

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

SÍNTESE DE DERIVADOS DE 8-HIDROXIQUINOLINA E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

ANGÉLICA ROCHA JOAQUIM

PORTO ALEGRE, 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**SÍNTESE DE DERIVADOS DE 8-HIDROXIQUINOLINA E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Dissertação apresentada por **Angélica
Rocha Joaquim** para a obtenção do
GRAU DE MESTRE em Ciências
Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Saulo Fernandes de Andrade

Coorientador: Prof. Dr. Francisco Paulo dos Santos

Porto Alegre, 2018

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 20.03.2018, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Eduardo Luis Konrath

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. Pablo Machado

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)

Profa. Dra. Simone Cristina Baggio Gnoatto

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

CIP - Catalogação na Publicação

Joaquim, Angélica Rocha
SÍNTESE DE DERIVADOS DE 8-HIDROXIQUINOLINA E
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA / Angélica
Rocha Joaquim. -- 2018.

158 f.

Orientador: Saulo Fernandes de Andrade.

Coorientador: Francisco Paulo dos Santos.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto
Alegre, BR-RS, 2018.

1. 8-Hidroxiquinolina. 2. 8-hidroxiquinolina-5-
sulfonamida. 3. 5-cloro-7-aminosubstituído-8-
hidroxiquinolina. 4. atividade antifúngica. 5.
atividade antibacteriana. I. de Andrade, Saulo
Fernandes, orient. II. dos Santos, Francisco Paulo,
coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Este trabalho foi desenvolvido no Pharmaceutical Synthesis Group, junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), e no Laboratório de Catálise Molecular, do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), em parceria com o Laboratório de Micologia Aplicada da UFRGS e a equipe da professora Andreza Martins (ICBS, UFRGS). O autor recebeu bolsa de estudos da CAPES. Agradecemos ao CNPQ, à CAPES e FAPERGS (EDITAL 04/2016 - PRONUPEQ 2016) pelo suporte financeiro.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por guiar meus passos até aqui e estar sempre presente em minha vida.

Aos meus pais, Ângela e Vilmar, por serem fundamentais em minha vida, por todos os cuidados, apoio, amor, incentivo e paciência nos momentos de minha ausência.

Ao Elias, pelo companheirismo, carinho, apoio, por todos os momentos divididos e pela ajuda fundamental no decorrer da escrita deste trabalho.

Aos meus familiares e amigos, pelos momentos felizes. Em especial, aos meus avós, padrinhos e à doce afilhada Élen, que continua sendo o meu refúgio nos momentos em que preciso descansar.

Aos meus orientadores, professores Saulo e Francisco, por todo o suporte ao bom andamento da pesquisa. Pelos ensinamentos, amizade e por serem duas grandes referências em minha vida profissional.

Aos colegas do Pharmaceutical Synthesis Group, que foram fundamentais: Débora, Isadora, Thais, Carol, Maycon, Marina e Marcela. Pela amizade, ajuda, pelas risadas e bons momentos de descontração.

Aos colegas e professores do Laboratório de Catálise Molecular, por toda a ajuda e amizade, que tornaram os dias intensos de trabalho, momentos felizes. Em especial, à Graci, Marci, Vivi, Kacris, Gabi, Nati, Victória, ao Professor José Eduardo Martins, Gustavo Chacón, Gabriel Abarca, Eduardo, Pedro Pimenta e Gustavo Bolzan.

Às professoras Grace Gosmann e Simone Gnoatto e aos colegas do Laboratório de Fitoquímica e Síntese Orgânica, pela parceria e ajuda fundamental.

Agradecimentos (conclusão)

Aos professores Alexandre Fuentefria, Aline Zimmer e Andreza Martins e suas equipes, pela parceria fundamental. Especialmente às alunas Bruna Pippi, Paula Reginatto, Thaís Ruaro e Roberta Boff, por conduzirem os experimentos com dedicação e por sempre estarem dispostas a ajudar e ensinar.

Aos professores, Gustavo Silveira, Letícia Cruz e Tiana Tasca, e suas respectivas equipes, pela parceria e pelas discussões enriquecedoras que muito me ajudaram.

À professora Amélia Henriques e à Rafaela Marin, por me apresentarem o mundo da pesquisa.

Aos técnicos e técnicas de laboratório. Especialmente à Joyce e à Gabi, pela dedicação e paciência ao conduzirem os Laboratórios de RMN.

RESUMO

A prospecção e síntese de novos derivados de 8-hidroxiquinolina está em ascensão devido às suas diversas atividades biológicas. Neste trabalho é relatada a síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de novos derivados contendo uma sulfonamida substituída na posição 5 da 8-hidroxiquinolina ou um grupamento aminossustituído na posição 7 da 5-cloro-8-hidroxiquinolina ou 5-cloro-8-metoxiquinolina. Os derivados 5-sulfonamidas foram preparados por clorossulfonação seguida da reação com a amina apropriada. Os derivados 7-aminossustituído foram sintetizados através da metilação da hidroxila da posição 8, seguida da reação de cross-coupling catalisada por paládio e desmetilação. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada através do método de microdiluição em caldo. Dentre os compostos sintetizados, **5a** (da série 5-sulfonamidas) foi o mais potente, sendo ativo contra todas as espécies fúngicas testadas, além de apresentar importante atividade contra cepas de *Staphylococcus aureus*, e baixa toxicidade contra células VERO. Isso sugere que a introdução de um grupamento retirador de elétrons em *para* no substituinte arila da posição 5 é importante para a atividade antimicrobiana. Ainda, a nanoemulsão preparada contendo **5a** manteve a atividade antifúngica da substância contra espécies de *Candida* spp. A série 7-aminossustituído também apresentou resultados muito interessantes. Desta série, o composto **5i** foi o mais potente. Isso sugere que grupamentos heterocíclicos hidrofílicos na posição 7 podem favorecer a atividade antifúngica. A presença da hidroxila livre na posição 8 parece ser essencial para a atividade antifúngica, pois os derivados protegidos por uma metila foram pouco ativos. Os derivados de 8-hidroxiquinolina **5a** e **5i** podem ser considerados para estudos posteriores na busca de novos agentes antimicrobianos.

Palavras-chave: 8-Hidroxiquinolina, 8-hidroxiquinolina-5-sulfonamida, 5-cloro-7-aminossustituído-8-hidroxiquinolina, 5-cloro-7-aminossustituído-8-metoxiquinolina, atividade antifúngica, atividade antibacteriana, nanoemulsão.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF NOVEL 8-HYDROXYQUINOLINE DERIVATIVES AND ANTIMICROBIAL EVALUATION

The synthesis and screening of new 8-hydroxyquinoline derivatives is growing, due to their various biological activities. In this work, the synthesis and antimicrobial evaluation of new derivatives containing a substituted 5-sulfonamide in the 8-hydroxyquinoline or a substituted amino group at the 7-position of the 5-chloro-8-hydroxyquinoline or 5-chloro-8-methoxyquinoline is reported. The 5-sulfonamide derivatives were prepared by chlorosulfonation followed by the reaction with the appropriate amine. The 7-amino derivatives were synthesized by methylation of the 8-hydroxyquinoline, followed by palladium-catalyzed cross-coupling reaction and demethylation. The antimicrobial evaluation was tested by the broth microdilution method. Among all the prepared compounds, **5a** (from the 5-sulfonamide series) was the most potent, being active against all the fungal species tested, while also showing important activity against *Staphylococcus aureus* strains, and low toxicity against VERO cells. This suggests that the introduction of an electron-withdrawing group at *para*-position of the *N*-aryl substituent is important for the activity. In addition, the prepared **5a** nanoemulsion maintained the antifungal activity of the compound against *Candida* spp. The 7-amino series has also presented interesting results. In this series, **5i** was the most potent compound. This suggests that the hydrophilic heterocyclic substituent at the 7-position was favorable to antifungal activity. The presence of the free hydroxyl at the 8-position is important for the antifungal activity, since the methyl-protected derivatives were poorly active. The 8-hydroxyquinoline derivatives **5a** and **5i** may be considered for further studies in the search for novel antimicrobial agents.

Keywords: 8-Hydroxyquinoline, 8-hydroxyquinoline-5-sulfonamide, 5-chloro-7-amino-8-hydroxyquinoline, 5-chloro-7-amino-8-methoxyquinoline, antifungal activity, antibacterial activity, nanoemulsion.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|-----------|
| 1 Alvos dos agentes antifúngicos..... | 24 |
| 2 Estrutura de alguns agentes antifúngicos de uso clínico..... | 25 |
| 3 Representação das estruturas da 8-hidroxiquinolina, nitroxolina e clioquinol...27 | |
| 4 Estruturas dos complexos de derivados de 8-hidroxiquinolina..... | 27 |
| 5 Estrutura do análogo do clioquinol PBT2..... | 28 |
| 6 Derivados da 8-hidroxiquinolina avaliados por Gershon e colaboradores..... | 29 |
| 7 Estrutura dos ácidos 8-hidroxiquinolinil-5-sulfônico e 7-iodo-8- hidroxiquinolinil-5-sulfônico..... | 30 |
| C1.1 Structure of 8-hydroxyquinoline 1, 8-hydroxy-5-quinolinesulfonic acid 2 and 8-hydroxy-7-iodo-5-quinolinesulfonic acid 3..... | 38 |
| C1.2 Effect of compounds 5a and 5b on VERO cells..... | 50 |
| C1.3 Activation of the 8-hydroxy-5-quinolinesulfonic acid 2..... | 54 |
| C1.4 Chlorosulfonation of the 8-hydroxyquinoline 1 and formation of derivatives 5a-5f..... | 55 |
| S1.1 ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 5a..... | 63 |
| S1.2 ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 5a..... | 64 |
| S1.3 ¹H NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5b..... | 65 |
| S1.4 ¹³C NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5b..... | 66 |
| S1.5 ¹H NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5c..... | 67 |
| S1.6 ¹³C NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5c..... | 68 |

| | | |
|--------------|---|------------|
| S1.7 | ¹H NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5d | 69 |
| S1.8 | ¹³C NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5d | 70 |
| S1.9 | ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 5e | 71 |
| S1.10 | ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 5e | 72 |
| S1.11 | ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 5f | 73 |
| S1.12 | ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 5f | 74 |
| C2.1 | Chemical structure of 8-hydroxyquinoline 1, clioquinol 2, and 5-chloro-7-iodo-8-methoxyquinoline 3 | 82 |
| C2.2 | Preparation of novel 8-hydroxyquinoline derivatives | 84 |
| S2.1 | ¹H NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 2 | 96 |
| S2.2 | ¹³C NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 2 | 97 |
| S2.3 | ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 3 | 98 |
| S2.4 | ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 3 | 99 |
| S2.5 | ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4g | 100 |
| S2.6 | ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4g | 101 |
| S2.7 | ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4h | 102 |
| S2.8 | ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4h | 103 |
| S2.9 | ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4i | 104 |
| S2.10 | ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4i | 105 |
| S2.11 | ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4j | 106 |
| S2.12 | ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4j | 107 |

| | | |
|--------------|--|------------|
| S2.13 | ¹H NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4k..... | 108 |
| S2.14 | ¹³C NMR spectrum in CDCl₃ of compound 4k..... | 109 |
| S2.15 | ¹H NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5g..... | 110 |
| S2.16 | ¹³C NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5g..... | 111 |
| S2.17 | ¹H NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5h..... | 112 |
| S2.18 | ¹³C NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5h..... | 113 |
| S2.19 | ¹H NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5i..... | 114 |
| S2.20 | ¹³C NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5i..... | 115 |
| S2.21 | ¹H NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5j..... | 116 |
| S2.22 | ¹³C NMR spectrum in DMSO-d₆ of compound 5j..... | 117 |
| 8 | Mecanismo sugerido para a formação de C-N..... | 120 |
| 9 | Relação estrutura-atividade dos novos derivados de 8-hidroxiquinolina sintetizados..... | 121 |
| 10 | Derivados da 8-hidroxiquinolina avaliados por Musiol e colaboradores (2010) e variações na posição 3 da 5,7-dicloro-8-hidroxiquinolina..... | 122 |
| 11 | Derivados do ácido 8-hidroxiquinolil-5-sulfônico avaliados por Kassem e colaboradores (2012)..... | 123 |
| 12 | Alguns dos derivados de 8-metoxiquinolina avaliados por Beugelmans e colaboradores (1988)..... | 124 |

Observação: As figuras do Anexo A (Patente “SULFONAMIDAS DERIVADAS DE 8-HIDROXIQUINOLINA, PROCESSO DE SÍNTESE, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO”) seguem numeração própria e não constam nesta lista.

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----------|
| C1.1 Antifungal activity of novel sulfonamides against <i>Candida</i> spp. and dermatophytes..... | 47 |
| C1.2 Antibacterial activity of novel sulfonamides against ATCC strains..... | 48 |
| C1.3 Antibacterial activity of novel sulfonamides against <i>S. aureus</i> clinical isolates..... | 49 |
| C1.4 Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of polymeric nanocapsules containing compound 5a against <i>Candida</i> spp. and dermatophyte isolates..... | 52 |
| S1.1 Antibacterial activity of compound 5a against <i>S. aureus</i> clinical isolates..... | 75 |
| S1.2 Minimal fungicidal concentration (MFC) of compound 5a against <i>Candida</i> spp. and dermatophytes..... | 76 |
| C2.1 Antifungal activity of novel derivatives 4g-4k and 5g-5j against <i>Candida</i> spp. and dermatophytes..... | 86 |

Observação: As tabelas do Anexo A (Patente “SULFONAMIDAS DERIVADAS DE 8-HIDROXIQUINOLINA, PROCESSO DE SÍNTESE, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO”) seguem numeração própria e não constam nesta lista.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

| | |
|---------------------------------|--|
| ANOVA | <i>Analysis of variance</i> |
| Ar | <i>Aryl</i> |
| ATCC | <i>American Type Culture Collection</i> |
| BBr ₃ | <i>Boron tribromide</i> |
| bd | <i>Broad duplet</i> |
| BINAP | <i>2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl</i> |
| C ₁₈ | <i>Octadecyl carbon chain-bonded silica column</i> |
| CDCl ₃ | <i>Deuterated chloroform</i> |
| CH ₃ I | <i>Methyl iodide</i> |
| CLSI | <i>Clinical Laboratory and Standards Institute</i> |
| ClSO ₃ H | <i>Chlorosulfonic acid</i> |
| Cs ₂ CO ₃ | <i>Cesium carbonate</i> |
| d | <i>Duplet</i> |
| dd | <i>Duplet of duplets</i> |
| DMEM | <i>Dulbecco Modified Eagle's Medium</i> |
| DMF | <i>Dimethylformamide</i> |
| DMSO- <i>d</i> ₆ | <i>Deuterated Dimethyl sulfoxide</i> |
| DNA | <i>Ácido desoxirribonucleico</i> |
| DPPE | <i>1,2-Bis(diphenylphosphino)ethane</i> |
| EDTA | <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> |

| | |
|--------------------------------|--|
| EtOAc | <i>Ethyl acetate</i> |
| EWG | <i>Electron-Withdrawing Group</i> |
| FBS | <i>Fetal Bovine Serum</i> |
| FT-IR | <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> |
| HIV | Vírus da Imunodeficiência Humana |
| HPLC | <i>High Performance Liquid Chromatography</i> |
| HRMS | <i>High Resolution Mass Spectrometry</i> |
| IC ₅₀ | <i>50% inhibitory concentration</i> |
| <i>J</i> | Constante de acoplamento escalar |
| K ₂ CO ₃ | <i>Potassium carbonate</i> |
| <i>m</i> | <i>Multiplet</i> |
| MFC | <i>Minimal Fungicidal Concentration</i> |
| MH ⁺ | Quasi-molecular ion |
| MIC (CIM) | <i>Minimal Inhibitory Concentration</i> (Concentração Inibitória Mínima) |
| mp | <i>Melting point</i> |
| MTT | <i>3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium</i> |
| m/z | Razão massa/carga |
| NB | <i>Blank nanoemulsion</i> |
| ND | <i>Not determined</i> |
| NE | <i>Nanoemulsions</i> |
| NMR | <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> |
| p | Probabilidade de significância |

| | |
|---------------------------------------|--|
| PBT2 | 5,7-dicloro-2-[(dimetilamino)metil]-8-quinolinol |
| PC | <i>Positive control</i> |
| Pd(dppf)Cl ₂ | <i>[1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocene]dichloropalladium(II)</i> |
| PDI | <i>Polydispersity indexes</i> |
| Pd ₂ (dba) ₃ | <i>Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0)</i> |
| PdCl ₂ (PhCN) ₂ | <i>Bis(benzonitrile)palladium dichloride</i> |
| sext | <i>Sextet</i> |
| SMON | <i>Subacute Myelo-optic Neuropathy</i> |
| spp | Espécies do gênero |
| t | <i>Triplet</i> |
| TMS | <i>Tetramethylsilane</i> |
| Xantphos | <i>4,5-Bis(diphenylphosphino)-9,9-dimethylxanthene</i> |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----|
| INTRODUÇÃO | 23 |
| OBJETIVOS | 31 |
| Capítulo 1. ARTIGO: “Discovery of a Novel 8-Hydroxyquinoline-5-sulfonamide as Potential Antimicrobial Agent: Synthesis, Structure–Activity Relationship, Antimicrobial Evaluation and Nanoformulation” | 35 |
| Abstract | 36 |
| Introduction | 37 |
| Materials and Methods | 39 |
| Results | 46 |
| Discussion | 54 |
| References | 58 |
| Supplementary Material 1 | 63 |
| Capítulo 2. ARTIGO: “Synthesis and Antifungal Activity of Novel 8-Hydroxyquinoline Derivatives Obtained from Palladium-catalyzed Cross-coupling Reaction” | 79 |
| Abstract | 80 |
| Introduction | 81 |
| Results and discussion | 83 |
| Conclusions | 86 |
| Experimental section | 87 |
| References | 92 |
| Supplementary Material 2 | 96 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 119 |
| CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS | 127 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 129 |
| APÊNDICE A - PATENTE: Sulfonamidas derivadas de 8-hidroxiquinolina, processo de síntese, composição farmacêutica e uso | 137 |

INTRODUÇÃO

O reino fungi compreende uma diversidade de espécies, e muitas delas são parasitas de plantas, animais, outros fungos e humanos. Desde o final da década de 60 a incidência de infecções fúngicas em humanos cresceu devido às constantes modificações da população, tais como o seu aumento, migração, e pacientes imunocomprometidos (pacientes com câncer, doenças autoimunes, transplantados, portadores do vírus HIV, por exemplo) representando hoje um grave problema de saúde pública (Vandeputte et al., 2012; Osornio et al., 2012, Chang et al., 2017).

Estima-se que, atualmente, cerca de 1,2 bilhões de pessoas no mundo sejam acometidas por doenças causadas por estes micro-organismos eucariotos (Chang et al., 2017) e 1,5 milhões de pessoas vão a óbito anualmente, sendo que, em mais de 90% destas mortes um dos seguintes gêneros está envolvido: *Cryptococcus* sp., *Candida* sp., *Aspergillus* sp. ou *Pneumocystis* sp. (Cornely et al. 2017). No Brasil, as infecções fúngicas são pouco notificadas. Um estudo recente realizado no período de um ano revelou que cerca de 3,8 milhões de brasileiros sofrem com doenças fúngicas, como a coccidioidomicose, meningoencefalite criptocócica, pneumonia por *Pneumocystis* sp. (comum em pacientes portadores do vírus HIV), histoplasmose, paracoccidioidomicose, aspergilose e infecções por *Candida* sp. (Giacomazzi et al., 2017).

As infecções fúngicas classificam-se em superficiais, cutâneas, subcutâneas e sistêmicas (Vandeputte et al., 2012). Estimativas da Organização Mundial de Saúde são de que a frequência global das micoses superficiais é de 20% a 25% da população (Souza et al., 2014). Já as micoses cutâneas são as mais comuns: a estimativa de novos casos por ano é de cerca de um bilhão e meio (Vandeputte et al., 2012). As infecções sistêmicas que acometem, principalmente, indivíduos imunocomprometidos, são uma importante causa de morbimortalidade.

Atualmente as classes de agentes antifúngicos disponíveis no mercado são: polienos, azólicos, alilaminas, equinocandinas e análogos da pirimidina (Carmona e Limper, 2017) (**Figuras 1 e 2**). Os polienos agem ligando-se ao ergosterol, afetando a integridade da membrana. Os azólicos e as alilaminas atuam na via sintética do ergosterol, alterando também a integridade da membrana. As equinocandinas afetam a síntese da parede celular. Já os análogos da pirimidina interferem na síntese de DNA. (Carmona e Limper, 2017, Chang et al., 2017, Yu et al. 2014,). Por fim, as sordarinas compreendem uma classe que está envolvida na inibição da síntese proteica. No entanto, nenhum possível candidato a fármaco desta classe emergiu para ensaios clínicos e os estudos envolvendo essas substâncias decresceram em meados de 2002 (Ostrosky-Zeichner et al., 2010).

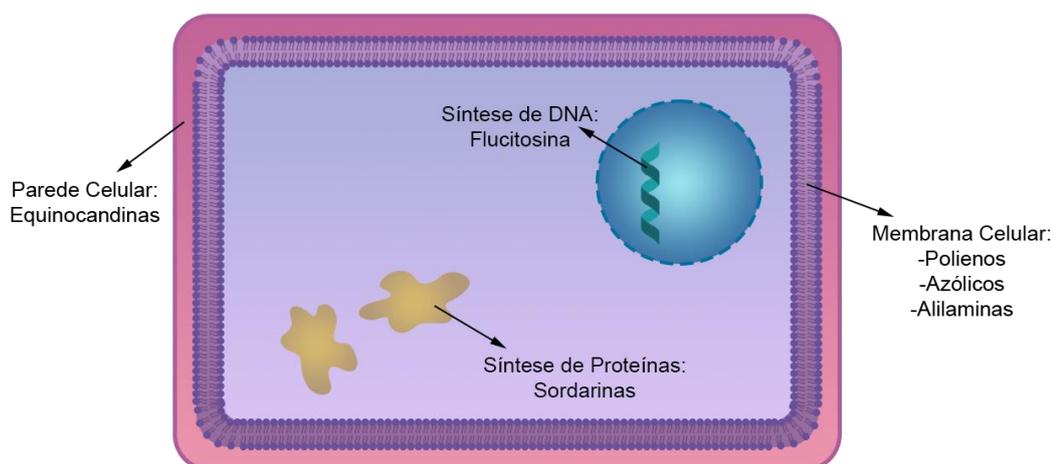


Figura 1. Alvos dos agentes antifúngicos (adaptado de Ostrosky-Zeichner et al., 2010).

Embora o cenário das infecções fúngicas seja preocupante, as terapias disponíveis ainda não satisfazem completamente a necessidade médica, por limitações relacionadas ao espectro de ação, potência, propriedades farmacocinéticas e/ou segurança (a manutenção da biologia celular eucariótica básica de células fúngicas e aquelas de mamíferos leva a problemas relacionados ao perfil de segurança do fármaco) (Denning e Bromley, 2015; Ostrosky-Zeichner et al., 2010; Gulshan e Moye-Rowley, 2007). Além disso,

embora novos agentes antifúngicos tenham sido introduzidos, como os novos agentes azólicos (voriconazol e posaconazol), que apresentam maior potência e espectro de ação do que os demais representantes da classe (Bergold e Georgiadis, 2004), a resistência aos antimicrobianos ainda é uma limitação para o tratamento de infecções fúngicas, mesmo para os novos fármacos (Chang et al., 2017; Pfaller, 2012). Dessa forma, o número de antifúngicos seguros e eficazes disponíveis para o tratamento de micoses ainda é restrito (Carmona e Limper, 2017, Chang et al., 2017).

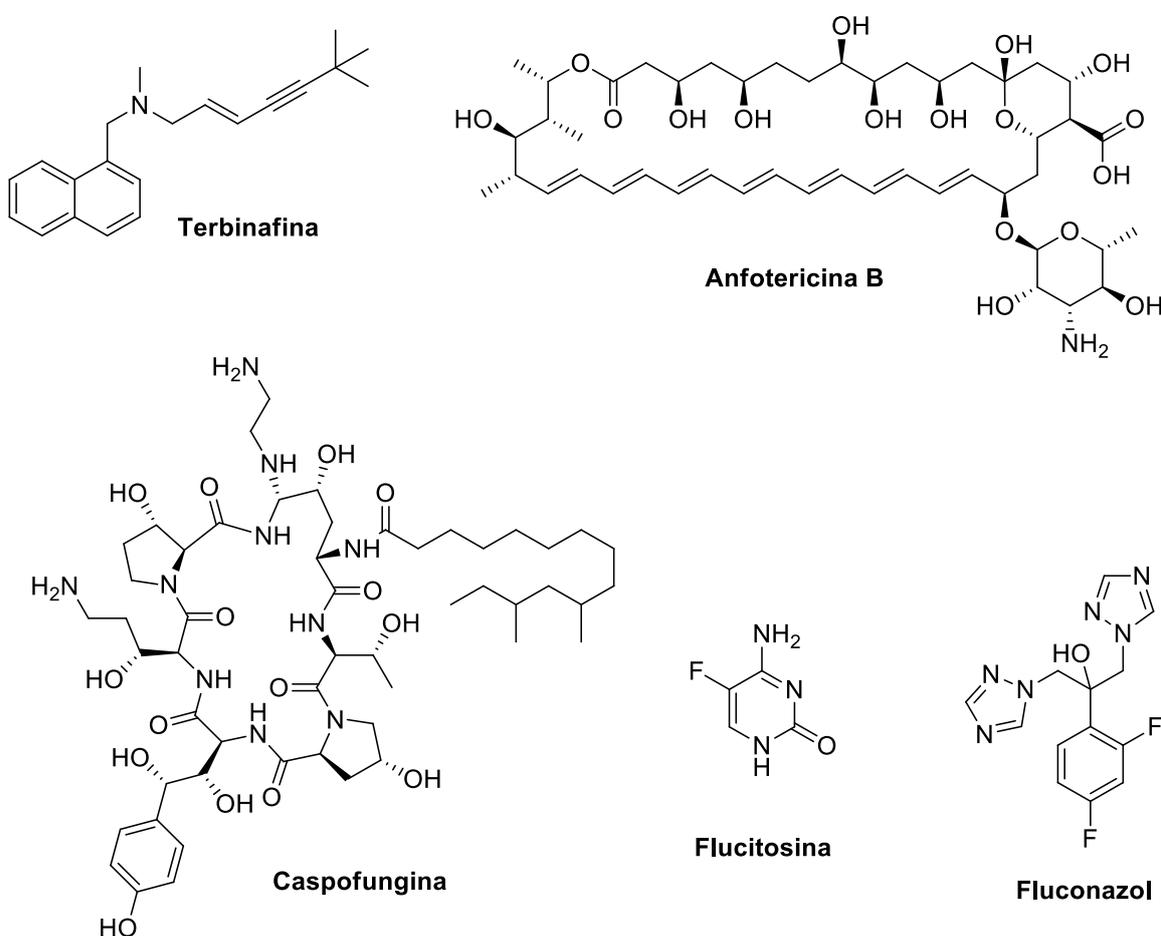


Figura 2. Estrutura de alguns agentes antifúngicos de uso clínico: Terbinafina (representante das alilaminas), Anfotericina B (poliênico), Caspofungina (representante das equinocandinas), Flucitosina (análogo da pirimidina) e Fluconazol (representante dos azólicos).

As bactérias também estão entre as mais frequentes causas de infecção. Muitas delas estão presentes na microbiota humana sem causar danos, porém podem ser oportunistas, causando infecções em indivíduos imunocomprometidos (Heggendorrn et al., 2016).

A frequência das infecções bacterianas vem mudando gradativamente. Observa-se uma redução de bactérias Gram-negativas isoladas em pacientes hospitalizados, enquanto que as Gram-positivas tem se mostrado mais prevalentes (Heggendorrn et al., 2016). Dentre as bactérias mais comuns causadoras de infecções destaca-se *Staphylococcus aureus*, uma bactéria Gram-positiva que, desde a década de 60, vem preocupando a comunidade hospitalar pela incidência de resistência bacteriana (Evangelista e Oliveira, 2015). Esse problema é ainda agravado pelo modesto número de novos agentes antibacterianos em desenvolvimento, pelo uso indiscriminado de antibióticos e pelo uso da terapia incorreta no tratamento (Heggendorrn et al., 2016; Magiorakos et al., 2012).

Neste contexto, é muito importante a busca e desenvolvimento de novas terapias para o tratamento de infecções fúngicas e bacterianas. Uma alternativa promissora são os análogos da 8-hidroxiquinolina.

A 8-hidroxiquinolina (**1**, **Figura 3**), pertencente à classe das quinolinas, apresenta um anel heterocíclico de seis membros fundido a um anel benzênico. Este núcleo ocorre em uma série de compostos naturais e substâncias que exibem atividades biológicas tais como antibacteriana, antifúngica, antiviral, antioxidante e antiparasitária (Sashidhara et al. 2009; Kassem et al. 2012; Kadri et al. 2014; Lam et al. 2014; Cherdtrakulkiat et al. 2016; Zuo et al. 2016). Acredita-se que o mecanismo de ação desta classe está relacionado à capacidade quelante, principalmente, de íons divalentes pela hidroxila e o nitrogênio do anel quinolínico (**Figura 4**) (El-Megharbel e Refat, 2015).

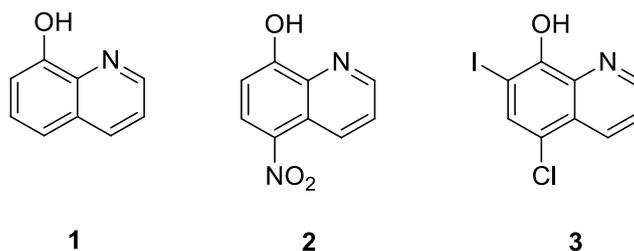


Figura 3. Representação das estruturas da 8-hidroxiquinolina (1), nitroxolina (2) e clioquinol (3).

A 5-nitro-8-hidroxiquinolina, ou nitroxolina (**2, Figura 3**), é um agente antibacteriano derivado da 8-hidroxiquinolina utilizado no tratamento de infecções do trato urinário na Europa. Apresenta amplo espectro de ação, sendo ativo contra a maioria das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas uropatogênicas (Naber et al., 2014). Atualmente a nitroxolina vem sendo estudada ainda por apresentar atividade anticâncer (Mirković et al., 2015; Chan-on et al., 2015).

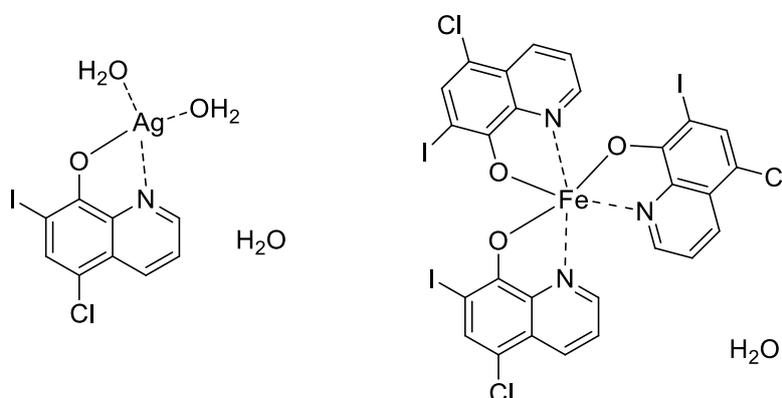


Figura 4. Estruturas dos complexos de derivados de 8-hidroxiquinolina (adaptado de El-Megharbel e Refat, 2015).

Outro derivado da 8-hidroxiquinolina, a 5-cloro-7-iodo-8-hidroxiquinolina, conhecido como clioquinol (**3, Figura 3**), foi utilizado entre as décadas de 50 e 70 como um agente antiparasitário oral para prevenção e tratamento de amebíase intestinal, embora o seu mecanismo de ação como um

antimicrobiano fosse desconhecido (Mao e Schimmer, 2008). Entretanto, em 1970, devido a relatos de neurotoxicidade em pacientes japoneses (cerca de 10.000 foram afetados), as formas orais foram retiradas do mercado. O clioquinol foi considerado um agente causador da síndrome SMON, a neuropatia mielo-óptica subaguda (Nakae et al., 1973).

Após a proibição do uso do clioquinol houve um considerável desaparecimento de novos casos da síndrome (Konagaya et al., 2004). As formulações tópicas para o tratamento de infecções fúngicas e parasitárias permaneceram disponíveis (Mao e Schimmer, 2008). Além disso, o clioquinol originou estudos para o desenvolvimento de compostos antitumorais, além de demonstrar um potencial efeito para o tratamento de doenças não infecciosas tais como Alzheimer, Parkinson e Huntington (Cherny et al., 2001; Ritchie et al., 2003; Nguyen et al., 2005; Chen et al., 2007). Um análogo do clioquinol, o **PBT2** (5,7-dicloro-2-[(dimetilamino)metil]-8-quinolinol, **Figura 5**) foi desenvolvido (Prana Biotechnology) para o tratamento da doença de Alzheimer. Este derivado completou os estudos clínicos de fase IIa, mas não teve resultados interessantes nos estudos de fase IIb (Oliveri e Vecchio, 2016).

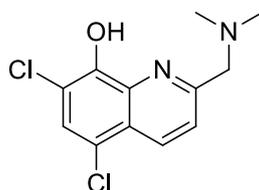


Figura 5. Estrutura do análogo do clioquinol PBT2.

A relação entre o uso do clioquinol e a SMON ainda é discutida. Um estudo apontou que, de 735 pacientes com a síndrome, documentados para análise, 569 não haviam utilizado o medicamento antes de ter o efeito indesejável (Asao, 1979). Pesquisadores buscam, ainda, a possível causa da toxicidade do clioquinol. Arbiser e colaboradores (1998) realizaram um estudo que verificou uma possível contribuição do quelato de zinco-clioquinol para toxicidade mitocondrial. Estudos mais recentes relatam que a deficiência de

vitamina B12 concomitante pode estar relacionada com os casos de pacientes com SMON (Helmuth, 2000). Ainda, esses efeitos neurológicos secundários podem estar associados às diferentes formulações de clioquinol usadas no Japão, além da influência da susceptibilidade genética, já que a incidência da síndrome em outros países era praticamente nula (Nakae et al., 1973; Helmuth, 2000). Já um estudo de revisão mostra dados toxicológicos do clioquinol, com análises realizadas em animais e seres humanos. Este estudo aponta que a neurotoxicidade foi um efeito adverso importante, porém, a dose necessária para que o mesmo ocorra em animais, ultrapassa a dose requerida para o tratamento da doença de Alzheimer ou câncer (Mao e Schimmer, 2008).

Apesar da atividade antifúngica do clioquinol ser bastante conhecida e investigada, não existem muitos estudos sobre o mecanismo de ação deste. Além disso, pesquisadores já avaliaram outros derivados da 8-hidroxiquinolina com potencial antifúngico, no entanto, a ausência de dados toxicológicos sobre células humanas e informações a respeito do seu comportamento sobre as células fúngicas são limitações (Gershon et al., 2001).

Gershon e colaboradores (2001) realizaram um estudo que avaliou vinte e seis análogos da 8-hidroxiquinolina contendo um grupo ácido sulfônico nas posições 5 ou 7 e com outras substituições nos carbonos 2, 5 e/ou 7 (**Figura 6**) contra as espécies fúngicas *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Myrothecium verrucaria*, *Trichoderma viride*, *Mucor cirinelloides* e *Trichophyton mentagrophytes*.

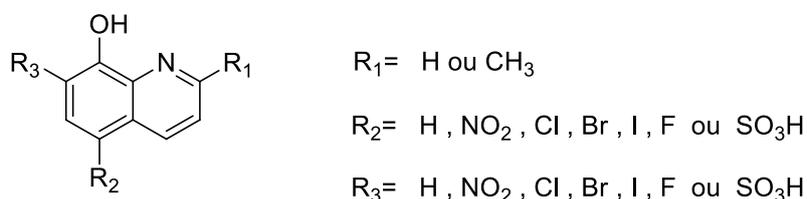


Figura 6. Derivados da 8-hidroxiquinolina avaliados por Gershon e colaboradores (2001).

Verificou-se que a presença dos halogênios cloro e bromo nas posições 5 ou 7, em geral, favoreceu a atividade antifúngica, o que não foi observado

com os compostos fluorados. A presença do iodo na posição 7 também levou a um incremento da atividade contra algumas espécies. Embora a presença de halogênios possa estar relacionada a atividade relevante observada, estes podem estar relacionados também, ao aumento da toxicidade. No mesmo estudo, constatou-se que o ácido 8-hidroxiquinolinil-5-sulfônico (**Figura 7**) não apresentou atividade antifúngica contra as espécies testadas, entretanto os principais fungos prevalentes em infecções cutâneas não foram avaliados e testes com leveduras não foram realizados.

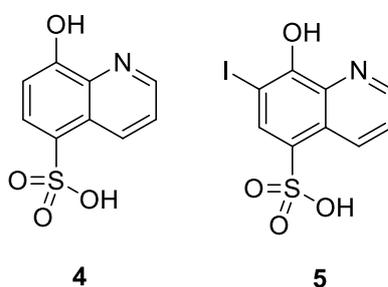


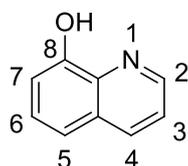
Figura 7. Estrutura dos ácidos 8-hidroxiquinolinil-5-sulfônico (4) e 7-iodo-8-hidroxiquinolinil-5-sulfônico (5).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa avaliou a atividade do ácido 8-hidroxi-5-quinolinilsulfônico e do ácido 7-iodo-8-hidroxi-5-quinolinilsulfônico (**Figura 7**) contra isolados de *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Microsporium canis*, *M. gypseum*, *Trichosporon mentagrophytes* e *T. rubrum*. Estas substâncias apresentaram atividade relevante para estas cepas com CIM entre 1-1024 µg/mL (Pippi et al., 2017). Estas substâncias foram muito mais ativas nestas cepas do que nas avaliadas anteriormente por Gershon et. al. sendo promissores protótipos para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos (Gershon et al. 2001). No entanto, os ácidos sulfônicos, geralmente, apresentam problemas de absorção por via oral e também de transposição de membranas celulares, uma vez que devido à sua característica ácida se encontra na forma ionizada em pH biológico. Logo, a conversão na sulfonamida é interessante para resolver este problema, uma vez que, a sulfonamida é um ácido muito fraco e não se ioniza.

OBJETIVOS

Objetivos Gerais:

- Sintetizar duas séries de derivados de 8-hidroxiquinolinas contendo:
 - a) Sulfonamida *N*-substituída na posição 5;
 - b) Um grupo aminossubstituído na posição 7;
- Avaliar a atividade dos novos compostos contra espécies fúngicas e bacterianas patogênicas.



Objetivos Específicos:

- Sintetizar e caracterizar derivados 8-hidroxiquinolinas;
- Avaliar a atividade antifúngica e antibacteriana dos derivados contendo uma sulfonamida *N*-substituída na posição 5 através do método da microdiluição em caldo, em parceria com a equipe dos professores Alexandre Meneghello Fuentefria (Laboratório de Micologia Aplicada - UFRGS) e Andreza Francisco Martins (Instituto de Ciências Básicas da Saúde);
- Avaliar a atividade antifúngica dos derivados contendo um grupo aminossubstituído na posição 7 através do método da microdiluição em caldo, em parceria com a equipe do professor Alexandre Meneghello Fuentefria (Laboratório de Micologia Aplicada - UFRGS);
- Avaliar a citotoxicidade dos derivados sintéticos mais ativos;
- Desenvolver uma formulação para uso tópico contendo o composto mais ativo.

CAPÍTULO 1. ARTIGO: “DISCOVERY OF A NOVEL 8-HYDROXYQUINOLINE-5-SULFONAMIDE AS POTENTIAL ANTIMICROBIAL AGENT: SYNTHESIS, STRUCTURE–ACTIVITY RELATIONSHIP, ANTIMICROBIAL EVALUATION AND NANOFORMULATION”

O texto completo do Capítulo 1, que na dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas 35-76, foi suprimido por tratar-se de manuscrito submetido para publicação em periódico científico. Consta da síntese de derivados de 8-hidroxiquinolina contendo uma sulfonamida *N*-substituída na posição 5, avaliação da atividade antimicrobiana, estudo de citotoxicidade e preparação de uma nanoformulação contendo o derivado mais ativo. Das substâncias sintetizadas, três apresentaram atividade antimicrobiana interessante.

**CAPÍTULO 2. ARTIGO: “SYNTHESIS AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF
NOVEL 8-HYDROXYQUINOLINE DERIVATIVES OBTAINED FROM
PALLADIUM-CATALYZED CROSS-COUPPLING REACTION”**

O texto completo do Capítulo 2, que na dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas 79-117, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico. Consta da síntese de derivados 5-cloro-7-aminossustituído-8-hidroxi e 8-metoxiquinolina e avaliação da atividade antifúngica. Das nove substâncias sintetizadas, quatro apresentaram atividade antifúngica interessante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O texto completo desta seção, que na dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas 119-125, foi suprimido por tratar-se de informações para publicação em periódico científico. Consta da apresentação dos resultados e discussão dos Capítulos 1 e 2: relação estrutura-atividade elucidada e comparações com trabalhos da literatura anteriores.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O texto completo desta seção, que na dissertação defendida ocupa as páginas 127 e 128, foi suprimido por tratar-se de informações para publicação em periódico científico. Consta da apresentação das conclusões dos Capítulos 1 e 2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANSARI MJ et al. Evaluation of antifungal activity of olive oil based nanoemulsions. **Bull Environm Pharm Life Sciences**. 5, 01-04, 2016.

ARBISER JL et al. Clioquinol-zinc chelate: A candidate causative agent of subacute myelo-optic neuropathy. **Mol Med**. 4, 665-670, 1998.

ASAO M. Clioquinol and S.M.O.N.: Reanalysis of original data. **Lancet**. 8113, 446, 1979.

BERGOLD AM e GEORGIADIS S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. **Visão Acadêmica**. 5,159-162, 2004.

BEUGELMANS R et al. Synthèse par S et évaluation de l'activité amoebicide de nouveaux dérivés quinoléiniques. **Eur J Med Chem**. 23, 539-546, 1988.

CARMONA EM e LIMPER AH. Overview of treatment approaches for fungal infections. **Clin Chest Med**. 38, 393-402, 2017.

CHANG Y-L et al. New facets of antifungal therapy. **Virulence**. 8, 222-236, 2017.

CHAN-ON W et al. Quinoline-based clioquinol and nitroxoline exhibit anticancer activity inducing FoxM1 inhibition in cholangiocarcinoma cells. **Drug Des Dev Ther**. 8, 2033-2047, 2015.

CHEN D et al. Clioquinol, a therapeutic agent for Alzheimer's disease, has proteasome-inhibitory, androgen receptor-suppressing, apoptosis-inducing, and antitumor activities in human prostate cancer cells and xenografts. **Cancer Research**. 67, 1636–1644, 2007.

CHERDTRAKULKIAT R et al. Derivatives (halogen, nitro and amino) of 8-hydroxyquinoline with highly potent antimicrobial and antioxidant activities. **Biochem Biophys Rep**. 6, 135-141, 2016.

CHERNY RA et al. Treatment with a copper–zinc chelator markedly and rapidly inhibits beta-amyloid accumulation in Alzheimer’s disease transgenic mice. **Neuron**. 30, 665–676, 2001.

CORNELY OA et al. Improving outcome of fungal diseases – Guiding experts and patients towards excellence. **Mycoses**. 60, 420–425, 2017.

DENNING DW e BROMLEY MJ. How to bolster the antifungal pipeline. **Infect Dis**. 347, 1414-1416, 2015.

EL-MEGHARBEL SM e REFAT MS. Ligational behavior of clioquinol antifungal drug towards Ag(I), Hg(II), Cr(III) and Fe(III) metal ions: Synthesis, spectroscopic, thermal, morphological and antimicrobial studies. **J Molecular Struct**. 1085:222-234, 2015.

EVANGELISTA SS e OLIVEIRA AC. *Staphylococcus aureus* metilino resistente adquirido na comunidade: um problema mundial. **Rev Bras Enf**. 68, 136-143, 2015.

GERSHON H et al. Antifungal activity of substituted 8-quinolinol-5- and 7-sulfonic acids: a mechanism of action is suggested based on intramolecular synergism. **Mycopathologia**. 155, 213–217, 2001.

GIACOMAZZI J et al. The burden of serious human fungal infections in Brazil. **Mycoses**. 59, 145–150, 2016.

GULSHAN K e MOYE-ROWLEY WS. Multidrug resistance in fungi. **Eukaryot Cell**, 6, 1933-1942, 2007.

HARTWIG J. Carbon–heteroatom bond formation catalysed by organometallic complexes. **Nature**, 455, 314-322, 2008.

HEGGENDORNN LH et al. Epidemiological profile and antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from nosocomial infections. **Revista Saúde e Meio Ambiente**. 2, 26-47, 2016.

HELMUTH L. An antibiotic to treat Alzheimer's? **Science**. 290, 1273-1274, 2000.

HUSSAIN A et al. New perspectives in the topical delivery of optimized amphotericin B loaded nanoemulsions using excipients with innate anti-fungal activities: A mechanistic and histopathological investigation. **Nanomedicine: NBM**. 13, 1117-1126, 2017.

KADRI D et al. The potential of quinoline derivatives for the treatment of *Toxoplasma gondii* infection. **Exp Parasitol**. 145, 135-144, 2014.

KASSEM EM et al. Synthesis, Antimicrobial, and Antiviral Activities of Some New 5-Sulphonamido-8-hydroxyquinoline Derivatives. **Arch Pharm Res**. 35, 955-964, 2012.

KONAGAYA M et al. Clinical analysis of longstanding subacute myelo-optic-neuropathy: sequelae of clioquinol at 32 years after its ban. **J Neurol Sci**. 218, 85–90, 2004.

LAM K-H et al. Preparation of 8-hydroxyquinoline derivatives as potential antibiotics against *Staphylococcus aureus*. **Bioorganic Med. Chem. Lett**. 24, 367-370, 2014.

MAGIORAKOS AP et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clin Microbiol Infect**. 18, 268–281, 2012.

MAO X e SCHIMMER AD. The toxicology of Clioquinol. **Toxicol Lett**. 182, 1–6, 2008.

MIRKOVIĆ B et al. Nitroxoline impairs tumor progression in vitro and in vivo by regulating cathepsin B activity. **Oncotarget**. 6, 19027–19042, 2015.

MUSIOL R et al. Investigating the Activity Spectrum for Ring-Substituted 8-Hydroxyquinolines. **Molecules**. 15, 288-304, 2010.

NABER KG et al. Review of the literature and individual patients' data meta-analysis on efficacy and tolerance of nitroxoline in the treatment of uncomplicated urinary tract infections. **BMC Infect Dis.** 14, 2014.

NAKAE K et al. Relation between subacute myelo-optic neuropathy (S.M.O.N.) and clioquinol: nationwide survey. **Lancet.** 171–173, 1973.

NGUYEN T et al. Clioquinol down-regulates mutant huntingtin expression in vitro and mitigates pathology in a Huntington's disease mouse model. **Proc Natl Acad Sci.** 102, 11840–11856, 2005.

OLIVERI V e VECCHIO G. 8-Hydroxyquinolines in medicinal chemistry: A structural perspective. **Eur J Med Chem.** 120, 252-274, 2016.

OSORNIO JS. et al. Epidemiology of Invasive Fungal Infections in Latin America. **Curr Fungal Infect Rep.** 6, 23-34, 2012.

OSTROSKY-ZEICHNER L et al. An insight into the antifungal pipeline: selected new molecules and beyond. **Nat Rev Drug Discov.** 9, 719-27, 2010.

PFALLER MA. Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. **Am Journal Med.** 125, S3-S13, 2012.

PIPPI B et al. Evaluation of 8-hydroxyquinoline derivatives as hits for antifungal drug design. **Med Mycol.** 00, 01-11, 2017.

RITCHIE CW. et al. Metal-protein attenuation with iodochlorhydroxyquin (clioquinol) targeting A beta amyloid deposition and toxicity in Alzheimer disease: a pilot phase 2 clinical trial. **Arch Neurol.** 60, 1685–1691, 2003.

SASHIDHARA KV et al. Anti-dislipidemic and antioxidative activities of 8-hydroxyquinoline derived novel keto-enamine Schiff's bases. **Eur J Med Chem.** 44, 1813-1818, 2009.

SINGH Y et al. Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. **J Control Release.** 252, 28-49, 2017.

SOUZA TS et al. Prevalência de micoses superficiais diagnosticadas em um laboratório de análises clínicas em Goiânia, Goiás. **Estudos**, Goiânia, 41, 855-868, 2014.

VANDEPUTTE P et al. Antifungal Resistance and New Strategies to Control Fungal Infections. **Int Journal Microbiol.** 1-26, 2012.

YU S et al. Triazole derivatives with improved in vitro antifungal activity over azole drugs. **Drug Des Devel Ther.** 8, 383–390, 2014.

ZUO R et al. In vitro antifungal and antibiofilm activities of halogenated quinoline analogues against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. **Int J Antimicrob Agents.** 48, 208-211, 2016.

ANEXO A. PATENTE: “SULFONAMIDAS DERIVADAS DE 8-HIDROXIQUINOLINA, PROCESSO DE SÍNTESE, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO”

Relatório Descritivo de Patente de Invenção

Campo da Invenção

[1] A presente invenção se refere à obtenção de substâncias sintéticas contendo sulfonamidas derivadas de 8-hidroxiquinolina, composições farmacêuticas contendo as referidas moléculas e ao uso dessas composições, especialmente como agentes antifúngicos, antibacterianos e anti- *Trichomonas vaginalis*. Os compostos de baixos pesos moleculares obtidos a partir do processo de síntese favorecem as propriedades farmacocinéticas das composições e a efetividade da terapia. Esses compostos apresentam, ainda, atividade antifúngica, antibacteriana e anti- *Trichomonas vaginalis* conforme observado em testes *in vitro*.

Antecedentes da Invenção

[2] Desde o final da década de 60 a incidência de infecções fúngicas em humanos cresceu devido às constantes modificações da população, tais como o seu aumento, migração, e pacientes imunocomprometidos (pacientes com câncer, transplantados, portadores do vírus da AIDS, por exemplo) representando hoje um grave problema de saúde pública (Vandeputte et al., 2012; Osornio et al., 2012).

[3] As infecções fúngicas classificam-se em superficiais, cutâneas, subcutâneas e sistêmicas (Vandeputte et al., 2012). Estimativas da Organização Mundial de Saúde são de que a frequência global das micoses superficiais é de 20% a 25% da população (Souza et al., 2014). Já as micoses cutâneas são as mais comuns: a estimativa de novos casos por ano é de cerca de um bilhão e meio (Vandeputte et al., 2012). As infecções sistêmicas que acometem, principalmente, indivíduos imunocomprometidos, são uma importante causa de morbimortalidade. As infecções hospitalares causadas pelo gênero *Candida* sp., são consideradas a quarta causa mais comum de infecções sanguíneas nos Estados Unidos, e sétima na Europa. No Brasil, México, Argentina, Chile, Colômbia e Costa Rica, as taxas de mortalidade variam entre 20 e 63%. (Osornio et al., 2012).

[4] Os medicamentos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas ainda não satisfazem completamente a necessidade médica, por limitações relacionadas ao espectro de ação, potência, propriedades farmacocinéticas e segurança (a manutenção da biologia celular eucariótica básica de células fúngicas e aquelas de mamíferos leva a problemas relacionados ao perfil de segurança do fármaco) (Carrillo-Muñoz et al., 2006; Gulshan e Moye-Rowley, 2007; Bergold e Georgiadis, 2004). Além disso, embora novos agentes antifúngicos tenham sido introduzidos, como os novos agentes azólicos (voriconazol e posaconazol), que apresentam maior potência e espectro de ação do que os demais representantes da classe (Bergold e Georgiadis, 2004), a resistência aos antimicrobianos ainda é uma limitação para o tratamento de infecções fúngicas (Pfaller, 2012), visto que cepas mutantes são frequentemente isoladas (Gulshan e Moye-Rowley, 2007). Dessa forma, o número de antifúngicos seguros e eficazes disponíveis para o tratamento de micoses ainda é restrito (Carrillo-Muñoz et al., 2006; Gulshan e Moye-Rowley, 2007).

[5] Um derivado da 8-hidroxiquinolina, a 5-cloro-7-iodo-8-hidroxiquinolina, conhecida como clioquinol, foi utilizado entre as décadas de 50 e 70 como um agente antiparasitário oral para prevenção e tratamento de amebíase intestinal, embora o seu mecanismo de ação como um antimicrobiano fosse desconhecido (Mao e Schimmer, 2008). Entretanto, em 1970, devido a relatos de neurotoxicidade em pacientes japoneses, as formas orais foram retiradas do mercado. O clioquinol foi considerado um agente causador da síndrome SMON, a neuropatia mielo-óptica subaguda (Nakae et al., 1973). Porém, como a relação entre o uso do clioquinol e a SMON ainda é discutida e visto que o núcleo 8HQ pode ser considerado uma estrutura privilegiada apresentando potencial para desenvolvimento de fármacos para diversas enfermidades, vários grupos tem se proposto a realizar modificações neste núcleo com o objetivo de desenvolver novos agentes para tratamento do câncer,, Alzheimer, Parkison e Huntington, além do próprio potencial antimicrobiano (Cherny et al., 2001; Ritchie et al., 2003; Nguyen et al., 2005; Chen et al., 2007).

[6] Em relação a atividade antifúngica, recentemente, Musiol e colaboradores (2010) avaliaram um total de doze análogos contra oito espécies fúngicas. A atividade antifúngica de quatro derivados de 8-hidroxiquinolina contendo sulfonamidas na posição 5 foi praticamente nula. Dois dos substituintes testados apresentam um grupo fenila com espaçador de dois ou quatro carbonos. Entretanto, testes com o análogo 5-sulfonamida-8-hidroxiquinolina substituído por uma fenila ou outro heterociclo aromático ligado diretamente ao nitrogênio da sulfonamida, não foram realizados e são interessantes, pois, geralmente, as sulfonamidas disponíveis para o tratamento de infecções bacterianas possuem o nitrogênio ligado diretamente ao anel aromático.

[7] Além destes estudos, existem patentes que descrevem moléculas similares, mas não idênticas: as retrossulfonamidas. WO2010051064, Compounds that inhibit NFkB activity - A patente em análise descreve uma série de substâncias derivadas da quinolina substituída na posição 8 por uma retrossulfonamida que possui o nitrogênio ligado ao anel e não o grupo sulfonila, além disso não possui o grupo hidroxila na posição 8. As moléculas apresentam atividade inibitória do fator nuclear kB, envolvido em diversas vias de transdução da resposta inflamatória, oncogênese, infecção viral, apoptose, dentre outras vias possuindo, portanto, uso diferente também WO2012110603, Novel sulfonaminoquinoline hepcidin antagonists - A patente em análise descreve substâncias capazes de inibir a hepcidina, proteína importante na manutenção da homeostase do ferro. Semelhante à patente comentada anteriormente, esta traz sulfonamidas na posição 8 da quinolina sem a presença do grupo hidroxila.

Sumário da Invenção

[8] Na presente invenção, propõe-se a síntese de análogos de 8-hidroxiquinolina contendo uma sulfonamida na posição 5, variando o substituinte da sulfonamida de modo a se obterem derivados híbridos com as sulfas antimicrobianas inéditos conservando na estrutura os grupos

farmacofóricos de ambas as classes. Desse modo, a presente invenção, utilizando de estudos de relação estrutura atividade (REA), levou a novas moléculas com atividade antifúngica, antibacteriana e anti- *Trichomonas vaginalis* na faixa de µg/mL ou µM baixo.

[9] Com relação à síntese de derivados da 8-hidroxiquinolina contendo uma sulfonamida na posição 5, utilizou-se adaptações da literatura para obtenção dos derivados conforme se segue:

a) Em relação à síntese do intermediário cloreto de sulfonila (Figura 2): A reação de sulfonilação utiliza como reagentes a 8-hidroxiquinolina ou 7-halo-8-hidroxiquinolina e o ácido clorossulfônico a temperatura ambiente, por duas horas. Esta reação foi adaptada de Pierce que utilizou este processo para sulfonilação de 8-hidroxi-2-metil-quinolina (Figura 2). PIERCE, D. A., JOTTERAND, N., CARRICO, I. S., IMPERIALI, B. Derivatives of 8-Hydroxy-2-methyl-quinoline are Powerful Prototypes for Zinc Sensors in Biological Systems. *Journal of the American Chemical Society*, 123 (21), p. 5160–5161, 2001.

b) Em relação à síntese das sulfonamidas inéditas derivadas da 8-hidroxiquinolina (Figura 3): A reação que leva à formação de sulfonamidas utilizando como reagentes o cloreto de sulfonila e uma amina apropriada (Figura 3) é realizada em um solvente como a acetonitrila na temperatura de 80°C por três horas. Esta reação foi adaptada de Aik que utilizou outras aminas diferentes. AIK, W.; DEMETRIADES, M.; HAMDAN, M. K. K.; BAGG, E. A. L.; YEOH, K. K.; LEJEUNE, C.; ZHANG, Z.; MCDONOUGH, M. A.; SCHOFIELD, C. J. Structural Basis for Inhibition of the Fat Mass and Obesity Associated Protein (FTO). *Journal of Medicinal Chemistry*, 56, p. 3680-3688, 2013.

[10] Entretanto, a presente invenção é distinta de todos os documentos supracitados, uma vez que descreve a obtenção de substâncias inéditas bem como a avaliação antimicrobiana destas substâncias, o que fornece subsídios para o desenvolvimento de fármacos antifúngicos, antibacterianos e anti- *Tricomonas vaginalis*. Além disso, alguns dos derivados obtidos foram muito potentes contra estes micro-organismos sendo que é a

primeira vez que são descritos derivados de 8-hidroxiquinolina contendo sulfonamidas na posição 5 apresentando atividade promissora para serem desenvolvidos como candidatos à fármacos para essas enfermidades; para alguns isolados os derivados dessa invenção foram mais ativos que os fármacos comercialmente disponíveis.

Breve Descrição das Figuras

[11] A Figura 1 traz exemplos de fórmulas estruturais de moléculas sintetizadas na presente invenção.

[12] A Figura 2 representa o esquema dos cloretos de sulfonila, produtos intermediários da rota de síntese.

[13] A Figura 3 mostra o esquema de síntese dos derivados de 8-hidroxiquinolinas contendo uma sulfonamida na posição 5.

[14] A Figura 4 representa a fórmula estrutural genérica para as sulfonamidas derivadas da 8-hidroxiquinolina.

Descrição Detalhada da Invenção

[15] A presente invenção compreende compostos derivados de 8-hidroxiquinolina, composições farmacêuticas contendo tais compostos e excipientes farmacêuticamente aceitáveis, bem como o uso das mesmas na terapia antifúngica, antibacteriana e anti- *Trichomonas vaginalis*.

[16] Os derivados de 8-hidroxiquinolina foram sintetizados utilizando uma rota sintética de fácil acesso. Os produtos formados são de baixo peso molecular o que favorece as propriedades farmacocinéticas das composições e a efetividade da terapia.

[17] Para a determinação estrutural dos compostos foram utilizados espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e RMN de ^{13}C (100 MHz), em clorofórmio deuterado (CDCl_3) e dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) como solventes. Os deslocamentos químicos (δ) foram relatados em ppm em relação ao tetrametilsilano (TMS), usado como padrão interno.

[18] Esses compostos apresentam, ainda, atividade antifúngica,

antibacteriana e anti- *Trichomonas vaginalis* conforme observado em testes *in vitro* contra, respectivamente, espécies fúngicas e bacterianas patogênicas e isolado ATCC de *Trichomonas vaginalis*, apresentando potencial para desenvolvimento de fármacos.

[19] Os derivados de 8-hidroxiquinolina são representados pela fórmula estrutural geral, Figura 4, e seus sais farmaceuticamente aceitáveis, solvatos e/ou hidratos, em que:

$R_1 = n$ -propila, isopropila, 4-clorofenila, 4-metoxifenila, 4-cianofenila, 2-pirimidinila.

$R_2 =$ hidrogênio, cloro, fluor, bromo, iodo.

[20] “Sais farmaceuticamente aceitáveis” refere-se a substâncias iônicas resultante da modificação de uma substância parente não iônica fornecendo os sais ácidos ou básicos correspondentes, bem como conjugação com aminoácidos. Os sais farmaceuticamente aceitáveis compreendem sais de ácidos orgânicos ou minerais com resíduos básicos como aminas; sais de bases orgânicas ou alcalinas com resíduos ácidos como os ácidos carboxílicos; sais não-tóxicos convencionais - que compreendem os derivados de ácidos inorgânicos como cloridratos, bromidratos, iodidratos, sulfuratos, sulfamatos, fosforatos e nitratos, não limitantes, ou os derivados de ácidos orgânicos como acetatos, 2-acetoxibenzoatos, ascorbatos, benzenosulfonatos, benzoatos, citratos, etanossulfonatos, etano dissulfonatos, formatos, fumaratos, gentisinatos, glicaronatos, gliconatos, glutamatos, glicolatos, hidroximaleatos, isotionatos, isonicotinatos, lactatos, maleatos, malatos, mesilatos, oxalatos, pamoatos, pantotenatos, fenilacetatos, propionatos, salicilatos, sulfanilatos, toluenosulfonatos, estearatos, succinatos, tartaratos e bitartaratos, não limitantes - bem como sais de amônio quaternário.

[21] “Solvato” refere-se a um complexo de estequiometria variável formado por um soluto (nesta invenção, uma substância de fórmula estrutural geral da Figura 4 bem como seus sais farmaceuticamente aceitáveis e hidratos) e um solvente. Tais solventes que compreendem, não limitante, água, metanol, etanol ou ácido acético não devem interferir com a atividade biológica

do soluto.

[22] “Hidrato” refere-se a complexos nos quais a molécula de solvente é água.

[23] Em outro aspecto as composições farmacêuticas da invenção caracterizam-se por apresentarem derivados de 8-hidroxiquinolina combinados com excipientes farmacêuticamente aceitáveis. As composições podem ser líquidas, sólidas ou semissólidas.

[24] As formas líquidas podem se apresentar como solução, xarope, elixir, suspensão, emulsão, tintura ou enema. Como excipientes, podem ser utilizados solubilizantes e tensoativos, tais como glicerina, propilenoglicol e sacarose.

[25] Já as formas semissólidas podem se apresentar como géis, pomadas, cremes, emulsões ou pastas. Exemplos de excipientes para composições farmacêuticas semissólidas incluem metilcelulose, hidroxipropilcelulose, hidroxoetilcelulose, carboximetilcelulose, polímeros derivados do ácido acrílico e metacrílico, polietilenoglicóis, vaselina sólida, parafina sólida, lanolina, óleos vegetais, óleo mineral, álcool cetílico, álcool esterílico, álcool cetoestearílico, monoestearato de glicerila, cera de ésteres cetílicos, cera autoemulsificante não iônica e aniônica, laurilsulfato de sódio, EDTA dissódico, solução conservante de parabenos, água destilada, cetilestearilsulfato de sódio, glicerina, oleato de decila e cloreto de benzalcônio.

[26] Por fim, as formas sólidas podem se apresentar como cápsulas, comprimidos, drágeas ou pastilhas. Aglutinantes, desintegrantes, diluentes, lubrificantes, tensoativos, como celulose, lactose, amido, manitol, estearato de magnésio, talco, dióxido de silício coloidal, óxido de magnésio e caulim são exemplos de excipientes para as preparações sólidas.

[27] Essas composições podem ser administradas pelas vias intramuscular, intravenosa, subcutânea, tópica, oral, inalatória ou por dispositivos que possam ser implantados ou injetados.

[28] O processo de preparação dos derivados de 8-hidroxiquinolinas ora produzidos (Figura 1) pode ser melhor compreendido com os exemplos a seguir, não limitantes.

EXEMPLO 1. Síntese e caracterização das moléculas de 1 a 6 (Figura 1)

a) Síntese do cloreto de sulfonila (Figura 2) - Adaptado de Pearce et al., 2001.

[29] A um recipiente contendo 8-hidroxiquinolina (0,500 g, 3,44 mmol) foi adicionado ácido clorossulfônico (2,5 mL, 37,61 mmol) a temperatura ambiente, por 24 horas. A solução resultante foi vertida em 50 g de gelo suspenso em 100 mL de NaCl 10% (p/v) e o produto foi extraído com 150 mL de diclorometano, por duas vezes. A fase orgânica foi secada com Na₂SO₄, filtrada e concentrada.

b) Síntese das moléculas 1 a 6 (Figura 3) - Adaptado de Aik et al., 2013.

[30] Ao cloreto de sulfonila (0,2304 g, 0,945 mmol) adicionou-se uma solução de amina apropriada (0,4468 g, 3,78 mmol) em acetonitrila (5 mL) a 80 °C. Após 3 h, o solvente foi evaporado. O resíduo foi purificado por CCSF (cromatografia em coluna de sílica flash) utilizando como eluente Hexano/EtOAc em gradiente.

c) Caracterização utilizando RMN de ¹H e RMN de ¹³C para algumas moléculas sintetizadas

[31] 8-Hidroxi-*N*-(4-clorofenil)-5-quinolinassulfonamida (1, Figura 1). RMN de ¹H, δ (ppm): 8,95 (d, 1H, Ar, *J* = 8,8 Hz), 8,87 (dd, 1H, Ar, *J* = 4,4 Hz, 1,6 Hz), 8,20 (d, 1H, Ar, *J* = 8,4 Hz), 7,60 (dd, 1H, Ar, *J* = 8,8 Hz, 4,0 Hz), 7,16 - 7,12 (m, 3H, Ar), 6,89 (d, 2H, Ar, *J* = 9,2 Hz). RMN de ¹³C, δ (ppm): 157,5, 148,8, 138,2, 134,8, 133,7, 133,6, 131,6, 129,6, 124,8, 124, 123,7, 123,7, 108,4.

8-Hidroxi-*N*-(isopropil)-5-quinolinassulfonamida (2, Figura 1). RMN de ¹H, δ (ppm): 8,99 (dd, 1H, Ar, *J* = 8,8 Hz, 1,2 Hz), 8,88 (dd, 1H, Ar, *J* = 4,8 Hz, 1,2 Hz), 8,28 (d, 1H, Ar, *J* = 8,0 Hz), 7,65 (dd, 1H, Ar, *J* = 8,8 Hz, 4,0 Hz), 7,20 (d, 1H, Ar, *J* = 8,0 Hz), 4,42 (d, 1H, H-N, *J* = 8,0 Hz), 3,49 - 3,41 (m, 1H, CH), 1,02 (d, 6H, (CH₃)₂, *J* = 6,4 Hz). RMN de ¹³C, δ (ppm): 156,9, 148,7, 138,4, 134,1, 132,7, 125,6, 124,7, 123,8, 108,3 (Ar), 46,3 (CH), 24,0 (CH₃)₂.

[32] 8-Hidroxi-*N*-(4-metoxifenil)-5-quinolinassulfonamida (1, Figura 1).

RMN de ^1H , δ (ppm): 9,00 (dd, 1H, Ar, $J = 8,8$ Hz, 1,2 Hz), 8,95 (dd, 1H, Ar, $J = 4,0$ Hz, 1,2 Hz), 7,99 (d, 1H, Ar, $J = 8,4$ Hz), 7,74 (dd, 1H, Ar, $J = 8,8$ Hz, 4,0 Hz), 7,06 (d, 1H, Ar $J = 8,4$ Hz), 6,83 (d, 2H, Ar, $J = 8,8$ Hz), 6,70 (d, 2H, Ar, $J = 9,2$ Hz), 3,60 (s, 3H, CH_3). RMN de ^{13}C , δ (ppm): 158,3, 156,4, 148,9, 138,3, 133,1, 132,5, 129,9, 124,7, 123,5, 123,3, 122,9, 114,3, 109,6 (Ar), 56,1 (CH_3).

[33] 8-Hidroxi-*N*-(propil)-5-quinolinassulfonamida (4, Figura 1). RMN de ^1H , δ (ppm): 9,01 (dd, 1H, Ar, $J = 8,8$ Hz, 1,6 Hz), 8,85 (dd, 1H, Ar, $J = 4,0$ Hz, 1,6 Hz), 8,23 (d, 1H, Ar, $J = 8,4$ Hz), 7,61 (dd, 1H, Ar, $J = 8,8$ Hz, 4,0 Hz), 7,17 (d, 1H, Ar, $J = 8,0$ Hz), 4,59 (s, 1H, H-N), 2,86 (q, 1H, CH_2 , $J = 7,2$ Hz), 1,39 (sext, 2H, CH_2), 0,75 (t, 3H, CH_3 , $J = 7,6$ Hz). RMN de ^{13}C , δ (ppm): 157,0, 148,7, 138,4, 134,1, 132,8, 124,8, 124,7, 123,8, 108,2 (Ar), 45,1 (CH_2), 23,1 (CH_2), 11,3 (CH_3).

[34] 8-Hidroxi-*N*-(4-cianofenil)-5-quinolinassulfonamida (5, Figura 1). RMN de ^1H , δ (ppm): 11,40 (s, 1H, H-O), 9,11 (d, 2H, Ar, $J = 8,4$ Hz), 8,99 (d, 1H, Ar, $J = 2,8$ Hz), 8,30 (d, 1H, Ar, $J = 8,4$ Hz), 7,86 (dd, 1H, Ar, $J = 8,0$ Hz, 4,0 Hz), 7,61 (d, 2H, Ar, $J = 8,4$ Hz), 7,20 (m, 3H, Ar). RMN de ^{13}C , δ (ppm): 158,4, 148,7, 142,1, 137,2, 133,8, 133,7, 133,6, 124,6, 123,9, 122,7, 118,7, 117,8, 110,22 (Ar), 105,02.

EXEMPLO 2. Avaliação de Atividade Antifúngica dos compostos 1 a 6

[35] As substâncias 1 a 6 (Figura 1) foram submetidas a uma avaliação da atividade antifúngica. As Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs) foram determinadas pela técnica de microdiluição em caldo de acordo com o documento de M27-A3 (CLSI, 2008) para leveduras e M38-A2 para fungos filamentosos (CLSI, 2008). Os resultados foram expressos como CIM (concentração inibitória mínima expressa em $\mu\text{g/mL}$). Por meio dos testes observou-se que o composto 1 mostrou-se mais ativo contra dermatófitos, bem como espécies de *Candida* sp.

Tabela 1 – Atividade Antifúngica - CIM ($\mu\text{g/mL}$)

| Espécie | Isolado | Substância | | | | | |
|--------------------------|-----------|------------|----|----|------|------|------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| | CA | | | | | | |
| <i>C. albicans</i> | ATCC1880 | 2 | 8 | 8 | 64 | 64 | > 64 |
| | CA 01 | 1 | 4 | 4 | 8 | 64 | > 64 |
| <i>C. glabrata</i> | CG RL24 | 2 | 8 | 8 | 32 | 32 | > 64 |
| | CG RL49 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 16 |
| <i>C. krusei</i> | CK 03 | 1 | 8 | 8 | 32 | 64 | > 64 |
| | CK Den43 | 1 | 16 | 8 | 32 | 64 | > 64 |
| <i>C. parapsilosis</i> | CP RL27r | 4 | 64 | 16 | > 64 | 64 | > 64 |
| | CP RL38 | 2 | 8 | 16 | 32 | 64 | > 64 |
| <i>C. tropicalis</i> | CT ATCC75 | 2 | 8 | 8 | 32 | > 64 | > 64 |
| | CT 72A | 2 | 8 | 16 | 32 | 64 | > 64 |
| <i>M. canis</i> | MCA 01 | 1 | 8 | 8 | 16 | > 64 | > 64 |
| | MCA 29 | 1 | 2 | 8 | 8 | > 64 | > 64 |
| <i>M. gypseum</i> | MGY 42 | 1 | 4 | 8 | 16 | > 64 | > 64 |
| | MGY 50 | 1 | 4 | 8 | 8 | > 64 | > 64 |
| <i>T. mentagrophytes</i> | TME 32 | 1 | 8 | 4 | 8 | > 64 | > 64 |
| | TME 40 | 1 | 8 | 16 | 16 | > 64 | > 64 |
| <i>T. rubrum</i> | TRU 43 | 1 | 4 | 16 | 16 | > 64 | > 64 |
| | TRU 51 | 1 | 4 | 8 | 8 | > 64 | > 64 |

EXEMPLO 3. Avaliação de Atividade Antibacteriana dos compostos 1 a 6

[36] As análises do perfil de suscetibilidade das bactérias frente às substâncias testadas foram realizadas através do método de Concentração Inibitória Mínima (CIM) em caldo, conforme documento M-100 S26 (CLSI, 2016). As concentrações das moléculas 01 até a 06 foram testadas nas dosagens de 0,125 µg/mL até 64 µg/mL. Os resultados obtidos demonstram que as moléculas 01 e 03 apresentaram importante atividade contra as cepas de *S. aureus* testadas, tanto as amostras clínicas como a ATCC, além de apresentar atividade também para outros cocos gram positivos ATCC testados.

Tabela 2 – Atividade Antibacteriana (cepas ATCC)

| Espécie/ Isolado | Substância | | | | | |
|---|------------|------|------|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27833 | >128 | 128 | >128 | ND | ND | ND |
| <i>S. epidermidis</i> ATCC 35984 | >128 | 8 | 4 | >64 | 32 | >64 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700605 | >128 | 128 | >128 | >64 | >64 | >64 |
| <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022 | >128 | 64 | >128 | >64 | >64 | >64 |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048 | >128 | 64 | >128 | >64 | >64 | >64 |
| <i>S. aureus</i> ATCC 33591 | 8 | 8 | 16 | ND | ND | ND |
| <i>S. aureus</i> ATCC 29213 * | 64 | 32 | 32 | >64 | >64 | >64 |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | 4 | 16 | 8 | ND | ND | ND |
| <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 | 16 | 16 | 32 | >64 | >64 | >64 |
| <i>E. faecium</i> ATCC 51299 | >128 | >128 | >128 | ND | ND | ND |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | >128 | 16 | 16 | ND | ND | ND |
| <i>E. coli</i> ATCC 35218 | ND | ND | ND | >64 | >64 | >64 |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048 | ND | ND | ND | >64 | >64 | >64 |

* *S. aureus* + OXA = 0,5; ND = não determinado

Tabela 3 – Atividade Antibacteriana (amostras clínicas *S. aureus* obtidas no HCPA)

| Amostra clínica | Substância | | | | | |
|--------------------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 451 | 16 | >64 | 32 | >64 | >64 | >64 |
| 453 | 32 | >64 | 64 | >64 | >64 | >64 |
| 455 | 16 | >64 | >64 | >64 | >64 | >64 |
| 457 | 32 | >64 | >64 | >64 | >64 | >64 |
| 459 | 16 | >64 | 32 | >64 | >64 | >64 |
| 461 | 16 | >64 | 32 | >64 | >64 | >64 |
| 463 | 16 | >64 | 64 | >64 | >64 | >64 |
| 465 | 32 | >64 | 32 | >64 | >64 | >64 |
| 467 | 16 | >64 | 32 | ND | 64 | >64 |
| 469 | 16 | >64 | 32 | >64 | 64 | >64 |
| 471 | 16 | 64 | 32 | ND | 64 | >64 |
| 473 | 16 | >64 | 32 | >64 | >64 | 64 |
| 475 | 16 | >64 | 64 | 32 | 64 | >64 |
| 477 | 16 | >64 | 32 | >64 | >64 | >64 |
| 479 | 16 | >64 | 32 | >64 | >64 | >64 |
| 481 | 16 | >64 | 32 | >64 | 32 | >64 |
| 485 | 16 | >64 | 32 | >64 | >64 | >64 |

| | | | | | | |
|-----|----|----|----|-----|-----|-----|
| 487 | 16 | ND | 32 | >64 | >64 | >64 |
|-----|----|----|----|-----|-----|-----|

ND = não determinado

EXEMPLO 4. Avaliação de Atividade anti- *Trichomonas vaginalis* dos compostos 1 a 6

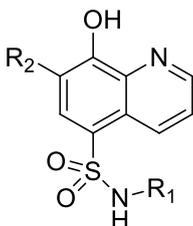
[37] As substâncias 1 a 6 foram submetidas a avaliação da atividade anti- *Trichomonas vaginalis* utilizando o isolado ATCC 30236. O ensaio foi realizado em microplaca de 96 poços contendo meio TYM suplementado com 10% de soro bovino inativado. Uma suspensão de trofozoítos na concentração de $2,0 \times 10^5$ trofozoítos/mL foi incubada com concentrações decrescentes do composto, partindo de 50 μM a 37 °C e 5% de atmosfera de CO_2 durante 24 h. Foi preparado controle negativo contendo apenas a suspensão de trofozoítos, controle do veículo utilizado para solubilização dos compostos (DMSO 0,6%) e controle positivo (100 μM de metronidazol). Para determinar o número de trofozoítos viáveis foi realizada contagem em hemocitômetro com o corante de exclusão trypan blue (0,2%). Os resultados foram expressos em porcentagem de organismos vivos comparados com os tratados, considerando a motilidade e morfologia. O valor de IC 50 (concentração da substância que inibe 50% do crescimento dos trofozoítos) foi calculado utilizando GraphPad Prism6 software. Por meio dos testes observou-se que os compostos 2 e 4 mostraram-se mais ativos.

Tabela 4 – Atividade Anti- *Trichomonas vaginalis*

| Substância | IC 50 (μM) |
|-------------------|---|
| 1 | 30 |
| 2 | 16,88 |
| 3 | 24 |
| 4 | 19,29 |
| 5 | 31,31 |
| 6 | 42,71 |

REIVINDICAÇÕES

1. Sulfonamidas derivadas de 8-hidroxiquinolina, **caracterizadas** por compreenderem a seguinte fórmula estrutural (Figura 4) e seus sais farmacologicamente aceitáveis, solvatos e/ou hidratos:



no qual R₁ = *n*-propila, isopropila, 4-clorofenila, 4-metoxifenila, 4-cianofenila, 2-pirimidinila.

no qual R₂ = hidrogênio, cloro, fluor, bromo, iodo.

2. Composição farmacêutica, **caracterizada** por compreender sulfonamidas derivadas de 8-hidroxiquinolina descritas na reivindicação 1 a e, ao menos, um excipiente farmacologicamente aceitável.

3. Composição farmacêutica, de acordo com as reivindicações 1 e 2, **caracterizada** por ser apresentada nas formas líquida, semissólida ou sólida.

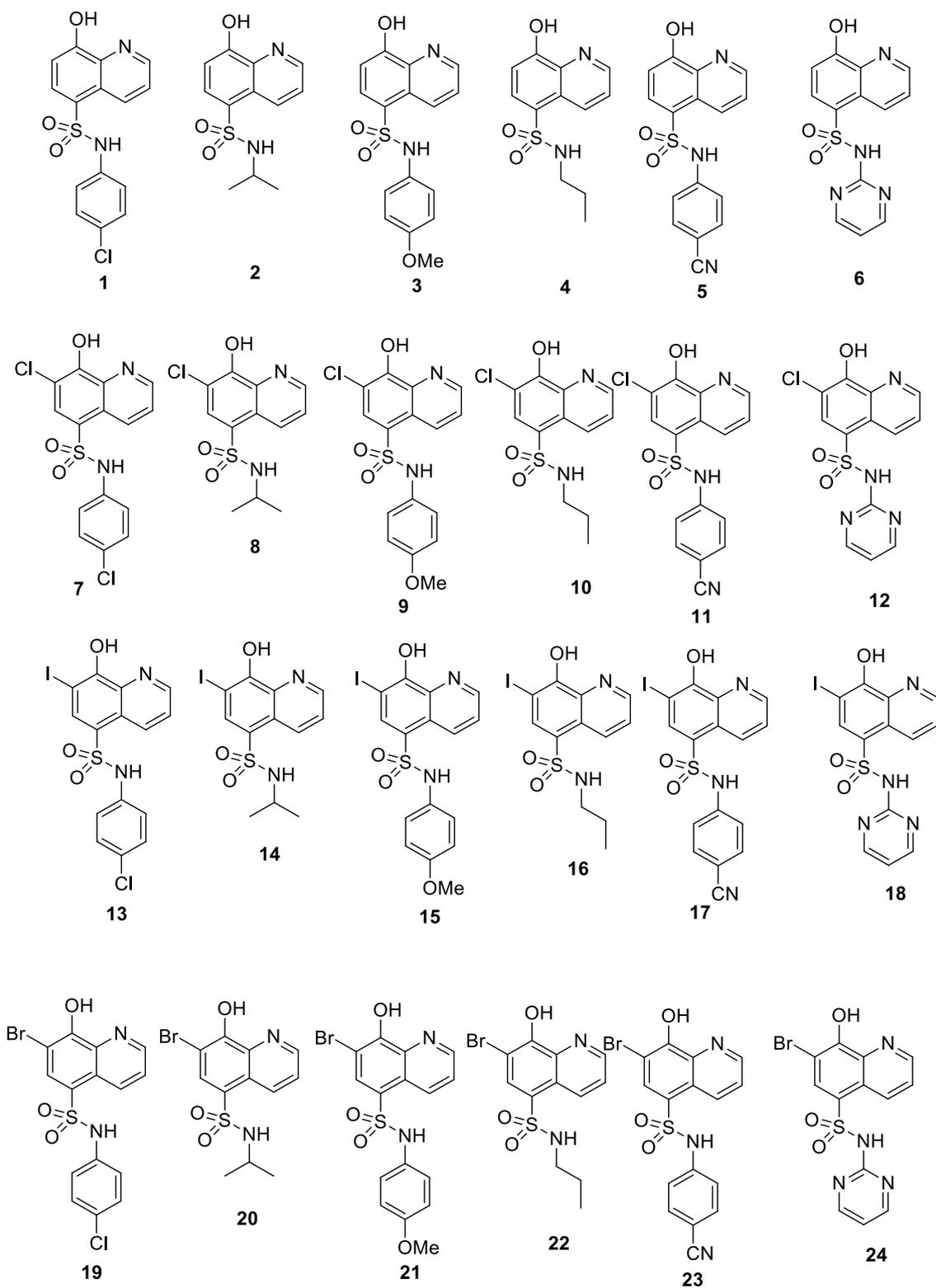
4. Uso de sulfonamidas derivadas de 8-hidroxiquinolina, de acordo com as reivindicações 1 a 3, **caracterizado** por ser utilizado na preparação de medicamentos, especialmente antifúngicos e anti- *Trichomonas vaginalis*.

5. Processo de síntese das sulfonamidas derivadas de 8-hidroxiquinolina ser **caracterizado** pelo tratamento do cloreto de sulfonila adequado (Figura 3) com a amina adequada em acetonitrila para produzir as substâncias 1-30 (Figura 1);

6. Processo de síntese das sulfonamidas derivadas de 8-hidroxiquinolina, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pela possibilidade de alteração do solvente por outros solventes práticos como metanol, etanol, álcool isopropílico, água e/ou apróticos como dimetilformamida, tetraidrofurano, dimetilsulfóxido, acetato de etila, hexanos, clorofórmio, diclorometano, dioxano e/ou alteração de bases por bases inorgânicas como hidróxidos de sódio, potássio e lítio, carbonatos de sódio, potássio e lítio, bicarbonatos de sódio, potássio e lítio,

e/ou bases orgânicas como trietilamina, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), diisopropiletilamina (DIPEA).

7. Processo de síntese das sulfonamidas derivadas de 8-hidroxiquinolina, de acordo com as reivindicações 5 e 6, **caracterizado** pelas etapas de síntese descritas podem ser realizadas utilizando temperaturas variando de -100 a 200 °C.

FIGURAS

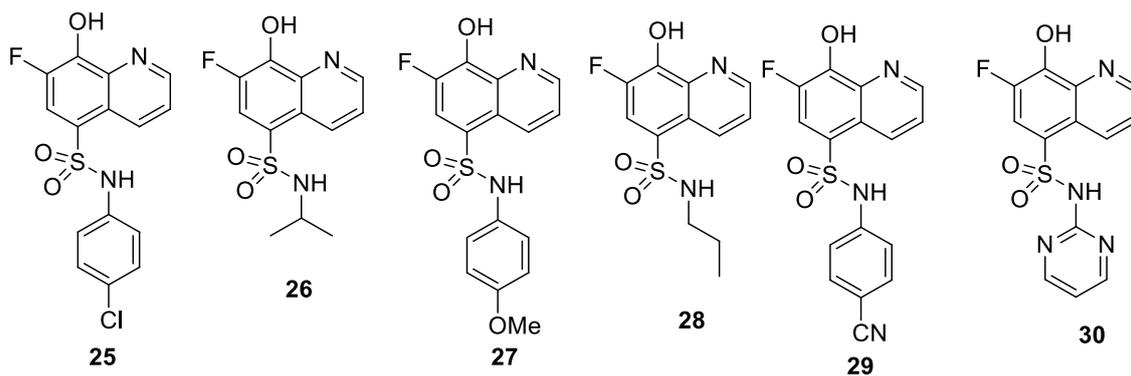


Figura 1

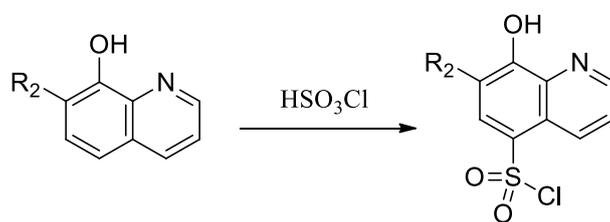


Figura 2

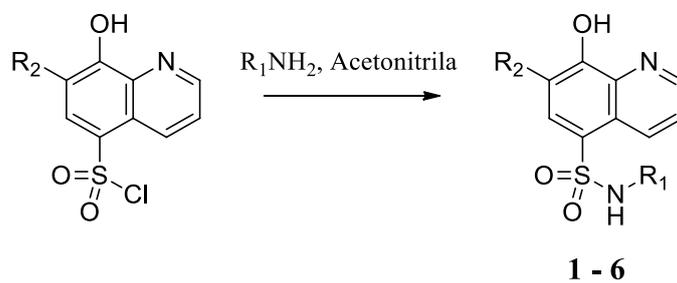


Figura 3

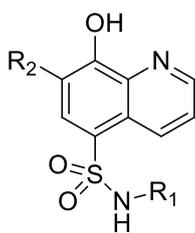


Figura 4

RESUMO

SULFONAMIDAS DERIVADAS DE 8-HIDROXIQUINOLINA, PROCESSO DE SÍNTESE, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO

A presente invenção se refere à obtenção de moléculas sintéticas contendo sulfonamidas derivadas de 8-hidroxiquinolina inéditas, avaliação das referidas moléculas em testes *in vitro* como agentes antifúngicos, antibacterianos e anti-*Trichomonas vaginalis*, bem como composições farmacêuticas contendo as referidas moléculas. Os compostos de baixos pesos moleculares obtidos a partir do processo de síntese favorecem as propriedades farmacocinéticas das composições e a efetividade da terapia.