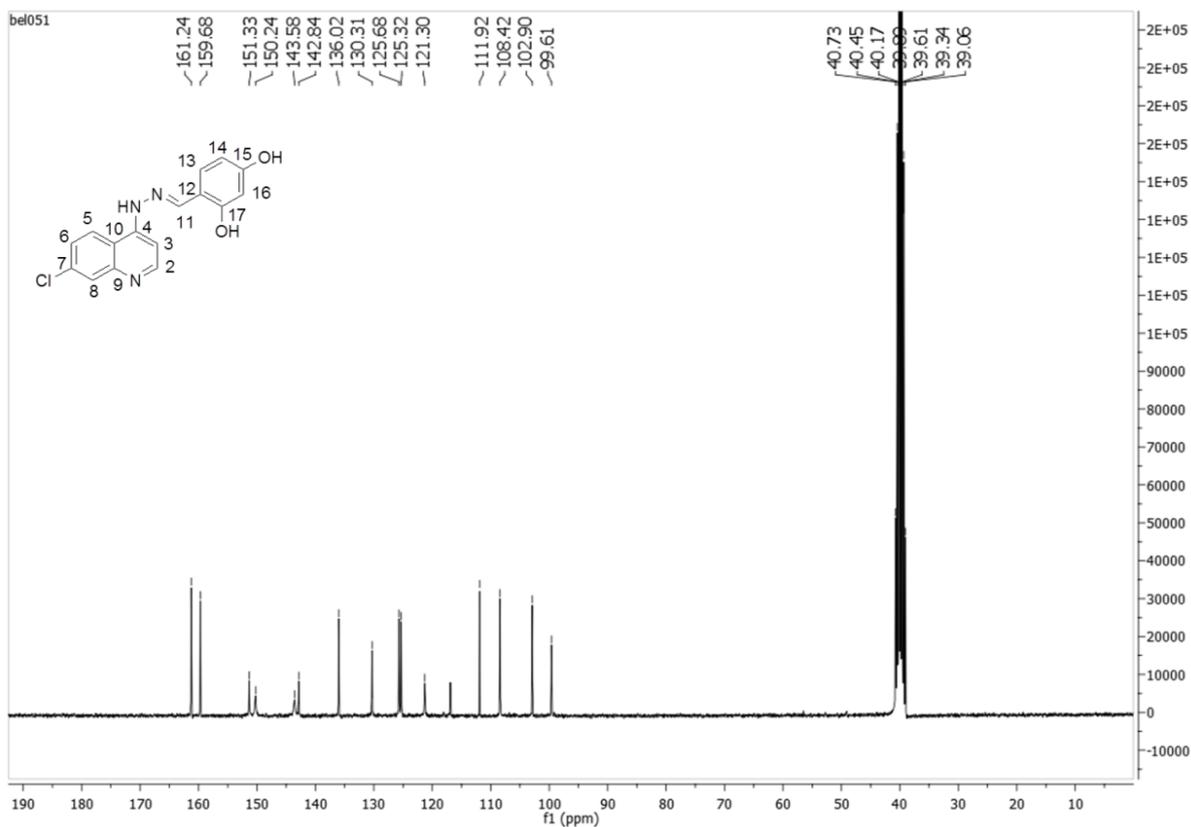
F.F. = 272°C – 274°C.

R_f = 0,7 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1). **Revelador:** luz U.V.

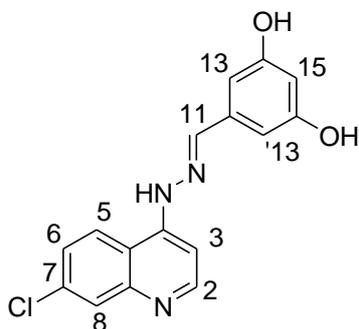
RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm), J (Hz): 8,59 (s, H-11); 8,46 (d, *J* = 5,0, H-2); 8,33 (s, H-8); 7,87 (d, *J* = 10,0, H-6); 7,55 (d, *J* = 10,0, H-5); 7,29 (d, *J* = 5,0, H-13); 6,88 (d, *J* = 5,0, H-3); 6,37 (m, H-13 e H-16).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 162,2 (C-15 e C-17); 159,6 (C-2); 151,3 (C-4); 150,2 (C-9); 143,5 (C-11); 142,8 (C-7); 136,0 (C-13); 130,3 (C-8); 125,6 (C-6); 125,3 (C-5); 121,3 (C-10); 111,9 (C-3); 108,4 (C-12); 102,9 (C-14); 99,6 (C-16).



Composto 1h:



F.M. = $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_2$

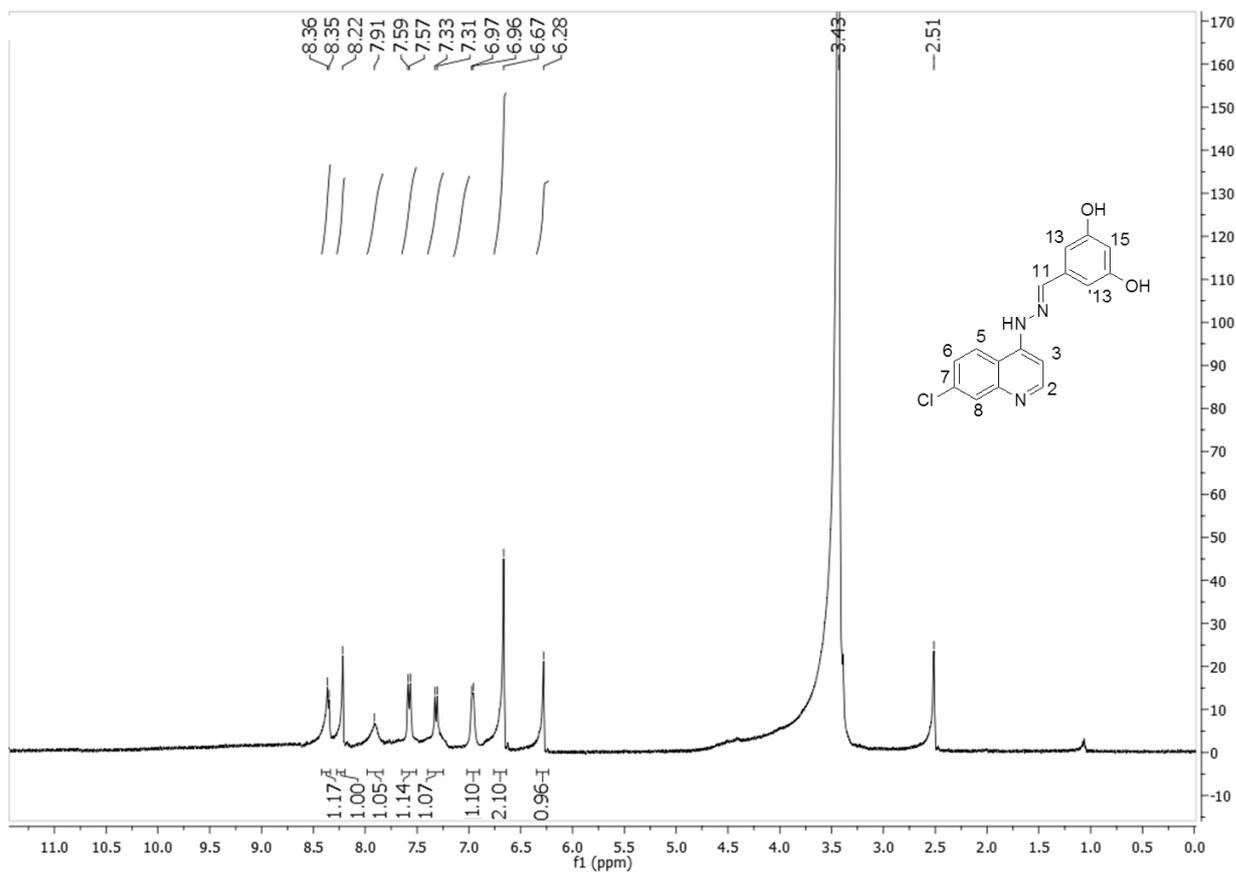
M.M. = $313,74 \text{ g. mol}^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

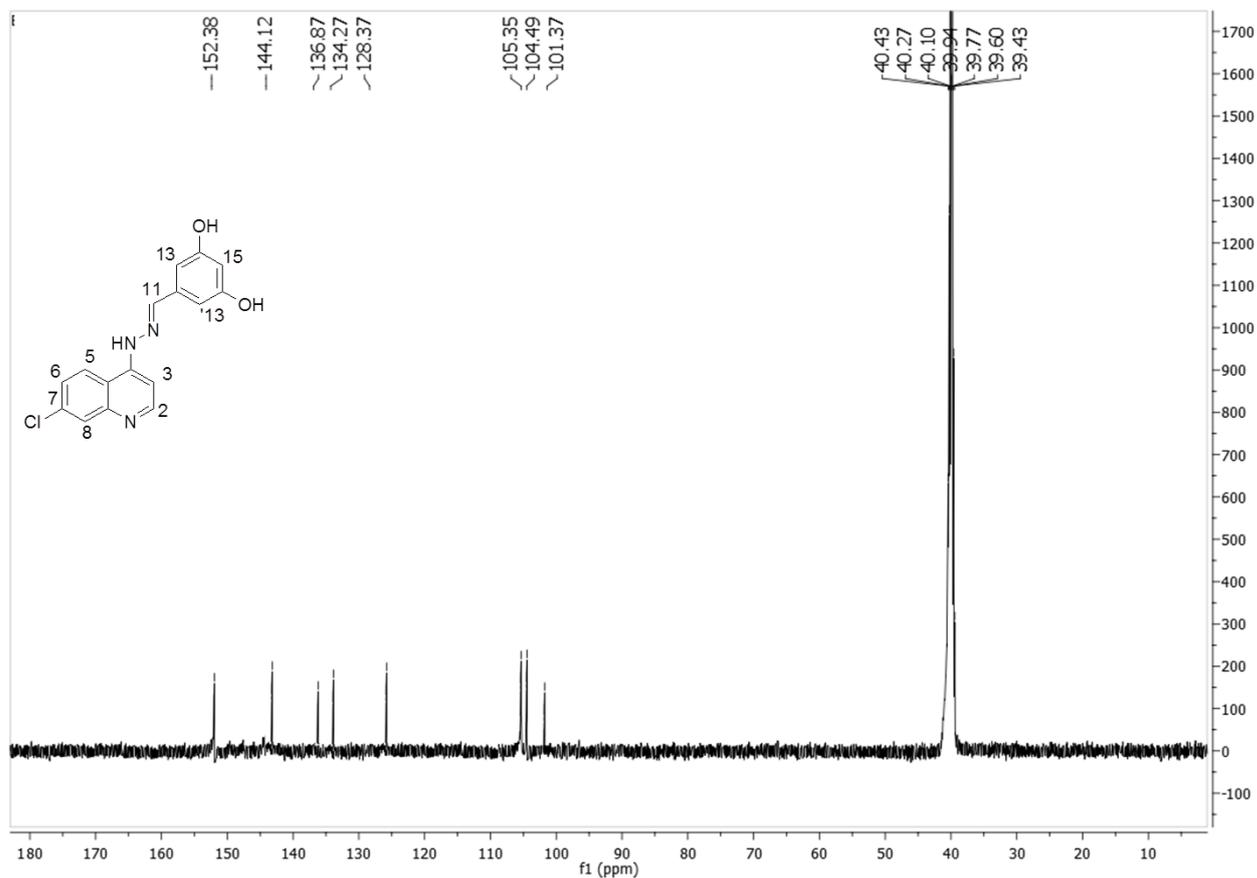
F.F. = $281^\circ\text{C} - 283^\circ\text{C}$.

$R_f = 0,7$ (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1). **Revelador:** luz U.V

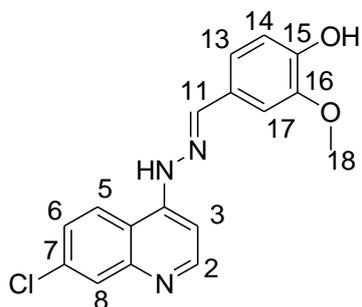
RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm), J (Hz): 8,36 (d, $J = 5,0$, H-2); 8,22 (s, H-11); 7,91 (s, H-8); 7,58 (d, $J = 10,0$, H-6); 7,32 (d, $J = 10,0$, H-5); 6,97 (d, $J = 5,0$, H-3); 6,67 (s, H-13 e H-13'); 6,28 (s, H-15).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 152,3 (C-2); 144,1 (C-11); 136,8 (C-8); 134,2 (C-6); 128,3 (C-5); 105,3 (C-13 e 13'); 104,4 (C-15); 101,3 (C-3).



Composto 1i



F.M. = $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_2$

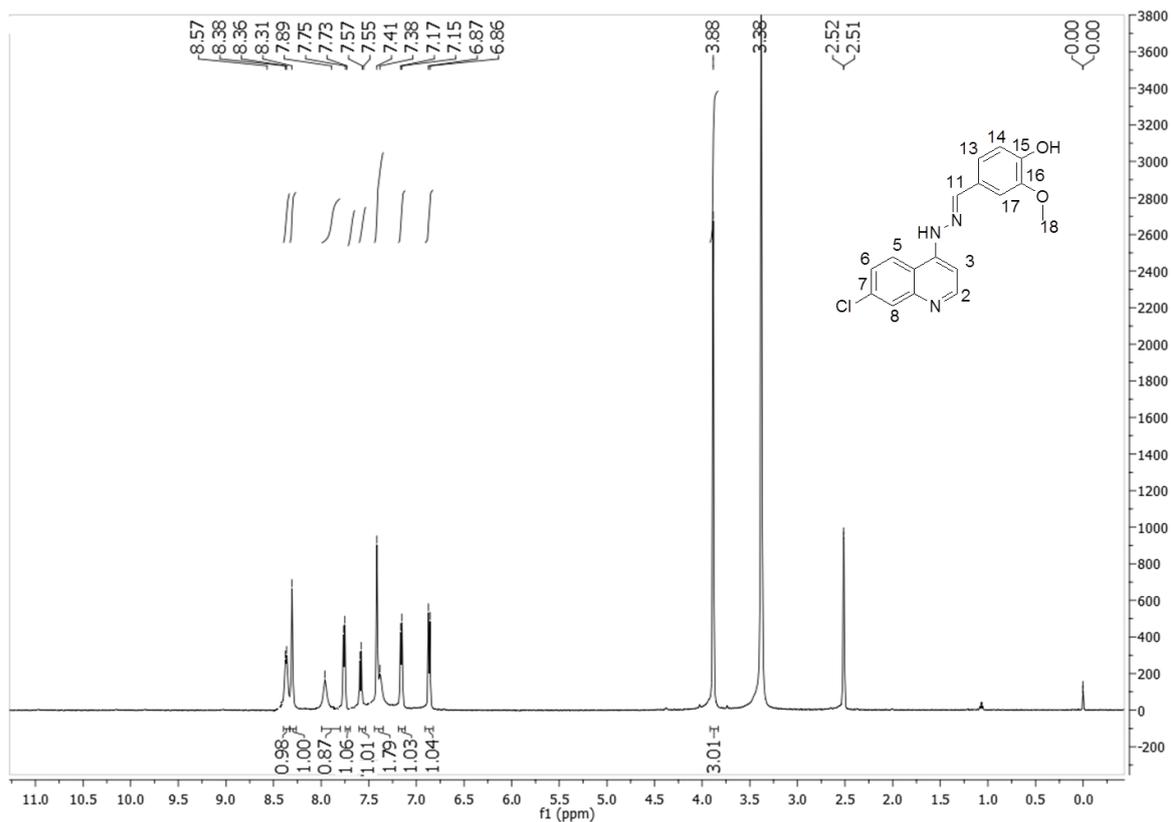
M.M. = 327,76 g. mol $^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

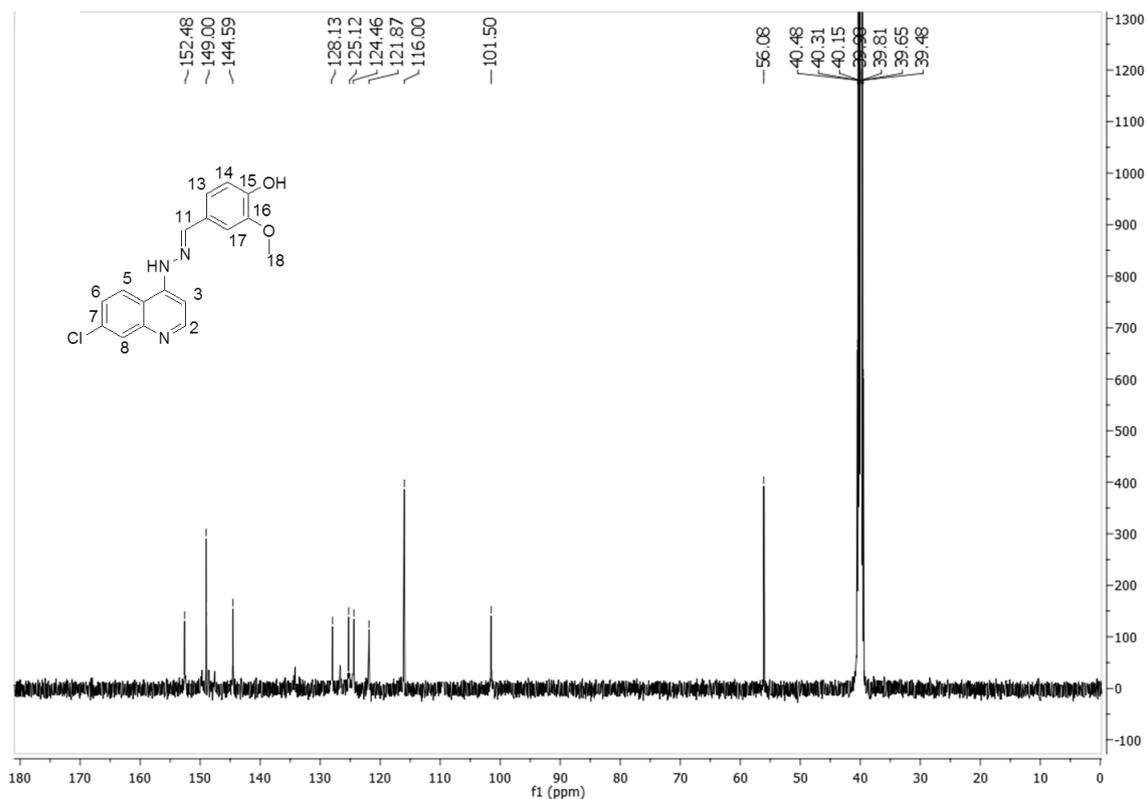
F.F. = $>360^\circ\text{C}$.

$R_f = 0,7$ (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1). **Revelador:** luz U.V

RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm), J (Hz): 8,37 (d, $J = 10,0$, H-2); 8,31 (s, H-11); 7,89 (s, H-8); 7,74 (d, $J = 10,0$, H-6); 7,56 (d, $J = 10,0$, H-5); 7,39 (m, H-13 e H-17); 7,16 (d, $J = 10,0$, H-14); 6,85 (d, $J = 10,0$, H-3).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 152,4 (C-2); 149,1 (C-14); 144,5 (C-11); 128,1 (C-8); 125,1 (C-6); 124,4 (C-5); 121,8 (C-13); 116,0 (C-17); 101,5 (C-3).



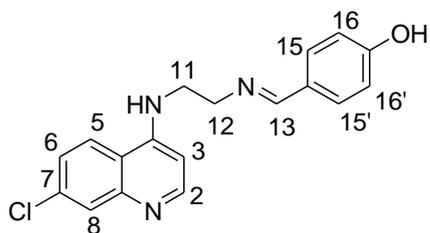
8.2.4 Preparação das bases de Schiff

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram solubilizados 1g (1,2 mmol) de aldeído em 5 mL de etanol. A seguir, em um béquer de 25 mL solubilizou-se 1,4 g (1,0 mmol) de *N*-(7-cloroquinolin-4-il)-etanodiamina (**2**). Verteu-se essa solução no balão reacional a temperatura ambiente e agitação moderada. Observou-se rapidamente a mudança de coloração da solução e então a mistura reacional foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) durante 4 horas. Como foi observado que ainda restavam materiais de partida no meio a reação foi deixada por mais 18 horas a fim de que os materiais de partida fossem consumidos. Após esse período observou-se a formação de um precipitado na solução.

O sólido formado foi devidamente filtrado em um funil de buchner com um papel de filtro e lavado várias vezes com etanol para eliminar qualquer resíduo de material de partida que possa haver no produto. Em seguida o sólido foi levado à estufa 80°C e caracterizado por

técnicas de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , assim como espectroscopia vibracional da região do infravermelho.

Composto 2a:



F.M. = $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}$

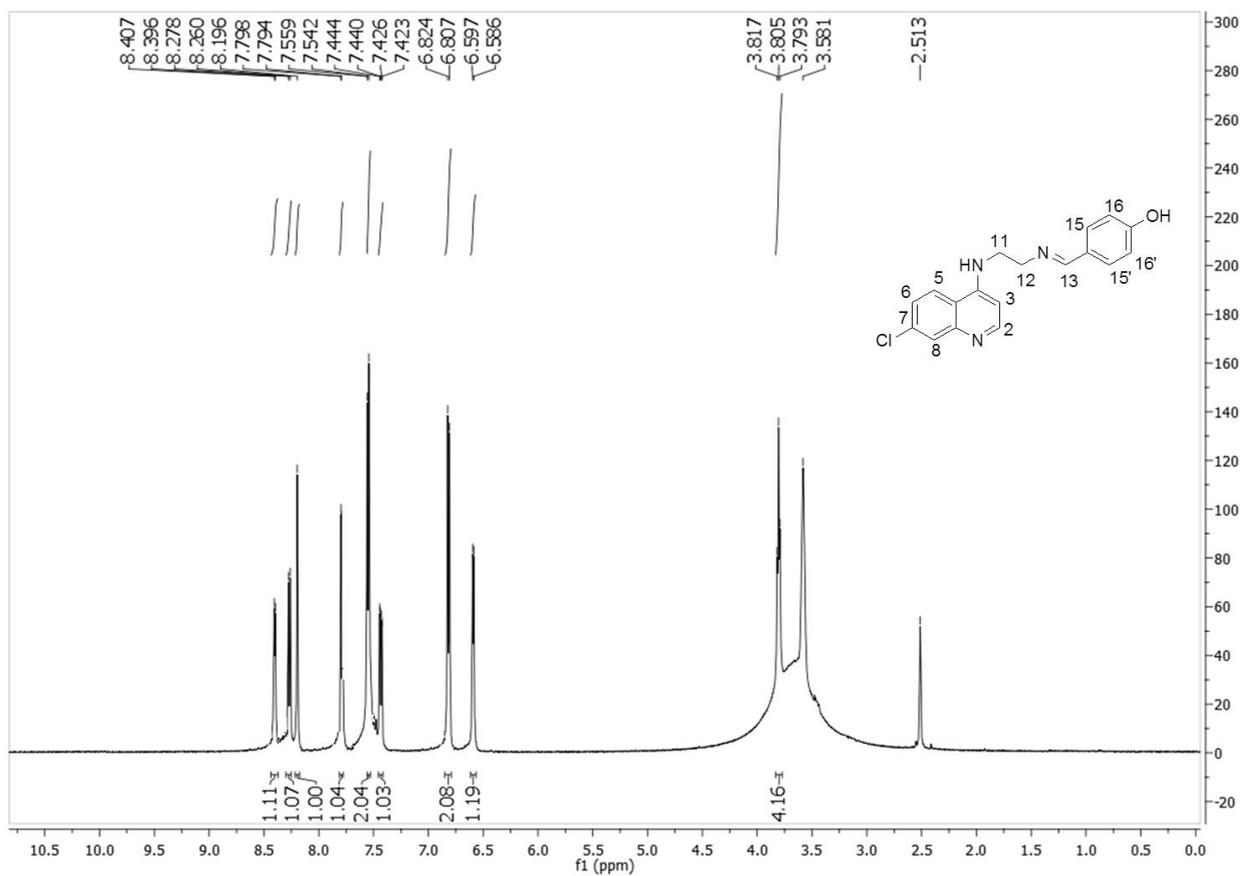
M.M. = 325,79 g. mol $^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

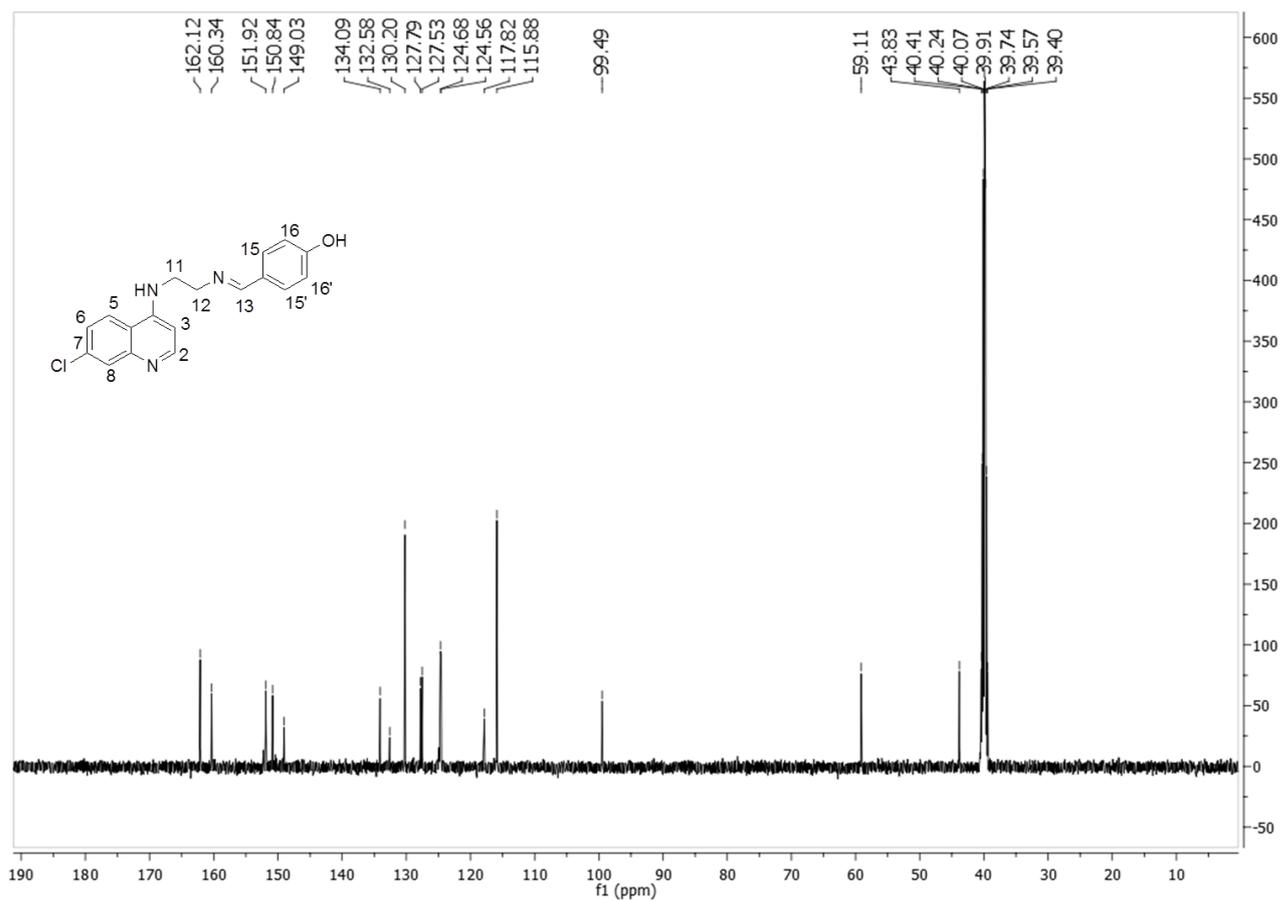
F.F. = 264 - 266°C.

R_f = 0,7 (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1). **Revelador:** luz U.V

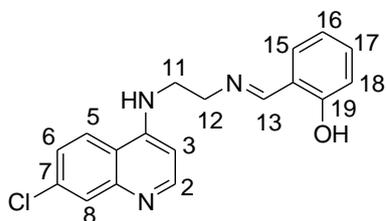
RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm), *J* (Hz): 8,401 (d, *J* = 5,5, H-2); 8,269 (d, *J* = 9,0, H-5); 8,196 (s, H-13); 7,796 (d, *J* = 2,0, H-8); 7,550 (d, *J* = 8,5, H-15); 7,433 (dd, *J* = 2,0 e 9,0, H-6); 6,815 (d, *J* = 8,5, H-16); 6,591 (d, *J* = 5,5, H-3); 3,805 (t, *J* = 6,0, H-11 e H-12).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 162,1 (C-13); 160,3 (C-17); 151,9 (C-2); 149,0 (C-9); 134,0 (C-7); 130,2 (C-14); 127,7 (C-15); 127,5 (C-8); 124,6 (C-6); 124,5 (C-5); 117,8 (C-10); 115,8 (C-16); 99,4 (C-3); 59,1 (C-12); 43,8 (C-11).



Composto 2b:



F.M. = $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}$

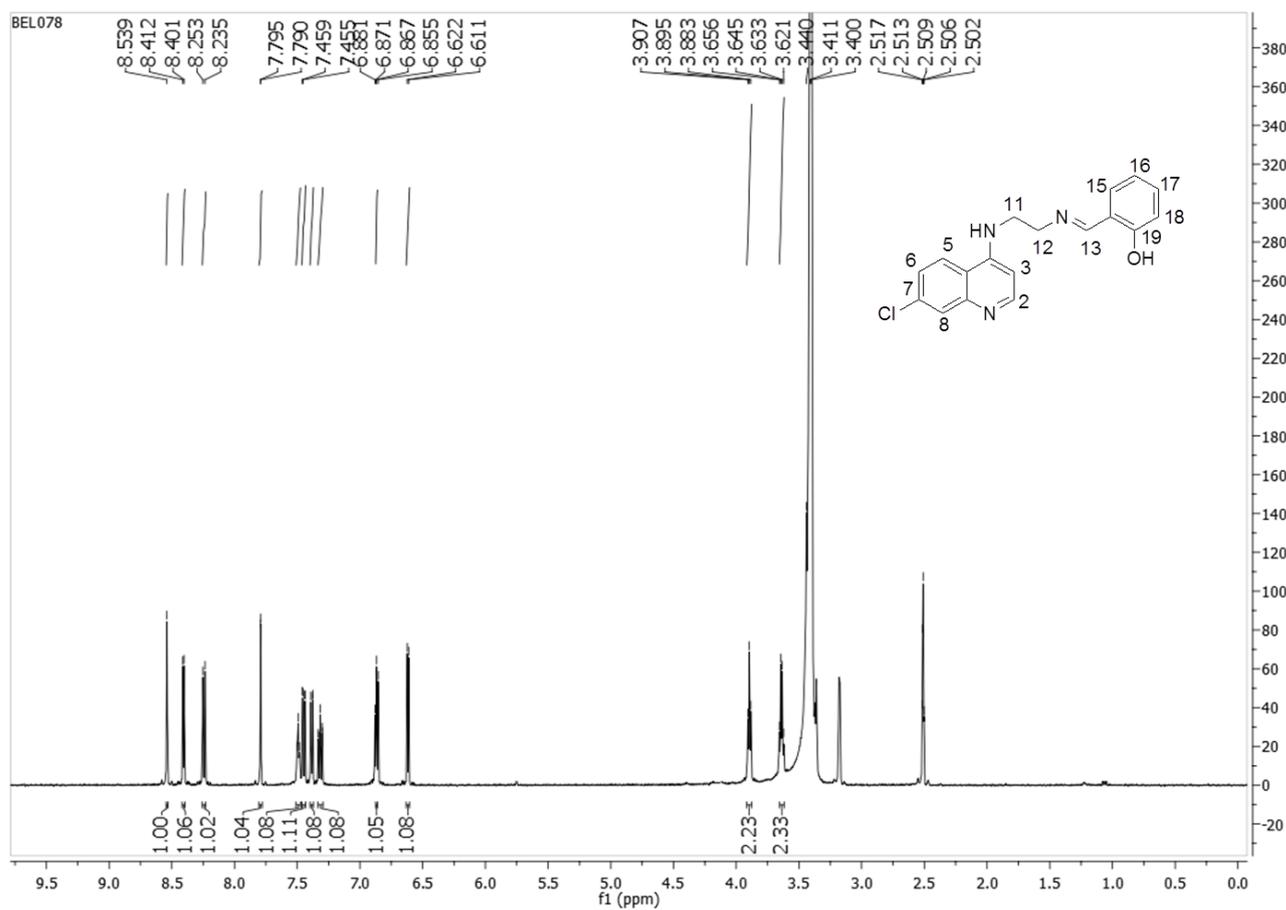
M.M. = $325,79 \text{ g. mol}^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

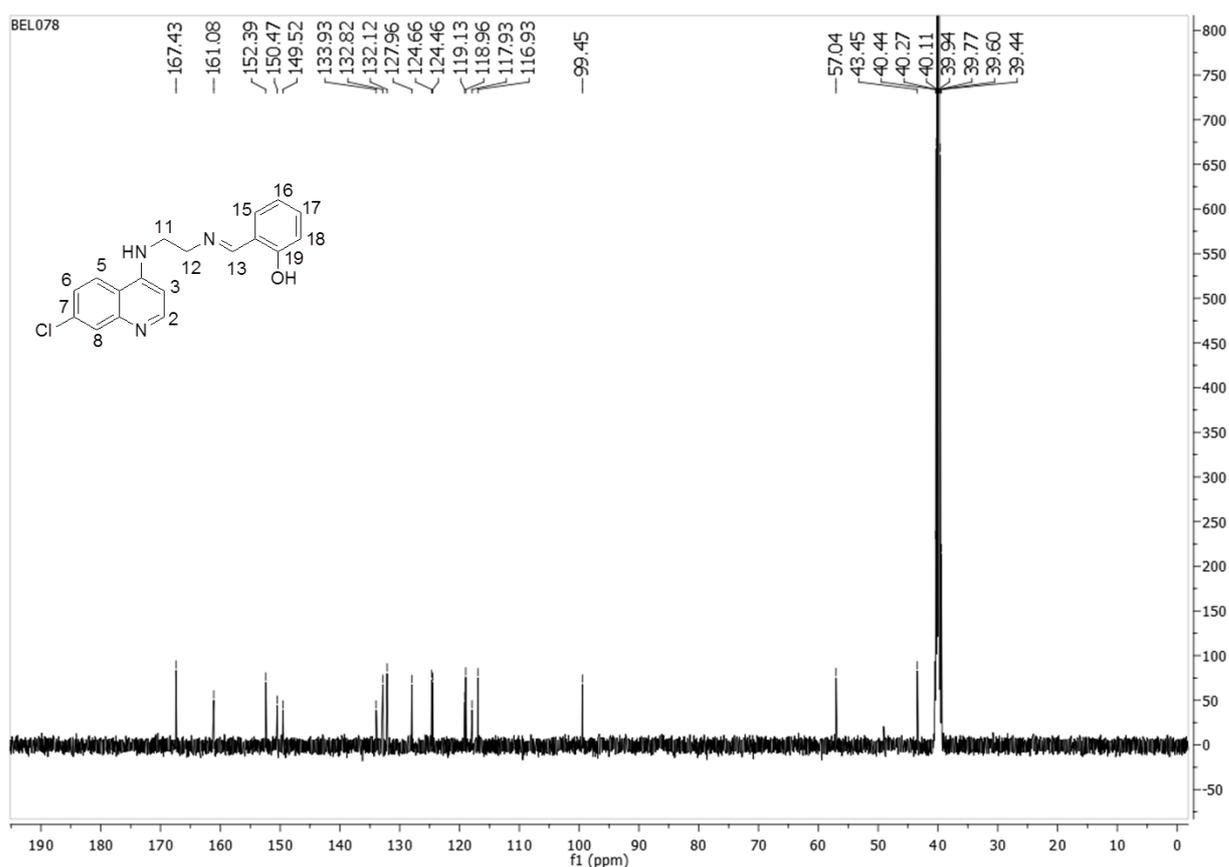
F.F. = 219 - 222°C.

R_f = 0,7 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1). Revelador: luz U.V

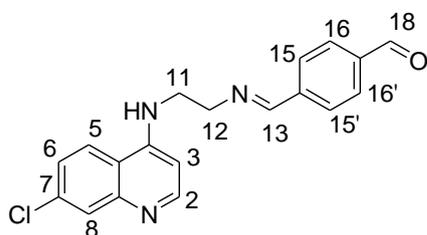
RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm), *J* (Hz): 8,401 (d, *J* = 5,5, H-2); 8,269 (d, *J* = 9,0, H-5); 8,196 (s, H-13); 7,796 (d, *J* = 2,0, H-8); 7,550 (d, *J* = 8,5, H-15); 7,433 (dd, *J* = 2,0 e 9,0, H-6); 6,815 (d, *J* = 8,5, H-16); 6,591 (d, *J* = 5,5, H-3); 3,805 (t, *J* = 6,0, H-11 e H-12).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 167,4 (C-19); 161,0 (C-13); 152,3 (C-4); 150,4 (C-2); 149,5 (C-9); 133,9 (C-7); 132,2 (C-17); 132,1 (C-15); 127,9 (C-8); 124,6 (C-6); 124,4 (C-14); 119,1 (C-5); 118,9 (C-16); 117,9 (C-10); 116,9 (C-18); 99,4 (C-3); 57,0 (C-12); 43,4 (C-11).



Composto 2c:



F.M. = $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}$

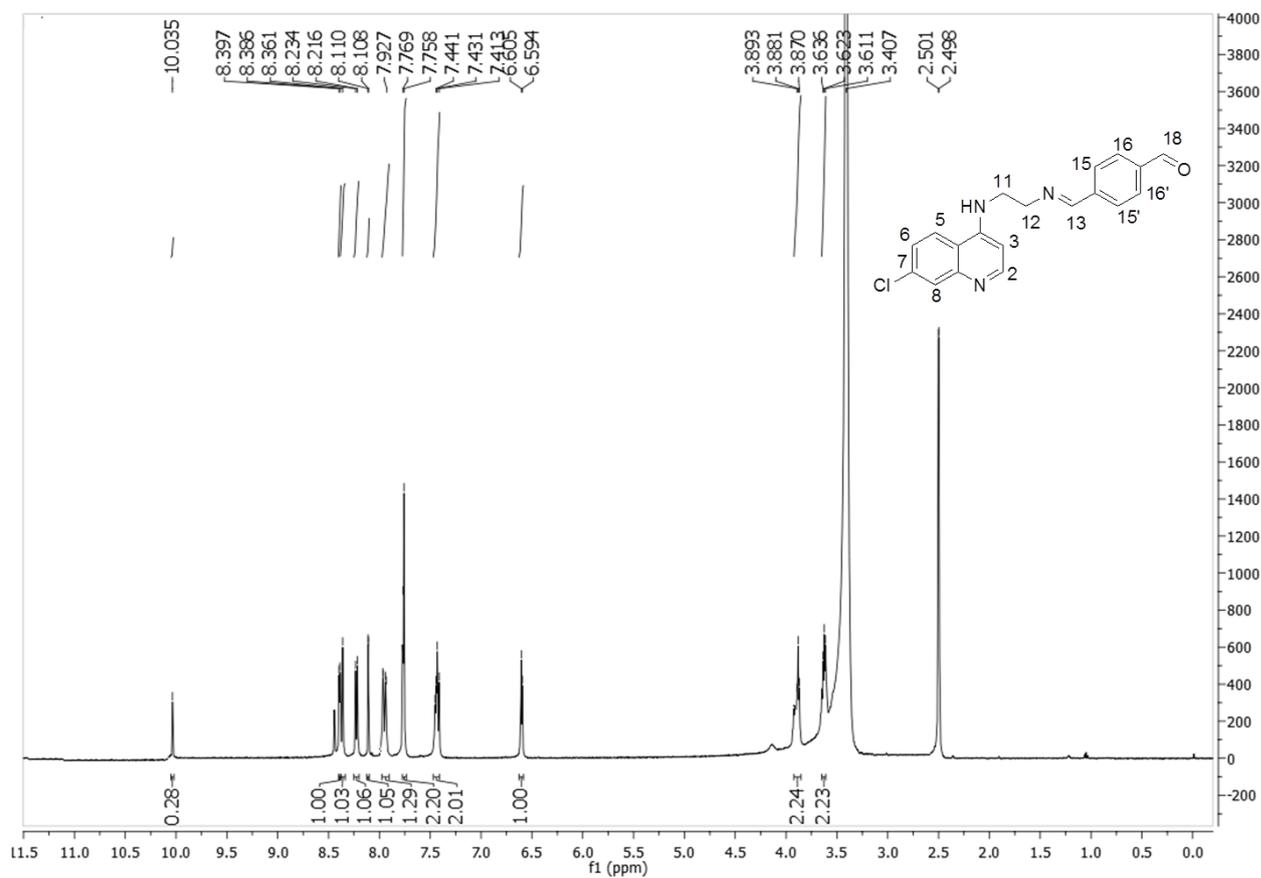
M.M. = 337,80 g. mol $^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

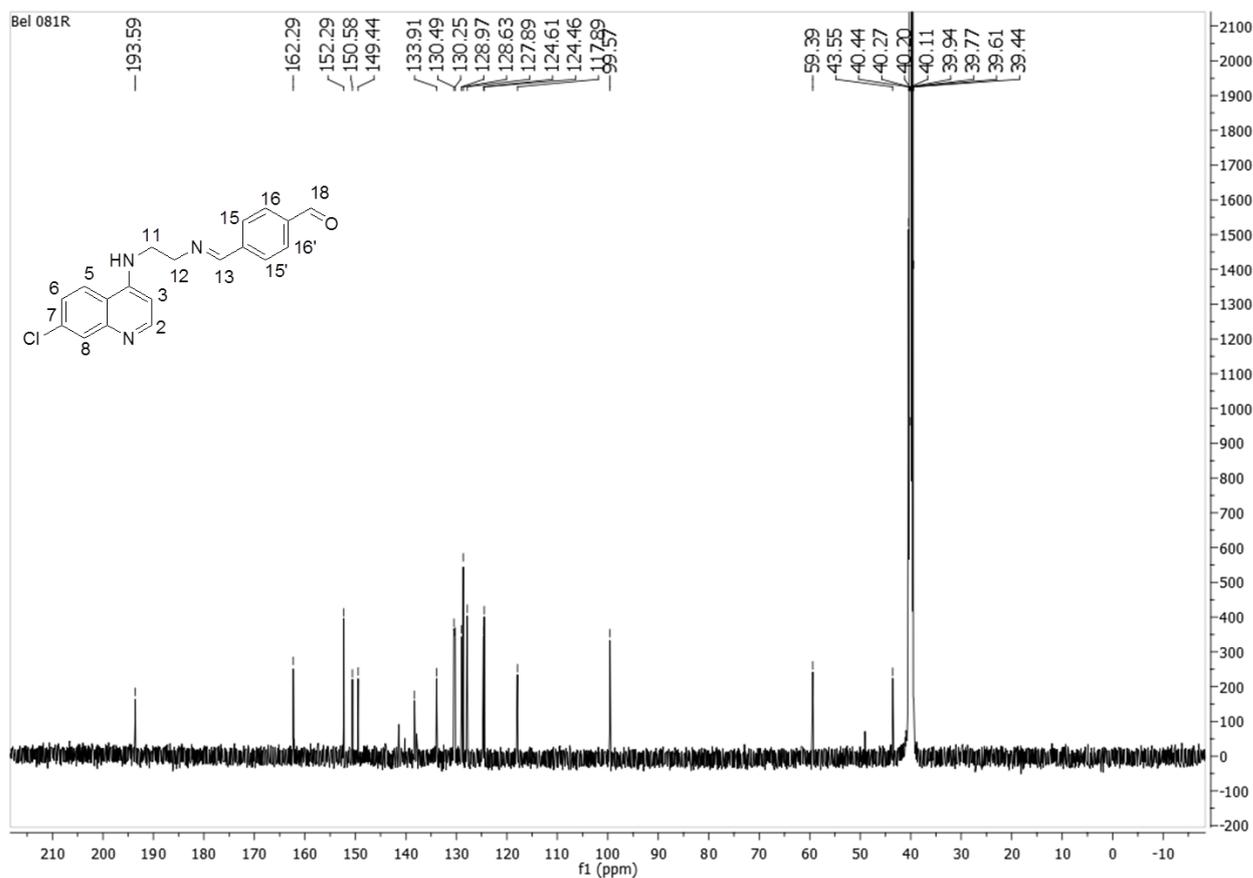
F.F. = 230 - 234°C.

R_f = 0,7 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1). Revelador: luz U.V

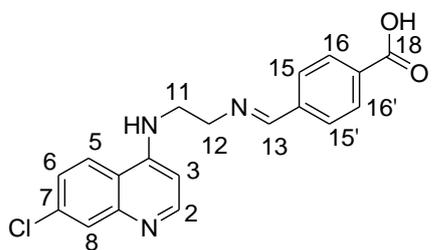
RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm), J (Hz): 8,391 (d, J = 5,5, H-2); 8,361 (s, H-13); 8,225 (d, J = 9,0, H-5); 8,801 (d, J = 1,0, H-8); 7,818 (dd, J = 7,5 e 1,0, H-6); 7,763 (d, J = 5,5, H-16 e H-16'); 7,434 (m, H-15 e H-15'); 6,599 (d, J = 5,5, H-3); 3,881 (t, J = 6,0, H-12); 3,6231 (t, J = 6,5, H-11).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 193,5 (C-18); 162,2 (C-13); 152,2 (C-4); 150,5 (C-2); 149,4 (C-9); 133,9 (C-14); 130,4 (C-17); 130,2 (C-7); 128,9 (C-16); 128,6 (C-15); 127,8 (C-8); 124,6 (C-6); 124,4 (C-5); 117,8 (C-10); 99,5 (C-3); 59,3 (C-12); 43,5 (C-11).



Composto 2d:



F.M. = $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}$

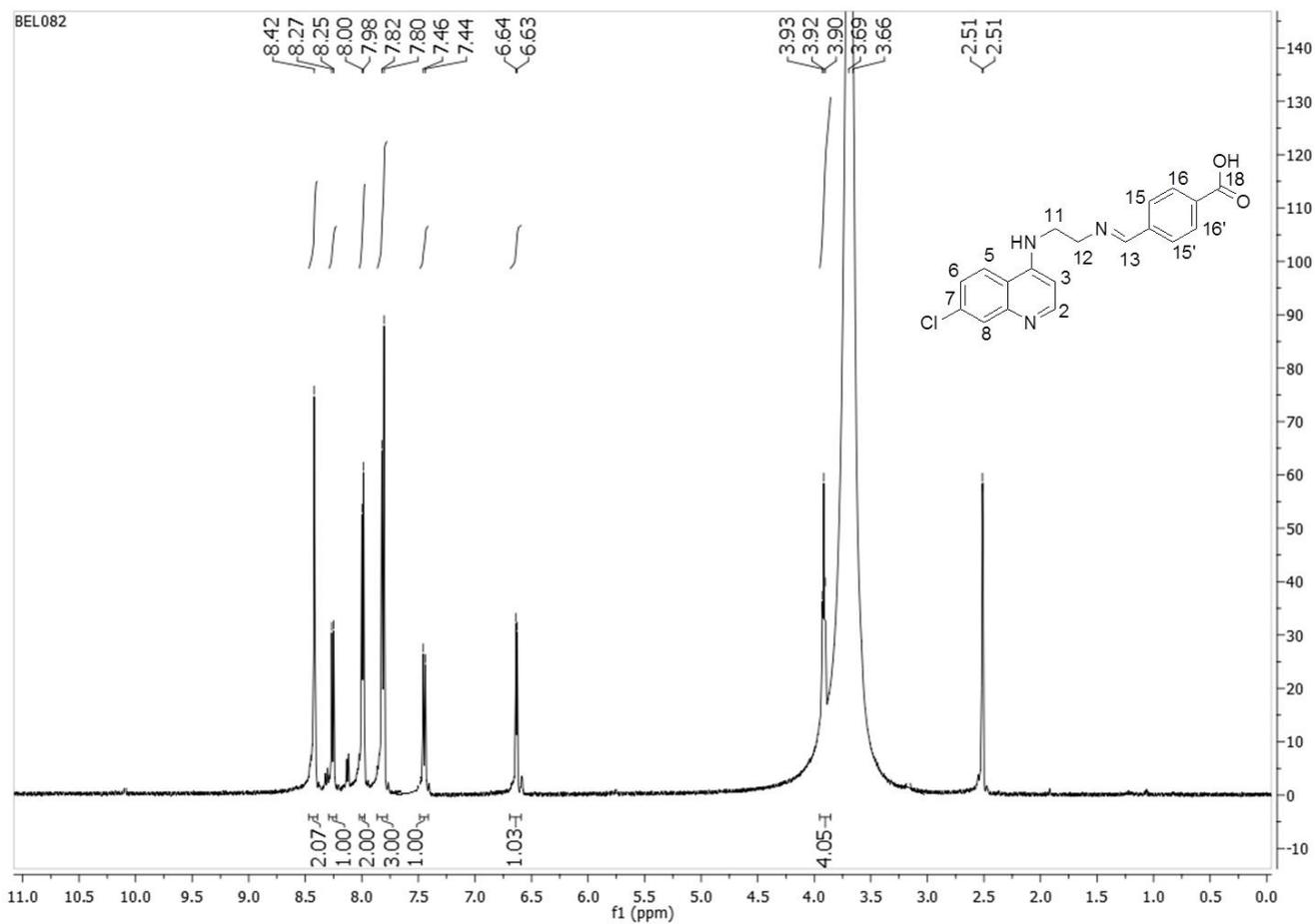
M.M. = $337,80 \text{ g. mol}^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

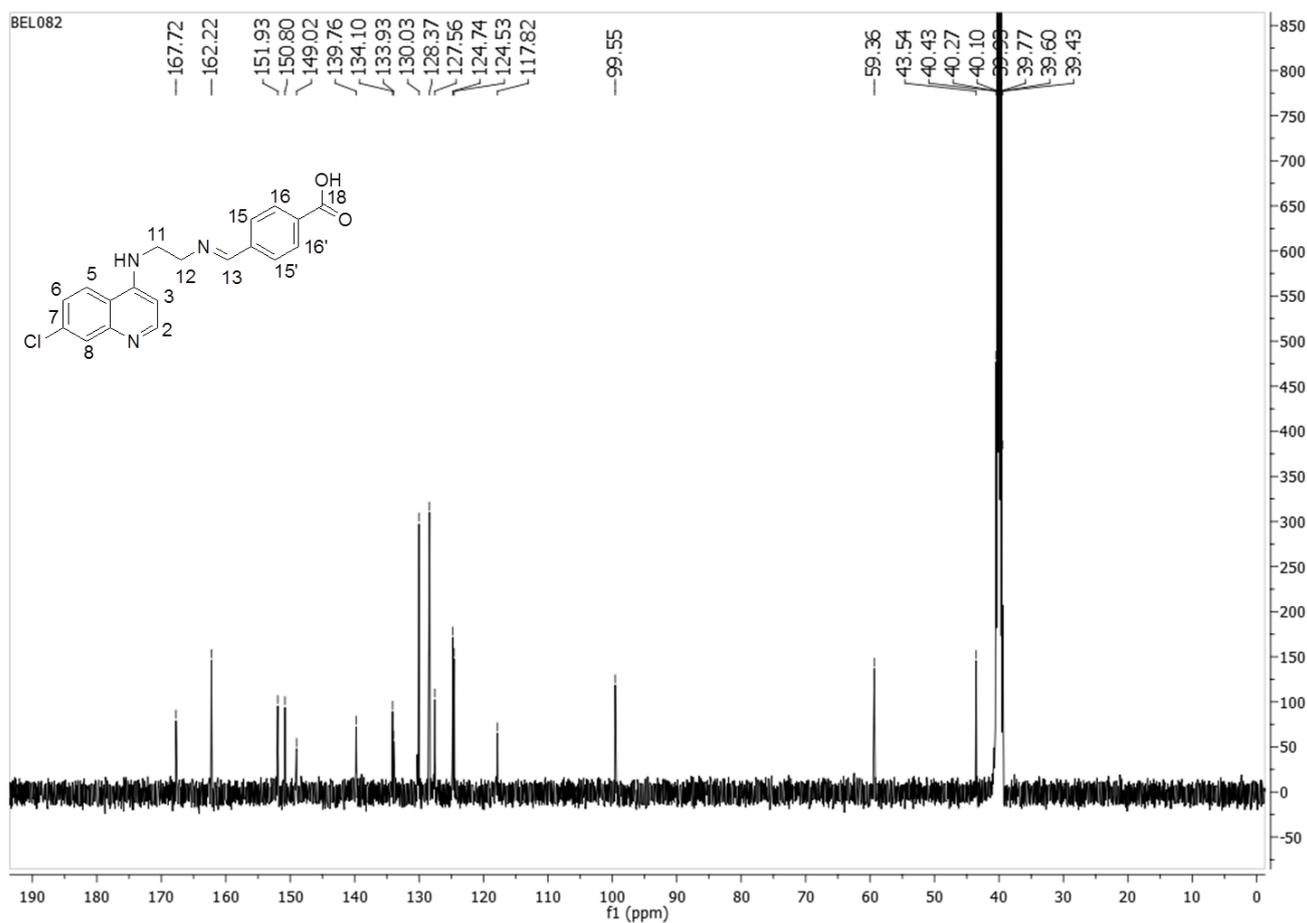
F.F. = $230 - 234^\circ\text{C}$.

$R_f = 0,7$ (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1). **Revelador:** luz U.V

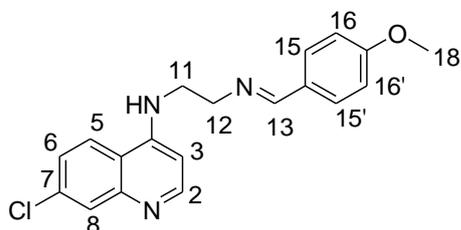
RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm), J (Hz): 8,401 (d, $J = 5,5$, H-2); 8,269 (d, $J = 9,0$, H-5); 8,196 (s, H-13); 7,796 (d, $J = 2,0$, H-8); 7,550 (d, $J = 8,5$, H-15); 7,433 (dd, $J = 2,0$ e $9,0$, H-6); 6,815 (d, $J = 8,5$, H-16); 6,591 (d, $J = 5,5$, H-3); 3,805 (t, $J = 6,0$, H-11, H-12).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 167,7 (C-18); 162,2 (C-13); 151,9 (C-4); 150,8 (C-2); 149,0 (C-9); 139,7 (C-14); 134,1 (C-7); 133,9 (C-17); 130,0 (C-16); 128,3 (C-15); 124,7 (C-6); 124,5 (C-5); 117,7 (C-10); 99,5 (C-3); 59,3 (C-12); 43,5 (C-11).



Composto 2e:



F.M. = $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}$

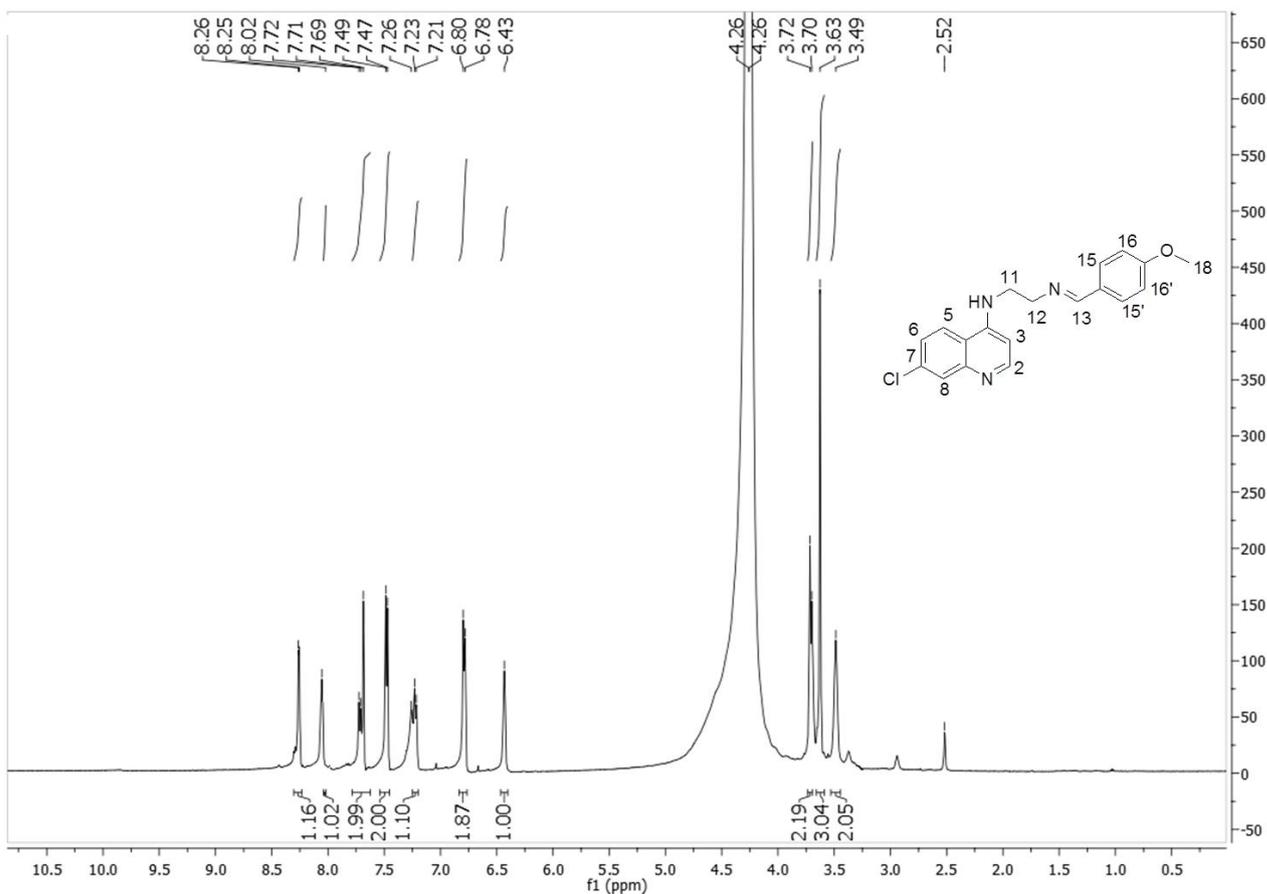
M.M. = $337,80 \text{ g. mol}^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

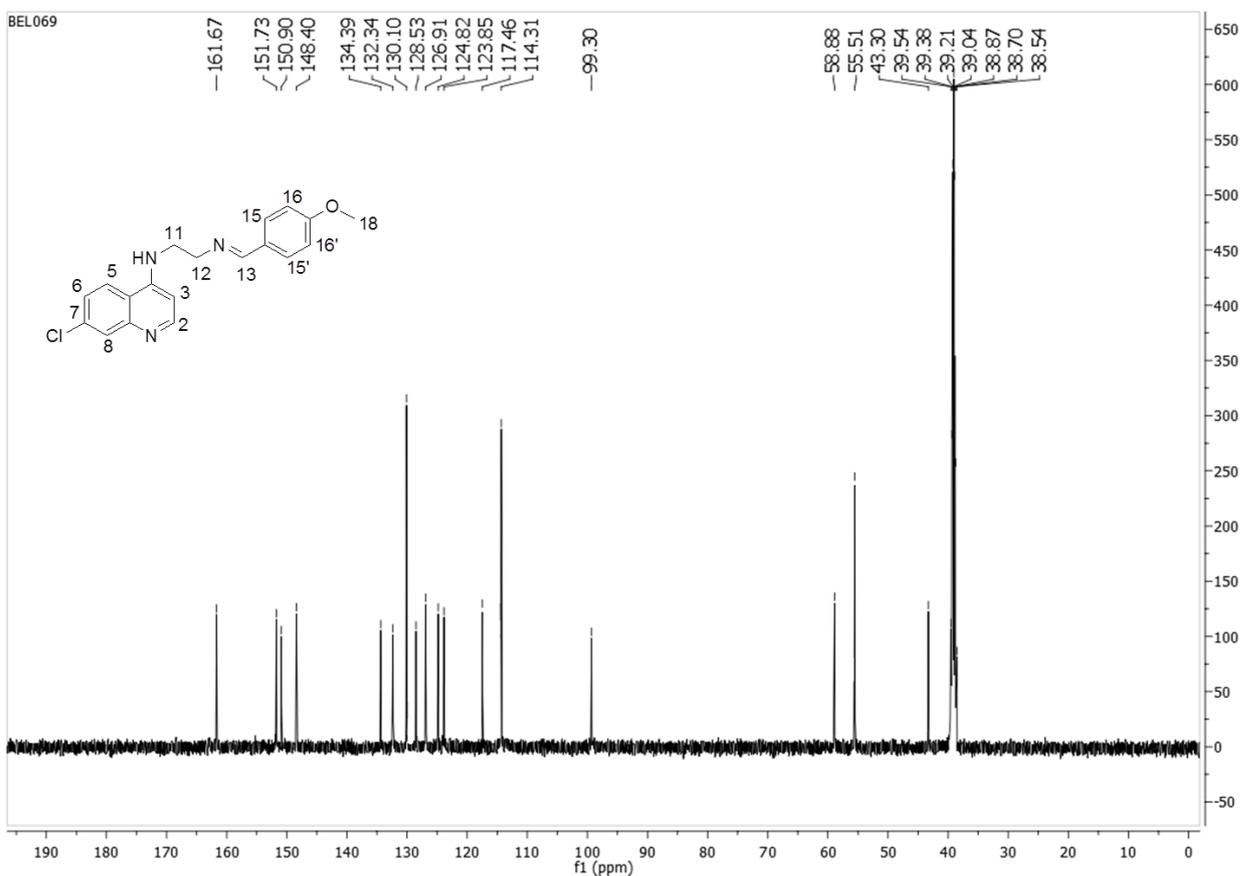
F.F. = $230 - 234^\circ\text{C}$.

$R_f = 0,7$ (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1). **Revelador:** luz U.V

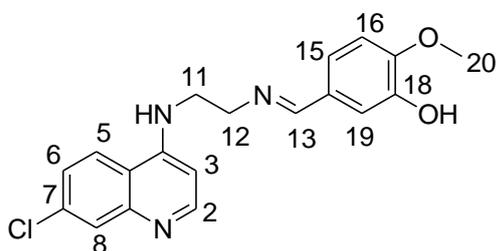
RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm), J (Hz): 8,26 (d, $J = 5$, H-2); 8,01 (s, H-13); 7,71 (m, H-6 e H-8); 7,48 (d, $J = 10,0$, H-15 e H-15'); 7,23 (d, $J = 10,0$, H-5); 6,79 (d, $J = 10,0$, H-16); 6,43 (s, H-3); 3,72 (m, H-12); 3,63 (s, H-18); 3,49 (s, H-11).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 161,6 (C-13); 151,7 (C-17); 150,9 (C-4); 148,4 (C-2); 134,3 (C-9); 132,3 (C-7); 130,1 (C-14); 128,5 (C-15); 126,9 (C-8); 124,8 (C-6); 123,8 (C-5); 117,4 (C-10); 114,3 (C-16); 99,3 (C-3); 58,8 (C-12); 55,5 (C-18); 43,3 (C-11).



Composto 2f:



F.M. = $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2$

M.M. = 355,82 g. mol $^{-1}$.

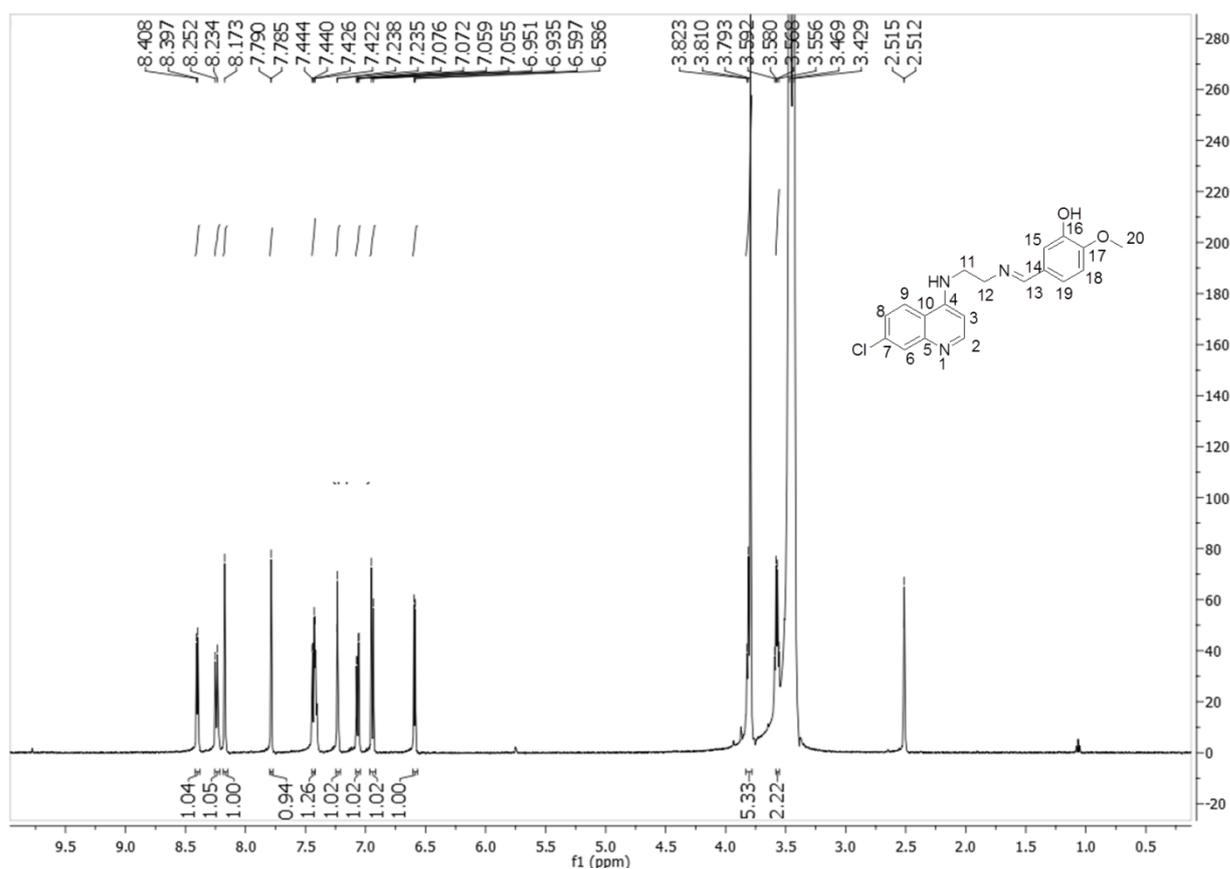
C.F. = sólido amarelo.

F.F. = 197 - 200°C.

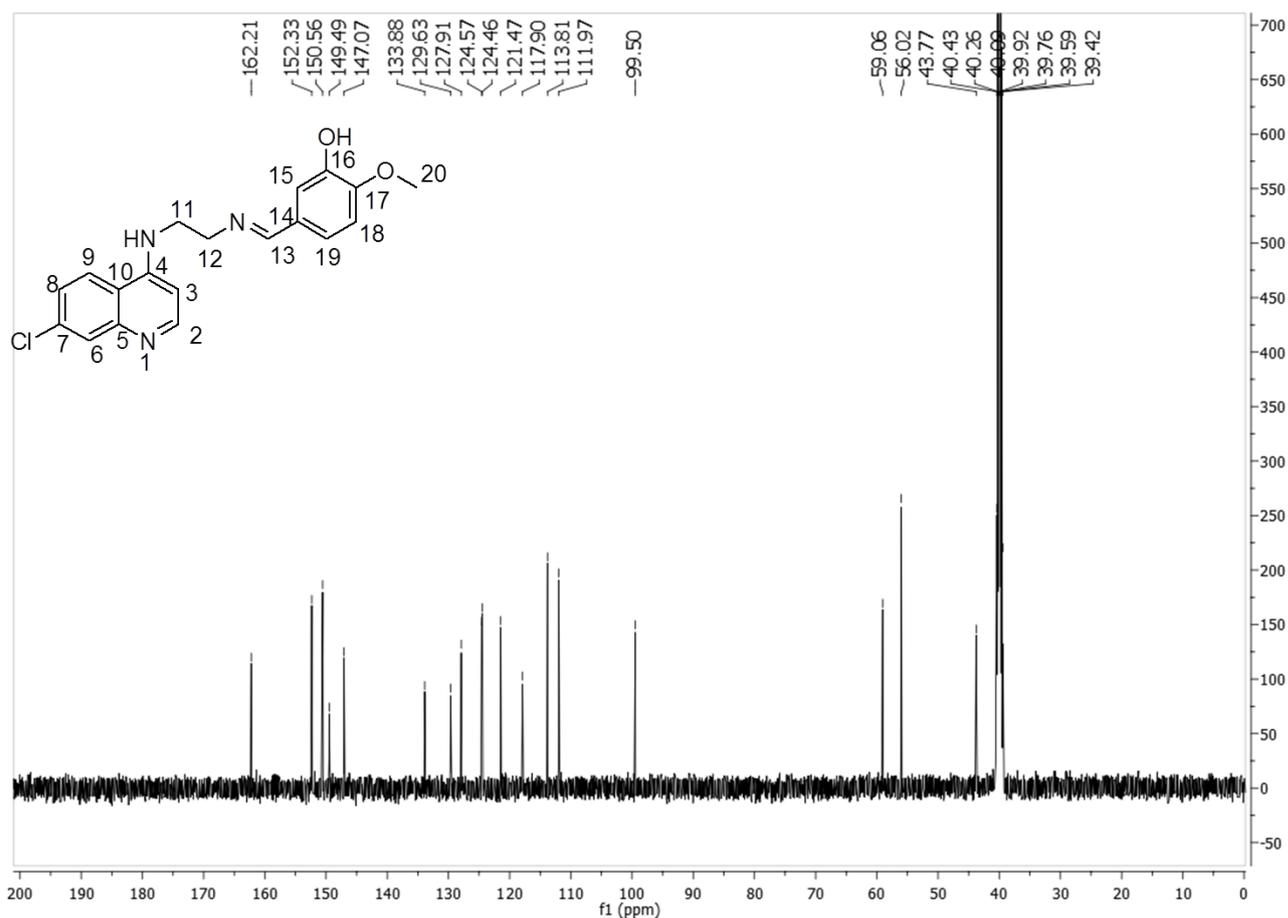
R_f = 0,7 (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1).

Revelador: luz U.V

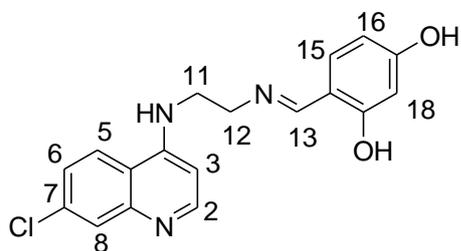
RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm), J (Hz): 8,402 (d, $J = 5,5$ H-2); 8,243 (d, $J = 9,0$, H-5); 8,173 (s, H-13); 7,787 (d, $J = 2,5$, H-8); 7,433 (dd, $J = 2,0$ e $9,0$, H-6); 7,236 (d, $J = 1,5$, H-19); 7,065 (dd, $J = 2,0$ e $8,5$, H-15); 6,943 (d, $J = 8,0$, H-16); 6,591 (d, $J = 5,5$, H-3); 3,810 (m, H-12 e H-20); 3,574 (m, H-11).



RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 162,2 (C-13); 152,3 (C-4); 150,5 (C-17); 149,9 (C-2); 147,0 (C-9); 133,8 (C-7); 129,6 (C-14); 127,9 (C-8); 124,4 (C-15); 121,4 (C-5); 117,9 (C-6); 113,8 (C-19); 111,9 (C-16); 99,5 (C-3); 59,0 (C-12); 56,0 (C-20); 43,7 (C-11).



Composto 2g:



F.M. = C₁₈H₁₆ClN₃O₂

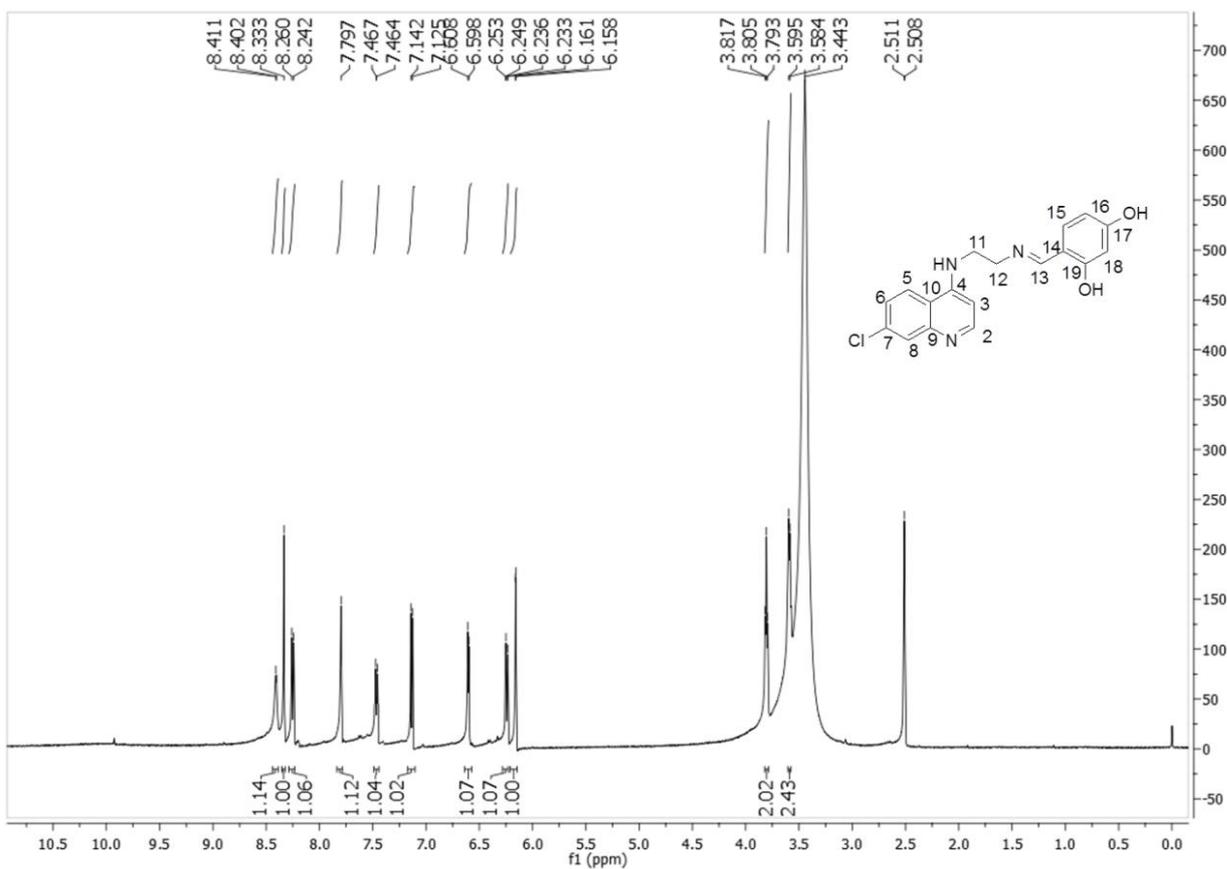
M.M. = 341,79 g. mol⁻¹.

C.F. = sólido amarelo.

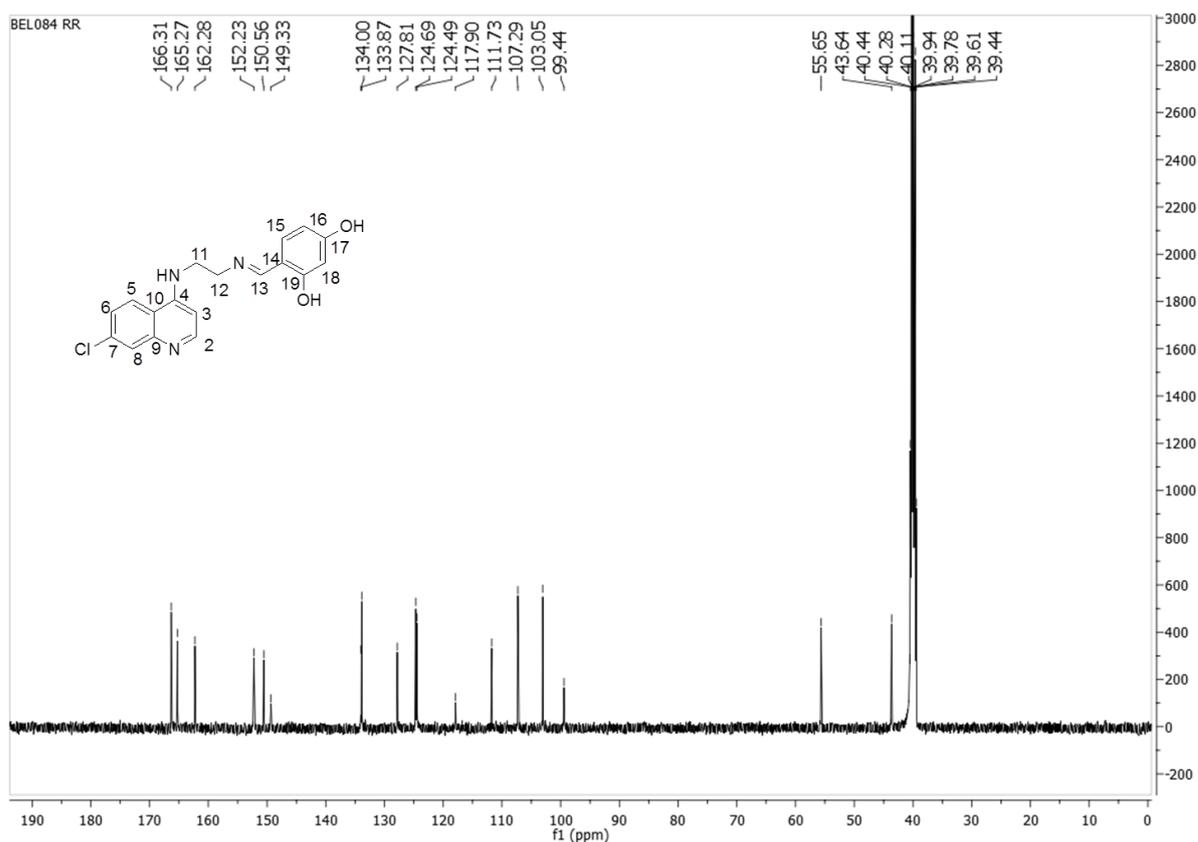
F.F. = 235 - 237°C.

R_f = 0,7 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1). Revelador: luz U.V

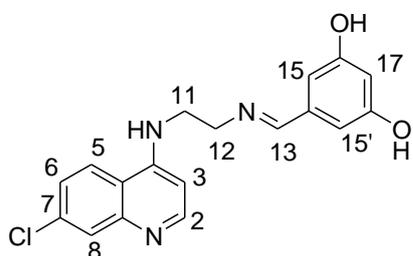
RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm), *J* (Hz): 8,411 (d, *J* = 4,5 H-2); 8,333 (s, H-13); 8,251 (d, *J* = 9,0, H-5); 7,797 (s, H-8); 7,456 (dd, *J* = 1,5 e 8,5, H-6); 7,133 (d, *J* = 8,5, H-15); 6,603 (d, *J* = 5,0, H-3); 6,242 (dd, *J* = 2,0 e 8,5, H-16); 6,159 (d, *J* = 1,5, H-18); 3,805 (t, *J* = 6,0, H-12 e H-20); 3,589 (t, *J* = 5,5, H-11).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 166,3 (C-19); 165,2 (C-17); 162,2 (C-13); 152,2 (C-4); 150,5 (C-2); 149,3 (C-9); 134,0 (C-7); 133,8 (C-15); 127,8 (C-8); 124,6 (C-6); 124,4 (C-5); 117,9 (C-10); 111,7 (C-14); 107,2 (C-3); 103,0 (C-16); 99,4 (C-18); 55,6 (C-12); 43,6 (C-11).



Composto 2h:



F.M. = $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_2$

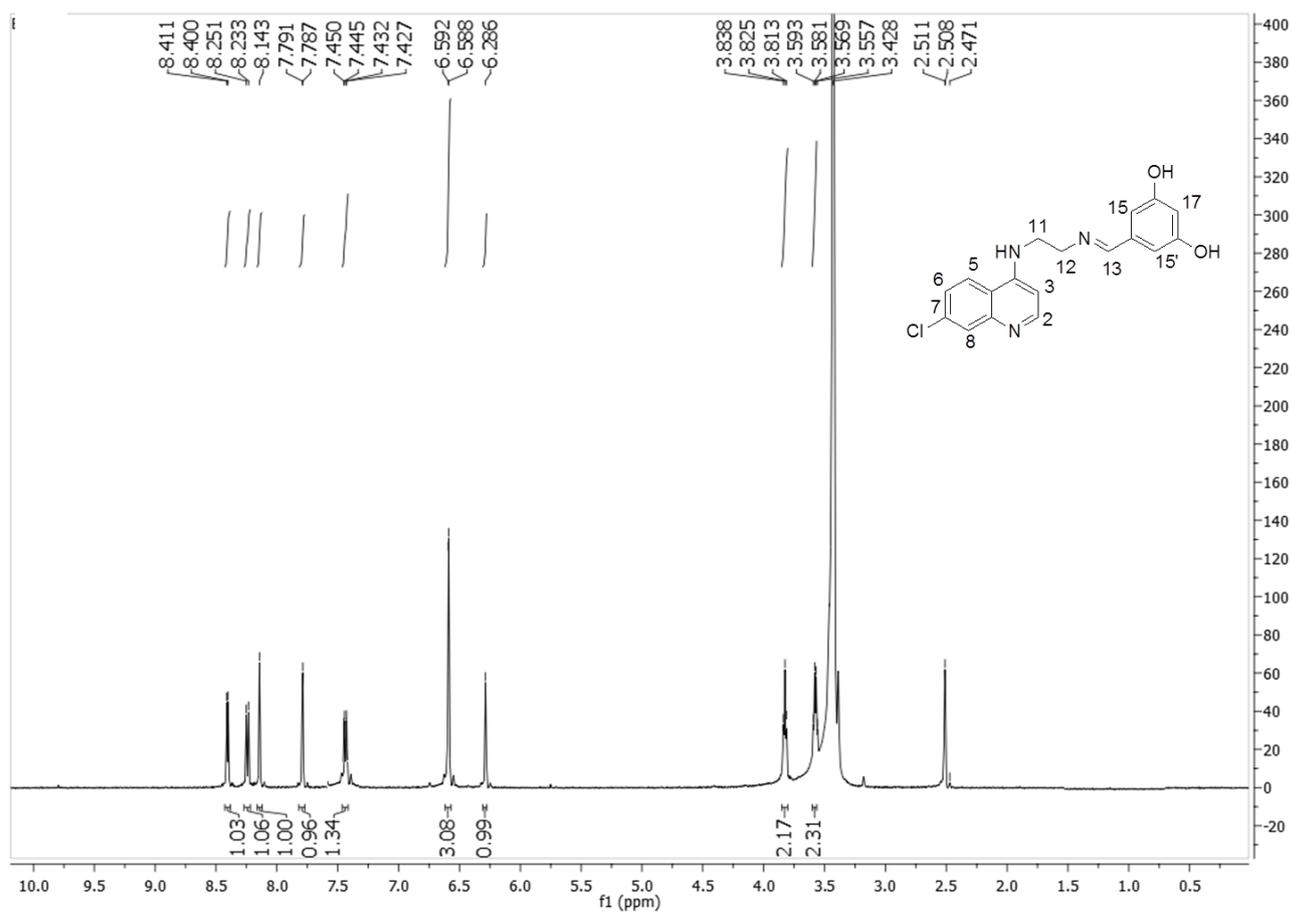
M.M. = $341,79 \text{ g. mol}^{-1}$.

C.F. = sólido amarelo.

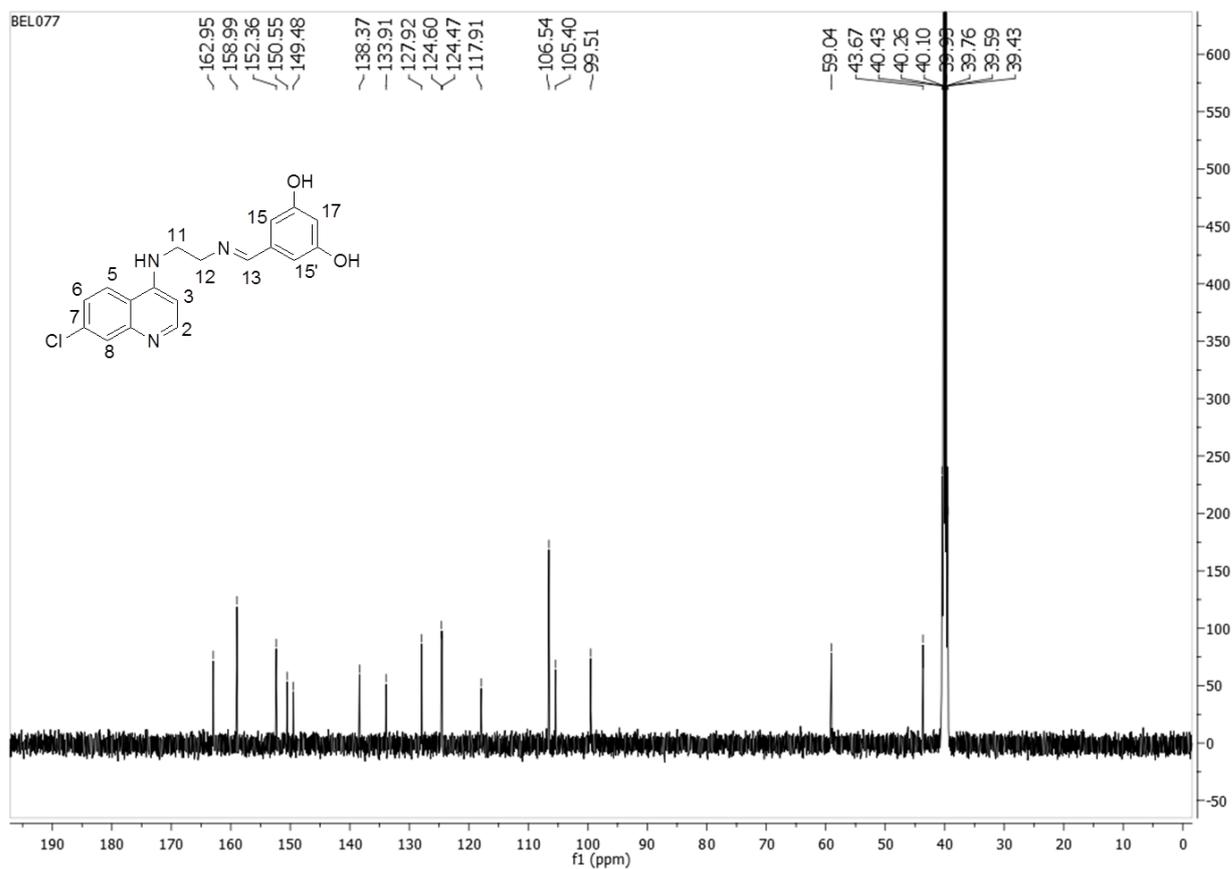
F.F. = 269 - 272°C.

R_f = 0,7 (Eluente: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1). Revelador: luz U.V

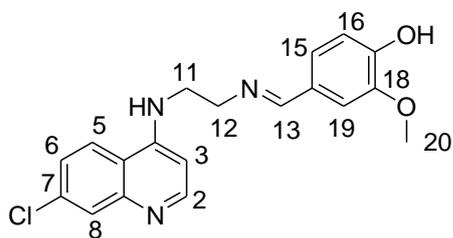
RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm), J (Hz): 8,405 (d, J = 5,5 H-2); 8,242 (d, J = 9,0, H-5); 8,143 (s, H-13); 7,789 (d, J = 2,0, H-8); 7,438 (dd, J = 2,5 e 9,0, H-6); 6,590 (d, J = 2,0, H-3, H-15 e H-15'); 6,286 (s, H-17); 3,825 (t, J = 6,5, H-12); 3,575 (q, J = 6,0, H-11).



RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 162,9 (C-13); 158,9 (C-16); 152,3 (C-4); 150,5 (C-2); 149,4 (C-9); 138,3 (C-14); 133,9 (C-7); 127,9 (C-8); 124,6 (C-6); 124,4 (C-5); 117,9 (C-10); 106,5 (C-3); 105,4 (C-15); 99,5 (C-17); 59,0 (C-12); 43,6 (C-11).



Composto 2i:



F.M. = C₁₉H₁₈ClN₃O₂

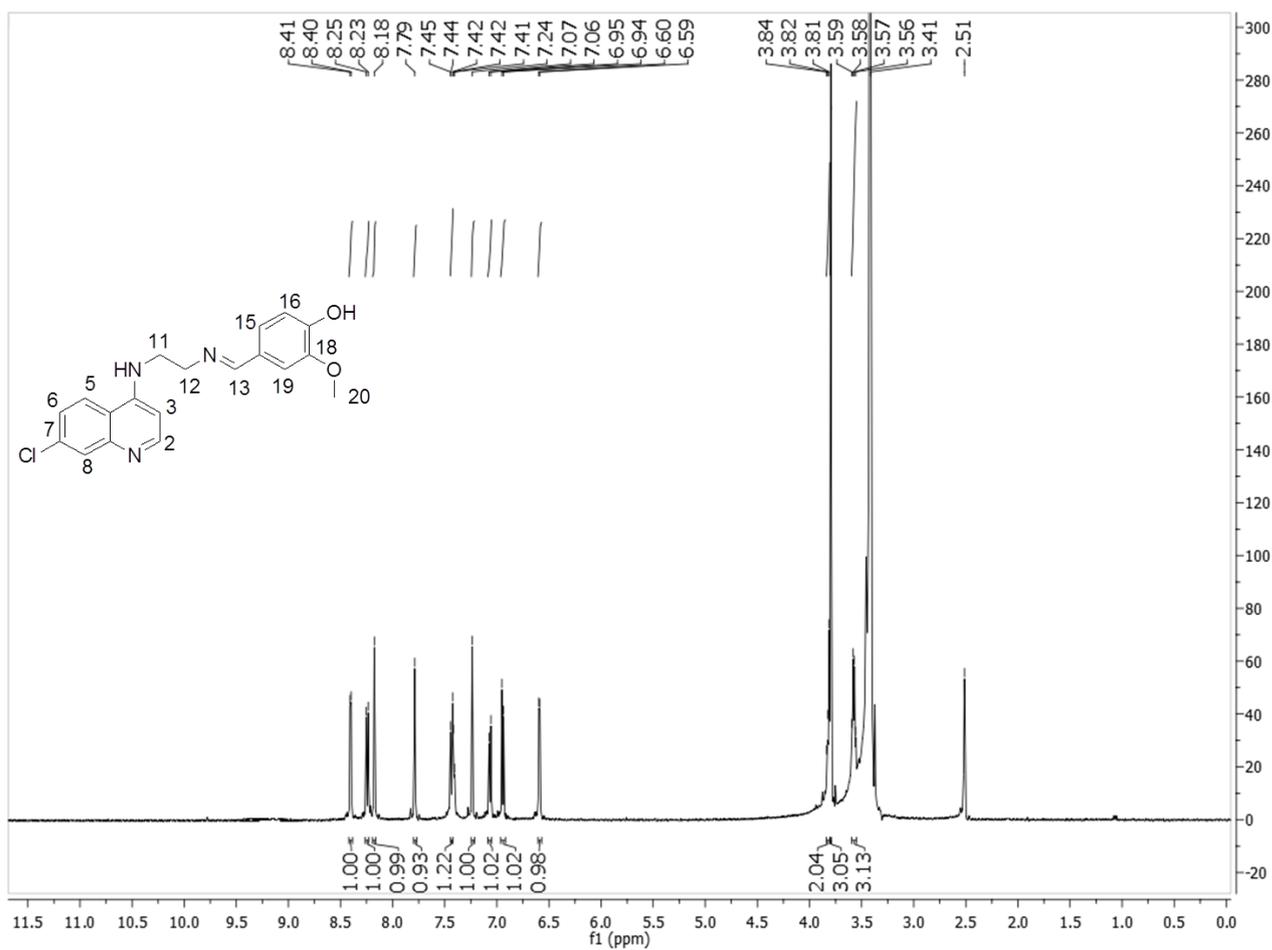
M.M. = 355,82 g. mol⁻¹.

C.F. = sólido amarelo.

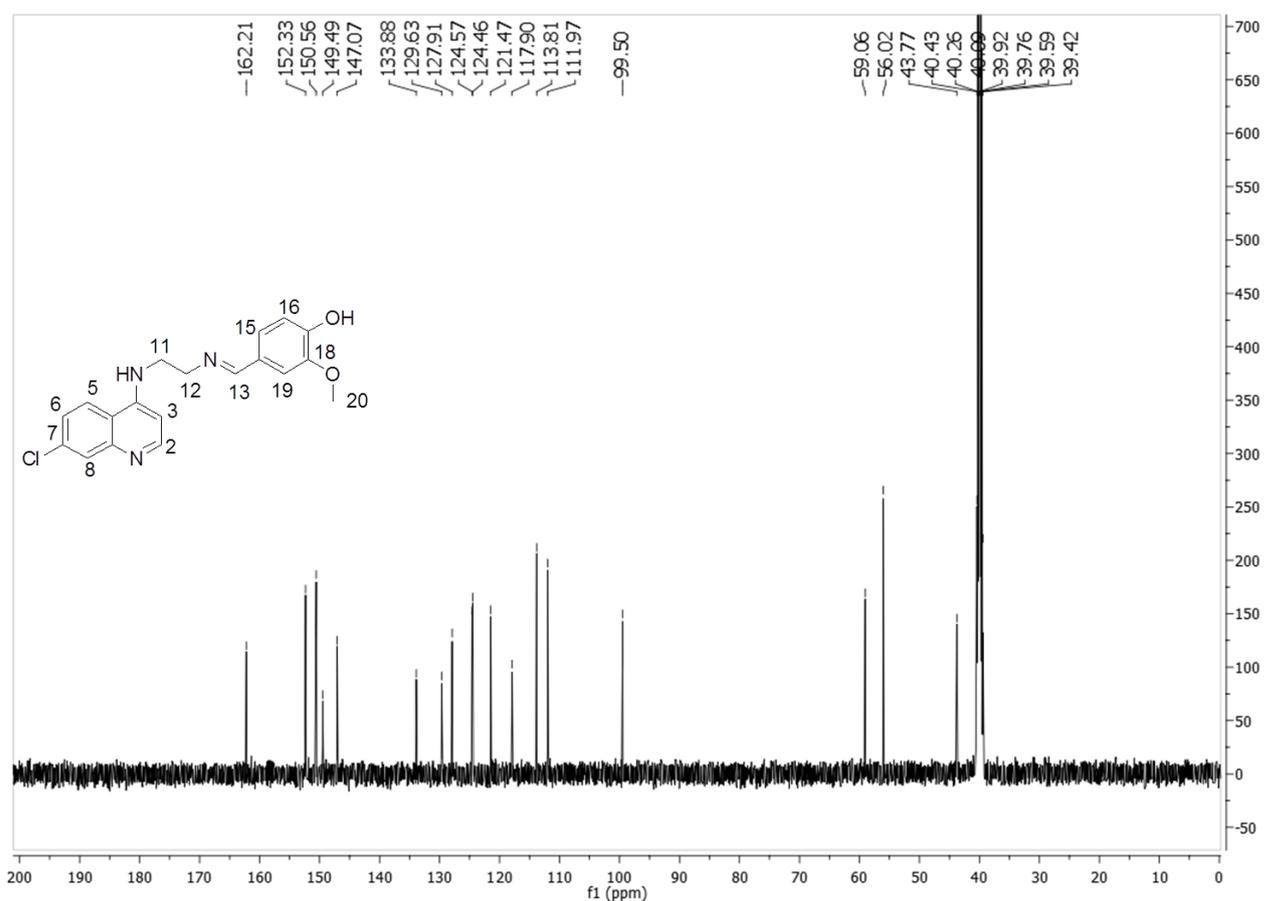
F.F. = 330 - 334°C.

$R_f = 0,7$ (Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1). **Revelador:** luz U.V

RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm), J (Hz): 8,41 (d, $J = 5,0$ H-2); 8,24 (d, $J = 10,0$ H-5); 8,18 (s, H-13); 7,79 (s, H-8); 7,43 (dd, $J = 5,0$ e $10,0$, H-6); 7,24 (s, H-19); 7,07 (d, $J = 5,0$, H-15); 6,95 (d, $J = 5,0$, H-16); 6,6 (d, $J = 5,0$, H-3); 3,82 (m, H-12 e H-12'); 3,79 (s, H-12 e H-20); 3,574 (m, H-11).



RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 162,2 (C-13); 152,3 (C-4); 150,5 (C-17); 149,5 (C-2); 147,0 (C-9); 133,8 (C-7); 129,6 (C-14); 127,9 (C-8); 124,5 (C-15); 121,4 (C-5); 121,4 (C-6) 117,9 (C-18); 113,8 (C-19); 111,9 (C-16); 99,5 (C-3); 59,0 (C-12); 56,0 (C-20); 43,7 (C-11).



8.2.5 Preparação dos complexos de prata

Em um béquer de 50 mL solubilizou-se a 4-alkil-diaminoquinolina (0,5 mmol) de interesse, a saber, compostos **2**, **3** e **4**, em etanol e colocou-se em agitação moderada e temperatura ambiente para que a mistura reacional se mantivesse homogênea. Logo em seguida uma quantia equimolar (0,5 mmol) de nitrato de prata (AgNO_3) foi solubilizada em 5 mL de etanol e 2 gotas de água destilada. Esta solução de nitrato de prata foi vertida na solução etanólica da 4-alkilquinolina de interesse e após 1 minuto verificou-se a formação de um precipitado.

O precipitado formado foi filtrado em um funil de vidro com papel de filtro e seco no dessecador. Após seco foram feitos os espectros vibracionais na região do infravermelho assim como a difração de raios X.

Os compostos foram enviados para Unicamp para o departamento de Química a fim de fazer os espectros de RMN de ^{14}N e realizar testes biológicos em tuberculose.

9.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A SANTOS, J. et al. Resveratrol and analogues: a review of antioxidant activity and applications to human health. **Recent patents on food, nutrition & agriculture**, v. 5, n. 2, p. 144-153, 2013.

ACHESON, R. M. **An Introduction to the Chemistry of Heterocycles Compounds**. John Wiley & Sons. Canadá: 501 p. 1977.

AHMED, N. et al. Synthesis and anti-HIV activity of alkylated quinoline 2, 4-diols. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 18, n. 8, p. 2872-2879, 2010.

ALARCON DE LA LASTRA, C.; VILLEGAS, I. Resveratrol as an anti-inflammatory and anti-aging agent: Mechanisms and clinical implications. **Molecular nutrition & food research**, v. 49, n. 5, p. 405-430, 2005.

ANEKONDA, T. S. Resveratrol—a boon for treating Alzheimer's disease? **Brain research reviews**, v. 52, n. 2, p. 316-326, 2006.

ANTINARELLI, L. M. et al. Increase of leishmanicidal and tubercular activities using steroids linked to aminoquinoline. **Org Med Chem Lett**, v. 2, p. 16, 2012.

ANTINARELLI, L. M. R. et al. 4-Aminoquinoline Derivatives as Potential Antileishmanial Agents. **Chemical Biology & Drug Design**, p. n/a-n/a, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/cbdd.12540> >.

AYDIN-SCHMIDT, B.; THORSELL, W.; WAHLGREN, M. Carolus Linnaeus, the ash, worm-wood and other anti-malarial plants. **Scandinavian journal of infectious diseases**, v. 42, n. 11-12, p. 941-942, 2010.

BAUR, J. A.; SINCLAIR, D. A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 5, n. 6, p. 493-506, 2006.

BEDIA, K.-K. et al. Synthesis and characterization of novel hydrazide–hydrazones and the study of their structure–antituberculosis activity. **European journal of medicinal chemistry**, v. 41, n. 11, p. 1253-1261, 2006.

BELLOTTI DE SOUZA, N. et al. Synthesis and In Vivo Antimalarial Activity of Quinoline/Mercaptopurine Conjugates. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 9, n. 4, p. 361-366, 2012.

BERN, C.; MAGUIRE, J. H.; ALVAR, J. Complexities of Assessing the Disease Burden Attributable to Leishmaniasis. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 2, n. 10, p. e313, 2008. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.pntd.0000313> >.

BRAGA, F. G. et al. Synthesis and biological evaluation of some 6-substituted purines. **European journal of medicinal chemistry**, v. 42, n. 4, p. 530-537, 2007.

BRUIJNINCX, P. C.; SADLER, P. J. New trends for metal complexes with anticancer activity. **Current opinion in chemical biology**, v. 12, n. 2, p. 197-206, 2008.

BURNS, J. et al. Plant foods and herbal sources of resveratrol. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 11, p. 3337-3340, 2002.

BUSQUETS, S. et al. Resveratrol, a natural diphenol, reduces metastatic growth in an experimental cancer model. **Cancer letters**, v. 245, n. 1, p. 144-148, 2007.

CAMPOS, R. M. D. Caracterização molecular de antígenos de leishmania (Leishmania) chagasi potencialmente úteis no controle da leishmaniose visceral. 2007.

CARMO, A. M. et al. Synthesis of 4-aminoquinoline analogues and their platinum (II) complexes as new antileishmanial and antitubercular agents. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 65, n. 3, p. 204-209, 2011.

CHOPRA, I. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? **Journal of antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 4, p. 587-590, 2007.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. P. **Wothers in Organic Chemistry**: Oxford University Press 2001.

COELHO, A. Whole-profile structure solution from powder diffraction data using simulated annealing. **Journal of Applied Crystallography**, v. 33, n. 3, p. 899-908, 2000.

COHEN, S. M. New approaches for medicinal applications of bioinorganic chemistry. **Current opinion in chemical biology**, v. 11, n. 2, p. 115-120, 2007.

COIMBRA, E. S. et al. Quinoline derivatives: Synthesis, leishmanicidal activity and involvement of mitochondrial oxidative stress as mechanism of action. **Chemico-Biological Interactions**, v. 260, p. 50-57, 2016.

COPPENS, P. **X-ray charge densities and chemical bonding**. International Union of Crystallography, 1997. ISBN 0195356942.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S. **VASCONCELLOS. Substâncias carboniladas e seus derivados. 1 o ed. Porto Alegre/RS: Ed: Bookman, 411p 2003.**

COURRET, N. et al. Biogenesis of Leishmania-harboring parasitophorous vacuoles following phagocytosis of the metacyclic promastigote or amastigote stages of the parasites. **J Cell Sci**, v. 115, n. 11, p. 2303-2316, 2002.

CUNHA, S. Estabilidade relativa de alcenos: análise dos critérios encontrados nos livros textos de graduação e uma proposta de explicação operacional para alcenos dissubstituídos. **Quim. Nova**, v. 26, n. 6, p. 948-951, 2003.

DE ARAÚJO, A. P. U.; BOSSOLAN, N. R. S. **Noções de Taxonomia e Classificação Introdução à Zoologia**. 2006.

DE SOUZA, M. F. et al. **INSTITUTO DE MEDICINA INTEGRAL PROF. FERNANDO FIGUEIRA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AVALIAÇÃO EM SAÚDE MESTRADO PROFISSIONAL EM AVALIAÇÃO EM SAÚDE**.

DE SOUZA, N. B. et al. 4-aminoquinoline analogues and its platinum (II) complexes as antimalarial agents. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 65, n. 4, p. 313-316, 2011.

DESPAIGNE, A. A. R. et al. Copper (II) and zinc (II) complexes with 2-formylpyridine-derived hydrazones. **Polyhedron**, v. 28, n. 17, p. 3797-3803, 2009.

DIMMOCK, J. R.; VASHISHTHA, S. C.; STABLES, J. P. Anticonvulsant properties of various acetylhydrazones, oxamoylhydrazones and semicarbazones derived from aromatic and unsaturated carbonyl compounds. **European journal of medicinal chemistry**, v. 35, n. 2, p. 241-248, 2000.

DO VALE, E. C. S.; FURTADO, T. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia Tegumentary leishmaniasis in Brazil: a historical review related to the origin, expansion and etiology. **An Bras Dermatol**, v. 80, n. 4, p. 421-8, 2005.

DONDORP, A. M. et al. Artemisinin resistance in Plasmodium falciparum malaria. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 5, p. 455-467, 2009.

DURAND, R. et al. Analysis of pfcrt point mutations and chloroquine susceptibility in isolates of Plasmodium falciparum. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 114, n. 1, p. 95-102, 2001.

ENSERINK, M. What's next for disease eradication? **Science**, v. 330, n. 6012, p. 1736-1739, 2010.

FABRIS, S. et al. Antioxidant properties of resveratrol and piceid on lipid peroxidation in micelles and monolamellar liposomes. **Biophysical chemistry**, v. 135, n. 1, p. 76-83, 2008.

FIDOCK, D. A. et al. Antimalarial drug discovery: efficacy models for compound screening. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 6, p. 509-520, 2004.

FIOCRUZ. DOENÇAS NEGLIGENCIADAS. <http://www.cdts.fiocruz.br/inct-idn>, Acesso em: 30 de outubro.

FOLEY, M.; TILLEY, L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance. **International journal for parasitology**, v. 27, n. 2, p. 231-240, 1997.

FRANÇA, T. C.; SANTOS, M. G. D.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. **Quim. Nova**, v. 31, n. 5, p. 1271-1278, 2008.

GOMES, C. M. Produção de citocinas por células mononucleares humanas estimuladas por formas amastigotas de Leishmania (Viannia) braziliensis. 2012.

GRIMALDI, G.; TESH, R. Leishmaniases of the New World: current concepts and implications for future research. **Clinical microbiology reviews**, v. 6, n. 3, p. 230-250, 1993.

HANAFI-BOJD, A. et al. Entomological and epidemiological attributes for malaria transmission and implementation of vector control in southern Iran. **Acta tropica**, v. 121, n. 2, p. 85-92, 2012.

HAY, S. I. et al. A world malaria map: Plasmodium falciparum endemicity in 2007. **PLoS Med**, v. 6, n. 3, p. e1000048, 2009.

INACIO, J. D. et al. The Effect of (-)-Epigallocatechin 3-O-Gallate In Vitro and In Vivo in *Leishmania braziliensis*: Involvement of Reactive Oxygen Species as a Mechanism of Action. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 8, n. 8, p. e3093, 2014.

KANG, S. S. et al. Synthesis and biological evaluation of a library of resveratrol analogues as inhibitors of COX-1, COX-2 and NF- κ B. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 17, n. 3, p. 1044-1054, 2009.

KAUR, K. et al. Antimalarials from nature. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 67, p. 1-28, 2009.

KIM, J.; LEE, H. J.; LEE, K. W. Naturally occurring phytochemicals for the prevention of Alzheimer's disease. **Journal of neurochemistry**, v. 112, n. 6, p. 1415-1430, 2010.

KOUZNETSOV, V. V. Recent synthetic developments in a powerful imino Diels–Alder reaction (Povarov reaction): application to the synthesis of N-polyheterocycles and related alkaloids. **Tetrahedron**, v. 65, n. 14, p. 2721-2750, 2009.

KOUZNETSOV, V. V. et al. Synthesis and antifungal activity of diverse C-2 pyridinyl and pyridinylvinyl substituted quinolines. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 20, n. 21, p. 6506-6512, 2012.

KOUZNETSOV, V. V.; MÉNDEZ, L. Y. V.; GÓMEZ, C. M. M. Recent progress in the synthesis of quinolines. **Current Organic Chemistry**, v. 9, n. 2, p. 141-161, 2005.

KÜÇÜKGÜZEL, S. G. et al. Synthesis and biological activities of diflunisal hydrazide–hydrazones. **European journal of medicinal chemistry**, v. 38, n. 11, p. 1005-1013, 2003.

LARROSA, M.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C. The grape and wine polyphenol piceatannol is a potent inducer of apoptosis in human SK-Mel-28 melanoma cells. **European journal of nutrition**, v. 43, n. 5, p. 275-284, 2004.

LEISHMANIA FACTS., disponível em: <http://www.susanamendez.com/LeishmaniaFacts/LifeCicle.html>, 2006. Acesso em: 07 de Novembro de 2016.

LINS, G. O. W. **Síntese de heterocícl**os Benzazolil-Quinolínicos como precursores de análogos de nucleosídeos e sondas biológicas fluorescentes via ESIPT. 2006. UFRGS

MACHADO, P. D. A. Atividade leishmanicida de análogos de alcalóides marinhos e bioisósteros do resveratrol em *Leishmania amazonensis*. 2013.

MACHADO, R. C. Síntese, caracterização e avaliações biológicas de 4-piridinil, 7-cloro-4-quinolinil e 9-acridinil, semicarbazidas e tiosemicarbazidas. 2016.

MAFUD, A. C. **Estrutura Cristalina e Molecular de Derivados de Ditiocarbamatos**. 2006. Universidade de São Paulo

MANFREDINI, S. et al. Design, synthesis and in vitro evaluation on HRPE cells of ascorbic and 6-bromoascorbic acid conjugates with neuroactive molecules. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 12, n. 20, p. 5453-5463, 2004.

MANIKANDAN, R.; VISWANATHAMURTHI, P.; MUTHUKUMAR, M. Ruthenium (II) hydrazone Schiff base complexes: Synthesis, spectral study and catalytic applications. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 83, n. 1, p. 297-303, 2011.

MARQUES, L. L. et al. New gold (I) and silver (I) complexes of sulfamethoxazole: Synthesis, X-ray structural characterization and microbiological activities of triphenylphosphine (sulfamethoxazolato-N₂) gold (I) and (sulfamethoxazolato) silver (I). **Inorganic Chemistry Communications**, v. 10, n. 9, p. 1083-1087, 2007.

MELNYK, P. et al. Design, synthesis and in vitro antimalarial activity of an acylhydrazone library. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 16, n. 1, p. 31-35, 2006.

MONGE-MAILLO, B.; LÓPEZ-VÉLEZ, R. Therapeutic options for visceral leishmaniasis. **Drugs**, v. 73, n. 17, p. 1863-1888, 2013.

NEVES, D. P. **Gênero Leishmania**. In: Parasitologia Humana Cap. 7 p. 41-46, 2005. ISBN 85-7379-737-1.

ORGANIZATION, W. H. WHO global malaria programme: world malaria report 2015. 2015.

PACANSKY, J.; MCLEAN, A.; MILLER, M. Theoretical calculations and experimental studies on the electronic structures of hydrazones and hydrazone radical cations: Formaldehyde hydrazone and benzaldehyde diphenylhydrazones. **Journal of Physical Chemistry**, v. 94, n. 1, p. 90-98, 1990.

PAIVA, I. L. et al. Silver (I) complexes with symmetrical Schiff bases: Synthesis, structural characterization, DFT studies and antimycobacterial assays. **Polyhedron**, v. 62, p. 104-109, 2013.

PATANI, G. A.; LAVOIE, E. J. Bioisosterism: a rational approach in drug design. **Chemical reviews**, v. 96, n. 8, p. 3147-3176, 1996.

PAWLEY, G. Unit-cell refinement from powder diffraction scans. **Journal of Applied Crystallography**, v. 14, n. 6, p. 357-361, 1981.

PINTO, J. J.; MORENO, C.; GARCÍA-VARGAS, M. A very sensitive flow system for the direct determination of copper in natural waters based on spectrophotometric detection. **Talanta**, v. 64, n. 2, p. 562-565, 2004.

PÚBLICA, R. D. S. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde., <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v44n1/23.pdf>, p. 44(1): 200-202, 2010. Acesso em: 01 Novembro de 2016.

RATH, S. et al. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química nova**, v. 26, n. 4, p. 550-555, 2003.

RICARDO, J. Substituição nucleofílica aromática em 1, 2-dicloro-4, 5-dinitrobenzeno com aminas. 2006.

RODRIGUES, J. A. R. Ligações hidrogênio fortes em ácidos dicarboxílicos e diaminas aromáticas. **Química Nova**, v. 23, n. 6, p. 813, 2000.

RODRÍGUEZ-ARGÜELLES, M. C. et al. Antibacterial and antifungal activity of metal (II) complexes of acylhydrazones of 3-isatin and 3-(N-methyl) isatin. **Polyhedron**, v. 28, n. 11, p. 2187-2195, 2009.

ROSENTHAL, E.; MARTY, P. Recent understanding in the treatment of visceral leishmaniasis. **Journal of postgraduate medicine**, v. 49, n. 1, p. 61, 2003.

ROSENTHAL, P. J. Antimalarial drug discovery: old and new approaches. **The Journal of Experimental Biology**, v. 206, p. 3735-3744, 2003.

SALGIN-GÖKŞEN, U. et al. 1-Acylthiosemicarbazides, 1, 2, 4-triazole-5 (4H)-thiones, 1, 3, 4-thiadiazoles and hydrazones containing 5-methyl-2-benzoxazolinones: synthesis, analgesic-anti-inflammatory and antimicrobial activities. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 15, n. 17, p. 5738-5751, 2007.

SAMARANAYAKE, T.; FERNANDO, S.; DISSANAYAKE, V. Candidate gene study of susceptibility to cutaneous leishmaniasis in Sri Lanka. **Tropical Medicine & International Health**, v. 15, n. 5, p. 632-638, 2010.

SANTOS, F. F.; DE ALBUQUERQUE, S. Avaliação da atividade biológica dos derivados de Ftalimidas em formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania (Vianna) Braziliensis*. **Investigação**, v. 14, n. 1, 2015.

SAÚDE, M. D. Dados epidemiológicos de malária, por estado. **Amazônia**

Legal janeiro a maio de 2009 e 2010., http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/avaliacao_malaria_jan_mai_19_07_2010

.pdf., 2010. Acesso em: 07 de Novembro de 2016.

SAÚDE, P. D. Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2000. Disponível em: < http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manu_leishman.pdf >. Acesso em: 11 de abril.

SAVINI, L. et al. New α -(N)-heterocyclichydrazones: evaluation of anticancer, anti-HIV and antimicrobial activity. **European journal of medicinal chemistry**, v. 39, n. 2, p. 113-122, 2004.

SEGURA, J. L.; MANCHEÑO, M. J.; ZAMORA, F. Covalent organic frameworks based on Schiff-base chemistry: synthesis, properties and potential applications. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 20, p. 5635-5671, 2016.

SINGH, S.; SIVAKUMAR, R. Challenges and new discoveries in the treatment of leishmaniasis. **Journal of infection and chemotherapy**, v. 10, n. 6, p. 307-315, 2004.

SINKA, M. E. et al. The dominant Anopheles vectors of human malaria in Africa, Europe and the Middle East: occurrence data, distribution maps and bionomic précis. **Parasites & vectors**, v. 3, n. 1, p. 1, 2010.

SOARES, R. R. et al. New quinoline derivatives demonstrate a promising antimalarial activity against *Plasmodium falciparum* in vitro and *Plasmodium berghei* in vivo. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 11, p. 2308-2313, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X1500325X> >.

SOLOMON, V.; HU, C.; LEE, H. Design and synthesis of chloroquine analogs with anti-breast cancer property. **European journal of medicinal chemistry**, v. 45, n. 9, p. 3916-3923, 2010.

SOLOMON, V. R. et al. Synthesis and antimalarial activity of side chain modified 4-aminoquinoline derivatives. **Journal of medicinal chemistry**, v. 50, n. 2, p. 394-398, 2007.

SOUTO, C. R. O.; DUARTE, H. C. Química da vida. Natal, EDUFRN, 2006.

SOUZA, T. M. V. Alterações farmacocinéticas de drogas pelo citocromo P450 na leishmaniose visceral humana. 2014.

TIDWELL, T. T. Hugo (Ugo) Schiff, Schiff Bases, and a Century of β -Lactam Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 47, n. 6, p. 1016-1020, 2008.

TODESCHINI, A. R. et al. Synthesis and evaluation of analgesic, antiinflammatory and antiplatelet properties of new 2-pyridylarylhydrazone derivatives. **European journal of medicinal chemistry**, v. 33, n. 3, p. 189-199, 1998.

TORRES, P. et al. Regioselective lipase-catalyzed synthesis of 3-O-acyl derivatives of resveratrol and study of their antioxidant properties. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 2, p. 807-813, 2009.

VALE, N. M., R.; GOMES, P. Quimioterapia da malária um século no desenvolvimento de antimaláricos. http://www.spq.pt/boletim/docs/boletimSPQ_099_057_09.pdf 2005. Acesso em: 13 de junho

VICINI, P. et al. Synthesis and antiproliferative activity of benzo [d] isothiazole hydrazones. **European journal of medicinal chemistry**, v. 41, n. 5, p. 624-632, 2006.

VISBAL, G. et al. Synthesis and characterization of platinum–sterol hydrazone complexes with biological activity against Leishmania (L.) mexicana. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 102, n. 3, p. 547-554, 2008.

WAMSER, C. C. Peer-led team learning in organic chemistry: Effects on student performance, success, and persistence in the course. **J. Chem. Educ**, v. 83, n. 10, p. 1562, 2006.

WHO. Control of the leishmaniasis., http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_949_eng.pdf, 2010. Acesso em: 01 Novembro de 2016.

_____. NEGLIGENT DISEASES: LEISHMANIOSE. 2016. Disponível em: < <http://www.who.int/topics/leishmaniasis/en/> >. Acesso em: 20 de dezembro.

WIETHAUS, G. **Síntese e Caracterização de Novas Iminas com Aplicação em Óptica Não-Linear**. 2010. Universidade Federal do Rio Grande do Sul

WU, J. M. et al. Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine (Review). **International journal of molecular medicine**, v. 8, p. 3-18, 2001.

YU, C. et al. Human, rat, and mouse metabolism of resveratrol. **Pharmaceutical research**, v. 19, n. 12, p. 1907-1914, 2002.

ANEXOS



4-Aminoquinoline Derivatives as Potential Antileishmanial Agents

Luciana M. R. Antinarelli¹, Rafael M. P. Dias²,
Isabela O. Souza², Wallace P. Lima³,
Jacy Gameiro¹, Adilson D. da Silva² and
Elaine S. Coimbra^{1,*}

¹Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Cidade Universitária, 36036-900 Juiz de Fora, Brazil

²Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Cidade Universitária, 36036-900 Juiz de Fora, Brazil

³Laboratório de Imunofarmacologia, Instituto de Biologia Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-902 Rio de Janeiro, Brazil

*Corresponding author: Elaine S. Coimbra, elaine.coimbra@ufjf.edu.br

Received 3 November 2014, revised 18 December 2014 and accepted for publication 29 January 2015

The leishmanicidal activity of a series of 4-aminoquinoline (AQO) derivatives was assayed against *Leishmania amazonensis*. This activity against the intracellular parasite was found stronger than for *L. amazonensis* promastigotes. Neither compound was cytotoxic against macrophages. The compound AQO-1, which exhibited a strong activity against promastigotes and amastigotes of *L. amazonensis* (IC₅₀ values of 5.9 and 2.4 µg/mL, respectively) and similar leishmanicidal activity to reference drugs, was chosen for studies regarding its possible mechanism of action toward parasite death. The results showed that the compound AQO-1 induced depolarization of the mitochondrial membrane potential in promastigotes and in *L. amazonensis*-infected macrophages, but not in uninfected macrophages. Furthermore, the depolarization of the mitochondrial membrane potential was dose dependent in infected macrophages. We have established that promastigotes and *L. amazonensis*-infected macrophages treated with AQO-1 were submitted to oxidative stress. This is in line with the increase in the level of reactive oxygen species (ROS). *Leishmania amazonensis*-infected macrophages treated with AQO-1 did not show a significant increase in the production of nitric oxide. Our results indicate the effective and selective action of AQO-1 against *L. amazonensis*, and its mechanism of action appears to be mediated by mitochondrial dysfunction associated with ROS production.

Key words: aminoquinoline, *Leishmania*, *Leishmania amazonensis*, mitochondrial membrane potential, reactive oxygen species

Leishmaniasis is a complex of diseases caused by the protozoan *Leishmania* and classified as one of the most important neglected tropical diseases (NTDs). According to data from WHO's, 12 million people are infected worldwide and an estimated 2 million new cases per year. Furthermore, over 310 million people live in endemic areas in 98 countries or territories, and that there are 20 000–30 000 deaths per year, and 2.4 million disability-adjusted life years lost. Furthermore, according to disease burden estimates, leishmaniasis is the second cause of parasite-related deaths after malaria¹ (1).

Leishmaniasis is caused by about 20 different species of *Leishmania*, and the clinical manifestations depend on the species of *Leishmania* associated with it (2). Leishmaniasis can assume three clinical forms, ranging from the usual non-fatal cutaneous leishmaniasis to the progressive mucocutaneous and the potentially fatal visceral leishmaniasis, if left untreated (3).

The drugs used in therapy such as pentavalent antimonials (sodium stibogluconate and meglumine antimoniate) and others such as pentamidine and amphotericin B have some characteristics in common: (i) they are toxic and their long-time administration causes various undesirable side-effects; (ii) they are costly; (iii) furthermore, they show low efficacy in endemic areas due to the observed resistance of various parasite species (3,4). Milofosine, a new drug used as an antineoplastic agent, is the only oral agent in use for Indian and East African visceral leishmaniasis, but this drug is teratogenic and contraindicated in pregnancy (4). Thus, the discovery of new drugs which are less toxic and more effective against leishmaniasis is of utmost urgency.

Quinolines belong to an important class of compounds showing several remarkable biological properties, including antiprotozoa activity (5). Indeed, substituted quinolines have been found effective against several *Leishmania* species for both in vitro and in vivo models (6–8). Furthermore, sitamaquine, an 8-aminoquinoline, is in development at GlaxoSmithKline (UK) for the oral treatment of visceral leishmaniasis in India and Africa (9–11).



Full length article

Aminoquinoline compounds: Effect of 7-chloro-4-quinolinylhydrazone derivatives against *Leishmania amazonensis*



Luciana Maria Ribeiro Antinarelli ^{a,1}, Isabela de Oliveira Souza ^{b,1}, Nicolas Glanzmann ^b, Ayla das Chagas Almeida ^a, Gabriane Nascimento Porcino ^c, Eveline Gomes Vasconcelos ^c, Adilson David da Silva ^{b,2}, Elaine Soares Coimbra ^{a,*,2}

^a Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia, LCA, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036-900, Brazil

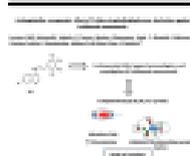
^b Departamento de Química, LCE, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036-900, Brazil

^c Departamento de Bioprocessos, LCB, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036-900, Brazil

HIGHLIGHTS

- A series of quinoline derivatives was synthesized and showed leishmanicidal effect.
- Compound 2a presented activity against promastigotes and amastigotes *L. amazonensis*.
- Compound 2a induces formation of ROS and a reduction of mitochondrial membrane potential.
- Compound 2a exhibited a selective and effective leishmanicidal effect.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 February 2016

Received in revised form

8 July 2016

Accepted 9 October 2016

Available online 12 October 2016

Keywords:

Leishmania amazonensis

4-Aminoquinoline derivatives

Quinolinylhydrazone derivatives

Mitochondrial dysfunction

ABSTRACT

In this study, we have investigated the antileishmanial activity of ten 7-chloro-4-quinolinylhydrazones derivatives. Among the compounds tested, compounds 2a and 2j presented activity against promastigotes (IC_{50} values of 52.5 and 21.1 μ M, respectively) and compounds 2a and 2c were active against intracellular amastigotes (IC_{50} of 8.1 and 15.6 μ M, respectively) of *Leishmania amazonensis*. The majority of compounds did not show toxicity against murine macrophages. Compound 2a exhibited low cytotoxicity to human erythrocytes and induced an oxidative imbalance in promastigote forms, reflected by an increase in the formation of reactive oxygen species (ROS) and a reduction of mitochondrial membrane potential. No alteration in the plasma membrane integrity of parasites was observed. Taken together, these results suggest that compound 2a is a selective antileishmanial agent, and preliminary observations suggest that its effects appear to be mediated by mitochondrial dysfunction.

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

* Corresponding author.

E-mail address: elaine.coimbra@ufjf.edu.br (E.S. Coimbra).

¹ These authors contributed equally to this work.

² ADS and ESC are co-senior authors on this work.

1. Introduction

Leishmaniasis remains a major public health problem in 98 countries and territories, resulting in 1.3 million new cases and 20,000 to 30,000 deaths worldwide (WHO, 2015). There is no available vaccine and the control of the disease relies on drug treatment of infected patients. Presently, chemotherapy has been

RESEARCH ARTICLE

In Vivo Antimalarial and In Vitro Antileishmanial Activity of 4-Aminoquinoline Derivatives Hybridized to Isoniazid or Sulfa or Hydrazine Groups

Roberta R. Soares^{A*}, Luciana M. R. Antinarelli^{A*}, Isabela de O. Souza^{A*}, Fernanda V. Lopes^A, Kézia K. G. Scopel^A, Elaine S. Coimbra^{A*}, Adilson D. da Silva^{A*} and Clarice Abramo^{A,B,*}

^ADepartamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia, I.C.B., Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036-900, Brasil; ^BDepartamento de Química, I.C.E., Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036-900, Brasil

Abstract: Quinoline-containing compounds have displayed an impressive array of pharmacological actions over the years, including antiprotozoal activities. In this work we evaluate antimalarial and antileishmanial activities of some aminoquinoline (AMQ) derivatives hybridized to sulfa or isoniazid or hydrazine groups. In murine model of infection occasioned by *P. berghei*, compounds AMQ-a, AMQ-d and AMQ-e have shown promising antiplasmodial activity inhibiting the multiplication of parasites in a manner similar to chloroquine in some cases. For leishmaniasis, the majority of the compounds exhibited a strong in vitro activity against amastigotes of *L. braziliensis* (IC₅₀ values below 10 µg/mL). Furthermore, AMQ-f, -g and -h (IC₅₀ of 2.1, 1.4 and 1.8 µg/mL against amastigotes of *L. braziliensis*, respectively) showed IC₅₀ values very close to miltefosine (IC₅₀ 1.6 µg/mL), the reference drug. None of the compounds showed cytotoxicity in vitro against uninfected human erythrocytes (IC₅₀ > 500.0 µg/mL). These results provide evidence that the AMQ compounds are promising candidates as antimalarial and leishmanicidal drugs, which are extremely important considering that these are endemic parasitic diseases in tropical countries and sometimes occur concurrently.

ARTICLE HISTORY

Received July 05, 2016
Revised September 15, 2016
Accepted September 22, 2016

DOI:
10.2174/22778581160648957117
742

Keywords: Malaria, leishmaniasis, chemotherapy, quinoline derivatives, 4-aminoquinoline, hydrazine.

1. INTRODUCTION

Infections caused by protozoan parasites are among the most widespread transmissible diseases affecting the developing world, malaria and leishmaniasis being the most costly in terms of morbidity and mortality [1].

Malaria remains one of the greatest public health challenges worldwide, having a major negative impact on countries where it is endemic, contributing to a cycle of poverty and limiting economic development [2]. According to the most recent World Malaria Report, in 2015 there were 3.2 billion people living in areas at risk of transmission of the disease. About 214 million of clinical cases and 438 thousand deaths worldwide were recorded [3]. Coordinated actions, such as vector control, rapid and accurate diagnosis, development of vaccines and appropriate therapy are of fundamental importance in the fight against the disease [3]. Antimalarial drugs have been the mainstay for managing

new infections and established disease. *Plasmodium falciparum*, the parasite species that causes most of the severe forms of malaria, has acquired resistance to most of the currently available antiplasmodial drugs, including Artemisinin-based Combination Therapy (ACTs). ACTs is recommended as first line treatment and even here resistances are upcoming and spreading, making searches for new chemotherapeutic agents essential [4, 5].

Leishmaniasis is classified as one of the most important and neglected tropical diseases as evidenced by the statistics. According to data from the WHO, there are 12 million people infected worldwide and an estimated two million new cases per year [6]. Furthermore, it is estimated that over 350 million people live in endemic areas in 98 countries and territories, and that there are approximately 20,000 to 30,000 deaths per year [6]. As no efficient vaccine is available, chemotherapy is the main treatment used to control the disease. The first-line treatment is based on pentavalent antimonials such as sodium stibogluconate and meglumine antimoniate. Other drugs such as pentamidine and amphotericin B are used when the first-line regimen fails [7]. Miltefosine is the only orally administered drug available for the treatment of visceral leishmaniasis in India [8, 9]. However, most of the few available treatments for leishmaniasis were developed decades ago and are no longer effective due

*Address correspondence to this author at the Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia, I.C.B., Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036-900, Brasil; Tel: +55 32 2102 3219; Fax: +55 32 2102 3214;

E-mail: clarice.abramo@ufjf.edu.br

^AThese authors contributed equally to this work.

^BESC, ADS, CA are co-authors on this work.



Quinolines derivatives as novel sunscreens agents

Hudson C. Polonini^a, Rafael M. P. Dias^b, Isabela O. Souza^b, Karla Mara Gonçalves^a, Tiago B. B. Gomes^a, Nádia R. B. Raposo^a, Adilson David da Silva^{b,*}^a Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde (NUPICS), Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora 36036-900, Brazil^b Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora 36036-900, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 April 2013

Revised 12 June 2013

Accepted 17 June 2013

Available online 26 June 2013

Keywords:

Photoprotective activity

Sunscreens agents/UV filters

Chemical synthesis

Ultraviolet radiation

Quinolines

Structure–activity relationship

ABSTRACT

Currently, the research and development of sunscreens play an important role on the synthesis of actives that are stable in various kinds of formulations—in addition to their efficiency and broad spectrum of protection against ultraviolet radiation. Our objective here was to synthesize new suncreening chemical agents using quinoline as a base molecule. Twelve quinoline derivatives were synthesized, four of them novel molecules, and their photoprotective activity was determined in vitro using diffuse transmittance spectrophotometry. We determined their SPF, UVAPF, UVA/UVB ratio, critical wavelength and Boots Star Rating. The quinolines derivatives presented a varied profile of photoprotection, their SPF ranging from 2 to 11 and their UVAPF from 2 to 7. In terms of the critical wavelength, all molecules were considered of broad-spectrum by different classifications. Regarding the Boots Star Rating, one compound received no rating, seven of them received a three stars rating, three received a four stars rating and three were given a five stars rating. The molecules showed in the present work have a wide range of possibilities for creating new sunscreen products, once they have good SPF or UVAPF for single molecules, and they also possess other different qualities that can act synergistically.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Despite the fact that ultraviolet (UV) radiation has beneficial effects on human health, such as the stimulation of the production of vitamin D₃, and involvement in bone metabolism and in the functioning of the immune system,¹ it is known that it also plays an important role in the development of skin malignancies.^{2,3}

These deleterious effects caused by the solar radiation occur because many molecules in the skin can absorb UV radiation and undergo chemical changes due to such absorption. Among these, one of the most-absorbing molecules is the DNA, whose UV absorption may result in mutation, which subsequently may lead to malignant transformation of the cell, that is, skin cancers.⁴

Skin cancer has a high incidence worldwide: it is estimated that among every three new cases of cancer, one will be diagnosed as skin cancer — and the prediction is that this number shall increase even more. This represents a serious public health issue, considering the future implications that may result from decades of constant exposure to sunlight.⁵

In this light, the use of sunscreens is well-known to be an effective and low-cost measure in preventing the development of skin cancers triggered by UV radiation.⁶ It is estimated that minimally 10% of all new cases of such malignance could be avoided if people took the proper and continuous use of sunscreens, and that 78% of

cases of non-melanoma skin cancer are preventable through the correct use of these products.^{7,8}

Nevertheless, sunscreens are considered cosmetic products in most countries, and the segment of photoprotection has set the bar high in terms of quality requirements and innovation potential for the entrance of new products. Currently, the research and development of sunscreens play an important role on the synthesis of actives that are stable in various kinds of formulations, in addition to being efficient and presenting broad spectrum of protection against ultraviolet radiation.⁹

In this context, our work aimed to synthesize new suncreening chemical agents using the quinoline as a base molecule, and also to determine their photoprotective activity in terms of Sun Protection Factor (SPF), Protection against UVA-rays (UVAPF), UVA/UVB ratio, critical wavelength and Boots Star Rating.

The 4-aminoquinoline derivatives were synthesized by a general procedure showed in Scheme 1. The common starting material, 4,7-dichloroquinoline (2.5 mmol), was solubilized in ethanol (6.0 mL) at 50 °C, the correspondent amine (2.7 mmol) was added and then the mixture was heated under gentle reflux for 8 h and a precipitate was formed. The system was cooled and filtered, followed by washing with cold ethanol. All the compounds were characterized by one-dimension nuclear magnetic resonance (¹D NMR), infrared (IR) spectroscopy and melting point (MP) and were in accordance with data in the literature. Nicotinic hydrazide used for the synthesis of compound K and 7-chloro-4-hidraziniquinoline used for the synthesis of compound J were obtained following

* Corresponding author. Tel.: +55 21023310; fax: +55 21023314.
E-mail address: davidasilva@ufjf.edu.br (A.D. da Silva).



Contents lists available at ScienceDirect

Chemico-Biological Interactions

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cbinter

Quinoline derivatives: Synthesis, leishmanicidal activity and involvement of mitochondrial oxidative stress as mechanism of action



Elaine S. Coimbra ^{a,*,**}, Luciana M.R. Antinarelli ^a, Natália P. Silva ^a, Isabela O. Souza ^b,
Raissa S. Meinel ^b, Marcelle N. Rocha ^c, Rodrigo P.P. Soares ^c, Adilson D. da Silva ^{b,†}

^a Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia, UCA, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, 36036-900, Brazil

^b Departamento de Química, UCA, Universidade Federal Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, 36036-900, Brazil

^c Centro de Pesquisa René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, 30160-002 Belo Horizonte, MG, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 July 2016

Received in revised form

11 August 2016

Accepted 21 October 2016

Available online 24 October 2016

Keywords:

Leishmaniasis

Quinolines

Oxidative stress

Mitochondrial membrane potential

ROS production

Chemotherapy

ABSTRACT

Leishmaniasis comprise a spectrum of diseases caused by protozoa parasites from the genus *Leishmania*, affecting millions of people worldwide, mainly in subtropical countries. Most antileishmanial drugs are highly toxic, present resistance issues or require long-term treatment. Consequently, new drugs are urgently needed. Quinoline-containing compounds have displayed an impressive array of biological properties over the years, including antileishmanial activity. In the present study, we report the synthesis and evaluation of novel quinoline derivatives (QuinDer) against *Leishmania* species and cytotoxic effect on mammalian cells. The ROS production and mitochondrial membrane potential analyses were also studied. The compound QuinDer1 showed activity on *L. amazonensis* and *L. braziliensis* promastigotes and this compound exhibited a strong inhibition of the proliferation of *L. amazonensis* amastigotes at nM concentration (IC_{50} of 0.0911 μ M), being 139 times more active than miltefosine (IC_{50} of 12.7 μ M), used as reference drug. This compound presents low cytotoxicity toward murine macrophages and human erythrocytes. In addition, promastigotes of *L. amazonensis* treated with the compound QuinDer1 present high generation of ROS levels with low alterations in mitochondrial membrane potential and maintenance of parasite membrane integrity. No substantial NO production in infected-macrophages treated with this compound was detected. These results suggest that the compound QuinDer 1 is a potent and selective antileishmanial agent by mitochondrial oxidative stress.

© 2016 Published by Elsevier Ireland Ltd.

1. Introduction

Leishmaniasis comprise a spectrum of diseases caused by protozoa parasites from the genus *Leishmania*. The disease is widely distributed resulting in different degrees of severity from benign cutaneous ulcers to fatal visceral leishmaniasis [1]. According to the World Health Organization (WHO) this disease is one of the most important in terms of impact in global public health, resulting in 12 million cases worldwide with about half a million new cases per year [1,2]. Current chemotherapeutic agents of leishmaniasis treatment are limited to a few drugs and not promising. Pentavalent antimonials have been used as first line drugs for several

centuries often associated to severe complications [3]. Alternative chemotherapy includes amphotericin B and pentamidine, but these drugs are toxic and expensive [3]. Furthermore, all drugs require intravenous administration thus increasing treatment costs. In this context, the search for new antileishmanial agents is still needed.

Quinoline-based compounds are a variety of biologically active scaffolds. Chloroquine, a 4-aminoquinoline derivative, has been widely used to control malaria for over seven decades. Compounds with antileishmanial activity such as sitamaquine and tafenoquine, both 8-aminoquinolines, have been extensively studied in recent decades [4–6]. Previously, we showed the promising leishmanicidal activity of 4-aminoquinoline derivatives [7–12].

Thus, as a part of a wider survey on this class of molecules, the present study investigates the antileishmanial activity of novel quinoline derivatives against the promastigote and intracellular amastigote forms of *L. amazonensis* and *L. braziliensis*. These are the causative agents of dermatropic forms including localized

* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: elaine.coimbra@ufjf.edu.br (E.S. Coimbra), adasilva@ufjf.edu.br (A.D. da Silva).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cbinter.2016.10.017>

0898-2787/© 2016 Published by Elsevier Ireland Ltd.