

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTUDO TEÓRICO DO MECANISMO REDOX DE
DERIVADOS QUINOLÍNICOS NA ATIVIDADE
ANTIMALÁRICA**

Sarah Raphaella Rocha De Azevedo Scalercio

BELÉM-PA

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTUDO TEÓRICO DO MECANISMO REDOX DE
DERIVADOS QUINOLÍNICOS NA ATIVIDADE
ANTIMALÁRICA**

Autora: Sarah Raphaella Rocha de Azevedo Scalercio

Orientador: Prof^o Dr. Rosivaldo dos Santos Borges

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

BELÉM-PA

2010

FOLHA DE APROVAÇÃO

Sarah Raphaella Rocha de Azevedo Scalercio

Estudo Teórico do Mecanismo Redox de Derivados Quinolínicos na Atividade antimalárica

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Pará para a obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho

À meu pai Heliodoro Crispim de Azevedo Scarlecio

À minha mãe Maria Neide Rocha Moraes

AGRADECIMENTOS

À Deus, fonte da vida, inspiração maior, pelas oportunidades ofertadas e por tudo.

À Universidade Federal do Pará e ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Ao meu orientador, Professor Dr. Rosivaldo dos Santos Borges, pela orientação competente e pela paciência demonstrada em cada aprendizado durante esta caminhada.

Aos professores da Faculdade de Farmácia da UFPA que contribuíram para a composição deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa concedida.

À minha família, pela compreensão, amor e apoio nas horas difíceis e em especial à minha mãe pela paciência.

À minha avó Terezinha por toda a ajuda.

Às minhas grandes amigas de caminhada, Romina Batista e Roberta Fusco, pela grande família.

Aos amigos do laboratório de Química Farmacêutica, Aurielson Queiroz, Joseane Silva, Jackeline Carrera, Bruna Silva e Anna Paula Mendes pelo apoio e amizade.

E a todos aqueles que contribuíram de modo direto ou indireto para realização desta dissertação.

*“Tudo que a natureza opera,
ela não o faz bruscamente”*

LAMARCK

RESUMO

SCALERCIO, S. R. R. A. **Estudo Teórico do mecanismo Redox de Derivados Quinolínicos na Atividade Antimalárica**. 2010. 68f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

A malária é um sério problema de saúde pública mundial, acarretando perdas socioeconômicas e contribuindo para o subdesenvolvimento dos países afetados. Neste contexto, faz-se necessário estudar a relação entre as propriedades eletrônicas e a capacidade antioxidante de derivados quinolínicos na atividade antimalárica, o que servirá de subsídio para propor protótipos eficazes na terapêutica da doença. Nesta dissertação, foram utilizadas técnicas de modelagem molecular, no estudo da relação estrutura e atividade antioxidante correlacionada com a atividade antimalárica, no processo de seleção de grupamentos e parâmetros eletrônicos e conformacionais que permitam aperfeiçoar a atividade farmacológica e reduzir a toxicidade dos derivados. A análise dos valores de HOMO e PI indicou que o tautômero imino-quinolina é, provavelmente, melhor antioxidante que o tautômero amino-quinolina. Também se observou que o equilíbrio dos tautômeros é mais deslocado para a estrutura amino-quinolina na fase gasosa, e em água e clorofórmio no método PCM, apresentando valores de barreiras de energia da faixa de 10,78 Kcal/mol, 21,65 Kcal/mol e 22,04 Kcal/mol, respectivamente. Assim pôde-se observar que nos derivados análogos de quinolina, os grupos elétrons-doadores mostraram destaque na redução do potencial de ionização, como os grupos amina na posição 8 substituído por um grupo alquilamina. Nos derivados da associação de 4- e 8-amino-quinolina notou-se que a presença de um segundo nitrogênio no grupo quinolina diminui seu potencial antioxidante, com exceção da posição 5, representando o grupo de maior destaque na redução do potencial de ionização e conseqüente provável elevada atividade antioxidante.

Palavras-chave: Atividade antimalárica. Derivados quinolínicos. DFT. Propriedades eletrônicas. Capacidade antioxidante.

ABSTRACT

SCALERCIO, S. R. R. A. **Theoretical Study of Quinolines Derivatives' Redox Mechanism in the Antimalarial Activity.** 2010. 68f. Dissertation (Master's) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

Malaria is a serious public health problem worldwide, causing socioeconomic deficits and contributing to subdevelopment in affected countries. In this context is important to study electronic properties, quinoline derivatives antioxidant potential and antimalarial activity relationship to design effective antimalarial prototypes. In this dissertation are used molecular modeling methods to study antioxidant and antimalarial structure-activity relationships selecting moieties and electronic and conformational parameters to improve pharmacological activity and decrease derivatives toxicity. The HOMO and PI values analysis indicates that imino-tautomer is, probably, better antioxidant than amino-tautomer. It also observed that tautomers equilibrium is favored to amino-quinoline in the gas phase, and in water and chloroform using PCM method, with energy barriers values to 10.78 Kcal/mol, 21.65 Kcal/mol and 22.04 Kcal/mol, respectively. Then, may be noted that in quinoline analogues derivatives the electron-donor groups decrease the ionization potential, as exemple of the amino group at 8-position replaced by an alkylamine group. In 4- 8-amino-quinoline derivatives association observed that presence of quinoline moiety second nitrogen decrease its antioxidant activity, except in the 5-position, representing the most prominent group in the reduction of ionization potential and probably high antioxidant activity.

Keywords: Antimalarial Activity. Quinoline Derivatives. DFT. Electronic's Properties. Antioxidante Potential.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Ciclo biológico do <i>Plasmodium sp.</i>	18
Figura 02 – Representação esquemática dos principais alvos quimioterapêuticos da malária.....	19
Figura 03 – Metabolismo da hemoglobina no vacúolo do parasita.....	21
Figura 04 – Reação de redução do ácido pirúvico	21
Figura 05 – Reação da hipoxantina e fosforibosil-pirofosfato e formação do ácido Inosínico.	22
Figura 06 – Sistema de defesa antioxidante de eritrócitos infectados por plasmódio.....	26
Figura 07 – Mecanismo de pró-oxidação induzido pela primaquina.....	27
Figura 08 – Estrutura e numeração da cloroquina e 4-amino-quinolina.	29
Figura 09 – Conjunto de compostos estudados na modelagem molecular.	38
Figura 10 – HOMO da cloroquina e 4-amino-quinolina e seus tautômeros.	40
Figura 11 – MPEs da cloroquina e 4-amino-quinolina e seus tautômeros. .	42
Figura 12 – Distribuição de densidade de spin de 4 -amino-quinolina e 4-imino-quinolina.	43
Figura 13 – Tautomerismo 4-amino-quinolina por transferência de próton.	44
Figura 14 – Estrutura da cloroquina e 4-amino-quinolina e tautômeros.	45
Figura 15 – Estrutura dos derivados do tautomerismo 4-amino-quinolina. .	47
Figura 16 – Formação de ponte de hidrogênio da interação com halogênio, oxigênio do grupo carbonila ou do grupo nitro.	49
Figura 17 – Estrutura dos derivados análogos de quinolina.....	50
Figura 18 – Estrutura dos derivados da associação 4- 8-amino-quinolina.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Propriedades eletrônicas da cloroquina e 4-amino-quinolina e seus tautômeros, usando o método DFT/B3LYP/6-31G(d).	39
Tabela 02 – Energia do Teorema de Koopman.	41
Tabela 03 – Propriedades eletrônicas dos derivados do tautomerismo da 4-amino-quinolina.	48
Tabela 04 – Propriedades eletrônicas de derivados análogos de quinolina	51
Tabela 05 – Propriedades eletrônicas de derivados da associação 4- 8-amino-quinolina	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4-AQ	4-amino-quinolina
ATP	Adenosina Trifosfato
CQ	Cloroquina
DHFR	Hidroxi-6-metil-dihidropteridina
DHODase	Dihidro-orato-dehidrogenase
DHPS	Dihidropteroato sintase
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EDL_{OH}	Energia de dissociação da ligação da Hidroxila
ERO's	Espécies Reativas de Oxigênio
eV	Elétron-volt
Fe(III)PPIX	Ferriprotoporfirina IX
Fe²⁺	Ferro oxidado
Fe³⁺	Ferro da metahemoglobina
G6PD	Glicose-6-Fosfato desidrogenase
GDP	Guanosina Difosfato
GPx	glutaciona peroxidase
GSH	Glutaciona reduzida
GSSG	Glutaciona oxidada
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
Hb	Hemoglobina
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia
Kcal/mol	Kilocalorias por mol
LHD	Lactato Desidrogenase
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energia
O²⁻	Superóxido
PC	Fosfatidilcolina
MCP	Meio Continuo Polarizável
PM3	Método de terceira Parametrização
PPPK	2-amino-4-pirofosfoquinase
PQ	Primaquina

QR1	Quinina Redutase 1
QR2	Quinina Redutase 2
RBC	Hemácia
REA	Relação Estrutura Atividade
RNA	Ácido Ribonucléico
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido-dismutase
TFD	Teoria do funcional de densidade
TS	Timidilato Sintase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 Malária	17
2.1.1 CICLO BIOLÓGICO DO PLASMÓDIO.....	18
2.2 Possíveis Alvos de Ação dos Quimioterápicos	19
2.2.1 METABOLISMO DA HEMOGLOBINA E PROTEINASES	20
2.2.2 POLIMERIZAÇÃO DO HEME	20
2.2.3 GLICÓLISE	21
2.2.4 METABOLISMO DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS	22
2.2.4.1 Vias das Purinas e Pirimidinas	22
2.2.4.2 Síntese do Folato	23
2.2.4.3 Síntese do DNA e RNA	23
2.2.4.4 Funções Mitocondriais	23
2.2.5 BIOSÍNTESE DE MEMBRANA	24
2.2.5.1 Metabolismo dos Fosfolipídeos.....	24
2.2.6 TRANSPORTE VACUOLAR.....	24
2.2.7 ESTRESSE OXIDATIVO	25
2.2.7.1 Eritrócitos e Radicais Livres	25

2.3 Antimaláricos	27
2.3.1 CLASSIFICAÇÃO	28
2.3.2 DERIVADOS QUINOLÍNICOS	29
2.3.3 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA	31
2.4 Planejamento e Desenvolvimento de Antimaláricos	31
3 OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo Geral	33
3.2 Objetivos Específicos	33
4 MÉTODOS COMPUTACIONAIS	34
4.1 Modelagem Molecular	34
4.1.1 ENERGIA DOS ORBITAIS DE FRONTEIRA (HOMO e LUMO).....	35
4.1.2 POTENCIAL DE IONIZAÇÃO (PI)	35
4.1.3 DISTRIBUIÇÃO DE DENSIDADE DE SPIN.....	36
4.1.5 MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO (MPE)	37
4.1.5 TEOREMA DE KOOPMAN.....	37
4.1.6 ESTRUTURA QUÍMICA VERSUS ATIVIDADE ANTIMALÁRICA.....	37
4.2 Conjunto de Compostos Estudados	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39

5.1 Tautomerismo de 4-amino-quinolinas	39
5.1.1 ESTUDO DAS PROPRIEDADES ELETRÔNICAS.....	39
5.1.2 TEOREMA DE KOOPMAN	41
5.1.3 MAPAS DO POTENCIAL ELETROSTÁTICO	41
5.1.4 ABSTRAÇÃO DE ELÉTRONS	42
5.1.5 BARREIRAS RELATIVAS DE ENERGIA.....	43
5.2 Derivados Do Tautomerismo Da 4-Amino-Quinolina	46
5.3 Estudo Do Farmacóforo Antioxidante De Quinolinas	49
5.4 Derivados Da Associação 4- E 8-Amino-Quinolina	52
6 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO

A malária é um sério problema de saúde pública mundial, com grande impacto social e econômico, afetando mais de 90 países. Apesar do declínio, o número absoluto de casos no ano de 2008 foi superior a 300.000 pacientes em todo o país, destes 99,9% foram transmitidos nos Estados da Amazônia Legal, sendo o *Plasmodium vivax* a espécie causadora de quase 90% dos casos, apesar da malária provocada pelo *Plasmodium falciparum* ser responsável pela forma grave e letal da doença, contudo tem apresentado redução importante nos últimos anos (MS, 2010).

O tratamento da malária visa atingir pontos-chaves do ciclo evolutivo do parasito (MS, 2010). Casos de resistência do *P. falciparum*, reações adversas resultantes da toxicidade às células do hospedeiro são algumas das realidades na terapêutica da doença, além da re-infecção dos pacientes residentes nas áreas endêmicas (BECKER et al., 2004).

Os fármacos antimaláricos são derivados geralmente de produtos naturais ou compostos sintéticos produzidos a partir da década de 40. Os principais antimaláricos compõem dois grandes grupos: as *chinchonas*, aminoquinolinas e acridinas, e as pirimidinas e biguanidas (FRANÇA et al., 2008). Atuam em diferentes etapas do ciclo do parasita. A maioria dos antimaláricos exerce sua ação por mecanismos envolvidos na detoxificação do grupo heme ou inibindo a síntese de ácido fólico (CUNICO et al., 2008).

O planejamento e aplicação de novos compostos heterocíclicos antimaláricos contendo nitrogênio, que possuem caráter básico são de extrema importância para a química farmacêutica e medicinal, quando comparados aos demais heterocíclicos. As aminoquinolinas presentes em numerosos compostos farmacêuticos se destacam pela simplicidade molecular, atividade biológica, elevada estabilidade química, além de baixo custo de desenvolvimento e fácil obtenção por rotas sintéticas tradicionais (FRANÇA et al., 2008).

Estruturas análogas da cloroquina e da primaquina vem despertando interesse pela comunidade científica e indústrias farmacêuticas para o planejamento e desenvolvimento de novos antimaláricos quinolínicos, de forma a potencializar a atividade farmacológica, otimizar as propriedades farmacocinéticas e reduzir a toxicidade, garantindo compostos mais seguros, eficazes e com poucas reações adversas (BITONTI et al., 1988; KYLE et al., 1993).

Adicionalmente, a descoberta da atividade antimalárica dos estilbenos, desperta o interesse, pela diminuição dos processos oxidativos associado ao uso de antimaláricos (PARK et al., 2008; BOOLANKSIRI et al., 2000).

Autores propõem a participação do estresse oxidativo no mecanismo de ação da cloroquina. No entanto, são poucos os estudos relacionados com as propriedades eletrônicas deste composto, uma vez que deve ser elucidada a relação entre tautomerismo e mecanismo antioxidante desta estrutura, avaliando a relação estrutura-atividade e os mecanismos pró-oxidantes e antioxidantes tanto no efeito antimalárico, quanto na citotoxicidade (GRAVES et al., 2002).

Neste contexto, a química medicinal utiliza programas computacionais de química e bancos de dados como ferramentas para o planejamento de novos fármacos ou derivados, na investigação de interações químicas ligante-receptor e na exploração dos fatores estruturais relacionados ao efeito biológico, como a elucidação do farmacóforo, que é a parte estrutural responsável pela ação biológica. A modelagem molecular permite o estudo e planejamento de novos fármacos e o entendimento da relação estrutura-atividade (REA) a fim de elucidar mecanismos de ação, utilizando gráficos computacionais tridimensionais e valores numéricos (CARVALHO et al., 2003).

Neste sentido, o interesse pela realização deste estudo baseia-se na aplicação de métodos teóricos para compreensão das propriedades físico-químicas e de reatividade de novos derivados análogos de quinolinas propostos e que possam ser interessantes para o mecanismo de ação antimalárico, isolamento do farmacóforo ou toxicóforo, seleção dos parâmetros físico-químicos fundamentais para o planejamento racional de novos derivados e de novos candidatos a fármacos, com maior atividade antimalárica e reduzida toxicidade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Malária

Os agentes etiológicos da malária são protozoários da ordem *Haemosporidia*, família *Plasmodiidae* e gênero *Plasmodium*, onde as espécies *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, e *P. ovale*, são conhecidas por causarem a doença. A malária é transmitida pela picada da fêmea do mosquito *Anopheles*, por transfusão de sangue, compartilhamento de agulhas e seringas infectadas, ou da gestante para o bebê antes ou durante o parto. Os sinais clínicos são principalmente febre alta, calafrio, sudorese e cefaléia (MS, 2008a).

Anualmente, sobretudo no continente africano, entre 500 e 300 milhões de pessoas são infectados, dos quais cerca de um milhão morrem em consequência da doença (FERREIRA, 2006). É um problema mundial de saúde pública, afetando principalmente países de clima tropical e subtropical, onde as condições ambientais favorecem a manutenção e desenvolvimento dos vetores da doença (LOTROWSK et al., 2006). Do total de registros, 99,9% dos casos notificados no País estão concentrados na Amazônia Legal, que apresenta a malária como uma das doenças de maior importância epidemiológica (SESPA, 2006).

2.1.1 CICLO BIOLÓGICO DO PLASMÓDIO

Formas esporozoítas são inoculadas pelo mosquito atingindo a circulação sanguínea do homem. Ao chegar ao fígado, invadem os hepatócitos e se diferenciam em esquizontes, os quais por reprodução assexuada (esquizogonia tecidual) e ao final do ciclo tecidual os merozoítas liberados invadem os eritrócitos diferenciando-se em trofozoítas que se multiplicam por divisão nuclear, esquizogonia sanguínea, formando esquizontes que liberam os merozoítas na circulação sanguínea. Alguns merozoítas se diferenciam para as formas sexuadas (CUNICO et al., 2008).

A reprodução sexuada (esporogônica) ocorre no estômago do mosquito

(*Anopheles*), após a diferenciação dos gametócitos (em macrogametas e microgametas) e a sua fusão, com formação do ovo (zigoto), se transforma em uma forma móvel (ocineto) que migra até a parede do intestino médio do inseto, formando o oocisto, no interior do qual se desenvolverão os esporozoítos. O tempo requerido para que se complete o ciclo esporogônico nos insetos varia com a espécie de Plasmódio. Os esporozoítos formados nos oocistos são liberados na hemolinfa do inseto e migram até as glândulas salivares, de onde são transferidos para o sangue do hospedeiro humano durante o repasto sangüíneo (Figura 1) (MS, 2008b).

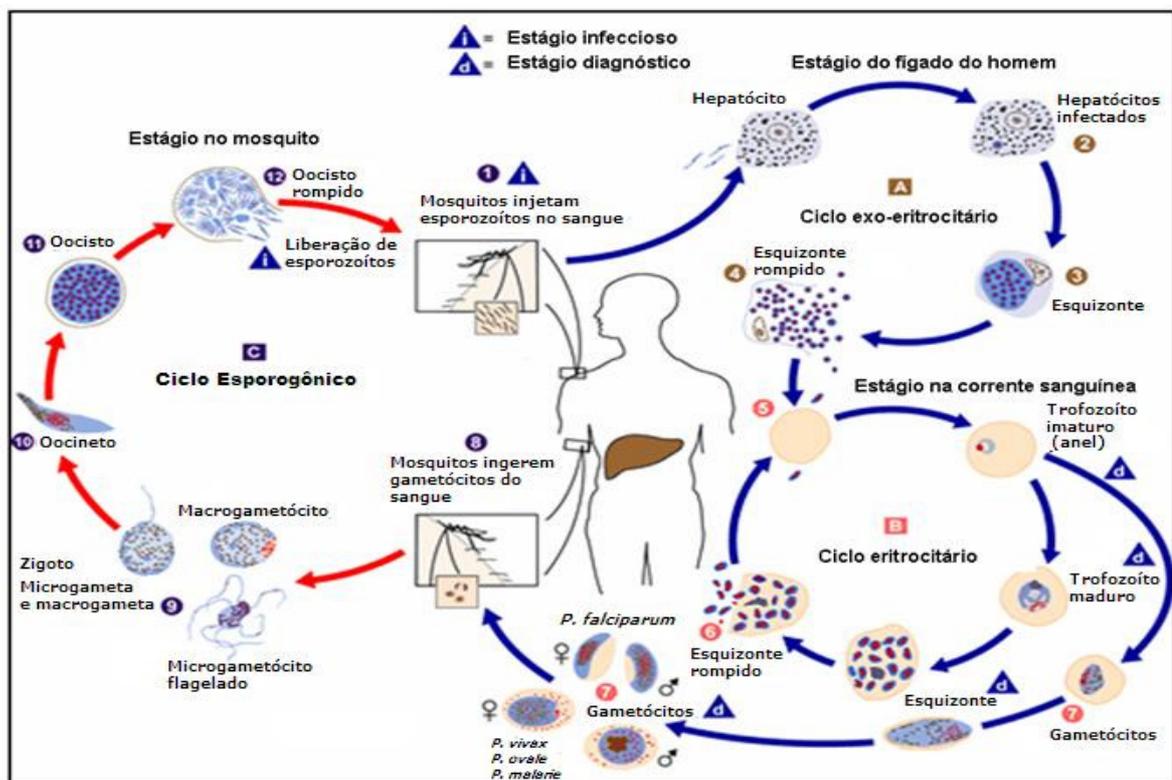


Figura 1 - Ciclo biológico do *Plasmodium* sp. Fonte: Adaptado CDC (2006).

2.1.2 VACÚOLO DIGESTIVO DO PARASITO

No vacúolo digestivo do plasmódio está presente, uma organela tipo lisossomo ácido, onde ocorrem processos chave para sobrevivência, incluindo o metabolismo da hemoglobina e a detoxificação do heme, os quais representam alvos quimioterapêuticos potenciais para o tratamento da malária. Os parasitas degradam

a hemoglobina como principal fonte de aminoácido para a síntese protéica durante seu desenvolvimento. É um processo complexo que envolve várias proteases, originando aminoácidos livres e heme (MARTINS, 2008; OLLIARO & GOLDBERG, 1995), sendo essencial para a sobrevivência do parasita, em contraste com outros caminhos metabólicos, pois este parece ter dificuldade em utilizar processos alternativos para metabolizar a hemoglobina e fazer a detoxificação do grupo heme.

2.2 Possíveis Alvos De Ação Dos Quimioterápicos

Os alvos de ação dos quimioterápicos utilizados na malária são classificados de acordo com o local de atuação, como descritos por Olliaro (1994) e detalhado nos tópicos a seguir (Figura 2).

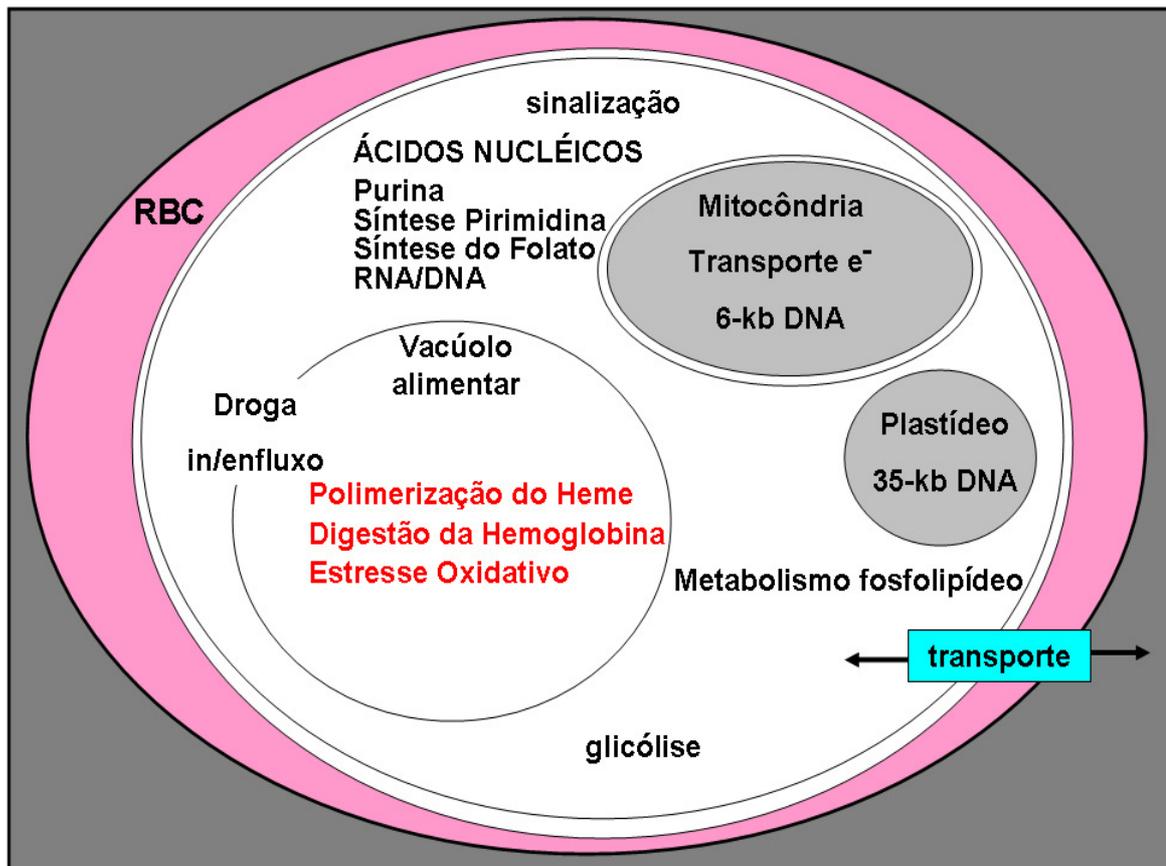


Figura 2 - Representação esquemática dos principais alvos quimioterapêuticos da malária. Fonte: Modificado de Olliaro (1994).

2.2.1 METABOLISMO DA HEMOGLOBINA E PROTEINASES

No vacúolo digestivo a hemoglobina é catabolizada. Os parasitas necessitam de nutrientes externos e por terem capacidade limitada de sintetizar aminoácidos e fontes destes, suprem suas necessidades metabólicas pela digestão da hemoglobina da célula hospedeira. O processo origina aminoácidos livres indispensáveis à sua sobrevivência.

A degradação da hemoglobina é atribuída pela ação de duas proteinases: a aspártica (análogo da catepsina D) e a cisteína (análogo ao catepsina L) (GLUZMAN et al. 1994; WESTLING et al., 1997). A primeira proteinase aspártica (plasmepsina I) faz uma única clivagem na região móvel da hemoglobina e a segunda proteinase aspártica (plasmepsina II) tem a atividade preferencial na globina ácida-desnaturada (ROSENTHAL & NELSON, 1992; DOMINGUEZ et al., 1997). A proteinase de cisteína atua no processo por não reconhecer a hemoglobina nativa, somente a porção globina (apoproteína). As proteinases vacuolares podem ser validadas como alvos terapêuticos, para o desenvolvimento de novos protótipos de fármacos antimaláricos (KAMCHONWONGPAISAN et al., 1997).

2.2.2 POLIMERIZAÇÃO DO HEME

O produto heme resultante do metabolismo da Hb quando não detoxificado pode acarreta danos as membranas e enzimas biológicas dos parasitas dos eritrocítos (GLUZMAN et al., 1994). O resíduo livre heme ou ferriprotoporfirina IX (Fe(III)PPIX) é polimerizado a um composto inerte, insolúvel e não tóxico ao parasita, o pigmento malárico denominado hemozoína (Figura 3) (SILVA, 2005), que é considerado o alvo dos antimaláricos quinolínicos (GOLDBERG et al., 1990; EGAN et al., 1994; RAYNES et al., 1996).

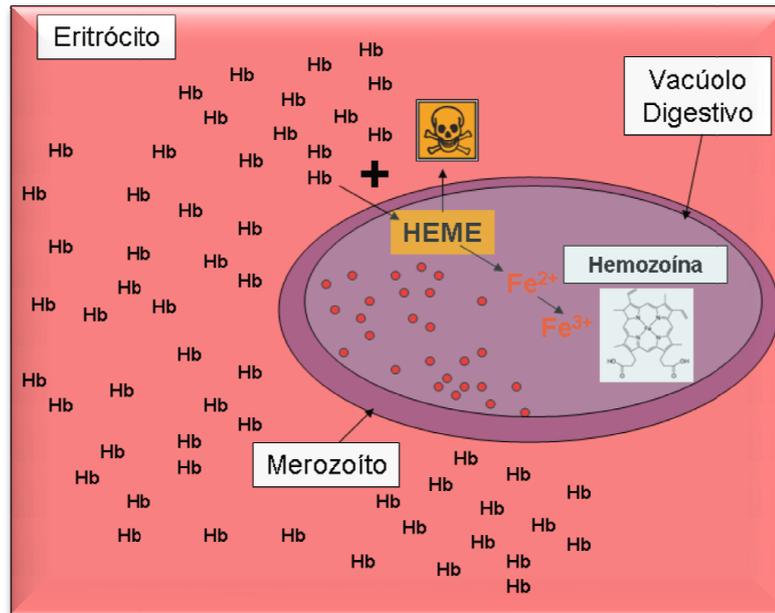


Figura 3 - Metabolismo da hemoglobina no vacúolo do parasita (adaptado de Silva, 2005).

2.2.3 GLICÓLISE

O desenvolvimento do Plasmodium depende primeiramente da glicólise para a geração de energia (SHERMAN, 1979). Ao contrário, das células dos mamíferos e da maioria de organismos aeróbicos, o piruvato não é incorporado ao ciclo de Krebs no Plasmodium, portanto, o lactato é o produto final da via glicolítica. A lactato desidrogenase (LDH) catalisa a redução do piruvato à lactato (Figura 4), permitindo a produção rápida de energia necessária para o crescimento do parasita, produzindo grande quantidade de lactato, que pode contribuir para a acidose láctica observada frequentemente na malária severa (KRISHNA et al., 1996). Tal característica é relevante como potencial alvo terapêutico.

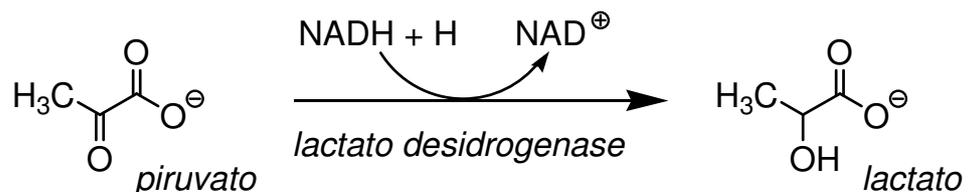


Figura 4 - Reação de redução do ácido pirúvico. Fonte: Lehninger (2002).

2.2.4 METABOLISMO DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS

Os nucleotídeos além de serem precursores do ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA), são intermediários em diversas reações de biossíntese e processos bioquímicos. O parasita depende das purinas do hospedeiro, para a síntese do ácido nucléico e para a produção de energia, podendo esta via ser explorada para o ataque quimioterapêutico (OLLIARO & GOLDBERG, 1995).

2.2.4.1 Via das Purinas e Pirimidinas

Evidências sugerem que a hipoxantina formada durante o catabolismo do ATP é fonte preliminar das purinas para o *P. falciparum*. As enzimas específicas parasitárias utilizadas são as fosforibosiltransferase da hipoxantina-guanina (HGPRT), a inosina dehidrogenase e a adenilsuccinato sintase. A reação de catalise da HGPRT é exemplificada na figura 5 (HASSAN & COOMBS, 1988).

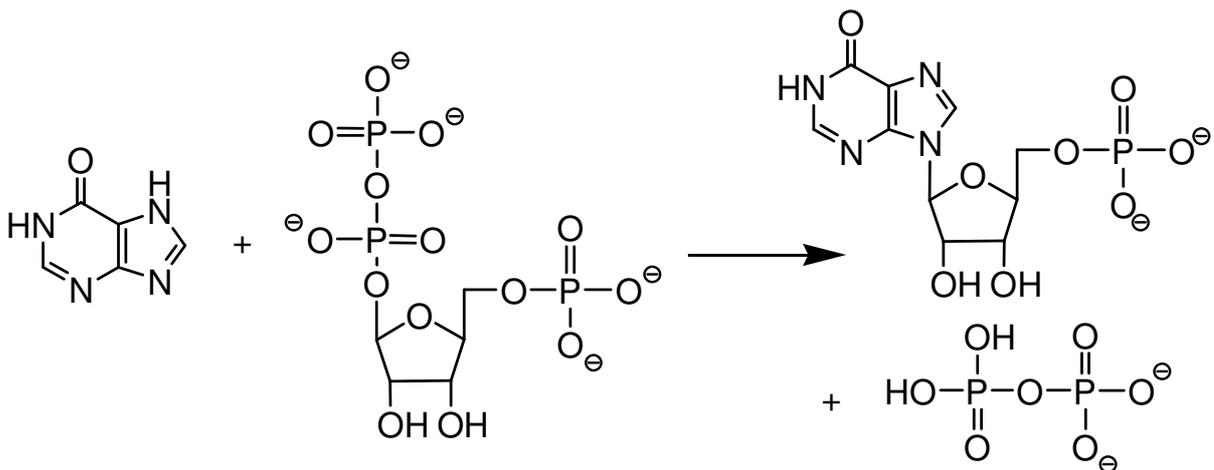


Figura 5 - Reação da hipoxantina e fosforibosil-pirofosfato e formação do ácido Inosínico.

2.2.4.2 Síntese do Folato

O Tetrahydrofolato é um transportador e participa como coenzima chave no metabolismo dos aminoácidos e nucleotídeos. A rota metabólica do folato está ligado a captação de purina através da guanosina trifosfato (GTP), na qual a GTP ciclohidrolase atua como primeira enzima da via biosintética (KRUNGKRAI et al., 1989; ASAWAMAHASAKDA & YUTHAVONG, 1993).

Quatro enzimas deste caminho biosintético são alvos antimaláricos tradicionais: a dihidropteroato sintase (DHPS), a 2-amino-4-pirofosfoquinase (PPPK), a hidroximetil-dihidropteridina (DHFR) e a timidilato sintase (TS). As sulfonamidas e sulfonas impedem a formação do dihidropteroato, sendo combinados geralmente com a pirimetamina ou biguanidinas (inibidores de DHFR) (OLLIARO, 2001). Entretanto, o papel destas drogas na quimioterapia e na prevenção da malária é limitado pelo rápido aparecimento de resistência (WANG et al., 1997).

2.2.4.3 Síntese do DNA e RNA

São processos vitais e altamente complexos os que envolvem a replicação e reparo do DNA e pode ser difícil alcançar seletividade de ação. Entretanto, algumas diferenças foram relatadas entre o parasita e as células humanas que podem oferecer novas vias para a pesquisa. No entanto não há nenhuma evidência de uma DNA polimerase como alvo, embora diversas polimerases já tenham sido descritas no *P. falciparum* (WHITE et al., 1993).

2.2.4.4 Funções Mitocondriais

No estágio sanguíneo assexuado as funções mitocondriais são pouco desenvolvidas, no que diz respeito às cristas da membrana interna mitocondrial, e a maioria do ATP é obtida pela glicólise (LANG-UNNASCH, 1992). O transporte de

elétron mitocondrial é fundamental para a sobrevivência, sendo um alvo potencial na quimioterapia da malária (ITTARAT et al., 1994; SEYMOUR et al., 1994). Enzimas mitocondriais ligadas a cadeia de transporte de elétrons, como a dihidro-ototato dehidrogenase (DHODase), pode ser um alvo da inibição de determinadas drogas antimaláricas, tais como a atovaquona, embora seu alvo preliminar seja o bloqueio da síntese de pirimidina, pela inibição da cadeia respiratória mitocondrial (HUDSON, 1993).

2.2.5 BIOSÍNTESE DE MEMBRANA

6.2.5.1 Metabolismo dos Fosfolipídios

Os parasitas da malária necessitam de grande quantidade de fosfolipídio para crescimento e divisão, conseqüentemente os teores de lipídeos dos eritrócitos infectados são significativamente mais elevados, quando comparados aos normais. No plasmódio, a fosfatidilcolina (PC) é o fosfolipídio principal do parasita. A colina penetra nas hemácias através de um transportador constitutivo da membrana, cuja natureza ainda não foi esclarecida (OLLIARO & YUTHAVONG, 1999).

6.2.6 TRANSPORTE VACUOLAR

Os parasitas intra-eritrocitários acarretam profundas alterações na membrana dos eritrócitos infectados, permitindo aumento na permeabilidade dos nutrientes provenientes do ambiente extracelular, dentre outros processos (OLLIARO, 1994). Teoricamente, é possível usar tal sistema de transporte para facilitar a entrada seletiva de antimaláricos nos eritrócitos infectados ou impedir que nutrientes-chaves sejam interiorizados (GINSBURG, 1994). Assim, moléculas presentes no citoplasma eritrocítico podem ser introduzidas e armazenadas pelo parasita, incluindo primeiramente a hemoglobina e as enzimas necessárias para digerir-las (OLLIARO

& GOLDBERG, 1995).

2.2.7 ESTRESSE OXIDATIVO

2.2.7.1 Eritrócitos e Radicais Livres

A ação de radicais livres sobre as células são relacionadas à citotoxicidade, desencadeando lesões celulares, transtornos da permeabilidade, alterando o fluxo iônico e de outras substâncias, perda da seletividade para a entrada ou saída de nutrientes, acúmulo de compostos tóxicos resultantes do metabolismo celular, alterações do DNA, oxidação da fração de ácidos graxos poliinsaturados e degradação das substâncias que compõem a matriz citoplasmática (VACA et al., 1988; BABER et al., 1994).

O estresse oxidativo é um importante mecanismo para a destruição das formas intra-eritrocítica do plasmódio (SCHIRMER et al., 1995). Os parasitas no estágio intra-eritrocitário e hepático contêm espécies reativas de oxigênio (ERO's) produzidas pelos antimaláricos, pela degradação de Hb ou por fagócitos, onde o parasita se apropria das enzimas do hospedeiro e produz suas próprias enzimas, como defesa antioxidante contra as ERO's, evitando assim danos oxidativos (GOLENSER et al., 1991).

O eritrócito possui uma defesa antioxidante potente para neutralizar constantemente os ERO's produzidos pela oxidação da hemoglobina (Fe^{2+}) a metahemoglobina (Fe^{3+}). Na hemácia, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) produzido pela superóxido dismutase (SOD) com a dismutação do ânion do superóxido, é reduzido pela catalase e glutathione peroxidase (GPx). O último processo envolve a oxidação concomitante de glutathione reduzida (GSH) para glutathione oxidada (GSSG). A GSSG é reduzida para formar a GSH pela glutathione reductase consumindo NADPH (GINSBURG & ATAMNA, 1994).

O parasita utiliza a via da pentose-fosfato (fosfogliconato ou *Shunt* das hexose-monofosfato) incluindo a glicose-6-Fosfato desidrogenase (G6PD), para formação do NADPH (LUZZATTO, 1995) (Figura 6).

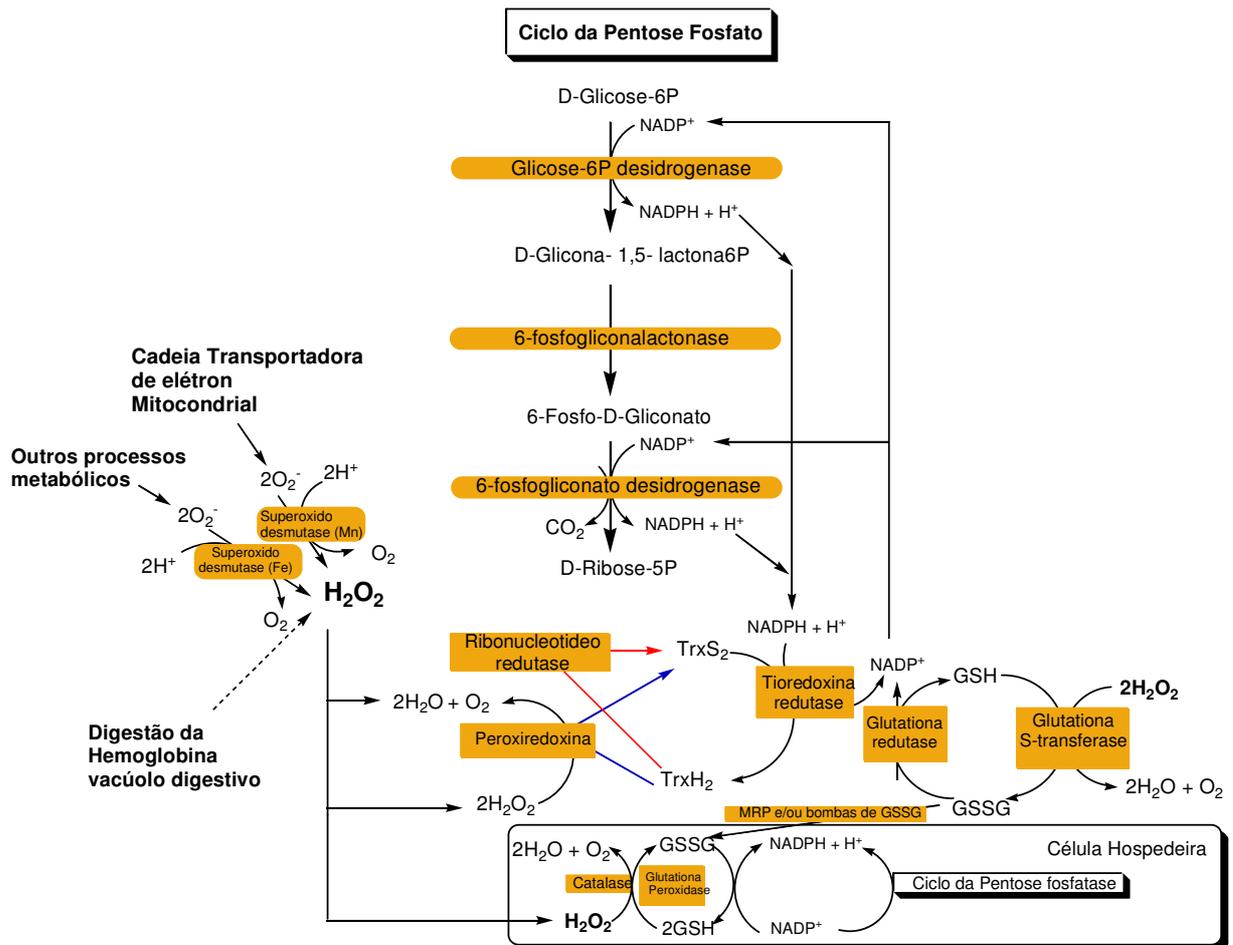


Figura 6 - Defesa antioxidante em eritrócitos infectados por plasmódio (Becker et al., 2004).

Todas as três enzimas da defesa antioxidante, como SOD, GPx e catalase, estão presentes em quantidades variada (FAIRFIELD et al., 1983). Há duas famílias conhecidas dos SOD's: Cu/Zn-SODs e Fe/Mn-SODs. As células do hospedeiro contêm uma Cu/Zn-SOD, que são adotadas pelo parasita, que começa a utilizá-las no seu metabolismo (FAIRFIELD et al., 1988).

Diversos antimaláricos utilizados atualmente têm propriedades pró-oxidantes, e seus mecanismos de ação ocorrem por estresse oxidativo nos eritrócitos parasitados. Teoricamente, o parasita pode sofrer ação, aumentando o estresse e/ou reduzindo seu sistema de defesa antioxidante (VENNERSTROM & EATON, 1988). A cloroquina inibe a detoxificação da Fe (IIIPPIX) e sua atividade antimalárica pode ser aumentada pela depleção de GSH. A artemisinina reage com moléculas de heme formando radicais citotóxicos. Novas drogas atuam no metabolismo redox dos parasitas, sendo conhecidos como antimaláricos peroxídicos, agindo por alquilação

do heme ou proteínas, ou como inibidores das enzimas antioxidantes como a glutationa redutase e glutationa S-transferase (BECKER et al., 2004).

Segundo Correa (2007), a interação entre o heme e a primaquina pode exercer um efeito pró-oxidante (Figura 7). A interação fármaco e radical Fe^{3+} porfirínico (I) é reduzida por sistemas doadores de elétrons. O Fe^{2+} recebe um O_2 , formando o complexo Fe-peroxil (II), que é reduzido novamente por sistemas doadores de elétrons ou pelo fármaco (III) tornando-se instável, liberando $\text{O}_2^{\cdot-}$ (Superóxido) e cátion radical como formas pró-oxidantes (IV).

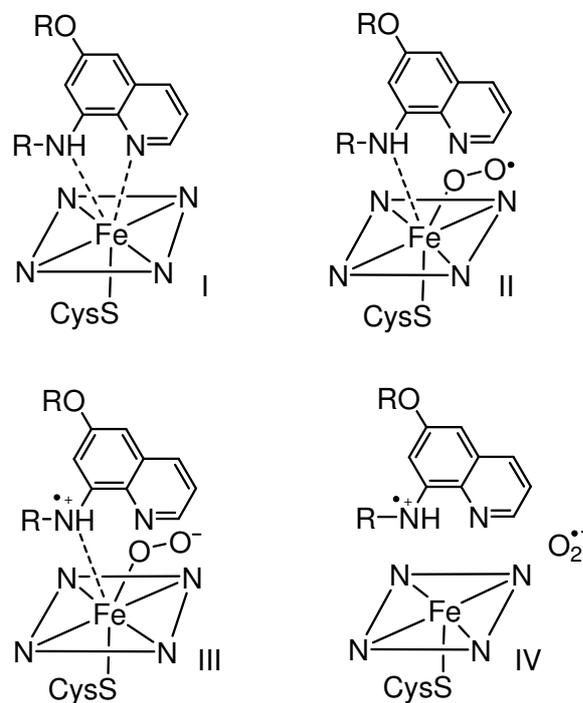


Figura 7 - Mecanismo de pró-oxidação induzido pela primaquina.

2.3 Antimaláricos

Os fármacos antimaláricos são planejados para interferir em etapas específicas do ciclo de vida do Plasmodio. A redução da eficácia dos antimaláricos é um fenômeno cada dia mais evidente, os casos de resistência às drogas nas regiões nas quais a doença é endêmica e as reações tóxicas são freqüentes (WHITE, 1998). Cloroquina, mefloquina, e outras drogas de primeira linha para o tratamento malária, estão cada vez mais ineficazes (VROMAN et al., 1999; BHATTACHARJEE &

KARLE, 1999). Portanto, esforços são necessários para a descoberta e desenvolvimento de novas drogas antimaláricas menos tóxicas e mais ativas.

Tradicionalmente, estágios sanguíneos assexuados são alvos terapêuticos, particularmente nas infecções pelo *P. falciparum*, na qual os parasitas maduros nos estágios trofozoíta e esquizonte invadem os capilares sistema nervoso central (SNC) e de outros órgãos, conduzindo às complicações severas da malária. Também merecem atenção, drogas para o estágio hepático, principalmente recidiva da doença. Já os tratamentos associando drogas que impedem a formação do gametócito são utilizados para impedir a transmissão (MS, 2009).

2.3.1 CLASSIFICAÇÃO

O tratamento dos pacientes com malária deve levar em conta fatores como: o grau da infecção; gestantes; a idade; a espécie de Plasmodio e a gravidade do caso. Os antimaláricos distribuídos atualmente pelo Ministério da Saúde para uso rotineiro são: cloroquina, primaquina, mefloquina, quinina, doxiciclina, artemeter, artesunato, lumefantrina, clindamicina (MS, 2010).

As drogas antimaláricas atuam sobre formas evolutivas específicas, sendo classificadas em:

- a) Esquizonticidas teciduais: Aquelas que atuam sobre o ciclo esquizogônico hepático, destruindo os parasitos durante o ciclo pré-eritrocítico, interrompendo a fase sanguínea e, portanto, as manifestações clínicas da doença. São aplicados na fase pré-latente da infecção natural pelo *P. vivax*. Impedem as recaídas e são chamados anti-recidivas. Exemplo: primaquina, doxiciclina (no *P. falciparum*).
- b) Esquizonticidas sanguíneos: Exercem ação sobre os parasitas durante o ciclo esquizogônico eritrocítico, promovendo a cura clínica da doença. Exemplo: cloroquina, doxiciclina e derivados de artemisinina.
- c) Gametocitocidas: Sua ação se dá pela destruição dos macro e microgametócitos na circulação sanguínea. Os esquizonticidas sanguíneos eliminam também os gametócitos de *P. vivax* e *P. malariae*, mas não do *P. falciparum*, a exemplo da cloroquina e primaquina (para todas as espécies).

- d) Ação esporonticida: Drogas que atuam sobre os gametócitos sem destruí-los, mas impedindo que possam evoluir a esporozoítos no estômago do mosquito.

2.3.2 DERIVADOS QUINOLÍNICOS

O potencial dos derivados quinolínicos está diretamente relacionado a habilidade das drogas de inibir a polimerização do heme, uma vez que grande quantidade deste grupo são liberados pela digestão da hemoglobina. O heme livre pode lisar as membranas pela formação de intermediários reativos de oxigênio, inibindo diversos processos e, por ser tóxico, deve ser detoxificado no vacúolo digestivo através do processo de biocristalização no qual é seqüestrado em grandes cristais insolúveis denominados hemozoína (RAYNES et al., 1996).

A quinina é um derivado das quinolinas, isolada pela primeira vez da casca da árvore tropical *Cinchona ledgeriana* em 1820. É um alcalóide precursor das 4- e 8-aminoquinolinas e dos álcoois quinolínicos (FRANÇA et al., 2008).

Das 4-amino-quinolinas, a cloroquina 7-cloro-4(4-dietilamino-1-metilbutilamino)-quinolina (CQ) é um quimioterápico importante, (Figura 8) por ser um potente esquizonticida sanguíneo, gametocitocida (contra *P. vivax*) e eficaz contra as formas eritrocíticas de todas as espécies de Plasmódio, somando-se a sua ação antipirética e antiinflamatória. No entanto, não é ativa contra esporozoítos ou hipnozoítos hepáticos. (O' NEILL et al., 1998; SULLIVAN et al., 2002).

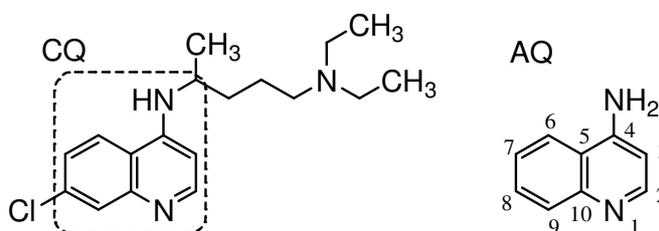


Figura 8 - Estrutura e numeração cloroquina e 4-amino-quinolina.

O mecanismo de ação das 4-aminoquinolinas tem sido extensivamente investigado. O Plasmódio ingere o citosol eritrocítico por endocitose e o transfere para

o vacúolo alimentar via vesículas de transporte de Hb. A digestão da hemoglobina no vacúolo libera a FP IX, ao qual é detoxificada por incorporação nos cristais inertes de hemozoina (EGAN et al., 2002). A cloroquina (CQ) se concentra no vacúolo alimentar e se acredita que dimerize com FP IX, inibindo a formação da hemozoína e na acumulação letal do complexo tóxico FP-CQ ou FP na membrana vacuolar do parasita (SULLIVAN, 2002).

O mecanismo exato pelo qual a CQ inibe a formação da hemozoína não é conhecido, mas sabe-se que pode reter o heme e impedir sua incorporação ao cristal de hemozoína. (DAWSON et al., 1993). Graves et al. (2002), acreditam em um possível papel do estresse oxidativo como parte do mecanismo de ação da CQ.

A amodiaquina distingue-se estruturalmente da CQ por possuir o grupo 4-hidroxianilino ligado ao anel quinolínico. No entanto, ambas apresentam geometria global similar, com espaçamento de quatro carbonos entre os grupos amino secundário e terciário. Recentemente, a amodiaquina foi reclassificada como pró-fármaco, pois é extensamente metabolizada a desetilamodiaquina, biologicamente ativa, por perda do grupo *N*-etilo, e ao metabólito secundário 2-hidroxi-amodiaquina, ambos eliminados por excreção renal (FLETCHER, 1988).

As 8-aminoquinolinas representam os clássicos agentes esquizotocidas teciduais, em contraposição com os esquizotocidas sanguíneos, sendo a primaquina o membro mais importante da família, por sua potente atividade contra as formas teciduais primárias e secundárias do Plasmodio. Recentemente, modificações moleculares da primaquina (PQ) conduziram a novas estruturas derivadas das 8-aminoquinolinas que apresentam atividade esquizotocida sanguínea, abrindo novos horizontes para a quimioterapia da malária (VANGAPANDU et al., 2003).

Outras quinolinas também inibem a formação de hemozoina *in vitro*, com concentrações inibitórias para o parasita, fornecendo forte argumento que compartilham o mecanismo de ação da CQ, associado a geração de níveis tóxicos de FP, a partir da interrupção da formação da hemozoína (HAWLEY et al., 1998; CHOU & FITCH, 1993; GINSBURG & DEMEL, 1984).

2.3.3 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DOS FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

Nas últimas duas décadas, a mortalidade e a morbidade pela malária têm aumentado, em função da resistência aos fármacos antimaláricos comumente utilizados, tais como quinolinícos, preferidos até o surgimento da resistência, detectada pela primeira vez em 1959 na Ásia, impulsionando assim a busca de novos quimioterápicos (BLOLAND, 2001; FRANÇA et al., 2008).

A resistência pode ocorrer pelo decréscimo da concentração de droga no vacúolo digestivo, por mecanismos de extrusão na membrana vacuolar, ou mutação no sítio de ligação da droga com a proteína alvo (FOOTE & COWMAN, 1994). Logo, a diminuição do pH intracelular e aumento do pH vacuolar é um fator relevante (BRAY et al., 1992).

O gene *pfmdr1* o qual confere resistência a múltiplas drogas foi descrito como um transportador responsável pela resistência a CQ (VOLKMAN & WIRTH, 1998; POVOA et al., 1998), apresentando um polimorfismo resultante da substituição do aminoácido asparagina para um tirosina no *P. falciparum* (HOLMGREN et al., 2006).

2.4 Planejamento E Desenvolvimento De Antimaláricos

Para a descoberta e o desenvolvimento de moléculas antimaláricas com melhor atividade, é necessário compreender a estrutura química molecular, e identificar as características dos grupos funcionais da molécula. É fundamental a determinação de parâmetros moleculares e propriedades físico-químicos, além do estudo químico-computacional teórico das propriedades estéreo-eletrônicas de moléculas e receptores pertencentes a esta classe de compostos, em especial os que atuam sobre o processo de detoxificação do heme (ACHARYA, et al., 2008).

Segundo Thomas (2003), a atividade biológica ocorre pelas interações químicas entre o ligante e seu receptor, e os grupamentos químicos contribuem para a formação do complexo fármaco-receptor, portanto, é possível combinar os grupos funcionais responsáveis pela ação biológica e retirar os fragmentos responsáveis pela toxicidade.

O planejamento de compostos biologicamente ativos por métodos teóricos de modelagem molecular, através de programas computacionais de química, técnicas de visualização gráfica, representação tridimensional e bancos de dados, auxiliam na investigação das interações ligante-receptor, na seleção de grupamentos, parâmetros eletrônicos, conformacionais e de solubilidade, para elucidação dos fatores estruturais relacionados ao efeito biológico. Como consequência, os mecanismos de ação molecular dos fármacos podem ser compreendidos pela integração dos conhecimentos fundamentais de química orgânica, bioquímica, biologia molecular e farmacologia (WERMUTH, 1996; CARVALHO et al., 2003).

O desenvolvimento de novos fármacos busca estruturas com atividade e aplicação definidas, reduzindo a toxicidade, tempo e custos financeiros. Os métodos computacionais são ferramentas que tem por objetivo entender e prever o comportamento dos sistemas reais, usados para desenhar, descrever e prever estruturas moleculares, propriedades do estado de transição e equilíbrio de reações, propriedades termodinâmicas, eletrônicas, conformacionais e de solubilidade. Estes métodos abrangem estudos de minimização de energia, análise conformacional, extração das propriedades geométricas e estruturais, de reatividade e simulações de dinâmica molecular, cujos parâmetros podem ser aperfeiçoados por métodos estatísticos (BORGES, 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Estudar o possível envolvimento do mecanismo redox de derivados quinolínicos na atividade antimalarial.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar estudo teórico do tautomerismo da cloroquina;
- Planejar novos derivados de 4-amino-quinolina;
- Estudar a correlação entre estrutura química e atividade antioxidante teórica e correlacionar com a atividade antimalária e toxicidade de 4- e 8-amino-quinolina;
- Isolar o grupo farmacofórico e toxicofórico de 4- e 8-amino-quinolina utilizando métodos teóricos;

4 MÉTODOS COMPUTACIONAIS

4.1 Modelagem Molecular

Atualmente, os métodos teóricos têm sido aplicados com sucesso na mensuração da capacidade antioxidante, na determinação da relação estrutura e atividade farmacológica e no estudo de farmacóforos (QUEIROZ et al., 2008).

Neste estudo utilizou-se o método TFD (Teoria do Funcional da Densidade), o funcional híbrido B3LYP (BECKE et al., 1993; LEE et al., 1998) e os conjuntos de bases 6-31G(d) e 6-311++G(2d,2p) (HEHRE, 1986), com objetivo de avaliar a capacidade dos derivados de doar elétrons correlacionando com os diferentes mecanismos de seqüestro de radicais livres.

As estruturas otimizadas foram confirmadas para reais por cálculo de frequência (frequência não imaginária). Estruturas com mais de uma conformação tiveram todas as conformações investigadas, sendo somente a conformação de menor energia eletrônica utilizada neste trabalho.

O método semi-empírico PM3 (Terceira Parametrização) (STEWART, 1989) foi empregado para pré-otimização das geometrias e obtenção de parâmetros teóricos. Os programas utilizados para esses cálculos encontram-se nos pacotes de química computacional Hyperchem 7.5 (2002) e ChemOffice (2005).

Os descritores de reatividade molecular calculados foram: potencial de ionização (PI) das moléculas, energia de dissociação da ligação XH ($ED_{L_{XH}}$) e densidades de spin. Nesta etapa, os cálculos foram realizados utilizando o programa computacional Gaussian 2003 (FRISCH et al., 2004).

Um detalhado estudo teórico da CQ foi realizado utilizando o método TFD usando conjunto de base 6-31G(d) e 6-311++G(2d,2p), com o objetivo de esclarecer o mecanismo antimalárico e a influência do tautomerismo dos grupos amino-quinolina e imino-quinolina. Nessa etapa todos os cálculos foram realizados em fase gasosa com o objetivo de obter as propriedades intrínsecas do tautômeros estudados, estando livre de qualquer interação. O efeito do solvente foi investigado e calculado posteriormente, usando o método do Meio Contínuo Polarizado (MPC), simulando presença de água ou solvente (clorofórmio) em um modelo simples, implementado no pacote Gaussian 2003. Os resultados encontrados foram

comparados com a fase gasosa para CQ (COSSI & BARONE, 1998).

4.1.1 ENERGIA DOS ORBITAIS DE FRONTEIRA (HOMO E LUMO)

Os valores de HOMO (orbital molecular ocupado de mais alta energia) mostram a facilidade do fármaco atuar como um doador de elétron ou nucleófilo. A maior ou menor nucleofilicidade está relacionada com o menor ou maior valor em módulo, respectivamente. Enquanto que os valores e gráficos do LUMO (orbital molecular desocupado de mais baixa energia) mostram a facilidade do fármaco atuar como um acceptor de elétron ou eletrófilo. A maior ou menor eletrofilicidade está relacionada com o maior ou menor valor em módulo, respectivamente. Valores de HOMO e LUMO serão expressos em elétron-volt (eV) (KUBINYI, 1979).

Estes parâmetros estão relacionados com as regiões em que a estrutura química do fármaco pode ser atraída por pontos específicos do receptor biológico como regiões ricas ou deficientes em elétrons, representando um importante parâmetro que contribui para uma maior compreensão das características químicas e biológicas de um fármaco (KUBINYI, 2002).

As propriedades eletrônicas foram calculadas para determinar na estrutura química quais as possíveis regiões e conformações para reação com os radicais livres, e os fatores que podem afetar as propriedades doadoras eceptoras de elétrons dos derivados quinolínicos.

4.1.2 POTENCIAL DE IONIZAÇÃO (PI)

O potencial de ionização foi calculado a partir das energias de retirada de um elétron. O cálculo do potencial de ionização foi realizado pela diferença entre a molécula neutra e o respectivo cátion radical (Equação 1).

$$IP = ECQ^{*+} - ECQ \text{ (Eq. 1)}$$

Os valores de energia foram correlacionados com as densidades de spin dos

radicais livres, podendo desta forma localizar grupos que estão contribuindo para a estabilização do elétron desemparelhado.

4.1.3 DISTRIBUIÇÃO DE DENSIDADE DE SPIN

Os métodos de análise populacional, como análise populacional de Mulliken, fazem a “partição” da densidade eletrônica entre os átomos de um sistema. A distribuição de densidade de spin tenta prever a localização dos elétrons em determinada molécula e definir qual a fração dos elétrons que permanecem nos átomos após o estabelecimento das ligações químicas da estrutura molecular (AYUEL, 2002; SANT’ANNA, 2009).

4.1.4 MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO (MEP)

Mapas de potencial eletrostático são utilizados em estudos de relação estrutura e atividade tridimensional (3D-SAR) para interpretações qualitativas de reações eletrofílicas e nucleofílicas, cálculos de cargas atômicas e para comparar ou estimar a semelhança entre um conjunto de moléculas (TASI, 1993).

O potencial eletrostático é propriedade de uma molécula que surge da interação entre uma onda carregada, tal como uma carga pontual unitária positiva representando um próton, e a molécula-alvo. Pode ser definido como o trabalho para trazer uma carga unitária positiva do infinito até um determinado ponto do espaço. Mapas tridimensionais que representam a distribuição do potencial eletrostático na superfície molecular através de diferenças de cores é um recurso comum em pacotes de programas de modelagem molecular. Então, define-se uma grade de pontos ao redor da molécula situada a uma distância adequada, que pode ser na superfície de Van de Waals. O potencial eletrostático é então calculado, determinando-se a distribuição e energia de interação de uma carga pontual positiva com cada ponto de grade associado com a superfície molecular (SANT’ANNA, 2009).

4.1.5 TEOREMA DE KOOPMAN

Na Teoria do Funcional da Densidade (TDF), o teorema de Koopman para um extenso sistema molecular pode ser analisado da seguinte forma: A energia de ionização do sistema equivale ao negativo da energia do orbital ocupado de mais alta energia (HOMO) mais a energia eletrostática de Coulomb da retirada de um elétron do sistema, ou equivalentemente, a energia de ionização de um elétron N do sistema é o negativo da média aritmética da energia de HOMO do sistema e da energia do orbital desocupado de mais baixa energia (LUMO) do elétron N-1 (KOOPMAN, 1934; LUO *et al.*, 2006).

$$I(N) = E(N) - E(N-1) = -\epsilon_N \text{ (Eq. 2)}$$

Onde,

I = Energia de Ionização; N = Elétrons totais presentes na molécula e $-\epsilon_N$ = Energia do Teorema de Koopman.

4.1.6 ESTRUTURA QUÍMICA VERSUS ATIVIDADE ANTIMALÁRICA

O estudo da relação entre estrutura química e a atividade antioxidante, antimalárica e toxicidade dos compostos avaliados foi realizado através do método de simplificação molecular (QUEIROZ *et al.*, 2009), visando determinar a importância de cada grupo funcional nas propriedades eletrônicas e conformacionais calculadas.

4.2 Conjunto de Compostos Estudados

As moléculas estudadas foram selecionadas de trabalhos anteriores disponíveis na literatura (ACHARYA *et al.*, 2007; 2008), além dos derivados

planejados, recebendo numeração de 1 a 45, onde a molécula de número 24 e 25 são representada pela CQ e PQ, respectivamente (Figura 9).

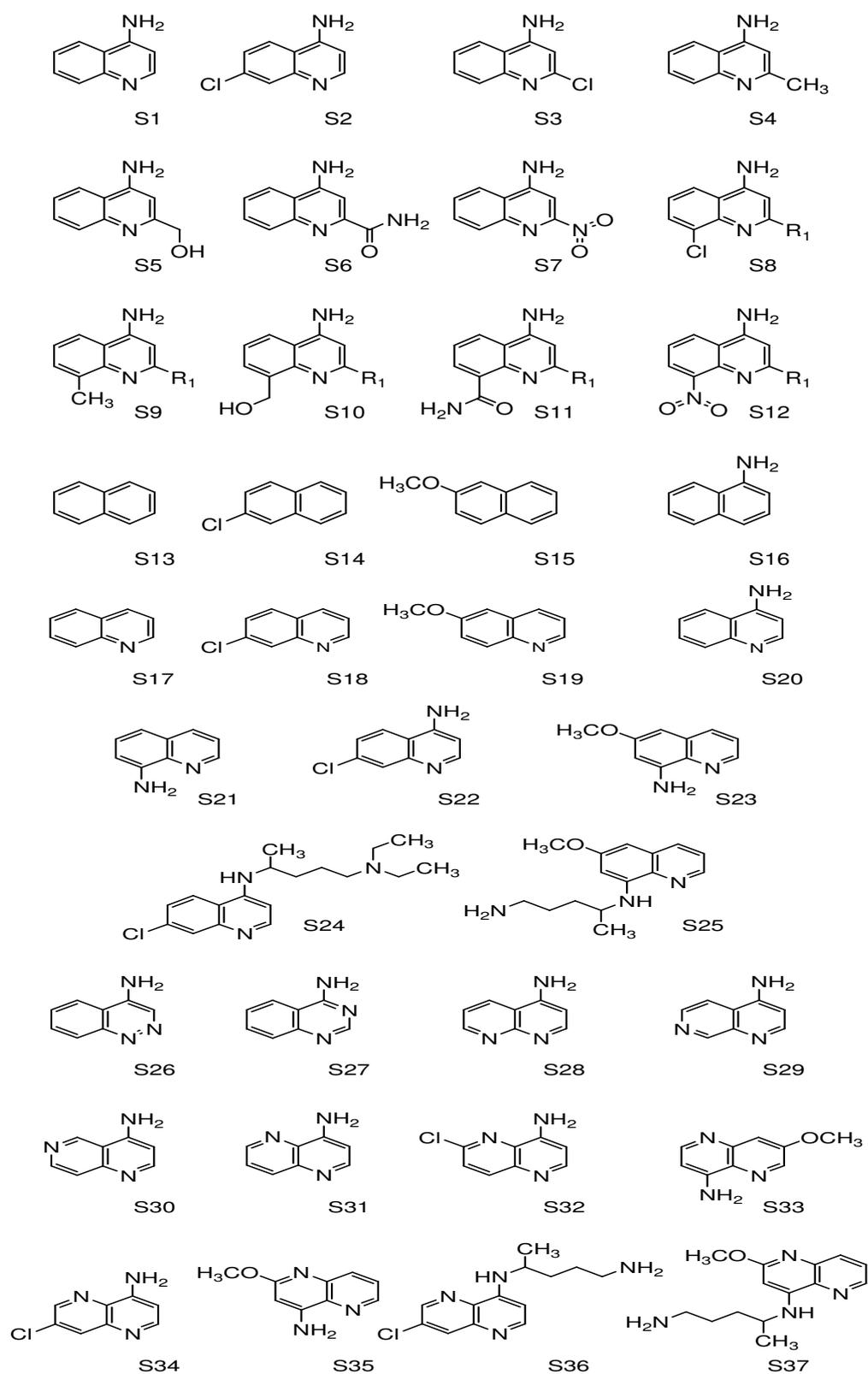


Figura 9 - Conjunto de compostos estudados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Tautomerismo de 4-amino-quinolinas

5.1.1 ESTUDO DAS PROPRIEDADES ELETRÔNICAS

A propriedade antioxidante dos tautômeros da cloroquina (CQ e CQI) e as suas estruturas simplificadas (4AQ e 4AQI) foram avaliadas teoricamente, usando valores de HOMO, LUMO e PI. Os valores de energia de HOMO e PI são importantes parâmetros para analisar a reatividade como nucleófilo das estruturas químicas, no qual os maiores valores de HOMO e os menores valores de LUMO e PI representam facilidade para doar elétrons. Inversamente, menores valores de HOMO e maiores valores de PI implicam que a molécula não apresenta boa tendência a doar elétrons (ANTONCZAK, 2008), desta maneira os valores de HOMO e PI das moléculas podem indicar qual tautômero será mais eficaz nos sítios ativos, atuando como seqüestradores de radicais livres, em decorrência da reação de abstração-H, após a transferência de elétron. Os valores de HOMO, LUMO e PI são mostrados na tabela 1.

Tabela 1 - Propriedades eletrônicas da cloroquina (S24) e 4-amino-quinolina (S20) e seus tautômeros, usando o método DFT/B3LYP/6-31G(d).

Tautômeros	HOMO	LUMO	PI
S20	-5,68	-1,08	174,14
S20	-5,25	-0,77	163,75
S24	-5,64	-1,15	160,22
S24	-5,28	-1,04	145,75

As moléculas apresentaram o valor de energias HOMO de -5,68 eV para 4AQ e -5,64 eV para CQ. Os tautômeros apresentaram valores de energias HOMO de -5,25 eV para 4IQ e -5,28 eV para CQI. Os resultados de LUMO apresentam a mesma

tendência. Portanto, os cálculos mostram que os tautômeros imino-quinolina são mais nucleofílicos que os tautômeros amino-quinolina.

O orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO) é um importante parâmetro de estrutura molecular eletrônica. A molécula ao qual apresenta o mais baixo HOMO tem fraca habilidade doadora de elétrons. Ao contrário, altos valores de HOMO implicam em moléculas boas doadoras de elétrons (QUEIROZ et al., 2009). O valor de HOMO da molécula pode indicar seu sítio ativo de seqüestro de radicais livres, em decorrência a transferência de elétrons.

Como visualizado na figura 10, são identificada algumas estruturas com ressonâncias no sistema HOMO. Os resultados de HOMO, obtidos no presente trabalho indicam que o anel quinolina é essencial para a formação do sistema π de elétrons. Logo, a contribuição do *N,N*-dietil-pentano pode ser negligenciada. Além disso, tanto CQ quanto 4-AQ tem uma notável simetria de HOMO. As mesmas propriedades foram observadas para os tautômeros. Desta maneira, o sistema 4-amino-quinolina é essencial e suficiente para descrever o comportamento eletrônico de derivados quinolinicos, tais como a cloroquina.

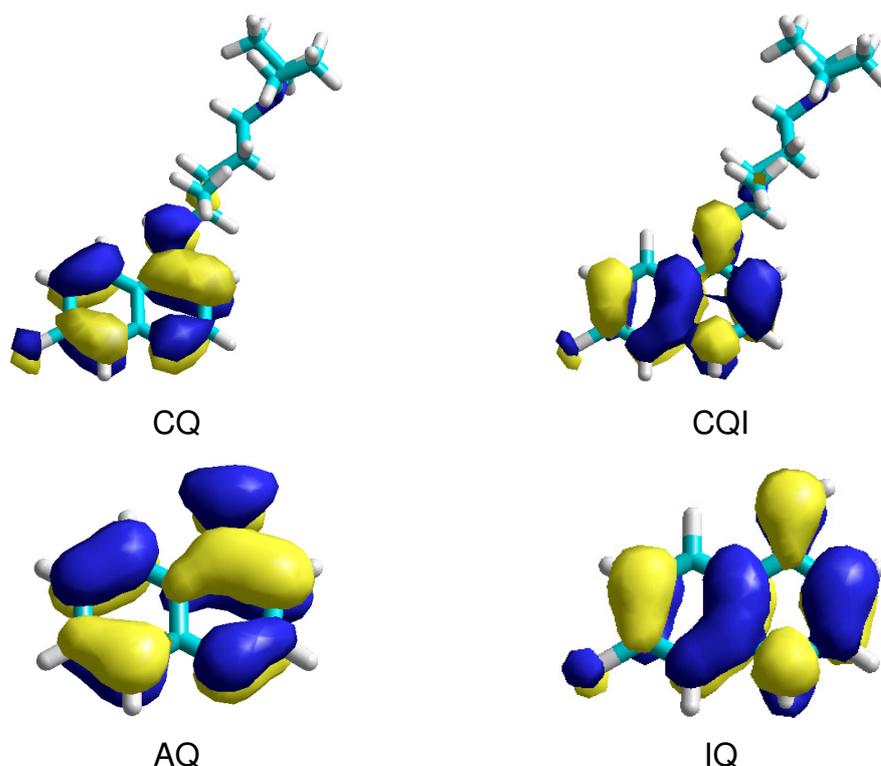


Figura 10 - HOMO da cloroquina (CQ) e 4-amino-quinolina (4AQ) e seus tautômeros.

5.1.2 TEOREMA DE KOOPMAN

Tabela 2 – Energia do Teorema de Koopman.

Tautômeros	HOMO	LUMO	PI	$-\epsilon_N$
S20	-5,68	-1,08	174,14	-4,6
S20	-5,25	-0,77	163,75	-4,48
S24	-5,64	-1,15	160,22	-4,49
S24	-5,28	-1,04	145,75	-4,24

O teorema de Koopman mostra que o PI é um simples demonstrativo do valor energético do HOMO, tendo em vista que a energia do teorema de koopman possui valor próximo ao de HOMO, e tomando como base que o valor de HOMO é utilizado para calcular o PI. Então a diferença entre a energia do teorema de koopman e o valor de HOMO calculado nos forneceria o valor do erro de cálculo computacional (Tabela 2).

5.1.3 MAPAS DO POTENCIAL ELETROSTÁTICO

As mesmas características foram observadas para os mapas do potencial eletrostático 3D (MPE's), com uma simetria estrutural para a cloroquina e o sistema 4-amino-quinolina e seus tautômeros. De fato, os MPE's tanto de CQ quanto de 4AQ com seus respectivos tautômeros, mostrados na figura 11, mostram regiões vermelhas onde altas cargas negativas são esperadas, ao qual representam melhor probabilidade de ataque eletrofílico. A região azul, pelo contrário, representa a área a qual a carga positiva é predita de ocorrer maior probabilidade de ataque nucleofílico. Isso indica que os grupamentos amina e imina são responsáveis pela deslocalização de elétrons, envolvendo essencialmente o anel quinolina, com mudanças das regiões nucleofílicas e eletrofílicas.

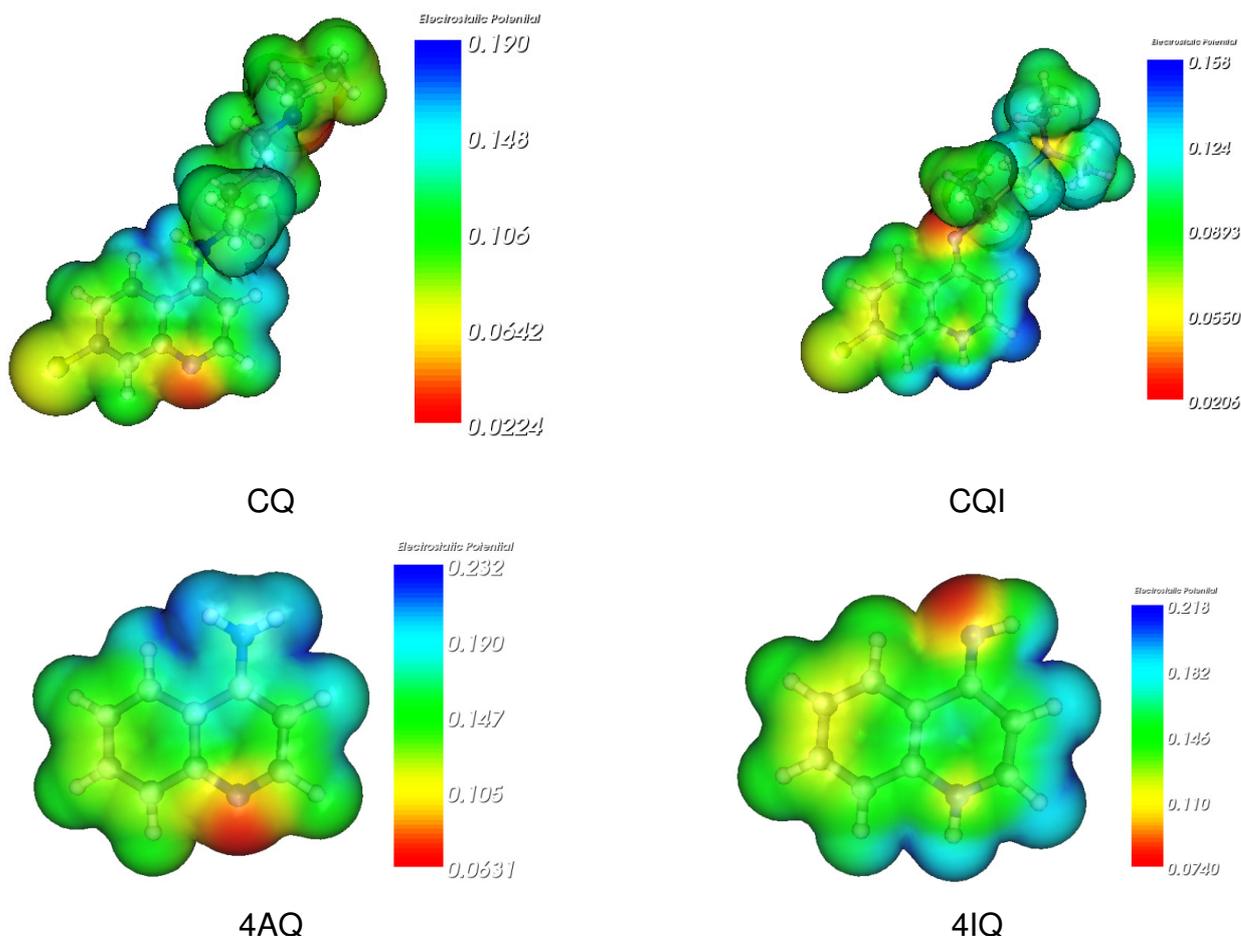


Figura 11 - MPE's da cloroquina (CQ) e 4-amino-quinolina (4AQ) e seus tautômeros.

Essas informações são importantes, sendo diretamente relacionadas com a mudança das formas de interação entre o quinolínico e o receptor biológico. A interação entre o fármaco e o receptor não é estática, talvez a tautomerização seja responsável pela melhor interação e as regiões eletrofílicas podem ser atacadas por hidrogênios protonados.

5.1.4 ABSTRAÇÃO DE ELÉTRONS

Trabalhos anteriores têm demonstrado boa tendência entre HOMO e PI (QUEIROZ, 2009). Desta maneira, esperam-se resultados similares. As moléculas mostraram valores de energias para PI de 174,14 kcal/mol em 4AQ e 160,22 Kcal/mol para CQ. Os tautômeros apresentaram valores de PI equivalente a 163,75

Kcal/mol para 4IQ e 145,75 Kcal/mol para CQI. Com isso, pode-se sugerir que, a doação de elétrons é mais favorecida no tautômero imino-quinolina, quando comparado ao tautômero amino-quinolina.

Nesse caso, a transferência eletrônica é estabilizada pela conjugação de elétrons entre os grupamentos amina e imina. A distribuição da densidade de spin mostrou contribuições características do tautômero amino-quinolina, apresentando maior contribuição nas posições: carbono C₃ (0,32) e nitrogênio amina (0,21), podendo ser visualizado na figura 12. Enquanto que a contribuição da amino-quinolina esta localizada principalmente nos carbonos C₃ (0,32), C₅ (0,17) e no nitrogênio imínico (0,49). Outras posições mostram as mesmas contribuições em ambos os tautômeros. Entretanto, a distribuição das densidades de spin quando calculada utilizando o conjunto de base 311++G (2d,2p) não mostraram diferenças significativas, quando comparados com a base 31G(d).

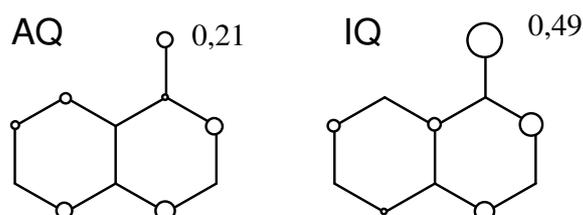


Figura 12 - Estrutura de contribuição da densidade de spin de 4-amina e 4-imino-quinolina.

Conseqüentemente, estes resultados mostraram que a ressonância N₁-H e N₄-H podem ser responsáveis pela propriedade antioxidante do tautômero imino-quinolina, por mecanismo de abstração ou doação de elétrons. Um dos fatores que podem interferir neste processo é a energia de conversão dos tautômeros.

5.1.5 BARREIRAS RELATIVAS DE ENERGIA

As barreiras relativas de energia do tautomerismo amino-quinolina foram calculadas após a transferência de prótons, como mostradas na figura 15. Concentrações biologicamente ativas de cloroquina aumentam o pH da vesículas ácidas do parasita dentro de 3-5 minutos em parasitas sensíveis a cloroquina, no entanto em parasitas resistentes isso não ocorre. A cloroquina aumenta o pH ácido

das vesículas de 700 para 800 vezes, e pode ser representada por esta propriedade como uma base fraca, sendo também um agente lissosomotrópico, significando que este se acumula preferencialmente nos lisossomos das células do corpo. O pKa para o nitrogênio quinolina da cloroquina é 8,5, significando que este é protonado ~90% em pH fisiológico como calculado pela equação de Henderson-Hasselbalch. Este aumenta para ~98% em um pH lisossomal de 4,6. Acredita-se que a característica lissosomotrópica da cloroquina seja responsável pela sua atividade antimalárica; a droga se concentra no vacúolo digestivo ácido do parasita e interfere nos processos essenciais (FOLEY & TILLEY, 1998; OLLIARO, 2001).

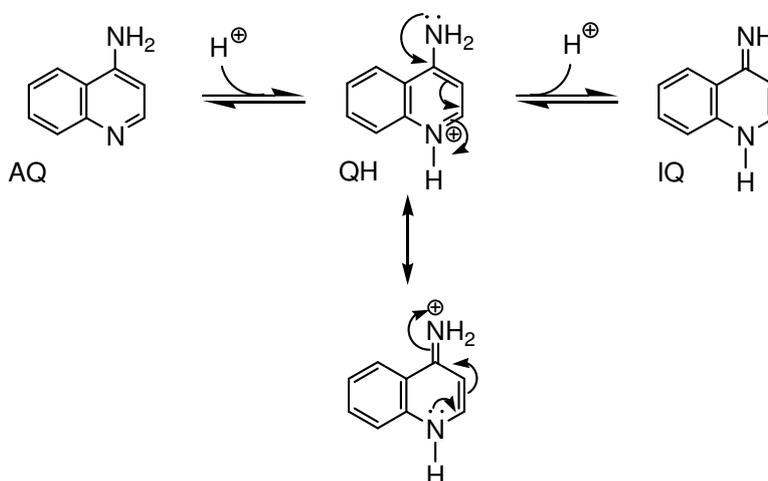


Figura 13 - Tautomerismo de 4-amino-quinolina por transferência de próton.

Tem-se demonstrado que imino-quinolina é importante para um melhor seqüestro de radicais livres pela cloroquina na atividade antimalárica. Entretanto, a barreira relativa de energia entre os tautômeros amino-quinolina e imino-quinolina é 10,34 kcal/mol na cloroquina e 10,78 kcal/mol no modelo simplificado. Em ambos os compostos, o tautômero amino-quinolina é mais estável. Além disso, o efeito do solvente usando o método PCM aumenta a barreira relativa de energia na tautomerização amino-quinolina e imino-quinolina no modelo simplificado para 21,65 e 22,04 Kcal/mol na água e clorofórmio, respectivamente, como observados na figura 14.

Estes valores estão de acordo com os resultados de cálculos eletrônicos que mostram que o tautômero amino-quinolina tem melhor estrutura de ressonância por causa da deslocação pelo sistema π de elétrons. De fato, o tautômero amino-quinolina apresenta uma estrutura simétrica após a abstração do elétron, enquanto o tautômoro imino-quinolina apresenta uma estrutura assimétrica após a abstração de

elétrons, principalmente pela maior contribuição dos nitrogênios enamínicos e imínicos.

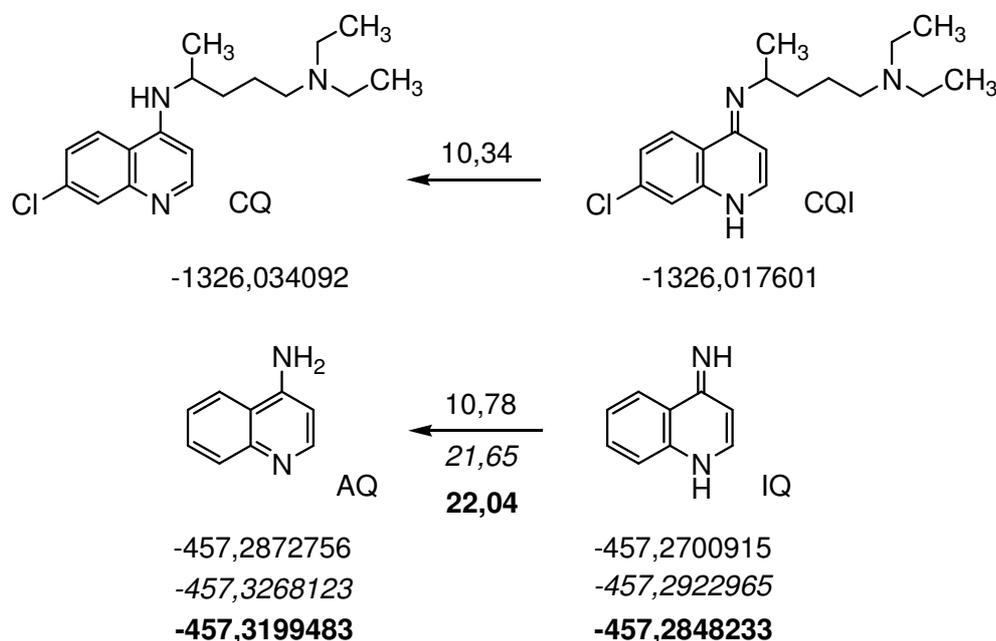


Figura 14 - Estrutura da cloroquina (CQ) e 4-amino-quinolina (4AQ) e seus tautômeros.

Estes resultados estão em oposição aos valores encontrados para o tautomerismo da edaravona. Neste estudo, a barreira relativa entre C-H e N-H ou O-H nos tautômeros é 7,83 e 10,33 kcal/mol. O efeito do solvente usando método PCM diminui a barreira energia na tautomerização em N-H ou O-H para 2,75 ou 6,01 kcal/mol na água e 3,04 ou 6,25 kcal/mol no metanol, respectivamente (QUEIROZ et al., 2010).

Como resultado deste estudo, o sistema imina-enamina do tautômero de 4-amino-quinolina pode ser responsável pelas formas quinóides, formadas pela acepção ou doação de elétrons com enzimas antioxidantes do tipo quinona redutase (VELLA et al., 2005; KWIEK, 2004). Na verdade, tem sido demonstrado que a quinona redutase 2 (QR2) está presente em RBC humana e que as quinonas podem inibir a atividade QR2.

As quinonas são substratos fisiológicos da QR2 e contribuem para o estresse oxidativo na RBC por no mínimo três mecanismos: depleção da glutathiona por oxidação direta (GANT et al., 1986), geração de metahemoglobina por oxidação direta da oxihemoglobina (MUNDAY et al., 1994) e formação de semiquinonas que

se auto-oxidam e formam espécies reativas de oxigênio como o superóxido (O'BRIEN, 1991). Além disso, devido a falta de QR1 na RBC, QR2 é a única enzima presente em RBC, que pode converter quinonas diretamente em hidroquinonas (BENATII, 1987). Portanto, foi postulado que QR2 impede o estresse oxidativo em RBC por reduzir a concentração intracelular de quinonas e diminuir a concentração de semiquinonas e subseqüentemente, contribuem para a geração de ERO's.

A inibição quinolona de QR2 pode afetar o estágio redox nos eritrócitos através da combinação dos seguintes mecanismos: inibição de QR2, causando acúmulo e prejudicando a habilidade do RBC em lidar com o estresse oxidativo, durante a colonização do eritrócito pelo parasita (HUNT, 1990).

Logo, os resultados mostraram que equilíbrio do tautomerismo amino-quinolona e imino-quinolona é mais deslocado para amino-quinolona na fase gasosa, água e clorofórmio. Com os resultados dos estudos termodinâmicos o tautomerismo amino-quinolona e imino-quinolona da cloroquina pode ser importante para a atividade antimalárica. Além disso, a influência enzimática ou condições ácido-base podem ser responsáveis pelo efeito antioxidante do tautômero na oxidação e polimerização do grupo heme.

5.2 Derivados Do Tautomerismo Da 4-Amino-Quinolona

Os estudos de tautomerismo prosseguem, buscando derivados que possuam menores valores de barreira de energia, favorecendo desta forma a formação de imina. Neste sentido, foram realizados os cálculos teóricos usando os métodos PM3 e B3LYP de doze derivados de quinolona mostrados na figura 15. As substituições ocorreram em pontos específicos do anel quinolínico visando reduzir ou alterar a barreira relativa de energia, com substituições nas posições 2, 7 e 8 do anel quinolínico.

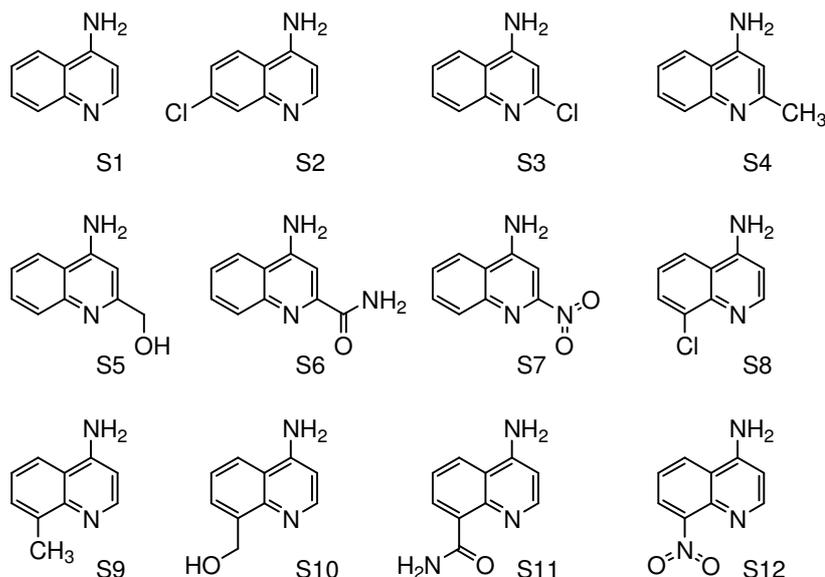
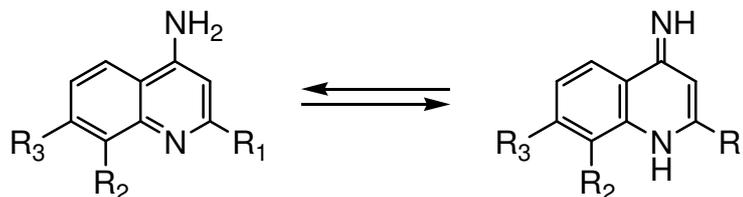


Figura 15 - Estrutura dos derivados tautomerismo da 4-amino-quinolina.

A tabela 3 mostra os valores da barreira relativa para a tautomerização de doze derivados de quinolina, usando o método B3LYP/6-31G(d).

Os resultados mostram que, a substituição do hidrogênio R₃ por halogênio na posição 7, a molécula 7-cloro-4-amino-quinolina (S2) apresenta pouca alteração no valor da barreira de energia relativa de 10,78 para 10,82 kcal/mol, para S1 e S2, respectivamente.

As substituições do hidrogênio R₁ da posição 2, para as moléculas 2-cloro-4-amino-quinolina (S3), 2-metil-4-amino-quinolina (S4), 2-hidroximetil-4-amino-quinolina (S5), 2-carboxamida-4-amino-quinolina (S6) e 2-nitro-4-amino-quinolina (S7) mostraram os maiores valores de barreira de energia relativa, apresentando uma variação de 14,79 a 11,59 kcal/mol. A substituição pelo halogênio (S3) mostrou um valor de 14,79 kcal/mol. No entanto, houve pequena diferença entre os grupos metil (S4) e hidrometil (S5) de 10,4 e 13,73 kcal/mol, respectivamente. Todavia, os grupos carboxamida (S6) e nitro (S7) mostraram os menores valores de 17,97 e 11,59 kcal/mol, respectivamente.

Tabela 3 - Propriedades eletrônicas dos derivados do tautomerismo da 4-amino-quinolina.

Compostos	Substituintes			ΔE (kcal/mol)
	R ₁	R ₂	R ₃	
S1	H	H	H	10,78
S2	H	H	Cl	10,82
S3	Cl	H	H	14,79
S4	CH ₃	H	H	10,40
S5	CH ₂ OH	H	H	13,73
S6	CONH ₂	H	H	17,97
S7	NO ₂	H	H	11,59
S8	H	Cl	H	8,25
S9	H	CH ₃	H	11,60
S10	H	CH ₂ OH	H	12,91
S11	H	CONH ₂	H	9,23
S12	H	NO ₂	H	0,56

Surpreendentemente, as substituições do hidrogênio R₂ da posição 8, para as moléculas 8-cloro-4-amino-quinolina (S8), 8-metil-4-amino-quinolina (S9), 8-hidroximetil-4-amino-quinolina (S10), 8-carboxamida-4-amino-quinolina (S11) e 8-nitro-4-amino-quinolina (S12) mostraram os menores valores de barreira de energia relativa, apresentando uma variação de 12,91 a 0,56 kcal/mol. A substituição pelo halogênio (S8) mostrou um valor de 8,25 kcal/mol. No entanto, houve diferença entre os grupos metil (S9) e hidrometil (S10) de 11,60 e 12,91 kcal/mol, respectivamente. Todavia, os grupos carboxamida (S11) e nitro (S12) mostraram os menores valores de 9,23 e 0,56 kcal/mol, respectivamente.

Essas diferenças se devem a possível formação de ponte de hidrogênio, tanto com o halogênio, quanto com o oxigênio do grupo carbonila e nitro, comparados aos grupos metil e hidrometil que sofrem maior repulsão de van der Waals (figura18). Os

resultados demonstram que as pontes de hidrogênio entre o grupo enamina com grupos presentes na posição 8 são mais efetivas do que as formadas com os grupos na posição 2, como mostrados na figura 18, fator este responsável pelo aumento da estabilidade dos tautômeros.

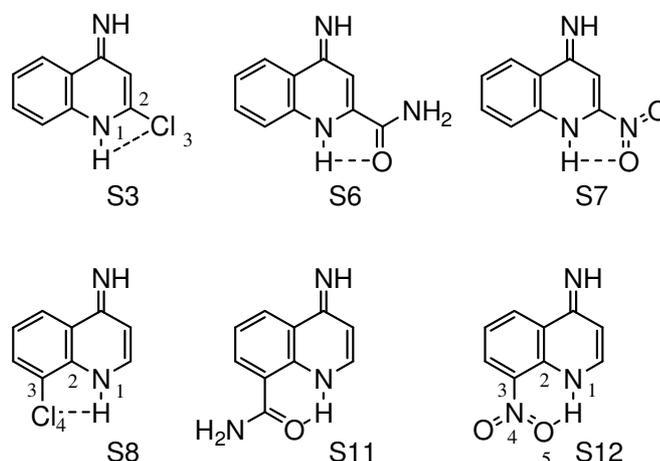


Figura 16 - Ponte de hidrogênio formada pela interação com halogênio, oxigênio do grupo carbonila ou nitro.

Estes resultados demonstram também a maior efetividade nas pontes de hidrogênio formadas em uma relação [1,5] conferem maior estabilidade para a forma imina, comparada a forma amina, do que pontes de hidrogênio formadas em uma relação [1,4] e [1,3].

Nossos resultados mostram que podemos obter compostos com menores barreiras relativas de energia para o tautômero imina pela substituição de grupos ricos em elétrons na posição 8 do anel quinolínico, servindo de base para o planejamento de novos derivados antimaláricos do grupo quinolínico.

5.3 Estudo Do Farmacóforo Antioxidante De Quinolinas

Após o estudo do tautomerismo amino-imina de derivados quinolínico, foi realizado um estudo da estrutura farmacofórica antioxidante de quinolinas, de acordo com a metodologia descrita por Queiroz et al, 2009. O estudo da relação entre estrutura química e capacidade antioxidante foi realizado usando as

propriedades eletrônicas mais importantes, tais como orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO), orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO) e potencial de ionização (PI).

Os estudos visam identificar a contribuição de cada grupamento funcional sobre o efeito elétron doador, bem como estabelecer as diferenças eletrônicas básicas entre 4-amino e 8-amino-quinoleínas. Os compostos utilizados neste estudo são mostrados na figura 19 e seus valores encontram-se na tabela 4.

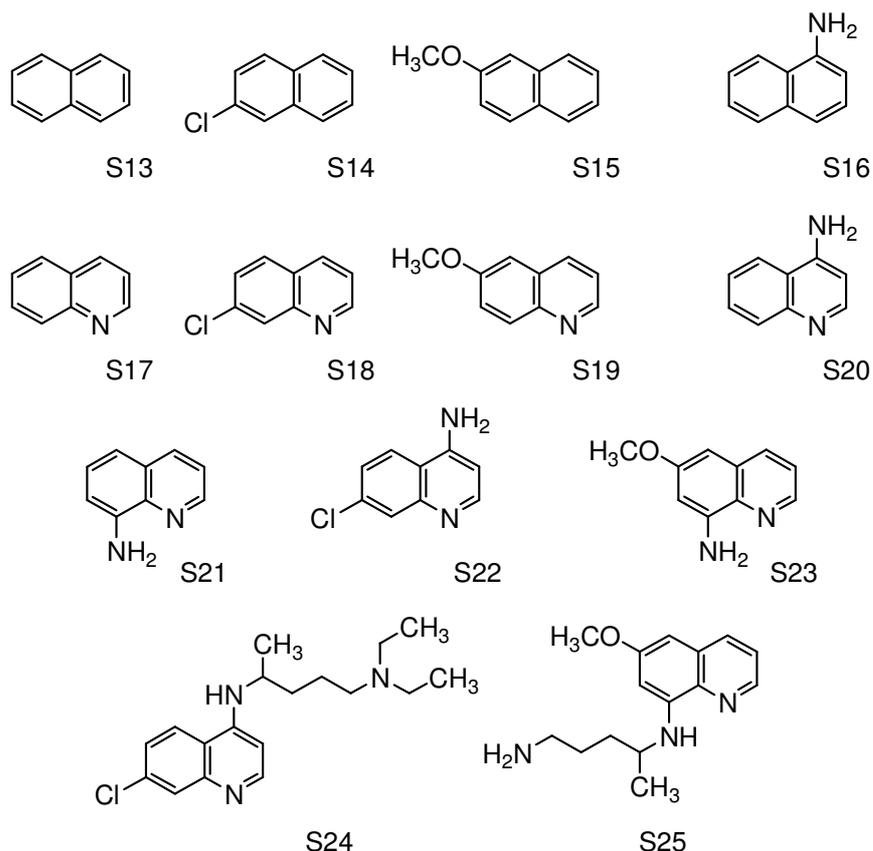


Figura 17 - Estrutura dos derivados análogos de quinolina.

O estudo da relação estrutura atividade de derivados quinolínicos, mostrou que a introdução de grupamento elétron-retirador, como o cloro ao naftaleno, diminuiu o potencial antioxidante pela elevação do PI de 177,27 (S13) para 180,99 kcal/mol (S14). Ao contrário, alterações com grupos elétron-doadores, tais como metoxila (S15) e amina (S16), reduzem os valores de PI para 170,06 e 161,18 kcal/mol, levando a melhor atividade antioxidante.

A substituição de CH por N no anel naftaleno aumenta os valores de PI, reduzindo o potencial antioxidante. O composto S17 apresentou uma variação surpreendente, com PI de 189,89 kcal/mol, comparado com o naftaleno (S13), com

PI de 177,27 kcal/mol e S16, com PI de 161,18 kcal/mol. A mesma tendência obtida para os derivados do naftaleno foram observadas para os derivados de quinolínicos, onde o composto 7-cloro-quinolina, não elevou o potencial antioxidante devido o valor do PI de 189,89 (S17) para 189,90 kcal/mol (S18). Do mesmo modo, grupos elétron-doadores, tais como metoxila (S19) e amina (S20), reduziram os valores de PI para 171,34 e 174,14 kcal/mol, melhorando o potencial antioxidante.

Tabela 4 - Propriedades eletrônicas dos derivados análogos de quinolina.

Compostos	HOMO (eV)	LUMO (eV)	PI (kcal/mol)
S13	-5,78	-0,96	177,27
S14	-6,03	-1,27	180,99
S15	-5,56	-0,89	170,06
S16	-5,13	-0,73	161,18
S17	-5,78	-0,95	189,89
S18	-6,29	-1,38	189,90
S19	-5,78	-1,15	171,34
S20	-5,68	-1,01	174,14
S21	-5,17	-1,13	163,32
S22	-5,77	-1,19	174,65
S23	-5,02	-1,04	157,20
S24	-5,66	-1,16	160,22
S25	-4,79	-0,95	147,99

A diferença entre 4-amino-quinolina (S20) e 8-amino-quinolina (S21) apresentou uma variação significativa, com PI de 174,14 e 163,32 kcal/mol, respectivamente. Seguindo a mesma tendência, os grupos elétrons-retiradores (S22) e doadores (S23) mostrando um PI de 174,65 e 157,20 kcal/mol, respectivamente. De igual modo, quando consideramos os grupos alquilas ligados aos nitrogênios, os resultados foram impressionantes, onde (S24) e mostrou um PI de 160,22 kcal/mol e (S25) de 147,99 kcal/mol.

Através dos resultados obtidos, podemos observar que os grupos com maior destaque na redução do potencial de ionização são grupos elétron-doadores, grupo amina na posição 8 substituído por um grupo alquilamina.

Não obstante, compostos com altos valores de HOMO e baixos valores de PI, como a primaquina (S25) apresentam elevada citotoxicidade, tanto como pela formação da meta-hemoglobina quando por efeito hemolítico (VENNERSTROM & EATON, 1988). Logo, nosso desafio é planejar moléculas quinolínicas com potencial antioxidante com valores intermediários entre a primaquina e cloroquina.

5.4 Derivados Da Associação 4- E 8-Amino-Quinolina

Os parâmetros eletrônicos, tais como orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO), orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO) e potencial de ionização (PI) foram utilizados no planejamento de derivados da associação de 4- e 8-amino-quinolinas, de acordo com a metodologia descrita por Borges, 2007. Os compostos utilizados neste estudo são mostrados na figura 20 e seus valores descritos na tabela 5.

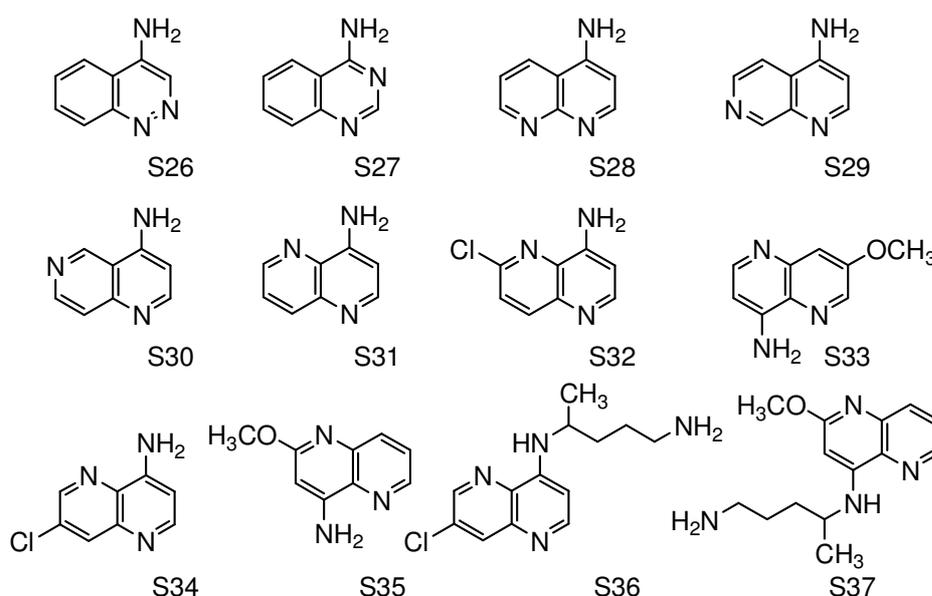


Figura 18 - Estrutura dos derivados da associação de 4- e 8-amino-quinolina.

A análise dos valores de PI obtidos para a CQ (S24) e PQ (S25) de 160,22 e 147,99 kcal/mol, respectivamente, procedeu-se um desenho de moléculas com

valores de PI acima do valor médio de S24 e S25 que é de 154,10 kcal/mol e abaixo do valor da cloroquina de e 160,22 kcal/mol.

Através da análise dos valores de PI obtidos podemos observar que compostos com um segundo nitrogênio inserido no anel quinolina nas posições 2 (S26), 3 (S27), 8 (S28), 7 (S29), 6 (S30), 5 (S31), mostraram os maiores valores de PI, variando entre 176,30–184,28 kcal/mol.

Como o composto S31 apresentou o menor valor de PI de 176,30 kcal/mol, foi avaliada a influencia de grupos elétron-doadores e retiradores, os quais demonstraram igual resultado aos encontrados anteriormente, isto é, maiores valores de 182,91 kcal/mol para S32 e 182,27 kcal/mol para S34, e menores valores de 175,75 kcal/mol para S33 e 177,25 kcal/mol para S35.

Tabela 5- Propriedades eletrônicas dos derivados da associação de 4- e 8-amino-quinolina.

Compostos	HOMO (eV)	LUMO (eV)	PI (kcal/mol)
S24	-5,66	-1, 16	160,22
S25	-4,79	-0,95	147,99
S26	-5,94	-1,57	183,25
S27	-6,07	-1,28	183,97
S28	-6,06	-1,44	184,28
S29	-6,00	-1,51	182,85
S30	-6,05	-1,49	183,74
S31	-5,71	-1,29	176,30
S32	-6,04	-1,87	182,91
S33	-5,80	-1,63	175,75
S34	-6,03	-1,65	182,27
S35	-4,46	-0,78	177,25
S36	-5,72	-1,53	160,22
S37	-5,41	-1,07	162,50

Ao consideramos a influência dos grupos alquilas ligados aos nitrogênios, os resultados foram melhores, onde (S36) e mostrou um PI de 160,22 kcal/mol e (S37)

de 162,50 kcal/mol, sendo estes dois compostos os mais promissores desta série. Não obstante, outras moléculas podem ser desenhadas e reavaliadas.

Portanto, através dos resultados obtidos, podemos observar que a presença de um segundo nitrogênio no grupo quinolina diminui seu potencial antioxidante, exceto na posição 5, sendo este, o grupo de maior destaque na redução do potencial de ionização.

6 CONCLUSÃO

Os valores de energia de HOMO e potencial de ionização indicaram que o tautômero imino-quinolina é provavelmente melhor antioxidante que o tautômero amino-quinolina, fator importante para atividade antimalárica nas células humanas e que exercem sua atividade através do mecanismo de estresse oxidativo no parasita. O equilíbrio do tautomerismo amino-quinolina e imino-quinolina é mais deslocado para amino-quinolina tanto na fase gasosa, quanto em água e clorofórmio usando o método PCM.

Os resultados mostraram que a substituição por grupos ricos em elétrons na posição 8 do anel quinolínico favorece a formação de baixos valores de barreiras de energia relativa para o tautômero imina servindo de base para o planejamento de novos derivados antimaláricos do grupo quinolínico.

A influência dos grupos presentes nas 4- e 8-amino-quinolinas e as alterações de suas posições, mostram que grupos com maior destaque na redução do potencial de ionização são grupos elétron-doadores, tais como amina e metoxila, e que o grupo amina na posição 8 substituído por um grupo alquilamina tem maior influencia em relação à amina na posição 4 substituído pelo grupo alquilamina.

Nos derivados da associação 4- e 8-amino-quinolina, a presença de um segundo nitrogênio no grupo quinolina diminui seu potencial antioxidante, com exceção da substituição na posição 5, representando o derivado de maior destaque na redução do potencial de ionização.

REFERÊNCIAS

1. ACHARYA, N.B.; SARASWAT, D.; KAUSHIK, M.P. Pharmacophore based discovery of potential antimalarial agent targeting haem detoxification pathway. **Eur. J. Med. Chem.** v. 43, n.12 , p. 2840-2852. 2008.
2. ANTONCZAK, S. Eletronic description of four flavonoids revisited by DFT method **J. Mol. Struct. TheoChem.** v. 856, n. 1-3, p. 38 – 45. 2008.
3. ASAWAMAHASAKDA, V. AND YUTHAVONG, Y. The methionine synthesis cycle and salvage of methyltetrahydrofolate from host red cells in the malaria parasite (*Plasmodium falciparum*). **Parasitol.** n.107, p. 1- 10. 1993.
4. AYUEL, K.; CHÂTEL, P. F.; AMANI, S. Charge, current and spin densities of a two-electron system in Russell-Saunders spin-orbit coupled eigenstates. **Phys. B.** n. 315, p. 29-37, 2002.
5. BABER, A.D.; HARRIS, S.R.; Oxygen free radicals and oxidants: a review. **Amer. Pharmacol.** n.34, p. 26-35. 1994.
6. BECKE, A. D. **A new mixing of Hartree–Fock and local density-functional theories** **J. Chem. Phys.** n.98, p.1372-1377. 1993.
7. BECKER, K. et al. Oxidative stress in malaria parasite- infected erythrocytes: host- parasite interactions. **Int. J. Parasitol.** v. 34, n.2, p.163-189. 2004.
8. BENATII, U.; GUIDA, L. DE FLORA, A.; HOCHSTEIN, P. The effect of encapsulated DT diaphorase on the sensitivity of human red blood cells to menadione. **Chem Scr**, 27A, p.169-171. 1987.
9. BHATTACHARJEE, A.K.; KARLE J.M. Stereoeletronic Properties of Antimalarial Artemisin Analogues in Relation to Neurotoxicity. **Chem. Res. Toxicol.** v.12, p.422– 428. 1999.

10. BLOLAND, P.B. Drug resistance in malaria. *In: WHO/CDS/CSR/DRS.4*, WHO, Geneva, p. 1–27. 2001.
11. BOLHUIS, H. et al.; Mechanisms of multidrug transporters. **FEMS Microb. Rev.**; v. 21, n.1, p.55-84. 1997.
12. BOONLAKSIRI C.; OONANANT W.; KONGSAEREE P.; KITTA KOOP P.; TANTICHAROEN M.; THEBTARANONTH Y.; An antimalarial stilbene from *Artocarpus integer*, **Phytochem.**, Ed.54, p.415-417. 2000.
13. BORGES, R.S. **Planejamento, síntese e avaliação antioxidante de inibidores fenólicos da PGES. Derivados da associação p-aminofenol e Salicilatos**. 2007. 140f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)- Universidade Federal do Pará, Belém. 2007.
14. BRAY, P.G.; HOWELLS, R.E.; RITCHIE, G.Y.; WARD, S.A. Rapid chloroquine efflux phenotype in both chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*. A correlation of chloroquine sensitivity with energy-dependent drug accumulation. **Biochem Pharmacol.** n.44, p.1317-24. 1992.
15. BRENNAN, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, p.4841-4844. 2001.
16. CARVALHO, I. et al., Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica. **Quím. Nov.**; v. 26, n. 3, p. 428-438. 2003.
17. CENTER OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Life Cycle**, 2006. Disponível em: http://www.cdc.gov/malaria/biology/life_cycle.htm. Acessado em: 12 de dez de 2009.
18. CHEMOFFICE, **Manual**. CambridgeSoft Corporation, 2005.

19. CHOU, A. C.; FITCH, C. D. Control of heme polymerase by chloroquine and other quinoline derivatives. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 195, n.1, p.422-427. 1993.
20. CORREA, I. D. M. **Relação estrutura e atividade antioxidante de compostos antimaláricos**. Trabalho de Conclusão de Curso. Graduação em Farmácia. Universidade Federal do Pará, 70f. 2007.
21. COSSI, M.; BARONE, V. [Analytical second derivatives of the free energy in solution by polarizable continuum models.](#) **J. Chem. Phys.** v.109, p. 6246-6254. 1998.
22. CUNICO, W.; CARVALHO, S.A.; GOMES, C.R.B.; MARQUES, G.H. Fármacos antimaláricos – história e perspectivas. **Rev. Bras. Farm.**v.89, n.1, p.49-55. 2008.
23. DAWSON, P.A.; COCHRAN, D A. E.; EMMERSON, B. T.; GORDON, R. B. Inhibition of *Plasmodium falciparum* hypoxanthineguanine phosphoribosyltransferase mRNA by antisense oligodeoxynucleotide sequence. **Mol. and Bioch. Parasitol.**; v. 60, n. 1, p. 153-156. 1993.
24. DOMINGUEZ, J. N., LOPEZ, S., CHARRIS, J., IARRUSO, L., LOBO, G., SEMENOV, A., OLSON, J. E. AND ROSENTHAL, P. J. Synthesis and antimalarial effects of phenothiazine inhibitors of a Plasmodium falciparum cysteine protease. **J. Med. Chem.** 40: 2726– 2732, 1997.
25. EGAN, T.J.; ROSS, D. C.; ADAMS, P. A. Quinoline anti-malarial drugs inhibit spontaneous formation of β -haematin (malaria pigment). **FEBS Lett.** v. 352, n. 1, p. 54–57, 1994.
26. EGAN, T. J.; MARQUES, H. M. T. The role of haem in the activity of chloroquine and related antimalarial drugs. **Coord. Chem. Rev.** v. 190, p. 493-517. 1999.

27. EGAN, T. J.; COMBRINCK, J. M.; EGAN, J.; HEARNE, G. R.; MARQUES, H. M.; NTENTENI, S.; SEWELL, B. T.; SMITH, P. J.; TAYLOR, D.; SCHALKWYK, D. A. Van; and WALDEN, J. C..Fate of haem iron in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. **Biochem. J.** v. 365,p. 343–34. 2002.
28. FAIRFIELD, A. S., MESHNICK, S. R. AND EATON, J. W. Malaria parasites adopt host cell superoxide dismutase. **Science.** n.221, p.764-766. 1983.
29. FAIRFIELD, A. S.; ABOSH, A.; RAMA, A.; EATON, J. W.; MESHNICK, S. R. Oxidant defence enzymes of *P. falciparum*. **Mol. Biochem. Parasitol.** n.30, p.77-82. 1988.
30. FERREIRA, P. **Glossário de Doenças:** Malária; Agência Fiocruz de notícias, Ministério da Saúde, 2006. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=191&sid=6>. Acessado em: 10 de ago 2009.
31. FLETCHER K.A.; BARTON P.F.; KELLY J.A. Studies on the mechanisms of oxidation in the erythrocyte by metabolites of primaquine. **Biochem. Pharm.** v.37, n.13, p. 2683-2690. 1988.
32. FOLEY, M.; TILLEY, L. Quinoline antimalarials: Mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. **Pharmacol. Therap.** n.79,p.55–87. 1998.
33. FOOTE, S. J.; COWMAN, A. F. The mode of action and the mechanism of resistance to antimalarial drugs. **Acta. Trop.**, v. 56, n. 2, p. 157-171. 1994.
34. FRANÇA, T.C.C.; SANTOS, M.G.; FIGUEROA-VILLAR, J.D. Malaria: aspectos históricos e quimioterapia. **Quim.Nov.**, v.31, n.5, p.1271-1278. 2008.
35. FRANKEL E.N.; WATERHOUSE; KINSELLA, A.L. J.E. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol, **The Lancet.** v.341, n.8852, p.1103–1104. Abril 1993.

36. FRISCH, M.J. et al., **Gaussian 03**, Revision C.02, Gaussian, Inc., Wallingford, CT. 2004.
37. GANT, T.W.; DOHERTY, M.D.; ODOWOLE, D.; SALES, K.D.; COHEN, G.M. Semiquinone anion radicals formed by the reaction of quinone with glutathione or amino acids. **FEBS Lett** n.201, p.296-300. 1986.
38. GINSBURG, H.; DEMEL, R. A. Interactions of hemin, antimalarial drugs and hemin-antimalarial complexes with phospholipid monolayers. **Chem. Phys. Lipids**. v. 35, n. 4, p. 331–347. 1984.
39. GINSBURG, H. Transport pathways in the malaria-infected erythrocyte. Their characterization and use as potential targets for chemotherapy. **Biochem. Pharmacol.** 48: 1847–1856. 1994.
40. GINSBURG, H.; ATAMNA, H. The redox status of malaria-infected erythrocytes: an overview with an emphasis on unresolved problems. **Parasit.** n.1, p.5–13.1994.
41. GLUZMAN, I. Y., FRANCIS, S. E., OKSMAN, A., SMITH, C., DUFFIN, K. AND GOLDBERG, D. E. Order and specificity of the *Plasmodium falciparum* hemoglobin degradation pathway. **J. Clin. Invest.** 93: 1602–1607, 1994.
42. GOLDBERG, D. E., SLATER, A. F., CERAMI, A. e HENDERSON, G. B.. Haemoglobin degradation in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*: an ordered process in a unique organelle. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** v.87, p.2931 -2935. 1990.
43. GOLENSER, J.; MARVA, E.; CHEVION, M. The survival of *Plasmodium* under oxidant stress. **Parasitol. Today**. n.7, p.142-145. 1991.
44. GRAVES, P.R.; KWIEK, J.J.; FADDEN, P.; RAY, R.; HARDEMAN, K.; COLEY, A.M.; FOLEY, M.; HAYSTEAD, T.A. Discovery of Novel Targets of Quinoline Drugs in the Human Purine Binding Proteome. **Mol. Pharmacol.** v. 62, n. 6, p.1364-1372. 2002.

45. HASSAN, H. F. AND COOMBS, G. H. Purine and pyrimidine metabolism in parasitic protozoa. **FEMS Microbiol. Rev.** n.4, p.47-83. 1988.
46. HAWLEY S. R.; BRAY, P. G.; MUNGTHIN, M.; ATKINSON, J. D.; O'NEILL, P. M.; WARD, S. **Relationship between Antimalarial Drug Activity, Accumulation, and Inhibition of Heme Polymerization in Plasmodium falciparum In Vitro.** **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 42, p. 682–686. 1998
47. HEHRE, W.J.; RADOM, L.; SCHLEYER, P.V.R.; WILEY, J.A. *Ab Initio Molecular Orbital Theory.* New York. 1986.
48. HOLMGREN, G; GIL, J. P; FERREIRA, P. M; VEIGA, M. I; OBONYO, C. O; BJORKMAN, A. Amodiaquine resistant *Plasmodium falciparum* malaria *in vivo* is associated with selection of *pfcr1* 76T and *pfmdr1* 86Y. **Infect Genet Evol.** n.6, p.309-314, 2006.
49. HOUSE, H.; *Modern Synthetic Reactions.* **The Benjamin Publishing Co.** 1972.
50. HYPERCHEM, release 7.5 professional, **Hypercube**, Inc. Gainesville, Florida, USA. 2002.
51. HUDSON, A.T. Hudson, Atovaquone—a novel broad-spectrum anti-infective drug, **Parasitol. Today** n.9, p.66–68. 1993.
52. HUNT, N.H.; STOCKER, R. Oxidative stress and the redox status of malaria-infected erythrocytes. **Blood Cells.** n.16, p.499-526. 1990.
53. ITTARAT, I., ASAWAMAHASAKDA, W. AND MESHNICK, S. R. The effects of antimalarials on the Plasmodium falciparum dihydroorotate dehydrogenase. **Exp. Parasitol.** n.79, p.50–56. 1994.

54. KAMCHONWONGPAISAN, S., SAMOFF, E. AND MESHNICK, S. R. Identification of hemoglobin degradation products in *Plasmodium falciparum*. **Mol. Biochem. Parasitol.** n.86, p.179-186. 1997.
55. KOOPMANS, T. C. Ueber die Zuordnung von Wellenfunktionen und Eigenwerten zu den einzelnen Elektronen eines Atoms. **Physica** 1:104–113. 1934
56. KUBINYI, H. Nonlinear dependence of biological activity on hydrophobic character: the bilinear model. **Farmaco. Sci.** v. 34, n. 3, p. 248-276. 1979.
57. KUBINYI, H., Chemical Similarity and Biological Activities. **J. Braz. Chem. Soc.**, n.13, p.717-726. 2002.
58. KRISHNA, S.; SUPARANOND, W.; PUKRITTAYAKAMEE, S.; TER KUILE, F.; RUPRAH, M.; WHITE, N. J. The disposition and effects of two doses of dichloroacetate in adults with severe *falciparum* malaria. **Br. J. Clin. Pharmacol.** n.41, p.29–34. 1996.
59. KRUNGKRAI, J.; WEBSTER, H. K.; YUTHAVONG, Y. De novo and salvage biosynthesis of pteroyl pentaglutamates in the human malaria parasite, *Plasmodium falciparum*. **Mol. Biochem. Parasitol.** n.32, p.25-38. 1989.
60. KWIEK, J.J., HAYSTEAD, T.A., RUDOLF, J. The Kinetic Mechanism of Quinone-Oxidoreductase 2 and its Inhibition by the Anti-Malarial Quinolines. **Biochem.** v.43, n.15, p.4538-4547. 2004.
61. LANG-UNNASCH, N. Purification and properties of *Plasmodium falciparum* malate dehydrogenase. **Mol. Biochem. Parasitol.** n.50, p.17–25. 1992.
62. LEE, C., YANG, W.; PARR, R.G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Phys. Rev. B.** v.3, p.785 – 789. 1988.
63. LEONARD S.S., XIA C., JIANG B.H., STINEFELT B., KLANDORF H., HARRIS G.K., X.SHI, Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-

induced cellular responses, **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v.309, p.1017–1026. 2003.

64. LOTROWSK, M.; ZACKIEWICZ, C.; **CREMESP** - Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo; Pesquisas negligenciam doenças de populações pobres. 2006.

65. LUZZATTO, L. About hemoglobins, G6PD and parasites in red cells. **Experientia.** 51, p.206-208. 1995.

66. LUO, J.; XUE, Z. Q.; LIU, W. M.; WU, J. L.; YANG, Z. Q. Koopmans' Theorem for Large Molecular Systems within Density Functional Theory. **J. Phys. Chem. A** 110, 12005-12009. 2006

67. MARTINS, F.S.V.; CASTINEIRAS, T.M.P.P.; PEDRO, L.G.F.; **Cives** – Centro de informação em saúde para viajantes, 2008. Disponível em <http://www.cives.ufrj.br/informacao/malaria/mal-iv.html>. Acessado em 05 de fevereiro de 2009.

68. BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, MS. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Saúde Brasil:** Uma análise da situação de saúde, 2006. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/capitulo6_sb.pdf. Acessado em 20 de março de 2009.

69. _____, MS. **Informe de atenção básica** número 45, 2008a. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/dab/docs/publicacoes/informes/psfinfo45.pdf>. Acessado em 10 de ago 2009.

70. _____, MS. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Bolso.** 7^a ed. rev. p.244-253. Brasília, Ministério da Saúde. 2008b.

71. _____, MS. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia prático de tratamento da malária no Brasil** / Ministério da

Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília – DF, 2010.

72. _____, MS. Secretaria de Vigilância em Saúde, Diretoria Técnica de Gestão, Série A. Normas e Manuais Técnicos; **Guia prático de tratamento da malária** no Brasil 2009, Brasília - DF, 2009.

73. O'BRIEN, P.J. Molecular mechanisms of quinone cytotoxicity. **Chem. Biol. Interact.** n.80, p.1-41. 1991.

74. OLLIARO, P. How Plasmodium secures nutrients: new targets for drugs? **Parasitol. Today.** n.10, 4–5. 1994.

75. OLLIARO, P. L.; GOLDBERG, D. E. The *Plasmodium* digestive vacuole: metabolic headquarters and choice drug target. **Parasitol.Today**; v.11, n. 8, p. 294-297. 1995.

76. OLLIARO, P.; YUTHAVONG, Y. An overview of chemotherapeutic targets for antimalarial drug discovery. **Pharmacol. & Ther.** v.81, n.2, p.91-110. 1999.

77. OLLIARO, P. Mode of action and mechanisms of resistance for anti-malarial drugs. **Pharmacol. Therap.** n.89, p.207–219. 2001.

78. O'NEILL P.M.; BRAY P.G.; HAWLEY S.R.; WARD S.A.; PARK B.K. 4-Aminoquinolines-past, present, and future: a chemical perspective. **Pharmacol. & Ther.** v.77, n. 1, p.29-58. 1998.

79. ORJIH, A. U., RYERSE, J. S. AND FITCH, C. D. Hemoglobin catabolism and the killing of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* by chloroquine. **Experientia.** n.50, p.34–39. 1994.

80. PARK W.; LEE S.; MOON H. Antimalarial Activity of a New Stilbene Glycoside from *Parthenocissus tricuspidata* in Mice. **Antimicrob. agents and chemother.** v. 52, n. 9, p. 3451–3453. 2008.

81. PATANI, G. A.; LAVOIE, E. J. Bioisosterism: A rational approach in drug design. **Chem. Reviews**. n.96, v.8, p. 3147-3176. 1996.
82. POVOA, M.M.; ADAGU, I.S.; OLIVEIRA, S.G.; MACHADO, R.L.; MILES, M.A.; WARHURST, D.C. pfm^{dr1} Asn1042Asp and Asp1246Tyr polymorphisms, thought to be associated with chloroquine resistance, are present in chloroquine-resistant and -sensitive Brazilian field isolates of *Plasmodium falciparum*. **Exp Parasitol**. n.88. p.64-68,1998.
83. QUEIROZ, A.N.; GOMES, B.A.Q.; MORAES, W.M.Jr.; BORGES, R.S. A Theoretical Antioxidant Pharmacophore for Resveratrol. **Eur. J. Med. Chem**. n.44, p.1644-1649. 2009.
84. _____, A.N.; MENDES, A.P.S.; LEAL, M.R.S.; NETO, A.M.J.C.; BORGES, R.S. Tautomerism and Radical-Scavenging Activity of Edaravone by DFT Methods. **J. Comp. Theor. Nanosc**. n.7, p. 153-156. 2010.
85. RAYNES, K., FOLEY, M., TILLEY, L. AND DEADY, L. W. Novel bisquinoline antimalarials. Synthesis, antimalarial activity, and inhibition of haem polymerisation. **Biochem. Pharmacol**. n.52, p.551–559. 1996.
86. ROSENTHAL, P. J.; NELSON, R. G. Isolation and characterization of a cysteine proteinase gene of *Plasmodium falciparum*. **Mol. Biochem. Parasitol**. n.51, p.143-152. 1992.
87. SANT'ANNA, C. M. R. Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução. **Revista Virtual de Química**. n. 1, v. 1, p. 49-57, 2009.
88. SATO, Y.; TAKAHASHI, T.; SUSUKI, Y. Mechanism of free radical-induced hemolysis of human erythrocytes: hemolysis by water-soluble radical initiator. **Biochem**. n.34, p. 8940-8949. 1995.

89. SCHIRMER, R. H.; MÜLLER, J. G.; KRAUTH-SIEGEL, R. L. Disulfide-reductase inhibitors as chemotherapeutic agents: the design of drugs for trypanosomiasis and malaria. **Angew. Chem.Int. Ed. Engl.** n.34, p.141-154. 1995.
90. SESPA, **Situação de saúde:** Malária, 2006. Disponível em http://www.sespa.pa.gov.br/Situa%C3%A7o/situacao_malaria.htm. Acessado em 05 de fevereiro de 2010.
91. SEYMOUR, K. K.; LYONS, S. D.; PHILLIPS, L.; RIECKMANN, K. H.; CHRISTOPHERSON, R. I. Cytotoxic effects of inhibitors of de novo pyrimidine biosynthesis upon Plasmodium falciparum. **Biochem.** n.33, p.5268-5274. 1994.
92. SILVA, Thais Horta Álvares et al., Estudo de modelagem molecular de complexos ferriprotoporfirina-IX e quinolinocarbinolaminas antimaláricas: proposta de um farmacóforo. **Quím. Nova.** São Paulo, v. 28, n. 2, Mar. 2005.
93. SHERMAN, I. W. Biochemistry of Plasmodium (malarial parasite). **Microbiol. Rev.** n.43, p.453-495. 1979.
94. STEWART, J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods. **J. Comput. Chem.** n.10, p.209-210. 1989.
95. SULLIVAN, D.J. Theories on malarial pigment formation and quinoline action. **Int. J. Parasitol.** n.32, p.1645-1653. 2002.
96. TASI, G.; PALINKÓ, I.; NYERGES, L.; FEJES, P.; HORST, F. Calculation of electrostatic potential maps and atomic charges for large molecules. **Journal of Chemical Information and Computational Science.** n. 33, p. 296-299, 1993.
97. THOMAS, G. **Química Medicinal - Uma Introdução.** São Paulo: Guanabara, p.267-268. 2003.
98. VACA, C. E.; WILHEM, J.; HARMS-RINGDAHL, M. Interaction of lipid peroxidation products with DNA. A review. **Mut. Res.** n.195, p.137-149. 1988.

99. VANGAPANDU S.; SACHDEVA, S.; JAIN, M.; SINGH, S.; SINGH, P.; KAUL, C.L.; JAIN, R. 8-Quinolinamines and Their Pro Prodrug Conjugates as Potent Blood-Schizontocidal Antimalarial Agents. **Bioorg. Med. Chem.** v.11, p.4557-4568. 2003.
100. VELLA, F.; FERRY, G.; DELAGRANGE, P.; BOUTIN, J.A. NRH:quinone reductase 2: An enzyme of surprises and mysteries. **Biochem. Pharmacol.** n.71, p.1-12. 2005.
101. VENNERSTROM, J.; EATON, J. Oxidants, oxidant drugs, and malaria. **J. Med. Chem.** n.31, p.1269–1277. 1988.
102. VOLKMAN, S. & WIRTH, D. Functional analysis of *pfmdr1* gene of *Plasmodium falciparum*. **Methods Enzymol.**, n.292, p.174-181, 1998.
103. VROMAN, J.A.; GASTON, M.A.; AVERY, M.A. Medicinal chemistry and drug design of artemisinin based antimalarials. **Curr. Pharm. Design.** n.5, p.101-138. 1999.
104. WANG, P., LEE, C. S., BAYOUMI, R., DJIMDE, A., DOUMBO, O., AND HYDE, J. E. Resistance to antifolates in *Plasmodium falciparum*, monitored by sequence analysis of dihydropteroate synthetase and dihydrofolate reductase alleles in large number of field samples of diverse origins. **Mol. Biochem. Parasitol.** n.8, p.161-177. 1997.
105. WERMUTH, C.G. **The practice of medicinal chemistry**. London: Academic Press. 1996.
106. WESTLING, J., YOWELL, C. A., MAJER, P., ERICKSON, J. W., DAME, J. B. AND DUNN, B. M. *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, and *P. malariae*: a comparison of the active site properties of plasmepsins cloned and expressed from three different species of the malaria parasite. **Exp. Parasitol.** n.87, p.185-193. 1997.

107. WHITE, J. H., KILBEY, B. J., DE VRIES, E., GOMAN, M., ALANO, P., AND RIDLEY, R. G. The gene encoding DNA polymerase alpha from Plasmodium falciparum. **Nucl. Acids Res.** n.21, p.3643-3646. 1993.
108. WHITE, N.J. Drug resistance in malaria. **Br Med Bull.** n.54, p.703-715. 1998.
109. ZHENG, W.; WANG, S.Y.; Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **J. Agric. Food Chem.** Chicago: v.49, p. 5165-5170. 2001.