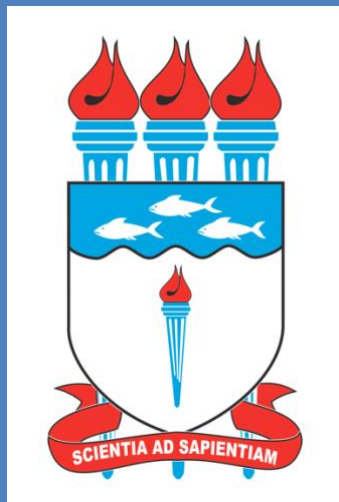




UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE NOVAS MOLÉCULAS HÍBRIDAS
DE DERIVADOS 4-AMINOQUINOLÍNICOS E ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO
ESTEROIDAIIS**

Geraldo José da Silva Neto

Universidade Federal de Alagoas
Campus A.C. Simões
Tabuleiro dos Martins
57072-970 – Maceió – AL

GERALDO JOSÉ DA SILVA NETO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE NOVAS MOLÉCULAS HÍBRIDAS
DE DERIVADOS 4-AMINOQUINOLÍNICOS E ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO
ESTEROIDAIIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas como parte dos requisitos necessários para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Eliane Aparecida Campesatto.

Maceió

2020

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S586s Silva Neto, Geraldo José da.

Síntese e caracterização química de novas moléculas híbridas de derivados 4-aminoquinolínicos e antiinflamatórios não esteroidais / Geraldo José da Silva Neto. – 2020.

111 f. : il color.

Orientador: Mario Roberto Meneghetti.

Co-orientadora: Eliane Aparecida Campesatto.

Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2020.

Bibliografia: f. 92-99.

Apêndices: f. 100-111.

1. 4-aminoquinolina. 2. Agentes Anti-inflamatórios não-esteróides.
3. Inflamação. 4. Artrite reumatóide. I. Título.

CDU: 615.276:616.72-002.77



PPGQB

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

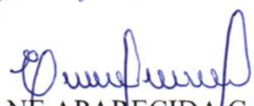
FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da comissão julgadora da defesa de dissertação de mestrado de **GERALDO JOSÉ DA SILVA NETO**, intitulada: “SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE NOVAS MOLÉCULAS HÍBRIDAS DE DERIVADOS 4-AMINOQUINOLÍNICOS E ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, no dia 27 de fevereiro de 2020, às 14h, na sala de aulas da Pós-Graduação do IQB/UFAL.

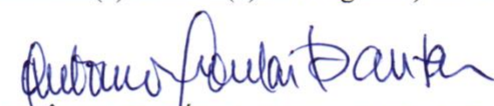
COMISSÃO JULGADORA



MARIO ROBERTO MENEGHETTI
(UFAL - Presidente) – ORIENTADOR



ELIANE APARECIDA CAMPESATTO
(UFAL - Examinador(a) Externo(a) ao Programa) COORIENTADORA



ANTÔNIO EUZÉBIO GOULART SANTANA
(UFAL - Examinador(a) Interno(a))



SÂMIA ANDRÍCIA SOUZA DA SILVA
(UFAL - Examinador(a) Externo(a) ao Programa)

À minha avó,
Maria Gouveia (*in memoriam*).

*“Não há triunfo sem perda,
Não há vitória sem sofrimento,
Não há liberdade sem sacrifício.”*
(J. R. R. Tolkien)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Um caminho árduo e gratificante foi seguido até este momento. Inúmeros são aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente. Sou grato a todos por estarem ao meu lado, pelo aprendizado, amizade e amor.

Agradeço primeiramente a minha mãe, Luciana Gouveia, por ser meu alicerce e a minha principal força nesse mundo. Junto, agradeço à minha irmã, Esther Gouveia, por sempre estar ao meu lado e me apoiar, e ao meu sobrinho, que é uma luz para nossa família. Meu amor por vocês é incondicional.

Aos dois que aguentam minhas reclamações diárias e estão lá para me dar todo o suporte necessário, me ajudando a ultrapassar cada obstáculo que surge na minha vida: Louryne Simões e Jadir Pereira, e ao John, que sempre torceu, confiou no meu potencial e me incentivou a seguir em frente; assim como à toda minha família que sempre contribuiu de diferentes formas para eu continuar nessa caminhada: Ítalo Simões, Nando Moura, Lúcia Gouveia, Flávio Moura, Mary Gouveia e Djanete Rodrigues.

Aos meus amigos de graduação que me acompanham há tantos anos, alguns seguindo caminhos semelhantes, outros seguindo caminhos opostos, mas que sempre mantiveram acesa essa união que sabemos que levaremos pra vida: Roberta Lima, Juliana Montenegro, Adryelle Ribeiro, Gabriele Fernanda, Mylla Santos, Samaysa Lins, Alessandro Cesar, Mariah Morais, Max Viana, Roberta Ribeiro, Felipe Vieira, Dayseanne Lucy e Karol Chaves. Nossos momentos estão eternizados na minha mente e coração. Obrigado por trazerem tanta felicidade na minha vida. Eu amo vocês!

E também aos amigos que diferentes circunstâncias da vida me trouxeram no decorrer dos últimos anos, mas que têm sido essenciais para que eu possa me sentir acolhido e rodeado de momentos felizes: à conexão GIG-MCZ – Luciana Bokehi e Thales Ramos. Vocês não têm noção do quão são importantes na minha vida e do quanto eu agradeço ao Ciência sem Fronteiras por ter juntado nossos caminhos. À Sâmia Silva e Daniela Anunciação, professoras que se tornaram amigas e iluminaram meu caminho diversas vezes. E aos que aguentaram minhas últimas semanas de drama, deixando-as mais leve para trilhar, enquanto eu finalizava este trabalho: Álvaro Matheus e Pedro Lins.

Ao meu orientador, Dr. Mario Roberto Meneghetti, por ter me acolhido desde o primeiro instante, por todo ensinamento ao longo desses dois anos, e por ter me ajudado em todos os momentos em que pedi seu auxílio. O senhor sempre confiou na minha capacidade e sempre me impulsionou a ir mais a frente. Muito obrigado! Junto, agradeço à toda a equipe do Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR), todos os professores coordenadores e alunos de graduação, mestrado e doutorado. Em especial àqueles que sempre estiveram disponíveis seja para discutir ciência, auxiliar em análises ou para um papo descontraído na copa: Thatiane Veríssimo, Francielle Oliveira, Victoria Costa, Igor Matheus, Talia Farias, Ábner Magalhães, Artur Vieira, Edriane Teixeira, Daniele Barros, Rafael Omena, Mariana Fortes, Víctor Emmanuel, Cristian Giertyas, Dhara Pryston, Geovânia Cordeiro, Rayssa Motta, Kleyton Monteiro e Eduardo Emanuel.

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Eliane Aparecida Campesatto, por ter me acolhido e me aberto as portas da pesquisa científica, por toda a confiança depositada em mim, e pelas inúmeras oportunidades proporcionadas nestes últimos anos. Não estaria aqui hoje sem teu auxílio. Junto, agradeço ao Grupo de Pesquisa em Farmacoterapia das Doenças Crônicas (GFADOC) e seus integrantes por todo conhecimento compartilhado.

Ao Laboratório de Farmacologia e Imunidade (LaFI), em especial a Profa. Dra. Magna Suzana Alexandre-Moreira, pela parceria em realizar os testes biológicos contidos neste trabalho, em especial às integrantes: Amanda Silva, Karoline Jatobá, Suellen Albuquerque e Anderson Leite.

À banca de qualificação, Dra. Morgana Vital e Dr. Thiago Aquino, por todas as considerações realizadas. E à banca de defesa, por ter aceitado o convite para avaliar este trabalho final: Dr. Antônio Euzébio Goulart de Sant'Ana, Dra. Sâmia Andrícia Souza da Silva e Dra. Simoni Margareti Plentz Meneghetti.

À Universidade Federal de Alagoas e ao Instituto de Química e Biotecnologia por todo aprendizado proporcionado, pela abertura de tantas oportunidades que nunca imaginaria que poderia vivenciar. Serei sempre grato.

Às agências de fomento, CNPq, CAPES e FAPAL, que deram todo o suporte para que a ciência continue sendo um importante pilar da universidade pública.

RESUMO

Em doenças inflamatórias crônicas, como a artrite reumatoide, o processo inflamatório induzido por um estímulo nocivo não consegue ser fisiologicamente reparado. Nestes casos, o tratamento sintomático é feito com a utilização de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e glicocorticoides; e o tratamento que objetiva a remissão da doença é feito com fármacos antirreumáticos modificadores da doença (FARMDs), como a cloroquina – um derivado 4-aminoquinolínico. Para a obtenção da melhor efetividade do tratamento, a cloroquina e os AINEs, geralmente, são utilizados de forma associada. Uma das estratégias no desenvolvimento de novos fármacos aborda a síntese de moléculas híbridas, as quais podem exibir sinergismo em sua ação devido à presença de diferentes grupos farmacofóricos que podem atuar em diferentes sítios da doença. O objetivo deste estudo foi sintetizar moléculas híbridas entre um derivado 4-aminoquinolínico e o ibuprofeno ou naproxeno (AINEs) visando novas moléculas com atividade anti-inflamatória e baixa toxicidade. Os compostos foram sintetizados a partir de metodologia de síntese *one-pot*, em que 1 mmol do ibuprofeno (ou naproxeno) foi adicionado a 1 mmol do derivado 4-aminoquinolínico, CEQ (C₁₁H₁₂ClN₃; 221,69 g/mol) ou DAPQ (C₁₂H₁₄ClN₃; 235,72 g/mol) e 3 mmol de trietilamina em diclorometano, seguido da adição de 1 mmol de cloreto de tionila, produzindo os compostos IBUCEQ (C₂₄H₂₈ClN₃O; 409,96 g/mol), IBUDAPQ (C₂₅H₃₀ClN₃O; 423,99 g/mol), NAPCEQ (C₂₅H₂₄ClN₃O₂; 433,94 g/mol) e NAPDAPQ (C₂₆H₂₆ClN₃O₂; 447,96 g/mol). Após a obtenção e purificação, os produtos foram caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C, além da análise de técnicas bidimensionais de RMN (COSY e HSQC), bem como por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (IVFT) e Espectrometria de Massas (EM). Os resultados de caracterização dos compostos confirmaram as estruturas moleculares planejadas. Por RMN é possível detectar os sinais dos dois fragmentos moleculares. Os espectros de IVFT confirmaram a hibridização dos compostos, sendo comprovados os desaparecimentos (NH₂ e OH), deslocamento (C=O) e formação (N-CO) de bandas características, evidenciando a formação da função amida obtida pelo acoplamento dos dois fragmentos. Junto a isto, as análises de EM também mostraram resultados com os valores de massa exata de ambos os compostos, além de seus prováveis fragmentos. Testes preliminares de citotoxicidade com os compostos IBUCEQ e NAPCEQ mostraram que estes híbridos possuem um potencial citotóxico nas concentrações testadas, característica não observada nas moléculas precursoras. Assim, os novos compostos híbridos planejados foram obtidos com satisfatório sucesso, sendo moléculas inéditas e que podem possuir alto potencial anti-inflamatório.

Palavras-chave: 4-aminoquinolina, agentes anti-inflamatórios não esteroidais, inflamação, artrite reumatoide.

ABSTRACT

In chronic inflammatory diseases, such as rheumatoid arthritis, the inflammatory process induced by a noxious stimulus cannot be repaired. The symptomatic treatment consists in non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and glucocorticoids, and treatment that aims the remission of the disease consists in disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs), such as chloroquine – a 4-aminoquinoline derivative. In order to achieve a better treatment efficacy, chloroquine and NSAIDs are usually associated. The development of new drugs is often related to the synthesis of hybrid molecules, which may show an action synergism due to the presence of pharmacophoric groups that act in different disease sites. Thus, the aim of this study is to synthesize hybrid molecules of 4-aminoquinoline derivatives with ibuprofen and naproxen (NSAIDs) that may possess an anti-inflammatory potential and low toxicity. The 4-aminoquinoline derivatives were synthesized through a one-pot methodology, in which 1 mmol of ibuprofen (or naproxen) were added to 1 mmol of a 4-aminoquinoline derivative, CEQ ($C_{11}H_{12}ClN_3$; 221,69 g/mol) or DAPQ ($C_{12}H_{14}ClN_3$; 235,72 g/mol), and 3 mmol of triethylamine in dichloromethane, followed by the addition of 1 mmol of thionyl chloride; forming the hybrids IBUCEQ ($C_{24}H_{28}ClN_3O$; 409,96 g/mol), IBUDAPQ ($C_{25}H_{30}ClN_3O$; 423,99 g/mol), NAPCEQ ($C_{25}H_{24}ClN_3O_2$; 433,94 g/mol), and NAPDAPQ ($C_{26}H_{26}ClN_3O_2$; 447,96 g/mol). After reaction, the products were characterized by 1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (NMR), as well as analysis of 2D NMR techniques (COSY and HSQC), followed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), and Mass Spectrometry (MS). Characterization results confirmed the planned molecule structures of the compounds. In the NMR spectra were identified the signals of each molecular fragment. Also, FTIR analysis indicates the formation of an amide (N- CO) since the results show shifts in C=O band and disappearing of NH_2 and OH bands. In addition, results from MS analysis show that the exact mass of the new compounds was reported, as well as likely fragments. Preliminary results from the cell viability assay using IBUCEQ and NAPCEQ show that the hybrids have a cytotoxic potential in all tested concentrations, differently from what was observed with the precursor molecules. Thus, the hybrid compounds were successfully obtained, well characterized and their structures were never reported before. Since they have two fragments, the hybrids may possess a high anti-inflammatory potential.

Keywords: 4-aminoquinoline derivatives, non-steroidal anti-inflammatory drugs, inflammation, rheumatoid arthritis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Os cinco sinais cardinais da inflamação.	17
Figura 2 – Esquema representativo da dor nociceptiva.	19
Figura 3 – Esquema representativo da dor inflamatória.....	20
Figura 4 – Os processos de transdução, transmissão, percepção e modulação da dor.21	
Figura 5 – Cascata bioquímica para formação das prostaglandinas a partir do ácido araquidônico.	23
Figura 6 – Representação da evolução entre as fases de indução, resolução e cronificação da inflamação.	25
Figura 7 – Estágios de progressão da artrite reumatoide (AR).	26
Figura 8 – Estrutura química da cloroquina.	29
Figura 9 – Estrutura química núcleo quinolínico.....	30
Figura 10 – Número de publicações de 2005 a 2019 sobre a síntese e/ou atividade de moléculas híbridas.....	33
Figura 11 – Representação esquemática dos híbridos antimaláricos trioxaquinas..	Erro!
Indicador não definido.	
Figura 12 – Estrutura molecular de derivados 4-aminoquinolínicos sintetizados no GCaR e recentemente testados para atividade antinociceptiva e anti-inflamatória.	35
Figura 13 – Representação esquemática das estruturas moleculares dos compostos definidos para a síntese dos novos híbridos.	36
Figura 14 – Esquema reacional da síntese da CEQ	39
Figura 15 – Esquema reacional da síntese da DAPQ	40
Figura 16 – Esquema reacional da síntese da IBUCEQ	41
Figura 17 – Esquema reacional da síntese da NAPCEQ	42
Figura 18 – Esquema reacional da síntese da IBUDAPQ	43
Figura 19 – Esquema reacional da síntese da NAPDAPQ	44
Figura 20 – Esquema do ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT.	47
Figura 21 – Mecanismo de reação para formação da CEQ via S_NAR	50
Figura 22 – Espectro de RMN de 1H (400 MHz) da CEQ em CD_3OD	51
Figura 23 – Estrutura química do ibuprofeno e do naproxeno.	52
Figura 24 – Mecanismo de reação proposto para formação de amidas utilizando cloreto de tionila e trietilamina.	53
Figura 25 – Espectro de RMN de 1H (400 MHz) da IBUCEQ em $CDCl_3$	54
Figura 26 – Estrutura da IBUCEQ evidenciando os hidrogênios diastereotópicos.	57

Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) da IBUCEQ em CDCl_3	58
Figura 28 – Espectro no Infravermelho da IBUCEQ e seus precursores.	60
Figura 29 – Espectro de massas da amostra de IBUCEQ	61
Figura 30 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da NAPCEQ em CDCl_3	63
Figura 31 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) do NAPCEQ em CDCl_3	67
Figura 32 – Espectro no Infravermelho da NAPCEQ e seus precursores.....	68
Figura 33 – Espectro de massas da amostra de NAPCEQ	70
Figura 34 – Efeito dos compostos IBUCEQ e NAPCEQ e dos fármacos precursores no ensaio de viabilidade pelo método de MTT.	71
Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da DAPQ em CD_3OD	74
Figura 36 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da IBUDAPQ em CDCl_3	76
Figura 37 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) da IBUDAPQ em CDCl_3	80
Figura 38 – Espectro no Infravermelho da IBUDAPQ e seus precursores.	81
Figura 39 – Espectro de massas da amostra de IBUDAPQ	83
Figura 40 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da NAPDAPQ em CDCl_3	84
Figura 41 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) do NAPDAPQ em CDCl_3	87
Figura 42 – Espectro no Infravermelho da NAPDAPQ e seus precursores.....	89
Figura 43 – Espectro de massas da amostra de NAPDAPQ	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados do RMN de ^1H (400MHz) da CEQ em CD_3OD	50
Tabela 2 – Dados do RMN de ^1H (400 MHz) da IBUCEQ em CDCl_3	55
Tabela 3 – Dados do RMN de ^{13}C (100 MHz) da IBUCEQ em CDCl_3	59
Tabela 4 – Bandas das principais funções observadas nos espectros no infravermelho da IBUCEQ e seus precursores.	61
Tabela 5 – Dados do RMN de ^1H (400 MHz) da NAPCEQ em CDCl_3	64
Tabela 6 – Dados do RMN de ^{13}C (100 MHz) da NAPCEQ em CDCl_3 . Erro! Indicador não definido.	
Tabela 7 – Bandas das principais funções observadas nos espectros no infravermelho da NAPCEQ e seus precursores.	69
Tabela 8 – Dados do RMN de ^1H (400 MHz) da DAPQ em CD_3OD	75
Tabela 9 – Dados do RMN de ^1H (400 MHz) da IBUDAPQ em CDCl_3	77
Tabela 10 – Dados do RMN de ^{13}C (100 MHz) da IBUDAPQ em CDCl_3	79
Tabela 11 – Bandas das principais funções observadas nos espectros no infravermelho da IBUDAPQ e seus precursores.	82
Tabela 12 – Dados do RMN de ^1H (400 MHz) da NAPDAPQ em CDCl_3	85
Tabela 13 – Dados do RMN de ^{13}C (100 MHz) da NAPDAPQ em CDCl_3	88
Tabela 14 – Bandas das principais funções observadas nos espectros no infravermelho da NAPDAPQ e seus precursores.	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIEs	Anti-inflamatórios esteroidais
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
ANOVA	Análise de variância
AR	Artrite reumatoide
ASICs	Canais iônicos sensíveis à ácido
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CEQ	N ¹ -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina
cm ⁻¹	Número de onda
COSY	<i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i> (Espectroscopia de correlação homonuclear)
COX	Ciclooxigenase
D ₂ O	Água deuterada
DAPQ	N ¹ -(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina
DICs	Doenças inflamatórias crônicas
DL ₅₀	Dose letal 50%
DMSO	Dimetilsulfóxido
e.p.m.	Erro padrão da média
FARMDs	Fármacos antirreumáticos modificadores de doença
FM	Fórmula molecular
GCaR	Grupo de Catálise e Reatividade Química
h	Hora
Hz	Hertz
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy</i> (Espectroscopia de coerência quântica individual heteronuclear)
IASP	Associação Internacional para o Estudo da Dor
IBUCEQ	N-(2-((7-cloroquinolin-4-il)amina)etil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida
IBUDAPQ	N-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida
IFN- γ	Interferon gama

IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucina
IQB	Instituto de Química e Biotecnologia
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m/z</i>	Razão massa/carga
CD ₃ OD	Metanol deuterado
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
mmol	Milimol
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazolil-2)-2,5-difeniltetrazólio
NAPCEQ	N-(2-((7-chloroquinolin-4-il)amina)etil)-2-(6-metóxinaftalen-2-il)propanamida
NAPDAPQ	N-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(6-metóxinaftaleno-2-il)propanamida
nm	Nanometro
PA	Para análise
PGs	Prostaglandinas
ppm	Parte por milhão
RMN	Ressonância magnética nuclear
RPMI	Meio Roswell Park Memorial Institute
SN _{AR}	Substituição nucleofílica aromática
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TRP	Receptores de potencial transitório
TXA ₂	Tromboxano A ₂
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
ν	Estiramento
δ	Deformação angular (no infravermelho); Deslocamento químico (no RMN)
μ L	Microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Inflamação	17
1.1.1 O processo da dor – nocicepção	18
1.1.2 O processo inflamatório	22
1.2 Doenças Inflamatórias Crônicas	24
1.2.1 Artrite reumatoide	25
1.2.1.1 Tratamento	27
1.3 Cloroquina.....	29
1.3.1 Derivados quinolínicos	30
1.4 Moléculas Híbridas na Química Medicinal	33
2 OBJETIVOS	37
2.1 Objetivo Geral.....	37
2.2 Objetivos Específicos	37
3 METODOLOGIA	38
3.1 Reagentes e Solventes Utilizados.....	38
3.2 Procedimentos de Síntese	38
3.2.1 Procedimento de síntese dos derivados 4-aminoquinolínicos.....	38
3.2.1.1 Síntese da N ₁ -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (CEQ)	39
3.2.1.2 Síntese da N ₁ -(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina (DAPQ)	40
3.2.2 Procedimento de síntese dos novos híbridos moleculares	40
3.2.2.1 Síntese da N-(2-((7-cloroquinolin-4-il)amino)etil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida (IBUCEQ)	41
3.2.2.2 Síntese da N-(2-((7-chloroquinolin-4-il)amino)etil)-2-(6-metóxinaftalen-2-il)propanamida (NAPCEQ).....	42
3.2.2.3 Síntese da N-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida (IBUDAPQ).....	43
3.2.2.4 Síntese da N-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(6-metóxinaftaleno-2-il)propanamida (NAPDAPQ)	44
3.3 Caracterização dos Compostos	45
3.3.1 Equipamentos.....	45
3.3.2 Preparo das Amostras	45
3.3.2.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	45
3.3.2.2 Espectroscopia no Infravermelho (IV)	46
3.3.2.3 Espectrometria de Massas	46
3.4 Avaliação da citotoxicidade	46

3.4.1 Ensaio de viabilidade celular a partir do método de MTT.....	46
3.4.2 Análise Estatística.....	48
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 Síntese e Caracterização da <i>N</i>₁-(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (CEQ).....	49
4.2 Síntese e Caracterização da <i>N</i>-(2-((7-cloroquinolin-4-il)amina)etil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida (IBUCEQ)	52
4.3 Síntese e Caracterização da <i>N</i>-(2-((7-chloroquinolin-4-il)amina)etil)-2-(6-metóxinaftalen-2-il)propanamida (NAPCEQ)	62
4.4 Ensaio de viabilidade celular	70
4.5 Síntese e Caracterização da <i>N</i>₁-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina (DAPQ)	73
4.6 Síntese e Caracterização da <i>N</i>-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida (IBUDAPQ).....	75
4.7 Síntese e Caracterização da <i>N</i>-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(6-metóxinaftaleno-2-il)propanamida (NAPDAQ).....	83
5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	91
REFERÊNCIAS.....	92
APÊNDICES.....	100

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, o ser humano tenta entender quais são as razões pelas quais ocorre a sensação de dor e como está poderia ser interrompida ou ao menos minimizada (FRADELOS; FRADELOU; KASIDI, 2014). A dor é subjetiva e atua como um mecanismo de defesa em praticamente todo ser humano. Pode ser desencadeada a partir de estímulos mecânicos, químicos ou biológicos e está intimamente ligada à inflamação, sendo uma experiência sensorial associada à fatores emocionais que tende a ser desagradável e levar à danos teciduais (YAM et al., 2018).

A dor é um dos principais sinais do processo inflamatório, sendo denominada de dor inflamatória. Em processos inflamatórios crônicos, que levam às doenças inflamatórias crônicas (DICs), como a artrite reumatoide, o lúpus eritematoso sistêmico e a esclerose múltipla, a dor também se encontra em sua forma crônica (STRAUB; SCHRADIN, 2016).

Sabe-se que existem diferentes mecanismos biológicos envolvidos no processo patológico das doenças inflamatórias crônicas demandam abordagens terapêuticas diferentes. Para cada abordagem, existem diferentes opções de agentes farmacoterapêuticos (DINARELLO, 2010; LAVETI et al., 2013).

Ainda assim, em detrimento da variedade de opções terapêuticas para o tratamento da inflamação crônica, parte dela não leva a uma completa remissão do quadro clínico ou a terapia detém alto custo para população em geral (LAU et al., 2015). Desta forma, se faz necessária a busca por novos agentes que possam sanar essas limitações.

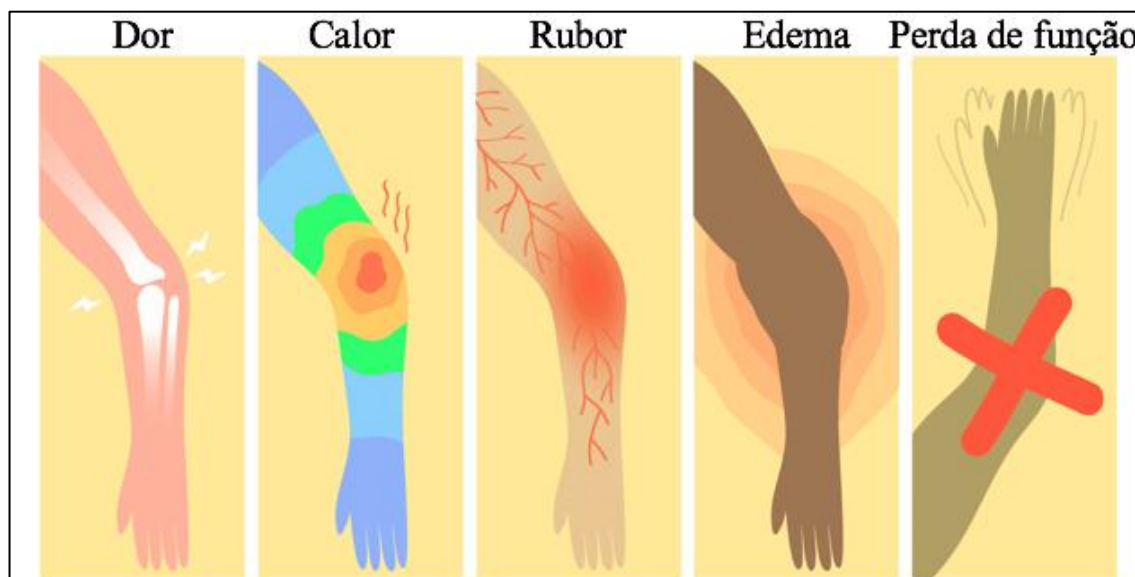
Na química medicinal, uma das estratégias para o planejamento e desenvolvimento de novos fármacos é a hibridização molecular. Para isto, é feita a junção de duas moléculas com potencial farmacológico que possam resultar em uma nova molécula com potencial acentuado, cujas diferentes porções podem atuar em mecanismos diferentes ou levar à novos mecanismos de ação (DECKER, 2017).

Diante deste problema, o presente trabalho visa utilizar a estratégia da produção de novas moléculas a partir da hibridização de dois compostos que possuem potencial anti-inflamatório a fim de gerar protótipos para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas, em especial, a artrite reumatoide.

1.1 Inflamação

A inflamação é um mecanismo de defesa do organismo que age através do sistema imunológico como resposta a um estímulo nocivo mecânico, químico ou biológico. A inflamação ocorre de forma a cessar ou neutralizar o estímulo nocivo e restaurar o local, reestabelecendo à sua função fisiológica. Para que a inflamação ocorra é necessário um conjunto de cascatas bioquímicas e recrutamentos celulares, no organismo, a fim de que ocorra uma resposta aguda e, conseqüentemente, a neutralização do estímulo nocivo aconteça o mais rápido possível (RICCIOTTI; FITZGERALD, 2011).

Figura 1 – Os cinco sinais cardinais da inflamação.



Fonte: Adaptado de JR Bee, 2019.

A inflamação possui cinco sinais cardinais amplamente descritos na literatura, sendo eles: dor, rubor, calor, tumor e perda de função (**Figura 1**). A dor ocorre em virtude da liberação de mediadores químicos no local lesionado, o que leva à uma hiperestimulação dos receptores da dor. O rubor (vermelhidão) e calor (aumento da temperatura) estão relacionados ao grande fluxo sanguíneo no local onde está ocorrendo o processo inflamatório. Este fluxo ocorre justamente pelo recrutamento das células do sistema imunológico liberadoras de grânulos presentes no sangue. O tumor, também chamado de edema, ocorre também devido ao aumento do fluxo sanguíneo que está intimamente ligado ao aumento da permeabilidade vascular. E

por último, a perda de função que ocorre em conjunto dos outros sinais, impedindo que o indivíduo realize atividades normais na região lesionada (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2015).

Apesar de ser um tema bastante difundido e estudado ao longo das décadas, pesquisas relacionadas à inflamação ainda são de grande interesse devido aos inúmeros efeitos deletérios que o processo inflamatório leva ao organismo humano, gerando diferentes impactos no dia-a-dia. Contudo, o processo inflamatório está diretamente envolvido na patogênese de diferentes doenças, como a artrite reumatoide, diabetes, câncer, obesidade e doenças cardiovasculares, etc – e este envolvimento está geralmente associado à diferentes fatores, o que leva à uma contínua pesquisa científica sobre eles com o objetivo de elucidar as causas e encontrar as melhores possibilidades de tratamento (JAGADISH et al., 2016).

1.1.1 O processo da dor – nocicepção

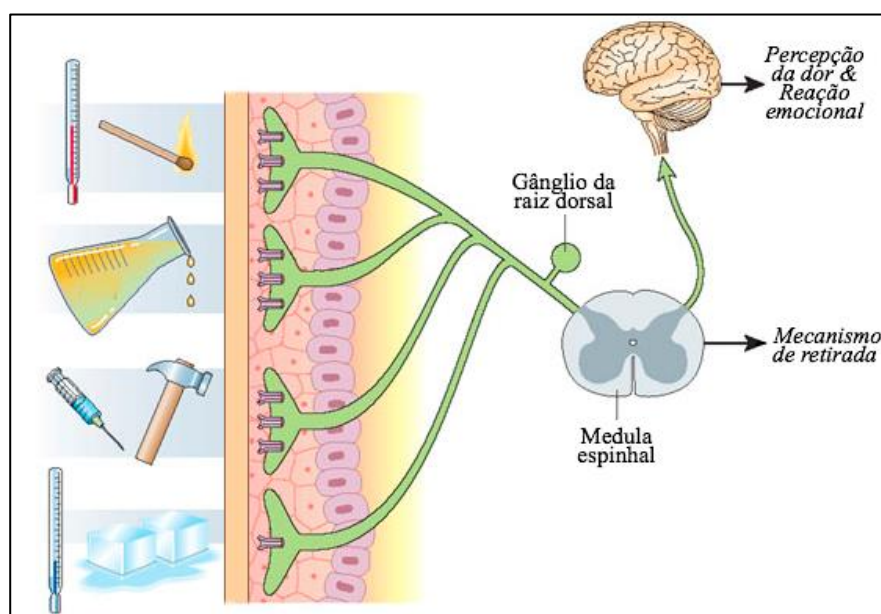
Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a dor é definida como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a um real ou potencial dano tecidual, ou descrita em termos de tal dano” (MERSKEY; BOGDUK, 1994). A sensação da dor está presente em praticamente todos os seres humanos, como mecanismo de defesa do organismo para proteção contra estímulos nocivos mecânicos, químicos e térmicos (SWIEBODA et al., 2013).

Contudo, a sensação de dor é uma experiência subjetiva, influenciada por diversos fatores, como: físico-químicos, patológicos, genéticos, cognitivos, emocionais, culturais, e, o mais importante deles, o fisiológico, denominado de nocicepção, que está relacionado a percepção dolorosa pelo sistema nervoso central (ROY et al., 2009; TRACEY, 2010). Por se tratar de uma experiência subjetiva, não é possível medir uma sensação dolorosa a partir de instrumentos físicos, sendo necessário a utilização de métodos de avaliação a partir de escalas dos diferentes contextos que podem estar envolvidos na sensação dolorosa para, por fim, ser designado o melhor tratamento (SOUSA, 2002).

Existem diferentes formas de se classificar a dor, sendo a principal delas a classificação de acordo com a origem da sensação dolorosa, dividindo-se em: dor nociceptiva, dor inflamatória e dor neuropática (WOOLF, 2004). A dor nociceptiva (**Figura 2**), também chamada de dor aguda, ocorre quando um estímulo mecânico,

químico ou térmico é suficientemente capaz de superar o limiar de disparo dos receptores sensoriais da dor – chamados de nociceptores. A partir da ativação destes receptores, há a geração de um sinal que percorre do sistema nervoso periférico (SNP) até o sistema nervoso central (SNC), onde ocorre a percepção dolorosa e ocorre a ativação do mecanismo de retirada, no qual o indivíduo reage afim de interromper a atuação do estímulo nocivo (SCHOLZ; WOOLF, 2002). Este tipo de dor geralmente pode ser tratada com analgésicos não opioides, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e analgésicos opioides (DISTRUTTI et al., 2010).

Figura 2 – Esquema representativo da dor nociceptiva.

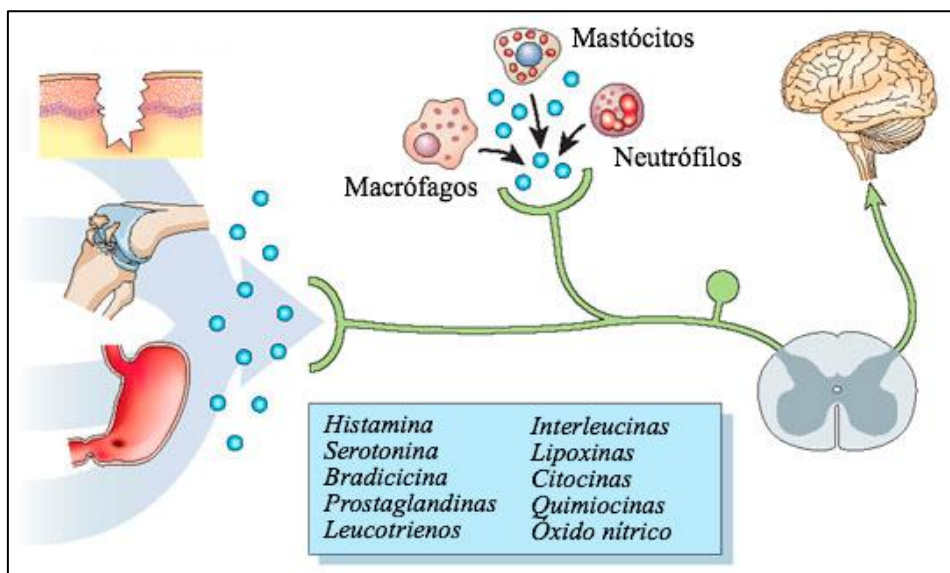


Fonte: Adaptado de SCHOLZ & WOOLF, 2002.

A dor inflamatória (**Figura 3**) ocorre quando um estímulo nocivo (mecânico, químico ou térmico) é capaz de causar lesão tecidual local. Esta lesão provoca um processo que envolve o recrutamento de células inflamatórias, liberando, no local da lesão, mediadores químicos que diminuem o limiar de disparo dos nociceptores, ou seja, facilita sua ativação e desencadeia a resposta dolorosa (CUNHA, 2009). Esta sensibilização dos nociceptores através de mediadores inflamatórios, como a histamina e a bradicinina, é chamado de hiperalgesia inflamatória (RONCHETTI; MIGLIORATI; DELFINO, 2017). Dependendo do tipo da resposta inflamatória, a sensação dolorosa gerada pode ser tratada com a utilização de analgésicos não opioides, AINEs, anti-inflamatórios esteroidais (AIEs – também conhecidos como

corticoides), inibidores seletivos da enzima cicloxigenase-2 e analgésicos opioides (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

Figura 3 – Esquema representativo da dor inflamatória.

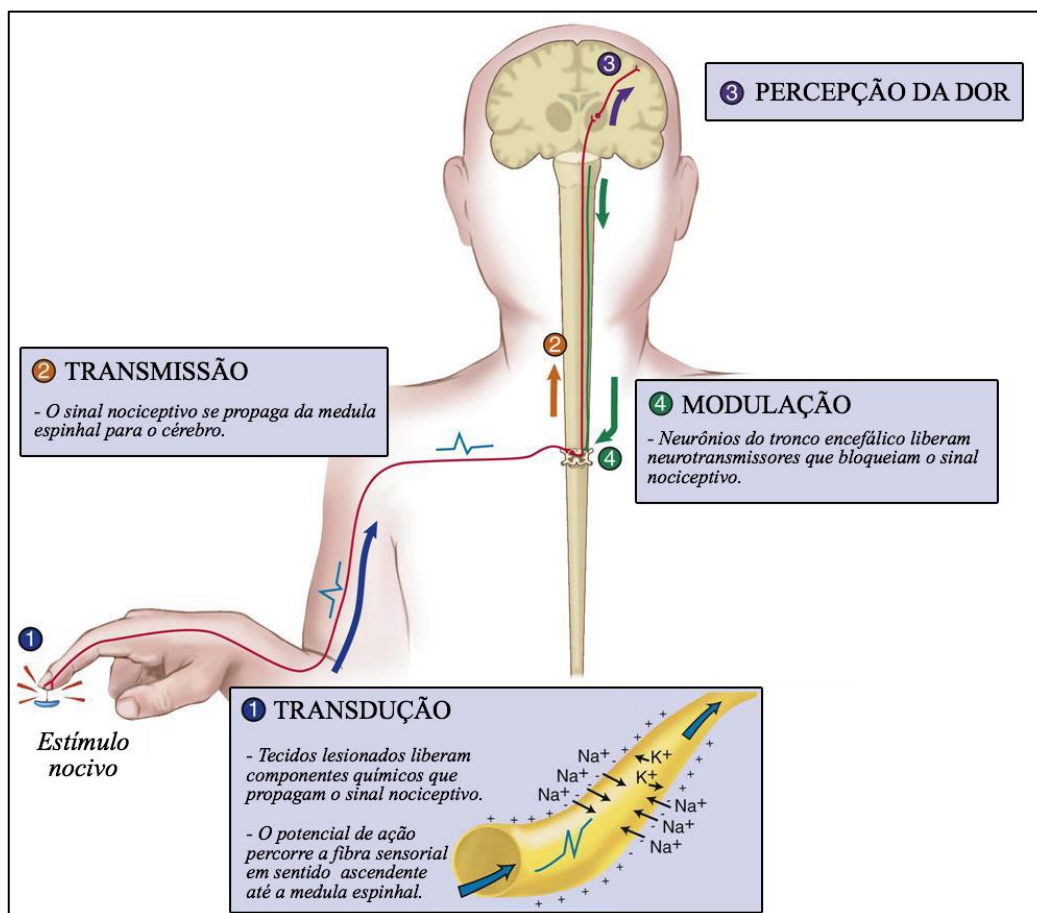


Fonte: Adaptado de SCHOLZ & WOOLF, 2002.

Já a dor neuropática é decorrente de alguma lesão no sistema nervoso periférico ou central que esteja associado diretamente na transmissão da dor. Pode ter origens diferentes, mas geralmente está associada à fatores genéticos, metabólicos, isquêmicos, ou é gerada por consequência de infecções, traumas ou toxicidade de substâncias exógenas (COLLOCA et al., 2017). Quando a lesão ocorre em neurônios no sistema nervoso periférico, a dor neuropática também pode ser chamada de dor neurogênica. O tratamento deste tipo de dor requer analgésicos mais potentes, como opioides ou antidepressivos tricíclicos, pois tratamentos comuns, como AINEs, não mostram boa eficácia (WETERING et al., 2010).

Como já mencionado, o componente fisiológico da dor é denominado de nocicepção. Este está diretamente relacionado à percepção dolorosa pelo córtex cerebral a partir da sensibilização dos nociceptores periféricos. Para isso, este componente está associado aos seguintes processos: transdução, transmissão, modulação e percepção do estímulo nociceptivo (**Figura 4**) (CHAN; HAYEK; VEIZI, 2018).

Figura 4 – Os processos de transdução, transmissão, percepção e modulação da dor.



Fonte: Adaptado de JARVIS, 2011.

A transdução envolve um neurônio modificado de primeira ordem, com sua terminação livre que se projeta em direção a medula espinhal - o nociceptor. Este é sensibilizado a partir de um estímulo nocivo suficientemente capaz de ativá-lo e gerar a despolarização da sua membrana plasmática. Essa despolarização gera um impulso elétrico que percorre a fibra neuronal até a medula espinhal (MCENTIRE et al., 2016).

Os diferentes estímulos (térmicos, químicos ou mecânicos) capazes de excitar os nociceptores são detectados a partir da ativação de receptores de potencial transitório (TRP) ou da ativação de canais iônicos sensíveis à ácido (ASICs) que estão presentes na membrana plasmática destes receptores especializados (PATAPOUTIAN; TATE; WOOLF, 2009; PETROFF et al., 2008). Quando o estímulo provoca um dano tecidual local que leva ao processo inflamatório e, consequentemente, a liberação de mediadores pró-inflamatórios na região, estes por sua vez induzem o aumento da expressão de ASICs. Assim, os nociceptores são sensibilizados, tornando mais fácil a despolarização da membrana plasmática e a

geração do impulso nervoso que será propagado até o sistema nervoso central (MAMET et al., 2002).

Na medula espinhal, um neurônio de segunda ordem propaga o impulso elétrico gerado no sistema nervoso periférico ao sistema nervoso central, sendo este processo denominado de transmissão (JARVIS, 2011). Ao chegar ao sistema nervoso central, um neurônio de terceira ordem é responsável pelo processo de percepção da dor, que consiste na transmissão do impulso elétrico para o córtex cerebral e para a região do sistema límbico no tálamo. O sistema límbico informará que há um estímulo nociceptivo e o associará à fatores emocionais, enquanto o córtex será responsável pela caracterização do tipo de sensação dolorosa (ELLISON, 2017).

Além destes, um quarto neurônio é capaz de propagar o impulso nervoso na direção descendente, ou seja, em direção a medula espinhal, onde ocorrerá a liberação de neurotransmissores capazes de modular o impulso ascendente dos neurônios responsáveis pela transmissão e percepção. Esta modulação pode ser positiva, ou seja, aumentar a sensibilização destes neurônios, ou negativa, quando o impulso ascendente é parcialmente impedido e ocorre uma diminuição da sensação de dor (JARVIS, 2011; LOCKHART; YONG, 2017).

1.1.2 O processo inflamatório

Um processo inflamatório inicia-se pela chamada fase de indução. Esta é fase mais rápida e está intimamente vinculada à uma forte ativação do sistema imune. Ela começa no momento em que é percebido estímulos nocivos exógenos ou endógenos de origem mecânica, química ou biológica e leva ao recrutamento de células liberadoras de mediadores lipídicos e proteicos (NETEA et al., 2017).

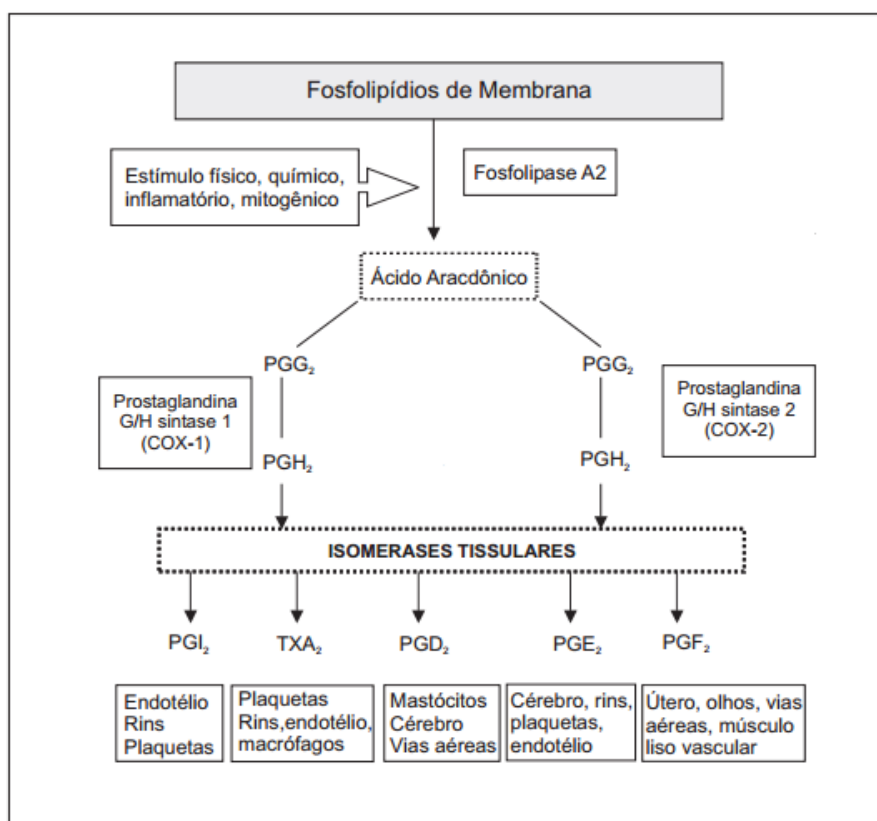
Assim, com o início do processo inflamatório, ocorre no local lesionado o recrutamento de macrófagos e leucócitos polimorfonucleares que, após um conjunto de reações bioquímicas, levam a liberação de mediadores químicos que irão desempenhar uma série de funções, desde a quimiotaxia (recrutamento de mais células inflamatórias) até o aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação e diminuição do limiar de excitação dos receptores sensoriais para dor (BELLÓ et al., 2015).

Este processo acontece quando vias de sinalização inflamatória são ativados, o que leva à expressão de padrões moleculares (fator nuclear-kB, proteína-1 ativada

e fatores reguladores de interferon) por células inflamatórias. Receptores celulares reconhecem estes padrões e iniciam a produção de citocinas pró-inflamatórias a partir de uma cascata bioquímica bem definida (PARK et al., 2017).

A cascata bioquímica intracelular inicia-se quando fosfolípidos de membrana não capturados e utilizados por fosfolipases para a produção do ácido araquidônico. Este por sua vez é utilizado como substrato para as ciclo-oxigenases (COXs) – a qual possui duas isoformas, a COX-1 constitutiva e fisiológica, e a COX-2, induzida em processos inflamatórios e patológica. A utilização do ácido araquidônico pelas COXs leva à formação de prostaglandinas (PGs) e tromboxano A₂. As prostaglandinas são essenciais no processo inflamatório, pois quando seus níveis são aumentados devido a expressão de COX-2, estas levam ao recrutamento de células do sistema imune, além de atuar na permeabilidade vascular para facilitar a transição e atuação das células recrutadas no local lesionado. Na **Figura 5** encontra-se um resumo da cascata bioquímica, assim como as principais PGs produzidas e onde estas atuam (RICCIOTTI; FITZGERALD, 2011)

Figura 5 – Cascata bioquímica para formação das prostaglandinas a partir do ácido araquidônico.



Fonte: Adaptado de KUMMER; COELHO, 2002.

No processo inflamatório, as principais prostaglandinas presentes são a PGE₂, PGI₂ (prostaciclina), PGD₂, PGF_{2α} e o TXA₂ (tromboxano A₂). As prostaglandinas PGE₂, PGD₂ e PGF_{2α} atuam aumentando a permeabilidade vascular, diretamente vinculada ao edema observado durante o processo inflamatório. A prostaciclina também atua aumentando a permeabilidade vascular, mas adicionalmente potencializa a quimiotaxia (PECCHI et al., 2009).

Outros mediadores químicos também estão envolvidos no processo inflamatório, como a histamina. Esta é liberada dos grânulos presentes em mastócitos e basófilos e atuam também no aumento da permeabilidade vascular e vasodilatação. Por estarem em grande quantidade na epiderme, a liberação de histamina neste local costuma levar a um quadro de eritema (THURMOND; GELFAND; DUNFORD, 2008).

Além das PGs e da histamina, outras citocinas que também têm grande influência no processo inflamatório são os seguintes polipeptídeos: interleucinas (IL), fator de necrose tumoral e interferon. As citocinas IL-1, IL-6, IL-8, fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e interferon gama (IFN-γ) são pró-inflamatórias, ou seja, atuam de forma a perpetuar a resposta inflamatória. As citocinas IL-4, IL10 e IL-13 são consideradas anti-inflamatórias pois atuam diminuindo os estímulos gerados pelas citocinas mencionadas anteriormente (SILVA et al., 2017).

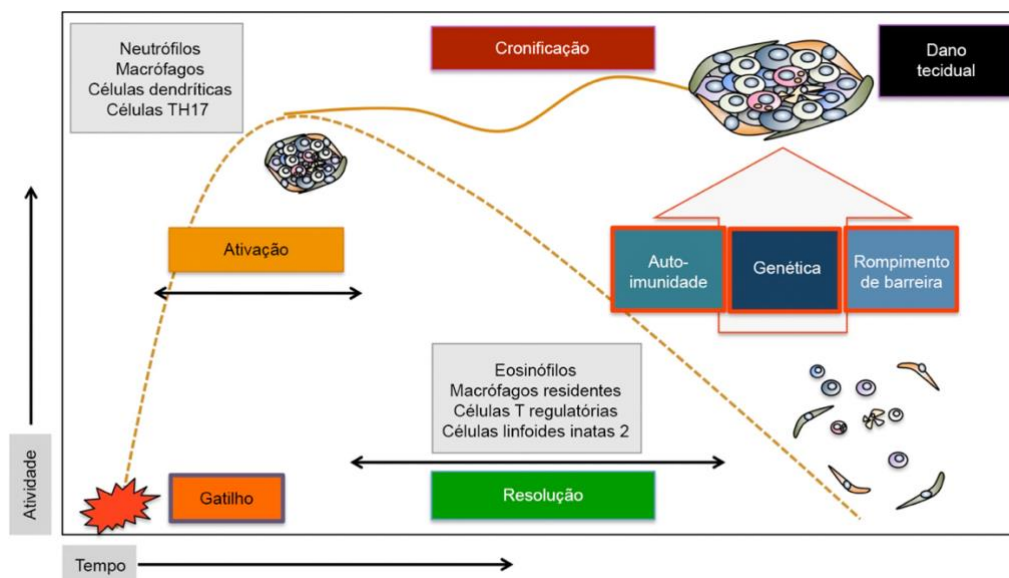
1.2 Doenças Inflamatórias Crônicas

Como mencionado anteriormente, o processo inflamatório é caracterizado por uma sequência de eventos que vão desde a fase de indução a partir de um estímulo nocivo até o momento de sua total eliminação, retornando ao estado de homeostase do sistema, momento chamado de fase de resolução. Isso ocorre no que é chamado de inflamação aguda, quando o processo inflamatório decorre a partir de um estímulo que o organismo é capaz de eliminar (BUCKLEY et al., 2013).

Quando um indivíduo é incapaz de eliminar o processo inflamatório este evolui para um quadro crônico de longa extensão temporal (**Figura 6**), o qual pode durar semanas, meses ou anos, levando a geração de doenças inflamatórias crônicas que

estão diretamente associadas a lesões teciduais irreversíveis, como asma, artrite, doença de Crohn, lúpus, entre outras (NASEF; MEHTA; FERGUSON, 2017).

Figura 6 – Representação da evolução entre as fases de indução, resolução e cronificação da inflamação.



Fonte: SCHETT; NEURATH, 2018.

É reportado que os fatores que geralmente estão envolvidos no impedimento desta resolução podem ser genéticos (respostas imunes exacerbadas ou modulação de microbiota intestinal), autoimunes ou mal funcionamento de barreiras que impedem exposições prolongadas à agentes nocivos (SCHETT; NEURATH, 2018).

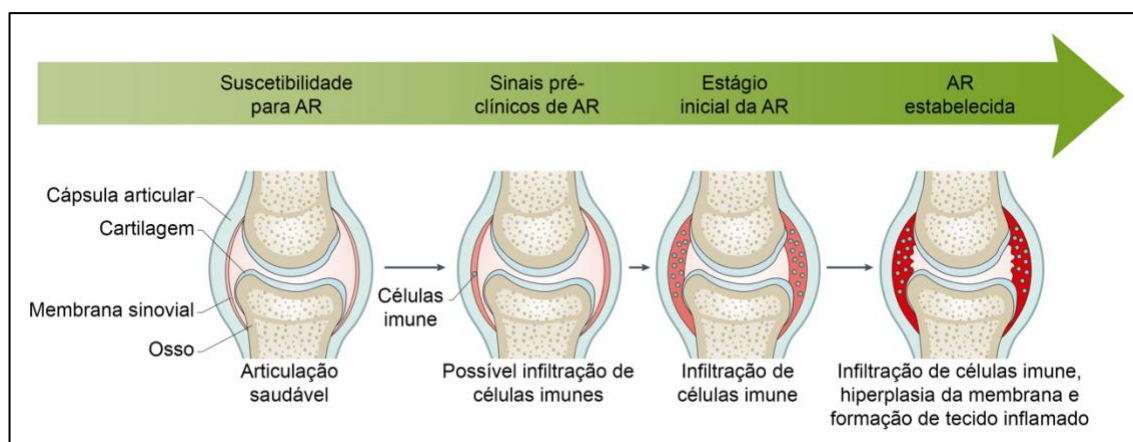
1.2.1 Artrite reumatoide

A artrite reumatoide (AR) é uma doença inflamatória crônica que acomete as articulações. Ela é uma doença de natureza autoimune, comumente associada à produção de autoanticorpos para a imunoglobulina G (IgG) e para proteínas citrulinadas. Contudo, mesmo esta sendo uma importante característica presente na AR, que é uma das razões para classificá-la como doença autoimune, alguns pacientes não apresentam estes autoanticorpos. Por isso, a AR é considerada uma doença complexa que envolve vários fatores, possuindo apresentações clínicas variadas e diferentes mecanismos pelos quais a doença pode surgir (MALMSTRÖM; CATRINA; KLARESKOG, 2017).

Existem diversos fatores que são potenciais riscos para o desenvolvimento da AR. Dentre estes, o fator genético é o principal, demonstrando que a doença tem uma importante condição hereditária (cerca de 60%). Além desse, outros fatores de riscos não genéticos também podem ser observados, como a predisposição em mulheres, fumantes e obesos. Além disso, pacientes com AR tem uma alta prevalência de doenças cardiovasculares (como hipertensão, diabetes e hiperlipidemia), sendo esta a principal causa de morte prematuras (SMOLEN et al., 2018).

O curso da AR pode ser dividido em algumas etapas, como mostrado na **Figura 7**. A primeira delas é o estágio pré-clínico da AR, que ocorre anos antes da doença se instalar de vez. Seu desenvolvimento ocorre a partir de fatores de riscos (genéticos e/ou não genéticos) que levam ao início do processo inflamatório a partir do recrutamento de células imunes para a membrana sinovial, onde é iniciado a produção de autoanticorpos capazes de causar danos teciduais locais (AREND; FIRESTEIN, 2012).

Figura 7 – Estágios de progressão da artrite reumatoide (AR).



Fonte: Adaptado de SMOLEN et al., 2018.

Quando ocorre a infiltração de células imunes, principalmente macrófagos e linfócitos T CD4+ na membrana sinovial, a AR está em seu estágio inicial. Neste ponto, os sintomas comuns de inflamação (como os 5 sinais cardeais) já podem ser observados, e nas articulações já é possível se encontrar sinais de enzimas capazes de degradar matrizes extracelulares e causar danos teciduais (STEINER, 2007).

Com a evolução da doença, os macrófagos se perpetuam nas membranas sinoviais e desempenham seu papel de maneira muito mais proeminente, caracterizando a AR em seu estágio estabelecido. Neste ponto, os sinais e sintomas

são frequentes, e os danos teciduais causados localmente costumam ser irreversíveis (MALMSTRÖM; CATRINA; KLARESKOG, 2017).

A complexidade dos processos patológicos em que a AR está envolvida faz com que a doença apresente grandes dificuldades no seu tratamento. No entanto, os avanços nas últimas décadas contribuíram para que hoje o tratamento da doença seja otimizado, visando principalmente a sua completa remissão – algo possível de se atingir quando a doença está em seus estágios iniciais, mas consideravelmente difícil em estágios mais avançados (LAU et al., 2015)

1.2.1.1 Tratamento

Inicialmente, o tratamento da artrite reumatoide era realizado com a utilização de agentes como complexos de ouro ou com penicilamina. No entanto, estes apresentaram baixa efetividade e altos efeitos colaterais, além de mecanismos de ação pouco evidentes, o que culminou em seu desuso (BURMESTER et al., 2017).

Atualmente, o tratamento farmacológico da artrite reumatoide tem como objetivo inicial aliviar os sintomas provocados pelo processo inflamatório. Para isso, são utilizados AINEs, principalmente derivados do ácido propiônico (ibuprofeno, naproxeno e cetoprofeno), por possuírem menores riscos, e também o piroxicam, que apresenta uma meia-vida mais prolongada. Contudo, estes fármacos atuam apenas nos sintomas, pois tem como mecanismo de ação a inibição da COX, sendo incapazes de agir no impedimento da deformação nas articulações (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012). Os glicocorticoides (AIEs) também podem ser utilizados, mas apenas para regular rapidamente o processo inflamatório intensificado, devendo ser usado por curto período devido aos seus efeitos colaterais que causam supressão da glândula suprarrenal (BURMESTER et al., 2017).

Para combater mais efetivamente esta doença surgiram os fármacos antirreumáticos modificadores da doença (FARMDs), que atuam diretamente no curso da doença, impedindo a progressão da destruição do tecido das articulações (SARKAR et al., 2018). Como mostrado na **Quadro 1**, os FARMDs incluem diferentes agentes que podem ser biológicos ou sintéticos e que detêm diferentes atividades farmacológicas, como atividades antimalárica e antibacteriana, mas que também atuam de maneira eficiente no tratamento da artrite reumatoide (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

Os fármacos anti-reumáticos modificadores da doença (FARMDs) são capazes de agir bloqueando a produção ou atividade de mediadores inflamatórios nas articulações, impedindo que ocorra a destruição da cartilagem local e posterior perda de função. Ainda que possam ser utilizados de forma individual, a maioria dos FARMDs são utilizados em terapia combinada, principalmente com AINEs, pois estes possuem menos efeitos colaterais. Esta associação aumenta a efetividade pois atua tanto na causa da doença, quanto nos sinais e sintomas (KASHMIRA et al., 2015). Por esta razão, o planejamento de novos candidatos a fármacos, visando essa associação, pode permitir que essa dupla ação de efeito modificador da doença junto ao tratamento sintomático seja mais efetiva.

Quadro 1 – Fármacos antirreumáticos modificadores da doença.

	FÁRMACOS	CLASSE OU AÇÃO
Síntéticos	Metotrexato	Antifolato
	Hidroxicloroquina	Antimalárico
	Minociclina	Antibiótico tetraciclina
	Sulfassalazina	Salicilato
	Ciclosporina	Inibidor de calcineurina
	Ciclofosfamida	Agente alquilante
Imunobiológicos	Adalimumabe	Anticorpo, antagonista de TNF- α
	Infliximabe	Proteína de fusão do receptor IgG-TNF (anti-TNF)
	Certolizumabe	Fragmento de ligação do antígeno para TNF- α
	Abatacept	Inibidor de coestimulação de célula T
	Rituximabe	Anticorpo para CD20 (citotóxico para células B)
	Anaquinra	Antagonista do receptor de IL-1

Fonte: BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012.

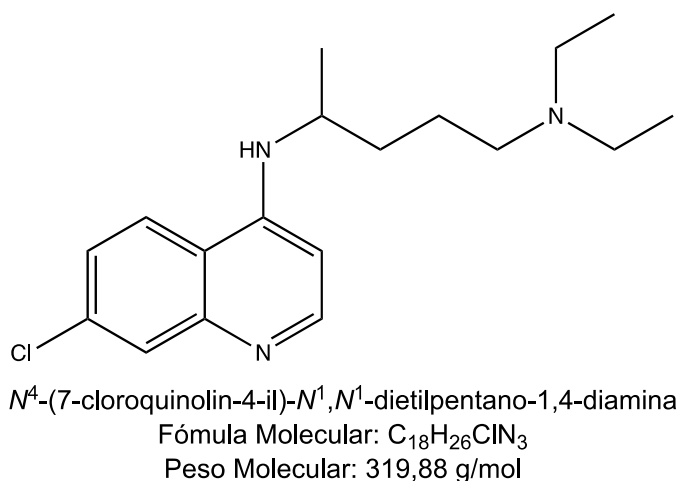
Considerando os FARMDs, a cloroquina e a hidroxicloroquina foram utilizadas inicialmente para o tratamento contra a malária e, após alguns anos de uso, sua atividade contra doenças inflamatórias crônicas também foi evidenciada, passando a serem utilizadas contra artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico (DE MENESES SANTOS et al., 2015). Ambas substâncias são derivados 4-

aminoquinolínicos, amplamente comercializados, e estão entre os FARMDS mais baratos disponíveis no mercado (RAINSFORD et al., 2015).

1.3 Cloroquina

A cloroquina (**Figura 8**) é uma 4-aminoquinolina que se encontra em uso desde os anos 1940 atuando efetivamente contra formas eritrocíticas de espécies de *Plamodium*, agente etiológico causador da doença conhecida como malária. Contra esta doença, a molécula de cloroquina atua a partir da inibição da enzima heme-polimerase, impedindo a utilização de substratos para o metabolismo essencial do parasito e levando a sua morte (RITTER; RANG; DALE, 2012).

Figura 8 – Estrutura química da cloroquina.



Fonte: Autor, 2020.

No tratamento da artrite, a cloroquina geralmente é utilizada nos estágios iniciais, em que as lesões ainda encontram-se em formas leves ou moderadas, atuando na doença de forma segura e eficaz, principalmente quando associadas ao tratamento sintomático com AINEs. Comercialmente, é encontrada em duas formas: difosfato de cloroquina e sulfato de hidroxicloroquina (MORETTO; PILOTO, 2014).

Ainda não está completamente elucidado o mecanismo de ação pelo qual a cloroquina age em doenças inflamatórias crônicas. Contudo, acredita-se que esta seja capaz de diminuir a produção de PGs. Além disso, a cloroquina é uma base fraca capaz de penetrar os lisossomos intracelulares, aumentando o pH do meio e inibindo a ação de enzimas locais e atuando no processo de fagocitose de células

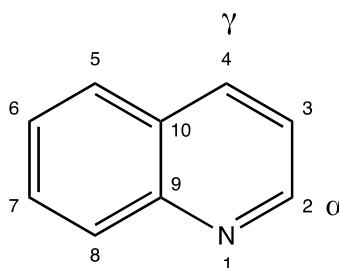
polimorfonucleares e macrófagos. Junto à isso, também acredita-se que a cloroquina pode interagir na formação dos complexos antígeno-anticorpo, levando a diminuição da expressão de citocinas pró-inflamatórias (MORETTO; PILOTO, 2014).

A cloroquina possui poucos efeitos adversos quando administrada em pequenas doses. Entre estes efeitos estão incluídos: náuseas, vômitos, tonturas e dor de cabeça. Sintomas de urticária podem ser observados quando altas doses são usadas para tratar quadros agudos de malária. Doses altas também podem causar efeitos mais graves, como retinopatia e perda de audição. Por ter efeitos leves, sendo os mais graves observados apenas em doses elevadas, a cloroquina pode ser utilizada por grávidas (RITTER; RANG; DALE, 2012).

1.3.1 Derivados quinolínicos

Derivados quinolínicos são heterocíclicos que possuem um nitrogênio como heteroátomo, formando o anel quinolínico (**Figura 9**) que é indispensável para a atividade biológica dos compostos com esta estrutura. Derivados que possuem este núcleo geralmente detêm as seguintes atividades: anti-inflamatórias, antitumorais, antiparasitárias e antioxidantes (GHORAB; AL-SAID; ARAFA, 2014).

Figura 9 – Estrutura química núcleo quinolínico.



Fonte: Autor, 2020.

O planejamento e síntese de novos derivados deste grupo farmacofórico geralmente envolvem substituições nas posições C-4 e C-2. Toche e colaboradores (2010) indicam que a presença do átomo de cloro na posição C-4 ativa a posição para a inclusão e exclusão de substituintes-amino, gerando uma diferente variedade de compostos 4-aminoquinolínicos, o que mostra que essa classe pode deter diferentes substituintes na posição 4, que podem servir como compostos de partida para novas sínteses ou para a formação de protótipos com potenciais biológicos. Um outro estudo

de Toche e colaboradores (2016) com diferentes derivados 4-aminoquinolínicos (**Quadro 2**), mostrou que estes possuíam atividade antimicrobiana contra diferentes bactérias Gram positivas e Gram negativas.

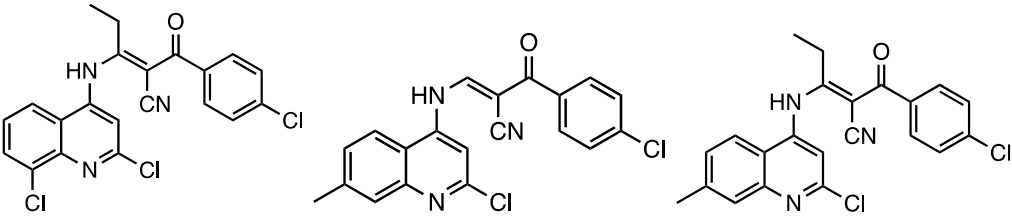
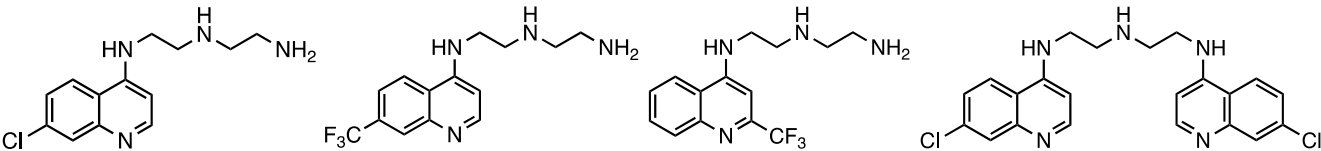
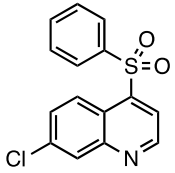
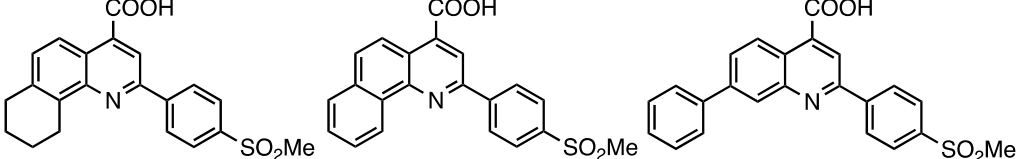
Além das atividades supracitadas, compostos 4-aminoquinolínicos têm mostrado potencial atividade anti-inflamatória, como indicado por De Meneses Santos e colaboradores (2015). Neste estudo, derivados 4-aminoquinolínicos (**Quadro 2**) foram capazes de modular a resposta nociceptiva em ensaios pré-clínicos *in vivo*, além de diminuir o processo de migração leucocitária e inibirem significativamente processos inflamatórios crônicos, confirmando o potencial desta classe como terapia da dor e inflamação.

A substituição por outros grupos também tem gerado moléculas com potencial atividade anti-inflamatória. Isto foi demonstrado no estudo de Pinz e colaboradores (2017), que introduziu um grupamento fenilsufonil na posição 4 do anel quinolínico (**Quadro 2**) e obteve resultados significantes em diferentes ensaios que avaliaram a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória aguda em camundongos.

Zarghi e colaboradores (2009) avaliaram derivados quinolínicos substituídos nas posições 2 e 4 por grupamentos fenila (possuindo na posição *para* um grupamento metilsufonil) e carboxila, respectivamente (**Quadro 2**). Em seus resultados eles puderam verificar que os compostos possuíam atividade inibitória contra a COX-2, enzima induzida no processo inflamatório para produção de prostaglandinas e outros mediadores pró-inflamatórios.

Assim, nota-se que substituições nessas posições do anel quinolínico, além de serem facilmente obtidas, possuem potencial para diferentes ações farmacológicas.

Quadro 2 – Derivados 4-aminoquinolínicos e atividades biológicas.

Autor	Atividade	Derivado
Toche e colaboradores (2016).	Atividade antimicrobiana	
De Meneses Santos e colaboradores (2010).	Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória.	
Pinz e colaboradores (2017).	Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória.	
Zarghi e colaboradores (2009).	Potentes inibidores da COX-2.	

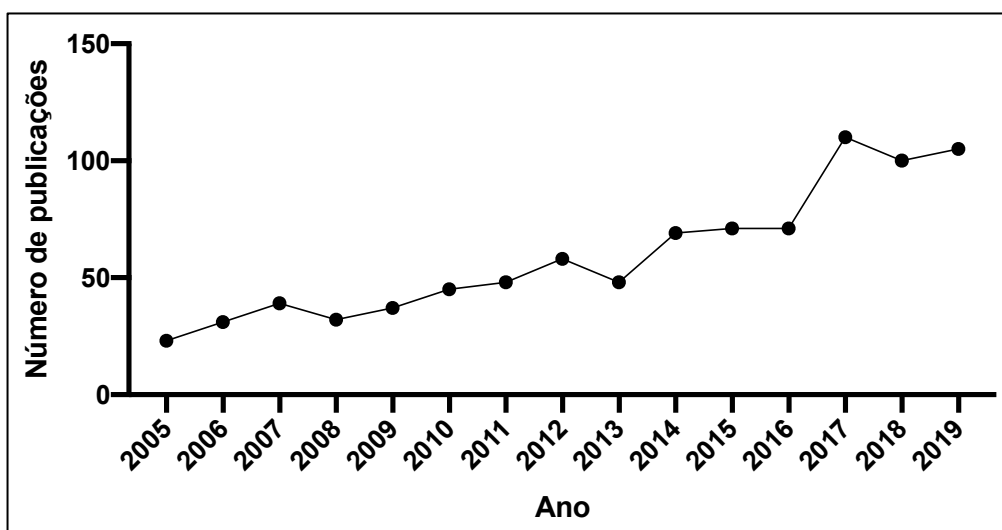
1.4 Moléculas Híbridas na Química Medicinal

O planejamento de estruturas moleculares visando a obtenção de novos candidatos à fármacos é o passo inicial e, provavelmente, o mais importante para o desenvolvimento de um novo medicamento (DECKER, 2017). Contudo, esse processo costuma consumir muito tempo e trabalho, com custos e riscos bastante elevados. Mesmo levando, em média, de 10-15 anos para desenvolver um novo fármaco, a taxa de sucesso é de apenas 2%. Logo, existe uma necessidade de melhorias em estratégias para que possam ser obtidos novos candidatos a fármacos (XUE et al., 2018).

Sabe-se que muitas doenças agem em diferentes sítios de atividade bioquímica, conseqüentemente, envolve mais de um processo bioquímico e/ou fisiológico simultaneamente. Um exemplo clássico são as doenças neurodegenerativas de Parkinson e Alzheimer que agem em diferentes alvos do sistema nervoso central, provocando um grave processo patofisiológico (SHEN, 2010). Aqui, uma das estratégias que podem ser utilizadas é a produção de moléculas híbridas de medicamentos conhecidos no combate dessas doenças.

Uma pesquisa na base de dados *SciFinder* mostrou um aumento no número de publicações sobre o planejamento, síntese e/ou avaliação da atividade de moléculas híbridas (**Figura 10**).

Figura 10 – Número de publicações de 2005 a 2019 sobre a síntese e/ou atividade de moléculas híbridas.



Fonte: Autor, 2020.

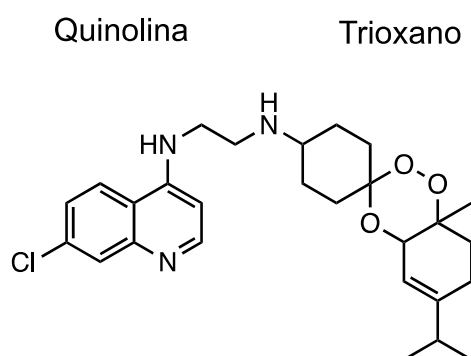
Nota: Pesquisa na base de dados SciFinder utilizando-se o termo “*hybrid molecules*”.

Moléculas híbridas podem ser definidas como compostos que possuem duas ou mais estruturas conectadas que possuem diferentes atividades biológicas no qual essa estrutura molecular final atua a partir da presença de núcleos farmacofóricos distintos que geralmente agem em alvos diferentes. Estes compostos também são conhecidos por moléculas quiméricas, compostos multialvo, compostos com ação-dual, entre outros (MEUNIER, 2008).

De forma resumida, com o objetivo de agir em diferentes processos biológicos, como a inibição de uma enzima e o bloqueio de um receptor específicos que tem papel importante em uma doença, e pular as etapas de triagem de moléculas, promove-se a ligação covalente entre pelo menos dois fármacos conhecidos, gerando a estrutura molecular híbrida. Esta abordagem tem como vantagem a obtenção de um novo perfil farmacocinético que pode gerar aumento significativo na ação farmacológica e impedir possíveis interações medicamentosas que podem ocorrer diante da administração dos fármacos separadamente. Além disso, melhorar os perfis de afinidade e seletividade e acrescentar novas propriedades farmacológicas (DECKER, 2017).

Moléculas híbridas tem sido objeto de estudos para diferentes doenças, incluindo, por exemplo, a busca de atividades contra o câncer, microrganismos, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, entre outras (DECKER, 2011).

Figura 11 – Representação esquemática dos híbridos antimaláricos trioxaquininas.



Fonte: Adaptado de MEUNIER, 2012.

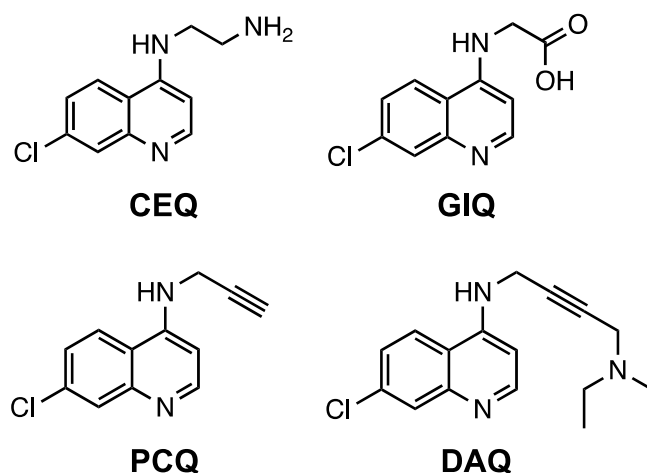
Dentre elas, estudos reportam o desenvolvimento de moléculas híbridas de derivados 4-aminoquinolínicos. Como mencionado no **item 1.4**, a cloroquina é utilizada como um dos principais agentes no tratamento da malária. Contudo, ao longo dos anos algumas cepas têm se desenvolvido resistentes e a abordagem de

desenvolvimento de moléculas híbridas têm obtido resultados significativos. Estes estudos tem como objetivo principal a combinação dos núcleos farmacofóricos quinolínicos (cloroquina) e trioxanos (artemisia), gerando os híbridos denominados de trioxaquininas (**Figura 11**) (MEUNIER, 2012).

Considerando que a cloroquina e derivados aminoquinolínicos possuem diferentes atividades biológicas e observou-se resultados significativos quanto a sua hibridização com outros compostos, buscou-se utilizar dessa mesma estratégia para a síntese de novos compostos com possível atividade antinociceptiva e anti-inflamatória.

Para isto foi considerado os últimos compostos testados pelo Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) em ensaios biológicos para o tratamento da dor e inflamação (**Figura 12**):

Figura 12 – Estrutura molecular de derivados 4-aminoquinolínicos sintetizados no GCaR e recentemente testados para atividade antinociceptiva e anti-inflamatória.

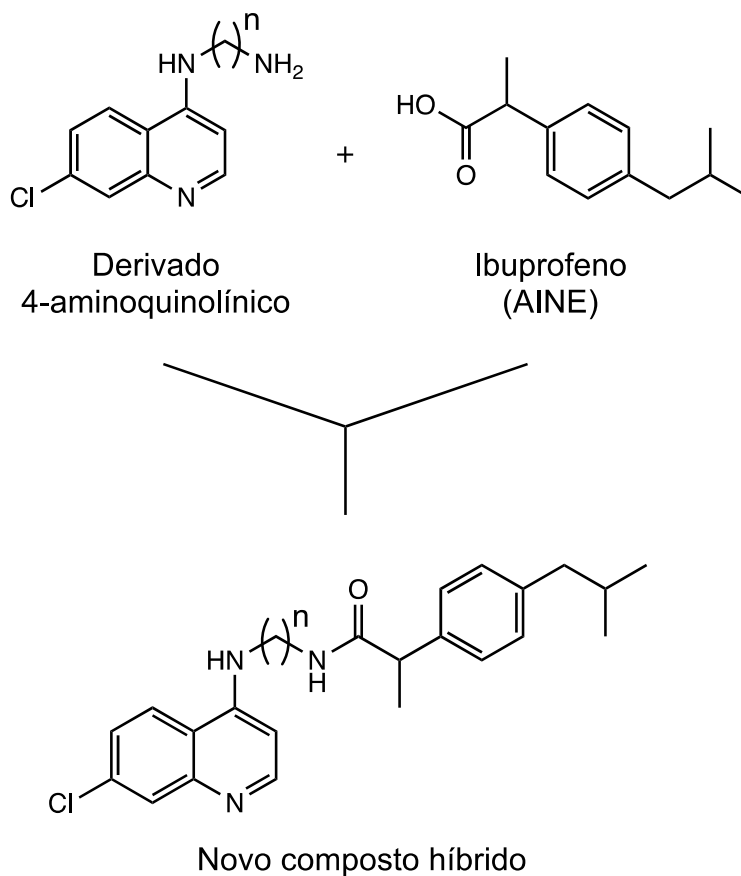


Fonte: Adaptado de SILVA, 2019.

Resultados preliminares mostraram que estes compostos possuem baixo potencial citotóxico, contudo o composto denominado **CEQ** foi capaz de apresentar a maior dose letal média (DL₅₀) dentre eles, igual a 232,95 mg/Kg (1050,80 µmol/Kg), logo, conferindo a esta estrutura maior segurança em sua administração oral *in vivo* (SILVA, 2019). Deste modo, buscou-se produzir um híbrido que unisse uma estrutura igual ou semelhante a **CEQ** (por sua maior segurança) à outra molécula que também possuísse potencial anti-inflamatório. Como o tratamento com a cloroquina geralmente se dá em associação à AINEs derivados do ácido propiônico, foi realizado

o planejamento experimental da síntese de novos híbridos com compostos desta classe, como mostrado na **Figura 13**.

Figura 13 – Representação esquemática das estruturas moleculares dos compostos definidos para a síntese dos novos híbridos.



Fonte: Autor, 2020.

Utilizando a estratégia de hibridização molecular a partir de derivado 4-aminoquinolínico e derivados do ácido propiônico, este trabalho foi desenvolvido visando a síntese de novos compostos com potencial atividade anti-inflamatória.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar, caracterizar e avaliar o potencial biológico de novas moléculas híbridas de derivados 4-aminoquinolínicos associados à anti-inflamatórios não esteroidais.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar derivados 4-aminoquinolínicos como moléculas intermediárias;
- Realizar a hibridização dos derivados 4-aminoquinolínicos às moléculas de ibuprofeno e naproxeno (anti-inflamatórios não esteroidais);
- Purificar e caracterizar os compostos sintetizados por técnicas espectroscópicas;
- Avaliar o potencial citotóxico dos compostos sintetizados;

3 METODOLOGIA

3.1 Reagentes e Solventes Utilizados

Os reagentes e solventes utilizados na síntese dos novos derivados 4-aminoquinolínicos estão presentes na **Quadro 3**, assim como suas respectivas fórmulas moleculares e empresas fornecedoras.

Quadro 3 – Reagentes e solventes utilizados na síntese dos compostos.

Reagentes e solventes	Fórmula molecular	Fornecedor
1,3-diaminopropano	C ₃ H ₁₀ N ₂	Vetec Quím. Fina
4,7-dicloroquinolina	C ₉ H ₅ Cl ₂ N	Sigma-Aldrich
Ácido clorídrico	HCl	Chemco Ind. & Comercio Ltda.
Água destilada	H ₂ O	GCaR
Cloreto de tionila	SOCl ₂	Sigma-Aldrich
Diclorometano P.A.	CH ₂ Cl ₂	Dinâmica
Etilenodiamina	C ₂ H ₈ N ₂	Vetec Quím. Fina
Hidróxido de sódio	NaOH	Dinâmica
Ibuprofeno	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	Ao Farmacêutico
Naproxeno	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	Ao Farmacêutico
Trietilamina	C ₆ H ₁₅ N	Acros Organics

Fonte: Autor, 2020.

3.2 Procedimentos de Síntese

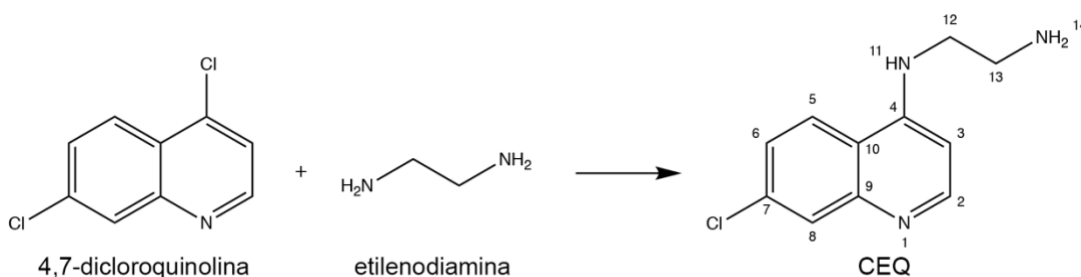
3.2.1 Procedimento de síntese dos derivados 4-aminoquinolínicos

A síntese para os derivados 4-aminoquinolínicos, moléculas intermediárias para a produção dos novos híbridos, seguiu a metodologia descrita por Rudrapal e colaboradores (2013). Em um balão de fundo redondo foram adicionados 5 mmols de 4,7-dicloroquinolina e 50 mmols de etilenodiamina (para a formação da **CEQ**) ou 50

mmols de 1,3-diaminopropano (para a formação da **DAPO**). O sistema foi mantido sem agitação à uma temperatura de 80 °C a fim de ocorrer completa solubilização da 4,7-dicloroquinolina. Após 1 h, iniciou-se agitação magnética do sistema e a temperatura foi elevada para 130 °C, mantendo a reação por mais 7 h. Após o término da reação, deixou-se sistema resfriar até atingir temperatura ambiente. Para o isolamento do produto, foram adicionados lentamente 50 mL de NaOH_(aq) 10%, levando à precipitação deste. Em seguida, foi realizado a filtração do precipitado e secagem em alto vácuo.

3.2.1.1 Síntese da N₁-(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (**CEQ**)

Figura 14 – Esquema reacional da síntese da CEQ.



Fonte: Autor, 2020.

F. M.: C₁₁H₁₂ClN₃; Massa Molecular: 221,69 g/mol; sólido amarelado.

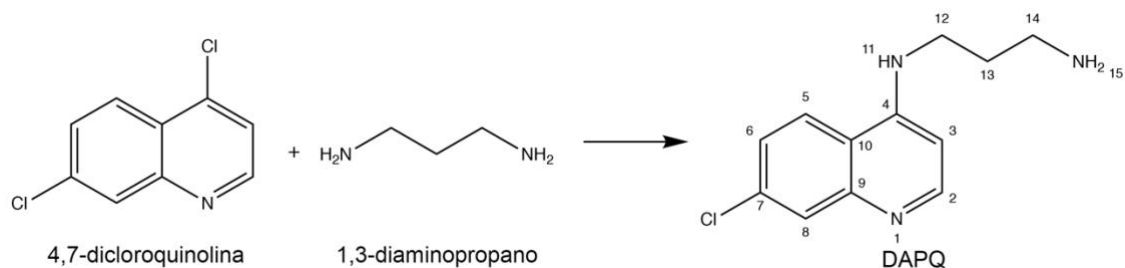
RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 2,85 (t, 2H, J = 6,40 Hz, H13); 3,32 (t, 2H, J = 6,40 Hz, H12); 6,44 (d, 1H, J = 5,68 Hz, H3); 7,28 (dd, 1H, J = 2,20 e 8,98 Hz, H6); 7,65 (d, 1H, J = 2,20 Hz, H8); 7,99 (d, 1H, J = 8,98 Hz, H5); 8,23 (d, 1H, J = 5,68 Hz, H2).

RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD): δ 40,96 (C12), 46,45 (C13), 99,84 (C3), 118,95 (C10), 124,50 (C5), 126,18 (C6), 127,74 (C8), 136,49 (C7), 149,81 (C9), 152,61 (C2) e 152,98 (C4) (ALMEIDA, 2014).

I.V. (ν_{máx}/cm⁻¹; KBr): 3307 (ν NH), 3201 (ν_{as} NH₂), 3120 (ν_s NH₂), 2923 (ν_{as} CH₂), 2836 (ν_s CH₂), 1563 (ν C=C), 1519 (δ N-H), 1432 (δ_s CH₂) e 1317 (ω CH₂).

3.2.1.2 Síntese da N₁-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina (**DAPQ**)

Figura 15 – Esquema reacional da síntese da DAPQ



Fonte: Autor, 2020.

F. M.: C₁₂H₁₄ClN₃; Massa Molecular: 235,72 g/mol; sólido amarelado.

RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 1,91 (qt, 2H, *J* = 7,01 Hz, H₁₃), 2,81 (t, 2H, *J* = 7,01 Hz, H₁₄); 3,42 (t, 2H, *J* = 7,01 Hz, H₁₂); 6,54 (d, 1H, *J* = 5,63 Hz, H₃); 7,39 (dd, 1H, *J* = 2,11 e 8,95 Hz, H₆); 7,77 (d, 1H, *J* = 2,11 Hz, H₈); 8,08 (d, 1H, *J* = 8,95 Hz, H₅); 8,35 (d, 1H, *J* = 5,63 Hz, H₂).

RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD): δ 30,74 (C₁₃), 38,90 (C₁₂), 40,34 (C₁₄), 99,84 (C₃), 118,95 (C₁₀), 124,50 (C₅), 126,18 (C₆), 127,74 (C₈), 136,49 (C₇), 149,81 (C₉), 152,61 (C₂) e 152,98 (C₄).

I.V. (ν_{máx}/cm⁻¹; KBr): 3477 (ν NH), 3365 (ν NH₂), 2941 (ν CH₂), 1570 (ν C=C), 1537 (δ N-H), 1416 (δ_s CH₂) e 1300 (ω CH₂).

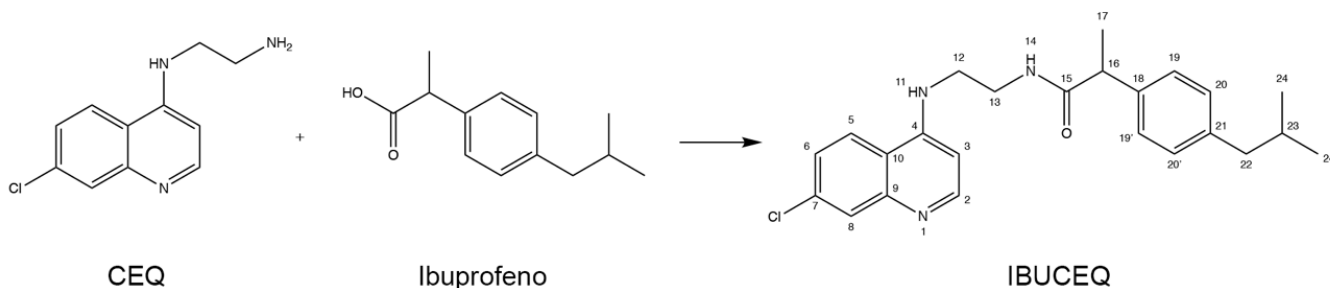
3.2.2 Procedimento de síntese dos novos híbridos moleculares

A síntese dos novos híbridos moleculares (**IBUCEQ**, **IBUDAPQ**, **NAPCEQ** e **NAPDAPQ**) seguiu a metodologia *one-pot* descrita por Leggio e colaboradores (2016). Em um balão volumétrico foi adicionado 1 mmol de ibuprofeno (para a formação da **IBUCEQ** ou da **IBUDAPQ**) ou de naproxeno (para a formação da **NAPCEQ** ou da **NAPDAPQ**) e solubilizado em 15 mL de diclorometano. Em seguida, foram adicionados 1 mmol de **CEQ** (para a formação da **IBUCEQ** ou da **NAPCEQ**) ou de **DAPQ** (para a formação da **IBUDAPQ** ou da **NAPDAPQ**), 3 mmol de trietilamina e 1 mmol de cloreto de tionila. A reação foi mantida sob temperatura ambiente e agitação magnética constante por 6 h. Após o término da reação, a solução orgânica

foi lavada inicialmente com uma solução aquosa ácida (HCl 1 M), e em seguida com uma solução aquosa básica (NaOH 1 M). Então, o solvente orgânico foi removido a partir de rotaevaporação seguido de secagem em alto vácuo, obtendo-se os produtos finais **IBUCEQ** e **NAPCEQ**. Os compostos **IBUDAPQ** e **NAPDAPQ** apresentaram algumas impurezas, então estes foram submetidos à solubilização em 3 mL de clorofórmio, seguido da adição de 30 mL de hexano para induzir a precipitação do produto formado. O clorofórmio foi recolhido com auxílio de uma pipeta pasteur e o hexano foi removido a partir de rotaevaporação seguido de secagem em alto vácuo, obtendo-se ao final os produtos puros **IBUDAPQ** e **NAPDAPQ**.

3.2.2.1 Síntese da N-(2-((7-cloroquinolin-4-il)amino)etil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida (**IBUCEQ**)

Figura 16 – Esquema reacional da síntese da IBUCEQ.



Fonte: Autor, 2020.

F. M.: $C_{24}H_{28}ClN_3O$; Massa Molecular: 409,96 g/mol; sólido branco.

RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ 0,85 (d, 6H, $J = 6,62$ Hz, H24); 1,52 (d, 3H, $J = 7,27$ Hz, H17); 1,77 (m, 1H, H23); 2,39 (d, 2H, $J = 7,12$ Hz, H22); 3,30 (m, 2H, H13); 3,59 (q, 1H, $J = 7,21$ Hz, H16); 3,63 (m, 2H, H12); 6,19 (d, 1H, $J = 5,51$ Hz, H3); 6,24 (sl, 1H, H14); 6,69 (sl, 1H, H11); 7,01 (d, 2H, $J = 8,07$ Hz, H20); 7,13 (d, 2H, $J = 8,07$ Hz, H19); 7,35 (dd, 1H, $J = 2,13$ e $8,91$ Hz, H6); 7,75 (d, 1H, $J = 8,91$ Hz, H5); 7,79 (d, 1H, $J = 2,13$ Hz, H8); 8,40 (d, 1H, $J = 5,51$ Hz, H2).

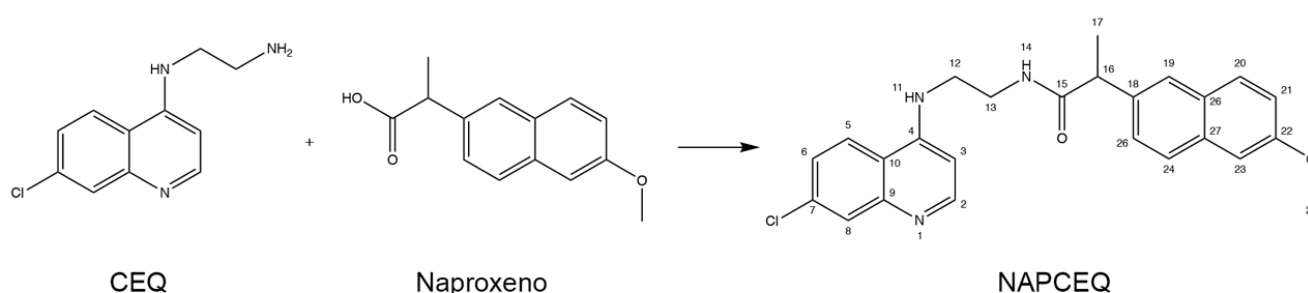
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ 18,43 (C17); 22,32 (C24); 30,11 (C23); 38,80 (C12); 44,93 (C22); 45,74 (C13); 46,60 (C16); 98,05 (C3); 117,15 (C10); 122,12

(C5); 125,55 (C6); 127,25 (C19); 127,93 (C8); 129,73 (C20); 135,12 (C7); 137,90 (C18); 141,06 (C21); 148,56 (C9); 150,35 (C4); 151,40 (C2); 177,77 (C15).

I.V. ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$; KBr): 3307 (ν NH), 2923 (ν_{as} CH₂), 2832 (ν_{s} CH₂), 1633 (ν C=O); 1560 (ν C=C), 1521 (δ N-H), 1434 (δ_{s} CH₂) e 1353 (ω CH₂).

3.2.2.2 Síntese da N-(2-((7-chloroquinolin-4-il)amino)etil)-2-(6-metóxinaftalen-2-il)propanamida (NAPCEQ)

Figura 17 – Esquema reacional da síntese da NAPCEQ.



Fonte: Autor, 2020.

F. M.: C₂₅H₂₄ClN₃O₂; Massa Molecular: 433,94 g/mol; sólido branco.

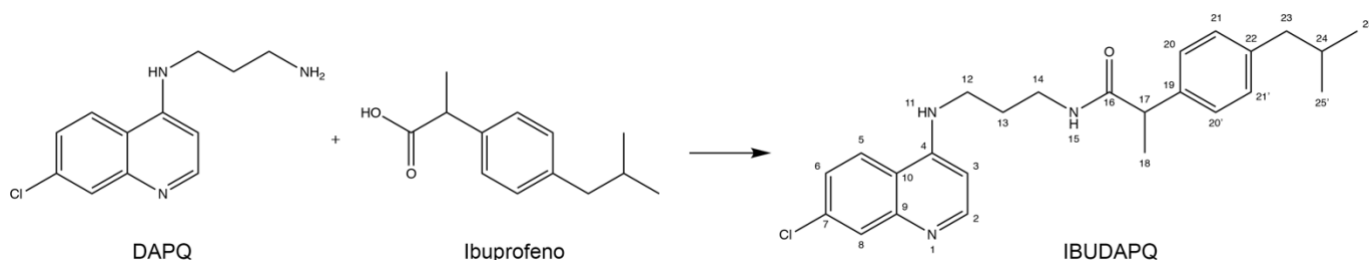
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, ppm): δ 1,60 (d, 3H, J = 7,14 Hz, H17); 3,25 (m, 2H, H13); 3,64 (m, 2H, H12); 3,79 (q, 1H, J = 7,14 Hz, H16); 3,88 (s, 3H, H28); 6,03 (d, 1H, J = 5,66 Hz, H3); 6,55 (sl, 1H, H14); 6,94 (sl, 1H, H11); 7,00 (d, 1H, J = 2,45 Hz, H19); 7,08 (dd, 1H, J = 2,45 e 8,86 Hz, H20); 7,25 (dd, 1H, J = 2,15 e 8,91 Hz, H6); 7,30 (dd, 1H, J = 1,84 e 8,45 Hz, H24); 7,53 (td, 2H, J = 9,48 e 9,32 Hz, H21 e H25); 7,62 (s, 1H, H23); 7,71 (d, 1H, J = 8,91 Hz, H5); 7,88 (d, 1H, J = 2,15 Hz, H8); 8,22 (d, 1H, J = 5,66 Hz, H2).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm): δ 18,34 (C17); 38,67 (C12); 45,60 (C13); 46,84 (C16); 55,35 (C28); 98,00 (C3); 105,56 (C19); 116,99 (C10); 119,31 (C20); 122,13 (C5); 125,60 (C6); 125,98 (C24); 126,10 (C23); 127,50 (C8); 127,65 (C25); 128,85 (C21); 129,09 (C26); 133,76 (C27); 135,28 (C7); 135,85 (C18); 148,05 (C9); 150,46 (C4); 150,92 (C2); 157,83 (C22); 177,62 (C15).

I.V. ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$; KBr): 3268 (ν NH), 2965 (ν_{as} CH₂), 2896 (ν_{s} CH₂), 1635 (ν C=O); 1589 (ν C=C), 1562 (δ N-H), 1432 (δ_{s} CH₂) e 1351 (ω CH₂).

3.2.2.3 Síntese da N-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida (IBUDAPQ)

Figura 18 – Esquema reacional da síntese da IBUDAPQ.



Fonte: Autor, 2020.

F. M.: C₂₅H₃₀ClN₃O; Massa Molecular: 423,99 g/mol; sólido branco.

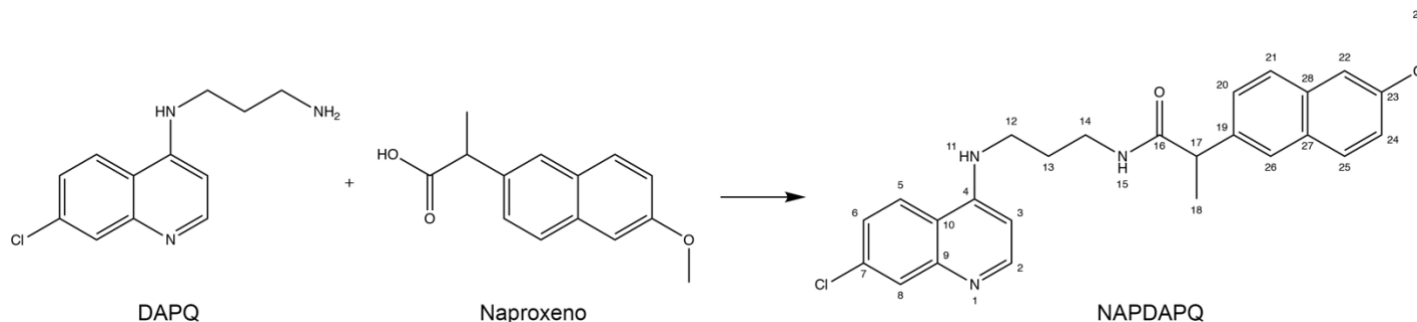
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, ppm): δ 0,87 (d, 6H, J = 6,61 Hz, H25); 1,54 (d, 3H, J = 7,13 Hz, H18); 1,82 (m, 3H, H13 e H24); 2,42 (d, 2H, J = 6,99 Hz, H23); 3,34 (m, 2H, H14); 3,43 (m, 2H, H12); 3,70 (q, 1H, J = 7,13 Hz, H17); 6,41 (d, 1H, J = 6,74 Hz, H3); 6,75 (sl, 1H, H11); 7,08 (d, 2H, J = 8,04 Hz, H21); 7,25 (d, 2H, H20); 7,47 (dd, 1H, J = 2,06 e 8,97 Hz, H6); 8,17 (d, 1H, J = 2,06 Hz, H8); 8,20 (d, 1H, J = 6,74 Hz, H2); 8,46 (d, 1H, J = 8,97 Hz, H8); 8,85 (sl, 1H, H15).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, ppm): δ 18,43 (C18); 22,35 (C25); 28,35 (C13); 30,15 (C24); 36,30 (C13); 38,90 (C14); 44,99 (C112); 46,89 (C17); 98,40 (C3); 117,61 (C10); 121,91 (C5); 125,35 (C6); 127,28 (C20); 128,48 (C8); 129,82 (C21); 134,17 (C7); 138,17 (C19); 141,10 (C22); 149,32 (C9); 149,90 (C4); 151,84 (C2); 176,12 (C16).

I.V. ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$; KBr): 3471 (ν NH), 2943 (ν CH₂), 1616 (ν C=O); 1566 (ν C=C), 1533 (δ N-H), 1489 (δ_{s} CH₂) e 1394 (ω CH₂).

3.2.2.4 Síntese da N-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(6-metóxinaftaleno-2-il)propanamida (NAPDAPQ)

Figura 19 – Esquema reacional da síntese da NAPDAPQ.



Fonte: Autor, 2020.

F. M.: $C_{26}H_{26}ClN_3O_2$; Massa Molecular: 447,96 g/mol; sólido branco.

RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ 1,64 (d, 3H, $J = 7,20$ Hz, H18); 1,70 (m, 2H, H13); 3,29 (m, 4H, H12 e H14); 3,77 (q, 1H, $J = 7,20$ Hz, H17); 3,91 (s, 3H, H29); 5,94 (sl, 1H, H11); 6,25 (d, 1H, $J = 5,58$ Hz, H3); 6,66 (sl, 1H, H15); 7,10 (d, 1H, $J = 2,41$ Hz, H20); 7,15 (dd, 1H, $J = 2,41$ e 8,87 Hz, H21); 7,37 (tp ap, 2H, H6 e H25); 7,65 (sl, 1H, H24); 7,67 (d, 1H, $J = 8,87$ Hz, H22); 7,70 (d, 1H, $J = 8,49$ Hz, H26); 7,90 (d, 1H, $J = 2,12$ Hz, H8); 7,97 (d, 1H, $J = 8,93$ Hz, H5); 8,35 (d, 1H, $J = 5,58$ Hz, H2).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ 18,41 (C18); 28,21 (C13); 38,33 (C12); 39,13 (C14); 47,10 (C17); 55,36 (C29); 98,26 (C3); 105,69 (C20); 117,36 (C10); 119,32 (C21); 122,33 (C5); 125,61 (C6); 126,06 (C25); 126,12 (C24); 127,31 (C8); 127,71 (C26); 128,95 (C27); 129,17 (C22); 133,82 (C28); 135,49 (C7); 136,18 (C19); 148,00 (C9); 150,53 (C4); 150,58 (C2); 157,89 (C23); 176,01 (C16).

I.V. ($\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$; KBr): 3400 (ν NH), 2951 (ν CH_2), 1612 (ν C=O); 1562 (ν C=C), 1531 (δ N-H), 1481 (δ_s CH_2) e 1390 (ω CH_2).

3.3 Caracterização dos Compostos

3.3.1 Equipamentos

As análises de caracterização dos compostos sintetizados foram realizadas a partir de diferentes técnicas (**Quadro 4**) utilizando equipamentos provenientes do GCaR/IQB/UFAL e do IQB/UFAL.

Quadro 4 – Técnicas e seus respectivos equipamentos utilizados para a caracterização dos compostos.

Técnica Analítica	Equipamento	Local
Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	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/UFAL
Espectroscopia no Infravermelho	Espectrofotômetro FT-IR Varian 640-IR	GCaR/IQB/UFAL
Espectrometria de Massas	Cromatógrafo à gás acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM) Shimadzu QP2010.	GCaR/IQB/UFAL

Fonte: Autor, 2020.

3.3.2 Preparo das Amostras

3.3.2.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Para a análise por RMN de ^1H , ^{13}C , COSY e HSQC, foram pesados aproximadamente 15 mg de cada composto. As amostras foram dissolvidas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) ou metanol deuterado (CD_3OD), sendo adicionado uma gota de água deuterada (D_2O) quando necessário. Os espectros foram obtidos

utilizando-se tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As multiplicidades foram representadas utilizando-se as seguintes abreviaturas: s (simpleto), d (duplete), t (triplete), q (quarteto), qt (quinteto), m (multiplete), sl (simpleto largo), dd (duplete duplo), td (triplete de duplete), td ap (triplete duplo aparente).

3.3.2.2 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Para a análise dos compostos por espectroscopia na região do infravermelho médio foi utilizado espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier (IVTF): Nicolet IR200 (Thermo Scientific). Foi utilizado método de transmissão e as amostras foram preparadas em pastilhas de brometo de potássio (KBr). A análise resultou em 64 varreduras numa resolução de 4 cm^{-1} . Os espectros foram apresentados na região de 4000 a 400 cm^{-1} .

3.3.2.3 Espectrometria de Massas

Para a análise por espectrometria de massas, foi utilizado um espectrômetro de massas acoplado à um cromatógrafo à gás: GC-MS QP2010 (Shimadzu). O espectro de massas foi obtido a partir de injeção direta da amostra em capilar de vidro introduzido no espectrômetro de massas.

3.4 Avaliação da citotoxicidade

3.4.1 Ensaio de viabilidade celular a partir do método de MTT

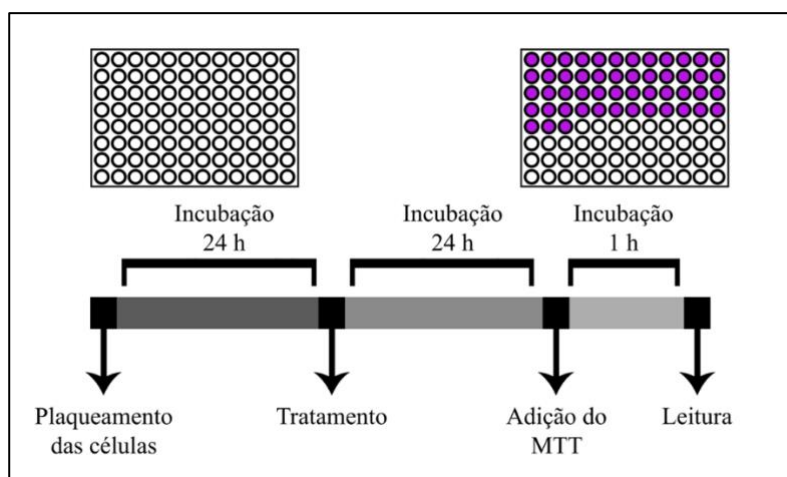
O ensaio de viabilidade celular a partir da utilização do MTT é uma técnica colorimétrica baseada na reação de redução do sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazolil-2)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) por enzimas desidrogenases presentes nas mitocondriais das células (MOSMANN, 1983). Assim, a viabilidade celular pode ser avaliada por essa capacidade mitocondrial de reduzir o MTT (sal de coloração

amarela, solúvel em água) à formazan, um composto de coloração roxa, insolúvel em água. Ou seja, apenas células viáveis (vivas e com seu funcionamento normal) é capaz de realizar a reação de redução.

Para o teste, foi utilizado uma microplaca com 96 poços onde foram plaqueados macrófagos da linhagem J774, numa densidade de 1×10^5 células/poço. As células foram cultivadas em 200 μL de meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1 mL de aminoácidos não essenciais, de piruvato e de glutamina, nas concentrações respectivas de 100 mM, 100 mM e 200 mM. As células em cultivo foram mantidas em estufa à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ com atmosfera de 5% de CO_2 . Após 24 h, as células foram tratadas com os derivados 4-aminoquinolínicos (**IBUCEQ** e **NAPCEQ**) nas concentrações de 100, 30, 10, 3 e 1 $\mu\text{mol/mL}$, além dos fármacos padrões cloroquina, ibuprofeno e naproxeno, nas mesmas concentrações. Além destes, as células também foram tratadas com demais controles, como DMSO 0,1% (veículo), Triton™ X-100 (padrão para lise celular) e apenas o meio de cultura. Após o tratamento, as células foram mantidas sob as mesmas condições descritas anteriormente por um período de 24 h.

Ao término do período de incubação, o sobrenadante foi descartado e, então, foi adicionado a cada poço 100 μL de solução MTT numa concentração de 0,5 mg/mL e reincubadas nas mesmas condições já descritas, a fim de promover a reação de redução do MTT à formazan. Após 1 h, o sobrenadante foi descartado e as células em cultivo foram lisadas com 100 μL de DMSO, solvente capaz de solubilizar o formazan formado.

Figura 20 – Esquema do ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT.



Para análise quantitativa da formação do formazan, os poços foram analisados em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 530 nm (ThermoPlate). A partir dos resultados de quantificação, a viabilidade das células foi expressa como a porcentagem de células viáveis em relação ao controle, segundo a equação:

$$\text{Células viáveis (\%)} = \left(\frac{\text{Absorvância das células tratadas}}{\text{Média da absorvância das células não tratadas}} \right) \times 100$$

3.4.2 Análise Estatística

Os resultados obtidos a partir da leitura da microplaca utilizada no ensaio de viabilidade celular foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (e.p.m.) e as diferenças estatísticas entre as médias dos grupos foram analisadas utilizando Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de Dunnet, considerando como controle o grupo de células onde havia apenas o meio de cultura. Os valores dos resultados da análise foram considerados estatisticamente significativos quando *p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,001. As análises foram realizadas no software GraphPad Prism® versão 8.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e Caracterização da *N*₁-(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (CEQ)

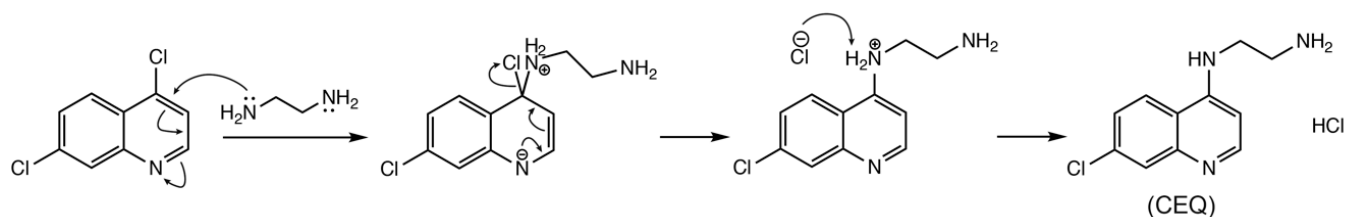
O núcleo quinolínico, conforme mostrado na **Figura 9 (Pág. 30)**, é um heterociclo que possui como heteroátomo um átomo de nitrogênio. A presença deste átomo de nitrogênio gera uma deficiência de elétrons π na cadeia aromática do núcleo. Este efeito estérico-eletrônico exercido pelo átomo eletronegativo leva à uma formação de cargas parciais positivas nas posições α e γ , tornando estas propensas à ataques nucleofílicos. Por esta razão, a síntese de derivados com substituições na posição 4 ou 2 são facilitados (AHMAD, 2006).

Assim, como as moléculas de ibuprofeno e naproxeno não possuem grupamentos amina e o potencial farmacológico anti-inflamatório dos derivados quinolínicos se faz principalmente pela adição de substituintes amina em sua posição C-4, decidiu-se realizar inicialmente a síntese de um composto já bem estabelecido na literatura, o qual o serviria de reagente para a produção da molécula híbrida final. Por possuir uma pequena cadeia de carbonos e grupamentos amina em suas extremidades, o que facilitaria o ataque nucleofílico ao anel quinolínico e, posteriormente, a reação de formação de amida com o ibuprofeno e naproxeno, a molécula de etilenodiamina foi escolhida como substituinte, formando a *N*₁-(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (**CEQ**).

Na metodologia empregada para síntese da **CEQ**, reportada por Rudrapal e colaboradores (2013), não há a necessidade da utilização de solventes. É misturado a molécula de 4,7-dicloroquinoline diretamente com a etilenodiamina, e posteriormente à sua solubilização à 80 °C, a temperatura é elevada à 130 °C, onde permanece em agitação, sob refluxo, por 6 h.

A formação da **CEQ** ocorre via substituição nucleofílica de aromática (S_NAR), tendo como mecanismo de reação o esquema exposto na **Figura 21**:

Figura 21 – Mecanismo de reação para formação da CEQ via S_NAR .



Fonte: Autor, 2020.

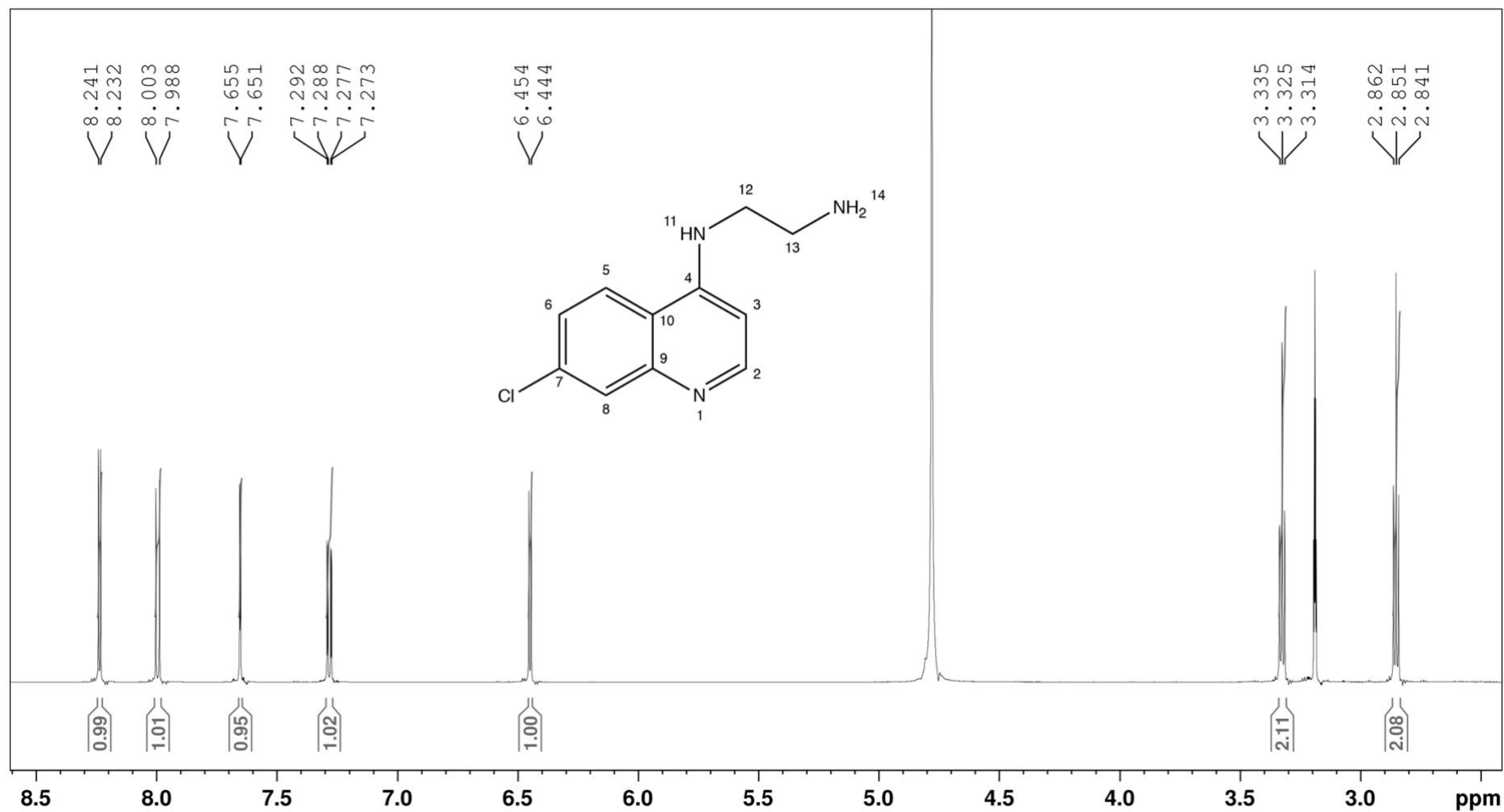
A síntese do composto **CEQ** foi confirmada pela técnica de espectroscopia de ressonância magnética de hidrogênio, no qual os valores de deslocamento químico e multiplicidade de sinais se mostraram equivalentes aos dados já reportados para esta molécula na literatura (ALMEIDA, 2014). Os dados do RMN de 1H estão presentes na **Figura 22** e na **Tabela 1**. Os deslocamentos químicos variando de $\delta = 6,44$ a $8,23$ ppm são referentes aos cinco sinais de hidrogênios presentes nos anéis aromáticos do núcleo quinolínico. Os sinais de tripletos observados nos deslocamentos químicos $\delta = 2,85$ e $3,32$ ppm são referentes aos hidrogênios alifáticos da molécula que foram adicionados na posição C-4 do núcleo quinolínico. Os sinais dos hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio não são possíveis de serem visualizados no espectro, provavelmente pela alta capacidade de serem trocadas pelo deutério presente no solvente utilizado para solubilização da amostra durante a análise.

Tabela 1 – Dados do RMN de 1H (400MHz) da CEQ em CD_3OD .

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
2,85	t	2	6,40	H13
3,32	t	2	6,40	H12
6,44	d	1	5,68	H3
7,28	dd	1	2,20 e 8,98	H6
7,65	d	1	2,20	H8
7.99	d	1	8,98	H5
8.23	d	1	5,68	H2

Fonte: Autor, 2020.

Figura 22 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da CEQ em CD_3OD .



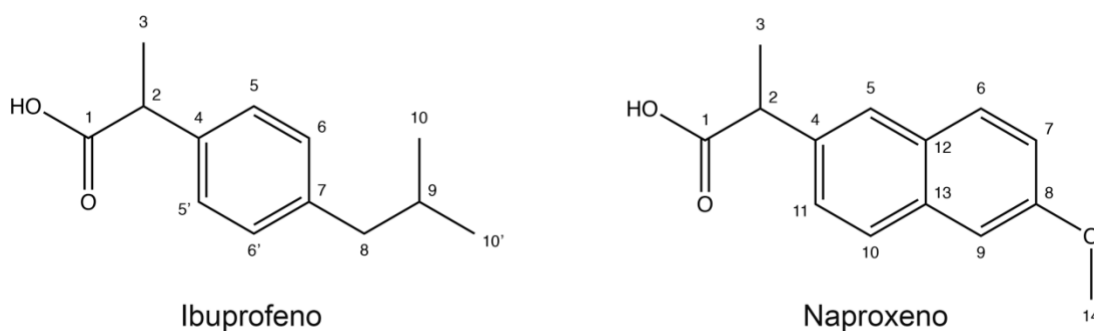
Fonte: Autor, 2020.

Sendo confirmada a formação da **CEQ**, deu-se andamento a etapa de hibridização deste derivado 4-aminoquinolínico ao ibuprofeno e naproxeno.

4.2 Síntese e Caracterização da *N*-(2-((7-cloroquinolin-4-il)amina)etil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida (IBUCEQ)

Os AINEs escolhidos para a hibridização com o derivado 4-aminoquinolínico produzido foram o ibuprofeno e o naproxeno, que são derivados do ácido propiônico e possuem, então, a função carboxila em sua estrutura química (**Figura 23**).

Figura 23 – Estrutura química do ibuprofeno e do naproxeno.



Fonte: Autor, 2020.

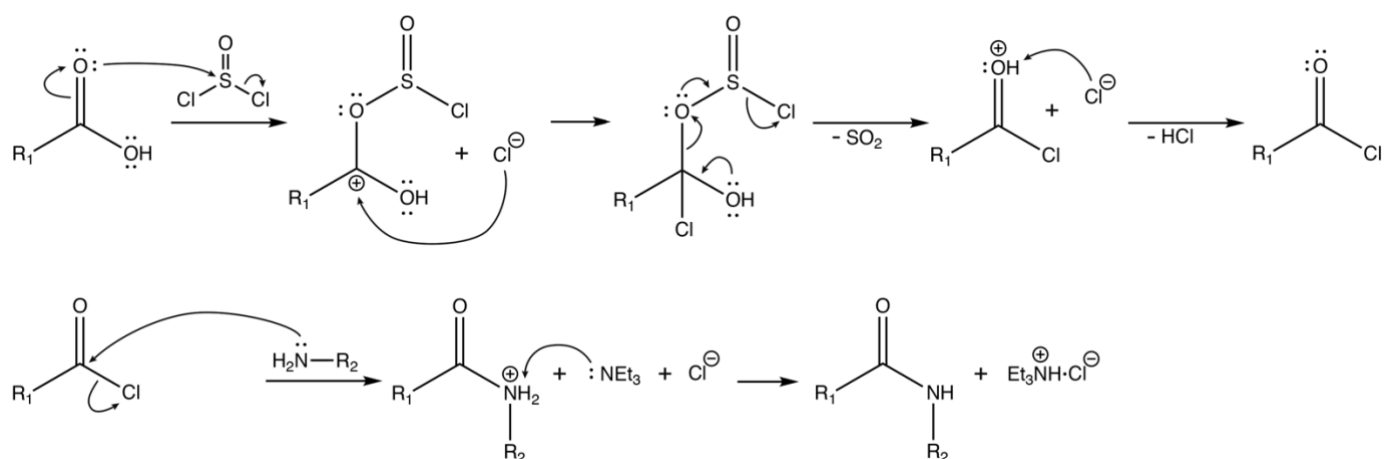
A presença desta função carboxila nos AINEs e de uma amina terminal no derivado 4-aminoquinolínico produzido facilita a hibridização de ambas moléculas a partir da ligação entre essas duas porções e, conseqüentemente, a formação de uma função amida. Neste sentido, foi procurado metodologias para formação de amidas em que as moléculas pudessem ser facilmente inseridas para a obtenção do produto esperado.

A metodologia de síntese escolhida, reportada por Leggio e colaboradores (2016), é uma metodologia baseada na abordagem *one-pot*, ou seja, mesmo que o mecanismo reacional para a síntese envolva mais de uma etapa, todos os reagentes são adicionados em um único recipiente para que seja obtida a formação do produto.

O mecanismo de reação proposto por Leggio e colaboradores (2016) envolve a transformação da função carboxila em uma espécie mais reativa através da formação do cloreto de acila utilizando o reagente de cloração cloreto de tionila. Após

a formação do cloreto de acila, esta porção da molécula se torna altamente reativa acoplando-se a amina terminal do derivado 4-aminoquinolínico. A **Figura 24** mostra o mecanismo de reação proposto para esta reação.

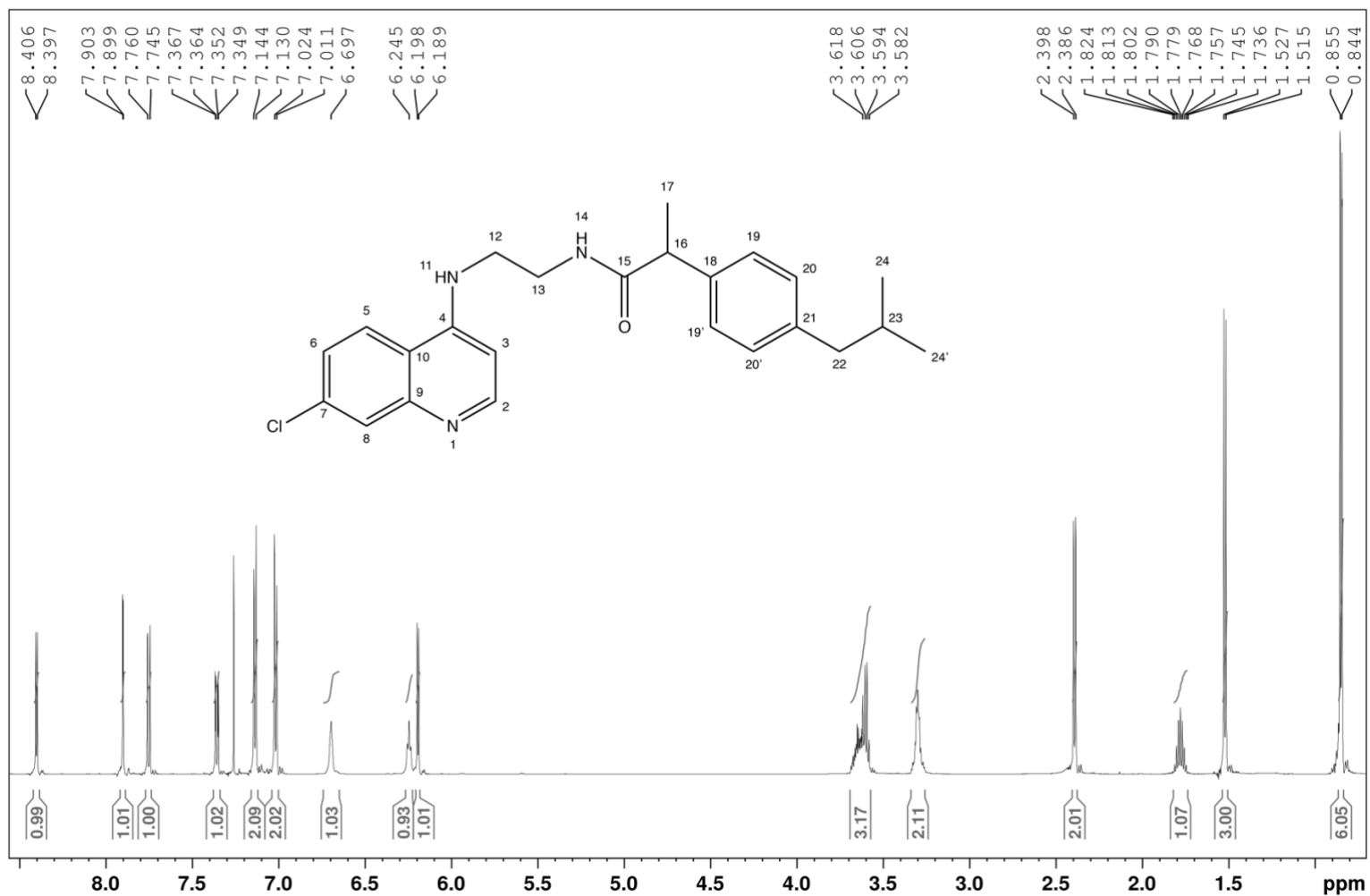
Figura 24 – Mecanismo de reação proposto para formação de amidas utilizando cloreto de tionila e trietilamina.



Fonte: Autor, 2020.

Primeiramente foram analisados os dados obtidos através da espectroscopia de ressonância magnética de hidrogênio do composto **IBUCEQ**. Por ser uma molécula inédita formada pela hibridização de duas moléculas de caracterização estrutural bem definida na literatura, os espectros de RMN de ^1H da **IBUCEQ** foram comparados aos espectros de RMN de ^1H dos compostos de partida: ibuprofeno (**Apêndice A**) e **CEQ** (**Figura 22, Pág. 51**).

Analisando os espectros dos compostos de partida junto ao espectro de RMN de ^1H da **IBUCEQ**, além de análises complementares a partir de dados obtidos de ressonância magnética bidimensional (COSY – *Correlated Spectroscopy*), onde é avaliado as correlações das constantes de acoplamento J_3 e J_4 entre ^1H - ^1H (**Apêndice B**), foram determinados os hidrogênios do produto final, apresentados na **Figura 25** e na **Tabela 2**.

Figura 25 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da IBUCEQ em CDCl_3 .

Fonte: Autor, 2020.

Tabela 2 – Dados do RMN de ^1H (400 MHz) da IBUCEQ em CDCl_3 .

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
0,85	d	6	6,62	H24 e H24'
1,52	d	3	7,27	H17
1,77	m	1	-	H23
2,39	d	2	7,12	H22
3,30	m	2	-	H13
3,59	q	1	7,27	H16
3,63	m	2	-	H12
6,19	d	1	5,51	H3
6,24	sl	1	-	H14
6,69	sl	1	-	H11
7,01	d	2	8,07	H20 e H20'
7,13	d	2	8,07	H19 e H19'
7,35	dd	1	2,13 e 8,91	H6
7,75	d	1	8,91	H5
7,9	d	1	2,13	H8
8,4	d	1	5,51	H2

Fonte: Autor, 2020.

Os deslocamentos químicos variando de $\delta = 6,19$ e $7,01$ a $8,40$ ppm são referentes aos hidrogênios nos anéis aromáticos tanto do núcleo quinolínico quanto do anel aromático presente na porção proveniente do ibuprofeno. Pode ser observado que os deslocamentos em $\delta = 7,01$ e $7,13$ ppm integram, cada um, um sinal referente à 2 hidrogênios – sendo estes os hidrogênios aromáticos da porção proveniente do ibuprofeno. Esta integração à 2 hidrogênios em cada sinal é obtida pois este anel aromático é para-substituído, o que faz com que os hidrogênios 19 e 19' sejam espectroscopicamente equivalentes, assim como também os hidrogênios 20 e 20'. Anéis aromáticos para-substituídos costumam apresentar este padrão de dois sinais dupletos (PAVIA et al., 2010) no qual é possível afirmar o acoplamento entre esses hidrogênios a partir dos valores da constante de acoplamento (J) obtidos possuírem valores similares ($J_3 = 8,07$ Hz, o qual é uma J_{orto}).

Os outros cinco sinais de hidrogênios na porção de deslocamento químico de hidrogênios aromáticos são referentes aos hidrogênios do núcleo quinolínico. Pode ser observado que as multiplicidades desses sinais são mantidas quando compradas

ao espectro de RMN de ^1H da **CEQ**, contudo os valores de deslocamento químico sofreram modificações, o que pode ser atribuído à efetividade do processo de síntese, ou seja, que estes hidrogênios fazem parte da estrutura química de uma nova molécula, mas que possui similaridades estruturais com a molécula de origem.

Quanto aos hidrogênios alifáticos, pode ser observado que, considerando a fragmento proveniente do ibuprofeno, as multiplicidades dos sinais foram mantidas, no entanto houve alteração nos valores de deslocamento (H_{16} , H_{22} , H_{23} e H_{24}), indicando novamente a efetividade do processo de síntese.

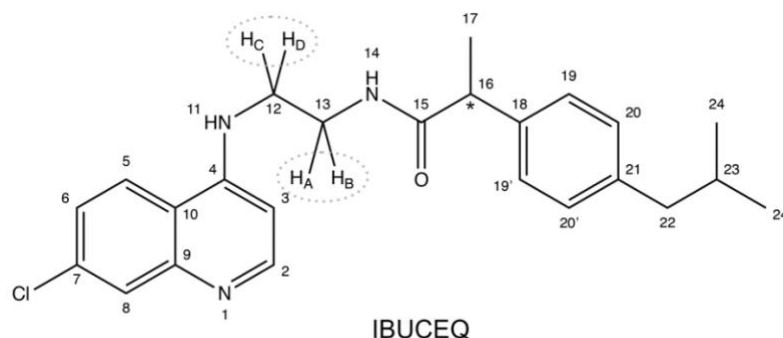
Já a partir da observação dos sinais referentes à porção proveniente da **CEQ**, podem ser vistos os sinais dos hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio que não foram possíveis de se visualizar no espectro de RMN ^1H da **CEQ**, pois estes trocavam com o deutério presente no solvente de análise. Pode-se atribuir os deslocamentos químicos $\delta = 6,24$ e $6,69$ ppm aos hidrogênios ligados aos nitrogênios pois estes mesmos sinais desapareceram em análises obtidas com a adição de água deuterada (D_2O) (**Apêndice C**). É reportado que hidrogênios ácidos (O-H , N-H) podem ser trocados facilmente com adição de solventes deuterados que também possuem hidrogênios ácidos (PAVIA et al., 2010); logo, ao adicionar tais solventes e houver o desaparecimento de sinais de hidrogênio, pode-se atribuir estes sinais aos hidrogênios ácidos presentes na molécula.

Junto a isto, os sinais dos hidrogênios ligados aos nitrogênios integram, cada um, a apenas 1 hidrogênio. Isto também indica que a formação do híbrido foi bem-sucedida, pois perdeu-se um dos hidrogênios da amina terminal presente no composto de partida **CEQ** para a formação da ligação com a função carboxila da molécula de ibuprofeno, formando uma amida.

Ainda considerando os sinais da porção da **IBUCEQ** proveniente da **CEQ**, pode-se notar que os hidrogênios metilênicos apresentaram alterações em seus deslocamentos químicos ($\delta = 3,30$ e $3,63$ ppm), além de apresentarem multiplicidade indefinida; em outras palavras, são multipletos, mas que não podem ter seu desdobramento de sinais devidamente elucidado. Isso ocorre porque a molécula possui um central quiral (C_{16}). A presença desse centro de quiralidade próximo a essa cadeia alifática faz com que cada um dos hidrogênios presentes nestes respectivos carbonos metilênicos não sejam espectroscopicamente equivalentes, ou seja, eles são hidrogênios diastereotópicos (H_A , H_B , H_C e H_D) (**Figura 26**). Estes tipos de

hidrogênios possuem deslocamentos químicos diferentes, separando-se um dos outros a partir de uma constante de acoplamento geminal (J_2) (PAVIA et al., 2010).

Figura 26 – Estrutura da IBUCEQ evidenciando os hidrogênios diastereotópicos.



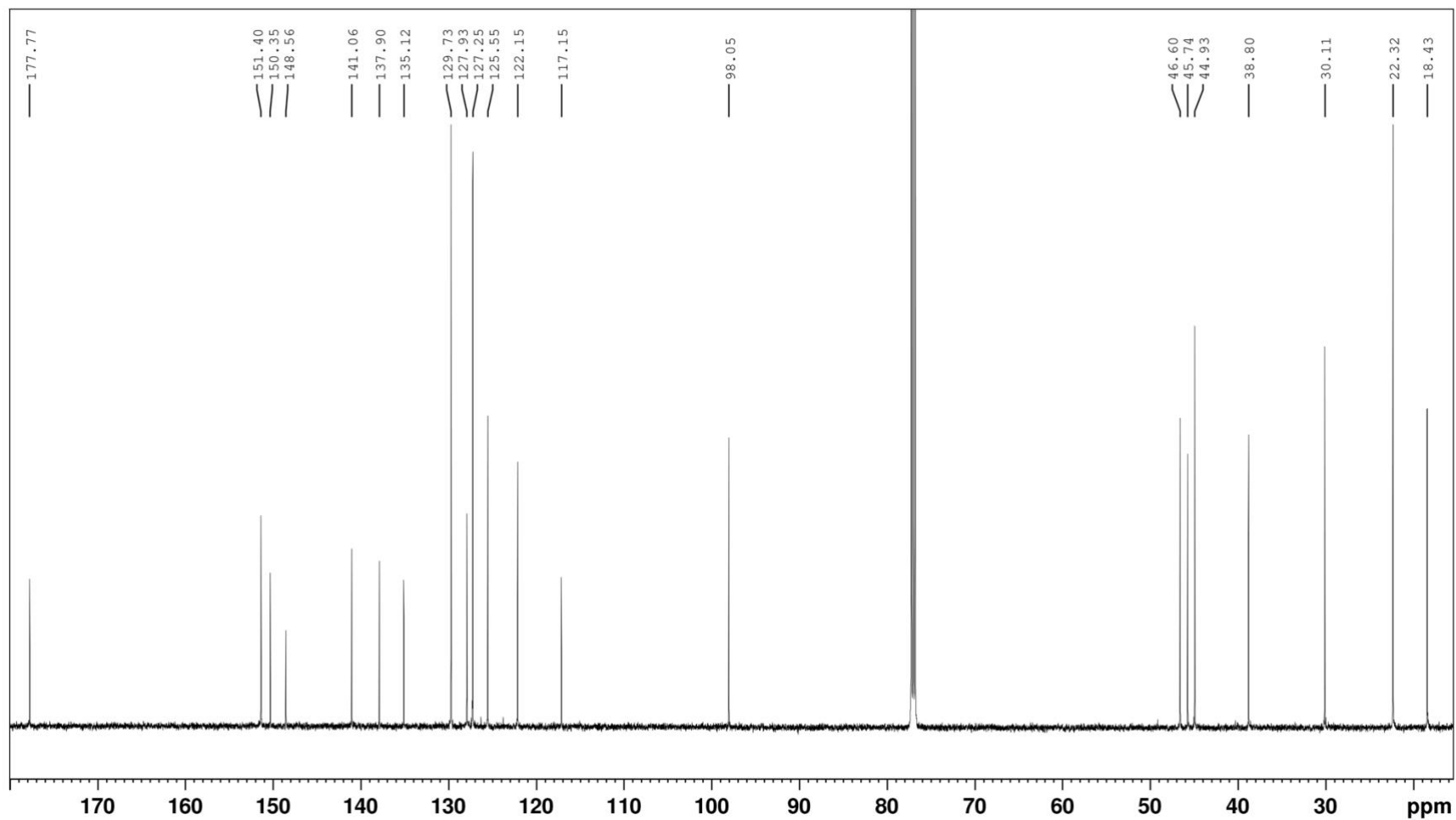
Fonte: Autor, 2020.

Estes hidrogênios metilênicos diastereotópicos podem ser comprovados a partir do mapa de estrutura que mostra a análise de correlação de RMN de ^1H - ^1H (COSY) contido no **Apêndice B**, onde pode ser observado que estes sinais além de acoplarem entre si por estarem em carbonos vizinhos (J_3), eles acoplam também com os sinais dos hidrogênios ligados aos nitrogênios, que também são vizinhos à eles (J_3).

Após a identificação de todos os hidrogênios presentes na molécula da **IBUCEQ**, deu-se início a identificação dos carbonos contidos nesta estrutura. Para isto, utilizou-se como auxílio a técnica bidimensional de Espectroscopia de Correlação Heteronuclear de Quantum-Único (HSQC – *Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy*), que correlaciona acoplamentos diretos (J_1) entre átomos heteronucleares, neste caso ^1H - ^{13}C . Os mapas de estrutura desta técnica para **IBUCEQ** podem ser observados no **Apêndice D**.

Desta forma, pôde-se determinar inequivocamente os carbonos hidrogenados e, então, partir de espectros de RMN de ^{13}C reportados na literatura referentes às moléculas de **CEQ** e de ibuprofeno (ALMEIDA, 2014; OH et al., 1998), pode-se determinar os carbonos não hidrogenados. A **Figura 27** apresenta o espectro de RMN de ^{13}C da **IBUCEQ** em CDCl_3 , onde pode ser visto os sinais dos 24 carbonos presentes na referida molécula, e a **Tabela 3** apresenta os deslocamentos químicos encontrados e os carbonos respectivamente atribuídos.

Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) da IBUCEQ em CDCl_3 .



Fonte: Autor, 2020.

Tabela 3 – Dados do RMN de ^{13}C (100 MHz) da IBUCEQ em CDCl_3 .

δ (ppm)	Atribuição	δ (ppm)	Atribuição
18,43	C17	127,25	C19
22,32	C24	127,93	C8
30,11	C23	129,73	C20
38,8	C12	135,12	C7
44,93	C22	137,9	C18
45,74	C13	141,06	C21
46,6	C16	148,56	C9
98,05	C3	150,35	C4
117,15	C10	151,4	C2
122,15	C5	177,77	C15
125,55	C6	-	-

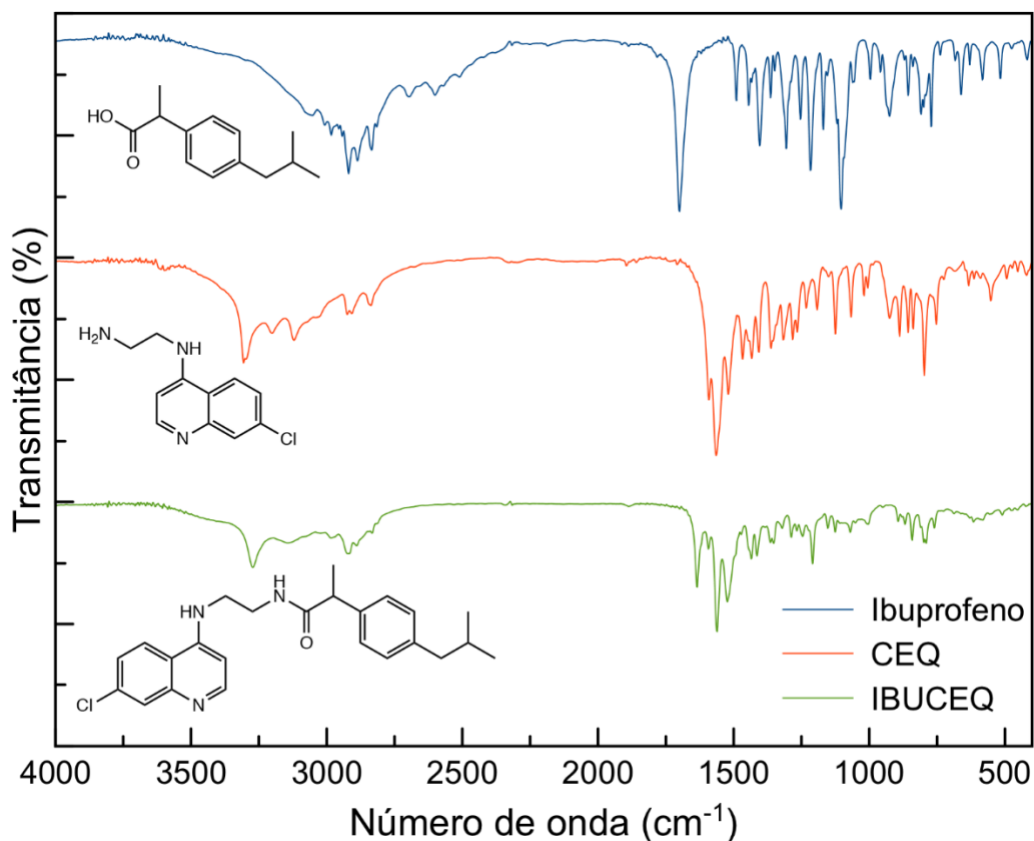
Fonte: Autor, 2020.

Os deslocamentos dos oito carbonos alifáticos encontram-se em região característica, os quais variaram de $\delta = 18,43$ a $46,60$ ppm. Similarmente, os quinze carbonos aromáticos também se encontraram em região característica, variando de $\delta = 98,05$ a $151,40$ ppm. O último sinal de carbono, com deslocamento químico de $\delta = 177,77$ ppm, é referente à carbonila da função amida, também em região característica.

Para complementar os dados de caracterização obtidos através das técnicas de RMN, também foi realizada análise por espectroscopia na região do infravermelho médio, tanto da **IBUCEQ** quanto dos compostos de partida. A **Figura 28** mostra o espectro no infravermelho das estruturas mencionadas.

Os espectros no infravermelho dos compostos de partida (ibuprofeno e **CEQ**) foram comparadas a espectros destas substâncias reportadas na literatura, as quais apresentaram resultados semelhantes, confirmando suas estruturas químicas (ALMEIDA, 2014; GARRIGUES; GALLIGNANI; DE LA GUARDIA, 1993).

Figura 28 – Espectro no Infravermelho da IBUCEQ e seus precursores.



Fonte: Autor, 2020.

A partir desta análise, é importante evidenciar principalmente as bandas relacionadas à hibridização dos compostos. O espectro no infravermelho da molécula de ibuprofeno mostram bandas características para as vibrações dos estiramentos das ligações O-H (3072 cm^{-1}) e C=O de ácidos carboxílicos (1700 cm^{-1}), funções estas que não estão presentes na molécula da **CEQ**. Já o espectro desta última, mostra a presença da função amina, tanto a partir da vibração característica para o estiramento da ligação N-H de aminas secundárias (3307 cm^{-1}), quanto do estiramento simétrico e assimétrico de aminas primárias (3201 cm^{-1} e 3122 cm^{-1}).

Com base destas informações, ao analisar o espectro no infravermelho do produto final, **IBUCEQ**, pode ser visto que há o desaparecimento da banda de estiramento da ligação O-H e da banda de estiramento das ligações de aminas primárias, permanecendo apenas a banda de estiramento de aminas secundárias (3271 cm^{-1}). Além disso, pode ser também observado que banda referente à vibração do estiramento da ligação C=O deslocou-se da região de carbonilas de ácidos carboxílicos para a região de carbonilas de amidas (1635 cm^{-1}).

Na **Tabela 5** é possível encontrar os valores de vibrações das principais bandas relacionadas a hibridização entre os compostos de partida para a formação da **IBUCEQ**.

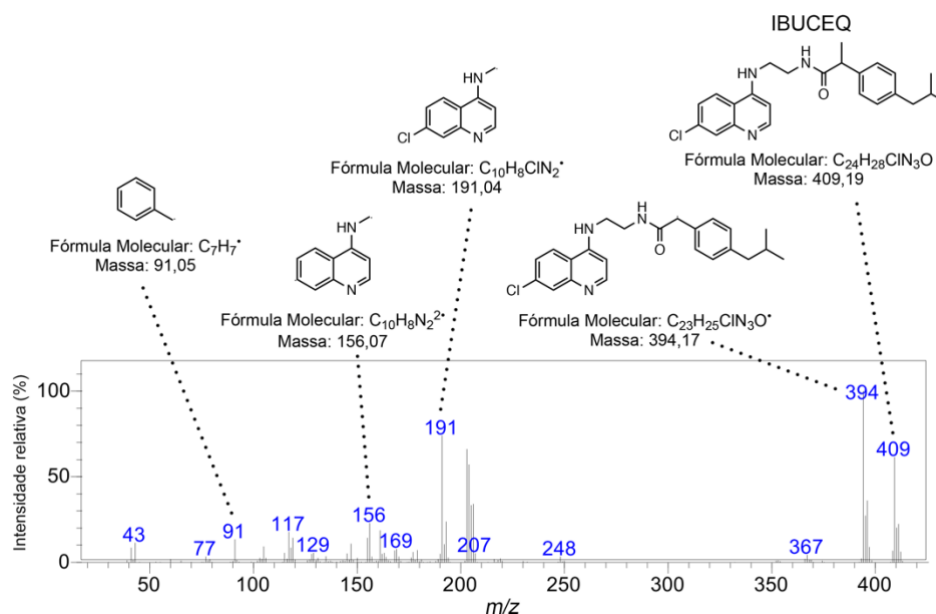
Tabela 4 – Bandas das principais funções observadas nos espectros no infravermelho da IBUCEQ e seus precursores.

Composto	ν N-H	ν_{as} NH ₂	ν_s NH ₂	ν O-H	ν C=O
Ibuprofeno	-	-	-	3072 cm ⁻¹	1700 cm ⁻¹
CEQ	3307 cm ⁻¹	3201 cm ⁻¹	3122 cm ⁻¹	-	-
IBUCEQ	3271 cm ⁻¹	-	-	-	1635 cm ⁻¹

Fonte: Autor, 2020.

Por fim, foi realizado espectroscopia de massas através de injeção direta da amostra **IBUCEQ** no espectrofotômetro, no qual se obteve o espectro apresentado na **Figura 29**. Pode ser observado que o sinal do íon molecular máximo foi de razão m/z = 409, o mesmo valor da massa exata do produto final **IBUCEQ** (409,19). Além disso, pode ser também observado alguns valores de m/z de fragmentos obtidos e suas respectivas estruturas possíveis.

Figura 29 – Espectro de massas da amostra de IBUCEQ.



Fonte: Autor, 2020.

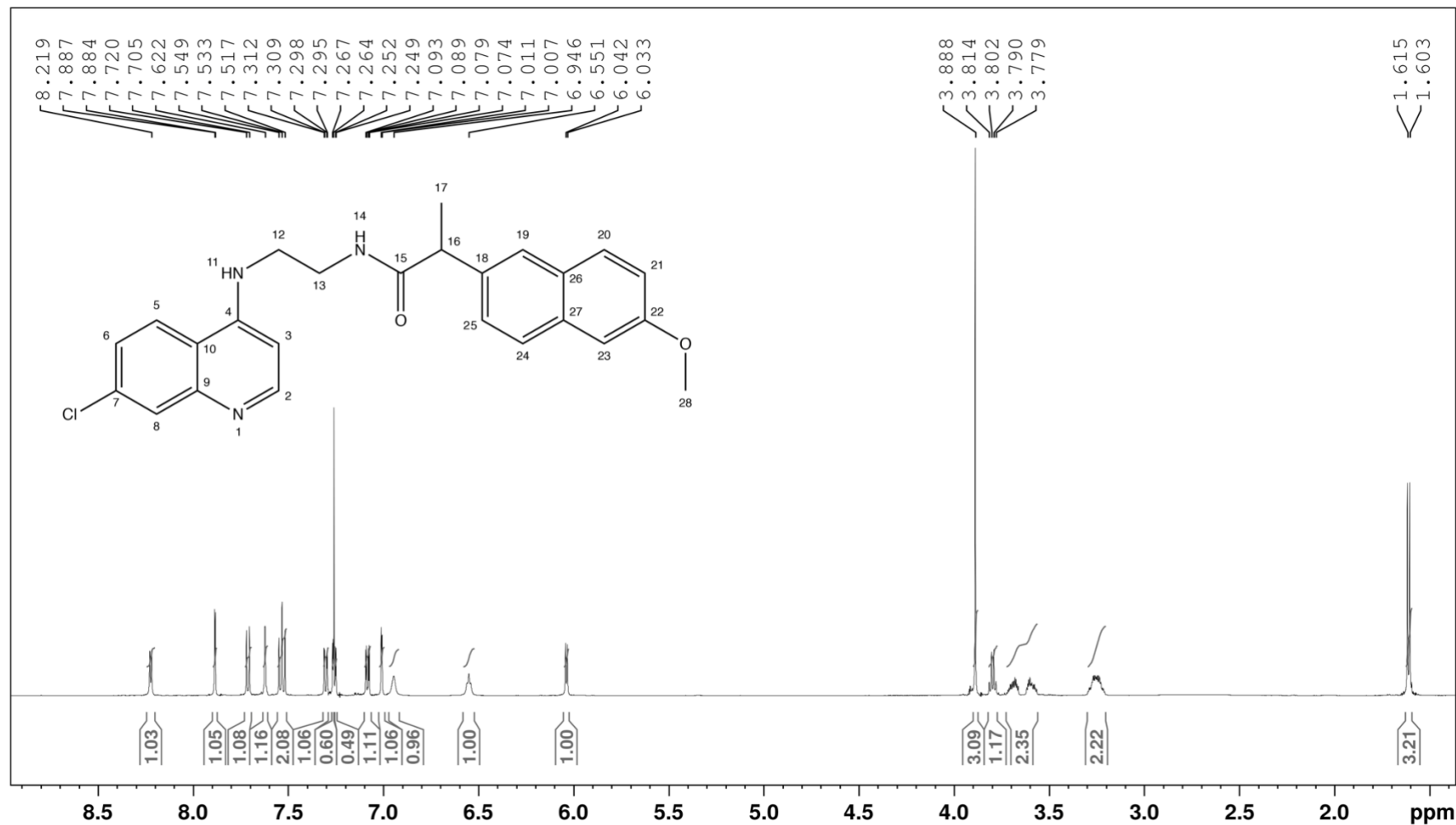
4.3 Síntese e Caracterização da *N*-(2-((7-chloroquinolin-4-il)amina)etil)-2-(6-metóxinaftalen-2-il)propanamida (NAPCEQ)

Como a síntese e caracterização do composto **IBUCEQ** foi bem-sucedida, deu-se continuidade a mesma metodologia de síntese (Leggio et al., 2016) para o composto **NAPCEQ**. Para sua formação, utilizou-se o fármaco naproxeno, que também é um AINE derivado do ácido propiônico, possuindo a função carboxila (**Fig. 23, Pág. 52**). A hibridização da molécula de naproxeno e **CEQ** ocorre a partir desta função carboxila junto a amina terminal presente na molécula de **CEQ**, com mecanismo de reação proposto apresentado na **Figura 24 (Pág. 53)**, onde há a formação de uma função amida.

Para caracterização do composto sintetizado, foram analisados primeiramente os dados obtidos através da espectroscopia de ressonância magnética de hidrogênio. A **NAPCEQ** também é uma molécula inédita formada, como mencionado acima, pela hibridização de duas moléculas de caracterização estrutural bem definida na literatura. Desta forma, foram observados os espectros de RMN de ^1H das moléculas precursoras, tanto da **CEQ** (**Fig. 22, Pág. 51**) quanto do naproxeno (**Apêndice E**).

Novamente analisando os espectros dos compostos de partida junto ao espectro de RMN de ^1H da **NAPCEQ**, além de análises complementares a partir de dados obtidos a partir de técnicas bidimensionais de RMN (^1H - ^1H – COSY) (**Apêndice F**), foram determinados os hidrogênios do referido composto, os quais estão apresentados na **Figura 30** e na **Tabela 5**.

Os deslocamentos químicos de $\delta = 6,03$ ppm e variando de $\delta = 7,00$ a $8,22$ ppm são referentes aos hidrogênios nos anéis aromáticos do núcleo quinolínico e dos anéis aromáticos presentes na estrutura proveniente do naproxeno. Neste ponto, é fácil verificar os hidrogênios aromáticos do núcleo quinolínico, visto a comparação tanto com o espectro de RMN de ^1H da **CEQ**, como também do primeiro produto obtido, a **IBUCEQ**. Estes sinais apresentam deslocamentos similares, além de apresentarem também as mesmas características de multiplicidade sendo H2 ($\delta = 8,22$ ppm), H3 ($\delta = 6,03$ ppm), H5 ($\delta = 7,71$ ppm), H6 ($\delta = 7,25$ ppm) e H8 ($\delta = 7,88$ ppm).

Figura 30 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da NAPCEQ em CDCl_3 .

Fonte: Autor, 2020.

Tabela 5 – Dados do RMN de ^1H (400 MHz) da NAPCEQ em CDCl_3 .

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
1,60	d	3	7,14	H17
3,25	m	2	-	H13
3,64	m	2	-	H12
3,79	q	1	7,14	H16
3,88	s	3	-	H28
46,03	d	1	5,66	H3
6,55	sl	1	-	H14
6,94	sl	1	-	H11
7,00	d	1	2,45	H19
7,08	dd	1	2,45 e 8,86	H20
7,25	dd	1	2,15 e 8,91	H6
7,30	dd	1	1,84 e 8,45	H24
7,53	td	2	9,48 e 9,32	H21 e H25
7,62	s	1	-	H23
7,71	d	1	8,91	H5
7,88	d	1	2,15	H8
8,22	d	1	5,66	H2

Fonte: Autor, 2020.

Já os hidrogênios aromáticos da porção proveniente do naproxeno também puderam ser comparados aos sinais apresentados no espectro de RMN de ^1H do naproxeno, auxiliando na determinação inequívoca de cada sinal. Contudo, por haver uma grande quantidade de sinais nesta região, a análise do mapa de estruturas capaz de correlacionar os hidrogênios acoplados a uma distância de 3 e 4 ligações (J_3 e J_4) (**Apêndice F**) foi essencial para a determinação inequívoca dos referidos sinais. Assim, confirmou-se os sinais dos hidrogênios aromáticos da porção proveniente do naproxeno, observando que houve alterações no deslocamento químico quando comparadas a molécula precursora.

Parte da cadeia alifática presente na porção proveniente da molécula de naproxeno também difere da molécula de ibuprofeno. Enquanto esta última apresenta um metilpropil *p*-substituído ao ácido propanoico no anel aromático, o naproxeno apresenta uma metoxila ligada ao núcleo aromático. Como o grupamento metil está

ligado à um átomo de oxigênio, espera-se um sinal com característica de simpleto para seus hidrogênios, o qual deve estar deslocado para um campo mais desblindado devido à sua proximidade ao átomo eletronegativo. Isto é observado no sinal apresentado no deslocamento de $\delta = 3,88$ ppm, deslocamento similar ao apresentado pelo composto da partida.

Os hidrogênios atribuídos às posições 16 e 17 também apresentaram deslocamentos químicos similares quando comparados ao composto de partida, além de suas multiplicidades características e valores de constante de acoplamento (J) similares, podendo ser determinados inequivocamente.

Quanto aos hidrogênios de amina secundária em NAPCEQ, oriundos do fragmento **CEQ**, passam a serem visualizados como simpletos largos com os deslocamentos químicos de $\delta = 6,55$ e $6,94$ ppm, valores similares aos encontrados no espectro de RMN de ^1H da **IBUCEQ**. A técnica também foi realizada com a adição de água deuterada (D_2O) para confirmar se estes sinais eram de fatos referentes à hidrogênios ácidos. O respectivo espectro pode ser visto no **Apêndice G**, onde pode ser observado que há o desaparecimento dos sinais supracitados, confirmando a determinação feita no presente trabalho.

Ainda considerando os sinais dos hidrogênios alifáticos da porção proveniente da **CEQ**, é possível observar que os hidrogênios dos carbonos metilênicos (H_{12} e H_{13}), com seus deslocamentos químicos de $\delta = 3,25$ e $3,64$ ppm, apresentaram multiplicidade indefinida – característica também observada no espectro de RMN de ^1H do composto **IBUCEQ**. Novamente, isso acontece em decorrência do centro de quiralidade presente em C_{16} , que faz com que os hidrogênios metilênicos presentes na porção proveniente da **CEQ** não sejam espectroscopicamente equivalentes (hidrogênios diastereotópicos), similar ao observado na **Figura 26 (Pág. 57)**.

Contudo, os hidrogênios metilênicos diastereotópicos da molécula da **NAPCEQ**, assim como os da **IBUCEQ**, também podem ser comprovados a partir do mapa de estrutura que mostra a análise de correlação de RMN de ^1H - ^1H (COSY) contido no **Apêndice F**, onde pode ser observado o acoplamento dos hidrogênios geminais e vicinais.

Tendo determinado cada sinal presente no espectro de RMN de ^1H da **NAPCEQ** ao seu respectivo hidrogênio, deu-se início a identificação dos carbonos da estrutura. Novamente, utilizou-se como auxílio a técnica bidimensional de RMN de ^1H -

^{13}C (HSQC). Os mapas de estrutura desta técnica para **NAPCEQ** podem ser observados no **Apêndice H**.

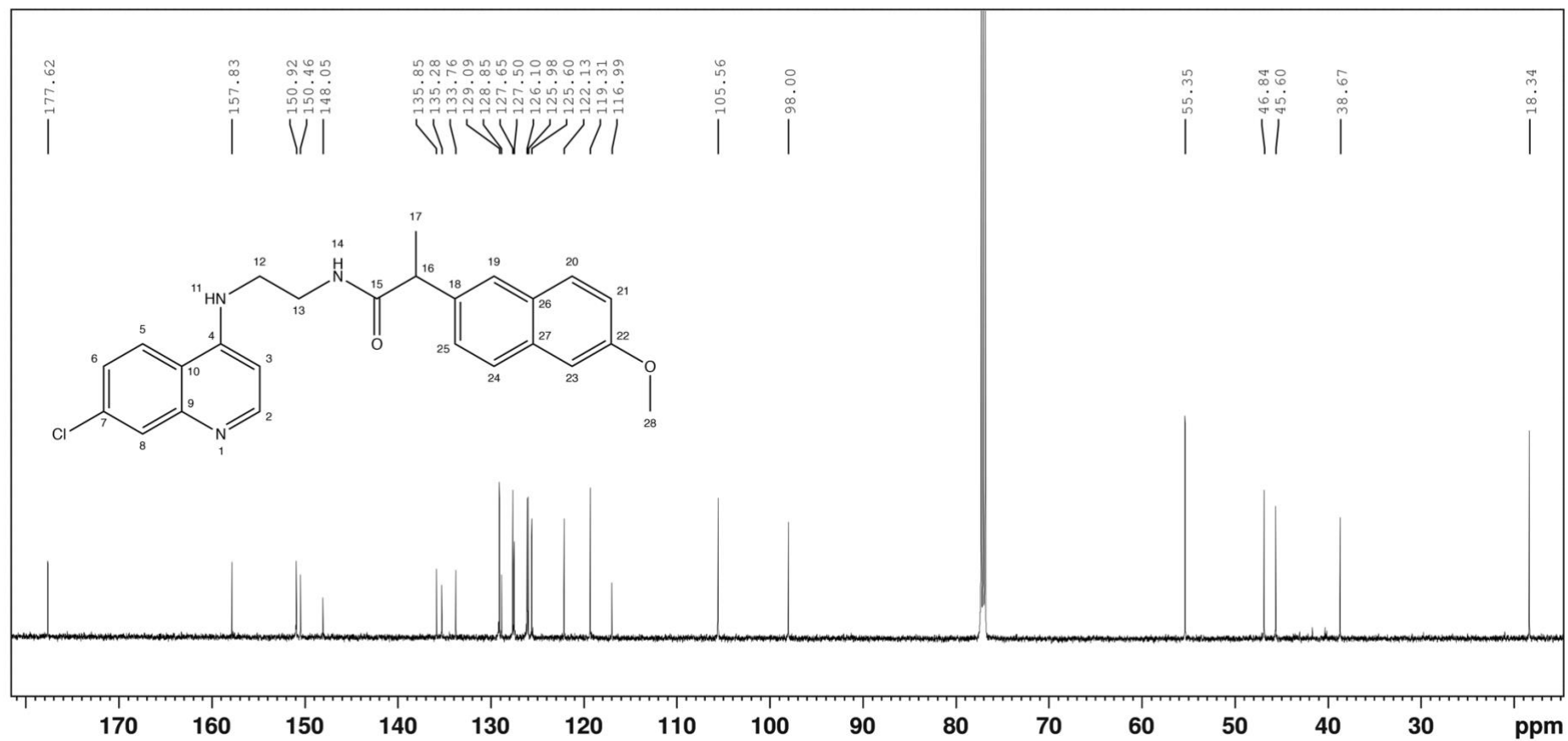
Desta forma, pôde-se determinar inequivocamente os carbonos hidrogenados e, após comparar espectros de RMN de ^{13}C reportados na literatura referentes às moléculas de **CEQ** e de naproxeno (AL-SHAMMARY; MIAN; MIAN, 1992; ALMEIDA, 2014), pode-se determinar também os carbonos não hidrogenados. A **Figura 28** apresenta o espectro de RMN de ^{13}C da **NAPCEQ** em CDCl_3 , onde podem ser observados os sinais dos 25 carbonos contidos na referida molécula, e a **Tabela 6** apresenta os deslocamentos químicos encontrados juntamente aos seus respectivos carbonos atribuídos.

Tabela 6 – Dados do RMN de ^{13}C (100 MHz) da NAPCEQ em CDCl_3 .

δ (ppm)	Atribuição	δ (ppm)	Atribuição
18,34	C17	127,50	C8
38,67	C12	127,65	C25
45,60	C13	128,85	C21
46,84	C16	129,09	C26
55,35	C28	133,76	C27
98,00	C3	135,28	C7
105,56	C19	135,85	C18
116,99	C10	148,05	C9
119,31	C20	150,46	C4
122,13	C5	150,92	C2
125,60	C6	157,83	C22
125,98	C24	177,62	C15
126,10	C23	-	-

Fonte: Autor, 2020.

Figura 31 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) do NAPCEQ em CDCl_3 .

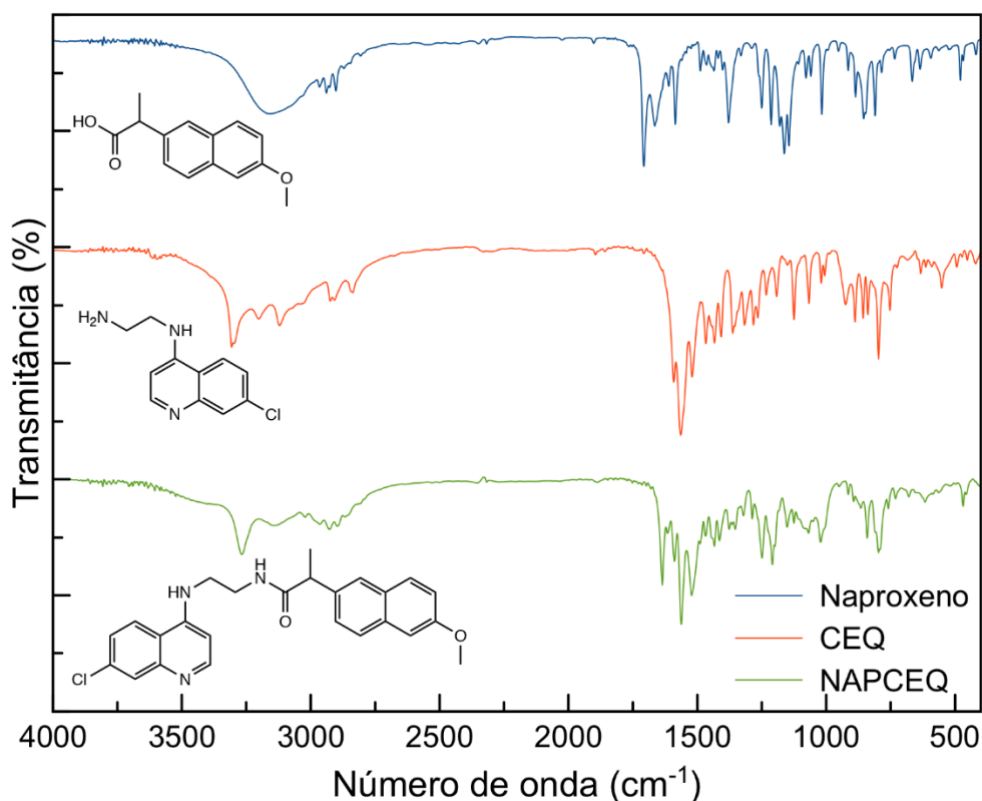


Fonte: Autor, 2020

Os deslocamentos dos cinco carbonos alifáticos do híbrido encontram-se em região característica, com seus valores variando de $\delta = 18,34$ a $55,35$ ppm. Os deslocamentos dos dezoito carbonos aromáticos também se encontraram em região característica, os quais variam de $\delta = 98,00$ a $157,83$ ppm. Assim como no espectro de RMN de ^{13}C da **IBUCEQ**, o último sinal de carbono para a **NAPCEQ**, o qual tem deslocamento químico de $\delta = 177,62$ ppm, é referente à carbonila da função amida, tendo valor de deslocamento químico em região característica para esta função orgânica.

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho médio também foi executada para complementar a caracterização do composto **NAPCEQ**. A **Figura 32** mostra o espectro no infravermelho da **NAPCEQ**, como também dos seus compostos de partida.

Figura 32 – Espectro no Infravermelho da NAPCEQ e seus precursores.



Fonte: Autor, 2020.

Os espectros no infravermelho dos compostos de partida (naproxeno e **CEQ**) também foram comparados aos espectros destas substâncias reportadas na literatura, onde foi observado a semelhança entre as bandas apresentadas e

confirmando suas respectivas estruturas moleculares (AL-SHAMMARY; MIAN; MIAN, 1992; ALMEIDA, 2014).

Da mesma forma que foi feito para o composto **IBUCEQ**, na análise do espectro no infravermelho da **NAPCEQ** foram evidenciadas as bandas relacionadas a formação da ligação amida, função orgânica responsável pela hibridização entre as moléculas. Como a molécula de naproxeno possui uma carboxila em sua estrutura, seu espectro no infravermelho mostra bandas características para as vibrações dos estiramentos tanto da ligação O-H (3168 cm^{-1}), quanto da ligação C=O de ácidos carboxílicos (1708 cm^{-1}). Quanto ao espectro desta última, como já mencionado anteriormente, apresenta bandas de vibração característica para o estiramento da ligação N-H de aminas secundárias (3307 cm^{-1}) e do estiramento simétrico e assimétrico de aminas primárias (3201 cm^{-1} e 3122 cm^{-1} , respectivamente).

Desta forma, ao analisar o espectro no infravermelho do composto **NAPCEQ**, pode ser verificado que há o desaparecimento da banda de estiramento da ligação O-H e da banda de estiramento simétrico e assimétrico das ligações N-H de aminas primárias, característica também observada no espectro no infravermelho do composto **IBUCEQ**. Além disso, pode ser verificado também o deslocamento da banda referente à vibração de estiramento da ligação C=O, a qual deslocou-se para a região de carbonilas de amidas (1635 cm^{-1}) e que a presença da banda de estiramento ligações N-H de aminas primárias foi mantida (3268 cm^{-1}), concluindo que ocorreu a hibridização dos compostos e formação da função amida, similar ao observado na **IBUCEQ**.

A **Tabela 7** apresenta os valores de vibrações das principais bandas relacionadas a hibridização dos compostos de partida para a formação da **NAPCEQ**.

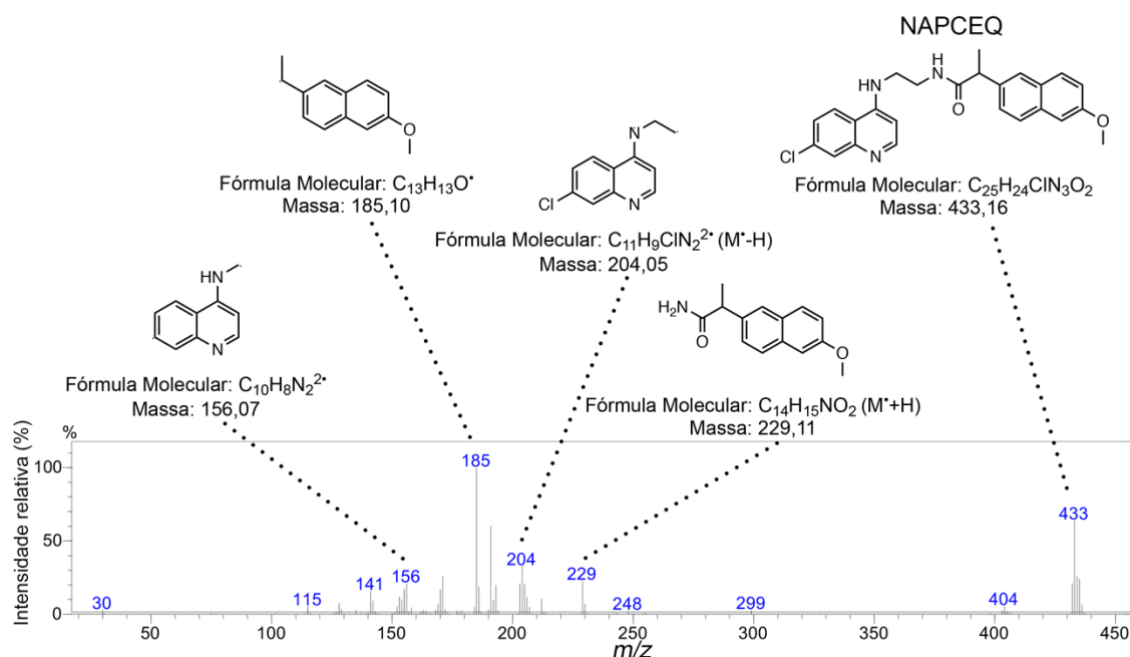
Tabela 7 – Bandas das principais funções observadas nos espectros no infravermelho da NAPCEQ e seus precursores.

Composto	$\nu\text{ N-H}$	$\nu_{\text{as}}\text{ NH}_2$	$\nu_{\text{s}}\text{ NH}_2$	$\nu\text{ O-H}$	$\nu\text{ C=O}$
Naproxeno	-	-	-	3168 cm^{-1}	1708 cm^{-1}
CEQ	3307 cm^{-1}	3201 cm^{-1}	3122 cm^{-1}	-	-
NAPCEQ	3268 cm^{-1}	-	-	-	1635 cm^{-1}

Fonte: Autor, 2020.

Para finalizar a caracterização do composto **NAPCEQ**, foi realizada também a técnica de espectroscopia de massas, onde foi possível obter o espectro apresentado na **Figura 33**. É observado que o sinal do íon molecular máximo foi no valor de $m/z = 433$ (M^{+}), sendo este o valor da massa exata do produto final **NAPCEQ** (433,16). Junto a isto, foram designadas as possíveis estruturas e seus valores de massa exata para alguns valores de m/z de fragmentos obtidos.

Figura 33 – Espectro de massas da amostra de NAPCEQ.



Fonte: Autor, 2020.

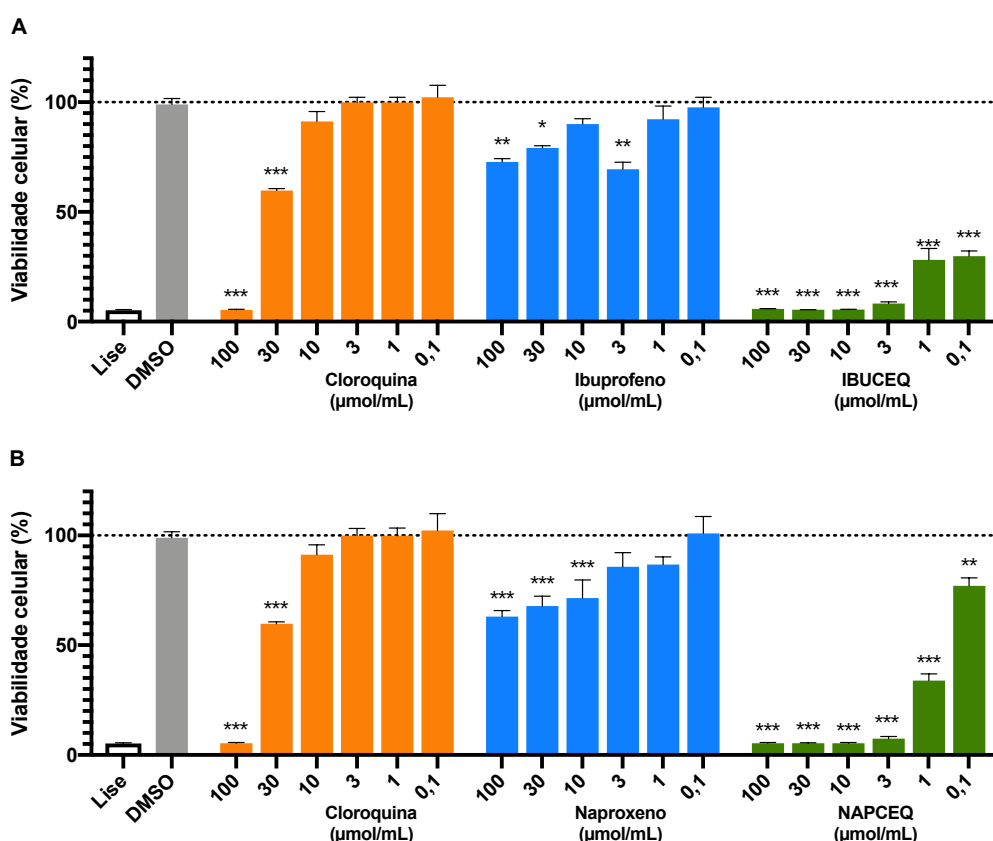
4.4 Ensaio de viabilidade celular

O desenvolvimento de novos candidatos a fármacos, na qual existe a intenção de avaliação de atividades farmacológicas *in vivo*, necessitam primeiramente passar por ensaios utilizando apenas células (*in vitro*) para averiguar sua possível toxicidade no meio intracelular (VAN MEERLOO; KASPERS; CLOOS, 2011). Como os compostos objetos de estudo deste trabalho são moléculas inéditas, a sua citotoxicidade a nível celular não é completamente elucidada, apesar dos compostos de partida não apresentarem tal característica. Assim, para determinar essa possível

citotoxicidade, foi realizado o ensaio de viabilidade celular pelo método colorimétrico de MTT.

O ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT é fundamentado na redução do composto MTT em formazan. Esta redução é feita por enzimas mitocondriais que indicam a viabilidade da célula - se esta estiver viável, as mitocôndrias estarão em perfeito funcionamento e capaz de realizar a redução do MTT. Caso algum agente esteja sendo tóxico a célula, esta não estará viável e assim suas mitocôndrias não serão capazes de realizar a redução do MTT à formazan. A quantificação dessa redução é feita a partir de leitura em espectrofotômetro, visto que a o MTT possui coloração amarelada e o formazan coloração roxa (KARAKAŞ; ARI; ULUKAYA, 2017).

Figura 34 – Efeito dos compostos IBUCEQ e NAPCEQ e dos fármacos precursores no ensaio de viabilidade pelo método de MTT.



Nota: A – Efeito da cloroquina, ibuprofeno e **IBUCEQ** no ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT nas concentrações de 100, 30, 10, 3, 1 e 0,1 μmol/mL. B – Efeito da cloroquina, naproxeno e **NAPCEQ** no ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT nas concentrações de 100, 30, 10, 3, 1 e 0,1 μmol/mL. Resultados estão expressos como a média ± e.p.m dos grupos comparados ao controle (apenas o meio) através de One-way ANOVA seguida do pós-teste de Dunnet. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001.

Fonte: Autor, 2020.

A **Figura 34** mostram os resultados de macrófagos J774 tratados com soluções de diferentes concentrações de **IBUCEQ** e **NAPCEQ**. Na **Figura 34A**, pode ser observado os resultados referentes ao tratamento com **IBUCEQ** nas concentrações de 100, 30, 10, 3, 1 e 0,1 $\mu\text{mol/L}$, além de resultados referentes aos fármacos padrões (cloroquina e ibuprofeno) nas mesmas concentrações e dos padrões positivos e negativos: células apenas com o meio de cultura; células apenas com o solvente das amostras (DMSO); e células tratadas com o padrão de lise celular. Na **Figura 34B**, pode ser observado os resultados referentes ao tratamento com **NAPCEQ**, também nas concentrações de 100, 30, 10, 3, 1 e 0,1 $\mu\text{mol/L}$, juntamente com os resultados dos fármacos padrões (cloroquina e naproxeno), e dos padrões positivos e negativos citados anteriormente.

É possível observar que a partir dos resultados obtidos, os compostos sintetizados mostram potencial toxicidade celular em todas as concentrações testadas. Essa característica difere quando comparado aos fármacos padrão, na qual a cloroquina e o ibuprofeno apresentam sinais de citotoxicidade nas concentrações iguais ou superiores a 30 $\mu\text{mol/mL}$, e o naproxeno apresenta sinais de citotoxicidade nas concentrações iguais ou superiores a 10 $\mu\text{mol/mL}$.

Estudos realizados por Silva (2019) mostram resultados semelhantes para o fármaco padrão Cloroquina, corroborando os resultados do presente trabalho. Este mesmo estudo também contém resultados de análise da viabilidade celular de macrófagos tratados com a molécula **CEQ**, precursora na formação da **IBUCEQ** e **NAPCEQ**. No trabalho, a molécula apresenta sinais de citotoxicidade apenas em concentração igual ou superior a 100 $\mu\text{mol/L}$. Além disso, o trabalho supracitado também mostra que a molécula em questão apresenta a maior DL50 (232,95 mg/Kg; equivalente à 1,05 mol/Kg) quando avaliado no teste de toxicidade oral aguda *in vivo*.

Com base no exposto acima, é importante verificar o que pode estar causando esta potencial toxicidade celular nos compostos sintetizados, visto que são híbridos de compostos que separadamente não apresentam tais características. Deste modo, após essa análise, foi decidido realizar a síntese de dois novos híbridos, aumentando a cadeia alifática de carbonos de 2 para 3, similar a cadeia alifática da cloroquina, a fim de se obter novos compostos que apresentem menor citotoxicidade.

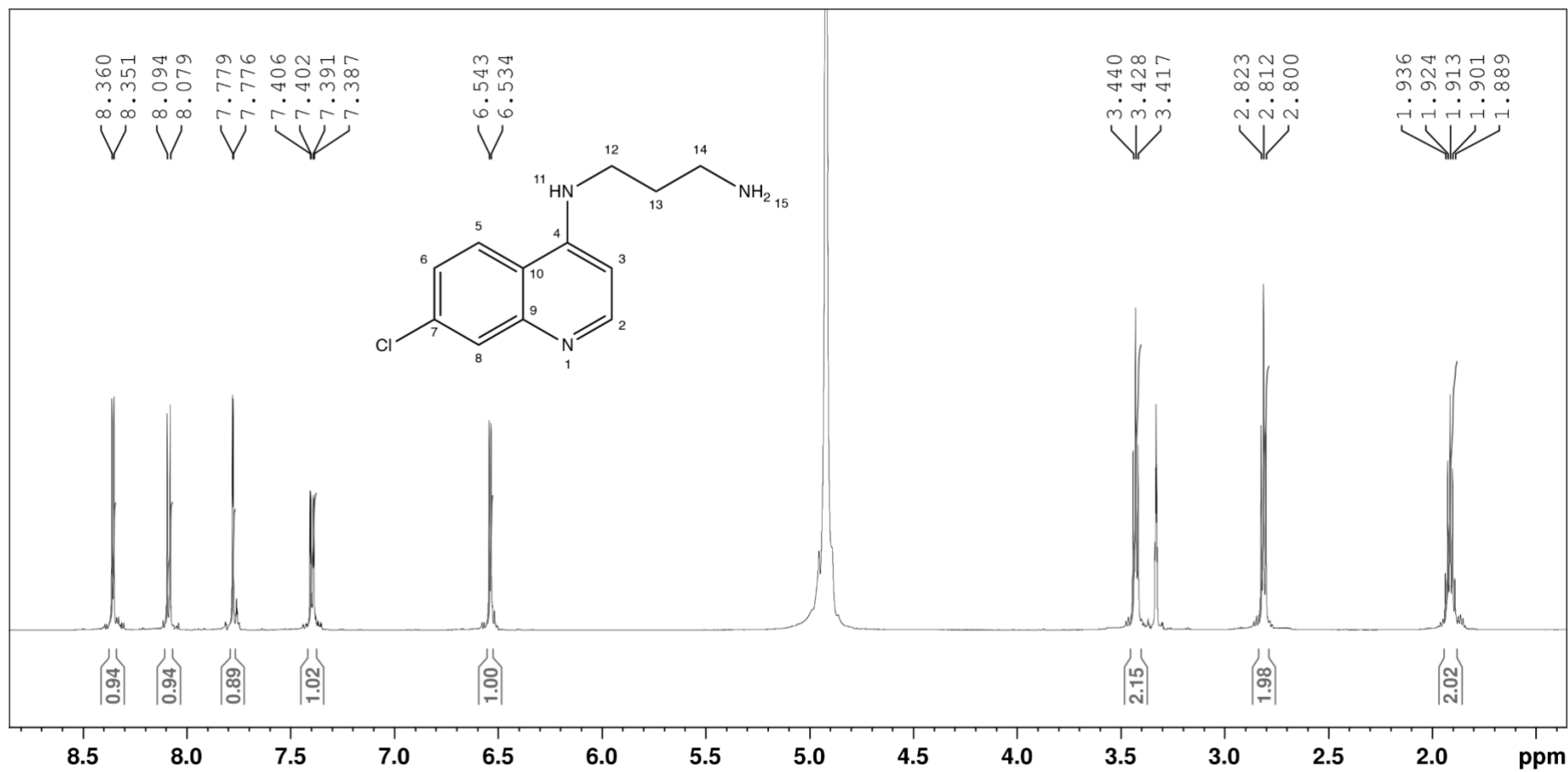
4.5 Síntese e Caracterização da *N*₁-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina (DAPQ)

Para a síntese dos novos híbridos, foi sintetizado um novo derivado 4-aminoquinolínico, a *N*₁-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina (**DAPQ**). Assim como a **CEQ**, o **DAPQ** é um composto já bem descrito na literatura e sua síntese também se baseia na metodologia descrita por Rudrapal e colaboradores (2013), sendo a única diferença a substituição da etilenodiamina para o 1,3-diaminopropano, o qual reage com o 4,7-dicloroquinolina formando o composto. O mecanismo de reação para este composto é similar ao da síntese da **CEQ**, ou seja, ocorrendo via S_NAR.

A formação da **DAPQ** foi confirmada pela técnica de RMN de ¹H, no qual os valores de deslocamento químico e suas respectivas multiplicidades são similares aos dados já reportados na literatura para esta molécula (CASAGRANDE et al., 2010).

O espectro de RMN de ¹H e seus dados numéricos estão apresentados na **Figura 35** e na **Tabela 8**. Os deslocamentos químicos variando de $\delta = 6,54$ a $8,35$ ppm são referentes aos sinais dos hidrogênios pertencentes aos anéis aromáticos do núcleo quinolínico, similar ao observado no espectro de RMN de ¹H da **CEQ**. Os tripletos observados em $\delta = 2,81$ e $3,42$ ppm são referentes aos hidrogênios metilênicos presentes em C12 e C14, ou seja, os que estão próximos aos grupamentos amina. Um novo sinal, não observado no espectro de RMN de ¹H da **CEQ**, em forma de quinteto com deslocamento $\delta = 1,91$ ppm foi atribuído aos hidrogênios metilênicos presentes em C13, os quais acoplam com os dois hidrogênios de C12 e os dois hidrogênios de C14. Assim como observado no espectro de RMN de ¹H da **CEQ**, os sinais dos hidrogênios dos grupamentos amino não puderam ser visualizados devido a alta capacidade de troca de hidrogênio do solvente utilizado para análise (CD₃OD).

Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da DAPQ em CD_3OD .



Fonte: Autor, 2020.

Tabela 8 – Dados do RMN de ^1H (400 MHz) da DAPQ em CD_3OD .

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
1,91	qt	2	7,01	H13
2,81	t	2	7,01	H14
3,42	t	2	7,01	H12
6,54	d	1	5,63	H3
7,39	dd	1	2,11 e 8,95	H6
7,77	d	1	2,11	H8
8,08	d	1	8,95	H5
8,35	d	1	5,63	H2

Fonte: Autor, 2020.

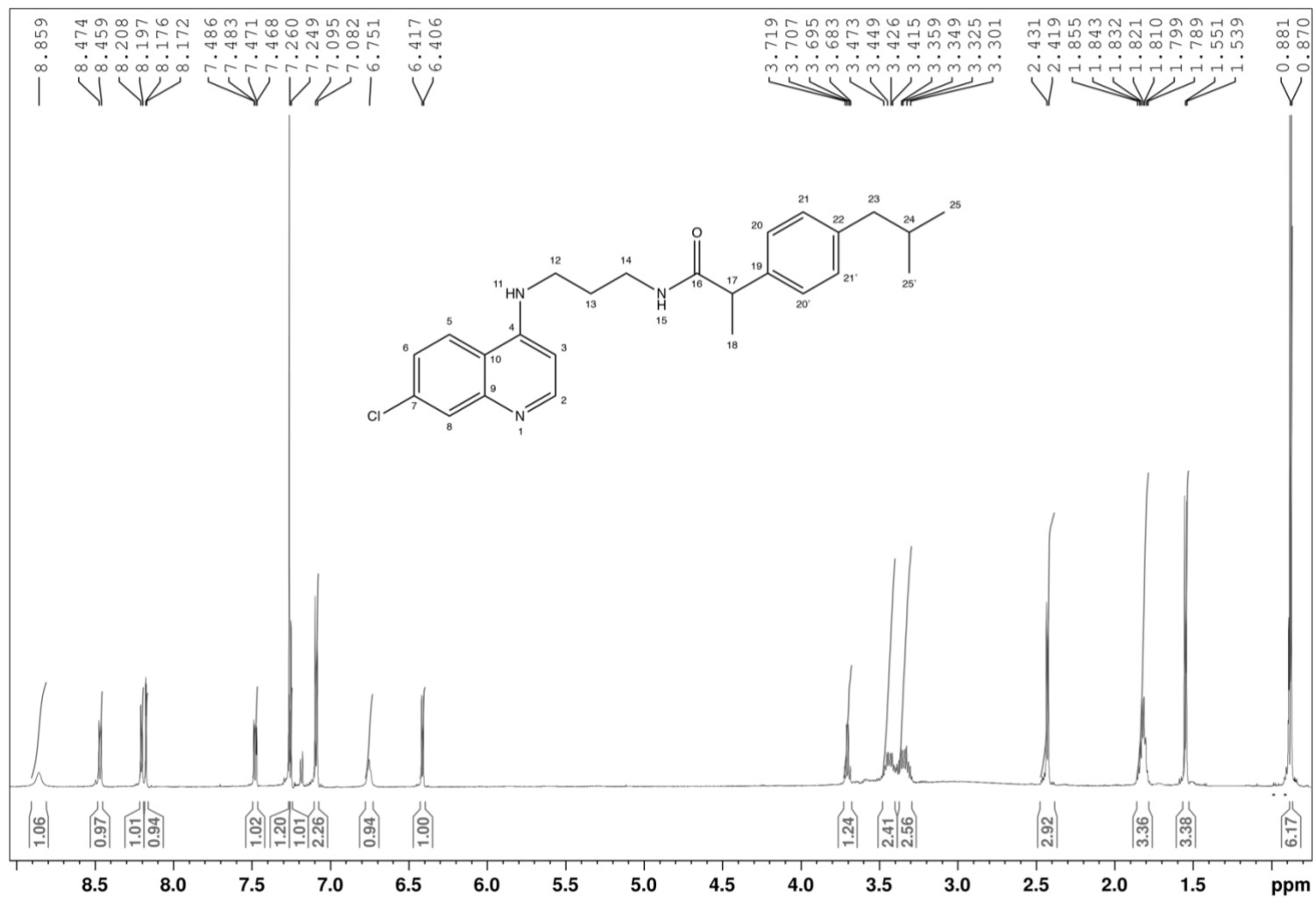
Desta forma, sendo confirmada a formação do produto de partida para a síntese das novas moléculas, deu-se andamento a etapa de hibridação deste derivado 4-aminoquinolínico ao ibuprofeno e naproxeno.

4.6 Síntese e Caracterização da *N*-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida (IBUDAPQ)

A metodologia escolhida para a síntese *N*-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(4-isobutilfenil)propanamida (IBUDAPQ) foi a síntese “one-pot” reportada por Leggio e colaboradores (2016), o qual o mecanismo de reação proposto para esta foi previamente detalhado na **Figura 24 (Pág. 52)**.

Assim como o feito para os outros híbridos apresentados anteriormente, a sua caracterização estrutural se deu pela técnica de RMN de ^1H , onde os resultados foram mais uma vez comparados aos espectros obtidos dos compostos de partida, **DAPQ (Figura 35, Pág. 76)** e ibuprofeno (**Apêndice A**), além da análise complementar a partir do mapa de correlações ^1H - ^1H (COSY) que apresenta os acoplamentos J_3 e J_4 dos hidrogênios, podendo ser encontrado no **Apêndice I**. Com base nesses dados, os sinais dos hidrogênios do novo híbrido estão apresentados na **Figura 36 e Tabela 9**.

Figura 36 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da IBUDAPQ em CDCl_3 .



Fonte: Autor, 2020.

Tabela 9 – Dados do RMN de ^1H (400 MHz) da IBUDAPQ em CDCl_3 .

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
0,87	d	6	6,61	H25
1,54	d	3	7,13	H18
1,82	m	3	-	H13 e H24
2,42	d	2	6,99	H23
3,34	m	2	-	H14
3,43	m	2	-	H12
3,7	q	1	7,13	H17
6,41	d	1	6,74	H3
6,75	sl	1	-	H15
7,08	d	2	8,04	H21 e H21'
7,25	d	2	-	H20 e H20'
7,47	dd	1	2,06 e 8,97	H6
8,17	d	1	2,06	H8
8,2	d	1	6,74	H2
8,46	d	1	8,97	H5
8,85	sl	1	-	H11

Fonte: Autor, 2020.

Assim como no composto **IBUCEQ**, a **IBUDAPQ** possui um anel aromático para-substituído, porção da molécula proveniente da molécula de ibuprofeno. Como já discutido, anéis para-substituídos costumam apresentar caracteristicamente dois sinais de dupletos os quais integram à 2 hidrogênios cada (PAVIA et al., 2010), devido ao hidrogênio H20 ser espectroscopicamente equivalente ao hidrogênio H20', similarmente observado com os hidrogênios H21 e H21', sendo estes apresentados em $\delta = 7,08$ e $7,25$ ppm. Contudo, o sinal com o deslocamento de $\delta = 7,25$ ppm está sendo sobreposto pelo sinal do solvente utilizado na análise (CDCl_3) e sua elucidação é facilitada pela integral obtida deste sinal, assim como da correlação entre os sinais de H20/H20' e H21/H21' observada pelo mapa de correlação COSY.

Os outros cinco sinais de hidrogênios observados na região de hidrogênios aromáticos são atribuídos ao núcleo quinolínico, que possuem multiplicidades características para esse núcleo, como visto anteriormente, apesar de haver algumas

modificações nos seus deslocamentos químicos, mas que podem ser assegurados ao observar os espectros de RMN de ^1H da **DAPQ** e da **CEQ**, além da análise por COSY.

Os sinais dos hidrogênios alifáticos, mais uma vez inicialmente considerando a porção do híbrido proveniente da molécula de ibuprofeno, ou seja, H17, H18, H23, H24 e H25/H25' são facilmente identificáveis a partir de suas multiplicidades características já observadas nos espectros de RMN de ^1H da **IBUCEQ** e do ibuprofeno, e por estes apresentarem uma leve alteração em seus respectivos deslocamentos químicos quando comparado aos espectros mencionados, pode-se inferir a efetividade no processo de síntese.

Os sinais dos hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio (H11 e H15) foram observados como simpletos largos ($\delta = 6,75$ e $8,85$ ppm) e possuem deslocamentos químicos por vezes bastante diferente quando comparados aos espectros das moléculas semelhantes apresentadas anteriormente neste trabalho. Contudo, pode ser confirmado que tais sinais nos deslocamentos citados são pertencentes aos hidrogênios ligados aos nitrogênios a partir da análise por COSY, onde estes sinais se correlacionam aos de H12 e H14, hidrogênios metilênicos vizinhos à eles, além do fato de ambos os sinais integrarem apenas 1 hidrogênio, o que confirma que a reação foi bem sucedida pois a amina primária presente na cadeia do derivado 4-aminoquinolínico levou a formação de uma função amida.

E por fim, foram atribuídos os sinais dos hidrogênios metilênicos H12, H13 e H14, sendo apresentados com seus respectivos deslocamentos químicos $\delta = 3,43$, $1,82$ e $3,34$ ppm. Como já discutido anteriormente para os compostos **IBUCEQ** e **NAPCEQ**, existe um centro quiral nos novos híbridos sintetizados, sendo este centro na **DAPQ** o carbono 16. A sua presença próximo aos hidrogênios alifáticos H12, H13 e H14 leva a um desdobramento de sinal no qual a sua multiplicidade não pode ser inteiramente definida, pois os hidrogênios geminais além de acoplarem com os hidrogênios vicinais (J_3), também acoplam com os hidrogênios geminais (J_2), pois são vistos como hidrogênios espectroscopicamente diferentes, como exemplificado na **Figura 26 (Pág. 57)** e no qual estes acoplamentos podem ser comprovado a partir do mapa de estrutura COSY para a **IBUDAPQ (Apêndice I)**.

Assim como observado no espectro de RMN de ^1H do composto **DAPQ (Fig 35, Pág. 76)**, o sinal do hidrogênio H13 ($\delta = 1,82$ ppm) encontra-se numa região mais de hidrogênios mais blindada devido ao fato de serem hidrogênios ligados a um

carbono secundário, diferente dos sinais dos hidrogênios H12 e H14, que por estarem vizinhos à um átomo mais eletronegativo, o nitrogênio, encontram-se numa região mais desblindada ($\delta = 3,43$ e $3,34$ ppm, respectivamente).

Com a identificação dos sinais de todos os hidrogênios presentes na molécula da **IBUDAPQ**, foi realizada a identificação dos sinais dos carbonos presentes na estrutura apresentados no RMN de ^{13}C . Para auxílio desta identificação, foi utilizada mais uma vez a técnica bidimensional HSQC, a qual correlaciona os acoplamentos diretos (J_1) entre os sinais de ^1H e ^{13}C . Este mapa de estrutura pode ser encontrado no **Apêndice J**.

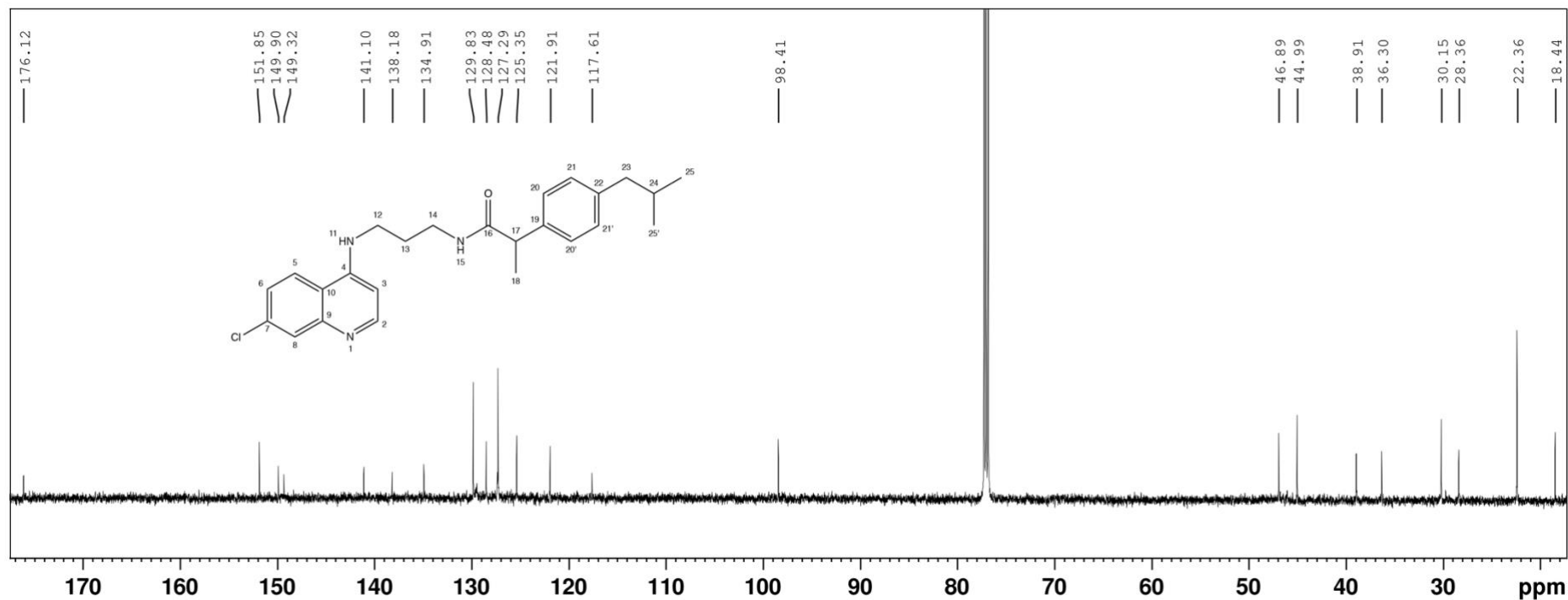
Com a utilização deste recurso, determinou-se inequivocamente os carbonos hidrogenados da estrutura, e a partir do auxílio de espectros de RMN de ^{13}C reportados na literatura da DAPQ e do ibuprofeno (LOMBARD et al., 2011; OH et al., 1998), foram determinados os carbonos não hidrogenados. A **Figura 37** e a **Tabela 10** mostram, respectivamente, o espectro de RMN de ^{13}C da **IBUDAPQ** em CDCl_3 e os dados de deslocamentos químicos de cada um dos 25 carbonos e suas atribuições.

Tabela 10 – Dados do RMN de ^{13}C (100 MHz) da IBUDAPQ em CDCl_3 .

δ (ppm)	Atribuição	δ (ppm)	Atribuição
18,43	C18	125,35	C6
22,35	C25	127,28	C20
28,35	C13	128,48	C8
30,15	C24	129,82	C21
36,3	C23	134,17	C7
38,9	C14	138,17	C19
44,99	C12	141,1	C22
46,89	C17	149,32	C9
98,40	C3	149,9	C4
117,61	C10	151,84	C2
121,91	C5	176,12	C16

Fonte: Autor, 2020.

Figura 37 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) da IBUDAPQ em CDCl_3 .

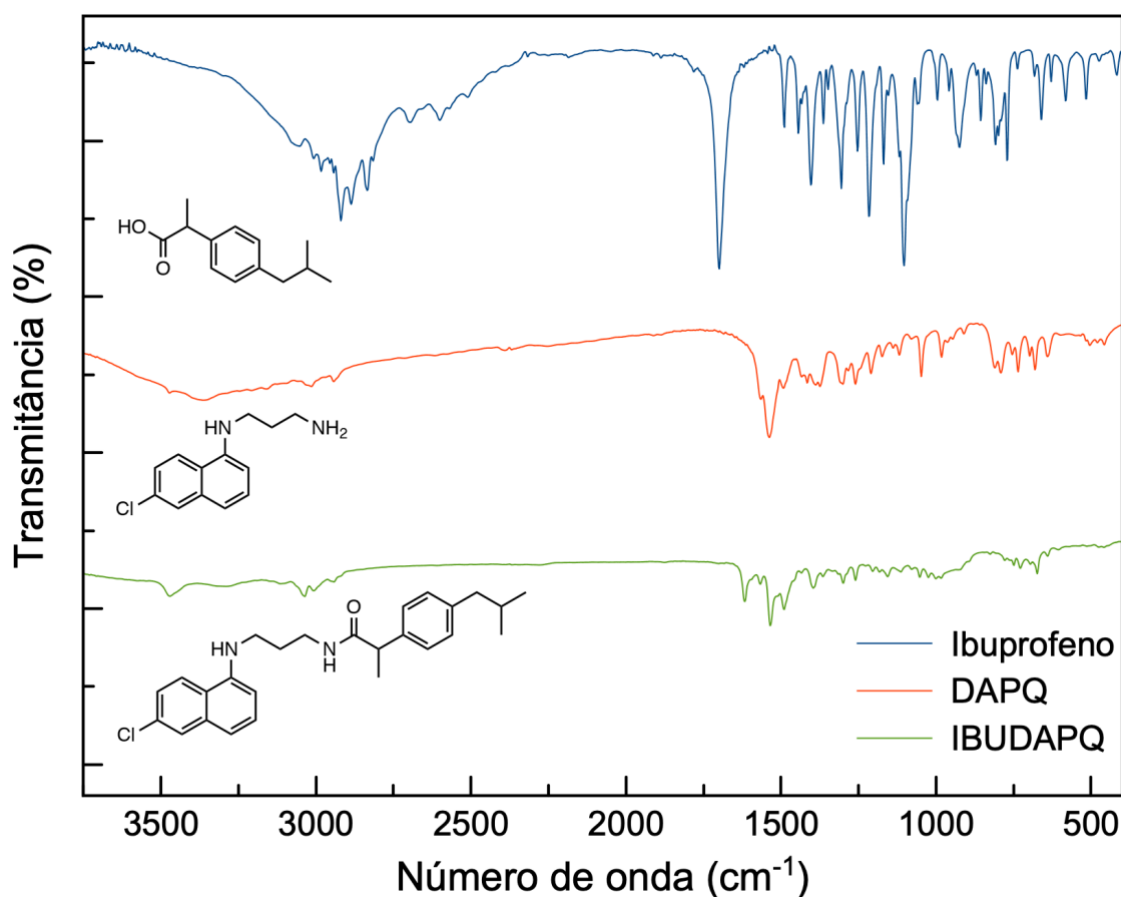


Fonte: Autor, 2020.

Os deslocamentos químicos observados entre $\delta = 18,43$ e $46,89$ ppm são referentes aos sinais dos nove carbonos alifáticos, enquanto os deslocamentos químicos observados entre $\delta = 98,40$ e $151,84$ ppm são referentes aos sinais dos quinze carbonos aromáticos. O último sinal de carbono, como nos híbridos anteriores, com deslocamento químico de $\delta = 176,12$ ppm, é referente à carbonila da função amida.

Após a caracterização da **IBUDAPQ** por RMN, seguiu-se a análise por IVFT para observar se, assim como nos compostos **IBUCEQ** e **NAPCEQ**, ocorreu o desaparecimento e formação de funções características do composto. A **Figura 38** mostra o espectro no infravermelho da **IBUDAPQ**, assim como de seus reagentes.

Figura 38 – Espectro no Infravermelho da IBUDAPQ e seus precursores.



Fonte: Autor, 2020.

Analisando mais uma vez as bandas relacionadas à hibridização dos compostos, é possível observar que o espectro de infravermelho da molécula de ibuprofeno possui as bandas características para as vibrações dos estiramentos das

ligações O-H (3072 cm^{-1}) e C=O de ácidos carboxílicos (1700 cm^{-1}), funções que não estão presentes no composto **DAPQ**, sendo possível observar neste as bandas características de vibração para o estiramento da ligação N-H de aminas secundárias (3477 cm^{-1}), quando do estiramento da ligação N-H de aminas primárias (3365 cm^{-1}).

Comparando as bandas características dos compostos de partida com as bandas apresentadas no novo híbrido, **IBUDAPQ**, nota-se o desaparecimento da banda de estiramento da ligação O-H e da banda de estiramento de aminas primárias, sendo observado apenas a banda de estiramento de aminas secundárias (3471 cm^{-1}). Junto a isto, assim como observado nos primeiros híbridos sintetizados, a vibração de estiramento da ligação C=O deslocou-se da região de carbonila de ácido caboxílico para região de carbonila de amida (1616 cm^{-1}). A **Tabela 11** evidencia os valores de vibração destas principais bandas analisadas para o composto IBUDAPQ.

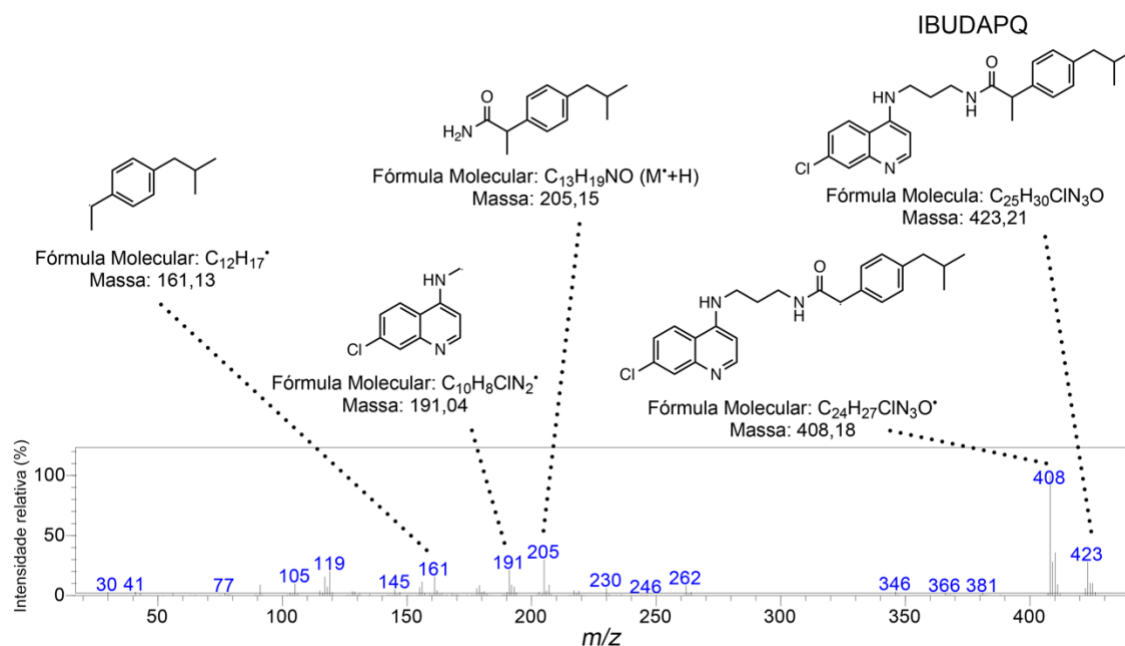
Tabela 11 – Bandas das principais funções observadas nos espectros no infravermelho da IBUDAPQ e seus precursores.

Composto	$\nu\text{ N-H}$	$\nu\text{ NH}_2$	$\nu\text{ O-H}$	$\nu\text{ C=O}$
Ibuprofeno	-	-	3072 cm^{-1}	1700 cm^{-1}
DAPQ	3477 cm^{-1}	3365 cm^{-1}	-	-
IBUDAPQ	3471 cm^{-1}	-	-	1616 cm^{-1}

Fonte: Autor, 2020.

Para completar a caracterização deste composto, foi realizada uma espectroscopia de massas, na qual se obteve o espectro apresentado na **Figura 39**. Nele, é mostrado que o sinal do íon molecular máximo foi de razão $m/z = 423$, o mesmo valor da massa exata do híbrido **IBUDAPQ** (423,21). Ao mesmo tempo, pode ser observado também alguns valores de m/z de fragmentos obtidos gerados na análise e suas respectivas estruturas possíveis decorrente das diferentes quebras das ligações químicas contidas na **IBUDAPQ**.

Figura 39 – Espectro de massas da amostra de IBUDAPQ.

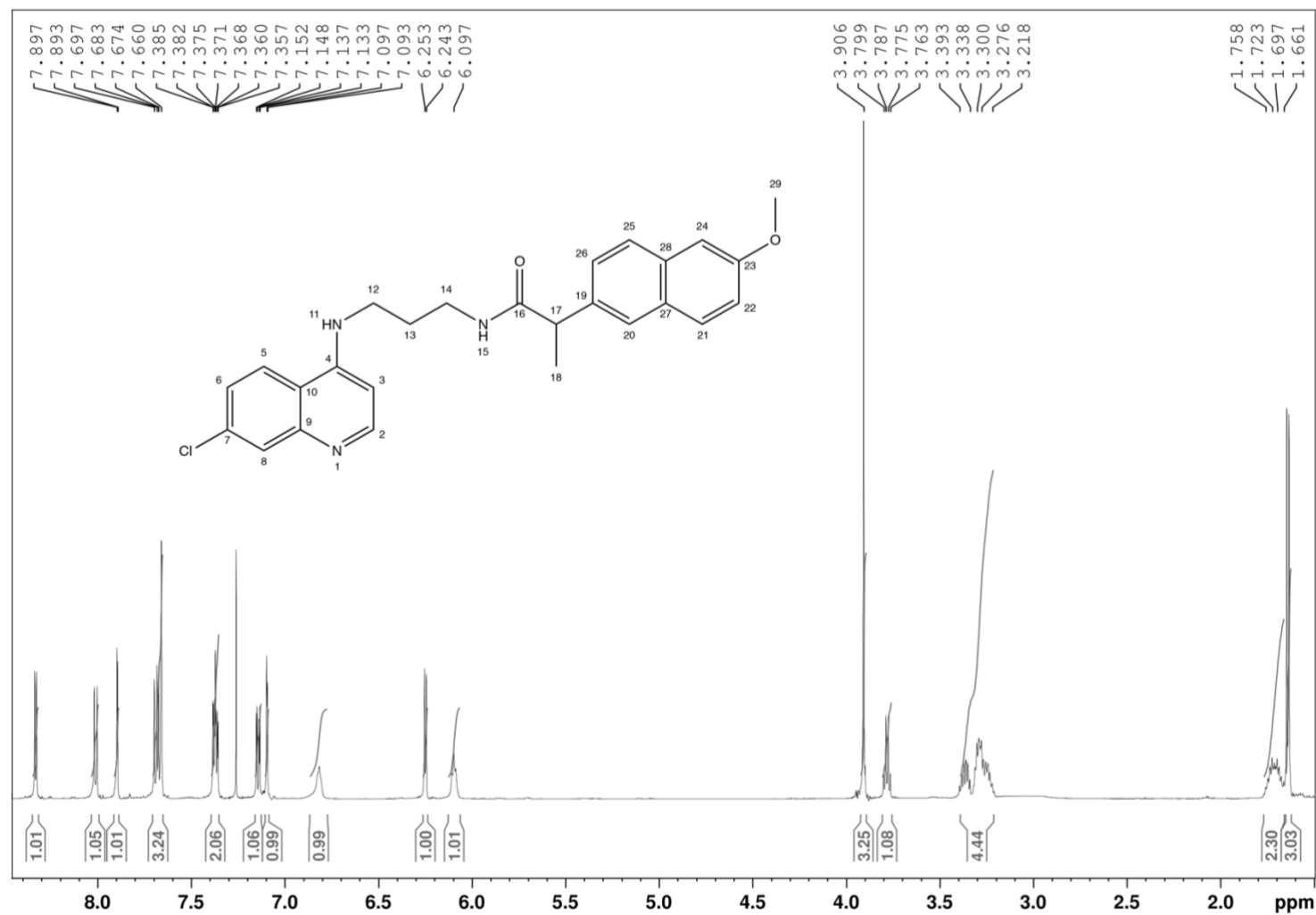


Fonte: Autor, 2020.

4.7 Síntese e Caracterização da *N*-(3-((7-cloroquinolina-4-il)amino)propil)-2-(6-metóxinaftaleno-2-il)propanamida (NAPDAQ)

Após a síntese do híbrido entre a **DA PQ** e o ibuprofeno, foi realizada a síntese do segundo híbrido – com o naproxeno – formando a **NAPDAQ**. Mais uma vez foi utilizada a metodologia “*one-pot*” descrita por Leggio e colaboradores (2016). Para a caracterização do novo composto, também foram analisados primeiramente os dados obtidos por RMN de 1H , onde os sinais dos hidrogênios foram comparados aos sinais vistos nos espectros das moléculas precursoras (**DA PQ** – Fig. 35, Pág. 76; naproxeno – Apêndice E), além das análises complementares por COSY (Apêndice K). Assim, foi possível realizar a atribuição inequívoca de cada sinal de hidrogênio do composto, os quais estão apresentados na Figura 40 e na Tabela 12.

Figura 40 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da NAPDAPQ em CDCl_3 .



Fonte: Autor, 2020.

Tabela 12 – Dados do RMN de ^1H (400 MHz) da NAPDAPQ em CDCl_3 .

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
1,64	d	3	7,20	H18
1,70	m	2	-	H13
3,29	m	4	-	H12 e H14
3,77	q	1	7,20	H17
3,91	s	3	-	H29
5,94	sl	1	-	H11
6,25	d	1	5,58	H3
6,66	sl	1	-	H15
7,10	d	1	2,41	H20
7,15	dd	1	2,41 e 8,87	H21
7,37	td ap	2	-	H6 e H25
7,65	sl	1	-	H24
7,67	d	1	8,87	H22
7,70	d	1	8,49	H26
7,90	d	1	2,12	H8
7,97	d	1	8,93	H5
8,35	d	1	5,58	H2

Fonte: Autor, 2020.

A partir deste ponto, é fácil identificar a maior parte dos sinais dos hidrogênios pertencentes aos núcleos aromáticos. Contudo, como para alguns destes sinais ocorreu sobreposição ou deslocamento significativamente diferente do observado nos espectros vistos anteriormente, a análise do COSY, foi imprescindível para a determinação inequívoca dos hidrogênios dos quinolínico ou naftalênico.

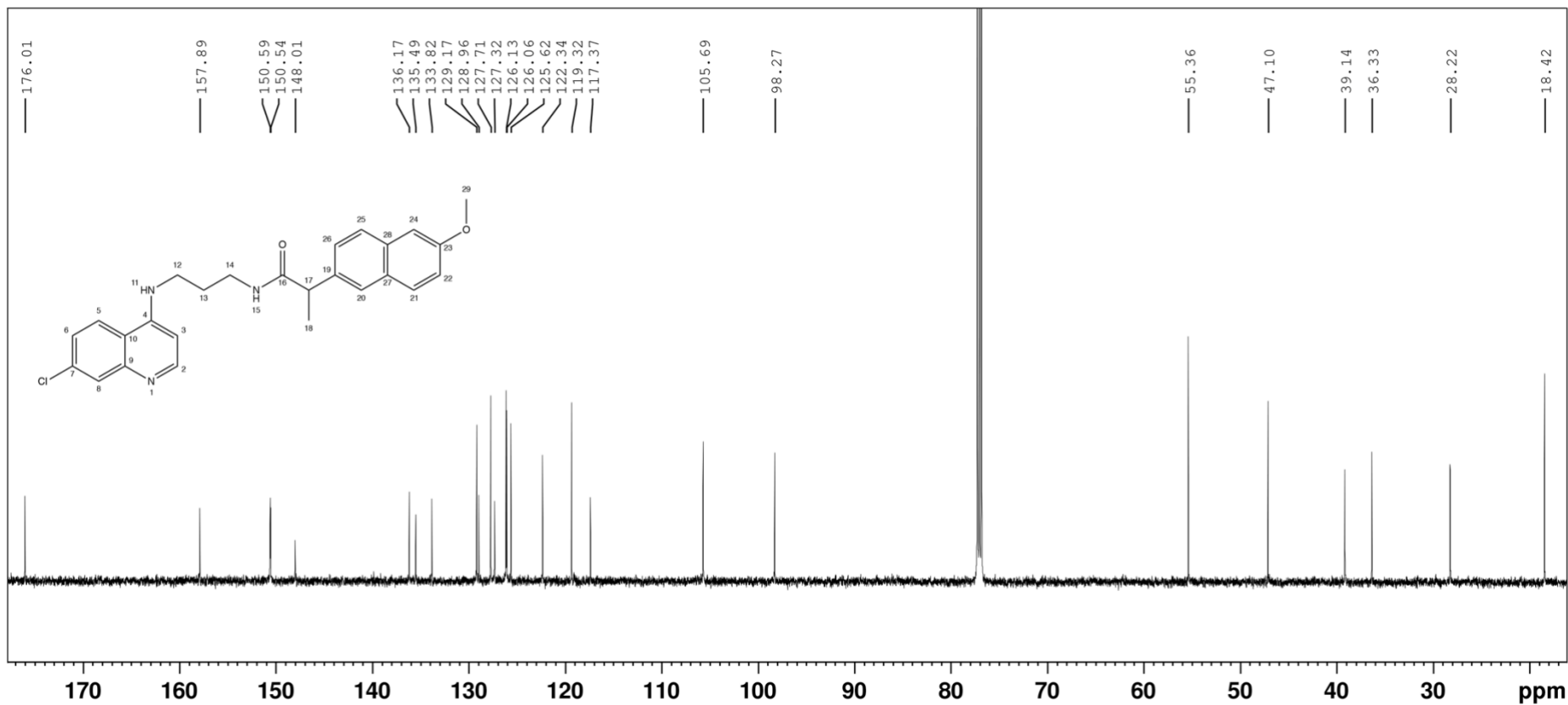
Considerando os hidrogênios alifáticos, observamos que apenas dois sinais integram a três hidrogênios, ou seja, indicando a presença de duas metilas. O primeiro, com deslocamento $\delta = 1,64$ ppm, possui um desdobramento em duplete, o que indica o acoplamento com um hidrogênio ligado um carbono vizinho, sendo H18 o único nesta condição; já o segundo, com deslocamento $\delta = 3,91$ ppm, se apresenta como um simpleto e está numa região que indica maior desblindagem dos núcleos

destes hidrogênios, podendo ser atribuído então aos hidrogênios da metoxila (PAVIA et al., 2010).

Como o sinal com deslocamento de $\delta = 3,77$ ppm apresenta-se como quarteto e a análise do COSY evidenciou correlação com o sinal atribuído ao H18, sugere-se que este sinal seja referente ao H17. Enquanto para os outros sinais na região de hidrogênios alifáticos, é possível observar que eles não possuem multiplicidade definida ($\delta = 1,70$ e $3,29$ ppm), similar aos sinais vistos para **IBUDAPQ**, pois estes são sinais provenientes de hidrogênios diastereotópicos. Assim, após analisar as correlações indicadas no COSY, pode-se atribuir inequivocamente o sinal com deslocamento $\delta = 1,70$ ppm à H13 e com deslocamento em $\delta = 3,29$ ppm à H12 e H14, tendo este último ocorrido devido a uma sobreposição dos sinais, mas que ao fim integraram à quatro hidrogênios.

E por fim, os sinais dos hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio apareceram em deslocamentos similares aos encontrados para os compostos **IBUCEQ** e **NAPCEQ**, apresentados neste composto com os deslocamentos $\delta = 5,94$ e $6,66$ ppm, e que possuem o formato característico também observado anteriormente de simpletos largos (sl).

Após a atribuição dos sinais presentes no espectro de RMN de ^1H da **NAPDAPQ**, foi realizada a atribuição dos carbonos deste composto no espectro obtido de RMN de ^{13}C . Similarmente ao que foi feito com os compostos anteriores, a técnica bidimensional HSQC (^1H - ^{13}C) foi utilizada como ferramenta para atribuição dos carbonos hidrogenados presentes na molécula. Os mapas de estrutura desta técnica para **NAPDAPQ** podem ser vistos no **Apêndice L**. Os carbonos não hidrogenados foram possíveis de serem atribuídos após comparar os espectros de RMN de ^{13}C reportados na literatura da **DAPQ** e do naproxeno (AL-SHAMMARY; MIAN; MIAN, 1992; LOMBARD et al., 2011). Na **Figura 41** pode ser visto espectro de RMN de ^{13}C da **NAPDAPQ** em CDCl_3 e a **Tabela 13** apresenta os deslocamentos químicos dos 26 carbonos encontrados juntamente com suas atribuições.

Figura 41 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) do NAPDAPQ em CDCl_3 .

Fonte: Autor, 2020.

Tabela 13 – Dados do RMN de ^{13}C (100 MHz) da NAPDAPQ em CDCl_3 .

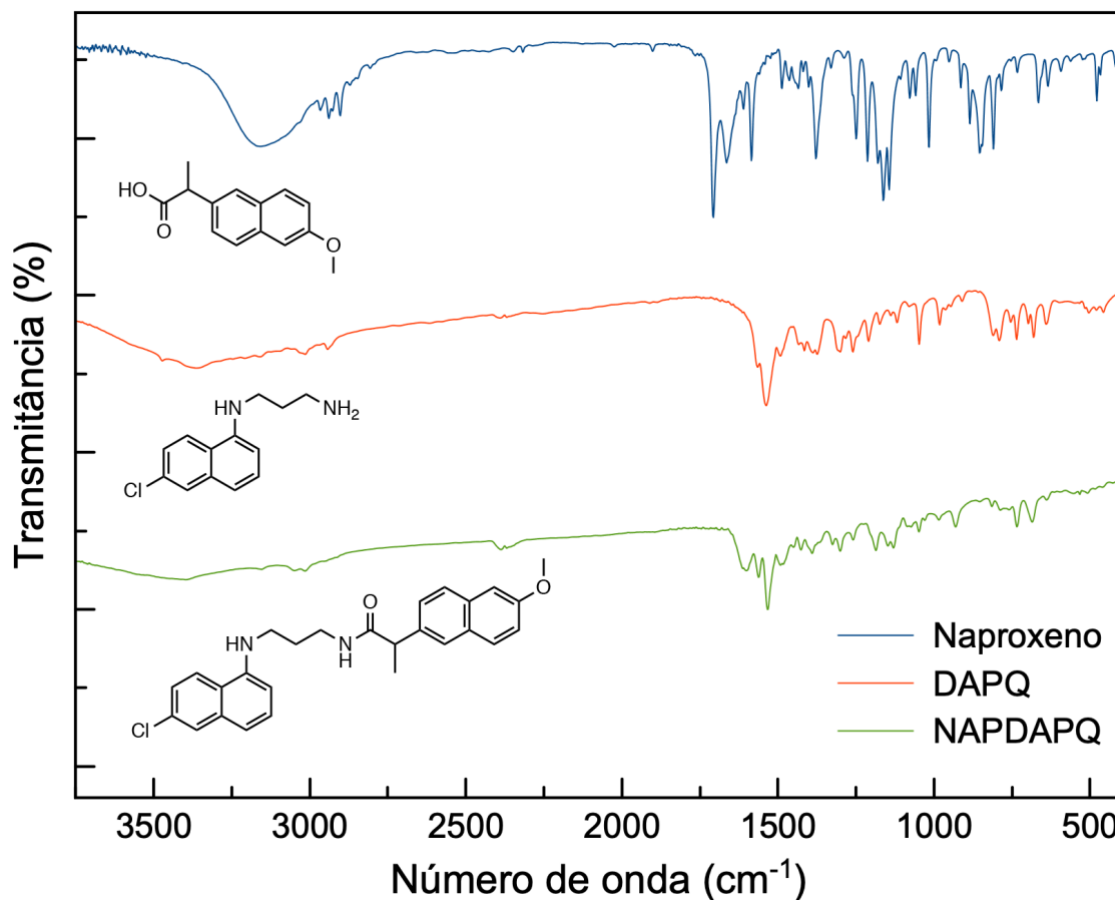
δ (ppm)	Atribuição	δ (ppm)	Atribuição
18,41	C18	126,12	C24
28,21	C13	127,31	C8
36,33	C12	127,71	C26
39,13	C14	128,95	C27
47,10	C17	129,17	C22
55,36	C29	133,82	C28
98,26	C3	135,49	C7
105,69	C20	136,16	C19
117,36	C10	148,00	C9
119,32	C21	150,53	C4
122,33	C5	150,58	C2
125,61	C6	157,89	C23
126,06	C25	176,01	C16

Fonte: Autor, 2020.

Como os híbridos sintetizados apresentados neste trabalho possuem estrutura similar, pode-se ser observado que ocorrem apenas alterações nos valores de deslocamento químico de cada carbono. Assim, pode ser visto que os deslocamentos dos seis carbonos alifáticos se encontram em sua região característica, com seus valores variando de $\delta = 18,41$ a $55,36$ ppm e os deslocamentos dos dezoito carbonos aromáticos também se encontraram em região característica, variando de $\delta = 98,26$ a $157,89$ ppm. O último sinal de carbono ($\delta = 176,01$), assim como nos compostos vistos anteriormente, é atribuído ao carbono da carbonila presente na molécula, o qual também se encontra em região característica para essa função orgânica.

Após as análises dos compostos pelas diferentes técnicas de RMN, foi realizada a técnica de IVFT, podendo ser visto na **Figura 42** o espectro obtido da **NAPDAPQ**, assim como dos seus compostos precursores.

Figura 42 – Espectro no Infravermelho da NAPDAPQ e seus precursores.



Fonte: Autor, 2020.

Novamente, foram analisadas principalmente as bandas associadas à hibridização dos compostos. Como o naproxeno possui uma carboxila em sua estrutura, em seu espectro pode ser observado as bandas características para as vibrações dos estiramentos tanto da ligação O-H (3168 cm⁻¹), quanto da ligação C=O de ácidos carboxílicos (1708 cm⁻¹). Quanto ao espectro da **DAPQ**, é possível observar as bandas de vibração característica para o estiramento da ligação N-H de aminas secundárias (3477 cm⁻¹) e do estiramento da ligação N-H de aminas primárias (3365 cm⁻¹).

Com base nestes dados, ao observar o espectro no infravermelho obtido para o composto **NAPDAPQ**, pode ser verificado que há o desaparecimento das bandas características da vibração do estiramento da ligação O-H e de estiramento da ligação N-H de aminas primárias, mantendo-se apenas a presente a banda de estiramento da ligação N-H de aminas secundárias. Junto a isto, pode ser verificado o deslocamento da banda de vibração do estiramento da ligação C=O para a região de carbonilas de

amidas (1612 cm^{-1}), indicando que ocorreu de fato a hibridização entre os compostos para formação da **NAPDAPQ**.

A **Tabela 14** mostra os valores de vibrações destas principais bandas comentadas acima.

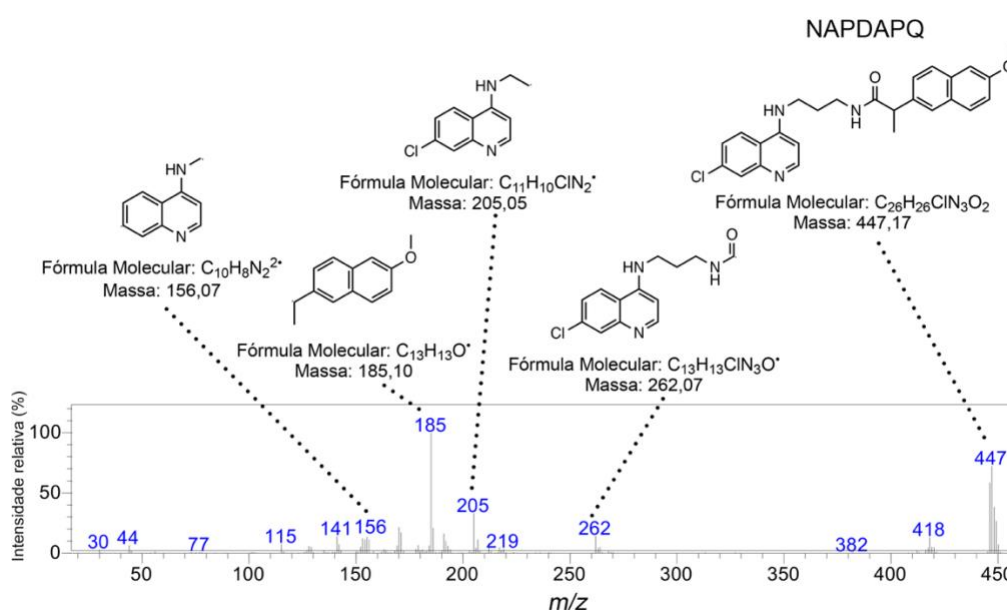
Tabela 14 – Bandas das principais funções observadas nos espectros no infravermelho da NAPDAPQ e seus precursores.

Composto	$\nu\text{ N-H}$	$\nu\text{ NH}_2$	$\nu\text{ O-H}$	$\nu\text{ C=O}$
Naproxeno	-	-	3168 cm^{-1}	1708 cm^{-1}
DAPQ	3477 cm^{-1}	3365 cm^{-1}	-	-
NAPDAPQ	3400 cm^{-1}	-	-	1612 cm^{-1}

Fonte: Autor, 2020.

E por último, foi realizada também a técnica de espectroscopia de massas do híbrido **NAPDAPQ**, onde o espectro obtido está apresentado na **Figura 43**. Nele, podemos observar que o sinal do íon molecular máximo, de $m/z = 447$ (M^{+}), é igual ao da massa exata do híbrido analisado (447,17). Além disso, outros valores de m/z encontrados também puderam ser atribuídos a alguns possíveis fragmentos da **NAPDAPQ**.

Figura 43 – Espectro de massas da amostra de NAPDAPQ.



Fonte: Autor, 2019.

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A síntese dos novos compostos, **IBUCEQ**, **IBUDAPQ**, **NAPCEQ** e **NAPDAPQ** mostrou-se de fácil execução e relativa curta duração, formando efetivamente as moléculas híbridas entre um derivado 4-aminoquinolínico e o ibuprofeno ou naproxeno. Ambos os compostos foram devidamente caracterizados por diferentes técnicas, confirmado a totalidade de sua estrutura química e a estrutura planejada.

Sugere-se que estes novos compostos possuem potencial farmacológico no tratamento da dor e da inflamação visto que possuem o grupo farmacofórico 4-aminoquinolínico, além de terem sido hibridizados à anti-inflamatórios não esteroidais, o que impulsiona favoravelmente este potencial farmacológico citado.

Quando avaliadas no teste de viabilidade celular, os compostos **IBUCEQ** e **NAPCEQ** mostraram-se potencialmente citotóxicos, resposta diferente ao observado quando avaliados os compostos precursores das novas moléculas híbridas.

Baseado nisto, é considerado como perspectivas futuras deste trabalho:

- Realização de estudos para elucidar a razão do potencial citotóxico dos compostos sintetizados;
- Condução de novos testes de viabilidade celular com diferentes abordagens para compreender a razão do potencial citotóxico observado;
- Execução de estudos pré-clínicos de toxicidade oral aguda para determinar o potencial tóxico dos novos compostos in vivo, assim como determinar a DL_{50} destes;
- Obtenção de novos compostos com modificações estruturais a fim de sanar ou atenuar o potencial citotóxico observado.

REFERÊNCIAS

AHMAD, N. M. Quinolines. In: LI, J. J.; GRIBBLE, G. W. (Eds.). . **Palladium in Heterocyclic Chemistry: A guide for the synthetic chemist**. 2. ed. [s.l.] Elsevier, 2006. p. 658.

AL-SHAMMARY, F. J.; MIAN, N. A. A.; MIAN, M. S. Naproxen. In: **Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients**. [s.l: s.n.]. v. 21p. 345–373.

ALMEIDA, M. M. F. DE S. **Síntese de Novos Derivados Aminoquinolínicos com Potencial Atividade Antimalárica**. [s.l.] Universidade Federal de Alagoas, 2014.

AREND, W. P.; FIRESTEIN, G. S. Pre-rheumatoid arthritis: Predisposition and transition to clinical synovitis. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 8, n. 10, p. 573–586, 21 out. 2012.

BELLÓ, C. et al. O cetoprofeno como oportunidade terapêutica no estresse oxidativo: uma revisão. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 1, p. 123–129, 2015.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

BUCKLEY, C. D. et al. The resolution of inflammation. **Nature reviews. Immunology**, v. 13, n. 1, p. 59–66, 30 jan. 2013.

BURMESTER, G. R. et al. Managing rheumatic and musculoskeletal diseases-past, present and future. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 13, n. 7, p. 443–448, 15 jul. 2017.

CASAGRANDE, M. et al. Synthesis, antimalarial activity, and cellular toxicity of new arylpyrrolylaminoquinolines. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 18, p. 6625–6633, set. 2010.

CHAN, S. F.; HAYEK, S. M.; VEIZI, E. Mechanisms of physiologic pain. In: **Fundamentals of Pain Medicine**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p.

13–20.

COLLOCA, L. et al. Neuropathic pain. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 17002, 16 dez. 2017.

CUNHA, F. Q. Dor Inflamatória. In: ALVES NETO, O. (Ed.). . **Dor: Princípios e práticas**. Porto Alegre: Artmed, 2009. p. 147–212.

DE MENESES SANTOS, R. et al. Synthesis and evaluation of the anti-nociceptive and anti-inflammatory activity of 4-aminoquinoline derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 15, p. 4390–4396, ago. 2015.

DECKER, M. Hybrid molecules incorporating natural products: applications in cancer therapy, neurodegenerative disorders and beyond. **Current medicinal chemistry**, v. 18, n. 10, p. 1464–75, 2011.

DECKER, M. **Design of Hybrid Molecules for Drug Development**. [s.l.] Elsevier Science, 2017.

DINARELLO, C. A. Anti-inflammatory Agents: Present and Future. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 935–950, mar. 2010.

DISTRUTTI, E. et al. Hydrogen sulphide induces μ opioid receptor-dependent analgesia in a rodent model of visceral pain. **Molecular Pain**, v. 6, p. 1744-8069-6–36, 29 jan. 2010.

ELLISON, D. L. Physiology of Pain. **Critical Care Nursing Clinics of North America**, v. 29, n. 4, p. 397–406, dez. 2017.

FRADELOS, E.; FRADELOU, G.; KASIDI, E. Pain: Aspects and treatment in Greek antiquity. **Journal of Medical Sciences and Public Health**, v. 2, n. 2, p. 29–36, 2014.

GARRIGUES, S.; GALLIGNANI, M.; DE LA GUARDIA, M. FIA-FT-IR determination of ibuprofen in pharmaceuticals. **Talanta**, v. 40, n. 1, p. 89–93, jan. 1993.

GHORAB, M. M.; AL-SAID, M. S.; ARAFA, R. K. Design, Synthesis and Potential Anti-Proliferative Activity of Some Novel 4-Aminoquinoline Derivatives. **Acta**

Pharmaceutica, v. 64, n. 3, p. 285–297, 1 set. 2014.

JAGADISH, P. C. et al. Extraction, characterization and evaluation of *Kaempferia galanga* L. (Zingiberaceae) rhizome extracts against acute and chronic inflammation in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 194, p. 434–439, dez. 2016.

JARVIS, C. **Physical Examination and Health Assessment**. 6. ed. Philadelphia: Saunders, 2011.

KARAKAŞ, D.; ARI, F.; ULUKAYA, E. The MTT viability assay yields strikingly false-positive viabilities although the cells are killed by some plant extracts. **Turkish Journal of Biology**, v. 41, n. 6, p. 919–925, 2017.

KASHMIRA, P. et al. Design, Synthesis and In Vitro Release Studies of Co-Drugs for Rheumatoid Arthritis. **Inflammation & allergy drug targets**, v. 14, n. 1, p. 47–52, 2015.

KUMAR, V.; ABBAS, A.; ASTER, J. C. **Robbins & Cotran Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2015.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Cyclooxygenase-2 inhibitors nonsteroid anti-inflammatory drugs: Current issues. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 4, p. 498–512, jul. 2002.

LAU, C. S. et al. APLAR rheumatoid arthritis treatment recommendations. **International Journal of Rheumatic Diseases**, v. 18, n. 7, p. 685–713, set. 2015.

LAVETI, D. et al. Anti-inflammatory treatments for chronic diseases: A review. **Inflammation and Allergy - Drug Targets**, v. 12, n. 5, p. 349–361, 1 set. 2013.

LEGGIO, A. et al. One-pot synthesis of amides from carboxylic acids activated using thionyl chloride. **RSC Advances**, v. 6, n. 41, p. 34468–34475, 2016.

LOCKHART, B.; YONG, R. J. Pharmacology of pain transmission and modulation. In: **Pain Medicine: An Essential Review**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 147–148.

LOMBARD, M. C. et al. Synthesis, in vitro antimalarial and cytotoxicity of artemisinin-

aminoquinoline hybrids. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 6, p. 1683–1686, mar. 2011.

MALMSTRÖM, V.; CATRINA, A. I.; KLARESKOG, L. The immunopathogenesis of seropositive rheumatoid arthritis: From triggering to targeting. **Nature Reviews Immunology**, v. 17, n. 1, p. 60–75, 5 jan. 2017.

MAMET, J. et al. Proinflammatory mediators, stimulators of sensory neuron excitability via the expression of acid-sensing ion channels. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 22, n. 24, p. 10662–70, 15 dez. 2002.

MCENTIRE, D. M. et al. Pain transduction: a pharmacologic perspective. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 9, n. 8, p. 1069–1080, 2 ago. 2016.

MERSKEY, H.; BOGDUK, N. **Classification of Chronic Pain: Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms**. 2. ed. Seattle: IASP Press, 1994.

MEUNIER, B. Hybrid molecules with a dual mode of action: Dream or reality? **Accounts of Chemical Research**, v. 41, n. 1, p. 69–77, jan. 2008.

MEUNIER, B. Towards Antimalarial Hybrid Drugs. In: **Polypharmacology in Drug Discovery**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2012. p. 423–439.

MORETTO, B.; PILOTO, J. A. DA R. Tratamento da artrite reumatoide com cloroquina: uma revisão da literatura. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 7, n. 3, p. 46–51, 2014.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

NASEF, N. A.; MEHTA, S.; FERGUSON, L. R. Susceptibility to chronic inflammation: an update. **Archives of Toxicology**, v. 91, n. 3, p. 1131–1141, 27 mar. 2017.

NETEA, M. G. et al. A guiding map for inflammation. **Nature Immunology**, v. 18, n. 8, p. 826–831, 1 ago. 2017.

OH, I. et al. Spectroscopic characterization of ibuprofen/2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 175, n. 2, p. 215–223, dez. 1998.

PARK, J. G. et al. Tabetri™ (Tabebuia avellanedae Ethanol Extract) Ameliorates Osteoarthritis Symptoms Induced by Monoiodoacetate through Its Anti-Inflammatory and Chondroprotective Activities. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, p. 1–14, 2017.

PATAPOUTIAN, A.; TATE, S.; WOOLF, C. J. Transient receptor potential channels: Targeting pain at the source. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 8, n. 1, p. 55–68, jan. 2009.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à Espectroscopia**. 4. ed. [s.l.] Cengage Learning, 2010.

PECCHI, E. et al. Prostaglandins and sickness behavior: old story, new insights. **Physiology and Behavior**, v. 97, n. 3–4, p. 279–292, jun. 2009.

PETROFF, E. Y. et al. Acid-sensing ion channels interact with and inhibit BK K⁺ channels. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 8, p. 3140–3144, 2008.

PINZ, M. P. et al. 7-Chloro-4-phenylsulfonyl quinoline, a new antinociceptive and anti-inflammatory molecule: Structural improvement of a quinoline derivate with pharmacological activity. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 90, p. 72–77, nov. 2017.

RAINSFORD, K. D. et al. Therapy and pharmacological properties of hydroxychloroquine and chloroquine in treatment of systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and related diseases. **Inflammopharmacology**, v. 23, n. 5, p. 231–269, 6 out. 2015.

RICCIOTTI, E.; FITZGERALD, G. A. Prostaglandins and inflammation. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 31, n. 5, p. 986–1000, maio 2011.

RITTER, H. P.; RANG, M. M.; DALE, J. M. **Rang e Dale Farmacologia**. [s.l.] Elsevier Editora Ltda., 2012.

RONCHETTI, S.; MIGLIORATI, G.; DELFINO, D. V. Association of inflammatory mediators with pain perception. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1445–1452, dez. 2017.

ROY, M. et al. Cerebral and spinal modulation of pain by emotions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 49, p. 20900–20905, 8 dez. 2009.

RUDRAPAL, M.; CHETIA, D.; PRAKASH, A. Synthesis, antimalarial-, and antibacterial activity evaluation of some new 4-aminoquinoline derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 8, p. 3703–3711, 1 ago. 2013.

SARKAR, P. K. et al. Disease Modifying Anti-rheumatic Drugs (DMARDs). **Bangladesh Journal of Child Health**, v. 42, n. 2, p. 79–85, 31 jul. 2018.

SCHETT, G.; NEURATH, M. F. Resolution of chronic inflammatory disease: universal and tissue-specific concepts. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 3261, 2018.

SCHOLZ, J.; WOOLF, C. J. Can we conquer pain? **Nature Neuroscience**, v. 5, n. 11s, p. 1062–1067, 28 nov. 2002.

SHEN, J. Impaired neurotransmitter release in Alzheimer's and Parkinson's diseases. **Neurodegenerative Diseases**, v. 7, n. 1–3, p. 80–83, 2010.

SILVA, C. M. S. et al. Effects of aerobic and resistance training of long duration on pro- and anti-inflammatory cytokines in rats. **Revista Andaluza de Medicina del Deporte**, v. 10, n. 4, p. 170–175, dez. 2017.

SILVA, S. M. A. DA. **Avaliação da Atividade Antinociceptiva e Anti-Inflamatória de Novos Derivados Sintéticos de 4-aminoquinolina**. [s.l.] Universidade Federal de Alagoas, 2019.

SMOLEN, J. S. et al. Rheumatoid arthritis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 18001, 8 jun. 2018.

SOUSA, F. A. E. F. Dor: o quinto sinal vital. **Revista Latino-Americana de**

Enfermagem, v. 10, n. 3, p. 446–447, jun. 2002.

STEINER, G. Auto-antibodies and autoreactive T-cells in rheumatoid arthritis: Pathogenetic players and diagnostic tools. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**, v. 32, n. 1, p. 23–35, fev. 2007.

STRAUB, R. H.; SCHRADIN, C. Chronic inflammatory systemic diseases – an evolutionary trade-off between acutely beneficial but chronically harmful programs. **Evolution, Medicine, and Public Health**, p. eow001, 27 jan. 2016.

SWIEBODA, P. et al. Assessment of pain: types, mechanism and treatment. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. Spec no. 1, p. 2–7, 2013.

THURMOND, R. L.; GELFAND, E. W.; DUNFORD, P. J. The role of histamine H1 and H4 receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 7, n. 1, p. 41–53, jan. 2008.

TOCHE, R. B. et al. Synthesis of novel benzo[h][1,6]naphthyridine derivatives from 4-aminoquinoline and cyclic β -ketoester. **Tetrahedron**, v. 66, n. 27–28, p. 5204–5211, jul. 2010.

TRACEY, I. Getting the pain you expect: Mechanisms of placebo, nocebo and reappraisal effects in humans. **Nature Medicine**, v. 16, n. 11, p. 1277–1283, 14 nov. 2010.

VAN MEERLOO, J.; KASPERS, G. J. L.; CLOOS, J. Cell sensitivity assays: The MTT assay. **Methods in Molecular Biology**, v. 731, p. 237–245, 2011.

WETERING, E. J. V. DE et al. Cognitive and behavioral interventions for the management of chronic neuropathic pain in adults - A systematic review. **European Journal of Pain**, v. 14, n. 7, p. 670–681, 2010.

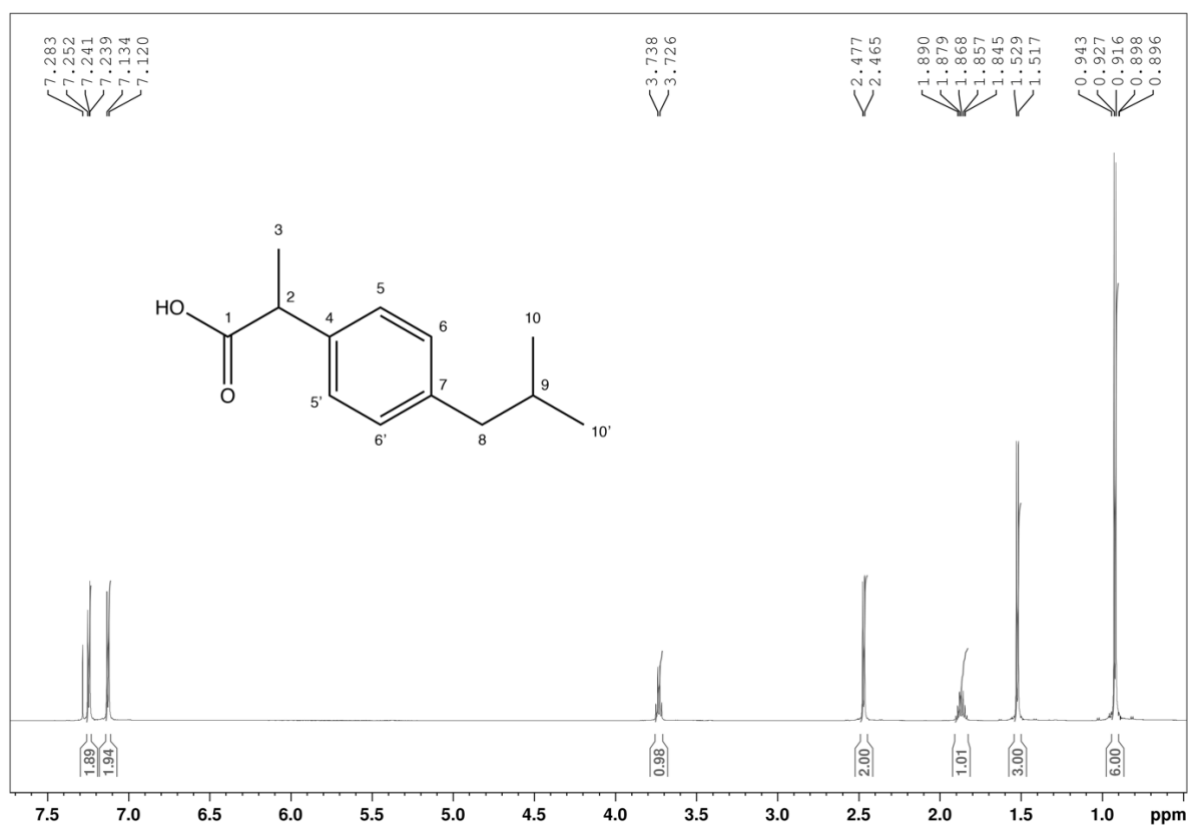
WOOLF, C. J. Pain: Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management. **Annals of Internal Medicine**, v. 140, n. 6, p. 441–451, 16 mar. 2004.

XUE, H. et al. Review of drug repositioning approaches and resources. **International Journal of Biological Sciences**, v. 14, n. 10, p. 1232–1244, 2018.

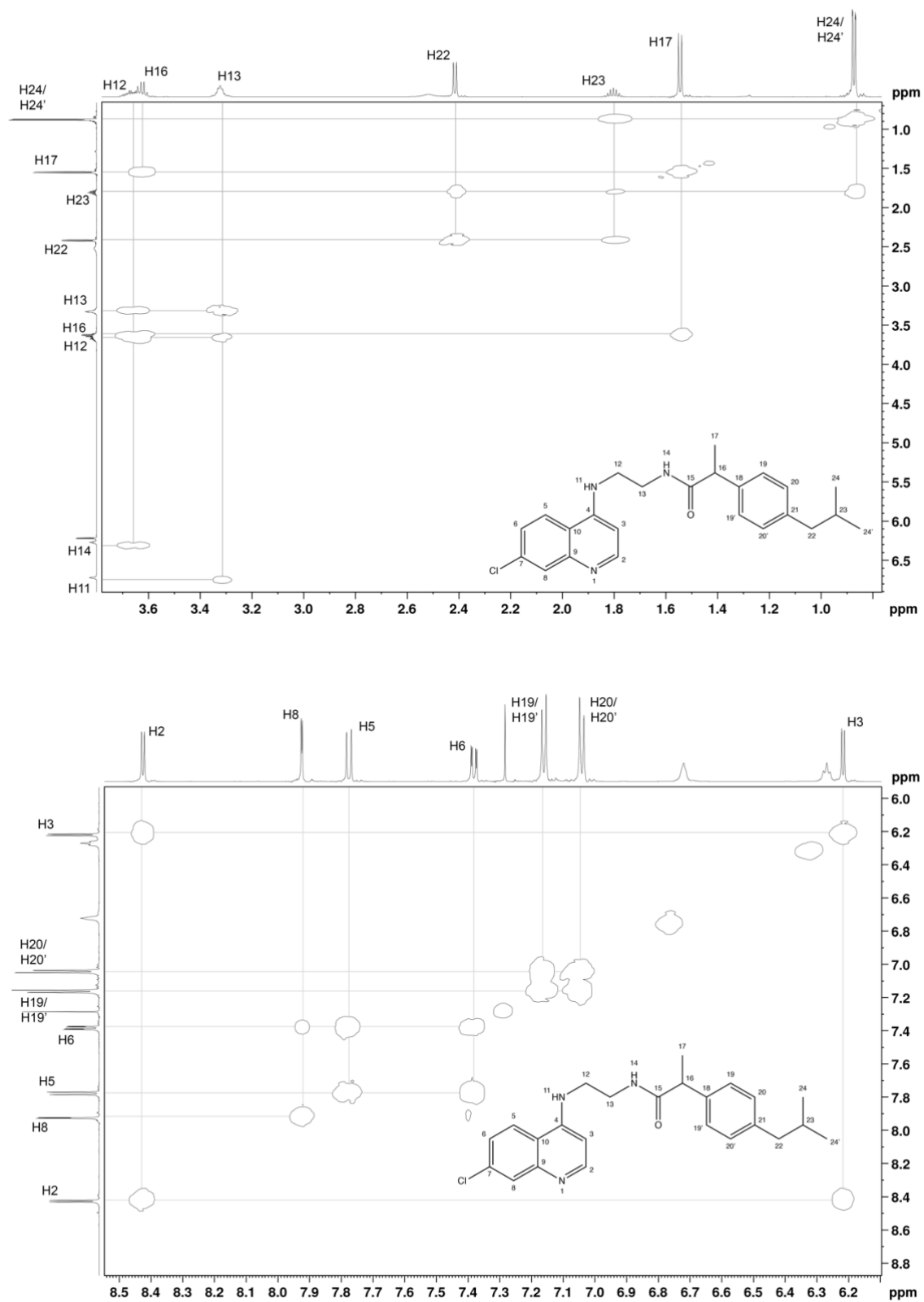
YAM, M. F. et al. General pathways of pain sensation and the major neurotransmitters involved in pain regulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 8, p. 2164, 24 jul. 2018.

ZARGHI, A. et al. Synthesis and biological evaluation of new 4-carboxyl quinoline derivatives as cyclooxygenase-2 inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 14, p. 5312–5317, jul. 2009.

APÊNDICES

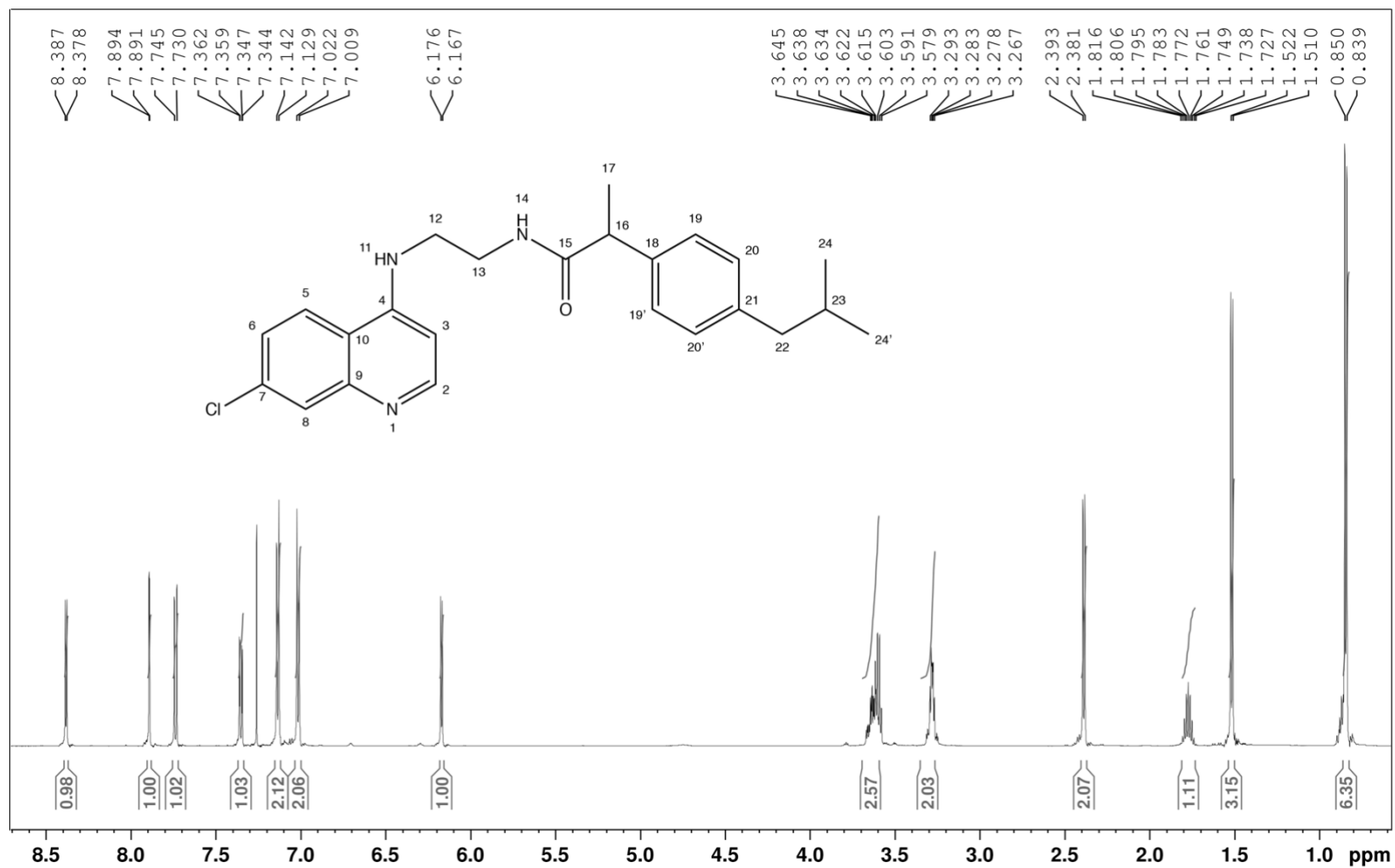
APÊNDICE A – Espectro de RMN de ^1H do ibuprofeno em CDCl_3 .

Fonte: Autor, 2020.

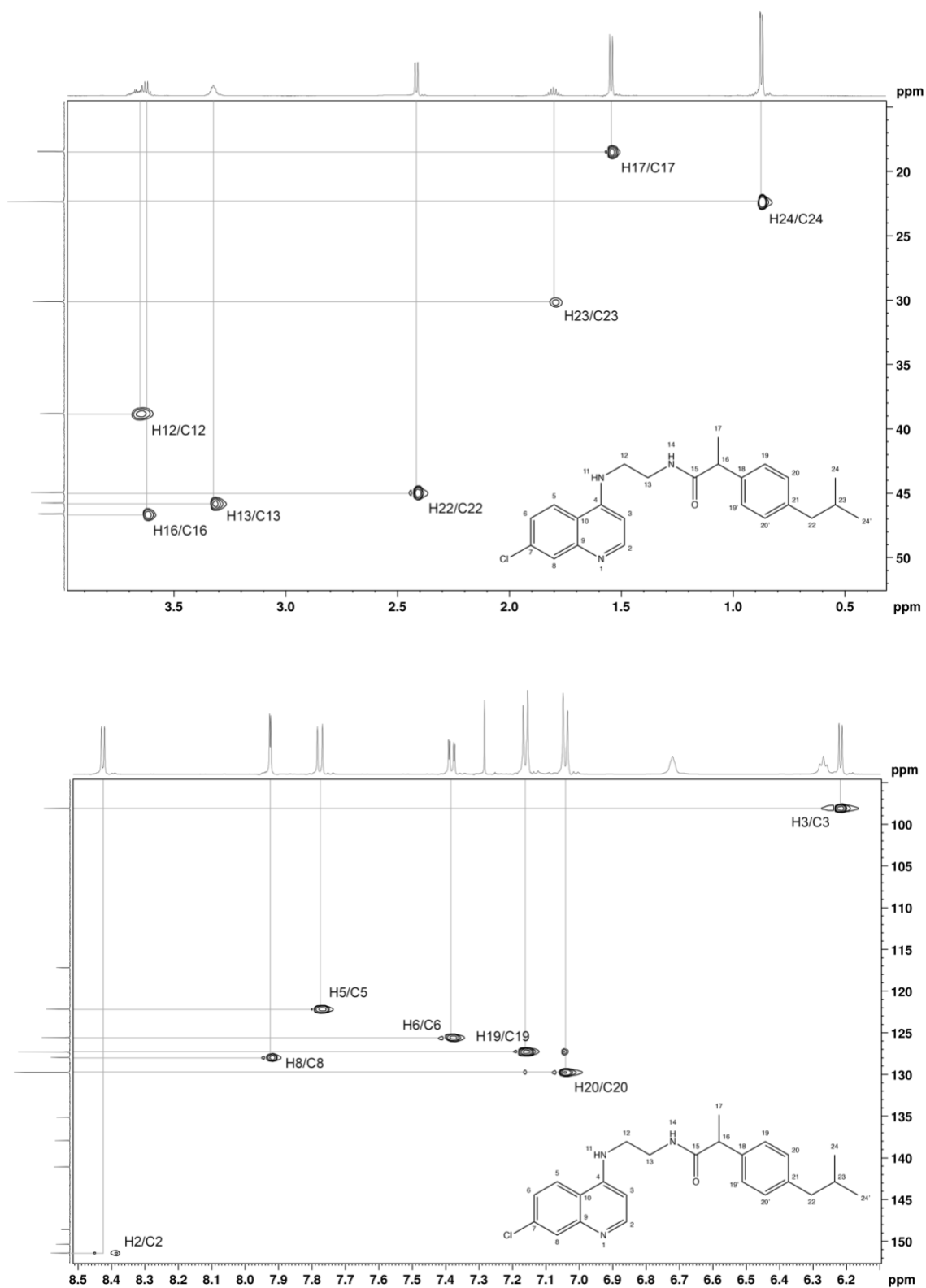
APÊNDICE B – Espectros de RMN de ^1H - ^1H (COSY) da IBUCEQ em CDCl_3 .

Fonte: Autor, 2020.

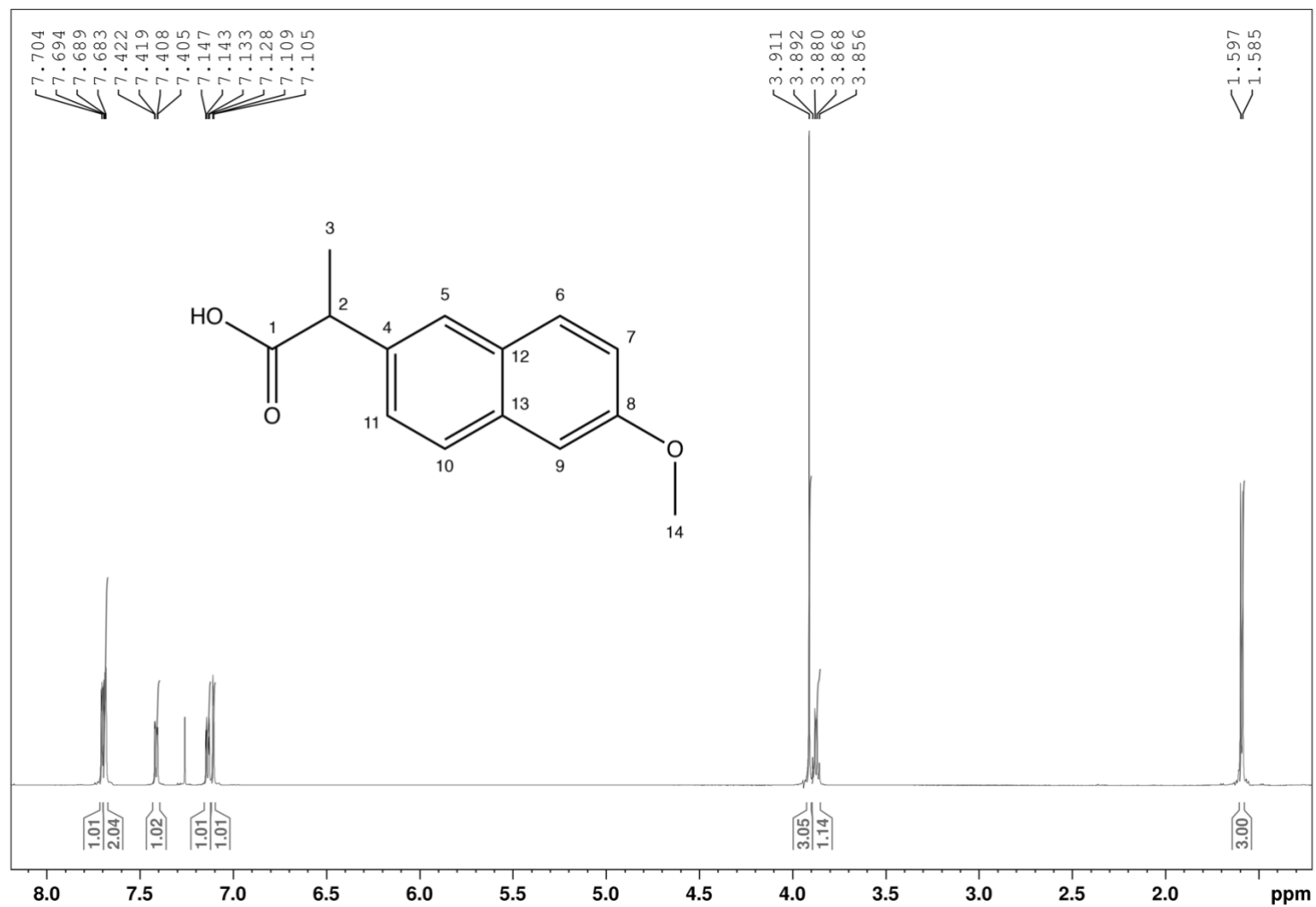
APÊNDICE C – Espectro de RMN de ^1H da IBUCEQ em CDCl_3 com adição de D_2O .



Fonte: Autor, 2020.

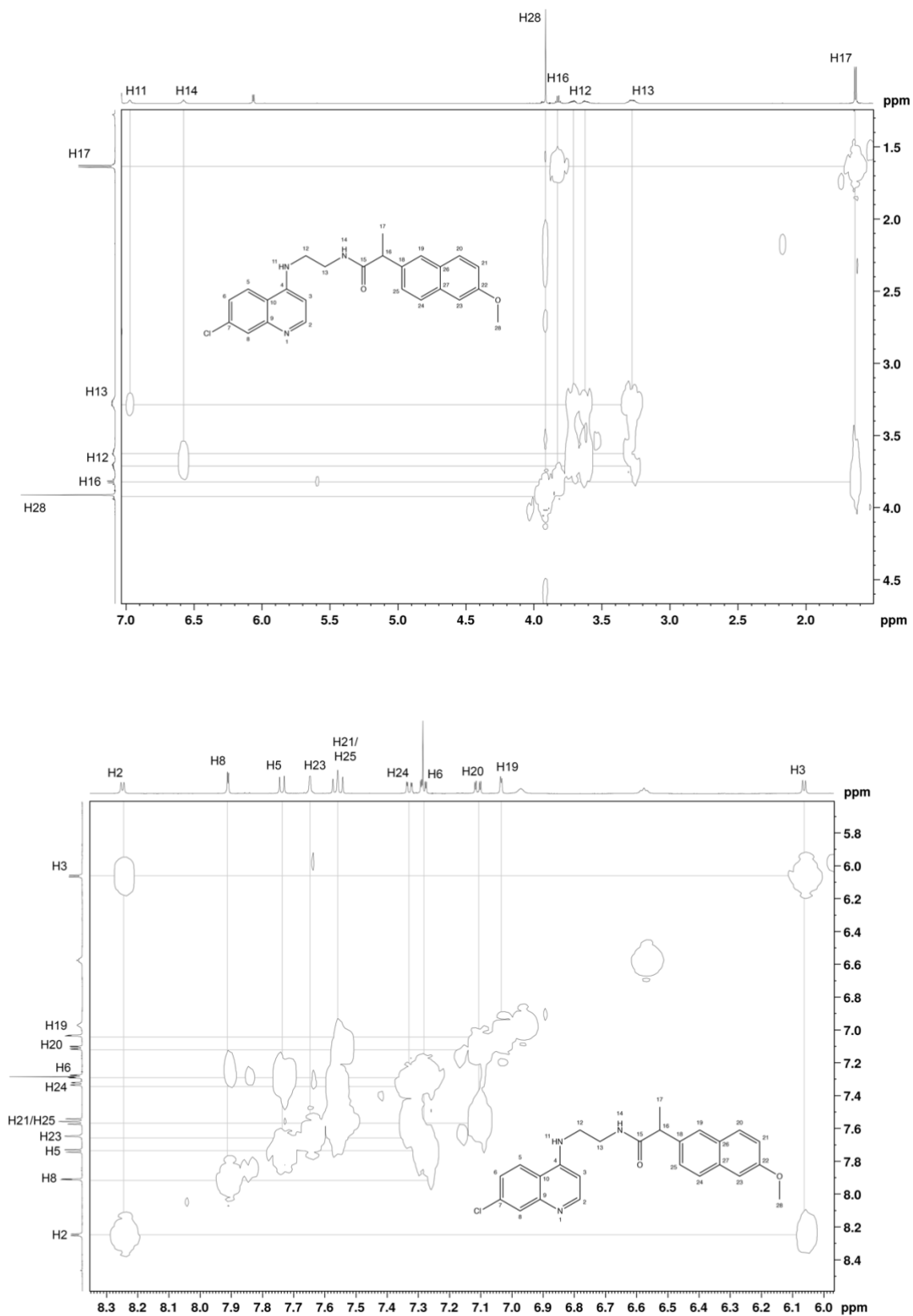
APÊNDICE D – Espectros de RMN de ^1H - ^{13}C (HSQC) da IBUCEQ em CDCl_3 .

Fonte: Autor, 2020.

APÊNDICE E – Espectro de RMN de ^1H do naproxeno em CDCl_3 .

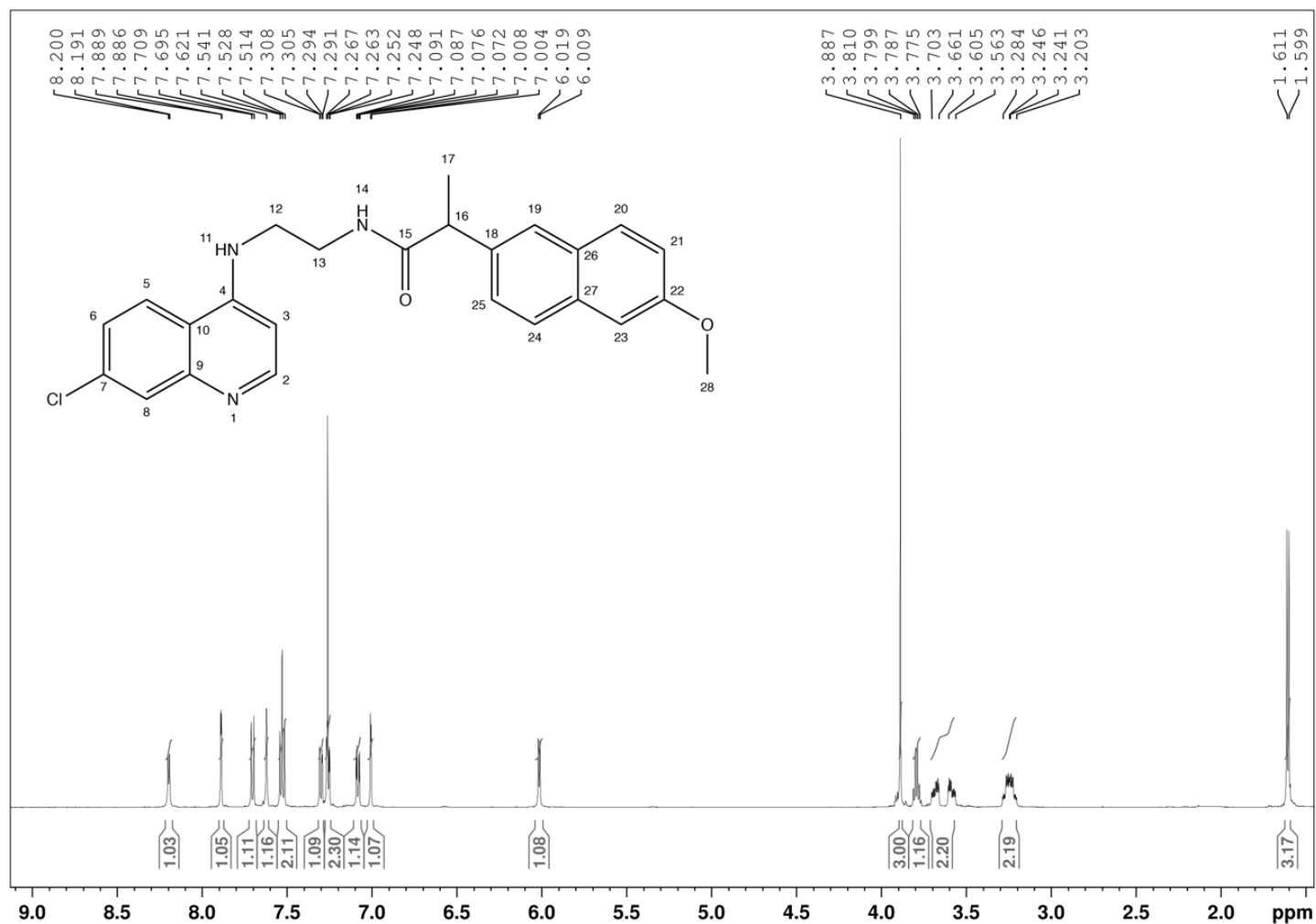
Fonte: Autor, 2020.

APÊNDICE F – Espectros de RMN de ^1H - ^1H (COSY) da NAPCEQ em CDCl_3 .

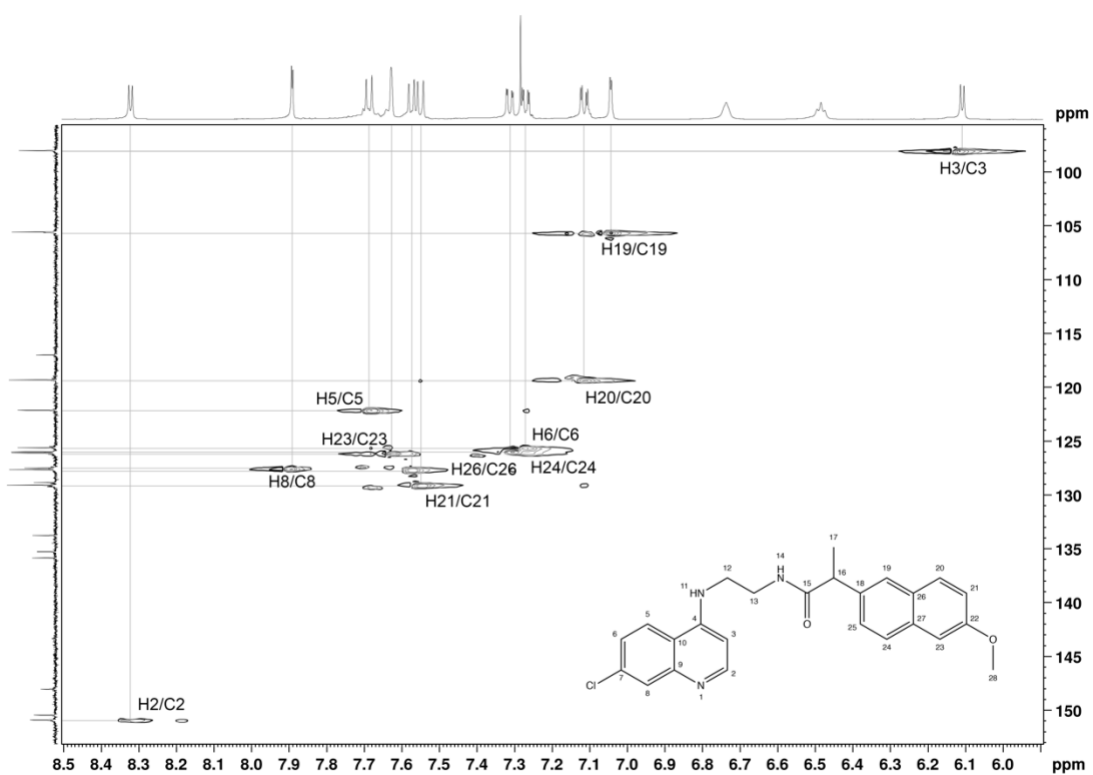
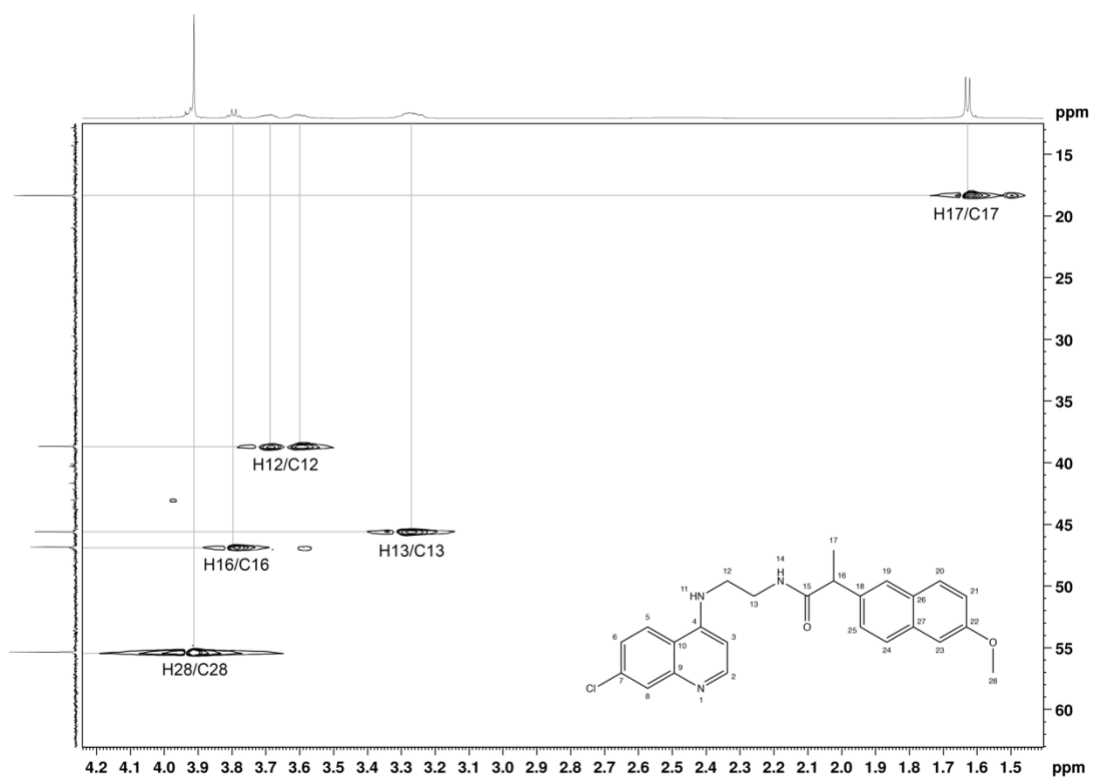


Fonte: Autor, 2020.

APÊNDICE G – Espectro de RMN de ^1H da NAPCEQ em CDCl_3 com adição de D_2O .

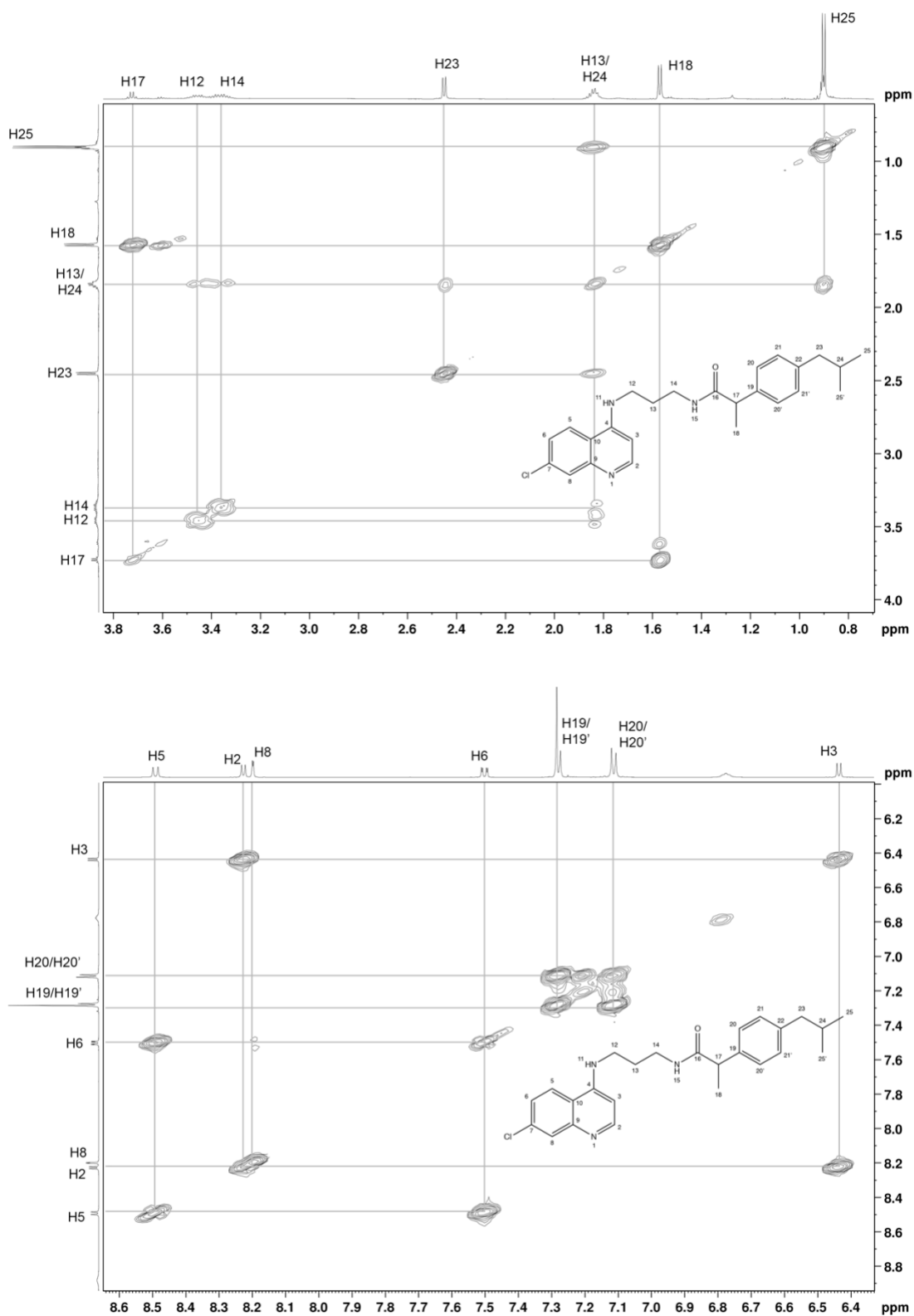


Fonte: Autor, 2020.

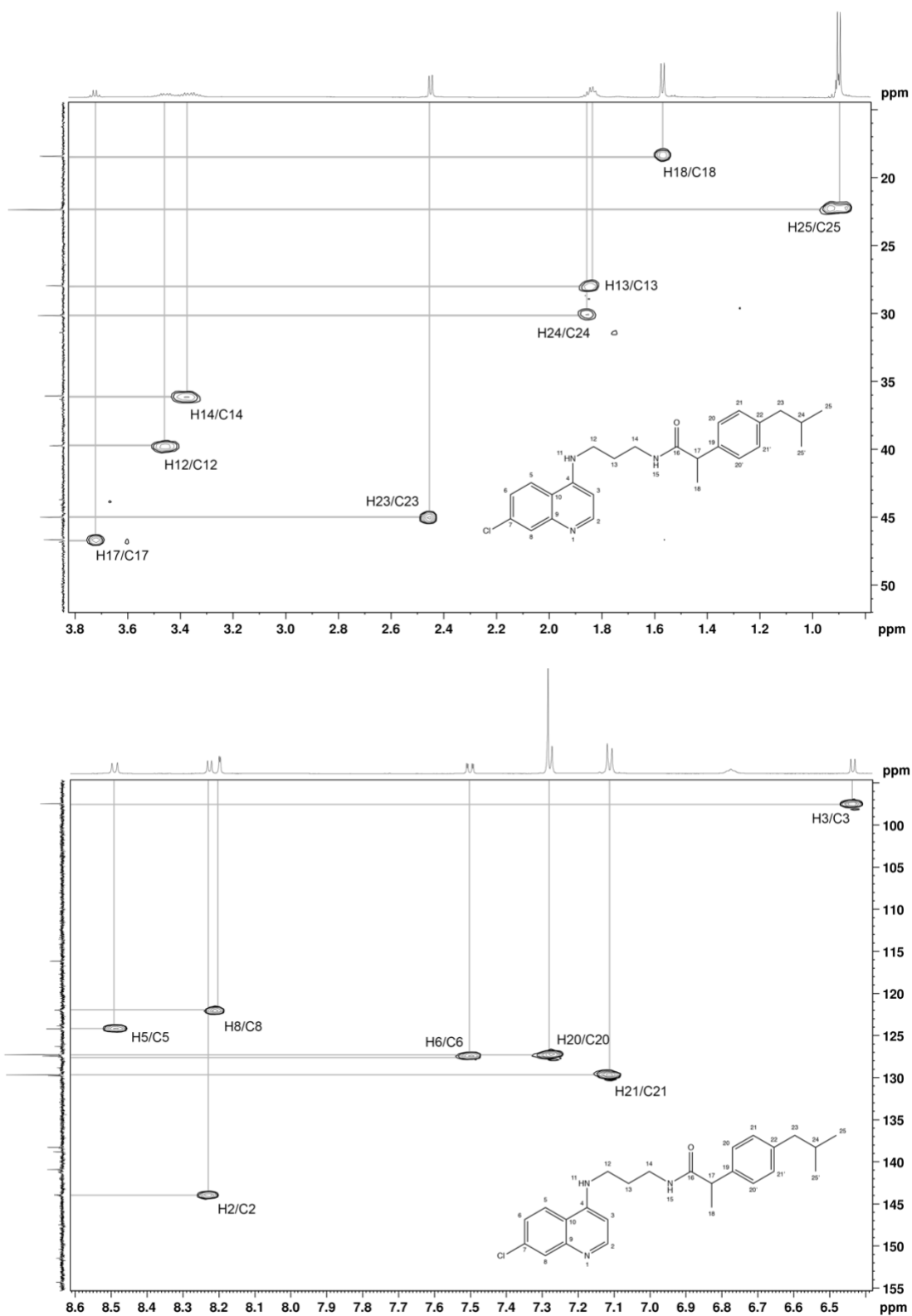
APÊNDICE H – Espectros de RMN de ^1H - ^{13}C (HSQC) da NAPCEQ em CDCl_3 

Fonte: Autor, 2020.

APÊNDICE I – Espectros de RMN de ^1H - ^1H (COSY) da IBUDAPQ em CDCl_3 .

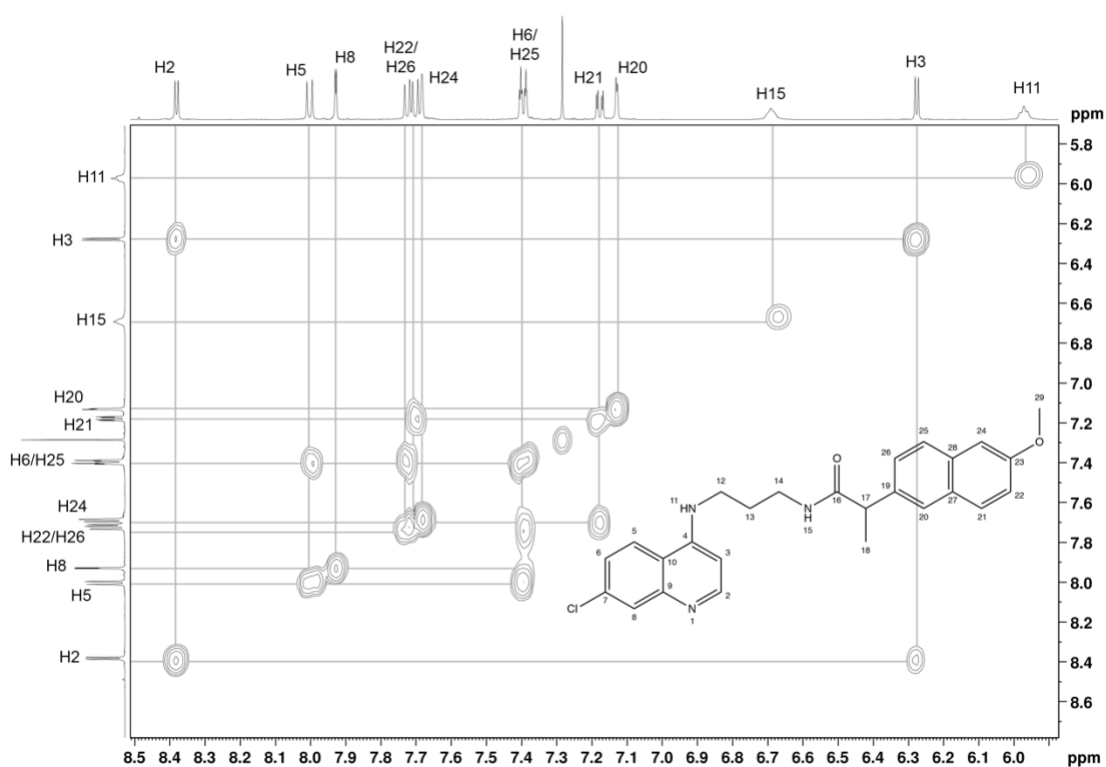
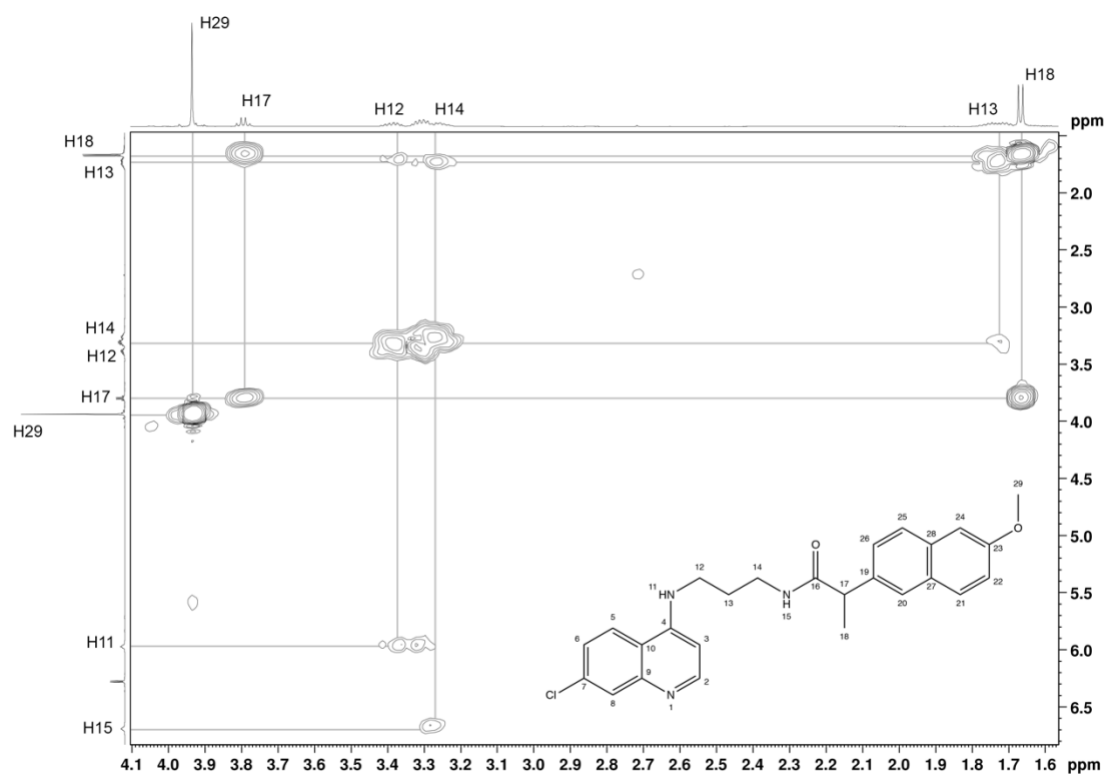


Fonte: Autor, 2020.

APÊNDICE J – Espectros de RMN de ^1H - ^{13}C (HSQC) da IBUDAPQ em CDCl_3 .

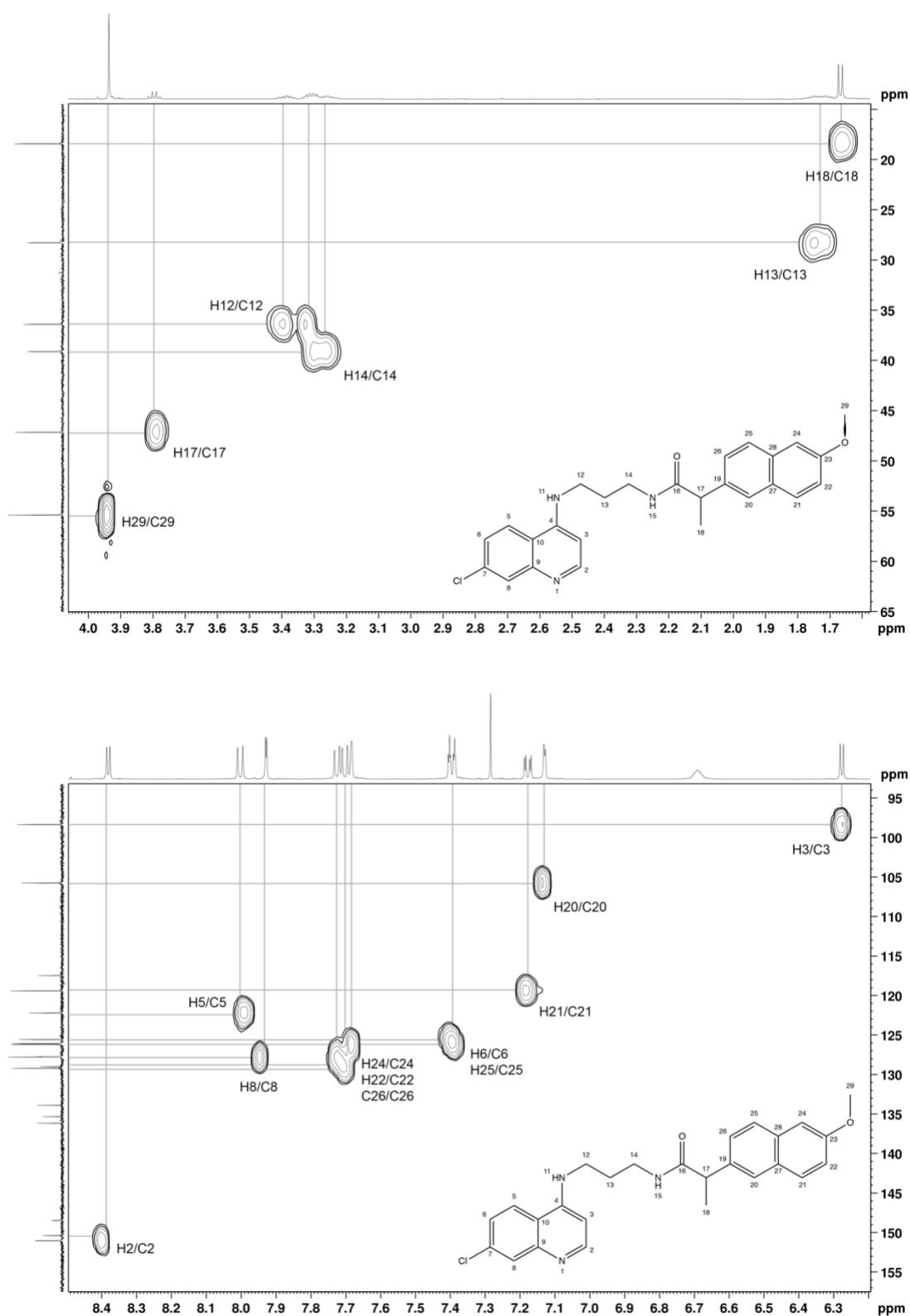
Fonte: Autor, 2020.

APÊNDICE K – Espectros de RMN de ^1H - ^1H (COSY) da NAPDAPQ em CDCl_3 .



Fonte: Autor, 2020.

APÊNDICE L – Espectros de RMN de ^1H - ^{13}C (HSQC) da NAPDAPQ em CDCl_3 .



Fonte: Autor, 2020.