



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA
NÍVEL DE MESTRADO EM FARMÁCIA**



**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE NOVOS HÍBRIDOS
MOLECULARES DE HIDRAZIDAS E NAFTOQUINONA COMO
POTENCIAIS AGENTES ANTIMICROBIANOS**

Rosane Dias Cezar

Orientador: Prof. Dr. Dênis Pires de Lima

Campo Grande

2018



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA
NÍVEL DE MESTRADO EM FARMÁCIA**



**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE NOVOS HÍBRIDOS
MOLECULARES DE HIDRAZIDAS E NAFTOQUINONA COMO
POTENCIAIS AGENTES ANTIMICROBIANOS**

Rosane Dias Cezar

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia – Nível de Mestrado- da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para obtenção do título de Mestre em Farmácia (área de concentração: Ciências Farmacêuticas).

Orientador: Prof. Dr. Dênis Pires de Lima

Campo Grande

2018

Dedico aos meus pais, por tudo que fizeram por mim ao longo da vida, pelo apoio e incentivo para concretização deste trabalho, principalmente a você mãe, por ser minha primeira e grande professora na vida. E à Deus porque permitiu.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me concedido saúde e me abençoar, colocando pessoas maravilhosas em meu caminho.

Aos meus pais Maria e Antonio que sempre estiveram do meu lado quando mais precisei, amparando-me e não medindo esforços para que tivesse êxito nas minhas escolhas profissionais.

Aos meus irmãos Rubemar e Regina, pelo incentivo e carinho. Saber que tenho pessoas que posso contar em qualquer momento na vida, é um privilégio!

Ao meu esposo Paulo e minhas filhas Helo e a Ceci: por vocês duas sonhei em conquistar esta etapa profissional!

Ao meu orientador Dr. Dênis Pires de Lima pela oportunidade, pelo exemplo de pesquisador e professor que sempre levarei como referência na minha vida profissional. Agradeço também pela compreensão e paciência no decorrer do meu aprendizado e principalmente apoio ao entender meus problemas pessoais.

Aos Dr. Celso Nakamura e Dr. Jean da Silva Rodrigues pela realização dos ensaios biológicos antiparasitários.

À professora Ana Micheletti e Tatiana pela realização dos ensaios biológicos antibacterianos.

À Michele e ao Vinícius pela realização dos espectros de infravermelho.

À Nadjla pela realização dos espectros de massas de alta resolução.

À Paolinha, amiga de todas as horas, que independente do tempo e distância sempre estaremos juntas. Obrigada por poder compartilhar todos os momentos da minha vida e principalmente pelo apoio. E também pela realização dos espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C .

Aos amigos Aline, Adriano e Rosangela, que me acolheram deste o primeiro momento, foram extremamente generosos, compartilhando seus conhecimentos e

me ajudando a superar todas as dificuldades.

Aos amigos, Neimar, Daiane, e todos os outros colegas do LP4 pelo apoio, e tão inesquecíveis momentos da “hora do café”.

Aos secretários da Pós-graduação de Farmácia e Química, Luís e Seu Ademar, e aos técnicos do Instituto de Química sempre sendo muito atenciosos.

Aos professores: Dr.^a Rosangela da Silva Lopes, Dr. Adilson Beatriz, Dr. Adriano Olímpio e Dr. Edson dos Anjos pela correção da dissertação.

À PROPP – UFMS, À FUNDECT pelo apoio financeiro e ao CNPq pela bolsa concedida.

Muito Obrigada!

*“Os ideais que iluminaram meu caminho,
são a bondade, a beleza e a verdade.”*

(Albert Einstein)

Índice geral

Índice de figuras.....	X
Índice de esquemas.....	XIV
Índice de tabelas.....	XV
Abreviaturas e símbolos.....	XVII
Resumo.....	XXI
Abstract.....	XXII
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Justificativa do trabalho.....	1
1.2 Doença de Chagas.....	2
1.2.1 Aspectos gerais.....	2
1.2.2 Ciclo evolutivo do <i>Trypanosoma cruzi</i>	3
1.2.3 Patogenia.....	5
1.2.4 Tratamento.....	5
1.3 Leishmaniose.....	7
1.3.1 Aspectos gerais.....	7
1.3.2 Ciclo evolutivo do gênero <i>Leishmania</i>	8
1.3.3 Manifestações da doença.....	9
1.3.3.1 Leishmaniose cutânea.....	9

1.3.3.2 Leishmaniose mucocutânea.....	10
1.3.3.3 Leishmaniose visceral.....	10
1.3.4 Tratamento.....	11
1.3.4.1 Antimoniais pentavalentes.....	11
1.3.4.2 Pentamidina.....	13
1.3.4.3 Anfotericina B.....	14
1.3.4.4 Paromicina.....	15
1.3.4.5 Miltefosina.....	16
1.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
1.4.1 Aspectos gerais.....	16
1.4.2 Patogenia.....	17
1.4.3 Antibioterapia e resistência.....	18
1.5 Naftoquinonas.....	21
1.6 Derivados de acil-hidrazidas.....	23
1.7 Hibridização Molecular.....	24
2 OBJETIVOS	26
2.1 Objetivos específicos.....	26
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.1 Síntese de acil-hidrazidas da 2-hidroxi-1,4-naftaquinona.....	27
3.1.1 Elucidação do composto <i>N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)-3,5-dimetoxibenzohidrazida (23)</i>	30
3.1.2 Elucidação do composto <i>N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)-4-</i>	36

<i>nitrobenzohidrazida (24)</i>	
3.1.3 Elucidação do composto <i>4-bromo-N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)benzohidrazida (25)</i>	40
3.1.4 Elucidação do composto <i>4-flúor-N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)benzohidrazida (26)</i>	44
3.1.5 Elucidação do composto <i>4-butil-N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)benzohidrazida (27)</i>	47
3.1.6 Elucidação do composto <i>N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)-3,4-dimetoxibenzohidrazida (28)</i>	50
3.1.7 Elucidação do composto <i>1-flúor-N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)benzohidrazida (29)</i>	
3.2 Ensaio da atividade biológica	59
3.2.1 Atividade tripanocida.....	56
3.2.2 Atividade leishmanicida.....	58
3.2.3 Atividade antibacteriana – <i>S. aureus</i>	60
3.3 Citotoxicidade.....	62
4 PARTE EXPERIMENTAL	64
4.1 Parte Química.....	64
4.2 Preparação de acil hidrazidas da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona.....	64
4.2.1 Preparação geral dos ésteres (8 - 14).....	64
4.2.2 Preparação geral das acil-hidrazidas (15 - 21).....	65
4.2.3 Preparação geral de acil-hidrazidas da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (23 - 29)	65
4.2.3.1 <i>N'-(1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)-3,5dimetoxi benzohidrazida (23)</i>	65
4.2.3.2 <i>N'-(1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)-3,4,5-trimetoxi-</i>	66

benzohidrazida(24).....	
4.2.3.3 <i>N</i> -(1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)-4-nitro-benzohidrazida (25).....	66
4.2.3.4 <i>N</i> -(1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)-4-bromo-benzohidrazida (26).....	66
4.2.3.5 <i>N</i> -(1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)-4-fluor-benzohidrazida (27).....	67
4.2.3.6 <i>N</i> -(1,4-dioxo-1,4-dihidronaftalen-2-il)-4-butil-benzohidrazida (28).....	67
4. 2.3.7 <i>N</i> -(1,4-dioxo-1,4-di-hidro-naftalen-2-il)-3,4-dimetoxi- benzohidrazida (29).....	78
4.3 Ensaio biológico.....	68
4.3.1 Atividade antiparasitária.....	68
4.3.2 Atividade antiproliferativa contra formas epimastigotas de <i>Trypanosoma cruzi</i>	69
4.3.3 Atividade antiproliferativa contra formas promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i>	69
4.3.4 Atividade antibacteriana (<i>S. aureus</i>).....	69
4.4 Ensaio de citotoxicidade.....	70
5 CONCLUSÃO	71
6 REFERÊNCIAS	72

Índice de figuras

Figura 1: <i>Triatoma infestans</i> , principal vetor na transmissão da doença de Chagas.....	3
Figura 2: Ciclo evolutivo do <i>T. cruzi</i>	4
Figura 3: Sinal de Romaña na Doença de Chagas aguda.....	5
Figura 4: Estruturas químicas do Benzobenzonidazolnidazol e do Nifurtimox.....	6
Figura 5: Mosquito fêmea transmissor da <i>Leishmania ssp</i>	7
Figura 6: Ciclo evolutivo do gênero <i>Leishmania</i>	8
Figura 7: Lesão característica da LC.....	10
Figura 8: Lesão característica da LMC.....	10
Figura 9: Esplenomegalia na LV.....	11
Figura 10: Estruturas químicas do antimoniato de meglumina e estibogluconato de sódio.....	12
Figura 11: Estrutura química da pentamidina.....	13
Figura 12: Estrutura química da anfotericina B.....	14
Figura 13: Estrutura química da paromicina.....	15
Figura 14: Estrutura química da miltefosina.....	16
Figura 15: Estrutura química da benzilpenicilina, amoxicilina e ampicilina.....	17
Figura 16: Estrutura química do metilpenicilina, cefalosporina e vancomicina.....	19

Figura 17: Estrutura química da oxacilina, clindamicina, ciprofloxacino, clindamicina, sulfametazol, trimetropina, gentamicina e daptomicina	21
Figura 18: Classificação das quinonas e formas isoméricas da naftoquinona	23
Figura 19: Compostos sintetizados derivados da lawsona (23 - 29)	28
Figura 20: Estrutura da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (22).....	29
Figura 21: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) do composto 23	32
Figura 22: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) do composto 23	32
Figura 23: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) - DEPT 135 do composto 23	33
Figura 24: Espectro de infravermelho (KBR) do composto 23	33
Figura 25: Espectro de massas de alta resolução do composto 23 M calculada= 353, 1137[M] $^+$; M encontrada= 353,1123 [M+H] $^+$; Δm = 2,26 ppm.....	34
Figura 26: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) do composto 24	36
Figura 27: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), DEPT-135 do composto 24	37
Figura 28: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) do composto 24	38
Figura 29: Espectro de infravermelho (KBr) do composto 24	38

Figura 30: Espectro de massas de alta resolução do composto 24 M calculada= 338, 0777 [M] ⁺ ; M encontrada= 338,0762 [M+H] ⁺ ; Δm= 4,43 ppm.....	38
Figura 31: Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 25	40
Figura 32: Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) - DEPT 135 do composto 25	40
Figura 33: Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 25	41
Figura 34: Espectro de infravermelho (KBr) do composto 25	41
Figura 35: Espectro de massas de alta resolução do composto 25 M calculada= 371,0031[M] ⁺ ; M encontrada= 371,0031 [M+H] ⁺ ; Δm= 2,26 ppm.....	42
Figura 36: Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 26	44
Figura 37: Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) - DEPT 135 do composto 26	44
Figura 38: Espectro de infravermelho (KBr) do composto 26	45
Figura 39: Espectro de massas de alta resolução do composto 26 M calculada= 311, 0832 [M] ⁺ ; M encontrada= 311,0836 [M+H] ⁺ ; Δm= 1,28 ppm.	47
Figura 40: Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 27	47
Figura 41: Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 27	48

Figura 42: Espectro de infravermelho (KBr) do composto 27	48
Figura 43: Espectro de massas de alta resolução do composto 28 M calculada= 349, 1552 [M] ⁺ ; M encontrada= 349,1554 [M+H] ⁺ ; $\Delta m = 0,57$ ppm.....	48
Figura 44: Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 28	50
Figura 45: Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 28	50
Figura 46: Espectro de infravermelho (KBr) do composto 28	51
Figura 47: Espectro de massas de alta resolução do composto 29 M calculada= 353, 1137 [M] ⁺ ; M encontrada= 353,1142 [M+H] ⁺ ; $\Delta m = 1,41$ ppm.	51
Figura 48: Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 29	53
Figura 49: Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 29	53
Figura 50: Espectro de infravermelho (KBr) do composto 29	54
Figura 51: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 29 M calculada= 311,0832 [M] ⁺ ; M encontrada= 311,0836 [M+H] ⁺ ; $\Delta m = 1,28$ ppm.....	54

Índice de esquemas

Esquema 1: Rota sintética geral para a preparação de novas naftoquinonas.....	27
Esquema 2: Proposta do mecanismo da reação para obtenção dos derivados de acilhidrazidas da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona.....	30

Índice de tabelas

Tabela 1: Compostos naftoquinônicos com atividade leishmanicida, tripanocida e antibacteriana.....	22
Tabela 2: Compostos derivados de hidrazina com atividade biológica	24
Tabela 3: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto 23	34
Tabela 4: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto 23 em DMSO d_6	35
Tabela 5: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto 24	38
Tabela 6: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto 24 em DMSO- d_6	39
Tabela 7: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto 25	42
Tabela 8: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto 25 em DMSO- d_6	43
Tabela 9: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto 26	45
Tabela 10: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto 26 em DMSO- d_6	46
Tabela 11: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto 27	48

Tabela 12: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto 27 em DMSO- d_6	49
Tabela 13: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto 28	51
Tabela 14: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto 28 em DMSO- d_6	52
Tabela 15: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto 29	54
Tabela 16: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto 29 em DMSO- d_6	55
Tabela 17: Atividade tripanocida dos compostos sintetizados sobre a forma epimastigota do <i>T. cruzi</i>	57
Tabela 18: Atividade leishmanicida dos compostos sintetizados sobre a forma promastigota do <i>L. amazonensis</i>	59
Tabela 19: Atividade antibacteriana dos compostos sintetizados frente a <i>S. aureus</i>	61
Tabela 20: Valores de CC_{50} para células LLC-MK2 para as formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i> e formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> e seus respectivos índices de seletividade (IS).....	63

Abreviaturas e símbolos

δ	Deslocamento químico
μM	Micromolar
CCC	Cardiopatía crônica de Chagas
CC ₅₀	Concentração citotóxica 50%
CCD	Cromatografia em camada delgada
CMI	Concentração mínima inibitória
CA-MRSA	<i>S. aureus</i> associada à comunidade
cm ⁻¹	Unidade de número de onda em centímetro recíproco
d	Dupleto
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetil sulfóxido deuterado
DTNs	Doenças tropicais negligenciadas
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramas
g/mol	Gramas por mol
Hz	Hertz
h	Horas
IC ₅₀	Concentração inibitória 50%
IV	Espectroscopia de infravermelho
IS	Índice de seletividade

IFN- γ	Interferon-gama
<i>J</i>	Constante de acoplamento
HA-MRSA	<i>S. aureus</i> associada à ambiente hospitalar
LC	Leishmaniose cutânea
LMC	Leishmaniose mucocutânea
LV	Leishmaniose visceral
LLCMK2	Células epiteliais de rim de <i>Macaca mulata</i>
Kg	Kilograma
M	Molar
MRSA	<i>S. aureus</i> resistente à metilina
m	Multipeto
m/z	Razão massa/carga
Mg	Miligramas
mL	Militros
MHz	Mega Hertz
Mmol	Milimol
Nm	Nanômetro
P&D	Pesquisa e desenvolvimento
Ppm	Parte por milhão de frequência aplicada
RMN de ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

s	Simpleto
OMS	Organização Mundial de Saúde
TcTS	Enzima trans-sialidase
t.a	Temperatura ambiente
t	Tripleto
VRSA	<i>S. aureus</i> resistente à vancomicina
TMS	Tetrametilsilano
XTT	Sal de tetrazol

Resumo

Na busca de potenciais agentes antimicrobianos, reportamos a síntese de 7 híbridos moleculares resultantes da fusão entre acil-hidrazidas aromáticas e da lawsona. Os compostos foram submetidos a atividade antimicrobiana *in vitro*, sendo que o composto **23** (IC_{50} 1,83 μ M), apresentou maior atividade frente ao *Trypanosoma cruzi*, quando comparado ao fármaco de referência benzonidazol. E atividade contra *Leishmania amazonensis*, os compostos **23** (IC_{50} 9,65 μ M), **25** (IC_{50} 12,16 μ M), **26** (IC_{50} 8,38 μ M), **28** (IC_{50} 5,96 μ M) e **29** (IC_{50} 8,08 μ M) apresentaram atividade quando comparado a anfoterecina b. Quanto a atividade frente à bactéria *Staphylococcus aureus*, os compostos **24**, **25**, **26** e **29** apresentaram atividades (CIM 7.50 μ g.mL⁻¹, CIM 0,93 μ g.mL⁻¹ 3.75 μ g.mL⁻¹ e 1,87 μ g.mL⁻¹ respectivamente). Os compostos foram avaliados no ensaio em células LLCMK2 e apresentaram baixa citotoxicidade.

Palavras-chave: Doenças negligenciadas; Atividade tripanocida; Atividade leishmanicida; Lawsonsone;

Abstract

In the search for potential antimicrobial agents, we report the synthesis of 7 molecular hybrids, resulting from the fusion between aromatic acyl-hydrazides and lawsona. The compounds were submitted to antimicrobial activity *in vitro* activities, the compound **23** (IC₅₀ 1,83 μM), showed more activity against *Trypanosoma cruzi*, when compared to the reference benznidazole. And activity against *Leishmania amazonensis*, the compounds **23** (IC₅₀ 9,65 μM), **25** (IC₅₀ 12,16 μM), **26** (IC₅₀ 8,38 μM), **28** (IC₅₀ 5,96 μM) e **29** (IC₅₀ 8,08 μM), when compared to amphotericin b. And antibacterial activity against *S. aureus* (MIC 0.93 μg.mL⁻¹) and, compounds **24**, **26** and **29** presented activities only against *S. aureus* (MIC 7.50 μg.mL⁻¹, 3.75 μ.mL⁻¹ and 1.87 μ.mL⁻¹, respectively). Compounds that were evaluated in the test on LLCMK2 cells showed low cytotoxicity.

Keywords: Neglected diseases; Trypanocidal activity; Leishmanicidal activity; Lawsone; Hydrazide hybrids of naphthoquinone .

1 INTRODUÇÃO

1.1 Justificativa do trabalho

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são um grupo de doenças que se desenvolvem exclusivamente ou principalmente nos trópicos, em climas quentes e úmidos, como, por exemplo, a leishmaniose e a doença de chagas. Estas enfermidades representam um obstáculo devastador à saúde, devido à incapacidade ou morte que atinge a milhões de pessoas, principalmente em regiões mais pobres, onde os índices de desenvolvimentos socioeconômicos são baixos, por isso, é considerada uma necessidade terapêutica importante e permanece não atendida na sua plenitude (OMS, 2017a).

Além disso, o tratamento e a prevenção efetiva da crescente variedade de infecções causadas por parasitas e bactérias, são ameaçados pela resistência antimicrobiana e exige uma ação em todos os setores governamentais e da sociedade, pois novos mecanismos de resistência surgem e se propagam mundialmente, e sem antibióticos eficazes, o tratamento das doenças tornam-se comprometidos, tornando o custo dos cuidados de saúde para os pacientes com resistência maior, do que para os não resistentes, resultando em doenças prolongadas, deficiência e morte (OMS, 2017b). Os fármacos disponíveis para o tratamento dessas enfermidades apresentam graves efeitos adversos (LEMKE, 2012), desafiando alternativas de uma quimioterapia eficiente e segura, por isso a pesquisa em síntese de novos medicamentos que possam ser utilizados é urgentemente necessária e os metabólitos secundários de fontes naturais podem desempenhar um papel muito importante nesta busca de fármacos mais eficazes e seguros (DE MOURA et al., 2001).

Como estratégia na descoberta de novos fármacos, temos a hibridização molecular, que é uma das ferramentas mais valiosas para a descoberta de protótipos. Esta estratégia envolve a fusão de fragmentos moleculares bioativos para se planejar um novo composto com características sinérgicas de dois fragmentos, apresentando afinidade otimizada para um biorreceptor (JUNIOR et al., 2007; LAZAR et al., 2004). Como os derivados de naftoquinonas podem constituir

compostos com grande importância farmacológica, e de modo correspondente, as moléculas portadoras de hidrazida. O presente estudo visa à obtenção de novas compostos derivados da fusão entre lawsona e acil-hidrazidas aromáticas e submissão dos produtos a testes de atividade antimicrobiana.

1.2 Doença de Chagas

1.2.1 Aspectos gerais

A doença de chagas tem o nome de Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, médico e pesquisador brasileiro que descobriu a doença em 1909, ela é também conhecida como tripanossomíase americana, uma infecção sistêmica crônica, causada pelo protozoário flagelado *T. cruzi*. Estima-se que 6 a 7 milhões de pessoas estejam infectadas, sendo endêmica em 21 países latino-americanos, no entanto nas últimas décadas tem sido detectado em muitos países europeus, Estados Unidos da América e Canadá (OMS, 2017c; POLANCO-HERNÁNDEZ et al., 2003).

A doença de Chagas é transmitida principalmente aos seres humanos pela picada e contato com as fezes ou urina de triatomíneos, sendo o *Triatoma infestans* principal vetor, pertencente a família reduvidae (**Figura 1**) (POLANCO-HERNÁNDEZ et al., 2003), mas também pode ser transmitida por transfusão sanguínea, transplantes de órgãos, pela ingestão de alimentos contaminados, pela passagem da mãe infectada para o recém-nascido durante a gravidez ou parto, e raramente por acidentes laboratoriais. Também é considerada oportunista para os indivíduos infectados com o vírus HIV (vírus da imunodeficiência humana) (OMS, 2017c; RIBEIRO, 2012; SILVA et al., 2010; DA SILVA, et al., 2013).

Até o presente momento, não há vacina para a prevenção da doença, sendo o controle vetorial (OMS, 2017c; DE MOURA et al., 2001) e controle da transmissão sanguínea, os métodos mais eficazes (FERREIRA et al., 2013).



Figura 1: *Triatoma infestans*, principal vetor na transmissão da doença de Chagas.

Fonte: <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>. Adaptado.

1.2.2 Ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*.

O agente etiológico da doença de Chagas apresenta um ciclo de vida complexo, presente em hospedeiros vertebrado e invertebrado. Baseado principalmente em critérios morfológicos, como a forma do parasita, posição do núcleo e região flagelar, três formas são classicamente descritas:

- Amastigotas: com divisória intracelular, flagelada, presente no hospedeiro vertebrado;
- Tripomastigotas: uma forma infecciosa, flagelada, presente em hospedeiros vertebrados e invertebrados;
- Epimastigotas, um flagelo extracelular, não infeccioso e presente tipicamente no hospedeiro invertebrado (DE FARIA et al., 1999).

O ciclo evolutivo do *T. cruzi* esta representado na Figura 2. No hospedeiro invertebrado (insetos triatomíneos) a forma tripomastigota circulante na corrente sanguínea é ingerida pelo inseto durante o hematofagismo, diferenciando-se em epimastigota, multiplicando-se por divisão binária simples na porção terminal do tubo digestivo, diferenciando-se em tripomastigotas metacíclicas que são infectantes para os hospedeiros vertebrados (DE FARIA et al., 1999).

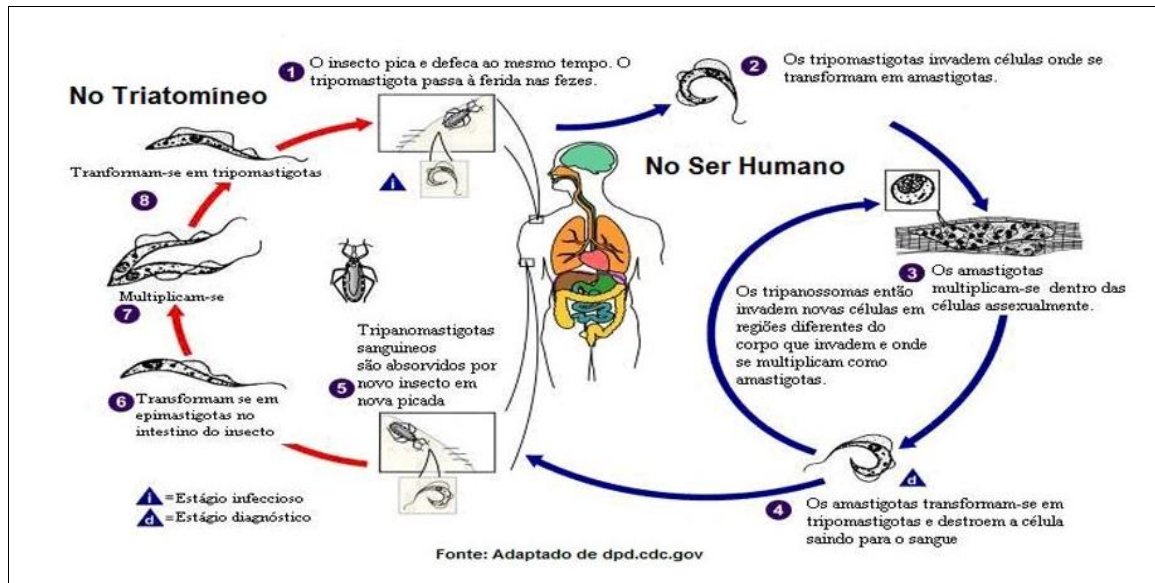


Figura 2: Ciclo evolutivo do *T. cruzi*.

Fonte: <http://www.parasitandonaweb.xpg.com.br/trypanosoma.html>

Estas formas tripomastigotas metacíclicas podem invadir as células do hospedeiro vertebrado, quando no sítio de inoculação se difundem pela corrente sanguínea linfática, infectando outras células, diferenciando-se em amastigotas intracelulares, transformando em tripomastigotas, e com o rompimento celular, invadem tecidos adjacentes e se espalham através da corrente sanguínea e linfática, principalmente nas células musculares, cardíacas, lisas e esqueléticas (FERREIRA et al., 2013; RASSI, 2002).

1.2.3 Patogenia

A doença de Chagas apresenta-se em duas fases: crônica e aguda. A fase aguda inicial dura cerca de seis a oito semanas após a picada do vetor (BRASIL, 2005; DE FARIA et al., 1999). Por transfusão, o período de incubação é mais longo, de 30 a 40 dias, na qual é caracterizada por grande um número de parasitas circulantes na corrente sanguínea, na maioria dos casos os sintomas são ausentes, leves ou inespecíficos (ROMANHA et al., 2010).

Em menos de 50 % das pessoas picadas pelo triatomíneo, os primeiros sinais visíveis característicos podem ser uma lesão cutânea ou um inchaço das pálpebras

de um olho, conhecida como sinal de Romaña (**Figura 3**) (OMS, 2017c; RASSI, 2002; RIBEIRO, 2012). Outros sintomas podem estar presentes, como febre, dor de cabeça, glândulas linfáticas alargadas, palidez, dor muscular, dificuldade em respirar, inchaço e dor abdominal ou torácica (OMS, 2017c).



Figura 3: Sinal de Romaña na Doença de Chagas aguda.

Fonte: <http://medifoco.com.br/doenca-de-chagas-sinais-e-sintomas-da-fase-aguda-e-cronica/>

A fase crônica inicia-se 2 a 3 meses após a infecção (RASSI, 2002), podendo se manifestar mais de 10 anos após a fase aguda (BRASIL, 2005). Esta fase é caracterizada por infiltrados inflamatórios mononuclear em graus variados, com presença constante de parasitas em tecidos, com parasitemia baixa ou indetectável (RIBEIRO, 2012), cuja resposta celular se limita a proliferação dos parasitas e não a erradicação da infecção. Os parasitas presentes principalmente nos músculos cardíacos podem levar a manifestação mais grave e frequente que desenvolve em 20 a 30 % dos infectados: Cardiopatia crônica de Chagas (CCC) (FERREIRA et al., 2013; RASSI, 2002) e/ou aumento do esôfago ou cólon, chamado de megaesôfago e de megacolon. Estas alterações podem levar à morte súbita devido a arritmia cardíaca ou insuficiência cardíaca progressiva causada pela destruição do músculo cardíaco e do sistema nervoso (OMS, 2017c; RASSI, 2002).

1.2.4 Tratamento

Os princípios ativos introduzidos entre 1960 e 1970, o nifurtimox (Lampit®) um derivado nitrofurânico que devido sua alta porcentagem de efeitos colaterais

deixou de ser fabricado no Brasil. Mais tarde o benznidazol (Rochagan®) um derivado imidazólico (**Figura 4**), que apresenta melhor perfil de segurança na eficácia em estudos clínicos (RASSI, 2012).

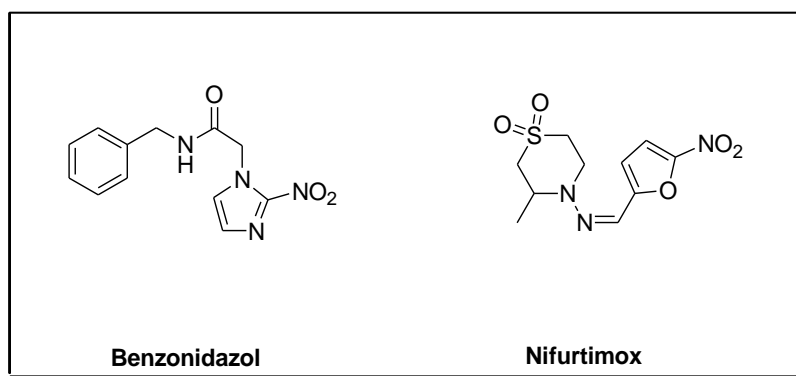


Figura 4: Estruturas químicas do Benznidazol e do Nifurtimox.

O benznidazol geralmente é usado para tratamento de primeira escolha, o esquema posológico consiste em crianças receber a dose de 5 a 10 mg/kg em 2 ou 3 doses divididas por dia e para adultos as doses recomendadas são de 5 mg/kg por dia, por um período de 60 dias. Os principais efeitos colaterais são: náuseas, tremores, excitação, insônia e crises convulsivas (KIRCHHOFF, 2002; RASSI, 2012).

Para o nifurtimox a dose diária recomendada para crianças é de 15 mg/kg em 3 doses divididas por dia durante 60 à 90 dias, administradas por via oral. Para adultos, a dose é de 8 a 10 mg/kg por dia, pelo mesmo tempo de administração para as crianças (RASSI, 2012). Os efeitos colaterais mais comuns são: insônia, anorexia, náusea, vômito, desconforto abdominal, diarreia, insônia, irritabilidade, desorientação, dor de cabeça, mialgia, artralgia, tonturas, vertigens e mudança do humor (KIRCHHOFF, 2002; RASSI, 2012;).

O mecanismo de ação do nifurtimox e benznidazol envolve a formação de radicais livres e/ou metabólitos nucleofílicos. O grupo nitro de ambas as drogas é reduzido pela ação da nitroreductase, levando à produção de um radical ânion nitro (NO₂⁻), do ânion superóxido (O⁻²) e do peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que na presença do íon férrico (Fe⁺³), formam os radicais livres, principalmente o radical hidroxila (OH[•]), ligam-se a lipídios, proteínas e DNA, lesando as células do parasita (OLIVEIRA et al., 2008).

1.3 Leishmaniose

1.3.1 Aspectos gerais

As leishmanioses são um grupo de doenças causadas por protozoários, cerca de 20 espécies de *Leishmania* (OMS, 2017d) são capazes de infectar hospedeiros vertebrados. Nos seres humanos é associado a oito espécies: *Leishmania donovani*, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania infantum*, *Leishmania major*, *Leishmania tropica*, *Leishmania aethiopica*, *Leishmania braziliensis* e *Leishmania mexicana*. A transmissão ocorre pela picada do mosquito fêmea flebotomíneo dos gêneros *Phlebotomus* (Europa, Ásia, África) e *Lutzomyia* (América) (GUIMARÃES et al., 2013), conhecido no Brasil por birigui, mosquito-palha ou tatuquira (Figura 5) (GENARO, 2000a).

As leishmanioses são endêmicas em mais de 98 países, estima-se que milhões de pessoas estão expostas ao risco, afetando principalmente os indivíduos mais pobres (DNDI, 2017), pois esta associada à desnutrição, deslocamento de população, habitação precária e sistema imune deficiente, acarretando cerca de 30 mil mortes por ano (OMS, 2017d).



Figura 5: Mosquito fêmea transmissor da *Leishmania* ssp.

Fonte: OMS, 2017e

Em 2015, mais de 90% dos novos casos notificados à OMS ocorreram em sete países: Brasil, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul e Sudão. E as epidemias recorrentes de leishmaniose visceral na África Oriental (Etiópia, Quênia, Sudão do Sul e Sudão) causaram alta morbidade e mortalidade nas comunidades afetadas (OMS, 2017f).

1.3.2 Ciclo evolutivo do gênero *Leishmania*

O gênero *Leishmania* apresenta um ciclo evolutivo que envolve a forma flagelada promastigota (hospedeiro invertebrado) e a forma amastigota não flagelada (hospedeiro vertebrado) (HERWALDT, 2002), e está ilustrado na **Figura 6**.

Os hospedeiros vertebrados incluem grande variedade de roedores e mamíferos, incluindo o homem. Os hospedeiros invertebrados são pequenos insetos da ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae (GENARO, 2000b), que ao exercer o hematofagismo ingerem com sangue os macrófagos parasitados por formas amastigotas. Durante o trajeto pelo trato digestivo, os macrófagos se rompem liberando as formas amastigotas que sofrem divisão binária e se transformam rapidamente em promastigotas, na qual são envoltas por uma membrana peritrófica secretada pelas células do estômago do inseto. Entre o terceiro e o quarto dia, a membrana peritrófica se rompe e as formas promastigotas ficam livres. O tempo necessário para que o ciclo se complete varia entre três a cinco dias para diferentes espécies (GENARO, 2000b; RATH et al., 2003).

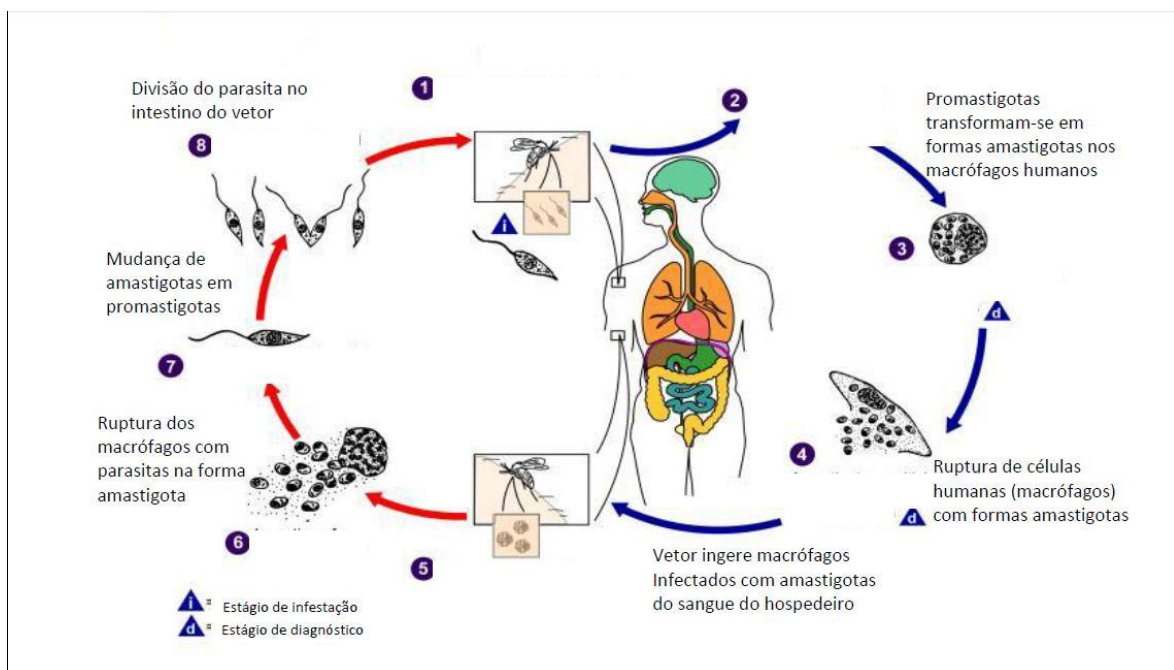


Figura 6: Ciclo evolutivo do gênero *Leishmania*.

Fonte: CDC. <http://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>. Adaptado.

A transmissão para o hospedeiro vertebrado ocorre durante o processo de alimentação do flebotômíneo, na tentativa da ingestão do sangue, as formas promastigotas são introduzidas no local da picada. Dentro de quatro a oito horas, são fagocitados pelos macrófagos teciduais. E após 24 horas as formas promastigotas se transformam em amastigotas. Dentro do vacúolo fagocitário dos macrófagos, as amastigotas multiplicam-se por divisão binária, e por fim, a membrana do macrófago se rompe liberando as amastigotas para os tecidos (GUIMARÃES et al., 2013; GENARO, 2000b, RATH et al., 2003).

1.3.3 Manifestações da doença

A leishmaniose manifesta em três formas clínicas distintas, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida na infecção: Leishmaniose cutânea (LC), Leishmaniose mucocutânea (LMC) e leishmaniose visceral (LV) (GENARO, 2000b GUIMARÃES et al., 2013)

1.3.3.1 Leishmaniose cutânea

A leishmaniose cutânea (LC) é a forma mais comum, sendo caracterizada por lesões cutâneas ulcerosas, indolores, únicas ou múltiplas, em partes expostas do corpo, deixando cicatrizes ao longo da vida e deficiência grave (OMS, 2017d). As espécies envolvidas na LC são: *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania aethiopica*; *Leishmania infantum*, *Leishmania donovani*, *Leishmania mexicana*, *Leishmania amazonensis*, *Leishmania venezuelensis* e *Leishmania brasiliensis* (GENARO, 2000b, SOARES-BEZERRA et al., 2004), provocam cerca de 0,6 milhões a 1 milhão de novos casos no mundo, na maioria ocorrem em 6 países: Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Irã e República Árabe da Síria (OMS, 2017d). A lesão causada por LC pode ser observada na **Figura 7**.



Figura 7: Lesão característica da LC.

Fonte: OMS, 2017d.

1.3.3.2 Leishmaniose mucocutânea

A leishmaniose mucocutânea (LMC) é caracterizada por lesões destrutivas que afeta parcial ou total as regiões nasofaríngeas (**Figura 8**). As espécies envolvidas são: *Leishmania braziliensis*, *Leishmania panamensis*, *Leishmania guyanensis*, *Leishmania peruviana* e *Leishmania chagasi*. Ocorrendo em 90 % dos casos de LMC nos países: Bolívia, Brasil, Etiópia e Peru (OMS, 2017d).



Figura 8: Lesão característica da LMC.

Fonte: OMS, 2017d

1.3.3.3 Leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar é a forma mais grave da doença. As espécies responsáveis pela LV são: *Leishmania donovani*, *Leishmania chagasi* e *Leishmania infantum* (HERWLADT, 1999). Os infectados por esta doença podem apresentar crises irregulares de febre, perda de peso, aumento do baço (esplenomegalia), fígado (hepatomegalia), podendo desenvolver em tempos variáveis (**Figura 9**) (HERWLADT, 1999; SOARES-BEZERRA et al., 2004).



Figura 9: Esplenomegalia na LV.

Fonte: WHO, 2017h

A LV é endêmica no subcontinente indiano e na África Oriental, sendo que no ano de 2015, cerca de 90 % dos novos casos notificados à OMS ocorreram em 7 países: Brasil, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul e Sudão (OMS, 2017d), com aproximadamente 100 % de taxa de mortalidade em indivíduos não tratados (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

Em 2004, o estado de Mato Grosso do Sul notificou 196 casos de LV, com incidência de 8,9 casos por 100 mil habitantes e cura clínica de 70%. Em 2006, 231 casos registrados com 8 % de letalidade (BRASIL, 2006). Entre 2010 a 2017 foram confirmados 1.521 casos no estado, com 109 óbitos. Portanto, por ser uma doença de evolução crônica, ações de prevenção e controle devem ser desenvolvidas (SES/MS, 2017), afim de que reduzam os índices de mortalidade.

1.3.4 Tratamento

O tratamento da leishmaniose depende de vários fatores, incluindo o tipo de doença, patologias concomitantes, a especificidade encontrada entre a diversidade de espécies de parasitas e localização geográfica (HERWALDT, 1999). Os medicamentos utilizados como os antimoniais pentavalentes, anfotericina B, pentamidina e miltefosina estão associadas há múltiplos efeitos que tornam a busca de novos tratamentos necessária (WILLIAMS et al., 2003; RATH et al., 2003).

1.3.4.1 Antimoniais pentavalentes

Os fármacos de primeira escolha para o tratamento de Leishmanioses são os estibogluconato de sódio (Pentostan®) e o antimoniato de meglubina (Glucantime®), que foram introduzidos na quimioterapia na década de 40, atualmente são as principais drogas eficazes utilizadas no tratamento das leishmanioses, porém apresenta alta toxicidade (**Figura 10**). (FIOCRUZ, 2017; RATH et al., 2003).

A OMS preconiza como tratamento para a LV, a dose de 20 mg de Sb/kg/dia, por via intramuscular ou intravenosa, por no mínimo 20 dias e até duas semanas após a cura parasitológica, na dose diária máxima de 850 mg de antimônio. Para a leishmaniose cutânea e mucocutânea, a recomendação é de 10 a 20 mg Sb/kg/dia, durante 30 dias ou até que a lesão se cure (FIOCRUZ, 2017, RATH et al., 2003; SOARES-BEZERRA et al., 2004).

O mecanismo de ação dos antimoniais pentavalentes continua pouco compreendido, mas parece ser um evento que envolve diversos aspectos do metabolismo do parasita, sendo capazes de formar complexos solúveis em água e com o átomo de antimônio, distribuindo os agentes antimoniais para os macrófagos infectados. Além disso, como a forma pentavalente apresenta pouca toxicidade, é possível que esta forma seja um pró- fármaco, que se converta na forma mais tóxica, trivalente, próxima de seu local de ação, ou seja, no interior dos macrófagos ou próximo destas células (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

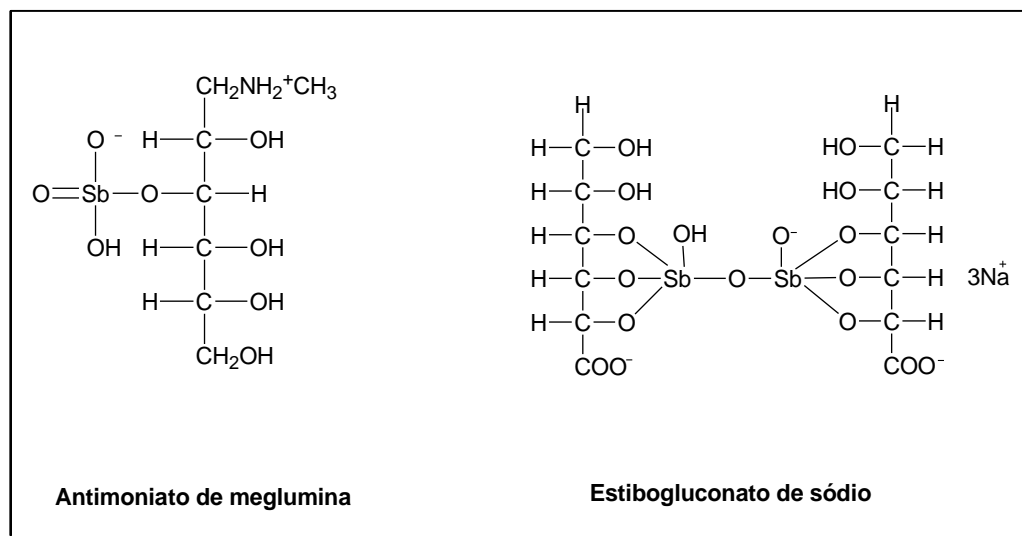


Figura 10: Estruturas químicas do antimoniato de meglumina e estibogluconato de sódio.

Em geral, os antimoniais pentavalentes são bem tolerados, mas algumas reações colaterais podem ocorrer, como dor no local da injeção, disfunção gastrointestinal, dores musculares difusas, enrijecimento das articulações, arritmias, pancreatite e cardiotoxicidade (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

1.3.4.2 Pentamidina

As amidinas são compostos orgânicos caracterizados pela presença dos grupamentos C=N e C-N, que proporcionam propriedades específicas das funções azometina e amina, respectivamente. A pentamidina apresenta atividade com bons resultados em pacientes imunodeprimidos, principalmente em casos não responsivos aos antimoniais pentavalentes (**Figura 11**) (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

A recomendação da OMS para o tratamento com pentamidina é de 4 mg/kg, aplicados por via endovenosa três vezes por semana. Após a administração de 15 injeções (5 semanas de tratamento) foi observado que 77 % dos pacientes com LV evoluíram para cura e após a administração de 27 injeções (9 semanas de tratamento) o percentual de cura foi de 94 % (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

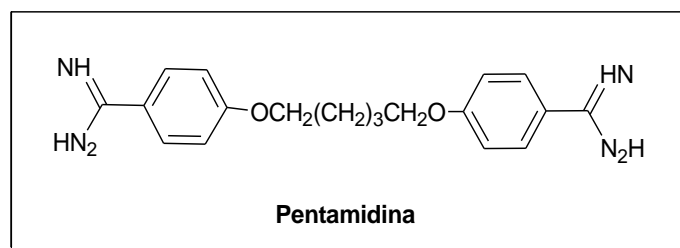


Figura 11: Estrutura química da pentamidina.

O mecanismo de ação das diamidinas consiste em interferir na síntese de poliaminas impedindo a síntese de moléculas importantes para a manutenção do parasita. Os efeitos adversos são expressivos, como mialgias, dor no local da administração, náuseas, dores de cabeça e hipotensão. E os efeitos tóxicos observados são maiores do que os apresentados pelos antimoniais pentavalentes (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

1.3.4.3 Anfotericina B

A anfotericina B é um antibiótico poliênico com atividade antifúngica e leishmanicida, é produzida pelo *Streptomyces nodosus*, se caracteriza quimicamente por uma grande estrutura cíclica, parte da qual é hidrofóbica com muitas hidroxilas e outra parte lipofílica apresentando duplas ligações (**Figura 12**) (RATH et al., 2003; SOARES-BEZERRA et al., 2004).

O mecanismo de ação da anfotericina B decorre de sua ligação ao ergosterol, com conseqüente alteração de permeabilidade de membrana e do equilíbrio osmótico do parasita. O uso clínico é recomendado para os casos graves de leishmaniose não responsiva ao tratamento convencional, com ameaça de morte. Seu uso é bastante restrito devido aos inúmeros efeitos tóxicos que apresenta, como febre, calafrios, hipotensão ou hipertensão, diminuição da função renal e dos níveis séricos de potássio (RATH et al., 2003; SOARES-BEZERRA et al., 2004).

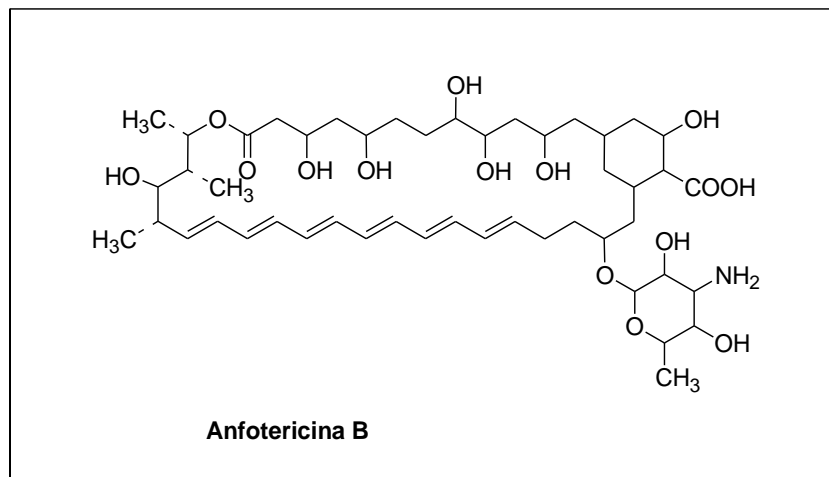


Figura 12: Estrutura química da anfotericina B.

Sua ação adversa mais importante é a nefrotoxicidade, um efeito que pode ser atenuado pelo emprego de um esquema terapêutico em dias alternados. Pode ser empregada por via endovenosa, na dose diária máxima de 50mg dissolvida em 500 cm³ de solução de dextrose a 5 % (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

1.3.4.4 Paromicina

A paromicina (aminosidina) é um antibiótico aminoglicosídeo extraído de *Streptomyces rimosus*, cuja estrutura química é apresentada na **Figura 13** (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

É utilizada na forma injetável (124 mg/kg dia por 19 dias em média) como monoterapia para a LV, apresentando resultados positivos em estudos clínicos realizados no Quênia e na Índia. Em outros estudos, a paromicina associada ao Pentostan® apresentou resultados similares àqueles obtidos quando o antimonial utilizado de forma única na terapia, mas neste caso o tempo de tratamento foi reduzido pela metade (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

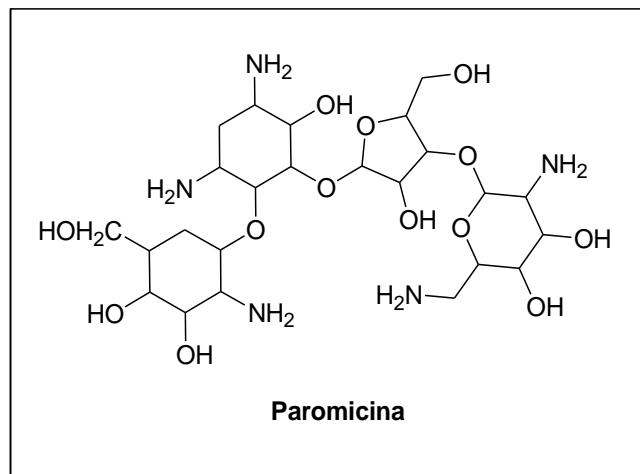


Figura 13: Estrutura química da paromicina.

Os efeitos colaterais relacionados a este fármaco são: nefrotoxicidade e ototoxicidade, afetando o oitavo par de nervos cranianos, o que pode levar também a problemas de controle motor e do equilíbrio. Além disso, esse fármaco foi avaliado em número insuficiente de pacientes para que os efeitos colaterais e a resistência dos parasitas fossem convenientemente avaliados (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

Seu mecanismo de ação consiste na inibição de síntese proteica, através de ligação às proteínas ribossômicas induzindo a leitura equivocada do mRNA. Desta forma, interfere no complexo de formação de peptídeos e causando ruptura dos polissomos em monossomos não funcionais (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

1.3.4.5 Miltefosina

A miltefosina é uma alquilfosfocolina desenvolvida originalmente para o tratamento do câncer e leishmaniose, atualmente desponta como a melhor alternativa para o tratamento da LV, administrada por via oral, entretanto o fármaco parece afetar o sistema gastrointestinal, causando vômitos e diarreia, além de poder aumentar os níveis sanguíneos das transaminases, bem com elevar a uremia e creatininemia (**Figura 14**) (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

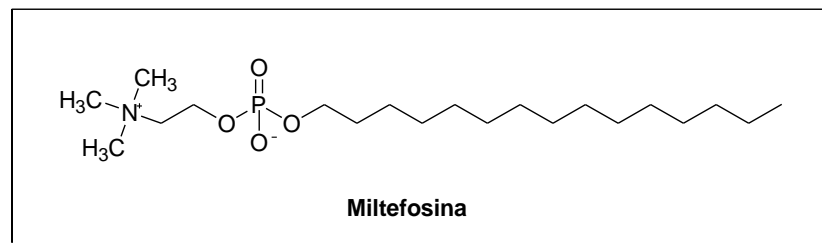


Figura 14: Estrutura química da miltefosina.

O mecanismo de ação da miltefosina contra *Leishmania* ainda é bastante controverso. Acredita-se que este fármaco atue como em células tumorais, ou seja, induzindo a apoptose e alterando as vias de sinalização celular mediada por lipídeos (SOARES-BEZERRA et al., 2004).

1.4 *Staphylococcus aureus*

1.4.1 Aspectos gerais

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) é um coco gram-positivo, que faz parte da microbiota humana, mas que pode provocar doenças que vão desde uma infecção simples, como espinhas e furúnculos, até as mais graves, como pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico e septicemia, entre outras. Medem entre 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, imóveis, não esporulados e geralmente não encapsulados. Essa bactéria pode apresentar-se em diversas formas, que vão desde isolados, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupados irregularmente (com

aspecto semelhante a um cacho de uvas), devido à sua divisão celular, que ocorre em três planos perpendiculares (SANTOS et al., 2007; SILVA et al., 2010; TONG et al., 2015).

Recentemente, a ONU (Nações Unidas no Brasil) publicou uma lista de bactérias resistentes a antibióticos, na qual inclui a *S. aureus* como prioridade alta. Segundo a agência deve ser prioridade nas pesquisas por novos medicamentos contra os agentes infecciosos. Os critérios utilizados para escolha dos patógenos foram o nível de letalidade; tempo de internamento; facilidade em se espalhar entre os animais e seres humanos; e se as infecções que as bactérias provocam podem ser prevenidas e se novos antibióticos para tratar já estão sendo desenvolvidos (ONUBR, 2017).

1.4.2 Patogenia

S. aureus provocam doenças decorrentes da invasão direta dos tecidos, através de bacteremia primária ou, exclusivamente, devido às toxinas que ele produz. A bacteremia pode causar infecções em sítios anatômicos distantes, como endocardites, osteomielites, piodartrites e formação de abscessos metastáticos, em particular em pele, tecidos subcutâneos, pulmões, fígado, rins e cérebro (SANTOS, et al, 2007).

O mecanismo de invasão dessa bactéria primeiramente envolve a adesão à pele ou à mucosa para em seguida ocorra o rompimento das barreiras do epitélio, comprometendo estruturas de ligações intercelulares. Após a invasão, sucede a neutralização da fagocitose, as bactérias elaboram enzimas proteolíticas que facilitam a disseminação de tecidos adjacentes e a liberação de estafilococos na corrente sanguínea. O fator tecidual é expresso por células endoteliais infectadas, facilitando a deposição de fibrina. Uma vez nos tecidos subepiteliais adjacentes, as bactérias provocam uma resposta inflamatória que resulta na formação de abscessos. (LOWY, 1998; SANTOS, et al, 2007).

Essas infecções podem se localizar em um ou em múltiplos sítios, de acordo com a localização, recebem diferentes designações, como foliculite (infecção do folículo piloso); carbúnculo; antraz; furúnculos localizados na região cervical

posterior; hordéolo (terçol); hidradenite (inflamação das glândulas sudoríparas); e impetigo (SANTOS, et al, 2007).

1.4.3 Antibioterapia e resistência

A resistência do *S. aureus* aos antibióticos tem sido desenvolvida por mutações em seus genes ou pela aquisição de genes de resistência de outras bactérias da mesma espécie (ou até de outras). Geralmente, a resistência que ocorre por mutação gera uma alteração no sítio de ação do antibiótico, enquanto a resistência por aquisição de genes de resistência frequentemente envolve a inativação ou a destruição da droga, sendo transmitida por plasmídeos (SANTOS et al., 2007).

O primeiro medicamento utilizado para o tratamento de infectados pela *S. aureus*, foi a benzilpenicilina em 1943. Após um ano, 5 % das bactérias eram resistentes à penicilina, e em 1959 essa resistência já alcançava a taxa de 80 % na capacidade de hidrolisar o anel betalactâmico pela produção da betalactamase. Em 1944, a resistência se estendeu tanto à amoxicilina como à ampilcina (**Figura 15**) (SANTOS, et al., 2007).

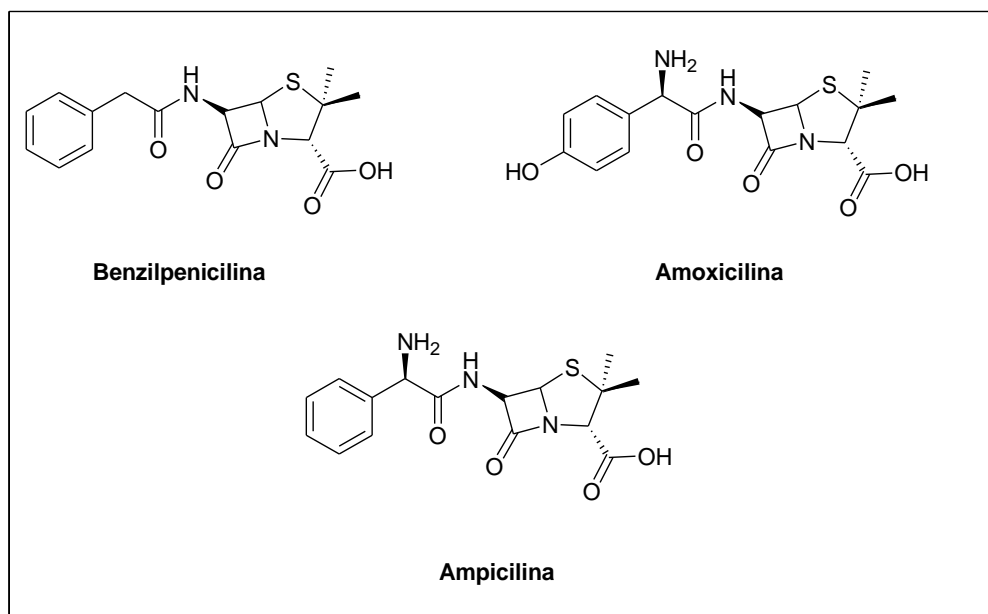


Figura 15: Estrutura química da benzilpenicilina, amoxicilina e ampilcina.

Em 1960 a metilina, a primeira penicilina semi-sintética, que não era suscetível à ação da betalactamase, começou a ser utilizada. Logo em seguida à metilina vieram as cefalosporinas. Porém, no início da década de 1970, começaram a aparecer, com muita rapidez, cepas de *S. aureus* com resistência à metilina identificadas pela sigla MRSA (*S. aureus* resistente à metilina), também resistentes aos demais betalactâmicos (cefalosporinas e outros). As cepas MRSA rapidamente se disseminaram em ambientes hospitalares, limitando, assim, a antibioticoterapia aos glicopeptídios vancomicina e teicoplanina, que são eficientes no tratamento das infecções causadas pelas cepas MRSA, apesar de apresentar efeitos nefrotóxicos e ototóxicos. Entretanto em 1997 no Japão, foi descrita a primeira cepa resistente ao glicopeptídio (VRSA) (**Figura 16**) (SANTOS et al., 2007).

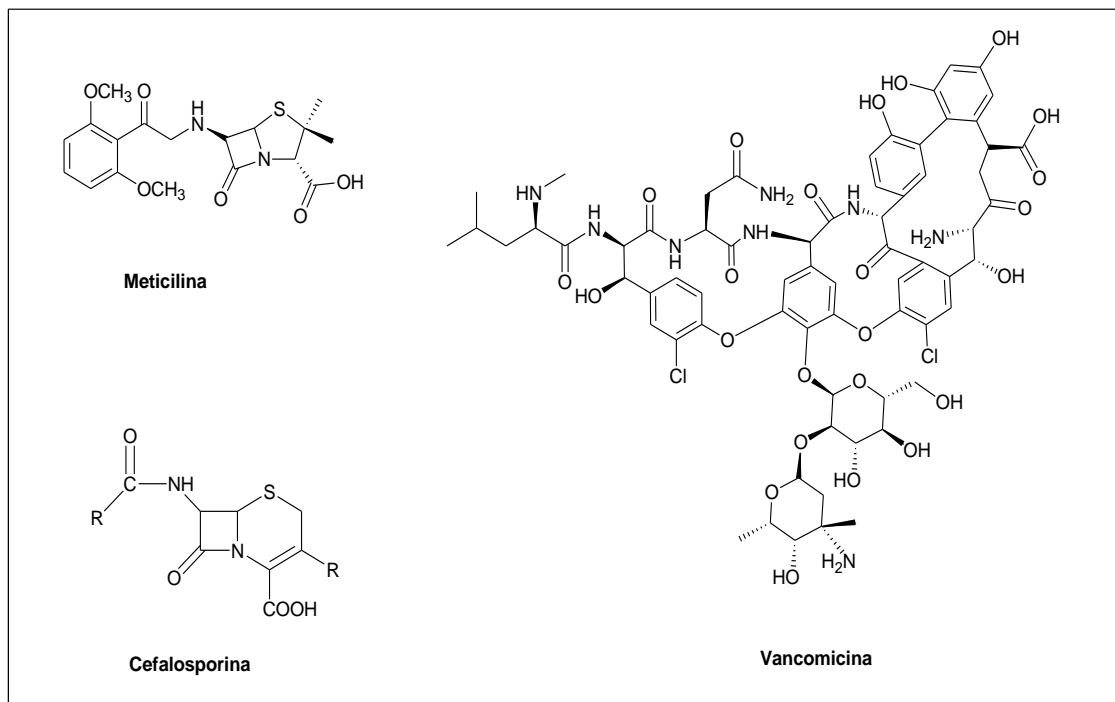


Figura 16: Estrutura química do metilina, cefalosporina e vancomicina.

Nos últimos anos, surgiu a *S. aureus* associada à comunidade (CA-MRSA), que é uma cepa resistente à associação metilina/oxacilina, somente encontrada nas comunidades; ou seja, não é encontrada em ambiente nosocomial. Os pacientes acometidos pelo CA-MRSA não foram internados em hospitais no ano anterior à infecção, nem foram submetidos a procedimentos médicos como diálise, cirurgia ou cateter, fatos muito comuns em infecção por MRSA. Das principais diferenças entre as cepas CA-MRSA e as associadas ao ambiente hospitalar (HA-MRSA), pode-se

destacar manifestações clínicas, como as infecções de pele e partes moles, além de muitos casos de infecções respiratórias e da corrente sanguínea. Outra característica extremamente importante é o perfil de resistência a antibióticos, pois, enquanto o HA-MRSA se caracteriza por uma ampla resistência a diversos antibióticos, as cepas CA-MRSA mostram uma sensibilidade (entre 85 % e 100 %) a drogas, como clindamicina, gentamicina, ciprofloxacina, sulfametaxazol/trimetoprim e vancomicina, mostrando-se resistente apenas à oxacilina e a outros betalactâmicos (SANTOS et al., 2007).

A terapia com vancomicina e daptomicina, atualmente são os únicos antibióticos que são aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) para bacteremia de MRSA, com posologia de 6 mg/kg de peso corporal, por via endovenosa, e são considerados os antibióticos de primeira linha. (**Figura 17**) (TONG et al., 2015).

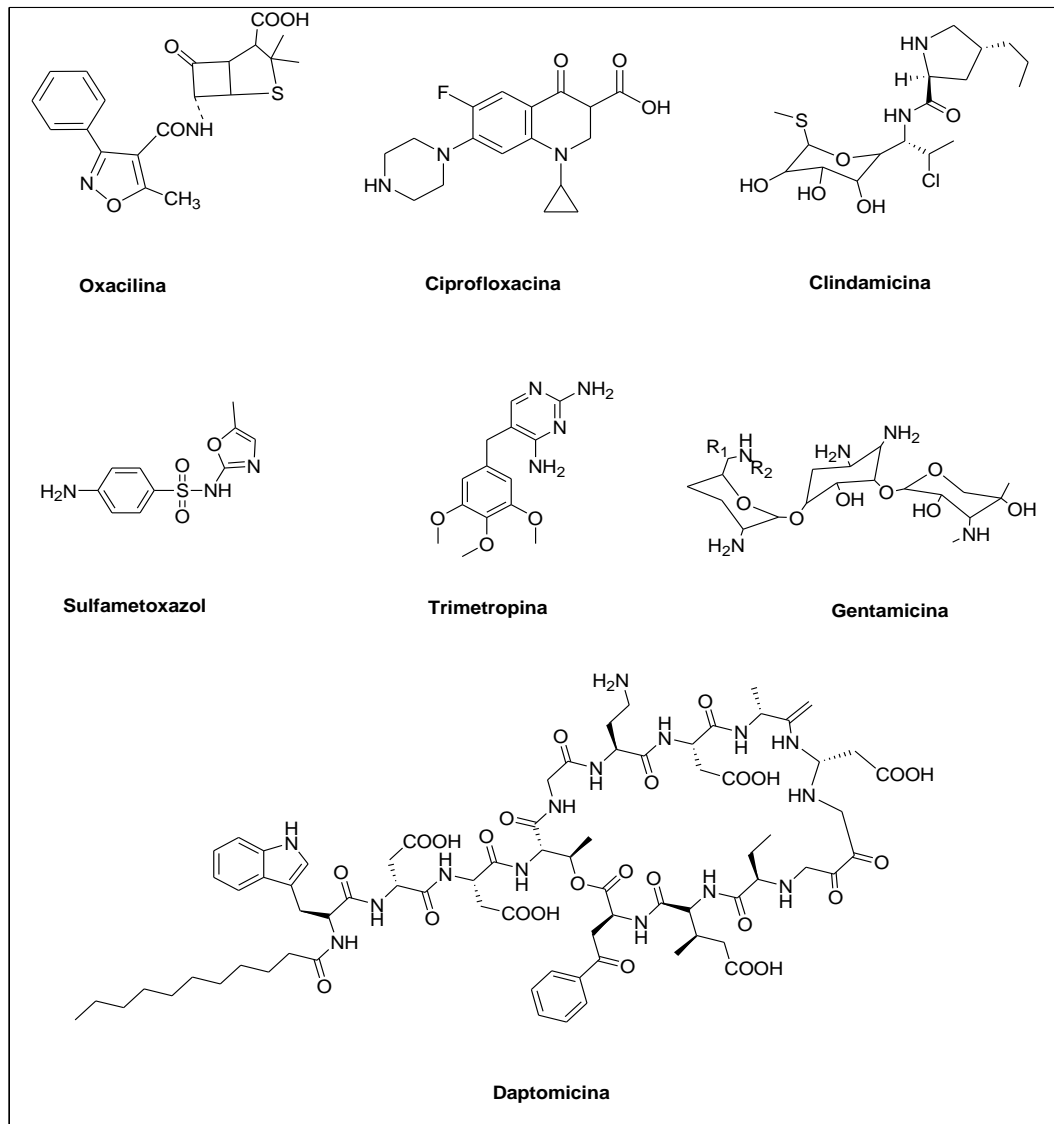
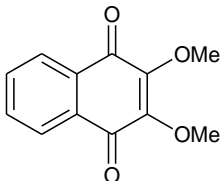
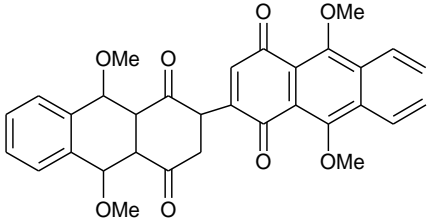
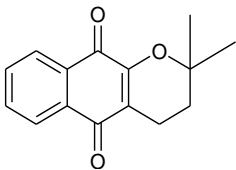
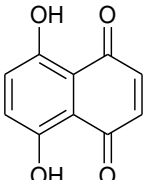


Figura 17: Estrutura química da oxacilina, clindamicina, ciprofloxacina, clindamicina, sulfametazol, trimetropina, gentamicina e daptomicina.

1.5 Naftoquinonas

As quinonas representam uma ampla família de metabólitos de distribuição com biodinamicidades variadas, destacando-se, dentre muitas as propriedades tripanomicidas, leishmanicidas, e antibacteriana (**Tabela 1**) (HUSSAIN et al., 2007; SILVA et al., 2003), por isso são consideradas estruturas privilegiadas, podendo levar a descoberta de novos medicamentos (CONSTANTINO, 2006).

Tabela 1: Compostos naftoquinônicos com atividade leishmanicida, tripanocida e antibacteriana.

Derivados de naftoquinona	Atividade	Referência
	Amastigota de <i>L. major</i> IC ₅₀ =7 µg/mL	ALI et al., 2011
	Promastigota de <i>L. infantum</i> IC ₅₀ =0,8 µg/mL	KAISER et al.,2000
	Epimastigota de <i>T. cruzi</i> IC ₅₀ =0,2 µg/mL	SALAS et al., 2008
	<i>S. aureus</i> MIC=125 µg/mL	RIFFEL et al., 2002

Com base na sua estrutura molecular, as quinonas são divididas em diferentes grupos, utilizando-se como critério o tipo de sistema aromático que sustenta o anel quinonoídico: benzoquinonas - um anel benzênico; antraquinonas - um anel antracênico linear ou angular; naftoquinonas - um anel naftalênico, destacando-se os isômeros: β -lapachona e α -lapachona (**Figura 18**) (SILVA et al., 2003).

O lapachol é substância natural e pode ser obtido de plantas das famílias bignoniaceae, verbenaceae e proteaceae do gênero *Tabebuia*, cuja extração pode ser efetuada a partir de serragem da madeira (SILVA et al., 2003; BARBOSA; NETO; 2013).

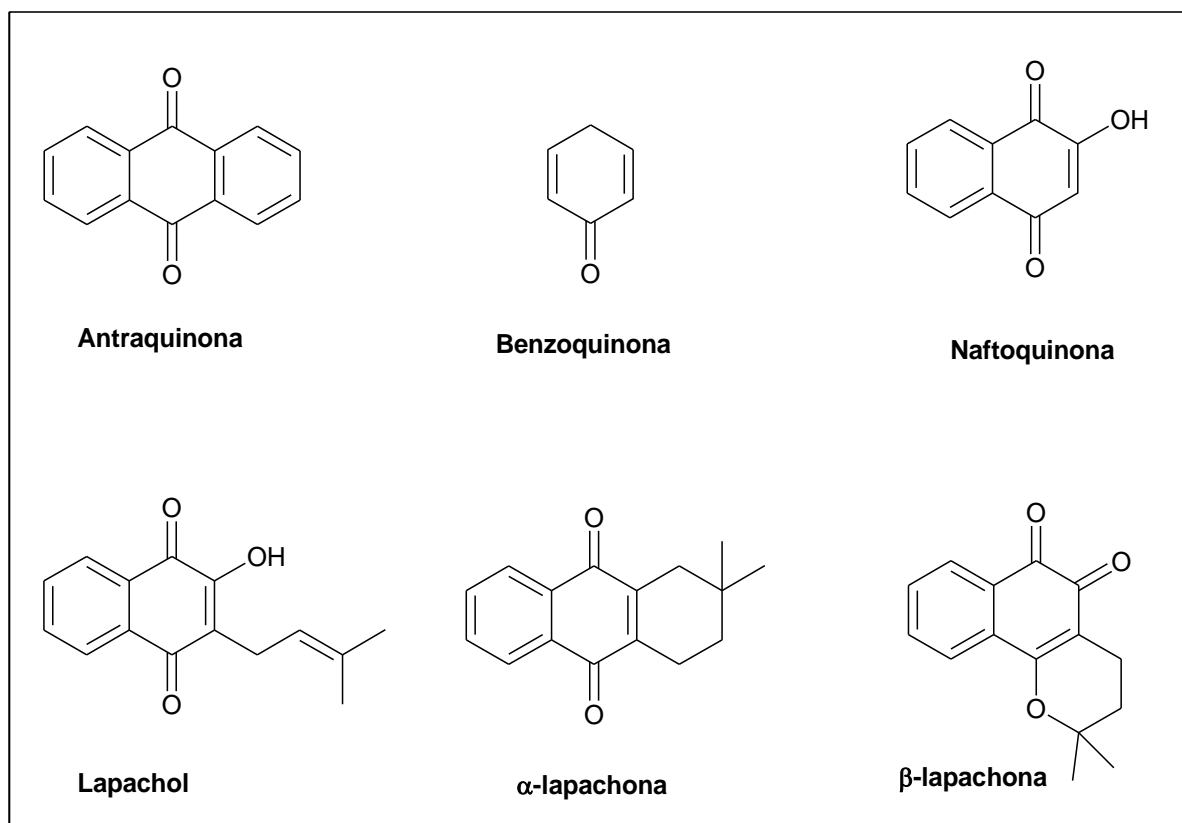


Figura 18: Classificação das quinonas e formas isoméricas da naftoquinona.

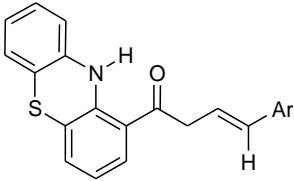
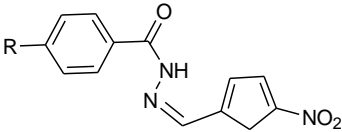
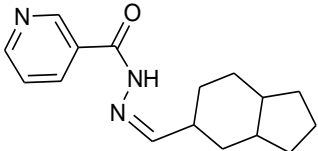
A toxicidade e a atividade terapêutica do lapachol provêm da sua capacidade de induzir o estresse oxidativo, decorrente da formação intracelular de espécies reativas do oxigênio, como H_2O_2 , O_2 e o HO^\bullet . Estas espécies podem danificar alguns componentes celulares importantes, tanto de células normais como de malignas. A alteração da normalidade pode induzir a apoptose como alternativa, caso não ocorra a eliminação completa por estresse oxidativo (CASTRO; PINTO 2009; DE MOURA et al., 2001; SILVA et al., 2003).

1.6 Derivados de acil-hidrazidas

A fração acil-hidrazida é considerada uma estrutura privilegiada, capaz de fornecer ligantes para mais de um tipo de bioreceptor, e modificações na subunidade resultam em vários derivados com diversidade de alvos moleculares (MAIA; FRAGA, 2014). Por isso, o interesse nestes derivados é crescente, podendo ser utilizado em terapias experimentais como antidepressivo (inibidores da monoamina oxidase) (JUCHAU, et al., 2013). Estes derivados, também tem sido relatado com grande

variedade de atividade biológica, como antivirais, anti-hipertensivos, antifúngica, antibacteriana, anticonvulsivante, antiaginoso, tranquilizante, imunossupressores, anti-inflamatório, analgésica e antimalárica. Algumas estruturas estão apresentadas na Tabela 2 (CACIC et al., 2006; DURAN et al., 2002; JUCHAU, et al., 2013; KHATAB, 2005; MAMOLO et al., 2002).

Tabela 2: Compostos derivados de acil-hidrazida com atividade biológica.

Derivados de hidrazina	Atividade	Referência
	<p>Inibição COX-1</p> <p>IC₅₀= 2,3 µM</p>	ROLLAS et al., 2007
	<p>Antibacteriano (<i>S. aureus</i> ATCC 25923)</p> <p>IC₅₀= 63 µg/mL</p>	
	<p>Leishmanicida</p> <p>CE₅₀>50 µg/mL</p>	MUÑOZ, 2006

1.7 Hibridização molecular

Um ramo de interesse da química orgânica é o planejamento, síntese e a caracterização de novas moléculas bioativas, conhecido como química medicinal. Desta forma a química medicinal mescla os conhecimentos das ciências biológicas, exatas, e da saúde, de modo a atingir esses objetivos. Também é necessário fazer a interpretação dos mecanismos de ação dos fármacos, bem como elucidar as características de interação desses fármacos com os seus alvos farmacológicos,

tudo isso para chegar a um objetivo principal: produzir um fármaco que seja promissor, estável, e de baixa toxicidade. Uma das estratégias, que são utilizadas pelos químicos medicinais é a hibridização molecular (ARAÚJO et al, 2015)

Esta estratégia consiste na conjugação de características estruturais de dois compostos bioativos distintos, em uma única nova molécula. Essas características em alguns processos fisiopatológicos na gênese de doença, podem de maneira assegurar a molécula planejada o reconhecimento molecular por dois alvos terapêuticos, simultaneamente, e podendo apresentar vantagens farmacocinéticas (BARREIRO; FRAGA, 2001).

Numerosos compostos sintéticos ou naturais com atividade investigada, não são considerados adequados, pois os usos terapêuticos provocam toxicidade, e alterações mutagênicas (RANI et al.,2015). Apesar dos perfis farmacológicos promissores das naftoquinonas e hidrazidas, separadamente, o presente trabalho visa obter a partir da estratégia de hibridização molecular a conexão destas duas classes resultando em compostos com características sinérgicas a diferentes bioreceptores moleculares.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Sintetizar novos híbridos moleculares a partir da Lawsona, com derivados de acil-hidrazidas, utilizando a Hibridização Molecular como estratégia na obtenção de compostos com atividade antimicrobiana.

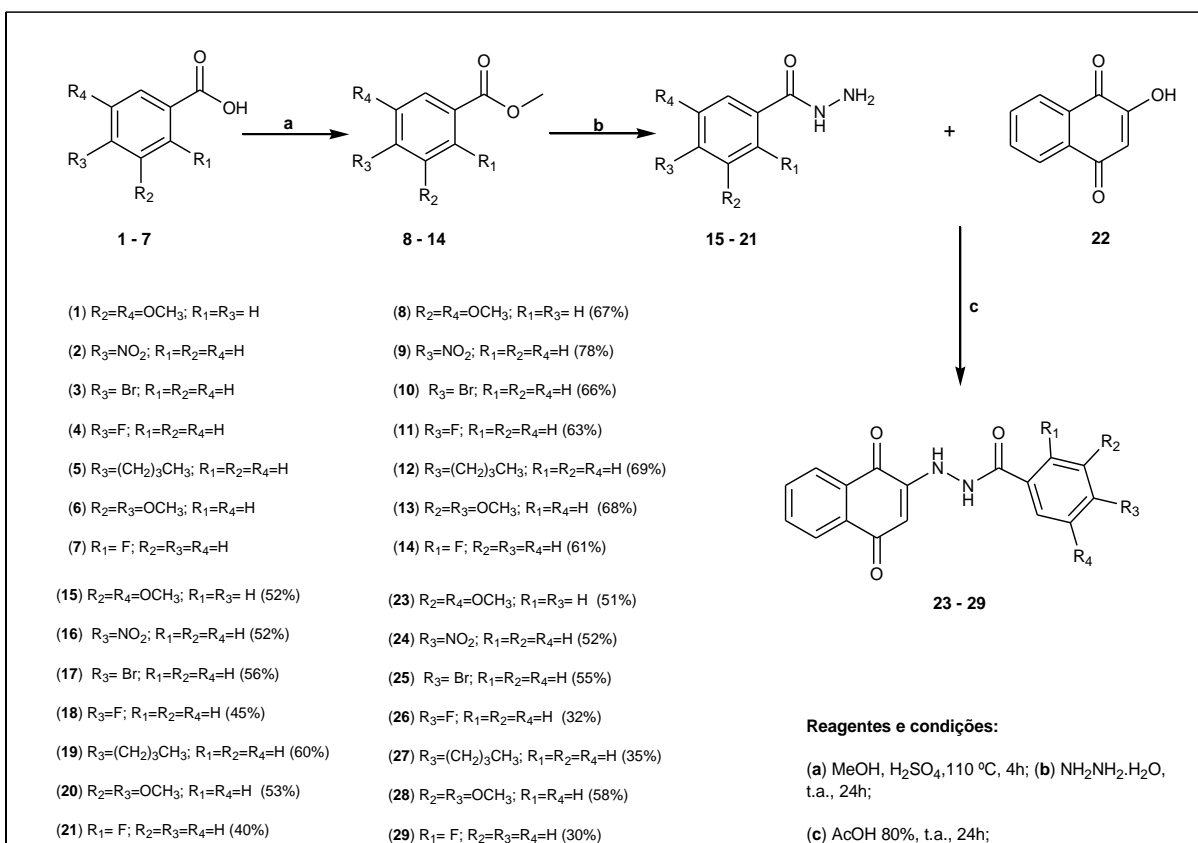
2.1 Objetivos específicos

- Realizar a síntese de derivados acil-hidrazidas;
- Realizar a síntese de novos híbridos moleculares da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona;
- Caracterizar os novos híbridos moleculares pelas técnicas de IV, RMN (^1H e ^{13}C) e HRMS;
- Realizar o ensaio biológicos dos compostos sintetizados contra os protozoários *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonensis* e a bactéria *Staphylococcus aureus*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Síntese de acil-hidrazidas da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona

A rota sintética para a preparação de novas naftoquinonas híbridas é constituída por três etapas e está representada na **Esquema 1**.



Esquema 1: Rota sintética geral para a preparação de novas naftoquinonas substituídas.

O **Esquema 1** mostra a rota sintética executada para obter moléculas de hidrazidas de naftoquinona. Inicialmente, selecionamos como materiais de partida os ácidos benzóicos substituídos (**1-7**) que foram submetidos a simples reações de esterificação com metanol sob catálise ácida. Os respectivos ésteres formados (**8-14**) foram necessários para gerar as hidrazidas aromáticas (**15-21**) por tratamento com hidrato de hidrazina (RODRIGUES et al., 2016). A última etapa chave, a reação de acoplamento com a lawsona foi conduzida (SILVA et al, 2013) para fornecer os

sete híbridos correspondentes (**23-29**) (Figura 22). De acordo com busca realizada por meio do banco de dados SciFinder, todos os compostos são inéditos.

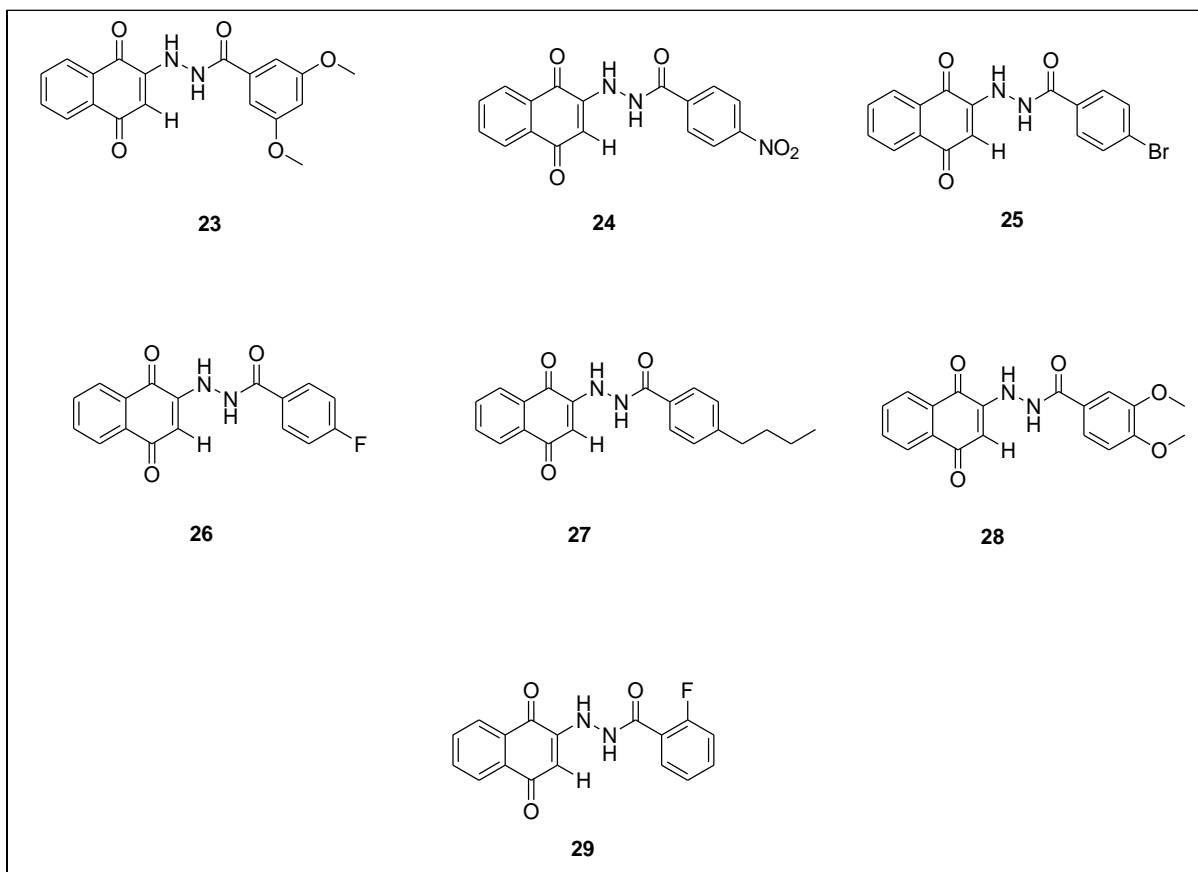


Figura 19: Compostos sintetizados derivados da lawsona (**23 - 29**).

Há poucos relatos da fusão entre os dois fragmentos acil-hidrazidas e naftoquinona (RANI et al., 2014; DUDLEY,1969). O resultado da reação é dependente das condições utilizadas, ou seja, em condições ácidas (ácido acético 80 %) ocorre à condensação em C2, enquanto em soluções alcalinas, ocorre a condensação em C1 da lawsona (DUDLEY,1969) (**Figura 23**).

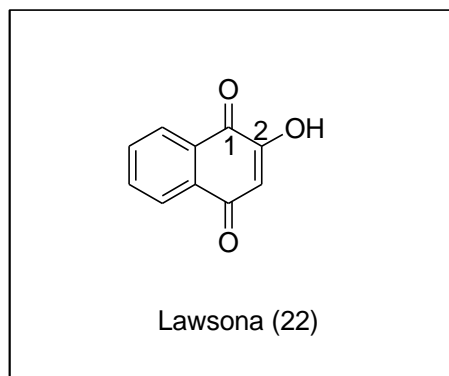
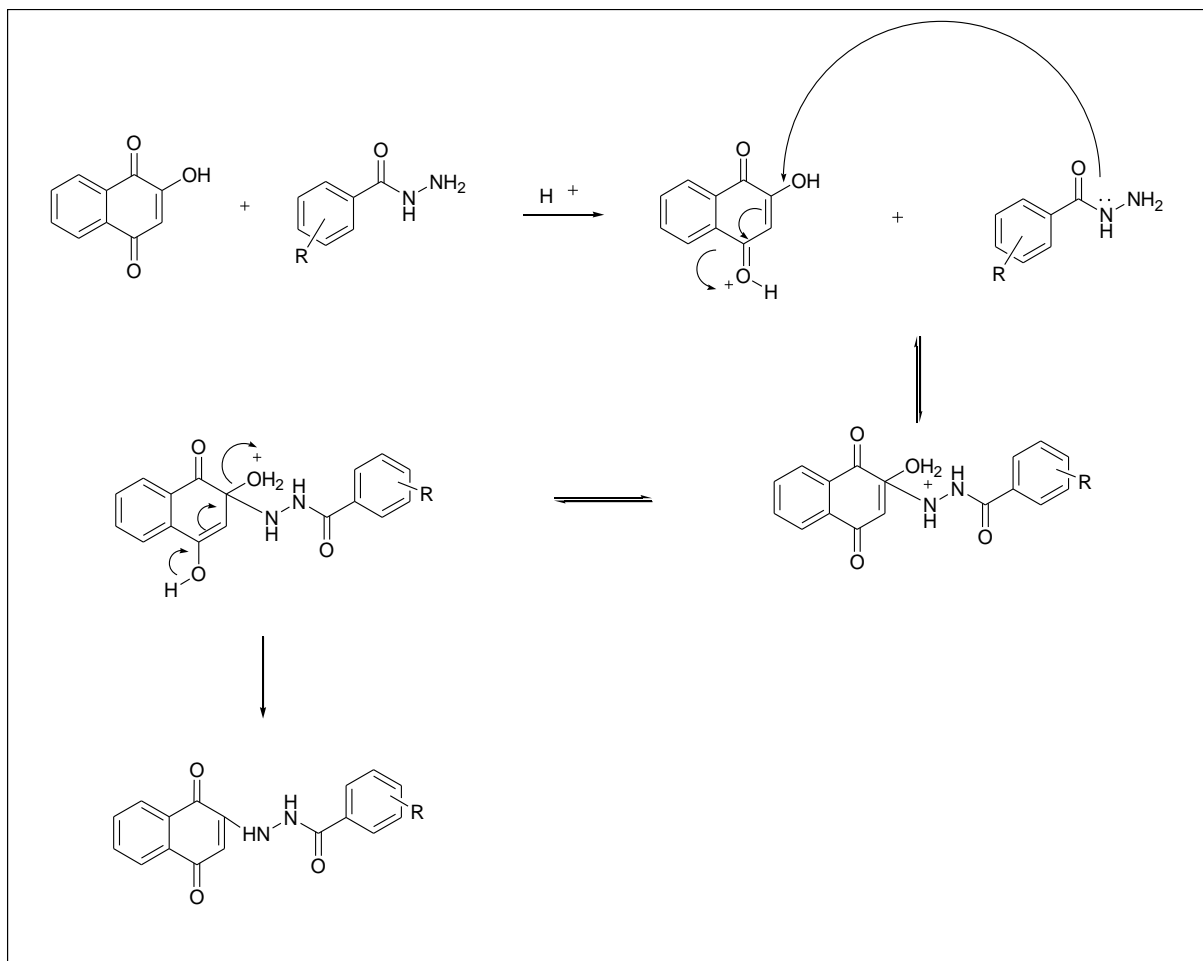


Figura 20: Estrutura da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (22)

A capacidade de substituição nas naftoquinonas por nucleófilos diminui da seguinte forma: hidrazinas > amônia > aminas primárias > aminas secundárias (KUTYREV, 1991). Sendo que uma proposta do mecanismo da reação para a obtenção dos derivados da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona está apresentada no **Esquema 2**.

A primeira etapa em meio ácido, inicia-se através da protonação do átomo de oxigênio do grupo carbonila, deixando-o com densidade de carga parcialmente positiva, em seguida ocorre o ataque nucleofílico do par de elétrons livres do átomo de hidrogênio do grupo acil-hidrazida. Com a nova ligação formada, o átomo de nitrogênio do grupo acil-hidrazida adquire uma densidade de carga parcialmente positiva, pois o mesmo está fazendo quatro ligações, assim o grupo hidroxila captura um átomo de hidrogênio do grupo hidrazina neutralizando a carga positiva do átomo de nitrogênio, formando uma molécula de água protonada. Por fim, a base resultante do ácido utilizado inicialmente para a protonação do grupo carbonila, captura o próton do grupo hidroxila formado, provocando a ressonância da dupla ligação do anel e a eliminação de uma molécula de água, dando origem ao composto almejado.



Esquema 2: Proposta do mecanismo da reação para obtenção dos derivados de acil-hidrazidas da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

Os 7 compostos obtidos foram caracterizados por meio das análises dos espectros de RMN de 1H obtido a 300 MHz, RMN de ^{13}C obtido a 75 MHz, espectroscopia de infravermelho (IV) e espectrometria de massas de alta resolução.

3.1.1 Elucidação do composto *N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)-3,5-dimetoxibenzohidrazida (23)*

Ao analisar os espectros de RMN de 1H os sinais relevantes que sugeriram a obtenção, por exemplo, do composto **23** (Figura 21) são: dois simpletos em 9,50 e 10,71 ppm atribuídos aos hidrogênios H11 e H12. Os sinais na região de anel aromático, dois dupletos (δ 8,02, d, 1H, $J = 7,0$ Hz; δ 7,94; d, 1H, $J = 7,0$ Hz),

referentes aos H3 e H6, respectivamente, mais desprotegidos; dois tripletos (δ 7,85, m, 1H, δ 7,77, m, 1H), referentes aos H4 e H5, mais protegidos; um duplete (δ 7,08, d, 2H, $J = 1,8$ Hz) referente aos H15 e H15' e um simpleto (δ 6,72, s, 1H) referente ao H17. Um simpleto na região relacionada ao hidrogênio olefínico, atribuído ao H9, (δ 5,67, s, 1H). E em 3,80 ppm é observado o sinal referente aos hidrogênios metílicos, um simpleto (s, 6H) atribuídos aos H18 e H18'.

O espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 22**) do composto **23**, reforçaram as informações observadas no espectro de RMN de ^1H , onde os sinais em 182,6 e 181,4 e 165,3 ppm foram atribuídos às carbonilas C1, C8 e C13, respectivamente. Os sinais dos carbonos olefínicos são observados em 102,2 ppm para C9 e 148,9 ppm para C10. E os sinais em 133,2, 132,9 e 130,9 ppm são referentes aos carbonos C2, C7 e C14, respectivamente. Os sinais na região de aromáticos em 125,9 e 126,3 ppm foram atribuídos a C3 e C6 respectivamente, devido a proteção pelo efeito gama, os sinais em 135,5 e 134,4 ppm foram atribuídos a C4 e C5 respectivamente, o sinal 160,9 ppm foi atribuído ao C16 e C16'. E o sinal em 55,9 ppm atribuído ao carbono das posições C18-C18' das metoxilas.

O espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) (**Figura 23**) confirma os 7 sinais de CH em 135,7 ppm; 133,4 ppm; 126,6 ppm; 126,2 ppm; 105,0 ppm; 104,7 ppm; 102,4 ppm referentes aos carbonos da posição em C4; C5; C3; C6; C15 e C15'; C9; e C17 respectivamente, e 1 sinal de CH_3 em 56,2 ppm, referentes à C18 e C18'. Os deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto **23** foram relacionados na **Tabela 04**.

Por espectroscopia de IV (**Figura 24**) foram identificadas as bandas referentes ao estiramento N-H (ν 3289-3412 cm^{-1}), carbonila conjugada (ν 1666-1681 cm^{-1}), bandas referentes ao estiramento C=C do anel aromático (ν 1457-1553 cm^{-1}) e . As absorções analisadas foram relacionadas na **Tabela 3**.

Ao analisar o espectro de massas de alta resolução ficou evidenciada a obtenção do composto **23**, onde foi observado o pico do íon molecular com razão massa/carga (m/z) = 353,1123 referente à fórmula molecular $[\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5 + \text{H}]^+$, cuja massa calculada é 353,1131 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $\Delta m = 2,26$ ppm (**Figura 25**).

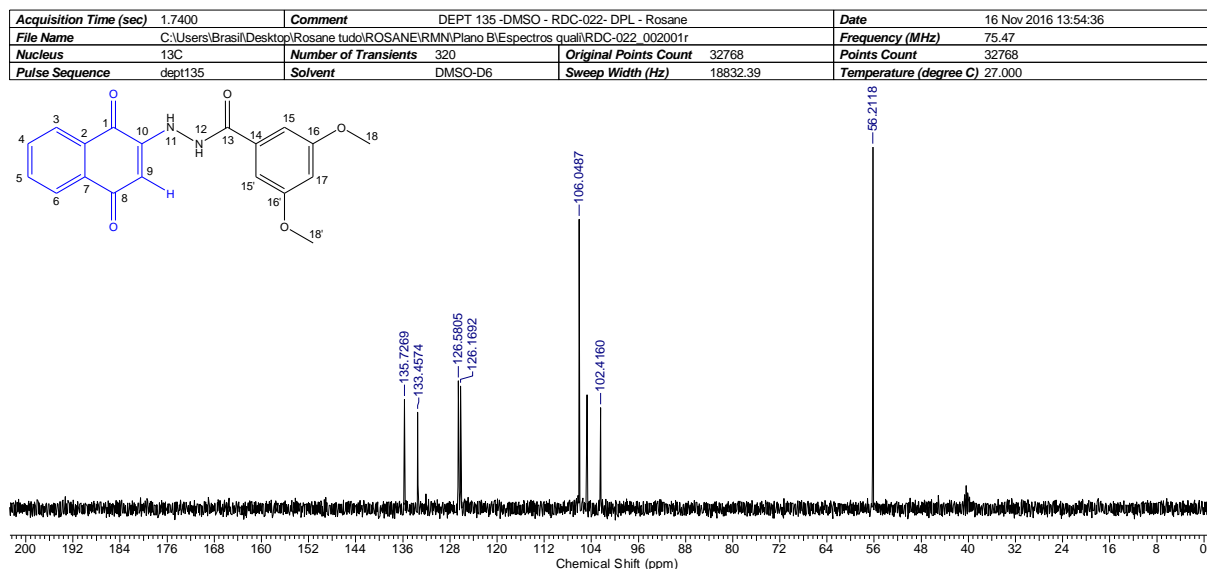


Figura 23: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) - DEPT 135 do composto 23.

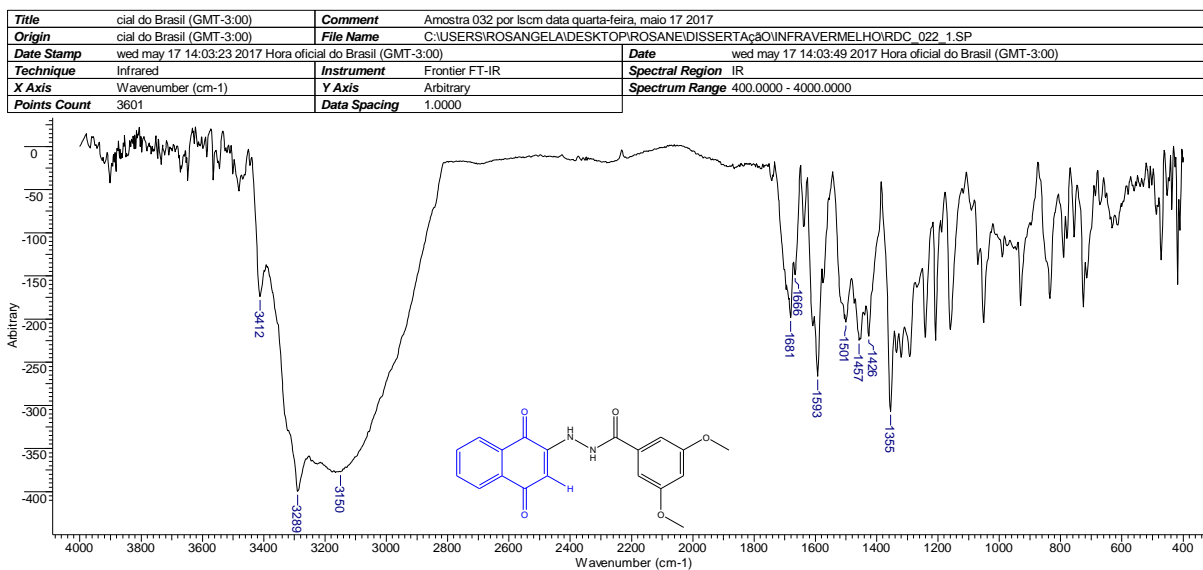


Figura 24: Espectro de infravermelho (KBr) do composto 23.

Tabela 3: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto **23**

(ν_{\max} (cm^{-1}))	Atribuição
3289 - 3412	Estiramento N-H
1666 - 1681	Estiramento C=O conjugada
1457 - 1553	Estiramento C=C anel aromático

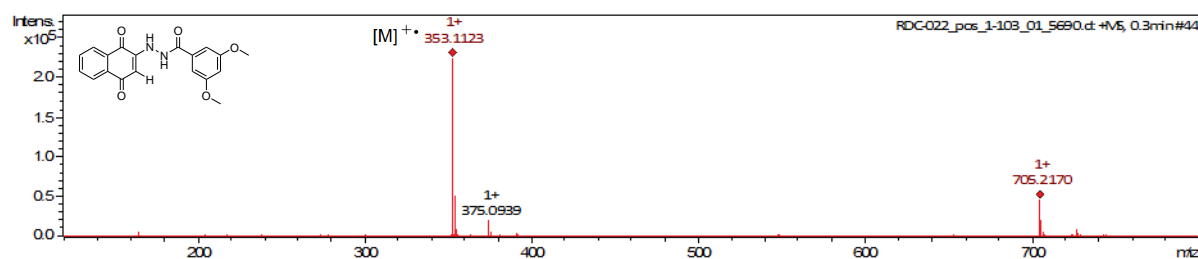
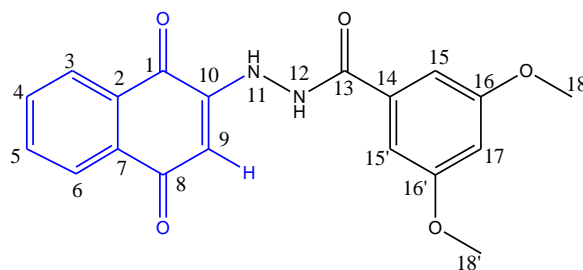


Figura 25: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto **23**.

M calculada= 353, 1137 $[M]^+$; M encontrada= 353,1123 $[M+H]^+$; Δm = 2,26 ppm.

Tabela 4: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto **23** em DMSO- d_6 .



Posição	RMN ^{13}C	RMN ^1H		Multiplicidade, Integração, J
	(ppm)	DEPT 135	(ppm)	
1	182,6	-	-	-
2	133,2	-	-	-
3	125,9	CH	8,02	d, 1H, $J= 7,27$ Hz
4	135,5	CH	7,77	t, 1H, $J= 6,85$ e $7,27$
5	134,4	CH	7,85	t, 1H, $J= 6,85$ e $7,27$
6	126,3	CH	7,94	d, 1H, $J=7,27$ Hz
7	132,9	-	-	-
8	181,4	-	-	-
9	102,2	CH	5,68	s, 1H
10	148,9	-	-	-
11	-	-	10,71	s, 1H
12	-	-	9,50	s, 1H
13	165,4	-	-	-
14	130,9	-	-	-
15,15'	105,8	CH	7,08	d, 2H, $J_m= 1,8$ Hz
16, 16'	160,9	-	-	-
17	104,5	CH	6,72	s, 1H
18,18'	56,0	CH ₃	3,80	s, 6H

Acquisition Time (sec)	1.7400	Comment	DEPT 135 -DMSO - RDC N1-2- DPL - Rosane	Date	10 Nov 2016 10:31:52
File Name	C:\Users\Brasil\Desktop\Rosane tudo\ROSANE\RMN\RDC N1-2_002001r			Frequency (MHz)	75.47
Nucleus	¹³ C	Number of Transients	160	Original Points Count	32768
Pulse Sequence	dept135	Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	18832.39
				Points Count	32768
				Temperature (degree C)	27.000

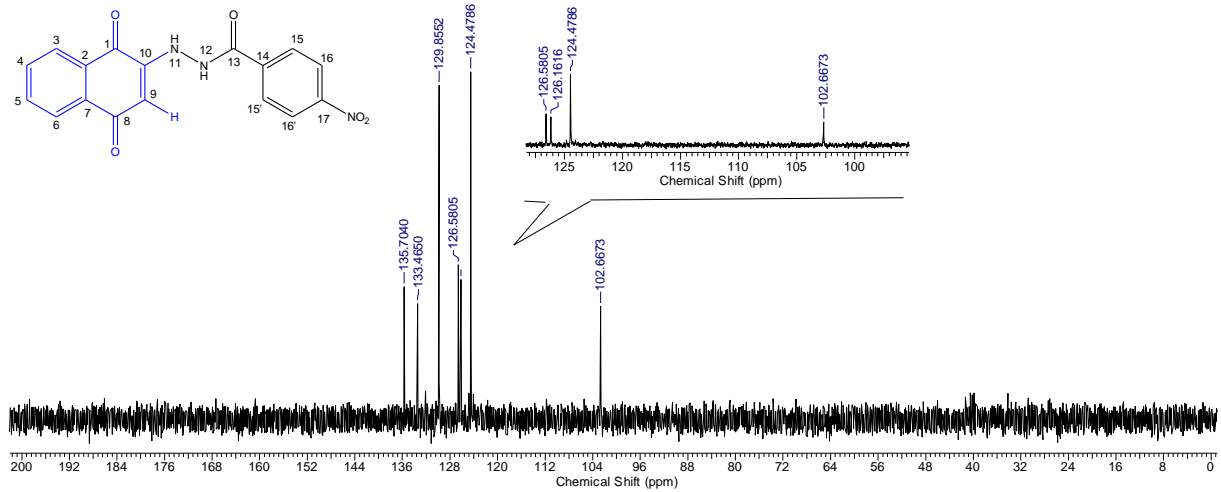


Figura 27: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) - DEPT 135 do composto 24.

Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	¹³ C -DMSO - RDC N1-2- DPL - Rosane	Date	10 Nov 2016 10:16:14
File Name	C:\Users\Brasil\Desktop\Rosane tudo\ROSANE\RMN\RDC N1-2_003001r			Frequency (MHz)	75.47
Nucleus	¹³ C	Number of Transients	1219	Original Points Count	16384
Pulse Sequence	zgpg30	Solvent	DMSO-D6	Sweep Width (Hz)	18832.39
				Points Count	32768
				Temperature (degree C)	27.000

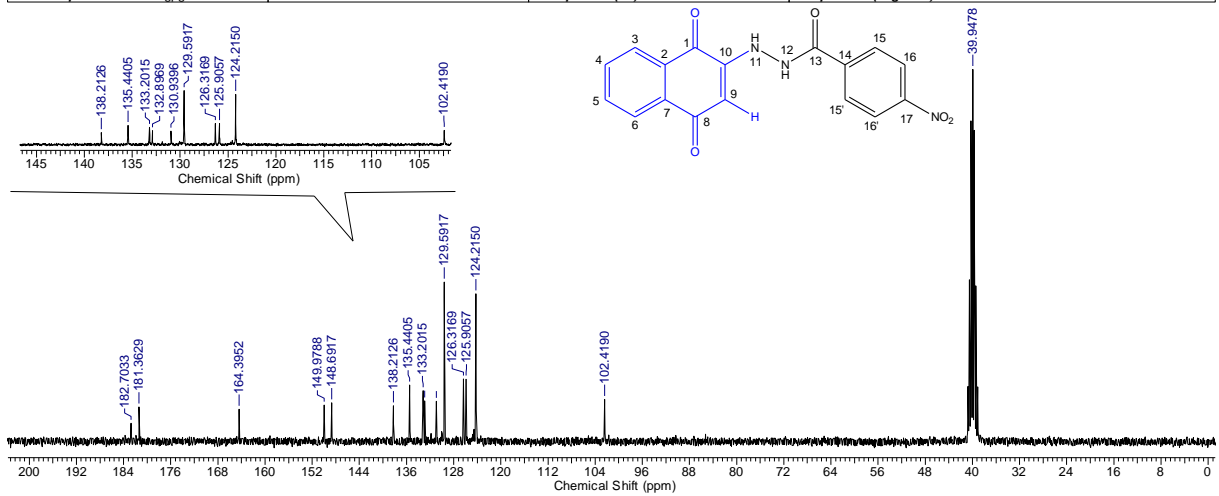


Figura 28: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) do composto 24.

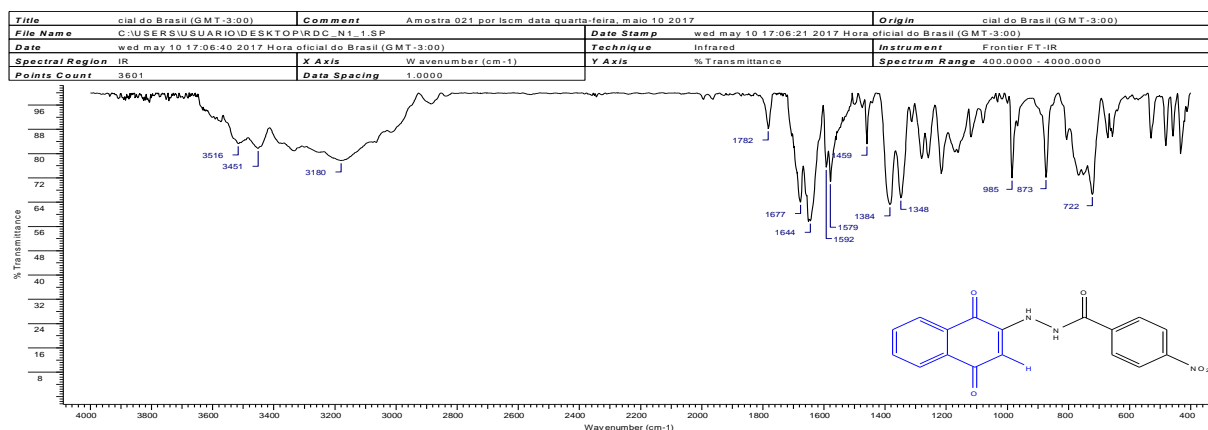


Figura 29: Espectro de infravermelho (KBr) do composto **24**

Tabela 5: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto **24**.

(ν_{\max} (cm ⁻¹))	Atribuição
3451 – 3416	Estiramento N-H
1644 – 1782	Estiramento C=O conjugada
1459 – 1592	Estiramento C=C anel aromático

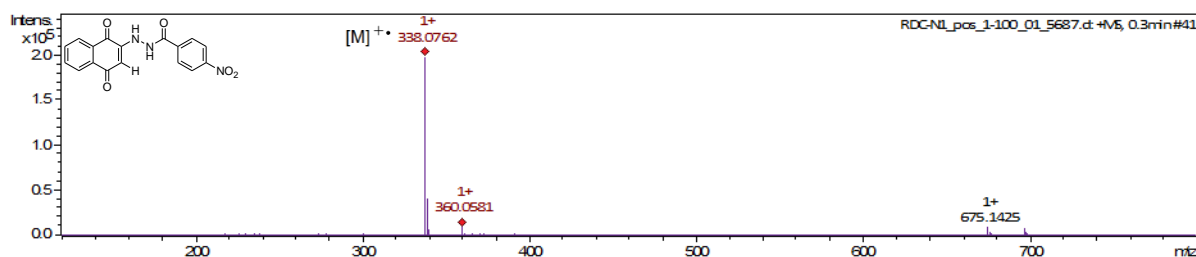
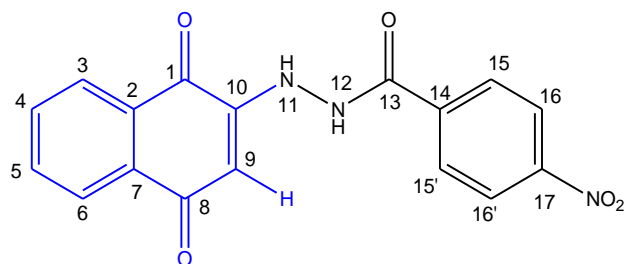


Figura 30: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto **24**.

M calculada= 338, 0777 [M]⁺; M encontrada= 338,0762 [M+H]⁺; Δm = 4,43 ppm.

Tabela 6: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto **24** em DMSO- d_6 .



Posição	RMN ^{13}C (ppm)	DEPT 135	RMN ^1H (ppm)	Multiplicidade, Integração, J
1	182,7	-	-	-
2	130,4	-	-	-
3	126,3	CH	8,03	d, 1H, $J_o= 6,7$
4	133,2	CH	7,78	t, 1H, $J_o= 6,7$ e $7,4$ Hz
5	135,4	CH	7,86	t, 1H, $J_o= 6,6$ e $7,4$ Hz
6	125,9	CH	7,94	d, 1H, $J_o= 6,6$
7	129,6	-	-	-
8	181,4	-	-	-
9	102,4	CH	5,78	s, 1H
10	150,0	-	-	-
11	-	-	11,07	s, 1H
12	-	-	9,57	s, 1H
13	164,4	-	-	-
14	138,2	-	-	-
15,15'	132,9	CH	8,37	d, 2H, $J_o= 8,8$
16, 16'	124,2	-	8,16	d, 2H, $J_o= 8,8$
17	148,7	CH	-	-

3.1.3 Elucidação do composto 4-bromo-N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)benzohidrazida (25)

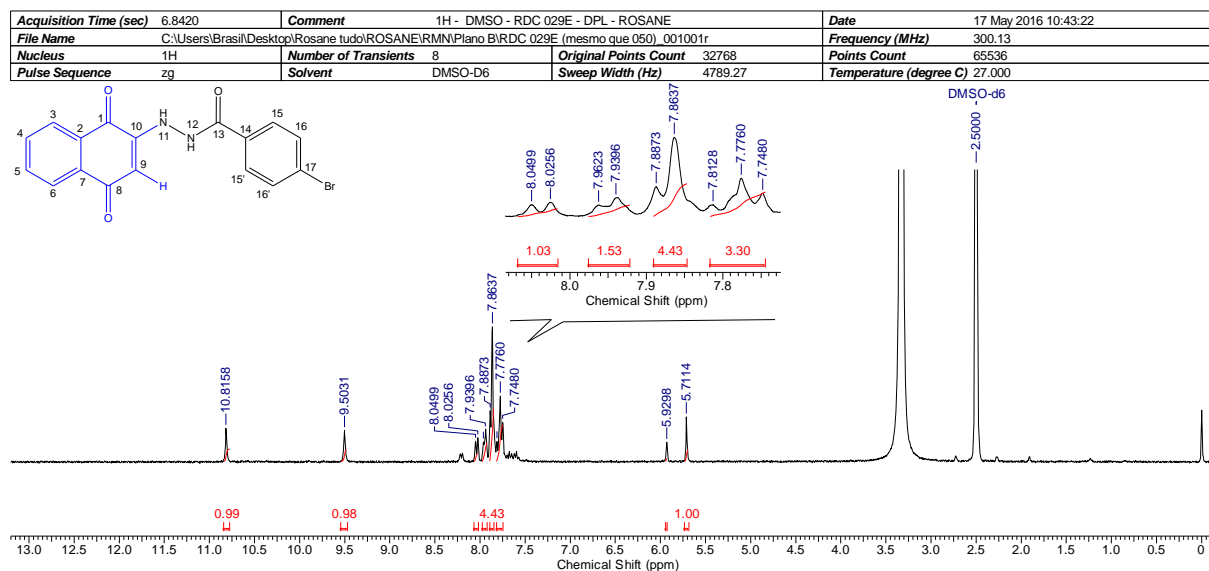


Figura 31: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) do composto 25.

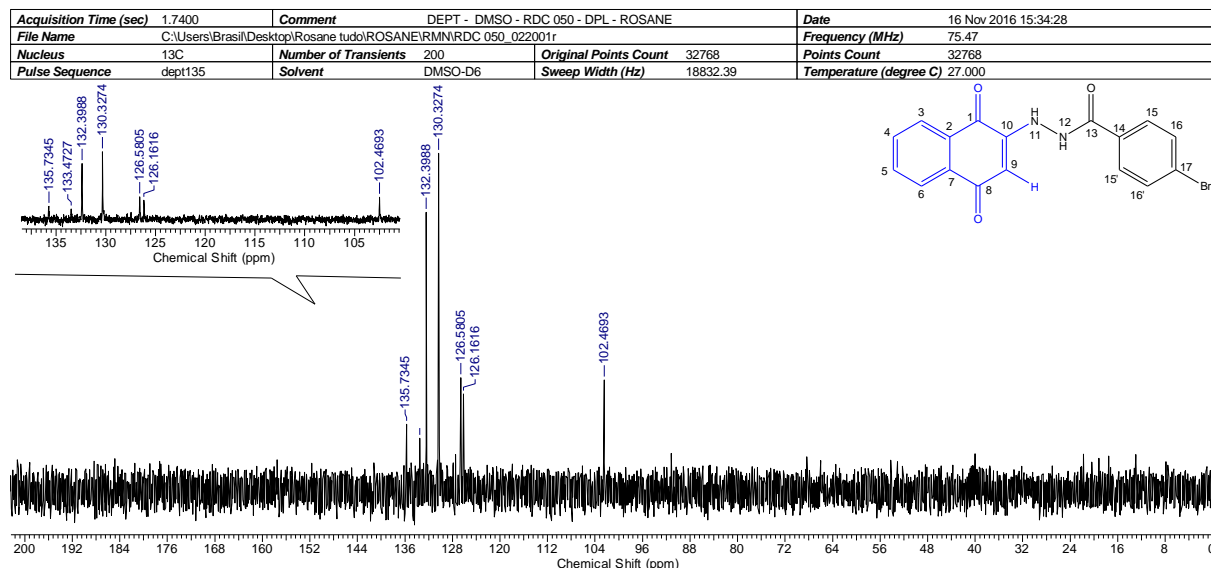


Figura 32: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) - DEPT 135 do composto

25

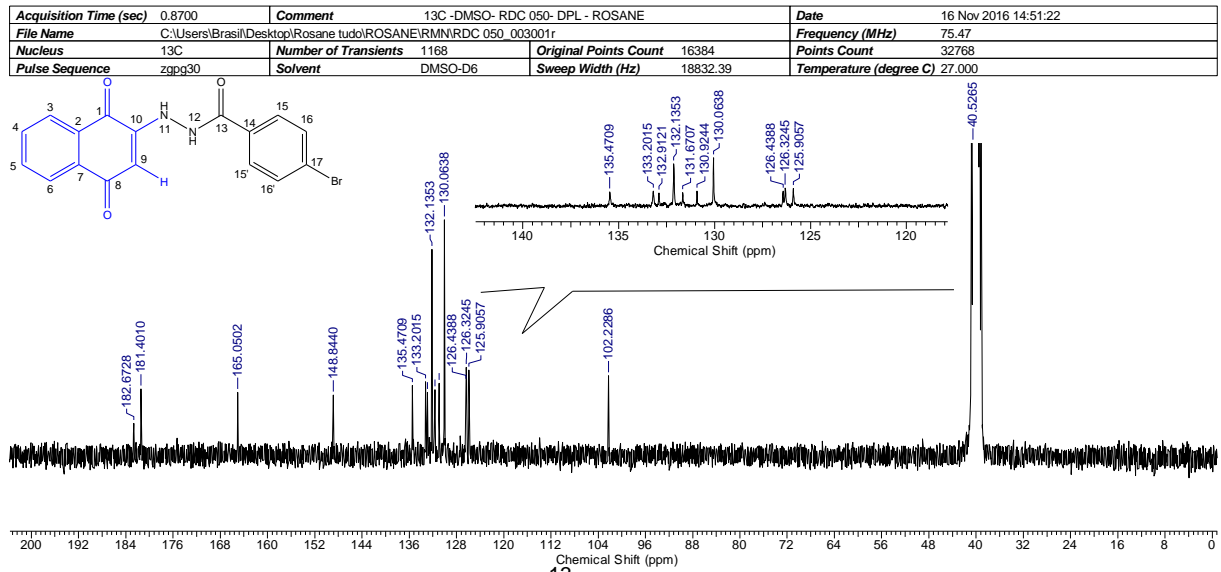


Figura 33 Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) do composto 25.

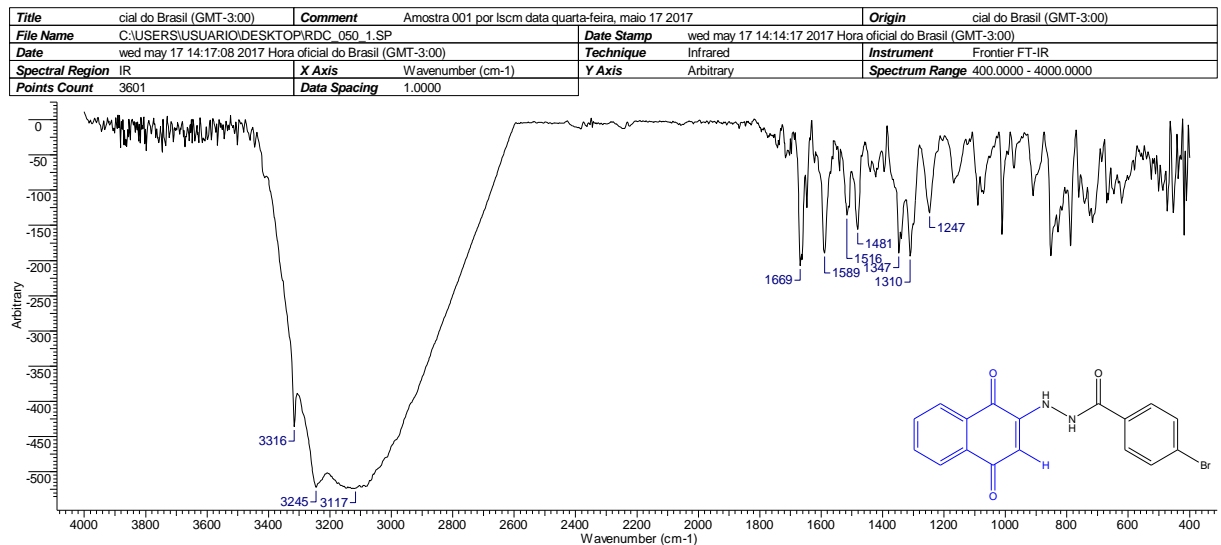


Figura 34: Espectro de infravermelho (KBr) do composto 25.

Tabela 7: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto **25**.

(ν_{\max} (cm^{-1}))	Atribuição
3245 – 3316	Estiramento N-H
1589 – 1669	Estiramento C=O conjugada
1481 – 1516	Estiramento C=C anel aromático

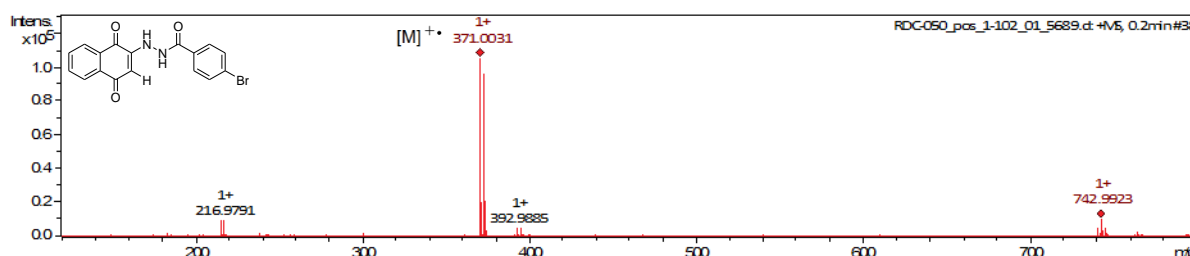
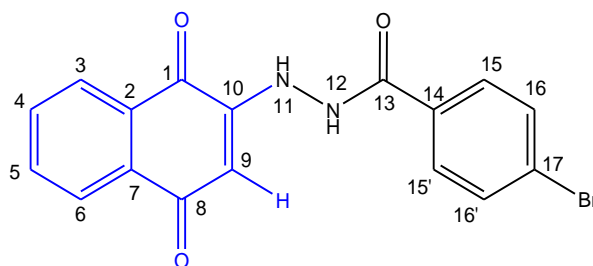


Figura 35: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto **25**

M calculada= 371,0031[M]⁺; M encontrada= 371,0031 [M+H]⁺; $\Delta m =$
2,26 ppm.

Tabela 8: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto **25** em DMSO- d_6 .



Posição	RMN ^{13}C (ppm)	DEPT 135	RMN ^1H (ppm)	Multiplicidade, Integração, J
1	182,7	-	-	-
2	131,7	-	--	-
3	126,3	CH	8,04	d, 1H, $J= 7,3$ Hz
4	133,2	CH	7,74 – 7,81	m, 3H
5	135,5	CH	7,82 - 7,88	m, 3H,
6	126,4	CH	7,95	d, 1H, $J= 6,8$ Hz
7	130,9	-	-	-
8	181,4	-	-	-
9	102,2	CH	5,71	s, 1H
10	148,8	-	-	-
11	-	-	9,50	s, 1H
12	-	-	10,82	s, 1H
13	165,1	-	-	-
14	132,9	-	-	-
15,15'	132,1	CH	7,82 – 7,88	m, 3H
16,16'	130,1	-	7,74 - 7,81	m, 3H
17	125,9	-	-	-

3.1.4 Elucidação do composto 4-flúor-N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)benzohidrazida (26)

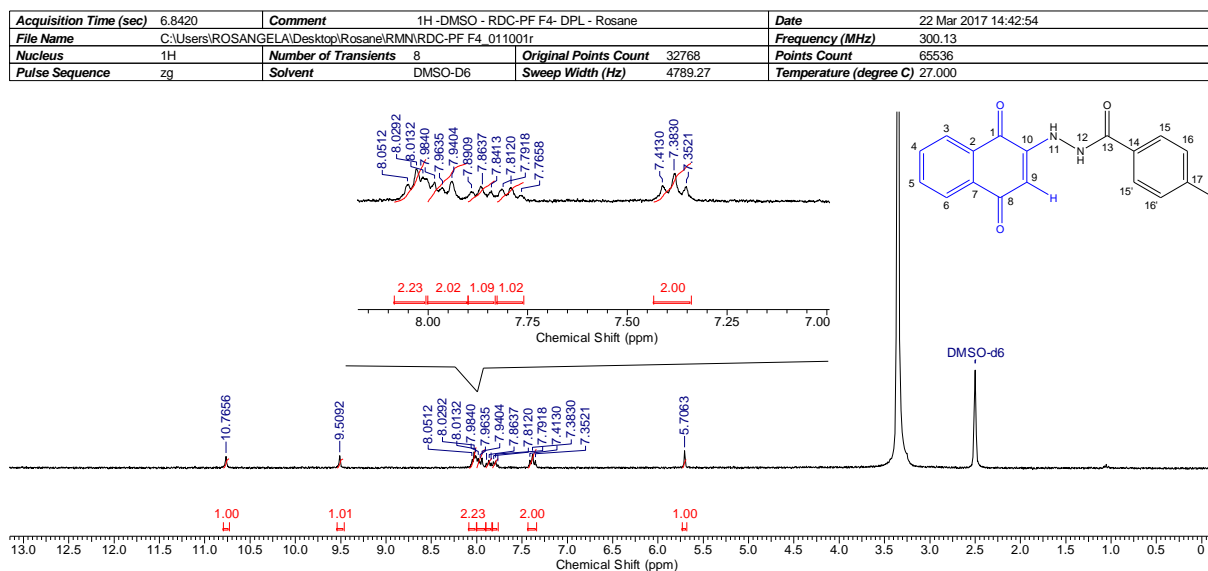


Figura 36: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) do composto 26.

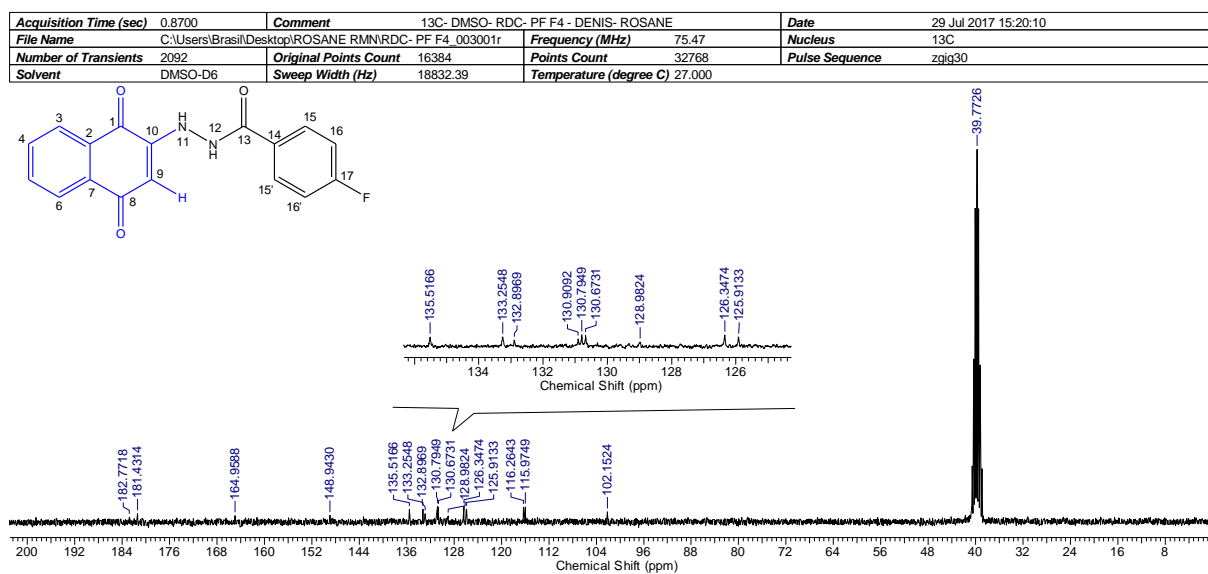


Figura 37: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) do composto 26.

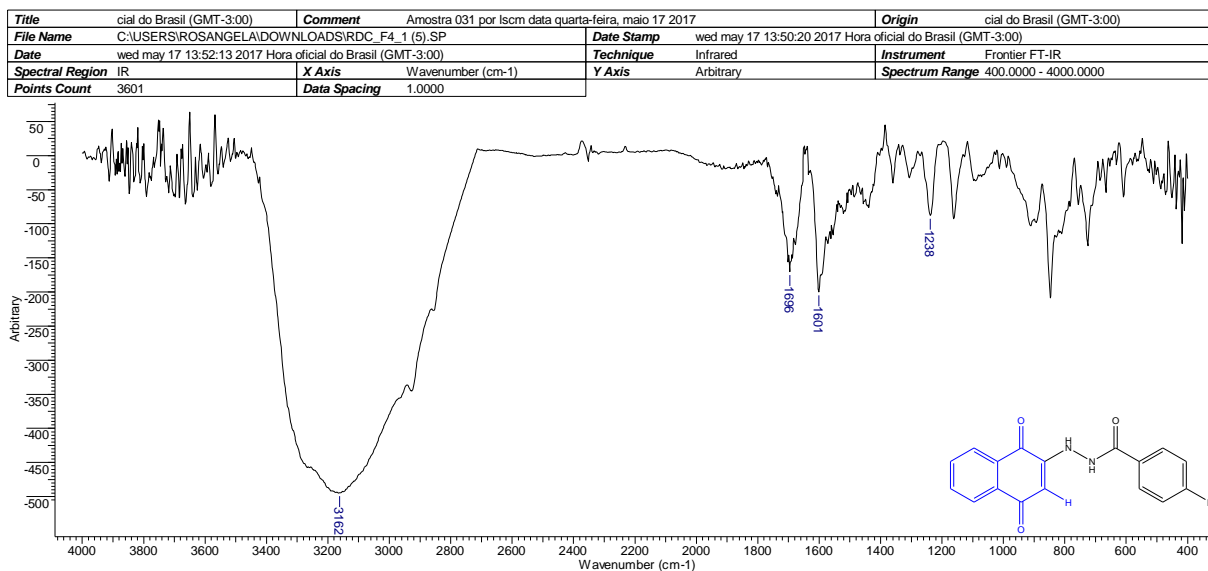


Figura 38: Espectro de infravermelho (KBr) do composto **26**

Tabela 9: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto **26**

(ν_{\max} (cm ⁻¹))	Atribuição
3162-3300	Estiramento N-H
1,601-1696	Estiramento C=O conjugada
1400-1500	Estiramento C=C anel aromático

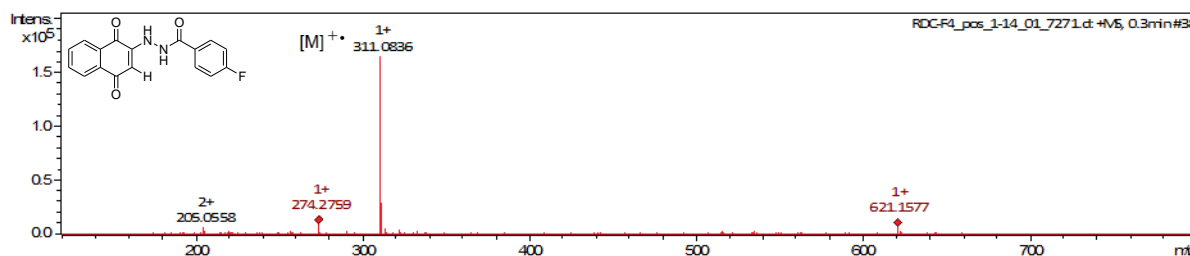
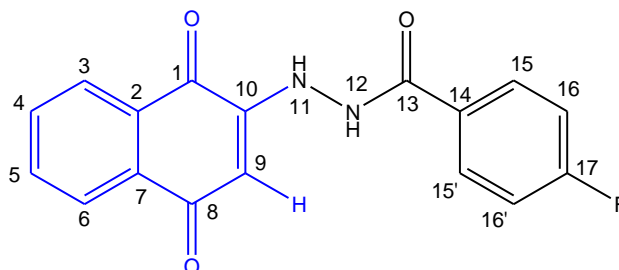


Figura 39: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto **26**.

M calculada= 311, 0832 [M]⁺; M encontrada= 311,0836 [M+H]⁺; Δm = 1,28 ppm.

Tabela 10: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto **26** em DMSO- d_6 .



Posição	RMN ^{13}C (ppm)	DEPT 135	RMN ^1H (ppm)	Multiplicidade, Integração, J
1	182,8	-	--	-
2	132,9	-	--	-
3	126,3	CH	7,94 - 9,98	m, 2H
4	130,9	CH	7,86	t, 1H, $J= 8,0$ e $6,2$
5	130,8	CH	7,79	t, 1H $J= 8,0$ e $6,4$
6	125,9	CH	7,94 – 7,98	m, 2H
7	133,2	-	-	-
8	181,4	-	-	-
9	102,1	CH	5,71	s, 1H
10	148,9	-	-	-
11	-	-	9,51	s, 1H
12	-	-	10,77	s, 1H
13	164,9	-	-	-
14	135,5	-	-	-
15	130,7*	CH	8,02	m, 2H
15'	129,0*	CH	8,00	m, 4H
16	116,3*	CH	7,38	t, 2H, $J_o= 9,0$ e $9,27$
16'	115,9*	CH	7,38	t, 2H, $J_o= 9,0$ e $9,27$
17	161,2*	-	-	-

3.1.5 Elucidação do composto 4-butil-N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)benzohidrazida (27)

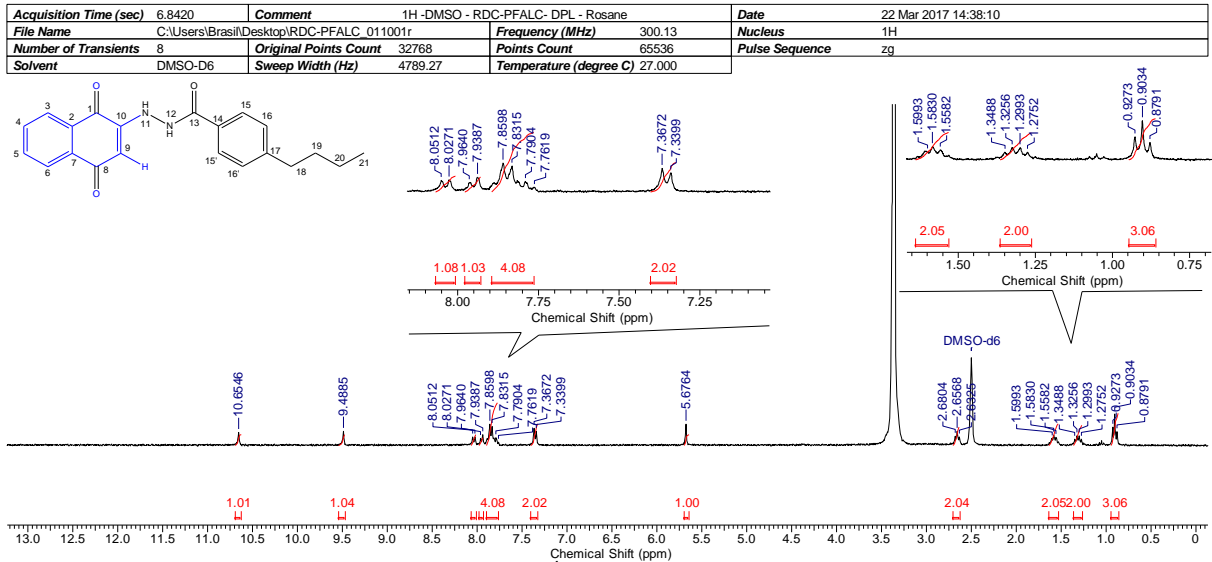


Figura 40: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) do composto 27

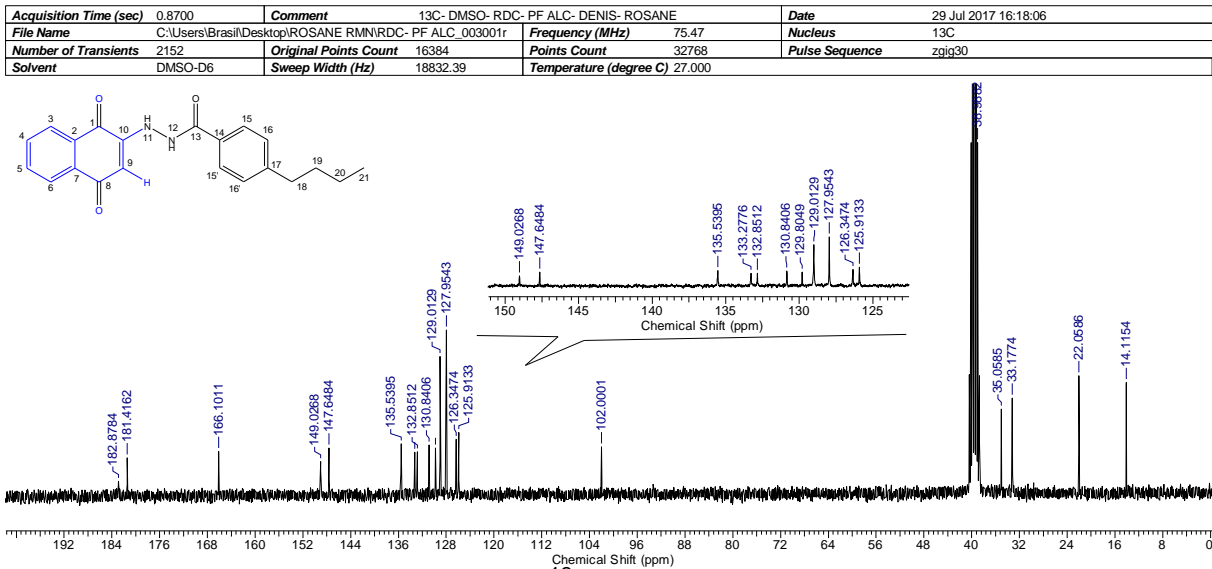


Figura 41: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) do composto 27.

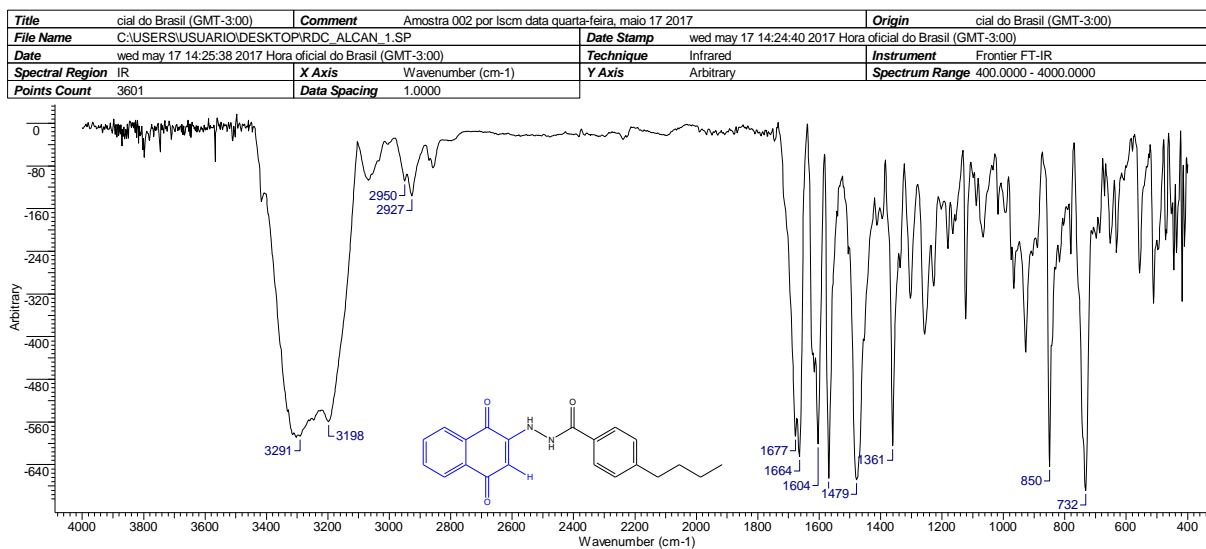


Figura 42: Espectro de infravermelho (KBr) do composto **27**

Tabela 11: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto **27**.

(ν_{\max} (cm ⁻¹))	Atribuição
3198-3291	Estiramento N-H
2927-2950	Estiramento C-H conjugada
1604-1677	Estiramento C=O conjugada
1479-1590	Estiramento C=C anel aromático

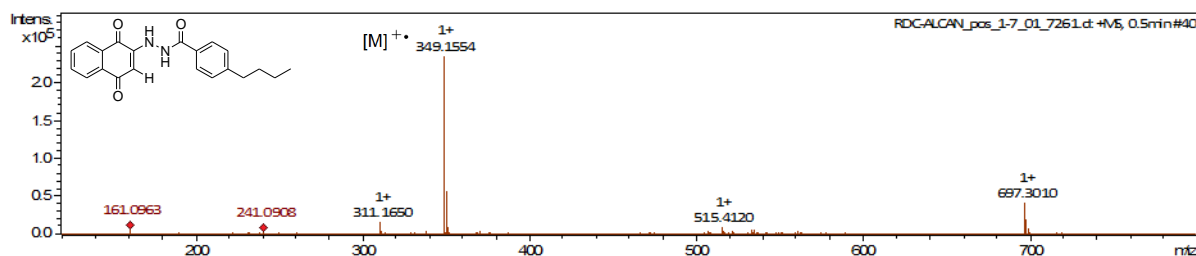
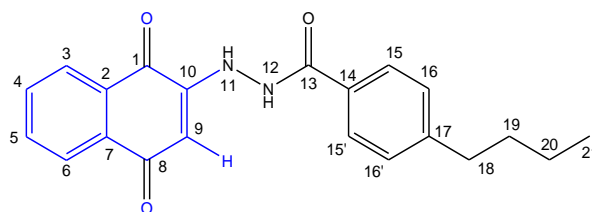


Figura 43: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto **27**

M calculada= 349, 1552 [M]⁺; M encontrada= 349,1554 [M+H]⁺; $\Delta m = 0,57$ ppm.

Tabela 12: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto **27** em DMSO- d_6



Posição	RMN ^{13}C (ppm)	DEPT 135	RMN ^1H (ppm)	Multiplicidade, Integração, J
1	182,9	-	-	-
2	132,8	-	-	-
3	123,3	CH	7,95	d, 1H, $J= 7,8$ Hz
4	130,8	CH	7,80 – 7,90	m, 4H
5	129,8	CH	7,79	t, 4H, $J= 8,5$ Hz
6	126,0	CH	8,04	d, 1H, $J= 8,5$ Hz
7	133,3	-	-	-
8	181,9	-	-	-
9	102,0	CH	5,68	s, 1H
10	147,6	-	-	-
11	-	-	9,49	s, 1H
12	-	-	10,65	s, 1H
13	166,1	-	-	-
14	135,5	-	-	-
15, 15'	128,0	CH	7,83	d, 1H, $J_o= 8,5$ Hz
16, 16'	129,0	-	7,35	d, 2H, $J_o= 7,8$ Hz
17	149,0	C	-	-
18	35,1	CH ₂	2,66	t, 2H $J_o= 7,3$ Hz
19	33,2	CH ₂	1,58	qt, 2H
20	22,1	CH ₂	1,31	m, 2H
21	14,1	CH ₃	0,90	t, 3H $J_o= 7,3$ Hz

3.1.6 Elucidação do composto *N'*-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)-3,4-dimetoxibenzohidrazida (28)

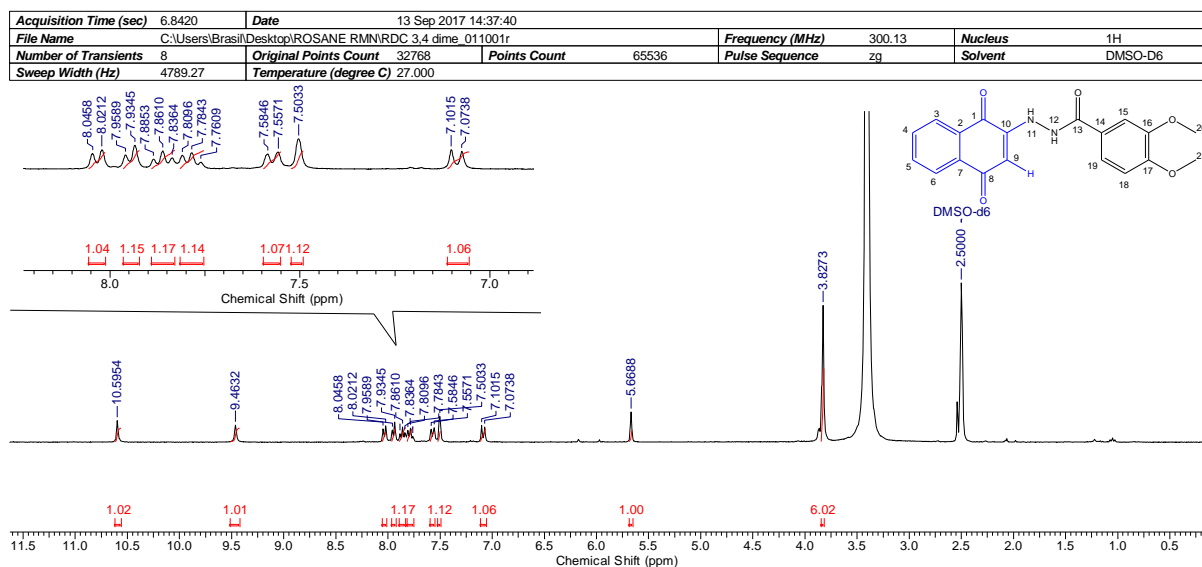


Figura 44: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) do composto 28

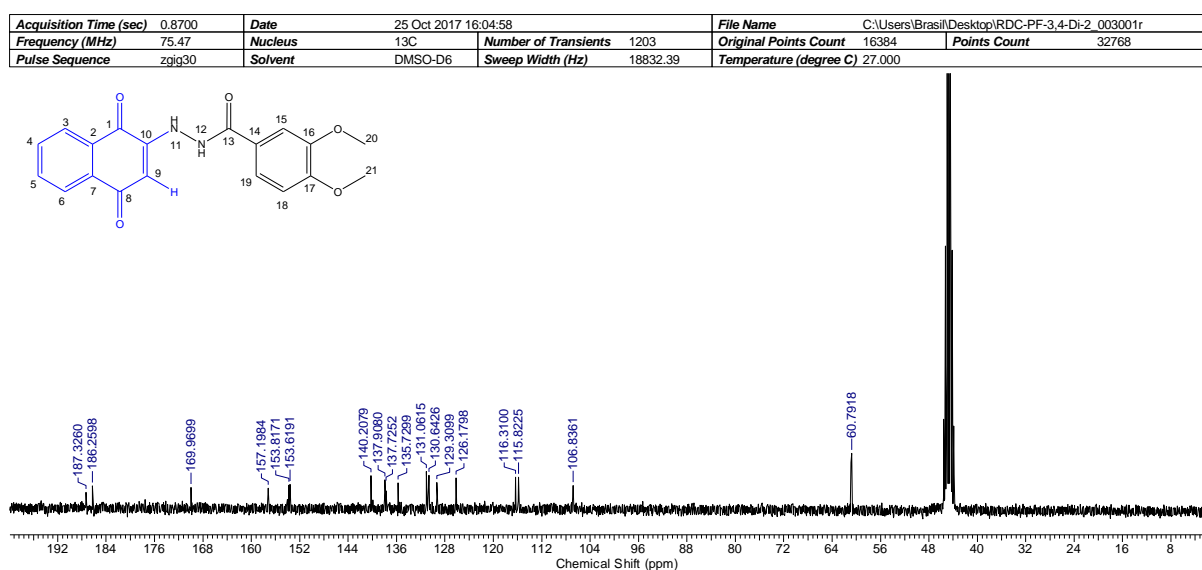


Figura 45: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) do composto 28.

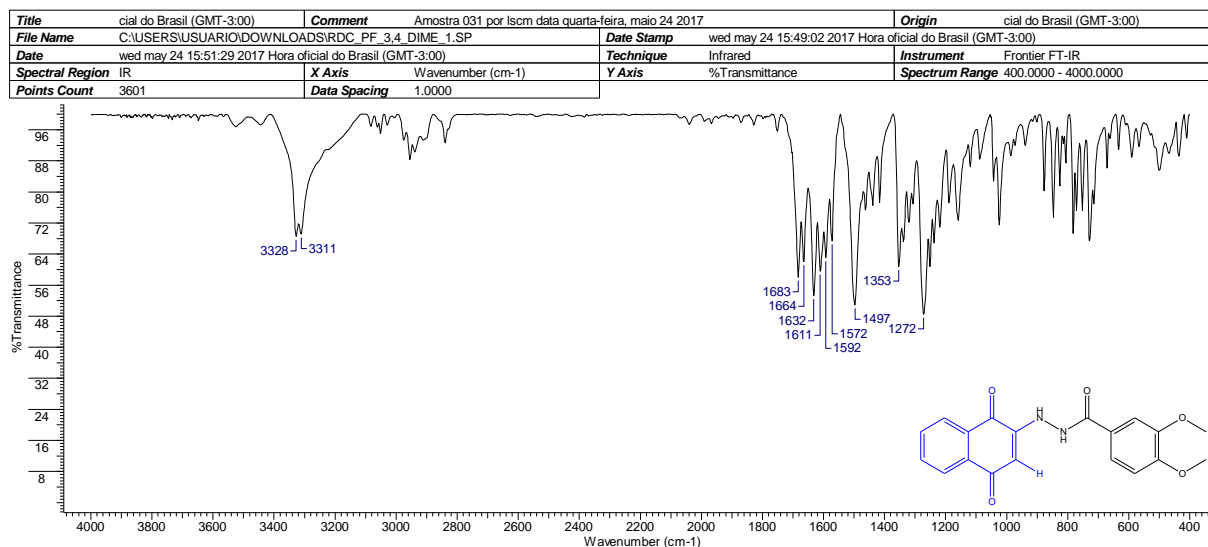


Figura 46: Espectro de infravermelho (KBr) do composto **28**

Tabela 13: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto **28**.

(ν_{\max} (cm ⁻¹))	Atribuição
3311-3328	Estiramento N-H
1611-1683	Estiramento C=O conjugada
1497-1597	Estiramento C=C anel aromático

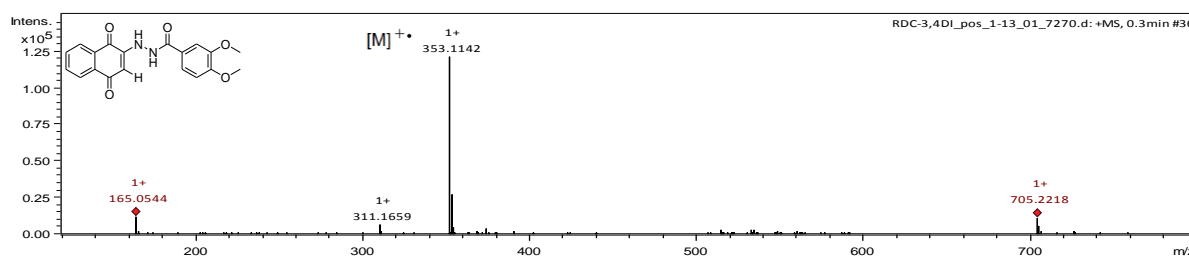
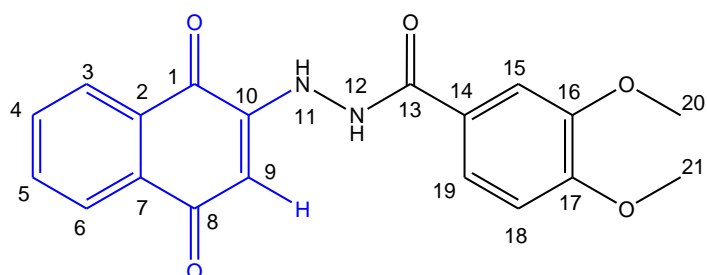


Figura 47: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto **28**

M calculada= 353, 1137 [M]⁺; M encontrada= 353,1142 [M+H]⁺; $\Delta m = 1,41$ ppm.

Tabela 14: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto **28** em DMSO- d_6 .



Posição	RMN ^{13}C (ppm)	DEPT 135	RMN ^1H (ppm)	Multiplicidade, Integração, J
1	187,3	-	-	-
2	137,9	-	-	-
3	126,2	CH	8,03	d, 1H, $J_o= 7,4$
4	137,7	CH	7,86	t, 1H, $J_o= 7,2$ e $7,4$
5	140,2	CH	7,78	t, 1H, $J_o= 7,2$ e $7,4$
6	129,3	CH	7,95	d, 1H, $J_o= 7,4$
7	135,7	-	-	-
8	186,3	-	-	-
9	106,8	CH	5,67	s, 1H
10	157,2	-	-	-
11	-	-	10,59	s, 1H
12	-	-	9,46	s, 1H
13	170,0	-	-	-
14	131,1	-	-	-
15	116,3	CH	7,50	s, 1H
16	153,6	-	-	-
17	153,8	-	-	-
18	115,8	CH	7,09	d, 1H, $J_o= 8,3$
19	130,6	CH	7,57	d, 1H, $J_o= 8,2$
20, 21	60,8	CH ₃	3,83	s, 6H

3.1.7 Elucidação do composto 1-flúor-N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronafhtalen-2-il)benzohidrazida (29)

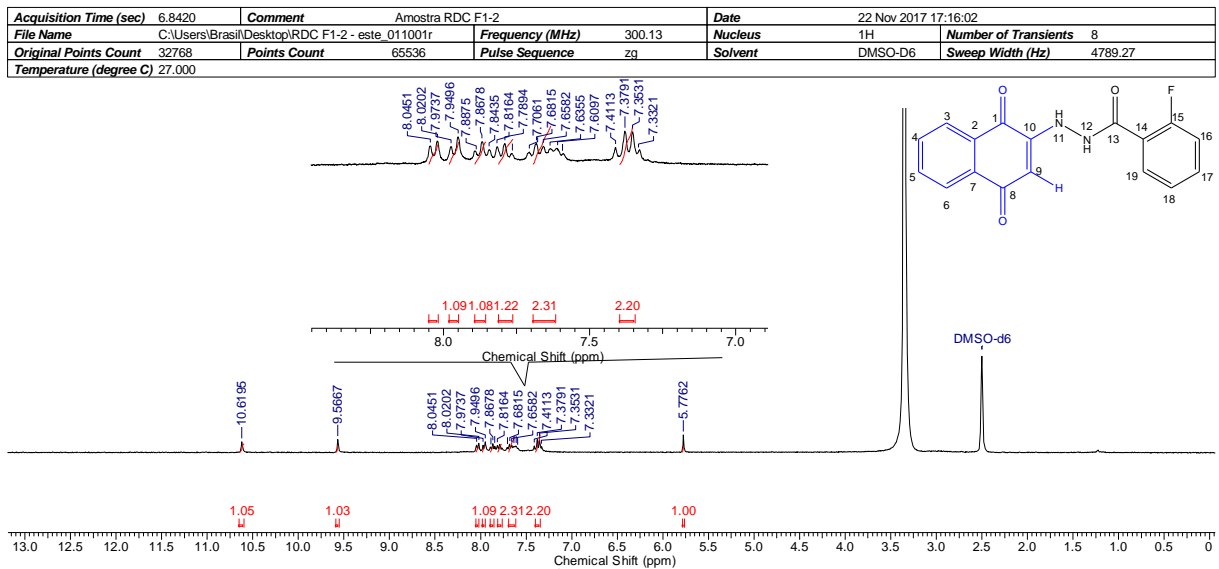


Figura 48: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) do composto 29

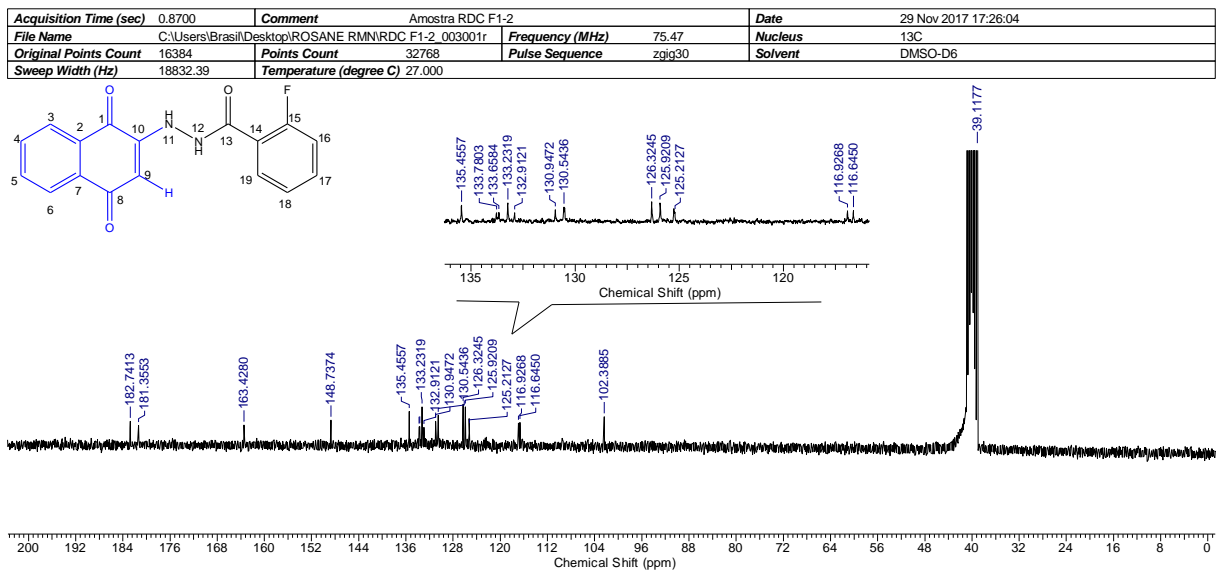


Figura 49: Espectro de RMN de ¹³C (300 MHz, DMSO-d₆) do composto 29

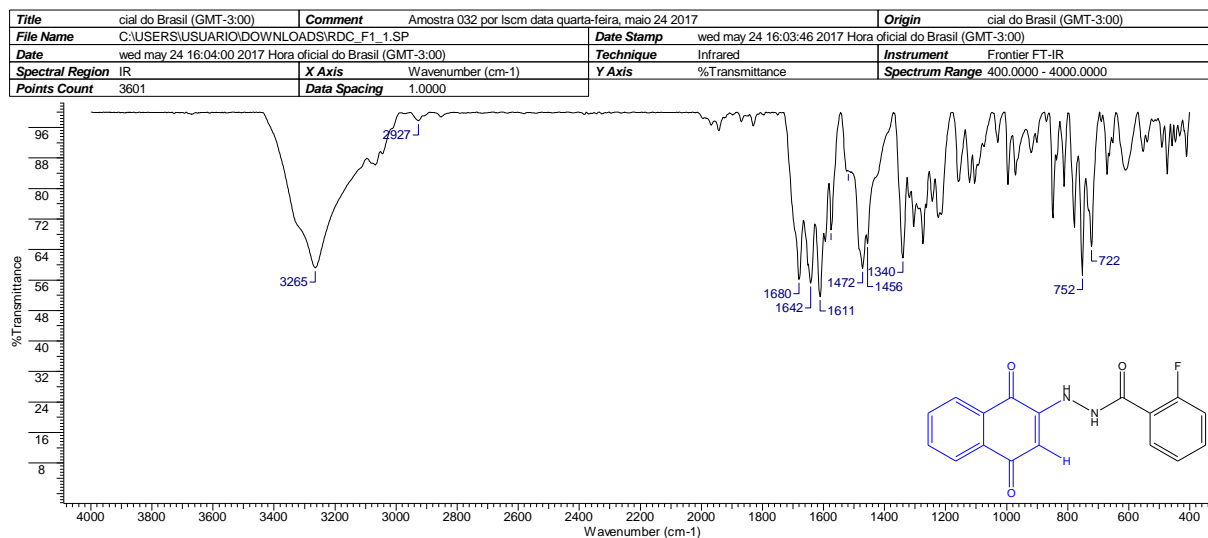


Figura 50: Espectro de infravermelho (KBr) do composto **29**

Tabela 15: Atribuição das bandas de absorção de IV a grupos funcionais do composto **29**

(ν_{\max} (cm ⁻¹))	Atribuição
3311-3328	Estiramento N-H
1611-1683	Estiramento C=O conjugada
1497-1592	Estiramento C=C anel aromático

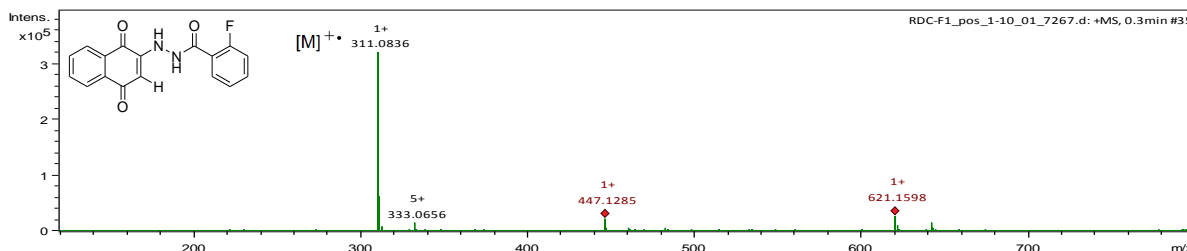
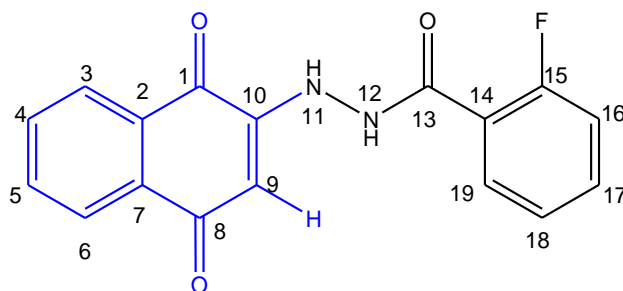


Figura 51: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto **29**

M calculada= 311,0832 [M]⁺; M encontrada= 311,0836 [M+H]⁺; Δm = 1,28 ppm.

Tabela 16: Valores de deslocamento químico (δ), expressos em ppm, para o composto **29** em DMSO- d_6 .



Posição	RMN ^{13}C (ppm)	DEPT 135	RMN ^1H (ppm)	Multiplicidade, Integração, J
1	182,7	-	-	-
2	132,9	-	-	-
3	126,3	CH	8,03	d, 1H, $J= 7,4$ Hz
4	135,5	CH	7,78	t, 1H, $J= 5,9$ Hz e $J=7,4$ Hz
5	130,5	CH	7,68	t, 1H, $J= 8,1$ Hz
6	125,9	CH	7,96	d, 1H, $J= 7,2$ Hz
7	133,8	-	-	-
8	181,4	-	-	-
9	102,9	CH	5,78	s, 1H
10	148,7	-	-	-
11	-	-	10,62	s, 1H
12	-	-	9,57	s, 1H
13	163,4	-	-	-
14	116,9	-	-	-
15	163,4	-	-	-
16	116,6	-	7,35	q, 2H, $J= 6,3$ Hz
17	133,2	CH	7,62	q, 1H, $J= 7,7$ Hz
18	125,3	CH	7,37	m, 2H
19	130,5	CH	7,86	t, 1H, $J= 7,3$ Hz

3. 2 ENSAIOS DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

Os agentes antimicrobianos incluem os agentes que atuam contra todos os tipos de microorganismos – bactérias (antibacterianas), vírus (antivirais), fungos (antifúngicos) e protozoários (antiprotozoários) (AMRLS, 2017). No presente trabalho, todos os compostos sintetizados (**23** – **29**) foram avaliados a atividade antiprotozoária, sobre as formas epimastigotas de *T. cruzi* e as formas promastigotas de *L. amazonensis*. A interpretação dos resultados foi por meio da análise de lise dos parasitas causada pela menor concentração (μM) da substância capaz de inibir em 50% (IC_{50}) do crescimento dos parasitas.

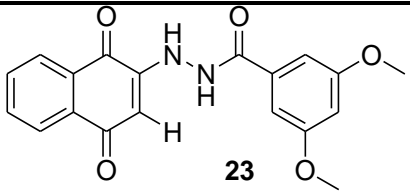
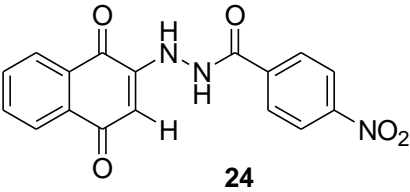
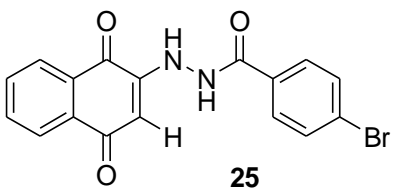
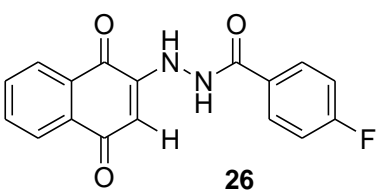
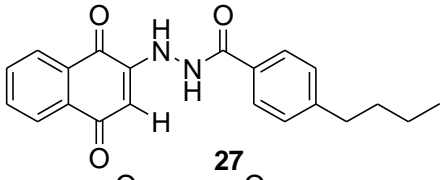
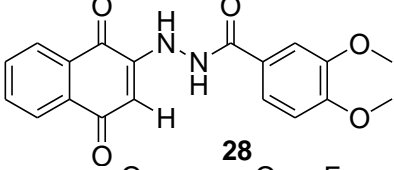
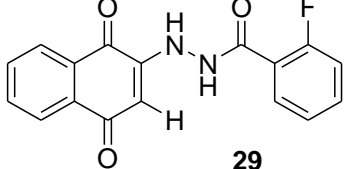
Em relação à atividade antibacteriana, todos os compostos sintetizados (**23** – **29**) foram avaliados quanto a sua atividade frente a cepa bacteriana padrão de *S. aureus* (ATCC 25923) pelo método de microdiluição em caldo (MICHELETTI et al., 2015), e os resultados de concentração mínima inibitória (CIM) foram expressos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$

3.2.1 Atividade tripanocida

Os resultados do ensaio *in vitro* para atividade antiproliferativa em formas epimastigotas de *T. cruzi* dos compostos sintetizados, estão apresentados na **Tabela 17**. Demonstram que os compostos **24** (IC_{50} 117,63 μM), **25** (IC_{50} 86,89 μM) e **27**, **28** e **29** (IC_{50} 290 μM) foram inativos contra as formas avaliadas, exibindo $\text{IC}_{50} > 80$ μM . Porém este resultado não pode ser considerado insignificante, se comparado com a Lawsona (**22**) (IC_{50} 410 μM) (PINTO et al., 1997).

Contudo, os compostos **23** (IC_{50} 1,83 μM), apresentou atividade superior ao fármaco de referência benzonidazol (IC_{50} 8,80 μM). Uma análise da relação estrutura-atividade dos híbridos sintetizados revelou a dependência da atividade tripanocida sobre a natureza dos substituintes no anel aromático da região azida. Interessantemente os compostos **24** – **29** obtiveram sua atividade notavelmente diminuída, em relação ao composto **23**, sugerindo um possível requisito para a interação com receptores biológicos. Estudos afirmaram que as propriedades eletrônicas e estruturais, são características importantes na interação entre os derivados de quinona e os receptores biológicos (MOLFETTA et., 2005).

Tabela 17: Atividade tripanocida dos compostos sintetizados sobre a forma epimastigota do *T. cruzi*.

Composto	Concentração IC ₅₀ (μM) (±DP ^b)
 <p>23</p>	1,83 ± 0,36
 <p>24</p>	117,63 ± 10,90
 <p>25</p>	86,89 ± 7,0
 <p>26</p>	>290
 <p>27</p>	>290
 <p>28</p>	>290
 <p>29</p>	>290
^a Benzonidazol	8,80 ± 04

^aFármaco de referência. ^bDesvio padrão.

A literatura tem relatado a atividade tripanocida de diversos derivados do lapachol (DE MOURA et al., 2001; SALAS et al., 2008; SILVA et al., 2013) que devido as suas propriedades estruturais, apresentam atividade biológica justificada

principalmente pela formação de radical semiquinona e espécies reativas de oxigênio (ROS) responsáveis pelo estresse oxidativo celular (SILVA; FERREIRA; SOUZA, onde se ligam e inativam macromoléculas do parasita (SALAS et al., 2008).

A mitocôndria presente na região do cinetoplasto no *T. cruzi*, rica em DNA, faz dessa organela um alvo importante de fármacos. Esta organela é conhecida por ser sensível ao oxigênio reativo, tornando-o especialmente sensível às condições de estresse oxidativo. (JUNIOR et al., 2010). Portanto, a ação tripanocida pode estar relacionada à produção de metabolitos, que se ligam e inativam macromoléculas do parasita (SALAS et al., 2008).

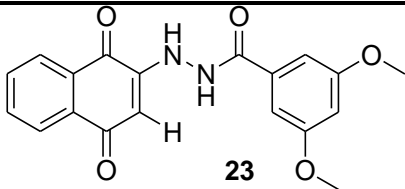
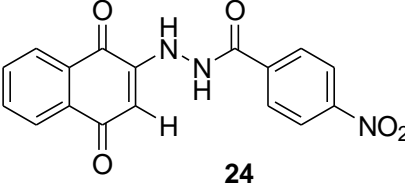
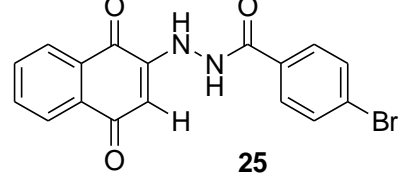
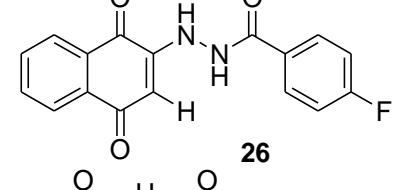
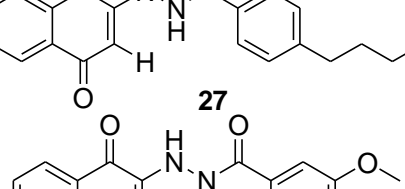
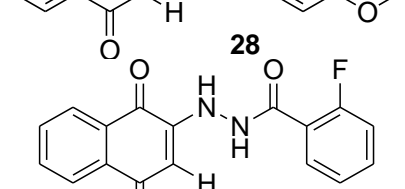
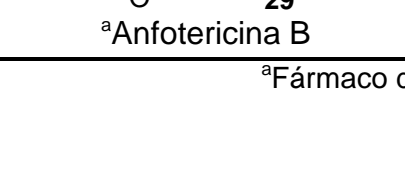
3.2.2. Atividade leishmanicida

Os resultados do ensaio para atividade antiproliferativa em formas promastigotas de *L. amazonensis* dos compostos sintetizados, estão apresentados na **Tabela 18**, onde se observa que o composto **24** e **27** com $IC_{50} > 100 \mu M$, foram inativos contra as formas avaliadas.

Os compostos **23** (IC_{50} 9,65 μM), **25** (IC_{50} 12,16 μM), **26** (IC_{50} 8,38 μM), **28** (IC_{50} 5,96 μM) e **29** (IC_{50} 8,08 μM), levaram a lise do parasita, sendo capazes de reduzir o crescimento, quando comparados com o fármaco de referência a Anfotericina B (0,065 μM).

De acordo com Muñoz e colaboradores, o aumento das atividades tripanocidas e leishmanicidas de derivados relacionados a hidrazidas, como vários hidrazonas aromáticas, depende dos grupos anexados em cada lado das moléculas. Além disso, os autores mencionaram que as moléculas projetadas para serem antiparasitárias podem ser simultaneamente ativas contra *Trypanosoma* e *Leishmania*, uma vez que os parasitas compartilham um sítio ativo muito semelhante, a cisteína MUÑOZ et al.; 2006).

Tabela 18: Atividade leishmanicida dos compostos sintetizados sobre a forma promastigota do *L. amazonensis*.

Composto	Concentração IC ₅₀ (μM) (±DP ^b)
 <p>23</p>	9,65 ± 0,36
 <p>24</p>	>290
 <p>25</p>	12,16 ± 0,92
 <p>26</p>	8,38 ± 0,8
 <p>27</p>	>290
 <p>28</p>	5,96 ± 1,2
 <p>29</p>	8,08 ± 0,4
^a Anfotericina B	0,065

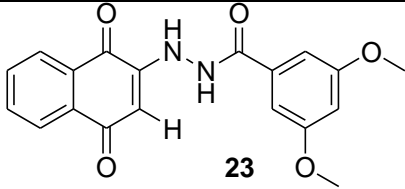
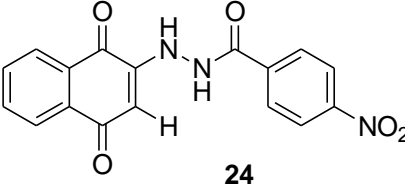
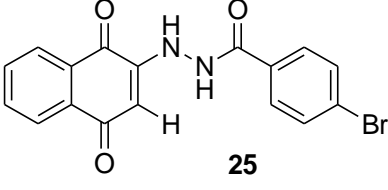
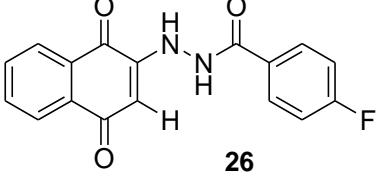
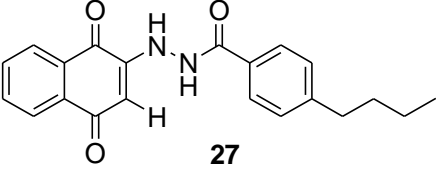
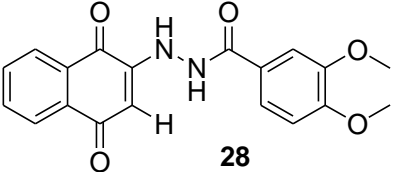
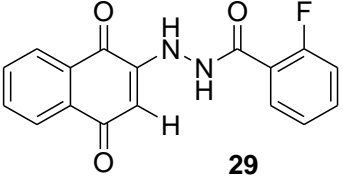
^aFármaco de referência. ^bDesvio padrão

3.2.3 Atividade antibacteriana *S. aureus*

De acordo com os resultados (**Tabela 19**), os compostos **27** e **28** não apresentaram atividade. Mas em ordem decrescente, os compostos apresentaram atividade **25>29>23/26>24**, nas concentrações de 0,93 à 7,50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, sendo superior ao β -lapachol, com a CIM de 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (ANTUNES et al., 2006).

Segundo estudos anteriores, as naftoquinonas exercem efeitos antimicrobianos e citotóxicos através de vários mecanismos, incluindo a inibição do transporte de elétrons, efeitos de desacoplamento durante a fosforilação oxidativa, intercalação de agentes na dupla hélice de DNA sob condições aeróbicas. No entanto ainda faltam estudos sobre os mecanismos moleculares relacionados a atividade especialmente frente a *S. aureus* (WANG et al., 2016).

Tabela 19: Atividade antibacteriana dos compostos sintetizados frente a *S.aureus*

Composto	CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
 23	3,75
 24	7,5
 25	0,93
 26	3,75
 27	-
 28	-
 29	1,87
^a Gentamicina	3

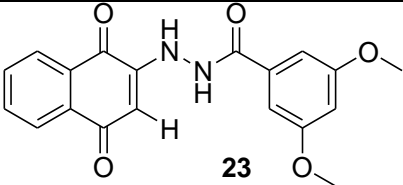
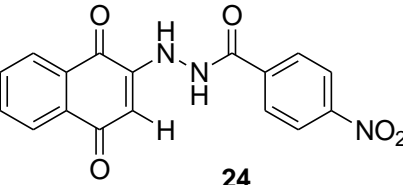
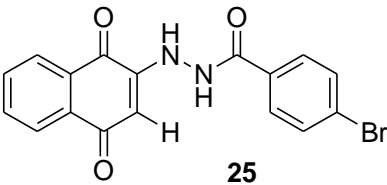
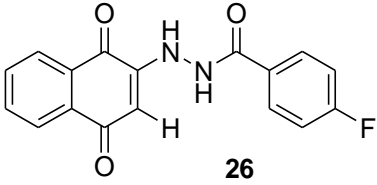
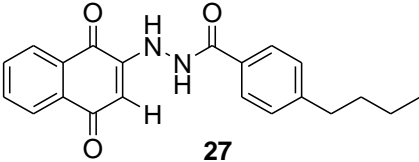
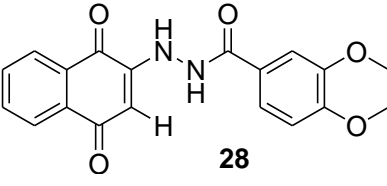
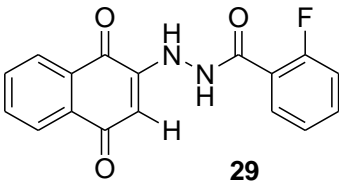
^aFármaco de referência. -: Não apresentou atividade.

3.3 Citotoxicidade

No presente estudo, a concentração citotóxica (CC_{50}) *in vitro* dos derivados de naftoquinona sintetizados (**23-25**), foi avaliada através do método colorimétrico MTT (RODRIGUES et al., 2014). Os valores de CC_{50} corresponderão à concentração do composto capaz de reduzir em 50% a viabilidade de células epiteliais de rim de *Macaca mulata* (LLCMK2), após 96 h de incubação. Os dados estão expressos pelo índice de seletividade (IS), que consiste na razão entre concentração citotóxica 50% (CC_{50}) para células LLCMK2 e IC_{50} para os protozoários. Os resultados estão apresentados na **Tabela 20**.

As células de LLCMK2 foram expostas a diferentes concentrações dos compostos sintetizados, na qual a concentração citotóxica para 50% das células (CC_{50}) foi de 174,37 μ M e 237,36 μ M para os compostos **23** e **25**, respectivamente, contra as formas epimastigota de *T. cruzi* e promastigota de *L. amazonensis*. Comparando o CC_{50} com a concentração do composto que inibiu 50% do crescimento dos protozoários, constatou-se que os compostos ativos exibem valores de IS muito interessantes. Indicando que o composto **23** é 95 vezes mais ativo contra o parasita causador da doença de Chagas, e 18 vezes mais ativo contra protozoário causador da leishmaniose do que tóxico para as células de mamíferos *in vitro*. O composto **25** é 2 vezes mais ativo contra o gênero da *Leishmania* avaliado, do que tóxico para as células dos tecidos epiteliais. Estes resultados denotam ainda mais o potencial promissor dos compostos como agentes tripanocidas e leishmanicidas.

Tabela 20: Índices de seletividade (IS) para as formas epimastigotas de *T. cruzi* e formas promastigotas de *L. amazonensis*

Composto	IS	
	<i>T. cruzi</i> (epimastigota)	<i>L. amazonensis</i> (promastigota)
 <p>23</p>	95,28	18,06
 <p>24</p>	1,29	> 1,52
 <p>25</p>	2,73	19,52
 <p>26</p>	-	-
 <p>27</p>	-	50
 <p>28</p>	-	41,1
 <p>29</p>	-	76,2

IS = CC_{50} LLC-MK2 / IC_{50} de epimastigota ou promastigota. -: Não determinado.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Parte química

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e utilizados sem purificação adicional. A purificação cromatográfica foi realizada em sílica gel (Merck, 100-200 mesh) e cromatografia analítica em camada fina (TLC) sobre gel de sílica 60-F₂₅₄. Os espectros de RMN de ¹H (300 MHz) e RMN de ¹³C (75 MHz) foram obtidos com um espectrômetro Bruker Avance DPXT-300 DMSO-d₆ como solventes e como referência interna foram utilizados os sinais relativos ao hidrogênio residual do solvente e/ou do tetrametilsilano (TMS). Os espectros de RMN de ¹H foram relatados da seguinte forma: ppm (multiplicidade, número de prótons e constante de acoplamento *J* / Hz.). A multiplicação é abreviada da seguinte maneira: s (simpleto), d (duplete), dd (duplodupletos), t (triplete), m (multiplete) e l (sinal alargado). A espectrometria de massa de alta resolução (HRMS) foi realizada em um aparelho UFLC Shimadzu LC-20AD, e com o detector iES-Q-QTOF-microTOF III (Bruker Daltonics) em ion ionização química positiva (*m* / *z* 120-1200). As amostras foram preparadas com 0,1 g / mL (metanol / água 7: 3) e injetado 1 µL, usando água gradiente de eluição (fase A) e acetonitrila (fase B), ambos com ácido acético a 1%, método isocrático 50 % e o funcionamento tempo de 3 min. Os espectros infravermelhos foram obtidos por um espectrômetro Bomem FT-IR-MB100FT-IR e em células de KBr para líquidos (filme) ou em pastilhas de KBr para sólidos e os número de onda das absorções expressos em cm⁻¹.

4.2 Preparação de acil hidrazidas da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona

4.2.1.Preparação geral dos ésteres (8-14)

Em um balão de 50 mL foi adicionado 2,0 g (1,1 mmol) do ácido (1- 8), solubilizado em 30 mL de metanol e 3 gotas de ácido sulfúrico adicionadas gota a gota. Em seguida a mistura foi aquecida e mantida sob agitação e refluxo por 4 horas, sendo monitorada por CCD. O excesso de solvente foi retirado em rotaevaporador e neutralizado com bicarbonato (0,13 g). A fase orgânica foi extraída com acetato de etila (3x20 mL), lavada com água (3x25 mL) e secada com sulfato

de magnésio. O solvente foi removido por destilação a pressão reduzida, resultando em um óleo incolor.

4.2.2 Preparação geral das acil-hidrazidas (15-21)

Em um balão de 25 mL foi adicionado 0,210 g (1,3 mmol) de éster (**8-14**) e 0,5 mL de hidrazina. A mistura reagente foi mantida sob agitação por 24h, sendo monitorada por CCD. Após este período, a mesma foi vertida em um béquer contendo gelo triturado, o produto precipitado foi filtrado em papel de filtro, em seguida lavado com 30 mL de água destilada e gelada. Em seguida, o mesmo foi colocado para secar a temperatura ambiente.

4.2.3 Preparação geral de acil-hidrazidas da 2-hidroxi-1,4- naftoquinona (23-29)

Em um balão de 25 mL foi adicionado a acil-hidrazida (**15-21**) 0,207 g (1,1 mmol), a lawsona (**22**) 0,200 g (1,1 mmol) a uma solução de ácido acético 80% (20 mL). A mistura foi mantida sob agitação por 24h à temperatura ambiente, sendo monitorada por CCD. O produto foi submetido a filtração simples, lavado com 50 mL de hexano, e recristalizado em etanol a quente. As caracterizações dos compostos foram feitas por meio das técnicas de RMN de ^1H , RMN de ^{13}C .

4.2.3.1 *N'*-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)-3,5-dimetoxibenzohidrazida (23)

O composto **23** foi obtido como um sólido alaranjado, com rendimento de 51%. p.f.=187,0-194,0. RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 3,80 (H-18, H-18', s, 6H), 5,68 (H-9, s, 1H), 6,72 (H-17, s, 6H), 7,08 (H-15, H15', d, 2H, J_m = 1,8 Hz), 7,77 (H-4, t, 1H, J = 6,85 e 7,27), 7,85 (H-5, t, 1H, = 6,85 e 7,27), 7,94 (H-6, t, 1H, J =7,27 Hz), 8,02 (H-3, d, 1H, J = 7,27 Hz), 9,50 (H-12, s, 1H), 10,71 (H-12, s,1H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 55,9 (C-18, C-18'), 102,2 (C-9), 104,5 (C-17), 105,8 (C-15, C-15'), 125,9 (C-3), 126,3 (C-6), 130,9 (C-14), 132,9 (C-7), 133,2 (C-2), 134,4 (C-5), 135,5 (C-4), 148,9 (C-10), 160,9 (C-16, C-16'), 165,3 (C-13), 181,4 (C-8), 182,7 (C-1). IR (KBr, cm^{-1}): ν_{max} 3289-3412 (NH), 1666-1681 (C=O), 1457-1553 (C=C). $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculada para $[\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5 + \text{H}]$: 353,1131; encontrada: 353,1123; Δm = 2,26 ppm.

4.2.3.2 *N'*-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)-4-nitrobenzohidrazida (24)

O composto **24** foi obtido como um sólido amarelo, com rendimento de 52%. p.f.= 216.4-220.5. RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 5,78 (H-9, s, 1H), 7,86 (H-5, t, 1H, $J_o= 6,6$ e 7,4 Hz), 7,78 (H-4, t, 1H, $J= 6,7$ e 7,4 Hz), 7,94 (H-6, d, 1H, $J_o=6,6$), 8,03 (H-3, 1H, d, $J_o= 6.7$ Hz), 8,16 (H-16, H16', d, 2H, $J_o=8,8$ Hz), 8,37 (H-15, H-15', d, 2H, $J_o=8.8$ Hz), 9,57 (H-12, s, 1H), 11,07 (H-11, s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 102,4 (C-9), 124,2 (C-16, C-16'), 125,9 (C-6), 126,3 (C-3), 129,6 (C-7), 130,4 (C-2), 132,9 (C-15, C-15'), 133,2 (C-4), 135,4 (C-5), 138,2 (C-14), 148,7 (C-17), 150,0 (C-10), 164,4 (C-13), 182,7 (C-8), 181,4 (C-1). %. IR (KBr, cm^{-1}): ν_{max} 3451-3516 (NH), 1644-1782 (C=O), 1459-1592 (C=C). $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculada para $[\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6 + \text{H}]$: 338,0771; encontrada: 338,0762; $\Delta m= 4,43$ ppm.

4.2.3.3 4-bromo-*N'*-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)benzohidrazida (25)

O composto **25** foi obtido como um sólido marrom, com rendimento de 55%. p.f.=187,0-194,0. RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 5,71 (H-9, s, 1H), 7,74 – 7,81 (H-16, H-16', m, 3H), 7,74 – 7,81 (H-4, m, 3H), 7,82 - 7,88 (H-5, H-15, H-15', m, 3H), 7,95 (H-6, d, 3H, $J= 6,8$ Hz), 8,04 (H-3, d, 1H, $J= 7,3$ Hz), 9,50 (H-11, s, 1H), 10,82 (H-12, s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 102,2 (C-9), 125,9 (C-17), 126,3 (C-3), 126,4 (C-6), 131,7 (C-2), 130,1 (C-16, C-16'), 132,9 (C-14), 133,2 (C-4), 135,5 (C-5), 130,9 (C-7), 148,8 (C-10), 165,1 (C-13), 181,7 (C-8), 182,7 (C-1). IR (KBr, cm^{-1}): ν_{max} 3245-3316 (NH), 1589-1669 (C=O), 1481-1516 (C=C). $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculada para $[\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_6 + \text{H}]$: 371,0025; encontrada: 371,0031; 2,26 ppm..

4.2.3.4 4-flúor-*N'*-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)benzohidrazida (26)

O composto **26** foi obtido como um sólido laranjado, com rendimento de 32%, P,f= 204,0-210,0, RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 5,71 (H-9, s, 1H), 7,38 (H-16, H-16', t, 2H, $J_o= 9,0$ e 9,27 Hz),), 7,79 (H-5, t, 1H), 7,86 (H-4, t, 1H, $J= 8,0$ e 6,2 Hz), 7,94 – 9,98 (H-3, H-6, m, 2H) 8,00 (H-15', m, 4H), 9,51 (H-11, s, 1H), 10,77 (H-12, s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 102,1 (C-9), 115,9* (C-16'), 116,3* (C-16), 125,9 (C-

6), 126,3(C-3), 130,8 (C-5), 130,9 (C-4), 132,9 (C-2), 133,2 (C-7), 135,5 (C-14), 148,9 (C-10), 161,2* (C-17), 164,9 (C-13), 181,4 (C-8), 182,8 (C-1). IR (KBr, cm^{-1}): ν_{max} 3,162-3,300 (NH), 1,601-1696 (C=O), 1400-1500 (C=C), $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculada para $[\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}_3 + \text{H}]$: 311,0826; encontrada: 311,0836, $\Delta m = 1,28$ ppm.

4.2.3.5 4-butyl-N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)benzohidrazida (27)

O composto **27** foi obtido como um sólido marrom, com rendimento de 35%, P.f= 185,6 – 190,0. RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0,90 (H- 21, t, 3H, $J = 7,3$ Hz), 1,31 (H- 20, m, 2H), 1,58 (H- 19, q, 2H), 2,66 (H-18, t, 2H, $J = 7,3$ Hz), 5,68 (H- 9, s, 1H), 7,35 (H-16, H-16', d, 2H, $J_o = 7,8$ Hz), 7,79 (H-5, t, 4H, $J = 8,5$ HZ), 7,80 – 7,90 (H-4, m), 7,83 (H-15, H-15', d, 1H), 7,95 (H-3, d, 1H, $J_o = 7,8$ Hz), 8,04 (H-6, d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 9,49 (H-11, s, 1H), 10,65 (H-12, s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 14,1 (C-21), 22,1 (C-20), 33,2 (C-19), 35,1 (C-18), 102,0 (C-9), 126,0 (C-6), 126,3 (C-3), 128,0 (C-15, C-15'), 129,0 (C-16, C-16'), 129,8 (C-5), 130,8 (C-4), 132,8 (C-2), 133,3 (C-7), 135,5 (C-14), 147,6 (C-10), 149,0 (C-17), 166,1 (C-13), 181,9 (C-8), 182,9 (C-1). IR (KBr, cm^{-1}): ν_{max} 3,198-3291 (NH), 2927-2950 (C-H), 1,604-1677 (C=O), 1,479-1590 (C=C), $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculada para $[\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}]$: 349,1547; encontrada: 349,1554, $\Delta m = 0,57$ ppm.

4.2.3.6 N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronaftalen-2-il)-3,4-dimetoxibenzohidrazida (28)

O composto **28** foi obtido como um sólido laranjado, com rendimento de 58%, P.f= 185,8 – 189,5. RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 3,83 (H-20, H-21, s, 6H), 5,67 (H-9, s, 1H), 7,09 (H-18, d, 1H, $J_o = 8,3$), 7,50 (H-15, s, 1H), 7,57 (H-19, d, 1H $J_o = 8,2$), 7,78 (H-5, t, 1H, $J_o = 7,2$ e $7,4$), 7,86 (H-4, t, 1H, $J_o = 7,2$ e $7,4$), 7,95 (H-6, d, 1H, $J_o = 7,4$), 8,03 (H-3, d, 1H, $J_o = 7,4$), 9,46 (H-12, s, 1H), 10,59 (H-11, s, 1H), RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 60,8 (C-20, C-21), 106,8 (C-9), 116,3 (C-15), 115,8 (C-18), 126,2 (C-3), 129,3 (C-6), 130,6 (C-19), 131,1 (C-14), 135,7 (C-7), 137,7 (C-4), 137,9 (C-2), 140,2 (C-5), 153,6 (C-16), 153,8 (C-17), 157,2 (C-10), 170,0 (C-13), 186,3 (C-8), 187,3 (C-1). IR (KBr, cm^{-1}): ν_{max} 3311-3328 (NH), 1611-1683 (C=O), 1,497-1597

(C=C). $[M+H]^+$ calculada para $[C_{19}H_{16}N_2O_5 + H]$: 353,1132; encontrada: 353,1142; $\Delta m = 1,41$ ppm.

4.2.3.7 1-flúor-N'-(1,4-dioxo-1,4-diidronafhtalen-2-il)benzohidrazida (29)

O composto **29** foi obtido como um sólido laranjado, com rendimento de 30%. P.f= 201,1 – 205,0, RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 5,78 (H-9, s, 1H), 7,35 (H-16, q, 2H, $J=6,3$ Hz), 7,37 (H-18, m, 2H), 7,62 (H-17, q, 1H, $J= 7,7$ Hz), 7,68 (H-5, t, 1H, $J= 8,1$ Hz), 7,78 (H-4, t, 1H, $J= 5,9$ Hz e $J= 7,4$ Hz), 7,86 (H-19, t, 1H, $J= 7,3$ Hz), 7,96 (H-6, d, 1H, $J= 7,2$ Hz), 8,03 (H-3, d, 1H, $J= 7,4$ Hz), 9,57 (H- 12, s, 1H, s), 10,62 (H- 11, s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 102,9 (C- 9), 116,6 (C-16), 116,9 (C-14), 125,3 (C-18), 125,9 (C-6), 126,3 (C-3), 130,5 (C-19), 132,9 (C-2), 133,2 (C-17), 133,8 (C-7), 135,4 (C-4), 130,9 (C-5), 148,7 (C-10), 163,4 (C-13), 181,4 (C-8), 182,7 (C-1). IR (KBr, cm^{-1}): ν_{max} 3311-3328 (NH), 1611-1683 (C=O), 1,497-1592 (C=C), $[M+H]^+$ calculada para $[C_{17}H_{11}FN_2O_3 + H]$: 311,0826; encontrada: 311,0836; $\Delta m = 1,28$ ppm.

4.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.3.1 Atividade antiparasitária

A atividade antiparasitária foi realizada pela equipe do Dr. Celso Vataru Nakamura do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá. Os experimentos foram realizados com a cepa Y de *Trypanosoma cruzi* (epimastigotas) e *Leishmania amazonensis* (promastigotas) (WHOM/BR/75/JOSEFA strain). As formas epimastigotas foram cultivadas em meio *Liver Infusion Tryptose* (LIT), suplementado com 10% de soro bovino fetal, inativado pelo calor (FBS, Gibco Invitrogen, Grand Island, NY, EUA), mantido à 28 °C. As formas promastigotas de *L. amazonensis* foram mantidas em cultura de 25 °C, com transferências semanais para o meio fresco, suplementado com FBS a 10%. De modo a avaliar a citotoxicidade dos compostos, as células LLC-MK2 (células de rim epitelial de *Macaca mulata*),

foram mantidas em meio (DMEM; Gibco Invitrogen), pH 7,4, suplementado com 2 mg.mL⁻¹ L-glutamina, e 10 % FBS, e 50 mg.mL⁻¹ de gentamicina a 37 °C, com umidade de 5 % de CO₂.

4.3.2 Atividade antiproliferativa contra formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*

Epimastigotas (1x10⁶ parasitas.mL⁻¹) na fase exponencial de crescimento (96 h) foram colhidos e incubados na presença de LIT, suplementado com FBS a 10 %, adicionado concentrações crescentes dos compostos (**23-29**). Os parasitas incubados a 28°C em placas 96 poços foram contados através da microscopia óptica. A IC₅₀ (concentração que inibe 50 % do crescimento do parasita) foi determinado por análise de regressão dos dados.

4.3.3 Atividade antiproliferativa contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

As formas promastigotas (1x10⁶ células.mL⁻¹), na fase exponencial de crescimento (72 h) foram inoculadas numa placa de 96 poços na presença de diferentes concentrações dos compostos (**23-29**). A atividade contra formas promastigotas foi avaliada após 72 h utilizando o método XTT, que consiste na incubação das culturas na presença de uma combinação do composto tetrazólio. Após o tratamento dos parasitas, 100 µL da mistura de XTT (hidróxido de sódio 0,5 mg.mL⁻¹) e PMS (0,06 mg.mL⁻¹) foi adicionada a cada poço, a placa foi incubada durante 4 horas ao abrigo da luz em 28°C e a absorbância medida a 450nm num leitor de microplacas (Bio Tek - Power Wave XS). Comparando a absorbância nos parasitas não tratados com os tratados, determinou-se a atividade inibidora. O IC₅₀ (concentração que inibe 50% do crescimento do parasita) foi determinado por análise de regressão dos dados.

4.3.4. Atividade antibacteriana – *S. aureus*

A atividade antibacteriana foi realizada pela equipe da Dra. Ana Camila Micheletti do Instituto de Química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Os ensaios com a bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) obtidas comercialmente, foram realizadas no Instituto de Química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, pelo método de microdiluição em caldo, como estabelecido pelo NCCLS (2003).

Placas de 96 poços foram preparadas colocando-se 100 μL de caldo Mueller-Hinton em cada poço. 100 μL da solução de cada composto, preparada inicialmente na concentração de 1 mg mL^{-1} foi adicionada ao primeiro poço. Então, 100 μL da solução de cada poço foi transferida para o segundo e sucessivas diluições 1:2, obtendo um volume final de 100 μL em cada poço. O inóculo foi preparado a partir de uma cultura bacteriana incubada por 24 h a 36 °C em ágar Mueller-Hinton, e uma solução de concentração aproximada 10^8 CFU mL^{-1} foi preparada em solução salina estéril 0,45%, e posteriormente diluída 1/10 em solução salina estéril, sendo 5 μL (concentração final de 10^4 CFU. mL^{-1}) foram adicionados em cada poço. Todos os testes foram realizados em triplicata e as placas foram incubadas a 36°C por 18 horas. Após este período 20 μL de uma solução aquosa (0.5 %) de cloreto de trifetil tetrazolio (TTC) foram adicionados a cada poço e as placas foram incubadas novamente a 36°C por 2 horas. Nos poços onde o crescimento bacteriano ocorreu, houve uma mudança de coloração, de incolor para vermelho. A CMI foi definida como a menor concentração de cada substância onde não ocorreu mudança de coloração da solução.

4.4 Ensaio de citotoxicidade

No precipitado formado, as células LLC-MK2 foram recolhidas, e aplicadas em placas de 96 cavidades, e incubadas a 37°C. Após 24 h, o meio será substituído com DMEM, que contém concentrações do composto derivado de naftoquinona. Após 96 h de incubação, as células foram lavadas em PBS e adicionados ao MTT (2 mg.mL^{-1}). Os cristais foram solubilizados em DMSO e realizado a absorvância em 570 nm. A concentração que diminui de 50 % do valor na absorvância observada no controle, representado CC_{50} (concentração citotóxica para 50% das células).

5.CONCLUSÃO

Com base na estratégia de hibridização molecular foram sintetizados híbridos moleculares baseados em hidrazidas aromáticas de naftoquinona. Dentre eles, o composto **23** exibiu atividade tripanocida maior do que o benzonidazol, apresentando ainda baixa citotoxicidade em células LLCMK2. Quanto à atividade leishmanicida os compostos **23** e **26 - 29** apresentaram atividade, embora inferior ao padrão, o composto **25** também possui atividade. Quanto à atividade antibacteriana, os compostos **23-26 e 29**, apresentaram bons resultados contra cepas padrão e serão avaliados contra cepas *S. aureus* resistentes.

Essas descobertas corroboram o potencial da presente abordagem e inspiram estudos adicionais sobre a descoberta de novos protótipos de fármacos antimicrobianos relacionados a híbridos de hidrazida de naftoquinona.

6.REFERÊNCIAS

ALY, A. A.; ESAM, A. I.; ALSHARARI, A. A., AL-MUAIKEL, N. S.; BEDAIR, T. M. I. Aminonaphthoquinones in Heterocyclization. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v.49, p.10-20, 2011.

AMRLS, 2017: Antimicrobial resistences learning site. Disponível em: <<https://amrls.cvm.msu.edu/pharmacology/antimicrobials/antimicrobials-an-introduction.>> Acesso em: 01 de novembro de 2017.

ANTUNES, R. M. P.; LIMA, O. E.; PEREIRA, M. S. V.; CAMARA, C. A.; ARRUDA, T. A.; CATÃO, R. M. R.; BARBOSA, T. P.; NUNES, X. P.; DIAS, C. S.; SILVA, T. M. S. Atividade antimicrobiana "in vitro" e determinação da concentração mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmagnosia**, v.4, p.517-524, 2006.

ARAÚJO, C.; FILHO, C.; SANTOS, V.; MAIA, G.; Gonsalves, A. Desenvolvimento De Fármacos Por Hibridação Molecular: Uma Aula Prática de Química Medicinal Usando Comprimidos de Paracetamol e Sulfadiazina e a Ferramenta Virtual Scifinder®. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 6, p. 51-59, 2015.

BARBOSA, T. P.; NETO, H. D. Preparação de derivados do lapachol em meio ácido e em meio básico: Uma proposta de experimentos para disciplina de química orgânica experimental. **Química Nova**, v.36, p.331-334, 2013.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; MIRANDA, A. L. P.; RODRIGUES, C. R. A química medicinal de *N*-acildrazonas: novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, anti-inflamatórios e anti-trombóticos. **Química Nova**, v. 25, p. 129-148, 2002.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de vigilância em saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 5 ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005

_____. Sistema de vigilância em saúde. **Relatório de situação: Mato Grosso do Sul**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 2 ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006

_____. Sistema de vigilância em saúde. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 2 ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Parasites – American trypanosomiasis: Antiparasitic treatment 2017a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>>. Acesso em 09 de junho de 2017.

_____. Control and Prevention. Parasites – American trypanosomiasis. Image Gallery. 2017b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>> Acesso em 09 de junho de 2017

CACIC, M. TRKOVNIK, M. CACIC, F. HAS-SCHON. Synthesis and Antimicrobial Activity os Some Derivatives of (7-Hidroxy-2-oxo-2H-choromen-4-yl)-acetic Acid Hydrazide. **Molecules**, v, 11, p. 134-147, 2006.

COELHO, T. S.; SILVA, R. S. F.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. F. R.; SCAINI, C. J.; MOURA, K. C. G.; SILVA, P. A. Activity of β -lapachone derivatives against rifampicin-susceptible and –resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. **Tuberculosis**, v. 90, p. 293-297, 2010.

COSTANTINO, L. BARLOCCO, D. Previleged Structures as Leads in Medicinal Chemistry. **Current Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 65-85, 2006.

DE CASTRO, S. L.; EMERY, F. S.; SILVA JÚNIOR, E. N. Synthesis of quinoidal molecules: Strategies towards bioactive compounds with an emphasis on lapachones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 69, p. 678-700, 2013.

DE FARIA, A. M.; FREYMULLER, E. COLLI, W.; ALVES, J. M. *Trypanosoma cruzi*: Characterization of intracellular Epimastigote-like Form. **Experimental Prasitology**, v. 92, p. 263-274, 1999.

DE MOURA, K. C. G.; EMERY, F. S; NEVES-PINTO, C.; PINTO, M. C. F. R.; DANTAS, A. P.; SALOMÃO, K.; CASTRO, S. L.; PINTO, A. V. Trypanocidal activity of isolated naphthoquinones from *Tabebuia* and some heterocyclic derivatives: a review from an interdisciplinary study. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 325-338, 2001.

DNDI. Drug for Neglected Disease Initiative. Diseases-projects: About Leihmaniasis. 2017. Disponível em: <https://www.dndi.org/diseades-projects/leishmaniasis>. Acesso em 05 de junho de 2017.

DUDLEY, H. K.; MILLER, W. H; SCHNEIDER, P. W.; MCKEE, R. L. Potential Naphthoquinone Antimalarials. 2-acylhydrazino-1,4naphthoquinones and Related Compounds. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 57, p. 2750-2755,1968.

DURAN, A. DOGAN, H. N.; ROLLAS, S. Synthesis and preliminar anticâncer activity os new 1,4-dihydro-3-(3-hydroxy-2-naphthyl)-4-substituted-5H-1,2,4-triazoline-5-thiones. **IL Farmarco**, v. 57, p. 559-564, 2002.

EPIFANO, F.; GENOVESE, S.; FIORITO, S.; MATHIEU, V.; KISS, R. Lapachol and its congeners as anticancer agents: A Review. **Phytochemistry Reviews**, v. 13, p. 37-49, 2014.

FERREIRA, D. S.; ESPERANDIM, V. R.; MARÇAL, V. NERES; B. R.; CUNHA, N. L.; E SILVA, M. L.S.; CUNHA, W. R. Natural products and Chagas disease: the action of triterpenes acids isolated from *Miconia* species, de *Miconia*. **Universitas Scientiarum**, v.18, p. 243-256, 2013.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. Leishmanioses. Antimoniais. 2017. Disponível: <http://www.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/> Acesso em 09 de setembro de 2017.

GENARO, O. Leishmaniose tegumentar Americana. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. *Parasitologia Humana*. 10 ed. Atheneu, p. 36-53, 2000a.

_____. Leishmaniose tegumentar Americana. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. *Parasitologia Humana*. 10 ed. Atheneu, p. 56-71, 2000b.

GUIMARÃES, T. T.; PINTO, M. C. F. R.; LANZA, J. S.; MELO, M. N.; MONTENETO, R. L.; MELO, I. M. M.; DIOGO, E. B. T.; FERREIRA, V. F.; CAMARA, C. A.; VALENÇA, W. O.; OLIVEIRA, R. N.; FRÉZARD, F. Potent naphthoquinones against antimony-sensitive and resistant *Leishmania* parasites: Synthesis of novel -and lapachone based 1,2,3-triazoles by copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 63, p. 523-530, 2013.

HERWALDT, B. L. Leishmaniose. In: BRAUNWALD, E.; FAUCI, A. S.; KASPER, D. L.; HAUSER, S. L.; LONGO, D. L.; JAMESON, J.R. Harrison. *Medicina Interna*, 15 ed. Vol 1. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, p. 1285-1290, 2002.

HUGHES, W. T.; GRAY, V. L.; GUTTERIDGE, W. E.; LATTER, V. S.; PUDNEY, M. Efficacy of a hydroxynaphthoquinone, 566C80, in experimental *Pneumocystis carinii* Pneumonitis. **Antimicrobial Agents and chemotherapy**, v. 34, n. 2, p. 225-228, 1990.

HUSSAIN, H.; KROHN, K. AHMAD, V. U., MIANA, G.A. GREEN, R. Lapachol: na overview. **Arkivoc**, v. ii, p. 145-171, 2007.

JACOBSEN, N.; PEDERSEN, L-E. K. Activity of 2-(1-alkenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthoquinones and related compounds against *Musca domestica*. **Pesticide Science**, v. 17, p. 511-516, 1986.

JUNIOR-VIEGAS, C.; DANUELLO, A.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Molecular Hybridization: A useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. **Current Medicinal Chemistry**, v.14, p.1829-1852, 2007.

JUNIOR, E. N. S.; GUIMARÃES, T. T.; BARRETO-MENNA, R. F. S.; PINTO, M. C. P.; SIMONE, A. A.; PESSOA, C.; CAVALCANTI, B. C.; SABINO, J. F.; ANDRADE, C. K.; GOULART, M. O. F.; CASTRO, S. L.; PINTO, A. V.; The evaluation of quinonoid compounds against *Trypanosoma cruzi*: Synthesis of imidazolic anthraquinones, nor- β -lapachone derivatives and β -lapachone-based 1,2,3-triazoles. **Biorganic & Medicinal Chemistry**, v.18, p. 3224-3230, 2010.

JUCHAU, M. R. HORITA, A. Metabolismo of Hydrazine Derivates of Pharmacologic Interest. **Drug Metabolism**, v.1, p.71-100, 1972.

KHATAB, S. N. Synthesis and Biological Activity of Novel Amino Acid- (N'- Benzoyl) Hydrazide and Amino Acid-(N'-Nicotinoyl) Hydrazide derivatives. **Molecules**, v. 10, p. 1420-3049. 2005.

KAYSER, O.; KIDERLEN, A. F.; LAATSCH, H.; CROFT, S. L. In vitro leishmanicidal activity of monomeric and dimeric naphthoquinones. **Acta Tropica**, v. 76, p. 131-138, 2000.

KIRCHHOFF, L. V. Tripanossomíase. In: BRAUNWALD, E.; FAUCI, A. S.; KASPER, D. L.; HAUSER, S. L.; LONGO, D. L.; JAMESON, J. R. Harrison. **Medicina Interna**, 15 ed. Vol 1. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, p. 1290-1292, 2002.

KUTYREV, A. A. Nucleophilic Reactions of Quinones. **Tetrahedron**, v. 47, p. 8043-8061, 1991.

LANA, M.; TAFURI, W. L. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. In: NEVES, D.P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. Parasitologia Humana. 10 ed. Atheneu, p. 73-96, 2000.LAZAR, C. A.; KLUCZYK, A.; KIYOTA, T.; KONISHI, Y., Drug Evolution Concept in Drug Design: Hybridization Method, **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 6973-6982, 2004.

LEMKE, T. L. Antiparasitic drugs. In: LEMKE, T. L.; WILLIAMS, D. A. *Principles of medicinal chemistry*. 7 ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, p. 1125-1157, 2012.

LÓPEZ, L. E.; RODRÍGUEZ, L. S.; MONTES, A. M. Synthesis, spectral and electrochemical characterization of novel 2-(fluoroanilino)-1,4-naphthoquinones. **Journal Fluorine Chemistry**. v.132, p.94-101, 2011

LOWY, F. D.; *Staphylococcus aureus* Infections. **The New England Journal of Medicine**, p.520-532. 1998.

LUIZE, P. S.; TIUMAN, S. T., MORELLO, L. G., MAZA, P. K.; NAKAMURA, T. U.; FILHO, B. P. D.; CORTEZ, D. A. G. C.; MELLO, J. C. P. M. NAKAMURA, C. V. Effects of medicinal plant extracts on growth of *Leishmania (L.) amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, p.85-94, 2005.

MAIA, R. C.; TESCH, R.; FRAGA, MANSSOUR, C. A.; Acylidrazone derivatives: a patente review. **Expert Opin**, v.24, p.1161-1170, 2014.

MAMOLO, M. G.; FALAGIANI, V.; ZAMPIERI, D.; VIO, L.; BANFI, E.; SCIALINO, G.; Synthesis and antimycobacterial activity of (3,4- diaryl-3-H-thiazol-2ylidene)-hydrazide derivatives. **IL Farmaco**, v.58, p.631-637, 2003.

MICHELETTI, A. C.; HONDA, N. K.; CARVALHO, N. C. P.; DE LIMA, D. P.; BEATRIZ, A. Design, Synthesis and in vitro Antimicrobial Activity Evaluation of NovelHybrids of Lichexantone – THC Derivatives. **Orbital: Electronic Journal of Chemistry**., v.7, p. 301-307, 2015.

MOLFETTA, F.A.; BRUNI, A.T. HONÓRIO, A.B.F.; DA SILVA, A. B.F. A structure–activity relationship study of quinone compounds with trypanocidal activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.40, p.329-338, 2005.

MEDIFOCO. Doenças de Chagas. Sinais e sintomas da fase aguda. 2017. Disponível em: <http://medifoco.com.br/doenca-de-chagas-sinais-e-sintomas-da-fase-aguda-e-cronica/>. Acesso em: 15 de janeiro de 2017.

MUÑOZ, D. L.; CARDONA, D. P.; CARDONA, A.; CARRIELA, L. M.; QUIÑONES, W.; ECHERVENI, F.; VÉLEZ, I. D.; ROBLEDO, S. M. Effect of hydrazones against intracelular amastigotes of *Leishmania panamensis* and a parasitic cystein protease. **Vitae**, v. 13. 5-12, 2016.

NAUJORKS, A. A. S.; SILVA, A. O.; LOPES, R. S.; ALBUQUERQUE, S.; BEATRIZ, A.; MARQUES, M. R.; LIMA, D. P. Novel naphthoquinone derivatives and evaluation of their trypanocidal and leishmanicidal activities. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 13, p. 428-437, 2015.

NCCLS. *Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada* - 6 ed. NCCLS document M7-A6. v.23. 2003.

OLÍMPIO, S. A.; LOPES, R. S.; LIMA, R. V.; SUNIGA, T. C.; MARQUES, M. R.; BEATRIZ, A. P.; PIRES, D. L. Synthesis and biological activity against *Trypanossoma cruzi* of substituted 1,4-naphthoquinones. **Journal European of Medicinal Chemistry**. v.60, p.51-56, 2013.

OLIVEIRA, M. F.; DIAS-NAGAO, A.; DE PONTES, V. M. O.; JÚNIOR, A. S. S. J.; COELHO, H. L. L.; COELHO, I. C. B. Tratamento etiológico, Doença de Chagas, reações adversas a medicamentos, Benzonidazol, Nifurtimox. **Revista de Patologia Tropical**, v. 3, p.209-228, 2008.

ONU BR. Nações Unidas no Brasil. Direitos Humanos. OMS publica lista inédita de bactérias resistentes 2017. Disponível: <http://www.nacoesunidas.org/oms-publica-lista-inedita-de-bacterias-resistentes/>. Acesso em 03 de março de 2017.

PERALTA, L. R.; LÓPEZ, L. I.; BELMARES, S. S.; CRUZ, A. Z.; HERRERA, R. R.; GONZÁLEZ. Naphthoquinone: Bioactivity and Green Synthesis. **The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs**. Ed. Méndez-Vilas, p. 542-550, 2015.

PINTO, A. V.; PINTO, C. N.; PINTO, M. C. F. R.; RITA, R. S.; PEZZELLA, C. A. C. Pezzella; CASTRO, S. L Trypanocidal activity of synthetic heterocyclic derivatives of active quinones form *Tabebuia* sp. **Arzneimittel Forschung**, v. 47, p. 74-79, 1997.

PINTO, A. V.; CASTRO, S. L. The Trypanocidal Activity of Naphthoquinones: A Review. **Molecules**, v. 14, 4570-4590, 2009.

PLANCHON, S. M.; WUERZBERGER, S.; FRYDMAN, B.; WITIAK, D. T.; HUTSON, P.; CHURCH, D. R.; WILDING, G.; BOOTHMAN, D. A. Beta-lapachone-mediated apoptosis in human promyelocytic leukemia (HL-60) and human prostate cancer cells: a p53-independent response. **Cancer Research**, v. 55, n. 17, p. 3706-3711, 1995.

POLANCO-HERNÁNDEZ, G.; ESCALANTE-EROSA, F.; GARCÍA-SOSA, K.; ROSADO, M. E. R.; GUZMÁN-MARÍN, E.; ACOSTA-VIANA, K. Y.; GIMÉNEZ-TURBA, A.; SALAMANCA, E.; PEÑA-RODRIGUES, LUIS. Synergistic effect of Lupenone and Caryophyllene Oxide against *Trypanosoma cruzi*. **Hindawi**. V.2, p. 1-7, 2013.

RANI, K. FERNANDEZ, A. GEORGE. A.; REMADEVI, V. K.; SUDARSANAKUNAR, M. R.; LAILA, S. P.; ARIF, M. Synthesis, spectral characterization. Molecular structure and pharmacological studies of N'- (1,4-napho-quine-2yl)isocotinohydrazide. **Spectrochimica Acta**, v. 135, p. 1156-1161, 2015.

RASSI, A. J.; RASSI, REZENDE, J. M. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). **Infect Dis Clin**, v. 26, p. 275-291, 2012.

RATH, S.; TRIVELIN, L. A. IMBRUNITO, T. R.; TOMAZELA, D. M.; JESÚS, M. N.; MARZAL. Antimoniais empregados no tratamento da Leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, v. 26, p. 550-555, 2003.

RIBEIRO, A. L.; NUNES, M. P. TEIXEIRA, M.M.; ROCHA, M.O. Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. **Nature Review Cardiology**, v.9, p.578-789.2012.

RIFFEL, A.; MEDINA, L.F. STEFANI, V. BIZANI, D. BRANDELLI, A. In vitro antimicrobial activity of a new series of 1,4-naphthoquinones. **Brazilian Journal of Medical and biological Research**, v. 35, p. 811-818, 2002.

RODRIGUES, j. H. S.; NAKAMURA, T. U.; CORRÊA, A, G.; SANGI, D. P.; NAKAMURA, C. V. A Quinoxaline Derivate as a Potent Chemotherapeutic Agent, Alone or in Combination with Benzonidazole, against *Trypanosoma cruzi*. **Journal Plos one**, v. 9, p.1-12, 2014.

RODRIGUES, D. A.; FERREIRA-SILVA, G.Á.; FERREIRA, R.A.; FERNADES, J. K.; KWEE., J. K.; SANT'ANNA, M. L.; FRAGA, A, A. M. Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation os Novel N-Acyldrazone Derivates as Potent Histone Deacetylase 6/8 Dual Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.59, p.655-670, 2016.

ROLLAS, S.; KUÇUKGUZEL, G.S.; Biological Activities of Hydrazone Derivatives. **Molecules**, v. 12. p.1910-1939, 2007.

ROMANHA, A.J.; CASTRO, S. L.; SOEIRO, M. N. C. S.; LANNES-VIEIRA, J.; RIBEIRO, I.; TALVANI, A.; BOURDIN, B.; BLUM, B.; OLIVIERI, B.; CHATELAIN, E.; CHAVES, G.; CALZADA, J. E.; BUSTAMANTE, J. M.; JUNIOR-FREITAS, L. H.; ROMERO, L.; BAHIA, M. T.; LOTROWSKA, M.; SOARES, M.; ANDRADE, S. G.; ARMSTRONG, T.; DEGRAVE, W.; ANDRADE, Z. A.; In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.105, p.1-9, 2010.

SALAS, C.; TAPIA, R. A.; CIUDAD, K.; ARMSTRONG, V.; ORELLANA, M.; KEMMERLING, U.; FERREIRA, J.; MAYA, J. D.; MORELLO, A. *Trypanosoma cruzi*: activities of lapachol and α - and β -lapachone derivates against epimastigote and trypomastigote forms. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 668-674, 2008.

SACAU, E. P.; ESTÉVEZ-BRAUN, A.; RAVELO, A. G.; FERRO, E. A.; TOKUDA, H.; MUKAINAKA, T.; NISHINO, H. Inhibitory effects of lapachol derivatives on Epstein-Barr virus activation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 483–488, 2003.

SADEK, E. M. B.; KANDEEL, E. M.; BADR, E. E. Novel Gemini Cationic Surfactants Hydrazide and 1,3- Dibromopropane: Synthesis, Evaluation of Surface and Antimicrobial Properties. **Journal of Oleo Science**, v.12, p.647-652, 2010.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de imoância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SES/MS. Secretaria de Estado de Saude de Mato Grosso do Sul. Gerência Estadual de Zoonoses. **Informe epidemiológico das leishmanioses nº 5/2017**. Disponível em: <http://www.sgvs.saude.ms.gov.br/wp-content/uploads/sites/101/2017/07/Informe-epidemiol%C3%B3gico-Leishmaniose-Visceral-n%C2%BA-5-2017.pdf>. Acesso em 12 de dezembro de 2017.

SILVA, M. N.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 407-416, 2003.

SILVA JÚNIOR, E. N.; GUIMARÃES, T. T.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; PINTO, M. C. F. R.; SIMONE, C. A.; PESSOA, C.; CAVALCANTI, B. C.; SABINO, J. R.; ANDRADE, C. K. Z.; GOULART, M. O. F.; CASTRO, S. L.; PINTO, A. V. The evaluation of quinonoid compounds against *Trypanosoma cruzi*: Synthesis of imidazolic anthraquinones, nor- β -lapachone derivatives and β -lapachone-based 1,2,3-triazoles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 3224–3230, 2010.

SILVA, A.M. CARVALHO, M. J.; CANINI, S. R. M. S.; CRUZ, E. D. A.; SIMÕES, C. L. A. P.; GIR, E. *Staphylococcus aureus* resistente à metilina: conhecimento e fatores associados à adesão da equipe de enfermagem às medidas preventivas. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v.18, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rlae/v18n3/pt_08.pdf. Acesso em: 01 de novembro de 2017.

SILVA, A. O.; LOPES, R. S.; LIMA, R. V.; TOZATTI, C. S. S.; MARQUES, M. R.; ALBUQUERQUE, S.; BEATRIZ, A.; LIMA, D. P. Synthesis and biological activity against *Trypanosoma cruzi* of substituted 1,4-naphthoquinones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, p. 51-56, 2013.

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

TONG, S. Y.; DAVIS, J. S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND, T. L.; FOWLER, V. G.; *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. **Journal AsMorg**, v. 28. P. 604-628. 2015.

WANG, J.; CHENG, Y.; WU, R.; JLANG, D.; BAI, B. TAN, D.; YAN, T.; SUN, X.; ZHANG, Q.; WU, Z. Antibacterial Activity of Juglone against *Staphylococcus aureus*: From Apparent to Proteomic. **Molecular Sciences**, v. 17, p. 1-12, 2016.

WILLIAMS, C.; ESPINOSA, O. A.; MONTENEGRO, H.; CUBILLA, L.; CAPSON, T. L. ORTEGA-BARRÍA, E.; ROMERO, L. I. Hydrosoluble formazan XTT: its application to natural products drug discovery for *Leishmania*. **Journal of Microbiological Methods**, v.55, p. 813-816, 2003.

WHO. World Health Organization. **Programmes. About us. 2017a Neglected tropical diseases**. Disponível em: <http://www.who.int/neglected.diseases/about/en>
Acesso em 01 de agosto de 2017.

_____. Media centre. Fact sheets. 2017b. **Antibiotic resistance**. Disponível: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en>. Acesso em 02 de novembro de 2017.

_____. Media centre. Key facts. 2017c. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en>. Acesso em 02 de março de 2017.

_____. Programmes. The disease 2017d. **Leishmaniasis**. Disponível: <http://www.who.int/leishmaniasis/disease/en/>. Acesso em 02 de novembro de 2017.

_____. Programmes. Leishmaniasis home. 2017e. **The vector**. Disponível: <http://www.who.int/leishmaniasis/disease/en/>. Acesso em 02 de novembro de 2017.

_____. Programmes. Epidemiology. 2017f. **Leishmaniasis**. Disponível: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>. Acesso em 02 de novembro de 2017.