



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA**

**PAULO VICTOR CARVALHO MORAES**

**SÍNTESE E ESTUDO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE COMPOSTOS  
ORGANOMETÁLICOS COM BASE EM ÍONS Sb(V) E ÁCIDOS GRAXOS**

**Maceió**

**2016**

**PAULO VICTOR CARVALHO MORAES**

**SÍNTESE E ESTUDO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE COMPOSTOS ORGANOMETÁLICOS COM BASE EM ÍONS Sb(V) E ÁCIDOS GRAXOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti

**Maceió**

**2016**

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecário responsável: Valter dos Santos Andrade**

M827s	<p>Moraes, Paulo Victor Carvalho. Síntese e estudo da atividade leishmanicida de compostos organometálicos com base em íons Sb(V) e ácidos graxos / Paulo Victor Carvalho Moraes. – 2016. 79 f. : il.</p> <p>Orientador: Mario Roberto Meneghetti. Coorientador: Thiago Mendonça de Aquino. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2016.</p> <p>Bibliografia: f. 63-71. Apêndices: f. 71-79.</p> <p>1. Leishmaniose. 2. Ácido Undecilênico. 3. Ácido Octanoico. 4. Ácido Hexanoico. 5. Complexos de antimônio (V). 6. Atividade leishmanicida. I. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 615.283: 616.993.161</p>
-------	--



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Ata do Exame de Defesa de Dissertação do mestrando  
Paulo Victor Carvalho Moraes

Aos **vinte e oito dias** do mês de **abril** de **2016**, às quinze horas, reuniu-se na Sala 214 do PPGCF, a banca examinadora composta pelos docentes doutores e pelas docentes doutoras, Mario Roberto Meneghetti; Thiago Mendonça de Aquino; Maria Aline Barros Fidelis de Moura; Morgana Vital de Araújo, para o **Exame de Defesa da dissertação** intitulada: **“Síntese e estudo da atividade leishmanicida de compostos organometálicos com base em íons Sb(v) e ácidos graxos,”** elaborado pelo Mestrando **Paulo Victor Carvalho Moraes**, regularmente matriculado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Mestrado, Matrícula Institucional 14130174, **sob a orientação do Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti**; que presidiu os trabalhos, e **coorientação do Prof. Dr. Thiago Mendonça de Aquino**. Após apresentação por 30 minutos, o mestrando foi arguido pela banca. Em seguida, reunidos em sessão secreta às 16:40 horas, os examinadores emitiram o seguinte parecer: consideram o candidato aprovado e solicita-se no verso final do manuscrito adicionar as considerações da banca.

Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada às 16:45 horas e eu, Daniel de Brito Ricarte, Secretário do PPGCF, Mestrado, lavrei à presente ata que será assinada pela Banca Examinadora e pelo Mestrando. Maceió, 28 de abril de 2016.

Presidente (Orientador): Prof. Dr.: [Assinatura]

Co-orientador: Prof. Dr. [Assinatura]

Examinadora Interna: Profa. Dra.: [Assinatura]

Examinadora Externa: Dra.: [Assinatura]

Mestrando: Paulo Victor Carvalho Moraes

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais por cada incentivo e orientação, pela preocupação de que eu estivesse sempre trilhando o caminho correto. Obrigado por estarem ao meu lado. Vocês me apoiaram para que eu não desistisse de continuar.

Aos meus orientadores, que foram indispensáveis, em razão de seu apoio e dedicação; ao professor Mario Meneghetti, por toda atenção durante a execução desse projeto, e ao professor Thiago Mendonça que dedicaram seu tempo para me orientar neste trabalho, e me inspiram a tornar-me um bom pesquisador. Agradeço também aos membros da banca examinadora.

Aos meus colegas de laboratório, principalmente Rafael Omena e Daniele Barros, que contribuíram significativamente para a execução das atividades relacionadas ao projeto, e me ajudaram em todos os momentos.

À CAPES e CNPQ pelo apoio financeiro.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, obrigado!

## RESUMO

A leishmaniose é uma das enfermidades que mais acomete a população mais carente. O agente etiológico pertence ao gênero *Leishmania*, e se apresentam nas formas promastigotas e amastigotas. O tratamento preconizado para leishmaniose apresenta uma série de problemas: efeitos adversos e toxicidade elevada dificultam o tratamento, assim como os casos de resistência de algumas cepas. Sendo assim, surge a necessidade de produzir novos candidatos a fármacos para a leishmaniose. Portanto, este trabalho tem como objetivo sintetizar e avaliar novos compostos de antimônio com potencial atividade leishmanicida. Para isto, foram sintetizados seis complexos de antimônio(V) derivados dos ácidos graxos ácido undecilênico, ácido octanoico e ácido hexanoico: **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>**, **(OCTA)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>** e **(HEX)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>**. Todos os complexos foram caracterizados por RMN de <sup>1</sup>H e infravermelho. Os espectros de absorção no infravermelho de todos os complexos demonstraram ausência da banda relativa ao ácido carboxílico, e a presença da banda Sb-O. Os complexos **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** e **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** mostram, nos respectivos espectros de ressonância magnética nuclear, os deslocamentos típicos a presença de estruturas aromáticas, multipletos em 7,45 e 7,99 ppm. Estes últimos complexos foram submetidos a ensaios de viabilidade celular e de atividade leishmanicida, e apresentaram inibição do crescimento de formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi*. **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** apresentou a menor CI<sub>50</sub> entre os complexos avaliados no ensaio de MTT, enquanto o complexo **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** mostrou a menor CI<sub>50</sub> no ensaio em espécies de *Leishmania amazonensis*. Ensaio de atividade leishmanicida em amastigotas estão sendo realizados para confirmação da atividade destas moléculas.

**Palavras-chave:** Leishmaniose. Ácido undecilênico. Ácido octanoico. Ácido hexanoico. Complexos de Antimônio(V). Atividade Leishmanicida.

## ABSTRACT

Leishmaniasis is one of the diseases that most affects the poorest people. The causative agent belongs to the genus *Leishmania*, and present in promastigotes and amastigotes forms. Leishmaniasis treatment presents a many problems: adverse effects and high toxicity difficult to treat, as well as cases of resistance of some strains. Therefore, it is necessary to produce novel drug candidates for leishmaniasis. Thus, this paper aims to synthesize and evaluate new antimony compounds with potential activity leishmanicide. We had synthesized six antimony complexes (V) derivatives of undecylenic acid fatty acid, octanoic acid and hexanoic acid: **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>**, **(OCTA)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>** and **(HEX)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>**. All compounds were characterized by <sup>1</sup>H NMR and IR. The absorption spectra in the infrared of all complexes demonstrated no band relative to the carboxylic acid and the presence of Sb-O band. The complexes **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** and **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** show, in their nuclear magnetic resonance spectra, typical shifts the presence of aromatic structures, multiplets at 7.45 and 7.99 ppm. These complexes were subjected to cell viability assays and antileishmanial activity, and they showed inhibition of growth of promastigotes of *Leishmania amazonensis*, and *Leishmania chagasi*. **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** had the lowest IC<sub>50</sub> between the evaluated complexes in the MTT assay, while the complex **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** showed the lowest IC<sub>50</sub> in the test species of *Leishmania amazonensis*. leishmanicide activity assays against amastigotes are being carried out to confirm the activity of these molecules.

**Keywords:** Leishmaniasis. Undecylenic acid. Octanoic acid. Hexanoic acid. Antimony complexes (v). Leishmanicidal activity.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> Formas promastigotas.....	14
<b>Figura 1.2</b> Amastigotas no interior de macrófagos.....	15
<b>Figura 1.3</b> Ciclo de vida dos parasitos de <i>Leishmania</i> .....	17
<b>Figura 1.4</b> Distribuição dos casos, óbitos e taxa de letalidade por leishmaniose visceral em Alagoas, no período de 2007 a 2012.....	20
<b>Figura 1.5</b> Números de casos, óbitos e taxa de letalidade de acordo com a faixa etária dos pacientes com leishmaniose visceral em Alagoas, no período de 2007 a 2012.....	21
<b>Figura 1.6</b> Fármacos mais usados no tratamento da leishmaniose.....	23
<b>Figura 1.7</b> Miltefosina.....	24
<b>Figura 3.1</b> Síntese dos sais de ácidos graxos.....	32
<b>Figura 3.2</b> Síntese dos complexos de fenilas.....	33
<b>Figura 3.3</b> Síntese dos complexos com metilas.....	35
<b>Figura 4.1</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do ácido undecilênico (CDCl <sub>3</sub> ) .....	39
<b>Figura 4.2</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>UNDNa</b> (D <sub>2</sub> O) .....	40
<b>Figura 4.3</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> ) .....	40
<b>Figura 4.4</b> Espectro ampliado de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> ) .....	41
<b>Figura 4.5</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> ).....	41
<b>Figura 4.6</b> Espectro ampliado de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> )....	42
<b>Figura 4.7</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do ácido octanoico (CDCl <sub>3</sub> ) .....	43
<b>Figura 4.8</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>OCTANa</b> (D <sub>2</sub> O) .....	43
<b>Figura 4.9</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> ) .....	44
<b>Figura 4.10</b> Espectro ampliado de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> ) ...	44
<b>Figura 4.11</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(OCTA)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> ). .....	45
<b>Figura 4.12</b> Espectro ampliado de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(OCTA)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> )	45
<b>Figura 4.13</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do ácido hexanoico (CDCl <sub>3</sub> ) .....	46
<b>Figura 4.14</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>HEXNa</b> (D <sub>2</sub> O) .....	47
<b>Figura 4.15</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> ) .....	47
<b>Figura 4.16</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(HEX)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> ) .....	48
<b>Figura 4.17</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>Ph<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> ).....	48
<b>Figura 4.18</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do <b>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>SbBr<sub>2</sub></b> (CDCl <sub>3</sub> ).....	49

<b>Figura 4.19</b> Espectro de Infravermelho de ácido undecilênico.....	50
<b>Figura 4.20</b> Espectro de Infravermelho de <b>UNDNa</b> .....	50
<b>Figura 4.22</b> Espectro de Infravermelho de <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> .....	51
<b>Figura 4.23</b> Espectro de Infravermelho de <b>(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> .....	51
<b>Figura 4.24</b> Avaliação da inibição do crescimento de <i>L. chagasi</i> com ácido undecilênico, <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido octanoico, <b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido hexanoico, <b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , <b>Ph<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub></b> e pentamidina nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1 µM. ....	53
<b>Figura 4.25</b> Avaliação da atividade de inibição do crescimento de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> com ácido undecilênico, <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido octanoico, <b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido hexanoico, <b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , <b>Ph<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub></b> e pentamidina nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1 µM.....	55
<b>Figura 4.26</b> Avaliação de viabilidade celular com ácido undecilênico, <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido octanoico, <b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido hexanoico, <b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> e <b>Ph<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub></b> nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1 µM.....	59

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 3.1</b> Laboratórios onde foram realizadas as atividades experimentais....	72
<b>Quadro 3.2</b> Lista de reagentes e solventes e suas origens.....	72

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 4.1</b> Determinação da potência (Cl <sub>50</sub> ) e efeito máximo (E.M.) do ácido undecilênico, <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido octanoico, <b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido hexanoico, <b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , Ph <sub>3</sub> SbCl <sub>2</sub> e pentamidina (todos nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1 µM) sobre promastigotas de <i>Leishmania chagasi</i> .....	54
<b>Tabela 4.2</b> Determinação da potência (Cl <sub>50</sub> ) e efeito máximo (E.M.) do ácido undecilênico, <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido octanoico, <b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido hexanoico, <b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , Ph <sub>3</sub> SbCl <sub>2</sub> e pentamidina (todos nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1 µM) sobre promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i> .....	56
<b>Tabela 4.3</b> Determinação da concentração letal (CL <sub>50</sub> ) do <b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , <b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , ácido undecilênico, ácido hexanoico, ácido octanoico e Ph <sub>3</sub> SbCl <sub>2</sub> (todos nas concentrações de 100 µM, 10 µM e 1 µM) para macrófagos da linhagem J774 no ensaio de MTT.....	57

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

$\text{CDCl}_3$  – Clorofórmio deuterado

CR3 – receptor de complemento do tipo 3

CR1 – receptor do complemento do tipo 1

$\text{D}_2\text{O}$  – água deuterada

Fc $\gamma$ Rs - receptores para porção Fc das IgG

GPI – glicosilfosfatidilinositol

IV – infravermelho

INF- $\gamma$  – interferon gamma

IL-4 - interleucina-4

IL-5 - interleucina-5

IL-13 – interleucina-13

KBr – brometo de potássio

LC - leishmaniose cutânea

LM – leishmaniose mucocutânea

LPG – lipofosfoglicano

LT – leishmaniose tegumentar

LV – leishmaniose visceral

MHz – megahertz

MR – receptor de manose

NO – óxido nítrico

OMS – Organização Mundial de Saúde

RMN – ressonância magnética nuclear

Th1 - linfócito T auxiliar do tipo 1

Th2 - linfócito T auxiliar do tipo 2

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>1.1 As leishmanioses</b> .....	14
<b>1.2 Epidemiologia</b> .....	19
<b>1.3 Tratamento</b> .....	21
<b>1.4 Ligantes carboxilados e complexos de antimônio</b> .....	25
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	28
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	29
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	29
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	30
<b>3.1 Caracterização</b> .....	31
3.1.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) .....	31
3.1.2 Espectroscopia de absorção no infravermelho médio (IV) .....	31
<b>3.2 Síntese dos ligantes e complexos</b> .....	31
3.2.1 Síntese dos sais de ácidos graxos.....	31
3.2.2 Síntese de <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , <b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> , <b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> .....	32
3.2.3 Síntese de <b>(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> , <b>(OCTA)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> , <b>(HEX)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> .....	34
<b>3.3 Ensaio <i>in vitro</i></b> .....	35
3.3.1 Ensaio de Viabilidade Celular.....	36
3.3.2 Ensaio de avaliação da toxicidade contra formas promastigotas.....	36
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	37
<b>4.1 Complexos carboxilados</b> .....	38
4.1.1 Caracterização dos sais e complexos.....	38
4.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H (RMN de <sup>1</sup> H) de <b>UNDNA</b> , <b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> e <b>(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> .....	38
4.1.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H (RMN de <sup>1</sup> H) de <b>OCTANA</b> , <b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> e <b>(OCTA)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> .....	42
4.1.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H (RMN de <sup>1</sup> H) de <b>HEXNA</b> , <b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b> e <b>(HEX)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub></b> .....	46
4.1.5 Espectroscopia de Infravermelho Médio (IV) .....	49
<b>4.2 Ensaio de determinação da atividade leishmanicida dos ligantes e complexos de antimônio contra <i>Leishmania chagasi</i> e <i>Leishmania amazonensis</i></b> .....	52

<b>4.3 Ensaio de viabilidade celular: Redução de MTT.....</b>	<b>57</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>62</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>71</b>

# **INTRODUÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 As leishmanioses

A leishmaniose permanece como uma das doenças que está presente sobretudo entre a população mais pobre. A Organização Mundial de Saúde identifica a leishmaniose como um problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento (WHO, 2015). É causada por um protozoário pertencente ao gênero *Leishmania*, à família Trypanosomatidae e à ordem Kinetoplastida (ARAÚJO et al, 2015). Apresentam-se nas formas promastigotas, onde são encontradas no trato digestório dos hospedeiros invertebrados e amastigotas, sem flagelo e parasitos do sistema fagocítico mononuclear de vertebrados (WALKER et al, 2014).

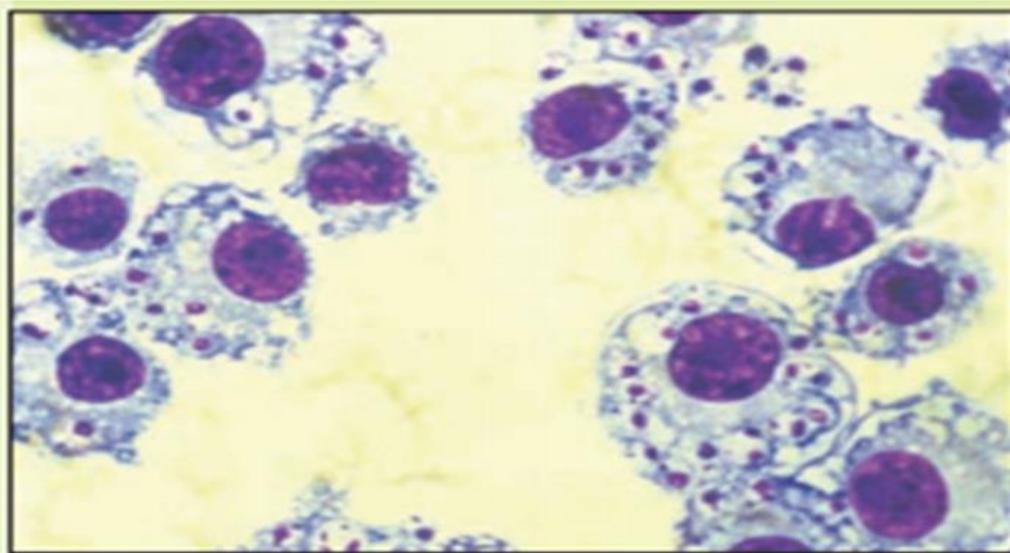
As células de *Leishmania* na forma promastigota (Figura 1) são alongadas, possuem um flagelo livre e um núcleo esférico. São observáveis pequenos vacúolos em seu citoplasma. Seu tamanho é variável, ainda que seja da mesma espécie, tendo entre 16 – 40 µm de comprimento por 1,5 – 3 µm de largura. As amastigotas (Figura 2) são caracteristicamente esféricas. Apresentam vacúolos e núcleo semelhante ao das promastigotas, e não possuem flagelo livre. Seu tamanho é variável, entre 1,5 – 3,0 x 3,0 - 6,5 µm (KUMAR, 2012).

**Figura 1.1** Formas promastigotas.



Fonte: FERREIRA, 2007.

**Figura 1.2** Amastigotas no interior de macrófagos.



Fonte: ATLAS, 2006.

Os vetores são constituídos por insetos hematófagos (flebotomíneos), dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*, no Velho e Novo Mundo respectivamente (STOCKDALE; NEWTON, 2013). Enquanto os hospedeiros vertebrados são formados por muitos mamíferos: marsupiais; roedores; primatas (incluindo a espécie humana) entre outros. Estes são infectados através dos vetores durante o repasto sanguíneo, onde são inoculadas promastigotas (BANETH et al, 2015).

A leishmaniose se manifesta de acordo com a espécie envolvida e o estado imunológico do indivíduo: cutânea (LC), cutâneomucosa (LM), e leishmaniose visceral (LV) ou calazar. A leishmaniose cutânea é caracterizada por lesões ulceradas autolimitadas. É causada por *Leishmania major*, *Leishmania aethiopica* e *Leishmania tropica* no Velho Mundo, enquanto no Novo Mundo por *Leishmania braziliensis*, *Leishmania guyanensis*, *Leishmania panamensis*, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania mexicana* entre outras. Já a leishmaniose mucocutânea (LM), que é causada por *L. braziliensis* e *L. aethiopica*, que tem tropismo por macrófagos da faringe e leva à destruição do nariz e da boca. Há ainda a leishmaniose cutânea difusa (LCD), causada por *L. amazonensis*. Manifesta-se através de lesões cutâneas não-ulceradas disseminadas com tendência progressiva e crônica (ASSIS et al., 2012, TORRES et al., 2014).

Na leishmaniose cutânea ou leishmaniose tegumentar (LT), após a inoculação de promastigotas pelo vetor, ocorre a migração de macrófagos e outras células fagocitárias mononucleares ao local. A lesão inicial é observada por um infiltrado inflamatório contendo macrófagos e linfócitos, além da presença de amastigotas. Forma-se uma pápula indolor no local da inoculação. Com o desenvolvimento de necrose, a pápula se transforma em uma úlcera crostosa. Comumente surge em partes expostas do corpo, como braços ou pernas. Muitas apresentam cura espontânea em um período de alguns meses (podendo ocorrer em até 12 meses) (PACE, 2014).

A leishmaniose mucocutânea afeta geralmente o nariz, a boca e a faringe. Inicialmente se observa um comprometimento mucoso, levando à coriza contínua, e posteriormente em processo ulcerativo. Atinge o assoalho da fossa nasal, o palato mole, alcançando a faringe. Pode ocorrer a completa destruição da cartilagem nasal. A ulceração se propaga pela face, produzindo mutilações que dificultam a respiração e a fala (PACE, 2014).

A leishmaniose visceral (LV) é mais severa do que a leishmaniose cutânea (CL) e pode ser causada por *Leishmania donovani*, *Leishmania infantum* e *Leishmania chagasi*. O agente atinge principalmente o fígado e o baço, gerando hepatomegalia, esplenomegalia, entre outras alterações sérias, que podem ser letais se o tratamento não for realizado. As amastigotas, depois que se multiplicam dentro dos macrófagos, migram para órgãos, como o baço, fígado e a medula óssea. O período de incubação é bastante variável, e está relacionada a alguns fatores, como: estado nutricional e imunológico do hospedeiro; a virulência da cepa, entre outros (RIBEIRO, 2011). Ainda que haja tratamento adequado, a recidiva pode ocorrer de 6 a 12 meses depois. Caso não seja feito o tratamento, progredirá para infecções secundárias, emagrecimento severo e morte dentro de 2 a 3 anos (PACE, 2014).

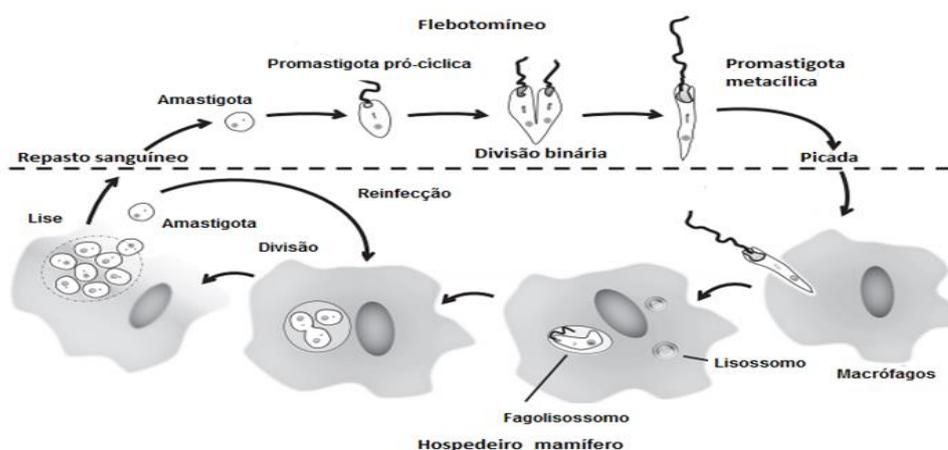
Leishmaniose dérmica pós-calazar (LPDK) é uma sequela da leishmaniose visceral que se manifesta como pápulas ou máculas, podendo ocorrer em diversas áreas do corpo, geralmente no rosto e braços. Está presente sobretudo no leste da África. Aparece em 6 meses ou até 1 ano após a leishmaniose visceral ser aparentemente curada. Pessoas com PKDL são

consideradas como uma fonte potencial de infecção por leishmaniose visceral (WHO, 2015).

Por meio do repasto sanguíneo, as promastigotas são inoculadas pelo flebotomíneo no local da picada (PATIL et al., 2012). Dentro da corrente sanguínea, elas são fagocitadas por macrófagos teciduais. Eles geram pseudópodos, que cobrem o parasito, trazendo-o para o interior. Em pouco tempo, as promastigotas se convertem em amastigotas, depois de 24 horas da fagocitose. As amastigotas são resistentes à ação dos lisossomos. Com sua multiplicação, a membrana do macrófago chega a se romper, liberando as amastigotas, que podem ser fagocitadas novamente (RIBEIRO, 2011) (Figura 3).

O vetor se infecta ao ingerir sangue do hospedeiro vertebrado contendo macrófagos parasitados por amastigotas. Ocorre o rompimento dos macrófagos e a liberação das amastigotas durante o percurso até o trato digestivo. Em seguida, elas se dividem e se modificam em promastigotas (Figura 1.3.) (RIBEIRO, 2011). As promastigotas são classificadas como promastigotas pró-cíclicas, que se multiplicam no intestino do flebotomíneo, ou as que não se dividem em promastigotas metacíclicas infectantes, que migram em direção à extremidade anterior do tubo digestivo (ASSIS et al., 2012).

**Figura 1.3** Ciclo de vida dos parasitos de *Leishmania*.



Fonte: Modificado de: ASSIS et al., 2012.

Os receptores que facilitam a internalização da *Leishmania* incluem os receptores do complemento CR3 e CR1, receptor de manose (MR), receptores Fc-gamma (FcγRs e FcγRII-B2) e receptores de fibronectina (FNRS). Os componentes mais abundantes presentes na superfície da membrana são diferentes na forma promastigota extracelular encontrada nos insetos e a amastigota intracelular presente nos mamíferos (UENO; WILSON, 2012). Muitos estudos já foram realizados sobre a internalização de amastigotas de *Leishmania*, e demonstraram, de fato, que ocorre mediada por receptores do complemento. Interações da *Leishmania* e dos macrófagos envolvem muitos fatores que permitem aos parasitas usar o fagolisossoma para obter nutrientes e duplicar-se. Além disso, pode interferir em vias de sinalização que levariam à sua morte no interior do fagolisossoma (DUQUE, 2015). Os parasitas passam por muitas adaptações morfológicas e bioquímicas, tal como a expressão de glicoconjugados compostos por moléculas ligadas por âncoras de glicosilfosfatidilinositol (GPI). O lipofosfoglicano (LPG), que é expresso em promastigotas e está quase ausente nas formas amastigotas, forma um glicocálice que cobre a superfície do parasita e o flagelo (ASSIS et al., 2012).

As espécies de *Leishmania*, o vetor e o estado imunológico do indivíduo são fatores que influenciam a infecção. Durante a infecção, as promastigotas são processadas por células dendríticas e apresentadas a células T imaturas. Estas produzem citocinas, levando à formação de populações diferenciadas de células T: células Th1, Th2 e células T regulatórias, como como células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, (KEVRIC; CAPPEL; KEELING, 2015). As células Th são consideradas importantes na resposta contra organismos infecciosos. Elas secretam uma variedade de citocinas. Células Th1 produzem interleucina-2 (IL-2) e interferon-γ (IFN-γ), que induzem a ativação de macrófagos e são muito efetivas em controlar infecções com patógenos intracelulares. Enquanto que as células Th2 produzem IL-4, IL-5, e IL-13 que auxiliam células do tipo B na produção de anticorpos; e são necessários para eliminar patógenos extracelulares (FREITAS, 2010). O controle da infecção é dependente de macrófagos ativados, e de uma resposta imunológica do tipo Th1 (GRIESVEN; DIRO, 2012).

A produção de óxido nítrico (NO) por iNOS (óxido nítrico sintase) possui um papel chave significativo no controle da infecção por *Leishmania*, tanto *in*

*vitro* como *in vivo* (OLEKHNOVITCH; BOSSON, 2015). NO é uma molécula citotóxica potente responsável por eliminar parasitas intracelulares, incluindo *Leishmania* (CHOUHAN et al., 2015). NO é sintetizado no citoplasma da célula, e pode gerar compostos tóxicos, como o peroxinitrito ou difundir-se para fora da célula (OLEKHNOVITCH et al, 2014). Dentro de cultura de células, o NO é detectado sob a forma de nitrito, que é um dos produtos de NO (CHOUHAN et al., 2015).

## 1.2 Epidemiologia

Em termos globais, a leishmaniose é endêmica em 98 países com 310 milhões de pessoas expostas. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 1,3 milhões de novos casos ocorrem por ano em todo o mundo. Dos casos de LV notificados, 90% ocorrem em seis países: Bangladesh; Etiópia; Brasil; Índia; Sudão e Sudão do Sul (SINGH, 2014). Os casos de leishmaniose visceral (LV) são calculados entre 0.2 a 0.4 milhões de pessoas por ano. Mais de 90% ocorrem na Índia, Bangladesh, Etiópia, Sudão e Brasil. Estimam-se que 0.7 a 1.2 milhões de casos de leishmaniose cutânea (LC) ocorrem sobretudo no litoral do Mediterrâneo, na Ásia ocidental e nas Américas, cada uma com aproximadamente 30% dos casos. 75% dos casos são encontrados na Síria, no Brasil, e no Afeganistão. 35.000 casos de leishmaniose cutaneomucosa ocorrem anualmente no Brasil, Bolívia e Peru (PACE, 2014).

Boa parte dos casos de leishmaniose visceral são subnotificados. Ainda assim, o Brasil é responsável por até 90% dos casos da América Latina. Em 2012, notificaram-se 3.038 casos da doença em humanos, e uma incidência de 1,57 casos/100.000 habitantes e uma taxa de letalidade de 7,1%. A coinfeção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) é extremamente preocupante, e atinge 8,5% dos pacientes no Brasil. Segundo o Ministério da Saúde, 21 estados já notificaram casos da enfermidade em humanos, principalmente nas regiões norte, sudeste e nordeste, com mais de 1.300 municípios apresentando casos da doença (MARCONDES; ROSSI, 2013). A região com maior prevalência é o Nordeste (65% dos casos positivos) (ROCHA et al., 2015).

A leishmaniose visceral (também conhecida como Calazar) se caracterizava como uma doença eminentemente rural, porém recentemente, expandiu-se a áreas urbanas. No Brasil, apresentou uma média de 3.379 casos. (OLIVEIRA; PIMENTA, 2014). Em Alagoas, a letalidade apresentou-se elevada no período de 2007 a 2012 (Figura 1.4.). O número de óbitos aumentou, sendo crianças menores que um ano e adultos acima de cinquenta anos os mais acometidos (Quadro 1.5.) (ROCHA et al., 2015).

**Figura 1.4** Distribuição dos casos, óbitos e taxa de letalidade por Leishmaniose visceral em Alagoas, no período de 2007 a 2012.

Ano	Nº de casos	Nº de óbitos	Letalidade%
2007	29	03	10,34
2008	30	02	6,66
2009	33	05	15,15
2010	36	02	5,55
2011	37	06	16,21
2012	34	05	14,70
Total	199	23	11,55

Fonte: ROCHA et al., 2015.

**Figura 1.5** Números de casos, óbitos e taxa de letalidade de acordo com a faixa etária dos pacientes com Leishmaniose visceral em Alagoas, no período de 2007 a 2012.

<b>Idade</b>	<b>Nº de casos</b>	<b>Nº de óbitos</b>	<b>Letalidade (%)</b>
<1	04	02	50
1-4	26	04	15,4
5-9	60	0	0
10-14	21	01	4,8
15-19	22	01	4,5
20-29	26	02	11,53
30-39	19	04	21,05
40-49	12	02	16,66
50-59	05	03	60
60+	04	03	75
<b>TOTAL</b>	<b>199</b>	<b>23</b>	<b>11,55</b>

Fonte: ROCHA et al., 2015.

As modificações no ambiente, a urbanização crescente, o êxodo rural e as secas levaram ao aumento das áreas endêmicas e o surgimento de novos focos, o que acabou facilitando a ocorrência de epidemias. A expansão ocorreu por vários fatores: socioeconômicos; físicos; biológicos. Isso promoveu a adaptação dos vetores para locais urbanos (LARA-SILVA et al., 2015).

A leishmaniose tegumentar americana está distribuída em todo o território brasileiro. Ocorre em todas as regiões do país. Entre 1985 e 2003, são estimados 523.975 casos, em que grande parte ocorreu nas regiões Norte e Nordeste (ALVES; RIBAS-SILVA, 2013).

### 1.3 Tratamento

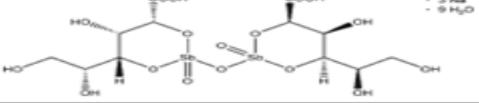
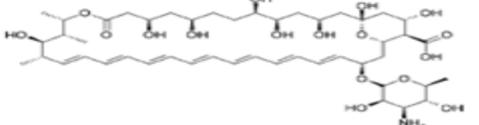
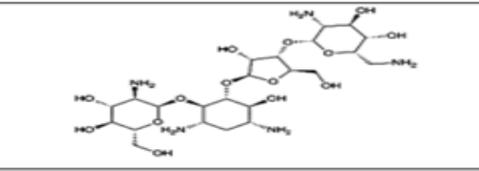
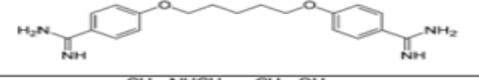
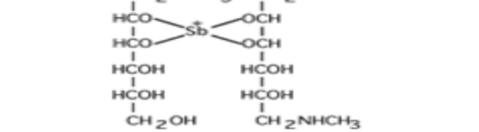
Os medicamentos usados para tratamento da leishmaniose apresentam uma série de limitações. Efeitos adversos e toxicidade elevada provocam a retirada do medicamento, assim como o surgimento de cepas resistentes. O custo alto

de um dos medicamentos usados (anfotericina B lipossomal) é também um dos fatores que dificultam o tratamento (FREITAS-JÚNIOR et al., 2012).

O antimoniato de meglumina, que foi desenvolvido em 1945, é o fármaco de primeira escolha para tratamento de leishmaniose visceral e tegumentar em boa parte do mundo (TIUMAN et al., 2011). Porém, em razão de sua toxicidade, além da crescente resistência do parasito na Europa, América do Sul e Ásia, levaram à utilização de outros medicamentos, como a anfotericina B (PACE, 2014). Antimoniais são drogas tóxicas com sérios efeitos adversos, como arritmia cardíaca (JUNIOR et al., 2014). Estibogluconato de sódio e antimoniato de meglumina (Figura 6) são capazes de se ligar e inibir enzimas envolvidas na glicólise e oxidação de ácidos graxos (PATIL et al., 2012).

Os efeitos adversos mais comuns decorrentes da administração sistêmica do antimoniato de meglumina são urticária, letargia, náuseas, dor abdominal e artralgia. Outros sintomas, tais como mialgia, nefrotoxicidade, pancreatite e hepatotoxicidade surgem durante o tratamento (KEVRIC; CAPPEL; KEELING, 2015; SHAPIRO; GOLDBERG, 2010). Estes efeitos secundários contribuem significativamente para a redução ou a remoção do antimônio da terapia (BENTO et al., 2013).

**Figura 1.6** Fármacos usados no tratamento da leishmaniose.

Nome	Estrutura
Estibogluconato de sódio	
Anfotericina B	
Paromomicina	
Pentamidina	
Antimoniato de meglumina	

Fonte: Modificado de: SANTOS et al., 2008.

A anfotericina B (Figura 1.6) é um antifúngico derivado de uma cepa de *Streptomyces nodosus*. A anfotericina B pode ser incorporada em lipossomas carregadores sendo absorvida pelo sistema reticuloendotelial onde o parasito reside. Sua administração mais eficaz dá-se por via endovenosa. Pode provocar nefrotoxicidade (SHAPIRO; GOLDBERG, 2010). A via de biossíntese do ergosterol, o principal esteroide de fungos, assim como em *Leishmania spp.* é alvo da anfotericina B e alguns dos mais importantes antifúngicos (PACE, 2014). O desoxicolato de anfotericina B é considerado um fármaco de segunda linha em casos em que há resistência. É o único fármaco que não induziu resistência, mesmo sendo utilizado por quase 60 anos. A anfotericina B lipossomal é muito cara e, por conseguinte inacessível em partes do mundo com áreas endêmicas (KEVRIC; CAPPEL; KEELING, 2015).

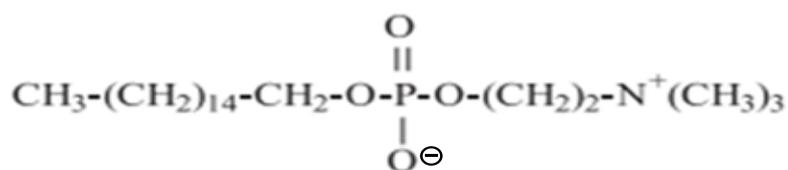
O antibiótico aminoglicosídeo paromomicina (Figura 1.6) atua contra espécies de *leishmania*, e as formas visceral e tegumentar podem ser tratadas com este antibiótico, contudo sua absorção oral é baixa. Isso levou ao desenvolvimento de formulações para as vias parenteral e tópica, usadas nas formas viscerais e cutâneas, respectivamente (TIUMAN et al., 2011). Por

necessitar de múltiplas altas doses, a paromomicina pode provocar efeitos adversos, entre eles: nefrotoxicidade; hepatotoxicidade e ototoxicidade. Ainda disso, a paromomicina foi aprovada pelo governo indiano em 2006 para o tratamento de pacientes com leishmaniose visceral. Contudo, a sua eficácia permanece controversa (GASPAR et al., 2015).

A diamina aromática pentamidina (Figura 1.6) é ativa para diferentes protozoários. Ainda que o mecanismo exato da sua ação antiparasitária seja insuficientemente compreendido, sua ação ocorre, em parte, devido à inibição da topoisomerase II. É útil no tratamento de infecções por leishmanias resistentes aos antimoniais. É geralmente administrado por infusão intravenosa ou injeção intramuscular. É um composto tóxico, e pode provocar hipotensão, hipoglicemia, nefrotoxicidade, anemia, neutropenia entre outros efeitos (SHAPIRO; GOLDBERG, 2010).

Miltefosina ou hexadecilfosfocolina (Figura 1.7) é um agente oral antitumoral, que é também ativo contra *Leishmania* (FREITAS-JÚNIOR et al., 2012). A potência da miltefosina é variável para as *Leishmania spp.*, em que *Leishmania donovani* é a espécie mais sensível. Entre os efeitos colaterais mais frequentes, os pacientes apresentam vômitos e diarreia. É contra-indicado em grávidas (SHAPIRO; GOLDBERG, 2010).

**Figura 1.7** Miltefosina



Fonte: Modificado de RATH et al., 2003.

Itraconazol e posaconazol já mostraram forte efeito anti-proliferativo em promastigotas de *L. amazonensis* e em amastigotas intracelulares (MACEDO-SILVA et al., 2013). O cetoconazol e o fluconazol também são ativos contra diferentes espécies de *Leishmania*, tanto *in vitro* e *in vivo*. Contudo, sua atividade leishmanicida não é suficiente para induzir a cura clínica (MARRAPU et al., 2011).

#### 1.4 Ligantes carboxilados e complexos de antimônio

Muitos complexos de antimônio têm sido sintetizados e avaliados em ensaios pré-clínicos nas duas últimas décadas, na tentativa de identificar fármacos leishmanicidas mais seguros e eficazes. Complexos de antimônio são de grande interesse devido à sua estrutura química definida e possibilidade de modificação da atividade e toxicidade do composto, por meio do ligante e o radical organometálico. Complexos carboxilados de antimônio(V), com ligantes como ácido acetilsalicílico e ácido 3-acetoxibenzoico, mostraram atividade leishmanicida contra *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* (ISLAM et al., 2014).

Uma classe de compostos bem conhecida por sua atividade biológica é a dos ácidos graxos. Os ácidos graxos são extremamente abundantes na natureza, e pertencem a uma classe importante fisiologicamente. Muitos são conhecidos por suas propriedades antibacterianas e antifúngicas (POHL; KOCK; THIBANE, 2011; RUIZ-RICO et al., 2015). Ácidos graxos consistem de uma cadeia de átomos de carbono ligados a átomos de hidrogênio. O número de carbono varia, mas em sistemas biológicos eles têm normalmente um número entre 10 e 28. Em uma extremidade da cadeia de carbono há um grupo carboxila (-COOH), e na outra extremidade um grupo metila (-CH<sub>3</sub>). As atividades dos ácidos graxos são relevantes na defesa do hospedeiro contra a potencial patogenicidade ou ação oportunista de muitos micro-organismos (DESBOIS; SMITH, 2010). Os ácidos láurico, esteárico, linoleico, palmítico, oleico e mirístico já foram descritos como potenciais agentes antibacterianos e antifúngicos (AGORAMOORTHY et al., 2007).

Além das atividades já mencionadas, os ácidos graxos também são descritos com atividades antiviral (ácido octanoico, ácido decanoico, ácido láurico) e antiprotozoária (ácido octanoico, ácido decanoico entre outros) (DESBOIS; SMITH, 2010). O ácido escleropírico demonstrou atividade antimalárica. Suksamrarn (2005) e colaboradores demonstraram sua atividade contra *Plasmodium falciparum*. Alguns ácidos graxos exibem atividade antileishmania. Chouhan (2015) e colaboradores demonstraram o potencial leishmanicida e imunomodulatório contra *Leishmania donovani* de frações

contendo folhas e sementes de *Azadirachta indica*, e identificaram a presença de ácido palmítico e ácido linoleico. Promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* se mostraram sensíveis a frações de extratos de *Arrabidaea chica*, contendo ácido linolênico, ácido octadecanoico, ácido linolênico e ácido n-hexadecanoico (RODRIGUES et al., 2014). O mecanismo de ação de alguns ácidos já foi relacionado com a enzima topoisomerase IB durante avaliação da atividade leishmanicida de ácidos graxos  $\alpha$ -metoxilados (CARBALLEIRA et al., 2009).

A avaliação da atividade ácido graxos de cadeia longa de Cunningham e colaboradores (1972) mostrou que os ácidos decanoico, dodecanoico e hexadecanoico inibiram a mobilidade em promastigotas de *Leishmania donovani*. O ácido octanoico não mostrou atividade significativa. Porém, o ácido caprílico ou octanoico, ácido graxo médio constituído por 8 átomos de carbono, é conhecido por sua atividade antibacteriana (MOSCHONAS et al., 2012; RUIZ-RICO et al., 2015).

Chauduri e colaboradores (1986) demonstraram atividade de ácidos graxos, como o ácido hexanoico e o ácido undecilênico contra promastigotas de *Leishmania donovani*, e observaram que quanto maior a cadeia carbônica, maior a inibição do crescimento das promastigotas. A atividade de séries de ácidos graxos C4–C18 em promastigotas de *L. donovani* foi descrita, e os ácidos graxos insaturados se mostraram mais ativos do que os seus análogos saturados.

Ácido hexanoico ou ácido caproico é um ácido graxo saturado (6:0) que é descrito com atividade antifúngica (POHL; KOCK; THIBANE, 2011). Já o ácido undecilênico, é um ácido graxo monoinsaturado, que ainda está no mercado como agente antifúngico e é ingrediente ativo de muitas preparações tópicas antifúngicas (LI et al., 2008). Substância encontrada naturalmente no corpo (presente no suor), o ácido undecilênico é produzido comercialmente por destilação a vácuo de óleo de mamona. É indicado principalmente em candidíases vaginais e gastrointestinais; além disso as dosagens necessárias para o benefício terapêutico são consideradas seguras (JURENKA, 2002). Portanto, os ácidos graxos apresentam-se como uma classe de interesse farmacológico, e que podem ser utilizados como ligantes em complexações com

antimônio, com o objetivo de gerar novos compostos com atividade leishmanicida.

# **OBJETIVOS**

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral:

Este trabalho visa sintetizar novos compostos organometálicos de antimônio e ácidos graxos e avaliar sua atividade leishmanicida.

### 2.2 Objetivos específicos:

- Sintetizar e caracterizar novos complexos de antimônio;
- Realizar o screening farmacológico dos novos complexos sobre a viabilidade de formas promastigotas extracelulares de espécies de *Leishmania sp*;
- Avaliar a ação dos compostos sobre macrófagos infectados *in vitro* com *Leishmania sp*, quanto a taxa de infecção e a multiplicação dos parasitas intracelulares;
- Determinar o potencial citotóxico dos produtos sintéticos para a célula hospedeira;
- Contribuir para o aumento da produção científica dos grupos envolvidos no projeto.

# **METODOLOGIA**

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Caracterização

##### 3.1.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Em tubos de RMN, as amostras foram solubilizadas em solvente deuterado ( $\text{CDCl}_3$  ou  $\text{D}_2\text{O}$  Sigma-Aldrich), e foram analisadas por colaboradores do laboratório de RMN/IQB/UFAL, sob a coordenação do Prof. Dr. Edson de Souza Bento. O equipamento utilizado para as análises foi o Espectrômetro Bruker Avance 400. Os espectros foram obtidos a temperatura ambiente e operando na frequência de 400,13 MHz para núcleos de  $^1\text{H}$ . Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram medidos usando-se como referência tetrametilsilano (TMS,  $\delta = 0$ ).

##### 3.1.2 Espectroscopia de absorção no infravermelho médio (IV)

As análises por espectroscopia na região do infravermelho médio foram feitas no Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier, (IRPrestige-21), utilizando pastilhas de KBr contendo cerca de 1% da amostra, os espectros abrangeram as regiões de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ ; e no Espectrofotômetro Varian 660-IR utilizando-se um acessório de refletância total atenuada (ATR). Os espectros abrangeram as regiões de 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 3.2 Síntese dos ligantes e complexos

##### 3.2.1 Síntese dos sais de ácidos graxos:

**UNDNa** - Undec-10-enoato de sódio;

**OCTANa** – Octanoato de sódio;

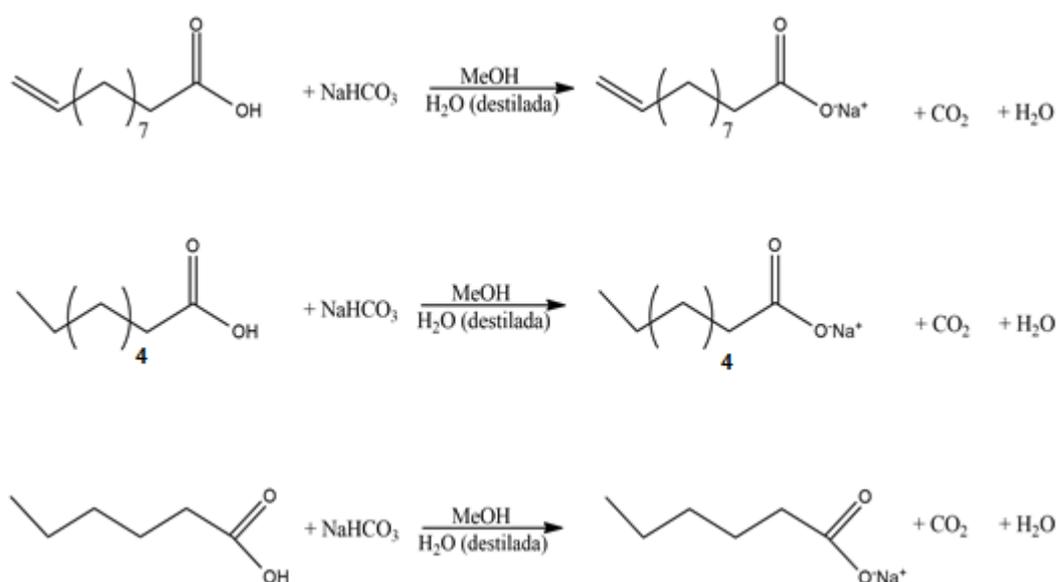
**HEXNa** – Hexanoato de sódio.

Foi adicionada por gotejamento uma solução metanólica (20 mL) de ácido undecilênico (10 mL; 0,0495 mol) a uma solução contendo 4,1590 g (0,0495 mol) de  $\text{NaHCO}_3$  em 50 mL de água destilada em um balão de 500 mL. A solução

permaneceu em agitação durante 2 horas em temperatura ambiente. Em seguida, foi evaporada sob pressão reduzida, gerando um pó branco e foi submetido à secagem em bomba de vácuo. Obteve-se um rendimento de 99% (MUHAMMAD et al., 2009).

Os ácidos hexanoico e octanoico também foram convertidos em sais de sódio pela mesma metodologia, obtendo-se sólidos brancos e de rendimentos semelhantes ao do sal do ácido undecilênico (Figura 3.1)

**Figura 3.1** Síntese dos sais de ácidos graxos.



### 3.2.2 Síntese de:

**(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** - di(undec-10-enoato) de trifenilantimonio(V);

**(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** - di(octanoato) de trifenilantimonio(V);

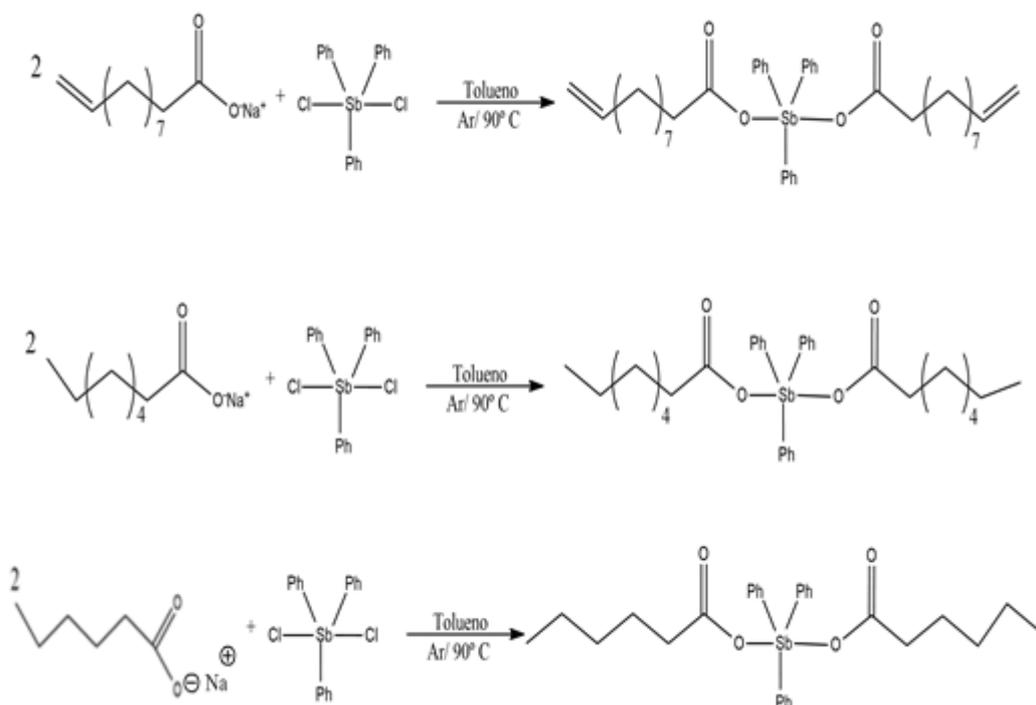
**(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** - di(hexanoato) de trifenilantimonio(V).

Inicialmente foram adicionados 15 mL de tolueno seco a um balão de duas bocas sob atmosfera de argônio e 0,085 g (0,2 mmol) de dicloreto de trifenilantimônio(V). Depois de ser solubilizado, foi acrescentado 0,103 g (0,5 mmol) do sal de sódio do ácido undecilênico. A reação foi mantida sob agitação, com  $T = 90\text{ }^\circ\text{C}$  e em atmosfera de argônio durante 6 horas. Por fim, a reação foi retirada, filtrada com tolueno aquecido, o solvente foi evaporado sob pressão

reduzida, e o material foi secado em bomba de alto vácuo, gerando um óleo transparente (SHARUTIN et al., 2001).

Os complexos com ácido hexanoico ((**HEX**)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>) e ácido octanoico ((**OCTA**)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>) foram produzidos a partir da mesma metodologia. Foram obtidos óleos de aparência e rendimentos semelhantes a (UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub> (Figura 3.2.):

**Figura 3.2** Síntese dos complexos de fenilas.



**(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** - Fórmula molecular (F.M.): C<sub>40</sub>H<sub>53</sub>O<sub>4</sub>Sb. Massa molecular (M.M.): 719,61 g/mol. IV (ν<sub>máx</sub>/cm<sup>-1</sup>, KBr); 3051 (ν =C-H); 2921 (ν<sub>as</sub> CH<sub>2</sub>); 2850 (ν<sub>s</sub> CH<sub>2</sub>); 1653 (ν C=O); 2000-1690 (Ph<sub>fora</sub> do plano); 735-691 (Ph<sub>fora</sub> do plano); 455 (ν Sb-O). RMN de <sup>1</sup>H (400MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0,96-1,30 (m, 16H); 1,52 (m, 8H); 1,99 (m, 4H); 2,3 (t, 4H, J = 7,34 Hz); 4,92 (t, 3H); 5,01 (s, 1H), 5,76 (m, 2H); 7,45 (m, 9H); 7,99 (m, 6H).

**(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** - Fórmula molecular (F.M.): C<sub>34</sub>H<sub>45</sub>O<sub>4</sub>Sb. Massa molecular (M.M.): 639,48 g/mol. IV (ν<sub>máx</sub>/cm<sup>-1</sup>, KBr); 3058 (ν =C-H); 2958 (ν<sub>as</sub> CH<sub>3</sub>); 2922 (ν<sub>as</sub> CH<sub>2</sub>); 2850 (ν<sub>s</sub> CH<sub>2</sub>); 1639 (ν C=O); 2000-1690 (Ph<sub>fora</sub> do plano); 734-691 (Ph<sub>fora</sub>

do plano); 455 (v Sb-O). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0,83 (t, 6H,  $J = 7,30$  Hz); 0,95 (m, 4H); 1,08 (m, 12H); 1,34 (m, 4H); 2,07 (t, 4H,  $J = 7,41$  Hz); 7,46 (m, 9H); 7,99 (m, 6H).

**(HEX) $_2$ SbPh $_3$**  - Fórmula molecular (F.M.):  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{O}_4\text{Sb}$ . Massa molecular (M.M.): 583,37 g/mol. IV ( $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ , KBr); 3060 (v =C-H); 2953 ( $\nu_{\text{as}} \text{CH}_3$ ); 2929 ( $\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$ ); 2856 ( $\nu_{\text{s}} \text{CH}_2$ ); 1647 (v C=O); 2000-1660 ( $\text{Ph}_{\text{fora do plano}}$ ); 732-691 ( $\text{Ph}_{\text{fora do plano}}$ ); 455 (v Sb-O). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0,74 (t, 6H,  $J = 7,34$  Hz); 0,93 (m, 4H); 1,09 (m, 4H); 1,34 (m, 4H); 2,06 (t, 4H,  $J = 7,36$  Hz); 7,46 (m, 9H); 7,99 (m, 6H).

### 3.2.3 Síntese de:

**(UND) $_2$ Sb(CH $_3$ ) $_3$**  - di(undec-10-enoato) de trimetilantimonio(V);

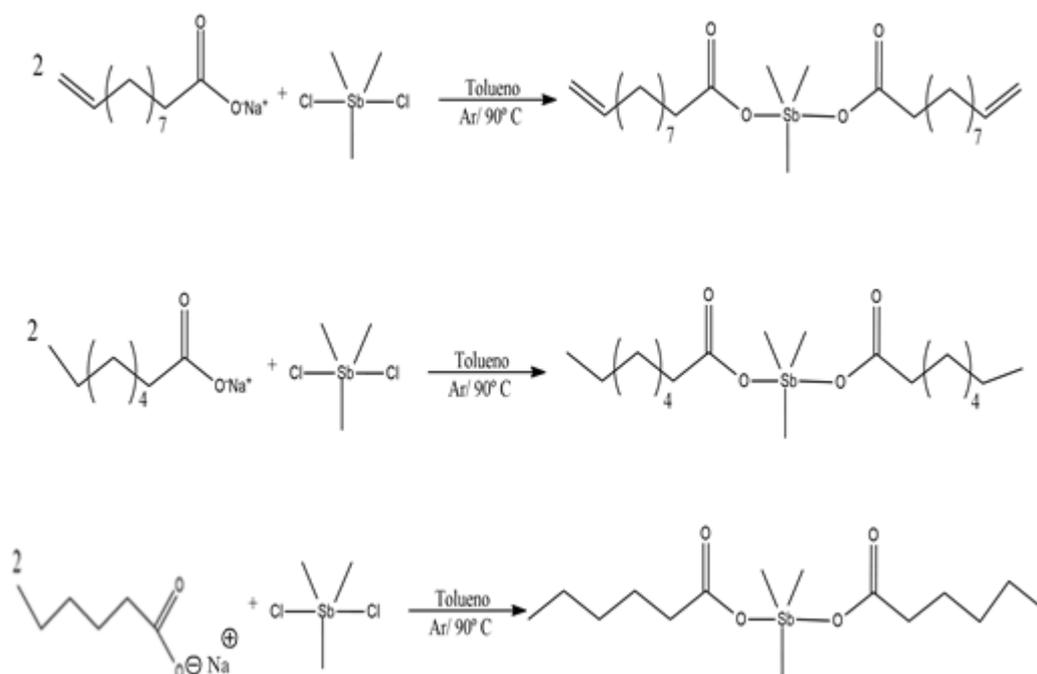
**(OCTA) $_2$ Sb(CH $_3$ ) $_3$**  - di(octanoato) de trimetilantimonio(V);

**(HEX) $_2$ Sb(CH $_3$ ) $_3$**  - di(hexanoato) de trimetilantimonio(V).

Em um balão de duas bocas adicionou-se 15 mL de tolueno seco sob atmosfera de argônio e 0,049 g (0,15 mmol) de dibrometo de trimetilantimônio(V). Depois de ser solubilizado, foi acrescentado 0,071 g (0,35 mmol) do sal de sódio do ácido undecilênico. A reação ficou em agitação por 6 horas, com  $T = 90^\circ \text{C}$  e em atmosfera de argônio. Ao término da reação, filtrou-se com tolueno aquecido, o solvente foi evaporado, e o material foi secado, formando um óleo amarelo-esverdeado.

Os complexos **(OCTA) $_2$ Sb(CH $_3$ ) $_3$**  e **(HEX) $_2$ Sb(CH $_3$ ) $_3$**  foram obtidos através da mesma metodologia (Figura 3.3.):

**Figura 3.3** Síntese dos complexos com metilas.



**(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>** - Fórmula molecular (F.M.):  $\text{C}_{25}\text{H}_{47}\text{O}_4\text{Sb}$ . Massa molecular (M.M.): 533,40 g/mol. IV ( $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ , KBr); 3079 ( $\nu =\text{C-H}$ ); 2922 ( $\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$ ); 2857 ( $\nu_{\text{s}} \text{CH}_2$ ); 1653 ( $\nu \text{C=O}$ ); 455 ( $\nu \text{Sb-O}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 1,28 (m, 16H); 1,35 (m, 4H); 1,52 (m, 4H); 1,84 (s, 9H); 2,01 (m, 4H); 2,15 (t, 4H,  $J = 7,58 \text{ Hz}$ ); 4,92 (t, 3H); 5,01 (s, 1H); 5,76 (m, 2H).

**(OCTA)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>** - Fórmula molecular (F.M.):  $\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{O}_4\text{Sb}$ . Massa molecular (M.M.): 453,27 g/mol. IV ( $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ , KBr); 2958 ( $\nu_{\text{as}} \text{CH}_3$ ); 2929 ( $\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$ ); 2857 ( $\nu_{\text{s}} \text{CH}_2$ ); 1653 ( $\nu \text{C=O}$ ); 455 ( $\nu \text{Sb-O}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0,86 (t, 6H,  $J = 6,91 \text{ Hz}$ ); 1,28 (s, 16H); 1,51 (m, 4H); 1,85 (s, 9H); 2,15 (t, 4H,  $J = 7,61 \text{ Hz}$ ).

**(HEX)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>** - Fórmula molecular (F.M.):  $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{O}_4\text{Sb}$ . Massa molecular (M.M.): 397,16 g/mol. IV ( $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ , KBr); 2958 ( $\nu_{\text{as}} \text{CH}_3$ ); 2929 ( $\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$ ); 2857 ( $\nu_{\text{s}} \text{CH}_2$ ); 1653 ( $\nu \text{C=O}$ ); 455 ( $\nu \text{Sb-O}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0,87 (t, 6H,  $J = 7,34 \text{ Hz}$ ); 1,24 (m, 8H); 1,51 (m, 4H); 1,85 (s, 9H); 2,15 (t, 4H,  $J = 7,61 \text{ Hz}$ ).

### 3.3 Ensaios *in vitro*

### 3.3.1 Ensaio de Viabilidade Celular

O estudo de viabilidade de macrófagos frente aos complexos **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(OCT)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, seus ligantes e a pentamidina foi realizado utilizando o método de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio). Neste ensaio, os macrófagos da linhagem J774 foram plaqueados ( $5 \times 10^5$ /por poço) e expostos a diferentes concentrações dos complexos e seus ligantes (100, 10, 1 e 0,1  $\mu$ M) por um período de 48 horas. Os poços controles continham células cultivadas somente com meio de cultura e células cultivadas na presença do diluente das substâncias DMSO. Após o período de incubação, o sobrenadante foi descartado e em seguida foi adicionado 100  $\mu$ L da solução de MTT (5 mg/10 mL e 10% em meio RPMI) em cada poço. As placas foram então reincubadas durante 1:30 horas em estufa a 37 °C e a 5% de CO<sub>2</sub> e realizada a leitura em espectrofotômetro a 490 nm. Os resultados foram expressos como percentual de morte celular, considerando como controle 100% a contagem de células viáveis em culturas não estimuladas (MOSMANN, 1983).

### 3.3.2 Ensaio de avaliação da citotoxicidade contra formas promastigotas

Formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. chagasi* numa concentração  $10^6$  parasitos/poço em um volume de 50  $\mu$ L foram cultivadas em triplicatas em placa de 96 poços com meio RPMI suplementado com 10% de SFB, 2 mM de L-glutamina, 2% de urina humana. Diferentes concentrações dos complexos: **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(OCT)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, seus ligantes e a pentamidina, fármaco padrão utilizado como referência, foram adicionadas aos poços contendo as promastigotas e a placa foi incubada em estufa BOD a 27 °C por 48 horas. Após esse período, foi realizado utilizando o método de MTT onde foi adicionado 20  $\mu$ L da solução de MTT por poço e deixada por duas horas em estufa a 37 °C e a 5% de CO<sub>2</sub> e realizada a leitura em espectrofotômetro a 490 nm (ÁVILA,1997).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Complexos carboxilados

Em razão de sua importância biológica, compostos de antimônio carboxilados têm sido desenvolvidos e estudados. Os complexos de antimônio carboxilados já foram descritos com atividade antimicrobiana, atividade antitumoral, antifúngicas entre outras (QUAN et al., 2009). A metodologia de síntese dos complexos de antimônio carboxilados desenvolvidos neste trabalho foi adaptada de SHARUTIN et al., 2001. Os complexos desenvolvidos são inéditos, assim como sua atividade farmacológica.

Os produtos das reações e os reagentes de partida mostraram diferenças em suas aparências e solubilidades. Os complexos contendo fenilas se apresentam como óleos transparentes, enquanto os complexos contendo metilas são caracteristicamente amarelos. Os sais e os antimônios de partida são sólidos. Há diferenças na solubilidade dos sais e complexos. Enquanto os sais são insolúveis em clorofórmio e tolueno, os complexos são solúveis. Todos os complexos sintetizados são óleos à temperatura ambiente.

#### 4.1.1 Caracterização dos sais e complexos

Os sais e os complexos sintetizados foram caracterizados por ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e espectroscopia de absorção na região do infravermelho.

#### 4.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ (RMN de $^1\text{H}$ ) de **UNDNa**, **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** e **(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>**

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **UNDNa** (Figura 4.2) mostra o desaparecimento do sinal referente ao hidrogênio do grupo carboxila do ácido undecilênico (Figura 4.1) que possuía deslocamento químico ( $\delta$ ) de 11,56 ppm. Enquanto os demais sinais, referentes aos hidrogênios presentes ao longo da cadeia carbônica, não demonstraram mudanças. O complexo **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** (Figura 4.3) apresentou dois multipletos em 7,45 e 7,99 ppm, comparáveis aos sinais dos hidrogênios aromáticos presentes em  $\text{Ph}_3\text{SbCl}_2$  (Figura 4.17),

localizados em 7,56 e 8,34 ppm. Os sinais de 0,96 - 1,30 ppm (C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>H<sub>2</sub>), assim como em 1,99 (C<sub>9</sub>H<sub>2</sub>) e 5,76 ppm, mostram multipletos, além de tripletos em 2,3 (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) e 4,93 e o singlete em 5,0 ppm (C<sub>11</sub>H<sub>2</sub>) estão como descritos na literatura (HAYES et al., 2012). Os sinais de hidrogênio foram identificados, e o seu número total calculado através da curva de integração. Foi possível confirmar a presença de dois fragmentos derivados do ácido undecilênico para um fragmento de trifenilantimônio (V) por meio de integração. No espectro de <sup>1</sup>H RMN do complexo **(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>** (Figura 4.4.), observa-se um singlete referente aos hidrogênios das metilas ligadas ao antimônio (1,84 ppm), apresentando um deslocamento em relação ao sinal presente em (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>SbBr<sub>2</sub> (2,66 ppm). (Figura 4.18). Os multipletos e demais sinais não mostraram diferença significativa de deslocamento químico em relação ao complexo anterior. Os valores de integral teóricos mostram que há dois fragmentos undecilênicos para um de trimetilantimônio(V).

**Figura 4.1** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do ácido undecilênico (CDCl<sub>3</sub>).

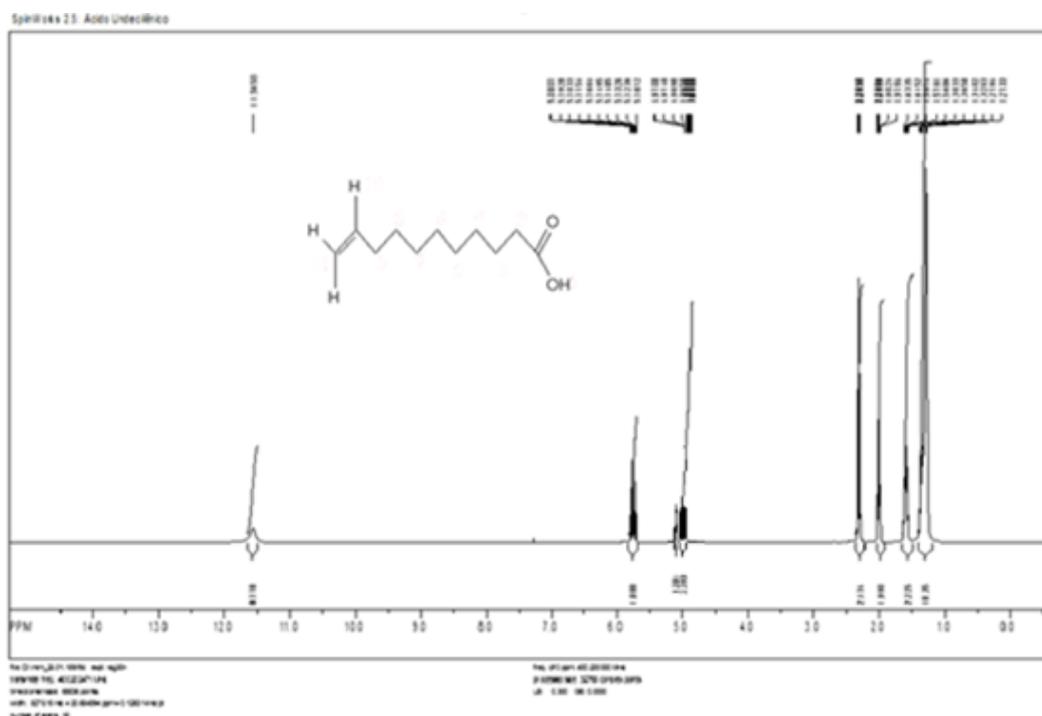


Figura 4.2 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **UNDNa** ( $\text{D}_2\text{O}$ ).

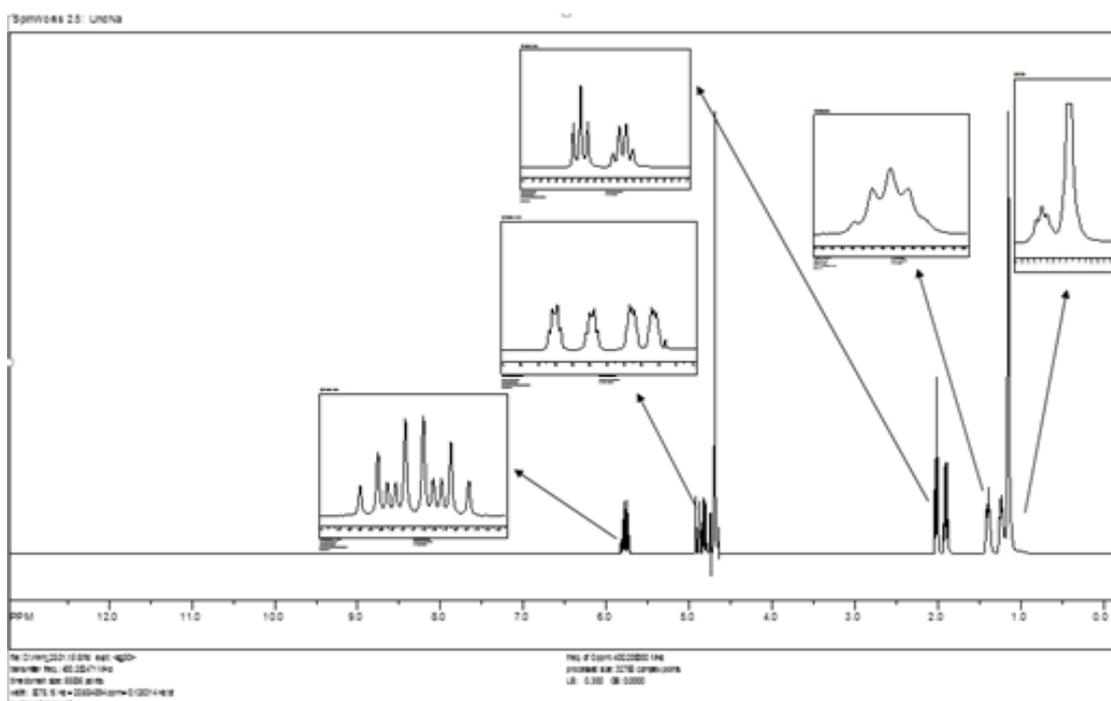
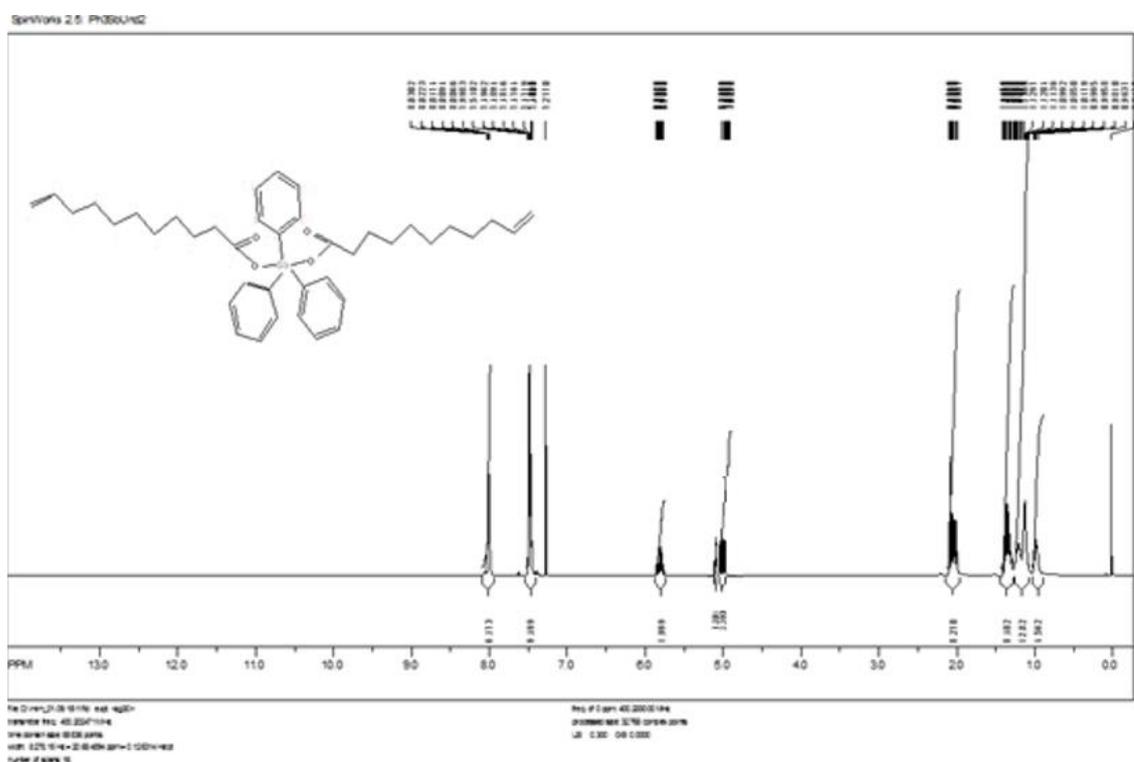
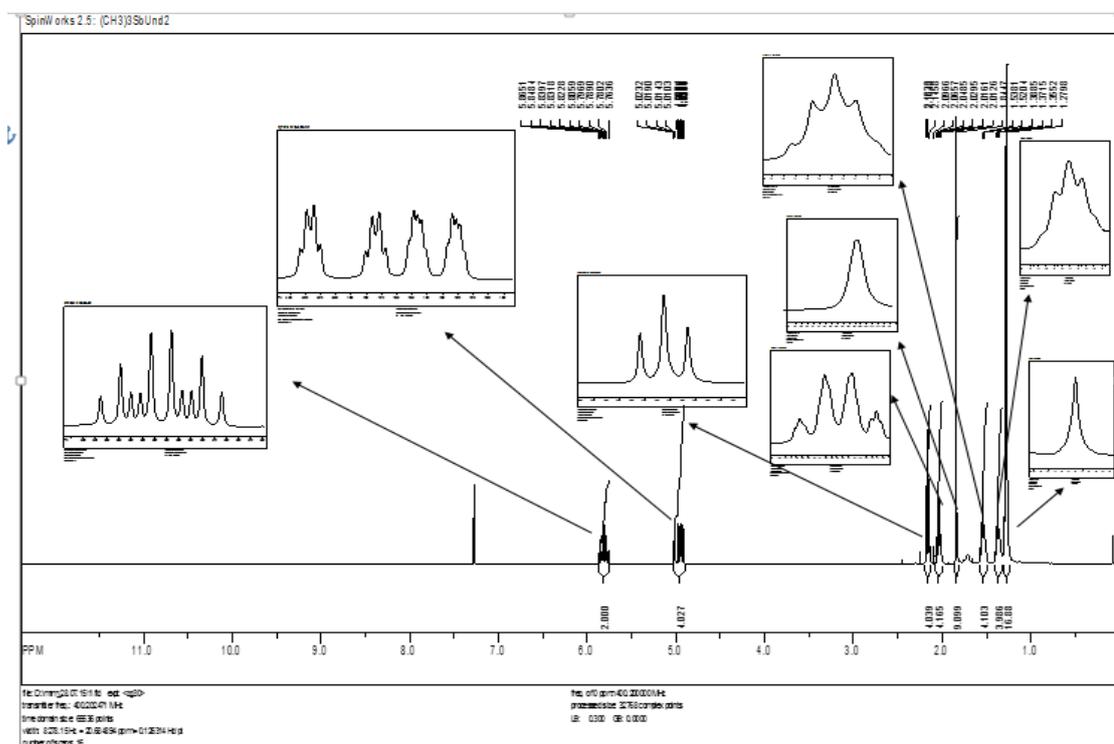


Figura 4.3 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **(UND) $_2$ SbPh $_3$**  ( $\text{CDCl}_3$ ).



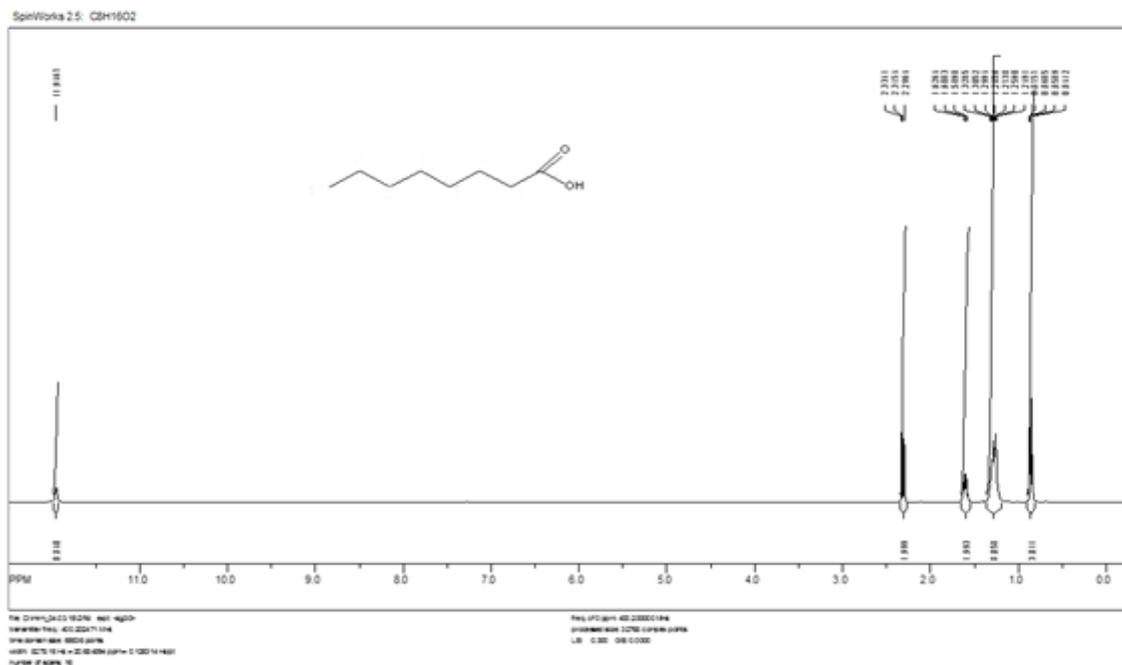


**Figura 4.6** Espectro ampliado de RMN de  $^1\text{H}$  do  $(\text{UND})_2\text{Sb}(\text{CH}_3)_3$  ( $\text{CDCl}_3$ ).

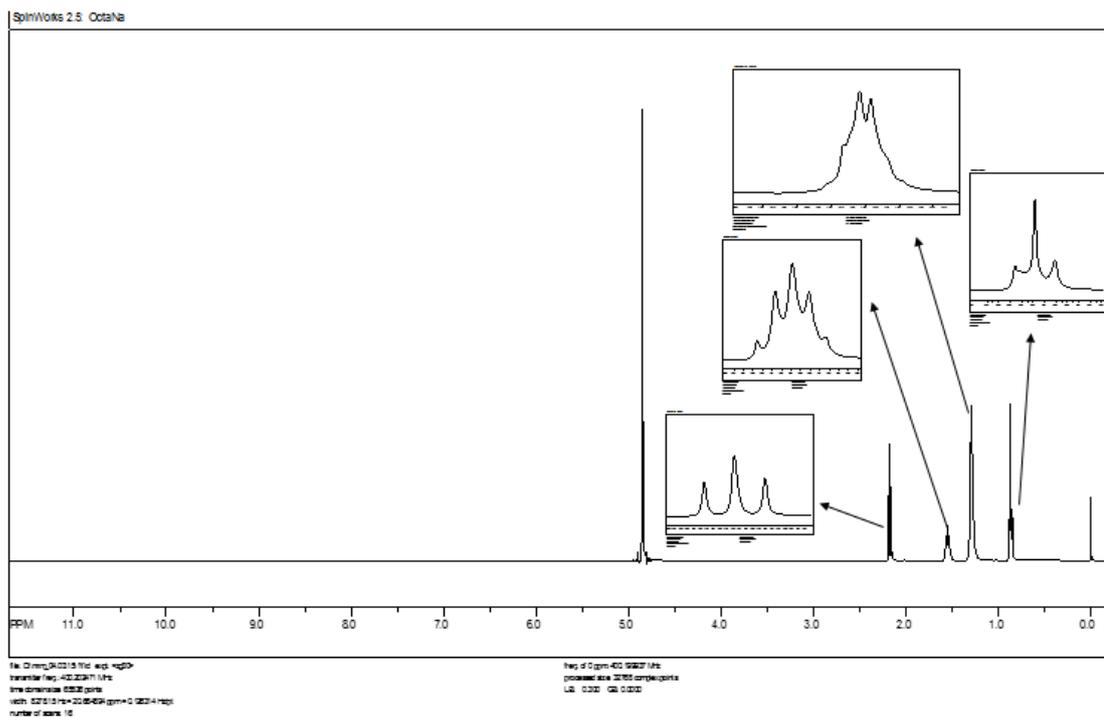


hidrogênios. Os valores de integral teóricos mostram que há dois fragmentos de octanoato em cada um dos complexos.

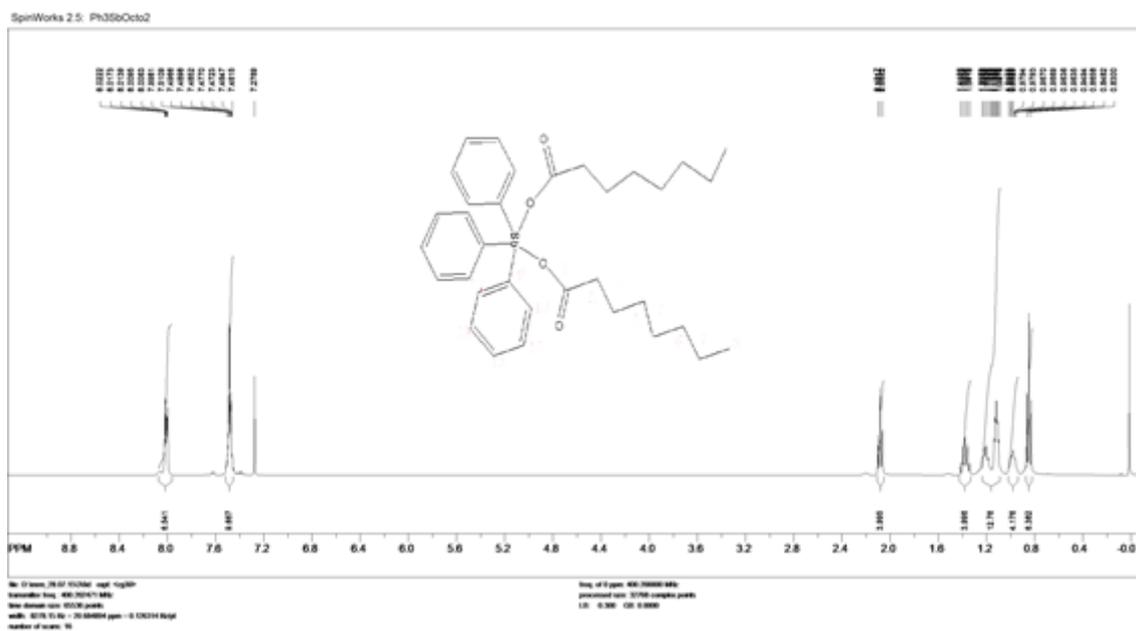
**Figura 4.7** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do ácido octanoico ( $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.8** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do **OCTANA** ( $\text{D}_2\text{O}$ ).



**Figura 4.9** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do  $(\text{OCTA})_2\text{SbPh}_3$  ( $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 4.10** Espectro ampliado de RMN de  $^1\text{H}$  do  $(\text{OCTA})_2\text{SbPh}_3$  ( $\text{CDCl}_3$ ).

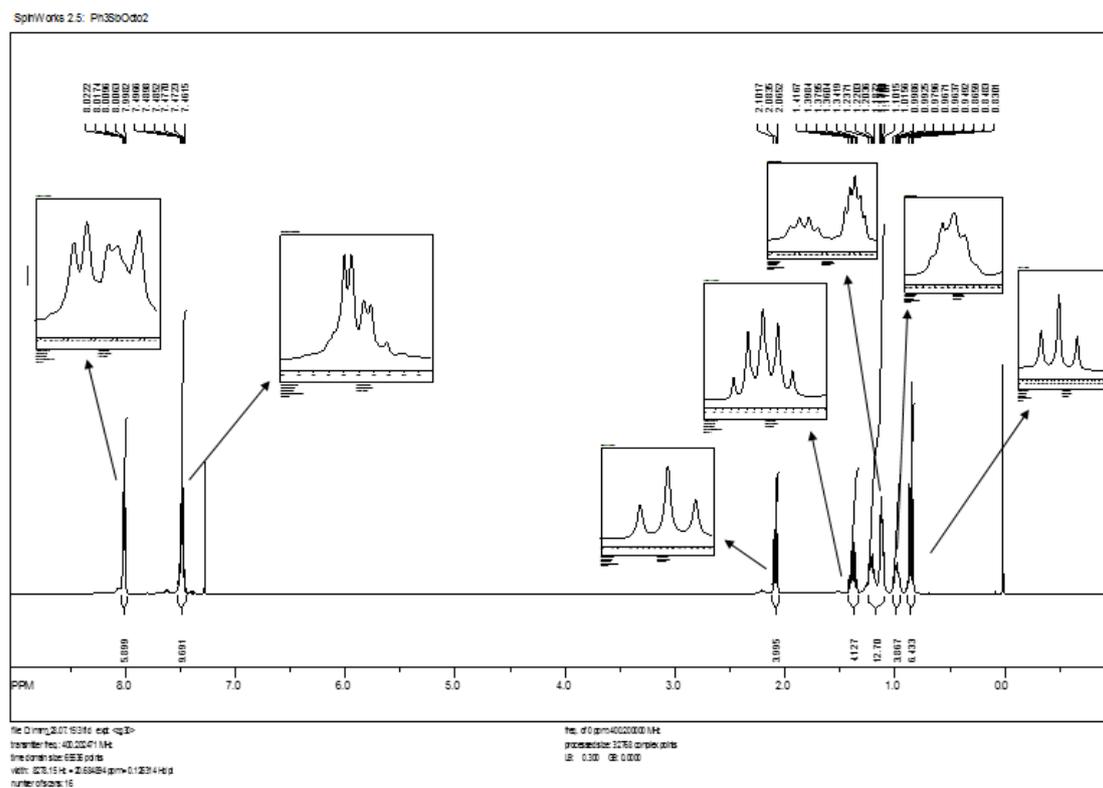


Figura 4.11 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do  $(\text{OCTA})_2\text{Sb}(\text{CH}_3)_3$  ( $\text{CDCl}_3$ ).

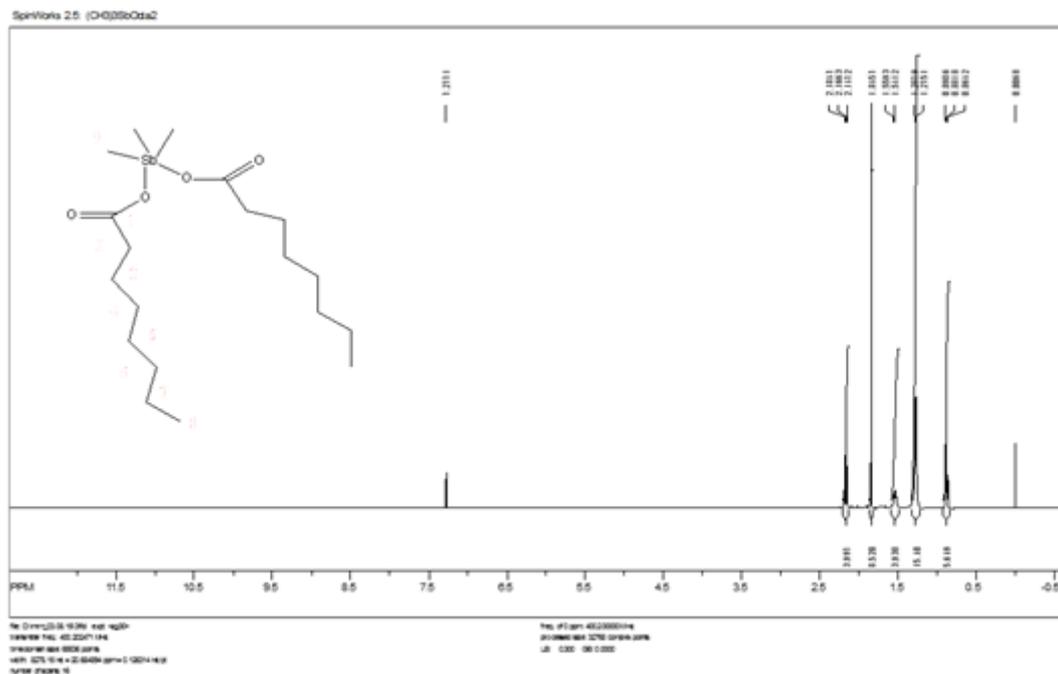
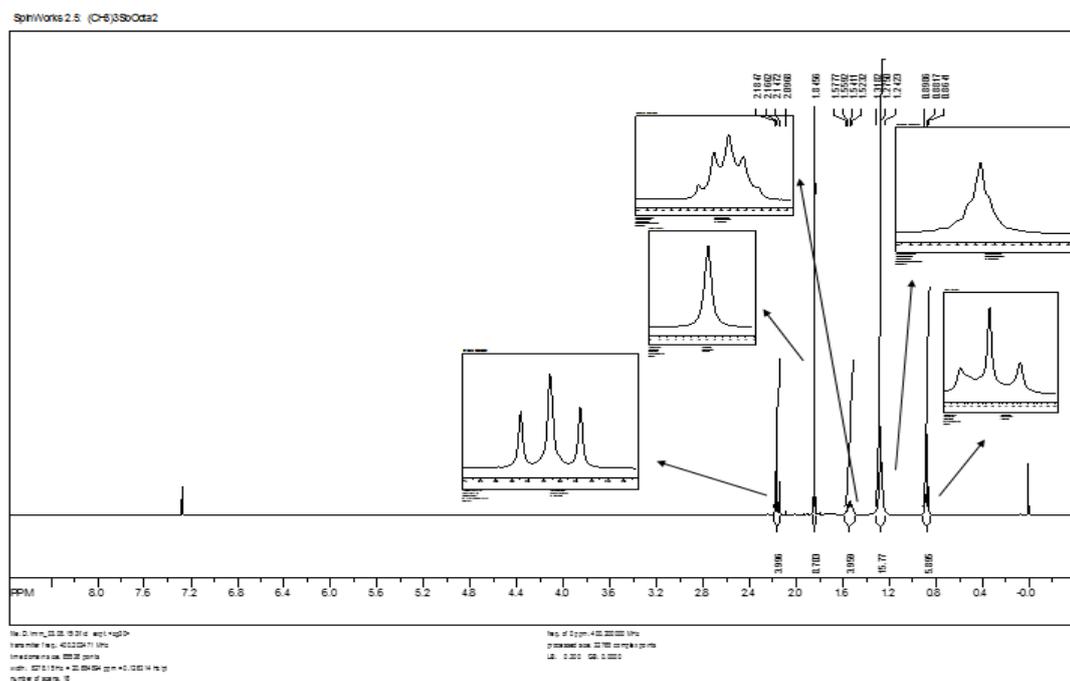


Figura 4.12 Espectro ampliado de RMN de  $^1\text{H}$  do  $(\text{OCTA})_2\text{Sb}(\text{CH}_3)_3$  ( $\text{CDCl}_3$ ).

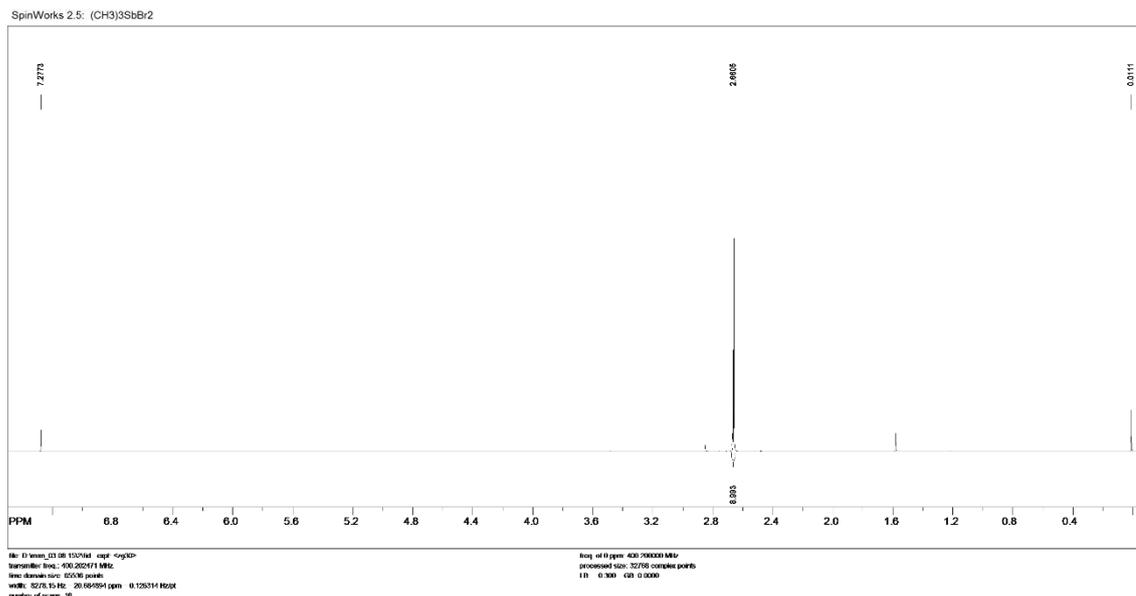








**Figura 4.18** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do  $(\text{CH}_3)_3\text{SbCl}_2$  ( $\text{CDCl}_3$ ).



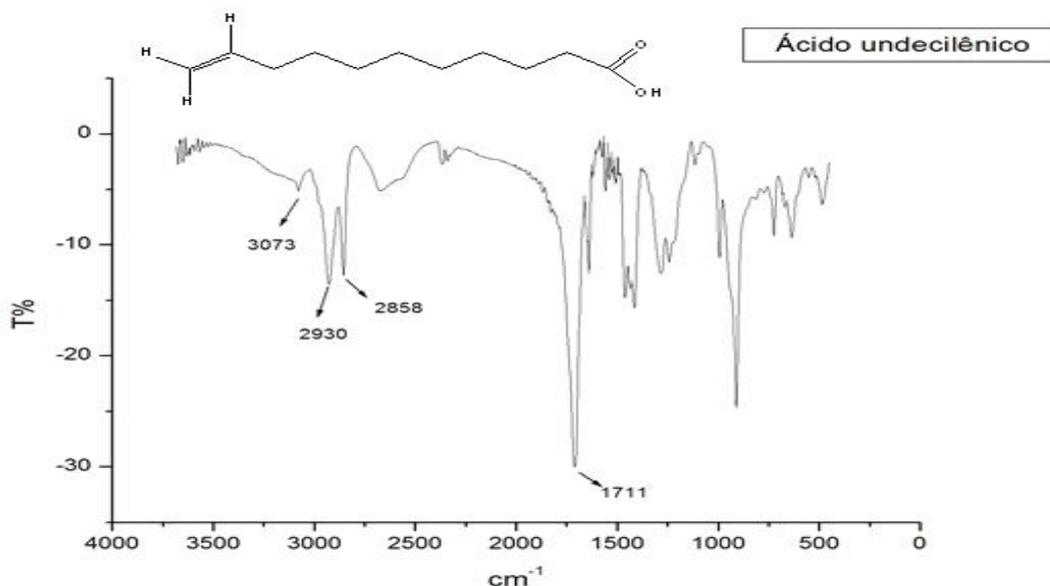
#### 4.1.5 Espectroscopia de Infravermelho Médio (IV)

Nos espectros de infravermelho do ácido undecilênico (Figura 4.19), octanoico e hexanoico são observadas as bandas típicas de estiramento do grupo carboxílico,  $\nu(\text{COOH})$ , nas regiões entre  $1729$  e  $1711\text{ cm}^{-1}$ . Essas bandas não são observáveis nos respectivos espectros dos sais e complexos. Nos sais, ocorre o aparecimento de uma banda forte  $1559\text{--}1566\text{ cm}^{-1}$ . Estas demonstraram a formação do sal de sódio dos ácidos. Enquanto nos complexos há bandas entre  $1639$  e  $1653\text{ cm}^{-1}$ , todas referentes às vibrações de estiramento do grupamento cetona  $\nu(\text{C}=\text{O})$ . A banda entre  $3058 - 3079\text{ cm}^{-1}$ , presente nos complexos com fenilas e no ácido undecilênico, representa as vibrações de estiramento da ligação  $=\text{C}-\text{H}$ . As bandas entre  $2976 - 2843$ , observáveis em todos os espectros, indicam o estiramento assimétrico e simétrico de  $\text{C}_{\text{sp}^3}$  ( $\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$ ,  $2923\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{\text{s}} \text{CH}_2$ ,  $2843\text{ cm}^{-1}$ ) (BARBOSA, 2007).

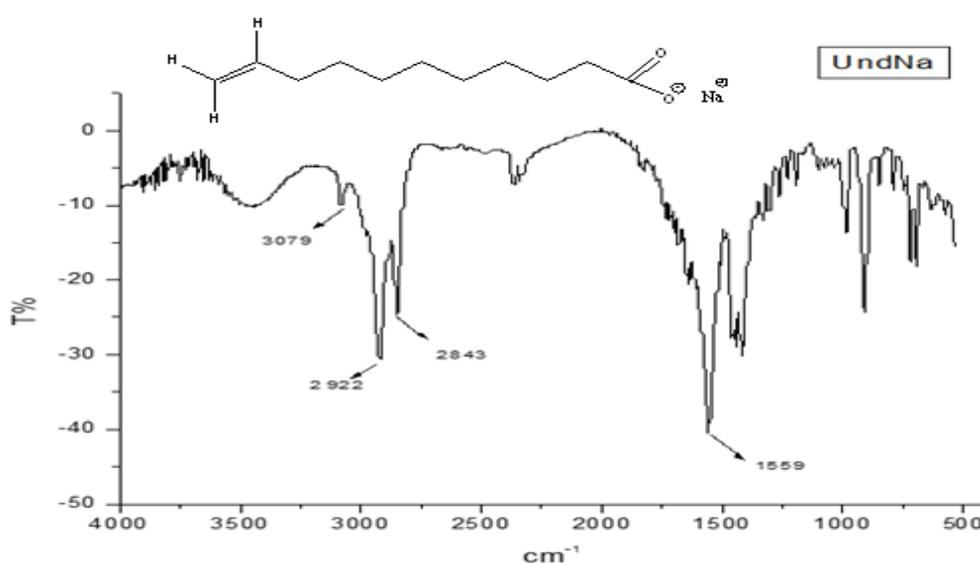
A presença da ligação  $\text{Sb}-\text{O}$  é observada por uma banda de intensidade fraca a média na região a partir de  $450\text{ cm}^{-1}$  (ISLAM et al., 2014; QUAN et al., 2009). De fato, nos complexos sintetizados, foi possível detectar uma banda a partir de  $454\text{ cm}^{-1}$  (Figuras 4.21 e 4.22) atribuída à ligação  $\text{Sb}-\text{O}$ . As bandas de deformação fora do plano atribuídas às fenilas do fragmento trifenilantimônio(V)

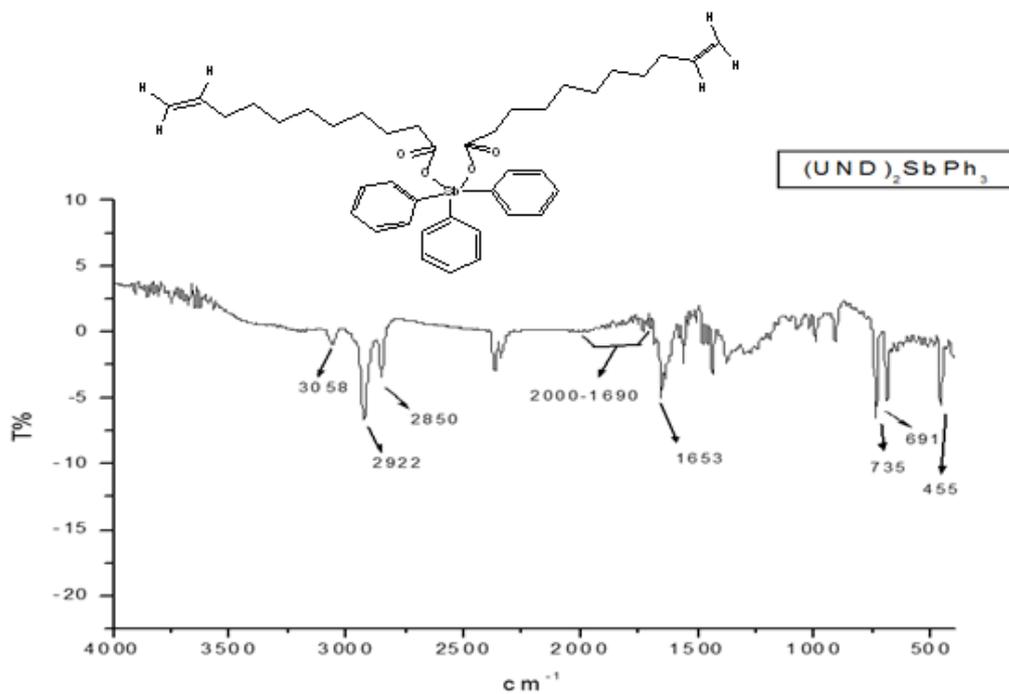
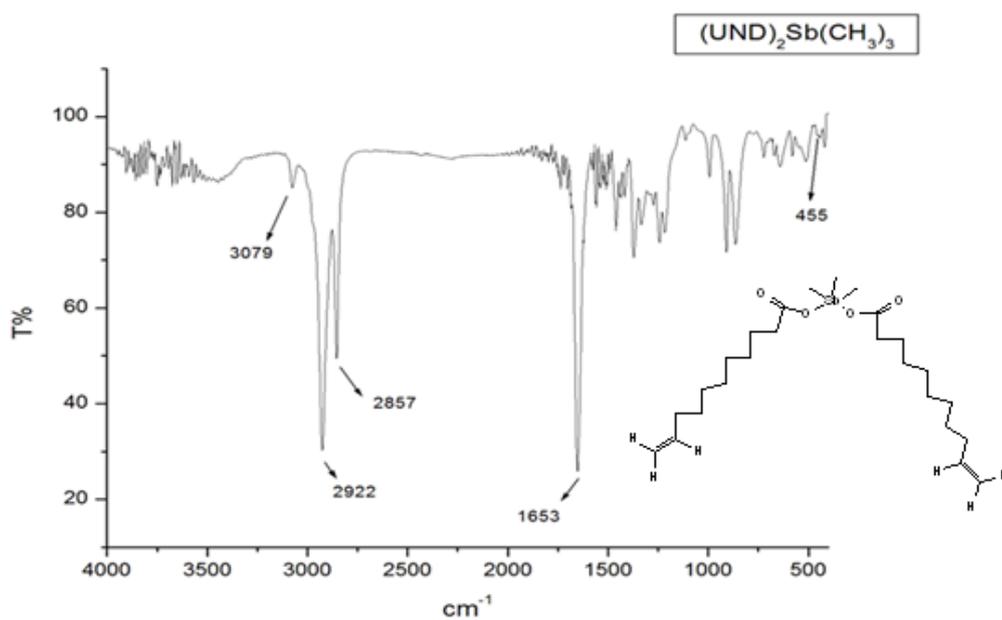
aparecem a partir de  $730\text{ cm}^{-1}$  e  $690\text{ cm}^{-1}$ . Além destas bandas, há a presença de bandas harmônicas nos 3 complexos com fenilas ( $2000\text{-}1660\text{ cm}^{-1}$ ). Diante desses dados, mais os dados de ressonância magnética nuclear, é possível confirmar a formação dos complexos de ácidos graxos. Os demais espectros estão contidos em apêndices.

**Figura 4.19** Espectro de Infravermelho de ácido undecilênico.



**Figura 4.20** Espectro de Infravermelho de **UNDNa**.

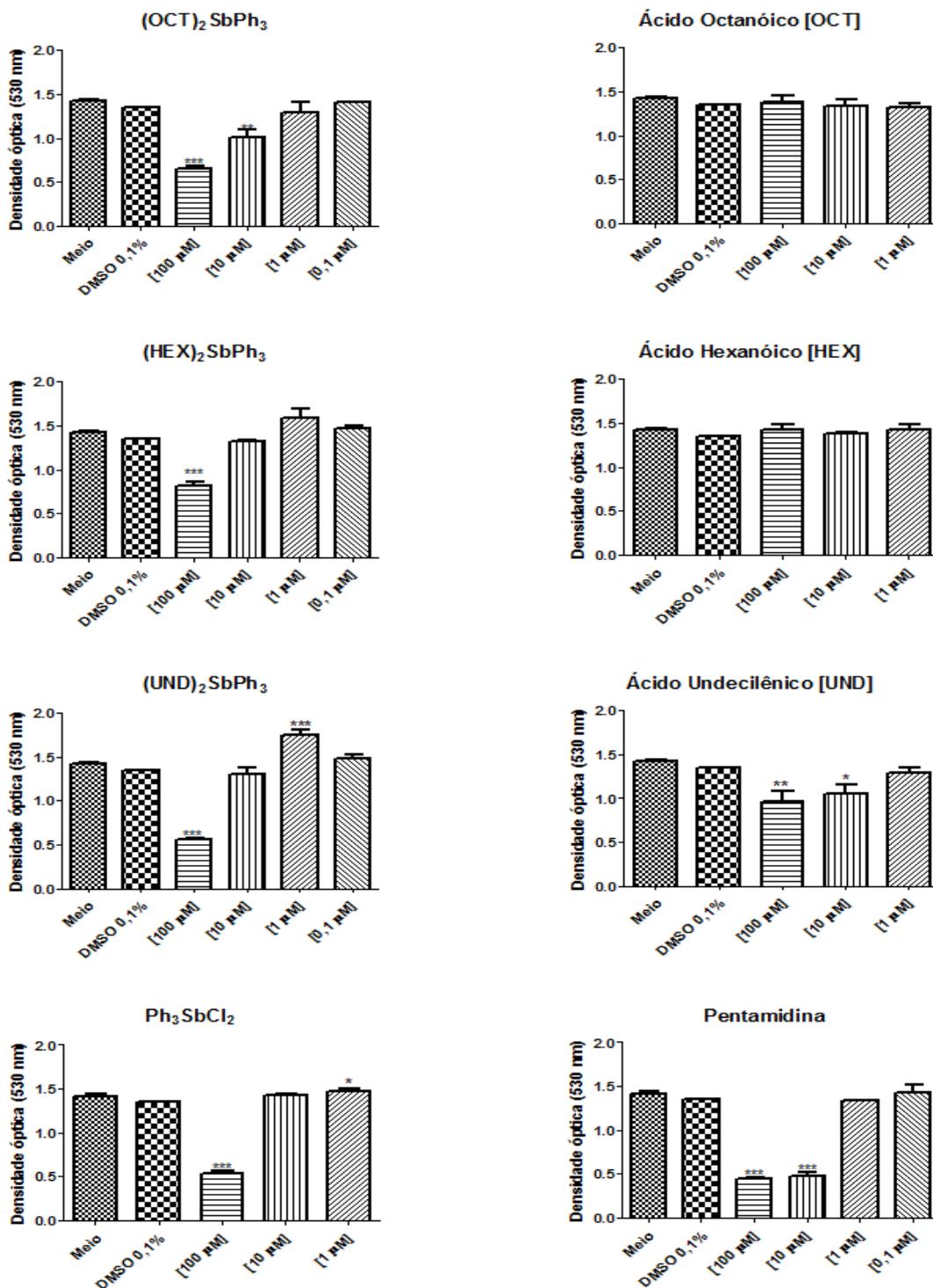


**Figura 4.21** Espectro de Infravermelho de  $(\text{UND})_2\text{SbPh}_3$ .**Figura 4.22** Espectro de Infravermelho de  $(\text{UND})_2\text{Sb}(\text{CH}_3)_3$ .

#### 4.2 Ensaio de determinação da atividade leishmanicida dos ligantes e complexos de antimônio contra *Leishmania chagasi* e *Leishmania amazonensis*

As atividades do ácido undecilênico, **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, ácido octanoico, **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, ácido hexanoico, **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, Ph<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub> e pentamidina nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1 µM, foram avaliadas sobre o crescimento de formas promastigotas de *Leishmania chagasi* e *Leishmania amazonensis*. Nenhum dos ácidos, em todas as concentrações testadas, apresentou inibição do crescimento das promastigotas de *Leishmania chagasi* e *Leishmania amazonensis*. Por isso, não foi possível calcular CI<sub>50</sub> e efeito máximo para estas substâncias. Já os complexos de fenilas mostraram inibição do crescimento de promastigotas de ambas as espécies nas concentrações máximas (Figuras 4.23 e 4.24). Em promastigotas de *Leishmania chagasi*, as CI<sub>50</sub> dos complexos **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** e **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** se mostraram semelhantes à de Ph<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub> (84 ± 12,72 e 86, 33 ± 0,23) e efeito máximo de 54,58 ± 7,64 e 57,76 ± 1,23. Não foi possível calcular CI<sub>50</sub> de **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, que apresentou efeito máximo de 46,08 ± 12,46 (Tabela 4.1)

**Figura 4.23** Avaliação da inibição do crescimento de *L. chagasi* com ácido undecilênico, (UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>, ácido octanoico, (OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>, ácido hexanoico, (HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>, Ph<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub> e pentamidina nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1 μM.

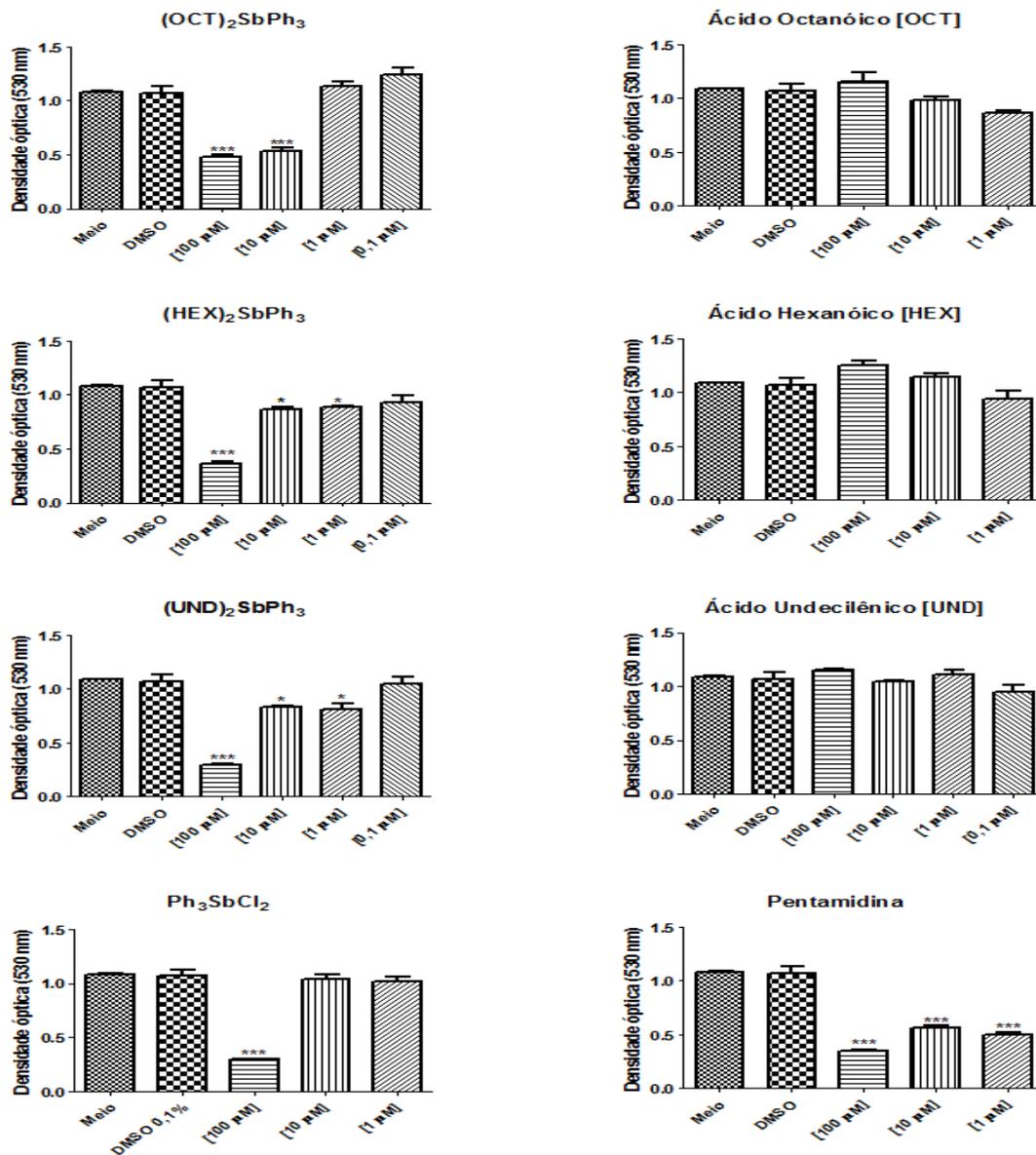


**Tabela 4.1** Determinação da potência ( $CI_{50}$ ) e efeito máximo do ácido undecilênico, **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, ácido octanoico, **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, ácido hexanoico, **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**,  $Ph_3SbCl_2$  e pentamidina (todos nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1  $\mu M$ ) sobre promastigotas de *Leishmania chagasi*.

<b>Substâncias</b>	<b><math>CI_{50}^c</math> (<math>\mu M \pm E.P.M.</math>)</b>	<b>Efeito Máximo (<math>\% \pm E.P.M.</math>)<sup>d</sup></b>
<b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b>	84 $\pm$ 12,72	52,02 $\pm$ 3,61
<b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b>	>100	39,09 $\pm$ 4,19
<b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b>	86,33 $\pm$ 0,23	57,76 $\pm$ 1,23
Ácido undecilênico	>100	NT
Ácido hexanoico	>100	NT
Ácido octanoico	>100	NT
$Ph_3SbCl_2$	85,66 $\pm$ 2,51	58,13 $\pm$ 1,46
Pentamidina	7,46 $\pm$ 0,45	66,51 $\pm$ 1,57

Os resultados referem-se a: <sup>c</sup>A Concentração Inibitória 50% ( $CI_{50}$ ) do crescimento de promastigotas e amastigotas calculados por curvas de concentração-resposta e expressa como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.); <sup>d</sup>Efeito máximo (EM) é expressa como efeito máximo  $\pm$  erro padrão da média em triplicata a partir de um experimento significativo. Os valores de EM foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ ,  $** p < 0,01$  em comparação com grupo de DMSO; NT: substância não apresenta atividade de inibição significativa para o parasito, até a concentração de 100  $\mu M$  em comparação com o grupo de DMSO.

**Figura 4.24** Avaliação da atividade de inibição do crescimento de promastigotas de *L. amazonensis* com ácido undecilênico,  $(\text{UND})_2\text{SbPh}_3$ , ácido octanoico,  $(\text{OCTA})_2\text{SbPh}_3$ , ácido hexanoico,  $(\text{HEX})_2\text{SbPh}_3$ ,  $\text{Ph}_3\text{SbCl}_2$  e pentamidina nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1  $\mu\text{M}$ . Foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ ,  $** p < 0,01$  para a concentração de 100  $\mu\text{M}$  em comparação com grupo de DMSO.



Nas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** apresentou  $CI_{50}$  de  $9,5 \pm 0,35$ , valor bastante inferior ao de  $Ph_3SbCl_2$  ( $73,5 \pm 2,12$ ), e efeito máximo de  $55,67 \pm 3,16$ , enquanto **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** e **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** tiveram  $CI_{50}$  de  $71,33 \pm 8,02$  e  $60,5 \pm 0,86$ . Seus efeitos máximos foram  $66,5 \pm 3,53$  e  $71,67 \pm 0,32$ , respectivamente (Tabela 4.2).

**Tabela 4.2** Determinação da potência ( $CI_{50}$ ) e efeito máximo do ácido undecilênico, **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, ácido octanoico, **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, ácido hexanoico, **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**,  $Ph_3SbCl_2$  e pentamidina (todos nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1  $\mu M$ ) sobre promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

Substâncias	$CI_{50}^c$ ( $\mu M \pm E.P.M.$ )	Efeito Máximo ( $\% \pm E.P.M.$ ) <sup>d</sup>
<b>(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b>	$9,5 \pm 0,35$	$55,67 \pm 3,16$
<b>(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b>	$71,33 \pm 8,02$	$66,5 \pm 3,53$
<b>(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub></b>	$60,5 \pm 0,86$	$71,67 \pm 0,32$
Ácido undecilênico	>100	NT
Ácido hexanoico	>100	NT
Ácido octanoico	>100	NT
$Ph_3SbCl_2$	$73,5 \pm 2,12$	$66,45 \pm 7,45$
Pentamidina	$31,5 \pm 9,19$	$66,17 \pm 2,70$

Os resultados referem-se a: <sup>c</sup>A Concentração Inibitória 50% ( $CI_{50}$ ) do crescimento de promastigotas e amastigotas calculados por curvas de concentração-resposta e expressa como média  $\pm$  erro padrão da média; <sup>d</sup>Efeito máximo (EM) é expressa como efeito máximo média  $\pm$  erro padrão da média em triplicata a partir de um experimento significativo. Os valores de EM foram considerados significativos quando  $p^* < 0,05$ ,  $p^{**} < 0,01$  para a concentração de 100  $\mu M$  em

comparação com grupo de DMSO; NT: substância apresenta nenhuma atividade significativa letal para a célula, até a concentração de 100  $\mu\text{M}$  em comparação com o grupo de DMSO.

### 4.3 Ensaio de viabilidade celular: Redução de MTT

A determinação da viabilidade celular foi executada por meio do ensaio de redução do MTT. Este é um ensaio colorimétrico que mede a redução do composto amarelo MTT, através da enzima mitocondrial succinato desidrogenase. O MTT penetra nas células, indo ao interior das mitocôndrias onde é reduzido a um composto roxo insolúvel (formazan). Sua redução à formazan só ocorre em células ativas, o que a torna uma medida da viabilidade celular (SOFLAEI et al., 2012). Culturas de macrófagos J774 foram tratadas ou não com as substâncias por um período de 48 horas.

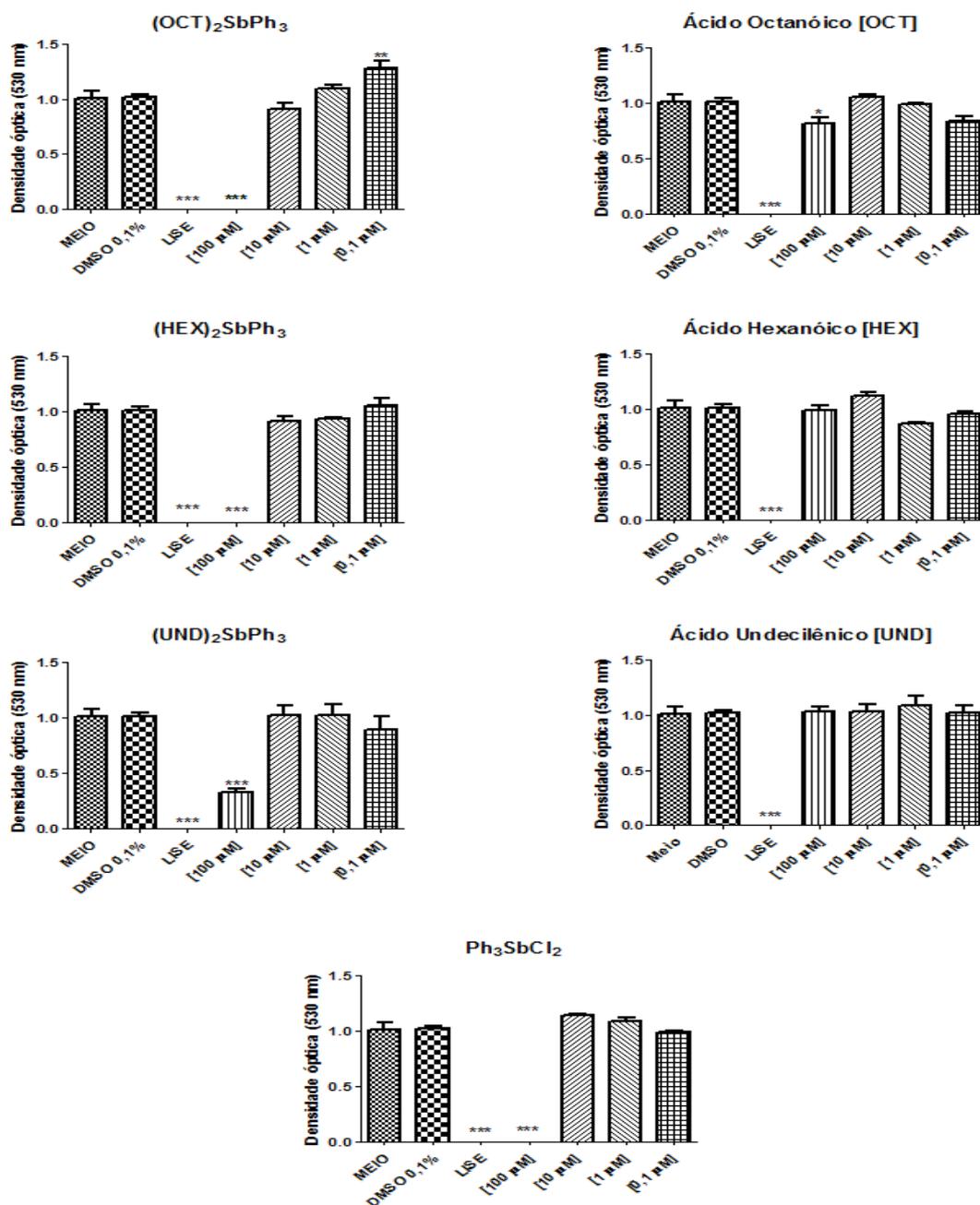
**Tabela 4.3** Determinação da concentração letal ( $\text{CL}_{50}$ ) do **(OCTA) $_2$ SbPh $_3$** , **(HEX) $_2$ SbPh $_3$** , **(UND) $_2$ SbPh $_3$** , ácido undecilênico, ácido hexanoico, ácido octanoico e  $\text{Ph}_3\text{SbCl}_2$  (todos nas concentrações de 100  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ ) para macrófagos da linhagem J774 no ensaio de MTT.

Substâncias	$\text{CL}_{50}^a$ ( $\mu\text{M} \pm \text{E.P.M.}$ )	Citotoxicidade Máxima ( $\% \pm \text{E.P.M.}$ ) <sup>b</sup>
<b>(OCTA)<math>_2</math>SbPh<math>_3</math></b>	52,16 $\pm$ 3,01	100
<b>(HEX)<math>_2</math>SbPh<math>_3</math></b>	55,33 $\pm$ 0,57	100
<b>(UND)<math>_2</math>SbPh<math>_3</math></b>	76,66 $\pm$ 0,23	66,25 $\pm$ 5,14
Ácido undecilênico	>100	NT
Ácido hexanoico	>100	NT
Ácido octanoico	>100	NT
$\text{Ph}_3\text{SbCl}_2$	>100	NT

Os resultados referem-se a: <sup>a</sup>A concentração letal 50% (CL<sub>50</sub>), calculada pela curva concentração-resposta tóxicos. <sup>b</sup>Média ± erro padrão da média máxima de citotoxicidade em triplicata de um experimento representativo. Os valores do efeito máximo foram considerados significativos quando p \* <0,05, \*\* p <0,01 comparado com o grupo de DMSO de 0,1; NT: substância apresenta nenhuma atividade significativa letal para a célula, até a concentração de 100 µM em comparação com o grupo de DMSO.

Os três complexos ((**OCTA**)<sub>2</sub>**SbPh**<sub>3</sub>, (**HEX**)<sub>2</sub>**SbPh**<sub>3</sub>, (**UND**)<sub>2</sub>**SbPh**<sub>3</sub>) (Tabela 4.3) apresentaram citotoxicidade significativa na concentração de 100 µM, porém foi menor que a apresentada por Ph<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub>. (**OCTA**)<sub>2</sub>**SbPh**<sub>3</sub>, (**HEX**)<sub>2</sub>**SbPh**<sub>3</sub>, (**UND**)<sub>2</sub>**SbPh**<sub>3</sub> mostraram CL<sub>50</sub> de 52,16 ± 3,01, 55,33 ± 0,57 e 76,66 ± 0,23, e citotoxicidade máxima de 100, 100 e 66,25 ± 5,14, respectivamente. Os ácidos não apresentaram toxicidade significativa, portanto não foi possível calcular CL<sub>50</sub> e citotoxicidade máxima. Ph<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub> mostrou alta toxicidade na concentração de 100 µM. Não foi possível calcular suas CL<sub>50</sub> e citotoxicidade máxima (Figura 4.25).

**Figura 4.25** Avaliação de viabilidade celular com ácido undecilênico,  $(\text{UND})_2\text{SbPh}_3$ , ácido octanoico,  $(\text{OCTA})_2\text{SbPh}_3$ , ácido hexanoico,  $(\text{HEX})_2\text{SbPh}_3$  e  $\text{Ph}_3\text{SbCl}_2$  nas concentrações de 100, 10, 1 e 0,1  $\mu\text{M}$ . Foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ ,  $** p < 0,01$  para a concentração de 100  $\mu\text{M}$  em comparação com grupo de DMSO, meio e lise.



**CONCLUSÕES**

## 5 CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos, é possível concluir que a metodologia utilizada para a síntese dos complexos foi eficiente, pois sua formação foi ratificada por meio de técnicas de RMN e infravermelho. Os complexos **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>**, **(HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** foram testados em formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. chagasi*, e demonstraram capacidade de inibir o seu crescimento, ao contrário de seus ligantes. **(OCTA)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** mostrou  $CL_{50}$  menor que a de  $Ph_3SbCl_2$  frente a promastigotas de *Leishmania chagasi* e *Leishmania amazonensis*.

No ensaio de MTT, **(UND)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>** apresentou maior  $CL_{50}$  e menor citotoxicidade máxima, em relação aos outros complexos e  $Ph_3SbCl_2$ . **(UND)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>**, **(OCTA)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>** e **(HEX)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>** estão sendo submetidos a estes ensaios, assim como os outros complexos de fenilas, estão sendo submetidos aos ensaios de avaliação de formas amastigotas, de quantificação de óxido nítrico e os outros ensaios que permitirão avaliar sua atividade farmacológica e confirmar seu potencial leishmanicida.

## **REFERÊNCIAS**

## REFERÊNCIAS

- AGORAMOORTHY, G. et al. Antibacterial and antifungal activities of fatty acid methyl esters of the blind-your-eye mangrove from India. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 739-742, 2007.
- ALVES, P. F. R.; RIBAS-SILVA, R. C. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana na região centro ocidental do Paraná. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v.8, n.1, p.77-84, 2013.
- ARAÚJO, V. C. P. et al. Hairless mice as an experimental model of infection with *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Experimental Parasitology**, v.157, p. 138-144, 2015.
- ASSIS, R. R. et al. Glycoconjugates in New World species of *Leishmania*: Polymorphisms in lipophosphoglycan and glycoinositolphospholipids and interaction with hosts. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1820, p. 1354-1365, 2012.
- ATLAS de leishmaniose tegumentar americana: diagnósticos clínico e diferencial.** Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006.
- ÁVILA, J.L. et al. Specific inhibitory effect of 3-deazaneplanocin A against several *Leishmania mexicana* and *Leishmania braziliensis* strains. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 57, n. 4, p. 407-412, 1997.
- BANETH, G.; THAMSBORG, S. M.; OTRANTO, D.; GUILLOT, J.; BLAGA, R.; DEPLAZES, P.; SOLANO-GALLEGO, L. Major Parasitic Zoonoses Associated with Dogs and Cats in Europe. **J. Comp. Path.**, p. 1-21, 2015.
- BARBOSA, L. C. A. Absorções de grupos funcionais comuns. IN: BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos.**, 1 ed. p. 55-82, Viçosa: UFV, 2007.

BECKER, I. et al. *Leishmania* lipophosphoglycan (LPG) activates NK cells through toll-like receptor-2. **Molecular & Biochemical Parasitology.**, v. 130, p. 65-74, 2003.

BENTO, D. B. et al. Oxidative stress in mice treated with antileishmanial meglumine antimoniate. **Research in Veterinary Science.**, v. 95, p. 1134-1141, 2013.

CARBALLEIRA, N. M. et al. Total synthesis and antileishmanial activity of the natural occurring acetylenic fatty acids 6-heptadecynoic acid and 6-icosynoic acid. **Lipids.**, v. 44, p. 953-961, 2009.

CHAUDURI, G.; GHOSHAL, K; BANERJEE, A. B. Toxic effects of fatty acids on *Leishmania donovani* promastigotes. **Indian Med. Res.**, v. 84, p. 361-365, 1986.

CHOUHAN, G. et al. Apoptosis mediated leishmanicidal activity of *Azadirachta indica* bioactive fractions is accompanied by Th1 immunostimulatory potential and therapeutic cure *in vivo*. **Parasites & Vectors.**, p. 1-24, 2015.

CUNNINGHAM, L. V.; KAZAN, B. H.; KUWAHARA, S. S. Effect of longchain fatty acids on some trypanosomatid flagellates. **Journal of General Microbiology.**, v. 70, p. 491-496, 1972.

DESBOIS, A. P.; SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 85, p. 1629-1642, 2010.

DUQUE, G. A.; DESCOTEAUX, A. Leishmania survival in the macrophage: where the ends justify the means. **Current Opinion in Microbiology.**, v. 26, p. 32-40, 2015.

FERREIRA, Magna Íris Lima. **Efeitos colaterais do glucantime® no tratamento da leishmaniose tegumentar americana descritos em prontuários de pacientes do hospital são José de doenças infecciosas (HSJ) – CE.** Monografia (Especialização em dermatoses de interesse sanitário) - Escola de Saúde Pública do Ceará, Ceará, 2007.

FREITAS, Aline de Araújo. **Caracterização da resposta inflamatória local e sistêmica em camundongos infectados com cisticercos de *Taenia crassiceps* no subcutâneo.** Monografia (Mestrado em Imunologia) - Instituto de patologia tropical e saúde pública. Programa de pós-graduação em medicina tropical e saúde pública, Universidade federal de Goiás, 2010.

FREITAS-JÚNIOR, L. H. et al. Visceral leishmaniasis treatment: What do we have, what do we need and how to deliver it? **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 11-19, 2012.

GASPAR, M. M. et al. Targeted delivery of paromomycin in murine infectious diseases through association to nano lipid systems. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine.**, v. 11, p. 1851-1860, 2015.

GONZÁLEZ, U. et al. **Interventions for American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis (Review)**, 2. ed. Nova York: JohnWiley & Sons, 2009.

GRIESVEN, J. V.; DIRO, E. Visceral Leishmaniasis. **Infect. Dis. Clin. N. Am.**, v. 26, p. 309–322, 2012.

HAYES, D. G. et al. Modification of oligo-Ricinoleic Acid and Its Derivatives with 10-Undecenoic Acid via Lipase-Catalyzed Esterification. **Polymers**, v. 4, p.

ISLAM, A. et al. Novel triphenylantimony(v) and triphenylbismuth(v) complexes with benzoic acid derivatives: structural characterization, in vitro antileishmanial and antibacterial activities and cytotoxicity against macrophages. **Molecules**, v. 19, p. 6009-6030, 2014.

JURENKA, J. S. Undecylenic acid—monograph. **Altern. Med. Rev.**, v. 7, n° 1, p. 68-70, 2002.

KEVRIC, I.; CAPPEL, M. A.; KEELING, J. H. New World and Old World Leishmania Infections. A Practical Review. **Dermatol. Clin.**, v.33, p.579-593, 2015.

KUMAR, S.; KUMAR, R.; KUMAR, A. Leishmania Donovanii: How it makes Fool to our Immune System. **International Journal of Scientific and Research Publications**, v. 2, n° 9, p. 1-4, 2012.

LARA-SILVA, F. O. et al. Epidemiological aspects of vector, parasite, and domestic reservoir in areas of recent transmission and no reported human cases of visceral leishmaniasis in Brazil. **Acta Tropica.**, v. 146, p. 128-136, 2015.

LAYEK, B. et al. Hexanoic Acid and Polyethylene Glycol Double Grafted Amphiphilic Chitosan for Enhanced Gene Delivery: Influence of Hydrophobic and Hydrophilic Substitution Degree. **Mol. Pharmaceutics**, v. 11, p. 982-994, 2014.

LI, X. et al. Potent in vitro antifungal activities of naturally occurring acetylenic acids. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 52, n° 7, p. 2442-2448, 2008.

MACEDO-SILVA, S. T. et al. *In vitro* activity of the antifungal azoles itraconazole and posaconazole against *Leishmania amazonenses*. **PLOS ONE.**, v.8, p. 1-14, 2013.

MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 50, n. 5, p. 341-352, 2013.

MARRAPU, V. K. et al. Design and synthesis of novel tetrahydronaphthyl azoles and related cyclohexyl azoles as antileishmanial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.**, v. 21, p. 1407-1410, 2011.

MOSCHONAS, G. Activity of caprylic acid, carvacrol,  $\epsilon$ -polylysine and their combinations against *Salmonella* in not-ready-to-eat surface-browned, frozen, breaded chicken products. **Journal of Food Science.**, v. 77, n°. 7, p. M405-M411, 2012.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. **J. Immunol. Methods.**, v.65, p.55-63, 1983.

MUHAMMAD, N. et al. Organotin(IV) 4-nitrophenylethanoates: Synthesis, structural characteristics and intercalative mode of interaction with DNA. **Journal of Organometallic Chemistry.**, v. 694, p. 3431-3437, 2009.

OLEKHNOVITCH, R.; BOUSSO, P. Induction, propagation, and activity of host nitric oxide: lessons from *Leishmania* infection. **Trends in Parasitology.**, v. 20, n°10, p. 1-12, 2015.

OLEKHNOVITCH, R. et al. Collective nitric oxide production provides tissue-wide immunity during *Leishmania* infection. **The Journal of Clinical Investigation.**, v. 124, n° 4, 2014.

OLIVEIRA, E. N.; PIMENTA, A. M. Perfil epidemiológico das pessoas portadoras de leishmaniose visceral no município de Paracatu – MG no período de 2007 a 2010. **Rev Min Enferm.**, v.18, n° 2, p. 365-370, 2014.

PACE, D. Leishmaniasis. **Journal of Infection.**, v. 69, p. S10-S18, 2014.

PATIL, R. S. et al. Synthetic and Natural Products Against Leishmaniasis: A Review. **World J Public Health Sciences.**, v. 1, p. 7-22, 2012.

POHL, C. H.; KOCK, J. L. F.; THIBANE, V. S. Antifungal free fatty acids: a review. IN: **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances.**, v. 1, p. 61-71, Spain: Formatex, 2011.

RIBEIRO, Mariana Vagos. **Novas estratégias terapêuticas para a leishmaniose: Efeitos do p -cimeno e 2-nitro-p -cimeno em *Leishmania Infantum*.** Monografia (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, 2011.

RODRIGUES, I. A. et al. *Arrabidaea chica* hexanic extract induces mitochondrion damage and peptidase inhibition on *Leishmania spp.* **BioMed Research International.**, p. 1-7, 2014.

RUIZ-RICO, M. et al. Bactericidal activity of caprylic acid entrapped in mesoporous silica nanoparticles. **Food Control.**, v. 56, p. 77-85, 2015.

QUAN, L. et al. Synthesis, characterization and crystal structures of tri- and tetraphenylantimony(V) compounds containing arylcarbonyloxy moiety. **J. Organomet. Chem.** v. 694, p. 3708–3717, 2009.

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

ROCHA, T. J. M. Perfil epidemiológico relacionado aos casos de letalidade por leishmaniose visceral em Alagoas: uma análise entre os anos de 2007 a 2012. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 36, p. 17-20, 2015.

SANTOS, D.O. et al. Leishmaniasis treatment—a challenge that remains: a review. **Parasitol. Res.**, v. 103, p. 1-10, 2008.

SHAPIRO, T. A.; GOLDBERG, D. D. Quimioterapia das infecções por protozoários. IN: BRUNTON, L. L. et al. **Goodman e Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica**, 11 ed, p. 917-961, Porto Alegre: AMGH, 2010.

SHARUTIN, V. V. et al. Synthesis and structure of triphenylantimony dipropionate. **Russian Journal of Coordination Chemistry**, v. 27, n° 5, 2001.

SINGH, S. Changing trends in the epidemiology, clinical presentation, and diagnosis of *Leishmania*–HIV co-infection in India. **International Journal of Infectious Diseases.**, v. 29, p. 103-112, 2014.

STOCKDALE, L.; NEWTON, R. A Review of Preventative Methods against Human Leishmaniasis Infection. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, v. 7, n. 6, p. 1-15, 2013.

SOFLAEI, S. et al, Anti-leishmanial activities of selenium nanoparticles and selenium dioxide on *Leishmania infantum*. **Comp. Clin. Pathol.**, v. 23, p. 15-20, 2012.

TIUMAN, T. S. et al. Recent advances in leishmaniasis treatment. **International Journal of Infectious Diseases.**, v. 15, p. e525-e532, 2011.

TORRES, F. A. E. et al. New drugs with antiprotozoal activity from marine algae: a review. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 24, p. 265-276, 2014.

UENO, N.; WILSON, M. E. Receptor-mediated phagocytosis of *Leishmania*: Implications for intracellular survival. **Trends Parasitol.**, v. 28, n. 8, p. 335-344, 2012.

WALKER, D. M. et al. Mechanisms of cellular invasion by intracellular parasites. **Cell Mol Life Sci.**, v. 71, n. 7, p. 1245-1263, 2014.

WHO: **World Health Organization**, Leishmaniasis. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>>. Acesso em 15 nov 2015.

# APÊNDICES

**Quadro 3.1** Laboratórios onde foram realizadas as atividades experimentais.

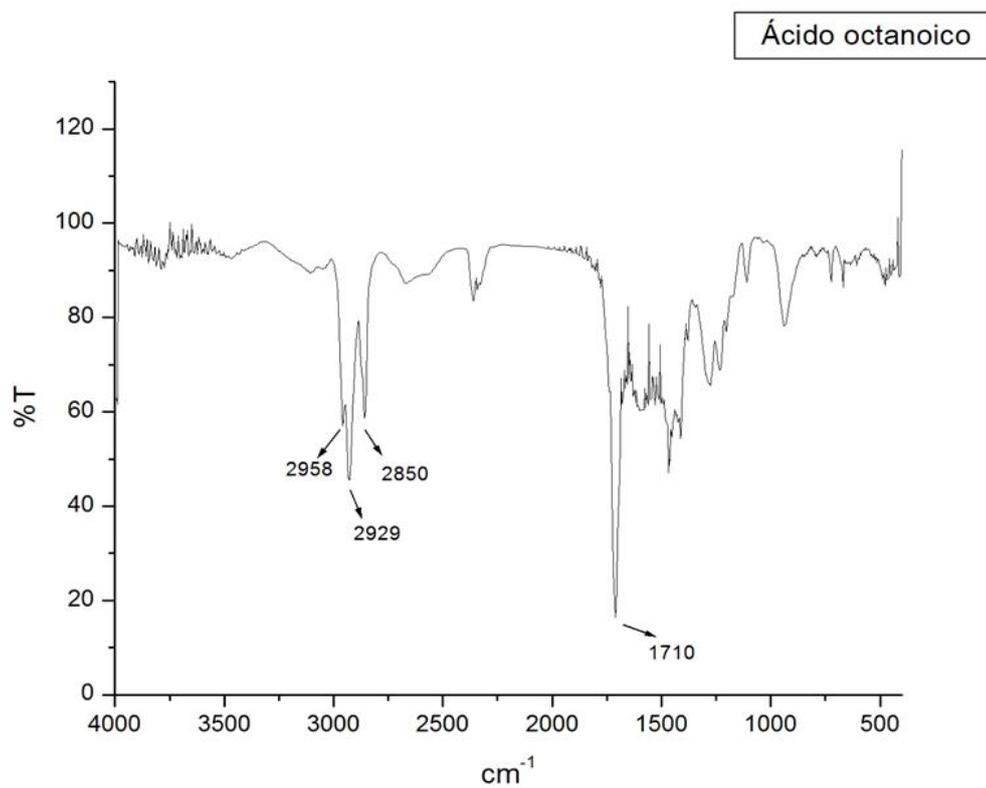
<b>Atividade</b>	<b>Laboratório</b>
Síntese dos complexos de antimônio (V)	Laboratório do Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (IQB/UFAL)
Análises por espectroscopia de ressonância magnética nuclear	Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do IQB/UFAL
Análises por espectroscopia na região do infravermelho médio (espectrofotômetro IRPrestige-21)	Laboratório da Central Analítica do IQB/UFAL
Avaliação da atividade leishmanicida e imunomoduladora dos complexos sintetizados.	Laboratório de Farmacologia e Imunidade (LaFI) (ICBS/UFAL)

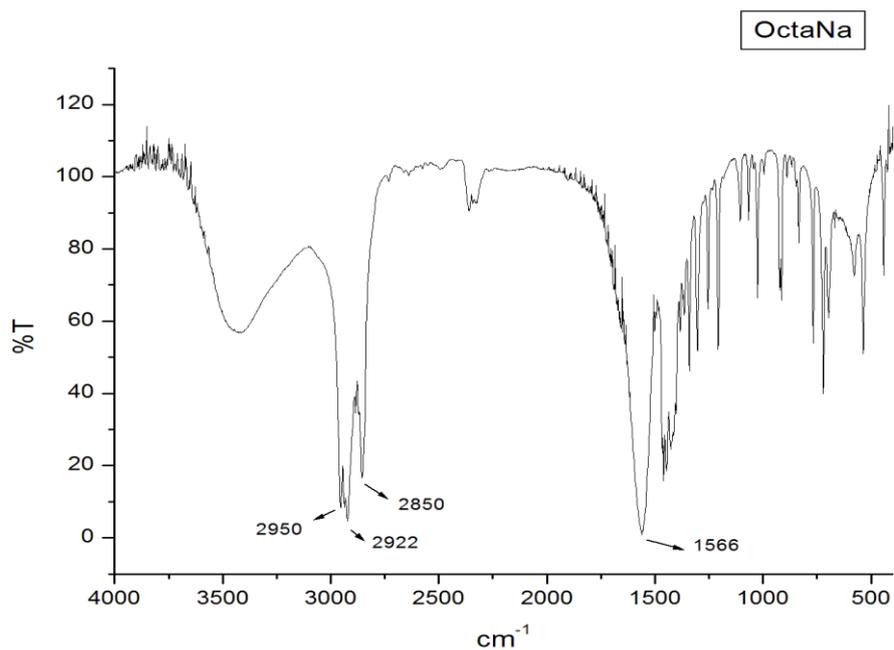
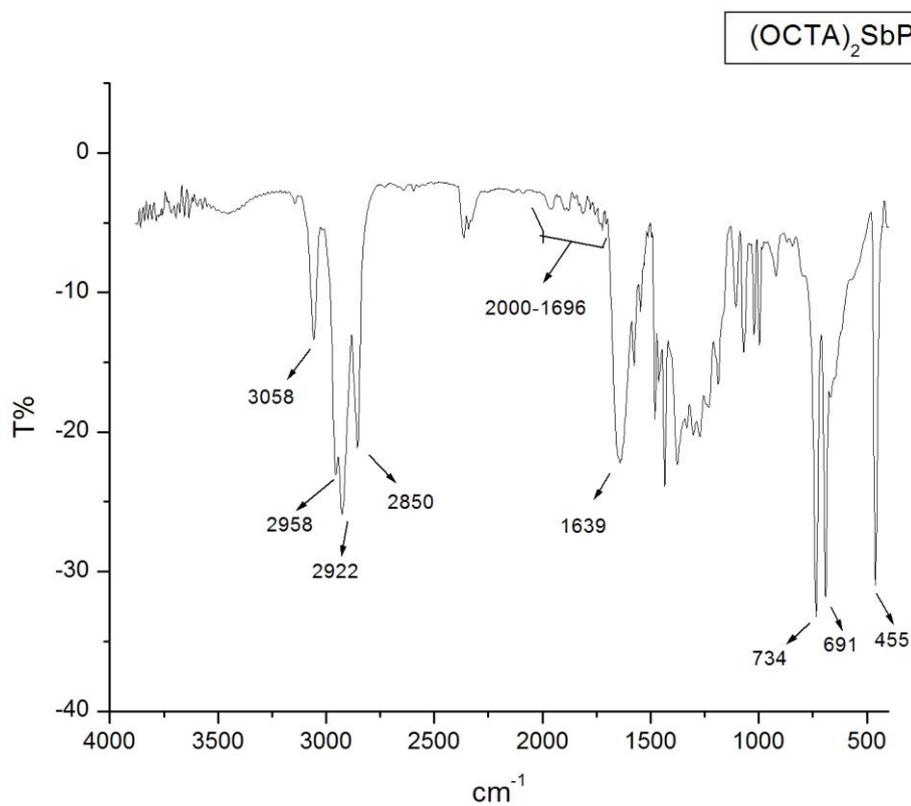
**Quadro 3.2** Lista de reagentes e solventes e suas origens

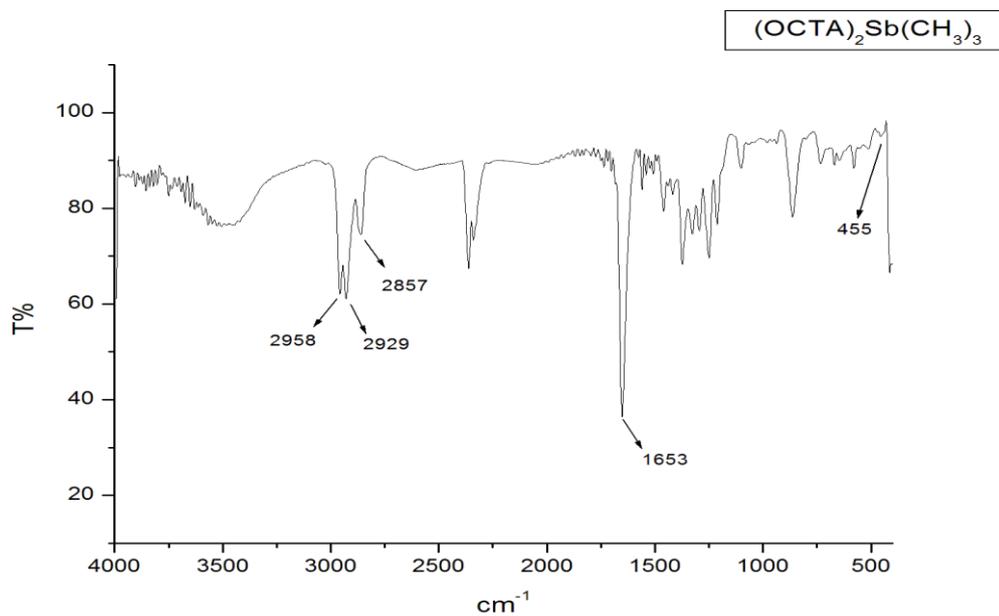
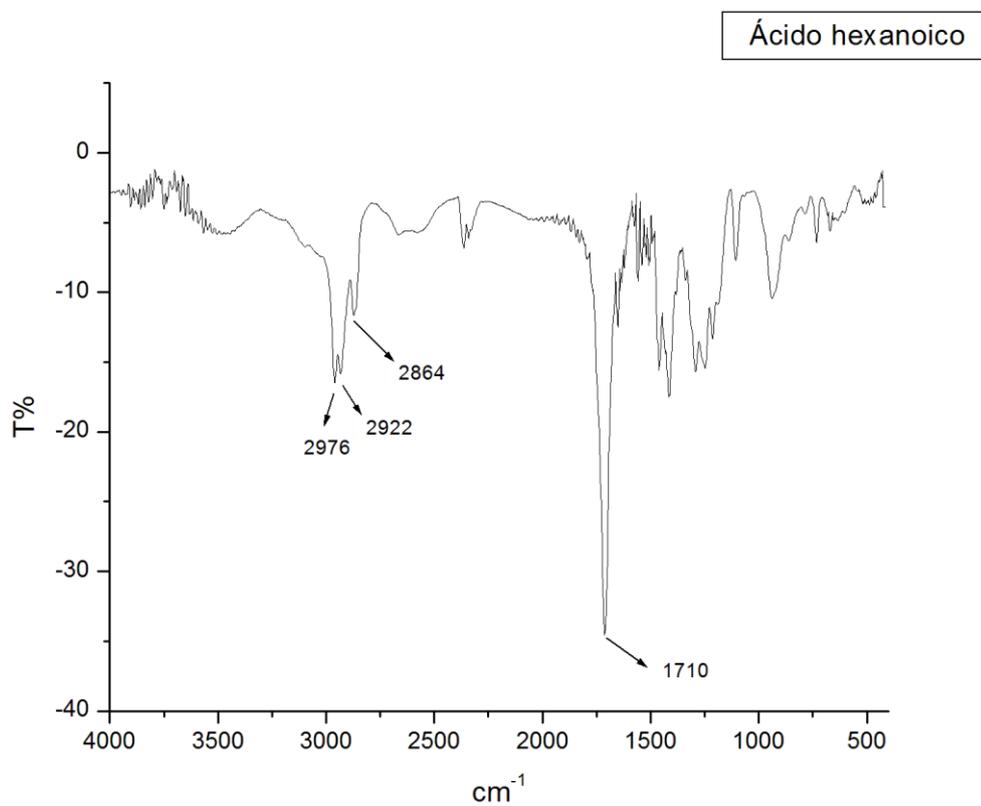
<b>Origem</b>	<b>Solventes e reagentes</b>	<b>Fórmula Molecular</b>
Sigma-Aldrich	Dicloreto de Trifenilantimônio(V)	$(C_6H_5)_3SbCl_2$
Sigma-Aldrich	Dibrometo de Trimetilantimônio(V)	$(CH_3)_3SbBr_2$
Vetec	Ácido hexanoico	$C_6H_{12}O_2$
Vetec	Ácido octanoico	$C_8H_{16}O_2$
Sigma-Aldrich	Ácido undecilênico	$C_{11}H_{20}O_2$

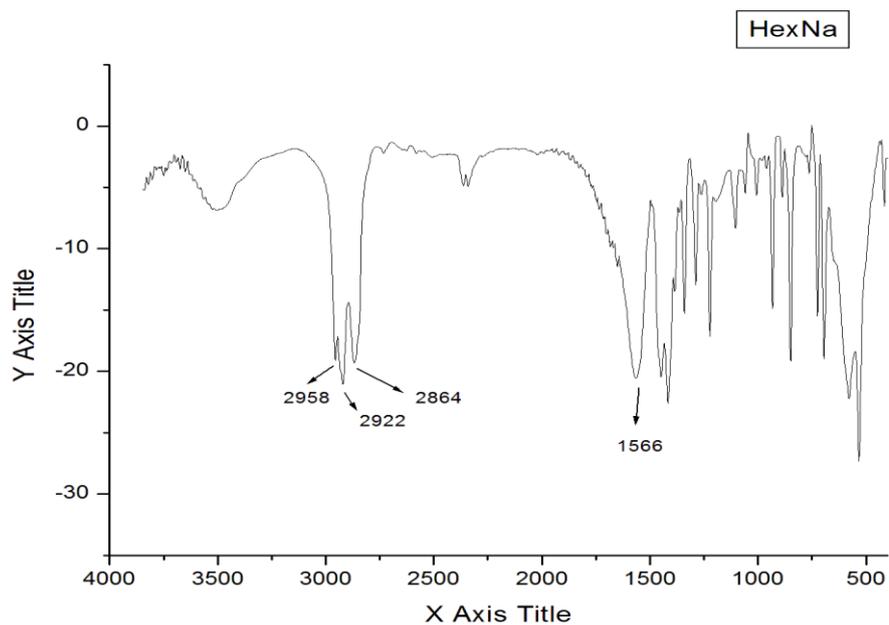
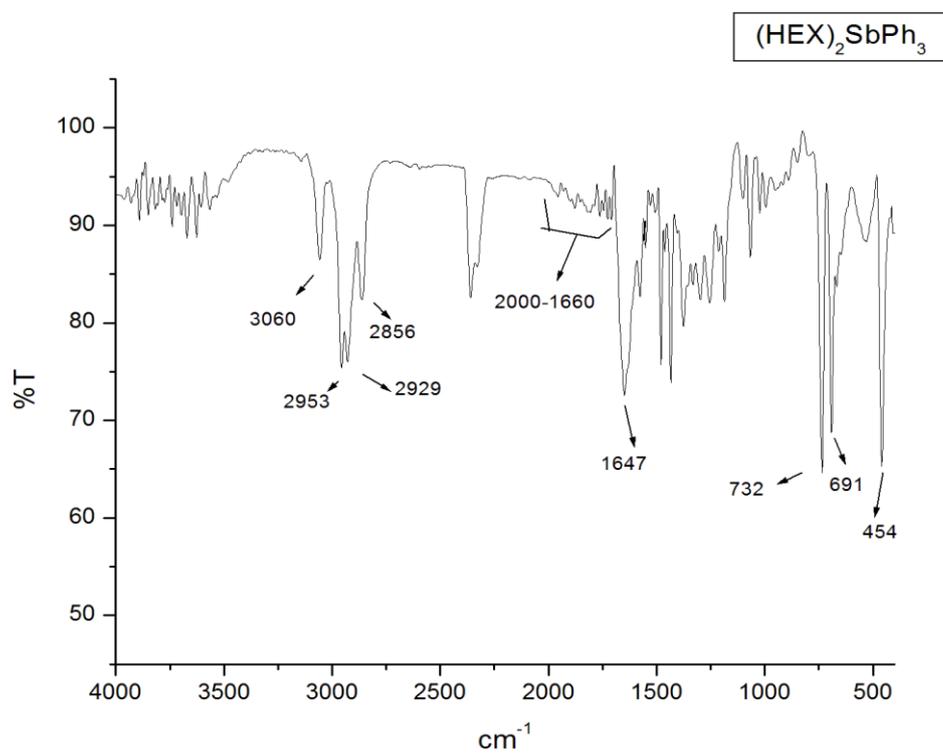
Sigma-Aldrich	Tolueno	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>
Sigma-Aldrich	Clorofórmio-D	CDCl <sub>3</sub>
Sigma-Aldrich	Bicarbonato de sódio	NaHCO <sub>3</sub>
Sigma-Aldrich	Óxido de deutério	D <sub>2</sub> O
Sigma-Aldrich	Dimetilsulfóxido	DMSO

**Apêndice A** - Espectro de Infravermelho do ácido octanoico.



**Apêndice B - Espectro de Infravermelho do OCTANa.****Apêndice C - Espectro de Infravermelho do  $(\text{OCTA})_2\text{SbPh}_3$ .**

**Apêndice D - Espectro de Infravermelho do  $(\text{OCTA})_2\text{Sb}(\text{CH}_3)_3$ .****Apêndice E - Espectro de Infravermelho do ácido hexanoico.**

**Apêndice F - Espectro de Infravermelho do HEXNa.****Apêndice G - Espectro de Infravermelho do (HEX)<sub>2</sub>SbPh<sub>3</sub>.**

**Apêndice H - Espectro de Infravermelho do (HEX)<sub>2</sub>Sb(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.**