

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

RAQUEL DE MENESES SANTOS LEITE LIMA

**Síntese e Avaliação Antimalárica de Novos Derivados 4-
Aminoquinolínicos**

Maceió
2014

RAQUEL DE MENESES SANTOS LEITE LIMA

**Síntese e Avaliação Antimalárica de Novos Derivados 4-
Aminoquinolínicos**

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

Orientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti

Maceió
2014

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

L732s Lima, Raquel de Meneses Santos Leite.
Síntese e avaliação antimalárica de novos derivados
4- aminoquinolínicos / Raquel de Meneses Santos Leite Lima . – 2014.
93 f. : il.

Orientador: Mario Roberto Meneghetti.
Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade
Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2014.

Inclui bibliografia.

1. Antimaláricos. 2. Derivados 4-aminoquinolínicos. 3. Cloroquina.
I. Título.

CDU: 54.057:616.936



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




BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese da doutoranda **Raquel de Meneses Santos Leite Lima**, intitulada: “**Síntese e Atividade Antimalárica de Novos Derivados 4-Aminoquinolínicos**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 06 de agosto de 2014, às 09h, na Sala de Aulas do PPGQB/IQB/UFAL.


COMISSÃO JULGADORA


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


Prof.ª Dr.ª Rusiene Monteiro de Almeida
PPGQB/IQB/UFAL


Prof.ª Dr.ª Maria Aline Barros Fidelis de Moura
ESENFAR/UFAL


Prof. Dr. José Rui Machado Reys
ESENFAR/UFAL


Prof.ª Dr.ª Eliane Aparecida Campesatto
ICBS/UFAL

Dedico este trabalho a vocês, minha mãe e meu irmão, que sempre me fizeram acreditar na realização dos meus sonhos e me apoiando em todos os momentos. Ao Fabiano, companheiro no amor, na vida e nos sonhos, que sempre me apoiou nas horas difíceis e compartilhou comigo as alegrias.

AGRADECIMENTOS

Minha gratidão, em primeiro lugar, a Deus, por estar comigo em todos os momentos e iluminando-me, sendo o meu refúgio e proteção nos momentos mais difíceis. A Ele, minha eterna gratidão.

A minha mãe, a pessoa mais importante da minha vida, que sempre me incentivou e proporcionou oportunidades de conquistar todos os meus objetivos. Tudo o que sou e o que sei devo a ela.

Ao meu irmão Wagner, muito companheiro, amigo e prestativo. Sempre me apoiou em todos os momentos da minha vida. Inesquecível !

Ao meu esposo, Fabiano, que esteve sempre ao meu lado, entendendo-me nos momentos de ausência, dando-me apoio e carinho.

Aos meus familiares (avós, tios, tias e primos) pela dedicação, proteção e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Mario Meneghetti, por me acolher, acreditar em mim, mostrar o caminho da ciência, pela paciência, dedicação, confiança, ensinamentos ao longo deste trabalho e, também pelo grande exemplo de profissional que sempre fará parte da minha vida. Um verdadeiro orientador!

Ao Giva pela grande amizade firmada, ensinamentos e companheirismo.

A Soraya, minha grande amiga farmacêutica, sempre companheira e dedicada.

A Juliana e a Pooline pela grande colaboração e dedicação permanente nesse trabalho.

Ao Rafael pelo apoio dado na realização de algumas análises.

Ao meu amigo Eid pelo apoio e incentivo durante todo esse período de pós-graduação.

Ao Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) pela colaboração nesse trabalho.

Ao grupo de Química Medicinal do GCaR pelo compartilhamento de ensinamentos e companheirismo no laboratório.

Aos professores de graduação do curso de Farmácia que foram primordiais na minha formação.

A todos os professores do Instituto de Química e Biotecnologia que contribuíram na minha formação.

Ao Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (UFAL) pela contribuição na caracterização das minhas amostras.

À Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou, Laboratório de Malária da Profa. Dra. Antoniana Krettli da UFMG, pela realização dos ensaios biológicos dos compostos.

A CAPES pelo apoio financeiro.

“Todo o futuro da nossa espécie, todo o governo das sociedades, toda a prosperidade moral e material das nações dependem da ciência, como a vida do homem depende do ar. Ora, a ciência é toda a observação, toda a exatidão, toda verificação experimental. Perceber os fenômenos, discernir as relações, comparar as analogias e as dessemelhanças, classificar as realidades, e induzir as leis, eis a ciência; eis, portanto, o alvo que a educação deve ter em mira. Espertar na inteligência nascente as faculdades cujo concurso se requer nesses processos de descobrir e assimilar a verdade.”

Rui Barbosa

RESUMO

Várias classes de antimaláricos têm sido utilizadas para o tratamento da malária, porém o surgimento de cepas de *Plasmodium* resistentes a esses fármacos têm diminuído suas eficácias, provocando graves problemas de saúde pública em áreas tropicais do mundo. Nesse contexto, realizou-se a preparação, caracterização e avaliação antimalárica de onze derivados aminoquinolínicos: 7-Cl-MAQ, MAQ, MAQPZ, 7-Cl-MAQPZ, 2-CF₃-MAQ, 7-CF₃-MAQ, 7-CF₃-MAQPZ, 2-CF₃-MAQPZ, 8-Cl-MAQ, 7-Cl-BAQ, 7-CF₃-BAQ, 8-Cl-BAQ. Estes foram obtidos através da mesma estratégia sintética, via reação de substituição nucleofílica aromática, a partir da reação entre derivados de 4-cloroquinolinas com dietilenotriamina ou 1,2-(aminoetil)piperazina, chegando a rendimentos moderados altos. Estes compostos foram elaborados baseados na estrutura molecular da cloroquina, um clássico fármaco antimalárico. Quanto à atividade antimalárica, apenas quatro substâncias (7-Cl-MAQ, BAQ, 2-CF₃-MAQ e 7-CF₃-MAQ) foram avaliadas. Vale destacar que a 7-Cl-MAQ foi mais ativa nos testes *in vitro* e *in vivo* que a BAQ. O mesmo comportamento ocorreu nos ensaios de citotoxicidade, apresentando valores maiores que a BAQ. Nos testes *in vivo*, o derivado monoquinolínico (7-Cl-MAQ) reduziu significativamente a parasitemia. Já os compostos 2-CF₃-MAQ e 7-CF₃-MAQ, mostraram-se ativos *in vitro*, porém foram inativos *in vivo*.

Palavras-chave: Derivados 4-aminoquinolínicos, antimaláricos, cloroquina.

ABSTRACT

Diferent classes of antimalarial drugs have been used to treat malaria, but the emergence of resistant strains of Plasmodium these drugs have decreased their efficiency, causing serious public health problem in tropical areas of the world. In this context, we carried out the preparation and antimalarial evaluation of eleven organic compounds: 7-Cl-MAQ, MAQPZ, 7-Cl-MAQPZ, 2-CF₃-MAQ, 7-CF₃-MAQ, 7-CF₃-MAQPZ, 2-CF₃-MAQPZ, 8-Cl-MAQ, 7-Cl-BAQ, 7-CF₃-BAQ, 8-Cl-BAQ. These were obtained from the same synthetic strategy, via nucleophilic aromatic substitution reaction between 4-chloroquinoline derivatives and diethylenetriamine or 1,2-(aminoethyl) piperazine, reaching moderated to high yields. These compounds were designed based on the molecular structure of chloroquine, a classic antimalarial drug. As for antimalarial activity, only four substances (7-Cl-MAQ, BAQ, 2-CF₃-MAQ and 7-CF₃-MAQ) were evaluated. Note that the 7-Cl-MAQ was more active in *in vitro* and *in vivo* than the BAQ. The same behavior occurred in cytotoxicity assays, with higher values than the BAQ. In *in vivo* tests, the monoquinolinic derivative (7-Cl-MAQ) significantly reduced parasitemia. Have the 2-CF₃-MAQ compounds and 7-CF₃-MAQ, were active *in vitro*, but were inactive *in vivo*.

Keywords: 4-aminoquinolinic derivatives, antimalarials, chloroquine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1 - Números de casos de malária registrados anualmente 1960-2009 na Amazônia Legal de acordo com as espécies de <i>Plasmodium</i>	21
Figura 1.2 - Índice Parasitário Anual - IPA - 2013.....	22
Figura 1.3 - Mosquito vetor de malária, Anopheles.....	23
Figura 1.4 - Ciclo de Vida do Parasito.....	24
Figura 1.5 - Representação da química das etapas de formação da hemozoina a partir do núcleo da heme	26
Figura 1.6. Mecanismo de formação da hemozoína e processo de toxicidade da heme livre no parasito.....	27
Figura 1.7 - Ciclo de vida do parasito destacando a ação dos fármacos.....	28
Figura 1.8 - Estrutura da quinina.....	29
Figura 1.9 - Estrutura da primaquina.....	30
Figura 1.10 - Estrutura da mefloquina.....	30
Figura 1.11 - Estrutura da artemisinina e derivados.....	31
Figura 1.12 - Estrutura da cloroquina.....	32
Figura 1.13 - Possível mecanismo de ação da cloroquina.....	33
Figura 1.14 - Proposta da relação estrutura-atividade da cloroquina.....	34
Figura 1.15 - Proposta de interação entre a cloroquina e a hemozoína.....	34
Figura 1.16 - Estrutura do híbrido.....	35
Figura 1.17 - Composto híbrido de 4-aminoquinolina-rodanina.....	35
Figura 1.18 - Planejamento de híbridos cloroquina-chalcona ceto-enamina.....	36
Figura 1.19 - Compostos híbridos cloroquina chalcona ceto-enamina.....	37
Figura 1.20 - Derivados 4-aminoquinolínicos β -lactâmicos.....	38
Figura 1.21 - Derivados 4-aminoquinolínicos.....	38
Figura 1.22 - Derivados 4-aminoquinolínicos tetrazólicos.....	39
Figura 1.23 - Derivados 4-aminoquinolínicos esquáricos.....	41
Figura 1.24 - Compostos de fenalenona substituídas.....	41
Figura 1.25 - Derivados da flavona.....	42
Figura 3.1 - Espectro de RMN de ^1H do composto 7-Cl-MAQ.....	62
Figura 3.2- Espectro de RMN de ^{13}C do composto 7-Cl-MAQ.....	63
Figura 3.3 - Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 7-Cl-MAQ.....	64

Figura 3.4 - Espectro de RMN de ^1H do composto MAQ em CD_3OD	65
Figura 3.5 - Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-KBr, do composto MAQ	66
Figura 3.6 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto MAQ em CD_3OD	67
Figura 3.7 - Espectro de RMN de ^1H do composto 8-Cl-MAQ em CD_3OD	68
Figura 3.8 - Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-KBr, do composto 8-Cl-MAQ	69
Figura 3.9 - Espectro de RMN ^1H do composto 7-Cl-MAQPZ	70
Figura 3.10 - Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-KBr, do composto 7-Cl-MAQPZ	71
Figura 3.11 - Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 7-Cl-MAQPZ	72
Figura 3.12 - Espectro de RMN ^1H do composto 2-CF₃-MAQ	73
Figura 3.13 - Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 2-CF₃-MAQ	74
Figura 3.14 - Espectro de RMN ^{13}C do composto 2-CF₃-MAQ	75
Figura 3.15 - Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 2-CF₃-MAQ	76
Figura 3.16 - Espectro de RMN ^1H do composto 7-CF₃-MAQ	77
Figura 3.17 - Espectro de RMN ^1H do composto 7-CF₃-MAQPZ	78
Figura 3.18 - Espectro de RMN ^{13}C do composto 7-CF₃-MAQPZ	79
Figura 3.19 - Espectro de RMN ^1H do composto MAQPZ	80
Figura 3.20 - Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto MAQPZ	81
Figura 3.21 - Espectro de RMN ^1H do composto 7-Cl-BAQ	82
Figura 3.22 - Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto BAQ	83
Figura 3.23 - Espectro de RMN ^1H do composto 7-CF₃-BAQ	84
Figura 3.24 - Espectro de RMN ^1H do composto 8-Cl-BAQ	85
Figura 3.25 - Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 8-Cl-BAQ	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Casos Confirmados Notificados de Malária no SINAN.....	21
Tabela 1.2 - Manifestações clínicas e laboratoriais da malária grave e complicada, causada pela infecção por <i>P. falciparum</i>	25
Tabela 2.1 - Reagentes e solventes utilizados: pureza e origem.....	46
Tabela 2.2 - Equipamentos empregados nesse trabalho.....	47
Tabela 3.1 - Dados de RMN ¹ H do composto MAQ	62
Tabela 3.2 - Dados de RMN ¹³ C do composto 7-Cl-MAQ	63
Tabela 3.3 - Dados de RMN ¹ H do composto MAQ em CD ₃ OD.....	64
Tabela 3.4 - Dados de RMN ¹³ C do composto MAQ	66
Tabela 3.5 - Dados de RMN ¹ H do composto 8-Cl-MAQ	68
Tabela 3.6 - Dados de RMN ¹ H do composto 7-Cl-MAQPZ	70
Tabela 3.7 - Dados de RMN ¹³ C do composto 7-CIMAQPZ	71
Tabela 3.8 - Dados de RMN ¹ H do composto 2-CF₃-MAQ	73
Tabela 3.9 - Dados de RMN ¹³ C do composto 2-CF₃-MAQ	74
Tabela 3.10 - Dados de RMN ¹ H do composto 7-CF₃-MAQ	76
Tabela 3.11 - Dados de RMN ¹ H do composto 7-CF₃-MAQPZ	78
Tabela 3.12 - Dados de RMN ¹³ C do composto 7-CF₃-MAQPZ	79
Tabela 3.13. Dados de RMN ¹ H do composto MAQPZ	80
Tabela 3.14. Dados de RMN ¹ H do composto BAQ em CD ₃ OD.....	81
Tabela 3.15. Dados de RMN ¹ H do composto 7-CF₃-BAQ em CD ₃ OD.....	85
Tabela 3.16. Dados de RMN ¹ H do composto 8-Cl-BAQ em CD ₃ OD.....	86
Tabela 3.17 - Atividade anti- <i>P. falciparum</i> (clone W2 cloroquina-resistente) de derivados aminoquinolínicos, análogos da cloroquina, utilizando os ensaios imunoenzimático anti-HRP _{II} e de hipoxantina.....	87
Tabela 3.18. MDL ₅₀ dos Derivados da Cloroquina.....	88
Tabela 3.19. Atividade antimalárica <i>in vivo</i> de derivados da cloroquina em camundongos infectados com o <i>Plasmodium berghei</i>	88
Tabela 3.20- Testes de citotoxicidade (MDL ₅₀), de atividade anti- <i>P. falciparum</i> (IC ₅₀) avaliado <i>in vitro</i> através dos ensaios de Anti-HRP _{II} e SYBR Green e dos índices de seletividade (IS), a razão entre MDL ₅₀ e IC ₅₀	88
Tabela 3.21. Avaliação da atividade antiplasmodial e citotóxica do análogo de cloroquina 2-CF ₃ -MAQ.....	90

Tabela 3.22. Avaliação da atividade antiplasmodial e citotóxica do análogo de cloroquina 2-CF ₃ -MAQ.....	90
Tabela 3.23. Avaliação da atividade antimalárica de 2-CF ₃ MAQ em camundongos infectados com <i>P. berghei</i>	90

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina trifosfato
ATR	Refletância difusa atenuada
CQ	Cloroquina
CQDP	Cloroquina difosfato
CYP3A4	Citocromo P450 3A4
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DHFR-TS	Enzima di-hidrofolato redutase-timidilato sintase
DNA	Ácido desoxirribonucléico
F.M.	Fórmula molecular
Fe(III)PPIX	Ferriprotoporfirina IX
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
IC ₅₀	Concentração para inibição de 50% das atividades testadas.
P.F.	Ponto de fusão
RMN	Ressonância magnética nuclear
MM	Massa molar.
t	Tripleto
TNF	Fator de necrose tumoral
VD	Vacúolo digestivo
IV	Infravermelho
OMS	Organização Mundial de Saúde
DMSO	Dimetilsulfóxido
TMP	Trimetropim
7-Cl-MAQ	<i>N</i> ¹ -(2-aminoetil)- <i>N</i> ² -(7-cloroquinolin-4-il)-1,2-diaminoetano
(MAQ)	<i>N</i> ¹ -(2-aminoetil)- <i>N</i> ² -(quinolin-4-il)-1,2-diaminoetano
(8-Cl-MAQ),	<i>N</i> ¹ -(2-aminoetil)- <i>N</i> ² -(8-cloroquinolin-4-il)-1,2-diaminoetano
2-CF ₃ -MAQ	<i>N</i> ¹ -(2-aminoetil)- <i>N</i> ² -((2-trifluorometil)quinolin-4-il)-1,2-diaminoetano
(7-CF ₃ -MAQ	<i>N</i> ¹ -(2-aminoethyl)- <i>N</i> ² -((7-trifluoromethyl)quinolin-4-il)-1,2-diaminoetano
(7-Cl-MAQPZ)	<i>N</i> -(2-(piperazin-1-il)etil)-7-cloroquinolin-4-amina
(7-CF ₃ -MAQPZ	<i>N</i> -(2-(piperazin-1-il)etil)-7-(trifluorometil)quinolin-4-amina
(MAQPZ)	<i>N</i> -(2-(piperazin-1-il)quinolin-4-amina

(BAQ)	N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)- N^2 -[2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina
(7-CF ₃ -BAQ)	N^1 -(7-trifluorometil)quinolin-4-il)- N^2 -[2-(7-trifluorometil)-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina
(8-Cl-BAQ).	N^1 -(8-cloroquinolin-4-il)- N^2 -[2-(8-cloroquinolin-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina
G6PD	glicose 6-fosfato desidrogenase
Hb	hemoglobina
MDL ₅₀	dose letal mínima de 50%
IS	índice de seletividade

SUMÁRIO

1. ASPECTOS GERAIS SOBRE A MALÁRIA E OS ANTIMALÁRICOS.....	19
1.1. Histórico.....	19
1.2. Epidemiologia.....	20
1.3. Ciclo Biológico do <i>Plasmodium</i>	22
1.4. Manifestações Clínicas da Malária.....	24
1.4.1. Malária Não Complicada.....	24
1.4.2. Malária Grave e Complicada.....	25
1.5. Formação da Hemozoína.....	25
1.6. Quimioterapia para a Malária.....	28
1.6.1. Quinina.....	28
1.6.2. Primaquina.....	29
1.6.3. Mefloquina.....	30
1.6.4. Artemisinina.....	30
1.6.5. Cloroquina, Novos Derivados 4-Aminoquinolínicos e Outros Compostos com Atividade Antimalárica.....	32
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	46
2.1. Considerações Iniciais.....	46
2.2. Reagentes, Solventes, Gases e Vidrarias.....	47
2.3. Equipamentos.....	47
2.4. Manipulações no Preparo das Amostras para Análises.....	47
2.4.1. Espectroscopia Infravermelho-Visível (IV-Vis).....	47
2.4.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	47
2.4.3. Análise do Ponto de Fusão.....	47
2.5. Síntese e Preparação dos Materiais.....	48
2.5.1. Síntese dos Ligantes.....	48
2.5.1.1. Preparação da N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (7- Cl-MAQ).....	48
2.5.1.2. Síntese da N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(naftalen-1-il)etano-1,2-diamina (MAQ).....	49
2.5.1.3. Síntese de N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(8-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (8-Cl- MAQ).....	50
2.5.1.4. Síntese da N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(2-trifluorometil)quinolin-4-il)etano-1,2-diamina (2-CF ₃ -MAQ).....	51

2.5.1.5. Síntese de N^1 -(2-aminoethyl)- N^2 -(trifluoromethyl)quinolin-4-yl)ethane-1,2-diamina (7-CF ₃ -MAQ).....	51
2.5.1.6. Síntese de N -(2-(piperazin-1-il)etil)quinolin-4-amina (MAQ-PZ).....	52
2.5.1.7. Síntese de 7-cloro- N -(2-(piperazin-1-il)etil)quinolin-4-amina (7-Cl-MAQPZ).....	53
2.5.1.8. Síntese da N -(2-piperazin-1-il)etil)-7-(trifluorometil)quinolin-4-amine (7-CF ₃ -MAQPZ).....	54
2.5.1.9. Síntese da N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)- N^2 -[2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina (BAQ).....	54
2.5.1.10. Síntese da N^1 -(7-trifluorometil)quinolin-4-il)- N^2 -[2-(7-trifluorometil)-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina (7-CF ₃ -BAQ).....	55
2.5.1.11. Síntese da N^1 -(8-cloroquinolin-4-il)- N^2 -[2-(8-cloroquinolin-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina (8-Cl-BAQ).....	56
2.6. Preparação dos Testes Antimaláricos.....	56
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
3.1. Introdução.....	60
3.2. Síntese dos Compostos Aminoquinolínicos.....	61
3.3. Caracterização dos Compostos Aminoquinolínicos.....	61
3.4. Avaliação da Atividade Antimalárica	87
4. CONCLUSÃO.....	93

1 ASPECTOS GERAIS SOBRE A MALÁRIA E OS ANTIMALÁRICOS

1.1 Histórico

Acredita-se que a malária tenha sido a principal causa de morte entre os primatas precursores do *Homo sapiens*, como os *Australopithecus*. Em 2700 a.C., o Cânon chinês de medicina, o Nei Ching, já discutia sintomas da malária e as relações entre febres e melancolias prolongadas. Da mesma forma, manuscritos do século VI a.C. encontrados na biblioteca real de Assurbanopoli em Nínive (atualmente Iraque) mencionam febres mortais semelhantes à malária que afligiam a população da antiga Mesopotâmia (FRANÇA et al, 2008).

O grego Hipócrates foi o primeiro a fazer uma ligação entre a proximidade de corpos d'água estagnados e a ocorrência de febres na população local (FRANÇA et al, 2008). A malária, teve origem na expressão italiana “mala aria (ar ruim), pois se acreditava que a doença era transmitida de pântanos e esgotos (OLIVEIRA; SZCZERBOWSKI, 2009). De forma semelhante, os franceses criariam o termo paludismo, cuja raiz significa pântano, para se referir à malária (FRANÇA et al, 2008). Atualmente, sabe-se que a doença é causada por parasitos pertencentes ao gênero *Plasmodium* (FRANÇA et al, 2008).

Esta doença também foi disseminada na América do Norte, dificultando a colonização da região por alguns anos. Os ingleses introduziram na América duas espécies de agentes causadores de malária, *P. vivax* e *P. malariae*, quando fundaram Jamestown na atual Virgínia, em 1607, mas foi com a chegada de escravos da África, a partir de 1620, que o *P. falciparum* foi trazido para o continente (FRANÇA et al, 2008).

Louis Alphonse Laveran, em 1880, conseguiu observar organismos em movimento ao examinar o sangue de um paciente com a doença. A doença foi elucidada em 1897, por Ronald Ross, quando conseguiu descrever o ciclo do parasito no hospedeiro invertebrado (FRANÇA et al, 2008).

No Brasil, a ocupação da região Amazônica levou a um aumento da transmissão da malária, intensificando-se no início da década de 1980, com o grande aumento da população (FRANÇA et al, 2008). Foi criado pelo Ministério da Saúde, o Programa Nacional de Controle da Malária (PNCM) para promover a redução da letalidade, da gravidade dos casos, da incidência da doença, da eliminação da transmissão em áreas urbanas através de estratégias como o diagnóstico precoce e o tratamento adequado dos casos, além de medidas específicas de controle do mosquito transmissor (OLIVEIRA-FERREIRA et al, 2010).

1.2 Epidemiologia

No final da década de 1930, a região nordeste do Brasil foi invadida por *Anopheles gambiae* ocasionando um surto de malária tendo uma taxa de letalidade de 13%. Campanhas de controle foram organizadas para eliminar, de forma eficiente, o vetor da malária, mas só obteve sucesso nos primeiros anos da década de 1940. O episódio foi considerado um dos mais importantes e bem-sucedidos na saúde pública brasileira (OLIVEIRA-FERREIRA et al, 2010).

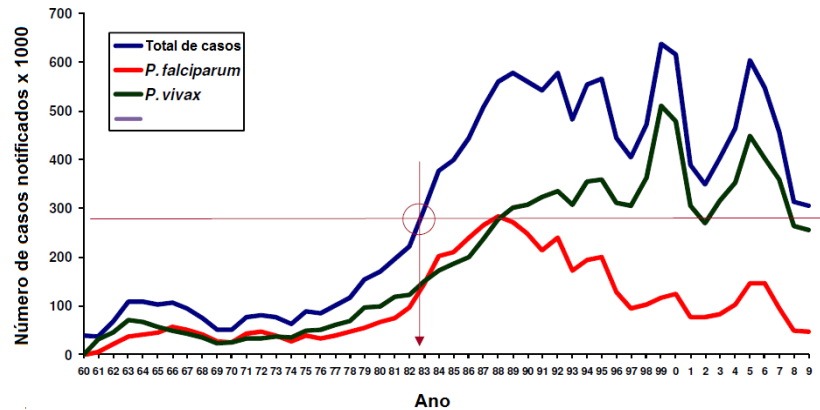
Estima-se que no início da década de 1940, a malária foi um problema em todo o país, com cerca de seis milhões de pessoas, aproximadamente 20% da população nacional infectada a cada ano. No entanto, durante a década de 1950, campanhas foram realizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para diminuir os casos de malária. Em 1960 foram registrados 36,9 mil casos da doença. Durante décadas, foram utilizados inseticidas e medicamentos para impedir a propagação da doença. No entanto, a malária ainda continua sendo um grave problema de saúde pública na região da Amazônia Legal. O grande aumento dos casos de malária, durante o final dos anos 70 e 80, ocorreu pela migração massiva e descontrolada de pessoas para a região amazônica atraída por programas de colonização patrocinados pelo governo. Até meados de 1990 havia uma ocorrência muito similar de casos de infecção com *P. falciparum* e *P. vivax*, contudo em 1999 observou-se uma ocorrência mais pronunciada dos casos de infecção com o *P. vivax* (Figura 1.1) (OLIVEIRA-FERREIRA et al, 2010).

A malária é uma doença que acomete mais de 100 países nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Aproximadamente 300-500 milhões de casos notificados anualmente, dos quais cerca de 2 a 3 milhões de pessoas morrem devido a complicações (DODDAGA; PEDDAKONDA, 2013). Ela é causada por cinco espécies de *Plasmodium*, tendo o *P. falciparum* como a espécie mais letal afetando 216 milhões de pessoas e causando mais de 655.000 mortes no mundo em 2010 (SINGH et al, 2014).

Em 2010, cerca de 3,3 bilhões de pessoas foram expostas a diferentes graus de risco de malária em 109 países (cerca de 50% da população mundial) (MURRAY et al., 2012).

No Brasil, o maior número de casos (99%) é registrado na região da Amazônia Legal, composta por nove Estados: Amazônia, Acre, Amapá, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins. As demais unidades federadas são pertencentes à região Extra-Amazônia, que concentra menos de 1% dos casos (MURRAY et al., 2012).

Figura 1.1. Números de casos de malária registrados anualmente 1960-2009 na Amazônia Legal de acordo com as espécies de *Plasmodium*



Fonte: OLIVEIRA-FERREIRA et al, 2010.

Em 2008, no Brasil, foram registrados 300.000 casos de malária em todo o país. Desses, 99,9% foram transmitidos nos Estados da Amazônia Legal, sendo o *Plasmodium vivax* a espécie causadora de quase 90% dos casos. No entanto, a transmissão do *P. falciparum*, sabidamente responsável pela forma grave da doença, tem apresentado redução importante nos últimos anos. Além disso, a frequência de internações por malária no Brasil também diminuiu em 1,3% no ano de 2008, enquanto em 2003 era de 2,6% (MS/SVS, 2010). O sistema de informação de agravos de notificação (SINAN) registrou em 2013, 356 casos confirmados de malária (Tabela 1.1).

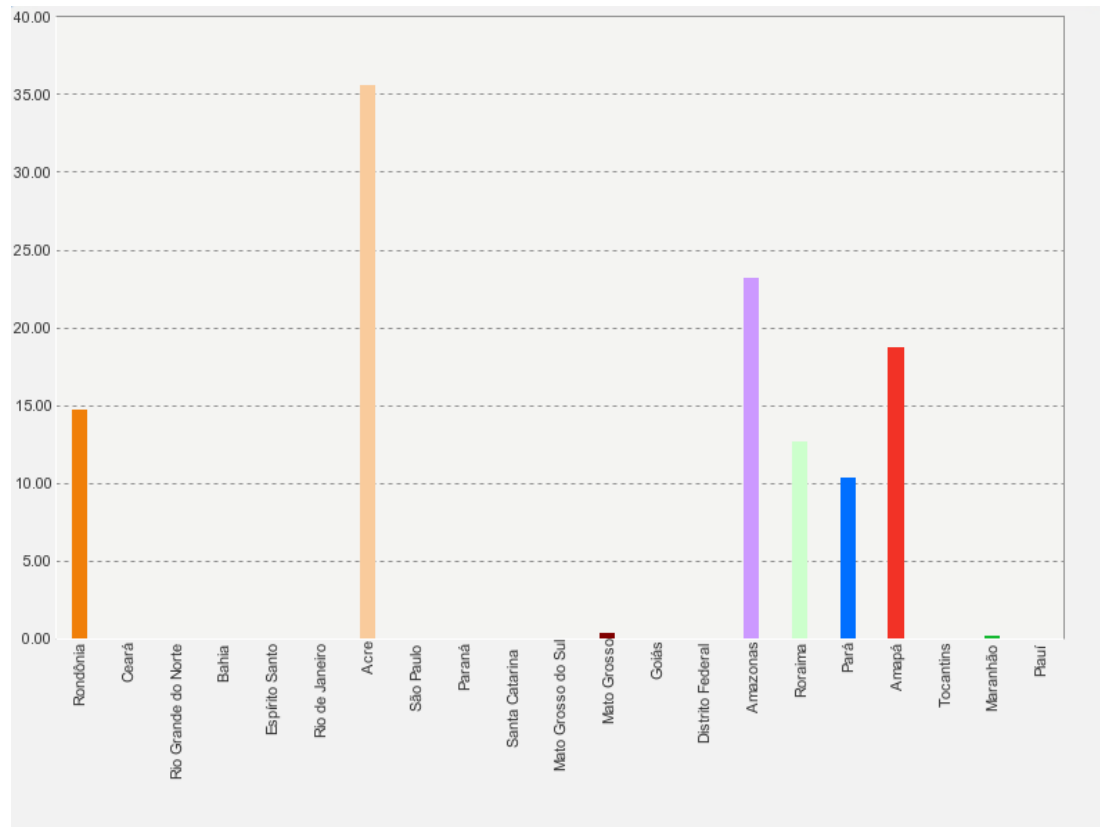
Tabela 1.1. Casos Confirmados Notificados de Malária no SINAN

Ano	Número de Casos Confirmados
2011	03
2012	47
2013	356
Total	406

O índice parasitário anual (IPA) mostra a relação de exposição de indivíduos à picada de fêmeas de mosquitos do gênero *Anopheles* infectadas pelo protozoário do gênero *Plasmodium*. O Acre apresentou o maior IPA (35) (Figura 1.2) em relação aos outros Estados do país. Esse índice está relacionado com as migrações internas e assentamentos rurais associados a atividades econômicas extrativas, população suscetível, presença do vetor

infectado, ausência de ações integradas de controle (diagnóstico precoce, tratamento oportuno, educação e medidas antivetoriais seletivas, detecção e monitoramento de epidemias) (MS/SVS, 2013).

Figura 1.2. Índice Parasitário Anual - IPA - 2013



Fonte: SVS/MS, 2010

1.3 Ciclo Biológico do *Plasmodium*

A malária é uma doença infecciosa cujo agente etiológico é um parasito do gênero *Plasmodium*. As espécies associadas à malária humana são: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*. No Brasil, nunca foi registrada transmissão autóctone de *P. ovale*, que é restrita a determinadas regiões da África. A transmissão natural da malária ocorre por meio da picada de fêmeas infectadas de mosquitos do gênero *Anopheles*, sendo mais importante a espécie *Anopheles darlingi*, cujos criadouros preferenciais são coleções de água limpa, quente, sombreada e de baixo fluxo, muito frequentes na Amazônia (MS/SVS, 2010).

A infecção inicia quando os parasitos (esporozoítos) são inoculados na pele pela picada do vetor (Figura 1.3), os quais irão invadir as células do fígado, os hepatócitos. Nessas células, multiplicam-se e dão origem a milhares de novos parasitos (merozoítos), que rompem

os hepatócitos e, caindo na circulação sanguínea, vão invadir as hemácias, dando início à segunda fase do ciclo, chamada de esquizogonia sanguínea (Figura 1.4). Nessa fase sanguínea que aparecem os sintomas da malária (BRAGA; FONTES, 2002).

Figura 1.3. Mosquito vetor de malária, *Anopheles*.



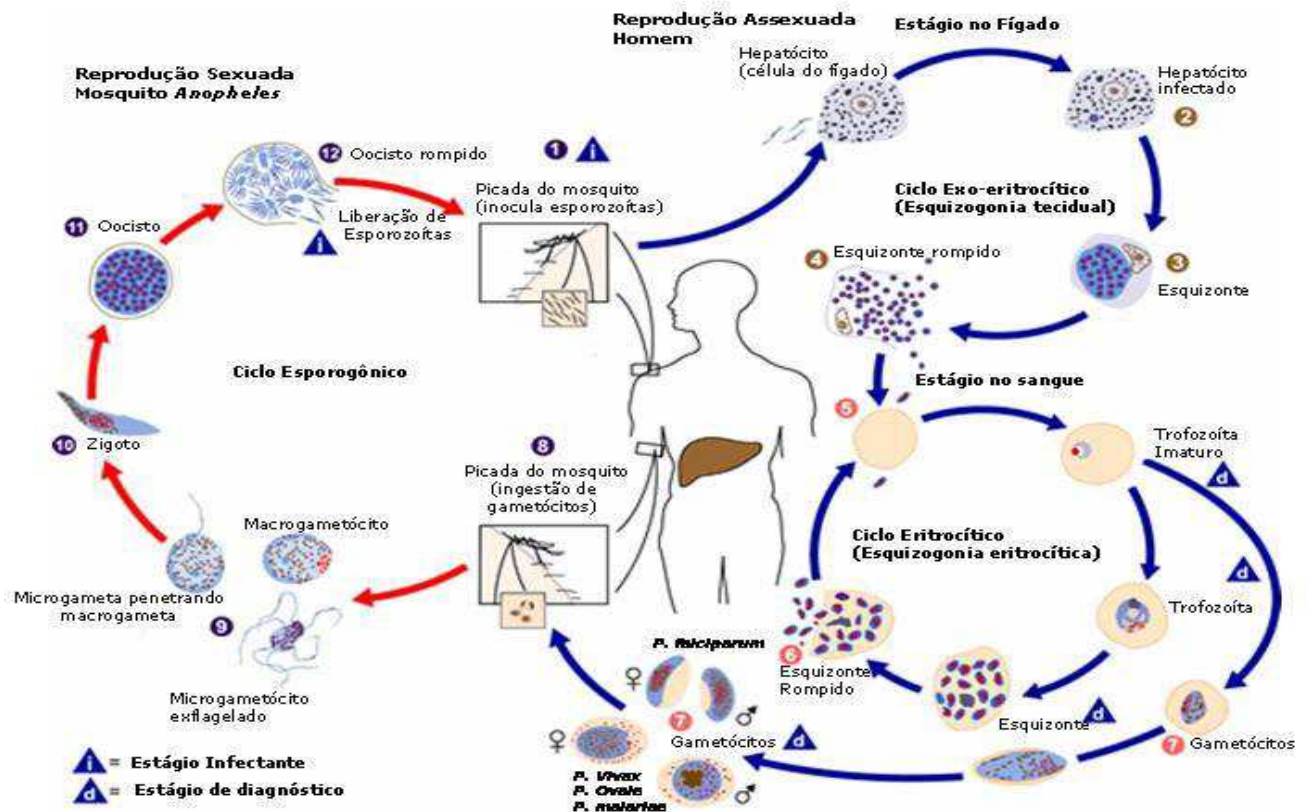
Fonte: CRAVO et al, 2002

O desenvolvimento do parasito nas células do fígado requer aproximadamente uma semana para o *P. falciparum* e *P. vivax* e cerca de duas semanas para o *P. malariae*. Nas infecções por *P. vivax* e *P. ovale*, alguns parasitos se desenvolvem rapidamente, enquanto outros ficam em estado de latência no hepatócito. São, por isso, denominados hipnozoítos (do grego *hipnos*, sono). Esses hipnozoítos são responsáveis pelas recaídas da doença, que ocorrem após períodos variáveis de incubação (geralmente dentro de seis meses) (Figura 1.4) (BRAGA; FONTES, 2002).

Na fase sanguínea do ciclo, os merozoítos formados rompem a hemácia e invadem outras, dando início a ciclos repetitivos de multiplicação eritrocitária. Os ciclos eritrocitários repetem-se a cada 48 horas nas infecções por *P. vivax* e *P. falciparum* e a cada 72 horas nas infecções por *P. malariae*. Depois de algumas gerações de merozoítos nas hemácias, alguns se diferenciam em formas sexuadas: os macrogametas (feminino) e microgametas (masculino). Esses gametas no interior das hemácias (gametócitos) não se dividem e, quando ingeridos pelos insetos vetores, irão fecundar-se para dar origem ao ciclo sexuado do parasito (Figura 1.4) (MS/SVS, 2010).

A hemoglobina do hospedeiro é digerida e transportada para o vacúolo do parasito, funcionando como fonte de proteína. O fragmento heme restante livre, tóxico para o plasmódio, é transformado em uma forma polimérica conhecida como hemozoína (RANG et al, 2007).

Figura 1.4. Ciclo de Vida do Parasito.



Fonte: FRANÇA et al, 2008

1.4 Manifestações Clínicas da Malária

1.4.1 Malária Não Complicada

O período de incubação da malária varia de 7 a 14 dias, podendo, contudo, chegar a vários meses em condições especiais, no caso de *P. vivax* e *P. malariae*. A crise aguda caracteriza-se por episódios de calafrios, febre e sudorese. Apresenta duração de seis a doze horas e pode cursar com temperatura igual ou superior a 40 °C. Em geral, são acompanhadas por cefaleia, mialgia, náuseas e vômitos (BRAGA; FONTES, 2002). O quadro clínico da malária pode ser leve, moderado ou grave, na dependência da espécie do parasito, da quantidade de parasitos circulantes, do tempo de doença e do nível de imunidade adquirida pelo paciente. As gestantes e as crianças estão sujeitos a maior gravidade, principalmente por infecções pelo *P. falciparum*, que podem ser letais. O diagnóstico precoce e o tratamento correto e oportuno são os meios mais adequados para reduzir a gravidade e a letalidade por malária (MS/SVS, 2010).

Pela inespecificidade dos sinais e sintomas provocados pelo *Plasmodium*, o diagnóstico clínico precoce da malária não é preciso, pois outras doenças febris agudas podem apresentar sinais e sintomas semelhantes, tais como a dengue, a febre amarela, a leptospirose, a febre tifoide e muitas outras. Dessa forma, a tomada de decisão de tratar um paciente por malária deve ser baseada na confirmação laboratorial da doença, pela microscopia da gota espessa de sangue ou por testes rápidos imunocromatográficos (MS/SVS, 2010).

1.4.2 Malária Grave e Complicada

Para o diagnóstico de malária grave, algumas características clínicas e laboratoriais devem ser observadas atentamente (Tabela 1.2). Se presentes, conduzir o paciente de acordo com as orientações para tratamento da malária grave (MS/SVS, 2010).

Tabela 1.2 Manifestações clínicas e laboratoriais da malária grave e complicada, causada pela infecção por *P. falciparum* (MS/SVS, 2010)

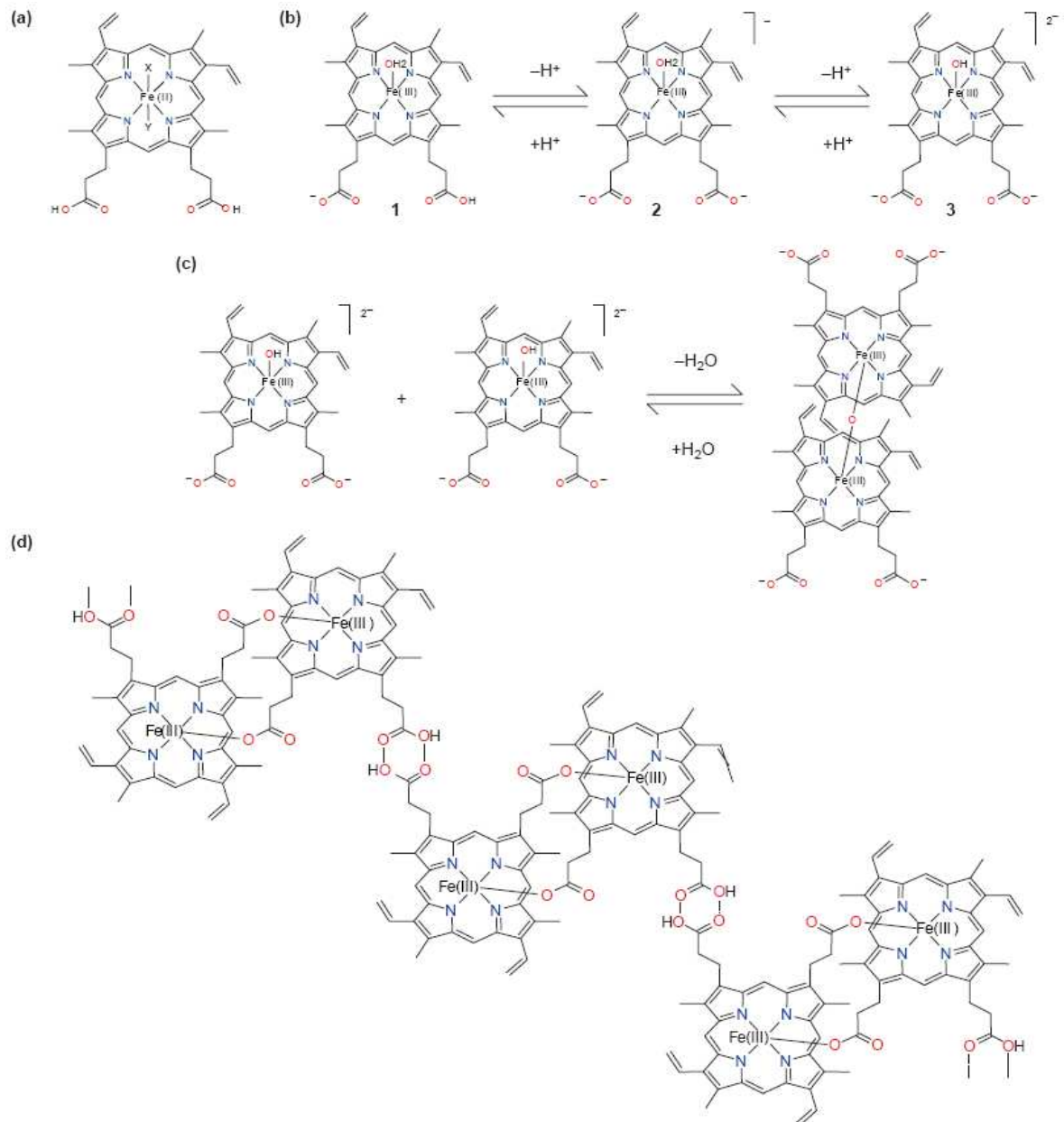
Sintomas e Sinais	Prostração Alteração da consciência Dispnéia ou hiperventilação Convulsões Hipotensão arterial ou choque Edema pulmonar ao Rx de tórax Hemorragias Icterícia Hemoglobina Hiperpirexia Oligúria
Alterações Laboratoriais	Anemia grave, Hipoglicemia, Acidose metálica, Insuficiência Renal, Hiperlactatemia e Hiperparasitemia

1.5 Formação da Hemozoína

A hemozoína é um dímero cíclico de Fe(III)protoporfirina IX. Ela possui dois grupos propionatos desprotonado de cada porfirina coordenada ao centro Fe(III) de outros. Os dímeros interagem com ligações de hidrogênio entre os grupos propionatos protonados e

interações de van der Waals. A β -hematina contém ligações entre o grupo propionato de um Fe(III)PPIX e o Fe(III) de outro (Figura xx). Todas essas ligações contribuem para a formação do pigmento malárico, ou seja a formação da hemozoína (Figura 1.5)(EGAN et al, 2003).

Figura 1.5. Representação da química das etapas de formação da hemozoína a partir do núcleo da heme.

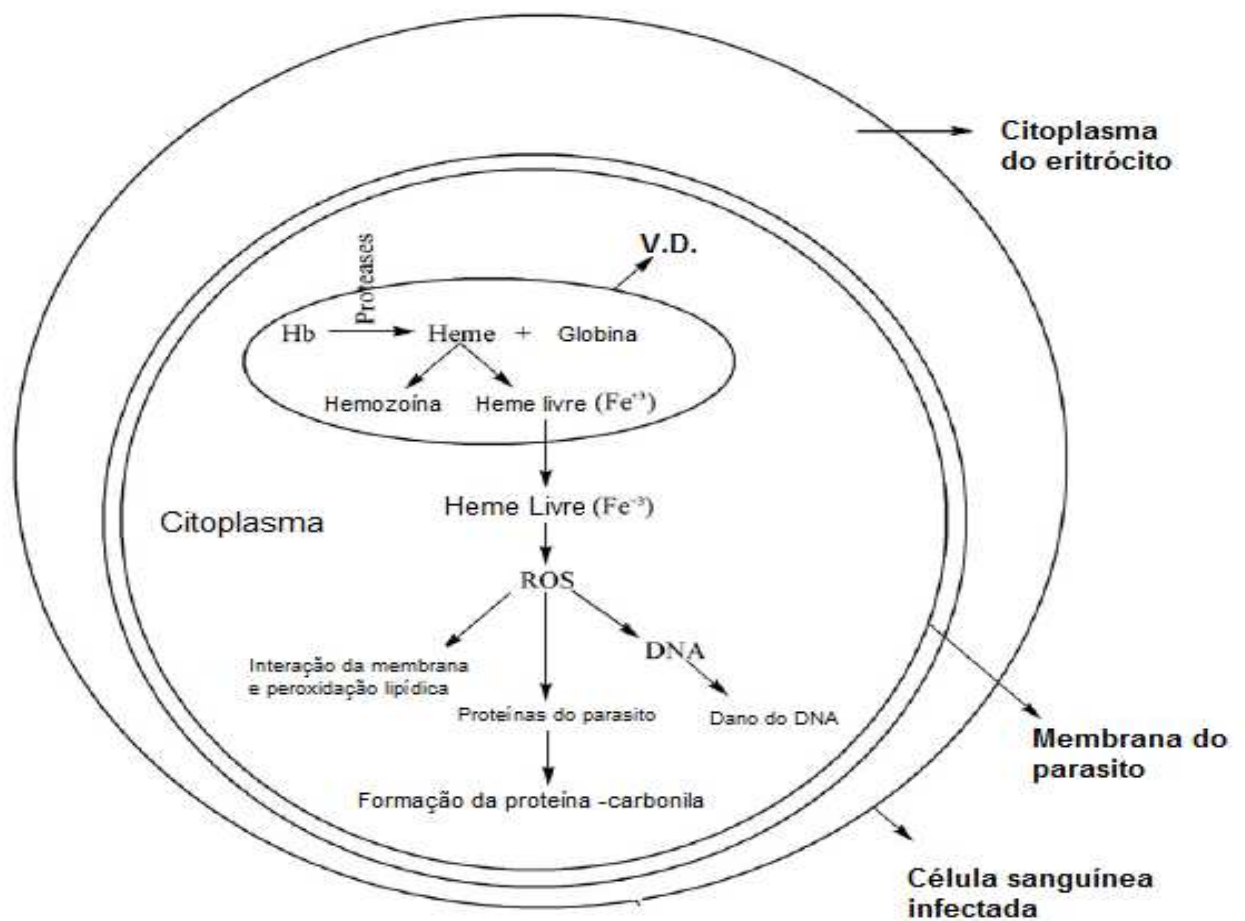


Fonte: EGAN et al, 2003

A formação da hemozoína no vacúolo digestivo é vital para a sobrevivência do parasito (LU et al, 2013). Durante o estágio intraeritrocítico (Figura 1.6), o parasito se aloja no eritrócito utilizando a hemoglobina como fonte de alimento. Esta hemoglobina é levada do

eritrócito para o citoplasma do parasito via citóstomo por pinocitose e transportado para o vacúolo digestivo (VD) através de vesículas transportadoras. No vacúolo digestivo, a hemoglobina é digerida pelas enzimas proteolíticas. Estas quebram a proteína em peptídeos que são finalmente hidrolizados a aminoácidos no citoplasma do parasito. Simultaneamente, heme é liberado e oxidado para produzir hematina (água/hidroxiferriprotoporfirina IX) (SANTOS, 2010). A inibição desse processo de cristalização provoca um acúmulo da Fe(III)PPIX, um produto de oxidação da molécula da heme. Vários antimaláricos conhecidos (por exemplo, cloroquina) atravessam a membrana do eritrócito e se acumulam, em sua forma protonada, no vacúolo digestivo do parasito (LU et al, 2013).

Figura 1.6. Mecanismo de formação da hemozoína e processo de toxicidade da heme livre no parasito.

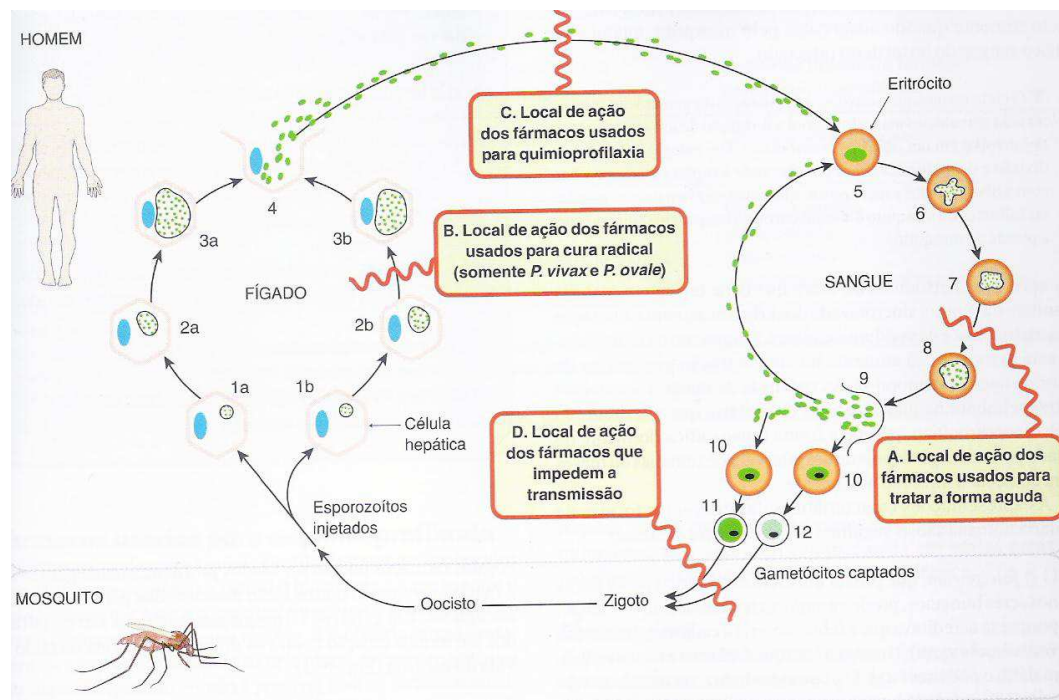


Fonte: Adaptado de KUMAR et al, 2007

1.6 Quimioterapia para a Malária

A maioria dos fármacos antimaláricos são baseados em produtos naturais ou compostos sintéticos produzidos a partir da década de 40. Esses fármacos são específicos para cada etapa do ciclo de vida do *Plasmodium* (Figura 1.7). Em geral, eles são classificados como eritrocíticos (pontos A e C da Figura XX) e gametocíticos (pontos B e D da Figura XX), combatendo a doença e a transmissão, respectivamente (FRANÇA et al, 2008).

Figura 1.7. Ciclo de vida do parasito destacando à ação dos fármacos.



Fonte: RANG & DALE, 2007

1.6.1 Quinina

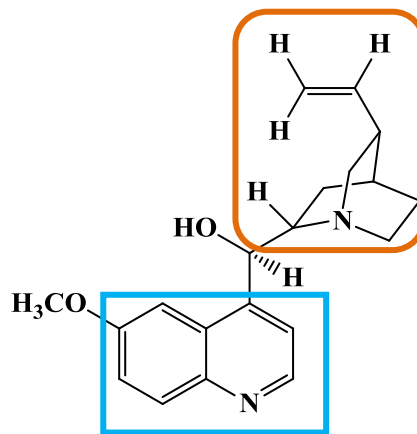
Em 1638, a condessa de Chinchón, esposa do vice-rei espanhol no Peru, foi acometida de forte febre terçã. Ao ingerir uma poção feita pelos índios chamada “quina-quina” a febre cedeu e a continuidade do tratamento a deixou curada (OLIVEIRA; SZCZERBOWSKI, 2009). A partir deste relato, padres jesuítas da missão espanhola levaram o pó para a Europa para vendê-lo como um medicamento, que depois ficou conhecido como “pó dos jesuítas”. Atualmente, sabe-se que o mal que afligiu a condessa era a malária (OLIVEIRA; SZCZERBOWSKI, 2009).

Até 1820, apenas um pó feito com as raízes da árvore era comercializado. Nesse ano, Pelletier e Caventou isolaram deste pó, um alcaloide com extrema atividade contra a malária, ao qual deram o nome de quinina. Após a descoberta, inúmeros métodos foram desenvolvidos

para extrair o alcaloide e vendê-lo como medicamento (OLIVEIRA; SZCZERBOWSKI, 2009).

A quinina possui um grupo quinolínico (detalhe azul; Figura 1.8) e um anel quinuclidino (detalhe laranja; Figura 1.8) ligados por um fragmento hidroximetilideno, =CH(OH). Modificações na função álcool, através de oxidação, esterificação ou processos similares, diminui a atividade antimalárica (LEMKE, 2008). A quinina é um esquizonticida sanguíneo que age com rapidez e é altamente efetivo contra as quatro espécies de parasitos da malária humana. O fármaco é gametocida contra *P. vivax* e *P. ovale*, mas não contra *P. falciparum*. Não é ativo contra parasitos no estágio hepático (KATZUNG, 2010).

Figura 1.8. Estrutura da quinina



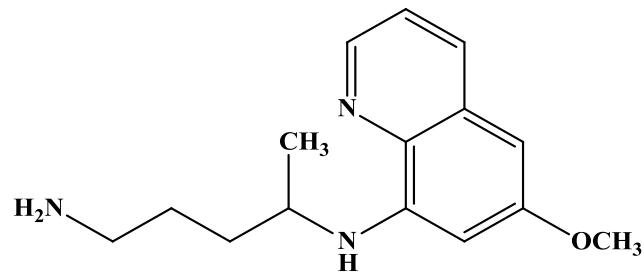
Fonte: O autor, 2014

1.6.2 Primaquina

A primaquina (Figura 1.9), 8-aminoquinolínico, é ativa contra estágios hepáticos de todos os parasitos da malária humana, sendo a única substância atuante contra os estágios hipnozoítas dormentes de *P. vivax* e *P. ovale*, evitando a recidiva (LODIGE et al, 2013). A primaquina também é gametocida contra as quatro espécies de malária humana. Age contra parasitos no estágio eritrócítico, mas esta atividade é fraca demais para desempenhar um papel importante. O mecanismo de ação antimalárica é desconhecido (KATZUNG, 2010).

Esse fármaco, nas doses recomendadas, é geralmente bem tolerado. Dificilmente causa náuseas, dor epigástrica, cólicas abdominais e cefaleia. Efeitos adversos, porém raros, incluem leucopenia, agranulocitose, leucocitose e arritmias cardíacas. Doses-padrão de primaquina podem causar hemólise ou metemoglobinemia (manifesta por cianose), particularmente em pessoas com deficiência de G6PD ou outros distúrbios metabólicos hereditários (KATZUNG, 2010).

Figura 1.9. Estrutura da primaquina

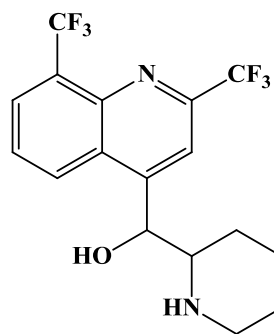


Fonte: O autor, 2014

1.6.3 Mefloquina

A mefloquina (Figura 1.10) é utilizada como terapia efetiva para muitas cepas de *P. falciparum* resistentes à cloroquina, e contra outras espécies. Embora a toxicidade seja um problema, a mefloquina é um dos fármacos profiláticos recomendados para uso na maioria das regiões com malária endêmica com cepas resistentes à cloroquina (KATZUNG, 2010). Devido ao aparecimento de resistência, esse fármaco é recomendado somente em combinação com outros compostos, sobretudo os derivados de artemisinina (AGUIAR, 2010).

Figura 1.10. Estrutura da mefloquina



Fonte: O autor, 2014

1.6.4 Artemisinina

Várias espécies vegetais do gênero *Artemisia* foram pesquisadas na busca de possível atividade antimalárica, porém, somente *Artemisia annua L.* e *Artemisia apiacea Hance* foram ativas contra *P. falciparum* e *P. vivax*. O princípio ativo encontrado nessas espécies foi denominado de artemisinina (1, Figura 1.9), cuja estrutura é uma lactona sesquiterpênica com um grupo 1,2,4-trioxano (RODRIGUES et al, 2009).

A procura pela artemisinina cresceu bastante em todo o mundo, devido às vantagens em relação a outros compostos antimaláricos. A artemisinina possui ação rápida, atuando

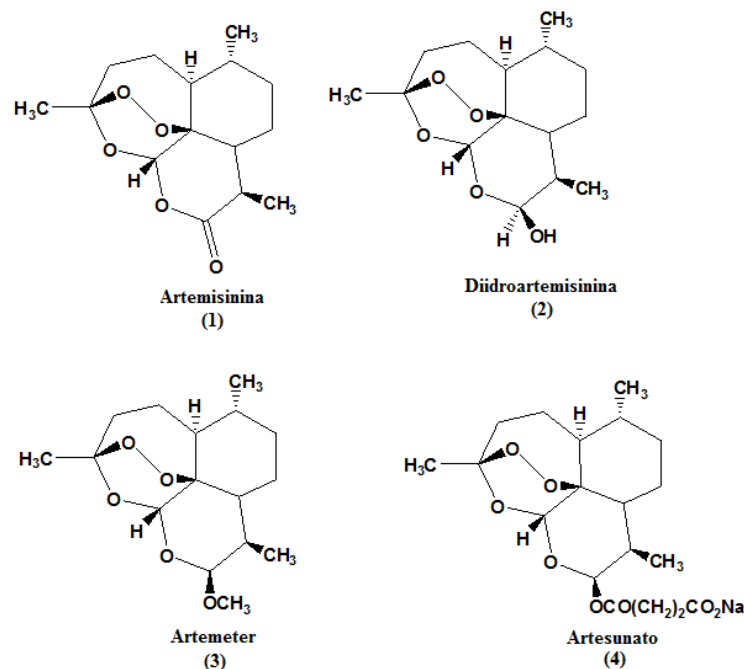
contra *P. falciparum* e *P. vivax*, inclusive sobre as formas de malária resistentes ao tratamento com cloroquina e em casos de malária cerebral (RODRIGUES et al, 2009).

Além da artemisinina, foram sintetizados três derivados com potência antimalárica maior do que a da própria artemisinina: a diidroartemisinina (**2**), que é um produto de redução, a arteméter (**3**), que é um metil éster de **2**, solúvel em óleo e o artesunato (**4**), que é um sal hemissuccinato hidrossolúvel de **2** (ver Figura 1.11) (TRACY & WEBSTER, 2005).

A artemisinina e seus análogos são esquizotocidas sanguíneos, que agem muito rapidamente contra todos os parasitos da malária humana. As artemisininas não exercem efeito sobre os estágios hepáticos. A resistência à artemisinina ainda não é um problema importante, mas foram isoladas cepas do *P. falciparum* com suscetibilidade ao arteméter diminuída *in vitro* (BOARETO, 2007). A atividade antimalárica da artemisinina pode resultar da produção de radicais livres que acompanham a clivagem catalisada pelo ferro da ponte artemisinina endoperóxido no vacúolo alimentar do parasito, ou da inibição de uma cálcio ATPase do parasito (NOEDL, 2005).

Vários estudos têm demonstrado que derivados da artemisinina, como o artesunato, o artemeter e a diidroartemisinina, também demonstraram toxicidade embrionária em diferentes doses e períodos de exposição em ratos, camundongos e coelhos (BOARETO, 2007).

Figura 1.11. Estrutura da artemisinina e derivados.



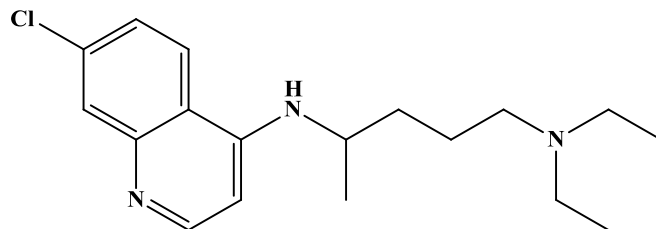
Fonte: TRACY & WEBSTER, 2005

1.6.5 Cloroquina, Novos Derivados 4-Aminoquinolínicos e Outros Compostos com Atividade Antimalárica.

Pesquisas sobre antimaláricos 4-aminoquinolínicos sugerem que o núcleo desses compostos promovem o acúmulo do fármaco no vacúolo digestivo do parasito, com consequentemente inibição da formação da hemozoína. Nas últimas décadas, a quantidade de novos análogos de 4-aminoquinolínicos aumentou consideravelmente. Eles são testados, principalmente, contra cepas de parasitos cloroquina-resistentes (PANDEY et al., 2013).

A cloroquina (Figura 1.12), um antimalárico sintético, esquizonticida sanguíneo, é um fármaco de escolha tanto em nível de quimioprofilaxia quanto de tratamento da malária desde a década de 1940. A utilidade desse composto contra *P. falciparum* vem sendo seriamente comprometida, desde o início dos anos 90, pelo surgimento da resistência ao fármaco (LODIGE et al, 2013). Ela continua sendo utilizada no tratamento do *P. falciparum* sensível e de outras espécies de parasitos da malária no ser humano (KATZUNG, 2010). No entanto, devido a essa resistência, a terapia medicamentosa para tratar a malária foi modificada para uma associação de medicamentos (LODIGE et al, 2013).

Figura 1.12. Estrutura da cloroquina

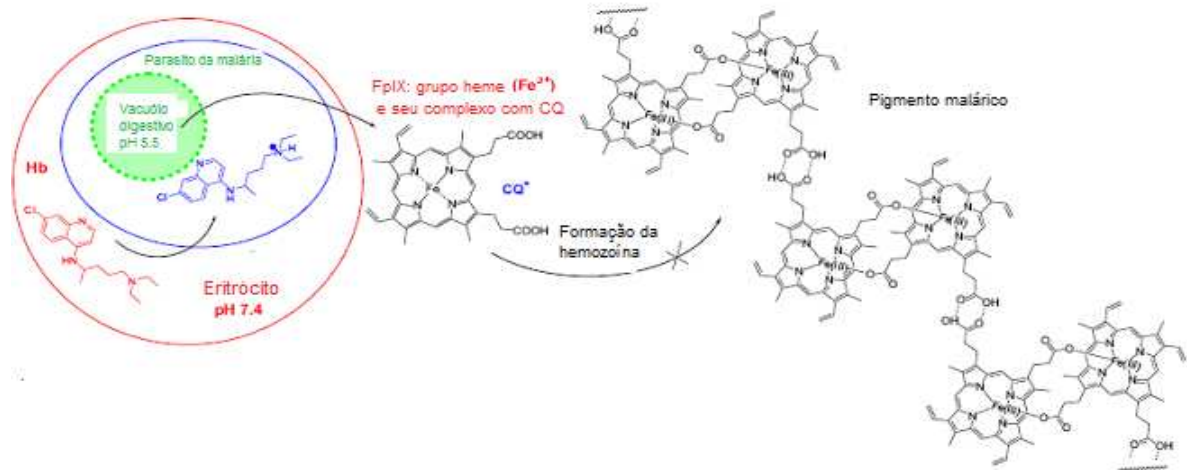


Fonte: O autor, 2014

Para a cloroquina, sugere-se que sua atividade é proveniente da inibição da hemozoína no vacúolo digestivo do parasito (DODDAGA;PEDDAKONDA, 2013). Estruturalmente, a cloroquina é uma base que, na sua forma não protonada, pode passar através das membranas do eritrócito e acumular-se, em sua forma protonada, no interior do vacúolo digestivo do parasito, cujo pH é de aproximadamente 5 (Figura 1.13). São nessas condições que a cloroquina e derivados impedem a formação da hemozoína. Entretanto, a grande capacidade do parasito de adquirir resistência à atuação dos fármacos, desafia o meio científico a elaborar novas estratégias no combate à malária, sendo o desenvolvimento de novos fármacos um meio de debelar esse considerável problema de endemia. Vale resaltar que a cloroquina

também é prescrita para diminuir os sintomas da artrite reumatoide e para o tratamento do lúpus sistêmico e discoide eritematosa em adultos (DODDAGA et al, 2013).

Figura 1.13. Possível mecanismo de ação da cloroquina

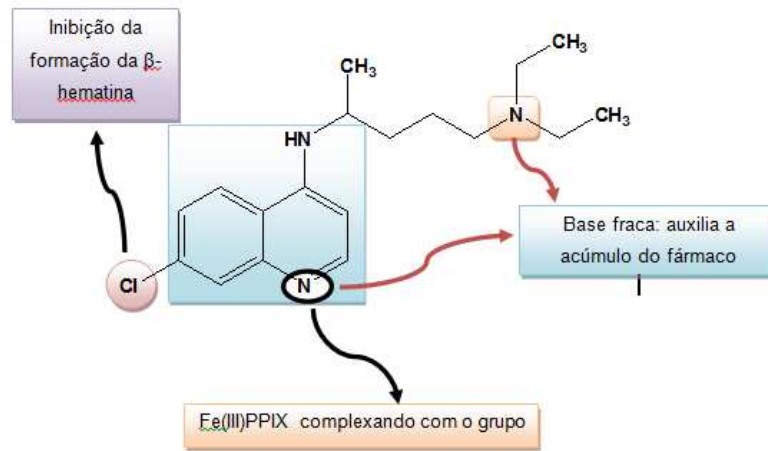


Fonte: Adaptado de KOUZNETSOV et al, 2009.

Estudos conduziram à formação de um modelo detalhado da relação estrutura-atividade da cloroquina, onde o núcleo 4-aminoquinolínico da cloroquina apenas promove uma das formas de complexação, não sendo suficiente para a inibição da formação da hemozoína (Figura 1.14); a introdução do grupo 7-cloro é responsável pela inibição da formação da hemozoína, mas provavelmente tem pouca influência na força de associação com Fe(III)PPIX; o átomo de nitrogênio da cadeia lateral aminoalquílica e do anel quinolínico (Figura 1.14) são uma exigência para a forte atividade antiplasmodial (provavelmente auxilia no acúmulo do fármaco no vacúolo digestivo e aumenta a força de associação com Fe(III)PPIX) (EGAN et al, 2000).

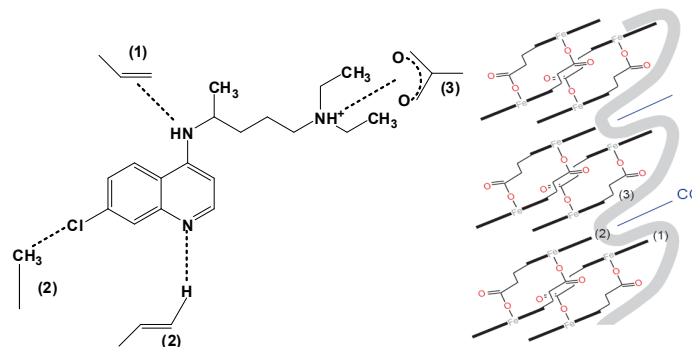
Estudos químico-computacionais de interações entre hemozoína-fármaco foram realizados para verificação de relações estrutura-atividade. Observou-se que a cloroquina se intercala muito bem em determinados locais, interagindo com três grupos porfirínicos (Figura 1.15, porfirinas 1, 2 e 3). Mais especificamente, o grupo 4-amino da cloroquina interage com o grupo vinil do fragmento porfirínico 1; o cloro no anel quinolínico interage com o grupo metil da porfirina 2; o anel N-quinolínico com um grupo vinil na porfirina 2; enquanto o grupo amino terminal carregado positivamente interage com o grupo propionato, carregado negativamente, da porfirina 3 (EGAN et al, 2003).

Figura 1.14. Proposta da relação estrutura-atividade da cloroquina



Fonte: EGAN et al, 2000

Figura 1.15. Proposta de interação entre a hemozoína e a cloroquina

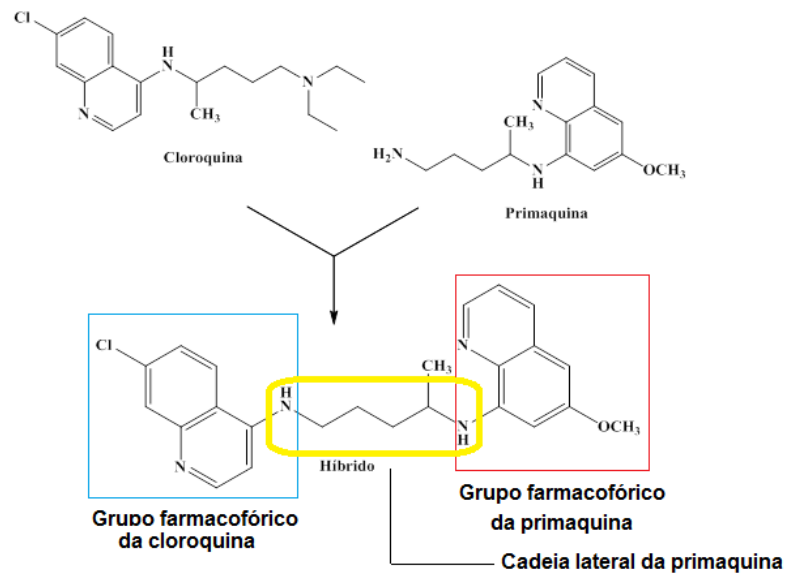


Fonte: EGAN et al, 2003.

Uma estratégia no processo de descoberta de novos derivados 4-aminoquinolínicos é a hibridização molecular, com o intuito de diminuir o problema da resistência e proporcionar maior estabilidade metabólica aos medicamentos contra a malária (PANDEY et al., 2013).

Uma proposta recente, promissora e bastante elucidativa foi a elaboração de um composto híbrido (Figura 1.16) mantendo os grupos farmacofóricos das respectivas moléculas primaquina e cloroquina. Esse híbrido tem a vantagem de uma dupla atividade, tanto no fígado quanto nos eritrócitos, podendo promover a diminuição da toxicidade e melhorar os perfis farmacodinâmicos e farmacocinéticos. O composto foi testado contra todas as fases do *Plasmodium*, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, e apresentou efeitos inibitórios significantes contra o parasito nos hepatócitos e no estágio intraeritrocítico (LODIGE et al, 2013).

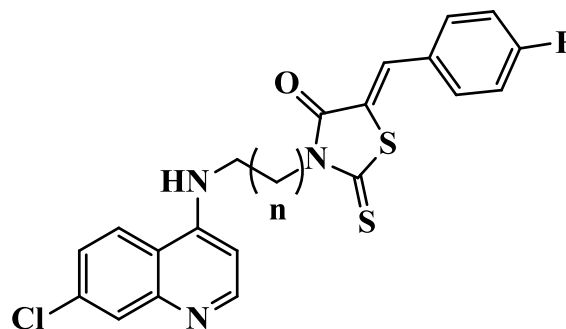
Figura 1.16. Estrutura do híbrido



Fonte: LODIGE et al, 2013

Substâncias contendo heterociclos, como a rodanina, apresentam diversas atividades farmacológicas, tais como: antibacteriana, anti-inflamatória, antiviral, hipoglicemiantes, anticonvulsivantes, antimalárico, entre outros. Alguns compostos foram sintetizados baseados na hibridização molecular. Esses híbridos de 4-aminoquinolínico-rodanina foram avaliados quanto a sua atividade antimalárica *in vitro* contra cepas cloroquina resistente (K1) e sensível (3D7) de *P. falciparum*. Apenas o composto (Figura 1.17) ($IC_{50} = 13,2$ nM) foi vinte vezes mais ativo contra as cepas de cloroquina resistente (K1) que a cloroquina ($IC_{50} = 254,05$ nM) (CHAUHAN et al, 2013).

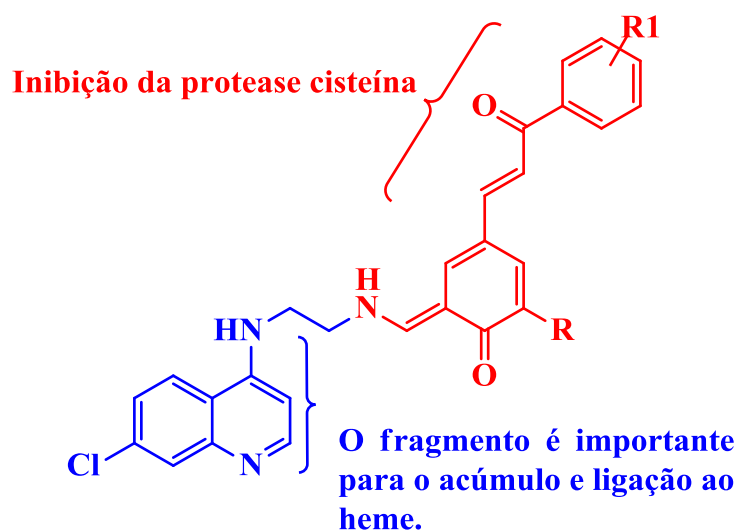
Figura 1.17. Composto híbrido de 4-aminoquinolína-rodanina



Fonte: CHAUHAN et al, 2013

Estudos de análogos híbridos cloroquina-chalcona mostraram atividade antiplasmodial significativa e estudos bioquímicos revelaram que a inibição da hemozoína é o principal mecanismo de ação desses análogos. Com base nessas informações, foram planejados compostos híbridos que contivessem um grupo farmacofórico (Figura 1.18) que interagisse com o heme livre e a outra parte da molécula de inibir a protease cisteína (SASHIDHARA et al, 2012).

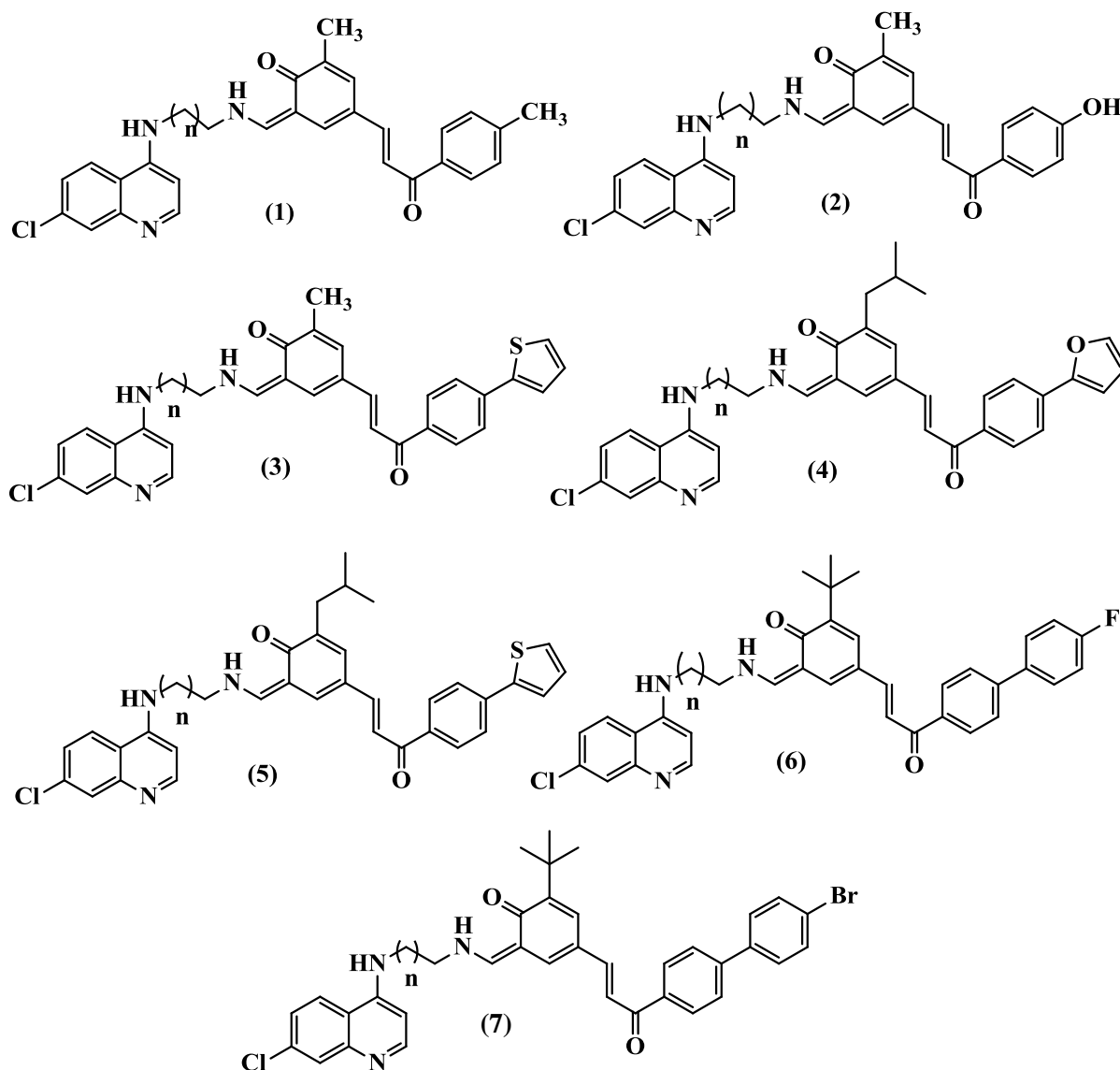
Figura 1.18. Planejamento de híbridos cloroquina-chalcona ceto-enamina.



Fonte: SASHIDHARA et al, 2012

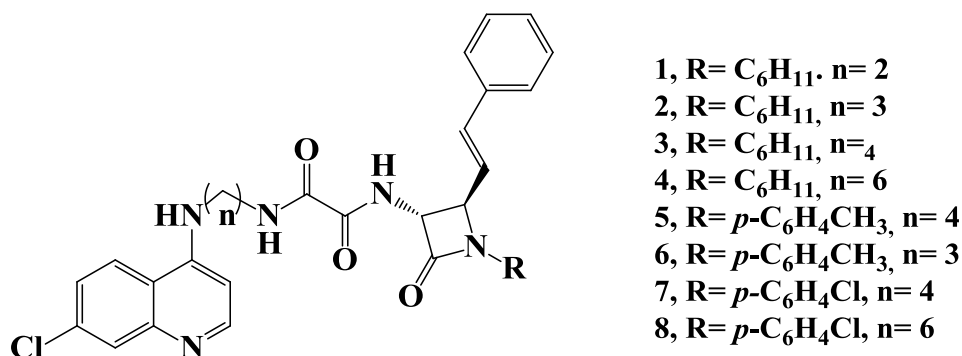
Todos os compostos sintetizados (Figura 1.19) foram avaliados quanto a sua atividade antiplasmodial contra cepas cloroquina sensível (3D7) de *P. falciparum*. As estruturas **2** ($IC_{50} = 3,63$ ng/mL) e **7** ($IC_{50} = 4,64$ ng/mL) da figura a seguir exibiram atividade antimalárica comparável à cloroquina ($IC_{50} = 2,45$ ng/mL). Além disso, os compostos **1** e de **3** a **6** apresentaram os valores de IC_{50} menores que 10 ng/mL. Essa diferença pode ser atribuída a fatores como, o número de carbonos da cadeia lateral, o tamanho do heterociclo e as substituições no anel da chalcona (SASHIDHARA et al, 2012).

Figura 1.19. Compostos híbridos cloroquina chalcona ceto-enamina



Fonte: SASHIDHARA et al, 2012

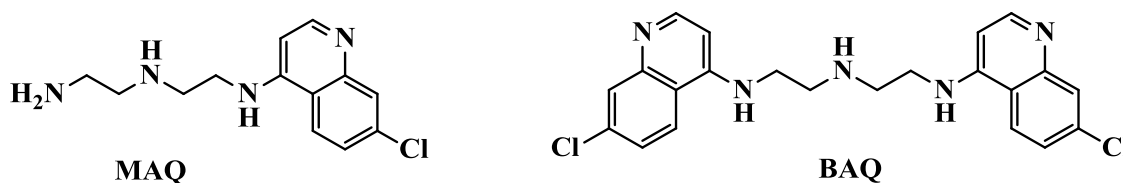
Os β -lactâmicos são antibióticos de amplo espectro e com baixa toxicidade. O interesse por essa classe levou ao desenvolvimento de β -lactâmicos clássicos como as penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos. Pesquisas recentes mostraram ação contra a malária dessas substâncias. Derivados 4-aminoquinolínicos β -lactâmicos foram sintetizados e avaliados quanto a sua atividade antiplamodial (Figura 1.20). A presença de amidas, sulfonamidas, ureia e tioureias demonstrou um melhor perfil farmacológico contra cepas cloroquina resistente e sensível de *P. falciparum*. Vale destacar que o composto **4** da figura a seguir foi mais ativo (IC_{50} = 34,97 nM) se comparando ao fármaco padrão cloroquina (IC_{50} = 59,09 nM) (SINGH et al, 2014).

Figura 1.20. Derivados 4-aminoquinolínicos β -lactâmicos

Fonte: SINGH et al, 2014

Dois derivados 4-aminoquinolínicos (Figura 1.21) foram planejados e sintetizados em nosso grupo de pesquisa. Suas atividades biológicas foram avaliadas com resultados bastante promissores. Os resultados mostraram que MAQ e BAQ foram ativas *in vitro* contra cepas de cloroquina resistente e sensível ao *P. falciparum* em concentrações nanomolares. Vale destacar que o índice de seletividade da MAQ foi maior que da BAQ. Também foram realizados testes *in vivo* com camundongos infectados com *P. berghei*. O composto MAQ foi mais efetivo pela confirmação da redução da parasitemia em resposta ao tratamento. Outras análises *in vitro* mostraram que esses compostos interagiram com a hematina e inibiram a polimerização da heme livre (AGUIAR et al, 2012).

Figura 1.21. Derivados 4-aminoquinolínicos

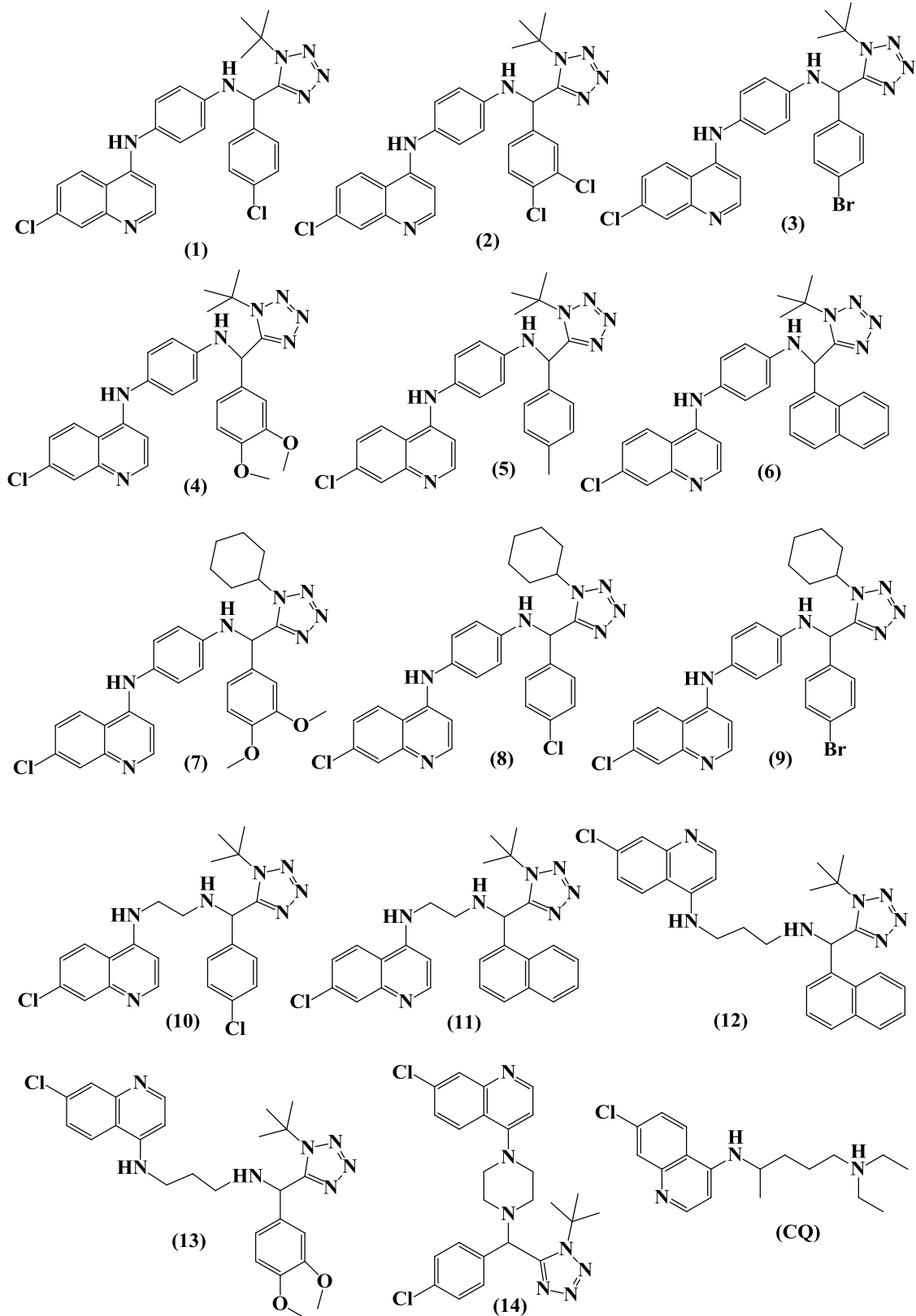


Fonte: AGUIAR et al, 2012

Derivados 4-aminoquinolínicos tetrazólicos foram sintetizados e avaliados quanto a sua atividade antimalárica *in vitro* contra cepas K1 (cloroquina resistente) e 3D7 (cloroquina sensível) de *P. falciparum*. Todos os compostos testados apresentaram atividade moderada contra as cepas 3D7 com valores de IC₅₀ variando entre 10,6 a 216 nM. Três compostos (**1** a **3**, ver Figura 1.22) mostraram atividade promissora contra cepas 3D7 (10,6; 11,0; e 11,7 nM, respectivamente). Em relação às cepas K1, todos os compostos foram mais ativos (com

valores de IC_{50} entre 74 e 233 nM) do que a cloroquina ($IC_{50}= 254$ nM) (PANDEY et al., 2013).

Figura 1.22. Derivados 4-aminoquinolínicos tetrazólicos



Fonte: PANDEY et al, 2013

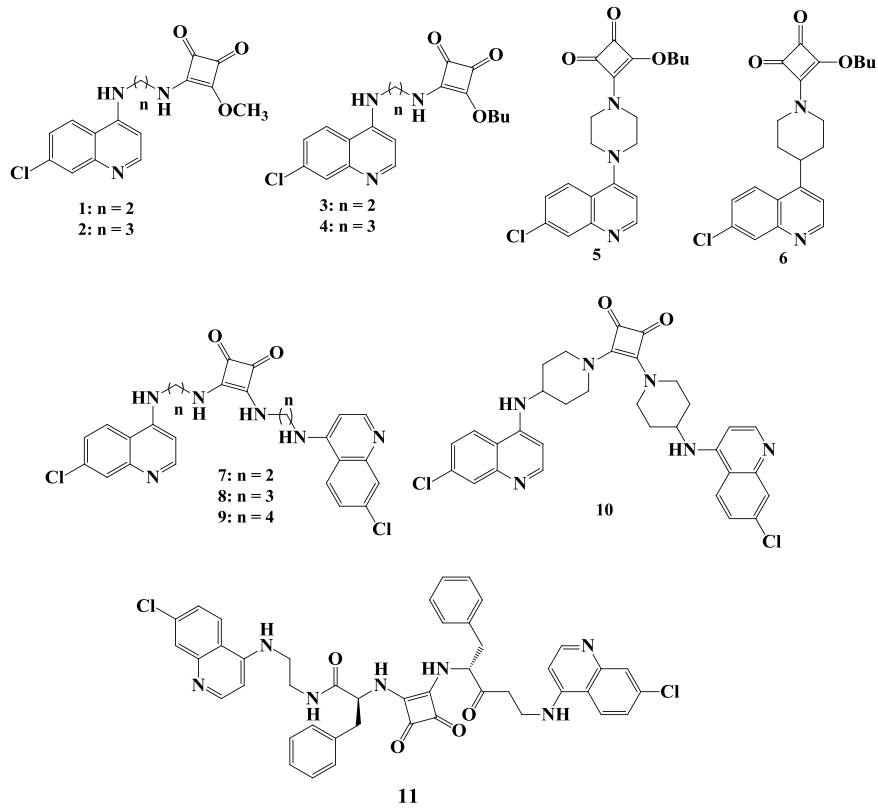
As proteases de cisteína (falcipainas) desempenham um papel importante no metabolismo do *P. falciparum*. Além disso, os derivados do ácido esquárico foram ativos *in vitro* contra essa espécie de parasito. Baseando-se na atividade antimalárica dessas substâncias e com o objetivo de melhorar a eficácia e diminuir a resistência aos fármacos existentes, foram sintetizados compostos híbridos (Figura 1.23) contendo heterociclícos e diferentes derivados do ácido esquárico substituídos. Os derivados 4-aminoquinolínicoesquáricos foram analisados quanto a sua capacidade para inibir a papaína, falcipaina-2 e cepas cloroquina resistente (W2) do *P. falciparum*, tendo como inibidor padrão, a protease E-64 (*trans*-epoxisuccini-L-leucil-amido(4-guanidino)butano (RIBEIRO et al, 2013).

Os compostos de **1** a **3** (ver Figura 1.23) exibiram boa atividade antiplasmódica (valores de IC_{50} = 1,56; 1,84; e 2,04 μ M, respectivamente), mas, nas concentrações testadas, não foram ativos contra a falcipaina-2. A substituição do grupo -OMe (**2**, Figura 1.23; 2 , IC_{50} = 1,84 μ M) pelo grupo -OBu (Figura 1.23, **4**, IC_{50} = > 10 μ M) resultou em perda da atividade contra o *P. falciparum*. As bisquinolinas (Figura 1.23, **7-11**) foram ativas contra cepas W2 do parasito, com valores de IC_{50} = 0,1-0,2 μ M. Finalmente, os compostos **8** (IC_{50} = 0,099 μ M), **9** (IC_{50} = 0,095 μ M) e **10** (IC_{50} = 0,105 μ M) apresentaram atividade antimalárica superior à cloroquina (IC_{50} 1,40 μ M) (RIBEIRO et al, 2013).

As fenalonas (Figura 1.24) foram sintetizadas e avaliadas quanto à atividade antimalárica. Sugere-se que a planaridade desses compostos policíclicos tenha um efeito contra as cepas do *P. falciparum* (GUITÉRREZ et al, 2013).

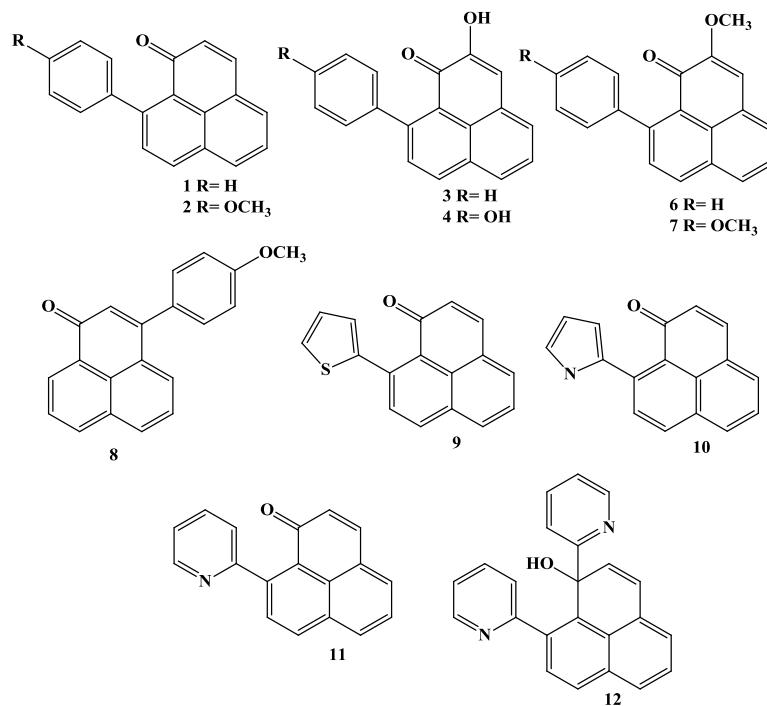
As fenalonas 9-fenil substituídas (Figura 1.24, **1** e **2**) e os derivados de 2-hidroxfenalenonas (**3-7**) mostraram atividade antiparasitária baixa. Desses, o composto **1** foi mais potente. A substituição do fragmento 9-fenil pelos grupos 2-tienil, 2-furanil (Figura 1.24, **9** e **10**, respectivamente) proporcionou uma diminuição da atividade antimalárica contra cepas cloroquina sensível de *P. falciparum* (F32) *in vitro*. O grupo 2-piridil (Figura 1.24, **11**) apresentou efeitos antimaláricos dez vezes maior que o composto **1**. O composto **8** (IC_{50} = 0,6 μ g/L) mostrou-se mais ativo que outras fenalonas, mas foi superior ao fármaco padrão (cloroquina - IC_{50} = 0,01 μ g/L) (GUITÉRREZ et al, 2013).

Figura 1.23. Derivados 4-aminoquinolínicos esquéricos



Fonte: RIBEIRO et al, 2013

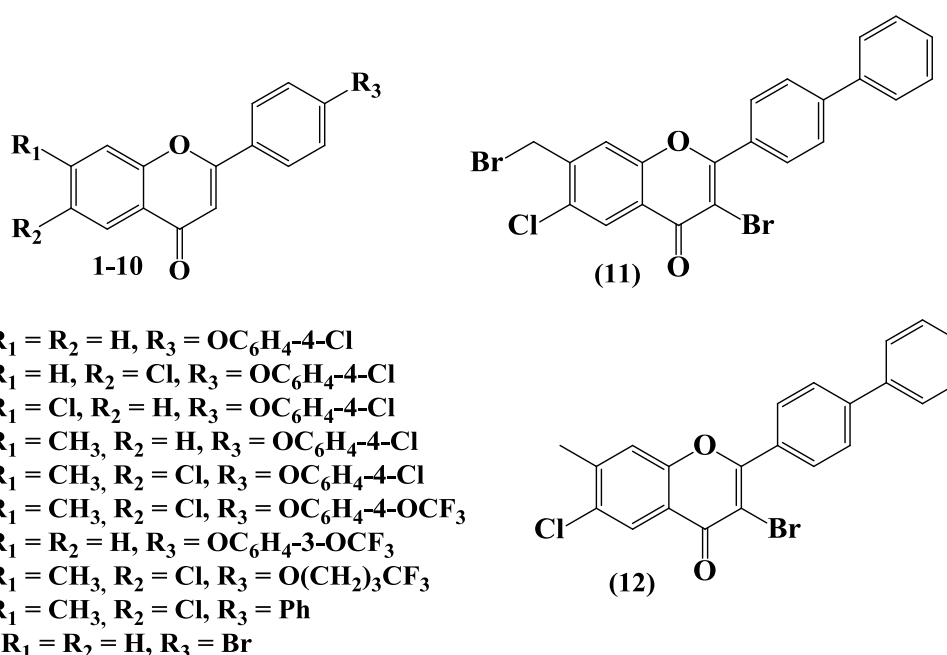
Figura 1.24. Compostos de fenalenona substituídas.



Fonte: GUITÉRREZ et al, 2013

A atividade *in vitro* contra cepas resistentes de *P. falciparum* (W2) mostrou que todos os compostos (Figura 1.25) apresentaram efeito. O composto 11 ($IC_{50} = 5,96\mu M$) é quatro vezes mais ativo que o 12 ($IC_{50} = 25\mu M$). A substituição do grupo 4-fenil (Figura 1.25, 9: $IC_{50} = 14\mu M$) por um radical 4-arilox (Figura 1.25, 5: $IC_{50} = 23\mu M$ e 6: $IC_{50} = 25\mu M$) diminuiu a ação antiplasmodial, já o grupo 4-(2'-trifluoropropoxi) (Figura 1.25, 8: $IC_{50} = 17,2\mu M$) foi menos ativo que o composto 7 ($IC_{50} = 14,9\mu M$). Nenhuma concentração aproximou-se do fármaco padrão, ou seja, a cloroquina ($IC_{50} = 0,186\mu M$) (RODRIGUES et al, 2013).

Figura 1.25. Derivados da flavona



Fonte: RODRIGUES et al, 2013

1.7. Referências Bibliográficas

- AGUIAR, A.C.C., et al. Antimalarial activity and mechanisms of action of two novel 4-aminoquinolines against chloroquine-resistant parasites. **Plos One**, v. 7, i. 5, p. e37259, 2012.
- BOARETO, A. C. **Efeitos da artemisinina (*Artemisia annua* L.) na gestação de ratos wistar**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.
- BRAGA, E.M.; FONTES, C.J.F. *Plasmodium* - malária. In: NEVES, D.P. Parasitologia Humana. 10ª edição. São Paulo. Atheneu, 2002. p 128-146.
- CHAUHAN, K. et al. Synthesis and biological evaluation of a new class of 4-aminoquinoline-rhodanine hybrid as potente anti-infective agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, p. 693-704, 2013.
- CRAVO, P. et al. Aspectos de genética molecular da resistência aos fármacos antimaláricos. **Bio-Medicina e Saúde Pública – Boletim de Biotecnologia**, v. 73, p. 2-8, 2002.
- DODDAGA, S.; PEDDAKONDA, R. Chloroquine-N-oxide, a major oxidative degradation product of chloroquine: identification, synthesis and characterization. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 81-82, p. 118-125, 2013.
- Egan, T.J et al. Structure-function relationships in aminoquinolinas: effect of amino and chloro groups on quinoline-hematin complex formation, inhibition of β -hematin formation, and antiplasmodial activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 283-291, 2000.
- Egan, T.J. Haemozoin (malaria pigment): a unique crystalline drug target. **Targets**, v.2, p. 115-124, 2003.
- França, T.C.C. et al. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. **Química Nova**, v. 31, p. 1271-1278. 2008.
- FRANÇA, T.C.C., et al. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. **Química Nova**, v. 31, p.1271-1278, 2008.
- GUITÉRREZ, D., et al. Evaluation of substituted phenalenone analogues as antiplasmodial agents. **Experimental Parasitology**, v. 135, p. 456-458, 2013.
- KATZUNG, B.G. Fármacos Antiprotozoários. In: KATZUNG, B.G. Farmacologia Básica e Clínica. 10ª edição. Porto Alegre. Artmed, 2010. p 767-777.
- KOUZNETSOV, V.V.; GÓMEZ-BARRIO, A. Recent developments in the design and synthesis of hybrid molecules based on aminoquinoline ring and their antiplasmodial evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 3091-3113, 2009.
- KUMAR, S. et al. Antimalarial drugs inhibiting hemozoin (β -hematina) formation: A mechanistic update. **Life Sciences**, v. 80, p. 813-828, 2007.

Lemke, T.L. In Antiparasitic Agents; Lemke, T.L.; Williams, D.A., eds.; **Lippincott Williams & Wilkins**: USA, 2008, cap. 39.

LODIGE, M., et al. A primaquine-chloroquine hybrid with dual activity against Plasmodium liver and blood stages. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 303, p.539-547, 2013.

LU, W., et al. Synthesis and antimalarial testing of neocryptolepine analogues: addition of ester function in SAR study of 2,11-disubstituted indolo [2,3 -b] quinolines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, p. 498-511, 2013.

MS/SVS. GUIA PRÁTICO DE TRATAMENTO DA MALÁRIA NO BRASIL. Brasília: Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010 - ISBN - CDU 616.9.

MURRAY, C.J.L. et al. Global malária mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet*, v. 379, p. 413-431, 2012.

NOEDL, H. Artemisinin resistance: how can we find it? **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 9, p. 404-405, 2005.

OLIVEIRA, A.R.M.; SZCZERBOWSKI, D. Quinina: 470 anos de história, controvérsias e desenvolvimento. **Química nova**, v. 32, Nº 7, p. 1971-1974, 2009.

OLIVEIRA-FERREIRA, J. et al. Malaria in ;brazil: na overview. **Malaria Journal**, v. 9, p. 100-115, 2010.

PANDEY, S., et al. Synthesis and bioevaluation of novel 4-aminoquinoline-tetrazole derivatives as potente antimalarial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 66, p. 69-81, 2013.

RANG, H. P. et al. Fármacos antiprotozoários. In: RANG, H.P. et al. **Rang & Dale Farmacologia**. 6º edição. Rio de Janeiro. Elsevier, 2007. p 702-709.

Rang, H.P.; Dale, M.M. Farmacologia. 6º ed., Elsevier: Rio de Janeiro, 2007.

RIBEIRO, C.J.A., et al. Squaric acid/4-aminoquinoline conjugates: novel potent antiplasmodial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 69, p. 365-372, 2013.

RODRIGUES, R.A.F., et al. Otimização do processo de extração e isolamento do antimalárico artemisinina a partir de *Artemisia annua L.* **Química nova**, v. 32, nº 7, p. 1971-1974, 2009.

RODRIGUES, T., et al. Flavones as isosteres of 4(1H)-quinolines: Discovery of ligand efficient and dual stage antimalarial lead compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 69, p. 872-880, 2013.

SASHIDHARA, K. et al. Antiplasmodial activity of novel keto-enamine chalcone-chloroquine based hybrid pharmacophores. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 2971-2981, 2012.

SINGH, P. et al. Urea/oxalamide tethered β -lactam-7-chloroquinoline conjugates: synthesis and in vitro antimalarial evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 71, p. 128-134, 2014.

SINGH, P., et al. Urea/oxalamide tethered β -lactam-7-chloroquine conjugates: synthesis and in vitro antimalarial evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 71, p. 128-134, 2014.

Tracy, J.W., Webster, L.T. Em Fármacos usados na Quimioterapia das Infecções por Protozoários: **Malária**; Gilman, A.G., ed.; McGraw-Hill Interamericana: Rio de Janeiro, 2005, cap. 40.

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Considerações Iniciais

A parte experimental do doutorado está dividida em três partes: i) síntese de derivados de cloroquina; ii) caracterização dos compostos sintetizados; e iii) avaliação da atividade antimalárica. As reações de síntese, apresentadas nesta tese, foram realizadas nos laboratórios do Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos ligantes foram realizados no Laboratório de Ressonância Nuclear Magnética do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). A atividade antimalárica, das substâncias orgânicas, foi realizada junto à Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou do Laboratório de Malária da Profa. Dra. Antoniana Krettli (UFMG).

2.2 Reagentes, Solventes e Vidrarias

As vidrarias foram pré-aquecidas em estufa a 80 °C e resfriadas antes do uso. O grau de pureza e origem de todos os reagentes, solventes estão listados na Tabela 2.1.

Tabela 2.1. Reagentes e solventes utilizados: pureza e origem.

Reagentes e Solventes	Fórmula Molecular	Pureza(%)	Origem
4,7-Dicloroquinolina	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Cl}_2$	98%	Alfa Aesar
Dietilenotriamina	$\text{C}_4\text{H}_{13}\text{N}_3$	$\geq 98\%$	Riedel-deHaen
Hidróxido de sódio	NaOH	P.A.	Dinâmica
Acetato de etila	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	P.A.	Quimis
4-cloro-7-(trifluorometil)quinolina	$\text{C}_{10}\text{H}_5\text{ClF}_3\text{N}$	98%	Sigma Aldrich
Metanol	CH_4O	P.A.	Dinâmica
4,8-dicloroquinolina	$\text{C}_{10}\text{H}_5\text{Cl}_2\text{N}$	98%	Sigma Aldrich
4-cloroquinolina	$\text{C}_9\text{H}_6\text{ClN}$	99%	Sigma Aldrich
4-cloro-8-(trifluorometil)quinolina	$\text{C}_{10}\text{H}_5\text{ClF}_3\text{N}$	97%	Sigma Aldrich
4-cloro-2-(trifluorometil)quinolina	$\text{C}_{10}\text{H}_5\text{ClF}_3\text{N}$	97%	Sigma Aldrich
1-(2-aminoetil)piperazina	$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}_3$	99%	Sigma Aldrich

2.3 Equipamentos

As análises para a caracterização dos compostos preparados foram realizados no Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. Na Tabela 2.2, são apresentadas as técnicas utilizadas, os respectivos aparelhos e sua origem.

Tabela 2.2. Equipamentos empregados nesse trabalho.

Técnica Analítica	Aparelho	Local
Espectroscopia no Infravermelho	Espectrofotômetro FT-IR Varian 640-IR com ATR	GCaR/IQB/UFAL
Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).	Espectrômetro Bruker Avance 400, operando na frequência de 400,130 MHz para RMN de ^1H e 100,613 MHz para RMN de ^{13}C .	IQB/LRMN/UFAL
Ponto de Fusão	MQAPF – 302 – aparelho digital	IQB/LPRN/UFAL

2.4. Manipulações no Preparo das Amostras para Análises.

2.4.1 Espectroscopia Infravermelho

Para as análises por espectroscopia na região do infravermelho empregou-se um acessório de refletância difusa atenuada (ATR) e os espectros foram obtidos abrangendo-se as regiões de 4500 a 500 cm^{-1} .

2.4.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Nas análises por espectroscopia de ressonância magnética nuclear protônica (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C , desacoplado), as amostras foram preparadas em tubo para RMN e solubilizada em metanol (CD_3OD).

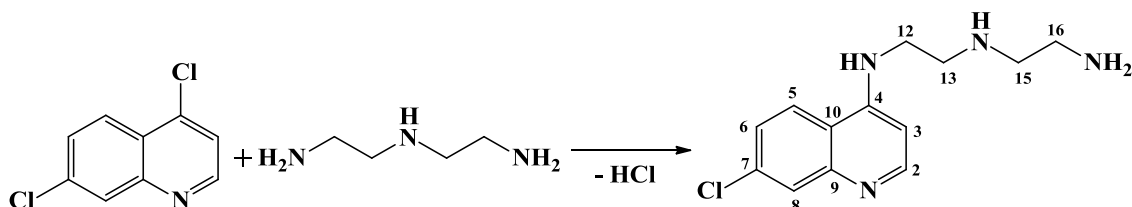
2.4.3 Análise do Ponto de Fusão

Os pontos de fusão das substâncias sintetizadas foram obtidos junto ao Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). As amostras sólidas foram previamente incorporadas em uma lamínula e observadas à temperatura na qual a substância passa do estado sólido ao estado líquido.

2.5 Síntese e Preparação dos Materiais

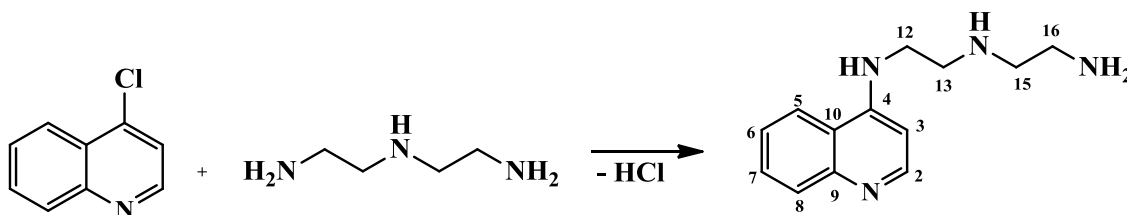
2.5.1 Síntese dos Ligantes

2.5.1.1 Preparação da N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (7-Cl-MAQ).



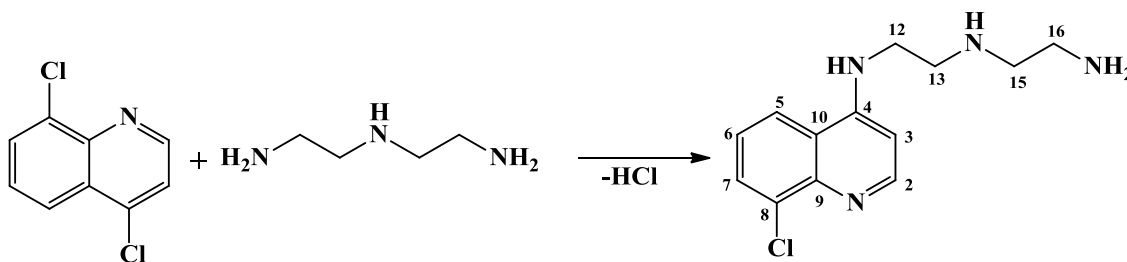
O composto 7-Cl-MAQ foi obtido através de uma adaptação de metodologia desenvolvida anteriormente por nosso grupo (AGUIAR et al., 2012). Num balão de fundo redondo de 50 mL foram introduzidos 4,7-dicloroquinolina (0,978 g; 4,94 mmol) e dietilenotriamina (24,7 mmol). Esta mistura foi aquecida a 80 °C por 1 hora sem agitação até completa solubilização. Em seguida, a temperatura do sistema foi elevada para 135 °C e a mistura conservada sob agitação magnética por 3 horas. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente, basificada com 2 mL NaOH(aq) 10% e deixada em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e lavado com água destilada (3x 10 mL). O produto foi seco sob vácuo. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração amarela, solúvel em metanol (F.M.: $C_{13}H_{17}ClN_4$; M.M.: $264,75 \text{ g mol}^{-1}$).

Rendimento total: 80%. P.F.: 99-100 °C; I.V. ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3256 (Ar- NH); 3065 (CH anel quinolínico); 2929 e 2839 (as/s CH e CH_2); 1607 (C=N), 1577 e 1528 (C=C anel quinolínico); 1449 (CH_2); 1280 (Ar-C-N); 1133 (C-N); 874, 795 e 761 (δ =C-H aromático fora do plano). RMN 1H (400MHz, CD_3OD): δ 1,93 (s, NH amínico), 2,78 (t, $J = 5,76\text{Hz}$, 2H, CH_2 -16), 2,85 (t, $J = 5,76\text{Hz}$, 2H, CH_2 -15), 2,95 (t, $J = 6,38\text{Hz}$, 2H, CH_2 -13), 3,47 (t, $J = 6,38\text{Hz}$, 2H, CH_2 -12), 3,70 (sl, NH anilínico), 6,50(d, $J = 5,71\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-3), 7,35 (dd, $J = 9,01 \text{ Hz}$, $J = 2,14 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H C-6), 7,73 (d, $J = 2,14\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-8), 8,07 (d, $J = 9,01\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-5), 8,32 (d, $J = 5,62\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-2). RMN ^{13}C (100MHz, CD_3OD): δ 151,1(C-2), 98,28 (C-3), 151,4(C-4), 124,6 (C-5), 123,1 (C-6), 134,9(C-7), 126,2 (C-8), 148,2(C-9), 117,32 (C-10), 42,10 (C-12), 47,00 (C-13), 40,10 (C-15), 50,10 (C-16).

2.5.1.2 Síntese da N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(naftalen-1-il)etano-1,2-diamina (MAQ).

A preparação do composto MAQ foi baseada na metodologia proposta por MUSONDA et al, 2006. Num balão de fundo redondo de 50 mL foram introduzidos 4-cloroquinolina (0,808 g; 4,94 mmol) e dietilenotriamina (24,7 mmol). Esta mistura foi aquecida a 80 °C por 1 h sem agitação até completa solubilização. Em seguida, a temperatura do sistema foi elevada para 135 °C e a mistura conservada sob agitação magnética por 3 h. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente, basificada com NaOH(aq) 10% (30 mL) e extraída com acetato de etila quente (3x 50 mL). Os extratos foram reunidos e secos com MgSO₄ por 1 h. O solvente foi removido no evaporador rotativo e seco sob vácuo. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração amarela, solúvel em metanol, que pode ser ainda purificado por recristalização em metanol/água e, posteriormente foi acondicionado em um refrigerador por 6 h, formando um precipitado, que pode ser recuperado por filtração e seco sob alto vácuo, formando um sólido de coloração amarela (F.M.: C₁₄H₁₉N₃; M.M.: 229,32 g mol⁻¹).

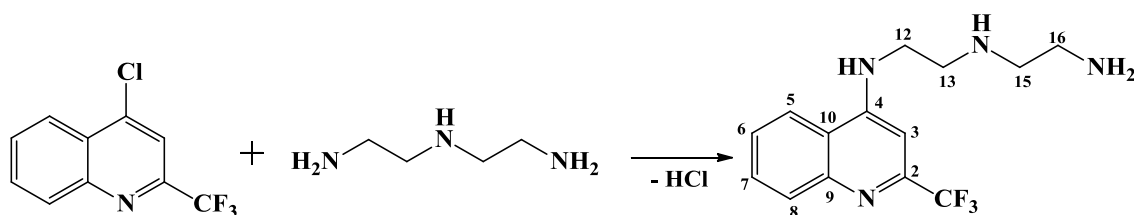
Rendimento total: 45%. P. F. 100-101 °C. I.V. ($\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3448 (Ar- NH); 3066 (CH anel quinolínico); 2947 e 2839 (as/s CH e CH₂); 1650 (C=N), 1638 e 1614 (C=C anel quinolínico); 1549 (CH₂); 1208 (Ar-C-N); 1119 (C-N); 808, 766 e 671 (δ =C-H aromático fora do plano). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 1,93 (s, NH amínico), 2,78 (t, J = 5,32Hz, 2H, H-16), 2,82 (t, J = 5,42Hz, 2H, H-15), 2,97 (t, J = 6,56Hz, 2H, H-13), 3,51 (t, J = 6,57Hz, 2H, H-12), 6,56 (d, J = 5,76Hz, 1H, Ar-H C-3), 7,45 (t, J = 7,88 Hz, , 1H, Ar-H C-6), 7,64 (t, J = 7,88Hz, 1H, Ar-H C-7), 7,81 (d, J = 9,04Hz, 1H, Ar-H C-8), 8,12 (d, J = 9,04Hz, 1H, Ar-H C-5), 8,37 (d, J = 5,72Hz, 1H, Ar-H C-2). RMN ¹³C (100MHz, CD₃OD): δ 151,149,4 (C-2), 98,04 (C-3), 151,3 (C-4), 121,1 (C-5), 124,4 (C-6), 129,1 (C-7), 127,2 (C-8), 147,1 (C-9), 119,6 (C-10), 49,08 (C-12), 42,08 (C-13), 56,7 (C-15), 39,6 (C-16).

2.5.1.3 Síntese de N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(8-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (8-Cl-MAQ).

A preparação do composto MAQ foi baseada na metodologia proposta por MUSONDA e colaboradores (2006). Num balão de fundo redondo de 50 mL foram introduzidos 4-cloroquinolina (0,978 g; 4,94 mmol) e dietilenotriamina (24,7 mmol). Esta mistura foi aquecida a 80 °C por 1 h sem agitação até completa solubilização. Em seguida, a temperatura do sistema foi elevada para 135 °C e a mistura conservada sob agitação magnética por 3 h. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente, basificada com NaOH(aq) 10% (30 mL) e extraída com acetato de etila quente (3x 50 mL). Os extratos foram reunidos e secos com MgSO₄ por 1 h. O solvente foi removido no evaporador rotativo e seco sob vácuo. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração amarela, solúvel em metanol, que pode ser ainda purificado por recristalização em metanol/água e, posteriormente foi acondicionado em um refrigerador por 6 h, formando um precipitado, que pode ser recuperado por filtração e seco sob alto vácuo, formando um sólido de coloração amarela . (F.M.: C₁₃H₁₇ClN₄; M.M.: 264,75 g mol⁻¹).

Rendimento total: 48%. P.F. 99-100 °C. I.V. ($\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3449 (Ar- NH); 3068 (CH anel quinolínico); 2959 e 2833(as/s CH e CH₂); 1652 (C=N), 1634 e 1459 (C=C anel quinolínico); 1539 (CH₂); 1244 (Ar-C-N); 1109 (C-N); 785, 762 e 661 (δ =C-H aromático fora do plano). RMN ¹H (400MHz, CD₃OD): δ 2,77 (t, J = 5,03Hz, 2H, H-16), 2,81 (t, J = 5,01Hz, 2H, H-15), 2,97(t, J = 6,47Hz, 2H, H-13), 3,53 (t, J = 6,59Hz, 2H, H-12), 6,64(d, J = 5,65Hz, 1H, Ar- H C-3), 7,38 (t, J = 7,98 Hz, 1H, Ar- H C-6), 7,88 (t, J = 7,57Hz, 1H, Ar- H C-7), 8,09 (d, J = 8,50Hz, 1H, Ar- H C-5), 8,45 (d, J = 5,59Hz, 1H, Ar- H C-2).

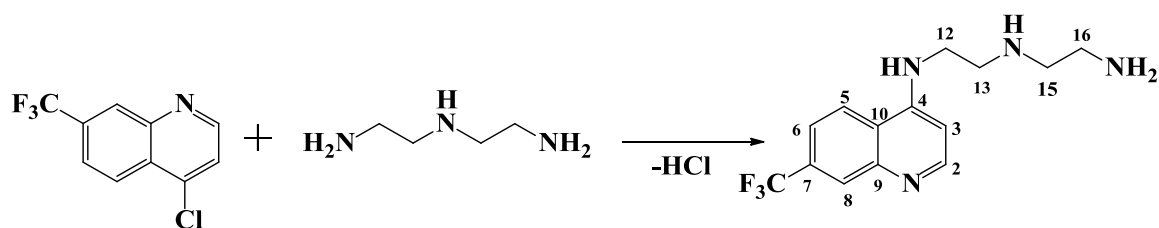
2.5.1.4 Síntese da N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(2-trifluorometil)quinolin-4-il)etano-1,2-diamina (2- CF_3 -MAQ).



A preparação do composto 2- CF_3 -MAQ seguiu a mesma estratégia de síntese do composto 7-Cl-MAQ descrito anteriormente. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração branca, solúvel em metanol. (F.M.: $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_4$; M.M.: $298,31 \text{ g mol}^{-1}$).

Rendimento total: 80%. P.F.: $99 \text{ }^\circ\text{C}$. I.V. ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3296 (Ar- NH); 3068 (CH anel quinolínico); 2946 e 2831 (as/s CH e CH_2); 1594 (C=N), 1571 e 1524 (C=C anel quinolínico); 1438 (CH_2); 1285 (Ar-C-N); 1123 (C-N); 824, 795 e 765 ($\delta = \text{C-H}$ aromático fora do plano). RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ 2,73 (t, $J = 5,18\text{Hz}$, 2H, CH_2 -16), 2,78 (t, $J = 5,18\text{Hz}$, 2H, CH_2 -15), 2,96 (t, $J = 6,41\text{Hz}$, 2H, CH_2 -13), 3,53 (t, $J = 6,44\text{Hz}$, 2H, CH_2 -12), 6,79 (s, 1H, Ar-H C-3), 7,53 (t, $J = 7,64\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-6), 7,74 (t, $J = 7,64\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-7), 7,93 (d, $J = 8,78\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-8), 8,16 (d, $J = 8,78\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-5). RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD): δ 156,7 (C-2), 97 (C-3), 152,3 (C-4), 129,9 (C-5), 132,4 (C-6), 151,1 (C-7), 134,1 (C-8), 151,8 (C-9), 122,8 (C-10), 124,8 (CF_3), 50,8 (C-12), 44,2 (C-13), 54,8 (C-15), 46,1 (C-16).

2.5.1.5 Síntese de N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(trifluorometil)quinolin-4-yl)ethane-1,2-diamina (7- CF_3 -MAQ).

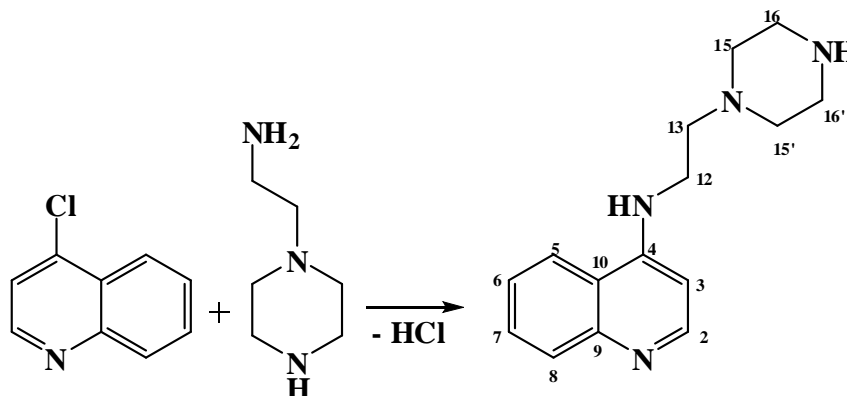


A preparação do composto 7- CF_3 -MAQ seguiu a mesma estratégia de síntese do composto 7-Cl-MAQ descrito anteriormente. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração branca, solúvel em metanol. (F.M.: $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_4$; M.M.: $298,31 \text{ g mol}^{-1}$).

Rendimento total: 75%. P.F.: 99°C . RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ 2,79 (t, $J = 4,81\text{Hz}$, 2H, CH_2 -16), 3,07 (t, $J = 5,85\text{Hz}$, 2H, CH_2 -15), 2,83 (t, $J = 4,74\text{Hz}$, 2H, CH_2 -13), 3,55 (t, $J =$

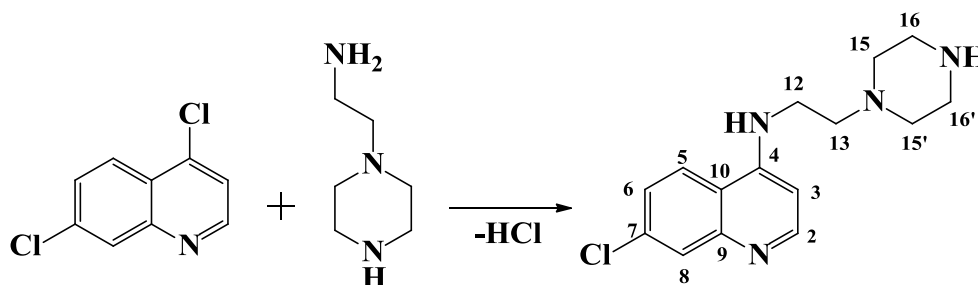
5,85Hz, 2H, CH₂-12), 6,69(d, 1H, Ar-H C-3), 7,51 (t, $J = 8,64\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-6), 8,05 (s, 1H, Ar-H C-8), 8,18 (d, $J = 8,64\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-5), 8,43 (d, $J = 5,57\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-2).

2.5.1.6 Síntese de *N*-(2-(piperazin-1-il)etil)quinolin-4-amina (MAQ-PZ)



A preparação do composto MAQPZ seguiu a mesma estratégia de síntese do composto MAQ descrito anteriormente. Num balão de fundo redondo de 50 mL foram introduzidos 4,7-dicloroquinolina (0,810 g; 4,94 mmol) e 1-(2-aminoetil)piperazina (24,7 mmol). Esta mistura foi aquecida a 80 °C por 1 hora sem agitação até completa solubilização. Em seguida, a temperatura do sistema foi elevada para 135 °C e a mistura conservada sob agitação magnética por 3 horas. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente, basificada com NaOH(a q) 10% (2 mL) e deixada em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e lavado com água destilada (3x 10 mL). O produto foi seco sob vácuo. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração amarela, solúvel em metanol. (F.M.: C₁₅H₂₀N₄; M.M.: 256,35 g mol⁻¹).

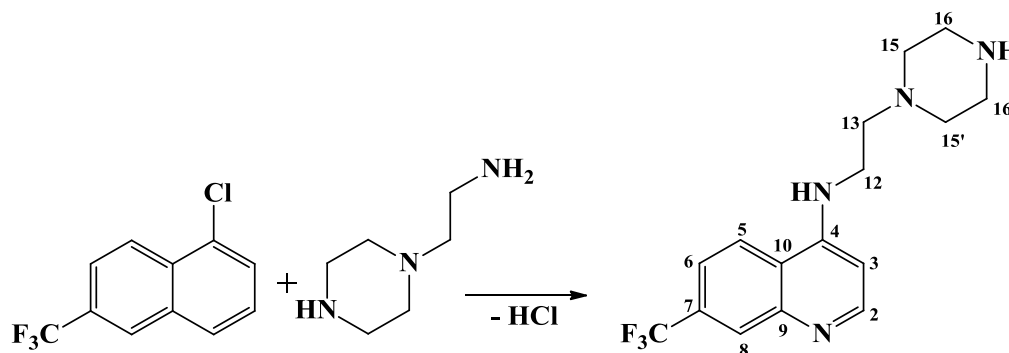
Rendimento total: 75%. P.F.: 89 °C. I.V. ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3291 (Ar- NH); 3071 (CH anel quinolínico); 2964 e 2851 (as/s CH e CH₂); 1618 (C=N), 1573 e 1545 (C=C anel quinolínico); 1449 (CH₂); 1241 (Ar-C-N); 1128 (C-N); 858, 796 e 751 ($\delta = \text{C-H}$ aromático fora do plano). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 2,91 (t, $J = 4,89\text{Hz}$, 2H, CH₂-16 e 16'), 2,59 (t, 2H, CH₂-15 e 15'), 2,76 (t, $J = 6,74\text{Hz}$, 2H, CH₂-13), 3,54 (t, $J = 6,74\text{Hz}$, 2H, CH₂-12), 6,56(d, 1H, Ar-H C-3), 7,47 (t, $J = 7,52\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-6), 7,66 (t, $J = 7,52\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-7), 7,83 (d, $J = 8,23\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-8), 8,08 (d, $J = 8,23\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-5), 8,37 (d, $J = 5,55\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-2).

2.5.1.7 Síntese de 7-cloro-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)quinolin-4-amina (7-Cl-MAQPZ).

A preparação do composto 7-Cl-MAQPZ seguiu a mesma estratégia de síntese do composto 7-Cl-MAQ descrito anteriormente. Num balão de fundo redondo de 50 mL foram introduzidos 4,7-dicloroquinolina (0,978 g; 4,94 mmol) e 1-(2-aminoetil)piperazina (24,7 mmol). Esta mistura foi aquecida a 80 °C por 1 hora sem agitação até completa solubilização. Em seguida, a temperatura do sistema foi elevada para 135 °C e a mistura conservada sob agitação magnética por 3 horas. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente, basificada com NaOH(aq) 10% (2 mL) e deixada em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e lavado com água destilada (3x 10 mL). O produto foi seco sob vácuo. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração amarela, solúvel em metanol. (F.M.: C₁₅H₁₉ClN₄; M.M.: 290,79 g mol⁻¹).

Rendimento total: 78%. P.F. 89 °C I.V. ($\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3257 (Ar- NH); 3018 (CH anel quinolínico); 2959 e 2833 (as/s CH e CH₂); 1614 (C=N), 1579 e 1555 (C=C anel quinolínico); 1549 (CH₂); 1208 (Ar-C-N); 1131 (C-N); 856, 784 e 694 (δ =C-H aromático fora do plano). RMN ¹H (400MHz, CD₃OD): δ 2,58 (t, *J*= S.L., 2H, CH₂-16 e 16'), 2,73 (t, *J*= 4,95Hz, 2H, CH₂-15 e 15'), 2,89 (t, *J*= 6,97Hz, 2H, CH₂-13), 3,49 (t, *J*= 6,92Hz, 2H, CH₂-12), 6,55(d, *J*= 5,53Hz, 1H, Ar-*H* C-3), 7,41 (d, *J*= 8,78Hz, 1H, Ar-*H* C-6), 7,79(s, 1H, Ar-*H* C-8), 8,06 (d, *J*= 8,77Hz, 1H, Ar-*H* C-5), 8,37 (d, *J*= 5,54Hz, 1H, Ar-*H* C-2). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD): δ 148,2(C-2), 98,9 (C-3), 151,2(C-4), 122,8 (C-5), 132,4 (C-6), 151,1 (C-7), 134,1 (C-8), 151,8 (C-9), 122,8 (C-10), 124,8 (CF₃),), 50,8 (C-12), 44,2 (C-13), 54,8 (C-15), 46,1 (C-16).

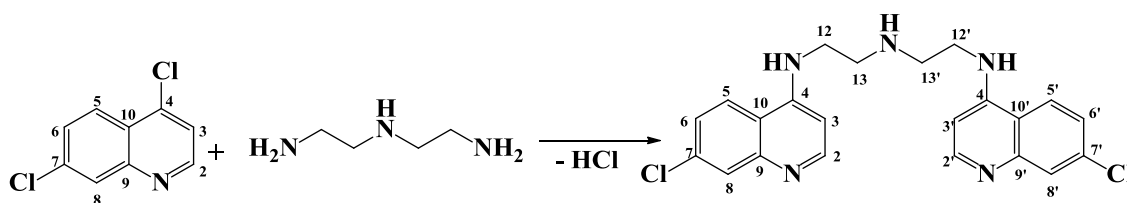
2.5.1.8 Síntese da *N*-(2-piperazin-1-il)etil)-7-(trifluorometil)quinolin-4-amine (7-CF₃-MAQPZ).



A preparação do composto 7-CF₃-MAQPZ seguiu a mesma estratégia de síntese do composto 7-Cl-MAQ descrito anteriormente. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração amarela, solúvel em metanol (F.M.: C₁₆H₁₉F₃N₄; M.M.: 324,34 g mol⁻¹).

Rendimento total: 70%. P.F. 91 °C. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 2,59 (t, *J* = S.L., 4H, CH₂-16 e 16'), 2,76 (t, *J* = 4,99Hz, 4H, CH₂-15 e 15'), 2,91 (t, *J* = 6,86Hz, 2H, CH₂-13), 3,53 (t, *J* = 6,86Hz, 2H, CH₂-12), 6,67(d, *J* = 5,61Hz, 1H, Ar-*H* C-3), 7,65 (d, *J* = 8,86 Hz, 1H, Ar-*H* C-6), 8,10 (s, 1H, Ar-*H* C-8), 8,28 (d, *J* = 8,89Hz, 1H, Ar-*H* C-5), 8,48 (d, *J* = 5,67Hz, 1H, Ar-*H* C-2).

2.5.1.9 Síntese da N¹-(7-cloroquinolin-4-il)-N²-[2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)etil] etano-1,2-diamina (BAQ)

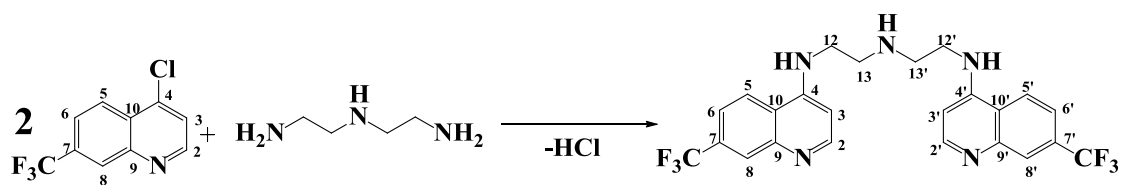


A preparação do composto (BAQ) foi baseada na metodologia proposta por Aguiar et al, 2012. Num balão de fundo redondo de 50 mL foram introduzidos 4,7-dicloroquinolina (1,20 g; 6,00 mmol) e dietilenotriamina (2,0 mmol). Esta mistura foi aquecida a 80 °C por 6 h sob agitação. A temperatura ambiente forma-se um sólido que é solubilizado com MeOH (10 mL) e resfriado a 0 °C. A adição de água (20 mL) nessas condições leva a formação de um precipitado que é separado por precipitação e seco sob vácuo. O produto obtido é recristalizado em metanol/água sob refrigeração por 6h formando um precipitado, que após

seco, apresenta-se como um sólido amorfo de coloração branca (F.M.: $C_{22}H_{21}Cl_2N_5$; M.M.: 426,34g/mol).

Rendimento total: 7,4%. P.F.: 213 °C; I.V. ($\nu_{\text{máx}}\text{cm}^{-1}$): 3272 (Ar- NH); 3071 (CH anel quinolínico); 2901 e 2843 ($\nu_{\text{as/s}} \text{CH/CH}_2$); 1608 (C=N), 1576 e 1531 (C=C anel quinolínico); 1441 (CH_2); 1328 (Ar-CN); 1136 (C-N); 865 e 798 (δ aromático fora do plano). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 2,97 (t, $J= 6,22$ Hz, 2H, CH_2 -13), 3,45 (t, $J=6,24$ Hz, 2H, CH_2 -12), 6,45 (d, $J= 5,69$ Hz, 1H, Ar- H C-3), 7,20 (dd, , $J = 9,01$ Hz, $J =2,14$ Hz, 1H, Ar- H C-6), 7,67 (d, $J= 2,12$ Hz, 1H, Ar- H C-8), 7,87 (d, $J= 8,97$ Hz, Ar- H C-5), 8,24 (d, $J= 5,61$ Hz, 1H, Ar- H C-2). RMN ^{13}C (100 MHz, MeOD): δ 150,9 (C-2), 98,3(C-3), 151,2 (C-4), 122,6(C-5), 124,6 (C-6), 134,9 (C-7), 126,2 (C-8), 148,14 (C-9), 117,3 (C-10), 41,8 (C-12), 46,8 (C-13).

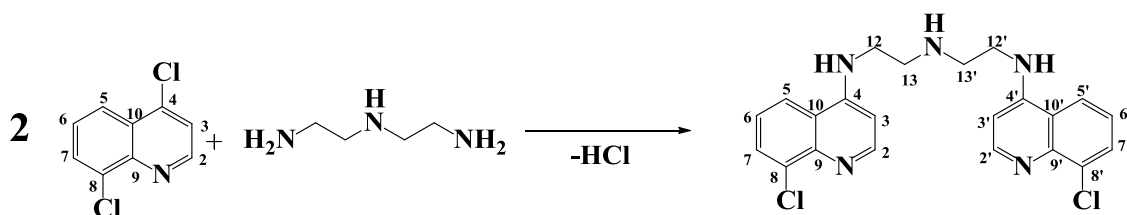
2.5.1.10. Síntese da N^1 -(7-trifluorometil)quinolin-4-il)- N^2 -[2-(7-trifluorometil)-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina (7- CF_3 -BAQ).



A preparação do composto 7- CF_3 -BAQ seguiu a mesma estratégia de síntese do composto BAQ descrito anteriormente. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração branca, solúvel em metanol. (F.M.: $C_{24}H_{21}F_6N_5$; M.M.: 493,45 g mol $^{-1}$).

Rendimento total: 60%. P.F. 201 °C . I.V. ($\nu_{\text{máx}}\text{cm}^{-1}$): 3212 (Ar- NH); 3075 (CH anel quinolínico); 2983 e 2884 ($\nu_{\text{as/s}} \text{CH/CH}_2$); 1595 (C=N), 1563 e 1524 (C=C anel quinolínico); 1470 (CH_2); 1377 (Ar-CN); 1109(C-N); 896 e 809 (δ aromático fora do plano); 1328 (C-F); 814 (δ C-F). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 3,07 (t, $J=5,36$ Hz, 4H, CH_2 -13 e 13'), 3,56 (t, $J=5,36$ Hz, 4H, CH_2 -12 e 12'), 6,56 (d, $J= 5,95$ Hz, 2H, Ar- H C-3 e 3'), 7,51 (d, , $J = 8,93$ Hz, 2H, Ar- H C-6 e 6'), 8,05 (d, 2H, Ar- H C-8 e 8'), 8,19 (d, $J= 8,93$ Hz, Ar- H C-5 e 5'), 8,44 (d, $J= 5,95$ Hz, 2H, Ar- H C-2 e 2').

2.5.1.11 Síntese N¹-(8-cloroquinolin-4-il)-N²-[2-(8-cloroquinolin-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina (8-Cl-BAQ).



A preparação do composto 8-Cl-BAQ seguiu a mesma estratégia de síntese do composto BAQ descrito anteriormente. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração branca, solúvel em metanol. (F.M.: C₂₂H₂₁Cl₂N₅; M.M.: 426,34 g mol⁻¹). Rendimento total: 62%. P.F.: 213 °C. I.V. (ν_{máx}cm⁻¹): 3323 (Ar- NH); 3080 (CH anel quinolínico); 2926 e 2879 (ν_{as/s} CH/CH₂); 1646 (C=N), 1566 e 1535 (C=C anel quinolínico); 1429 (CH₂); 1365 (Ar-CN); 1111 (C-N); 789 e 746 (δ aromático fora do plano); ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 3,01 (t, J=6,28 Hz, 4H, CH₂-13 e 13'), 3,50 (t, J=6,28 Hz, 4H, CH₂-12 e 12'), 6,60 (d, J= 5,59 Hz, 2H, Ar-H C-3 e 3'), 7,23 (t, J = 8,31 Hz, 2H, Ar-H C-6 e 6'), 7,72 (d, J= 7,63 Hz, 2H, Ar-H C-7 e 7'), 7,92 (d, J= 8,53 Hz, Ar-H C-5 e 5'), 8,38 (d, J= 5,53 Hz, 2H, Ar-H C-2 e 2').

2.6 Preparação dos Testes Antimaláricos

2.6.1 Testes Antimaláricos in vitro contra o *P. falciparum*

Nos ensaios de atividade antimalárica foram utilizadas formas sanguíneas de um clone de *P. falciparum* CQ-resistente (W2), utilizando um protocolo previamente padronizado no Laboratório de Malária do Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR).

Para os compostos 7-Cl-MAQ e BAQ foram realizados testes de incorporação de hipoxantina, teste imunoenzimático Anti-HRP-II e a determinação da concentração inibitória de 50% do crescimento do parasito (IC₅₀). Também foram realizados ensaios de citotoxicidade utilizando o Brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazol (MTT) e o vermelho neutro.

O índice de seletividade (IS) dos compostos, 7-Cl-MAQ e BAQ, foram obtidos calculando-se a razão entre o valor de MDL₅₀ e o valor de IC₅₀. Foram considerados ausentes de toxicidade, os valores maiores que 10, Já aquelas com valores inferiores a 10 foram consideradas tóxicas (BÉZIVIN et al., 2003). O ensaio de hemólise e o teste de inibição da formação da cloroquina foram realizados para esses compostos.

Os compostos, 7-CF₃-MAQ e 2-CF₃-MAQ, foram realizados os testes imunoenzimático Anti-HRP_{II} e o teste SYBR Green PCR para a determinação da atividade antimalárica. Também foram obtidos O teste de citotoxicidade e a determinação do índice de seletividade.

2.6.2 Testes antimaláricos *in vivo* contra o *P. berghei*

Os compostos 7-Cl-MAQ, BAQ e 2-CF₃-MAQ foram avaliados quanto à atividade antimalárica *in vivo* através do teste esquizonticida sanguíneo em camundongos infectados com *P. berghei* e pela determinação da parasitemia. A atividade antimalárica foi determinada pela percentagem de redução da parasitemia dos animais tratados em relação aos controles.

2.7 Referências Bibliográficas

AGUIAR, A.C.C., et al. Antimalarial activity and mechanisms of action of two novel 4-aminoquinolines against chloroquine-resistant parasites. **Plos One**, v. 7, i. 5, p. e37259, 2012.

MUSONDA, C.C.; et al. Application of multicomponent reactions to antimalarial drug discovery. Part 2: New antiplasmodial and antitrypanosomal 4-aminoquinoline γ - and δ -lactams via a 'catch and release' protocol. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 5605-5615, 2006.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Introdução

Como citado no capítulo 1, existem vários antimaláricos disponíveis para o tratamento da malária, porém o surgimento de cepas resistentes ao *Plasmodium* tem promovido graves problemas de saúde pública, principalmente em áreas tropicais do mundo.

Como a resistência à quimioterapia vigente é um dos maiores problemas no controle da malária, diversas pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de novos fármacos derivados 4-aminoquinolínicos vêm sendo realizadas. De fato, há uma grande necessidade de desenvolvimento de novos antimaláricos com propriedades aprimoradas, principalmente, frente às cepas resistentes do *P. falciparum*. Além disso, esses novos quimioterápicos devem permitir ao paciente maior facilidade de adesão ao tratamento e, ao mesmo tempo, eficácia e tolerância e reduzindo os custos.

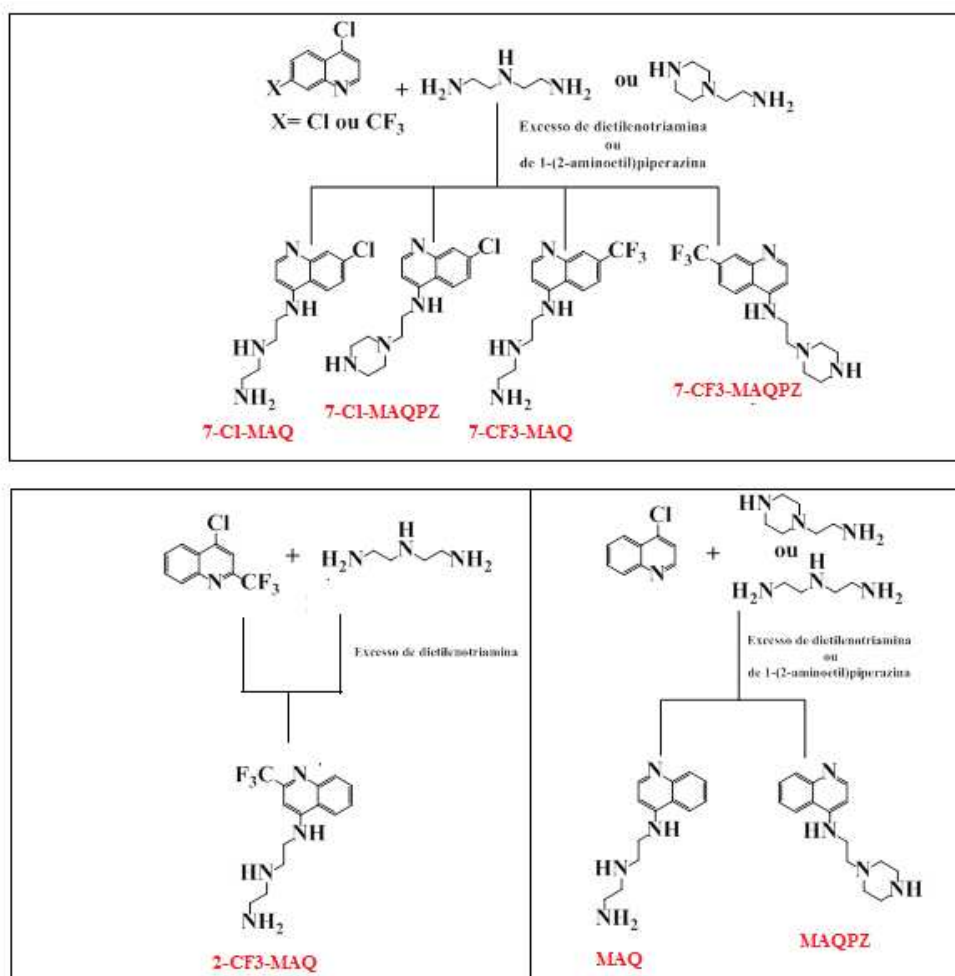
É em face desse contexto que o projeto de pesquisa desta tese de doutorado é uma continuidade das atividades de pesquisa realizadas durante o mestrado. Naquele período, foram sintetizados dois compostos orgânicos (derivados aminoquinolínicos, análogos à cloroquina) que apresentaram excelentes resultados quanto a atividade antimalárica. A partir deles, foram concebidos e preparados outros onze derivados 4-aminoquinolínicos com o intuito de encontrar novos potenciais fármacos. Da mesma forma que a cloroquina, algumas características necessárias ao acúmulo do parasito no vacúolo digestivo foram mantidas, como a presença do grupo 4-aminoquinolínico. Para alguns compostos sintetizados, manteve-se o átomo de cloro ou realizou-se a substituição deste pelo grupo trifluorometil. Essas estruturas diferenciadas poderiam aumentar a ação antimalárica, reduzir a toxicidade e diminuir ou erradicar a resistência ao *Plasmodium*.

Os testes preliminares de avaliação antimalárica dos compostos obtidos estão sendo realizados junto à Fundação Oswaldo Cruz - Centro de Pesquisas René Rachou, Laboratório de Malária coordenado pela Profa. Dra. Antoniana Kretlli. Até o momento, quatro compostos foram analisados pelo grupo.

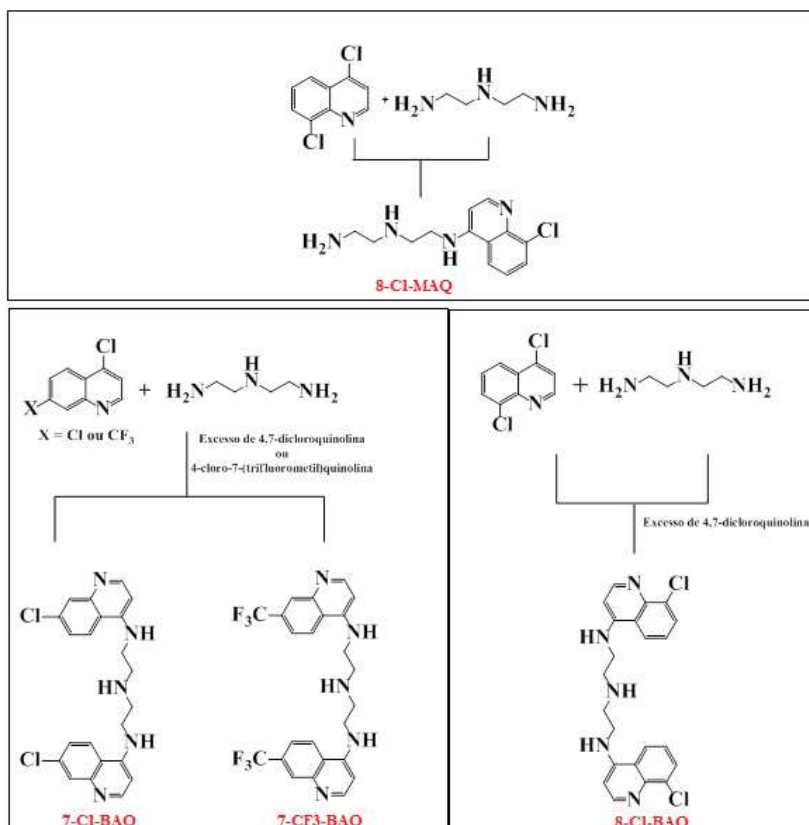
3.2 Síntese dos Compostos Aminoquinolínicos

Todos os compostos aminoquinolínicos foram sintetizados no Grupo de Catálise e Reatividade Química do IQB/UFAL baseando-se em reações de substituição nucleofílica aromática (S_NAr) reportadas na literatura e adaptadas às condições de síntese do laboratório (AGUIAR et al, 2012; MUSONDA et al, 2006; ZHANG et al, 2008). A formação dos compostos seguiu praticamente a mesma estratégia de síntese, através de uma reação de S_NAr sobre o C-4 da porção piridínica presente no anel quinolínico que contém um átomo de cloro como substituinte. Dessa forma, as seguintes substâncias foram obtidas: 7-Cl-MAQ, MAQ, 8-Cl-MAQ, 2-CF₃-MAQ, 7-CF₃-MAQ, 7-Cl-MAQPZ, 7-CF₃-MAQPZ, MAQPZ, BAQ, 7-CF₃-BAQ e 8-Cl-BAQ. Em nenhuma das reações foi empregado solvente. Houve apenas a utilização dos reagentes diferenciando-se na relação estequiométrica (ver esquemas 3.1 e 3.2).

Esquema 3.1. Derivados 4-aminoquinolínicos



Esquema 3.2. Derivados 4-aminoquinolínicos



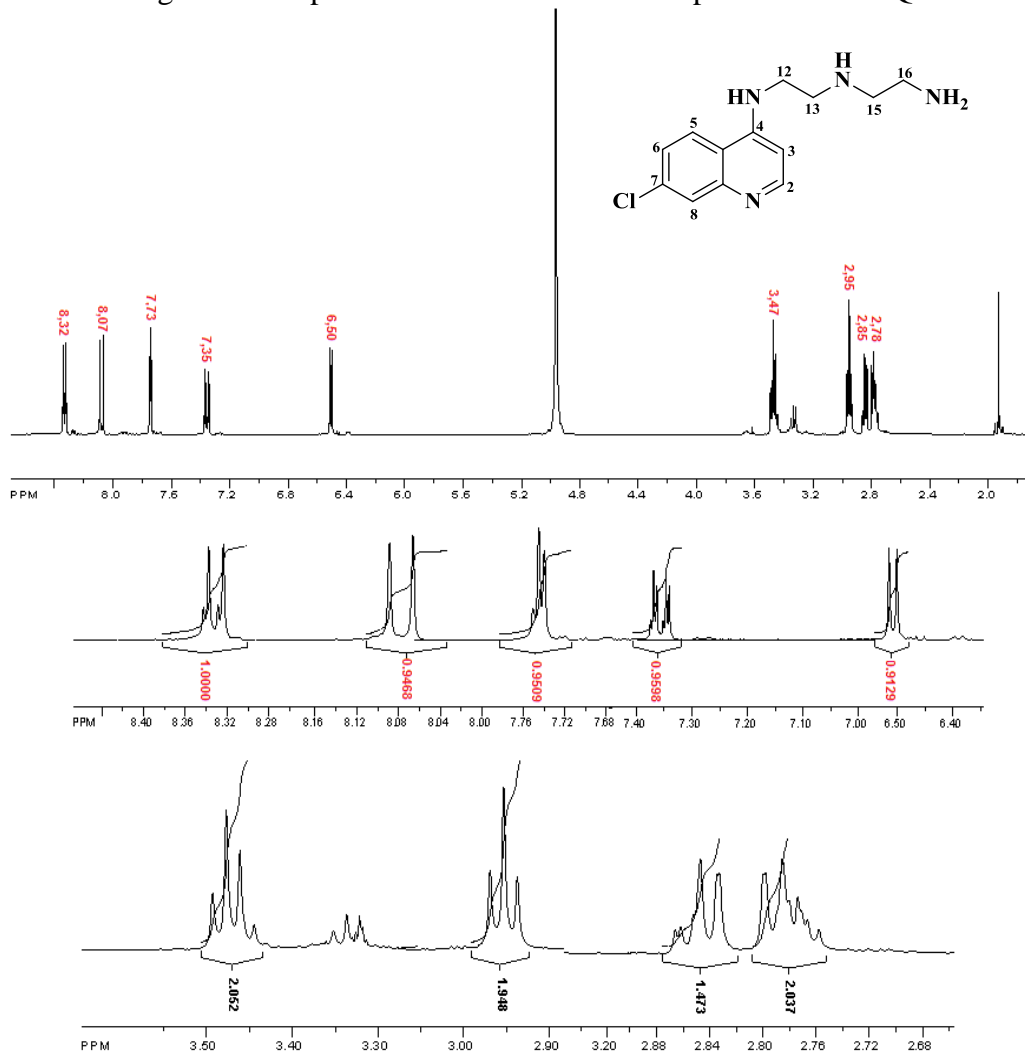
3.3 Caracterização dos Compostos Aminoquinolínicos

A síntese do composto 7-Cl-MAQ foi objeto do projeto de mestrado (SANTOS, 2010), desenvolvido, à época, junto ao Grupo de Catálise e Reatividade Química. No período, este foi obtido com rendimento moderado (45%), contudo, durante as práticas no desenvolvimento deste projeto, as técnicas de purificação foram aperfeiçoadas e o referido composto pôde ser com um rendimento de 80%.

O composto 7-Cl-MAQ foi identificado por diversas técnicas analíticas. Dados de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H (ver Figura 3.1 e Tabela 3.1) comprovam claramente a formação do composto, em que são identificados os cinco sinais relativos aos hidrogênios aromáticos, com deslocamentos químicos (δ) entre 8,32 e 6,5 *ppm*, e quatro sinais para os hidrogênios metilênicos (com δ entre 3,47 e 2,78 *ppm*). Os sinais dos hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio não apresentam integração equivalente, pois, há grande probabilidade de troca de H/D com o solvente deuterado. Os sinais que se encontram em 3,32 e 4,95 *ppm* são referentes ao solvente deuterado (CD_3OD) utilizado na preparação da amostra.

Tabela 3.1. Dados de RMN ^1H do composto MAQ

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
8,32 (d)	1H	5,62	2
8,07 (d)	1H	9,01	5
7,73 (d)	1H	2,14	8
7,35 (dd)	1H	9,01 e 2,14	6
6,50 (d)	1H	5,71	3
3,70 (s)	-	-	NH amínico
3,47 (t)	2H	6,38	12
2,95 (t)	2H	6,38	13
2,85 (t)	2H	5,76	15
2,78 (t)	2H	5,76	16
1,93 (s)	-	-	NH amínico

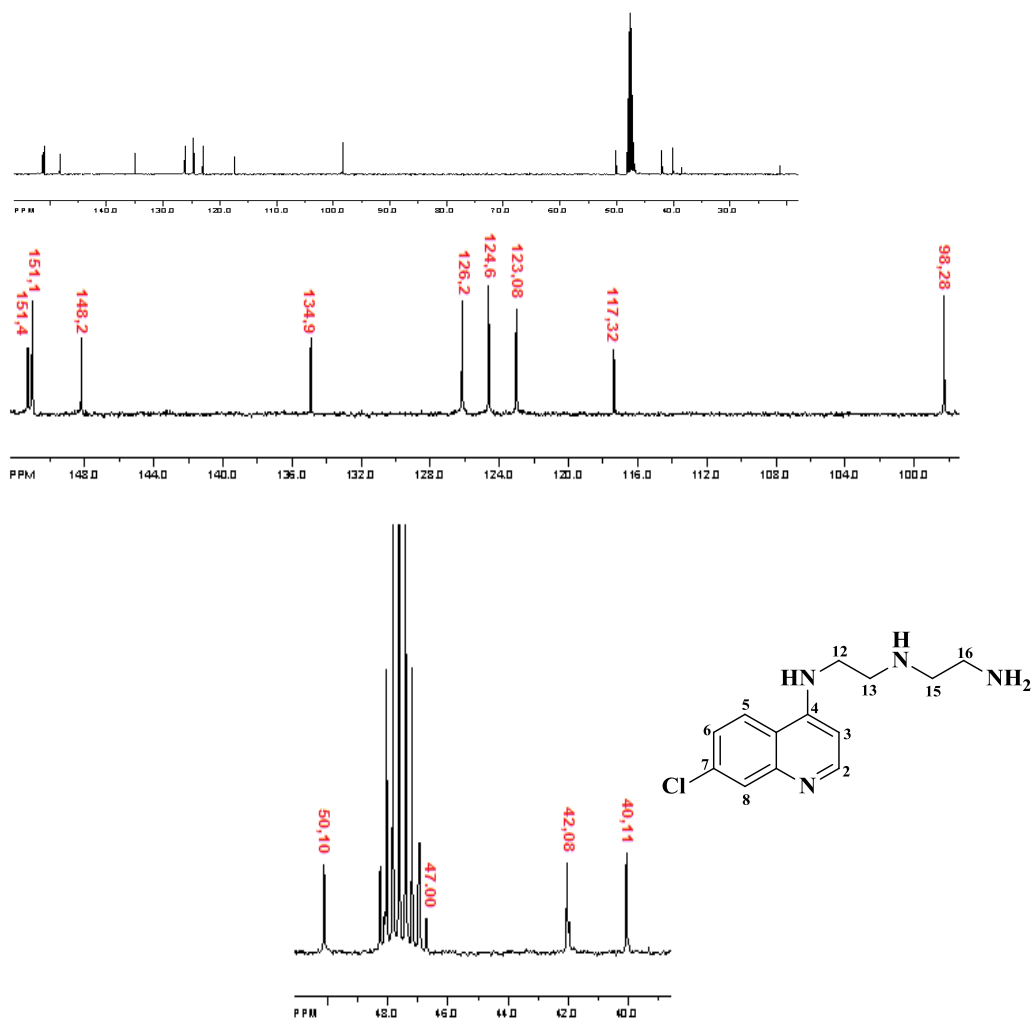
Figura 3.1. Espectro de RMN de ^1H do composto 7-Cl-MAQ

Através de análise por RMN ^{13}C (CD_3OD) (ver Tabela 3.2 e Figura 3.2) é possível identificar os nove sinais dos carbonos do sistema aromático (entre $\delta = 151,5$ e $98,3$ ppm) e os quatro sinais dos carbonos metilênicos (entre $\delta=40,1$ e $50,1$ ppm).

Tabela 3.2. Dados de RMN ^{13}C do composto 7-Cl-MAQ.

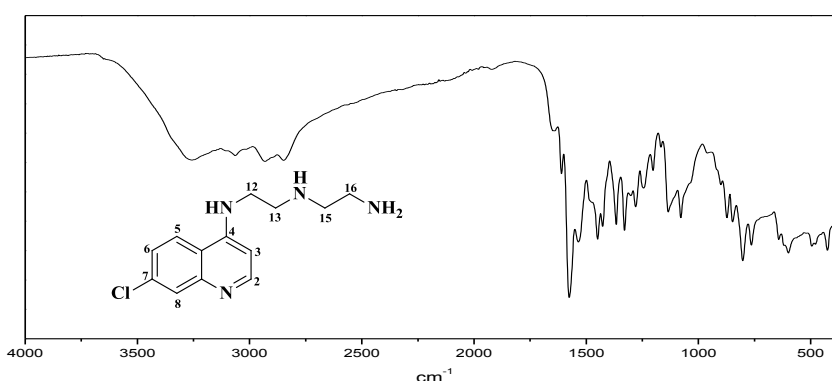
δ	Atribuição	δ	Atribuição
151,5	4	50,1	16
151,1	2	47,0	13
148,2	9	42,1	12
134,9	7	40,1	15
126,2	8		
124,6	5		
123,1	6		
117,3	10		
98,3	3		

Figura 3.2. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 7-Cl-MAQ.



O espectro de infravermelho, obtido por ATR, do composto 7-Cl-MAQ (Figura 3.3), mostra as bandas de absorção de estiramento em 3255 (N-H), ~ 3065 (C-H), ~ 1607 (C=N), 1577 e 1528 cm^{-1} (C=C), e as bandas de deformação fora do plano em ~ 874 , 795 e 761 cm^{-1} característico da estrutura aromática (aminoquinolínica). Além destas, a banda de absorção em ~ 1449 cm^{-1} associada à absorção em 1133 cm^{-1} mostra a presença de estiramento CH_2 e C-N respectivamente que confirmam a presença da cadeia alifática do composto 7-Cl-MAQ.

Figura 3.3. Espectro na região do infravermelhado composto 7-Cl-MAQ.

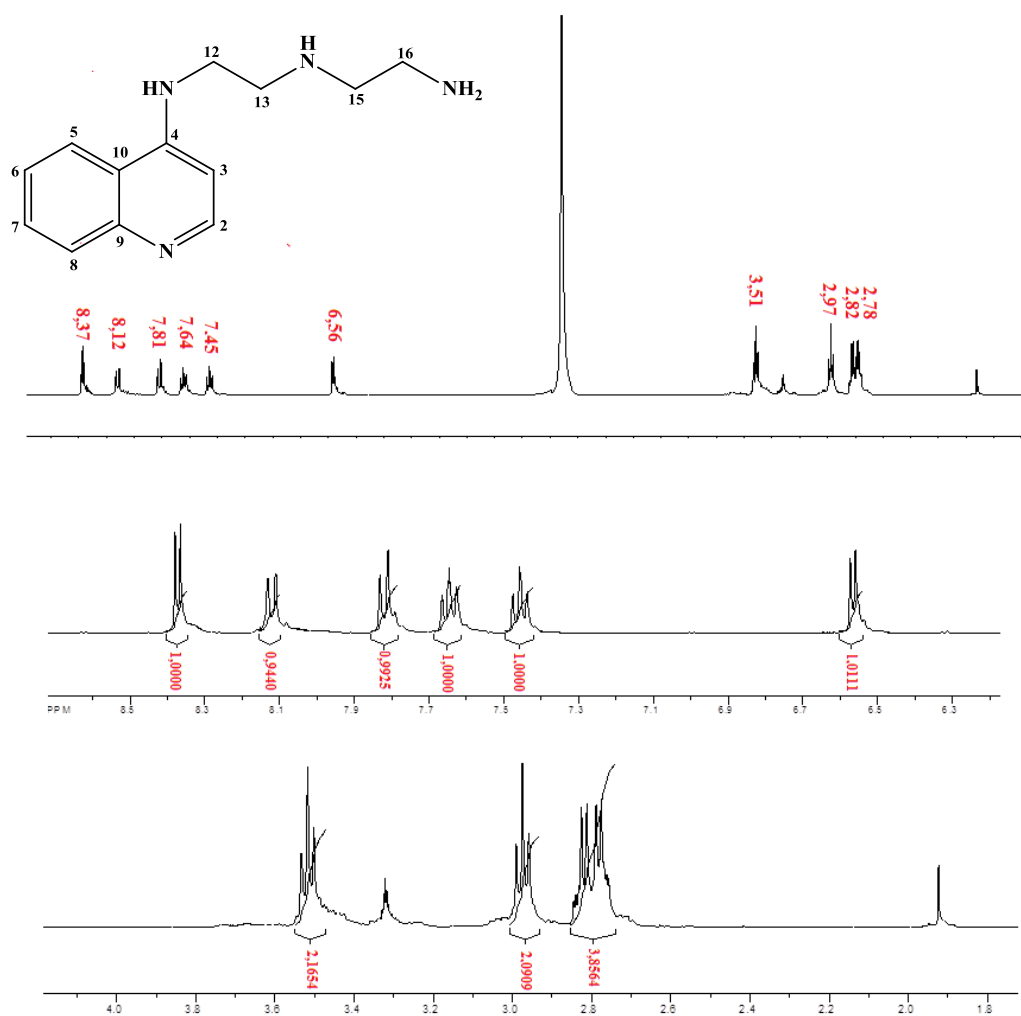


Da mesma forma que no composto 7-Cl-MAQ, o composto MAQ foi caracterizado por RMN de ^1H . No espectro (Figura 3.4 e Tabela 3.3) observou-se seis sinais para os hidrogênios do anel aromático de multiplicidade duplete (d) e tripleto (t) com deslocamentos químicos entre $\delta = 8,37$ e $6,56$ ppm e quatro sinais para os hidrogênios metilílicos (com δ entre 3,51 e 2,78 ppm).

Tabela 3.3. Dados de RMN ^1H do composto MAQ em CD_3OD .

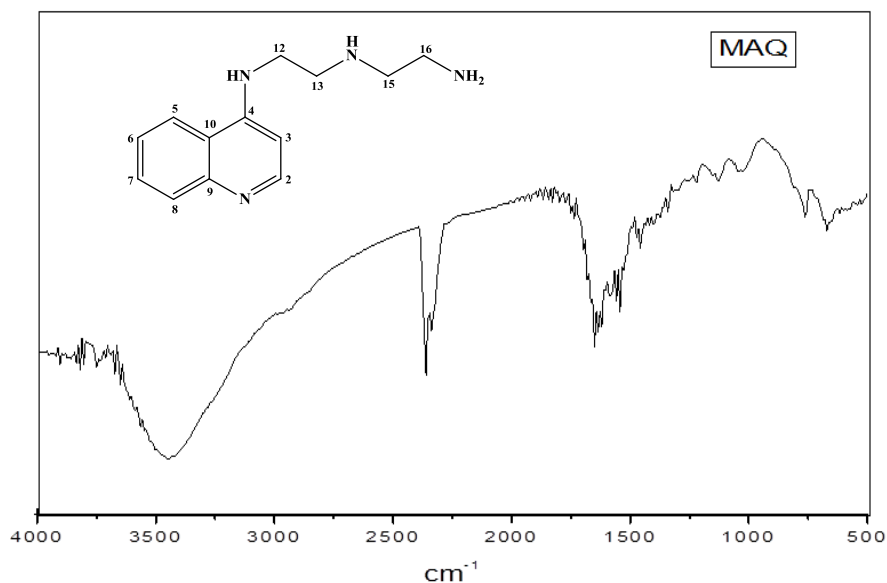
δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
8,37 (d)	1H	5,72	2
8,12 (d)	1H	9,04	5
7,81 (d)	1H	9,04	8
7,64(t)	1H	7,88	7
7,45 (t)	1H	7,88	6
6,56 (d)	1H	5,76	3
3,51 (t)	2H	6,57	12
2,97 (t)	2H	6,56	13
2,82 (t)	2H	5,42	15
2,78 (t)	2H	5,32	16
1,93 (s)	-	-	NH amínico

Figura 3.4. Espectro de RMN de ^1H do composto MAQ em CD_3OD .



O espectro de infravermelho, obtido por KBr, do composto MAQ (Figura 3.5), apresenta as bandas de absorção de estiramento em 33448 (N-H), $\sim 3066\text{ cm}^{-1}$ (C-H), ~ 1650 (C=N), 1638 e 1459 cm^{-1} (C=C), e as bandas de deformação fora do plano em ~ 808 , 766 e 671 cm^{-1} característico da estrutura aromática (aminoquinolínica). Além destas, a banda de estiramento em $\sim 1549\text{ cm}^{-1}$ está associada ao grupo CH_2 . Também há a presença de outra banda (1119 cm^{-1}) referente à C-N. Essas duas últimas bandas confirmam a presença da cadeia alifática do composto MAQ.

Figura 3.5. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-KBr, do composto MAQ.



Pela análise por RMN ^{13}C (CD_3OD) (ver Tabela 3.4 e Figura 3.6) foram atribuídos os nove sinais dos carbonos do sistema aromático (entre $\delta = 151,3$ e 98ppm) e os quatro sinais dos carbonos metilênicos (entre $\delta=39,6$ e $56,7\text{ ppm}$).

Tabela 3.4. Dados de RMN ^{13}C do composto MAQ

δ	Atribuição	δ	Atribuição
151,3	4	56,7	15
149,4	2	49,08	12
147,1	9	42,08	13
129,1	7	39,6	16
127,2	8		
124,4	6		
121,1	5		
119,6	10		
98	3		

Para o composto 8-Cl-MAQ, a caracterização foi realizada por RMN de ^1H . No espectro (Figura 3.7 e Tabela 3.5) verificam-se cinco sinais que correspondem aos hidrogênios do anel aromático. Desses sinais, quatro apresentam multiplicidade duplete (d) e um triplete (t) com δ entre 8,45 e 6,64 ppm e quatro sinais são atribuídos aos hidrogênios metilênicos adjacentes ao nitrogênio do grupo amino (entre $\delta = 3,53$ e $\delta = 2,77\text{ ppm}$).

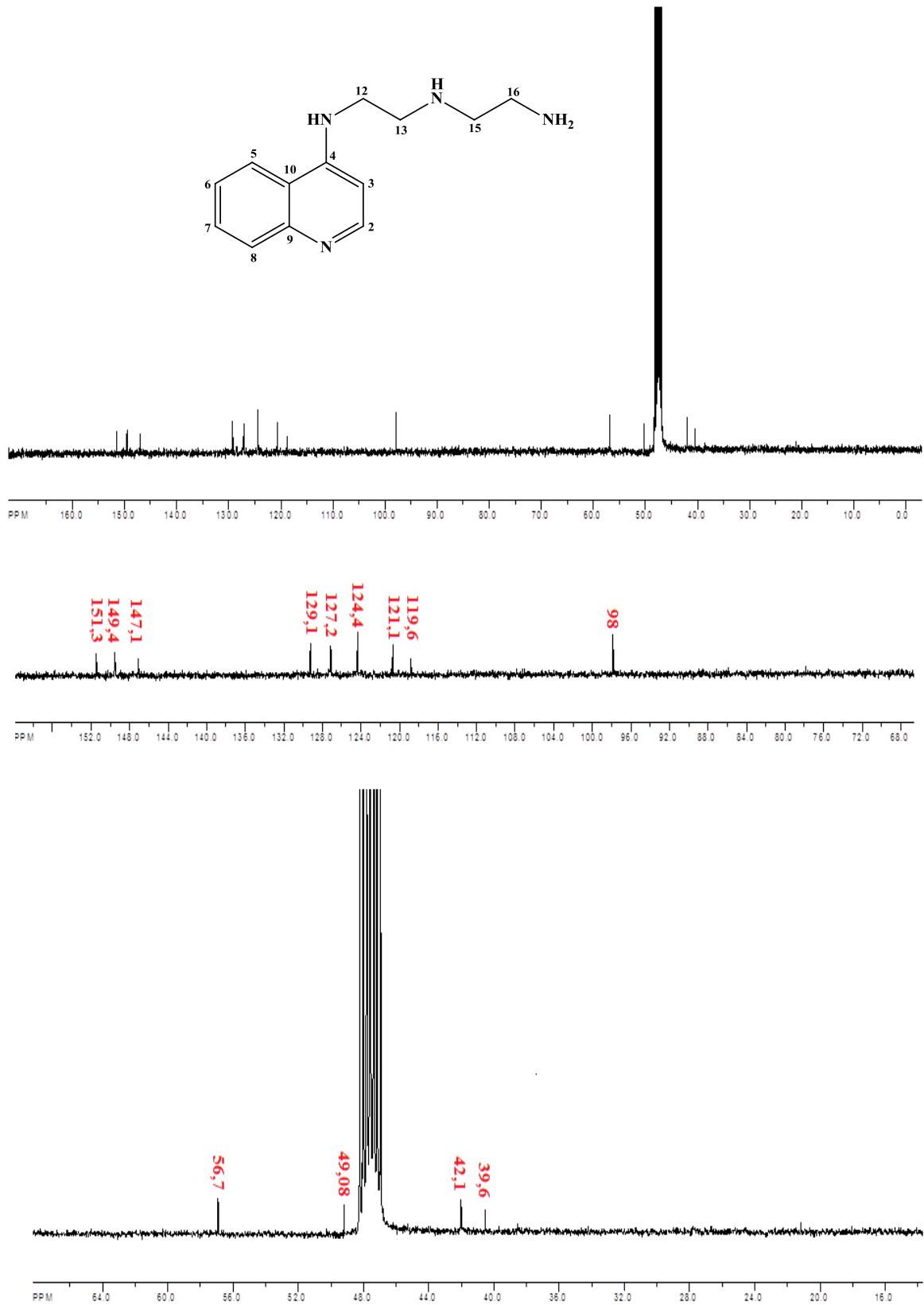
Figura 3.6. Espectro de RMN de ^{13}C do composto MAQ em CD_3OD .

Figura 3.7. Espectro de RMN de ^1H do composto 8-Cl-MAQ em CD_3OD .

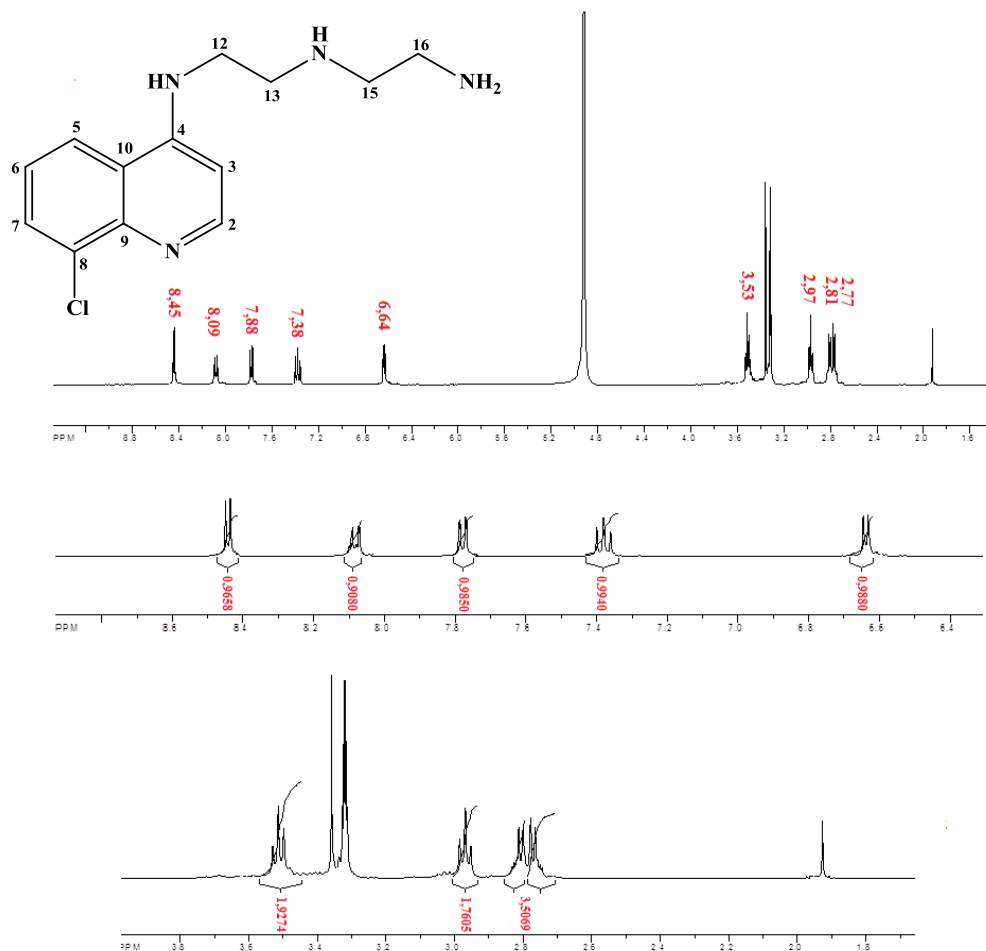


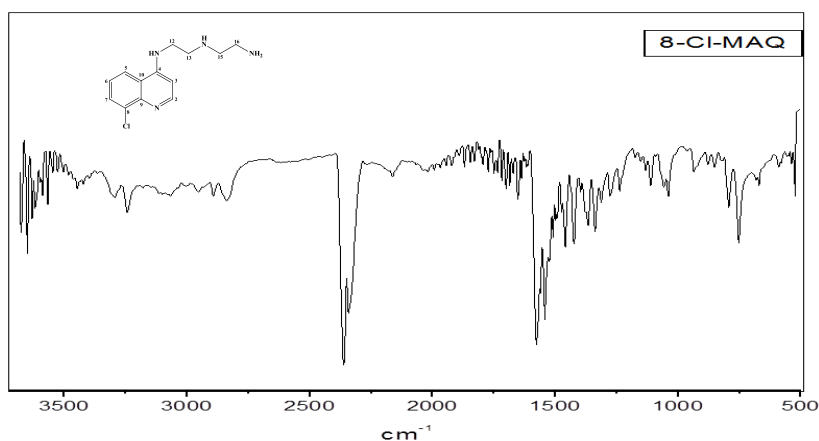
Tabela 3.5. Dados de RMN ^1H do composto 8-Cl-MAQ

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
8,45(d)	1H	5,59	2
8,09 (d)	1H	8,50	5
7,88 (d)	1H	7,57	7
7,38(t)	1H	7,98	6
6,64 (d)	1H	5,65	3
3,53 (t)	2H	6,59	12
2,97 (t)	2H	6,47	13
2,81 (t)	2H	5,01	15
2,77 (t)	2H	5,03	16

O espectro de FT-IR do composto 8-Cl-MAQ foi obtido por ATR (Figura 3.8). Esse espectro mostra as bandas de absorção de estiramento em 3449 (N-H), ~ 3068 (C-H), 1652 (C=N), 1634 e 1459 cm^{-1} e as bandas de deformação fora do plano em ~ 785 , 762 e 661 cm^{-1}

característico do anel quinolínico. As bandas de absorção em ~ 1344 e 1109 cm^{-1} referentes aos grupos CH_2 e C-N , respectivamente. Dessa forma, confirma a presença da cadeia alifática do composto.

Figura 3.8. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 8-Cl-MAQ.



A Figura 3.9 apresenta o espectro de RMN ^1H do composto 7-Cl-MAQPZ (Tabela 3.6). Nesse espectro pode observar a presença de cinco sinais que correspondem aos hidrogênios do anel aromático com deslocamento químico entre ($8,37$ e $6,55\text{ ppm}$). O singlete observado em $7,79\text{ ppm}$ corresponde ao hidrogênio vizinho ao átomo de cloro. Foram atribuídos quatro sinais referente aos hidrogênios metilênicos presentes na estrutura com multiplicidade de tripleto (t) e com δ entre $3,58$ e $2,75\text{ ppm}$. O menor número de sinais observados para os hidrogênios metílicos presentes na piperazina deve-se a simetria desse composto heterocíclico.

Em $2,58\text{ ppm}$, um sinal largo referente aos hidrogênios metilênicos ligados ao átomo de nitrogênio da piperazina aparecem sobrepostos dificultando a identificação dos mesmos.

Para o composto 7-Cl-MAQPZ, o espectro de infravermelho, obtido por ATR (Figura 3.10), apresenta as bandas de absorção de estiramento em 3257 (Ar-N-H), $\sim 3018\text{ cm}^{-1}$ (C-H), ~ 1614 (C=N), 1579 e 1555 cm^{-1} (C=C), e as bandas de deformação fora do plano em ~ 856 , 784 e 694 cm^{-1} característico da estrutura aminoquinolínica. Além destas, a banda de absorção em $\sim 1549\text{ cm}^{-1}$ refere-se ao estiramento CH_2 e 1131 cm^{-1} está associada ao estiramento C-N.

Tabela 3.6. Dados de RMN ^1H do composto 7-Cl-MAQPZ

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
8,37 (d)	1H	5,54	2
8,06 (d)	1H	8,77	5
7,79 (s)	1H	-	8
7,41(d)	1H	8,78	6
6,55 (d)	1H	5,53	3
3,49 (t)	2H	6,92	12
2,89 (t)	2H	6,97	13
2,73 (t)	2H	4,95	15 e 15'
2,58 (s)	2H	S.L.	16 e 16'

O composto 7-Cl-MAQPZ, através do espectro de infravermelho obtido por ATR, (Figura 3.10), mostra as bandas de absorção de estiramento em $3257(\text{Ar-N-H})$, $\sim 3018\text{ cm}^{-1}(\text{C-H})$, $\sim 1614(\text{C=N})$, 1579 e $1555\text{ cm}^{-1}(\text{C=C})$, e as bandas de deformação fora do plano em ~ 856 , 784 e 694 cm^{-1} característico da estrutura aromática (aminoquinolínica). Além destas, a banda de absorção em $\sim 1449\text{ cm}^{-1}$ associada à absorção em 1128 cm^{-1} mostra a presença de estiramento CH_2 e C-N que confirmam a presença da cadeia alifática do composto, respectivamente.

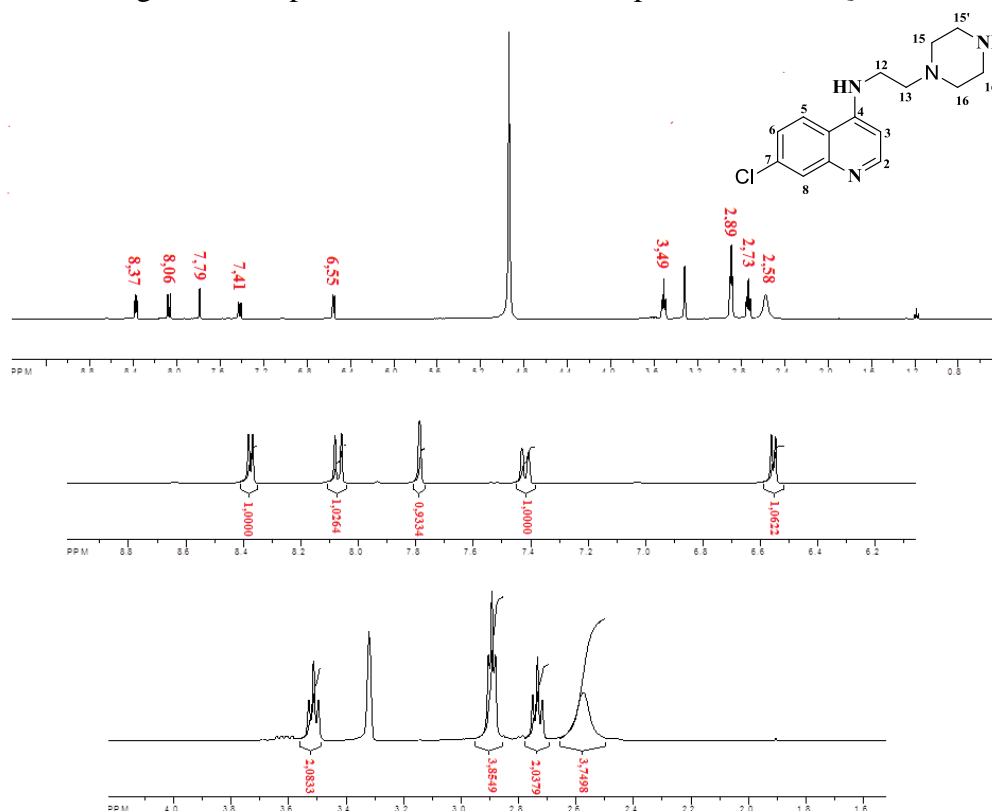
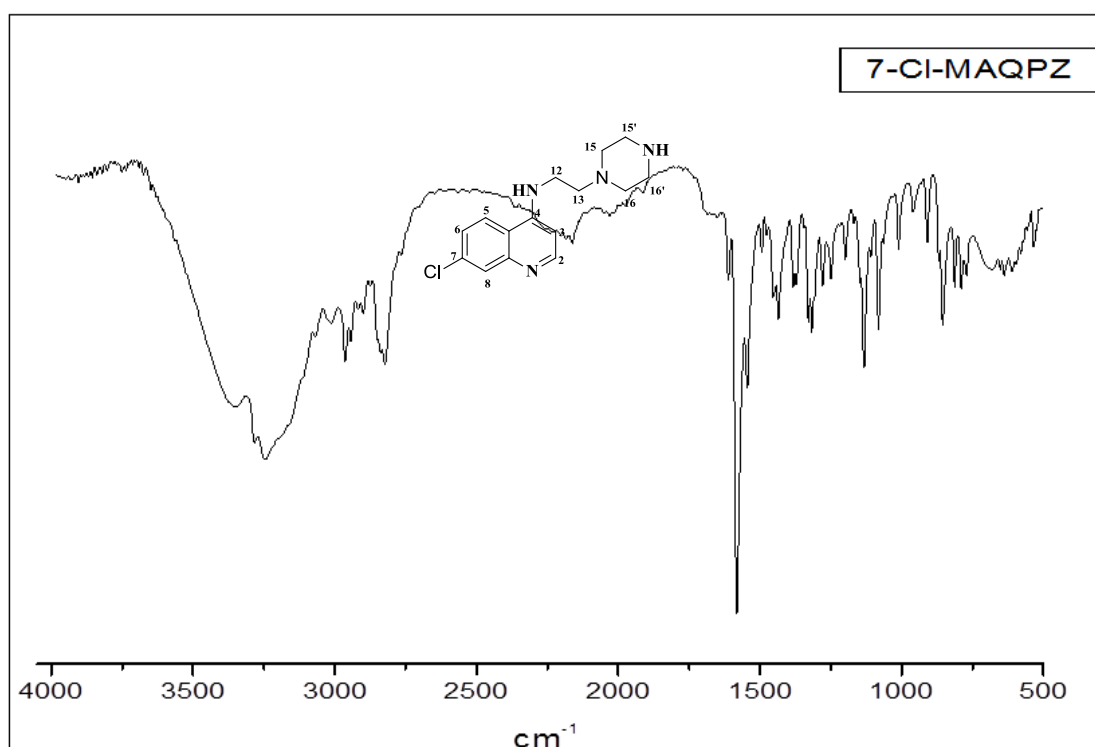
Figura 3.9. Espectro de RMN ^1H do composto 7-Cl-MAQPZ

Figura 3.10. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 7-Cl-MAQ

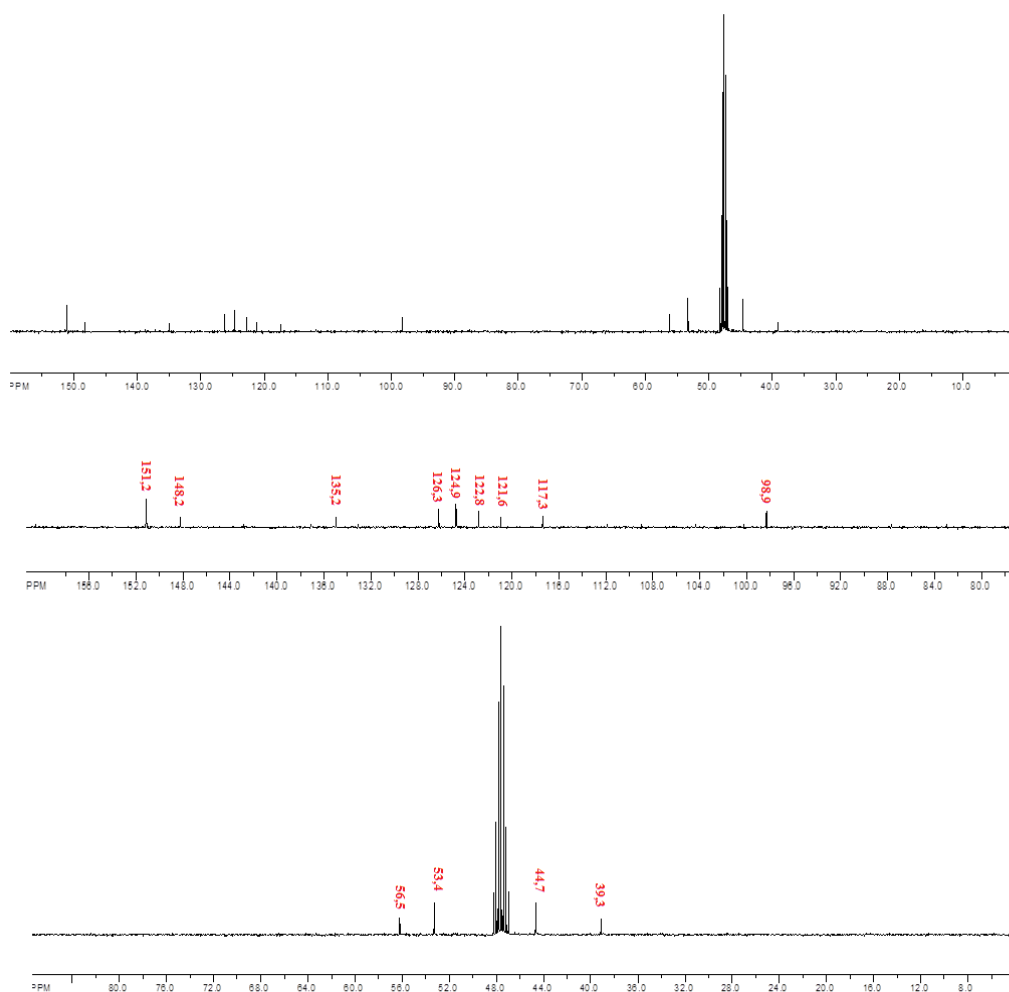


Através de análise por RMN ^{13}C (CD_3OD) (ver Tabela 3.7 e Figura 3.11) é possível identificar os nove sinais dos carbonos do sistema aromático (entre $\delta = 151,2$ e $98,9$ ppm) e os quatro sinais dos carbonos metilênicos (entre $\delta=56,5$ e $39,3$ ppm).

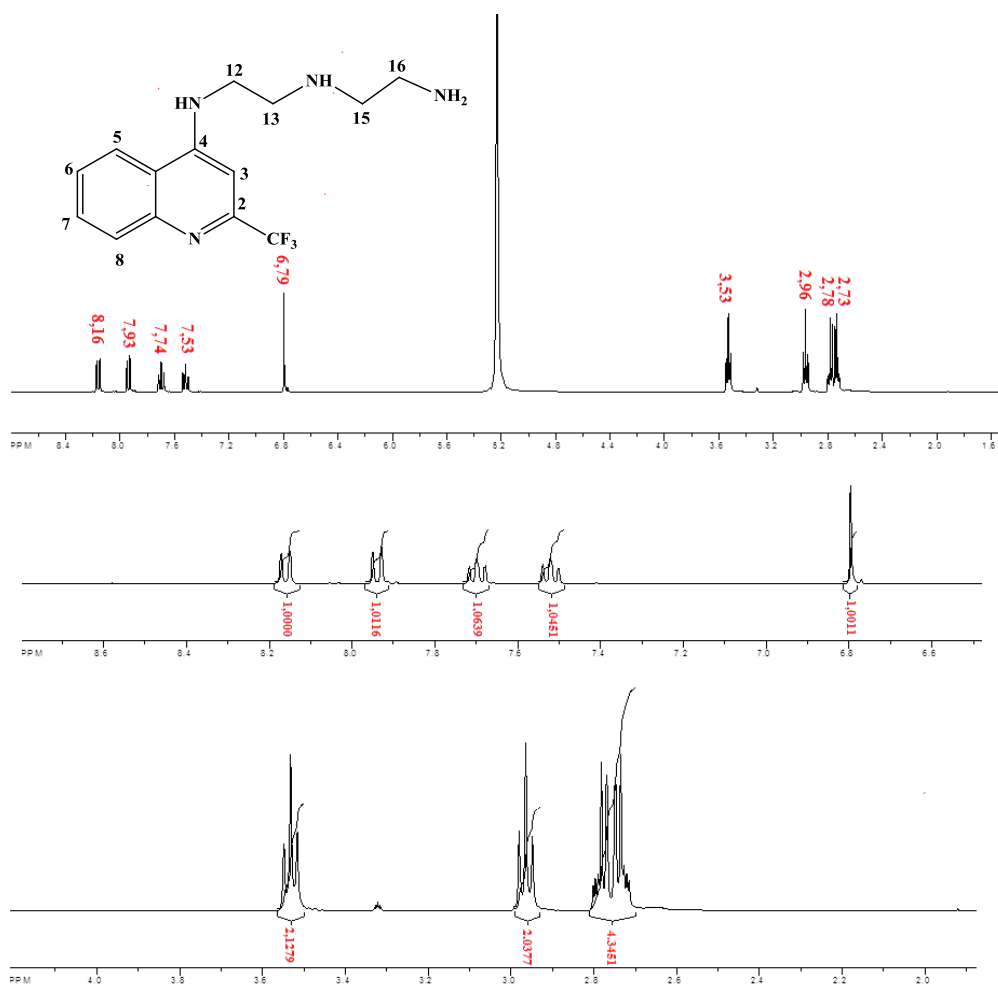
Tabela 3.7. Dados de RMN ^{13}C do composto 7-ClMAQPZ

δ	Atribuição	δ	Atribuição
151,2	4	56,5	15 e 15'
148,2	2	53,4	13
135,2	9	44,7	12
126,3	7	39,3	16 e 16'
124,9	8		
122,8	5		
121,6	6		
117,3	10		
98,9	3		

Figura 3.11. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 7-Cl-MAQPZ.



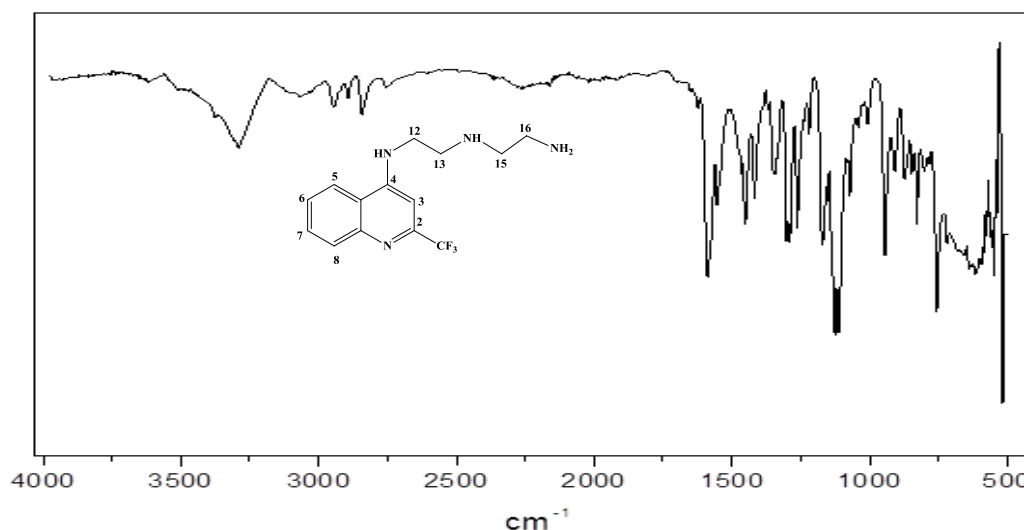
Na Figura 3.12, observam-se no espectro de RMN ^1H os sinais dos hidrogênios aromáticos e metilênicos do composto 2- CF_3 -MAQ. Cinco sinais, com δ entre 8,16 e 6,79 ppm (Tabela 3.8), foram atribuídos aos hidrogênios aromáticos. Em 6,79 ppm é observado um singlete atribuído ao hidrogênio aromático vizinho ao grupo trifluorometil. Quatro tripletos (na faixa entre 3,53 e 2,73 ppm) são observados no espectro que correspondem aos hidrogênios ligados aos carbonos metilênicos.

Figura 3.12. Espectro de RMN ^1H do composto 2- CF_3 -MAQTabela 3.8. Dados de RMN ^1H do composto 2- CF_3 -MAQ

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
8,16 (d)	1H	8,78	5
7,93 (d)	1H	8,78	8
7,74 (t)	1H	7,64	7
7,53 (t)	1H	7,64	6
6,79 (s)	1H	-	3
3,53 (t)	2H	6,41	12
2,96 (t)	2H	6,41	13
2,78 (t)	2H	5,18	15
2,73 (t)	2H	5,18	16

O espectro de FT-IR, obtido por ATR, do composto 2-CF₃-MAQ (Figura 3.13), mostra as bandas de absorção de estiramento em 3296 (Ar-N-H), ~3068 cm⁻¹(C-H), ~1594 (C=N), 1571 e 1524 cm⁻¹ (C=C), e as bandas de deformação fora do plano em ~957, 824 e 765 cm⁻¹ característico da estrutura aromática (aminoquinolínica). Além destas, a banda de absorção em ~1438 cm⁻¹ associada à absorção em 1123 cm⁻¹ mostra a presença de estiramento CH₂ e C-N que confirmam a presença da cadeia alifática do composto, respectivamente

Figura 3.13. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 2-CF₃-MAQ.

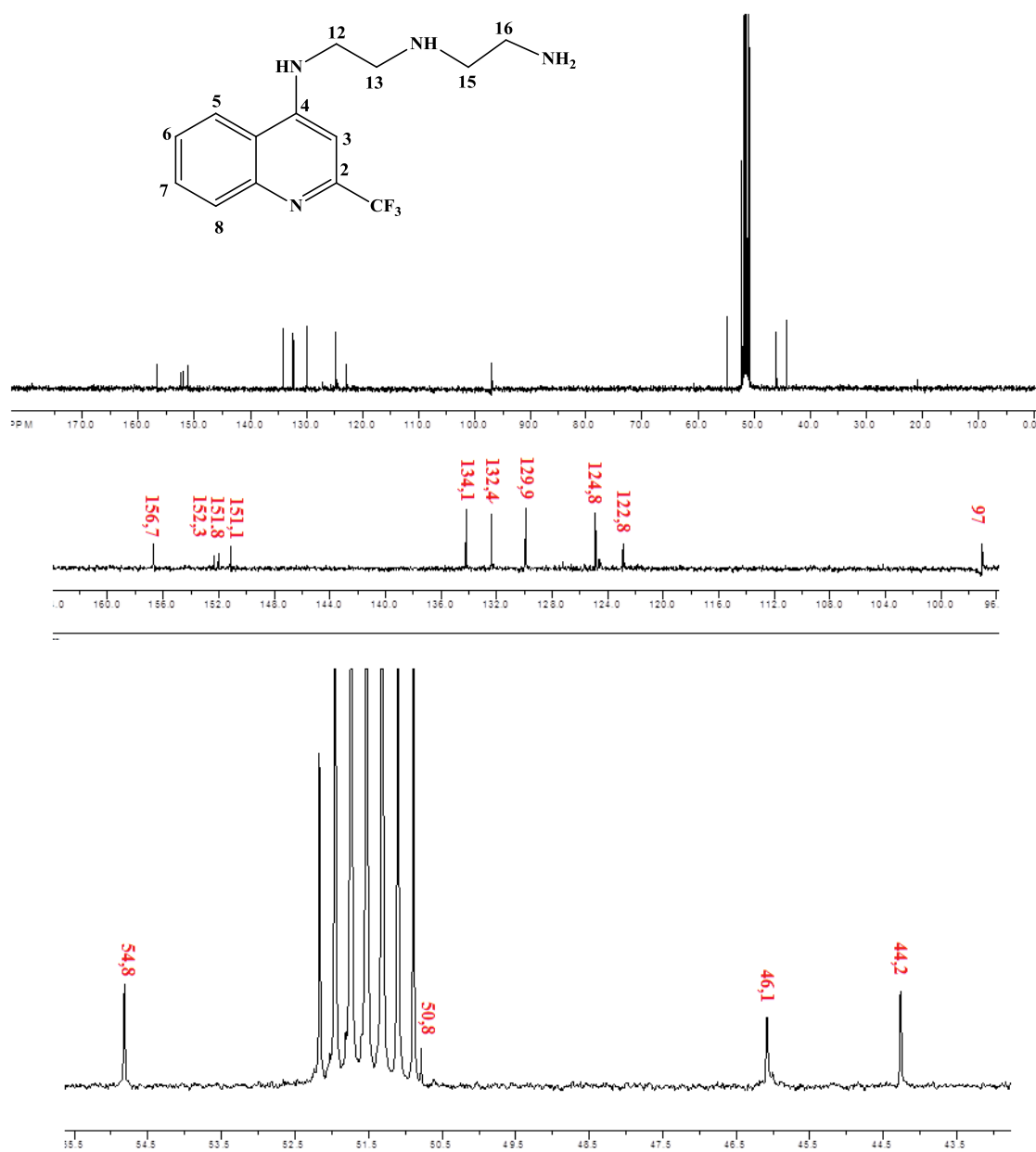


Através de análise por RMN ¹³C (CD₃OD) (ver Tabela 3.9 e Figura 3.14) é possível identificar os nove sinais dos carbonos do sistema aromático (entre $\delta = 156,7$ e 97 ppm) e os quatro sinais dos carbonos metilênicos (entre $\delta=54,8$ e $44,2$ ppm).

Tabela 3.9. Dados de RMN ¹³C do composto 2-CF₃-MAQ

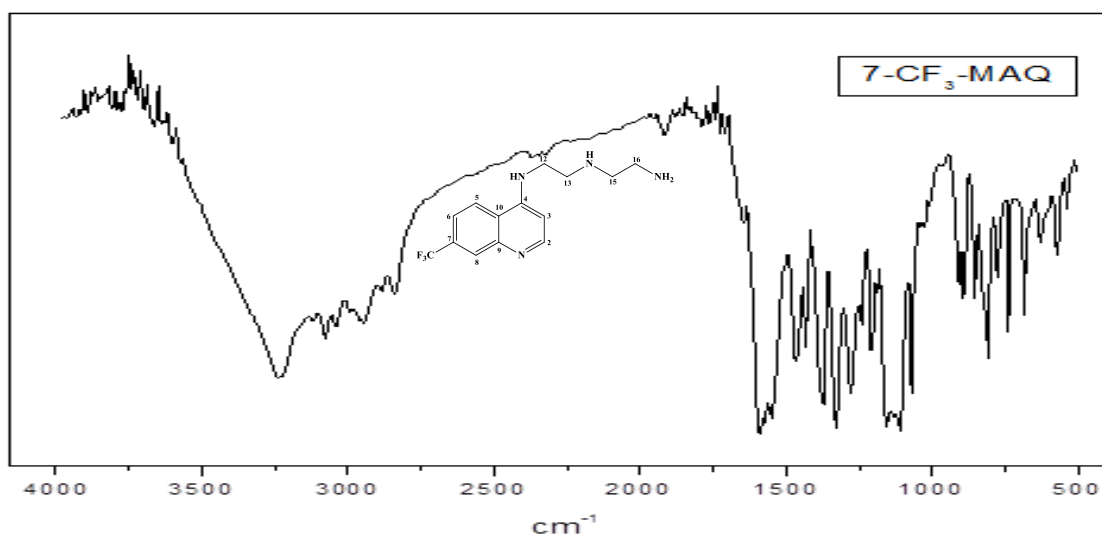
δ	Atribuição	δ	Atribuição
156,7	4	97	3
152,3	2	54,8	16
151,8	9	50,8	13
151,1	7	46,1	12
134,1	8	44,2	15
132,4	5		
129,9	CF ₃		
124,8	10		
122,8	3		

Figura 3.14. Espectro de RMN ^{13}C do composto 2-CF₃-MAQ



O espectro de infravermelho do composto 7-CF₃-MAQ (Figura 3.15), apresenta as bandas de absorção de estiramento em 3296 (Ar-N-H), $\sim 3068\text{ cm}^{-1}$ (C-H), ~ 1594 (C=N), 1571 e 1524 cm^{-1} (C=C), e as bandas de deformação fora do plano em ~ 957 , 824 e 765 cm^{-1} característico da estrutura aromática (aminoquinolínica). Além destas, a banda de absorção em $\sim 1438\text{ cm}^{-1}$ associada à absorção em 1123 cm^{-1} mostra a presença de estiramento CH₂ e C-N que confirmam a presença da cadeia alifática do composto, respectivamente.

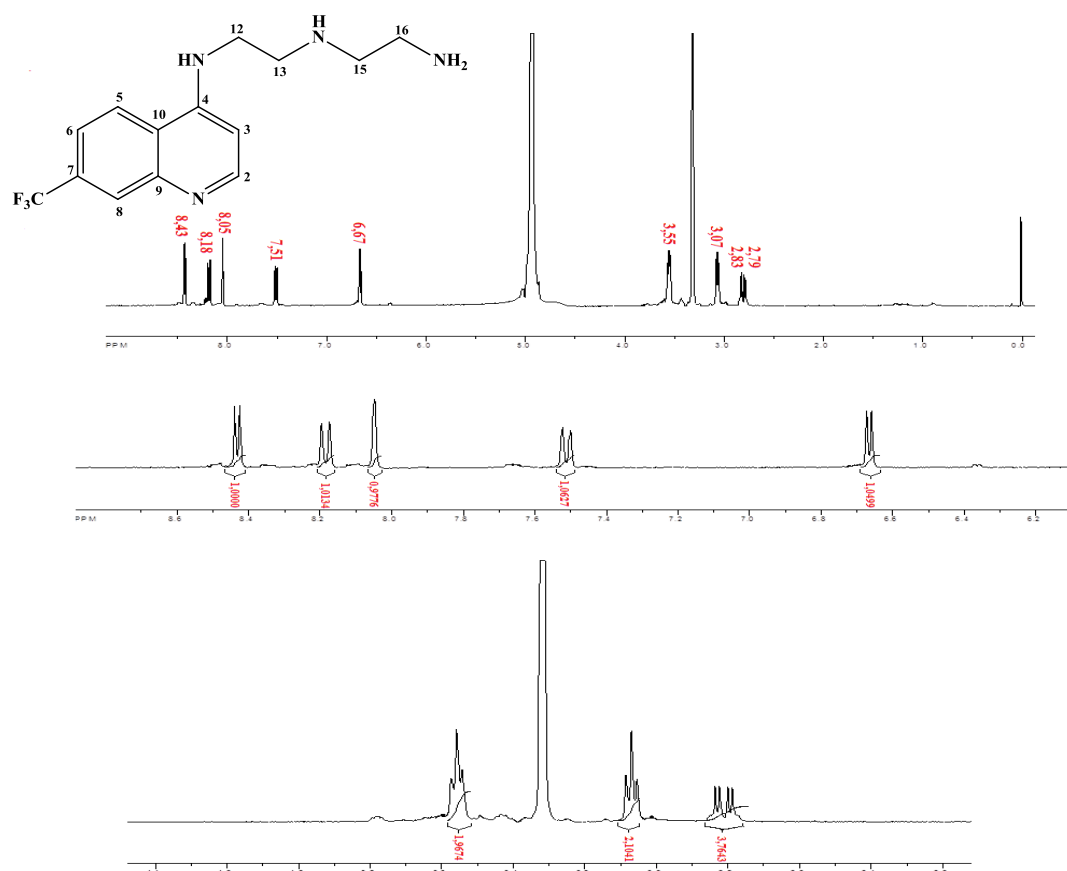
Figura 3.15. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 2-CF₃-MAQ.



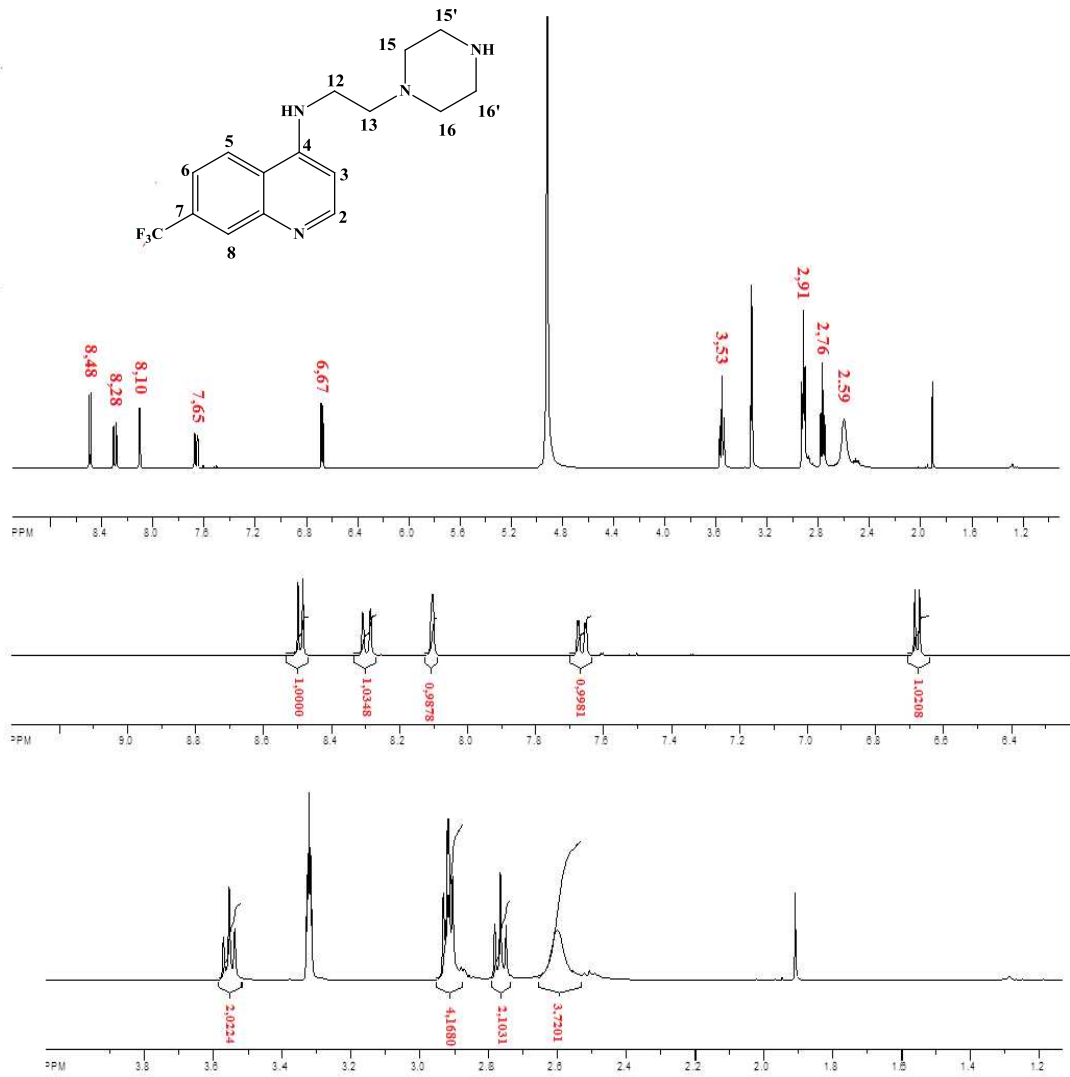
A Figura 3.16 apresenta o espectro de RMN ¹H do composto 7-CF₃-MAQ (Tabela 3.10). Nesse espectro pode observar a presença de cinco sinais que correspondem aos hidrogênios do anel aromático com deslocamento químico entre (8,43 e 6,67 ppm). O singlete observado em 8,05ppm corresponde ao hidrogênio vizinho ao grupo trifluorometil. Foram atribuídos quatro sinais (quatro tripletos) referentes aos hidrogênios metilênicos presentes na estrutura com deslocamento químico entre 3,58 e 2,75 ppm.

Tabela 3.10. Dados de RMN ¹H do composto 7-CF₃-MAQ

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
8,43 (d)	1H	5,57	2
8,18 (d)	1H	8,64	5
8,05 (s)	1H	-	8
7,51 (d)	1H	8,64	6
6,67 (d)	1H	5,57	3
3,55 (t)	2H	5,85	12
3,07 (t)	2H	5,85	13
2,83 (t)	2H	4,74	15
2,79 (t)	2H	4,81	16

Figura 3.16. Espectro de RMN ^1H do composto 7- CF_3 -MAQ

A Figura 3.17 apresenta o espectro de RMN ^1H do composto 7- CF_3 -MAQPZ. Nesse espectro pode observar a presença de cinco sinais (quatro dupletos e um singleto) que correspondem aos hidrogênios do anel aromático com δ entre 8,48 e 6,67 *ppm* (Tabela 3.11). O singleto observado em 8,10 *ppm* corresponde ao hidrogênio vizinho ao átomo ao grupo trifluorometil. Foram atribuídos quatro sinais referentes aos hidrogênios metilênicos presentes na estrutura com multiplicidade de tripleto (t) e com δ entre 3,53 e 2,59 *ppm* (Tabela xx). O menor número de sinais observados para os hidrogênios metilênicos presentes na porção piperazina deve-se a simetria dessa estrutura. Em 2,58 *ppm*, um sinal largo referente aos hidrogênios metilênicos ligados ao átomo de nitrogênio da piperazina aparecem sobrepostos dificultando a identificação dos mesmos.

Figura 3.17. Espectro de RMN ^1H do composto 7- CF_3 -MAQPZTabela 3.11. Dados de RMN ^1H do composto 7- CF_3 -MAQPZ

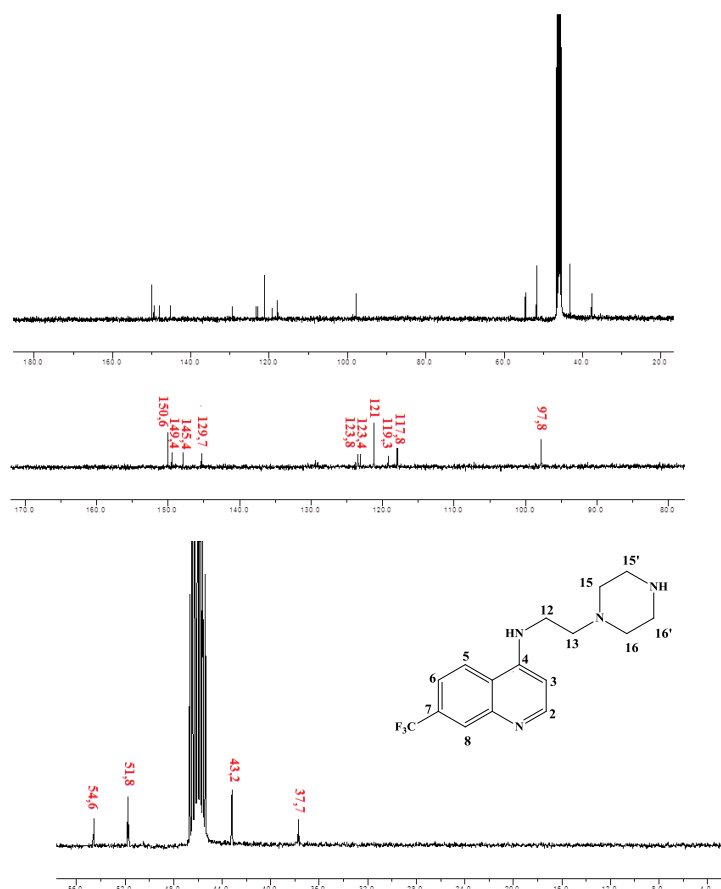
δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
8,48 (d)	1H	5,67	2
8,28 (d)	1H	8,89	5
8,10 (s)	1H	-	8
7,65 (d)	1H	8,86	6
6,67 (d)	1H	5,61	3
3,53 (t)	2H	6,86	12
2,91 (t)	4H	4,99	15 e 15'
2,76(t)	2H	6,86	13
2,59 (t)	4H	S.L.	16 e 16'

A análise por RMN ^{13}C (CD_3OD) para o composto 7- CF_3 -MAQPZ (ver Tabela 3.12 e Figura 3.18) foram identificados os nove sinais dos carbonos do sistema aromático (entre $\delta = 150,6$ e $97,8$ ppm), os quatro sinais dos carbonos metilênicos (entre $\delta = 54,6$ e $37,7$ ppm), além do sinal do carbono pertencente ao grupo trifluorometil ($\delta = 123,4$ ppm).

Tabela 3.12. Dados de RMN ^{13}C do composto 7- CF_3 -MAQPZ

δ	Atribuição	δ	Atribuição
150,6	4	97,8	3
149,4	2	54,6	15 e 15'
145,4	9	51,8	13
129,7	7	43,2	12
123,8	8	37,7	16 e 16'
123,4	CF_3		
121	5		
119,3	6		
117,8	10		

Figura 3.18. Espectro de RMN ^{13}C do composto 7- CF_3 -MAQPZ



O composto MAQPZ foi identificado por técnica de RMN ^1H (Figura 3.19). Os dados do espectro (Tabela 3.13) identificam a presença dos três dupletos e três tripletos, com δ entre 8,37 e 6,56 ppm, referentes aos hidrogênios presentes no anel quinolínico, e quatro tripletos que correspondem aos hidrogênios metilênicos, com δ entre 3,54 e 2,59 ppm.

Figura 3.19. Espectro de RMN ^1H do composto MAQPZ

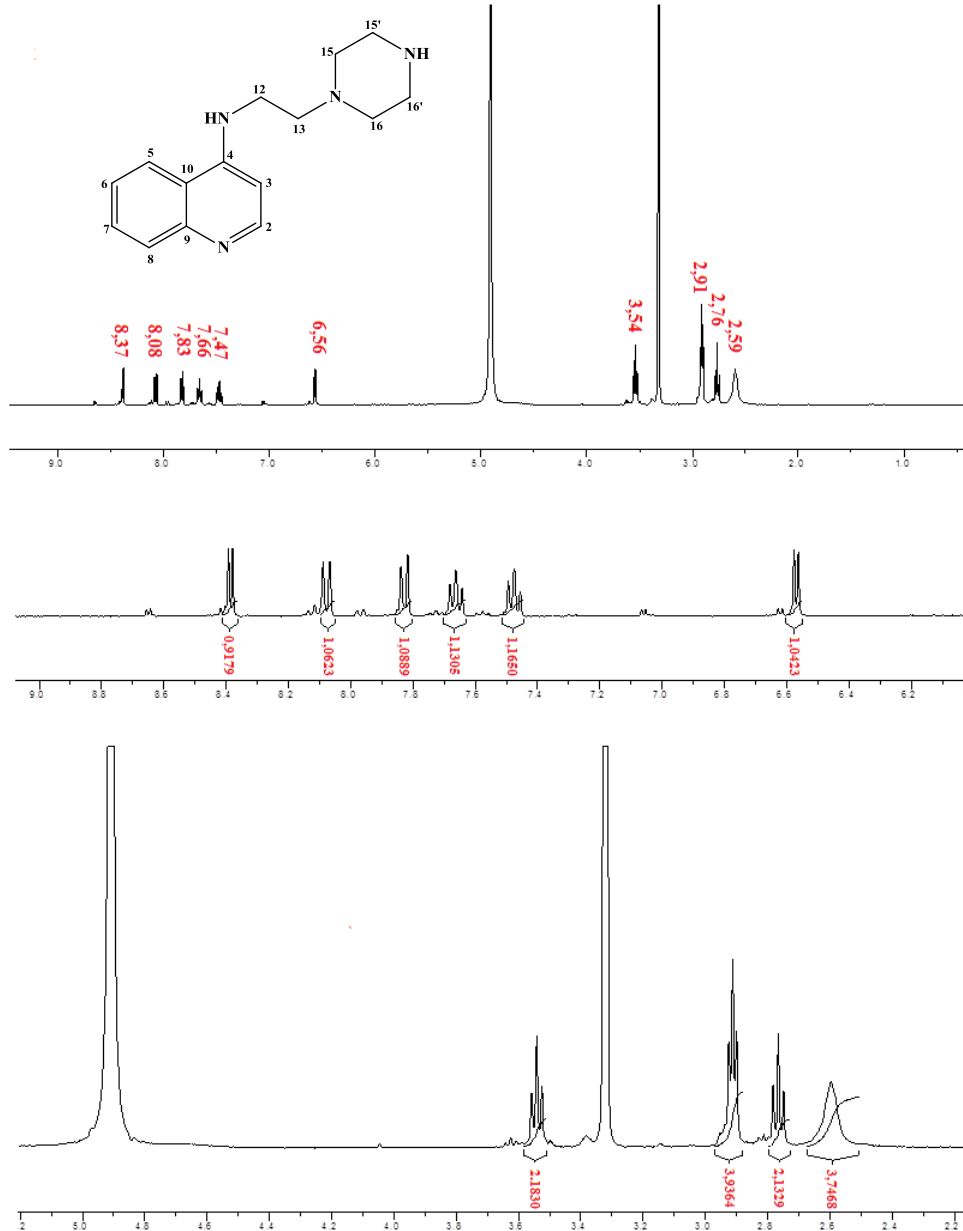
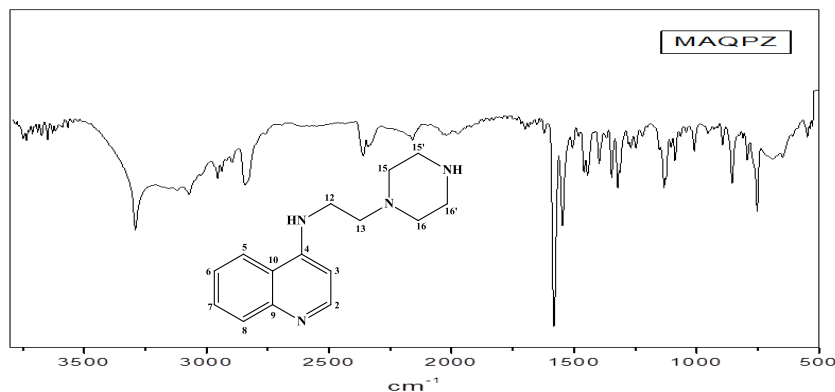


Tabela 3.13 Dados de RMN ^1H do composto MAQPZ

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
8,37 (d)	1H	5,67	2
8,08 (d)	1H	8,23	5
7,83 (d)	1H	8,23	8
7,66 (t)	1H	7,52	7
7,47 (t)	1H	7,52	6
6,56 (d)	1H	5,72	3
3,54 (t)	2H	6,74	12
2,91 (t)	4H	4,89	15 e 15'
2,76(t)	2H	6,74	13
2,59 (t)	4H	S.L.	16 e 16'

O composto MAQPZ, através do espectro de FT-IR obtido por ATR, (Figura 3.20), mostra as bandas de absorção de estiramento em 3291 (Ar-N-H), $\sim 3071\text{ cm}^{-1}$ (C-H), $\sim 1618\text{ cm}^{-1}$ (C=N), 1573 e 1545 cm^{-1} (C=C), e as bandas de deformação fora do plano em ~ 858 , 796 e 751 cm^{-1} característico da estrutura aromática (aminoquinolínica). Além destas, a banda de absorção em $\sim 1449\text{ cm}^{-1}$ associada à absorção em 1128 cm^{-1} mostra a presença de estiramento CH_2 e C-N que confirmam a presença da cadeia alifática do composto, respectivamente.

Figura 3.20. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto MAQPZ

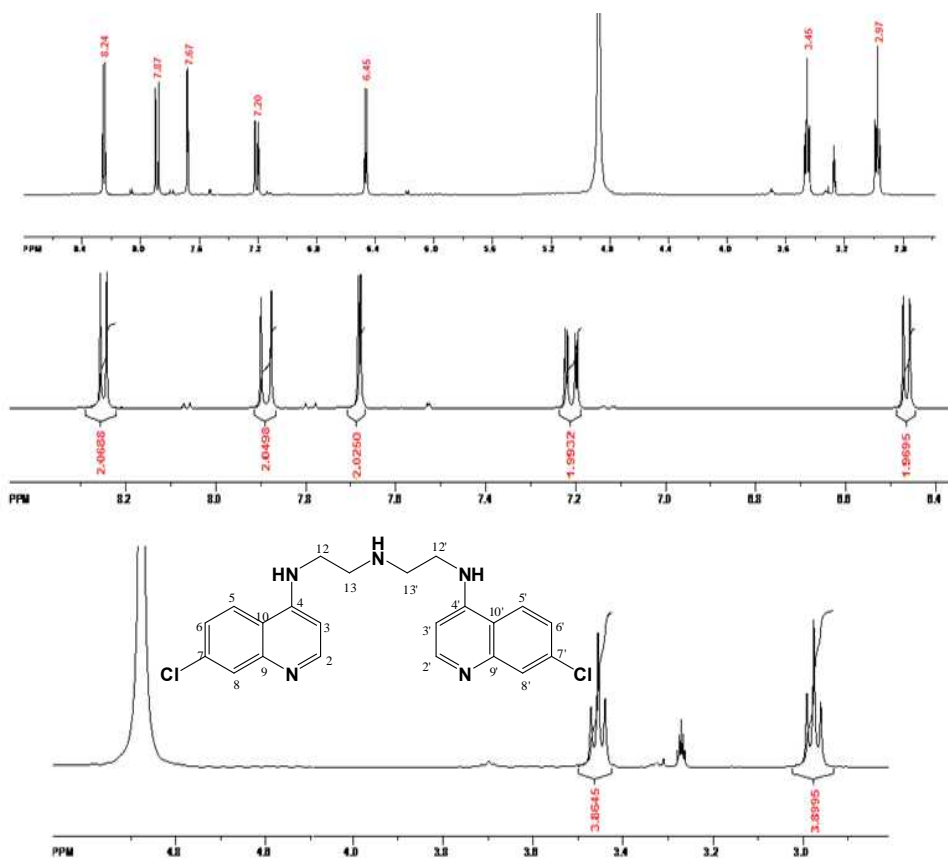


Da mesma forma que os compostos anteriores, a caracterização do composto BAQ foi feita através de RMN ^1H . No espectro (Figura 3.19 e Tabela 3.14) observou-se cinco sinais para os hidrogênios do anel aromático de multiplicidade dubleto (d) e duplo dubleto (dd) com deslocamentos químicos (entre $\delta = 8,25$ e $6,46$ ppm) e dois sinais para os hidrogênios metilênicos (entre $\delta = 3,45$ e $\delta = 2,95$ ppm). O menor número de sinais observados para os hidrogênios metilênicos deve-se a simetria da molécula.

Tabela 3.14. Dados de RMN ^1H do composto BAQ em CD_3OD .

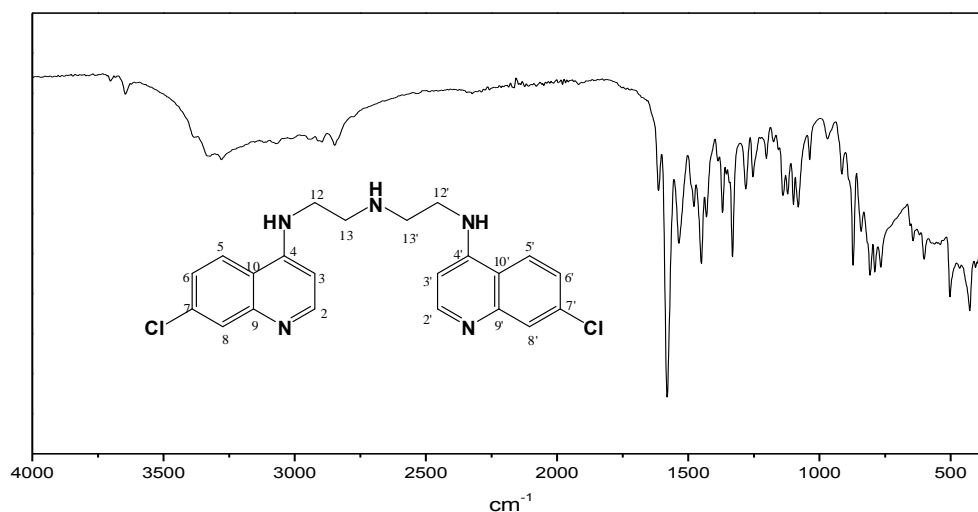
δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição, aos hidrogênios dos:
2,97 (t)	4H	6,22	13e 13'
3,45 (t)	4H	6,24	12 e 12'
6,45 (d)	2H	5,69	3 e 3'
7,20 (dd)	2H	9,01 e 2,14	6 e 6'
7,67 (d)	2H	2,14	8 e 8'
7,87 (d)	2H	9,01	5 e 5'
8,24 (d)	2H	5,61	2 e 2'

Figura 3.21. Espectro de RMN ^1H do composto 7-Cl-BAQ



O espectro de FT-IR, obtido por ATR, do composto BAQ (Figura 3.20), é similar ao composto análogo 7-Cl-MAQ. São observadas as bandas de vibração referentes à estrutura aromática em ~ 3071 , 1608 ($C=N$), 1576 e 1531 cm^{-1} correspondente aos estiramentos dos grupos $C-H$, $C=C$ respectivamente. As bandas de absorção referentes aos grupos $N-H$ ligados ao anel aromático e da cadeia alifática foram confirmadas pela presença de estiramentos em 3272 , 1136 e 1328 cm^{-1} .

Figura 3.22. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto BAQ.



A Figura 3.23 apresenta o espectro de RMN 1H do composto 7- CF_3 -BAQ (Tabela 3.15). Nesse espectro, observam-se cinco sinais referentes aos hidrogênios do anel aromático com deslocamentos químicos entre ($8,44$ e $6,56$ ppm). Dois sinais foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos com os deslocamentos de $3,56$ e $3,07$ ppm . A presença, apenas, desses dois sinais é semelhante à explicação do composto BAQ.

Na Figura 3.24, observam-se no espectro de RMN 1H os sinais dos hidrogênios aromáticos e metilênicos do composto 8-Cl-MAQ. Cinco sinais, com δ entre $8,38$ e $6,60$ ppm (Tabela 3.16), foram atribuídos aos hidrogênios aromáticos. Dois tripletos ($3,50$ e $3,01$ ppm) são observados no espectro que correspondem aos hidrogênios ligados aos carbonos metilênicos.

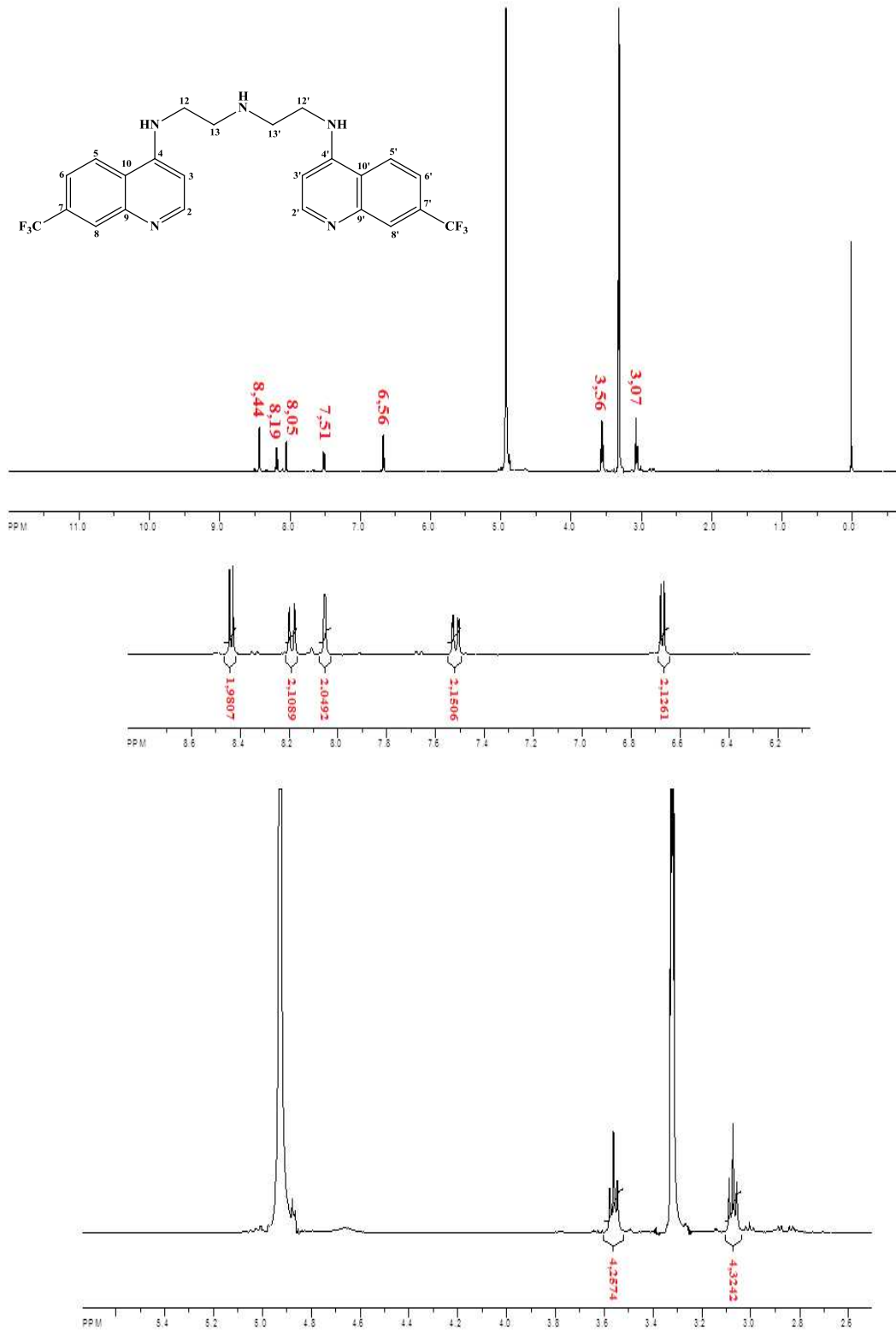
Figura 3.23. Espectro de RMN ^1H do composto 7- CF_3 -BAQ

Tabela 3.15. Dados de RMN ^1H do composto 7-CF₃-BAQem CD₃OD.

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição, aos hidrogênios dos:
3,07 (t)	4H	5,36	13e 13'
3,56 (t)	4H	5,36	12 e 12'
6,56(d)	2H	5,95	3 e 3'
7,51 (d)	2H	8,93	6 e 6'
8,05 (s)	2H	-	8 e 8'
8,19 (d)	2H	8,93	5 e 5'
8,44 (d)	2H	5,95	2 e 2'

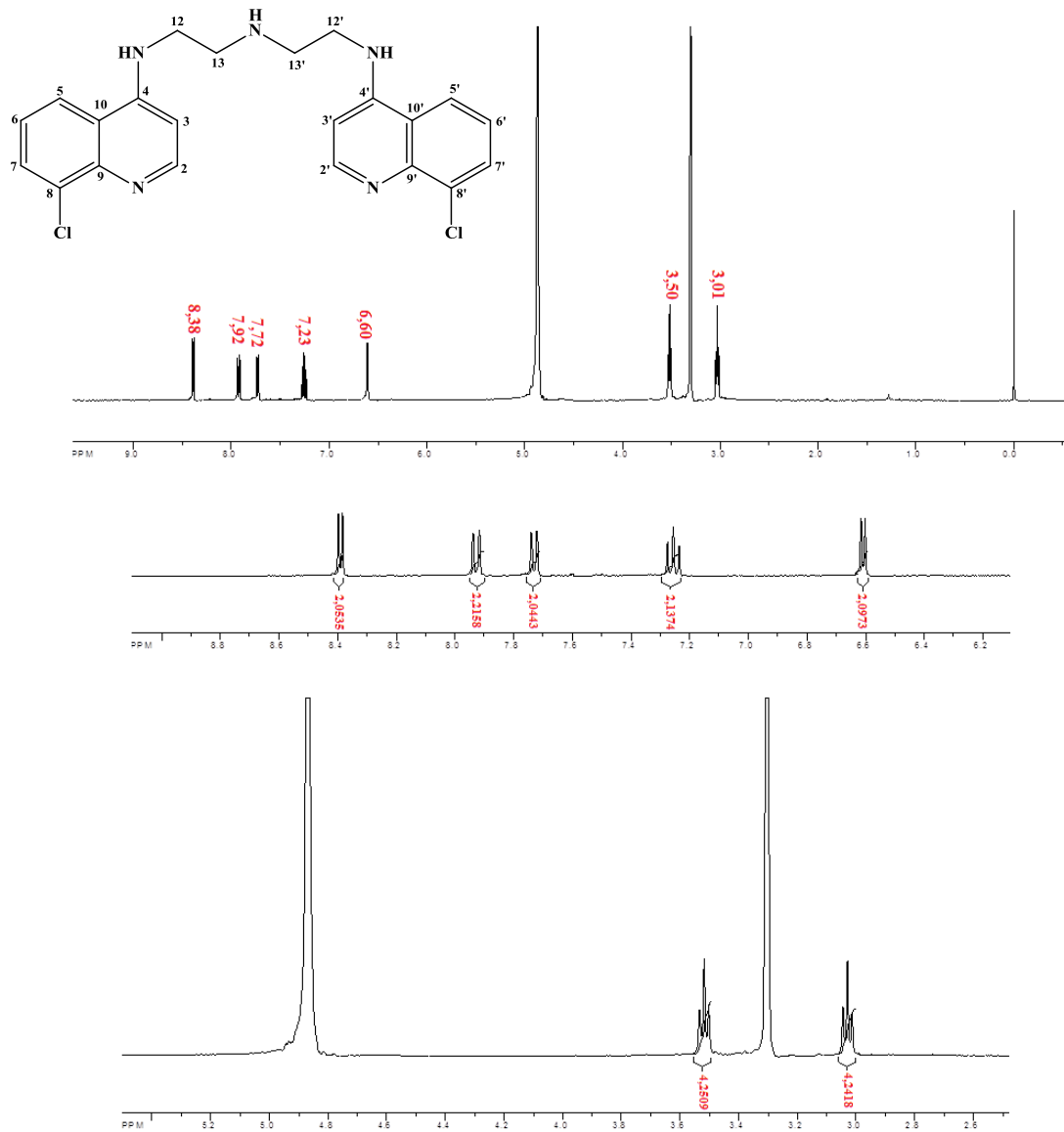
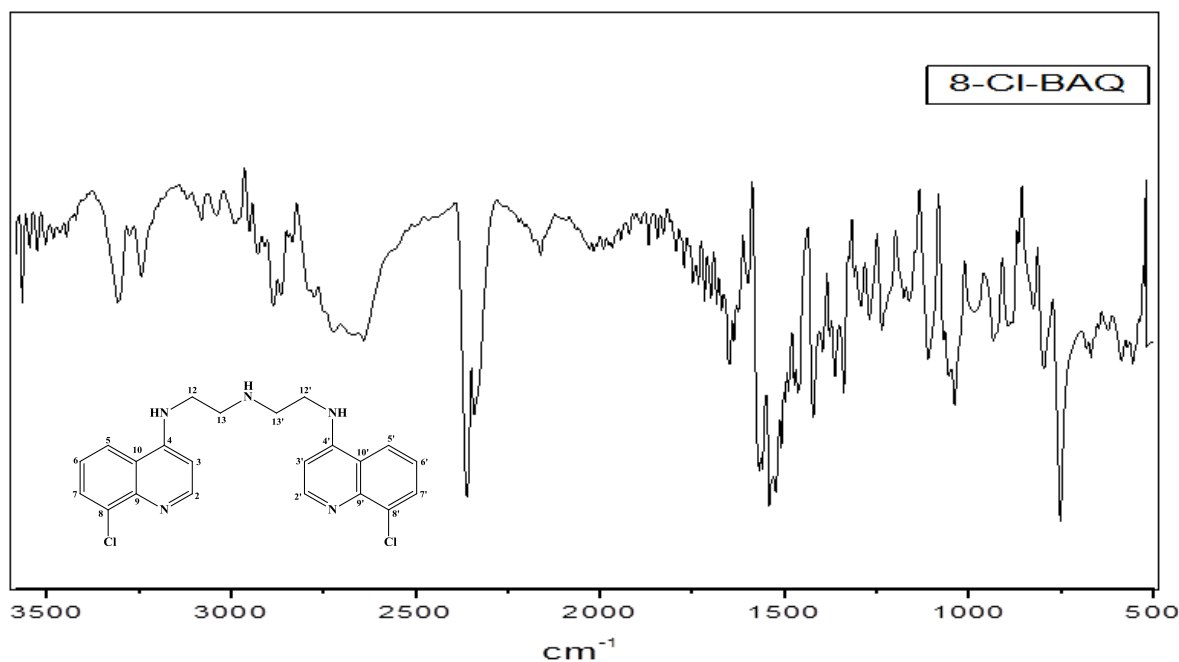
Figura 3.24. Espectro de RMN ^1H do composto 8-Cl-BAQ

Tabela 3.16. Dados de RMN ^1H do composto 8-Cl-BAQ em CD_3OD .

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição, aos hidrogênios dos:
3,01 (t)	4H	6,28	13 e 13'
3,50 (t)	4H	6,28	12 e 12'
6,60 (d)	2H	5,59	3 e 3'
7,23(t)	2H	8,41	6 e 6'
7,72 (d)	2H	7,63	7 e 7'
7,92 (d)	2H	8,53	5 e 5'
8,38 (d)	2H	5,53	2 e 2'

Para o composto 8-Cl-BAQ, o espectro de FT-IR, obtido por ATR (Figura 3.25) apresenta as bandas de absorção de estiramento em 3223 (N-H), $\sim 3080\text{ cm}^{-1}$ (C-H), $\sim 1646\text{ cm}^{-1}$ (C=N), 1566 e 1535 cm^{-1} (C=C), e as bandas de deformação fora do plano em ~ 894 , 789 e 746 cm^{-1} característico da estrutura aromática (aminoquinolínica). Além destas, a banda de absorção em $\sim 1429\text{ cm}^{-1}$ associada à absorção em 1111 cm^{-1} mostra a presença de estiramento CH_2 e C-N que confirmam a presença da cadeia alifática do composto 8-Cl-BAQ, respectivamente.

Figura 3.25. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 8-Cl-BAQ



3.4 Avaliação da Atividade Antimalárica

Os quatro compostos avaliados quanto a atividade antiplasmodial foram planejados baseando-se na estrutura química da cloroquina.

Para os compostos 7-Cl-MAQ e BAQ, foram mantidos o grupo 4-aminoquinolínico que segundo estudos, é fundamental para o acúmulo da substância no vacúolo digestivo do parasito. Modificações foram realizadas na porção alifática do composto, introduzindo a dietilenotriamina que contém um átomo de nitrogênio central e uma amina primária.

Já para os compostos 2-CF₃-MAQ e a 7-CF₃-MAQ, houve modificações no anel quinolínico, substituindo o átomo de cloro da posição 7 pelo grupo trifluorometil (CF₃), como também a presença desse CF₃ na posição 2.

Os compostos 7-Cl-MAQ e BAQ foram sintetizados durante o mestrado, mas a sua atividade antimalárica foi determinada durante o doutorado. Para esses compostos foram avaliados a atividade antiplasmodial contra as cepas cloroquina resistente (W2), através dos ensaios imunoenzimáticos (anti-HRP II) e o teste de incorporação hipoxantina.

Analisando a tabela 3.17, pode-se observar que os dois derivados 4-aminoquinolínicos foram ativos quando comparados à cloroquina. O composto 7-Cl-MAQ mostrou uma melhor atividade no ensaio anti-HRP II, quando comparado à cloroquina. Isso implica que a amina primária quando protonada interage com o grupo heme ocasionando inibição da formação da hemozoína. Apesar de ser uma bisquinolina, a BAQ também foi ativa *in vitro* tendo destaque no teste de hipoxantina.

Tabela 3.17. Atividade anti-*P. falciparum* (clone W2 cloroquina-resistente) de derivados aminoquinolínicos, análogos da cloroquina, utilizando os ensaios imunoenzimático anti-HRP II e de hipoxantina.

Aminoquinolínicos	IC ₅₀ (µg/mL) (média ± DP)	
	HRP II	Hipoxantina
7-Cl-MAQ	0,26 ± 0,020	0,32 ± 0,070
BAQ	0,55 ± 0,000	0,06 ± 0,020
COROQUINA	0,12 ± 0,060	0,18 ± 0,006

Os dados da atividade citotóxica da 7-Cl-MAQ e BAQ foram obtidos por dois ensaios: o ensaio de MTT e o de vermelho neutro, utilizando as linhagens celulares HepG2 (hepatoma humano) e BGM (célula basal de macaco). Pode-se observar que o composto 7-Cl-MAQ

(Tabela 3.17) apresentou o valor de MDL₅₀ maior em todos os testes citotóxicos avaliados, sendo, portanto o composto menos tóxico. No teste vermelho neutro, na linhagem BGM, o valor de MDL₅₀ da cloroquina foi menor que o composto 7-Cl-MAQ, dessa forma, é mais tóxico que o derivado 4-aminoquinolínico.

Tabela 3.18. MDL₅₀ dos Derivados da Cloroquina

Aminoquinolínicos	MDL ₅₀ (µg/mL) (média ±DP)			
	MTT		Vermelho Neutro	
	BGM	HepG2	BGM	HepG2
7-Cl-MAQ	0,10 ± 0,00	0,27 ± 0,01	0,24 ± 0,06	0,16 ± 0,05
BAQ	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,02	0,10 ± 0,03
COLORQUINA	0,37 ± 0,00	0,49 ± 0,00	0,18 ± 0,18	0,21 ± 0,02

Os valores do índice de seletividade dos compostos da Tabela 3.19 apresentaram uma relação entre a dose tóxica e a dose efetiva maior que 10, ou seja, uma ampla faixa terapêutica. Vale destacar que o composto 7-Cl-MAQ obteve um valor de IS superior à cloroquina na linhagem HepG2 do ensaio vermelho neutro.

Tabela 3.19. Índice de Seletividade dos Derivados da Cloroquina

Análogos da Cloroquina	Hipoxantina			
	MTT		Vermelho Neutro	
	BGM	HepG2	BGM	HepG2
7-Cl-MAQ	312	844	666	1666
BAQ	833	833	750	500
COLORQUINA	2055	2722	1000	1166

A atividade antimalárica de 7-Cl-MAQ e BAQ (Tabela 3.20) foi avaliada *in vivo* em camundongos infectados com o *P. berghei*. As duas substâncias foram consideradas ativas, pois apresentaram, na maioria dos casos, boas porcentagens de redução de parasitemia. A cloroquina, em concentrações menores, foi mais ativa. A 7-Cl-MAQ foi mais ativa que a BAQ, com redução máxima de 95% (50mg/kg), no 5º dia de tratamento, enquanto a BAQ reduziu de 81% no 5º dia de tratamento na mesma concentração da 7-Cl-MAQ.

Tabela 3.20. Atividade antimalárica *in vivo* de derivados da cloroquina em camundongos infectados com o *Plasmodium berghei*.

Análogos da Cloroquina	Dose (mg/Kg)	Redução			Atividade
		5°	8°	10°	
7-Cl-MAQ	25	91	61	70	Ativo
	50	95	71	76	Ativo
BAQ	25	64	26	37	Ativo
	50	81	75	43	Ativo
Cloroquina	20	100	100	100	Ativo

O composto 7-CF₃-MAQ mostrou-se ativa em concentrações micromolares *in vitro*, porém foi menos potente que a cloroquina tanto para o ensaio anti-HRP II quanto para SYBR Green. (Tabela 3.21).

Comparando-se a 7-Cl-MAQ com a 7-CF₃-MAQ, em termos de estrutura química (esquema 3.1), diferem apenas no grupo localizado na posição 7 do anel quinolínico. Dessa forma, sugere-se que o átomo de cloro na posição 7 é importante para a atividade antimalárica.

O teste de citotoxicidade (Tabela 3.21) não foi analisado devido à ausência de informações necessárias como o tipo de linhagem celular utilizada nos experimentos. Dessa forma, foi inviável compará-la com outro composto.

O índice de seletividade mostrou que o composto 7-CF₃-MAQ (Tabela 3.21) é seguro uma vez que a relação entre a dose tóxica e a dose efetiva é maior que 10, apresentando uma ampla faixa terapêutica. Porém, esse composto não pode ser comparado à cloroquina devido a ausência do seu valor na tabela 3.21.

Tabela 3.21. Testes de citotoxicidade (MDL_{50}), de atividade anti-*P. falciparum* (IC_{50}) avaliado *in vitro* através dos ensaios de Anti-HRP II e SYBR Green e dos índices de seletividade (IS), a razão entre MDL_{50} e IC_{50} .

Análogo da Cloroquina	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) (média \pm DP)		MDL_{50} ($\mu\text{g/mL}$) (média \pm DP)	Índice de Seletividade (IS)
	Anti-HRP II	SYBR Green		
7-CF ₃ -MAQ	0,26 \pm 0,020	0,32 \pm 0,070	194 \pm 12,6	30
COROQUINA	0,12 \pm 0,060	0,18 \pm 0,006	-	-

O composto 2-CF₃-MAQ (Tabela 3.22) foi considerado ativo ($IC_{50} < 10 \mu\text{g/mol}$). Mas, não houve a comparação com a cloroquina (fármaco padrão), pois não foi apresentado esse valor. Também apresentou um elevado índice de seletividade (> 350) quando a toxicidade foi avaliada em células normais de rim de macaco (Tabela 3.22).

Tabela 3.22. Avaliação da atividade antiplasmodial e citotóxica do análogo de cloroquina 2-CF₃-MAQ

Análogo da Cloroquina	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) (média \pm DP)	MDL_{50} ($\mu\text{g/mL}$) (média \pm DP)	
		HepG2	BGM
2-CF ₃ -MAQ	1,8 \pm 0,3	630 \pm 130	288 \pm 16

Tabela 3.23. Avaliação da atividade antiplasmodial e citotóxica do análogo de cloroquina 2-CF₃-MAQ

Amostra	Índice de Seletividade (IS)	
	BGM	HepG2
2-CF ₃ -MAQ	350	160

Baseando-se nos valores do índice de seletividade e na atividade antimalárica *in vitro*, o composto 2-CF₃-MAQ foi avaliado *in vivo* (Tabela 3.24). Diferentemente da cloroquina, esse composto foi inativo quando foi testado nas duas concentrações (25 e 50 mg/kg).

Tabela 3.24. Avaliação da atividade antimalárica de 2-CF₃MAQ em camundongos infectados com *P. berghei*.

Substância	Dose (mg/kg)	Média da parasitemia (Redução%) nos dias			Atividade
		5°	7°	9°	
2-CF ₃ -MAQ	50	9 ± 7 (0%)	19 ± 9 (0%)	23 ± 3 (0%)	Inativo
	25	11 ± 6 (0%)	25 ± 14 (0%)	19 ± 21 (0%)	Inativo
Cloroquina	15	0 ± 0 (100%)	0 ± 0 (100%)	0 ± 0 (100%)	Ativo

3.5 Referências Bibliográficas

AGUIAR, A.C.C., et al. Antimalarial activity and mechanisms of action of two novel 4-aminoquinolines against chloroquine-resistant parasites. **Plos One**, v. 7, i. 5, p. e37259, 2012.

MUSONDA, C.C.; et al. Application of multicomponent reactions to antimalarial drug discovery. Part 2: New antiplasmodial and antitrypanosomal 4-aminoquinoline γ - and δ -lactams via a 'catch and release' protocol. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 5605-5615, 2006, .

ZHANG, H.; et al. Synthesis and in vitro cytotoxicity evaluation of 4-aminoquinoline derivatives. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 62, p. 65-69, 2008.

SANTOS, R.M. **Planejamento e síntese de derivados 4-aminoquinolínicos para a obtenção de complexos metálicos com potencial atividade antimalárica**. Dissertação (Mestrado em Química orgânica) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2010.

CAPÍTULO 4. CONCLUSÃO

Onze compostos aminoquinolínicos, análogos à cloroquina foram sintetizados e obtidos com rendimentos altos e moderados e amplamente caracterizados por diversas técnicas espectroscópicas. Todos foram obtidos empregando-se a mesma estratégia, cuja etapa principal baseia-se em reações de substituição nucleofílica aromática (SN_{Ar}). Durante a síntese, as substâncias não utilizaram o uso de bases auxiliares ou de solvente, além disso, a produção de um ou outro composto deve-se apenas à relação estequiométrica empregada entre os reagentes.

Quatro dos compostos preparados foram enviados para serem submetidos à bioensaios preliminares contra o *Plasmodium falciparum*, junto ao Laboratório de Malária do Centro de Pesquisas René Rachou – MG.

O composto **7-CF₃-MAQ** apresentou-se menos potente que a cloroquina em concentrações micromolares.

O composto **2-CF₃-MAQ**, não houve a possibilidade de avaliá-lo adequadamente pela ausência dos dados referentes à cloroquina (fármaco padrão). Porém, apresentou um elevado índice de seletividade em células normais de rim de macaco.

O composto **7-Cl-MAQ** foi o mais ativo tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Além disso, apresentou uma ampla faixa terapêutica e baixa toxicidade quando comparada ao composto **BAQ**.

Ao término deste trabalho, conclui-se que uma ampla janela de atividade de investigação está aberta para a preparação e avaliação biológica de outros análogos aminoquinolínicos como agentes antimaláricos, bem como avaliar *in vitro* e *in vivo* a atividade antimalárica dos derivados 4-aminoquinolínicos em cepas resistentes e sensíveis à cloroquina.