

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

Daniele Costa Souza Barros

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE NOVOS
COMPOSTOS 4-AMINOQUINOLÍNICOS**

Maceió-AL
2019

Daniele Costa Souza Barros

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE NOVOS
COMPOSTOS 4-AMINOQUINOLÍNICOS**

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

Orientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti.

Maceió-AL
2019

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

Bibliotecário Responsável: Marcelino de Carvalho

- B277s Barros, Daniele Costa Souza.
Síntese e avaliação da atividade leishmanicida de novos compostos 4-aminoquinolínicos / Daniele Costa Souza Barros. – 2019.
110 f. : il. color.
- Orientador: Mario Roberto Meneghetti.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia. Maceió, 2019.
- Bibliografia: f. 91-103.
Apêndices: f. 104-110.
1. Leishmaniose. 2. Aminoquinolinas. 3. 4,7-dicloroquinolina. I. Título.

CDU: 615.3:616.9993.161



Ata de Exame de Dissertação

Aos vinte e um dias do mês de março de 2019, às quatorze horas, reuniu-se na Sala 204 do PPGCF da ESENFAR-UFAL, a banca examinadora composta, respectivamente, pelos doutores e pela doutora, Mario Roberto Meneghetti; João Xavier de Araújo Júnior e Morgana Vital de Araújo, para o exame de defesa da dissertação intitulada: "**Síntese e Avaliação da Atividade Leishmanicida de Novos Compostos 4-aminoquinolínicos**", elaboradora pela mestranda **Daniele Costa Souza Barros**, regularmente matriculada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Nível Mestrado, sob a orientação do Prof. Dr. **Mario Roberto Meneghetti**, que presidiu os trabalhos. Após apresentação por 35 minutos, a mestranda foi arguida pela banca. Em seguida, reunidos em sessão secreta às 16:30 horas, os examinadores emitiram o seguinte parecer: aprovada.

Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada às 16:35 horas e eu, Daniel de Brito Ricarte, Secretário do PPGCF, Curso de Mestrado, lavrei a presente ata que segue assinada pela Banca Examinadora e pela Mestranda. **Maceió, 21 de março de 2019**

Presidente (Orientador): Mario Roberto Meneghetti

Examinador Interno: Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior

Examinadora Externa: Dra. Morgana Vital de Araújo

Morgana Vital de Araújo

Mestranda: Daniele Costa Souza Barros

Daniele Costa Souza Barros

Dedico este trabalho a toda minha família, em especial a minha mãe e ao meu supremo Deus...

AGRADECIMENTOS

A *Deus* em primeiríssimo lugar, fonte de toda minha esperança.

Aos *meus pais*, Ivo e Madalena, por terem me dado uma educação familiar e cristã, a qual carrego comigo por onde eu passo, por me ensinarem a dar valor as oportunidades que a vida nos proporciona e principalmente valorizar e respeitar a vida que Deus nos deu. Muito Obrigada!

Ao meu esposo, *Valter*, por aguentar os momentos de ausência e acreditar nos meus sonhos.

Aos meus filhos, *Cicero Neto, Anna Karollyne e Ana Clara*, por me apoiarem principalmente nos momentos em que nem eu acreditava. O que faço é por vocês!

Aos meus irmãos, *Maksuelma, Cicero, Junior e Isabel*, por confiarem no meu esforço e se sentirem convidados a fazerem parte deste mundo acadêmico. Tudo é possível aquele que crê!

A toda minha família, vó Judite (*in memoriam*), sobrinhos, tios, tias, primos, primas, cunhados, cunhadas, em especial a Quitéria, que sempre me incentivou.

Ao meu orientador, *Mario Meneghetti*, que ao longo destes anos de convivência sempre se mostrou presente, demonstrando o verdadeiro valor da orientação. Por ter acreditado no meu esforço e por confiar no meu trabalho. Muito obrigada professor, saiba que levarei comigo todo o aprendizado adquirido.

Aos professores parceiros pela realização dos testes biológicos e caracterizações dos compostos sintetizados, professora *Magna Susana Alexandre Moreira*, professor *João Xavier de Araújo Junior* e ao professor *Edson de Sousa Bento*.

Às minhas amigas de graduação, *Juliana Almerino, Nyanne Livia, Rafaella Rodrigues, Maria Prudente*, que nunca romperam com o companheirismo adquirido na graduação e até hoje estão presentes na minha vida. Obrigada pela amizade de vocês!

Às minhas “figurinhas”, *Jessica Guedes, Rafael Omena, Walleska Bismaida*, que mesmo à distância sempre contribuíram para o meu crescimento e fortalecimento tanto espiritual quanto científico. Obrigada!

À *Raquel Meneses*, que além de primeira professora de química geral, também foi uma grande amiga e incentivadora do meu trabalho. Deus te abençoe!

Ao *Artur Vieira, Douglas Rozendo e Roberta Anjos*, que me auxiliaram nas análises de RMN e Infravermelho. Muito obrigada!

Ao *Flávio Monteiro e Rafael Omena*, pela realização dos testes biológicos. Desculpa aí as cobranças... vocês são demais. Muito obrigada!

Aos amigos do Gcar, *Ícaro Mota, Eid Silva, Mônica, Edriane, Marta, Abner Magalhães, Filipe Lins, Cristian, Debora Soares, Allysson, Anne Dayse, Nilson, Sarah, Lucas Natã, Lucas Nascimento, Anderson, Antônio, Claudia Calado, Daniela Padilha, Tathiane Veríssimo, Debora Olímpio, Luís Carlos, Francielle, Bruna, Geovânia, Tiago Gomes, Letícia, Darah, Daisy Brêda, Igor, Jardiel, Marcos, Mayara, Vitória, Nívea, Poly, Emerson Cupertino e Jailton*, que de uma forma ou de outra participaram direta ou indiretamente do meu projeto de mestrado. Aprendi muito com vocês!

Aos parceiros da LaFi (Laboratório de Farmacologia e Imunidade), *Amanda, Morgana, Zeca, Zinny* pelo apoio na elaboração dos testes.

À minha banca avaliadora, por toda contribuição prestada para o aprimoramento do meu trabalho.

Ao *Daniel Ricarte*, secretário da Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pelo seu comprometimento, simplicidade e competência. Sempre disposto a nos auxiliar no que fosse preciso. *Daniel você faz a diferença!*

A todos os professores que fazem parte do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pelo conhecimento compartilhado.

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

Ao Laboratório de Farmacologia e Imunidade (ICBS/Ufal) pela realização dos ensaios biológicos dos compostos.

À *Universidade Federal de Alagoas* e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

À *CAPES* pelo apoio financeiro.

“O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho.”

Abraham Lincoln

RESUMO

A leishmaniose, segundo a Organização Mundial da Saúde, está entre as sete principais doenças tropicais, endêmica em 98 países, sendo considerada um problema de saúde pública que causa anualmente de 20 a 40 mil mortes. O controle da doença é um desafio enfrentado pelas autoridades competentes devido à diversidade de agentes, vetores e reservatório, além do surgimento de parasitos resistentes a boa parte do arsenal terapêutico utilizado. O tratamento medicamentoso, centrado principalmente nos antimonialis pentavalente, provocam diversos efeitos colaterais que acabam diminuindo a adesão terapêutica e conseqüentemente aumentando a resistência parasitária. Compostos contendo o núcleo quinolínico possuem uma ampla variedade de efeitos biológicos, entre elas, atividade antimalárica e antileishmanial. Nesse contexto, realizou-se a síntese, caracterização e avaliação da atividade leishmanicida de quatro novos compostos 4-aminoquinolínicos: **D4**, **D5**, **D6** e **D7**, além dos compostos de partida **D1** e **D3**, e da bisquinolina simétrica **D2**, utilizada apenas na avaliação biológica. Os novos compostos foram obtidos através de duas metodologias diferentes, sendo os dois primeiros (**D4** e **D5**) via reação de Sonogashira e os outros dois (**D6** e **D7**) via reação de substituição nucleofílica aromática (SNAR). Todos foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN), além da Espectroscopia de Absorção na Região de Infravermelho (IV). Os rendimentos dos produtos obtidos foram moderados, ficando entre 40 e 70%. Os sete compostos 4-aminoquinolínicos foram avaliados quanto à: i) sua toxicidade em macrófagos da linhagem J774.A1 ii) sua atividade *in vitro* contra promastigotas da *L. amazonensis* iii) sua atividade *in vitro* contra promastigotas da *L. chagasi*. Os resultados obtidos mostraram que na avaliação da citotoxicidade os compostos **D1** e **D5** apresentaram a menor toxicidade (CL_{50} $87,8 \pm 4,5$ e $88,6 \pm 11,6$) dentre os compostos testados, além do **D3** que não exibiu toxicidade até a máxima concentração testada ($100 \mu\text{M}$). Na avaliação da atividade leishmanicida, as monoquinolinas **D4** e **D5** não apresentaram atividade significativa até a máxima concentração utilizada, embora o composto de partida **D3** tenha demonstrado boa atividade frente a *L. chagasi* (CL_{50} $10 \mu\text{M} \pm 1,4$). As bisquinolinas dissimétricas **D6** e **D7** mostraram atividade frente as formas promastigotas das *L. amazonensis* e *L. chagasi*, entretanto o composto **D6** foi o que obteve melhor atividade frente a ambas espécies (CI_{50} $5,7 \pm 1,8$; $8,2 \pm 0,4$). Os demais compostos não foram ativos até a máxima concentração testada. Em resumo, o trabalho mostrou que a formação das bisquinolinas favoreceu o aumento da atividade leishmanicida *in vitro* quando comparada às monoquinolinas, pelo menos frente as espécies analisadas e nas concentrações testadas.

Palavras-chaves: Leishmaniose. 4-aminoquinolinas. 4,7-dicloroquinolina. Atividade leishmanicida.

ABSTRACT

Leishmaniasis, according to the World Health Organization, is among the seven major tropical diseases, endemic in 98 countries and is considered a public health problem that causes 20 to 40 thousand deaths annually. The control of the disease is a challenge faced by the competent authorities due to the diversity of agents, vectors and reservoir, besides the appearance of parasites resistant to much of the therapeutic arsenal used. Drug treatment, mainly focused on pentavalent antimonials, causes several side effects that end up decreasing therapeutic adherence and consequently increasing parasitic resistance. Compounds containing the quinoline nucleus have a wide variety of biological effects, including antimalarial and antileishmanial activity. In this context, the synthesis, characterization and evaluation of the leishmanicidal activity of four new 4-aminoquinoline compounds: D4, D5, D6 and D7, as well as the starting compounds D1 and D3, and the symmetrical D2 bisquinoline, were used. The new compounds were obtained through two different methodologies, the first two (D4 and D5) via Sonogashira reaction and the other two (D6 and D7) via nucleophilic aromatic substitution reaction (SNAR). All were characterized by ¹H and ¹³C (NMR) nuclear magnetic resonance spectroscopy, as well as Infrared Region (IR) Absorption Spectroscopy. The yield of the obtained products were moderate, being between 40 and 70%. The seven 4-aminoquinolinic compounds were evaluated for i) their toxicity in J774.A1 macrophages ii) their in vitro activity against *L. amazonensis* promastigotes iii) their in vitro activity against *L. chagasi* promastigotes. The results showed that in the evaluation of cytotoxicity compounds D1 and D5 had the lowest toxicity (LC₅₀ 87.8 ± 4.5 and 88.6 ± 11.6) among the compounds tested, in addition to D3 that showed no toxicity up to the maximum concentration (100 μM). In the evaluation of the leishmanicidal activity, monoquinolines D4 and D5 showed no significant activity until the maximum concentration used, although the starting compound D3 showed good activity against *L. chagasi* (LC₅₀ 10 μM ± 1,4). The dissymmetric D6 and D7 bisquinolines showed activity against the promastigote forms of *L. amazonensis* and *L. chagasi*, however, the D6 was the best activity against both species (CI₅₀ 5.7 ± 1.8, 8.2 ± 0, 4). The other compounds were not active until the maximum concentration tested. In summary, the work showed that the formation of the bisquinolines favored the increase of the leishmanicidal activity in vitro when compared to the monoquinolines, at least in front of the analyzed species and in the concentrations tested.

Keywords: Leishmaniasis. 4-aminoquinolines. 4,7-dichloroquinoline. Leishmanicidal activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Pesquisadores da <i>Leishmania</i> sp.....	24
Figura 2- Casos novos de LT (A) e LV (B) 2016.....	25
Figura 3- Taxa de letalidade da LV no Brasil 2006 a 2015.....	26
Figura 4- Casos de LV por região brasileira de 2006 a 2015.....	27
Figura 5- Formas evolutivas da <i>Leishmania</i> spp.....	28
Figura 6- Taxonomia da <i>Leishmania</i>	29
Figura 7- Flebotomíneo	30
Figura 8- Ciclo de transmissão zoonótica e antroponótica das Leishmanioses.....	31
Figura 9- Ciclo de biológico da <i>Leishmania</i>	32
Figura 10- Resposta imune celular	34
Figura 11- Síndromes Clínicas Tegumentares. A) Leishmaniose cutânea localizada B) Leishmaniose cutânea disseminada C) Leishmaniose cutânea difusa D) Leishmaniose mucocutânea	36
Figura 12- Síndrome clínica visceral e sequela A) Leishmaniose Visceral B) Leishmaniose dérmica pós-calazar	37
Figura 13- Fármacos utilizados no tratamento da Leishmaniose	39
Figura 14- Anel quinolínico	41
Figura 15- Estrutura química da quinina	42
Figura 16- Alcaloides quinolínicos da <i>Galipea longiflora krause</i>	43

Figura 17- Estrutura da 8-hidroxiquinolina	44
Figura 18- Estruturas dos análogos 8-aminoquinolina	45
Figura 19- Estrutura da cloroquina	46
Figura 20- Bisquinolinas e monoquinolina com atividade antipalúdica	47
Figura 21- Intermediários formados da reação entre um nucleófilo e uma piridina	59
Figura 22- Mecanismo reacional geral das quinolinas por SNAR na posição C4	60
Figura 23- Mecanismo geral de acoplamento de Sonogashira	61
Figura 24- Espectro de RMN de ^1H do composto D1	64
Figura 25- Espectro de Infravermelho do composto D1	66
Figura 26- Espectro de RMN de ^1H do composto D3	67
Figura 27- Espectro de Infravermelho do composto D3	68
Figura 28- Espectro de RMN de ^1H do composto D4	69
Figura 29- Espectro de RMN de ^{13}C do composto D4	71
Figura 30- Espectro de Infravermelho do composto D4	72
Figura 31- Espectro de RMH de ^1H do composto D5	73
Figura 32- Espectro de RMN de ^{13}C do composto D5	75
Figura 33- Espectro de infravermelho da D5	76
Figura 34- Espectro de RMN de ^1H do composto D6	77
Figura 35- Espectro de RMN de ^{13}C do composto D6	79
Figura 36. Espectro de Infravermelho do composto D6	80

Figura 37. Espectro de RMN de ^1H do composto D7	81
Figura 38- Espectro de RMN de ^{13}C do composto D7	83
Figura 39- . Espectro de Infravermelho do composto D7	84
Figura 40- Porcentagem de inibição celular em macrófagos após tratamento com os compostos 4-aminoquinolinicos e a pentamidina.....	86
Figura 41- Estruturas das bisquinolinas testadas contra <i>Leishmania amazonensis</i>	88
Figura 42- Estruturas das monoquinolinas testadas contra <i>Leishmania amazonensis</i>	89
Figura 43- Estruturas das bisquinolinas testadas contra <i>Leishmania chagasi</i>	92
Figura 44- Estruturas das monoquinolinas testadas frente a <i>Leishmania chagasi</i>	93
Figura 45- Híbridos cinâmicos 4-aminoquinolinicos e 8-aminoquinolinicos	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Principais espécies de <i>Leishmania</i> espalhadas pelo mundo.....	34
Tabela 2- Reagentes e solventes utilizados	49
Tabela 3- Equipamentos utilizados nas caracterizações dos compostos	51
Tabela 4- Dados de RMN ¹ H da D1	64
Tabela 5- Dados do RMN de ¹ H do composto D3	66
Tabela 6- Dados do RMN de ¹ H do composto D4	68
Tabela 7- Dados do RMN de ¹³ C do composto D4	70
Tabela 8- Dados do RMN de ¹ H do composto D5	72
Tabela 9- Dados do RMN de ¹³ C do composto D5	74
Tabela 10- Dados do RMN de ¹ H do composto D6	76
Tabela 11- Dados do RMN de ¹³ C do composto D6	78
Tabela 12- Dados do RMN de ¹ H do composto D7	81
Tabela 13- Dados do RMN de ¹³ C do composto D7	82
Tabela 14- Determinação da potência (CI ₅₀) e efeito máximo dos compostos sobre promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i>	87
Tabela 15- Determinação da potência (CI ₅₀) e efeito máximo dos compostos sobre promastigotas de <i>L.chagasi</i>	90
Tabela 16- Determinação da potência (CI ₅₀) dos compostos sobre promastigotas de <i>L. amazonensis</i> e <i>L. chagasi</i>	91

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1- Reação de acoplamento tipo Sonogashira	60
Esquema 2- - Monoquinolina a partir da D3 e bisquinolina a partir da D1	62
Esquema 3- Proposta de mecanismo reacional de formação das bisquinolinas.	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP	Adenosina trifosfato
D1	<i>N</i> ¹ -(2-aminoetil) - <i>N</i> ² -(7-cloroquinolin-4-il) etano-1,2-diamina (7-Cl-MAQ)
D2	<i>N</i> ¹ -(7-cloroquinolin-4-il) - <i>N</i> ² -(2((7-cloroquinolin-4-il) amino) etil) etano-1,2-diamina (BAQ)
D3	<i>N</i> -(prop-2-inil) -7-cloro-quinolin-4-amina (PCQ)
D4	7-cloro- <i>N</i> -(3-fenilprop-2-in-1-il) quinolin-4-amina (PCQ-fenil)
D5	7-cloro- <i>N</i> -(3-(p-tolil) prop-2-in-1-il) quinolin-4-amina (PCQ-toluil)
D6	<i>N</i> ¹ -(7-cloroquinolin-4-il) - <i>N</i> ² -(2((8-cloroquinolin-4-il) amino) etil) etano-1,2-diamina (7,8' -dicloro- BAQ)
D7	<i>N</i> ¹ -(7-cloroquinolin-4-il) - <i>N</i> ² -(2((7-(trifluorometil) quinolin-4-il) amino) etil) etano-1,2-diamina (7- Cl-7' - CF ₃ -BAQ)
DALYs	Anos de vida perdidos ajustados por incapacidade
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTNs	Doenças Tropicais Negligenciadas
EROs	Espécies reativa de oxigênio
GIPL	glicoinositolfosfolípideo
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
CL₅₀	Concentração letal para matar 50% de uma dada população
CI₅₀	Concentração inibitória para matar 50% de uma dada população
IL-12	Interleucina 12

IL-4	Interleucina 4
INF-γ	Interferon Gama
IV	Infravermelho
LC	Leishmaniose Cutânea
LCD	Leishmaniose cutânea difusa
LCL	Leishmaniose cutânea localizada
LD	Leishmaniose difusa
LDPC	Leishmaniose dérmica pós-calazar
LM	Leishmaniose mucocutânea
LPG	Lipofosfoglicano
LT	Leishmaniose tegumentar
LV	Leishmaniose Visceral
MTT	(brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il] -2,5-difeniltetrazólio
NK	Células <i>Natural Killer</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PPG	Proteofosfoglicano
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SN_{AR}	Substituição Nucleofílica aromática
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1. Breve histórico sobre a Leishmaniose	23
2.2. Epidemiologia	25
2.3. Agente etiológico	28
2.4. Ciclo biológico	31
2.5. Resposta imunológica	33
2.6. Formas clínicas	34
2.6.1. Leishmaniose tegumentar	35
2.6.2. Leishmaniose visceral.....	36
2.7. Tratamento da leishmaniose	37
2.7.1. Tratamento antimonial.....	37
2.7.2. Tratamento não antimonial.....	39
2.8. Derivados quinolínicos como alternativa terapêutica	41
2.8.1. Compostos quinolínicos com atividade leishmanicida.....	41
3. OBJETIVOS	48
3.1. Objetivo geral	48
3.2. Objetivos específicos	48
4. EXPERIMENTAL	49
4.1. Considerações iniciais	49
4.2. Reagentes e solventes	49
4.3. Equipamentos	50
4.4. Preparo das amostras para análise	51

4.4.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).....	51
4.4.2. Espectroscopia infravermelho-visível (IV-Vis)	51
4.4.3. Análise de ponto de fusão.....	52
4.5. Síntese dos compostos	52
4.5.1. Preparação da <i>N</i> ¹ -(2-aminoetil) - <i>N</i> ² -(7-cloroquinolin-4-il) etano-1,2-diamina (D1)	52
4.5.2. Preparação da <i>N</i> -(prop-2-inil) -7-cloro-quinolin-4-amina (D3)	53
4.5.3. Preparação da <i>N</i> -(2-aminoetil) -7-cloroquinolin-4-amina (D4)	54
4.5.4. Preparação da 7-cloro- <i>N</i> -(3-fenilprop-2-in-1-il) quinolin-4-amina (D5)	54
4.5.5. Preparação da 7-cloro- <i>N</i> -(3-(<i>p</i> -tolil) prop-2-in-1-il) quinolin-4-amina (D6)	55
4.5.6. Preparação da <i>N</i> ¹ -(7-cloroquinolin-4-il) - <i>N</i> ² -(2-((8-cloroquinolin-4-il) amino) etil) etano-1,2-diamina (D7)	56
4.6. Ensaio <i>in vitro</i>	57
4.6.1. Ensaio de viabilidade celular	57
4.6.2. Ensaio de avaliação da citotoxicidade contra formas promastigotas.....	58
4.6.3. Análise estatística	58
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	59
5.1. Caracterização dos compostos 4-aminoquinolínicos	63
5.2. Avaliação <i>in vitro</i> da atividade citotóxica e leishmanicida dos compostos 4-aminoquinolínicos	85
5.2.1. Ensaio de viabilidade celular: MTT	85
5.2.2. Ensaio de viabilidade <i>in vitro</i> da <i>L. amazonensis</i> e <i>L. chagasi</i>	86
6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	94
REFERÊNCIAS	95
APÊNDICE	108

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é um conjunto de doenças parasitárias ocasionadas por protozoários do gênero *Leishmania* spp., que são transmitidas através da picada de flebotomíneos. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) ela está entre as sete doenças tropicais mais relevantes, sendo considerada um problema de saúde pública, que apresenta ampla diversidade epidemiológica e clínica (BRASIL, 2017; MANSUETO, 2014; GUERRERO et al., 2017).

Atualmente a doença está endêmica em 98 países e acomete preferencialmente as populações nos países em desenvolvimento nas regiões tropicais do globo, estando associada à desnutrição, deslocamento geográfico, pobreza habitacional e estado imunológico debilitado. A OMS a caracteriza como uma zoonose, mas em decorrência da interferência do homem no ciclo natural do parasito com os desmatamentos e a urbanização, ela recebe a classificação de antropozoonose (WHO, 2017; BRASIL, 2017; CENTRO DE CONTROLE DE ZOOSES, 2017).

Nos últimos anos o processo de aquecimento global vem preocupando as autoridades competentes no sentido de uma possível disseminação da doença em áreas não afetadas anteriormente, haja vista, a prevalência da mesma dar-se nas regiões mais quentes do planeta, devido à presença dos vetores transmissores *Phlebotomus* spp. e *Lutzomyia* spp. (MANSUETO et al.; 2014; WHO, 2017; BRASIL, 2017; STEVERDING, 2017).

Atualmente são conhecidas mais de 20 espécies de *Leishmania* spp. patogênicas para os seres humanos que desenvolvem basicamente dois tipos de leishmaniose, a tegumentar ou cutânea (LT) e a visceral ou calazar (LV), as quais exibem evolução clínica distinta, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida e em alguns casos podem evoluir para morte quando não tratadas (WHO, 2017).

Das apresentações clínicas, a LT é a mais comum das leishmanioses, com quadros que variam desde erupções cutâneas de cura espontânea até lesões desfigurantes e mutilantes que diminuem a qualidade de vida dos pacientes. Entretanto a forma visceral é a mais preocupante devido a sua alta incidência e letalidade, principalmente em crianças

desnutridas, pacientes não tratados e portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (BRASIL, 2017; BRASIL, 2014).

Apesar de possuir muitos interferentes na detecção e controle da transmissão da doença, o que mais preocupa na leishmaniose é o tratamento que por mais de cinquenta anos mantém sua terapia com base em antimoniais pentavalente, que embora sejam eficazes, apresentam vários problemas relacionados à toxicidade e, para agravar o quadro, vem apresentando resistência dos parasitos frente a boa parte do arsenal terapêutico utilizado (BRASIL, 2017; BRASIL, 2014; VANAERSCHOT et al., 2011; CROFT et al., 2006, SUNTAR et al., 2011; COELHO et al., 2007).

Outro fator que dificulta a terapia é a apresentação farmacológica dos medicamentos que, com exceção da miltefosina, são administrados via parenteral, necessitando algumas vezes de internamento, tornando assim o tratamento mais dispendioso. Por isso, faz-se necessário encontrar novos medicamentos não tóxicos, eficazes, seguros e que não induzam resistência parasitária (WHO, 2017; BRASIL, 2014).

A própria natureza nos fornece um vasto número de produtos biologicamente ativos que são utilizados há séculos para tratar as mais variadas doenças. O núcleo quinolínico presente em vários compostos naturais, possui uma gama de atividades biológicas, entre elas: antimalárica, antibacteriana, antifúngica, antiviral, anti-inflamatória, antitumoral e antileishmanial (PINHEIRO; BISPO; SOUZA, 2010).

Em virtude da atividade leishmanicida de alguns compostos contendo o núcleo quinolínico descritos na literatura e em busca de novos derivados quinolínicos capazes de combater a leishmaniose, este projeto de pesquisa, em nível de mestrado, busca sintetizar e avaliar a toxicidade e atividade leishmanicida de compostos 4-aminoquinolínicos, alguns dos quais inéditos (**D4**, **D5**, **D6** e **D7**).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Breve histórico sobre as leishmanioses

A ocorrência da leishmaniose na história humana antiga foi registrada pelas principais civilizações em materiais como papiros, figuras, estátuas e cerâmicas. Na biblioteca de Nínive do rei Assírio Assurbanipal (séc. VII a.C.), foram encontradas descrições em tábuas de argila relatando lesões na pele que lembravam o “botão do oriente”, uma doença que acometia a população do Velho Mundo há muitos anos e que posteriormente ficou conhecida como leishmaniose cutânea. Nas Américas, a forma mucocutânea foi relatada em cerâmicas pré-colombianas datadas de 400 a 900 d.C., as quais foram confeccionadas pelos povos andinos descrevendo mutilações nasais e labiais (STEVERDING, 2017; FURUSAWA; BORGES, 2014; BASANO; CAMARGO, 2004; BARI, 2006).

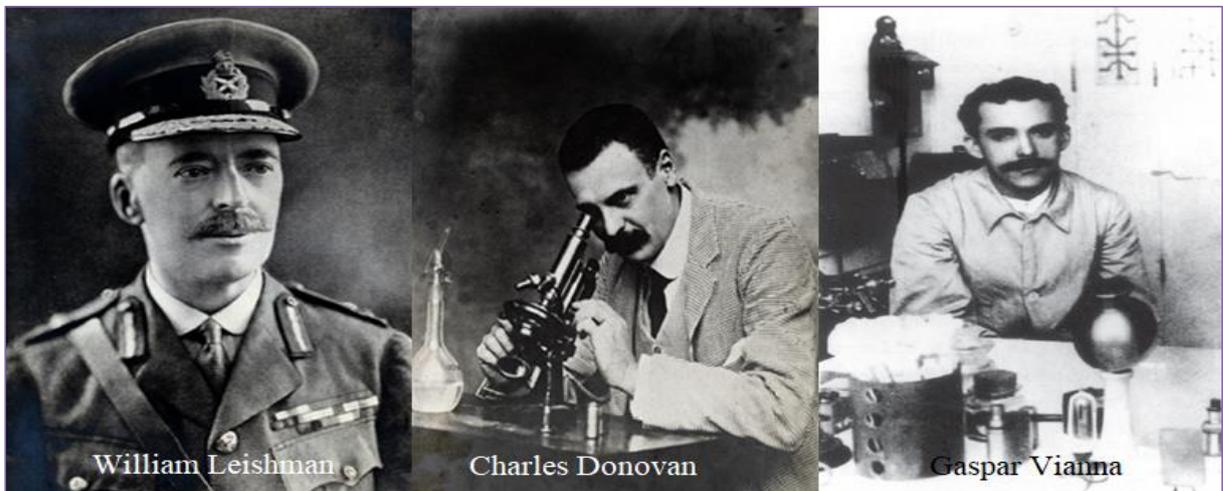
No Brasil o primeiro relato desta enfermidade encontra-se no documento da Pastoral Religiosa Político-Geográfica que descreve a viagem (1827) do Frei Dom Hipólito Sanchez que percorreu o vale amazônico desde Tabatinga (AM) até o Peru, e observou a presença de úlceras nos braços, pernas, boca e nariz dos moradores daquela região, registrando uma possível relação destas feridas com a picada de um inseto (BASANO; CAMARGO, 2004; BARI, 2006).

A forma visceral, uma apresentação clínica sistêmica da leishmaniose, foi relatada pela primeira vez na Índia, quando houve um surto no distrito de Jessore atual Bangladesh, acometendo várias pessoas com quadro clínico de febre recorrente, emagrecimento extremo e aumento do baço e fígado, o qual vitimou cerca de 75 mil pessoas entre os anos de 1824 e 1827, ficando conhecida como calazar. No Brasil o primeiro registro autóctone da doença foi em 1913 quando Mignone descreveu no Paraguai um caso, em material de necropsia, de um paciente proveniente de Mato Grosso (ZINK et al., 2006; WHO, 2018; STEVERDING, 2017; BRASIL, 2014).

A princípio os sintomas da doença foram confundidos com os da malária e por isso o tratamento foi iniciado com um antimalárico, entretanto sua elucidação só foi alcançada em 1900 com a descoberta independente dos parasitos por William Leishman e Charles

Donovan (Figura 1), os quais posteriormente foram classificados (1903) por Ronald Ross como *L. donovani*, em homenagem aos pesquisadores (NAGLE et al., 2014; STEVERDING, 2017).

Figura 1- Pesquisadores da *Leishmania*.



Fonte: STEVERDING, 2017; LAINSON, 2010.

Naquela época vários pesquisadores, espalhados pelas áreas endêmicas, buscavam respostas acerca da doença e após uma epidemia de LT na cidade de Bauru/SP (1908) Lindenberg, Carini e Paranhos conseguiram correlacionar as semelhanças entre a “úlceras de Bauru” e o “botão do oriente”, o qual era ocasionado pela *L. tropica* descoberta por Wright (1903). Entretanto, o médico patologista brasileiro Gaspar Vianna (1911) descobriu que a espécie que ocasionava tal doença na América do Sul era diferente daquela que causava a doença no velho mundo, classificando-a como *L. braziliensis*. Vianna também se interessou em pesquisar um medicamento que tratasse a enfermidade, sendo o responsável pela introdução do tártaro emético (1912) na terapêutica das leishmanioses tegumentares no Brasil. Três anos mais tarde, na Itália, foi comprovado que o mesmo composto também era eficaz contra a leishmaniose visceral (NAGLE, 2014; REZENDE, 2009; WHO, 2010; BRASIL, 2006; FURUSAWA; BORGES, 2014).

As pesquisas continuaram e no início da década de 1940, estudos independentes na Índia e na Palestina demonstraram que o transmissor da *L. donovani* e *L. tropica* era um flebotomíneo. Deste momento em diante, as características clínicas e geográficas da doença nos seres humanos

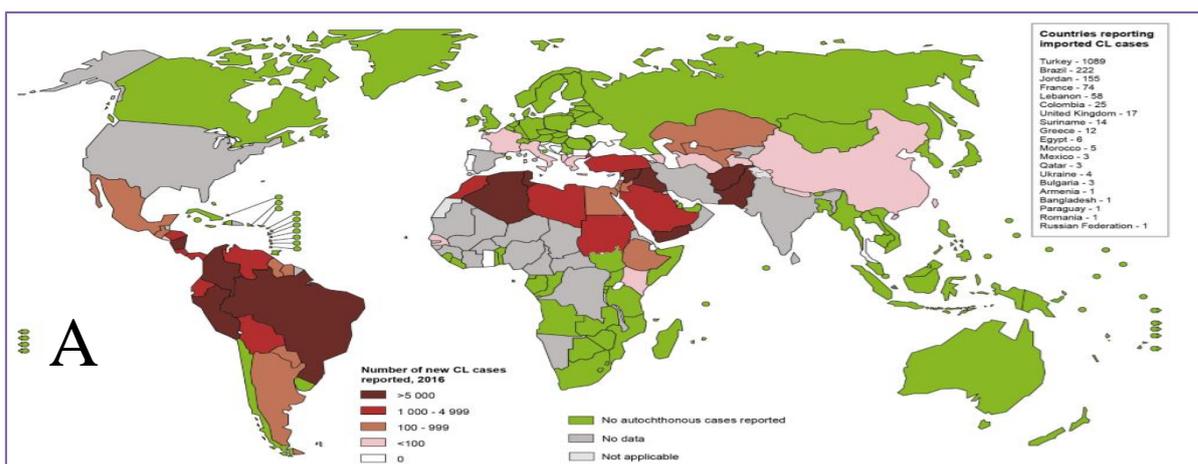
foram gradualmente complementadas por estudos com vetores e reservatórios animais (WHO, 2010).

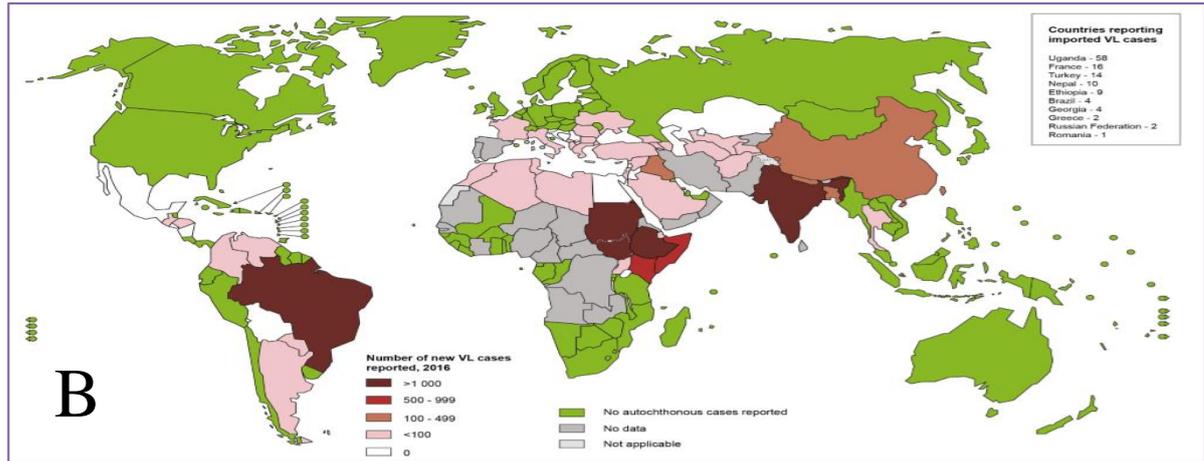
2.2 Epidemiologia

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) são um conjunto de doenças ocasionadas por agentes infecciosos e parasitários que atingem mais de 1 bilhão de pessoas carentes no mundo inteiro e causam impacto socioeconômico. As leishmanioses fazem parte deste grupo de doenças, apresentando ampla distribuição mundial, principalmente nas regiões subdesenvolvidas. Ela encontra-se endêmica em 98 países distribuídos pelos continentes, africano, americano, asiático e europeu (WHO, 2017; ZUMLA; USTIANOWSKI, 2012; ALVAR et al., 2012; BRASIL, 2017).

Em 2012, a OMS promoveu um levantamento de dados sobre a distribuição mundial das LV e LT e os registros até 2010 indicavam que 90% dos casos de LV ocorreram em cinco países (Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Sudão do Sul e Sudão) e mais ou menos 70% dos casos de LT ocorreram no Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Etiópia, Irã, Sudão e República Árabe da Síria (Figura 2). Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde, atualmente 350 milhões de pessoas estão sob risco de contrair a doença e 12 milhões apresentam-se infectados, havendo uma média anual de 2 milhões de casos novos e uma mortalidade estimada de 20 a 40 mil (SIEWE et al., 2016; BRASIL, 2017; GUERRERO et al., 2017; WHO, 2016; WHO, 2017; ALVAR et al., 2012).

Figura 2- Casos novos de LT (A) e LV (B) 2016.

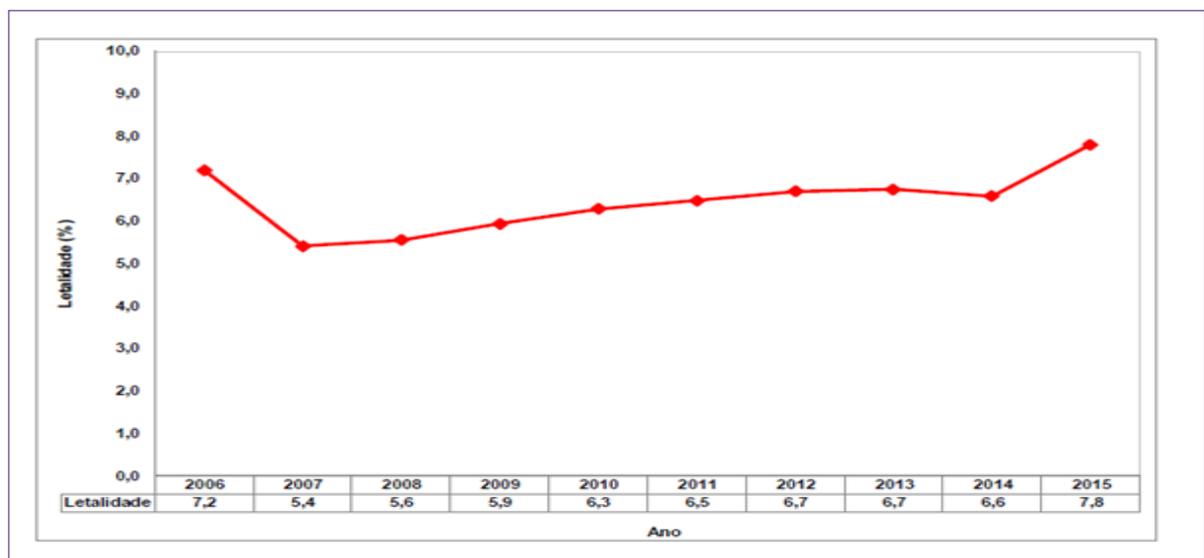




Fonte: WHO, 2017.

Devido à necessidade de vigilância epidemiológica, as leishmanioses estão entre as doenças de notificação compulsória. No continente americano, dos 18 países endêmicos, 17 possuem notificação obrigatória individual ou agregada. A Bolívia e o Peru estão entre os países americanos com mais alto DALYs (anos de vida perdidos ajustados por incapacidade) global de LT e leishmaniose mucocutânea (LM) e o Brasil entre as maiores taxas de letalidade por LV (Figura 3) (OPAS/OMS, 2016).

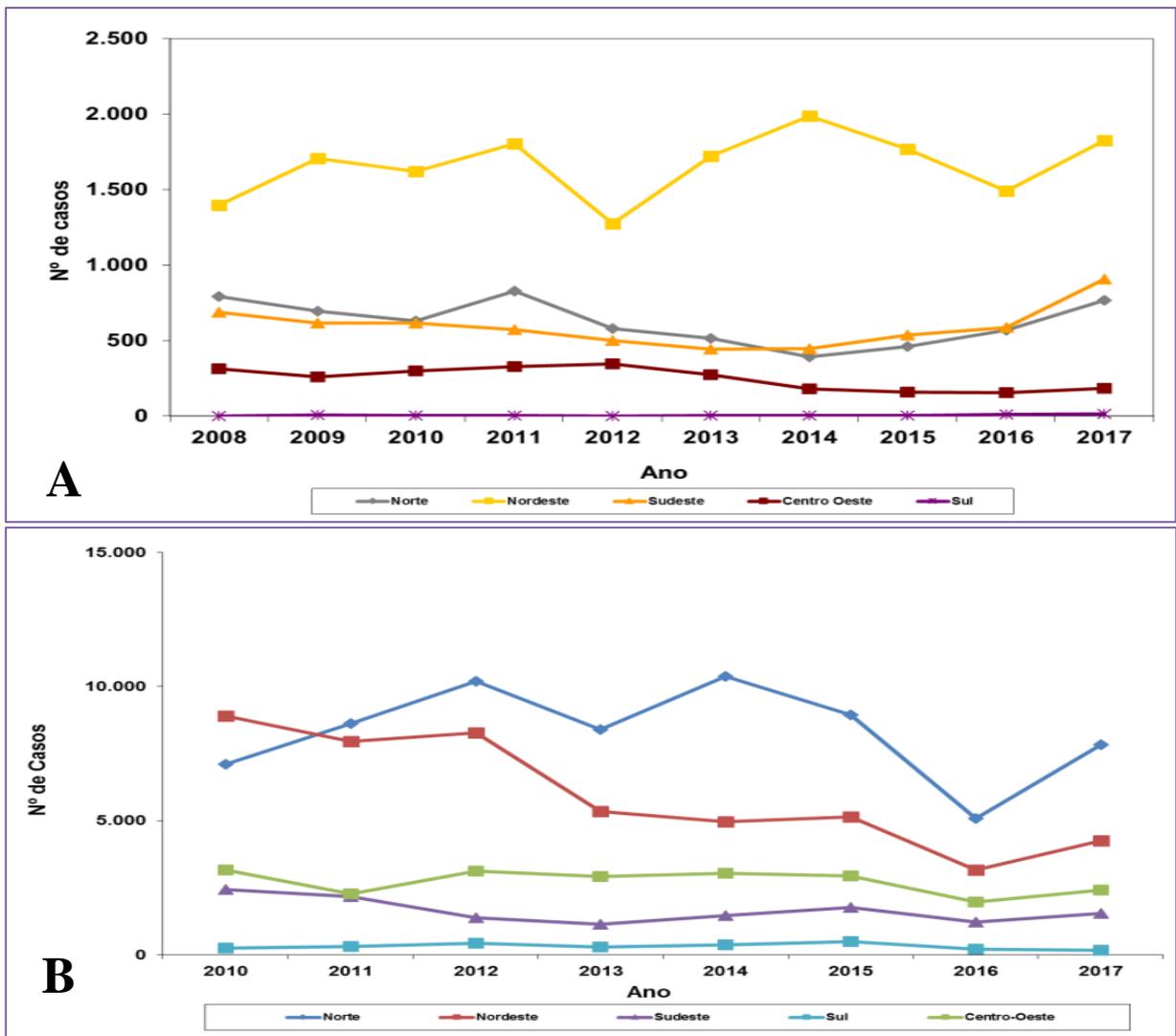
Figura 3- Taxa de letalidade da LV no Brasil 2006 a 2015.



Fonte: SVS/MS, 2017.

Na década de 90, dos casos notificados de LV no Brasil, aproximadamente 90% eram provenientes da região nordeste, contudo essa situação veio se modificando ao longo dos últimos anos e em 2017 o número de casos notificados diminuiu para quase 50%. Entretanto é importante salientar que essa diminuição nos dados podem estar relacionadas a sub notificação dos casos e não necessariamente a diminuição do número de infecções. Já com relação à LT, esta se apresenta amplamente distribuída em todas as regiões brasileiras com a maior taxa de casos registrados na região Norte (Figura 4) (OPAS/OMS, 2016; PORTAL MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018; BRASIL, 2017).

Figura 4- Casos por região brasileira. A) LV de 2008 a 2017 e B) LT de 2010 a 2017.



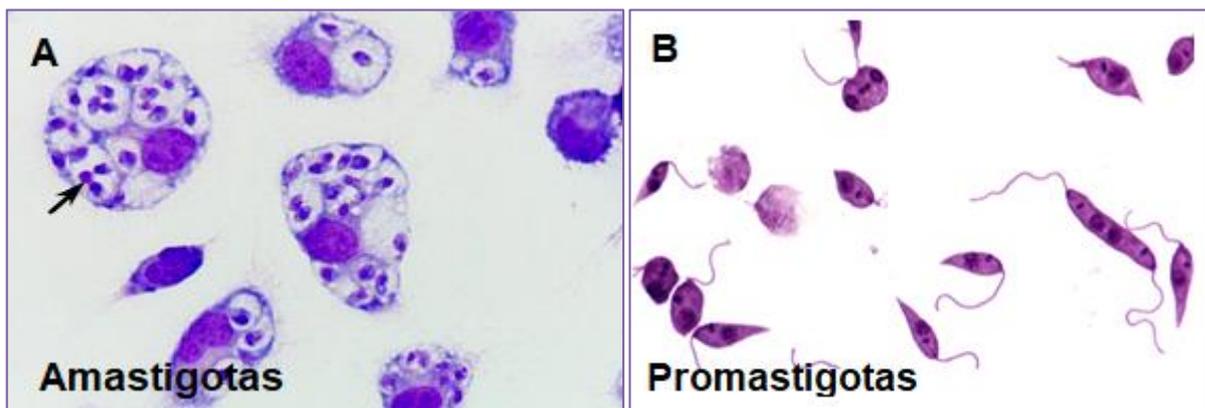
Fonte: SVS/MS, 2019.

Com relação à predominância, a LT acomete pessoas de ambos os sexos, com idade superior a 10 anos, já a LV atinge predominantemente pessoas do sexo masculino com idade inferior a 10 anos. Acredita-se que essa maior susceptibilidade infantil a LV esteja possivelmente relacionada à relativa imaturidade imunológica que nas crianças é agravada pelo estado de desnutrição tão comum nas áreas endêmicas. Em 2017, foram registrados 45 casos de LV em Alagoas, com incidência de 1 caso/100.000 habitantes e uma taxa de letalidade de 4,4%. No mesmo ano, foram registrados 29 casos de LT, dos quais 58,6% ocorreram na Zona da Mata Alagoana nos municípios de Murici, União dos Palmares e Viçosa. Do total de casos de LT notificados, 89,5% dos pacientes infectados eram maiores de 10 anos e 51,7% do sexo masculino (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017; BRASIL, 2014; SINAN, 2018).

2.3 Agente Etiológico

As Leishmanioses são um conjunto de doenças ocasionadas por organismos unicelulares pertencentes ao gênero *Leishmania* spp., família *Trypanosomatidae*, ordem *Kinetoplastida*, os quais são caracterizados pela presença de um flagelo longo e o cinetoplasto (estrutura rica em DNA). Estes protozoários apresentam duas formas evolutivas distintas (Figura 5), a amastigota, intracelular obrigatória de vertebrados, que são arredondadas e não possuem flagelo aparente e a promastigota, extracelular flagelada, encontrada no tubo digestivo do hospedeiro invertebrado, as quais sofrem diferenciação dentro do vetor, podendo assumir a forma proliferativa procíclica ou a infectante metacíclica (BRASIL, 2017; SUNTER; GULL, 2017; GOSSAGE; ROGERS; BATES, 2003; LESSA, 2007).

Figura 5- Formas evolutivas da *Leishmania* spp.

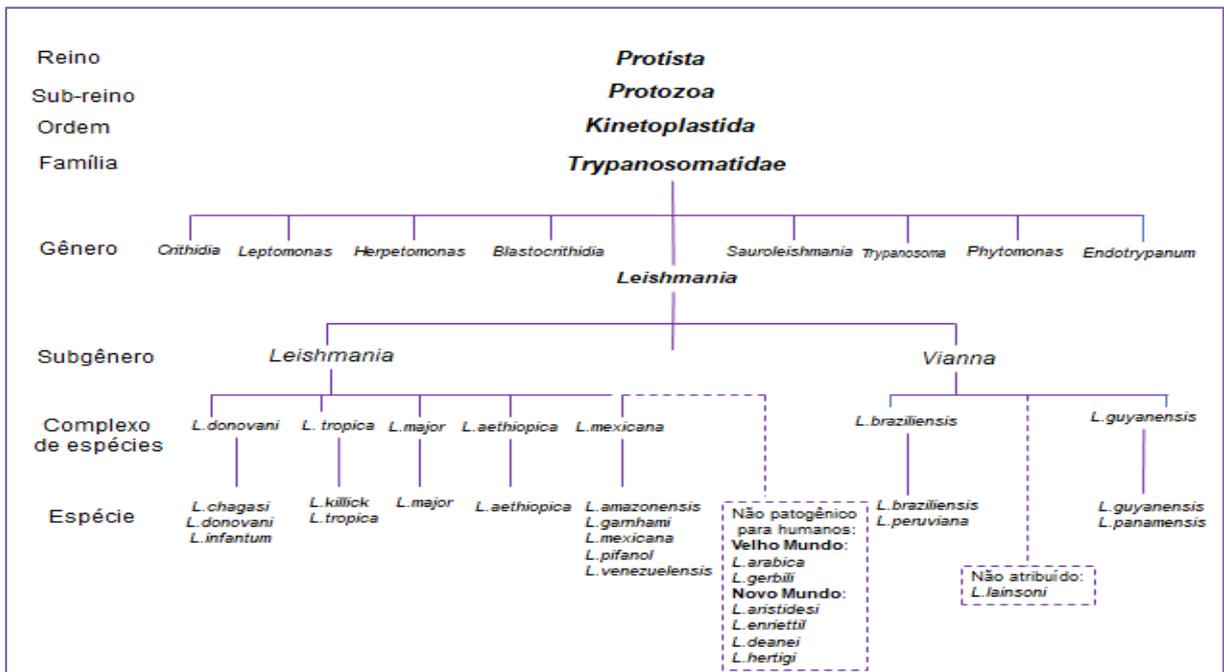


Fonte: ALIANÇA et al., 2014.

Devido à grande diversidade de espécies, o gênero *Leishmania* foi subdividido em outros dois (*Viannia* e *Leishmania*) de acordo com a localização do parasito no sistema digestório do vetor (Figura 6) (SOARES, 2010; LAINSON, 2010; PACE, 2014; DOSTÁLOVÁ; VOLFF, 2012).

São conhecidas mais de 20 espécies de *Leishmania* patogênicas para os seres humanos, espalhadas por quase todos os continentes, com exceção da Oceania e Antártida, as quais podem causar desde úlceras na pele até doenças sistêmicas fatais. No Velho Mundo são encontradas as espécies do subgênero ***Leishmania***: *Leishmania (L.) donovani*, *Leishmania (L.) infantum*; *Leishmania (L.) major*; *Leishmania (L.) killickia*; *Leishmania (L.) aethiopica*, e no Novo Mundo as espécies do subgênero ***Leishmania*** e ***Viannia***: *Leishmania (L.) infantum*; *Leishmania (L.) mexicana*; *Leishmania (L.) pifanoi*; *Leishmania (L.) venezuelensis*; *Leishmania (L.) garnhami*; *Leishmania (L.) amazonensis*; *Leishmania (V.) braziliensis*; *Leishmania (V.) guyanensis*; *Leishmania (V.) panamensis*; *Leishmania (V.) shawi*; *Leishmania (V.) naiffi*; *Leishmania (V.) lainsoni*; *Leishmania (V.) lindenberg*; *Leishmania (V.) peruviana* e *Leishmania (V.) colombiensis* (AKHOUNDI, 2016; PACE, 2014; NICO, 2015; MANSUETO et al., 2014; WHO, 2010).

Figura 6- Taxonomia da *Leishmania*.



Fonte: Adaptado de WHO, 2010.

A transmissão da doença aos hospedeiros vertebrados ocorre através da picada da fêmea infectada de insetos flebotomíneos (Ordem *Díptera*; Família *Psychodidae*; Subfamília *Phlebotominae*), encontrados em matéria orgânica úmida como tronco de árvores, tocas de animais e perto de alojamentos humanos, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta. O gênero responsável pela transmissão no Velho Mundo é o *Phlebotomus* e no Novo Mundo a *Lutzomyia*. No Brasil eles também são popularmente conhecidos como mosquito palha, tatuquira, birigui, arrepiado, asa dura, asa branca entre outros (Figura 7) (NAGLE, 2014; GONTIJO; CARVALHO, 2003; BRASIL, 2014; BRASIL, 2017; BASANO; CAMARGO, 2004; ASSIS et al., 2014; GHAZANFAR; MALIK, 2016).

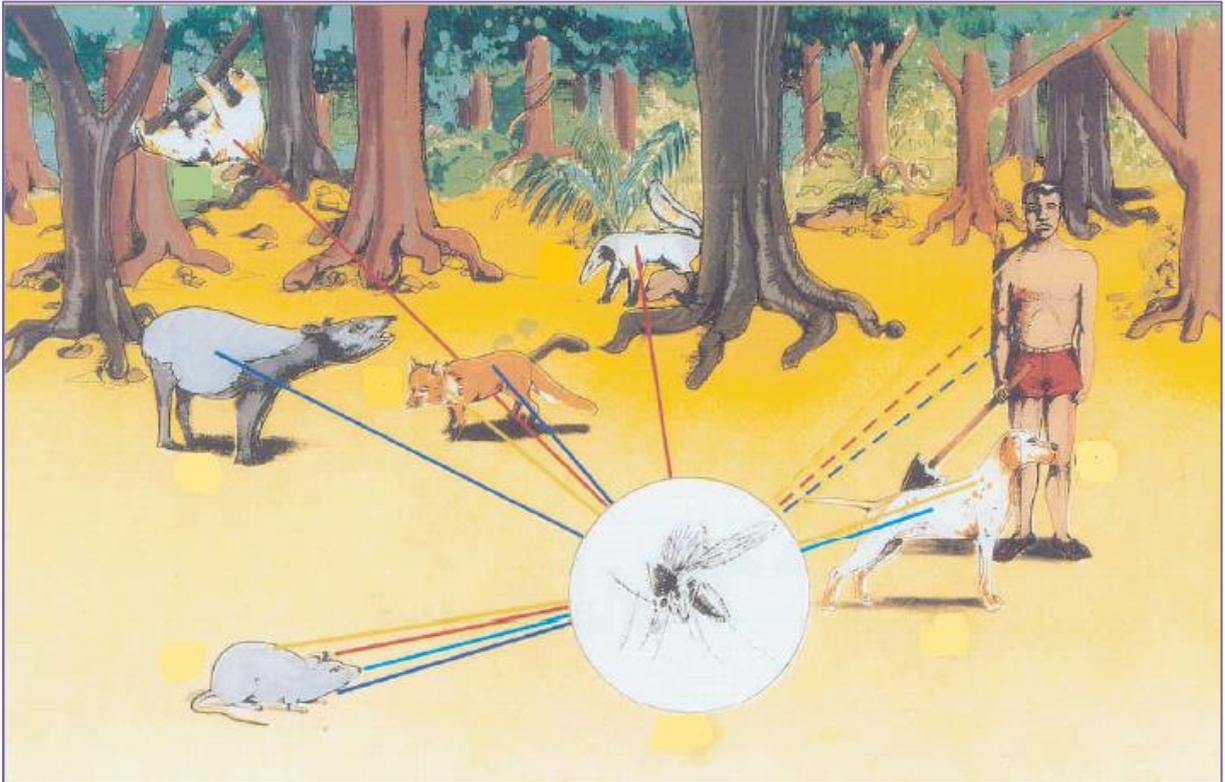
Figura 7- Flebotomíneo.



Fonte: European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2018.

As leishmanioses são consideradas doenças zoonóticas, tendo como principal reservatório os animais silvestres (Figura 8) como, gambás, raposas, roedores, marsupiais entre outros. Entretanto, em decorrência da interferência do homem no ciclo natural do parasito, com operações militares, desmatamentos e urbanização em áreas anteriormente florestais, estes juntamente com os animais domésticos, principalmente os canídeos, tornaram-se reservatórios secundários das Leishmanias (BRASIL, 2017; WHO, 2005; MANSUETO et al., 2014).

Figura 8- Ciclo de transmissão zoonótica e antroponótica das Leishmanioses.

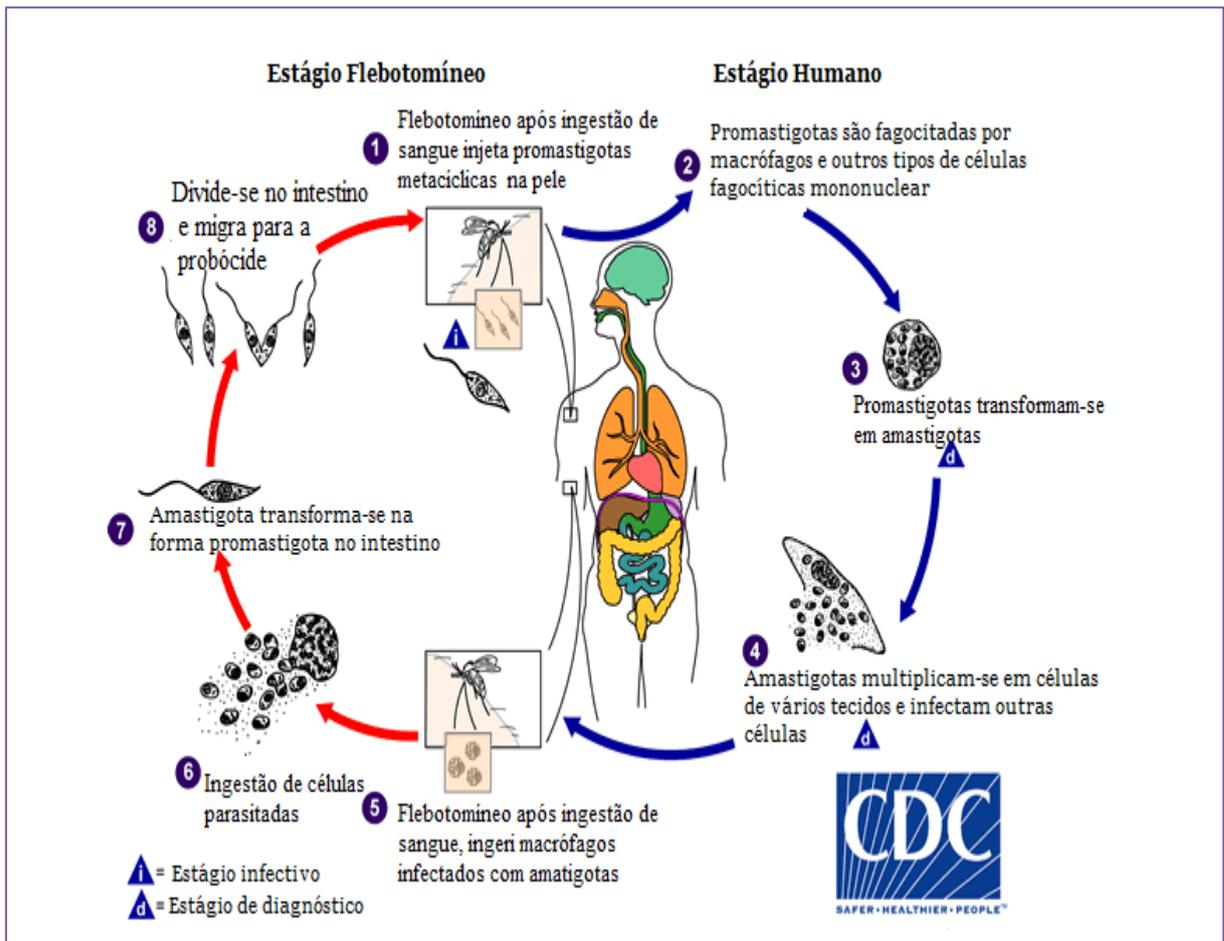


Fonte: BRASIL, 2006.

2.4 Ciclo biológico

O ciclo de vida do parasito envolve alternância morfológica celular entre dois hospedeiros, a promastigota no hospedeiro intermediário e a amastigota no definitivo. A transmissão começa quando o flebotomíneo infectado injeta as formas promastigotas metacíclicas no mamífero durante o repasto sanguíneo. A perfuração da pele faz com que as células de defesa (neutrófilos, células dendríticas, macrófagos etc.) sejam recrutadas para o local da picada e englobem os parasitos mediante interações com receptores superficiais. Devido à mudança de pH e temperatura dentro das células fagocitárias, as promastigotas diferenciam-se em amastigotas e multiplicam-se por fissão binária até estourar a célula de defesa, contaminando novas células fagocíticas (Figura 9) (TEIXEIRA et al.; 2013; KEVRIC; CAPPEL; KEELING, 2015).

Figura 9- Ciclo de biológico da *Leishmania*.



Fonte: Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2013.

No vetor, o ciclo inicia-se quando ele pica um mamífero infectado com os protozoários e ingere as formas amastigotas juntamente com o sangue, as quais são direcionadas para o intestino médio e lá se unem formando um aglomerado que é envolvido numa matriz peritrófica. Dentro dessa matriz, elas irão sofrer diferenciação, transformando-se em promastigotas procíclicas, que se multiplicam e fixam-se nas vilosidades do intestino a partir de receptores presentes nas membranas dos protozoários. Após alguns dias parte destas formas sofrem nova diferenciação transformando-se na forma infecciosa (promastigota metacíclica) que migram para a porção anterior do tubo digestivo prontas para infectar outro hospedeiro vertebrado no próximo repasto sanguíneo (WHO, 2010; SUNTER; GULL, 2017; GOSSAGE; ROGERS; BATES, 2003).

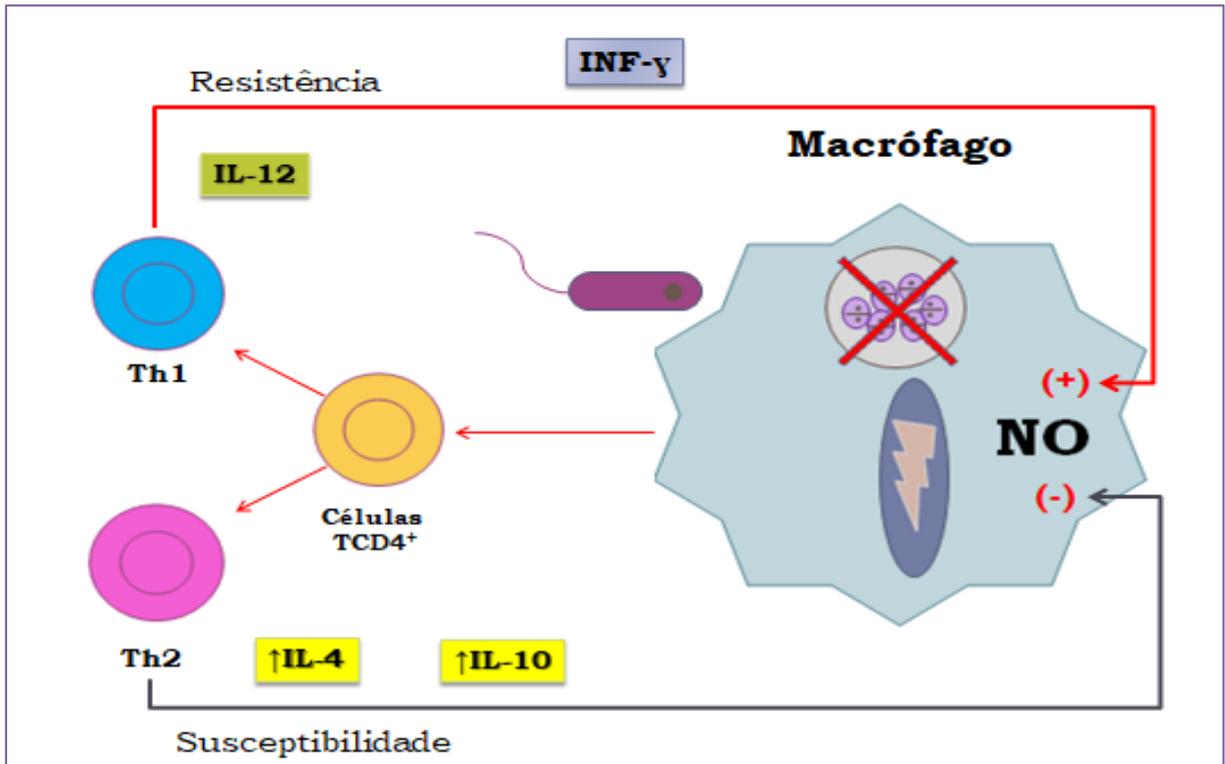
A saliva do flebotomíneo desempenha um papel importante no processo inflamatório e infeccioso da leishmaniose, pois nela estão presentes componentes que irão favorecer tanto a alimentação do vetor quanto o recrutamento de células de defesa como neutrófilos, eosinófilos e, principalmente, macrófagos. Entre essas substâncias, podemos citar a maxadilan, um potente vasodilatador, presente na saliva da *Lutzomyia longipalpis*, que inibe as funções das células T, dos macrófagos e do TNF- α , e a enzima Apirase, abundante no *Phlebotomus papatasi*, que diminui as funções das células T, produção de citocinas Th1 e aumenta a IL-4 (TEIXEIRA et al., 2005; REIS, 2006).

Os protozoários *Leishmania* spp. são dotados de várias estratégias de escape para sobreviver aos diferentes ambientes nos quais estão inseridos, uma delas é a expressão de glicoconjugados. Estas moléculas presentes na superfície do parasito, como por exemplo, Lipofosfoglicano (LPG), glicoinositolfosfolípídeo (GIPL), proteofosfoglicano (PPG), metaloproteinase gp63, são responsáveis pela interação parasito-hospedeiro, favorecendo a manutenção da infecção (FORESTIER; GAO; BOONS, 2014; SILVEIRA et al., 2008; LESTINOVA et al, 2017).

2.5 Resposta imunológica

De um modo geral, a leishmaniose pode levar o hospedeiro a desenvolver uma resposta imunológica específica caracterizada pelo aumento de células T CD4⁺, com um perfil de citocinas Th1 ou Th2, as quais irão favorecer respectivamente, resistência ou susceptibilidade aos parasitos. Essa relação foi amplamente estudada em modelos animais com *L. major*, utilizando camundongos geneticamente resistentes (C57Bl/6, CBA, C3H) e susceptíveis (BALB/c), ficando claro que quando a resposta é do tipo Th1, haverá um aumento na produção de IL-12 que induzirá as células NK, TNF- α , linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, a produzirem INF- γ que ativa os macrófagos a produzirem óxido nítrico (NO) promovendo assim a eliminação dos parasitos. Por outro lado, quando a resposta é do tipo Th2 as citocinas secretadas são a IL-4 e IL-10, responsáveis pela inibição da atividade dos macrófagos e, conseqüentemente, a susceptibilidade a infecção (Figura 10) (REIS et al., 2006; PINHEIRO, 2004; GUERRERO, 2017; PIRES et al., 2012).

Figura 10- Resposta imune celular.



Fonte: Adaptado de ASSIS et al, 2014.

2.6 Formas clínicas

As manifestações clínicas das leishmanioses apresentam-se divididas em dois grupos, um que infecta a pele (LT) e outro que acomete os órgãos viscerais (LV). Tais manifestações dependem não apenas da espécie infectante (Tabela 1), mas também da resposta imunológica do indivíduo infectado (PACE, 2014; BRASIL, 2014).

Tabela 1- Principais espécies de *Leishmania* espalhadas pelo mundo.

TIPOS DE LEISHMANIOSE	
Leishmaniose Cutânea: Velho Mundo	Leishmaniose Cutânea: Novo Mundo
<i>L. tropica</i>	<i>L. mexicana</i>
<i>L. aethiopica</i>	<i>L. amazonensis</i>
<i>L. major</i>	<i>L. braziliensis</i>
<i>L. infantum</i>	<i>L. guyanensis</i>

	<i>L. peruviana</i>
	<i>L. pifanoi</i>
Leishmaniose Visceral	Leishmaniose Mucocutânea
<i>L. chagasi</i>	<i>L. braziliensis</i>
<i>L. donovani</i>	<i>L. guyanensis</i>
<i>L. infantum</i>	<i>L. panamensis</i>
Leishmaniose Dérmica Pós-Calazar	
<i>L. donovani</i>	

Fonte: MANSUETO et al, 2014.

2.6.1 Leishmaniose tegumentar

A LT engloba quatro formas clínicas diferentes: cutânea localizada (LCL); cutânea disseminada (LD); cutânea difusa (LCD) e mucocutânea (LM). Das quatro manifestações clínicas (Figura 11) a LCL é a apresentação mais comum, sendo caracterizada por lesões no local da picada, que evoluem para úlceras indolores únicas ou múltiplas, com tendência à cura espontânea e boa resposta terapêutica. Já a forma mais grave é a LM, também conhecida como espúndia, que pode causar desde lesões desfigurantes, até mutilações nas membranas da mucosa. Estima-se que aproximadamente de 3 a 5% dos indivíduos que tiveram LCL desenvolvam LM. Geralmente, essa forma surge insidiosamente após um quadro de LCL crônica, que foi curada sem tratamento ou com tratamento inadequado. Neste tipo de infecção há uma exacerbação da resposta celular antileishmania do tipo Th1, que além de conter a multiplicação parasitária, acaba provocando a destruição de tecidos onde há depósitos de partículas antigênicas. Os pacientes acometidos com a LM não apresentam boa resposta terapêutica devido às recidivas (LESSA, 2007; BERN; MANGUIRE; ALVAR, 2008; BRASIL, 2009; NAGLE et al., 2014; BRASIL, 2017).

Apesar de serem raras a LD e LCD diferem quanto à resposta imunológica. Na primeira, os indivíduos acometidos são capazes de desenvolver uma resposta imune celular favorável, com boa resposta terapêutica, já os acometidos com a LCD não apresentam resposta celular específica para os antígenos da *Leishmania*, nem respondem bem a terapia utilizada, além de apresentarem recidivas frequentes (BRASIL, 2017; BRASIL, 2006).

Figura 11- Síndromes Clínicas Tegumentares. A) Leishmaniose cutânea localizada B) Leishmaniose cutânea disseminada C) Leishmaniose cutânea difusa D) Leishmaniose mucocutânea.



Fonte: BRASIL, 2006; GUERRERO et al, 2017.

2.6.2 Leishmaniose visceral

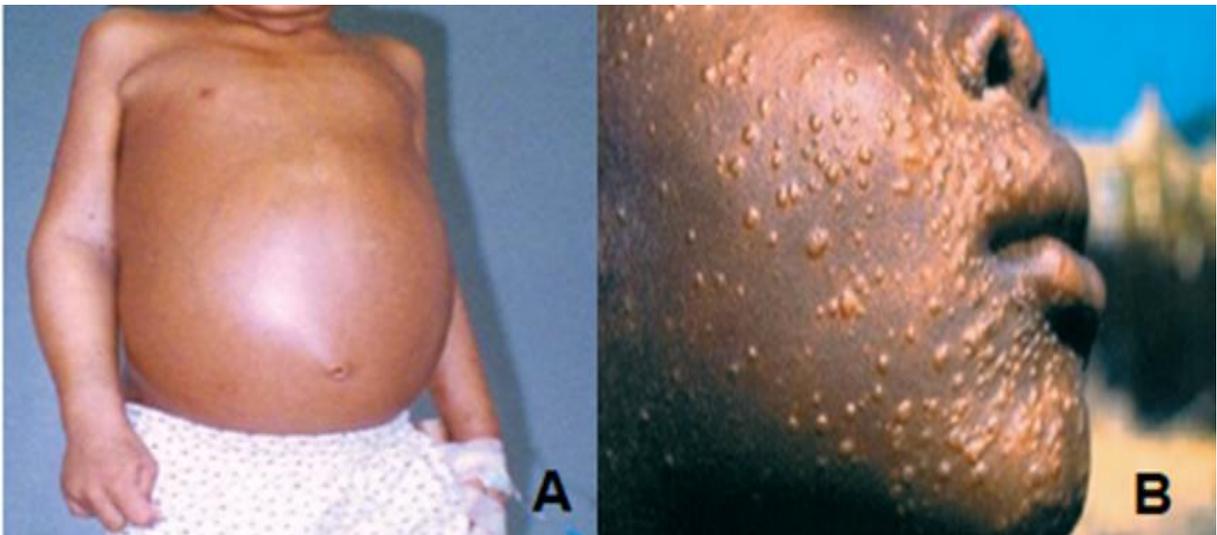
A LV, classicamente conhecida como calazar, é uma apresentação sistêmica das leishmanioses causadas pelas *Leishmanias* pertencentes ao complexo *donovani* (*L. chagasi*; *L. donovani*; *L. infantum*), sendo considerada a forma mais grave de todas as leishmanioses que, quando não tratada, é fatal em mais de 90% dos casos. Geralmente, as características clínicas aparecem no período de 2 a 6 meses após a infecção, incluindo, febre prolongada, hepatoesplenomegalia, pancitopenia, anemia progressiva e perda de peso, entretanto, é importante salientar que alguns pacientes permanecem com infecção não aparente, e quando não tratados, se tornam imunocomprometidos muitos anos após a infecção (NAGLE et al., 2014; TAJEBE et al., 2017; BRASIL, 2009; NO, 2016).

De uma maneira geral, os pacientes com LV correm um risco muito alto de coinfeções bacterianas, como pneumonia, tuberculose e infecções do trato urinário e gastrointestinal e, quando não tratados adequadamente, podem evoluir para septicemia. O comprometimento do

sistema imunológico, ocasionado pela presença do vírus HIV, torna os portadores muito mais susceptíveis a desenvolverem a LV. Por esta razão, a coinfeção HIV / LV é comumente encontrada principalmente nas áreas endêmicas como Etiópia, Brasil e Índia (BRASIL, 2009; NAGLE et al., 2014).

Outro agravante da LV é que, mesmo após meses ou anos de cura clínica, alguns pacientes podem desenvolver um tipo de manifestação cutânea, a leishmaniose dérmica pós-calazar (LDPC) que é uma seqüela da LV. Os pacientes acometidos por esta infecção apresentam erupção geralmente no rosto, braços, troncos e outras partes do corpo, na forma de mácula, pápula ou nódulo, sendo considerados um potencial reservatório para transmissão do calazar (Figura 12) (WHO, 2017; SALOTRA; SINGH, 2006).

Figura 12- Síndrome Clínica Visceral e Sequela A) LV B) LDPC.



Fonte: ZIJLSTRA et al.,2003; BRASIL, 2006.

2.7 Tratamento da leishmaniose

2.7.1 Tratamento antimonial

O primeiro tratamento direcionado para combater a leishmaniose foi introduzido em 1912, pelo médico patologista Gaspar Vianna, que empregou um composto à base de antimônio trivalente na terapêutica da LT, mas devido à alta toxicidade foi substituído em 1945 pelos antimoniais pentavalentes, que continuam sendo os fármacos de primeira escolha para a maioria

dos pacientes. Atualmente dois produtos são utilizados, o antimoniato de meglumina (Glucantime®) e o estibogluconato de sódio (Pentostam®), sendo este último não comercializado no Brasil. O Glucantime® está disponível nas redes públicas de saúde brasileira na forma de ampolas de 5 mL. Esta forma de apresentação, exclusivamente parenteral, dificulta bastante a terapêutica, visto que além da vasta lista de efeitos colaterais, o tratamento, que dura em média de 20 a 40 dias, faz com que a maioria dos pacientes abandonem a terapia, ocasionando aumento dos casos de resistência parasitária (BEZERRA; LEON; GENESTRA, 2004; BRASIL, 2014; PINHEIRO, 2004).

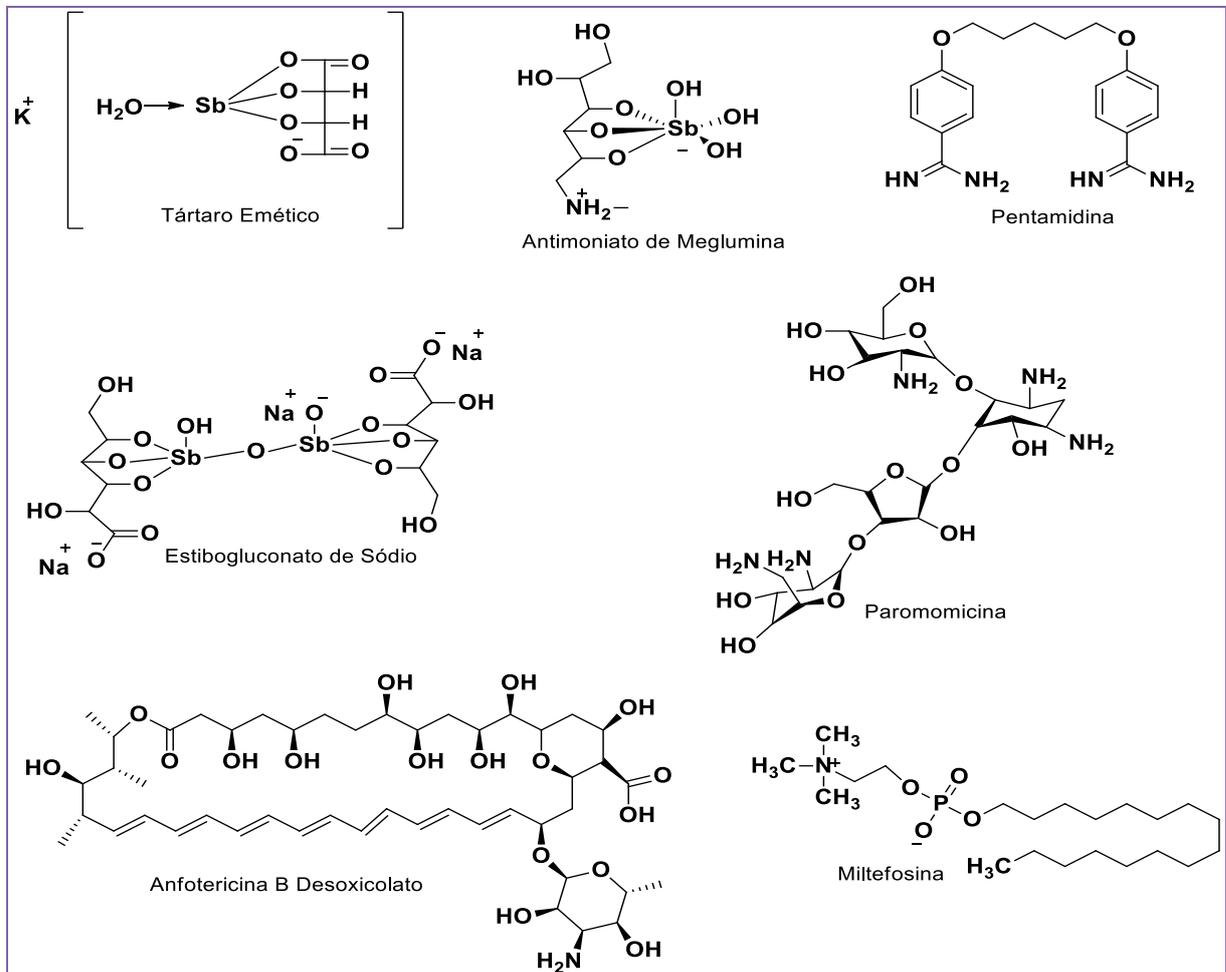
Entre os principais efeitos colaterais relacionados aos antimoniais pentavalentes podemos citar variações eletrocardiográficas, elevação dos níveis de transaminases séricas, reações dérmicas locais, anorexia, náuseas, vômitos e mialgia. Devido a estes efeitos, o fármaco está contra indicado na gravidez e em pacientes com doenças renais, hepáticas e cardíacas (PINHEIRO, 2004; BRASIL, 2014; BRASIL, 2017).

Apesar de ser utilizado há mais de sessenta anos no tratamento das leishmanioses, o mecanismo de ação desta classe de fármacos ainda não é bem compreendido, pois não se sabe qual seria a forma ativa final, se Sb^V ou Sb^{III} . Estudos propõem três modelos principais de mecanismo de ação. O primeiro suporta a ideia de que os Sb^V atuariam como um pró-fármaco que sofreria redução biológica a uma forma trivalente Sb^{III} , muito mais ativa e tóxica. Esta redução seria promovida pelos tióis presentes, tanto no hospedeiro quanto no parasito, como a glutatona, cisteína, cisteína/glicina e a tripanotona. Outro modelo sugere que os Sb^V têm atividade antileishmanial intrínseca e atuariam inibindo a biossíntese macromolecular nas formas amastigotas, possivelmente através da inibição da glicólise e da beta-oxidação de ácidos graxos levando a uma depleção dos níveis de ATP intracelular (HALDAR; SEM; ROY, 2011; BRASIL, 2014).

Um terceiro mecanismo sugerido propõe que os Sb^V atuem por ativação do sistema imunológico do hospedeiro, tanto o inato quanto o adaptativo, induzindo resposta imune antileishmanial efetiva. Um estudo promovido por Haldar e colaboradores (2011) demonstrou em modelo murino que o tratamento com Sb^V induz a produção de EROs (espécies reativas de oxigênio) e óxido nítrico (NO), provocando duas fases de morte parasitária, uma 6 horas após o tratamento, devido à indução de EROs e outra de 24 a 48 horas, possivelmente mediada pela geração de NO. Quando há contra indicação ou resistência terapêutica aos Sb^V , os fármacos de

segunda escolha são a anfotericina B, pentamidina, miltefosina e paromomicina (Figura 13) (HALDAR; SEM; ROY, 2011; BRASIL, 2009).

Figura 13- Fármacos utilizados no tratamento da Leishmaniose.



Fonte: Autora, 2019.

2.7.2 Tratamento não antimonial

A anfotericina B é um antibiótico poliênico, com excelente atividade leishmanicida sobre as formas amastigotas e promastigotas, apresentando alta taxa de cura na LV (90 a 95%). Atualmente ele é o fármaco de primeira escolha para mulheres grávidas com LV ou LT e a segunda escolha para coinfetados com *Leishmania*/HIV e pacientes não responsivos ao tratamento com os Sb^V . As apresentações farmacológicas incluem: i) suspensão coloidal (desoxicolato de anfotericina B), que provoca vários efeitos colaterais dose dependente, além

de reações de infusão, nefrotoxicidade, hipocalcemia e miocardite; e ii) a forma lipossomal (anfotericina B lipossomal), que diminuiu a toxicidade, mas aumentou o custo. Ambas as formulações são administradas por infusão intravenosa necessitando hospitalização (BRASIL, 2009; BRASIL, 2014; BRASIL, 2017; NAGLE et al, 2014).

Além destas formulações, existem outros fármacos de segunda escolha como a pentamidina, que é uma diamidina aromática empregada contra LT nas áreas endêmicas dos continentes americano, asiático e africano e contra LV, principalmente, na Europa e África. A pentamidina foi o primeiro fármaco utilizado para tratar pacientes refratários aos Sb^V, entretanto sua eficácia é inferior aos Sb^V e a anfotericina B, e seus efeitos secundários e resistência parasitária são maiores. Nos últimos anos a miltefosina foi adicionada ao arsenal terapêutico como primeiro antileishmanial oral, embora tenha sido inicialmente desenvolvida como fármaco antitumoral. Possui uma boa taxa de cura dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida, como por exemplo, *L. panamensis* (70 a 90% de cura) e *L. braziliensis* e *L. mexicana* (< 60%). Os eventos adversos mais comuns incluem problemas gástricos, hepatotóxicos, nefrotóxicos e teratogênicos. Outros inconvenientes relacionados ao fármaco que foram observados num estudo na Índia é o possível aumento dos casos de resistência e a duplicação das recaídas (BRASIL, 2009; BRASIL, 2014; BRASIL, 2017; NAGLE et al, 2014; PATIL et al, 2012).

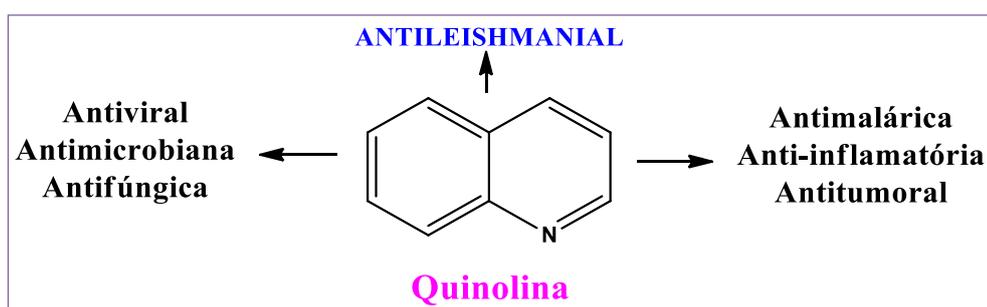
A paromomicina, um antibiótico aminoglicosídeo de amplo espectro, é administrado por via intramuscular e possui boa atividade antileishmanial, tanto na LV quanto na LT. O principal inconveniente deste medicamento é a dor no local da injeção relatada por 55% dos pacientes, mas que não leva ao abandono do tratamento. Já os efeitos colaterais mais comuns incluem alterações das transaminases hepáticas e ototoxicidade (BRASIL, 2017; NAGLE et al., 2014; CHAPPUIS et al., 2007).

Apesar da terapia antileishmanial estar bem definida pela OMS, o tratamento nem sempre flui de forma satisfatória, uma vez que, o alto custo de determinados fármacos, principalmente nas regiões mais carentes, os efeitos colaterais e a resistência relacionada aos medicamentos faz com que parte dos pacientes não consigam completar o tratamento, quer seja por abandono, indisponibilidade medicamentosa ou até mesmo óbito, devido a elevada toxicidade. Por esta razão, fazem-se necessários estudos mais aprofundados em busca de novos agentes terapêuticos.

2.8 Derivados quinolínicos como alternativa terapêutica

Os estudos com produtos naturais é uma importante ferramenta no desenvolvimento de novos padrões moleculares bioativos, porque servem como modelo para criação de novos análogos sintéticos ou semissintéticos de possíveis fármacos. Na busca por quimioterapêuticos menos tóxicos e mais baratos, um grande número de extratos de plantas e produtos naturais vem sendo testado ao longo dos últimos anos quanto à atividade antiprotozoária. As principais classes com atividade leishmanicida incluem compostos fenólicos, quinonas, terpenoides e alcaloides. A esta última classe pertence às quinolinas, compostos aromáticos que possuem um átomo de nitrogênio no seu anel e apresentam várias atividades biológicas, incluindo antimalárica, antibacteriana, antifúngica, antiviral, anti-inflamatória, antitumoral e antileishmanial, todas relacionadas à presença do núcleo quinolínico. Atualmente existem vários protocolos estabelecidos para a síntese do anel quinolínico (Figura 14), o qual pode ser modificado para preparar uma série de quinolinas substituídas (REYNOLDS; LOUGHLIN; YOUNG, 2013; PINHEIRO; BISPO; SOUZA, 2010; MARELLA et al., 2012; BACAB; RODRIGUEZ, 2001).

Figura 14- Anel quinolínico.



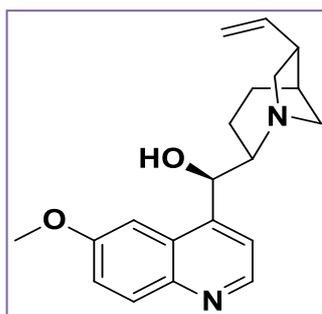
Fonte: Autora, 2019.

2.8.1 Compostos quinolínicos com atividade leishmanicida

A quinina (Figura 15), o primeiro composto natural eficaz contra a malária, é um alcaloide extraído da casca da árvore nativa da região dos Andes pertencente à família *Cinchona* spp. que ficou famosa por sua propriedade antimalárica após a cura da esposa do vice-rei espanhol no Peru, a condessa de Chinchón. Vários estudos comprovaram que ela tem o potencial de atuar como inibidor do transporte de colina. Sabendo que o principal fosfolípido

da membrana parasitária da *Leishmania* é a fosfatidilcolina, Zufferey e Mamoun (2002) elaboraram um trabalho para verificar a atividade leishmanicida de alguns compostos inclusive da quinina, comprovando sua eficácia contra formas promastigotas de *L. major*. Os estudos confirmaram que o composto atua inibindo o transporte de colina, gerando interferência na biossíntese da membrana celular do parasito e ocasionando sua morte. Outro estudo elaborado por Nettey e colaboradores (2016) avaliou, *in vitro*, a eficácia de vários agentes anti-infecciosos contra *Leishmania donovani*. Dos 56 fármacos utilizados no estudo, 5 mostraram atividade leishmanicida, entre eles, a anfotericina B, a pentamidina, a quinina, a amodiaquina e a gentamicina. A eficácia da quinina foi notável nos resultados de inibição do crescimento da *L. donovani*, visto que seus resultados foram melhores que os fármacos padrões anfotericina B e pentamidina utilizados no estudo ($CI_{50} = 0,089 \mu\text{g/mL}$; $6,3 \mu\text{g/mL}$ e $25 \mu\text{g/mL}$), respectivamente (CUNICO et al., 2008; REYNOLDS; LOUGHLIN; YOUNG, 2013; ZUFFEREY; MAMOUN, 2002; NETTEY et al., 2016; EBEL; HOLLSTEIN; GUNTHER, 2002).

Figura 15- Estrutura química da quinina.

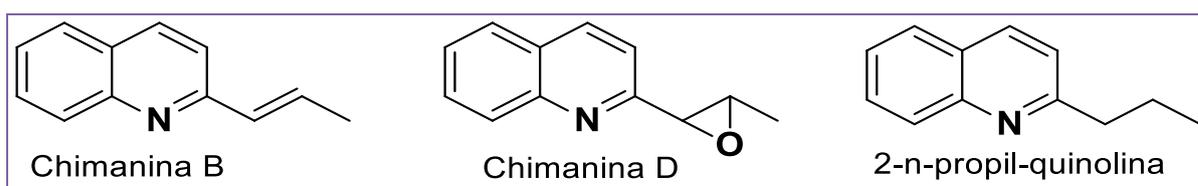


Fonte: Autora, 2019.

Na Bolívia, vários estudos com ervas medicinais tradicionais têm demonstrado atividade leishmanicida das diferentes partes da planta *Galipea longiflora krause*. Esta planta, popularmente conhecida como Evanta, já vem sendo utilizada há muitos anos pelos índios nativos para tratar LT e outras doenças parasitárias. Cerca de 13 alcaloides quinolínicos diferentes foram isolados e caracterizados a partir de distintas partes da árvore. Os alcaloides chimanina B e chimanina D, isolados das folhas, mostraram atividade com CI_{90} de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ contra as formas promastigotas de *L. braziliensis*, *L. amazonensis* e *L. donovani*, enquanto o 2-(*n*-propil) quinolina mostrou atividade com CI_{90} de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$. Outro estudo comprovou que

os alcaloides encontrados possuem também, além de atividade leishmanicida direta no parasito, atividade imunomoduladora, devido à capacidade de redução na produção de citocinas inflamatórias. Esta característica acaba favorecendo a ausência de inflamação e consequente destruição tecidual que ocorre na LT (Figura 16) (CAMPOS et al., 2011; MAGARINOS et al., 2012; GUARACHI et al., 2008; GIMÉNEZ et al., 2005; MAGARINOS et al., 2013; BACAB; RODRIGUEZ, 2001; FOURNET et al., 1994).

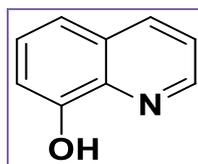
Figura 16- Alcaloides quinolínicos da *Galipea longiflora krause*.



Fonte: Autora, 2019.

A 8-hidroxiquinolína (Figura 17) é outro composto que possui uma rica diversidade de propriedades biológicas, além de ser um importante grupo de quelação de íons metálicos. Dentre as principais aplicações clínicas, podemos citar neuroprotetor, quelantes de metaloproteínas, agente anticancerígeno, antifúngico, antimicrobiano e antileishmanial. Com o intuito de avaliar a atividade leishmanicida *in vitro* e *in vivo* da 8-hidroxiquinolína, Lage e colaboradores (2016) realizaram um estudo utilizando um sistema de micelas contendo o composto. Na avaliação *in vitro*, contra promastigotas de *L. amazonensis*, a 8-hidroxiquinolína mostrou atividade semelhante à anfotericina B, com valores de CI_{50} próximos a 1,0 $\mu\text{g/mL}$, e uma melhor atividade citotóxica em macrófagos murino, com CL_{50} de 18,3 $\mu\text{g/mL}$, contra 7,6 $\mu\text{g/mL}$ para a anfotericina B; assim mostrando um índice de seletividade de 22,9 contra 7,6, respectivamente. Os testes *in vivo* foram realizados utilizando camundongos BALB/c infectados com *L. amazonensis*. Ao final do tratamento, foi examinado o diâmetro médio das lesões no tecido infectado, bem como a carga parasitária em tecidos e órgãos (pele, baço, fígado e gânglios linfáticos). Os resultados mostram que o composto induziu redução significativa tanto no diâmetro médio das lesões quanto na carga parasitária de todos os órgãos e tecidos avaliados, além de níveis reduzidos de IL-4 e IL-10 e níveis aumentados de INF- γ e IL-12, indicando ativação da resposta imunológica do tipo Th1 e supressão da resposta do tipo Th2 (SONG et al., 2015; LAGE et al., 2016).

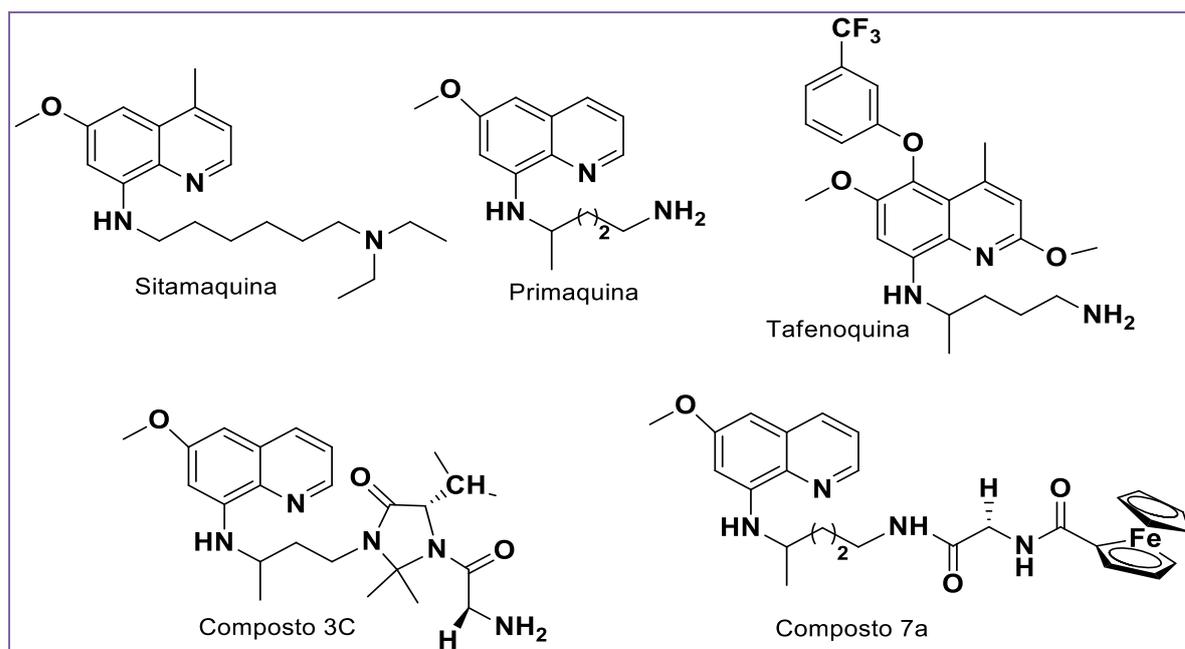
Figura 17- Estrutura da 8-hidroxiquinolina.



Fonte: Autora, 2019.

O conhecimento da atividade leishmanicida dos derivados 8-aminoquinolinicos (Figura 18) é bem antigo. A sitamaquina, uma 8-aminoquinolina, foi sintetizada há vários anos, juntamente com outros derivados relacionados, a fim de melhorar o índice terapêutico da primaquina. Os estudos mostraram sua atividade leishmanicida contra a LV, mas não contra a LT (LOISEAU; COJEAN; SCHRÉVEL, 2011; REYNOLDS; LOUGHLIN; YOUNG, 2013).

A primaquina, único derivado 8-aminoquinolinico em uso clínico contra malária, não é atualmente utilizada na terapêutica da leishmaniose devido a alguns efeitos secundários adversos e um menor índice terapêutico que os medicamentos de referência. Costa e colaboradores (2012), baseando-se nas limitações da primaquina, desenvolveram uma série de moléculas, vinte e sete ao todo, visando proteger a amina alifática da inativação metabólica, adicionando um peptidomimético, um dipeptídeo ou um organometálico nesta posição. Após a síntese, os compostos foram testados quanto à atividade leishmanicida sob as formas promastigotas e amastigotas de *L. infantum*, e quanto à citotoxicidade. Os resultados indicaram que os derivados peptidomimético **3c** e organometálico **7a** da primaquina mostravam-se mais eficazes que o fármaco padrão na eliminação de amastigotas intramacrofágica, além de apresentarem diminuição na toxicidade e atividade semelhante à sitamaquina e miltefosina contra as formas promastigotas (LOISEAU; COJEAN; SCHRÉVEL, 2011; REYNOLDS; LOUGHLIN; YOUNG, 2013; COSTA et al., 2012).

Figura 18- Estruturas dos análogos 8-aminoquinolina.

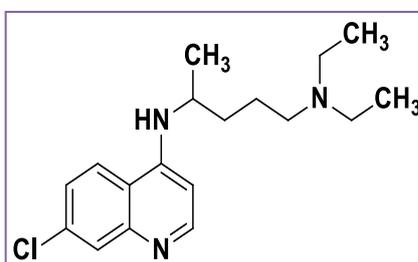
Fonte: Autora, 2019.

Outro derivado 8-aminoquinolínico que mostrou atividade leishmanicida, frente ao modelo experimental de camundongo, foi a tafenoquina. Carvalho e colaboradores (2010) propuseram um possível mecanismo de ação para o composto. De acordo com os resultados encontrados pelos pesquisadores, a tafenoquina atua por interferência na cadeia respiratória mitocondrial da *Leishmania* spp., causando uma queda rápida nos níveis de ATP intracelular e, consequente, colapso energético no parasito. Além disso, o composto também induz a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e elevação da concentração de cálcio intracelular, que, em conjunto, ocasionam morte semelhante a apoptose (CARVALHO et al., 2010).

Os compostos 4-aminoquinolínicos também possuem atividade leishmanicida. A cloroquina (Figura 19), a mais famosa 4-aminoquinolina, foi sintetizada pela primeira vez em 1934 e é utilizada até os dias atuais no tratamento da malária. Estudos tem comprovado que o fármaco apresenta um índice terapêutico favorável para o tratamento da LT. No Paquistão, um ensaio clínico conduzido para determinar a eficácia da cloroquina oral em pacientes com LT, em comparação com o antimonial pentavalente (estibogluconato de sódio), contou com a participação de 30 pacientes divididos em dois grupos (A e B), que receberam, respectivamente, 250 mg de cloroquina por 20 dias e 20 mg / kg de Sb^V injetável durante 28 dias. Os pacientes foram acompanhados durante o período de 3 meses e as características clínicas e

histopatológicas foram avaliadas. A taxa de cura no grupo A foi de 100 % contra 93 % no grupo B e a tolerância ao fármaco foi melhor no grupo A. Outro estudo desenvolvido por Hanif; Akram; Mustafa (2016) comparou a duração do tratamento e dose final com administração intralesional e oral da cloroquina. Participaram deste estudo 86 pacientes divididos em dois grupos, os quais alcançaram cura de 100 % das lesões ao final do tratamento. A duração média foi de 9 semanas no grupo intralesional (A) em comparação com 11 semanas no grupo oral (B) e a dose total média do fármaco administrado a cada paciente foi de 5,8 g no grupo A, contra 19,2 g no grupo B. De um modo geral, os estudos comprovam que a cloroquina é um tratamento menos invasivo, mais barato e tolerável que o fármaco padrão para tratar a LT (KHAN; YASMIN; SIDIQI, 2007; HANIF; AKRAM; MUSTAFA, 2016).

Figura 19- Estrutura da cloroquina.



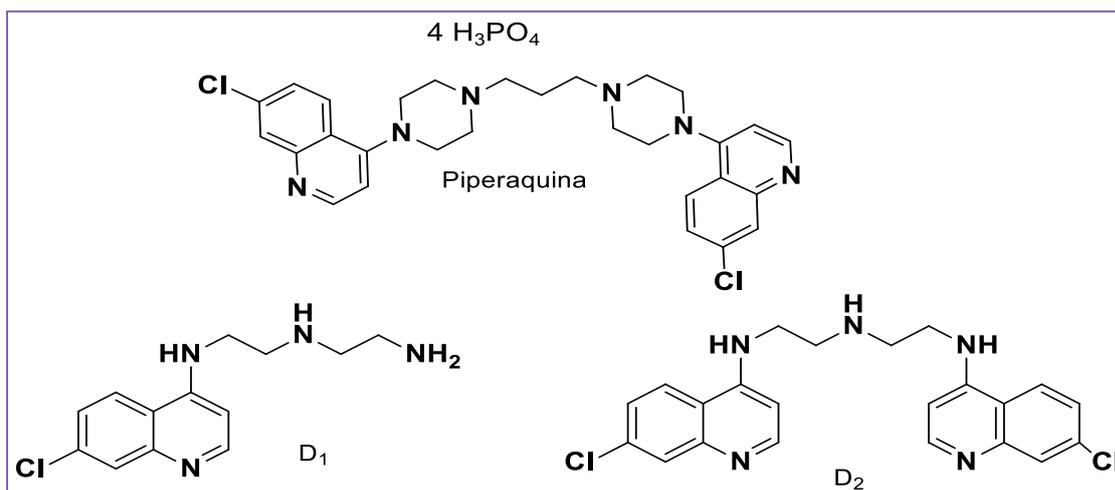
Fonte: Autora, 2019.

Os estudos para melhorar a atividade antipalúdica da cloroquina têm auxiliado no desenvolvimento de novos derivados 4-aminoquinolínicos. O conhecimento proporcionado pela química medicinal tem contribuído no desenvolvimento destes novos candidatos a fármacos, através de estratégias de modificação molecular clássica como bioisosterismo, homologação, simplificação e hibridação molecular (BARREIRO, E. J; 2009; LIMA, 2007; BAWA et al., 2010).

A união de dois núcleos quinolínicos numa única molécula levou a síntese da bisquinolina piperaquina, uma 4-aminoquinolina utilizada na clínica contra os parasitos da malária. A literatura descreve a síntese de várias outras bisquinolinas com atividade parasitária, inclusive antileishmanial. Nosso grupo de pesquisa já vem trabalhando com derivados 4-aminoquinolínicos sintetizados através de reações de Substituição Nucleofílica Aromática ($S_{N_{AR}}$), sendo que dois deles apresentaram boa atividade *in vitro* contra cepas do *Plasmodium*

falciparum resistente e sensível à cloroquina. No teste *in vivo* com camundongos infectados com *P. berguei* a monoquinolina MAQ (**D1**) foi melhor que a bisquinolina BAQ (**D2**), reduzindo significativamente a parasitemia (Figura 20) (KONDAPARLA et al., 2016; REYNOLDS; LOUGHLIN; YOUNG, 2013; AGUIAR et al., 2012; BAWA et al., 2010).

Figura 20- Bisquinolinas e monoquinolina com atividade antipalúdica.



Fonte: Autora, 2019.

Portanto, com base nas considerações a respeito das dificuldades enfrentadas com o atual tratamento da leishmaniose e sabendo-se do potencial leishmanicida do núcleo quinolínico, propusemos desenvolver novos derivados 4-aminoquinolínicos (monoquinolinas e bisquinolinas), a partir de compostos já sintetizados por nosso grupo de pesquisa e testá-los quanto à citotoxicidade e atividade leishmanicida.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- ✓ Sintetizar e avaliar a citotoxicidade e a atividade leishmanicida de novos derivados 4-aminoquinolínicos.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar e caracterizar compostos 4-aminoquinolínicos;
- ✓ Determinar o potencial citotóxico dos compostos frente à célula hospedeira (macrófagos da linhagem J774);
- ✓ Realizar o screening farmacológico dos compostos sobre a viabilidade de formas promastigotas das espécies de *L. amazonensis* e *L. chagasi*;

4 EXPERIMENTAL

4.1 Considerações iniciais

O desenvolvimento do presente trabalho de dissertação seguiu a seguinte estratégia de execução: I) Síntese dos derivados 4-aminoquinolínicos; II) Caracterização dos compostos sintetizados III) Avaliação da atividade biológica dos compostos.

As sínteses e parte das caracterizações dos compostos foram realizadas junto ao grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos foram realizados no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (NAPRMN) do IQB/UFAL.

A análise do ponto de fusão foi realizada no Laboratório de Química Medicinal da Escola de Enfermagem e farmácia (EENFAR/UFAL).

As análises de atividade biológica foram realizadas junto ao Laboratório de Farmacologia e Imunidade (LaFI) do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS/UFAL).

4.2 Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes utilizados na síntese dos compostos estão descritos na Tabela 2, com sua procedência e a fórmula molecular, os quais foram utilizados sem tratamento prévio, exceto a acetonitrila que necessitou ser purificada para retirada da água. As vidrarias e demais materiais utilizados foram previamente lavados e secos em estufa a 80°C .

Tabela 2- Reagentes e solventes utilizados

Reagentes e Solventes	Fórmula Molecular	Pureza	Origem
-----------------------	-------------------	--------	--------

4,7-dicloroquinolina	$C_9H_5Cl_2N$	97%	Sigma-Aldrich
4-cloro-7-trifluorometil-quinolina	$C_{10}H_5ClF_3N$	98%	Sigma-Aldrich
4,8-dicloroquinolina	$C_9H_5Cl_2N$	97%	Sigma-Aldrich
4-Iodotolueno	C_7H_7I	99%	Sigma-Aldrich
Iodobenzeno	C_6H_5I	98%	Sigma-Aldrich
Propargilamina	C_3H_5N	98%	Sigma-Aldrich
Fenol	C_6H_6O	P.A	Dinâmica
Tetra kis (trifosfina) Paládio (0)	$Pd [P((C_6H_5)_3P)]_4$	99%	Sigma-Aldrich
Iodeto de Cobre	CuI	98%	Sigma-Aldrich
Dietilenotriamina	$C_4H_{13}N_3$	99%	Sigma-Aldrich
Trietilamina	$C_6H_{15}N$	99%	Sigma-Aldrich
Metanol	CH_4O	P.A	Dinâmica
Acetato de Etila	$C_4H_8O_2$	P.A	Dinâmica
Hexano	C_6H_{14}	P.A	Dinâmica
Acetonitrila	C_2H_3N	P.A	Dinâmica
Hidróxido de Sódio	$NaOH$	P.A	Dinâmica
Sílica Gel 60	-	-	Macherey-Nagel

4.3 Equipamentos

As análises para as caracterizações dos ligantes foram realizadas no Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. A Tabela 3 contém as técnicas utilizadas, os seus respectivos aparelhos e o departamento a que pertencem.

Tabela 3- Equipamentos utilizados nas caracterizações dos compostos.

Técnica Analítica	Aparelho	Local
Espectroscopia de absorção no infravermelho médio	Espectrofotômetro FTIR Nicolet 6700 Thermo Scientific	GCaR/IQB/UFAL
Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	Espectrômetro Bruker Avance 400, operando na frequência de 400,130 MHz para RMN de ^1H e 100,613 MHz para RMN de ^{13}C .	NAPRMN/IQB/UFAL
Ponto de Fusão	MSTecnoPON. Modelo PFMII Digital, com temperatura máxima de 330 °C	ESENFAR/UFAL

4.4 Preparo das amostras para análise

4.4.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Para as análises por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton (RMN de ^1H) e de carbono-13 (RMN de ^{13}C) as amostras foram pesadas (10 mg para ^1H e 20 mg para ^{13}C) dissolvidas em solventes deuterados adequados (Metanol- d_4 ou Clorofórmio- d), filtradas em tubo contendo algodão e celite e transferidas para tubos de RMN.

4.4.2 Espectroscopia infravermelho (IV)

As análises por espectroscopia na região do infravermelho médio foram realizadas num espectrofotômetro FTIR Nicolet 6700 Thermo Scientific com resolução de 4 cm^{-1} , utilizando-se pastilhas de KBr na proporção de 99% para 1% da amostra a ser analisada na região entre 4000 e 400 cm^{-1} .

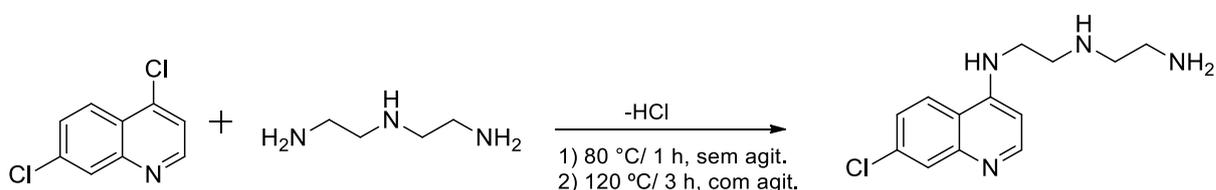
4.4.3 Análise de ponto de fusão

Os pontos de fusão dos compostos sintetizados foram analisados utilizando como suporte, um capilar em que as amostras foram colocadas. A variação da temperatura ocorreu com velocidade de 1 °C/min até que as amostras passassem do estado sólido para o estado líquido, sendo assim o ponto de fusão determinado.

4.5 Síntese dos compostos

Para síntese dos compostos desenvolvidos no presente trabalho foram sintetizadas previamente duas monoquinolinas (**D1** e **D3**) desenvolvidas anteriormente por nosso grupo de pesquisa (LIMA, R. M. S. L., 2014; ALMEIDA, M. M. F. S., 2014) as quais serão descritas aqui.

4.5.1 Preparação da *N*¹-(2-aminoetil) -*N*²-(7-cloroquinolin-4-il) etano-1,2-diamina (**D1**).

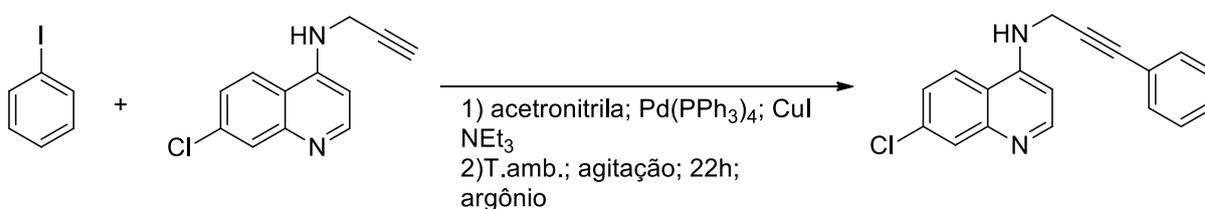


O composto **D1** foi obtido através de uma adaptação da metodologia descrita anteriormente por nosso grupo com algumas modificações (AGUIAR et al., 2012). Num balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados a 4,7-dicloroquinolina (1,0 g; 5,0 mmol) e a dietilenotriamina (5 mL; 50 mmol). Sob agitação, a mistura foi aquecida a 80°C por 1 hora e em seguida a temperatura do sistema foi elevada para 135 °C por 3 horas. Após resfriada à temperatura ambiente, ela foi basificada com 10 mL de uma solução de NaOH (10%) e extraída com acetato de etila (3x 10 mL). A fase orgânica foi deixada em repouso na geladeira, fazendo-se a troca do recipiente até não mais decantar resíduo. O solvente foi evaporado no evaporador rotatório e seco sob vácuo. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração amarela, solúvel em metanol (F.M.: C₁₃H₁₇ClN₄; M.M.: 264,75 g.mol⁻¹; rendimento total: 50%. P.F.: 99-100 °C).

I.V. (ν_{máx}/cm⁻¹): 3245 (ν N-H), 3063 (ν =C-H anel quinolínico), 2930 e 2849 (ν_{as}/ν_s CH₂), 1587 e 1486 (ν C=C anel quinolínico), 1328 (C_{Ar}-N), 1449 (δ CH₂), 879, 806 e 765 (δ

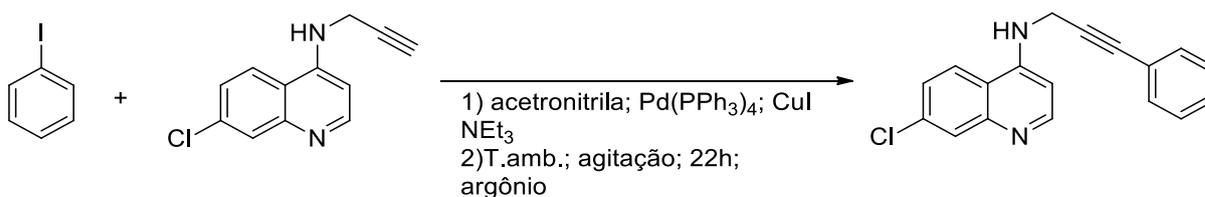
C-H do anel aromático). RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ 1,96 (s, NH amínico), 2,80 (m, 4H, CH_2 -16 e CH_2 -13), 2,97 (t, $J=6,30$ Hz, 2H, CH_2 -15), 3,50 (t, $J=6,30$ Hz, 2H, CH_2 -12), 3,55 (s, NH amínico), 5,46 (s, NH-anilínico), 6,56 (d, $J=5,62$ Hz, 1H, Ar-H C-3), 7,39 (dd, $J=9,00$ Hz e $J=2,05$ Hz, 1H, Ar-H C-6), 7,78 (d, $J=1,94$ Hz, 1H, Ar-H C-8), 8,10 (d, $J=8,94$ Hz, 1H, Ar-H C-5), 8,36 (d, $J=5,79$ Hz, 1H, Ar-H C-2).

4.5.2 Preparação da *N*-(prop-2-inil) -7-cloro-quinolin-4-amina (**D3**).



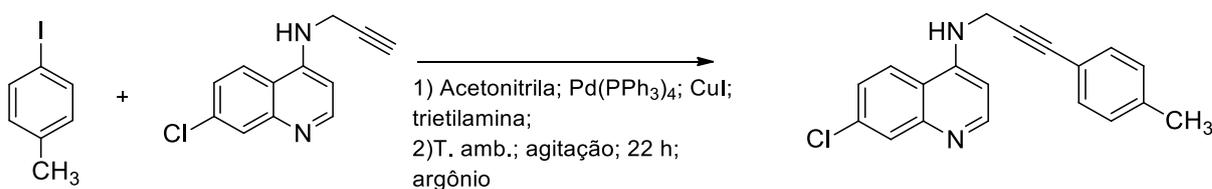
A síntese do composto **D3** foi realizada anteriormente no nosso grupo de pesquisa e seguindo a metodologia proposta por (THI et al, 2008) com algumas alterações. O preparo do composto foi realizado em um tubo selado com um agitador magnético, 4,7- dicloroquinolina (1,5 g; 7,6 mmol) e fenol (6,7 mL; 76 mmol). Após a mistura ser deixada por 1 h a $100\text{ }^\circ\text{C}$ com agitação foi adicionado propargilamina (975 μL ; 15,2 mmol) e a temperatura foi elevada para $120\text{ }^\circ\text{C}$ permanecendo por mais 4 h. Ao finalizar da reação, a mesma foi resfriada até a temperatura ambiente e uma solução aquosa de NaOH a 15% (30 mL) foi adicionada a mistura reacional. Houve a formação de um precipitado amarelo que foi lavado com mais solução de NaOH e em seguida com água. O sólido obtido foi purificado em coluna cromatográfica utilizando como eluente hexano/acetato na proporção de (6:4). Obtivemos um sólido branco, solúvel em metanol. (F.M.: $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{ClN}_2$; M.M.: 216,67 g/mol; Rendimento total: 92%; Ponto de degradação: $238,1\text{ }^\circ\text{C}$).

I.V ($\nu_{\text{máx.}}/\text{cm}^{-1}$): 3286 ($\nu\equiv\text{CH}$), 3205 ($\nu\text{ C-H}$), 3060 ($\nu\text{ =CH}$ anel quinolínico), 2924 e 2863 ($\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}\text{ CH}_2$), 2115 ($\nu\text{C}\equiv\text{C}$), 1582-1543 cm^{-1} ($\nu\text{ C=C}$ anel quinolínico), 1451 ($\delta\text{ CH}_2$), 1318 ($\text{C}_{\text{Ar-N}}$), 805, 849 e 873 ($\delta\text{ C-H}$ do anel aromático), 1442 ($\delta\text{ CH}_2$). RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD), δ 2,33 (s, 1H, C-14), 4,15 (m, $J=3,23$ Hz, 2H, C-12), 5,25 (s, NH anilínico), 6,54 (d, $J=5,00$ Hz, 1H, Ar-H C-3), 7,40 (d, $J=9,11$ Hz, 1H, Ar-H C-6), 7,68 (d, $J=8,82$ Hz, 1H, Ar-H C-5), 7,99 (s, 1H, Ar-H C-8), 8,62 (d, $J=5,29$ Hz, Ar-H C-2).

4.5.3 Preparação da 7-cloro-*N*-(3-fenilprop-2-in-1-il) quinolin-4-amina (**D4**).

A síntese do composto **D4** foi baseada na metodologia proposta por (SHADRIN et.al., 2015) com adaptações. Em um balão schlenk de 100 mL sob argônio foi adicionado 50 mL de acetonitrila seca, iodobenzeno (245 μ L; 2,2 mmol), tetrakis (trifenilfosfina) paládio (0) (0,11 g; 0,10 mmol), iodeto de cobre (0,020 g; 0,10 mmol), **D3** (0,43 g; 2,0 mmol), trietilamina (28 μ L; 0,20 mmol) permanecendo sob agitação a temperatura ambiente por 22 h. Ao final o solvente foi evaporado sob vácuo e o produto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando como eluente hexano / acetato de etila na proporção de 6:4. O produto obtido foi um sólido de coloração amarelo claro, solúvel em metanol. (F.M.: C₁₈H₁₃ClN₂; M.M.: 292,76 g/mol; rendimento total: 42%. P.F.: 150 °C).

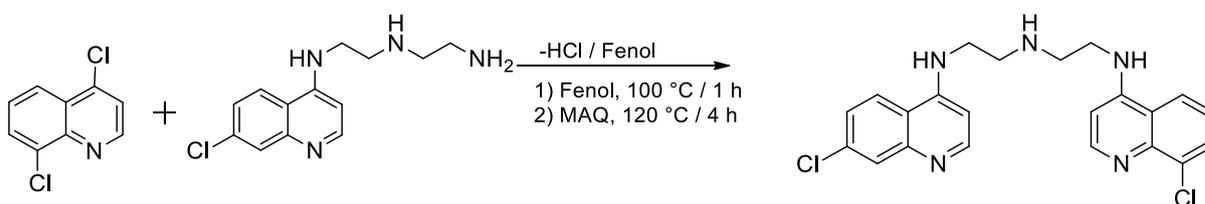
I.V. ($\nu_{\text{máx.}} / \text{cm}^{-1}$): 3227 (ν C-H) 3060 ($\nu=$ CH), 2922 (ν_{as} CH₂), 2861 (ν_{s} CH₂), 2228 (ν -C \equiv C), 1612 (ν C=N), 1579 (ν C=C), 1440 (δ CH₂), 1318 (C_{Ar}-N), 846, 804 e 751 (δ =C-H do anel aromático). RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 4,40 (s, 2H, CH₂-C-12), 6,75 (d, J=5,65 Hz, 1H, Ar-H C-3), 7,28 (m, 3H, Ar-H C- 17; 18 e 19), 7,36 (m, 2H, Ar-H C-16 e 20), 7,42 (dd, J=9,07 e 2,23 Hz, 1H, Ar-H C- 6), 7,83 (d, J=2,23 Hz, 1H, Ar-H C-8), 8,09 (d, J= 8,92 Hz, 1H, Ar-H C- 5), 8,47 (d, J=5,50 Hz, 1H, Ar-H C-2). RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD): δ 150,9 (C-2), 150,7 (C-9), 148,1 (C-4), 135,0 (C-7), 131,2 (C-8), 128,0 (C-16,18 e 20), 126,2 (C-17 e 19), 124,9 (C-5), 122,8 (C-6), 122,6 (C-15), 117,6 (C-10), 99,4 (C-3), 84,3 (C-14), 82,8 (C-13), 32,3 (C-12).

4.5.4 Preparação da 7-cloro-*N*-(3-(*p*-tolil) prop-2-in-1-il) quinolin-4-amina (**D5**).

A síntese do composto **D5** foi baseada na metodologia proposta por (SHADRIN et.al., 2015) com adaptações. Em um balão schlenk de 100 mL sob argônio foi adicionado 50 mL de acetonitrila seca, 4-iodotolueno (0,478 g; 2,2 mmol), tetrakis (trifenilfosfina) paládio (0) (0,11 g; 0,10 mmol), iodeto de cobre (0,020 g; 0,10 mmol), **D3** (0,43 g; 2,0 mmol), trietilamina (28 μ L; 0,2 mmol) permanecendo sob agitação a temperatura ambiente por 22 h. Ao final o solvente foi evaporado sob vácuo e o produto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando como eluente hexano/acetato de etila na proporção de 6:4. O produto obtido foi um sólido de coloração amarelo claro, solúvel em metanol. (F.M.: $C_{19}H_{15}ClN_2$; M.M.: 306,79 g/mol; rendimento total: 47%. P.F.: 155 °C).

I.V. ($\nu_{\text{máx.}} / \text{cm}^{-1}$): 3227 (ν C-H), 3059 (ν =CH anel quinolínico), 2922 e 2861 ($\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}$ - CH_2), 2228 (ν C \equiv C), 1614 (ν C=N), 1580-1552 (ν C=C), 1450 (δ CH_2), 1314 ($\text{C}_{\text{Ar-N}}$), 886, 805 e 765 (δ C-H do anel aromático). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 2,36 (s, 3H, CH_3 - C-21), 4,37 (d, $J=5,13$ Hz, 2H, CH_2 -C-12), 5,27 (s, NH anilínico), 6,62 (d, $J=5,13$ Hz, 1H, Ar-H C-3), 7,14 (d, $J=8,22$ Hz, 2H, Ar-H C-17 e C-19), 7,36 (d, $J=8,86$ Hz, 2H, Ar-H C-16 e C-20), 7,36 (d, $J=8,86$ Hz, 2H, Ar-H C-16 e C-20), 7,49 (dd, $J=9,05$ e $2,11$ Hz, 2H, Ar-H C-5), 7,74 (d, $J=8,86$ Hz, 1H, Ar-H C-6), 8,02 (d, $J=1,92$ Hz, 1H, Ar-H C-8), 8,64 (d, $J=5,20$ Hz, 1H, Ar-H C-2). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 152,0 (C-2), 149,1 (C-9), 148,8 (C-4), 138,8 (C-18), 135,0 (C-7), 131,6 (C-16 e 20), 129,1 (C-17 e 19), 128,9 (C-8), 125,7 (C-5), 120,9 (C-6), 119,1 (C-15), 117,3 (C-10), 100,0 (C-3), 84,7 (C-14), 83,2 (C-13), 33,9 (C-12), 21,4 (C-21).

4.5.5 Preparação da N^1 -(7-cloroquinolin-4-il) - N^2 -(2-((8-cloroquinolin-4-il) amino) etil) etano-1,2-diamina (**D6**).

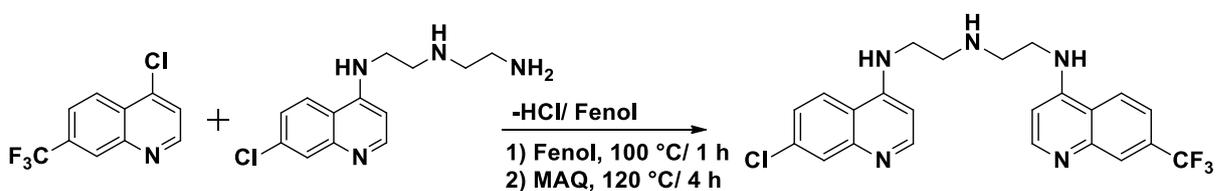


A síntese das bisquinolinas dissimétricas seguiu a mesma metodologia do composto **D3** anteriormente descrito, proposta por (THI et al, 2008) com adaptações. Num balão de duas bocas sob refluxo com agitação foi adicionado 4,8-dicloroquinolina (0,317 g; 1,6 mmol) e fenol (1,5 mL; 16 mmol) a uma temperatura de 100 °C/1 h. Após este período foi adicionado a **D1** (0,42 g; 1,6 mmol) e a temperatura foi elevada para 120 °C por mais 4 horas. Ao final foi adicionado 5 mL de NaOH (2 M) e 5 mL de água destilada, formando um precipitado grudento.

Então este foi solubilizado com 5 mL de metanol e acrescentado NaOH (2M) e salmoura formando um novo precipitado mais claro e solto, o qual foi filtrado em filtro quantitativo e lavado com água destilada. Este processo foi repetido até total retirada do fenol. Ao final o precipitado foi solubilizado em metanol seco no evaporador rotatório e bomba de alto vácuo obtendo-se um pó de coloração creme, solúvel em metanol (F.M.: C₂₂H₂₁Cl₂N₅; M.M.: 426,34 g/mol; rendimento total: 47%. P.F.:155 °C).

I.V. ($\nu_{\text{máx.}}/\text{cm}^{-1}$): 3369 (ν N-H), 3139 (ν C-H anel quinolínico), 3011 (ν =CH), 2930 e 2860 ($\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}$ CH₂), 1583 e 1530 (ν C=C anel quinolínico), 1336 (C_{Ar}-N), 1420 (δ CH₂) 1332 (C_{Ar}-N), 877, 802 e 756 (δ C-H do anel aromático). RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 1,88 (s, NH amínico), 3,02 (m, 4H, CH₂- 12 e 12'), 3,51 (m, 4H, CH₂-13 e 13'), 3,76 (NH anilínico), 6,53 (d, J=5,49 Hz, 1H, Ar-H C-3), 6,61 (d, J=5,49 Hz, 1H, Ar-H C-3'), 7,27 (m, 2H, Ar-H C-6 e 6'), 7,73 (m, 2H, Ar-H C-8 e 7'), 7,96 (m, 2H, Ar-H C-5 e 5'), 8,31 (d, J=5,49 Hz, 1H, Ar-H C-2), 8,38 (d, 5,49 Hz, 1H, Ar-H C-2'). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD): δ 151,4 (C-4'), 151,2 (C-4), 151,0 (C-2'), 150,5 (C-2), 148,2 (C-9), 137,6 (C-9'), 134,9 (C-7), 132,2 (C-8'), 129,3 (C-7'), 126,2 (C-8), 124,6 (C-6), 123,8 (C-5'), 122,6 (C-5), 120,3 (C-10'), 119,8 (C-6'), 117,3 (C-10), 98,7 (C-3'), 98,3 (C-3), 48,2 (C-13'), 46,8 (C-13), 42,1 (C-12'), 41,9 (C-12).

4.5.6 Preparação da *N*¹-(7-cloroquinolin-4-il) -*N*²-(2-((7-(trifluorometil)quinolin-4-il) amino) etil) etano-1,2-diamina (**D7**).



Seguindo a metodologia de (THI et al, 2008) com adaptações. Num balão de duas bocas foi adicionado 4-cloro-7-trifluorometil-quinolina (0,37 g; 1,6 mmol) e fenol (1,5 mL; 16 mmol) a uma temperatura de 100 °C/1 h com agitação magnética e refluxo. Após este período foi adicionado a **D1** (0,42 g; 1,6 mmol) e a temperatura foi elevada para 120 °C/4 h. Ao final foi adicionado 5 mL de NaOH (2 M) e 5 mL de água destilada, formando um precipitado grudento. Então este foi solubilizado com 5 mL de metanol e acrescentado NaOH salmoura formando um novo precipitado mais claro que o anterior, o qual foi filtrado em filtro quantitativo e lavado com água destilada. Este processo foi repetido até total retirada do fenol. Ao final o precipitado

foi solubilizado em metanol e em seguida seco no evaporador rotatório e bomba de alto vácuo, obtendo-se um pó de coloração creme claro, solúvel em metanol. (F.M.: $C_{23}H_{21}ClF_3N_5$; M.M.: 459,89 g/mol; rendimento total: 67%. P.F.: 170 °C).

I.V. ($\nu_{\text{máx.}}/\text{cm}^{-1}$): 3228 (ν N-H), 3075 (ν =CH anel quinolínico), 2926 e 2840 ($\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}$ CH_2), 1580 e 1550 (ν C=C anel quinolínico), 1450 (δ CH_2), 1282 ($\text{C}_{\text{Ar-N}}$), 850, 802, 765 (δ =CH). RMH de ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ 3,05 (m, 4H, CH_2 -13 e 13'), 3,54 (m, 4H, CH_2 -12 e 12'), 6,55 (d, $J=5,65$ Hz, 1H, Ar-H C-3), 6,63 (d, $J=5,65$ Hz, 1H, Ar-H C-3'), 7,25 (dd, $J=9,10$ e 1,73 Hz, 1H, Ar-H C-6), 7,95 (d, $J=9,10$ Hz, 1H, Ar-H C-6'), 7,73 (d, $J=1,73$ Hz, 1H, Ar-H C-8), 7,95 (d, $J=1,73$ Hz, 1H, Ar-H C-5), 8,06 (s, Ar-H C-8'), 8,17 (d, $J=8,81$ Hz, 1H, Ar-H C-5'), 8,32 (d, $J=5,63$ Hz, 1H, Ar-H C-2), 8,41 (d, $J=5,63$ Hz, 1H, Ar-H C-2'). RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD): δ 151,4 (C-2'), 151,2 (C-4'), 151,0 (C-4), 150,9 (C-2), 148,1 (C-9), 146,7 (C-9'), 134,8 (C-7), 131,4 (C-7'), 126,2 (C-8), 124,9 (C-6), 124,5 (C-8'), 122,6 (C-5 e C-5'), 120,6 (C-10'), 119,3 (C-6'), 117,2 (C-10), 99,3 (C-3'), 98,3 (C-3), 46,8 (C-13'), 46,7 (C-13), 41,9 (C-12'), 41,8 (C-12).

4.6 Ensaio *in vitro*

4.6.1 Ensaio de viabilidade celular

A viabilidade celular dos compostos foi determinada pelo ensaio colorimétrico da atividade metabólica, através do método de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il] -2,5-difeniltetrazólio). Neste ensaio, foram utilizados macrófagos da linhagem J774.A1 (1×10^6 células/poço), adicionados em placas de 96 poços e incubados a 37 °C durante a noite para melhor aderência à placa. Nos poços controle, foram cultivadas células somente com meio de cultura e com o diluente das substâncias DMSO (0,1%). No dia seguinte, o sobrenadante foi retirado e adicionado diferentes concentrações dos compostos e da pentamidina (100, 30, 10 e 3 μM). Após 48 h de incubação o sobrenadante foi descartado e acrescentado em cada poço 100 μL de MTT (0,5 mg/mL). Após 1 hora de incubação, os cristais de formazan resultantes foram dissolvidos em dimetil sulfóxido (DMSO) e a intensidade da absorção foi medida pela leitura da microplaca em espectrofotômetro a 490 nm. O experimento foi realizado em triplicata e os resultados expressos como percentual de morte celular, considerando como controle 100% a contagem de células viáveis em culturas não tratadas (poços controle) (MOSMANN, 1983).

4.6.2 Ensaio de avaliação da citotoxicidade contra formas promastigotas

O ensaio de toxicidade sobre formas promastigotas foi realizado em duplicata. As formas promastigotas de *L. amazonensis* (cepa MHOM/BR/77/LTB0016) e *L. chagasi* (cepa MCAN/BR/88/BA262) foram mantidas *in vitro* (2×10^6 células/mL) em placas de 48 poços em meio Schneider, suplementado com 10% de SFB, 1% L-glutamina e 2% de urina humana na presença de diferentes concentrações das substâncias avaliadas e da pentamidina (100, 10, 1 e 0,1 μM), por um período de 48 horas a uma temperatura de 26 °C. As células também foram cultivadas em meio isento de compostos (controle de crescimento basal), ou com 0,1% de DMSO (veículo controle). As promastigotas viáveis foram contadas em câmara de Neubauer e comparadas com o controle para a determinação da concentração de crescimento inibitório de 50% (CI_{50}) (TIUMAN et al., 2005; ROSA et al., 2016).

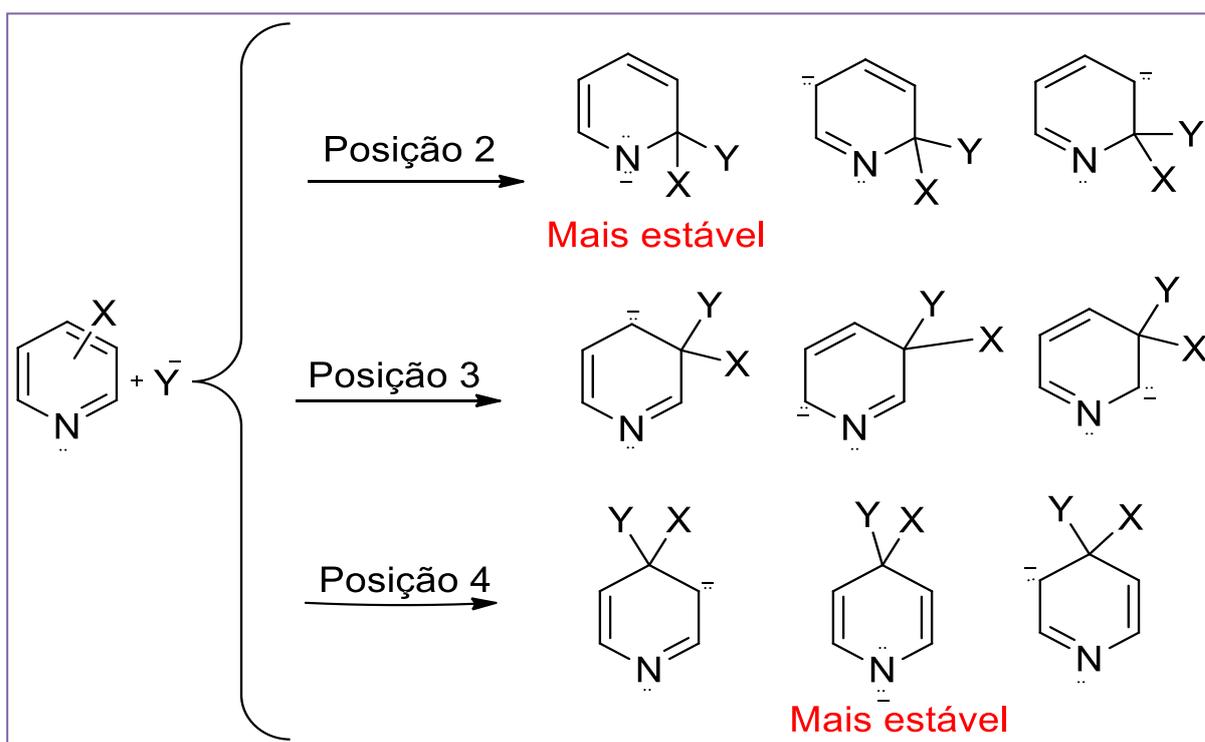
4.6.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram expressos como média \pm erro padrão da média ($M \pm \text{E.P.M.}$) após análise estatística empregando-se análise de variância (ANOVA) one-way seguido pelo pós-teste de Dunnett, onde as diferenças entre as médias foram consideradas significantes quando $p < 0,05$ ao ser comparado com o grupo controle. Foi então determinada a concentração inibitória de 50% (CI_{50}) e concentração letal de 50% (CL_{50}) para os compostos avaliados e a pentamidina.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

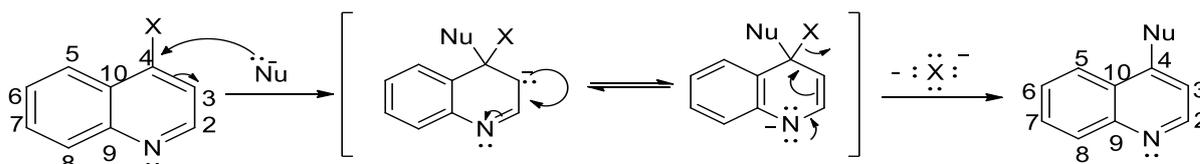
A substituição nucleofílica aromática é um tipo de reação na qual um nucleófilo desloca um grupo lábil, como um haleto, de um anel aromático. Compostos contendo o núcleo piridínico possuem uma distribuição irregular da densidade eletrônica em função da presença do átomo de nitrogênio. A reatividade do anel aromático é perturbada devido à alta eletronegatividade deste átomo que acaba atraindo a densidade eletrônica dos átomos de carbono em sua direção resultando num dipolo permanente. Na piridina, a S_NAR pode ocorrer nos carbonos C2 ou C4, visto que o ataque nessas posições leva a intermediários mais estáveis (Figura 21). Como os compostos quinolínicos apresentam um anel piridínico em sua estrutura eles também possuem características reacionais (Figura 22) semelhante à da piridina, ou seja, o ataque nucleofílico destes compostos dar-se-á preferencialmente nos carbonos C2 ou C4 (CAREY, 2011; BOWLER et al., 2014; CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012).

Figura 21- Intermediários formados da reação entre um nucleófilo e uma piridina.



Fonte: Adaptado USP, 2005.

Figura 22- Mecanismo reacional geral das quinolinas por S_N_{AR} na posição C4.

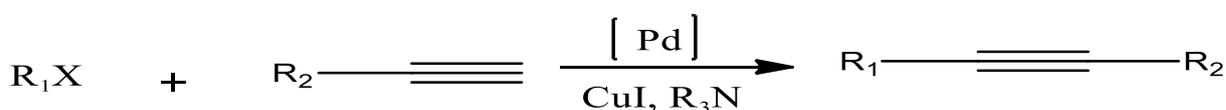


Fonte: Autora, 2019.

Por outro lado a formação de ligações carbono-carbono representa um dos passos sintéticos mais importantes na química orgânica. Até os anos 1970 não havia meios simples, diretos e gerais para formação desse tipo de ligação entre precursores contendo grupos insaturados em Csp^2 ou Csp . O conhecimento acerca do acoplamento cruzado, utilizando metais de transição como catalisadores, favoreceu o desenvolvimento de meios para a síntese desse tipo de ligação. As reações de acoplamento, catalisadas por paládio, representam uma das mais importantes vias de formação da ligação C-C, destacando-se Mizoroki-Heck, Suzuki e Sonogashira (CUNHA; OLIVEIRA, 2011; BATALHA; SARGRILLO; GAMA, 2014; WANG; GAO, 2014).

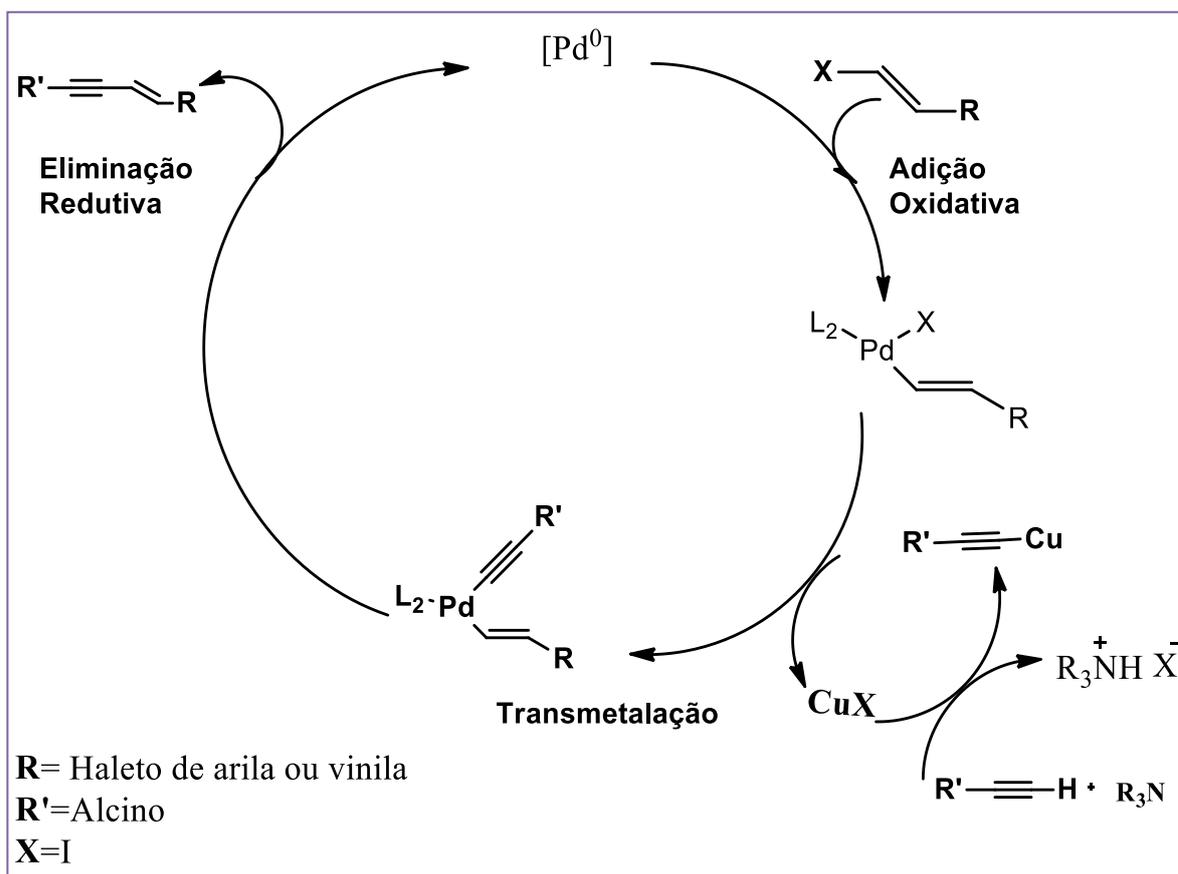
Entretanto, das três a reação de acoplamento cruzado de Sonogashira é a mais utilizada para a construção de ligações carbono-carbono, em particular para a formação de alcinos. O mecanismo reacional envolve três etapas: i) a adição oxidativa do haleto de arila ou vinila ao paládio; ii) a transmetalacão com um organometálico nucleofílico; e iii) a eliminação reductiva (Esquema 1). De um modo geral, no acoplamento cruzado catalisado por paládio, dois radicais ligados ao metal através de ligações metal-carbono são trazidos muito próximos uns dos outros, acoplando-se através de uma nova ligação simples C-C. Na reação de Sonogashira utiliza-se o paládio como catalisador, o iodeto de cobre como co-catalisador e uma amina (Figura 23) (LIANG; XIE; LI 2006; CUNHA; OLIVEIRA, 2011; BACKVALL, J. E, 2010).

Esquema 1- Reação de acoplamento tipo Sonogashira.



Fonte: Autora, 2019.

Figura 23. Mecanismo geral de acoplamento de Sonogashira.



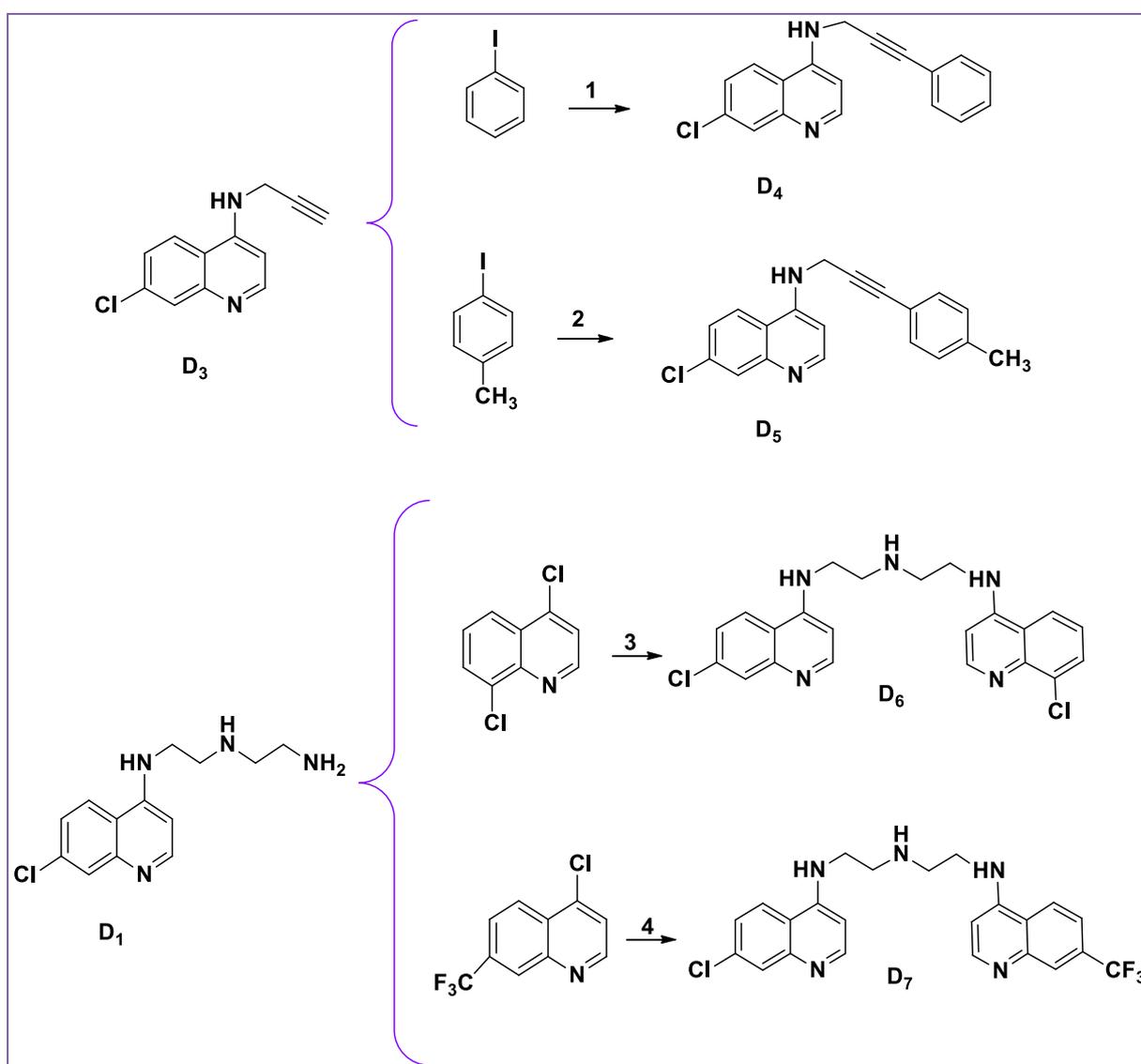
Fonte: Adaptado de CUNHA; OLIVEIRA, 2011.

No desenvolvimento deste trabalho foi realizada a síntese de novos derivados quinolínicos contendo o núcleo 7-cloro-4-aminoquinolina e outros substituintes com ou sem o núcleo quinolínico. Todos os compostos aminoquinolínicos foram sintetizados no Laboratório GCaR, através de reações de S_NAR e reação de Sonogashira reportadas na literatura e adaptadas às condições do laboratório (AGUIAR et al., 2012; RUDRAPAL et al, 2013; THI et al, 2008; SADRIN et.al., 2015). Para síntese das novas substâncias foram utilizados como material de partida dois compostos sintetizados anteriormente por nosso grupo de pesquisa: **D1** e **D3**, além da bisquinolina simétrica **D2** que foi sintetizada apenas para efeito comparativo no teste biológico entre as bisquinolinas dissimétricas sintetizadas (LIMA, R. M. S. L.; ALMEIDA, M. M. F. S., 2014).

A reação de Sonogashira foi utilizada na síntese dos compostos **D4** e **D5**, empregando-se como fonte de paládio o tetrakis (trifenilfosfina) paládio (0). Já as bisquinolinas **D6** e **D7** foram obtidas por S_NAR na posição C4 do anel quinolínico que contém o halogênio substituinte,

utilizando-se o fenol como solvente/reagente. Os rendimentos dos compostos variaram de 42 a 67% (ver Esquema 2).

Esquema 2- Monoquinolina a partir da **D3** e bisquinolina a partir da **D1**.

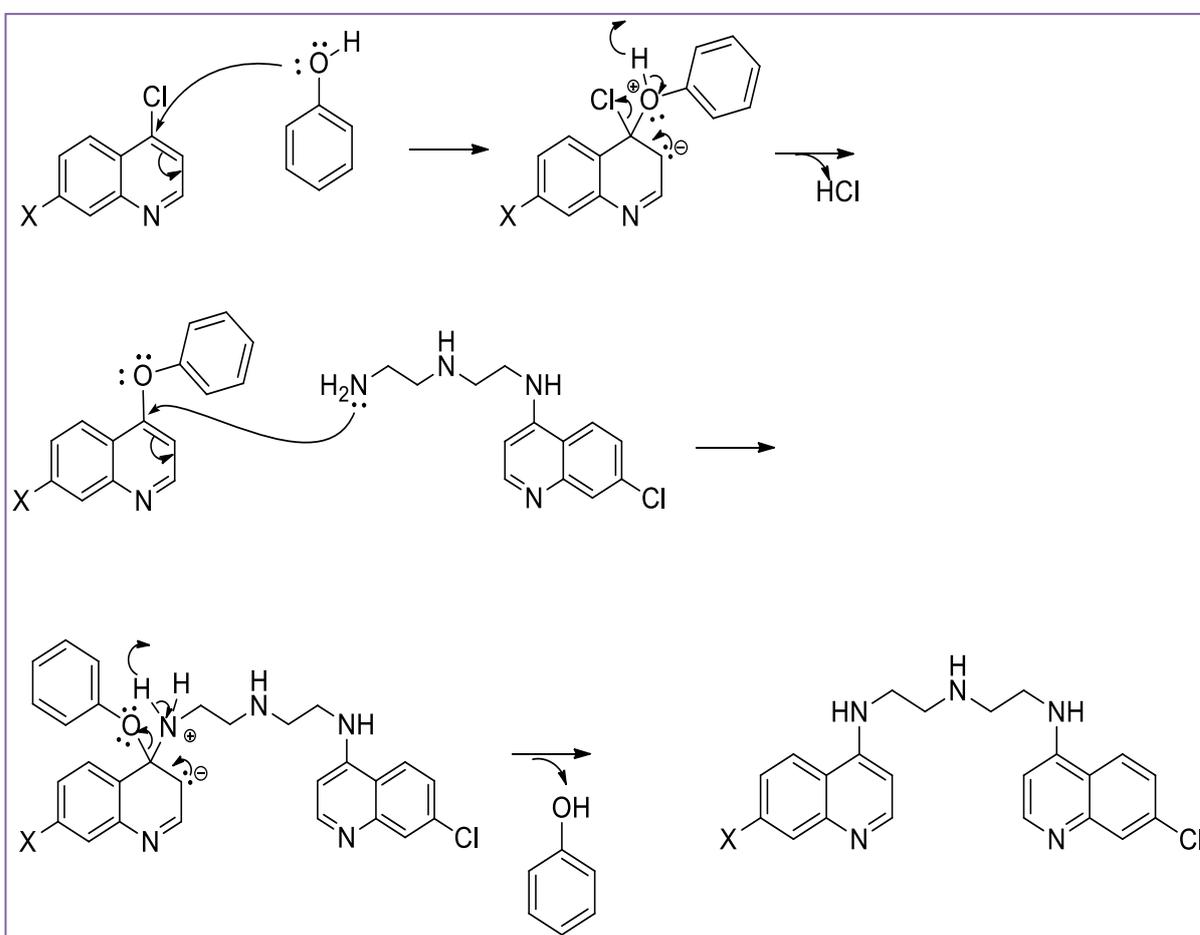


Fonte: Autora, 2019.

A síntese das bisquinolinas inéditas **D6** e **D7** seguiu a mesma metodologia adotada para sintetizar a **D3**, utilizando-se o fenol como solvente/reagente. Neste caso o fenol comporta-se como um co-ativador, através da formação *in situ* do intermediário fenóxido, o qual é deslocado posteriormente pela amina utilizada na reação para formação do produto desejado. Todo o

processo de ataque nucleofílico nas substâncias sintetizadas deu-se na posição C4 do anel quinolínico (Ver Esquema 3).

Esquema 3. Proposta de mecanismo reacional de formação das bisquinolinas.



Fonte: Autora, 2019.

5.1 Caracterização dos compostos 4-aminoquinolínicos

A síntese do composto **D1** seguiu a mesma metodologia adotada por Santos (2014), conseguindo um rendimento de 50%. A caracterização do composto foi feita através de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e espectroscopia de Infravermelho (FTIR). Os dados de alguns compostos foram corroborados pela análise complementar de COSY, HSQC e/ou HMBC, que mostram respectivamente os acoplamentos hidrogênio-hidrogênio, carbono-hidrogênio direto e a longa distância. Os dados analisados comprovam a formação do composto, podendo ser observado cinco sinais referentes aos hidrogênios aromáticos com deslocamentos

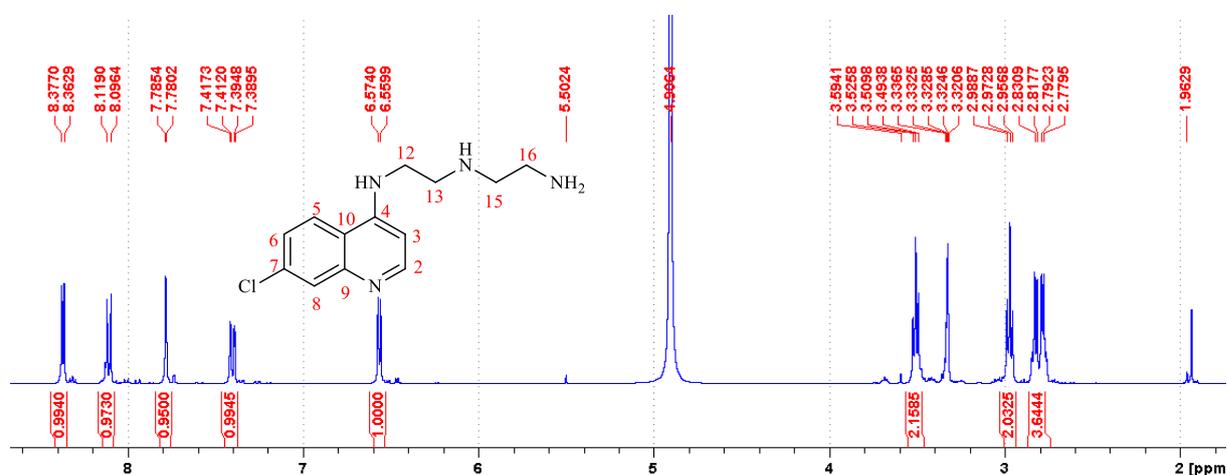
químicos (δ) entre 8,36 e 6,56 ppm, e três sinais para os hidrogênios metilênicos com deslocamentos químicos (δ) entre 3,50 e 2,80 ppm (Tabela 4 e Figura 24). O solvente deuterado utilizado na análise foi o metanol (CD_3OD).

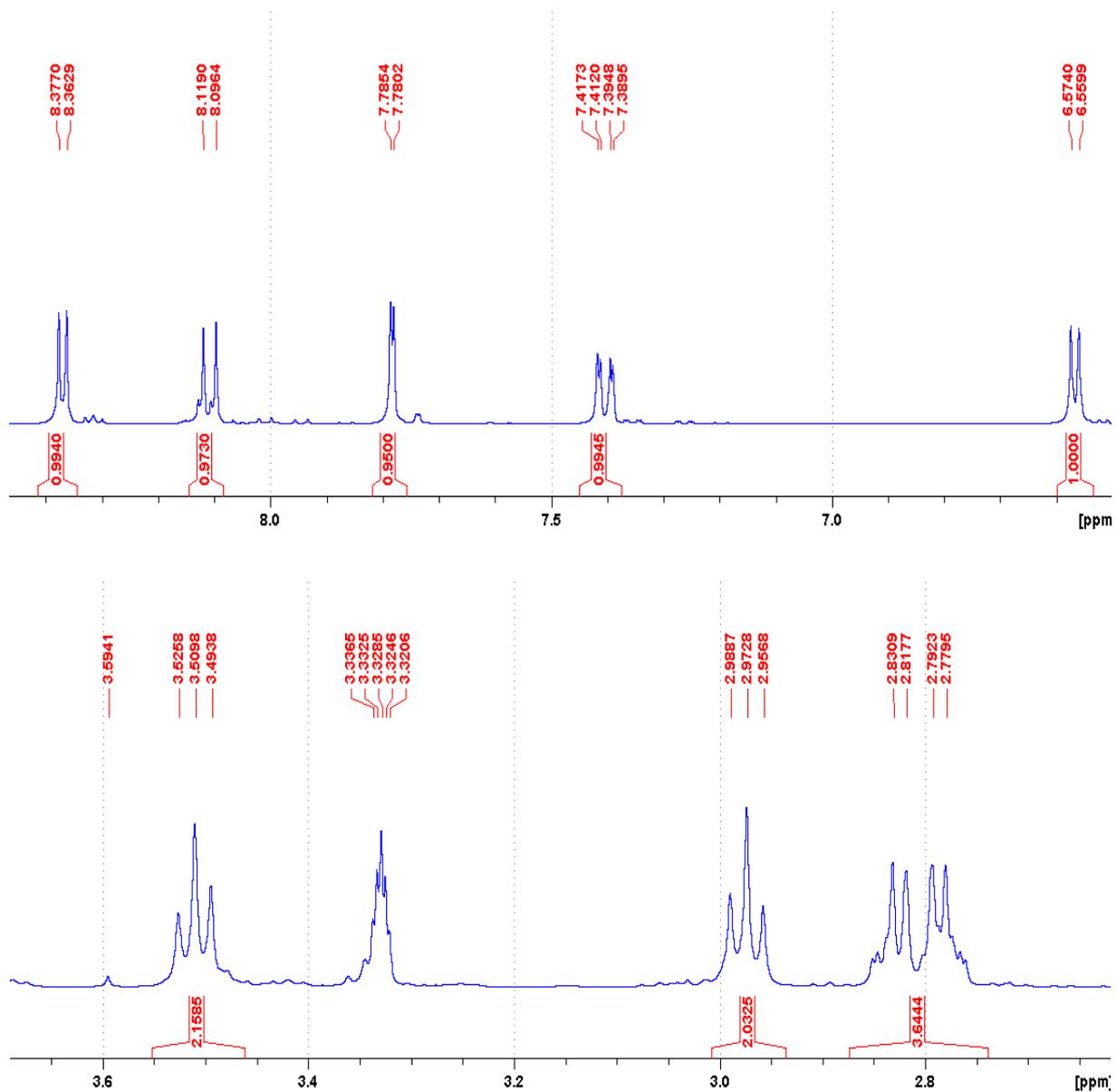
Tabela 4- Dados de RMN ^1H da **D1** em CD_3OD .

Atribuição	δ (Multiplicidade)	Integral	J(Hz)
2	8,36 (d)	1H	5,79
5	8,10 (d)	1H	8,94
8	7,78 (d)	1H	1,94
6	7,39 (dd)	1H	9,00 e 2,05
3	6,56 (d)	1H	5,62
NH amínico	5,46 (s)	2H	-
NH anilínico	3,55 (s)	1H	-
12	3,50 (t)	2H	6,30
15	2,97 (t)	2H	6,30
13 e 16	2,80 (m)	4H	-
NH amínico	1,96 (s)	1H	-

Fonte: Autora, 2019.

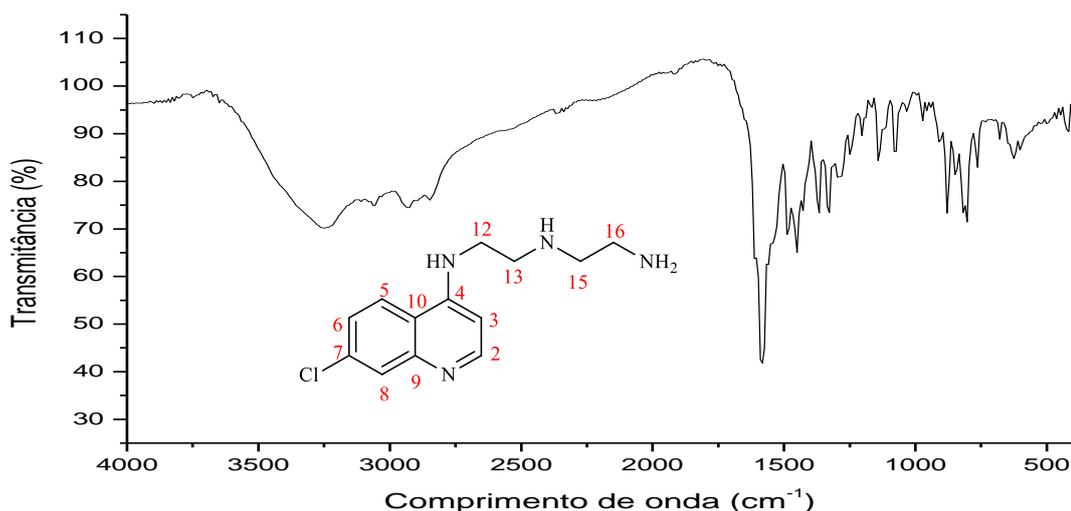
Figura 24- Espectros de RMN de ^1H do composto **D1** em CD_3OD .





Fonte: Autora, 2019.

O espectro de Infravermelho (Figura 25), obtido por KBr, mostra as bandas de absorção de estiramento 3245 cm^{-1} (ν N-H), 3063 cm^{-1} (ν =CH), 2930 cm^{-1} (ν_{as} CH₂), 2849 cm^{-1} (ν_{s} CH₂) da cadeia alifática, 1587 , 1486 cm^{-1} (ν C=C), 1328 (C_{Ar}-N) e as deformações angulares 1449 (δ CH₂), 879 , 806 e 765 cm^{-1} (δ C-H do anel aromático).

Figura 25- Espectro de Infravermelho da **D1**.

Fonte: Autora, 2019.

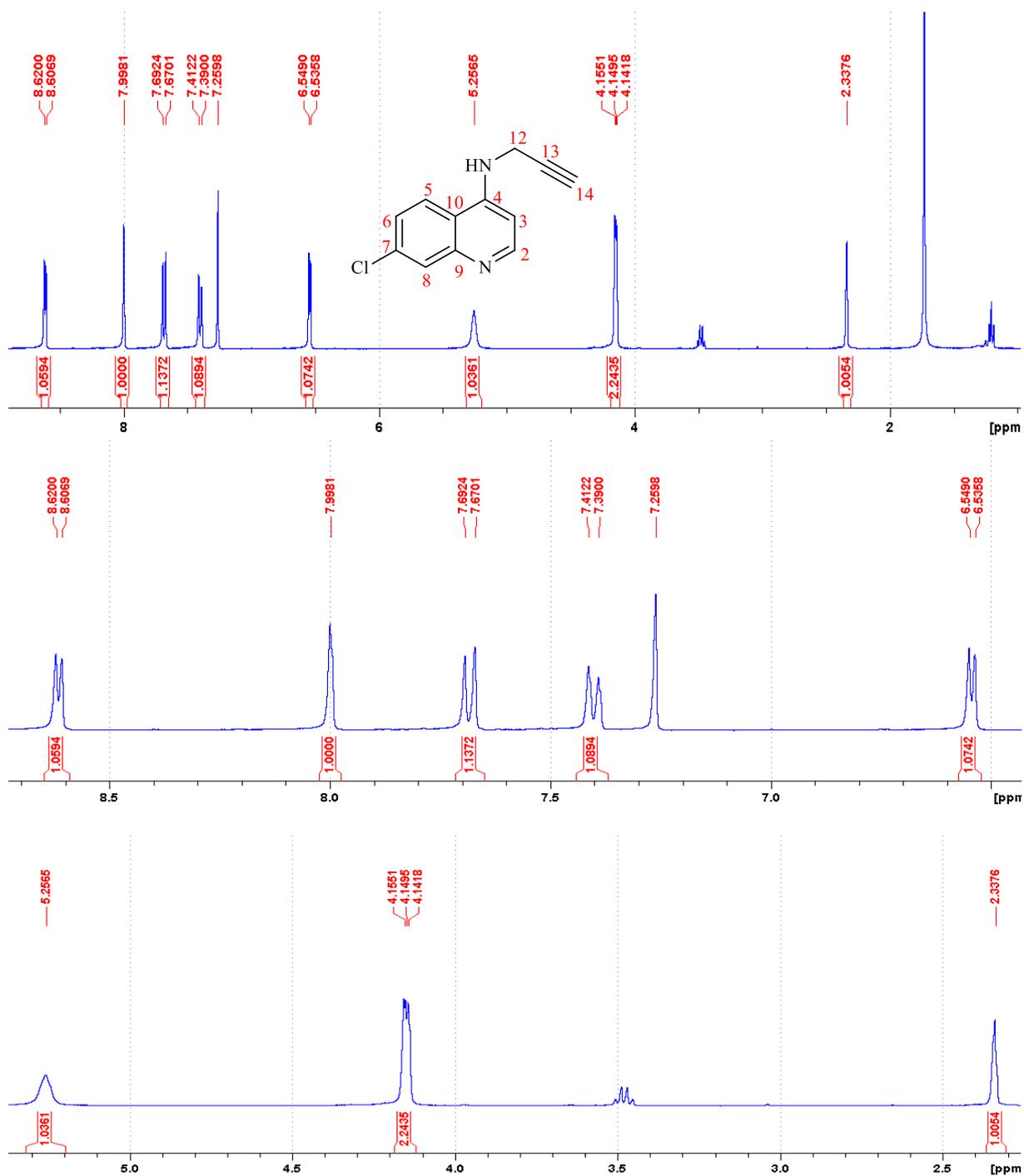
A síntese da **D3** também foi confirmada pela espectroscopia de RMN de ^1H e infravermelho, verificando-se a presença dos sinais referentes aos hidrogênios do anel aromático com deslocamentos químicos entre $\delta = 8,62$ e $6,54$ ppm, e dois sinais referentes aos hidrogênios metilênicos e metínico terminal com deslocamento $\delta = 4,15$ ppm e $\delta = 2,33$ ppm (Tabela 5 e Figura 26).

Tabela 5- Dados do RMN de ^1H do composto **D3** em CDCl_3 .

Atribuição	δ (Multiplicidade)	Integral	J (Hz)
2	8,62 (d)	1H	5,29
8	7,99 (s)	1H	-
5	7,68 (d)	1H	8,82
6	7,40 (d)	1H	9,11
3	6,54 (d)	1H	5,00
NH anilínico	5,25 (s)	1H	-
12	4,15 (m)	2H	3,23
14	2,33 (s)	1H	-

Fonte: Autora, 2019.

Figura 26- Espectro de RMN de ^1H da **D3** em CDCl_3 .

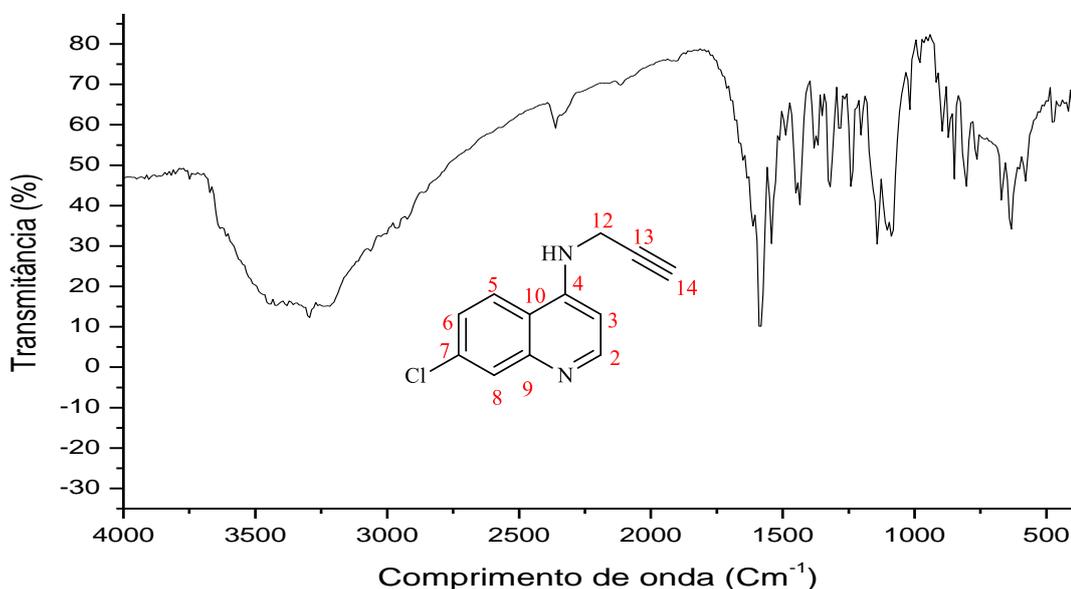


Fonte: Autora, 2019.

A análise do espectro de Infravermelho, obtido por KBr, nos mostra as bandas de absorção de estiramento 3286 ($\nu\equiv\text{CH}$), 3205 (ν C-H), 3060 (ν =CH), 2924 (ν_{as} CH_2), 2863 (ν_{s} CH_2), 2115 ($\nu\text{C}\equiv\text{C}$), 1582 - 1543 (ν C=C), 1318 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-N}$) e as deformações

angulares 805, 849 e 873 (δ C-H do anel aromático), além de 1442 (δ CH₂) referente a cadeia alifática (Figura 27).

Figura 27- Espectro de Infravermelho da **D3**.



Fonte: Autora, 2019.

O espectro de RMN de ¹H do composto **D4** mostra sete sinais referentes aos dez hidrogênios dos anéis aromáticos com deslocamentos químicos entre $\delta=8,47$ e $6,76$ ppm, além de um sinal para os hidrogênios metilênicos da cadeia alifática $\delta= 4,42$ ppm. Neste composto podemos verificar o desaparecimento do sinal ($\delta=2,62$ ppm) do hidrogênio no alcino terminal presente no composto de partida **D3**, favorecendo a confirmação da formação do produto esperado (Tabela 6 e Figura 28).

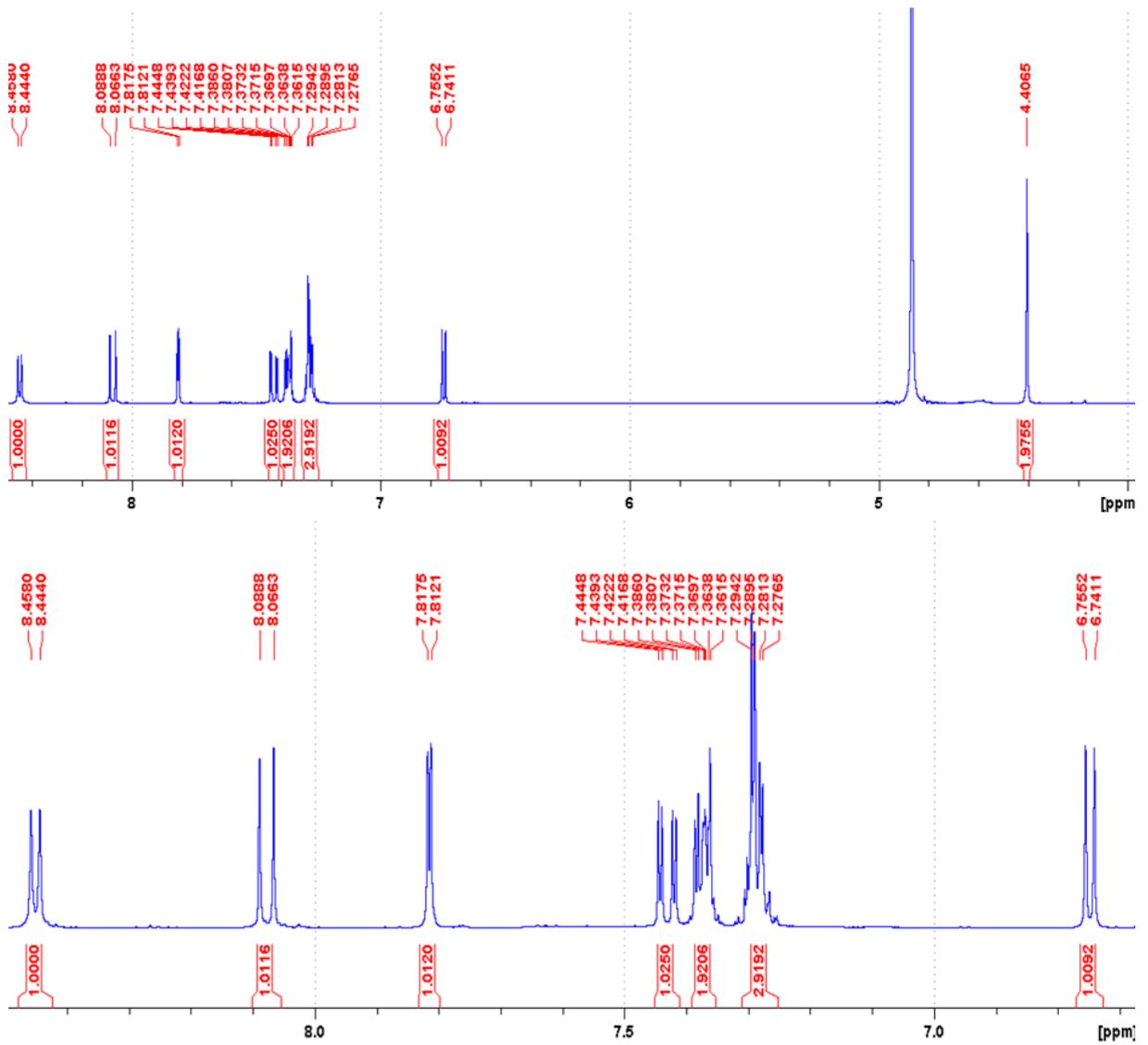
Tabela 6- Dados do RMN de ¹H do composto **D4** em CD₃OD.

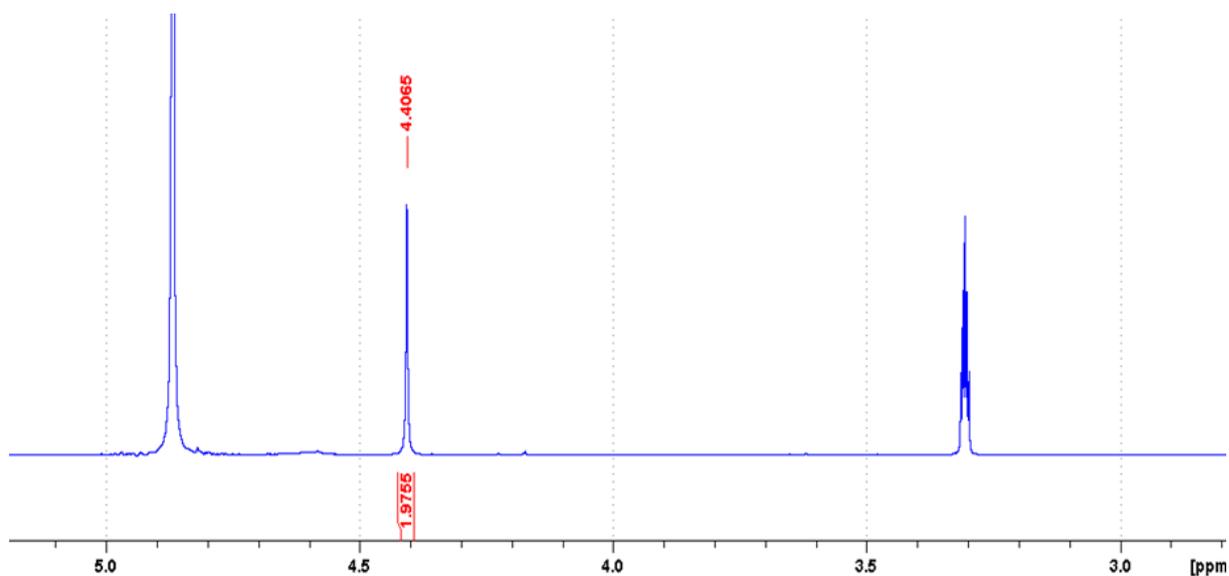
Atribuição	δ (Multiplicidade)	Integral	J (Hz)
2	1H	8,47 (d)	5,50
5	1H	8,09 (d)	8,92
8	1H	7,83 (d)	2,23

6	1H	7,42 (dd)	9,07 e 2,23
16 e 20	2H	7,36 (m)	-
17, 18, 19	3H	7,28 (m)	-
3	1H	6,75 (d)	5,65
12	2H	4,40 (s)	-

Fonte: Autora, 2019.

Figura 28- Espectro de RMN de ^1H do composto **D4** em CD_3OD .





Fonte: Autora, 2019.

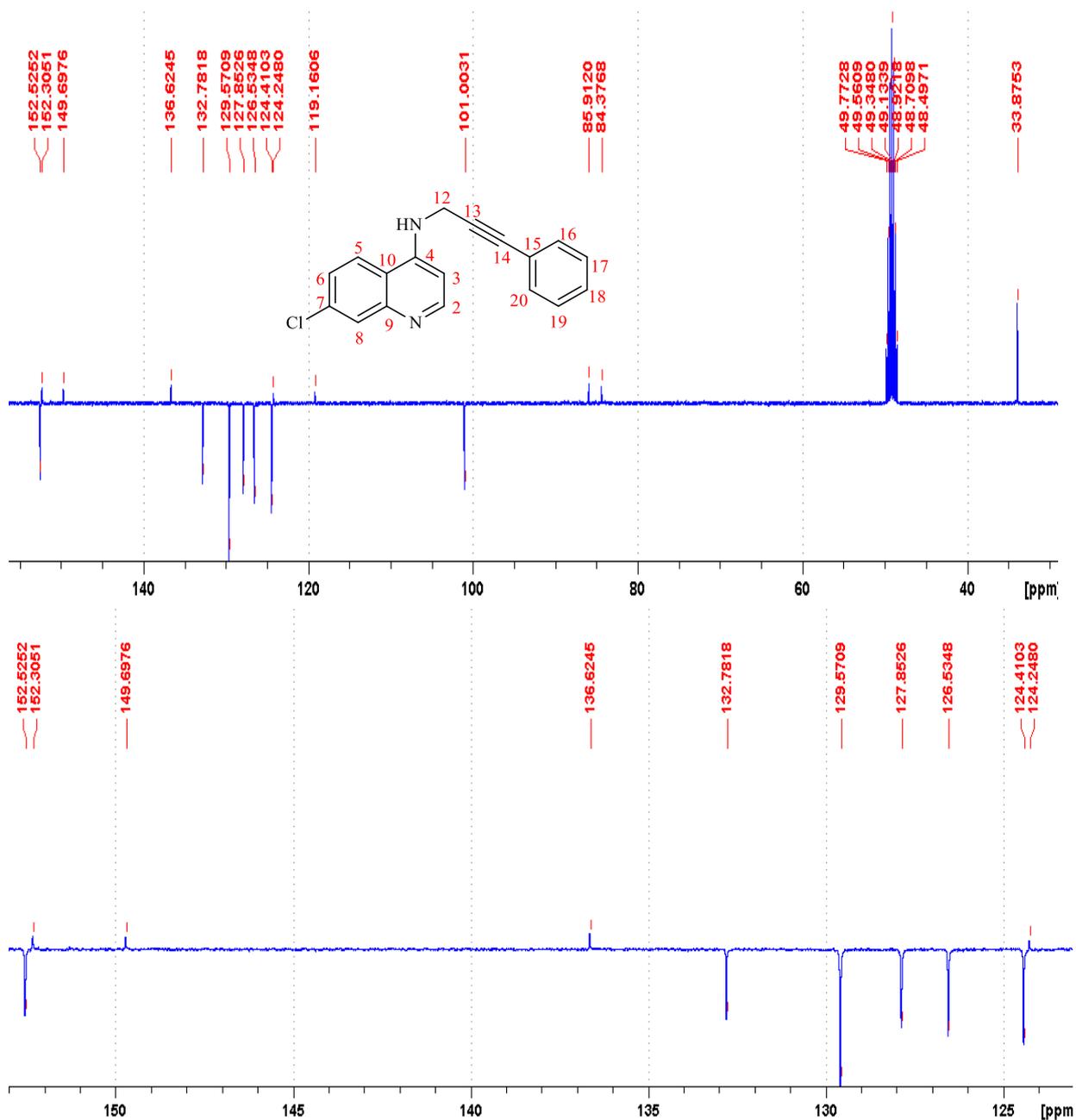
A análise de RMN de ^{13}C (CD_3OD) mostra doze sinais referentes aos quinze carbonos aromáticos com deslocamento químico entre $\delta=152,5$ e 101 ppm, além de dois sinais dos carbonos acetilênicos ($\delta= 85,9$ e 84,3 ppm) e um sinal do carbono metilênico $\delta= 33,8$ ppm (Tabela 7 e Figura 29).

Tabela 7- Dados do RMN de ^{13}C do composto **D4** em CD_3OD .

Atribuição	δ	Atribuição	δ
2	152,5	6	124,4
9	152,3	15	124,2
4	149,6	10	119,1
7	136,6	3	101,0
8	132,7	14	85,9
16, 18, 20	129,5	13	84,3
17 e 19	127,8	12	33,8
5	126,5	-	-

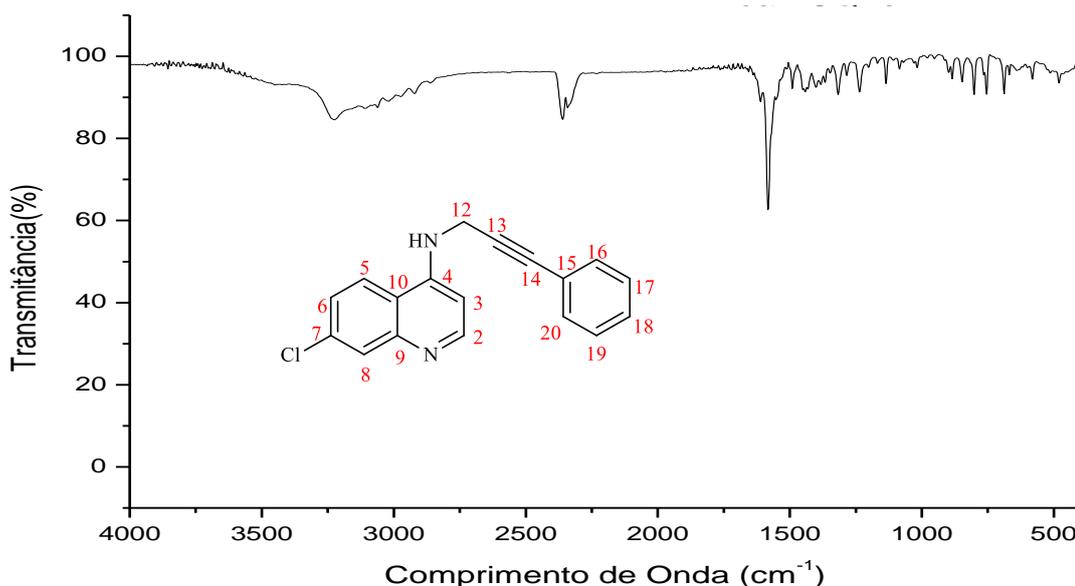
Fonte: Autora, 2019.

Figura 29- RMN de ^{13}C do composto **D4** em CD_3OD .



Fonte: Autora, 2019.

O espectro de Infravermelho, obtido por KBr, mostra as bandas de absorção de estiramento 3227 cm^{-1} ($\nu\text{ C-H}$), 3060 ($\nu\text{ =CH}$), 2922 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{ CH}_2$), 2861 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{ CH}_2$), 2228 ($\nu\text{-C}\equiv\text{C-}$), 1612 ($\nu\text{ C=N}$), 1579 cm^{-1} ($\nu\text{ C=C}$), 1318 ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-N}$) e as deformações angulares 846 , 804 e 751 ($\delta\text{ C-H}$ do anel aromático), além de 1440 ($\delta\text{ CH}_2$) referente a cadeia alifática (Figura 30).

Figura 30- Espectro de Infravermelho do composto **D4**.

Fonte: Autora, 2019.

A Figura 31 apresenta o espectro de RMN de ^1H da **D5**. Neste espectro é possível observar oito sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos com deslocamentos químicos entre $\delta=8,64$ e $6,62$ ppm, além de um sinal relacionado aos hidrogênios metilênicos e outro aos hidrogênios metílicos ($\delta=4,37$ e $2,36$ ppm) (Tabela 8 e Figura 31). Da mesma forma que na **D4**, quando os dados do composto analisado são comparados com o produto de partida é possível verificar claramente que houve o desaparecimento do sinal relacionado ao hidrogênio do alcino terminal e o acréscimo de um sinal referente aos hidrogênios metílicos. Esta comparação auxilia na comprovação da formação do composto **D5**.

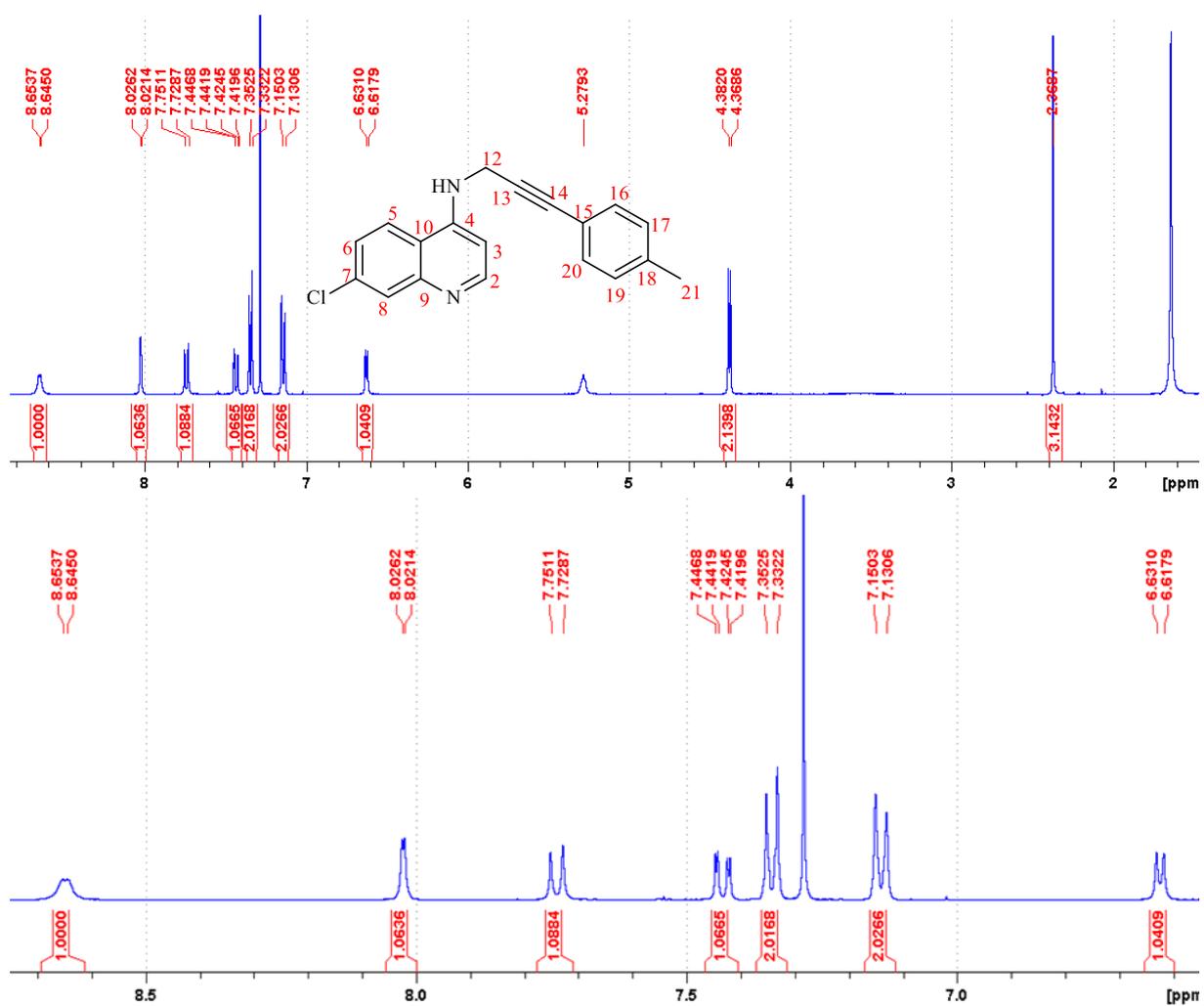
Tabela 8- Dados do RMN de ^1H do composto **D5** em CD_3OD .

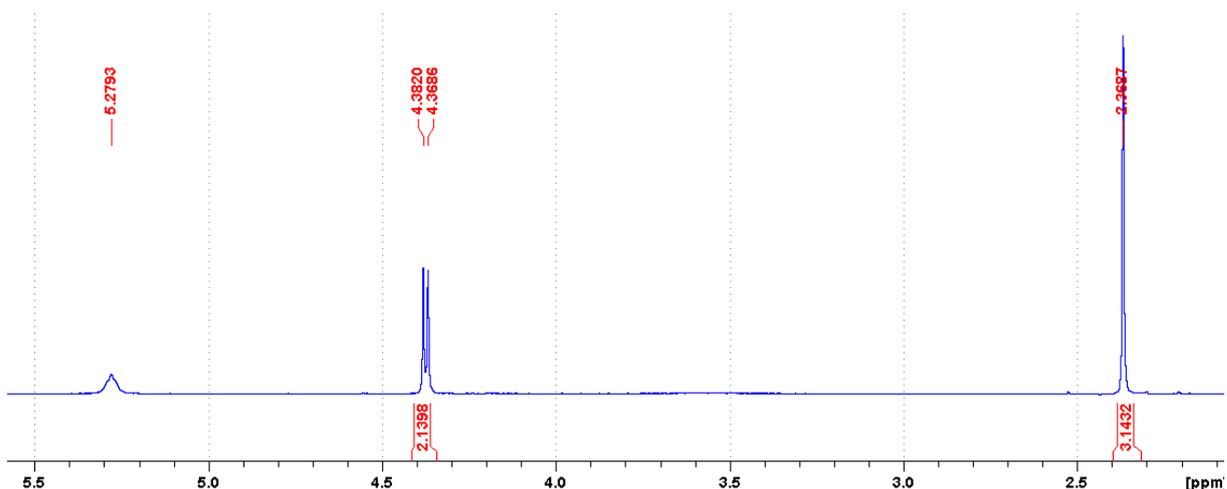
Atribuição	δ (Multiplicidade)	Integral	J(Hz)
2	8,64 (d)	1H	5,20
8	8,02 (d)	1H	1,92
6	7,74 (d)	1H	8,86
5	7,49 (dd)	2H	9,05 e 2,11
16 e 20	7,36 (d)	2H	8,86

17 e 19	7,14 (d)	2H	8,22
3	6,62 (d)	1H	5,13
NH anilínico	5,27 (s)	1H	-
12	4,37 (d)	2H	5,13
21	2,36 (s)	3H	-

Fonte: Autora, 2019.

Figura 31- Espectro de RMN de ^1H do composto **D5** em CD_3OD .





Fonte: Autora, 2019.

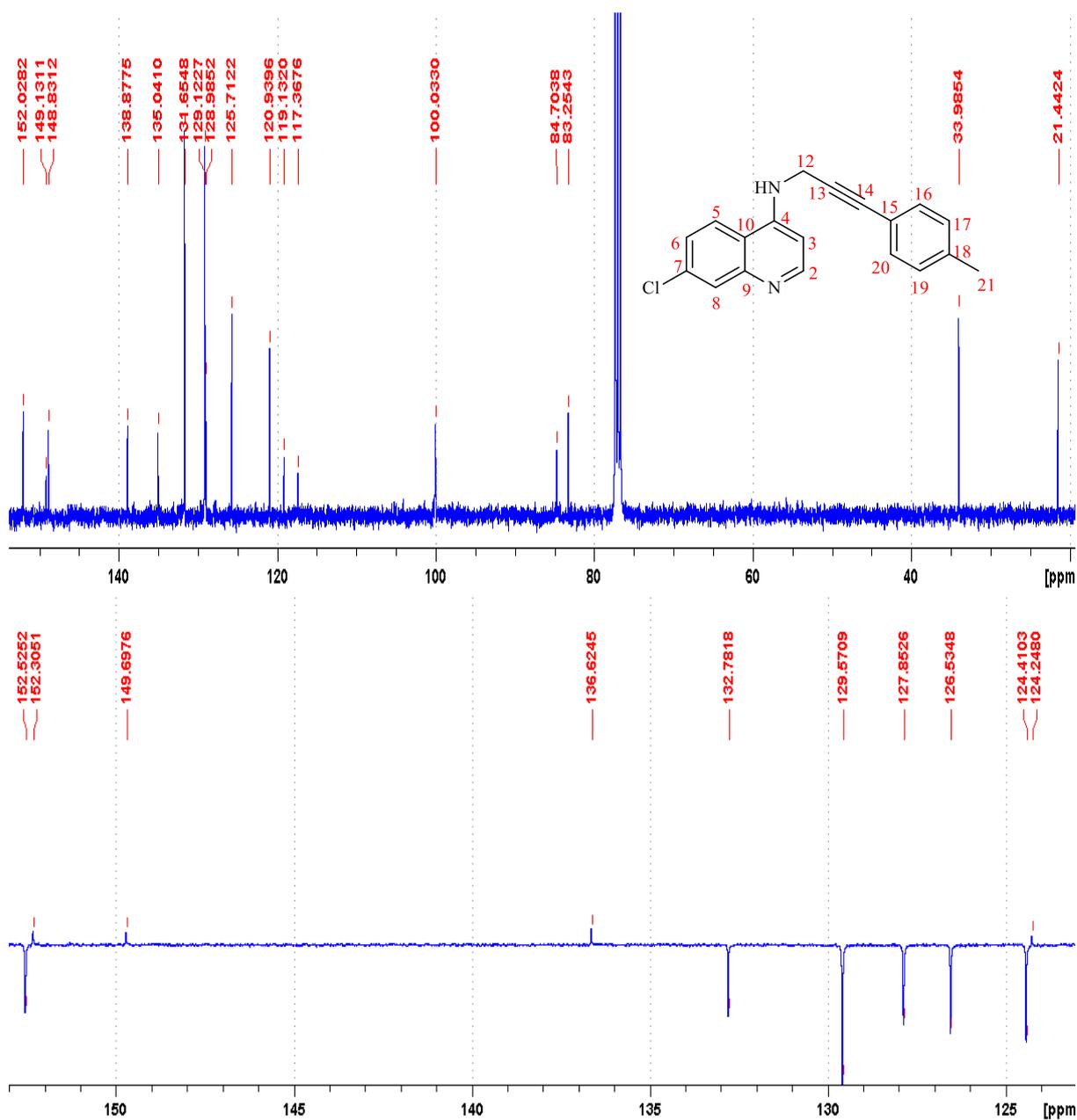
Analisando o espectro de RMN de ^{13}C do composto **D5** é possível observar treze sinais referentes aos carbonos das duas estruturas aromáticas com deslocamentos químicos entre $\delta=152,0$ e $100,0$ ppm, além de quatro sinais dos carbonos alifáticos ($\delta=84,7$ e $21,4$ ppm). (Ver Tabela 9 e Figura 32).

Tabela 9- RMN de ^{13}C do composto **D5** em CD_3OD .

Atribuição	δ	Atribuição	δ
2	152,0	6	120,9
9	149,1	15	119,1
4	148,8	10	117,3
18	138,8	3	100,0
7	135,0	14	84,7
16 e 20	131,6	13	83,2
17 e 19	129,1	12	33,9
8	128,9	21	21,4
5	125,7	-	-

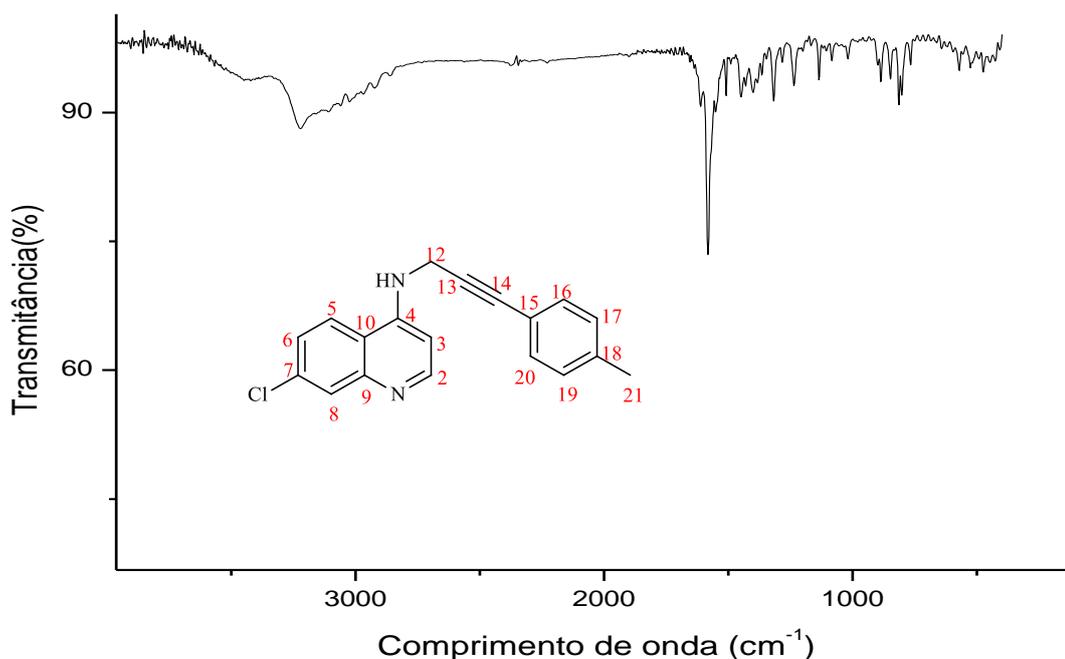
Fonte: Autora, 2019.

Figura 32- Espectro de RMN de ^{13}C do composto **D5** em CD_3OD .



Fonte: Autora, 2019.

Na Figura 33 que nos mostra o espectro de infravermelho do composto analisado é possível verificar a presença de absorções referentes aos estiramentos 3227 cm^{-1} (ν C-H), 3059 cm^{-1} (ν =CH), 2922 cm^{-1} (ν_{as} CH_2), 2861 cm^{-1} (ν_{s} CH_2), 2228 cm^{-1} (ν - $\text{C}\equiv\text{C}$), 1614 cm^{-1} (ν C=N), 1580 - 1552 cm^{-1} (ν C=C), 1314 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}_{\text{Ar}}-\text{N}}$) e as deformações angulares 886 , 805 e 765 cm^{-1} (δ C-H do anel aromático), além de 1450 cm^{-1} (δ CH_2) referente a cadeia alifática.

Figura 33- Espectro de Infravermelho do composto **D5**.

Fonte: Autora, 2019.

As bisquinolinas sintetizadas foram caracterizadas através da análise de RMN de ^1H e ^{13}C , além da espectroscopia de infravermelho, utilizando KBr. No espectro de RMN de ^1H da **D6** é possível observar sete sinais referentes aos hidrogênios aromáticos dos dois núcleos quinolínicos com deslocamento químico entre $\delta=8,38$ ppm e $\delta=6,53$ ppm, além de dois sinais relacionados aos hidrogênios metilênicos com deslocamentos entre $\delta=3,51$ e $\delta=3,02$ ppm (Tabela 10 e Figura 34). Vale a pena ressaltar que o ligante apresenta três sinais relacionados a estes hidrogênios metilênicos.

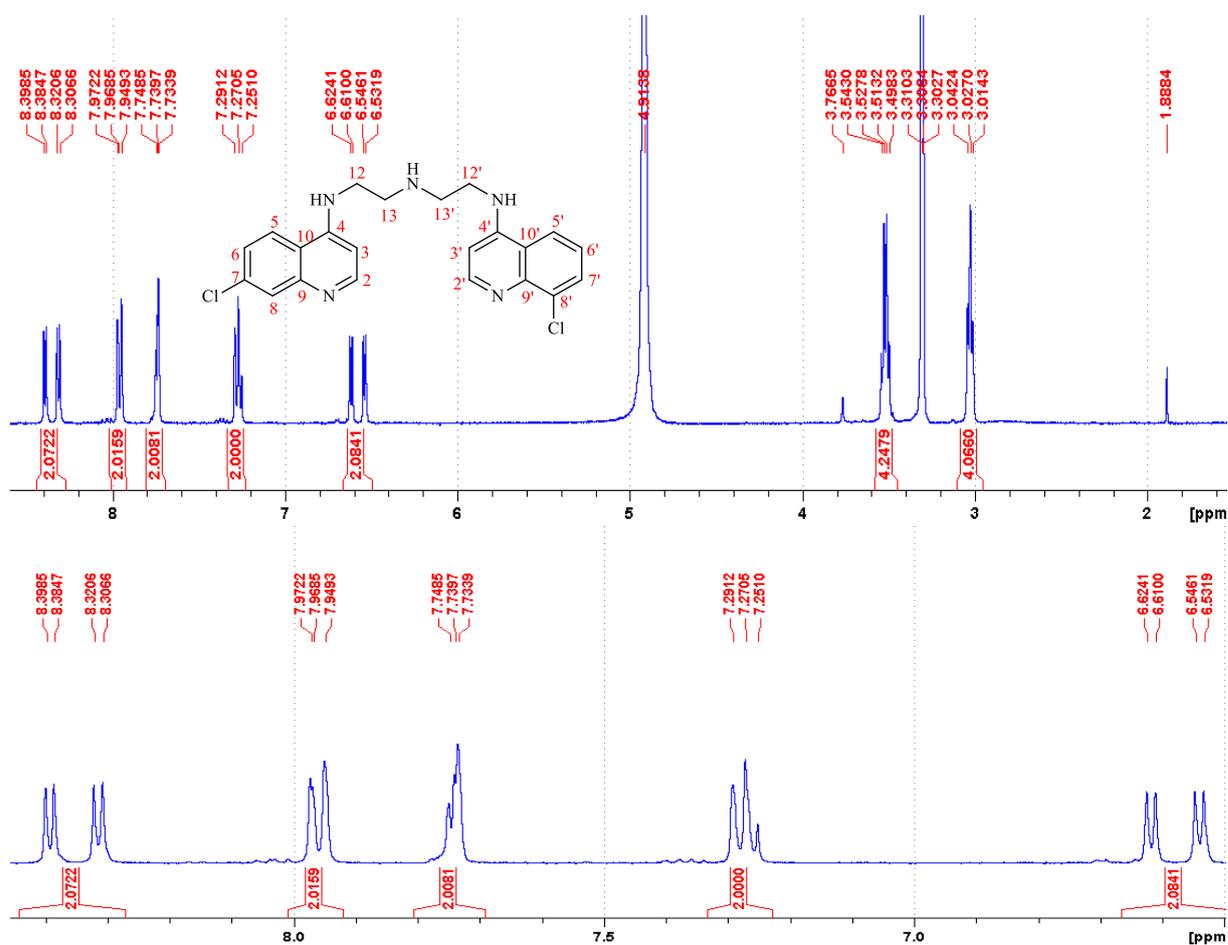
Tabela 10- Dados do RMN de ^1H do composto **D6** em CD_3OD .

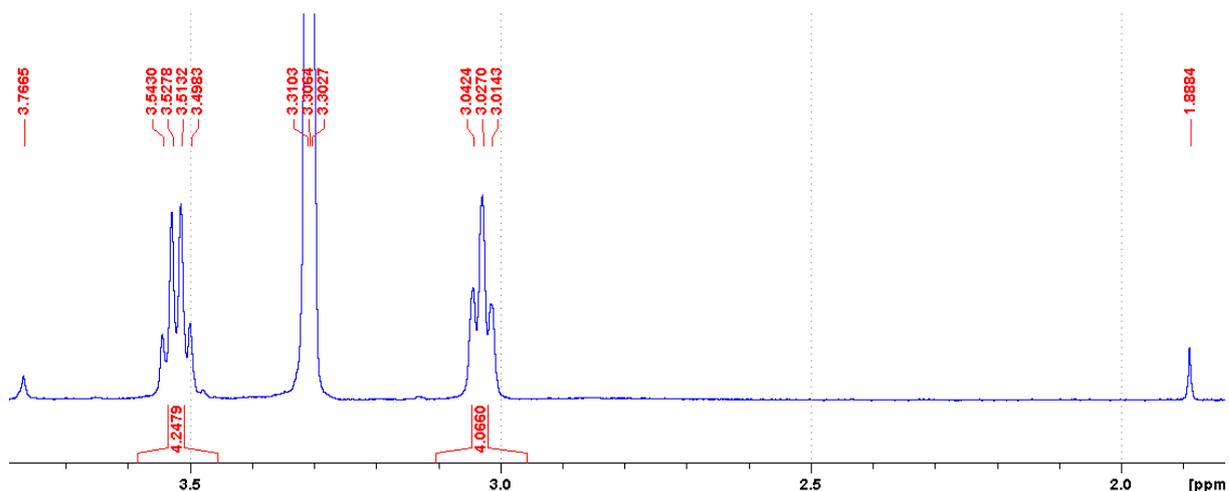
Atribuição	δ (Multiplicidade)	Integral	J (Hz)
2'	8,38 (d)	1H	5,49
2	8,31 (d)	1H	5,49
5 e 5'	7,96 (m)	2H	-
8 e 7'	7,73 (m)	2H	-
6 e 6'	7,27 (m)	2H	8,28

3'	6,61 (d)	1H	5,49
3	6,53 (d)	1H	5,49
NH anilínico	3,76 (s)	1H	-
12 e 12'	3,51 (m)	4H	-
13 e 13'	3,02 (m)	4H	-
NH amínico	1,88 (s)	1H	-

Fonte: Autora, 2019.

Figura 34- Espectros de RMN de ^1H do composto **D6** em CD_3OD .





Fonte: Autora, 2019.

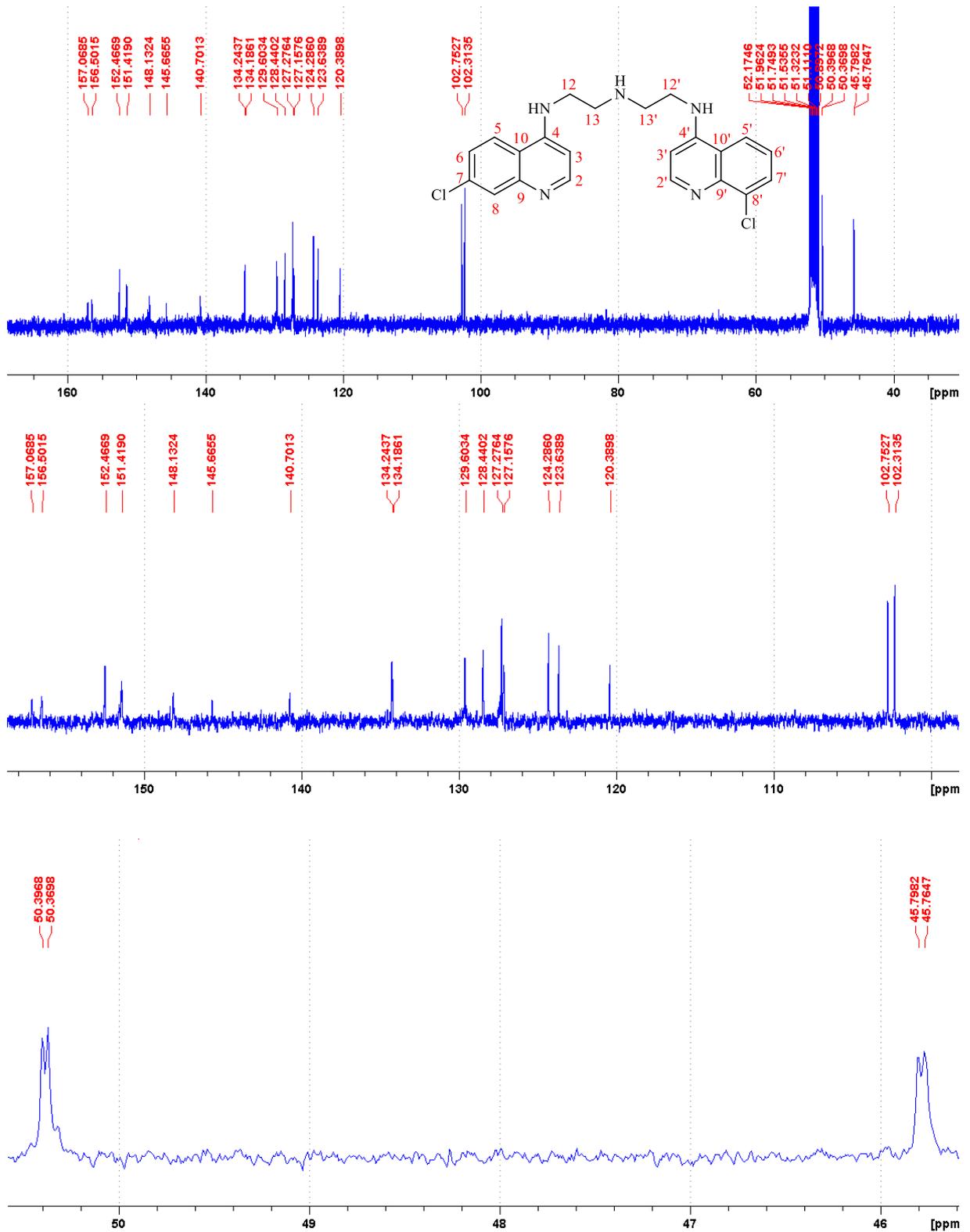
A análise de RMN de ^{13}C (CD_3OD) mostra dezoito sinais dos carbonos aromáticos (entre $\delta=157$ e 102,3 ppm), além dos quatro sinais dos carbonos metilênicos, entre $\delta=50,39$ e 45,76 ppm (Tabela 11 e Figura 35).

Tabela 11. Dados do RMN de ^{13}C do composto **D6** em CD_3OD .

Atribuição	δ	Atribuição	δ
4'	157,0	5'	127,2
4	156,5	5	127,1
2'	152,4	10'	124,2
2	151,4	6'	123,6
9	148,1	10	120,3
9'	145,6	3'	102,7
7	140,7	3	102,3
8'	134,2	13'	50,39
7'	134,1	13	50,36
8	129,6	12'	45,79
6	128,4	12	45,76

Fonte: Autora, 2019.

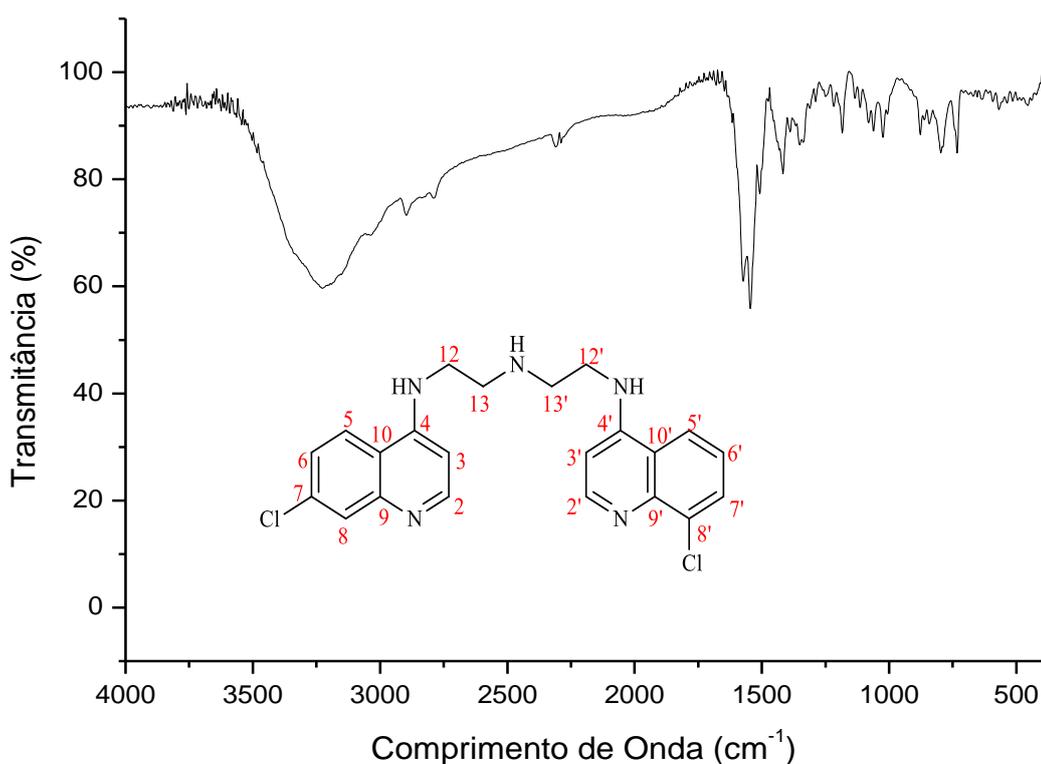
Figura 35- Espectros de RMN de ^{13}C do composto **D6** em CD_3OD .



Fonte: Autora, 2019.

O espectro de Infravermelho, obtido por KBr, mostra as bandas de absorção de estiramento 3369 cm^{-1} (ν N-H), 3139 cm^{-1} (ν C-H), 3011 cm^{-1} (ν =CH), 2930 cm^{-1} (ν as CH_2), 2860 cm^{-1} (ν s CH_2), $1583\text{-}1530\text{ cm}^{-1}$ (ν C=C), 1336 cm^{-1} ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-N}$) e as deformações angulares 877 , 802 e 756 cm^{-1} (δ C-H do anel aromático), além de 1420 cm^{-1} (δ CH_2) referente a cadeia alifática (Figura 36).

Figura 36- Espectro de infravermelho do composto **D6**.



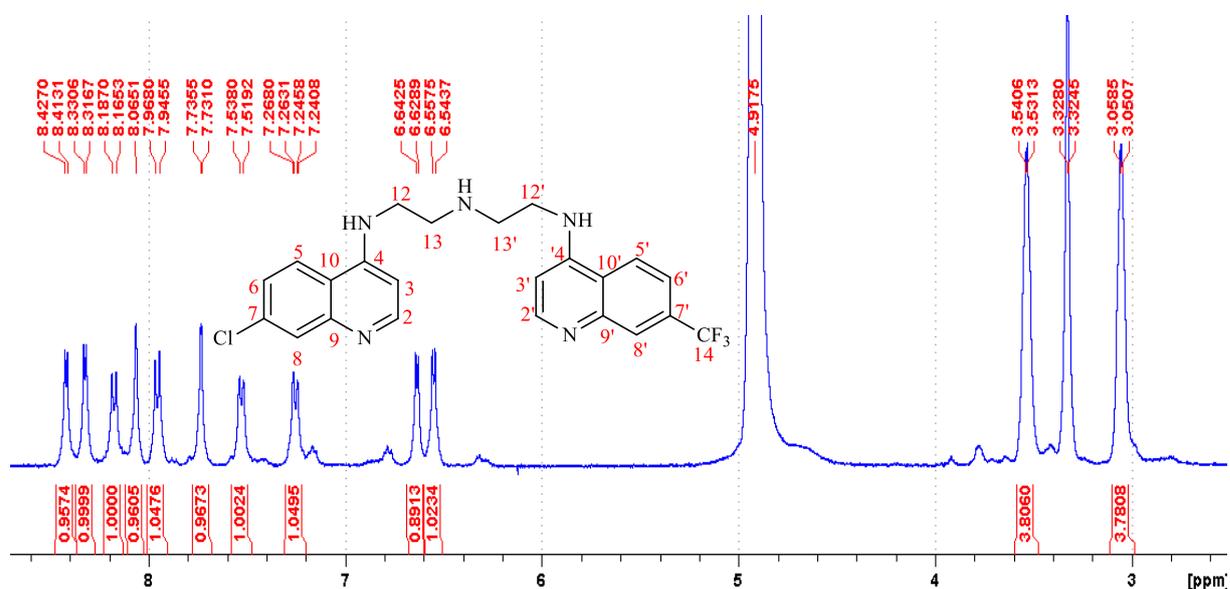
Fonte: Autora, 2019.

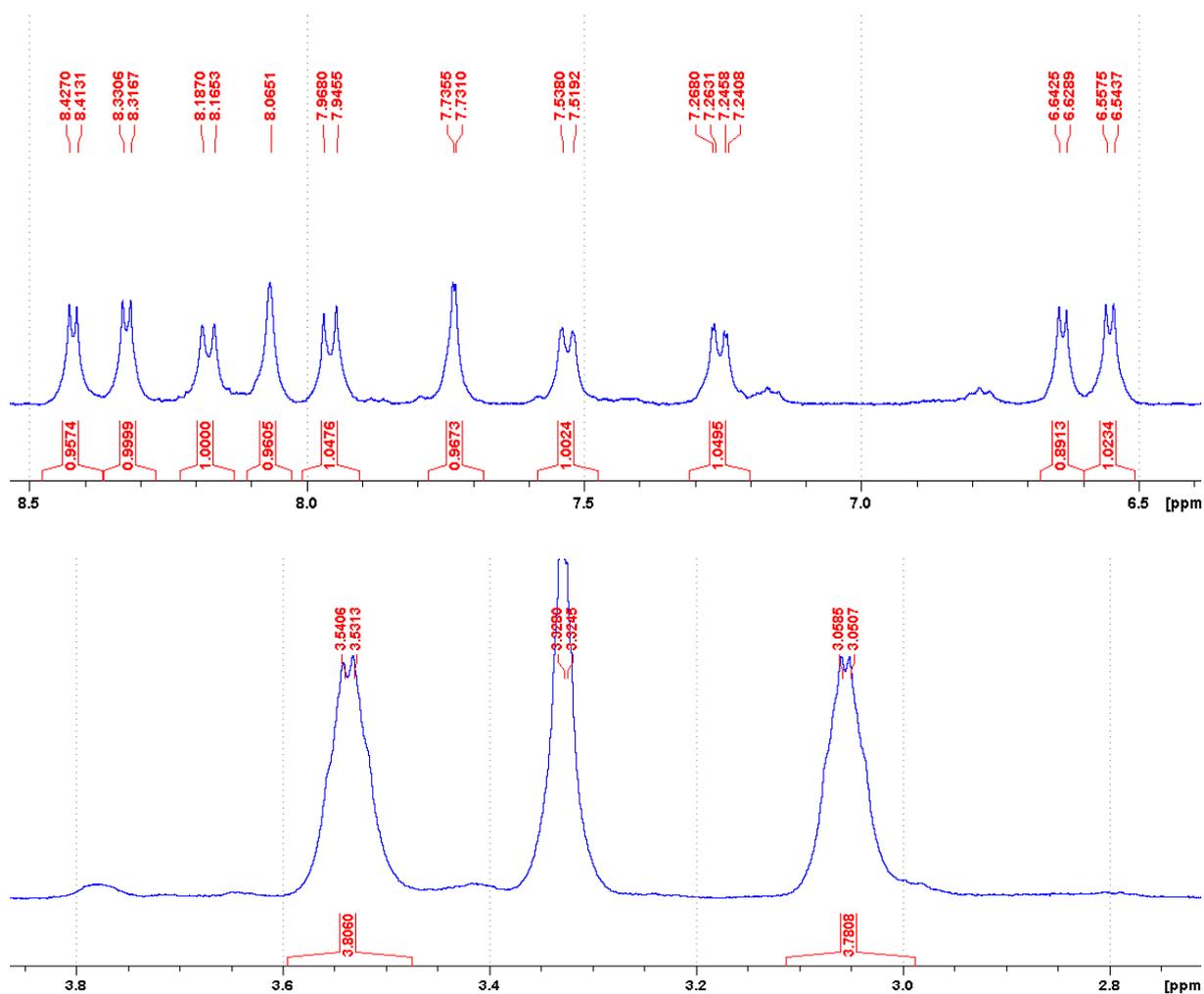
O espectro de RMN de ^1H do composto **D7** mostra dez sinais referentes aos dez hidrogênios dos anéis aromáticos com deslocamentos químicos entre $\delta=8,41$ e $6,55$ ppm, além de dois sinais para os hidrogênios metilênicos da cadeia alifática da molécula ($\delta=3,54$ e $3,05$ ppm). Da mesma forma que a bisquinolina anteriormente discutida, neste composto também é possível verificar a alteração dos sinais referentes aos hidrogênios metilênicos quando se compara o composto **D1** com o **D7** (Tabela 12 e Figura 37).

Tabela 12- Dados do RMN de ^1H do composto **D7** em CD_3OD .

Atribuição	δ (Multiplicidade)	Integral	J (Hz)
2'	8,41 (d)	1H	5,63
2	8,32 (d)	1H	5,63
5'	8,17 (d)	1H	8,81
8'	8,06 (s)	1H	-
5	7,95 (d)	1H	9,10
8	7,73 (d)	1H	1,73
6'	7,52 (d)	1H	8,81
6	7,25 (dd)	1H	9,10 e 1,73
3'	6,63 (d)	1H	5,65
3	6,55 (d)	1H	5,65
12 e 12'	3,54 (m)	4H	-
13 e 13'	3,05 (m)	4H	-

Fonte: Autora, 2019.

Figura 37- Espectro de RMN de ^1H do composto **D7** em CD_3OD .



Fonte: Autora, 2019.

A análise de RMN de ¹³C do composto **D7** mostra dezessete sinais referentes aos dezoito carbonos aromáticos com deslocamento entre $\delta=151,4$ e $98,3$ ppm, além dos quatro sinais dos carbonos metilênicos da cadeia alifática com deslocamentos químicos entre $\delta=46,8$ e $41,8$ ppm. Entretanto, não é possível visualizar o carbono ligado ao flúor que deveria aparecer na região de 125 ppm, mas que devido ao desdobramento deste sinal em um quarteto não é de fácil visualização, necessitando de mais tempo de análise da amostra (Tabela 13 e Figura 38).

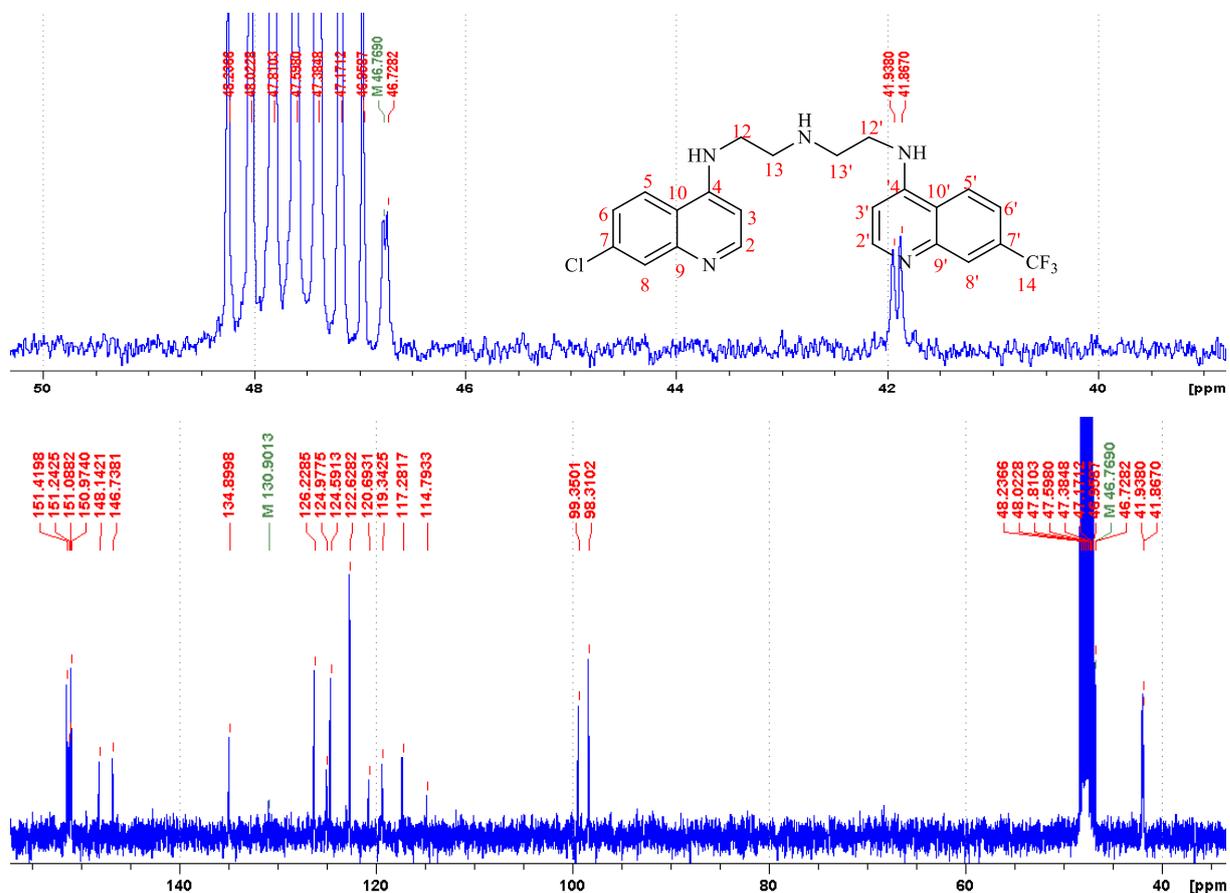
Tabela 13- Dados do RMN de ¹³C do composto **D7** em CD₃OD.

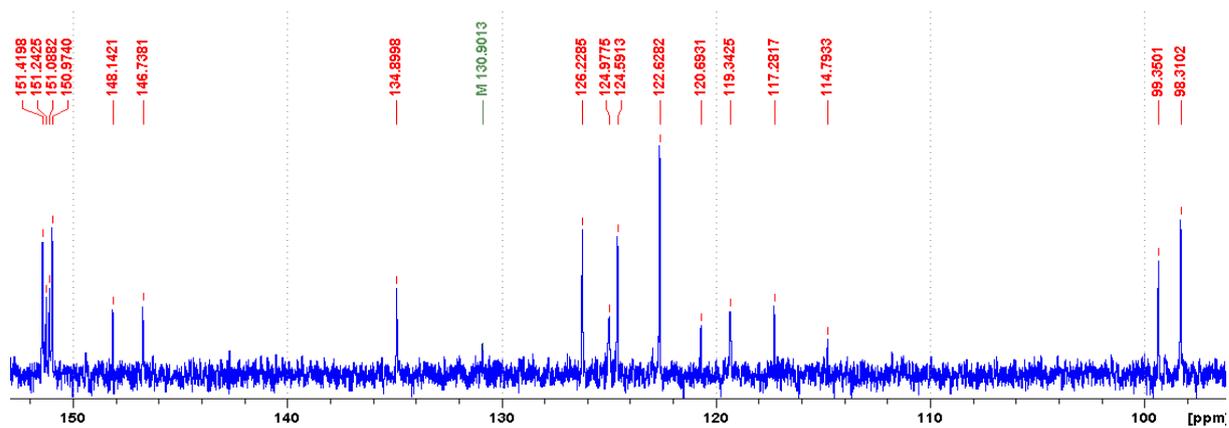
Atribuição	δ	Atribuição	δ
3'	151,4	5 e 5'	122,6

4'	151,2	10'	120,6
4	151,0	6'	119,3
3	150,9	10	117,2
9	148,1	3'	99,3
9'	146,7	3	98,3
7	134,8	13'	46,8
7'	131,4	13	46,7
8	126,2	12'	41,9
6	124,9	12	41,8
8'	124,5		

Fonte: Autora, 2019.

Figura 38- Espectro de RMN de ^{13}C do composto **D7** em CD_3OD .

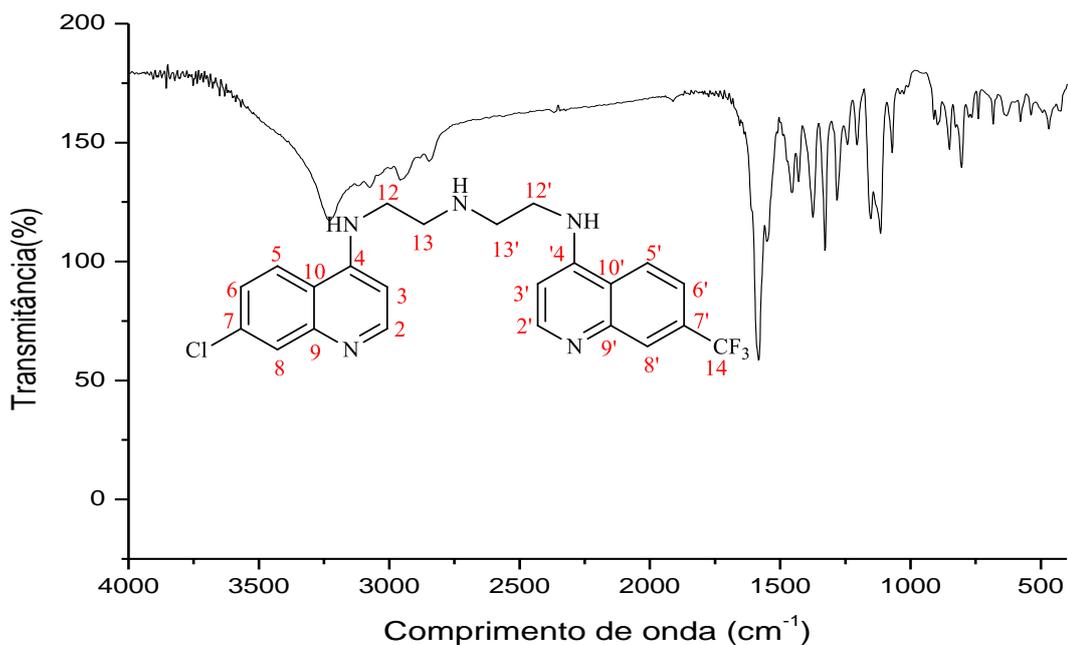




Fonte: Autora, 2019.

O espectro de Infravermelho, obtido por KBr, mostra as bandas de absorção de estiramento 3228 cm^{-1} (ν N-H), 3075 cm^{-1} (ν =CH), 2926 cm^{-1} (ν_{as} CH₂), 2840 cm^{-1} (ν_{s} CH₂), 1580 - 1550 cm^{-1} (ν C=C), 1282 cm^{-1} (C_{Ar}-N) e as deformações angulares 850 , 802 e 765 cm^{-1} (δ C-H do anel aromático), além de 1450 cm^{-1} (δ CH₂) referente a cadeia alifática (Figura 39).

Figura 39- Espectro de infravermelho da D7.



Fonte: Autora, 2019.

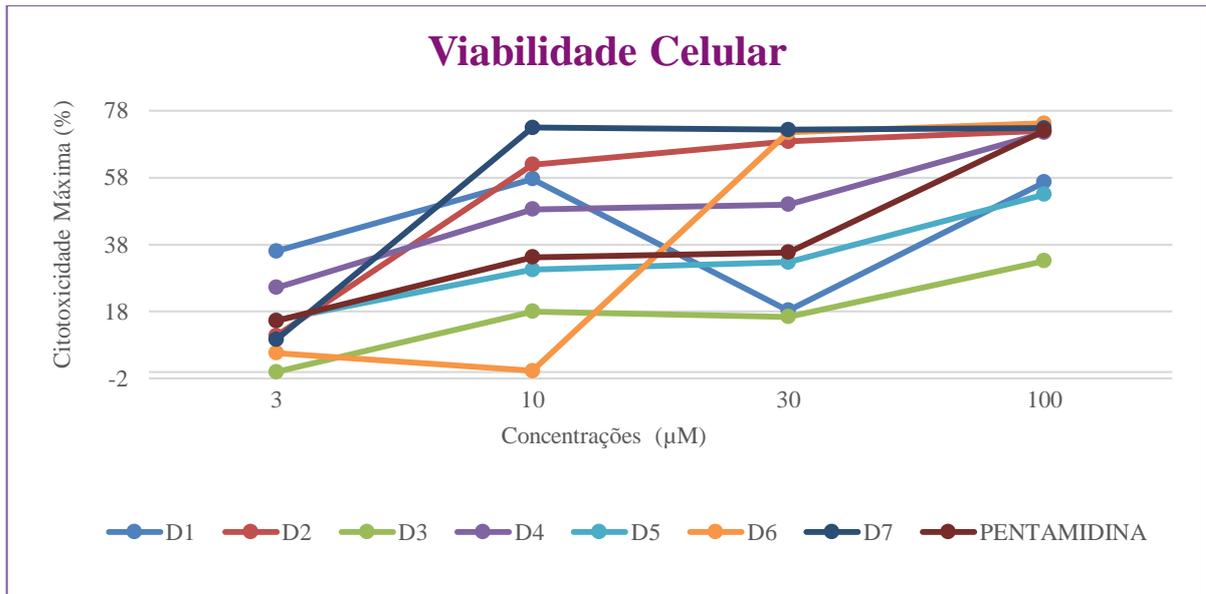
5.2 Avaliação *in vitro* da atividade citotóxica e leishmanicida dos compostos 4-aminoquinolínicos

5.2.1. Ensaio de viabilidade celular, MTT

Inicialmente os compostos sintetizados foram testados quanto a sua citotoxicidade frente à cultura de macrófagos da linhagem J774.A1, através do ensaio de MTT. Para realização do ensaio a cultura de macrófagos foi tratada ou não com diferentes concentrações dos compostos por um período de 48 h. O MTT que consiste num ensaio colorimétrico quantitativo, detecta células vivas através da redução do sal de tetrazólio, brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il] -2,5-difeniltetrazólio, pela enzima mitocondrial succinato desidrogenase, presente nas células metabolicamente ativas. O composto, que a princípio apresenta uma coloração amarelo claro, quando metabolizado por estas enzimas, adquire uma nova coloração, desta vez roxa, devido à formação de cristais de formazan, o qual funciona como um indicador da viabilidade celular que pode ser medido através da leitura da absorbância em espectrofotômetro. Os resultados obtidos foram expressos como CL_{50} , representando a concentração da substância avaliada capaz de ocasionar a mortalidade na metade da população testada (MOSMMAN, 1983; SIEUWERTS et al, 1995; SILVA et al, 2015).

Na avaliação da viabilidade celular (Figura 40), o composto **D3** apresentou a menor porcentagem de morte celular ($33,1\% \pm 3,9$) não exibindo toxicidade até a máxima concentração testada $100 \mu\text{M}$. Os derivados **D1** e **D5** obtiveram porcentagem de morte celular de $57,6\% \pm 3,3$ e $53,0\% \pm 3,0$ e uma CL_{50} de $87,8 \mu\text{M} \pm 4,5$ e $88,6 \mu\text{M} \pm 11,6$, respectivamente. Os demais compostos **D2**, **D4**, **D6** e **D7** mostraram porcentagem de morte celular de $72,1\% \pm 0,8$; $71,4\% \pm 2,2$; $74,2\% \pm 0,5$ e $73,0\% \pm 0,2$ respectivamente. Entretanto a potência citotóxica das moléculas **D4** e **D6** manteve-se em $26,0 \mu\text{M} \pm 15,2$ e $23,8 \mu\text{M} \pm 0,8$ e os derivados **D2** e **D7** em $8,3 \mu\text{M}$ e $7,4 \mu\text{M} \pm 0,2$. O fármaco padrão utilizado, pentamidina, exibiu uma porcentagem de morte de $72,0\% \pm 1,1$ e CL_{50} $54,2 \mu\text{M} \pm 1,6$.

Figura 40- Porcentagem de inibição celular em macrófagos após tratamento com os compostos 4-aminoquinolinicos e a pentamidina.



Fonte: Autora, 2019.

Os dados obtidos revelam que a CL_{50} das células no teste de MTT foi relativamente semelhante entre alguns compostos. O composto **D3** não apresentou citotoxicidade até a máxima concentração testada (100 µM), sendo portanto o menos tóxico, seguido do **D1** e **D5** ($87,8 \mu\text{M} \pm 4,5$ e $88,6 \mu\text{M} \pm 11,6$), respectivamente.

5.2.2 Ensaio de viabilidade *in vitro* da *L. amazonensis* e *L. chagasi*

Para avaliar a atividade leishmanicida dos derivados 4-aminoquinolinicos sintetizados, foram realizados ensaios biológicos em formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. chagasi* e os resultados foram expressos como CI_{50} , o qual representa a concentração que inibe 50 % do crescimento dos parasitos.

Na avaliação do efeito leishmanicida dos compostos sobre a forma promastigota da *Leishmania amazonensis*, espécie responsável pelas manifestações cutâneas, foi observado que os compostos **D6** e **D7** apresentaram porcentagem de morte celular $95,1\% \pm 3,7$ e $97,0\% \pm 3,7$, respectivamente. Não foi possível determinar a atividade leishmanicida dos compostos **D1**, **D2**, **D3**, **D4** e **D5** até a máxima concentração testada (100 µM), enquanto o **D6** e **D7** obtiveram atividade inibitória com CI_{50} de $5,7 \mu\text{M} \pm 1,8$ e $58,6 \mu\text{M} \pm 5,6$, respectivamente. Já a

pentamidina apresentou efeito máximo de 100%, não sendo possível determinar a concentração inibitória até a máxima concentração testada. Os dados estão expressos na Tabela 14.

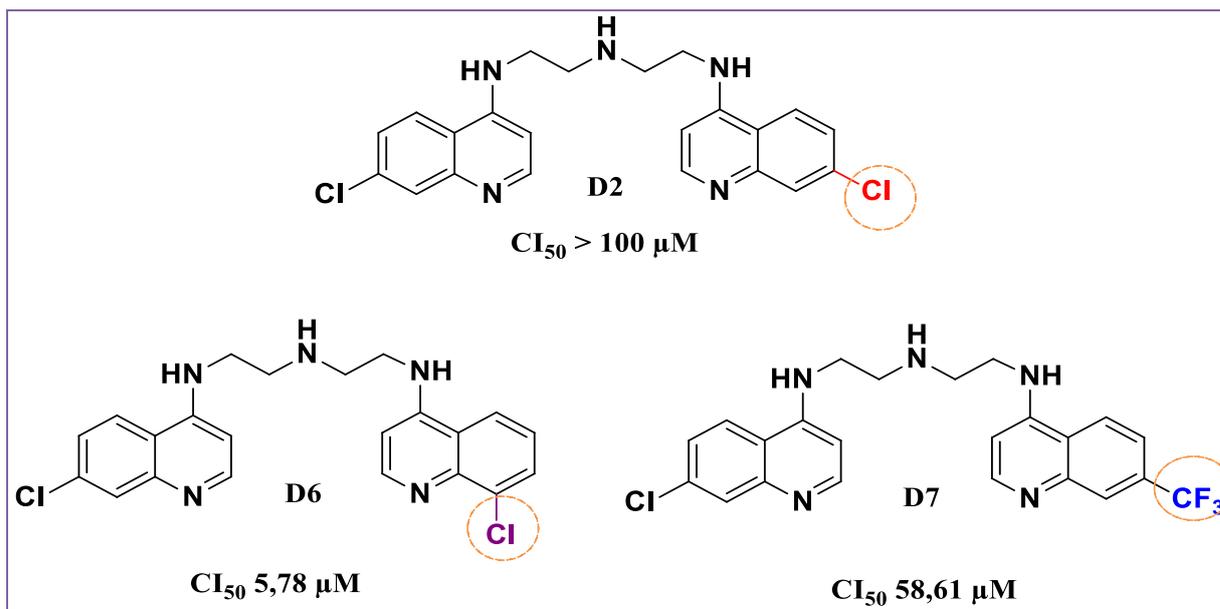
Tabela 14- Determinação da potência (CI₅₀) e efeito máximo do **D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7** pentamidina (100, 30, 10, 3 µM) sobre promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

Substância	CI ₅₀ (µM ± E.P.M.) ^a	Efeito Máximo (% ± E.P.M.) ^b	IS
D1	>100	43,2 ± 7,7****	-
D2	>100	28,3 ± 5,6**	-
D3	>100	-	-
D4	>100	-	-
D5	>100	-	-
D6	5,7 ± 1,8	95,1 ± 3,7****	4,12
D7	58,6 ± 5,6	97,0 ± 3,7****	0,12
Pentamidina	< 0,1	100****	-

Os resultados referem-se a: ^a Concentração inibitória de 50 (CI₅₀) do crescimento de promastigotas calculada através de curvas concentração-resposta e expressa como média ± erro padrão da média; ^b Efeito máximo (EM) que é expresso como média do efeito máximo ± erro padrão da média em duplicatas de um experimento representativo. Não foi possível calcular (-). Os valores de E.M. foram considerados significante quando *p < 0,05, **p < 0,01 até a concentração de 100 µM em relação ao grupo DMSO.

Como pode ser visto na Tabela 14, dentre os sete compostos testados, apenas o **D6** e o **D7** apresentaram atividade frente a *L. amazonensis*, sendo o **D6** mais ativo que o **D7**, exibindo atividades leishmanicida com CI₅₀ de 5,7 µM ± 1,8 e 58,6 µM ± 5,6, respectivamente. Analisando as diferenças estruturais entre as bisquinolinas (Figura 41), observamos que a introdução de um anel quinolínico semelhante em ambos os lados (bisquinolina simétrica **D2**), ocasionou a perda da atividade frente à espécie analisada. Já a presença de anéis quinolínicos diferentes (bisquinolina dissimétrica **D6** e **D7**) favoreceu a atividade leishmanicida frente à *L. amazonensis*. Comparando a bisquinolina simétrica **D2** com a bisquinolina dissimétrica **D7**, observamos que a troca do Cl pelo grupamento CF₃ na posição 7 de um dos anéis quinolínicos favoreceu o aumento da atividade biológica. E o deslocamento do Cl da posição 7 para posição 8 (composto **D6**), melhorou ainda mais essa atividade. Não foi possível determinar a concentração do fármaco padrão nas concentrações testadas.

Figura 41- Estruturas das bisquinolinas testadas contra promastigotas *L. amazonensis*.

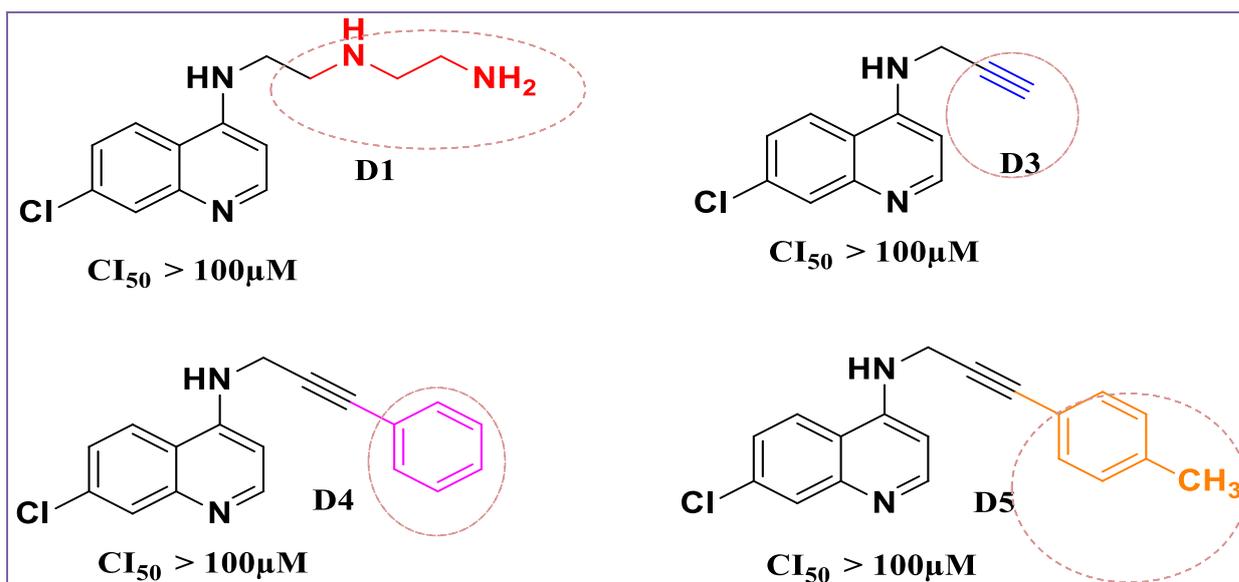


Fonte: Autora, 2019.

Analisando-se as monoquinolinas (Figura 42) **D3** e seus derivados fenilados **D4** e **D5** observamos que os mesmos não apresentaram atividade leishmanicida estatisticamente significante até a concentração máxima testada (100 μM). A introdução de grupos fenila no alcino terminal não influenciou de forma positiva na melhora dessa atividade.

Da mesma forma a monoquinolina **D1**, contendo um substituinte 2-(2-aminoetilamino) etil no nitrogênio da posição 4 do anel quinolínico, não contribuiu para o aumento da atividade frente a forma promastigota da *L. amazonensis*. Antinarelli e colaboradores (2015) também não conseguiram encontrar atividade significativa da monoquinolina AMQ-i frente à promastigotas da *L. amazonensis*. Entretanto eles observaram que o mesmo composto apresentou excelente atividade sob a forma amastigota da referida Leishmania. Esta observação evidencia que a ausência de atividade de alguns compostos frente a uma forma evolutiva do parasito, não significa que o mesmo não tenha atividade leishmanicida, visto que, dependendo da espécie podem haver diferenças tanto estruturais quanto enzimáticas nas duas formas (ANTINARELLI, L. M. R. et al, 2015).

Figura 42- Estruturas das monoquinolinas testadas contra *L. amazonensis*.



Fonte: Autora, 2019.

O cálculo do índice de seletividade (IS) dos derivados 4-aminoquinolinico foram feitos a partir da razão entre a concentração letal para 50% das células (CL_{50}) e sua atividade leishmanicida (CI_{50}). O índice de seletividade dos compostos ($IS = CL_{50} / CI_{50}$), mostra que o composto **D6** foi cerca de 4 vezes mais seletivo para as promastigotas da *L. amazonensis* que para os macrófagos ($IS = 4,12$).

Na avaliação do efeito leishmanicida dos compostos sintetizados sobre a forma promastigota da *Leishmania chagasi*, espécie responsável pelas manifestações viscerais, foi observado que os compostos **D1**, **D2**, **D3**, **D6** e **D7** apresentaram elevado percentual citotóxico (100%), enquanto o **D4** apresentou porcentagem de morte celular de $30\% \pm 5,8$ e o **D5** $36,3\% \pm 2,9$. As concentrações inibitórias CI_{50} dos compostos mostraram-se variadas, onde **D4** e **D5** não foram determinadas até a máxima concentração analisada ($100 \mu M$), **D1** obteve $CI_{50} 55 \mu M \pm 0,6$; **D2** $CI_{50} 9 \mu M \pm 1$ **D3** $CI_{50} 10 \mu M \pm 1,4$, **D6** $CI_{50} 8,2 \mu M \pm 0,4$ e **D7** $CI_{50} 5,5 \mu M \pm 0,2$. Já a pentamidina não teve sua concentração inibitória analisada até a máxima concentração ($100 \mu M$). Dados detalhados na Tabela 15. Novamente o composto **D6** apresentou o maior índice de seletividade IS na avaliação frente a *L. chagasi* ($IS = 2,9$), seguido de 1,59 para **D2** e 1,34 para a **D7**.

Tabela 15- Determinação da potência (CI₅₀) e efeito máximo do **D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7** e pentamidina (100, 10, 1 e 0,1 µM) sobre promastigotas de *Leishmania chagasi*.

Substância	CI ₅₀ (µM ± E.P.M.) ^a	Efeito Máximo (% ± E.P.M.) ^b	IS
D1	55 ± 0,6	100***	1,59
D2	9 ± 1	100***	0,92
D3	10 ± 1,4	100***	-
D4	>100	30,1 ± 5,8	-
D5	>100	36,3 ± 2,9	-
D6	8,2 ± 0,4	100***	2,90
D7	5,5 ± 0,2	100***	1,34
Pentamidina	<1	100***	-

Os resultados referem-se a: ^a Concentração inibitória de 50 (CI₅₀) do crescimento de promastigotas calculada através de curvas concentração-resposta e expressa como média ± erro padrão da média; ^b Efeito máximo (EM) que é expresso como média do efeito máximo ± erro padrão da média em duplicatas de um experimento representativo. Não foi possível calcular (-). Os valores de E.M. foram considerados significante quando *p < 0,05, **p < 0,01 até a concentração de 100 µM em relação ao grupo DMSO.

Observando os dados é possível notar que alguns dos compostos 4-aminoquinolínicos sintetizados apresentaram melhor atividade frente a promastigotas da *Leishmania* responsável pela forma visceral (*L. chagasi*) que pela tegumentar (*L. amazonensis*) (Tabela 16). As diferenças intrínsecas de sensibilidade nas distintas espécies de *Leishmania spp.* explicam a variação nos resultados obtidos frente aos compostos testados. Vários trabalhos descritos na literatura corroboram com os nossos resultados. Nascimento e colaboradores (2010) verificaram diferenças na sensibilidade da *L. amazonensis* e da *L. braziliensis* frente dois fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose, o antimoniato de meglumina e a anfotericina B. No trabalho desenvolvido por eles ficou claro que os isolados de *L. braziliensis* eram mais susceptíveis ao antimoniato de meglumina que os isolados da *L. amazonensis* (NASCIMENTO et al., 2010; COUTINHO et al., 2007; MACHADO et al., 2012).

Tabela 16- Determinação da potência (CI₅₀) de **D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7** e pentamidina (100, 10, 1 e 0,1 µM) sobre promastigotas de *L. amazonensis* e *L. chagasi*.

Substância	CI ₅₀ (<i>L. amazonensis</i>) (µM ± E.P.M.) ^a	CI ₅₀ (<i>L. chagasi</i>) (µM ± E.P.M.) ^a
D1	>100	55 ± 0,6
D2	>100	9 ± 1
D3	>100	10 ± 1,4
D4	>100	>100
D5	>100	>100
D6	5,7 ± 1,8	8,2 ± 0,4
D7	58,6 ± 5,6	5,5 ± 0,2
Pentamidina	< 0,1	<1

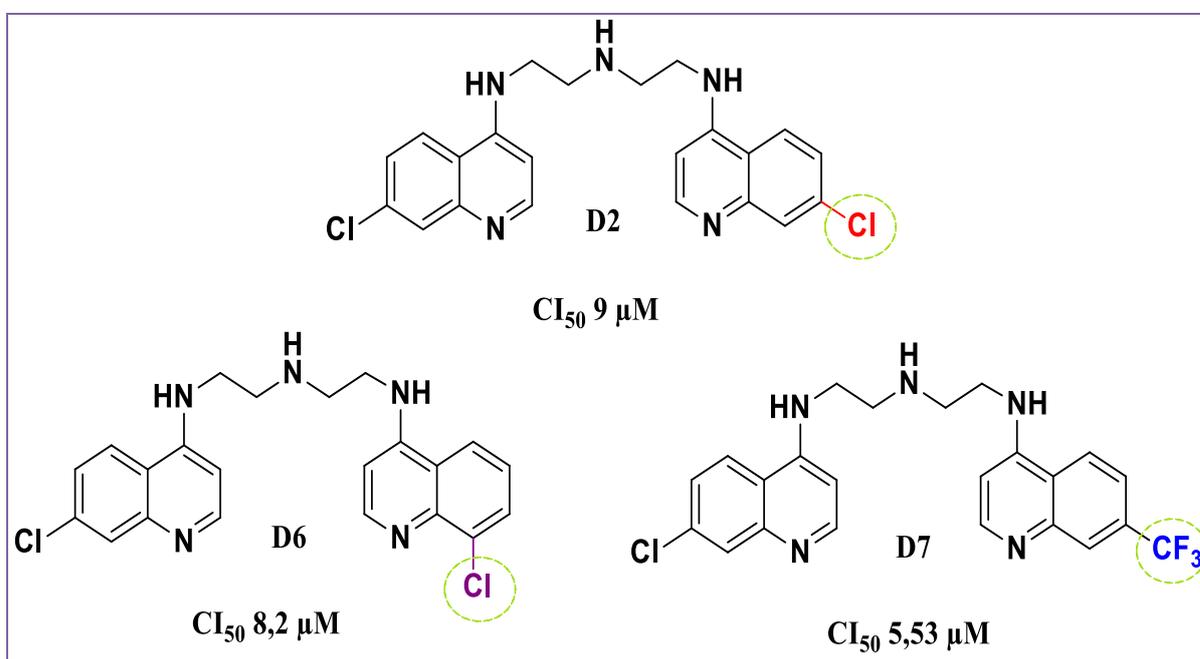
Os resultados referem-se a: ^a Concentração inibitória de 50 (CI₅₀) do crescimento de promastigotas calculada através de curvas concentração-resposta e expressa como média ± erro padrão da média.

Da mesma forma que no teste biológico anterior, podemos comparar os resultados obtidos, analisando as diferenças estruturais dos compostos. A monoquinolina **D1** com dois grupos amino na cadeia lateral do anel quinolínico apresentou atividade frente à forma promastigota com CI₅₀ de 55 µM ± 0,6, entretanto a formação das bisquinolinas favoreceu o aumento da atividade leishmanicida. A bisquinolina simétrica **D2** (Figura 43) mostrou uma concentração inibitória CI₅₀ de 9 µM ± 1, muito semelhante a bisquinolina dissimétrica **D6** CI₅₀ 8,2 µM ± 0,4, a qual difere apenas na posição do Cl em um dos anéis quinolínicos. Com a troca do Cl pelo grupamento CF₃ na posição 7 de um dos anéis (**D7**), a atividade biológica aumentou IC₅₀ 5,5 µM ± 0,2. É interessante salientar mais uma vez que as diferentes espécies podem ter uma resposta semelhante ou não. Aqui, verificamos que a troca do grupo Cl da posição 7 para a posição 8 em um dos anéis quinolínicos afetou mais a *L. amazonensis* que a *L. chagasi*, da mesma forma que a introdução do grupamento CF₃ no lugar do Cl proporcionou maior sensibilidade na *L. chagasi* que na *L. amazonensis*.

Coimbra e colaboradores (2013), trabalhando com derivados 4-aminoquinolínicos, observaram que a presença de um Cl no anel aromático ligado ao anel quinolínico melhorava a atividade frente à forma promastigota de diferentes espécies de Leishmanias (*L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. chagasi* e *L. major*) (COIMBRA, E. S., et al., 2013). No seu trabalho com híbridos de triazino-indol-quinolina, Sharma e colaboradores (2014) demonstraram que a introdução do grupamento CF₃ na molécula aumentou a potência, e conferiu seletividade

moderada contra as formas extracelular e intracelular da *L. donovani* quando comparado aos demais compostos analisados (SHARMA et al., 2014).

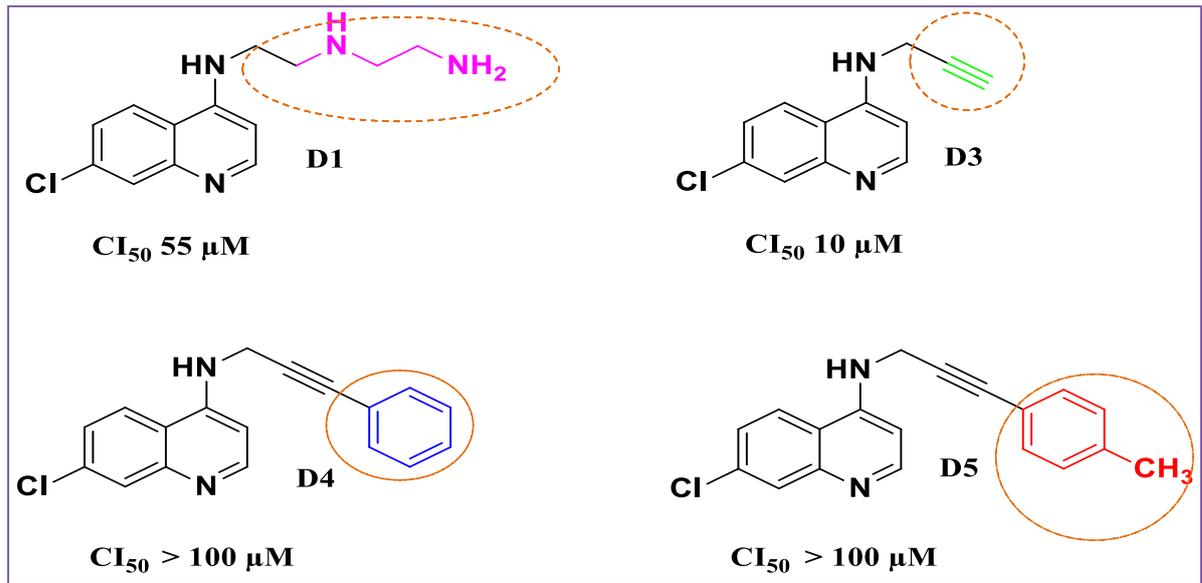
Figura 43- Estruturas das Bisquinolinas testadas contra *L.chagasi*.



Fonte: Autora, 2019.

Quando comparamos as monoquinolinas **D1** e **D3** (Figura 44), observamos que a presença de um alcino terminal na cadeia lateral do anel quinolínico é melhor que a presença de grupos amino na cadeia lateral, visto que houve um incremento na atividade biológica do composto. No entanto a adição de uma fenila ou de um toluil no alcino terminal acaba inibindo e/ou diminuindo sua atividade leishmanicida.

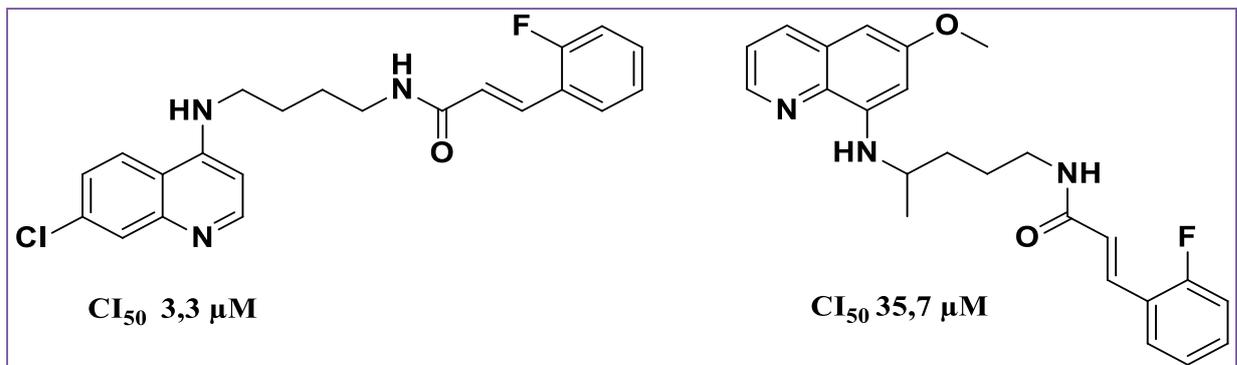
Figura 44- Estruturas das monoquinolinas testadas frente a *L. chagasi*.



Fonte: Autora, 2019.

Costa e colaboradores (2013), avaliando o efeito de compostos 8-aminoquinolínicos e 4-aminoquinolínicos (Figura 45) derivados da primaquina e da cloroquina, ambos conjugados ao ácido cinâmico, demonstraram que a maioria dos análogos à cloroquina mostraram-se mais ativos contra promastigotas da *L. infantum* que os análogos à primaquina e ao fármaco padrão miltefosina com $CI_{50} < 5,5 \mu M$ (COSTA et al, 2013).

Figura 45- Híbridos cinâmicos 4-aminoquinolínicos e 8-aminoquinolínicos.



Fonte: Adaptado de Costa et al., 2013.

6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Foram sintetizados quatro derivados 4-aminoquinolínicos inéditos análogos à cloroquina obtidos através de metodologias sintéticas clássicas descritas na literatura. Todos os compostos foram caracterizados através de técnicas espectroscópicas como infravermelho e RMN de ^1H e ^{13}C confirmando a formação dos mesmos. Em alguns casos, técnicas de RMN foram utilizadas para assegurar a devida caracterização, assim foram feitas análises de HSQC que mostra o acoplamento direto carbono-hidrogênio e o HMBC, que mostra acoplamento carbono-hidrogênio a longa distância.

Os novos compostos sintetizados **D4**, **D5**, **D6** e **D7** incluindo os de partida **D1** e **D3** e a bisquinolina simétrica **D2** foram submetidos a teste de atividade leishmanicida sob a forma promastigota das espécies *L. amazonensis* e *L. chagasi*. Observou-se que o composto **D6** foi o único que exibiu atividade significativa frente a ambas espécies avaliadas. E o composto **D7**, apesar de ter mostrado melhor atividade sobre a *L. chagasi*, diminuiu sua potência diante da *L. amazonensis*. Já as monoquinolinas **D4** e **D5** não mostraram atividade nas concentrações analisadas, embora o composto de partida **D3** tenha demonstrado boa atividade frente a *L. chagasi*.

De um modo geral, foi possível observar que, apesar de alguns compostos terem apresentado maior toxicidade que a pentamidina, a formação das bisquinolinas favoreceu o aumento da atividade leishmanicida quando comparado às monoquinolinas, pelo menos frente às espécies avaliadas e nas concentrações testadas, sendo a bisquinolina **D6** o composto com a melhor atividade leishmanicida.

Como perspectivas, pretendemos dar continuidade aos testes leishmanicida, desta vez frente às formas amastigotas das espécies analisadas. Além de sintetizar novos análogos 4-aminoquinolínicos, variando os substituintes do anel e/ou a cadeia alifática, e realizar estudos de atividade antimalárica e antitumoral com todos os compostos sintetizados.

REFERÊNCIA

- AGUIAR, A. C. C. et al. Antimalarial Activity and Mechanisms of Action of Two Novel 4-Aminoquinolines against Chloroquine-Resistant Parasites. **PLOS ONE**. V. 7, n. 5, p. e37259, 2012.
- AKHOUNDI, M. et al. Review. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. V. 3, p.1-40, 2016.
- ALIANÇA, A. S. S. et al. The in Vitro Biological Activity of the Brazilian Brown Seaweed *Dictyota mertensii* against *Leishmania amazonensis*. **Molecules**. V. 19, p. 14052-14065, 2014.
- ALMEIDA, M. M. F. S. Síntese de Novos Derivados Aminoquinolínicos com possível atividade antimalárica. 2014. **Dissertação** (Mestrado em Ciências). Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, 2014.
- ALVAR, J. et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **Plos One**. V. 7, n. 5, p. e35671, 2012.
- ANTINARELLI, L. M. R. et al. 4-Aminoquinoline Derivatives as Potential Antileishmanial Agents. **Chem Biol Drug Des**. V. 86; p. 704–714; 2015.
- ASSIS, R. R. et al. Glycoconjugates in New World species of *Leishmania*: Polymorphisms in lipophosphoglycan and glycoinositolphospholipids and interaction with hosts. **Biochimica et Biophysica Acta**. V. 1820, p.1354–1365, 2012.
- BACAB, M. J. C.; RODRIGUEZ, L. M. P. Plant natural products with leishmanicidal activity. **Natural Product Report**. V. 18, p. 674-688, 2001.
- BARI, A. Chronology of cutaneous leishmaniasis: Na overview of the history of the Disease. **Journal of Pakistan Association of Dermatologists**. V. 16, p. 24-27, 2006.

BARRAL, A.; NETTO, M. B. Aspectos imunológicos da leishmaniose cutânea difusa (LCD). **Gazeta Médica da Bahia**. V. 79 n. 3, p.35-39, 2009.

BARREIRO, E. J. A Química Medicinal e o Paradigma do Composto-Protótipo. **Revista Virtual de Química**. V. 1, n.1, p. 26-34, 2009.

BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. V. 7, n. 3, p. 3328-337, 2004.

BATALHA, P. N.; SAGRILLO, F. S.; GAMA, I. L. Acoplamento Cruzado C-C: Novas Metodologias, Aplicações e Descobertas ao Longo dos Últimos Anos. **Revista Virtual de Química**. V. 6, n. 2, p. 494-550, 2014.

BAWA, S. et al. Structural modifications of antimalarial agents based on quinoline: recent developments. **Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences**. V. 2, n. 2, p. 64-71, 2010.

BERN, C.; MANGUIRE, J.; ALVAR, J. Complexities of Assessing the Disease Burden Attributable to Leishmaniasis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. V. 2, n. 10, p. e313, 2008.

BEZERRA, R. J. S.; LEON, L.; GENESTRA, M. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 40, n. 2, p.139-149, 2004.

BOWLER, J. T. et al. Reactivity in the nucleophilic aromatic substitution reactions of pyridinium ions. **Organic & Biomolecular Chemistry**. V. 2, n. 32, p.6175-6180, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. 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.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de vigilância epidemiológica / **Ministério da Saúde**,

Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 7. Ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica.** – 1. Ed., 5. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar [recurso eletrônico] / **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis.** – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde.** – 2. Ed. atual. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação: Alagoas/**Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde.** – 5. Ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

CAMPOS, V. N. et al. Antileishmanial activity of a formulation of 2-n-propylquinoline By oral route in mice model. **Parasite.** V. 18, p. 333- 336, 2011.

CAREY, F. A. **Química Orgânica.** Volume 1/ Francis A. Carey; Tradução: Kátia A. Roque; Jane de Moura Menezes; Telma Regina Matheus. Revisão técnica: Gil Valdo Jose da Silva. Ed. 7. Porto Alegre: AMGH, 2011.

CAREY, F. A. **Química Orgânica.** Volume 2/ Francis A. Carey; Tradução: Kátia A. Roque; Jane de Moura Menezes; Telma Regina Matheus. Revisão técnica: Gil Valdo Jose da Silva. Ed. 7. Porto Alegre: AMGH, 2011.

CARVALHO, L. et al. Tafenoquine, an Antiplasmodial 8-Aminoquinoline, Targets Leishmania Respiratory Complex III and Induces Apoptosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** V. 54, n. 12, p. 5344-5351, 2010.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Parasites – Leishmaniasis. Biology. 2013. Disponível em:< <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.htmL>> Acesso: 29/03/18.

CENTRO DE CONTROLE DE ZOONOSES. **Introdução às Zoonoses**. Universidade Federal De Pelotas - Campus Capão do Leão. Disponível em:> <https://wp.ufpel.edu.br/ccz/apresentacao-2/o-que-sao-zoonoses>> Acesso: 03/01/18.

CHAPPUIS, F. et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? **Nature reviews microbiology**. V. 5, p. 873-882, 2007.

CLAYDEN, J.; GREEVEN, N.; WAREEN, S. **Organic Chemistry**. 2ª Ed. Oxford University Press. Published in the United States by Oxford University Press Inc., New York. 2012.

COELHO, A. C. et al. Role of the ABC Transporter PRP1 (ABCC7) in Pentamidine Resistance in Leishmania Amastigotes. **Antimicrobial agents and chemotherapy**. V. 58, n. 8, p. 3030–3032, 2007.

COIMBRA, E. S. et al. 7-Chloro-4-quinolinyl Hydrazones: A Promising and Potent Class of Antileishmanial Compounds. **Chem Biol Drug Des**. V. 81; p. 658–665; 2013.

COSTA, S. V. et al. N-Cinnamoylated Aminoquinolines as Promising Antileishmanial Agents. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 57; n. 10; p. 5112–5115; 2013.

COSTA, S. V. et al. Peptidomimetic and Organometallic Derivatives of Primaquine Active against Leishmania infantum. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 56, n. 11, p. 5774–5781, 2012.

COUTINHO, R. B.G. A. et al. Sensitivity of *Leishmania braziliensis* promastigotes to meglumine antimoniate (glucantime) is higher than that of other leishmania species and correlates with response to therapy in american tegumentary leishmaniasis. **Journal of Parasitology**. V. 93; n. 3; p. 688-693; 2007.

CROFT, S. L. et al. Drug Resistance in Leishmaniasis. **Clinical Microbiology Reviews**. V. 19, n. 1, p. 111–126, 2006.

CUNHA, S.; OLIVEIRA, C. Aplicações Sintéticas do ácido mucobrômico e da 3,4-dibromofuran-2(5h)-ona. **Química Nova**. V. 34, n. 8, p. 1425-1438, 2011.

CUNICO, W. et al. Fármacos antimalariais – história e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmácia**. V. 89, n. 1, p. 49-55, 2008.

DOSTÁLOVÁ, A.; VOLF, P. Leishmania development in sand flies: parasite-vector interactions overview. **Parasites & Vectors**. v. 5, n. 276, p. 1-12, 2012.

EBBEL, H.; HOLLSTEIN, M.; GUNTHER, T. Role of the choline exchanger in Na⁺ independent Mg²⁺ eflux from rat erythrocytes. **Biochimica et Biophysica Acta**. V. 1559, p.135-144, 2002.

ECDC- European Centre for Disease Prevention and Control. **Phlebotomine sand flies- Factsheet for experts**. Disponível em:< <https://ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/phlebotomine-sand-flies>>. Acesso em: 04/01/18.

FORESTIER, C. L.; GAO, Q.; BOONS, G. J. Leishmania lipophosphoglycan: how to stablish structure-activity relationships for this highly complex and multifunctional glicoconjugate? **Frontiers in cellular and infection microbiology**. V.4, n. 193, p. 1-7, 2015.

FOURNET, A. et al. 2-Substituted Quinoline Alkaloids as Potential Antileishmanial Drugs. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. V. 37, n.4, p. 859-863, 1993.

FURUSAWA, G. P.; BORGES, M. F. Colaboração para o conhecimento do histórico da leishmaniose tegumentar americana no Brasil: possíveis casos entre escravos na vila de Vassouras-RJ, nos anos 1820 a 1880. **Revista de Patologia Tropical**. V. 43, n. 1, p. 7-25, 2014.

GHAZANFAR, M.; MALIK, M. F. Sandfly and Leishmaniasis: A Review. **Journal of Ecosystem & Ecography**. v. 6, n.3, p.1-5, 2016.

GIMENEZ, A. et al. Estudios Químicos, Biológicos y Farmacológicos de *Galipea longiflora, krause*. **Revista Boliviana de Química**. V. 22, n. 1, p. 94-107, 2005.

GOLLOB, K. J. ; VIANA, A. G.; DUTRA, W. O. Immunoregulation in Human American Leishmaniasis: Balancing Pathology and Protection. **Parasite Immunology**. V. 36, n. 8, p. 367–376, 2014.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L. R. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. V. 36, n.1, p.71-80, 2003.

GOSSAGE, S. M.; ROGERS, M. E.; BATES, P. A. Two separate growth phases during the development of Leishmania in sand flies: implications for understanding the life cycle. **International Journal for Parasitology**. V.33, n. 10, p. 1027-1034, 2003.

GUARACHI, M. et al. In vitro production of leishmanicidal alkaloid 2- phenyl-quinoline by *angostura longiflora krause*. **Revista Boliviana de Química**. V. 25, n. 1, p. 10-13, 2008.

GUERRERO, E. T. et al. Leishmaniasis: a review. **F1000 Research**. V. 6(F1000 Faculty Rev):750, 2016.

HALDAR, A. K.; SEM, P.; ROY, S. Review Article. Use of Antimony in the Treatment of Leishmaniasis: Current Status and Future Directions. **Molecular Biology International**. V. 2011, p. 1-23, 2011.

HANIF, M. M.; AKRAN, K.; MUSTAFA, G. Intralesional Versus Oral Chloroquine in Cutaneous Leishmaniasis: Comparison of Outcome, Duration of Treatment and Total Dose of Drug. **Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan**. V. 26, n. 4, p. 260-262, 2016.

KEVRIC, I.; CAPPEL, M. A.; KEELING, J. H. New World and Old World Leishmania Infections a Practical Review. **Dermatologic Clinics**. V.33, p. 579-593, 2015.

KHAN, I.; YASMIN, R.; SIDIK, I. Chloroquine in cutaneous leishmaniasis. **Journal of Pakistan Association of Dermatologists**. V. 17, p. 95-100, 2007.

KONDAPARLA, S. et al. Design, synthesis and in vitro antiplasmodial activity of some bisquinolines against chloroquine-resistant strain. **Chemical Biology Drug & Design**. V. 89, p. 901–906, 2017.

LAGE, L. M. R. et al. An 8-hydroxyquinoline-containing polymeric micelle system is effective for the treatment of murine tegumentar leishmaniasis. **Parasitology Research**. V. 111, n. 3, p. 4083-4095, 2016.

LAINSON, R. Espécies neotropicais de Leishmania: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. V. 1, n. 2, p. 13-35, 2010.

LESSA, M. M. et al. Leishmaniose mucosa: aspectos clínicos e epidemiológicos. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**. V. 73, n. 6, p. 843-847, 2007.

LESTINOVA, T. et al. Insights into the sand fly saliva: Blood-feeding and immune interactions between sand flies, hosts, and Leishmania. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. V.11, n. 7, p. 1-26, 2017.

LIANG, Y. ; XIE, Y. X. ; LI, J. H. Modified Palladium-Catalyzed Sonogashira Cross-Coupling Reactions under Copper-, Amine-, and Solvent-Free Conditions. **The Journal of Organic Chemistry**. V. 71, p. 379-381, 2006.

LIMA, R. M. S. L. Síntese e avaliação antimalárica de novos derivados 4-aminoquinolínicos. 2014. 95f: il. **Tese** (Doutorado em Química). Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Al, 2014.

MACHADO, P. A. et al. Effect of 3-Alkylpyridine Marine Alkaloid Analogues in Leishmania Species Related to American Cutaneous Leishmaniasis. **Chem Biol Drug Des**. V. 80; p. 745–751; 2012.

MAGARINOS, J. C. et al. Alkaloids from Galipea longiflora Krause modify the maturation of human dendritic cells and their ability to stimulate allogeneic CD4+ T cells. **International Immunopharmacology**. V. 16, p. 79-84, 2013.

MAGARINOS, J. C. et al. Quinolinic Alkaloids from Galipea longiflora Krause Suppress Production of Proinflammatory Cytokines in vitro and Control Inflammation in vivo upon Leishmania Infection in Mice. **Scandinavian Journal of Immunology**. V. 77, p. 30-38, 2013.

MANSUETO, P. et al. Leishmaniasis in travelers: A literature review. **Travel Medicine and Infectious Disease**. V. 12, p. 563-581, 2014.

MARELLA, A. et al. Quinoline: A versatile heterocyclic (Review). **Saudi Pharmaceutical Journal**. V. 21, p. 1-12, 2013.

MELO, G. M. A. et al. Leishmanicidal activity of the crude extract, fractions and major piperidine alkaloids from the flowers of *Senna spectabilis*. **Phytomedicine**. V.21, p.277-281, 2014.

MELO, M. A. et al. Canine Visceral Leishmaniasis in Brazil. **Canine Medicine - Recent Topics and Advanced Research**. Chapter 2. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5772/65956>> Acesso em : 07/01/2018.

MEMBRIVE, N. A. et al. Disseminated cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in Southern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 59, p. 1-4, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1678-9946201759037>> Acesso: 07/01/2018.

MOSMAN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**. v. 65, p. 55-63, 1983.

NAGLE, A. S. et al. Recent Developments in Drug Discovery for Leishmaniasis and Human African Trypanosomiasis. **Chemical Reviews**. V. 114, p. 11305-11347, 2014.

NASCIMENTO, R. C. Z. et al. In vitro sensitivity of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Brazilian isolates to meglumine antimoniate and amphotericin B. **Tropical Medicine and International Health**. V. 15; n. 1; p. 68–76; 2010.

NETTEY, H. et al. Screening of Anti-Infectives against *Leishmania donovani*. **Advances in Microbiology**. V. 6, p. 13-22, 2016.

NICO, D. et al. Expression of leukosialin (CD43) defines a major intrahepatic T cell subset associated with protective responses in visceral leishmaniasis. **Parasites & Vectors**. v. 8, n. 111, p. 1-9, 2015.

NO, J. H. Visceral leishmaniasis: Revisiting current treatments and approaches for future discoveries. **Acta Tropica**. V. 155, p. 113–123, 2016.

OPAS/ OMS. **Organização Pan-Americana de Saúde**. Leishmanioses. Informe epidemiológico das Américas. Informe leishmaniose n, 4, 2016.

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, n. 1, p. 7-22, 2012.

PINHEIRO, A. C.; BISPO, M. L. F.; SOUZA, M. V. N. A Importância do Núcleo Quinolínico e seus Derivados no Desenvolvimento de Fármacos. **Revista Fitos**. V.5, n. 3, p.53-63, 2010.

PINHEIRO, R. O. Leishmaniose Tegumentar Americana: mecanismos imunológicos, tratamento e profilaxia. **Infarma. Ciências Farmacêuticas**. v.16, n 7-8, p. 79-82, 2004.

PIRES, A. M. S. et al. Aspectos imunológicos e clínicos da Leishmaniose Tegumentar Americana: uma revisão. **Revista de Ciências da Saúde**. v.14, n. 1, p. 30-39, 2012.

PORTAL MINISTÉRIO DA SAÚDE. Leishmaniose Tegumentar Americana-LTA. Situação Epidemiológica- Informações de Saúde (TABNET). Epidemiológicas e Morbidade. **SVS/MS, Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde**. 2018. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltabr.def> >. Acesso: 15/07/2018.

PORTAL MINISTÉRIO DA SAÚDE. Leishmaniose Visceral-LV. Situação Epidemiológica- Informações de Saúde (TABNET). Epidemiológicas e Morbidade. **SVS/MS, Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde**. Disponível em:<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/leishvbr.def> Acesso: 15/07/2018.

REIS, L. C. et al. Mecanismos Imunológicos na Resposta Celular e Humoral na Leishmaniose Tegumentar Americana. **Revista de Patologia Tropical**. V. 35, n. 2, p. 103-115, 2006.

REYNOLDS, K. A.; LOUGHLIN, W. A.; YOUNG, D. J. Quinolines as Chemotherapeutic Agents for Leishmaniasis. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**. V. 13, n. 5, p. 730-743, 2013.

REZENDE, J. M. Gaspar Vianna, mártir da ciência e benfeitor da humanidade. **À sombra do plátano: crônicas de história da medicina** [online]. São Paulo: Editora Fap-Unifesp. Cap. 42, p. 359-362, 2009.

ROSA, I. A. et al. Synthesis and in vitro evaluation of leishmanicidal activity of 7-hydroxy-4-phenylcoumarin derivatives. **Medicinal Chemistry Research**. V.26, n.1, p. 131-139, 2016.

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

SALOTRA, P.; SINGH, R. Challenges in the diagnosis of post kala-azar dermal leishmaniasis. **Indan Journal of Medical Research**. V.123, p. 295-310, 2006.

SHADRIN, I. A. et al. Sonogashira Reaction of the Indolizine Ring. **Synthesis**. V. 47, n. 19, p. 2961-2964, 2015.

SHARMA, R. et al. Triazino indole–quinoline hybrid: A novel approach to antileishmanial agentes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. V. 24; p. 298–301; 2014.

SIEUWERTS, A. M. et al. The MTT tetrazolium salt assay scrutinized: how to use this assay reliably to measure metabolic activity of cell cultures in vitro for the assessment of growth characteristics, IC50-values and cell survival. **Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.**, vol. 33, n. 11, p. 813-823, 1995.

SILVA, E. M. F. et al. Estudo in vitro do potencial citotóxico da *Annona muricata* L. **Rev. de Ciênc. Farmac. Basic. e Aplic.** Vol.36; n.2; p.277-283; 2015.

SINAN: **Sistema de Informação de Agravos de Notificação**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2018. DATASUS. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltaAL.def>>. Acesso em 02.06.2018.

SOARES, R. P. et al. Differential Midgut Attachment of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in the Sand Flies *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* and *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *intermedia*. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. V. 2010, p. 1-7, 2010.

SONG, Y. et al. 8-Hydroxyquinoline: a privileged structure with a broad-ranging pharmacological potential. **Medicinal Chemistry Communications**. v.6, p.61–74, 2015.

STEVERDING, D. Review. The history of leishmaniasis. **Parasites & Vectors**. v. 10, n. 82, p. 1-10, 2017.

SUNTAR, S. et al. Comparison of short-course multidrug treatment with standard therapy for visceral leishmaniasis in India: an open-label, non-inferiority, randomised controlled trial. **THE LANCET**. V. 377, n, 5, 2011.

SUNTER, J.; GULL, K. Shape, form, function and *Leishmania* pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. **Open Biology**. V.7, n. 170165, 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1098/rsob.170165>>. Acesso: 07/01/2018.

TAJEBE, F. et al. Disease severity in patients with visceral leishmaniasis is not altered by co-infection with intestinal parasites. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. V. 21, p. 1-17, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005727>>. Acesso: 22/03/18.

TEIXEIRA, C. et al. Influência da Saliva de Flebotomíneos na Leishmaniose Experimental e Humana. **Gazeta Médica da Bahia**. V. 75, n. 1, p. 18-23, 2005.

TEIXEIRA, D. E. et al. The Cell Biology of *Leishmania*: How to Teach Using Animations. **PLOS Pathogens**. V.9, n. 10, p. e1003594, 2013.

THI, H. T. N. et al. Antiprion activity of functionalized 9-aminoacridines related to quinacrine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. V. 16, p. 6737–6746, 2008.

TIUMAN, T. S. et al. Antileishmanial Activity of Parthenolide, a Sesquiterpene Lactone Isolated from *Tanacetum parthenium*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 49, n. 1, p. 176–182, 2005.

VANAERSCHOT, M. et al. Antimonial Resistance in *Leishmania donovani* Is Associated with Increased In Vivo Parasite Burden. **PLoS ONE**, V. 9, n. 8, p. e23120, 2011.

WANG, D.; GAO, S. Sonogashira Coupling in Natural Product Synthesis. **Organic Chemistry Frontiers**. V. 1, p. 556-566, 2014.

WHO, **World Health Organization**. Leishmaniasis. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>> Acesso: 13/11/17.

WHO: **World Health Organization**. BANGLADESH. Disponível em <<http://www.who.int/leishmaniasis/resources/BANGLADESH.pdf>>. Acesso: 09/01/2018.

WHO: **World Health Organization**. Control of the leishmaniasis. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010.

WHO: **World Health Organization**. Global leishmaniasis update, 2006–2015: a turning point in leishmaniasis surveillance. *Weekly epidemiological record*. Annual subscription. V. 92, n. 38, p. 557–572, 2017. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258973/WER9238.pdf?sequence=1>>. Acesso: 28/03/18.

ZIJLSTRA, E. E. et al. Post-kala-azar dermal leishmaniasis. **Lancet Infectious Diseases**. V.3, n. 87, p. 87-98, 2003.

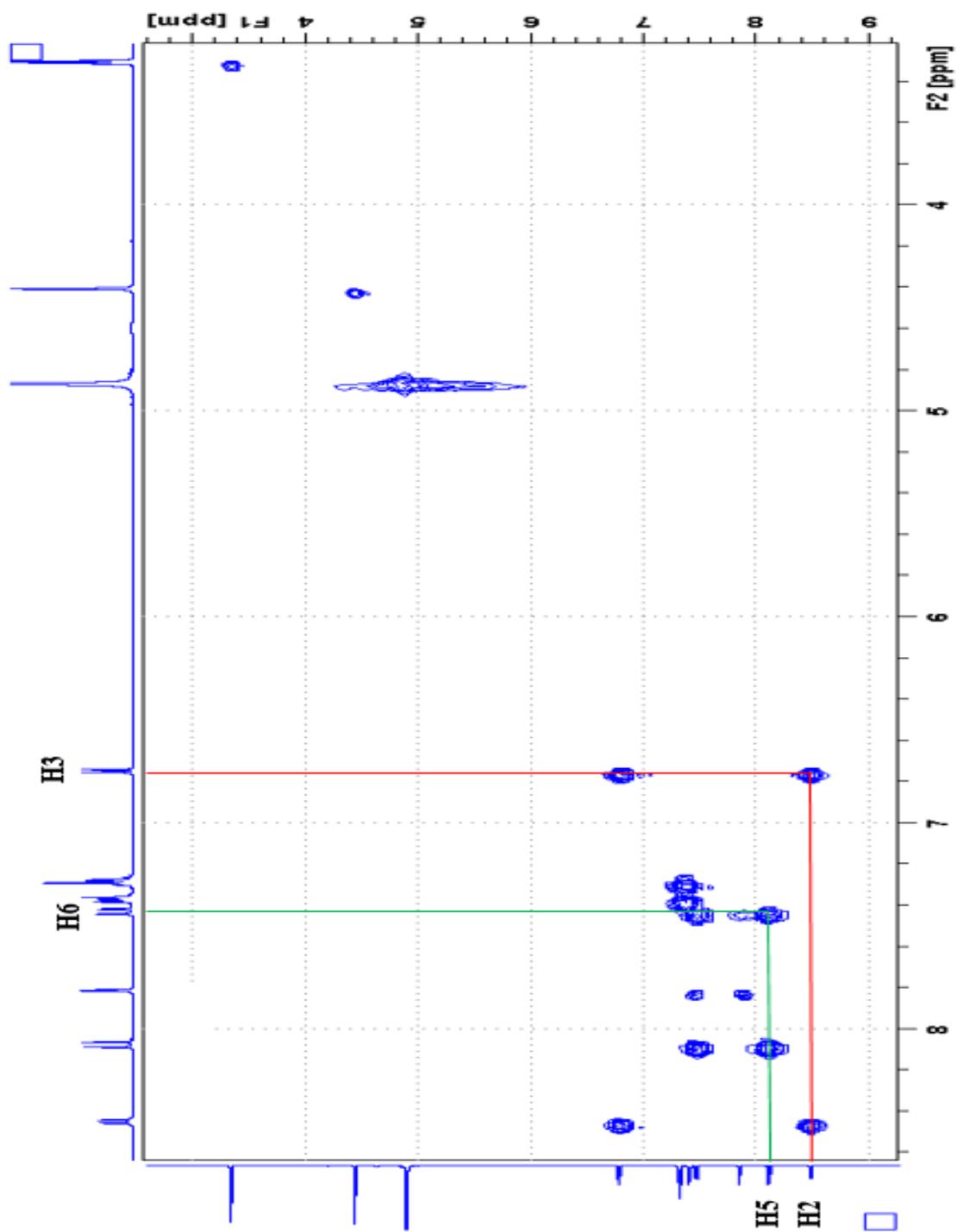
ZINK, A. R. et al. Leishmaniasis in Ancient Egypt and Upper Nubia. **Emerging Infectious Diseases**. CDC. V. 12, n. 10, 2006.

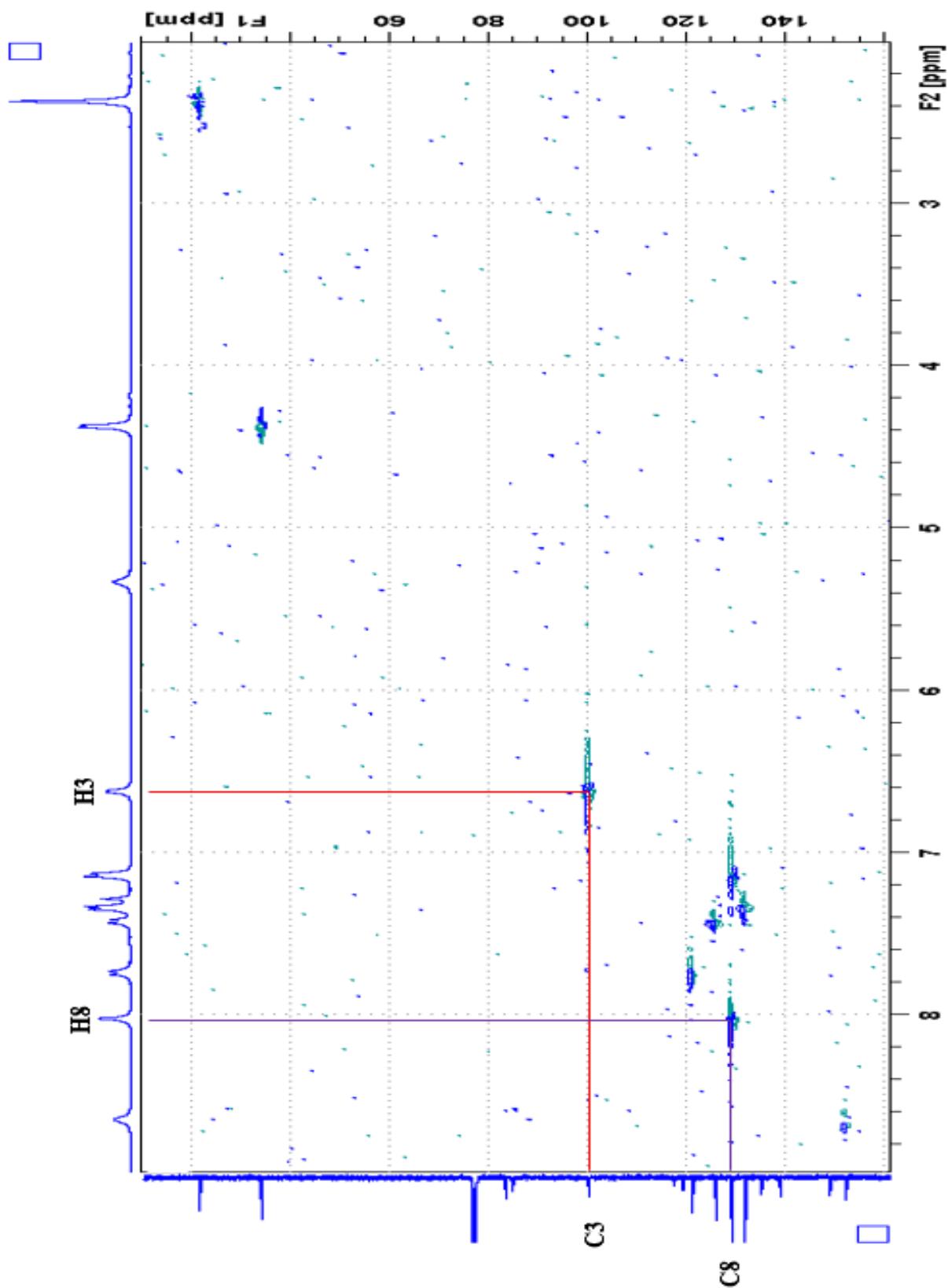
ZUFFEREY, R. ; MAMOUN, C. B. Choline transport in *Leishmania major* promastigotes and its inhibition by choline and phosphocholine analogs. **Molecular & Biochemical Parasitology**. v. 125, p. 127-134, 2002.

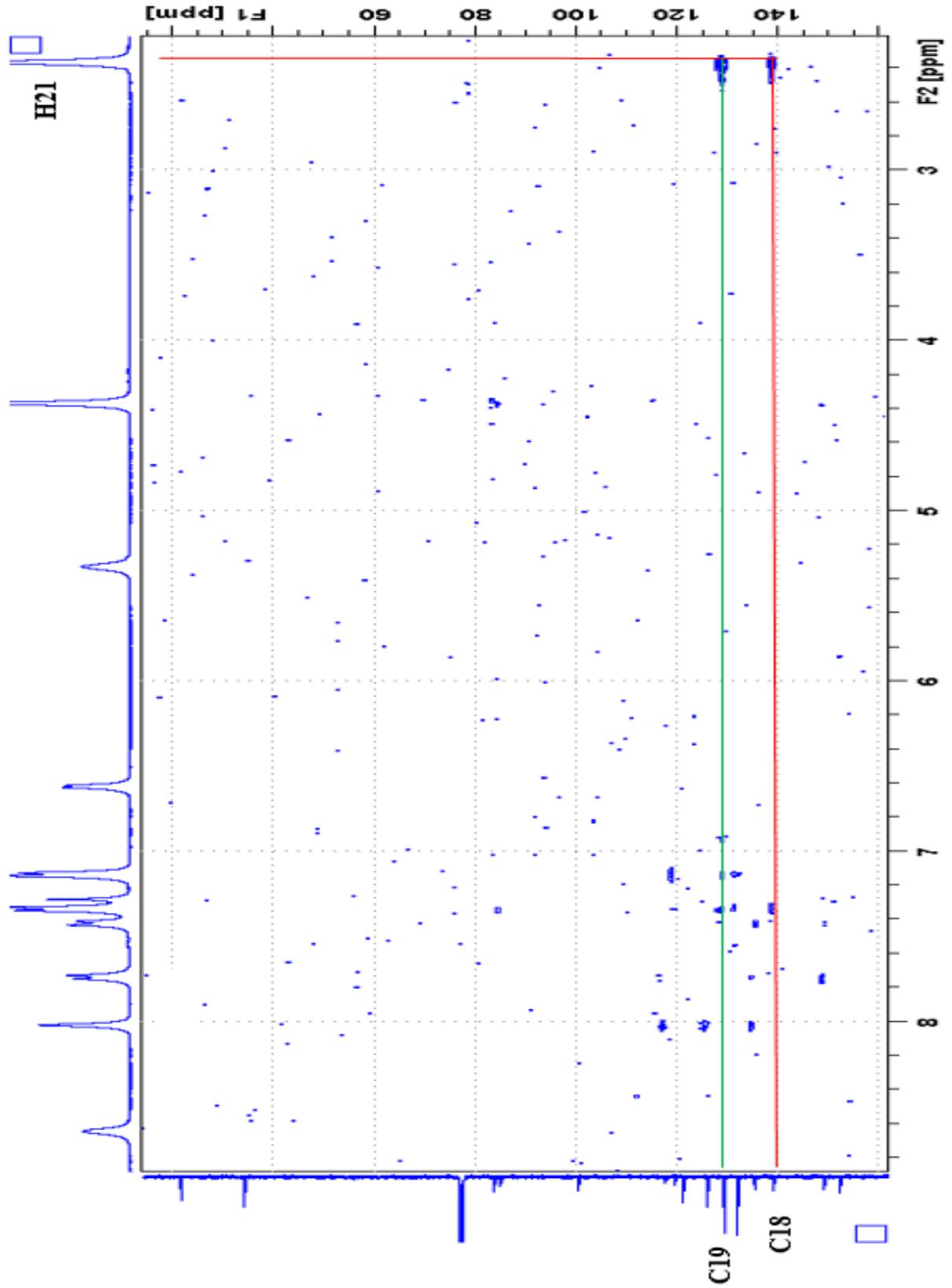
ZUMLA, A.; USTIANOWSKI, A. Tropical Diseases Definition, Geographic Distribution, Transmission, and Classification. **Infectious Disease Clinics of North America**. V. 26, p. 195–205, 2012.

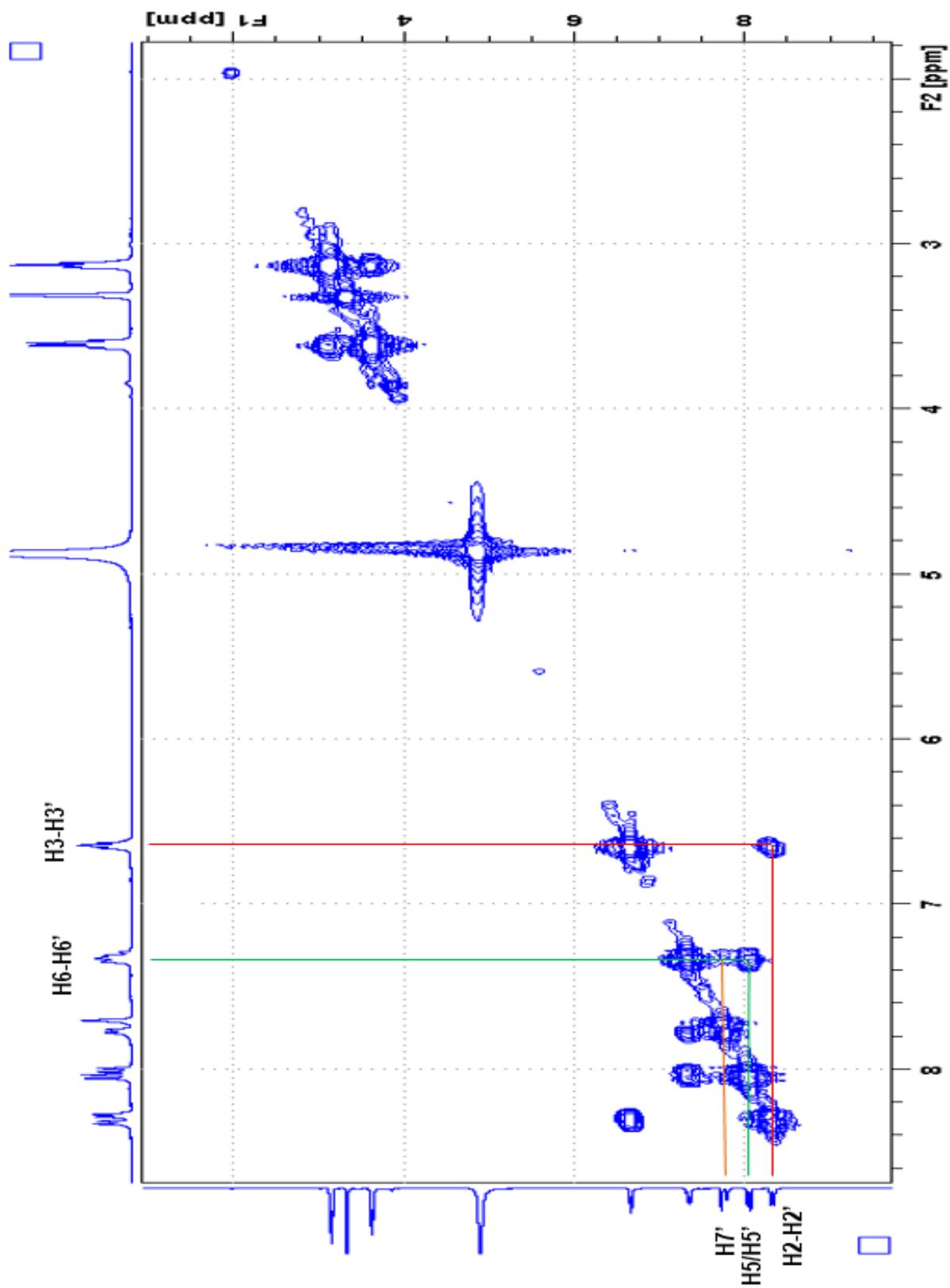
APÊNDICE

Apêndice A. Mapa de contorno homonuclear COSY do composto **D4** em CD₃OD.

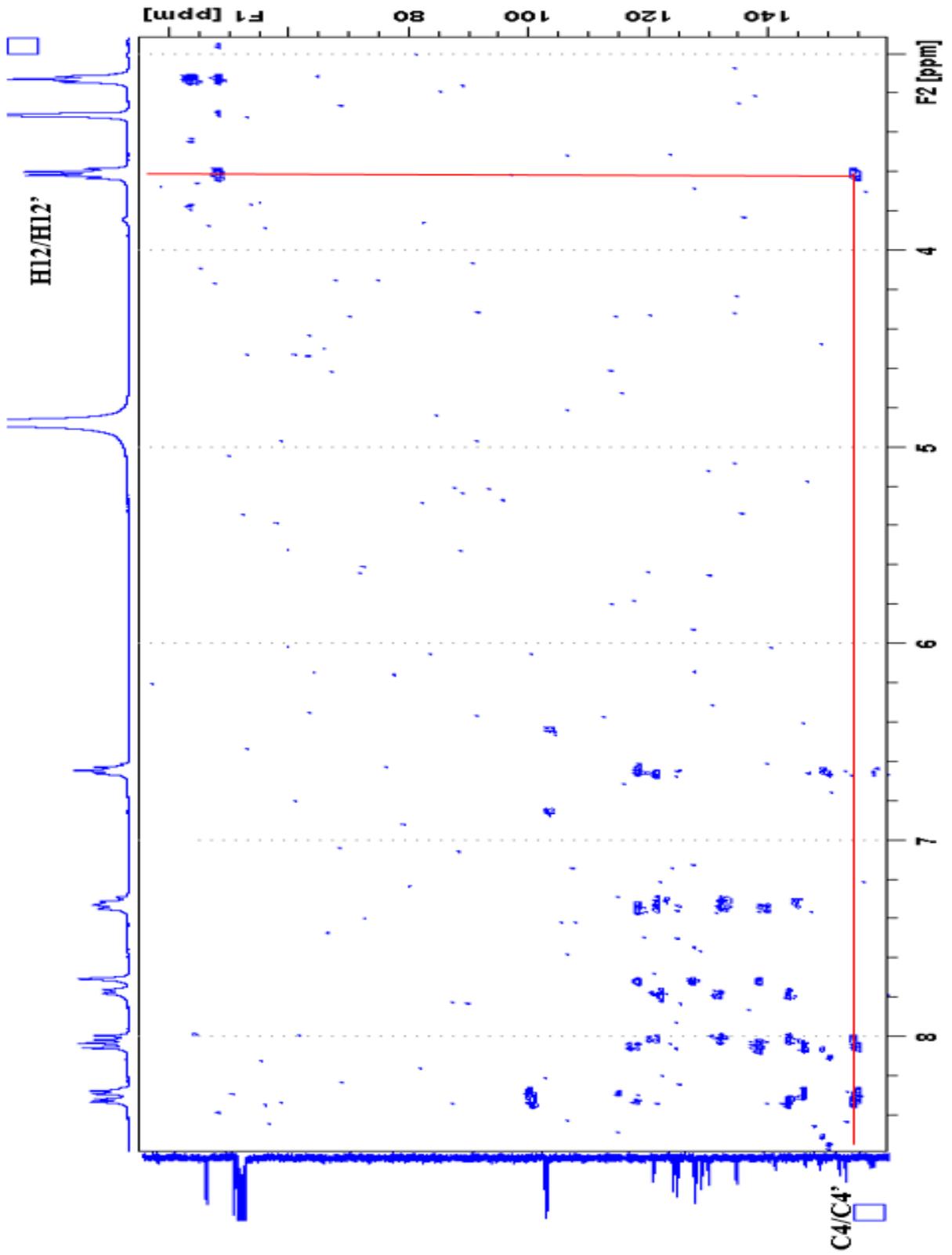


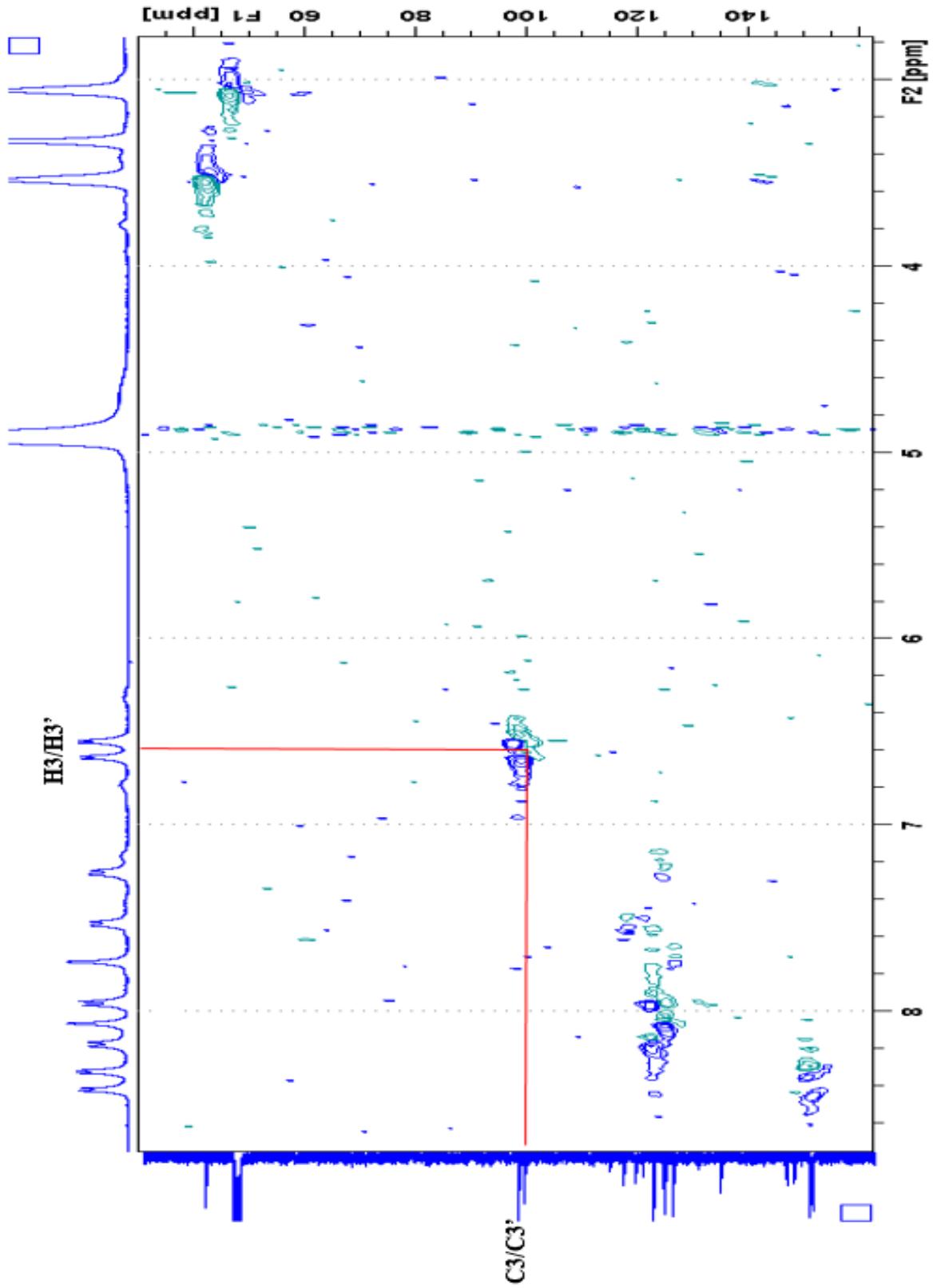
Apêndice B.. Mapa de contorno heteronuclear HSQC do composto **D5** em CD₃OD.

Apêndice C. Mapa de contorno heteronuclear HMBC do composto **D5** em CD₃OD.

Apêndice D. Mapa de contorno homonuclear COSY da **D6** em CD₃OD.

Apêndice E. Mapa de contorno heteronuclear HMBC do composto **D6** em CD₃OD.



Apêndice F. Mapa de contorno heteronuclear HSQC do composto **D7** em CD₃OD.

Apêndice G. Mapa de contorno heteronuclear HMBC do composto **D7** em CD₃OD.