

# O ensino e a pesquisa em **QU** **MICA**

Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua  
(Organizador)

**3**

  
Atena  
Editora  
Ano 2021

# O ensino e a pesquisa em **QU** **MICA**

Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua  
(Organizador)

**3**

  
Atena  
Editora  
Ano 2021

**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira

**Assistente editorial**

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto gráfico**

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Gabriel Motomu Teshima

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Luiza Alves Batista

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2021 Os autores

Copyright da edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial-Não-Derivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

**Conselho Editorial****Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie

Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná

Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná



Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista



## O ensino e a pesquisa em química 3

**Diagramação:** Camila Alves de Cremo  
**Correção:** Yaidy Paola Martinez  
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga  
**Revisão:** Os autores  
**Organizador:** Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

E59 O ensino e a pesquisa em química 3 / Organizador  
Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua. – Ponta Grossa -  
PR: Atena, 2021.

Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader  
Modo de acesso: World Wide Web  
Inclui bibliografia  
ISBN 978-65-5983-761-8  
DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.618210612>

1. Química - Estudo e ensino. I. Paniagua, Cleiseano  
Emanuel da Silva (Organizador). II. Título.

CDD 540.7

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

**Atena Editora**  
Ponta Grossa – Paraná – Brasil  
Telefone: +55 (42) 3323-5493  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br



**Atena**  
Editora  
Ano 2021

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.



## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



## APRESENTAÇÃO

O e-book: “O ensino e a pesquisa em química 3” é constituído por quinze capítulos que foram organizados em três grandes áreas temáticas, a saber: *i)* ensino de química: processos formativos e a importância de atividades experimentais contextualizadas; *ii)* preparo de materiais metálicos e síntese aplicada ao desenvolvimento de materiais, substâncias com propriedades biológicas e bicomustíveis e; *iii)* avaliação e monitoramento da qualidade dos recursos hídricos.

O primeiro tema é composto por sete capítulos de livro que procuraram investigar a importância do aprendizado de conceitos técnico-científicos e de atividades experimentais para o melhor aprendizado do estudante do ensino médio na área de química. O desenvolvimento de atividades de extensão voltado para o contexto social possibilitou um maior aprendizado da química por intermédio da interdisciplinaridade com outras áreas da ciência e o desenvolvimento de uma consciência ambiental, a princípio, dentro do contexto escolar e que poderá ser disseminado por toda a sociedade a fim de se atingir uma maior conscientização coletiva, proporcionando a mudança em ações e atitudes que levam a consequências negativas para o meio ambiente e retorna a espécie humana com inúmeras consequências negativas.

A segunda temática é composta por cinco capítulos que apresentaram estudos voltados para o preparo de barras utilizando a técnica de Extração por sorção em barra de agitação (SBSE), visando aumentar a inércia química e, conseqüentemente, reduzir o processo de corrosão metálica e aumentando a vida útil deste material. Os outros quatro capítulos apresentaram processos de reação de síntese com o intuito de produzir nanomateriais enriquecidos com biomassa de origem vegetal; produção de quinolina para combater a Leishmaniose que é uma doença parasitária muito presente em países tropicais como o Brasil; a síntese da 2-metilrilquinonas com elevada propriedades biológicas que podem vir a ser utilizadas na química medicinal. Por fim a reação de síntese e avaliação de um eletrocatalisador com um enorme potencial para ser utilizado em células de combustíveis para aplicação na produção de bioetanol.

O terceiro e último tema é composto por três capítulos de livro com estudos que procuraram avaliar a degradação de biodiesel utilizando processos em condições anaeróbicas; a distribuição de gás metano presente no sedimento da superfície do Lago Paranoá em Brasília. Por último, um estudo realizado e coordenado por pesquisadores da Universidade de Brasília, que objetiva a possibilidade de monitorar o uso de drogas ilícitas por meio da excreção de usuários na rede de esgoto domiciliar.

Nesta perspectiva, a Atena Editora vem trabalhando com o intuito de estimular e incentivar os pesquisadores brasileiros e de outros países a publicarem seus trabalhos com garantia de qualidade e excelência em forma de livros e capítulos de livros que são disponibilizados no site da Editora e em outras plataformas digitais com acesso gratuito.




## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1..... 1**

APRESENTAÇÃO DOS CONCEITOS DE ÁCIDOS E BASES DE ARRHENIUS POR MEIO DA INVESTIGAÇÃO DAS CONCEPÇÕES ALTERNATIVAS DE ESTUDANTES DO ENSINO MÉDIO EM INSTITUIÇÕES PÚBLICAS DE ENSINO NOS ESTADOS DO ACRE E AMAZONAS

Leandro Junior Machado

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.6182106121>

### **CAPÍTULO 2..... 12**

A QUÍMICA NO ENSINO MÉDIO: VIDEOAULAS EXPERIMENTAIS COMO FERRAMENTAS NO ENSINO REMOTO


Oswaldo Pacheco Freitas

Ludimila Barbosa dos Santos

Jéssica Del Nero

Deise Ane Oliveira Silva

Mírian da Silva Costa Pereira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.6182106122>

### **CAPÍTULO 3..... 26**

A INFLUÊNCIA DE ATIVIDADES EXPERIMENTAIS NO CONTEÚDO DE OXIRREDUÇÃO PARA O 2º ANO DO ENSINO MÉDIO

Fernanda Meneses Amaral

Maria Sorileide Costa Teixeira

Rothchild Sousa de Moraes Carvalho Filho


Antônia Flávia Silva Magalhães

Maria Tamires Cordeiro Pereira

Maria Fabiana Araujo da Silva

Ana Kerly Oliveira de Brito

Patrícia Teixeira da Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.6182106123>

### **CAPÍTULO 4..... 42**

FABRICAÇÃO DE SABÃO ECOLÓGICO E ARTESANAL NO ALTO SERTÃO PARAIBANO: CONSCIÊNCIA AMBIENTAL ALIADA AO ENSINO DE QUÍMICA

José Manuel Amancio da Silva

Francisco Ferreira Batista

Lucas Ferreira Batista


Maíre Gomes de Meneses

José Iran Filho

Éricka Anulina Cunha de Oliveira

Pedro Nogueira da Silva Neto

Polyana de Brito Januário

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.6182106124>

**CAPÍTULO 5.....53**

**RECICLAGEM DE RESÍDUOS SÓLIDOS EM UM COLÉGIO DA REDE ESTADUAL NA CIDADE DE PEDRO II- PIAUÍ: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA**


Fernanda Meneses Amaral  
Maria Sorileide Costa Teixeira  
Rothchild Sousa de Moraes Carvalho Filho  
Renata da Silva Carneiro  
João Breno Barros da Silva  
Larissa Viana Souza  
Ana Karina Borges Costa  
Hisley Feitosa Meneses  
Aline Maria da Silva Duarte  
Heloisa de Sousa Pereira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.6182106125>

**CAPÍTULO 6.....61**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE PIGMENTOS RUPESTRES DE SÍTIOS ARQUEOLÓGICOS DE INHUMA (PIAUÍ) POR MEIO DA ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X PORTÁTIL ALIADA A TRATAMENTO QUIMIOMÉTRICO**


Jacira Izidório de Moura  
Maria Conceição S. M. Lage  
Benedito Batista Farias Filho  
Wilkins Oliveira de Barros  
Anna Luiza Bizerra de Brito  
Luanne Miranda Lustosa

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.6182106126>

**CAPÍTULO 7.....78**

**A IMPORTÂNCIA DA ALFABETIZAÇÃO/LETRAMENTO CIENTÍFICO EM QUÍMICA PARA ESTUDANTES DA EDUCAÇÃO BÁSICA, CURSOS DE LICENCIATURA E PROFESSORES EM FORMAÇÃO CONTINUADA**


Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua  
Anelise dos Santos Mendonça Soares  
Valdinei de Oliveira Santos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.6182106127>

**CAPÍTULO 8.....91**

**PREPARO DE BARRAS PARA SBSE SOBRE SUBSTRATO METÁLICO MAGNETIZÁVEL DE ALTA INÉRCIA**

José Carlos Rodrigues  
Fernanda Maria Rodriguez


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.6182106128>

**CAPÍTULO 9.....107**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO REDUZIDAS COM CASCA DE ROMÃ (*Punica granatum* L.)**

Rafaela Spessemille Valotto

Wanderson Juvencio Keijok  
Marco Cesar Cunegundes Guimarães

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.6182106129>


**CAPÍTULO 10..... 117**

SÍNTESES DE ANALOGOS QUINOLÍNICOS CON ACTIVIDAD LEISHMANICIDA *IN VITRO*  
SOBRE *Leishmania (Viannia) panamensis*

Gilmar Gabriel Santafé Patiño

Fernis José Marin Severiche

Sara María Robledo Restrepo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.61821061210>

**CAPÍTULO 11 ..... 132**


SÍNTESE DE 2-METOXIARIL ALQUINONAS E AVALIAÇÃO DE SUA REATIVIDADE EM  
REAÇÃO DE CICLIZAÇÃO ELETROFÍLICA

Angélica Ribeiro Claus

Daniela Aline Barancelli

Estela dos Reis Crespan

Letícia Ledo Marciniuk

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.61821061211>

**CAPÍTULO 12..... 143**

SÍNTESES Y EVALUACIÓN DEL ELECTROCATALIZADOR  $Pt/Al_2O_3/C$  PARA SU FUTURA  
APLICACIÓN EN CELDAS DE COMBUSTIBLE DE BIO-ETANOL DIRECTO

Nallely Téllez Méndez

Sergio Alberto Gamboa Sánchez

Laura Alicia Paniagua Solar

José Fermi Guerrero Castellanos

Enrique de la Fuente Morales

Beatriz Eugenia Graniel García

Jorge Cotzomi Paleta

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.61821061212>

**CAPÍTULO 13..... 154**

AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE BIODIESEL EM PROCESSO ANAERÓBIO

Marina Sayuri Kashiwabara

Patrícia Angélica Vieira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.61821061213>

**CAPÍTULO 14..... 167**


DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE METANO NOS SEDIMENTOS SUPERFICIAIS DO LAGO  
PARANOÁ, BRASÍLIA-DF

Valéria Regina Bellotto

Fernanda Vasconcelos de Almeida

Nickolas Valcarcel da Silva

Thiago Bezerra Lima

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.61821061214>

**CAPÍTULO 15..... 178**


EPIDEMIOLOGIA BASEADA NO ESGOTO PARA ESTIMAR O USO DE DROGAS:  
CONTRIBUIÇÕES DA QUÍMICA ANALÍTICA PARA A SOCIEDADE

Fernando Fabriz Sodré

Rafael Silva Feitosa

Alex de Sene Corado Guedes

Adriano Otávio Maldaner

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.61821061215>

**SOBRE O ORGANIZADOR..... 201**

**ÍNDICE REMISSIVO..... 202**

## SÍNTESES DE ANALOGOS QUINOLÍNICOS CON ACTIVIDAD LEISHMANICIDA *IN VITRO* SOBRE *Leishmania* (Viannia) *panamensis*

Data de aceite: 01/12/2021

### Gilmar Gabriel Santafé Patiño

Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias,  
Departamento de Química  
Montería - Córdoba  
<https://orcid.org/0000-0002-9235-3844>

### Fernis José Marin Severiche

Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias,  
Departamento de Química  
Montería - Córdoba  
<https://orcid.org/0000-0001-6720-9843>

### Sara María Robledo Restrepo

Universidad de Antioquía, Facultad de  
Medicina, PECET- Instituto de Investigaciones  
Médicas  
Medellín – Antioquía  
<https://orcid.org/0000-0003-2752-4931>

**RESUMEN:** A partir de la reacción de condensación tipo Perkin entre quinaldina y la 8-hidroxi quinaldina con aldehídos aromáticos se sintetizaron tres estilrilquinolinas: (*E*)-2-etoxi-4-(2-(8-hidroxiquinolin-2-il)vinil)fenil acetato (1), 2-[(*E*)-2-(2-acetiloxi-5-nitrofenil)etenil] quinolina (2), 2-[(*E*)-2-(3-metoxifenil)etenil] quinolina (3), se determinó potencial leishmanicida *in vitro* empleando citometría de flujo y citotoxicidad por el método MTT. Los compuestos (1) y (2) mostraron ser activos contra *Leishmania* (*V*) *panamensis* con valores de  $CE_{50}$  de 0.2 y 2.5  $\mu\text{g/mL}$ ,  $CL_{50}$  de 2.8 y 5.9  $\mu\text{g/mL}$  e índices de selectividad de 14.0 y 2.4, respectivamente, comparados con el medicamento control anfotericina B. Las

estructuras de estos compuestos se confirmaron empleando técnicas espectroscópicas de análisis como IR, RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , COSY, HMQC, HMBC y experimentos DEPT. Se sintetizaron tres estilrilquinolinas con rendimientos de 40.3%, 72.0% y 80.0% respectivamente, las estilrilquinolinas (1) y (2) mostraron buen potencial leishmanicida con porcentajes de inhibición de 67.5 y 74.9 respectivamente.

**PALABRAS CLAVE:** *Leishmania*; estilrilquinolinas; reacción tipo Perkin; potencial leishmanicida.

## SÍNTESE DE ANÁLOGOS DE QUINOLINA COM ACTIVIDADE LEISHMANICIDA *IN VITRO* EM *Leishmania* (Viannia) *panamensis*

**RESUMO:** Três estilrilquinolinas foram sintetizadas a partir da reação de condensação do tipo Perkin entre quinaldina e 8-hidroxiquinolina com aldeídos aromáticos: (*E*)-2-etoxi-4-(2-(8-hidroxiquinolin-2-il)vinil)acetato de fenil (1), 2-[(*E*)-2-(2-acetiloxi-5-nitrofenil)etenil]quinolina (2), 2-[(*E*)-2-(3-metoxifenil)etenil]quinolina (3), Leishmanicida *in vitro* o potencial foi determinado por citometria de fluxo e a citotoxicidade pelo método MTT. Os compostos (1) e (2) mostraram ser ativos contra *Leishmania* (*V*) *panamensis* com valores de  $EC_{50}$  de 0,2 e 2,5  $\mu\text{g/mL}$ ,  $LC_{50}$  de 2,8 e 5,9  $\mu\text{g/mL}$  e índices de seletividade de 14,0 e 2,4, respectivamente, em comparação com o fármaco controle anfotericina B. As estruturas desses compostos foram confirmadas usando técnicas de análise espectroscópica, como IR,  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  NMR, COSY, HMQC, HMBC e experimentos DEPT. Três estilrilquinolinas foram

sintetizadas com rendimentos de 40,3%, 72,0% e 80,0% respectivamente, as estirilquinolinas (1) e (2) apresentaram bom potencial leishmanicida com percentuais de inibição de 67,5 e 74,9, respectivamente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leishmania, estiril quinolinas, Reacción tipo Perkin, Potencial leishmanicida.

## SYNTHESIS OF QUINOLINE ANALOGUES WITH LEISHMANICIDAL ACTIVITY *IN VITRO* ON *Leishmania* (*Viannia*) *panamensis*

**ABSTRACT:** Perkin type condensation reaction between quinaldine and 8-hydroxyquinaldine with aromatic aldehydes were synthesized three styrylquinolines: (*E*)-2-ethoxy-4-(2-(8-hydroxyquinolin-2-yl)vinyl)phenyl acetate (1), 2-[(*E*)-2-(2-acetoxy-5-nitrophenyl)ethenyl]quinoline (2), 2-[(*E*)-2-(3-methoxyphenyl)ethenyl]quinoline (3), was determined the leishmanicidal potential *in vitro* applying of flow cytometry and evaluating cytotoxicity by MTT method. The compounds (1) y (2) showed to be active against *Leishmania* (*V*) *panamensis* with  $EC_{50}$  de 0.2 and 2.5  $\mu\text{g/mL}$ ,  $LC_{50}$  de 2.8 and 5.9  $\mu\text{g/mL}$  and selectivity index of 14.0 and 2.4, respectively, compared to the drug control amphotericin B. The structures of these compounds were confirmed using spectroscopic techniques from analysis: IR,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR, COSY, HMQC, HMBC and DEPT experiments. Three styrylquinolines were synthesized with performance of 40.3%, 72.0% and 80.0% respectively, styrylquinolines (1) and (2) showed good leishmanicidal potential with inhibition percentages of 67.5 y 74.9 respectively.

**KEYWORDS:** *Leishmania*; styrylquinolines; Perkin reaction; leishmanicidal potential.

## INTRODUCCIÓN

En el continente americano durante el año 2016 los casos de leishmaniasis se incrementaron en un 5% en relación a años anteriores, debido principalmente a la incidencia e incremento de la enfermedad en países como Colombia, Perú y Nicaragua (WHO, 2018). Específicamente en Colombia, durante el año 2018 se registraron 5.577 casos de leishmaniasis (Instituto Nacional de Salud, 2018), y en lo que va corrido del año 2019 hasta la quinta semana epidemiológica se reportan más de 307 casos (Instituto Nacional de Salud, 2019), esta enfermedad es transmitida por la picadura de insectos del género *Lutzomyia* y se estima que el 91% de los municipios en Colombia que se encuentran por debajo de 1750 m.s.n.m han presentado casos de leishmaniasis, notándose un incremento gradual en la transmisión de la enfermedad en las ciudades debido al desplazamiento de los vectores y de las poblaciones a áreas semirurales (Marín et al., 2016, 2018). Dentro de las tres formas de la leishmaniasis, la leishmaniasis Cutánea Americana (ACL) es la forma más común y contagiosa no infecciosa, causada por parásitos del género *Leishmania*, esta se compone de un amplio espectro de enfermedades que van desde lesiones externas localizadas hasta leishmaniasis mucocutánea que son deformantes y que pueden ser fatales (Pinheiro et al., 2016).

Distintas sustancias han sido implementadas y evaluadas como medicamentos contra

la leishmaniasis; las principales están dirigidas a inhibir el proceso de las rutas metabólicas específicas del parásito (Figueredo et al., 2014), sin embargo los medicamentos propuestos para el tratamiento de leishmaniasis han sido compuestos antimoniales pentavalentes (Sb5+), cuyo mecanismo de acción frente a *Leishmania* es controvertido y poco entendido, mientras que la anfotericina B, pentamidina, paromomicina y miltefosina son sustancias que se emplean actualmente en los tratamientos terapéuticos, pero presentan varios problemas principalmente relacionados con sus efectos secundarios, altos precios del producto y la complicada producción o síntesis específica del medicamento (Calixto et al., 2016). Toda esta problemática sumada a los fenómenos de resistencia del parásito al medicamento y a la carencia de una vacuna contra esta enfermedad hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas para solucionar este problema de salud pública (WHO, 2010, 2018).

Debido a la limitada disponibilidad de productos farmacéuticos efectivos para el tratamiento de la leishmaniasis, los estudios actuales están dirigidos a la elaboración de nuevas moléculas activas contra la enfermedad, mediante procesos de síntesis química tomando como base compuestos heterocíclicos como la quinaldina y la 8-hidroxi-quinaldina para la obtención de compuestos con núcleos quinolínicos, los cuales se caracterizan por tener una amplia actividad antiprotozoaria, razón por la cual el interés de estos compuestos ha crecido exponencialmente en las últimas dos décadas, estableciéndose como estructuras privilegiadas para ser designadas como candidatas de nuevos medicamentos. Algunos estudios demuestran también que estos compuestos quinolínicos presentaron actividades anticancerígenas (Mrozek et al., 2015), antibacteriana, antifúngica y de neuroprotección con resultados promisorios debido a la gran versatilidad de la 8-hidroxi-quinolina para formar una gran cantidad de compuestos derivados mediante uniones con metales, así como con sistemas nanoparticulados (Oliveri, 2016). Por su parte, Soto et al. (2011), realizaron la síntesis de seis análogos de estililquinolinas con ausencia de efecto citotóxico frente a la línea celular Jurkat de origen leucemoide, estableciendo en su investigación una opción para tratamientos biomédicos como antiproliferativos y/o anticancerígenos y constituirse en una alternativa para el tratamiento de la leishmaniasis basados en la fabricación y evaluación de moléculas de origen sintético.

Como respuesta a la obtención de sustancias heterocíclicas quinolínicas o quinaldínicas se ha venido implementando la reacción de condensación tipo Perkin a partir de quinaldina e hidroxiquinaldina con algunos aldehídos aromáticos, mediante la cual Torres et al. (2014), sintetizaron 5 estililquinolinas (Q), dentro de las cuales los compuestos Q.1 y Q.5 mostraron una buena actividad antimalárica *in vitro* con  $IC_{50}$  de 6.4 y 10.8  $\mu M$  y con una moderada y baja citotoxicidad, respectivamente, comparado con el medicamento control Amodiaquina cuyo  $IC_{50}$  es 0.0345  $\mu M$ . Sánchez et al. (2014), sintetizaron y caracterizaron tres estililquinolinas, las cuales mostraron mediante evaluación *in vitro* que el compuesto 2-[(*E*)-2-(2,3-diacetil-oxifenil)etenil] quinolina presentó una gran actividad contra

*Leishmania* (*Viannia*) *panamensis* con un  $IC_{50}$  de 1.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e índice de selectividad (IS) de 3.9. Posteriormente mediante la aplicación del mismo método se sintetizó la estilrilquinolina 2-[(*E*)-2-(4-isopropilfenil) etenil] quinolina que presentó gran actividad antimalárica *in vitro* con valores  $IC_{50}$  de 38.46  $\mu\text{g}/\text{mL}$  frente a FCB-2 resistente a la cloroquina y 33.70  $\mu\text{M}$  frente a la cepa NF-54 sensible a la cloroquina (Santafé et al, 2016). De acuerdo con lo expuesto anteriormente, es importante continuar sintetizando moléculas tipo estilrilquinolinas con el fin de encontrar compuestos con mejor actividad sobre amastigotes intracelulares de *L. (V) panamensis*. En esta investigación se realizó la síntesis de tres estilrilquinolinas, a partir de quinaldina y 8- hidroxiquinaldina con diferentes aldehídos aromáticos evaluando el potencial leishmanicida y la citotoxicidad de estas moléculas en células U937.

## METODOLOGÍA

La metodología se presenta en dos secciones: Sección 1, en la que se describe el procedimiento químico de la síntesis de las estilrilquinolinas y Sección 2, en la que se describe el ensayo de citotoxicidad sobre macrófagos de la línea celular U937 y la evaluación de la actividad leishmanicida de los compuestos sintetizados.

### Sección 1. Síntesis de estilrilquinolinas

La síntesis de las estilrilquinolinas (*E*)-2-etoxi-4-(2-(8-hidroxiquinolin-2-il)etenil)fenil acetato (1), 2-[(*E*)-2-(2-acetiloxi-5-nitrofenil)etenil] quinolina (2), 2-[(*E*)-2-(3-metoxifenil) etenil] quinolina (3), se realizó mediante la reacción de condensación tipo Perkin (Fig. 1.) a partir de quinaldina, anhídrido acético y los aldehídos 3-etoxi-4-hidroxibenzaldehído, 2-hidroxi-5-nitrobenzaldehído y 3-metoxibenzaldehído, respectivamente. Todos los reactivos usados fueron grado analítico (Merck).

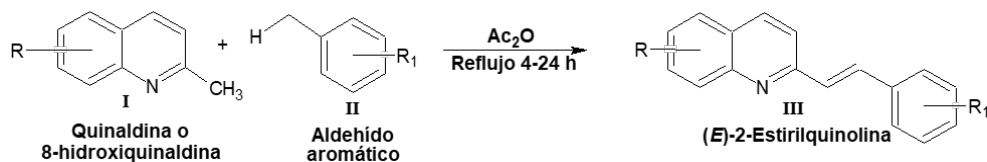


Fig. 1: Reacción de Condensación tipo Perkin.

### Preparación de las soluciones de síntesis

Para la obtención de estilrilquinolinas, se preparó una solución añadiendo 7.0 mmol de quinaldina en 12 mL de anhídrido acético y posteriormente se adicionó el aldehído aromático correspondiente. La mezcla de reacción se sometió a reflujo por intervalos de tiempos que oscilaron entre 6 y 24 horas y se monitoreo periódicamente empleando cromatografía en capa delgada (CCD). Una vez finalizada la reacción se dejó enfriar hasta



temperatura ambiente con posterior neutralización por adición de solución saturada de bicarbonato de sodio  $\text{NaHCO}_3$ , hasta obtener la hidrólisis completa; luego se adicionaron 50 mL de hexano: acetato de etilo en proporción 1:2 para extraer el derivado quinolínic por cromatografía de reparto con repeticiones sucesivas. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y posteriormente se concentró a presión reducida. Luego el producto crudo se purificó por cromatografía en columna (CC), utilizando como eluyente bencina de petróleo: acetato de etilo con gradiente de polaridad creciente. (Torres et al., 2014; Sánchez et al., 2014).

## Identificación de sustancias

Las estructuras de los compuestos purificados fueron confirmadas utilizando las técnicas espectroscópicas IR (Perkin-Elmer RX/FT-IR System), RMN- $^1\text{H}$ , RMN- $^{13}\text{C}$  (Brucker 400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ), experimentos bidimensionales (DEPT, COSY, HMQC, HMBC) y por comparación con datos de estructuras similares reportados por otros autores (Soto et al., 2011; Torres et al., 2014).

## Sección 2. Ensayo de citotoxicidad en la línea celular U937 y evaluación de la actividad leishmanicida

Para la evaluación de la actividad citotóxica se realizaron 6 diluciones dobles seriadas preparadas a partir de una solución madre de 200  $\mu\text{g/mL}$  en dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma-Aldrich, St Louis MO, USA), equivalentes a 100, 50, 10, 2.5, 0.625 y 0.156  $\mu\text{g/mL}$  para las estirilquinolinas sintetizadas.

Para la evaluación de la actividad leishmanicida inicialmente se preparó una solución a 20  $\mu\text{g/mL}$ ., luego, para los compuestos con alguna actividad a esta concentración se prepararon diluciones cuádruples seriadas desde 100.0 hasta 1.562  $\mu\text{g/mL}$ . Para la anfotericina B se prepararon cuatro soluciones a partir de 1.0  $\mu\text{g/mL}$ . Todas las soluciones se hicieron en DMSO al 0.5% y medio RPMI 1640 (Gibco, Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA), suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB) (Gibco) y 1% de antibióticos (penicilina-estreptomicina) (Sigma).

## El parásito

En los ensayos de actividad leishmanicida *in vitro* se utilizó la cepa de *L. (V) panamensis* (UA140-pIR(-)-eGFP) cultivados como promastigotes en medio bifásico NNN modificado (Novy-MacNeil-Nicolle), empleando como fase sólida agar sangre (Merck Millipore Corporation, Medellín, Colombia) y como fase líquida solución salina de buffer fosfato (PBS) más glucosa, pH 6.9 e incubados a 26° C. Los promastigotes se usaron posteriormente para infectar los macrófagos U937 y obtener el estadio de amastigotes intracelulares. Con el fin de asegurar una mayor infección de los macrófagos *in vitro*, la cepa de *L. (V) panamensis* se mantuvo en hámster (*Mesocricetus auratus*) infectados experimentalmente. Previamente a la infección *in vitro*, se hizo un aspirado de la lesión del

hámster con solución de fosfatos (PBS) y aguja #26; luego, la muestra aspirada se cultivó en medio NNN e incubados a una temperatura de 27°C hasta obtener promastigotes.

## Línea celular

Monocitos humanos U937 (CRL-1593-2™), adquirida del ATCC (American Type Cell Collection) se mantuvieron en medio RPMI-1640 completo a 37° C, con 5% de CO<sub>2</sub>.

## Actividad citotóxica sobre células U937

La citotoxicidad se evaluó sobre las células U-937 empleando el micrométodo enzimático con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Las células en fase exponencial de crecimiento se ajustaron a una concentración de 100.000 células/mL de medio RPMI-1640 suplementado con SFB y antibióticos. En cada pozo de una placa para cultivo celular de 96 pozos (Falcon, Fisher Scientific, Thermo Scientific Inc, Waltham, MA, USA) se depositaron 100 µl de células. Luego se adiciono en cada pozo 100 µl de cada una de las concentraciones del respectivo compuesto. Como control negativo (viabilidad o no citotoxicidad) se usaron células en medio RPMI completo y mantenidas bajo las mismas condiciones de incubación, pero en ausencia de cualquier compuesto; como control de citotoxicidad se utilizaron células expuestas a anfotericina B.

Las células en presencia de las diferentes soluciones de los compuestos, así como los controles se incubaron a 37°C en una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub> durante 72 horas. Transcurrido el período de incubación, el efecto de los compuestos sobre las células se determinó midiendo la actividad de la enzima mitocondrial succinato deshidrogenasa. Para ello, se adicionó, 10 µl/pozo de una solución de MTT con concentración 5 µg/mL (Sigma) y se incubaron a 37°C durante 3 horas. Pasado este período de incubación se adicionaron 100 µl/pozo de una solución de 50% de isopropanol (Merck Millipore) y 10% de dodecil sulfato de sodio (SDS) (Merck Millipore) para solubilizar los cristales de formazán (Insuasty et al., 2015). Los platos se incubaron durante otros 30 minutos y la producción de formazán (que es proporcional al porcentaje de células viables) se midió en un lector de microplacas (Benchmark Bio-Rad Hercules CA, USA) a una densidad óptica de 570 nm.

La citotoxicidad se determinó de acuerdo al porcentaje de disminución de la viabilidad y por ende, de la disminución en la cantidad de células obtenidas para cada extracto o compuesto y la anfotericina B según las densidades ópticas (D.O) obtenidas en cada condición experimental. La disminución de la viabilidad celular denominada inhibición del crecimiento celular, se calculó utilizando los valores de D.O para cada condición: compuesto o control a la concentración evaluada, usando la siguiente ecuación:  $\% \text{ Viabilidad} = [D.O \text{ células expuestas al compuesto o control} \div D.O \text{ células no expuestas}] \times 100$ . Los valores de D.O obtenidas para las células en ausencia de compuestos corresponde al 100% de viabilidad o células vivas. Luego, con los porcentajes de viabilidad se calculó el porcentaje de mortalidad, que corresponde a 100 - % viabilidad. Por último, con los porcentajes de

mortalidad se calculó la concentración letal 50 ( $CL_{50}$ ) por el método de análisis dosis-respuesta, Probit (Finney, 1971) usando el programa estadístico SAS Data Analysis (SAS Institute Cary NC, USA). Los ensayos se realizaron dos veces con tres réplicas para cada concentración evaluada. La citotoxicidad de cada compuesto se clasificó según los valores de  $CL_{50}$  usando una escala propia: citotoxicidad alta  $CL_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ ; citotoxicidad moderada:  $CL_{50} > 50$  a  $< 200 \mu\text{g/mL}$  y citotoxicidad baja:  $CL_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$ .

### Actividad sobre *L. (V) panamensis*

La actividad de los compuestos se evaluó sobre amastigotes intracelulares obtenidos luego de la infección *in vitro* de macrófagos U937 diferenciados con miristato acetato de forbol (PMA del inglés phorbol myristate acetate) (Sigma). Para ello, las células U937 mantenidas en cultivo en suspensión se centrifugaron a 1,500 rpm durante 10 minutos y luego de descartar el sobrenadante, el botón de células se resuspendió a una concentración de  $1 \times 10^5$  células/mL de medio RPMI 1640 al 10% SFB con  $0.1 \mu\text{g/mL}$  de PMA. En cada pozo de una placa para cultivo celular de 24 pozos se dispersó 1 mL de la suspensión de células y se incubaron a una temperatura de  $37^\circ \text{C}$  con una atmósfera al 5%  $\text{CO}_2$ . Transcurridas 48 horas de incubación las células se infectaron con promastigotes en fase estacionaria de crecimiento en una proporción 15:1 parásito: célula. Los platos se incubaron a  $34^\circ \text{C}$  en una atmósfera al 5% de  $\text{CO}_2$  durante 2 horas. Posteriormente se realizaron 2 lavados con PBS para eliminar los parásitos libres, se adicionó 1 mL de medio RPMI 1640 completo y las células se incubaron nuevamente durante 24 horas. Pasado este tiempo, las células infectadas se expusieron a cada una de las concentraciones de los compuestos durante 72 horas. Como control de infección se usaron células infectadas y cultivadas en ausencia de los compuestos y como control de efectividad se empleó la anfotericina B. Luego de 72 horas de incubación a  $34^\circ \text{C}$  en una atmósfera al 5% de  $\text{CO}_2$  las células se removieron cuidadosamente del fondo del plato utilizando el émbolo de una jeringa y se analizaron en un citómetro de flujo leyendo a 488 nm de excitación y 525 nm de emisión con un láser de Argón (Galeano et al., 2011). Cada concentración de los compuestos y de los controles se evaluó por triplicado en dos experimentos diferentes. La actividad anti-*Leishmania* se determinó de acuerdo a la carga parasitaria, que es la cantidad de parásitos en las células infectadas obtenidas para cada concentración de cada extracto, compuesto y anfotericina B según el número de eventos positivos para la fluorescencia verde usando diagrama de puntos e histogramas según la intensidad media de fluorescencia (IFM) (Pulido et al., 2012).

La disminución de la carga parasitaria, denominada inhibición de la infección, se calculó utilizando los valores de IFM para cada condición, es decir, compuesto o control a la concentración evaluada, usando la siguiente ecuación:  $\% \text{ Infección} = [IFMI \text{ células infectadas y expuestas al compuesto o control} \div IFM \text{ células infectadas y no expuestas}] \times 100$ . Los valores de IFM obtenidas para las células infectadas en ausencia de compuestos corresponde al 100% de parásitos. A su vez, el porcentaje de inhibición de la infección

corresponde a 100 - % infección

Para los compuestos que mostraron alguna inhibición a 20 µg/mL, se determinó también la Concentración Efectiva 50 (EC<sub>50</sub>) calculada por el método Probit (Finney, 1971). Al igual que la citotoxicidad, la actividad anti-*Leishmania* se clasificó según los valores de CE<sub>50</sub> así: actividad alta: CE<sub>50</sub> < 25 µg/mL; actividad moderada: CE<sub>50</sub> > 25 a < 50 µg/mL y actividad baja: CE<sub>50</sub> >50 µg/mL. Finalmente, la actividad citotóxica se correlacionó con la actividad anti-*Leishmania* calculando el Índice de Selectividad (IS) con la siguiente ecuación: IS= CL<sub>50</sub> ÷ CE<sub>50</sub>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se sintetizaron tres estilrilquinolinas: (*E*)-2-etoxi-4-(2-(8-hidroxiquinolin-2-il)vinil)fenil acetato (1), (*E*)-4-nitro-2-(2-(quinolin-2-il)vinil)fenil acetato (2), (*E*)-2-(3-metoxiestiril)quinolina (3), como se muestra en la Figura 2.

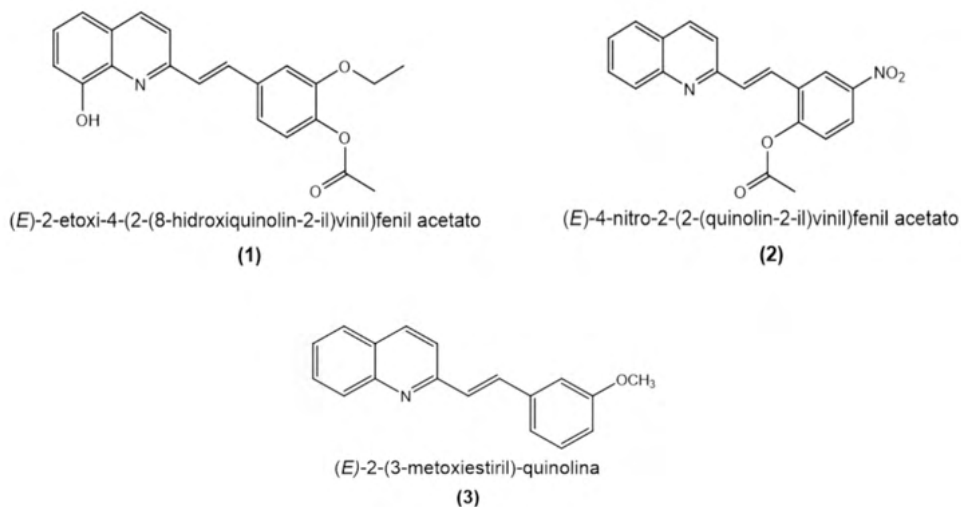


Fig. 2: Estructuras químicas de las estilrilquinolinas sintetizadas

(*E*)-2-etoxi-4-(2-(8-hidroxiquinolin-2-il)vinil)fenil acetato (1): Sólido amarillo; C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>O<sub>3</sub>N; Rendimiento 45%. RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>); δ<sub>H</sub>: 8.15 (d, J=8.5 Hz, 1H, H4); 7.66 (d, J=8.5 Hz, 1H, H3); δ<sub>H</sub>: 7.70 (d, J=16.0 Hz, 1H, H2'); δ<sub>H</sub>: 7.31 (d, J=16,0 Hz, 1H, H1'); 7.46 (dd, J=8.5 y 7.6 Hz, 1H, H6); 7.35 (d, J=8.1 Hz, 1H, H5); 7.23 (m, 1H, H7); señales de protones del anillo aromático en δ<sub>H</sub>: 7.14 (d, J=7.9 Hz, H5"); δ<sub>H</sub>: 7.19-7.27 (m, 2H, H2" y H6"); δ<sub>H</sub>: 2.41 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>) protones de un grupo acetiloxi y δ<sub>H</sub>: 4.20 (q, J=6.9 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-) y δ<sub>H</sub>: 1.51 (t, J=6.9 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>), protones del grupo etoxilo. RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) y DEPT-135: δ<sub>C</sub>: 169.1 (C=O), δ<sub>C</sub>: 153.5 (C-2), 152.1 (C-8), 150.8 (C-4"), 140.6 (C-3"), δ<sub>C</sub>: 138.0 (C-8a), δ<sub>C</sub>: 136.5 (C-4), δ<sub>C</sub>: 135.4 (C-1"), δ<sub>C</sub>: 133.8 (C-2'), δ<sub>C</sub>: 128.2 (C-1'),

$\delta_c$ : 127.5 (C-4a),  $\delta_c$ : 127.4 (C-6),  $\delta_c$ : 123.1 (C-5<sup>''</sup>),  $\delta_c$ : 120.4 (C-6<sup>''</sup>),  $\delta_c$ : 120.1 (C-3),  $\delta_c$ : 117.8 (C-5);  $\delta_c$ : 11.7 (C-2<sup>''</sup>);  $\delta_c$ : 110.3 (C-7);  $\delta_c$ : 64.5 (-CH<sub>2</sub>-);  $\delta_c$ : 20.7 (-CO-CH<sub>3</sub>) y  $\delta_c$ : 14.8 (OR-CH<sub>3</sub>) ppm.

(E)-4-nitro-2-(2-quinolin-2-il)vinil)fenil acetato (2): Sólido amarillo; C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>; Rendimiento 72%. RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$ : 8.16 (s, 1H, H6<sup>'</sup>);  $\delta_H$ : 8.25 (d, J=7.6 y 2.3 Hz, 1H, H4<sup>'</sup>);  $\delta_H$ : 8.25 (d, J=8.5 Hz, 1H, H4);  $\delta_H$ : 8.19 (d, J=8.4 Hz, 1H, H8);  $\delta_H$ : 7.89 (d, J=16.1 Hz, 1H, H2<sup>''</sup>);  $\delta_H$ : 7.88 (m, 1H, H5);  $\delta_H$ : 7.81 (d, J=8.4 Hz, 1H, H7);  $\delta_H$ : 7.69 (d, J=8.5 Hz, 1H, H3);  $\delta_H$ : 7.61 (t, J=7.3 Hz, 1H, H6);  $\delta_H$ : 7.59 (d, J=16.1 Hz, 1H, H1<sup>''</sup>);  $\delta_H$ : 7.41 (d, J=8.9 Hz, 1H, H3<sup>'</sup>);  $\delta_H$ : 2.56 (s, 1H, CH<sub>3</sub>) de un grupo acetiloxi. RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) y DEPT-135:  $\delta_c$ : 168.4 (C=O),  $\delta_c$ : 154.4 (C-2),  $\delta_c$ : 152.8 (C-2<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 148.2 (C-8a),  $\delta_c$ : 145.8 (C-5<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 137.0 (C-4),  $\delta_c$ : 133.3 (C-1<sup>''</sup>),  $\delta_c$ : 130.7 (C-1<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 130.2 (C-7),  $\delta_c$ : 129.2 (C-8),  $\delta_c$ : 127.7 (C-4a),  $\delta_c$ : 127.6 (C-5),  $\delta_c$ : 126.9 (C-6),  $\delta_c$ : 125.4 (C-2<sup>''</sup>),  $\delta_c$ : 124.1 (C-3<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 123.9 (C-4<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 122.4 (C-6<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 111.9 (C-3),  $\delta_c$ : 21.1 (CH<sub>3</sub>) ppm.

(E)-2-(3-metoxiestiril)] quinolina (3): Cristales blancos; C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>ON; Rendimiento 80%. RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$ : 8.14 (d, J=8.4 Hz, 1H, H4);  $\delta_H$ : 7.70 (d, J=8.4 Hz, 1H, H8);  $\delta_H$ : 7.74 (d, J=8.4 Hz, 1H, H7);  $\delta_H$ : 7.67 (d, J=16.3 Hz, 1H, H2<sup>''</sup>);  $\delta_H$ : 7.45 (d, J=16.3 Hz, 1H, H1<sup>''</sup>);  $\delta_H$ : 7.27 (s, 1H, H2<sup>'</sup>);  $\delta_H$ : 7.35 (t, J= 8.0 y 7.8 Hz, 1H, H5<sup>'</sup>);  $\delta_H$ : 7.23 (d, J=7.8 Hz, 1H, H6<sup>'</sup>);  $\delta_H$ : 3.89 (s, 1H, OCH<sub>3</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) y DEPT-135:  $\delta_c$ : 160.0 (C-3<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 155.9 (C-2),  $\delta_c$ : 148.1 (C-8a),  $\delta_c$ : 137.9 (C-1<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 136.5 (C-4),  $\delta_c$ : 134.5 (C-2<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 129.9 (C-5<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 129.8 (C-7),  $\delta_c$ : 129.2 (C-1<sup>''</sup>),  $\delta_c$ : 129.1 (C-8),  $\delta_c$ : 127.6 (C-5),  $\delta_c$ : 127.4 (C-4a),  $\delta_c$ : 126.3 (C-6),  $\delta_c$ : 120.2 (C-2<sup>'</sup>),  $\delta_c$ : 119.2 (C-3),  $\delta_c$ : 114.8 (C-4<sup>'</sup>);  $\delta_c$ : 112.0 (C-6<sup>'</sup>);  $\delta_c$ : 55.3 (OCH<sub>3</sub>).

La asignación de las estructuras se realizó mediante el análisis de los datos espectroscópicos, apoyados en reportes similares de otros autores (Soto et al., 2011; Torres et al., 2014; Santafé et al., 2016).

## Evaluación del potencial leishmanicida y citotóxico

Los resultados de la evaluación del potencial leishmanicida *in vitro* frente a amastigotes intracelulares de *L. (V) panamensis* UA140-pIR(-)-eGFP y de la citotoxicidad en la línea celular U937, de las diferentes estirilquinolinas sintetizadas se resumen en la Tabla 1.

Estirilquinolinas	CL <sub>50</sub> (µg/mL) X ± SD	% Inhibición X ± SD	CE <sub>50</sub> (µg/mL) X ± SD	IS
1	2.8 ± 0.3	67.5 ± 6.5 **	0.2 ± 0.0	14.0
2	5.9 ± 0.5	74.9 ± 4.1 **	2.5 ± 0.4	2.4
3	0.8 ± 0.2	5.5 ± 0.9****	NE	<1
Anfotericina B	52.5 ± 3.6	62.7 ± 1.4*	0.05 ± 0.001	1050

Tabla 1: Potencial leishmanicida y actividad citotóxica de las estirilquinolinas sintetizadas 1 – 3.

En las Tabla 1, los datos representan el promedio ± de la desviación estándar de la Concentración Letal 50 (CL<sub>50</sub>), la Concentración Efectiva 50 (CE<sub>50</sub>) en µg/mL, y el Porcentaje de Inhibición a una concentración de 20 µg/mL. NE: No evaluado. \*Concentración evaluada: 0.5 µg/mL; \*\*Concentración evaluada: 3.0 µg/mL y \*\*\*\*Concentración evaluada: 0.4 µg/mL. Las estirilquinolinas (1), (2) y (3) con una CL<sub>50</sub> de 2.8, 5.9 y 0.8 µg/mL respectivamente, mostraron una alta citotoxicidad según la escala establecida, con valores de CL<sub>50</sub> < 50 µg/mL, comparados con el medicamento control anfotericina B cuya CL<sub>50</sub> es de 52.5 µg/mL.

De la misma manera se observa que las estirilquinolinas (1) y (2) presentaron un buen potencial leishmanicida contra los amastigotes intracelulares de *Leishmania (V) panamensis* mostrando valores de CE<sub>50</sub> de 0.2 y 2.5 µg/mL, lo cual permite clasificarlos como compuestos con alta actividad, siendo estos compuestos capaces de inhibir la carga parasitaria en un 67.5% y 74.9%, respectivamente, dejando en evidencia que los compuestos (1) y (2) poseen una mayor capacidad inhibitoria comparado con la anfotericina B que presentó un porcentaje de inhibición del 62.7%. Estas dos moléculas mostraron ser muy activas contra *Leishmania (V) panamensis*, con valores de Índices de selectividad de 14.0 y 2.4, respectivamente, por lo cual las moléculas sintéticas (1) y (2) se consideran promisorias para el desarrollo de nuevos medicamentos, teniendo en cuenta su IS>1, de esta manera se demostró que para las estirilquinolinas (1) y (2) su potencial leishmanicida supera su capacidad citotóxica. Estos resultados son variables teniendo en cuenta la incidencia de los grupos sustituyentes unidos a la estructura de la estirilquinolina sintetizada, como se evidencia al hacer la comparación con las estirilquinolinas E1, E2 y E3 sintetizadas por Sánchez et al. (2014) según la Figura 3.

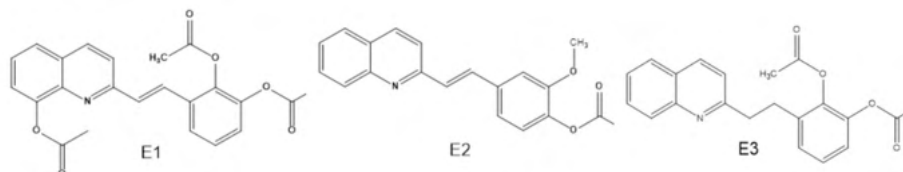


Fig. 3: Estirilquinolinas sintetizadas E1, E2 y E3.

Comparando la estructura del compuesto (1) y el compuesto E2, se puede ver que

las diferencias entre ellas radican básicamente en la presencia de un grupo hidroxilo (OH) en la posición 8 del anillo quinolínic del compuesto (1), que no está presente en E2; así como un grupo etoxilo en la posición 2" del anillo aromático del compuesto (1), y que en el compuesto E2 corresponde a un grupo metoxilo, estas diferencias estructurales son las responsables de la gran actividad ( $CE_{50}$  de  $0.2 \mu\text{g/mL}$ ) y la gran selectividad ( $IS=14$ ) presentada por el compuesto (1) contra *L. (V) panamensis*, así como de la alta toxicidad ( $CL_{50}=2.8 \mu\text{g/mL}$ ); mientras que el compuesto E2 no fue activo contra *L. (V) panamensis* ( $CE_{50}$  de  $68.1 \mu\text{g/mL}$  e  $IS<1$ ), pero resulto ser menos citotóxico que el compuesto (1), con una  $CL_{50} >68.1 \mu\text{g/mL}$ , lo cual lo clasificó como moderadamente tóxico según la escala establecida.

El compuesto (2) presenta en su estructura un grupo nitro en posición para respecto al grupo acetilo del anillo aromático, mientras que en los compuestos E1 y E3 presentan grupos acetilos en posición orto con respecto a grupo acetilo principal del anillo aromático, estas diferencias en los grupos sustituyentes y posiciones en las estililquinolinas muestran que en este caso el grupo acetilo en posición orto genera una mayor actividad leishmanicida para el compuesto E3 con una  $CE_{50}$  de  $1.4 \mu\text{g/mL}$  y un  $IS$  de 3.9, mientras que en el compuesto (2), el grupo nitro ( $-\text{NO}_2$ ) sobre el anillo aromático produce una disminución en la acción contra *L. (V) panamensis* con una  $CE_{50}$  de  $2.5 \mu\text{g/mL}$  y un  $IS$  de 2.4, reduciendo la capacidad para inhibir la carga parasitaria; el compuesto E1 no fue activo ni selectivo contra el parásito con una  $CE_{50} >5.6 \mu\text{g/mL}$  y un  $IS$  de  $<1.0$ . Además, los compuestos (2) y E1 presentaron alta citotoxicidad con  $CL_{50}$  entre 5.9 y  $5.4 \mu\text{g/mL}$ .

Coimbra et al. (2016), sintetizaron nuevos derivados quinolínicos dentro de los cuales el compuesto denominado QuinDer1 (Figura 4), presentó actividad en promastigotes de *L. amazonensis* y *L. braziliensis*, exhibiendo una fuerte inhibición de la proliferación de amastigotes de *L. amazonensis* a una  $IC_{50}$  de  $0.022 \mu\text{g/mL}$ , siendo 139 veces más activo que miltefosina con  $IC_{50}$  de  $5.176 \mu\text{g/mL}$ , utilizado como fármaco de referencia. Este compuesto presentó baja citotoxicidad hacia los macrófagos murinos y los eritrocitos humanos. Además, los promastigotes de *L. amazonensis* tratados con el compuesto QuinDer1 mostraron una alta generación de niveles de ROS con bajas alteraciones en el potencial de la membrana mitocondrial y el mantenimiento de la integridad de la membrana del parásito.

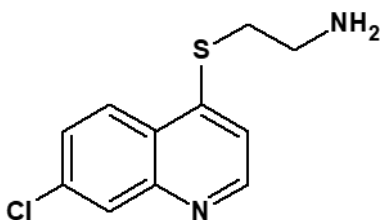


Fig. 4: Derivado de quinolina QuinDer1.

Estos resultados evidencian la importancia de la unión y la posición de los grupos sustituyentes en sistema quinolínico, de tal forma que se puede ver la gran capacidad del compuesto QuinDer1 para inhibir el efecto de *L. amazonensis* a muy bajas concentraciones, efecto debido al grupo aminotiol en la posición *para* respecto al nitrógeno heteroátomo, así como a la presencia de un grupo Cloro en la posición 7 del anillo, estos sustituyentes son muy diferentes comparados con los sustituyentes de los compuestos 1,2 y 3 sintetizados en este trabajo, ya que en este estudio los sustituyentes unidos a la quinolina son OH en la posición 7 y sistemas aromáticos con grupos  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ,  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{OCOCH}_3$ , además existe la presencia de un doble enlace. Todas las variaciones estructurales son factores que influyen en la manera en como los compuestos actúan sobre las diferentes especies del género *Leishmania*, caso que ocurre en esta comparación de trabajos de investigación ya que Coimbra et al. (2016), evaluaron sus moléculas sintéticas sobre promastigotes de *L. amazonensis* y *L. braziliensis*, mientras que los compuestos 1,2 y 3 se evaluaron sobre amastigotes intracelulares de *Leishmania (V) panamensis*, lo que indica que la acción de los compuestos difiere de una a otra especie, resaltando incluso la diferencia en los estadios del parásito durante el proceso de evaluación. Por otro lado Ribeiro et al. (2018), reportan la síntesis del compuesto AMQ-j derivado de la 4-hidrazinoquinoline quien exhibió un fuerte efecto contra *L. amazonensis*, quien fue efectivo en experimentos *in vivo* en ratones BALB/c infectados experimentalmente; así mismo Abdelwahid et al (2019), sintetizaron 15 ácidos quinolin-4-carboxílicos (Q1-Q-15), dentro de los resultados se resalta el compuesto Q1 (Ácido 2-etil quinolina-4-carboxílico) quien resultó ser muy activo contra *L. donovani* con un  $\text{IC}_{50}$  de  $1.49 \mu\text{g/mL}$ , el cual fue cinco veces más potente que el estibogluconato de sodio ( $\text{IC}_{50} = 8.06 \mu\text{g/mL}$ ) y diez veces más potente que la anfotericina B ( $\text{IC}_{50} = 14.70 \mu\text{g/mL}$ ), usados como medicamentos de control (Figura 5). Estos estudios reportan la importancia que representa el núcleo quinolina y los diferentes sustituyente que se puedan adicionar, estas modificaciones estructurales permiten seguir en la búsqueda de una molécula que sea efectiva sobre los parásitos del género *Leishmania*.

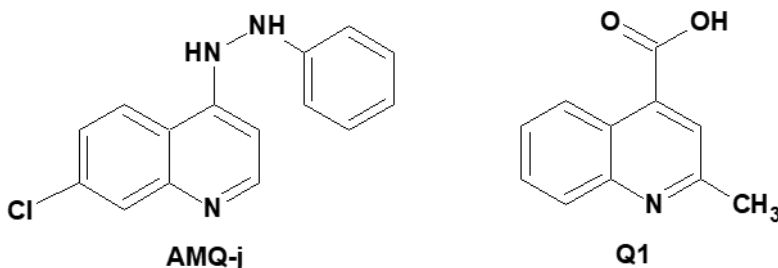


Fig. 5: Compuestos AMQ-j y Q1.

Sin embargo, estos estudios son bases fundamentales para continuar en la búsqueda de moléculas que permitan mitigar los daños causados a la salud por la leishmaniasis como



una de las enfermedades huérfanas que lesionan las comunidades más pobres del planeta.

De igual forma Mesa et al. (2008) reporta la síntesis de tres estilrilquinolinas: 2-[(*E*)-2-(2,5-dimetoxi-fenil) etenil] quinolina, 2-[(*E*)-2-(2,3-dimetoxifenil)etenil] quinolina y N-{4-[(*E*)-2-quinolin2-iletetil]fenil} acetamida, con valores de  $CE_{50}$  de 1.4, 1.8 y 1.7  $\mu\text{g/mL}$  e IS de 1.0, 1.2 y 0.2, respectivamente, siendo cada uno de estos compuestos altamente activos contra amastigotes axénicos de *L. panamensis* y que son compuestos con variación en los grupos sustituyentes, sin embargo comparándolos con el compuesto (1) se puede notar que este presenta una mayor actividad y selectividad ( $CE_{50}$  de 0.2 e IS de 14.0), evidenciando de esta manera que los sustituyentes etoxilo y acetilo sobre el anillo aromático así como el grupo hidroxilo en el anillo quinolínico serían los grupos funcionales responsables de contrarrestar el efecto causado por *L. panamensis*.

Aunque estos compuestos presentaron toxicidad alta, su actividad anti-*Leishmania* supera su citotoxicidad, razón por la cual se hace necesario continuar trabajando en la realización de modificaciones en sus estructuras para disminuir su toxicidad. El hecho de que las estilrilquinolinas (1) y (2) presentaran una buena actividad leishmanicida les confiere potencial como moléculas candidatas para el desarrollo de medicamentos anti-*Leishmania*, y en atención a que cada vez se obtienen mejores rendimientos en su síntesis química, se convierten en una plantilla eficaz para realizar estudios posteriores de relación estructura-actividad, ensayos biodirigidos, y desarrollar moléculas activas contra el parásito con una baja citotoxicidad contra las células hospederas.

## CONCLUSIONES

Mediante la reacción de condensación tipo Perkin se sintetizaron tres estilrilquinolinas denominadas (*E*)-2-etoxi-4-(2-(8-hidroxiquinolin-2-il)vinil)fenil acetato (1), (*E*)-4-nitro-2-(2-quinolin-2-il)vinil)fenil acetato (2), (*E*)-2-(3-metoxiestiril] quinolina (3), con rendimientos de 40.3%, 72.0% y 80.0% respectivamente. Las estilrilquinolinas (1) y (2) mostraron un buen potencial leishmanicida frente al parásito de *Leishmania (V) panamensis* con porcentajes de inhibición de 67.5% y 74.9%; estas estructuras químicas aportan bases importantes para continuar estudios tendientes a disponer de moléculas candidatas que puedan convertirse en una alternativa para el tratamiento de la leishmaniasis.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Córdoba - Colombia, por el apoyo financiero para el desarrollo de la presente investigación; al profesor Alex Sáez de la Universidad EAFIT por la toma de los espectros, y a la Universidad de Antioquía (convocatoria CIDEPRO -CIIEs).

## REFERENCIAS

- Abdelwahid, m., y otros cinco autores, *Synthesis, Characterization, and Antileishmanial Activity of Certain Quinoline-4-carboxylic Acids*, doi.org/10.1155/2019/2859637, Journal of Chemistry, 2019 (1), 1-9 (2019).
- Calixto, J.T., de Morais y otros ocho autores, *Phenolic composition and antiparasitic activity of plants from the Brazilian Northeast "Cerrado"*, dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.10.009, Saudi Journal of Biological Sciences, 23(3), 434-440 (2016).
- Coimbra, E.S., y otros siete autores, *Quinoline derivatives: Synthesis, leishmanicidal activity and involvement of mitochondrial oxidative stress as mechanism of action*, doi.org/10.1016/j.cbi.2016.10.017, Chemico-Biological Interactions, 260(6), 50-57 (2016).
- Figueredo, F.G., y otros ocho autores, *Avaliacao das potenciais atividades tripanocida e antileishmania do extrato de folhas de Piper arboreum (Piperaceae) e de suas fracoas*. Rev. Cienc. Farm. Básica Apl, 35(1), 149–154 (2014).
- Finney, J.D., *Statistical logic in the monitoring of reactions to therapeutic drugs*, Methods Inf Med, 10(4), 237-245 (1971).
- Galeano, E., O. Thomas y otros tres autores, *Antiparasitic Bromotyrosine Derivatives from the Marine, Sponge Verongula rigida*, doi: 10.3390/md9101902, Marine Drugs, 9(10), 1902-1913 (2011).
- Instituto Nacional de Salud, Boletín Epidemiológico No 52 de la Leishmania en Colombia, (2018).
- Instituto Nacional de Salud, Boletín Epidemiológico No 5 de la Leishmania en Colombia, (2019).
- Insuasty, B., J. Ramirez y otros once autores, *An efficient synthesis of new caffeine-based chalcones, pyrazolines and pyrazolo[3,4-b][1,4]diazepines as potential antimalarial, antitrypanosomal and antileishmanial agents*, doi: org/10.1016/j.ejmech.2015.02.040, Eur J Med Chem, 93(1), 401-413 (2015).
- Marin, F.J., O.L. Torres., G.G. Santafé y S.M. Robledo. *Estudio fitoquímico y evaluación del potencial leishmanicida de la especie Esenbeckia litoralis (Rutaceae)*, doi: 10.4067/S0718-07642016000100017, Inf. Tecnol. (en línea), 27(1), 159-168 (2016).
- Marin, F.J., O.L. Torres., S.M. Robledo y M.E. Doria. *Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante y leishmanicida de la especie Pilocarpus alvaradoi (Rutaceae)*, doi: 10.4067/S0718-076420180003001777, Inf. Tecnol. (en línea), 29(3), 177-186 (2018).
- Mesa, A.M., P. Molano y otros cinco autores, *Síntesis y actividades leishmanicida y citotóxica in vitro de análogos 2-arilquinolinas*, ISSN 0121-4004, VITAE: 15(2), 259-266 (2008).
- Mrozek-Wilczkiewicz, A., E. Spaczynska y otros once autores, *Design, Synthesis and In Vitro Activity of Anticancer Styrylquinolines. The p53 Independent Mechanism of Action*, doi:10.1371/journal.pone.0142678, PLoS ONE (on line), 10(11), 1-14 (2015).
- Oliveri, V. y G. Vecchio, *8-hidroxiquinolinas in medicinal chemistry: A structural perspective*, doi: 10.1016/j.ejmech.2016.05.007, European Journal of Medicinal Chemistry, 120(20), 252-274 (2016).

Pinheiro, I. M., I. Pereira y otros seis autores, *Evaluation of the in vivo leishmanicidal activity of amphotericin B emulgel: An alternative for the treatment of skin leishmaniasis*, doi: org/10.1016/j.exppara.2016.02.010, *Experimental Parasitology*, 164(1), 49-55 (2016).

Pulido, S.A., D. Muñoz y otros cinco autores, *Improvement of the green fluorescent protein reporter system in Leishmania spp. for the in vitro and in vivo screening of antileishmanial drugs*, doi: 10.1016/j.actatropica.2011.11.015, *Acta Tropica*: 122(1), 36– 45 (2012).

Ribeiro, L.M., y otros ocho autores, *Antileishmanial activity of a 4-hydrazinoquinoline derivative: Induction of autophagy and apoptosis-related processes and effectiveness in experimental cutaneous leishmaniasis*, doi.org/10.1016/j.exppara.2018.10.007, *Experimental Parasitology*, 195(10), 78-86 (2018).

Santafé, G.G., E. L. Sanchez y O.L. Torres. *Síntesis y actividad antimalárica de estilrilquinolinas sobre Plasmodium falciparum*. *Información Tecnológica*, 27(2), 97-104 (2016).

Sanchez, E. L., G.G. Santafé y otros tres autores, *Compuestos sintéticos del tipo de estilrilquinolinas con actividad leishmanicida y citotóxica*. *Biomédica*, 34(4), 605-611 (2014).

Soto, A.F., J.P. Meneses., J. Saez y M. Camargo, *Evaluación de citotoxicidad de nuevos análogos de estilrilquinolinas en células leucemoides Jurkat*, *Actual Biol*, 33(95), 165-172 (2011).

Torres, O.L., R.D. Espinosa., A.A. Saez y G.G. Santafé, *Evaluación de la actividad antimalárica y citotóxica de estilrilquinolinas obtenidas a partir de 8-hidroxiquinaldina con aldehídos aromáticos*, doi: 10.4067/S0718-07642014000600012, *Inf. Tecnol*, 25(6), 91– 100 (2014).

World Health Organization (WHO), *Leishmaniasis. Epidemiological report of the Americas*. N° 6, February (2018).

World Health Organization (WHO), *Control of the leishmaniases: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases*. Technical report 949 (2010).

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

- Actividade leishmanicida 117
- Adsorção 92, 94, 144
- Agente tamponante 154, 156, 162, 164
- Alfabetização científica 81, 88, 89, 90
- Amostragem 103, 167, 171, 180, 183, 184, 188
- Análise de Componente Principal - PCA 61, 65, 71, 75
- Análise elementar 61, 67
- Antioxidante 107, 108, 130
- Arrhenius 1, 6, 8, 9
- Atividades experimentais 13, 14, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 33, 34, 39, 44
- Avaliação diagnóstica 26, 31, 34, 35, 39, 40

### B

- Bactérias metanogênicas 154, 156
- Biodiesel 145, 154, 155, 156, 157, 158, 161, 162, 163, 164, 165, 166
- Bioetanol 143, 144, 145
- Biomassa 144

### C

- Células de combustível 143
- Ciências da natureza 2, 24, 83, 90
- Citometria de fluxo 117
- Citotoxicidade 108, 117
- Cocaína 178, 179, 180, 181, 182, 189, 190, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199
- Conhecimento científico 1, 3, 46, 80, 82, 83, 84, 85, 86, 89
- Contaminantes de interesse emergente 178, 179, 180, 201
- Crack 180, 181, 189, 197, 198, 199
- Cromatografia gasosa 158, 159, 167, 172
- Cromonas 132, 133, 134, 135

### D

- Docência 78, 80, 87, 201

## **E**

Educação ambiental 46, 52, 54, 55, 58, 59, 60, 78, 89, 201

Efeito estufa 167, 168, 169, 176, 177

Efluente 154, 155, 156, 163, 165, 169

Eletrodeposição 91, 96, 97, 98, 105

Energia renovável 144

Ensino de ciências 20, 24, 25, 38, 52, 54, 55, 59, 60, 78, 82, 83, 88, 89, 90, 201

Ensino de química 1, 2, 10, 14, 25, 26, 27, 32, 33, 37, 38, 39, 42, 43, 44, 47, 50, 51, 52, 81, 84, 85, 89, 90, 201

Enzima 122

Espectrofotômetro UV-Vis 107, 111

Espectrometria de fluorescência de raios x 61, 69, 75

Espectroscopia na região do infravermelho 107, 110, 113

Extração por Sorção em Barra de Agitação - SBSE 91, 92, 102, 106

## **H**

Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos - HPAs 91, 92

Hidrólise 98, 180, 181, 191

## **I**

Intervenção pedagógica 1, 3, 10

## **L**

Lago Paranoá 167, 169, 173, 174, 175

Lei de Diretrizes e Base da Educação - LDB 2

Letramento científico 78, 80, 81, 83, 87, 88, 89, 90, 201

Licenciatura em química 42, 51, 52, 78, 80, 85, 86, 88

Lixo 46, 51, 52, 53, 54, 55, 57, 60

## **M**

Meio ambiente 45, 46, 47, 48, 50, 53, 55, 59, 60, 98, 155

Metabólitos 133, 180, 181, 183, 199

Microscopia Eletrônica de Transmissão - MET 107, 110, 112

Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV 144

## **N**

Nanomateriais 114

Nanotecnologia 107

## O

Óleo de cozinha 42, 46, 47, 48, 50, 51

Oxirredução 26, 28, 38, 98, 107, 108

## P

Parâmetros Curriculares Nacionais - PCN 2, 14, 27, 38, 51, 81

Pigmentos rupestres 61, 63, 64, 69, 70, 75

Poluição ambiental 53, 55

Potencial farmacológico 132

Potencial zeta 107, 110, 114

Processo anaeróbio 154, 157, 160, 164

Processo de aprendizagem 9, 14, 43, 50, 78, 84, 87

Produtos de metabolização 178, 183

## R

Reação de ciclização eletrofílica 132, 138, 141

Reação de condensação do tipo Perkin 117

Reação de oxidação 30, 36, 144

Reciclagem 42, 45, 46, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 105

Recursos audiovisuais 6, 13, 14, 15

Rede federal de ensino 78, 88

Resíduos de drogas de abuso 178

Resíduos sólidos 45, 46, 52, 53, 54, 55, 56, 60

## S

Sabão ecológico e artesanal 42

Sedimentos finos 167, 174, 175

Síntese verde 107, 108

Sítios arqueológicos 61, 63, 64, 65, 69, 70, 71, 74, 75, 76, 77

Solventes tóxicos 132

Substrato metálico 91, 94, 98, 105

## T

Técnica de *headspace* 167

Teor carbono orgânico 167

Tratamento biológico 154, 156

## V

Voltametria cíclica 144

# O ensino e a pesquisa em **QU** **MICA**

# 3



 [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
 [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)  
 @atenaeditora  
 [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

  
Editora  
Ano 2021



# O ensino e a pesquisa em **QU** **MICA**

# 3

 [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
 [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)  
 @atenaeditora  
 [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

  
Editora  
Ano 2021