

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
MESTRADO EM QUÍMICA

Giovana de Almeida Pimentel

Síntese e caracterização de complexos de fármacos antimaláricos coordenados a Cu(II), Zn(II) e Ag(I). Estudo de seus possíveis mecanismos de ação e avaliação de sua atividade antimalárica.

Juiz de Fora
2020

Giovana de Almeida Pimentel

Síntese e caracterização de complexos de fármacos antimaláricos coordenados a Cu(II), Zn(II) e Ag(I). Estudo de seus possíveis mecanismos de ação e avaliação de sua atividade antimalárica.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Química.
Área de concentração: Química Inorgânica

Orientador: Profa. Dra. Maribel Coromoto Navarro Acosta

Juiz de Fora

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Pimentel, Giovana de Almeida.

Síntese e caracterização de complexos de fármacos antimaláricos coordenados a Cu(II), Zn(II) e Ag(I). Estudo de seus possíveis mecanismos de ação e avaliação de sua atividade antimalárica. / Giovana de Almeida Pimentel. -- 2020.

83 f. : il.

Orientadora: Maribel Coromoto Navarro Acosta

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2020.

1. Malária. 2. Complexos metálicos. 3. Aminoquinolinas. I. Acosta, Maribel Coromoto Navarro, orient. II. Título.

Giovana de Almeida Pimentel

Síntese e caracterização de complexos de fármacos antimaláricos coordenados a Zn(II), Cu(II) e Ag(I). Estudo de seus possíveis mecanismos de ação e avaliação de sua atividade antimalárica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.
Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2020.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Maribel Coromoto Navarro Acosta - Orientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr. Wilmar José Villarreal Peña
Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Prof. Dr. Jorge Luiz Sonego Milani
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dedico este trabalho à minha pessoa por todo o esforço dedicado durante esses dois anos e por não ter desistido diante das adversidades que surgiram para conclusão do mesmo.

AGRADECIMENTOS

À mim, pela grande evolução pessoal e profissional que obtive durante todo o tempo de pesquisa e por não ter desistido diante das adversidades que apareceram.

À minha mãe, Enir, que sempre batalhou para que eu pudesse me formar e esteve sempre me aplaudindo mesmo à distância. A minha maior satisfação foi ver o orgulho estampado na cara e espero que eu continue te orgulhando e que eu seja pelo menos metade da guerreira que você é.

Ao meu irmão, Jean, que sempre me deu forças e auxílio para a resolução das dificuldades. Você sempre foi uma inspiração e de quem puxei a criatividade e até uma certa habilidade com “coisas de computador”.

À Profa. Dra. Maribel Navarro, por ter me acolhido como filha científica e me confiado a liderança do laboratório desde o surgimento do mesmo. Obrigada por todo o ensinamento compartilhado, pelos conselhos e pela orientação. Espero que daqui algum tempo tenha coisas muito boas para falar de mim aos novos alunos.

Ao Filipe, por ter segurado a barra ao meu lado quando o desespero e a tensão apareciam, por ter sido meu ouvinte mesmo não entendendo nada do assunto e principalmente por ter me dado forças e me acalmado nas vésperas de apresentações. Obrigada por tudo que fez por mim.

Aos colegas de laboratório, que dividiram tempo, risadas, frustrações, dificuldades, alegrias, comilanças, cantorias, fofocas e afins. Vivemos ótimos e inesquecíveis momentos juntos!

Aos professores que contribuíram na minha formação até o momento, que avaliaram o projeto, participaram das bancas de qualificação e defesa e que deram suas sugestões e contribuições para todo o resultado deste trabalho.

Aos técnicos e funcionários do departamento, que de alguma forma também são essenciais em todo o processo de formação.

À Farmanguinhos pela doação de fármacos que foram utilizados neste projeto.

À CAPES, CNPq e demais agências de fomento que disponibilizaram apoio financeiro para a evolução deste trabalho.

À Universidade Federal de Juiz de Fora por ser a responsável pela minha formação profissional.

RESUMO

A malária é a doença parasitária de maior morbidade e mortalidade no mundo e devido à grande resistência do parasita ao fármaco de maior sucesso como foi a cloroquina, há diversos estudos buscando novos fármacos e alternativas de tratamento. Uma estratégia que tem sido desenvolvida em pesquisas e possui enorme potencial é baseada na síntese de metalofármacos, onde ao se utilizar um íon metálico e um ligante com atividade biológica conhecida busca-se fazer uso do efeito sinérgico, podendo potencializar a atividade biológica do fármaco antimalárico orgânico. Assim, neste trabalho realizou-se a síntese e caracterização de complexos metálicos utilizando sais de Cu(II), Zn(II) e Ag(I) com os fármacos antimaláricos amodiaquina (AQ) e primaquina (PQ). As caracterizações foram realizadas, quando possível, por meio de análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN), condutividade, espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C e ^{31}P e espectroscopia de absorção na região do UV-Visível. Também foi avaliada a interação dos complexos metálicos sintetizados com a hemina e com o DNA, com a finalidade de se estimar a magnitude da interação dos mesmos com estes alvos biológicos. Os compostos ZnAQCl_2 e ZnAQ(OH)_2 foram enviados para análise da atividade biológica frente à cepas sensíveis e resistentes de *Plasmodium falciparum* e os resultados mostraram que os mesmos têm atividade promissora contra o parasita causador da malária, com destaque ao complexo ZnAQ(OH)_2 que demonstrou IC_{50} na faixa de concentração nanomolar, o que levará a continuação dos estudos *in vivo* da atividade antimalárica.

Palavras-chave: Aminoquinolinas. Complexos metálicos. Malária.

ABSTRACT

Malaria is the parasitic disease with the highest morbidity and mortality in the world, due to the parasite's resistance to the most successful drug, chloroquine. Therefore, there are several studies searching for new drugs and alternative treatments. Researchers have been putting effort on a new strategy, which is the combination of a transition metal with an organic biomolecule, to develop metallo-drugs with improved biological activity. The strategy behind this is well known as synergic effect. Thus, in this work, we present the synthesis and characterization of metal complexes based on Cu(II), Zn(II) and Ag(I) with the antimalarial drugs amodiaquine (AQ) and primaquine (PQ). The characterizations performed were followed by elemental analysis of carbon, hydrogen and nitrogen (CHN), molar conductivity, infrared absorption spectroscopy, ^1H , ^{13}C and ^{31}P nuclear magnetic resonance (NMR) and UV-Visible absorption spectroscopy. Interactions of metal complexes synthesized with hemin and DNA were also evaluated, in order to estimate the magnitude of their interaction between these targets and the metallodrug. Compounds ZnAQCl_2 and ZnAQ(OH)_2 were evaluated against sensitive and resistant strains of *Plasmodium falciparum* and the results showed that these compounds have promising activity to eradicate malaria parasites. ZnAQ(OH)_2 complex displayed IC_{50} in the nanomolar concentration range, which encourage us to continue with the *in vivo* antimalarial activity studies.

Keywords: Aminoquinolines. Metal complexes. Malaria.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-----------|---|----|
| Figura 1 | - Ciclo de vida do <i>Plasmodium</i> | 16 |
| Figura 2 | - Estrutura e classes de fármacos antimaláricos..... | 17 |
| Figura 3 | - Estrutura da cisplatina, NAMI-A, KP1019 e auranofina..... | 18 |
| Figura 4 | - Estruturas de complexos antimaláricos presentes na literatura..... | 19 |
| Figura 5 | - Estruturas de complexos metálicos utilizando Zn(II), Cu(II) e Ag(I) presentes na literatura..... | 20 |
| Figura 6 | - Estrutura do grupo heme..... | 21 |
| Figura 7 | - a) Estrutura cristalina da hemozoína b) Micrografias eletrônicas de transmissão..... | 21 |
| Figura 8 | - Ilustração do processo de digestão da hemoglobina até a formação da hemozoína..... | 22 |
| Figura 9 | - Estrutura do DNA e as ligações entre os pares de bases nitrogenadas..... | 23 |
| Figura 10 | - Exemplos de adutos covalentes com DNA..... | 24 |
| Figura 11 | - Exemplos de complexos intercaladores com o DNA..... | 25 |
| Figura 12 | - Extração da amodiaquina base livre..... | 34 |
| Figura 13 | - Espectro de IV da amodiaquina..... | 34 |
| Figura 14 | - Espectro RMN de ¹ H da amodiaquina livre (CDCl ₃ – 500MHz) | 35 |
| Figura 15 | - Espectro de IV do complexo 1 comparado com o espectro da AQ..... | 37 |
| Figura 16 | - Espectro de absorção UV-Vis do complexo 1 comparado com a amodiaquina (DMSO)..... | 38 |
| Figura 17 | - Espectro de RMN de ¹ H do complexo ZnAQCl₂ (CDCl ₃ -500 MHz)..... | 39 |
| Figura 18 | - Estruturas propostas para o complexo metálico 1 com amodiaquina..... | 41 |
| Figura 19 | - Espectro de IV do complexo 2 comparado com os espectros da AQ e do acetato de zinco(II)..... | 42 |
| Figura 20 | - Espectro de absorção UV-Vis do complexo 2 comparado com a amodiaquina (DMSO)..... | 43 |
| Figura 21 | - Espectro de RMN de ¹ H do complexo ZnAQ(OH)₂H₂O (CDCl ₃ -500 MHz)..... | 44 |
| Figura 22 | - Estrutura proposta para o complexo metálico 2 com amodiaquina..... | 46 |

| | | |
|-----------|---|----|
| Figura 23 | - Espectro de IV do complexo 3 comparado com os espectros da AQ e do acetato de zinco(II)..... | 47 |
| Figura 24 | - Espectro de absorção UV-Vis do complexo 3 comparado com a amodiaquina (DMSO)..... | 48 |
| Figura 25 | - Espectro de RMN de ¹ H do complexo ZnAQ(Ac)₂ (CDCl ₃ -500 MHz)..... | 49 |
| Figura 26 | - Estrutura proposta para o complexo metálicos 3 com amodiaquina..... | 51 |
| Figura 27 | - Espectro de IV do complexo 4 comparado com os espectros da AQ e do acetato de cobre(II)..... | 52 |
| Figura 28 | - Espectro de absorção UV-Vis do complexo de Cu(II)-AQ comparado com a amodiaquina (DMSO)..... | 53 |
| Figura 29 | - Estrutura proposta para o complexo metálico 4 com amodiaquina..... | 54 |
| Figura 30 | - Espectro de IV do complexo 5 comparados com o espectro da AQ e do complexo precursor [Ag(PPh ₃) ₂]NO ₃ | 55 |
| Figura 31 | - Espectro de absorção UV-Vis do complexo de Ag(I) comparado com a amodiaquina (DMSO)..... | 56 |
| Figura 32 | - Espectro de RMN de ³¹ P do complexo [Ag(PPh ₃) ₂ AQH ₂ O]NO ₃ (CDCl ₃ -202 MHz)..... | 57 |
| Figura 33 | - Espectro de RMN de ¹ H do complexo [Ag(PPh ₃) ₂ AQH ₂ O]NO ₃ (CDCl ₃ -500 MHz)..... | 58 |
| Figura 34 | - Estrutura proposta para o complexo metálico 5 com amodiaquina..... | 60 |
| Figura 35 | - Extração da primaquina..... | 60 |
| Figura 36 | - Espectro de IV da primaquina..... | 61 |
| Figura 37 | - Espectro RMN de ¹ H da primaquina livre (CDCl ₃ – 500MHz)..... | 62 |
| Figura 38 | - Espectro de IV do complexo metálico 6 comparado com a primaquina..... | 64 |
| Figura 39 | - Espectro de absorção UV-Vis do complexo metálico 6 comparado com a primaquina (DMSO)..... | 65 |
| Figura 40 | - Estrutura proposta para o complexo metálico 6 com a primaquina..... | 66 |
| Figura 41 | - Espectro de IV do complexo metálico 7 comparado com a primaquina e com o acetato de cobre(II)..... | 67 |
| Figura 42 | - Espectro de absorção UV-Vis do complexo metálico 7 comparado com a primaquina (DMSO)..... | 68 |
| Figura 43 | - Estrutura proposta para o complexo metálico 7 com a primaquina..... | 68 |

| | | |
|-----------|---|----|
| Figura 44 | - Espectro de IV do complexo metálico 8 comparado com a primaquina e com o nitrato de cobre(II)..... | 70 |
| Figura 45 | - Espectro de absorção UV-Vis do complexo metálico 8 comparado com a primaquina (DMSO)..... | 71 |
| Figura 46 | - Estrutura proposta para o complexo metálico 8 com a primaquina..... | 71 |
| Figura 47 | - Espectro da titulação espectroscópica da ferriprotoporfirina adicionando o complexo 1 (40 %v/v DMSO pH 7,5)..... | 72 |
| Figura 48 | - Espectro da titulação espectroscópica da ferriprotoporfirina adicionando o complexo 2 (40 %v/v DMSO pH 7,5)..... | 73 |
| Figura 49 | - Curva de viscosidade dos complexos 2 e 3 | 75 |

LISTA DE ESQUEMAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Esquema 1 | - Esquema de síntese dos complexos metálicos 1 e 2 com amodiaquina..... | 36 |
| Esquema 2 | - Esquema de síntese dos complexos metálicos 3-4 com amodiaquina..... | 46 |
| Esquema 3 | - Esquema de síntese do complexo metálico 5 com amodiaquina..... | 54 |
| Esquema 4 | - Esquema de síntese dos complexos metálicos de Cu(II) com primaquina..... | 63 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabela 1 | - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo 1 e pela amodiaquina..... | 37 |
| Tabela 2 | - Atribuições e valores de deslocamento químico do complexo metálico 1 comparado com a amodiaquina..... | 40 |
| Tabela 3 | - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo 2 , pela amodiaquina e pelo acetato de zinco(II)..... | 42 |
| Tabela 4 | - Atribuições e valores de deslocamento químico do complexo metálico 2 comparado com a amodiaquina..... | 45 |
| Tabela 5 | - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo 3 , pela amodiaquina e pelo acetato de zinco(II)..... | 48 |
| Tabela 6 | - Atribuições e valores de deslocamento químico do complexo 3 comparado com a amodiaquina..... | 50 |
| Tabela 7 | - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo 4 , pela amodiaquina e pelo acetato de cobre(II)..... | 52 |
| Tabela 8 | - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo 5 com amodiaquina e o complexo precursor..... | 56 |
| Tabela 9 | - Atribuições e valores de deslocamento químico do complexo metálico 5 com a amodiaquina..... | 59 |
| Tabela 10 | - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo metálico 6 e pela primaquina..... | 64 |
| Tabela 11 | - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo metálico 7 , pela primaquina e pelo acetato de cobre(II)..... | 66 |
| Tabela 12 | - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo metálico 8 , pela primaquina e pelo nitrato de cobre(II)..... | 69 |
| Tabela 13 | - Constantes de interação e valores de hipocromismo dos compostos com hemina..... | 73 |
| Tabela 14 | - Atividade antimalárica <i>in vitro</i> em cepas de <i>Plasmodium falciparum</i> | 76 |

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

| | |
|------------------------|---|
| AQ | Amodiaquina |
| AQ.2HCl | Amodiaquina dicloridrato |
| CDCl ₃ | Clorofórmio deuterado |
| CHN | Carbono, hidrogênio e nitrogênio |
| CQ | Cloroquina |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| Fe(II)PPIX | Ferroprotoporfirina IX |
| Fe(III)PPIX | Ferriprotoporfirina IX |
| h | Hora |
| Hz | Hertz |
| IV | Infravermelho |
| IC ₅₀ | Metade da concentração inibitória máxima |
| <i>J</i> | Constante de acoplamento |
| m | Multiplete |
| MeOH | Metanol |
| MHz | Mega-Hertz |
| min | Minuto |
| mmol | Milimol |
| nM | Nanomolar |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| ppm | Partes por milhão |
| PQ | Primaquina |
| RMN de ¹³ C | Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 |
| RMN de ¹ H | Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio |
| RMN de ³¹ P | Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo 31 |
| s | Simpleto |
| t | Triplete |
| δ | Deslocamento químico |
| UV-Vis | Ultravioleta – Visível |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 OBJETIVOS | 26 |
| 3 PARTE EXPERIMENTAL | 27 |
| 3.1 EXTRAÇÃO DA AMODIAQUINA (AQ) | 27 |
| 3.2 EXTRAÇÃO DA PRIMAQUINA (PQ) | 28 |
| 3.3 SÍNTESE DOS COMPLEXOS METÁLICOS | 28 |
| 3.3.1 [ZnAQCl ₂]. ½ éter dietílico (1) | 28 |
| 3.3.2 [ZnAQ(OH) ₂ H ₂ O] (2) | 29 |
| 3.3.3 [ZnAQ(Ac) ₂].éter dietílico (3) | 29 |
| 3.3.4 [CuAQ(Ac) ₂].2 H ₂ O (4) | 30 |
| 3.3.5 [Ag(PPh ₃) ₂ AQH ₂ O]NO ₃ .H ₂ O (5) | 30 |
| 3.3.6 [CuPQCl ₂].1/6 éter dietílico (6) | 31 |
| 3.3.7 [CuPQ(Ac) ₂] (7) | 31 |
| 3.3.8 [CuPQ(NO ₃) ₂]. éter dietílico (8) | 31 |
| 3.4 ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM HEMINA | 32 |
| 3.4.1 Interação com a hemina | 32 |
| 3.5 TÉCNICAS PARA O ESTUDO DA INTERAÇÃO COM O DNA | 32 |
| 3.5.1 Preparação da solução de ct-DNA | 32 |
| 3.5.2 Viscosidade | 32 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 34 |
| 4.1 COMPLEXOS METÁLICOS COM AMODIAQUINA | 36 |
| 4.1.1 Complexos metálicos de Zn(II) com amodiaquina dicloridrato | 36 |
| 4.1.2 Complexos metálicos de Zn(II) com amodiaquina base livre | 46 |
| 4.2 COMPLEXOS METÁLICOS COM PRIMAQUINA | 62 |
| 4.3 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO COM A FERRIPROTOPORFIRINA | 72 |
| 4.4 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO COM DNA | 74 |

| | |
|---|-----------|
| 4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA <i>IN VITRO</i> | 75 |
| 5 CONCLUSÕES | 77 |
| 5.1 PERSPECTIVAS FUTURAS | 78 |
| REFERÊNCIAS | 79 |

1 INTRODUÇÃO

As doenças parasitárias afetam uma grande parcela da população mundial e exercem grande influência na qualidade de vida e no desenvolvimento dos países afetados, que se localizam, em sua maioria na África, América Latina, Ásia Meridional e Oceania. Dentre estas, a doença que causa maior morbidade e mortalidade no mundo é a malária (WHITE, *et al.*, 2014).

Em 2018, estima-se que ocorreram 228 milhões de casos de malária em todo o mundo, dos quais 93 % ocorreram na região africana, seguido do sudeste asiático com 3,4 %. Segundo os dados, de 2010 para 2018 ocorreu uma redução na taxa de incidência no sudeste asiático e na região africana, porém na América Latina registrou-se um aumento no número de transmissões da doença, sendo Venezuela e Brasil os principais responsáveis (WHO, 2019).

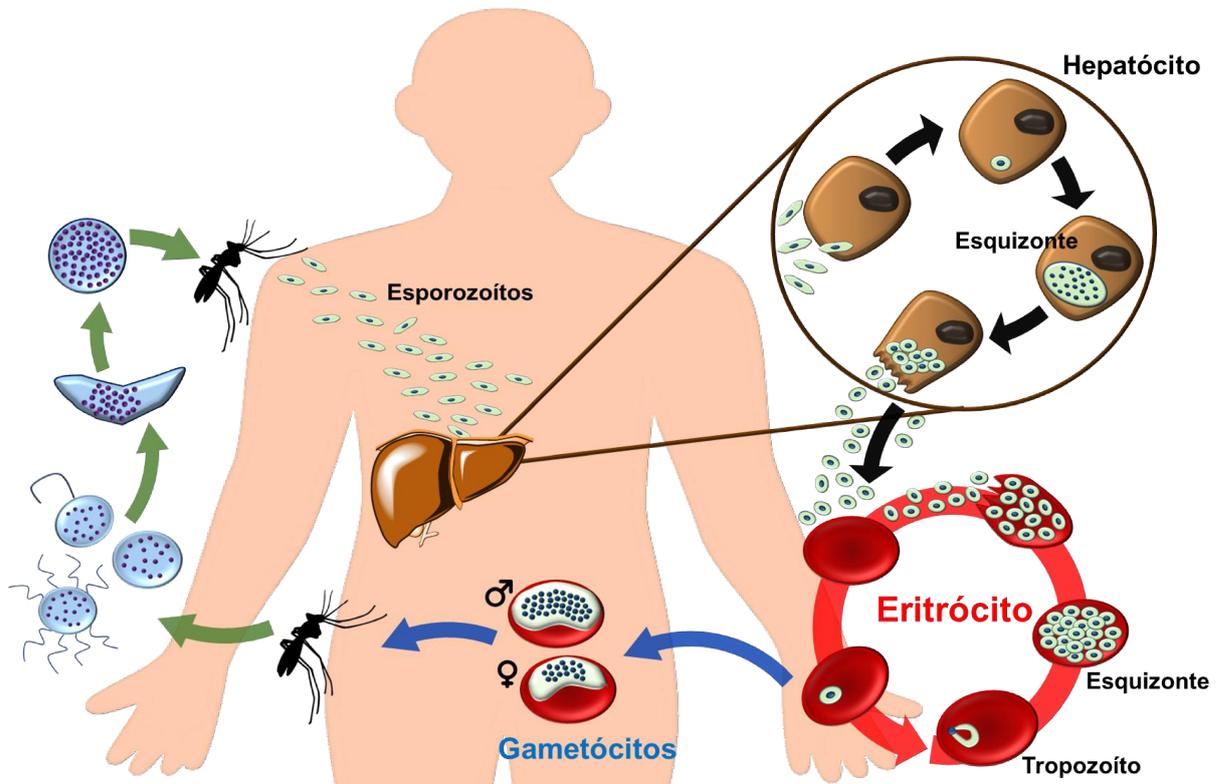
O Brasil representa cerca de 23 % dos casos na América Latina, sendo que a maior área de risco é a região amazônica, devido as condições precárias de habitação e saneamento da população local. De acordo com os dados do relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), há o relato de cerca de 217 mil casos da doença no último ano no Brasil (WHO, 2019; Ministério da Saúde).

A malária é transmitida ao homem através da picada de fêmeas infectadas do mosquito *Anopheles* e é causada pelo protozoário do gênero *Plasmodium*, sendo que 5 espécies do mesmo podem infectar humanos: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. knowlesi* (WHITE, *et al.*, 2014; KANTELE; JOKIRANTA, 2011). O ciclo de vida do protozoário é complexo e possui dois tipos de hospedeiros para se completar, como demonstra a **Figura 1**.

No ser humano o ciclo inicia-se com a picada do mosquito, onde esporozoítos entram na corrente sanguínea e rapidamente invadem as células do fígado. Dentro dos hepatócitos há a maturação dos esporozoítos, onde estes se multiplicam assexuadamente originando milhares de merozoítos que rompem os hepatócitos e são liberados na corrente sanguínea.

Os merozoítos liberados invadem os eritrócitos, iniciando assim o ciclo eritrocítico, onde os merozoítos passam por mudanças morfológicas e multiplicam-se até a ruptura das células, liberando-os para a corrente sanguínea novamente. Parte dos merozoítos continua o ciclo eritrocítico, entrando em novos glóbulos vermelhos e se multiplicando.

Já alguns merozoítos liberados diferenciam-se nas formas sexuadas do parasita, que são chamadas de gametócitos. Os gametócitos permanecem na corrente sanguínea, podendo ser ingeridos pelos mesmos e/ou outros mosquitos, reproduzindo-se de forma sexuada dentro do mesmo, seguindo desta forma a proliferação da doença (FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008).

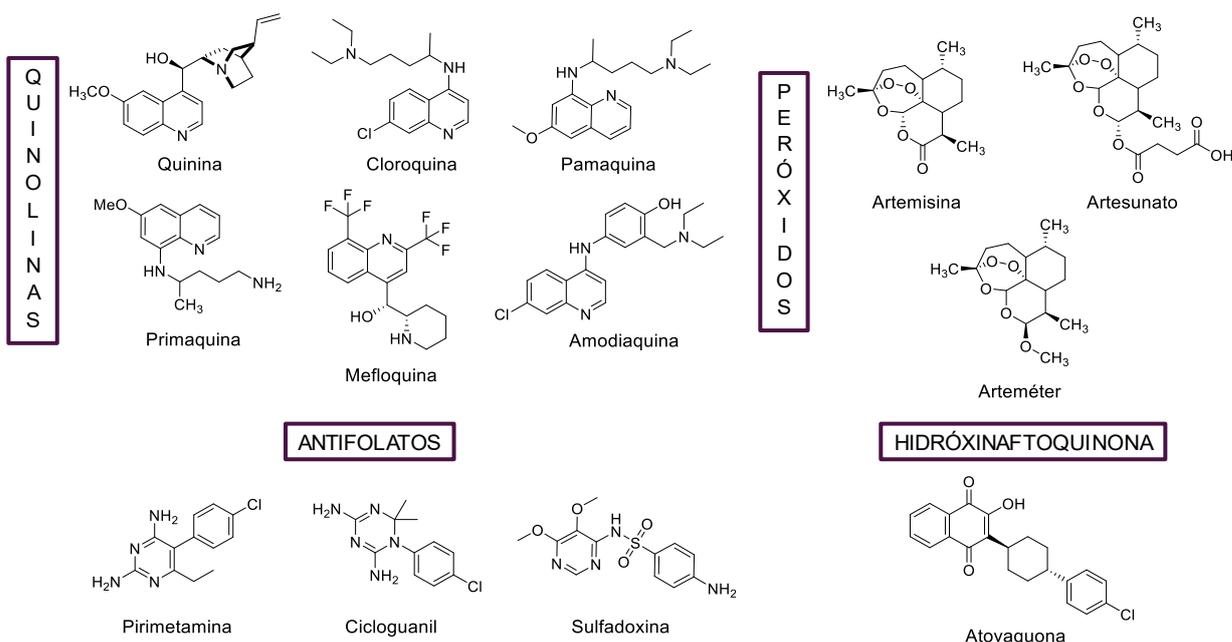
Figura 1 - Ciclo de vida do *Plasmodium*

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

A quimioterapia antimalárica atua com base em duas partes específicas do ciclo do parasita, sendo tais fármacos considerados eritrocíticos ou gametocidas. Os fármacos eritrocíticos tem como alvo as formas parasitárias que estão presentes nas células sanguíneas e consequentemente tratam a doença. Já os fármacos gametocidas atuam nas formas sexuadas do parasita, evitando assim a transmissão da malária (FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008). Os principais fármacos pertencem a quatro classes de compostos: as quinolinas, os antifolatos, os peróxidos e a hidroxinaftoquinona. A estrutura de alguns destes fármacos está representada na **Figura 2** (GEMMA, *et al.*, 2010).

Neste trabalho dá-se ênfase às quinolinas e dentre elas destaca-se a cloroquina, que foi o fármaco mais eficaz até hoje para o tratamento da malária. Além dela, também têm sido utilizadas a mefloquina e a amodiaquina que, juntamente com a cloroquina, são fármacos eritrocíticos. Já no caso dos fármacos que atuam na fase gametocida, destacam-se a pamaquina e a primaquina que atuam como profiláticos, sendo este último o mais utilizado e geralmente é coadministrado com um eritrocida (FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008).

Figura 2 - Estrutura e classes de fármacos antimaláricos



Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

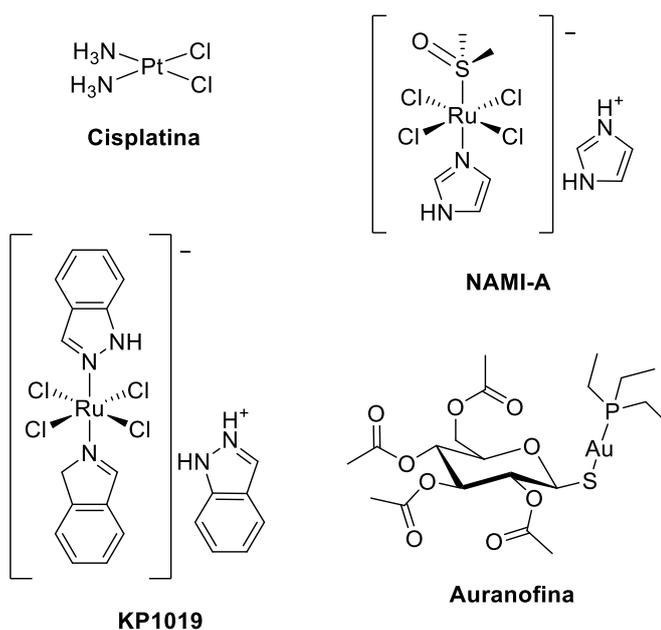
O maior problema para o tratamento da malária é a resistência do parasita à quimioterapia, que se deve à utilização de um único fármaco por um longo período de tempo para a supressão e profilaxia, ocasionando seleção e multiplicação de parasitas resistentes. Assim, atualmente utiliza-se uma combinação entre dois ou mais fármacos para atingir diferentes alvos no parasita e diminuir a probabilidade de resistência do mesmo (FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008). Exemplos de coquetéis antimaláricos utilizados são a combinação de artesunato-sulfadoxina-pirimetamina, artesunato-amodiaquina e arteméter-lumefantrina (WHO, 2015).

Outra forma de estratégia que tem sido desenvolvida em pesquisas e possui enorme potencial é baseada na síntese de metalofármacos, onde ao se utilizar um íon metálico e um ligante com atividade biológica conhecida busca-se fazer uso do efeito sinérgico, podendo potencializar a atividade biológica do fármaco através da absorção, solubilidade, tempo de residência no organismo e também dos diferentes modos de ação (NAVARRO, *et al.*, 2014).

A investigação e desenvolvimento de drogas metálicas teve impulso com a descoberta da atividade anticancerígena da cisplatina e seus análogos, sendo o metalofármaco mais comercializado mundialmente. Complexos de rutênio também tem emergido para o tratamento do câncer, sendo comumente conhecidos como NAMI-A e KP1019, os primeiros a entrarem em testes clínicos (GALANSKI, *et al.*, 2003). As estruturas destes compostos estão representadas na **Figura 3**.

Os complexos de ouro também têm gerado grande interesse devido à utilização da auranofina (**Figura 3**) no tratamento da artrite reumatoide. Com isso, buscaram-se avanços na pesquisa de agentes terapêuticos baseados em metais de transição para o desenvolvimento de novos compostos que possuam menos efeitos colaterais, que sejam menos tóxicos e com uma melhor compreensão de seus mecanismos de ação (NAVARRO, 2009).

Figura 3 - Estrutura da cisplatina, NAMI-A, KP1019 e auranofina



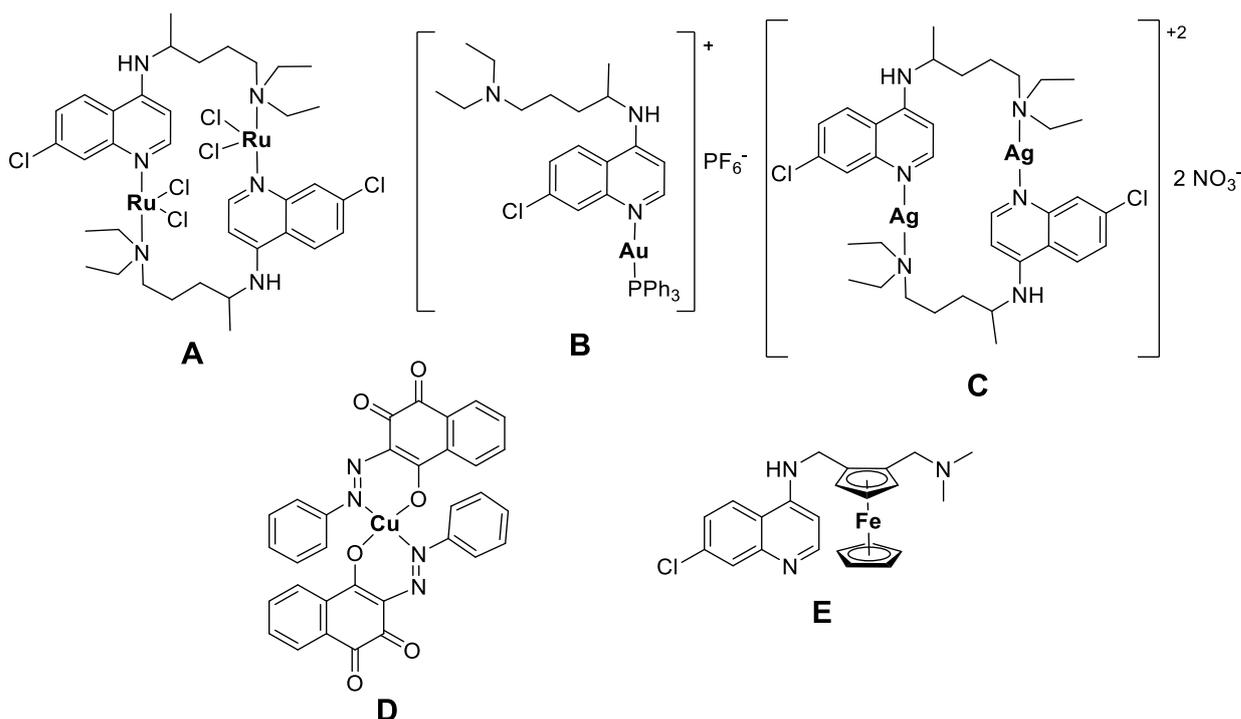
Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Com foco em complexos metálicos antimaláricos, o grupo Navarro possui trabalhos utilizando a cloroquina com diferentes centros metálicos e vários deles foram mais ativos contra o parasita que a cloroquina livre. Dentre estes complexos sintetizados, o [Au(PPh₃)CQ]PF₆ (**B**) foi mais tóxico contra cepas resistentes de *Plasmodium falciparum* em uma relação de 9,2 com a cloroquina, seguido do complexo [RuCl₂CQ]₂ (**A**) com uma relação de 4,2 (NAVARRO, *et al.*, 2010). A estrutura dos mesmos apresenta-se na **Figura 4**.

Em outros grupos de pesquisa também é possível encontrar complexos de Ag(I) (**C**), Cu(II) (**D**) e Fe(II) (**E**) (**Figura 4**) que apresentaram boa atividade antimalárica (DÁVALOS, *et al.*, 2013; DIVE; BIOT, 2008; GOKHALE, *et al.*, 2006). Deve-se destacar a ferroquina dentre todos os compostos metálicos, pois a mesma apresentou atividade cinco vezes maior do que a cloroquina em cepas sensíveis e cerca de 30 vezes nas cepas resistentes e é o único composto organometálico a chegar em ensaios clínicos da fase II em terapia combinada com a artemisina, como recomendação

da OMS (DIVE; BIOT, 2008). Como o parasita já apresenta resistência à artemisina, os ensaios clínicos da ferroquina com a mesma foram descontinuados, porém atualmente avalia-se a ação da ferroquina juntamente com um novo composto chamado de artefenomel que se encontra também em ensaios clínicos da fase II (MEDICINES FOR MALARIA VENTURE, 2018).

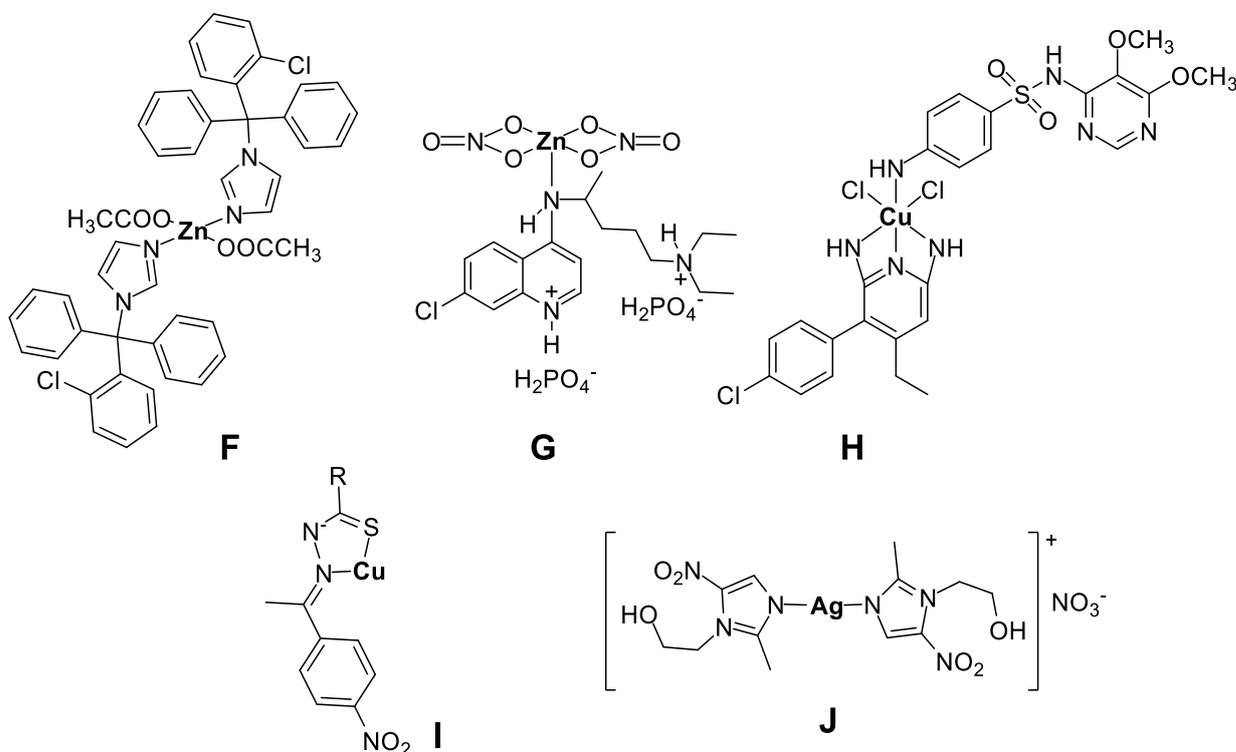
Figura 4 - Estruturas de complexos antimaláricos presentes na literatura



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Levando-se em conta o zinco, o cobre e a prata, que são os metais de interesse neste trabalho, há diversos complexos sendo utilizados em pesquisas com foco em doenças parasitárias, bacterianas e câncer. Como exemplo, temos complexos de Zn(II) que apresentam excelente efeito contra o parasita causador da tricomoníase (**F**) (MIDDLEJ, *et al.*, 2019), doenças parasitárias (AZEVEDO-FRANÇA, *et al.*, 2020), assim como efeito anti-inflamatório (**G**) (NAVARRO, *et al.*, 2008) e também antidiabéticos (CHUKWUMA, *et al.*, 2020). Também são reportados complexos de Cu(II) com excelentes efeitos antimicrobianos (**H**) (OGUNNIRAN, *et al.*, 2012) e com potencial antiviral, antibacteriano, anti-inflamatório e antitumoral (**I**) (IAKOVIDS; DELIMARIS; PIPERAKIS, 2011) e complexos de Ag(I) com atividade antibacteriana significativa (**J**) (MEDICI, *et al.*, 2016), onde os íons metálicos encontram-se coordenados com ligantes contendo O, N ou S. Podemos observar alguns desses exemplos na **Figura 5**.

Figura 5 - Estruturas de complexos metálicos utilizando Zn(II), Cu(II) e Ag(I) presentes na literatura

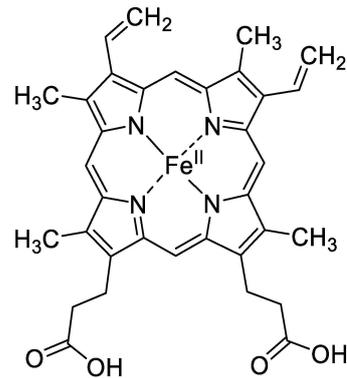


Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Como a efetividade dos fármacos para o tratamento da malária tem diminuído devido à resistência adquirida pelo parasita, torna-se muito importante a compreensão dos mecanismos de ação dos antimaláricos. Um dos mecanismos mais aceitos e estudados principalmente para a cloroquina, é a inibição da formação da hemozoína (MACEDO, *et al.*, 2017).

Na fase intra-eritrocítica da malária, o parasita que invade o eritrócito utiliza dos seus recursos para aumentar seu tamanho, e como forma de ganhar espaço no interior da célula e energia, este digere entre 60 a 80% da hemoglobina através da clivagem das ligações peptídicas. Este processo ocorre no vacúolo digestivo do parasita que contém enzimas específicas para a digestão e que são ativas sob pH ácido. Assim quando ocorre a digestão da hemoglobina, junto com os aminoácidos são também liberados quatro equivalentes do grupo heme, também conhecidos como ferroprotoporfirina IX ou Fe(II)PPIX, cuja estrutura apresenta-se na **Figura 6** (EGAN, 2011; NAVARRO; CASTRO; BIOT, 2012).

Figura 6 - Estrutura do grupo heme

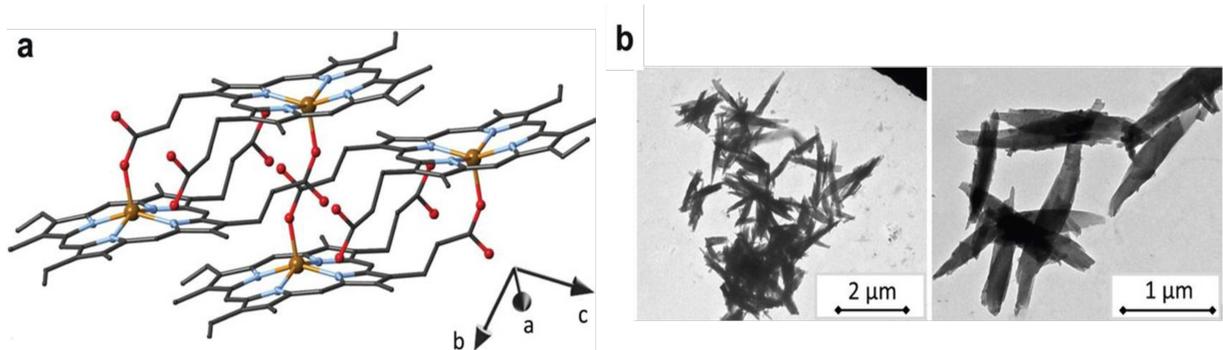


Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

O íon de ferro central oxida-se formando a ferritopropirina ou Fe(III)PPIX, que é uma espécie tóxica para o parasita devido aos efeitos severos pela interação com as membranas e o estresse oxidativo gerado. Assim, o mecanismo encontrado pelo parasita para a remoção da Fe(III)PPIX é promover a formação da hemozoína, conhecida também como pigmento malárico (CASTRO; NAVARRO, 2012). A hemozoína é um cristal formado por dímeros do grupo heme ligados através do ferro(III) com os grupos carboxilatos das cadeias laterais da porfirina, que é altamente insolúvel e não-reativa (BIOT, *et al.*, 2012).

Foi demonstrada a formação de dímeros através da elucidação da estrutura cristalina da hemozoína e assim foi possível realizar a síntese da hemozoína sintética, que é comumente chamada de β -hematina. A estrutura cristalina e as micrografias eletrônicas de transmissão dos cristais apresentam-se na **Figura 7** (BUTYKAI, *et al.*, 2013).

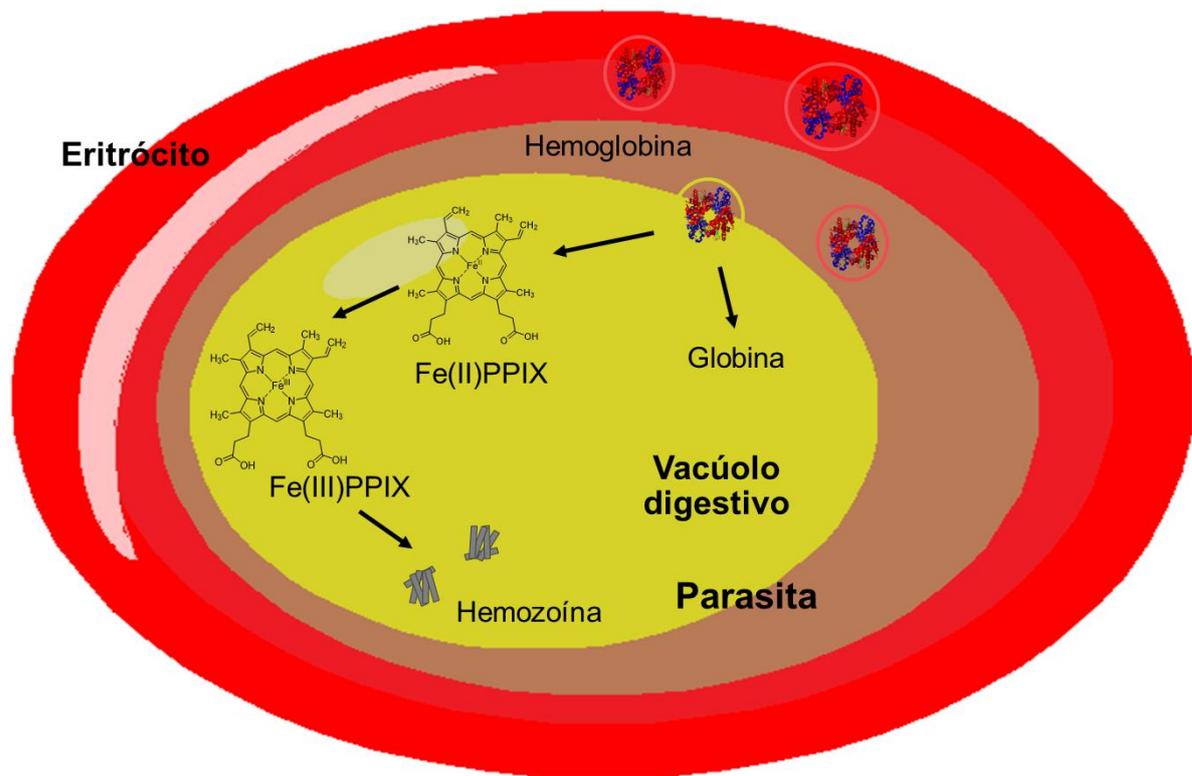
Figura 7 - a) Estrutura cristalina da hemozoína b) Micrografias eletrônicas de transmissão



Fonte: BUTYKAI, *et al.* (2013).

Na **Figura 8** está demonstrada uma ilustração simplificada do processo de digestão da hemoglobina, passando pela oxidação da ferroprotoporfirina IX para ferriprotoporfirina IX até a formação dos cristais de hemozoína que ocorre no vacúolo digestivo do parasita.

Figura 8 - Ilustração do processo de digestão da hemoglobina até a formação da hemozoína



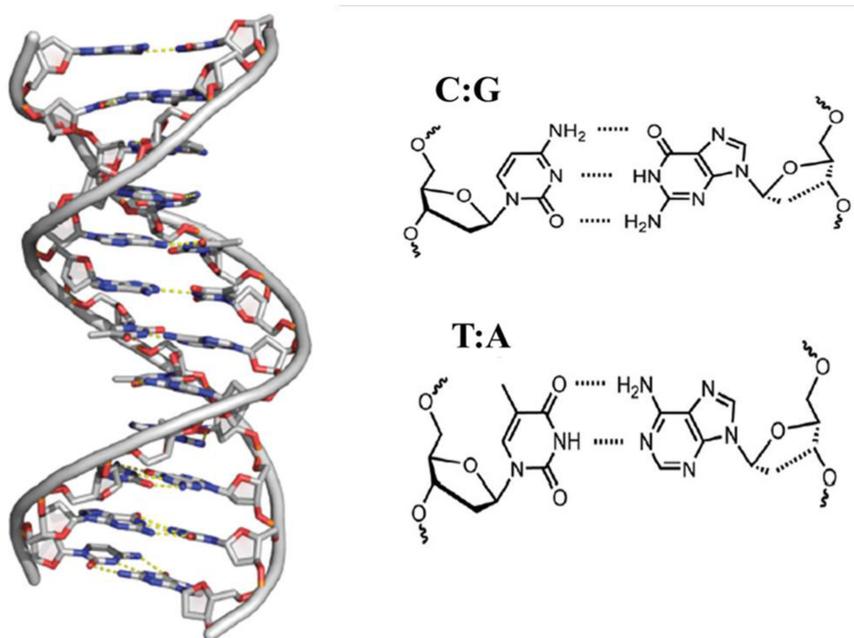
Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

O mecanismo exato da atuação da cloroquina e demais fármacos na inibição da formação da hemozoína ainda tem sido estudado, sendo que destacam-se três possibilidades: a primeira sugere que ocorre a formação de complexos entre a ferroprotoporfirina IX e os fármacos, evitando a formação do dímero de hemozoína (KASCHULA, *et al.*, 2002). A segunda é que o fármaco se liga à uma superfície do cristal de hemozoína, influenciando na sua aparência e impedindo o crescimento do cristal (PAGOLA, *et al.*, 2000). Já a terceira hipótese é uma associação das duas primeiras (SULLIVAN, *et al.*, 1996). Mesmo não tendo certeza da forma que ocorre a inibição, há diversas evidências para considerar a mesma como um alvo a ser estudado como mecanismo de ação.

Outro alvo farmacológico bem estabelecido para metalofármacos é o ácido desoxirribonucleico (do inglês DNA), onde o esqueleto de fosfato rico em elétrons, os heteroátomos

doadores das bases nitrogenadas e as estruturas secundárias e terciárias criam potenciais sítios de ligação para os fármacos e para os complexos metálicos. Dada a importância do DNA para o armazenamento da informação genética e para a replicação celular, a avaliação da interação com o mesmo é essencial para o desenvolvimento de novos medicamentos (KELLETT, *et al.*, 2019). A estrutura do DNA, assim como as ligações das bases nitrogenadas estão representadas na **Figura 9**.

Figura 9 - Estrutura do DNA e as ligações entre os pares de bases nitrogenadas

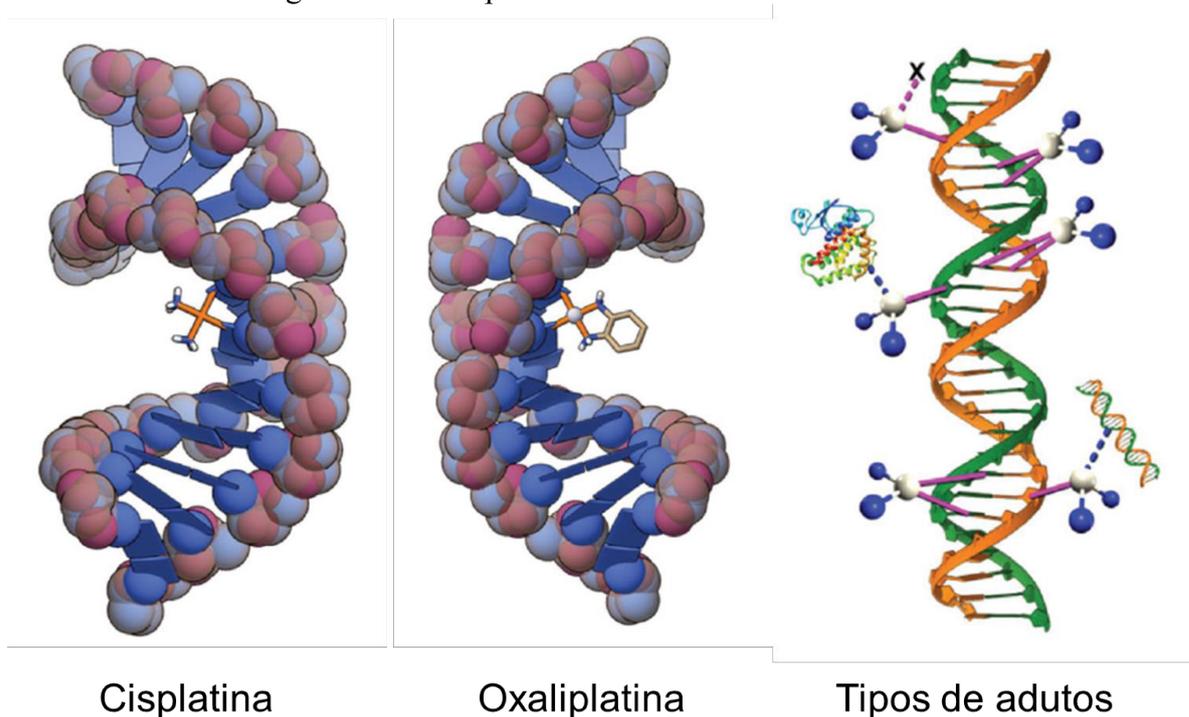


Fonte: Adaptado de KELLETT, *et al.* (2019).

A estrutura complexa do DNA faz com que as interações possam ocorrer de forma covalente ou não-covalente. A interação covalente pode ser realizada através da ligação direta do complexo metálico ao DNA pelas suas bases nitrogenadas ou então pelo grupo fosfato presente no mesmo, onde os átomos de oxigênio e nitrogênio são pontos ideais para ligação com o centro metálico (BARRA; NETTO, 2015).

Como exemplo de interação covalente, temos a da cisplatina, cuja ligação depende da hidrólise dos cloretos dentro da célula. Essa ligação gera uma distorção significativa na estrutura da hélice e assim inibe a replicação e transcrição do DNA. A cisplatina e seus análogos são capazes de formar diversos adutos de DNA, como exemplo: adutos com apenas uma ligação com o DNA e outra ligada a proteínas, adutos 1,2 intrafita e 1,3 intrafita e adutos entre cadeias, como demonstrado na **Figura 10** (PAGES, *et al.*, 2015).

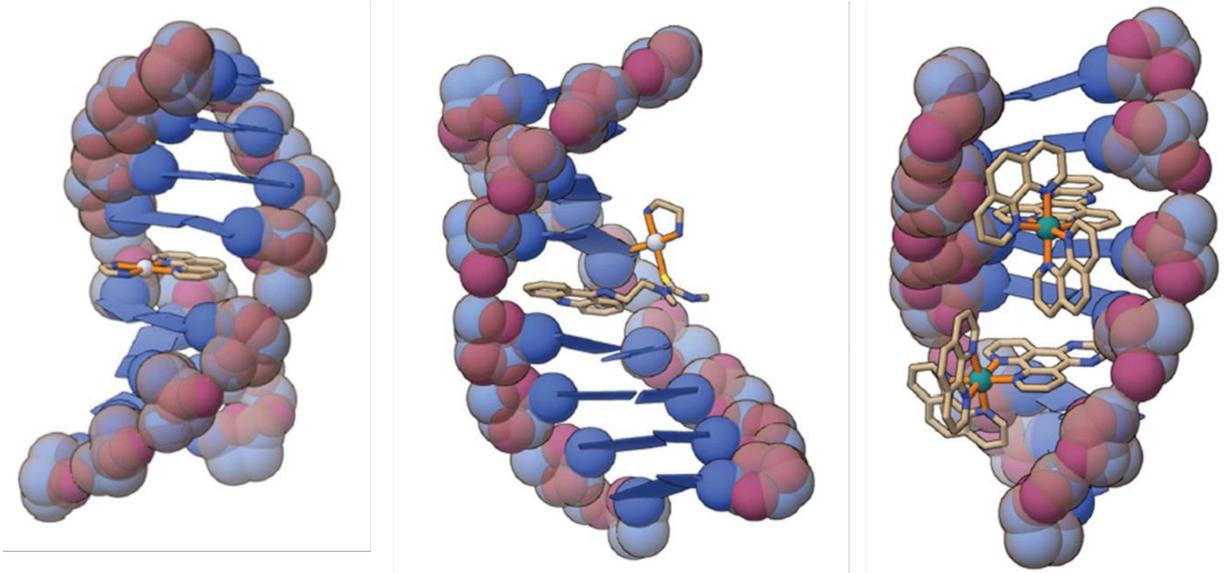
Figura 10 - Exemplos de adutos covalentes com DNA



Fonte: Adaptado de PAGES, *et al.* (2015).

Já a interação não-covalente com o DNA pode ocorrer através de interações eletrostáticas, hidrofóbicas, intercalação, interação nas cavidades ou ligação de hidrogênio (BARRA; NETTO, 2015). Algumas interações são influenciadas pela carga dos compostos, como exemplo é atrativo impor uma carga positiva, pois o DNA possui uma densidade elevada de carga negativa atraindo cátions e conseqüentemente contribuindo para interações eletrostáticas entre os átomos de oxigênio dos grupos fosfato do DNA. Já outras interações dependem da forma do complexo metálico, como os intercaladores que contêm em sua estrutura anéis heteroaromáticos planos que facilitam a entrada entre dois pares de base adjacentes e essa inserção é estabilizada através das ligações $\pi \rightarrow \pi$. Alguns exemplos de intercalação estão representados na **Figura 11** (KELLET, *et al.*, 2019; PAGES, *et al.*, 2015).

Figura 11 - Exemplos de complexos intercaladores com o DNA



Fonte: Adaptado de PAGES, *et al.* (2015).

2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo a síntese e a caracterização de uma série de complexos metálicos contendo fármacos antimaláricos (primaquina e amodiaquina) coordenados a Zn(II), Cu(II) e Ag(I), juntamente com o estudo de seus possíveis mecanismos de ação e a avaliação da atividade antimalárica dos mesmos.

Os objetivos específicos para o desenvolvimento deste projeto são:

- a) sintetizar complexos de Zn(II), Cu(II) e Ag(I) utilizando-se como ligantes fármacos antimaláricos (amodiaquina e primaquina) com diferentes ligantes auxiliares (cloreto, nitrato e acetato);
- b) caracterizar os complexos metálicos obtidos utilizando-se espectroscopia no infravermelho (IV), espectroscopia no UV-VIS, ressonância magnética nuclear (RMN), quando o complexo for diamagnético, espectroscopia de massas, condutimetria, análise elementar;
- c) estudar o mecanismo de ação dos complexos metálicos a serem sintetizados através da interação com a hemina e com o DNA;
- d) avaliação do potencial antimalárico dos complexos metálicos a serem obtidos em colaboração com pesquisadores da área.

3 PARTE EXPERIMENTAL

A determinação dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio dos complexos foi realizada em um analisador CHN modelo Flash 2000 da Thermocientific. Os espectros de absorção do UV-Vis foram obtidos por meio de um espectrofotômetro Shimadzu UV-1800, caminho óptico de 1 cm, utilizando a faixa de comprimento de onda de 200 a 1100 nm. Para a obtenção dos espectros de absorção na região do infravermelho foi utilizado um espectrofotômetro Bruker alpha FT-IR Spectrometer, na região de 4000-400 cm^{-1} , resolução espectral de 4 cm^{-1} , com 128 varreduras, utilizando pastilhas de KBr. Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C e ^{31}P foram obtidos em um espectrômetro Bruker Avance III HD 500, sendo os compostos solubilizados em clorofórmio deuterado (CDCl_3).

Os solventes empregados na síntese dos compostos, juntamente com as marcas dos mesmos foram metanol (Synth e ACS Científica) e éter dietílico (Synth, Vetec e Milipore). Os sais de cloreto de zinco(II), acetato de zinco(II), nitrato de cobre(II) e nitrato de prata(I) são da marca Vetec e os sais de nitrato de zinco(II), acetato de cobre(II) e cloreto de cobre(II) são da marca Fisher. A amodiaquina é proveniente da Sigma-Aldrich e a primaquina é da Sigma-Aldrich e também fornecida pela Farmanguinhos. O complexo $[\text{Ag}(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$ foi sintetizado previamente no grupo de pesquisa.

3.1 EXTRAÇÃO DA AMODIAQUINA (AQ)

A uma solução aquosa de amodiaquina dicloridrato ($\text{AQ} \cdot 2\text{HCl}$) (1,08 mmol) adicionou-se uma solução aquosa de bicarbonato de sódio (3,4 mmol) e a mesma ficou sob agitação durante 1 h. O sólido formado foi filtrado, lavado com água e deixado secando em um dessecador com pentóxido de fósforo, obtendo-se um sólido amarelo. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3242 $\nu(\text{N-H})$; 1612 $\nu(\text{C=C})$; 1566 $\nu(\text{C=N})$. UV-Vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 346 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$). RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) [δ ppm, (multiplicidade, acoplamento, integral, atribuição)]: 8.45 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H, H2), 7.99 (s, 1H, H8), 7.84 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H5), 7.40 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H6), 7.08 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H2'), 6.92 (s, 1H, H6'), 6.85 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H5'), 6.66 (s, 1H, NH), 6.61 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, H3), 3.77 (s, 2H, H1''), 2.65 (q, 4H, H2''), 1.13 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H, H3'').

3.2 EXTRAÇÃO DA PRIMAQUINA (PQ)

A uma solução aquosa de primaquina difosfato (6,5 g; 14 mmol) adicionou-se uma solução de hidróxido de amônio (3,7 mL; 28 mmol); a solução foi colocada em um funil de separação e extraiu-se com clorofórmio. Na fase orgânica adicionou-se sulfato de sódio anidro como dessecante e filtrou-se a mesma. A solução filtrada foi levada a seco no rotavapor, obtendo-se um óleo laranja. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3373 $\nu(\text{N-H})$; 1616 $\nu(\text{C=C})$; 1519 $\nu(\text{C=N})$. UV-Vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 366 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$). RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) [δ ppm, (multiplicidade, acoplamento, integral, atribuição)]: 8.52 (dd, $J = 4.2, 1.4$ Hz, 1H, H2), 7.91 (dd, $J = 8.2, 1.3$ Hz, 1H, H4), 7.29 (dd, $J = 8.2, 4.2$ Hz, 1H, H3), 6.32 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H7), 6.28 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H5), 6.03 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, NH), 3.88 (s, 3H, OMe), 3.68 – 3.55 (m, 1H, H1'), 2.71 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, H4'), 1.79 – 1.53 (m, 5H, H3' e H2'), 1.47 (s, 3H, NH_2), 1.31 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, H1'').

3.3 SÍNTESE DOS COMPLEXOS METÁLICOS

Os complexos metálicos de Cu(II), Zn(II) e Ag(I) foram sintetizados por meio da complexação de sais destes metais, no caso cloreto de cobre(II) anidro, nitrato de cobre(II) trihidratado, acetato de cobre(II) monohidratado, cloreto de zinco(II), nitrato de zinco(II) hexahidratado, acetato de zinco(II) dihidratado e nitrato de bistrifenilfosfinaprata(I) com os fármacos aminoquinolínicos (amodiaquina e primaquina), obtidos segundo adaptação de metodologia descrita na literatura (NAVARRO, *et al.*, 2004; PEÑA, 2017).

3.3.1 $[\text{ZnAQCl}_2] \cdot \frac{1}{2}$ éter dietílico (1)

Uma solução metanólica de AQ.2 HCl (100,6 mg; 0,21 mmol) e NaHCO_3 (35,4 mg; 0,42 mmol) foi adicionada à solução metanólica de ZnCl_2 (31,3 mg; 0,105 mmol) e mantida sob agitação à temperatura ambiente durante 5 h. Após quinze minutos observou-se a formação de um sólido amarelo, que foi centrifugado, lavado com água, éter dietílico e seco em bomba de vácuo, obtendo-se assim um sólido amarelo com rendimento de 60% (72,7 mg). Análise elementar [% calculada (% encontrada)]: C 49,9 (50,4); N 7,9 (8,3); H 5,1 (4,5). $\Lambda_M(\text{DMSO}) = 4,48 \text{ ohm}^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3336 $\nu(\text{N-H})$; 1612 $\nu(\text{C=C})$; 1584 $\nu(\text{C=N})$. UV-Vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 346 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$). RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) [δ ppm,

(multiplicidade, acoplamento, integral, atribuição): 8,47 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H, H2), 8,01 (s, 1H, H8), 7,82 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, H5), 7,43 (dd, $J = 8,9, 2,1$ Hz, 1H, H6), 7,09 (dd, $J = 8,5, 2,7$ Hz, 1H, H2'), 6,93 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H, H6'), 6,86 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H5'), 6,62 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H, H3), 6,52 (s, 1H, NH), 3,78 (s, 2H, H1''), 2,66 (q, $J = 7,2$ Hz, 4H, H2''), 1,14 (t, $J = 7,2$ Hz, 6H, H3'').

3.3.2 [ZnAQ(OH)₂H₂O] (2)

Uma solução metanólica de AQ.2 HCl (100,5 mg; 0,21 mmol) e NaHCO₃ (35,5 mg; 0,42 mmol) foi adicionada à solução metanólica ZnAc₂.2H₂O (23,1 mg; 0,105 mmol) e mantida sob agitação à temperatura ambiente durante 1 h e 30 min. Após meia hora, observou-se a formação de um sólido amarelo, que foi centrifugado, lavado com água, éter dietílico e seco em bomba de vácuo, obtendo-se um sólido amarelo com rendimento de 90% (44,7 mg). Análise elementar [% calculada (% encontrada)]: C 51,5 (51,8); N 8,4 (8,6); H 4,5 (5,3). $\Lambda_M(\text{DMSO}) = 4,07 \text{ ohm}^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3328 $\nu(\text{N-H})$; 1612 $\nu(\text{C=C})$; 1584 $\nu(\text{C=N})$. UV-Vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 346 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$). RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) [δ ppm, (multiplicidade, acoplamento, integral, atribuição)]: 8,47 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, H2), 7,99 (s, 1H, H8), 7,80 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H5), 7,41 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, H6), 7,07 (dd, $J = 8,5, 2,5$ Hz, 1H, H2'), 6,91 (s, 1H, H6'), 6,85 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H5'), 6,61 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H, H3), 6,46 (s, 1H, NH), 3,77 (s, 2H, H1''), 2,64 (q, $J = 7,2$ Hz, 4H, H2''), 1,12 (t, $J = 7,2$ Hz, 6H, H3'').

3.3.3 [ZnAQ(Ac)₂].éter dietílico (3)

Uma solução metanólica de AQ (100 mg; 0,28 mmol) foi adicionada à solução metanólica de ZnAc₂.2H₂O (30,7 mg; 0,14 mmol) e mantida sob agitação à temperatura ambiente durante 1 h. A solução foi levada ao seco e houve a formação de um óleo amarelo. Adicionou-se éter dietílico e formou-se um sólido que foi seco em bomba de vácuo, obtendo-se um sólido amarelo com rendimento de 89% (66,9 mg). Análise elementar [% calculada (% encontrada)]: C 54,8 (55,9); N 6,8 (8,2); H 6,2 (5,3). $\Lambda_M(\text{DMSO}) = 1,55 \text{ ohm}^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3263 $\nu(\text{N-H})$; 1616 $\nu(\text{C=C})$ e $\nu(\text{C=O})$; 1587 $\nu(\text{C=N})$. UV-Vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 346 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$). RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) [δ ppm, (multiplicidade, acoplamento, integral, atribuição)]: 8.31 (s, 1H, H2), 8.05 (s, 1H, H8), 7.90 (s, 1H, H5), 7.16

(s, 1H, H6), 6.98 (d, J = 21.5 Hz, 2H, H2' e H6'), 6.80 (s, 1H, H5'), 6.49 (s, 1H, H3), 3.82 (s, 2H, H1''), 2.72 (s, 4H, H2''), 2.04 (s, 6H, Acetato), 1.15 (t, J = 6.3 Hz, 6H, H3'').

3.3.4 [CuAQ(Ac)₂].2 H₂O (4)

Uma solução metanólica de AQ (100,4 mg; 0,28 mmol) foi adicionada à solução metanólica de CuAc₂.H₂O (27,4 mg; 0,14 mmol) e mantida sob agitação à temperatura ambiente durante 20 min. Observou-se a formação de um sólido marrom, que foi centrifugado, lavado com éter dietílico e seco em bomba de vácuo, obtendo-se um sólido marrom esverdeado com rendimento de 31 % (23,5 mg). Análise elementar [% calculada (encontrada)]: C 50,3 (50,2); N 7,3 (6,8); H 5,5 (4,6). $\Lambda_M(\text{DMSO}) = 1,68 \text{ ohm}^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3296 $\nu(\text{N-H})$; 1624 $\nu(\text{C=C})$ e $\nu(\text{C=O})$; 1577 $\nu(\text{C=N})$. UV-Vis (solvente) [λ (atribuição)]: 288 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$); 458 nm (d \rightarrow d).

3.3.5 [Ag(PPh₃)₂AQH₂O]NO₃.H₂O (5)

Uma solução metanólica de [Ag(PPh₃)₂]NO₃ (194,5 mg; 0,14 mmol) foi adicionada à solução de AQ (100,2 mg; 0,28 mmol) e mantida sob agitação à temperatura ambiente durante 15 min. A solução foi levada a seco e adicionou-se éter dietílico a mesma, obtendo-se um sólido amarelo com rendimento de 56 % (82,7 mg). Análise elementar [% calculada (% encontrada)]: C 61,9 (62,2); N 5,2 (3,7); H 5,2 (4,7). $\Lambda_M(\text{DMSO}) = 41,98 \text{ ohm}^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3248 $\nu(\text{N-H})$; 1612 $\nu(\text{C=C})$; 1570 $\nu(\text{C=N})$, 1382 $\nu(\text{grupo NO}_3)$, 1095 $\nu(\text{P-C})$, 694 $\nu(\text{P-PPh}_3)$. UV-Vis (solvente) [λ (atribuição)]: 346 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$). RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) [δ ppm, (multiplicidade, atribuição)]: 8.30 (m, 2H, H2 e H8), 7.96 (d, J= 2.1 Hz, 1H, H5), 7.47 – 7.25 (m, 80H, H6 e PPh₃), 7.10 (dd, J= 8.5, 2.5 Hz, 1H, H2'), 7.00 (d, J = 2.4 Hz, 1H, H6'), 6.84 (d, J= 8.5 Hz, 1H, H5'), 6.63 (d, J= 6.2 Hz, 1H, H3), 3.77 (s, 2H, H1''), 2.66 (q, J= 7.1 Hz, 4H, H2''), 1.14 (t, J= 7.2 Hz, 6H, H3''). RMN de ³¹P{¹H} (CDCl₃) [δ ppm (multiplicidade, atribuição)]: 29,56 (s, óxido), 10,06 (s, PPh₃).

3.3.6 [CuPQCl₂].1/6 éter dietílico (6)

Uma solução metanólica de PQ (104,0 mg; 0,40 mmol) foi adicionada à solução metanólica de CuCl₂ (26,9 mg; 0,20 mmol) e mantida sob agitação à temperatura ambiente durante 4 h. A solução foi concentrada e adicionou-se éter, observando a formação de um precipitado escuro, que foi filtrado, lavado com éter dietílico e seco em bomba de vácuo, obtendo-se um sólido marrom com rendimento de 66% (53,8 mg). Análise elementar [% calculada (% encontrada)]: C 46,3 (47,2); N 10,3 (9,6); H 5,6 (4,6). $\Lambda_M(\text{DMSO}) = 17,88 \text{ ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3418 $\nu(\text{N-H})$; 1606 $\nu(\text{C=C})$; 1516 $\nu(\text{C=N})$. UV-Vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 383 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$).

3.3.7 [CuPQ(Ac)₂] (7)

Uma solução metanólica de PQ (116,6 mg; 0,44 mmol) foi adicionada à solução de CuAc₂.H₂O (43,9 mg; 0,22 mmol) e mantida sob agitação à temperatura ambiente durante 4 h. A solução foi concentrada e adicionou-se éter, observando a formação de um precipitado escuro, que foi filtrado, lavado com éter dietílico e seco em bomba de vácuo, obtendo-se um sólido marrom com rendimento de 72% (70,4 mg). Análise elementar [% calculada (% encontrada)]: C 51,8 (50,4); N 9,5 (9,1); H 6,1 (5,3). $\Lambda_M(\text{DMSO}) = 3,11 \text{ ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3420 $\nu(\text{N-H})$; 1605 $\nu(\text{C=C})$ e $\nu(\text{C=O})$ do grupo acetato; 1519 $\nu(\text{C=N})$. UV-Vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 389 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$); 511 nm ($d \rightarrow d$).

3.3.8 [CuPQ(NO₃)₂]. éter dietílico (8)

Uma solução metanólica de PQ (147,9 mg; 0,57 mmol) foi adicionada à solução metanólica de Cu(NO₃)₂.3H₂O (67,7 mg; 0,28 mmol) e mantida sob agitação à temperatura ambiente durante 4 h. A solução foi concentrada e adicionou-se éter dietílico, observando a formação de um precipitado escuro, que foi filtrado, lavado com éter dietílico e seco em bomba de vácuo, obtendo-se um sólido marrom com rendimento de 65% (95,1 mg). Análise elementar [% calculada (% encontrada)]: C 43,8 (43,6); N 13,4 (12,8); H 5,9 (4,9). $\Lambda_M(\text{DMSO}) = 36,74 \text{ ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3402 $\nu(\text{N-H})$; 1606 $\nu(\text{C=C})$; 1518 $\nu(\text{C=N})$, 1384 $\nu(\text{NO}_3)$. UV-Vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 385 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$); 511 nm ($d \rightarrow d$).

3.4 ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM HEMINA

3.4.1 Interação com a hemina

A análise da interação com a hemina foi realizada por meio de titulação espectroscópica no UV-Vis. Inicialmente preparou-se uma solução estoque de hemina através da solubilização de 3,5 mg de hemina em 10 mL de DMSO. A partir da solução estoque preparou-se a solução de hemina 40%v/v DMSO pH 7,5 e colocou-se 2 mL da mesma na cubeta de quartzo. Na cubeta de referência adicionou-se uma solução tampão 40 %v/v DMSO. Adicionou-se alíquotas de uma solução do complexo metálico 40 %v/v DMSO pH 7,5 às cubetas e mediu-se a absorvância em 404 nm. Para obter a constante de associação condicional (K) utilizou-se a equação $A = (A_o + A_\infty K[C]) / (1 + K[C])$ para um modelo de complexação 1:1, onde A_o é a absorvância de hematina antes da adição de composto, A_∞ é a absorvância do fármaco-hematina na saturação, A é a absorvância em cada ponto da titulação e K é a constante de associação condicional, através do programa SigmaPlot (MACEDO, et al., 2017).

3.5 TÉCNICAS PARA O ESTUDO DA INTERAÇÃO COM O DNA

3.5.1 Preparação da solução de ct-DNA

O ct-DNA (Calf Thymus) foi preparado em tampão Trizma (0,5 mM tris base, 4,5 mM de tris HCl e 50 mM NaCl, pH 7,4). A concentração da solução foi calculada mediante o UV-Vis, utilizando o máximo de absorvância do DNA em 260 nm, que possui uma absorvidade molar de $6600 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$.

3.5.2 Viscosidade

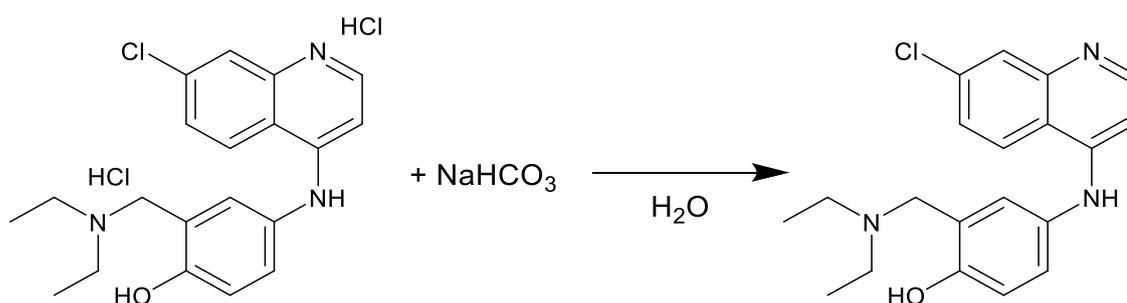
A determinação da viscosidade foi realizada em um banho mantendo a temperatura de 25 °C utilizando-se um viscosímetro de Ostwald, medindo o tempo de fluxo com um cronômetro, empregando soluções dos complexos metálicos com diferentes relações complexo/DNA. Com os dados obtidos plotou-se um gráfico de $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ pela razão [complexo]/[DNA], onde η é a viscosidade do DNA na presença do complexo e η_0 é a viscosidade do DNA na ausência do complexo metálico e estes valores foram calculados a partir

do tempo de fluxo medidos e foram corrigidos diminuindo-se do tempo de fluxo do solvente (NAVARRO, *et al.*, 2013).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a síntese de alguns complexos metálicos realizou-se a extração da amodiaquina dicloridrato para obtenção da amodiaquina base livre, utilizando o bicarbonato de sódio para neutralizar o ácido clorídrico, conforme metodologia representada na **Figura 12**.

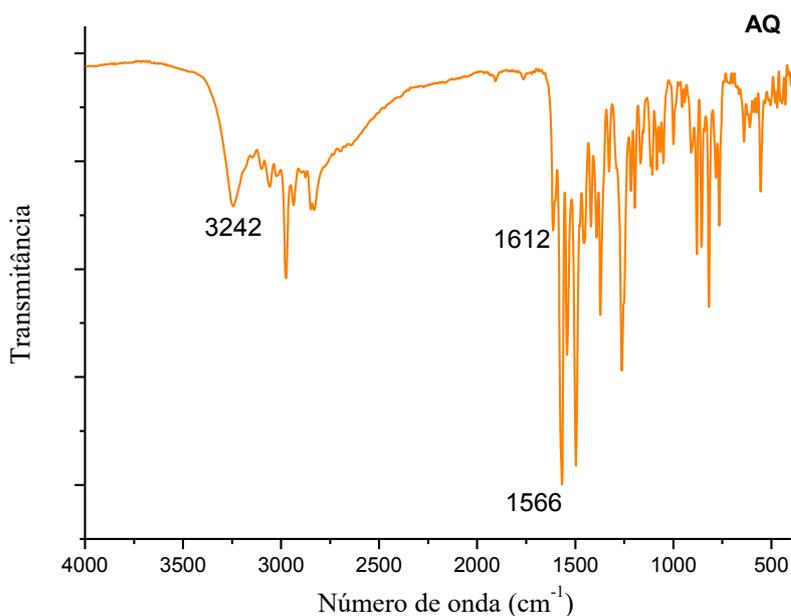
Figura 12 - Extração da amodiaquina base livre



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

O espectro de absorção na região do infravermelho da amodiaquina base livre apresenta as bandas características do estiramento $\nu(\text{N-H})$ em 3242 cm^{-1} , do estiramento $\nu(\text{C=C})$ em 1612 cm^{-1} e do estiramento $\nu(\text{C=N})$ em 1566 cm^{-1} , como está mostrado na **Figura 13**.

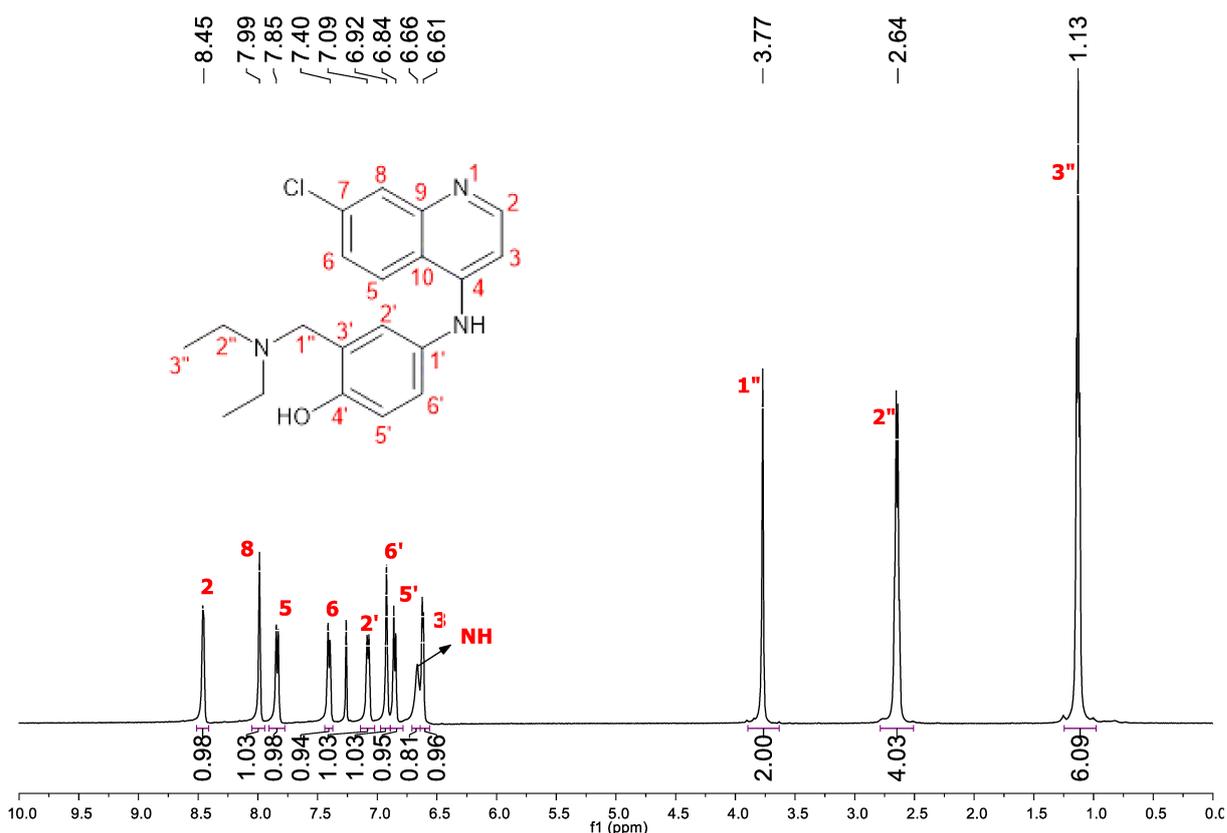
Figura 13 - Espectro de IV da amodiaquina



Fonte: Elaborado pela própria autora (2019).

No espectro de RMN de ^1H (**Figura 14**) da amodiaquina base livre, feito em clorofórmio deuterado foi possível observar todos dos sinais desta molécula. Os sinais foram atribuídos da seguinte maneira: na região alifática o primeiro sinal observado é um triplo em 1,13 ppm que corresponde ao $\text{H}3''$, seguido de um quarteto em 2,65 ppm correspondente ao $\text{H}2''$ e um simpleto em 3,77 ppm correspondente ao $\text{H}1''$. Na região aromática observa-se um duplete em 6,61 ppm que corresponde ao $\text{H}3$, seguido de um simpleto largo em 6,66 ppm correspondente ao NH . Em 6,85 ppm observa-se um duplete correspondente ao $\text{H}5'$ seguido de um simpleto em 6,92 ppm referente ao $\text{H}6'$. Seguidamente, temos um duplete em 7,08 ppm correspondente ao $\text{H}2'$. Em 7,40 ppm temos um duplete referente ao $\text{H}6$ seguido de outro duplete do $\text{H}5$ em 7,84 ppm. O simpleto em 7,99 ppm corresponde ao $\text{H}8$ e o duplete em 8,45 ppm corresponde ao $\text{H}2$.

Figura 14 - Espectro RMN de ^1H da amodiaquina livre (CDCl_3 – 500MHz)



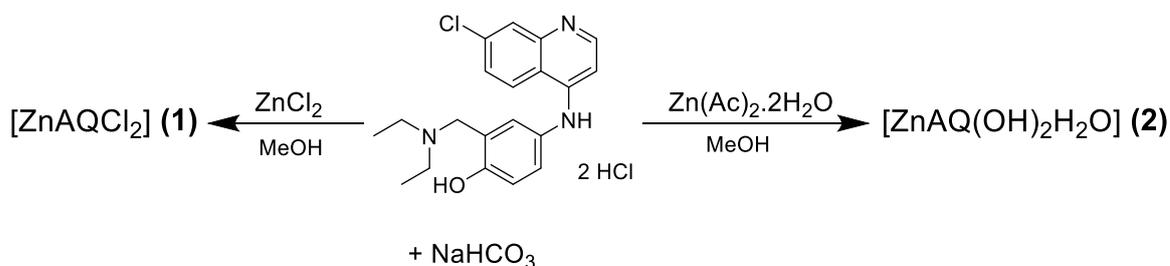
Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

4.1 COMPLEXOS METÁLICOS COM AMODIAQUINA

4.1.1 Complexos metálicos de Zn(II) com amodiaquina dicloridrato

Foram sintetizados dois complexos de zinco-amodiaquina utilizando dois equivalentes de amodiaquina dicloridrato com quatro equivalentes de NaHCO_3 para desprotonar a AQ e um equivalente do sal metálico em metanol. O esquema 1 representa as sínteses realizadas, onde os complexos $[\text{ZnAQCl}_2]$ (**1**) e $[\text{ZnAQ}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{O}]$ (**2**) foram sintetizados utilizando a amodiaquina dicloridrato e bicarbonato de sódio com os sais de cloreto de zinco(II) e acetato de zinco(II), respectivamente.

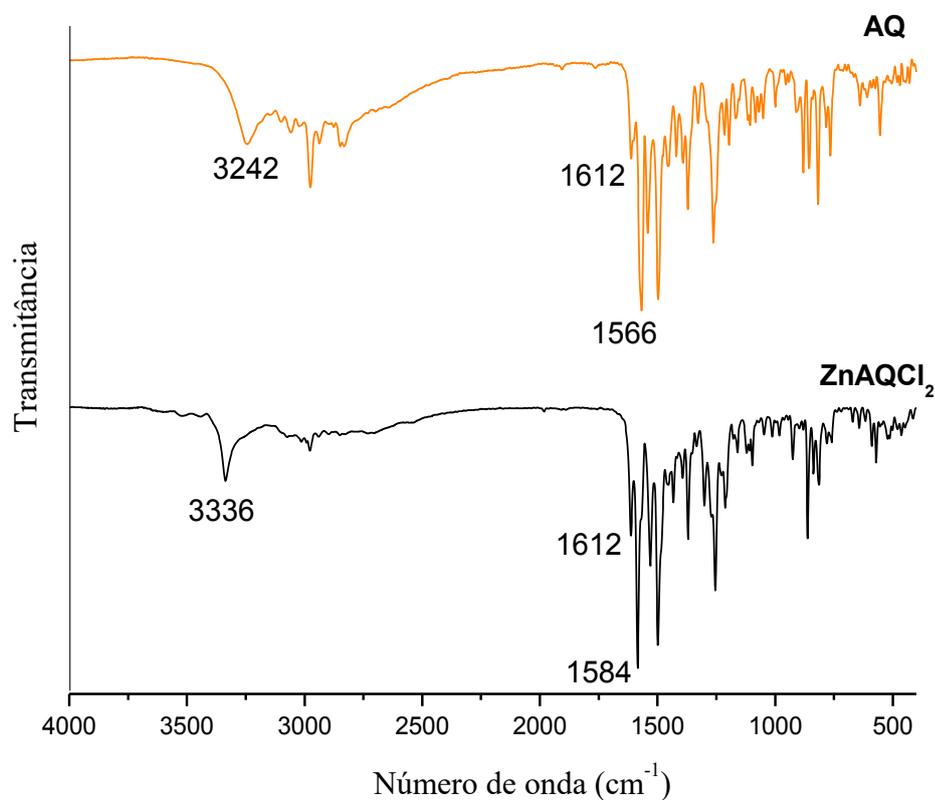
Esquema 1 - Esquema de síntese dos complexos metálicos **1** e **2** com amodiaquina.



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Para o complexo **1** realizou-se a medida do IV em pastilhas de KBr na região entre 4000-400 cm^{-1} e as atribuições foram baseadas na comparação com o ligante. Na **Figura 15** tem-se o espectro do complexo **1** comparado com a amodiaquina, onde é possível observar que a banda do estiramento das ligações N-H/O-H em 3336 cm^{-1} e o estiramento da ligação C=N em 1584 cm^{-1} possuem, respectivamente, um deslocamento de 94 cm^{-1} e 18 cm^{-1} , indicando que há a presença da amodiaquina no complexo metálico e que ocorreu a coordenação ao metal. O grande deslocamento da banda relacionada ao grupo OH pode ser atribuído à coordenação do zinco ao oxigênio da amodiaquina, considerando que o Zn(II) possui um caráter oxifílico.

Figura 15 - Espectro de IV do complexo **1** comparado com o espectro da AQ



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Na **Tabela 1** estão representadas as atribuições das bandas apresentadas pelo complexo metálico e da amodiaquina.

Tabela 1 - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo **1** e pela amodiaquina.

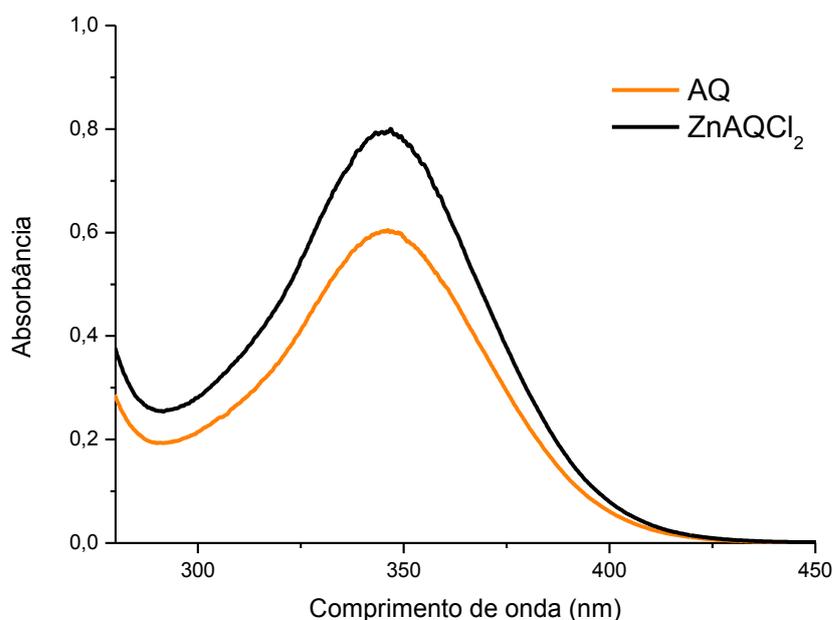
| Atribuição | AQ | ZnAQCl ₂ |
|--------------------------------|------|---------------------|
| $\nu(\text{N-H})/(\text{O-H})$ | 3242 | 3336 |
| $\nu(\text{C=C})$ | 1612 | 1612 |
| $\nu(\text{C=N})$ | 1566 | 1584 |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

O espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo **1**, como pode-se observar na **Figura 16**, apresenta uma banda com máximo de absorvância em 346 nm correspondente às

transições $\pi \rightarrow \pi^*$ presentes nos anéis aromáticos da amodiaquina, demonstrando que há a presença da mesma nesse composto.

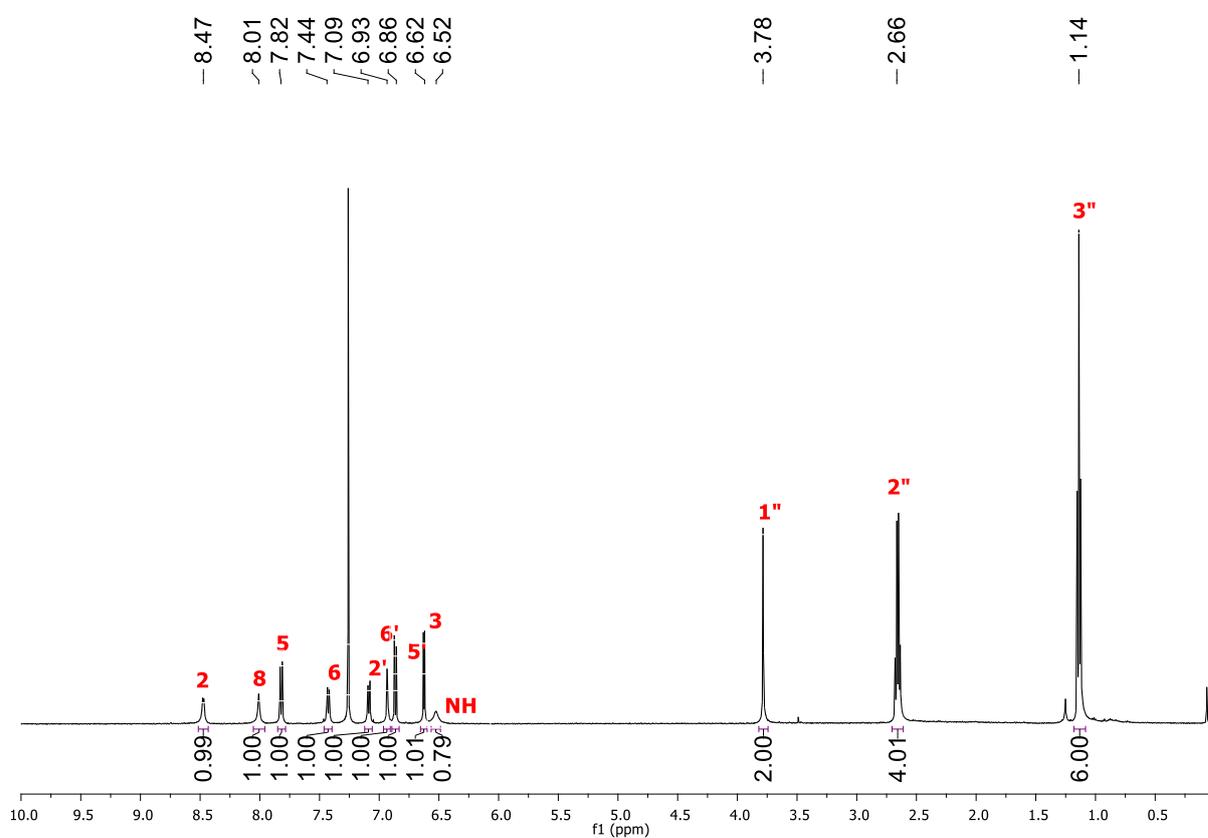
Figura 16 - Espectro de absorção UV-Vis do complexo **1** comparado com a amodiaquina (DMSO)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

O espectro de RMN de ^1H do complexo **ZnAQCl₂ (1)** (**Figura 17**) apresenta os sinais referentes aos hidrogênios da amodiaquina, que foram atribuídos na seção 4.1. Comparando-se os deslocamentos químicos do espectro do complexo metálico com a amodiaquina (**Tabela 2**) observa-se que a maior parte dos prótons mostraram uma variação de deslocamento $< 0,05$ ppm e o sinal de NH que apresentou um deslocamento de $0,10$ ppm. Infelizmente não pode ser observado o sinal relacionado ao grupo OH, possivelmente devido à troca do hidrogênio pelo deutério do solvente utilizado neste experimento.

Figura 17 - Espectro de RMN de ^1H do complexo ZnAQCl_2 (CDCl_3 -500 MHz)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Tabela 2 - Atribuições e valores de deslocamento químico do complexo metálico **1** comparado com a amodiaquina.

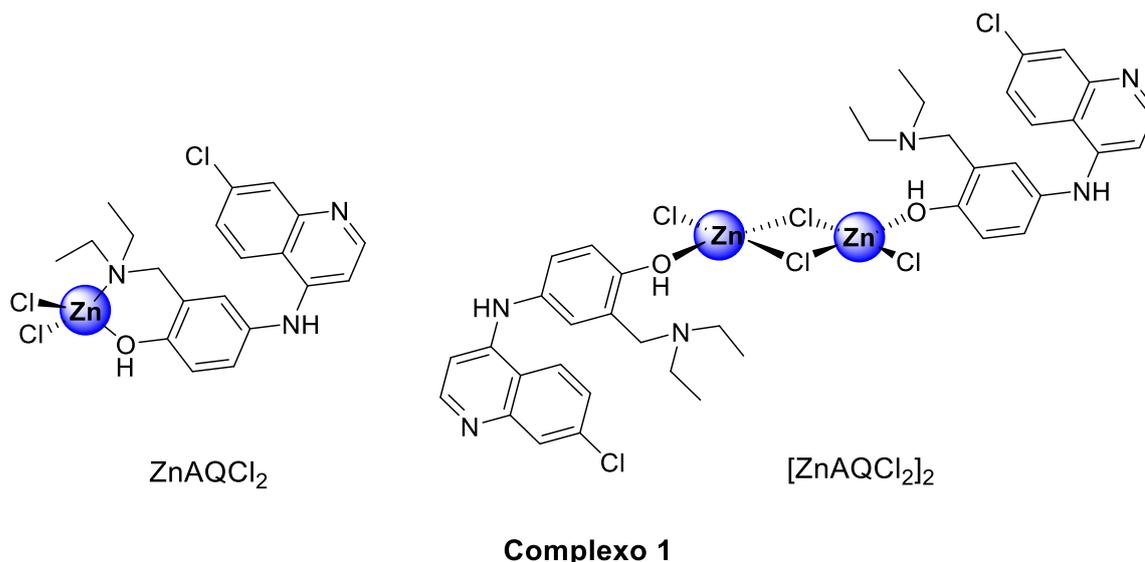
| Atribuição | δ ppm AQ | δ ppm ZnAQCl ₂ ($\Delta\delta$) |
|-------------|-----------------|---|
| <i>H2</i> | 8,46 | 8,47 (0,01) |
| <i>H8</i> | 7,99 | 8,01 (0,02) |
| <i>H5</i> | 7,84 | 7,82 (0,02) |
| <i>H6</i> | 7,4 | 7,43 (0,03) |
| <i>H2'</i> | 7,08 | 7,09 (0,01) |
| <i>H6'</i> | 6,92 | 6,93 (0,01) |
| <i>H5'</i> | 6,85 | 6,86 (0,01) |
| <i>H3</i> | 6,66 | 6,62 (0,04) |
| <i>NH</i> | 6,62 | 6,52 (0,10) |
| <i>H1''</i> | 3,77 | 3,78 (0,01) |
| <i>H2''</i> | 2,65 | 2,66 (0,01) |
| <i>H3''</i> | 1,13 | 1,14 (0,01) |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Para o complexo **1** foi possível constatar a presença da proporção de uma molécula do ligante, duas moléculas de cloreto e um átomo de zinco através da análise elementar, com uma diferença inferior a 0,7 % entre os valores calculados e encontrados. Foi também realizada a medida de condutividade do mesmo a partir de uma solução de 10^{-3} M em DMSO e o valor obtido ($\Lambda = 4,48 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$) está abaixo do intervalo para eletrólitos 1:1 reportados em GEARY, 1971, sendo possível propor uma molécula neutra. Com os dados obtidos nas análises até o momento propõe-se duas estruturas moleculares para este complexo metálico. Na primeira

estrutura temos a amodiaquina coordenada de forma bidentada ao átomo de zinco e na segunda um dímero onde o zinco está coordenado à uma molécula de amodiaquina, um cloreto e dois cloretos em ponte.

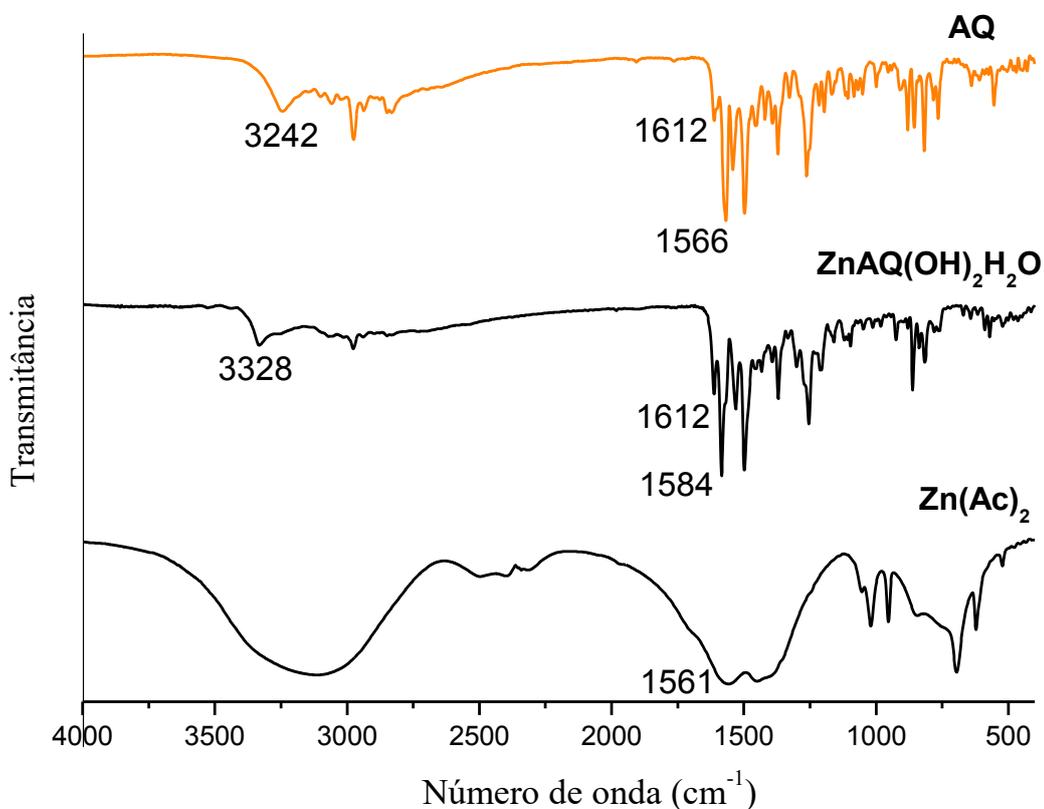
Figura 18 - Estruturas propostas para o complexo metálico **1** com amodiaquina



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

No caso do complexo **2** que foi obtido a partir da síntese utilizando o acetato de zinco(II) com a amodiaquina dicloridrato e bicarbonato de sódio encontra-se na **Figura 19** o espectro de infravermelho na região entre $4000-400\text{ cm}^{-1}$ e as atribuições foram baseadas na comparação com o ligante. É possível observar a presença das mesmas bandas da amodiaquina, sendo que a banda referente ao estiramento O-H possui deslocamento de 86 cm^{-1} , que pode ser relacionada à coordenação por este grupo, como pode ser observado no complexo metálico anterior. Observa-se também que o estiramento C=N teve um deslocamento de 18 cm^{-1} e além disso nota-se a ausência de banda referente ao estiramento C=O do grupo acetato do acetato de zinco sugerindo a hidrólise deste grupo, conforme reportado (KREŽEL; MARET, 2016).

Figura 19 - Espectro de IV do complexo **2** comparado com os espectros da AQ e do acetato de zinco(II)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Na **Tabela 3** estão representadas as atribuições das bandas apresentadas pelo complexo metálico **2** e da amodiaquina.

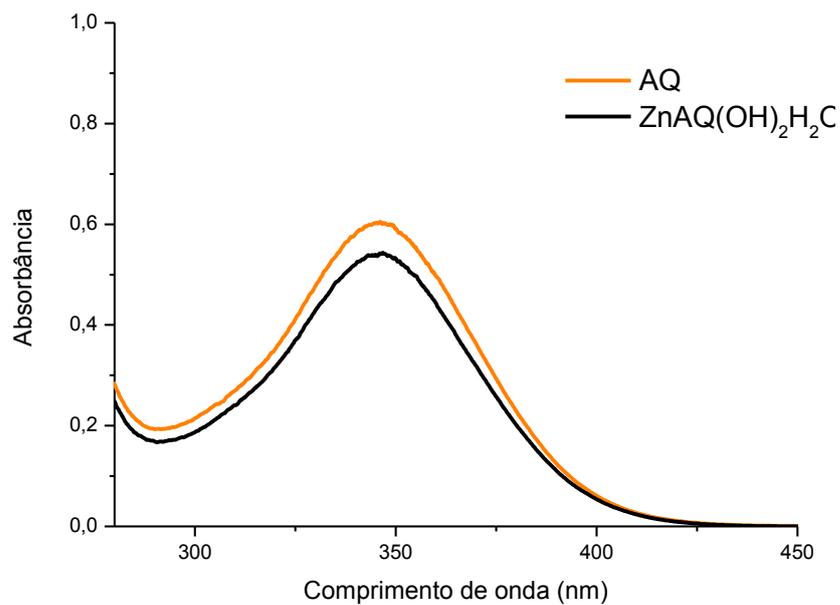
Tabela 3 - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo **2**, pela amodiaquina e pelo acetato de zinco(II).

| Atribuição | AQ | ZnAQ(OH) ₂ H ₂ O | Zn(Ac) ₂ |
|--------------------------------|------|--|---------------------|
| $\nu(\text{N-H})/(\text{O-H})$ | 3242 | 3328 | - |
| $\nu(\text{C=C})$ | 1612 | 1612 | - |
| $\nu(\text{C=N})$ | 1566 | 1584 | - |
| $\nu(\text{C=O})$ | - | Não observado | 1561 |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Na **Figura 20** tem-se o espectro eletrônico do complexo **2**, onde observa-se uma banda com máximo de absorbância em 346 nm correspondente às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ presentes nos anéis aromáticos da amodiaquina, demonstrando que há a presença da mesma nesse composto.

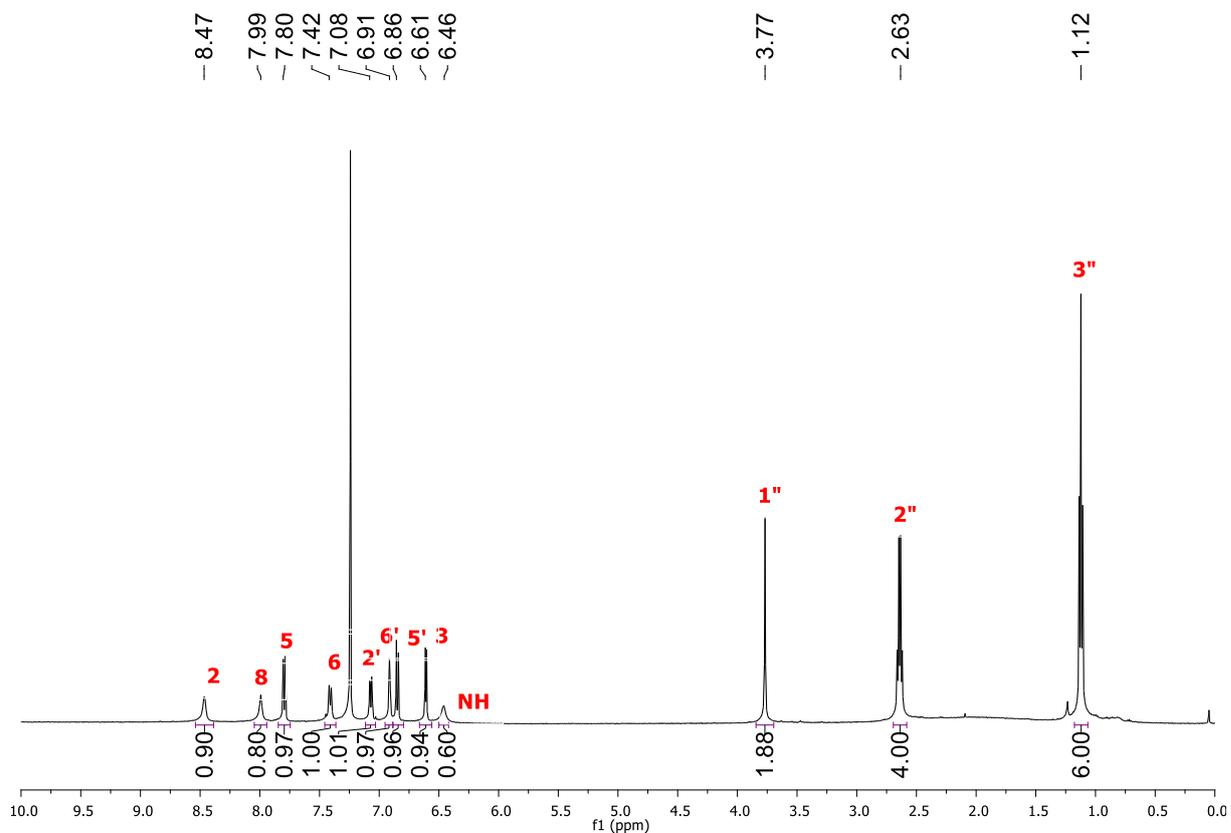
Figura 20 - Espectro de absorção UV-Vis do complexo **2** comparado com a amodiaquina (DMSO)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Na **Figura 21** tem-se o espectro de RMN de ¹H do complexo **2**, onde estão presentes os sinais referentes à amodiaquina.

Figura 21 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $\text{ZnAQ}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{O}$ (CDCl_3 -500 MHz)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

Comparando-se os deslocamentos químicos do espectro do complexo metálico com a amodiaquina (**Tabela 4**) observa-se que a maior parte dos prótons tiveram variações com deslocamentos $< 0,05$ ppm e o sinal referente ao sinal do NH teve um deslocamento de 0,16 ppm, devido à ressonância da molécula após a interação do zinco ao grupo hidroxila da amodiaquina. Além disso, destaca-se que não há a presença do sinal referente ao grupo metila do acetato, corroborando assim com as demais análises.

Tabela 4 - Atribuições e valores de deslocamento químico do complexo metálico **2** comparado com a amodiaquina.

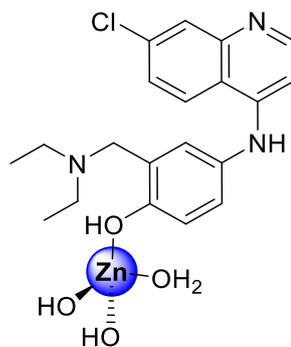
| Atribuição | δ ppm AQ | δ ppm ZnAQ(OH) ₂ H ₂ O ($\Delta\delta$) |
|-------------|-----------------|--|
| <i>H2</i> | 8,46 | 8,47 (0,01) |
| <i>H8</i> | 7,99 | 7,99 (0) |
| <i>H5</i> | 7,84 | 7,8 (0,04) |
| <i>H6</i> | 7,4 | 7,41 (0,01) |
| <i>H2'</i> | 7,08 | 7,07 (0,01) |
| <i>H6'</i> | 6,92 | 6,91 (0,01) |
| <i>H5'</i> | 6,85 | 6,85 (0) |
| <i>H3</i> | 6,66 | 6,61 (0,05) |
| <i>NH</i> | 6,62 | 6,46 (0,16) |
| <i>H1''</i> | 3,77 | 3,77 (0) |
| <i>H2''</i> | 2,65 | 2,64 (0,01) |
| <i>H3''</i> | 1,13 | 1,12 (0,01) |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Através da análise de IV realizada para o complexo **2** nota-se a presença da amodiaquina no mesmo e a ausência do acetato proveniente do sal metálico utilizado, que é justificado pela ocorrência da hidrólise do mesmo. Propõe-se assim que o complexo metálico apresenta a ligação de duas hidroxilas coordenadas ao zinco, e esta estrutura foi verificada através da análise elementar onde há uma molécula de amodiaquina, duas moléculas de hidroxila, uma molécula de água e um átomo de zinco. O valor de condutividade para o mesmo foi de 4,07 $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$, que está compreendido na faixa de compostos não eletrólitos (GEARY,1971),

e assim propõe-se uma estrutura contendo uma molécula de AQ, dois ligantes oxidrila e uma molécula de água, representada na **Figura 22**.

Figura 22 - Estrutura proposta para o complexo metálico **2** com amodiaquina



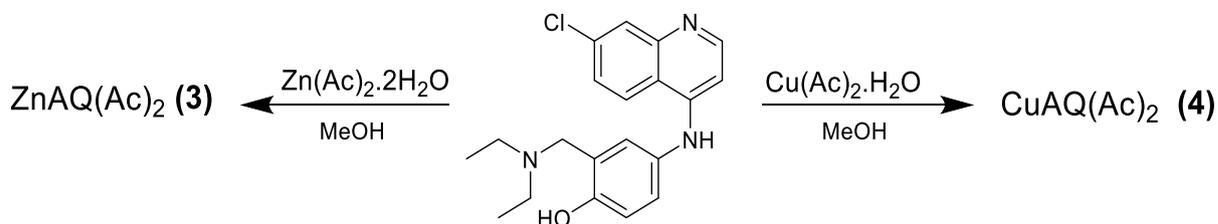
Complexo 2
ZnAQ(OH)₂H₂O

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

4.1.2 Complexos metálicos de Zn(II) com amodiaquina base livre

Outra estratégia para a síntese dos complexos metálicos foi utilizando-se a amodiaquina base livre extraída previamente, onde os complexos **3** e **4** foram sintetizados utilizando dois equivalentes de amodiaquina base livre e um equivalente do sal metálico em metanol. O **esquema 2** representa as sínteses realizadas, onde os complexos **ZnAQ(Ac)₂** e **CuAQ(Ac)₂** foram sintetizados utilizando a amodiaquina com os sais de acetato de zinco(II) e acetato de cobre(II), respectivamente.

Esquema 2 - Esquema de síntese dos complexos metálicos **3-4** com amodiaquina.

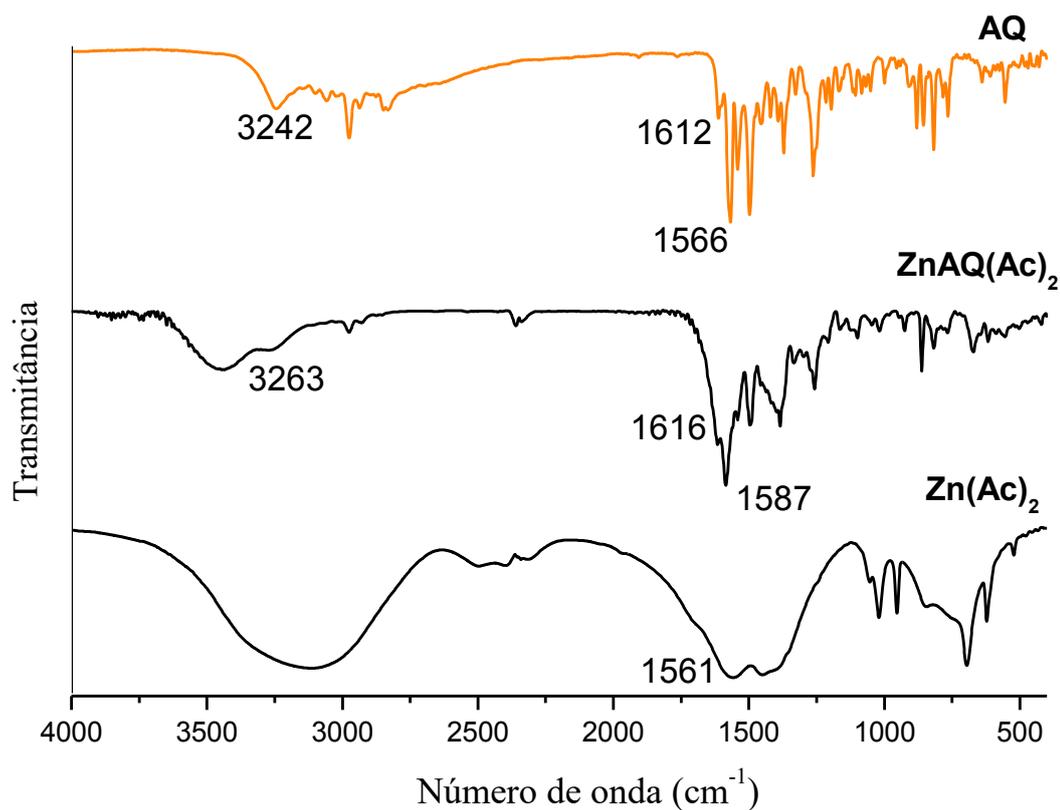


Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Na **Figura 23** pode-se observar o espectro de IV do complexo **3** comparado com a amodiaquina, onde é possível observar que as bandas referentes ao estiramento N-H e ao

estiramento C=N deslocaram-se 21 cm^{-1} . Além disso, a banda referente ao estiramento C=O do grupo acetato está localizada sobreposta a banda referente ao estiramento C=C, onde observa-se um deslocamento de 4 cm^{-1} .

Figura 23 - Espectro de IV do complexo **3** comparado com os espectros da AQ e do acetato de zinco(II)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Na **Tabela 5** estão representadas as atribuições das bandas apresentada pelo complexo metálico e pela amodiaquina.

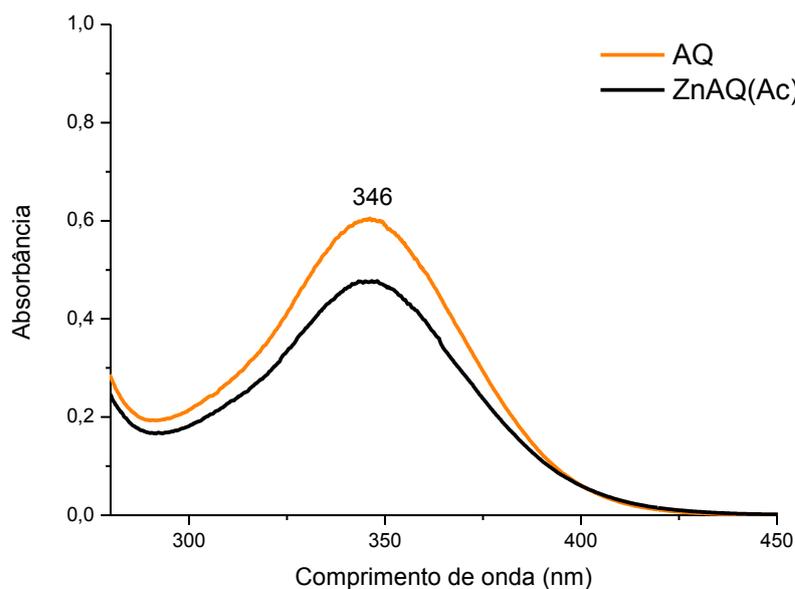
Tabela 5 - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo **3**, pela amodiaquina e pelo acetato de zinco(II).

| Atribuição | AQ | ZnAQ(Ac) ₂ | Zn(Ac) ₂ |
|--------------------------------|------|-----------------------|---------------------|
| $\nu(\text{N-H})/(\text{O-H})$ | 3242 | 3263 | - |
| $\nu(\text{C=C})$ | 1612 | 1616 | - |
| $\nu(\text{C=N})$ | 1566 | 1587 | - |
| $\nu(\text{C=O})$ | - | 1616 | 1561 |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

O espectro eletrônico do complexo de Zn(II), como pode-se observar na **Figura 24**, apresenta uma banda com máximo de absorbância em 346 nm correspondente às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ presentes nos anéis aromáticos da amodiaquina, demonstrando que há a presença da mesma nesse composto.

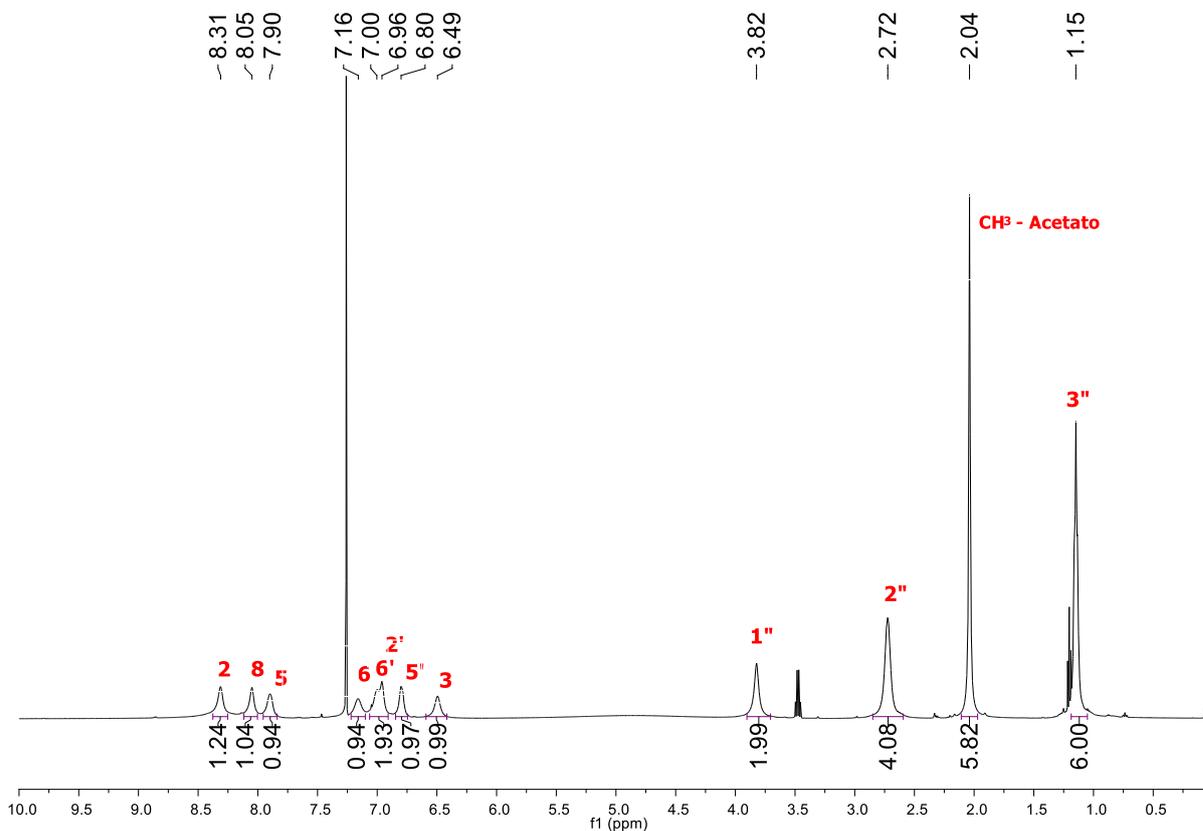
Figura 24 - Espectro de absorção UV-Vis do complexo **3** comparado com a amodiaquina (DMSO)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

Na **Figura 25** tem-se o espectro de RMN de ^1H do complexo $\text{ZnAQ}(\text{Ac})_2$ que apresenta os sinais referentes a amodiaquina.

Figura 25 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $\text{ZnAQ}(\text{Ac})_2$ (CDCl_3 -500 MHz)



Fonte: Elaborado pela própria autora (2020).

Comparando-se os deslocamentos químicos do espectro do complexo metálico com a amodiaquina, como está apresentado na **Tabela 6** observa-se que os hidrogênios tiveram deslocamentos consideráveis e em destaque temos o sinal referente ao grupo metila do acetato em 2,10 ppm, confirmando a presença do mesmo no complexo metálico e de acordo com as integrais há a presença de duas moléculas de acetato para uma molécula de amodiaquina.

Tabela 6 - Atribuições e valores de deslocamento químico do complexo **3** comparado com a amodiaquina.

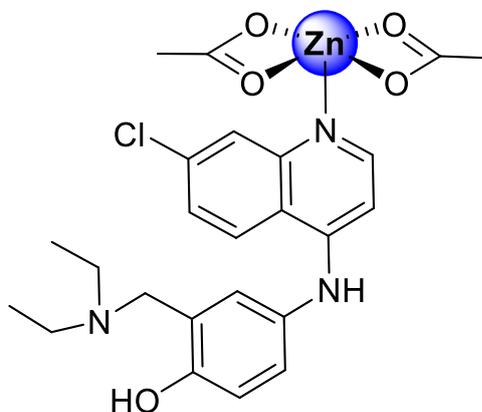
| Atribuição | δ ppm AQ | δ ppm ZnAQ(Ac) ₂ ($\Delta\delta$) |
|-------------|-----------------|---|
| <i>H2</i> | 8,46 | 8,31 (0,09) |
| <i>H8</i> | 7,99 | 8,05 (0,06) |
| <i>H5</i> | 7,84 | 7,90 (0,06) |
| <i>H6</i> | 7,4 | 7,16 (0,24) |
| <i>H2'</i> | 7,08 | 6,98 (0,10) |
| <i>H6'</i> | 6,92 | 6,98 (0,06) |
| <i>H5'</i> | 6,85 | 6,80 (0,05) |
| <i>H3</i> | 6,66 | 6,49 (0,17) |
| <i>NH</i> | 6,62 | - |
| <i>H1''</i> | 3,77 | 3,82 (0,05) |
| <i>H2''</i> | 2,65 | 2,72 (0,07) |
| <i>H3''</i> | 1,13 | 1,15 (0,02) |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Como o complexo **3** foi sintetizado com a amodiaquina extraída previamente, não teve um excesso de bicarbonato de sódio presente na solução e desta forma não ocorreu a hidrólise do acetato. A presença do acetato foi confirmada através do espectro de RMN, já que no espectro de IV a banda referente ao acetato apresenta-se sobreposta à banda referente ao estiramento C=C. Além disso, através da análise elementar verificou-se a coordenação de duas moléculas de acetato ao zinco, assim como uma molécula de amodiaquina, que é corroborada

pelo valor de condutividade na faixa de compostos neutros (GEARY, 1971). A estrutura proposta para este complexo metálico apresenta-se na **Figura 26**.

Figura 26 - Estrutura proposta para o complexo metálicos **3** com amodiaquina

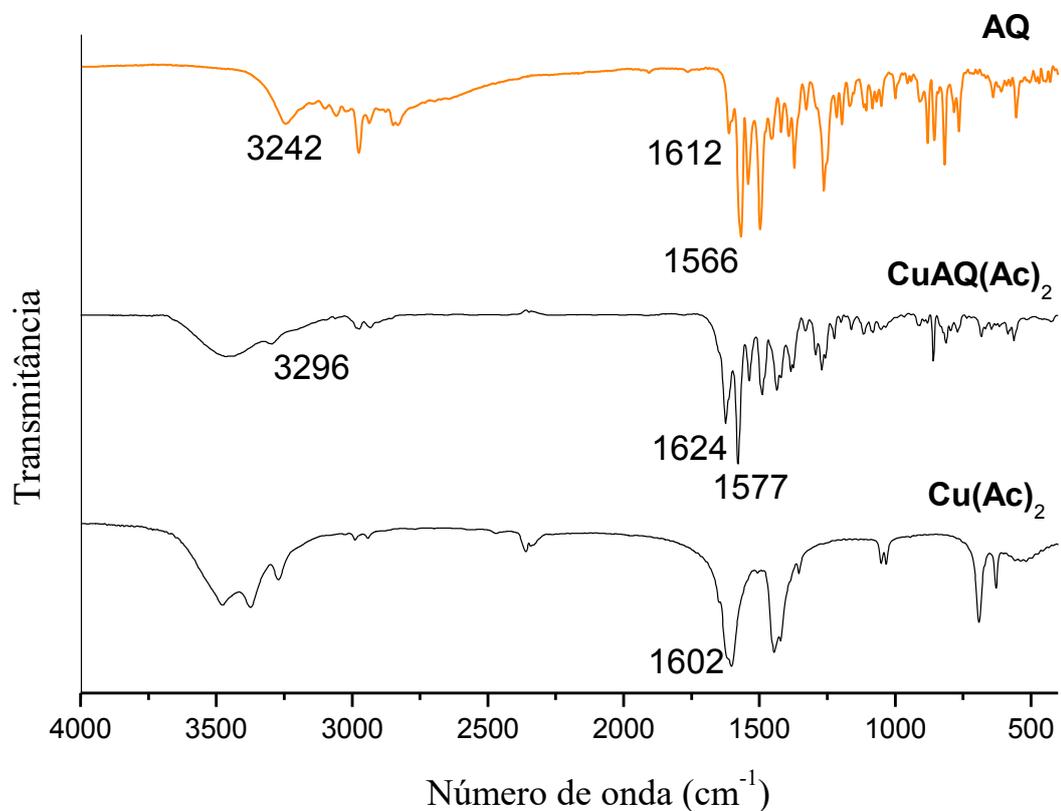


Complexo 3
ZnAQ(Ac)₂

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

O complexo **4** foi obtido a partir da síntese utilizando a amodiaquina base livre e o acetato de cobre em metanol, resultando em um sólido de cor marrom esverdeado com rendimento de 31%. Na caracterização do mesmo obteve-se o espectro de IV (**Figura 27**), onde é possível observar a presença das mesmas bandas da amodiaquina. A banda referente ao estiramento C=N teve um deslocamento de 11 cm⁻¹ e a banda referente ao estiramento do grupo N-H e O-H teve um deslocamento de 54 cm⁻¹. Além disso, a banda referente ao estiramento C=O do grupo acetato é observada sobreposta à banda do estiramento C=C em 1624 cm⁻¹ e nota-se que a mesma se apresenta deslocada em 12 cm⁻¹. As atribuições das bandas estão representadas na **Tabela 7**.

Figura 27 - Espectro de IV do complexo **4** comparado com os espectros da AQ e do acetato de cobre(II)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

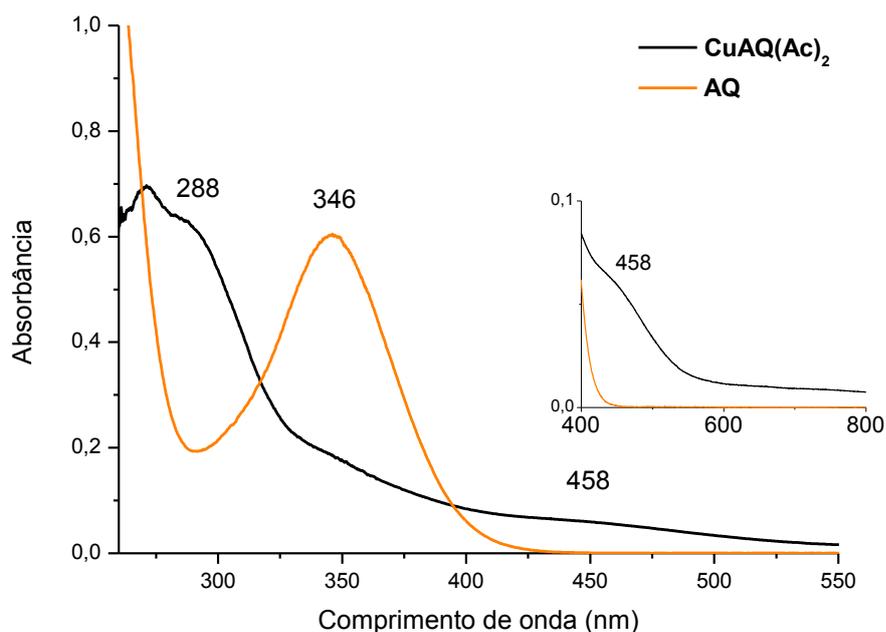
Tabela 7 - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo **4**, pela amodiaquina e pelo acetato de cobre(II).

| Atribuição | AQ | CuAQ(Ac) ₂ | Cu(Ac) ₂ |
|--------------------------------|------|-----------------------|---------------------|
| $\nu(\text{N-H})/(\text{O-H})$ | 3242 | 3296 | - |
| $\nu(\text{C=C})$ | 1612 | 1624 | - |
| $\nu(\text{C=N})$ | 1566 | 1577 | - |
| $\nu(\text{C=O})$ | - | 1624 | 1602 |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

No espectro UV-Vis do complexo de Cu(II)-AQ observa-se uma banda em 288 nm referente às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel quinolínico da amodiaquina e um ombro na região do visível em 458 nm referente às transições $d \rightarrow d$ do centro metálico, como pode-se observar na **Figura 28**.

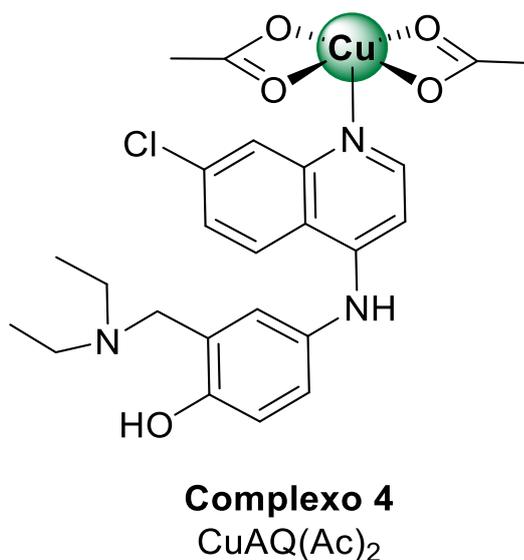
Figura 28 - Espectro de absorção UV-Vis do complexo de Cu(II)-AQ comparado com a amodiaquina (DMSO)



Fonte: Elaborado pela própria autora (2020).

O complexo **4**, assim como o anterior foi sintetizado com a amodiaquina extraída previamente e não ocorreu a hidrólise do acetato, pois a presença do mesmo é verificada através da análise elementar, onde confirma-se a presença de duas moléculas de acetato e uma de amodiaquina. A presença do mesmo também pode ser indicada pela sobreposição e deslocamento da banda referente ao acetato no IV com as bandas referentes ao estiramento C=C. Através da condutividade confirmou-se que o composto é neutro (GEARY, 1971) e assim a estrutura proposta para este complexo metálico apresenta-se na **Figura 29**.

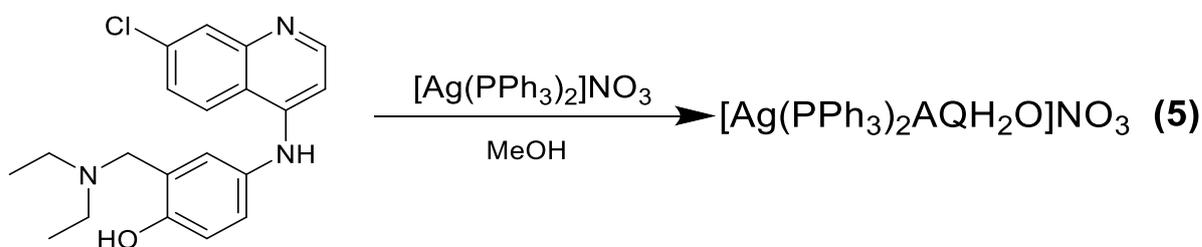
Figura 29 - Estrutura proposta para o complexo metálico **4** com amodiaquina



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

O complexo **5** foi sintetizado utilizando dois equivalentes de amodiaquina base livre e um equivalente do complexo metálico precursor de nitrato de bistrifenilfosfinaprata(I) sintetizado previamente no grupo. O **esquema 3** representa a síntese realizada.

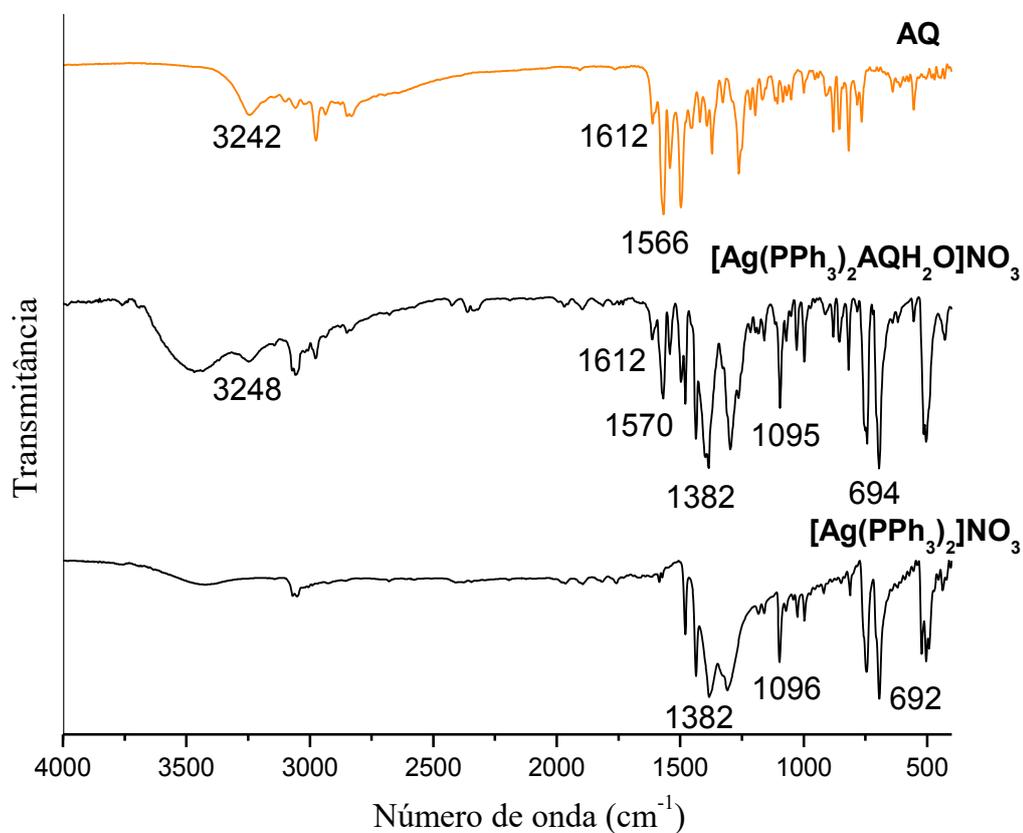
Esquema 3 - Esquema de síntese do complexo metálico **5** com amodiaquina.



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

No espectro de IV do complexo **5**, é possível observar a presença das mesmas bandas da amodiaquina tendo também deslocamentos de 6 cm⁻¹ e 4 cm⁻¹ nas bandas referentes ao estiramento N-H e ao estiramento C=N, respectivamente. Observa-se também a presença da banda referente ao estiramento assimétrico do grupo nitrato em 1382 cm⁻¹, a banda referente ao estiramento P-C em 1095 cm⁻¹ e a banda referente ao estiramento P-Ph₃ em 905 cm⁻¹, como pode-se observar na **Figura 30**. Assim há a indicação que ocorreu a complexação do ligante ao íon metálico.

Figura 30 - Espectro de IV do complexo **5** comparados com o espectro da AQ e do complexo precursor $[\text{Ag}(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Na **Tabela 8** estão representadas as atribuições das bandas apresentadas pelo complexo metálico, amodiaquina e o complexo metálico precursor.

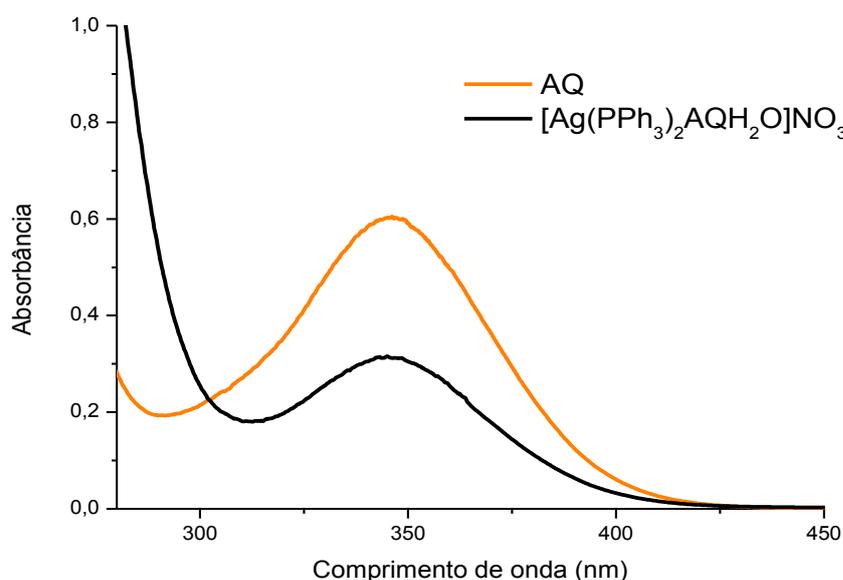
Tabela 8 - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo **5** com amodiaquina e o complexo precursor.

| Composto | AQ | [Ag(PPh ₃) ₂ AQH ₂ O]NO ₃ | [Ag(PPh ₃) ₂]NO ₃ |
|------------------------|------|--|--|
| v(N-H)/(O-H) | 3242 | 3248 | - |
| v(C=C) | 1612 | 1612 | - |
| v(C=N) | 1566 | 1570 | - |
| v(NO ₃) | - | 1382 | 1382 |
| v(P-C) | - | 1095 | 1096 |
| v(P-PPh ₃) | - | 694 | 692 |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

O espectro eletrônico do complexo de Ag(I), como pode-se observar na **Figura 31**, apresenta uma banda com máximo de absorvância em 346 nm correspondente às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ presentes nos anéis aromáticos da amodiaquina, demonstrando que há a presença da mesma nesse composto.

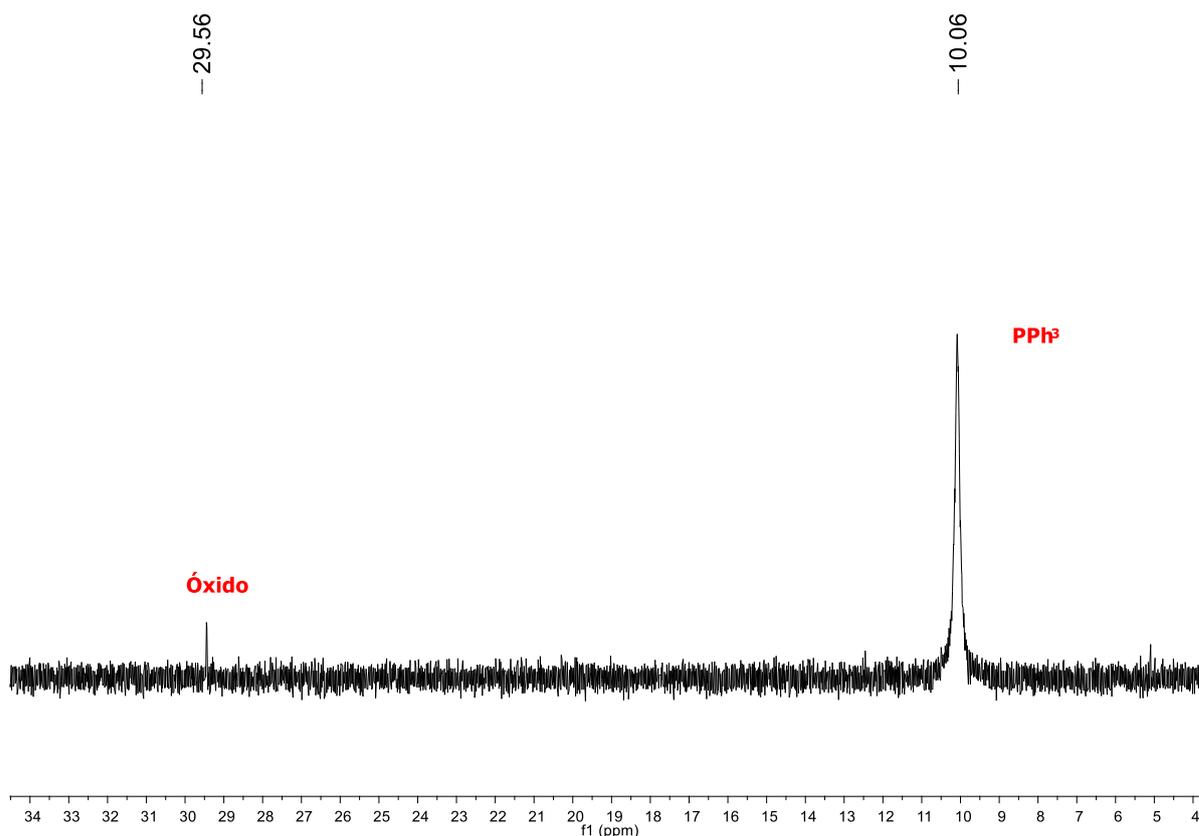
Figura 31 - Espectro de absorção UV-Vis do complexo de Ag(I) comparado com a amodiaquina (DMSO)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Através da análise do RMN de ^{31}P (**Figura 32**), observa-se a presença do sinal referente à trifenilfosfina situado em 10,05 ppm e em relação ao complexo precursor o mesmo apresenta-se deslocado em 0,5 ppm. Além deste sinal há também um sinal em 29 ppm que é característico do óxido de fosfina, um subproduto formado na síntese do complexo precursor.

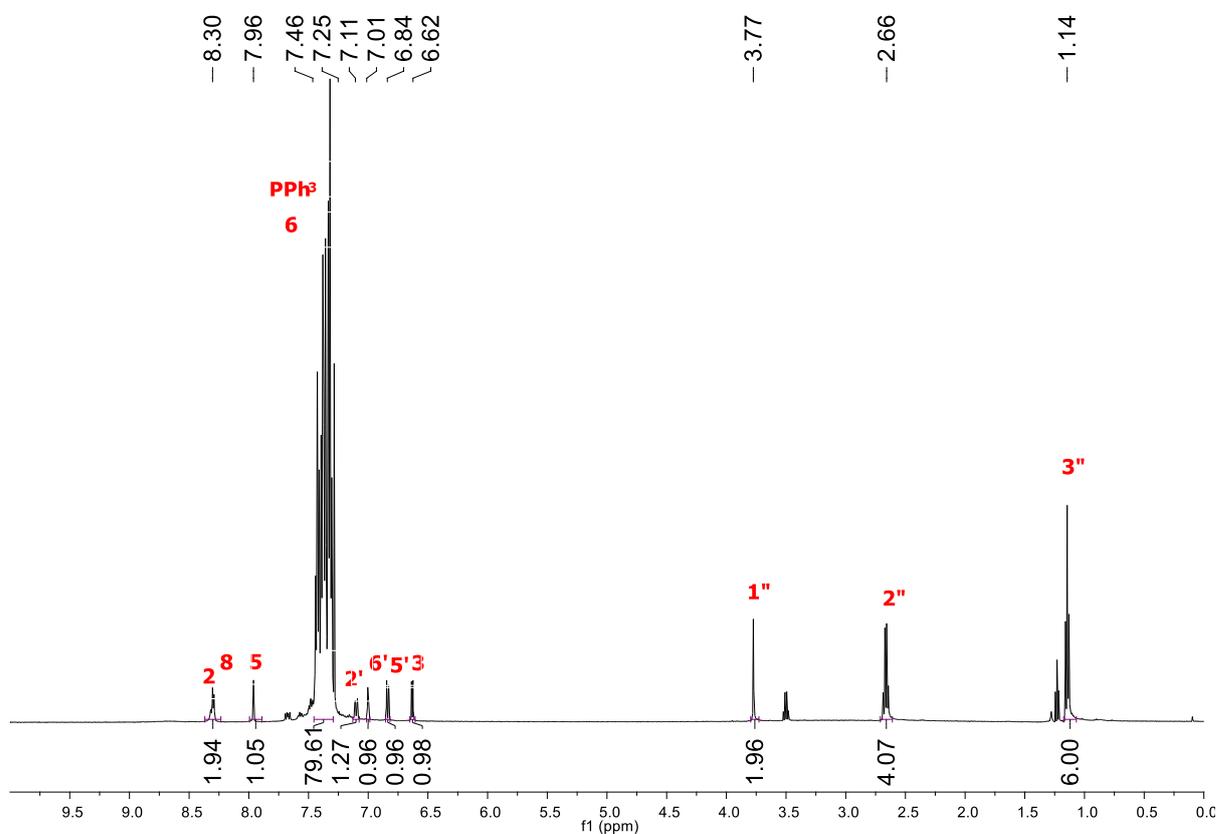
Figura 32 - Espectro de RMN de ^{31}P do complexo $[\text{Ag}(\text{PPh}_3)_2\text{AQH}_2\text{O}]\text{NO}_3$ (CDCl_3 -202 MHz)



Fonte: Elaborado pela própria autora (2020).

No espectro de RMN de ^1H do complexo **5** (**Figura 34**) observamos que há o deslocamento significativo dos sinais referentes aos hidrogênios localizados no anel quinolínico da molécula, evidenciando que a coordenação está ocorrendo pelo nitrogênio presente neste anel. Também observa-se a presença de um multipeto em 7,36 ppm que é referente principalmente à fosfina do complexo precursor, porém este sinal possui uma integral referente à 80 hidrogênios, onde contém os trinta hidrogênios referentes à duas moléculas de trifenilfosfina, um hidrogênio referente ao H6 da amodiaquina, hidrogênios referentes ao solvente deuterado utilizado e também a presença de óxido de trifenilfosfina confirmada no espectro de ^{31}P .

Figura 33 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ag}(\text{PPh}_3)_2\text{AQH}_2\text{O}]\text{NO}_3$ (CDCl_3 -500 MHz)



Fonte: Elaborado pela própria autora (2020).

Na **Tabela 9** estão apresentadas as atribuições e valores de deslocamento químico do complexo metálico com Ag(I) e da amodiaquina.

Tabela 9 - Atribuições e valores de deslocamento químico do complexo **5** comparado com a amodiaquina.

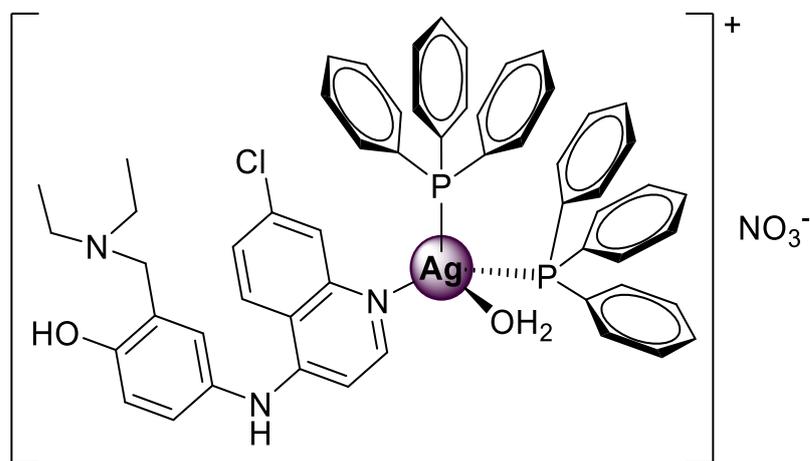
| Atribuição | δ ppm AQ | δ ppm [Ag (PPh ₃) ₂ AQH ₂ O]NO ₃ ($\Delta\delta$) |
|-------------|-----------------|---|
| <i>H2</i> | 8,46 | 8,30 (0,16) |
| <i>H8</i> | 7,99 | 8,29 (0,30) |
| <i>H5</i> | 7,84 | 7,96 (0,12) |
| <i>H6</i> | 7,4 | ~7,36 |
| <i>H2'</i> | 7,08 | 7,10 (0,02) |
| <i>H6'</i> | 6,92 | 7,00 (0,08) |
| <i>H5'</i> | 6,85 | 6,84 (0,01) |
| <i>H3</i> | 6,66 | 6,63 (0,03) |
| <i>NH</i> | 6,62 | - |
| <i>H1''</i> | 3,77 | 3,77 (0) |
| <i>H2''</i> | 2,65 | 2,66 (0,01) |
| <i>H3''</i> | 1,13 | 1,14 (0,01) |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Através das análises realizadas para o complexo metálico sintetizado com a [Ag(PPh₃)₂]NO₃ pode-se observar a presença da fosfina no mesmo assim como do grupo nitrato, confirmados pela análise elementar onde constatou-se a presença de uma molécula da biomolécula (AQ), duas moléculas de fosfina, uma molécula de nitrato, um átomo de prata e duas moléculas de água. O valor de condutividade obtido ($\Lambda = 41,98 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$) indica que o complexo metálico está na faixa de eletrólitos 1:1 (VELHO, 2006) e assim o nitrato estaria presente como contra íon. Com os deslocamentos observados no RMN sugere-se que a

coordenação neste complexo ocorreu pelo nitrogênio do anel quinolínico da molécula de AQ e assim a estrutura proposta para este complexo metálico apresenta-se na **Figura 34**.

Figura 34 - Estrutura proposta para o complexo metálico **5** com amodiaquina

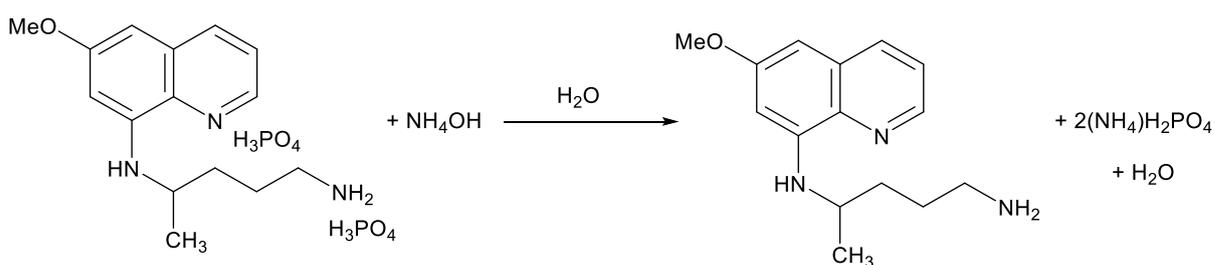


Complexo 5
[Ag(PPh₃)₂AQH₂O]NO₃

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Os demais complexos foram sintetizados utilizando a primaquina base livre, que foi extraída conforme metodologia adaptada representada na **Figura 35**.

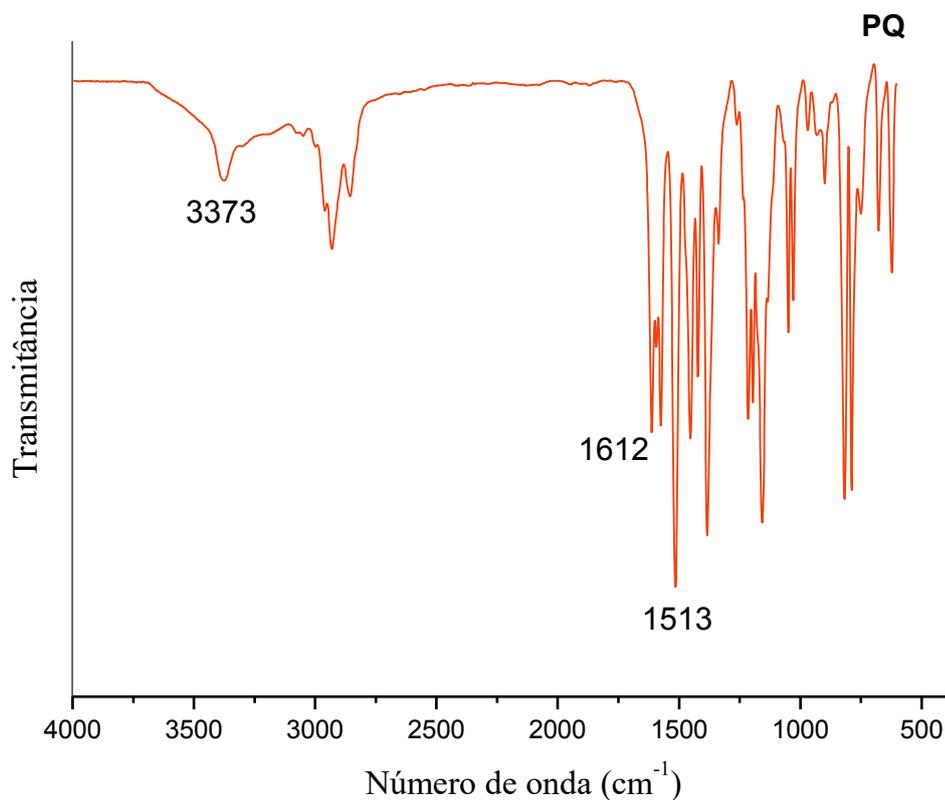
Figura 35 - Extração da primaquina



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

O espectro de absorção na região do infravermelho da primaquina livre foi realizado no módulo ATR e apresenta a banda característica do estiramento $\nu(\text{N-H})$ em 3373 cm^{-1} , do estiramento $\nu(\text{C=C})$ em 1612 cm^{-1} e do estiramento $\nu(\text{C=N})$ em 1513 cm^{-1} , como observado na **Figura 36**.

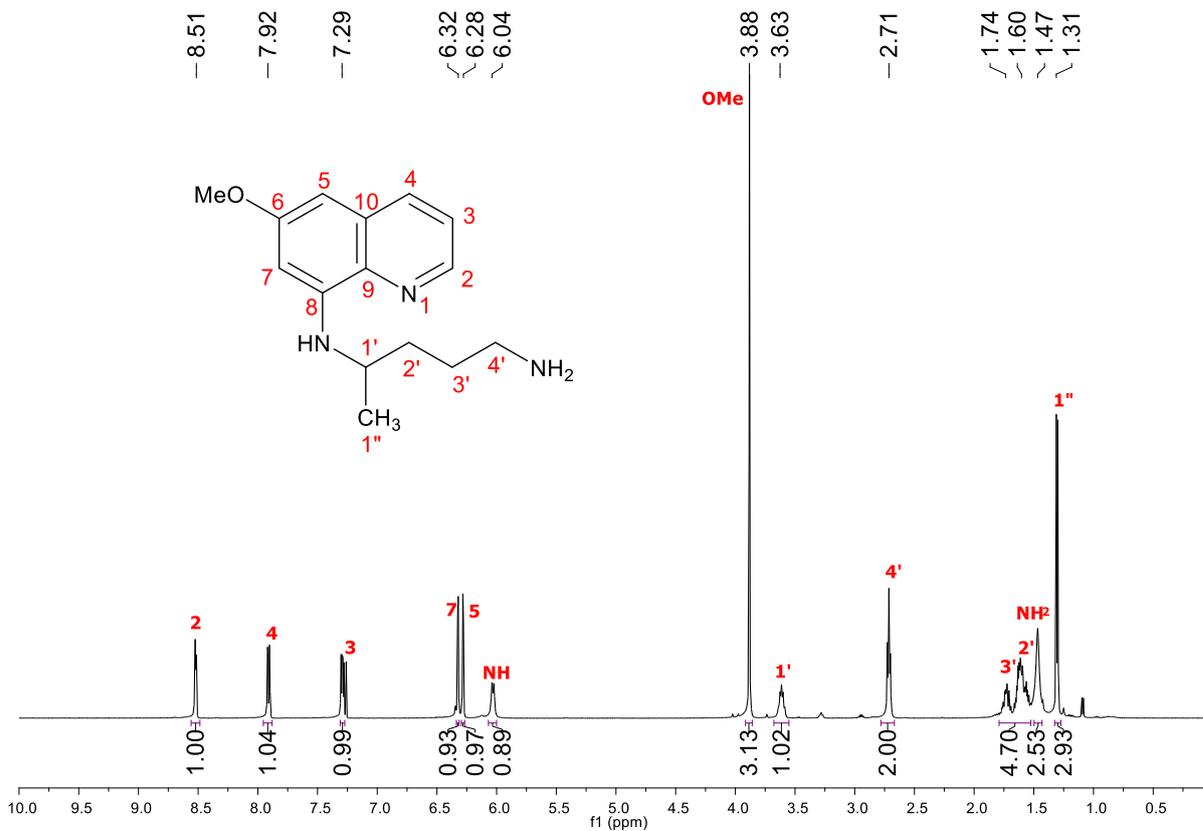
Figura 36 - Espectro de IV da primaquina



Fonte: Elaborado pela própria autora (2019).

No espectro de RMN de ^1H da primaquina base livre (**Figura 37**) foi possível observar todos dos sinais desta molécula. Todos os sinais foram atribuídos da seguinte maneira: na região alifática o primeiro sinal observado é um duplete em 1,31 ppm que corresponde ao $\text{H1}''$, seguido de um simpleto em 1,47 correspondente ao NH_2 e um multipeto entre 1,79 e 1,53 ppm correspondente ao $\text{H3}'$ e $\text{H2}'$. Em 2,71 ppm observa-se um triplete corresponde ao $\text{H4}'$, seguido de um multipeto entre 3,68 e 3,55 ppm correspondente ao $\text{H1}'$ e um simpleto em 3,88 ppm correspondente ao OMe. Na região aromática observa-se um simpleto em 6,03 ppm que corresponde ao NH, seguido de um duplete em 6,28 ppm correspondente ao H5 . Em 6,32 ppm observa-se um duplete correspondente ao H7 seguido de um duplo duplete em 7,29 ppm referente ao H3 . Seguidamente temos um duplo duplete em 7,91 ppm e outro em 8,52 ppm correspondentes respectivamente ao H4 e H2 .

Figura 37 - Espectro RMN de ^1H da primaquina livre (CDCl_3 – 500MHz)

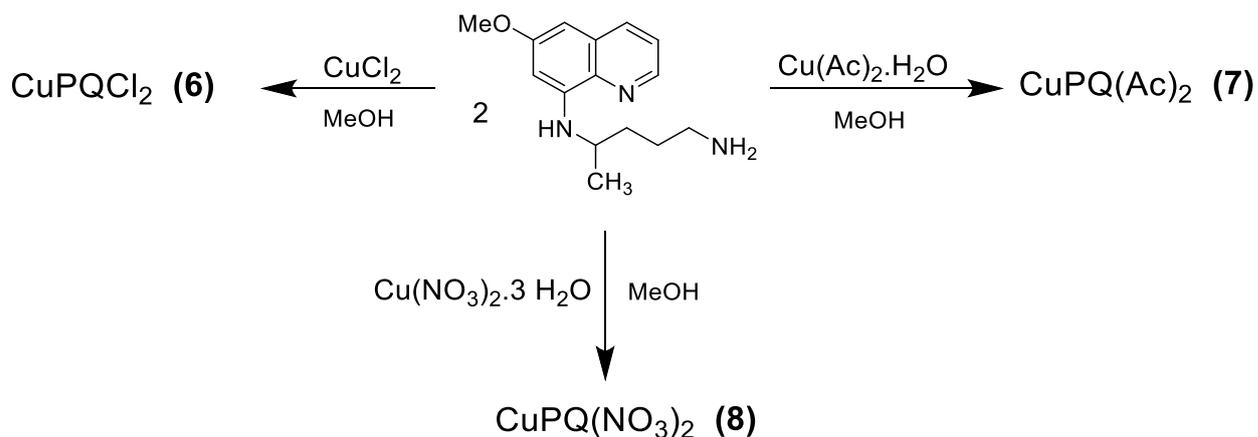


Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

4.2 COMPLEXOS METÁLICOS COM PRIMAQUINA

Os complexos de cobre foram sintetizados utilizando-se dois equivalentes de primaquina base livre e um equivalente do sal metálico em metanol, como mostrado no esquema 2. O complexo CuPQCl_2 foi sintetizado utilizando-se o cloreto de cobre, o complexo $\text{CuPQ}(\text{Ac})_2$ foi sintetizado utilizando-se o acetato de cobre monohidratado e o complexo $\text{CuPQ}(\text{NO}_3)_2$ utilizando-se o nitrato de cobre trihidratado.

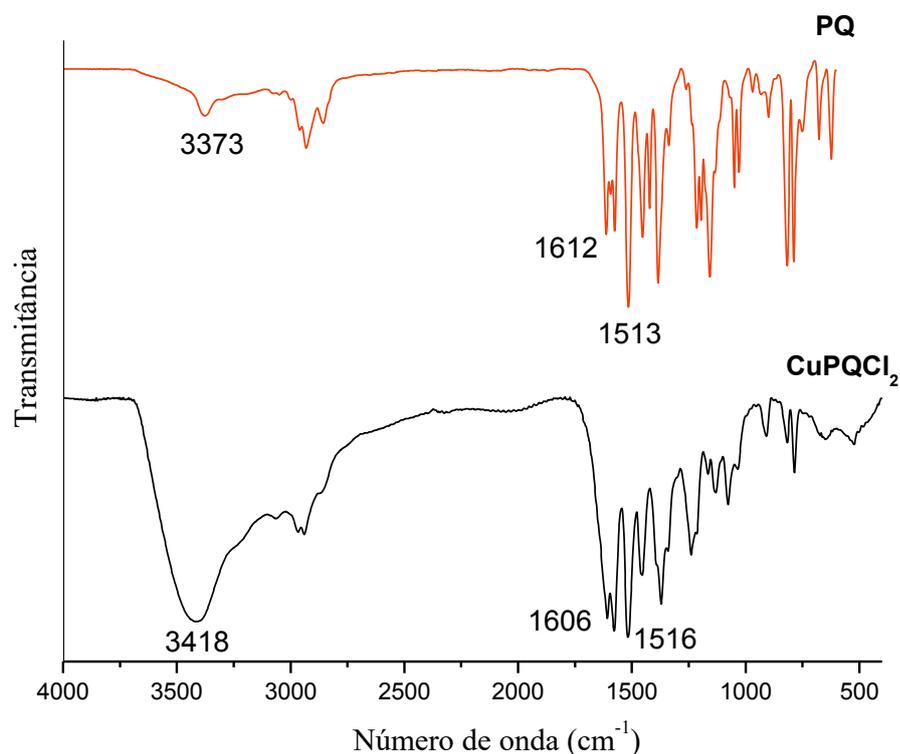
Esquema 4 - Esquema de síntese dos complexos metálicos de Cu(II) com primaquina.



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Para caracterização do complexo **6** realizou-se a espectroscopia de absorção no infravermelho em pastilha de KBr na região entre 4000-400 cm^{-1} e as atribuições foram baseadas nas comparações com o ligante. Como observa-se na **Figura 38**, as bandas do estiramento da ligação N-H em 3418 cm^{-1} e o estiramento da ligação C=N em 1516 cm^{-1} possuem, respectivamente, um deslocamento de 45 cm^{-1} e 3 cm^{-1} . Desta forma sugere-se que ocorreu a coordenação do ligante ao metal.

Figura 38 - Espectro de IV do complexo metálico **6** comparado com a primaquina



Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

Através da análise do referido espectro de infravermelho, observa-se que estão presentes as bandas inerentes ao ligante e os deslocamentos das bandas correspondentes as ligações N-H e C=N, que corroboram para evidenciar da formação dos complexos metálicos. Na **Tabela 10** estão presentes as atribuições das bandas apresentadas pelo complexo metálico e pela primaquina.

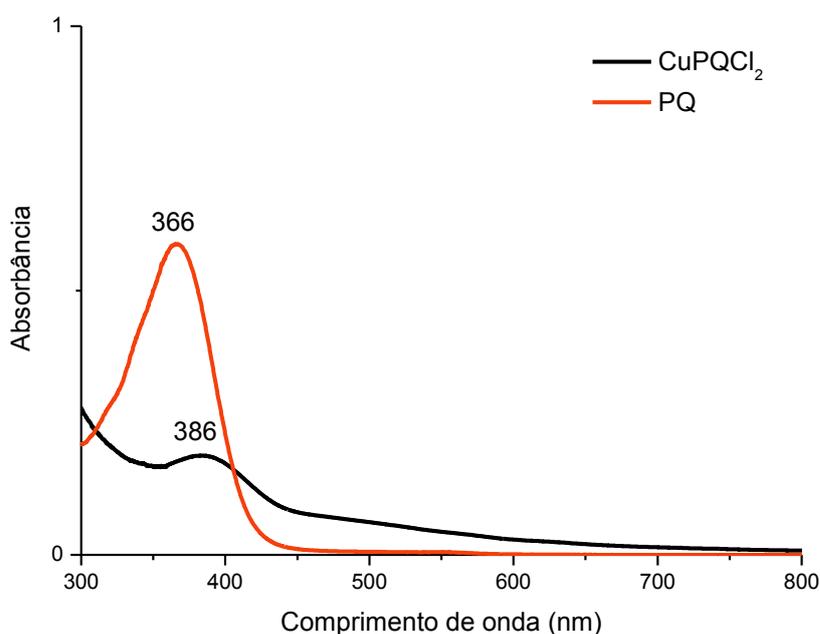
Tabela 10 - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo metálico **6** e pela primaquina.

| Atribuição | PQ | CuPQCl ₂ |
|-------------------|------|---------------------|
| $\nu(\text{N-H})$ | 3373 | 3418 |
| $\nu(\text{C=C})$ | 1612 | 1606 |
| $\nu(\text{C=N})$ | 1513 | 1516 |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Na **Figura 39**, têm-se o espectro eletrônico do complexo metálico comparado com a primaquina, onde observa-se a presença de uma banda em 383 nm, correspondente às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ presentes nos anéis aromáticos da primaquina, demonstrando que há a presença da mesma.

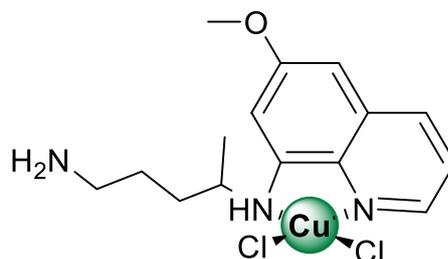
Figura 39 - Espectro de absorção UV-Vis do complexo metálico **6** comparado com a primaquina (DMSO)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Através das análises realizadas para o complexo **6** foi possível constatar a presença do ligante no mesmo e através dos dados de análise elementar, confirmou-se que ocorreu a coordenação de apenas uma molécula de primaquina ao átomo de cobre e duas moléculas de cloreto. Através da condutividade confirma-se que o complexo metálico é neutro (GEARY, 1971), sugerindo assim a ligação de forma bidentada da primaquina como apresenta-se na estrutura proposta (**Figura 40**).

Figura 40 - Estrutura proposta para o complexo metálico **6** com a primaquina



Complexo 6
CuPQCl₂

Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

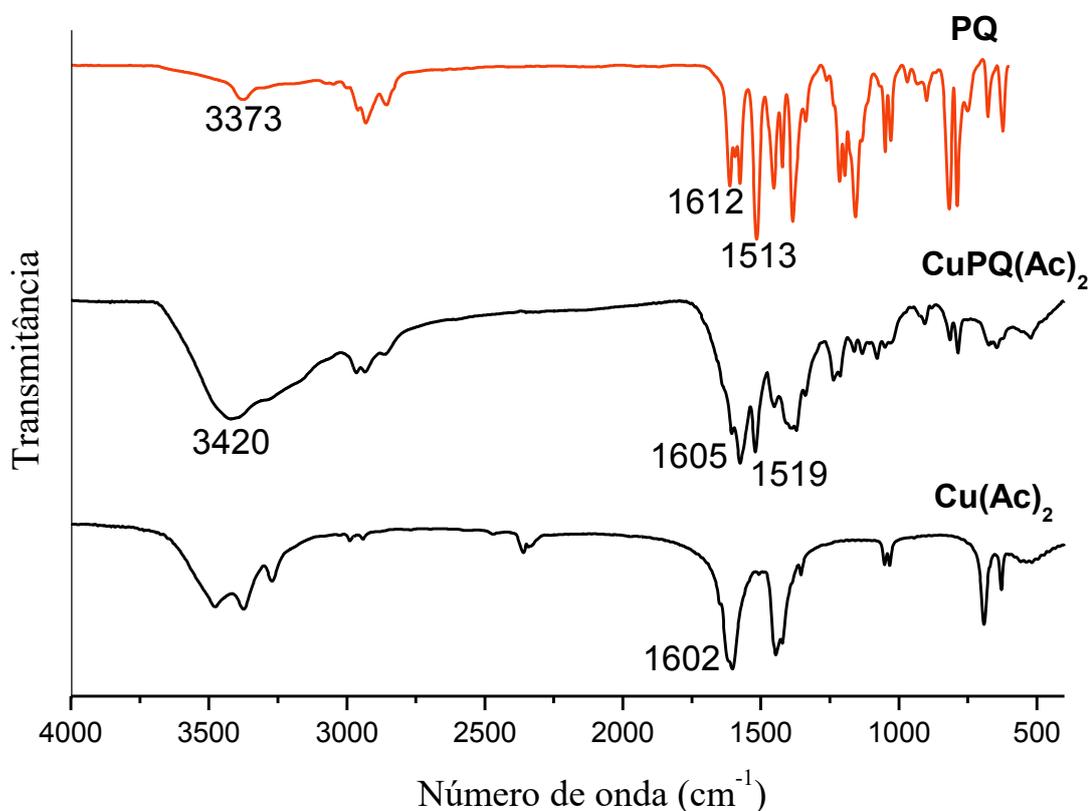
O complexo **7** foi sintetizado utilizando-se a primaquina e o acetato de cobre(II), obtendo-se um sólido marrom. Observa-se no espectro no infravermelho presente na **Figura 41** comparado com o do ligante, que as bandas do estiramento da ligação N-H em 3420 cm⁻¹ e o estiramento da ligação C=N em 1519 cm⁻¹ possuem, respectivamente, um deslocamento de 47 cm⁻¹ e 6 cm⁻¹. Neste complexo metálico, a banda referente ao estiramento da ligação C=O do grupo acetato, apresenta-se sobreposta à banda do estiramento C=C em 1605 cm⁻¹, como pode-se perceber pela modificação do perfil da mesma e do deslocamento de 7 cm⁻¹. Na **Tabela 11** estão as atribuições das bandas apresentadas pelo complexo **7**.

Tabela 11 - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo metálico **7**, pela primaquina e pelo acetato de cobre(II).

| Atribuição | PQ | CuPQ(Ac) ₂ | Cu(Ac) ₂ |
|-------------------|------|-----------------------|---------------------|
| $\nu(\text{N-H})$ | 3373 | 3420 | - |
| $\nu(\text{C=C})$ | 1612 | 1605 | - |
| $\nu(\text{C=N})$ | 1513 | 1519 | - |
| $\nu(\text{C=O})$ | - | 1605 | 1602 |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

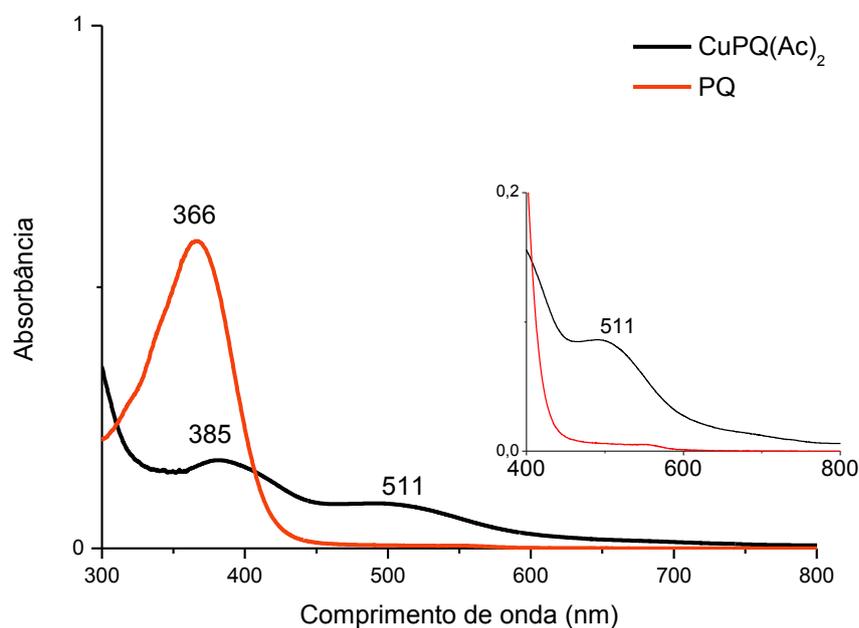
Figura 41 - Espectro de IV do complexo metálico **7** comparado com a primaquina e com o acetato de cobre(II)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Na **Figura 42**, têm-se o espectro eletrônico do complexo metálico comparado com a primaquina. Este complexo apresenta uma banda em 389 nm, respectivamente, correspondente às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ presentes nos anéis aromáticos da primaquina, demonstrando que há a presença da mesma. Além desta banda também há a presença de uma banda na região do visível em 511 nm, correspondente à transição $d \rightarrow d$ do centro metálico.

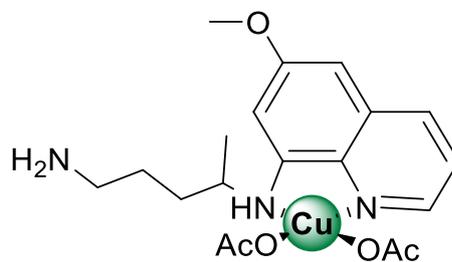
Figura 42 - Espectro de absorção UV-Vis do complexo metálico **7** comparado com a primaquina (DMSO)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Através das análises realizadas para o complexo **7** foi possível constatar a presença do ligante nos complexos metálicos e através dos dados de análise elementar, confirmou-se que ocorreu a presença de uma molécula de primaquina, duas moléculas de acetato e um átomo de cobre. Com o valor da condutividade na faixa de compostos neutros (GEARY, 1971), sugere-se assim a ligação de forma bidentada da primaquina como apresenta-se na estrutura proposta (**Figura 43**).

Figura 43 - Estrutura proposta para o complexo metálico **7** com a primaquina



Complexo 7
CuPQ(Ac)₂

Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

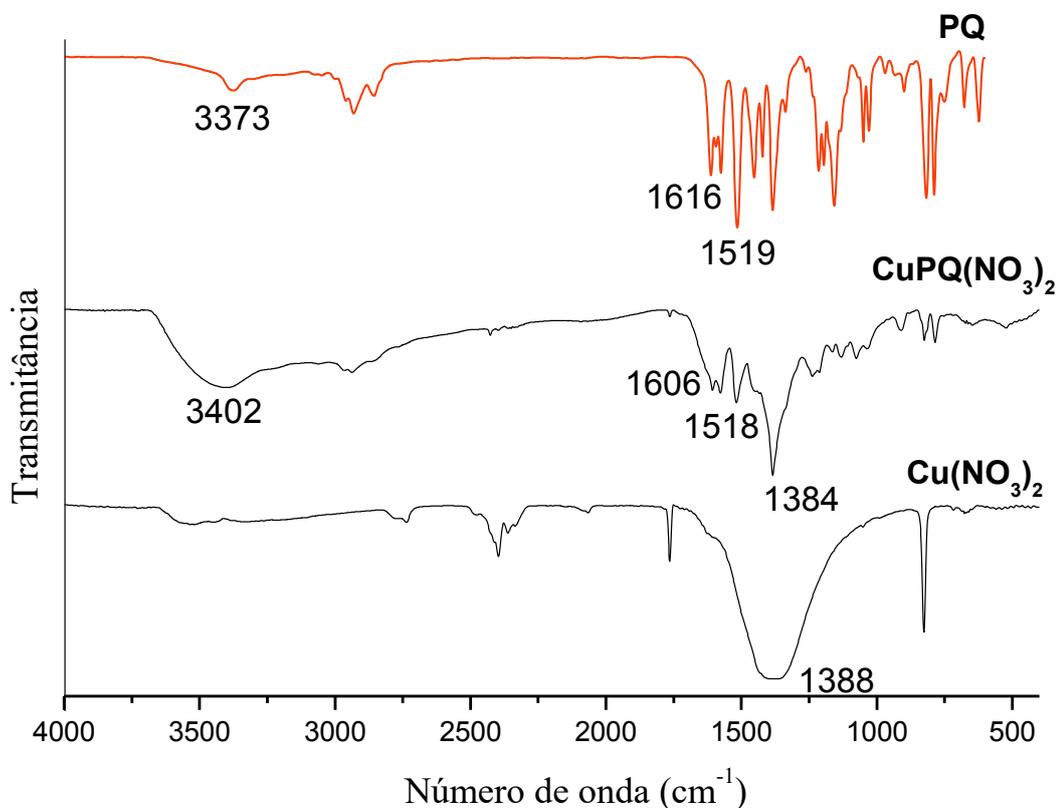
A síntese do complexo **8** foi realizada com a primaquina e nitrato de cobre(II) em metanol, obtendo um sólido marrom com rendimento de 65%. O espectro de infravermelho foi obtido na região entre 4000-400 cm^{-1} e as atribuições foram baseadas nas comparações com o ligante, onde na **Figura 44**, têm-se o mesmo comparado com o do ligante, onde as bandas do estiramento da ligação N-H em 3402 cm^{-1} e do estiramento da ligação C=N em 1518 cm^{-1} possuem, respectivamente, um deslocamento de 29 cm^{-1} e 5 cm^{-1} . Além destas bandas também é possível observar a presença da banda referente ao estiramento do grupo NO_3 em 1384 cm^{-1} , indicando a presença do mesmo na estrutura do complexo metálico. Na **Tabela 12** estão apresentadas as atribuições das bandas que corroboram para evidenciar a formação do complexo metálico.

Tabela 12 - Atribuições das bandas apresentadas pelo complexo metálico **8**, pela primaquina e pelo nitrato de cobre(II).

| Atribuição | PQ | $\text{CuPQ}(\text{NO}_3)_2$ | $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ |
|---------------------------------|------|------------------------------|----------------------------|
| $\nu(\text{N-H})$ | 3373 | 3402 | - |
| $\nu(\text{C=C})$ | 1612 | 1606 | - |
| $\nu(\text{C=N})$ | 1513 | 1518 | - |
| $\nu_{\text{ass}}(\text{NO}_3)$ | - | 1384 | 1388 |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

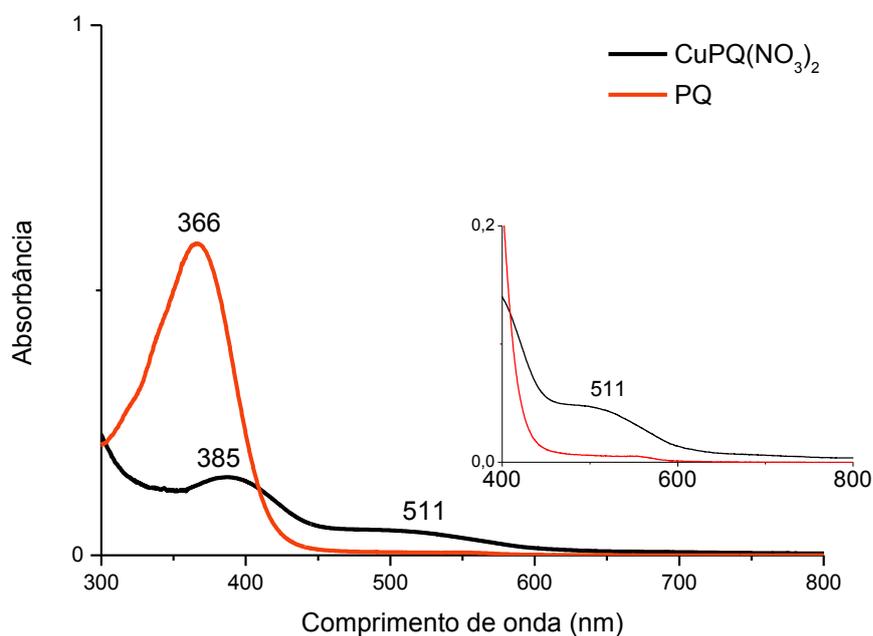
Figura 44 - Espectro de IV do complexo metálico **8** comparado com a primaquina e com o nitrato de cobre(II)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

O espectro eletrônico do complexo metálico **8** comparado com a primaquina está representado na **Figura 45**. O mesmo apresenta uma banda em 385 nm correspondente às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ presentes nos anéis aromáticos da primaquina, demonstrando que há a presença da mesma e além desta banda também há a presença de uma banda na região do visível em 511 nm, correspondente à transição $d \rightarrow d$ do centro metálico.

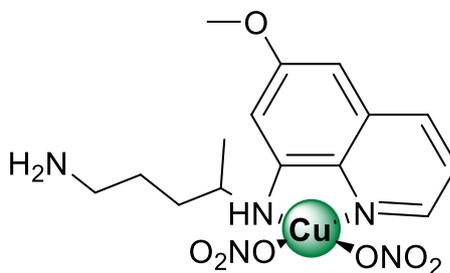
Figura 45 - Espectro de absorção UV-Vis do complexo metálico **8** comparado com a primaquina (DMSO)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Através das análises realizadas para este complexo metálico foi possível constatar a presença do ligante e através dos dados de análise elementar, confirmou-se que ocorreu a coordenação de apenas uma molécula de primaquina ao átomo de cobre e duas moléculas de nitrato, sugerindo assim a ligação de forma bidentada da primaquina, que foi corroborada com o dado de condutividade para um composto neutro (GEARY, 1971). A estrutura proposta para este complexo apresenta-se na **Figura 46**.

Figura 46 - Estrutura proposta para o complexo metálico **8** com a primaquina



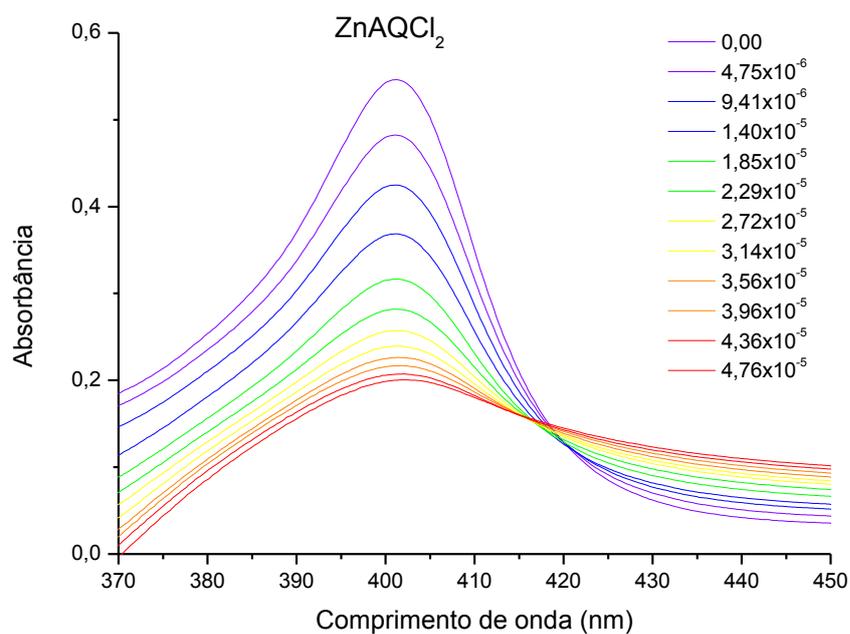
Complexo 8
CuPQ(NO₃)₂

Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

4.3 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO COM A FERRIPROTOPORFIRINA

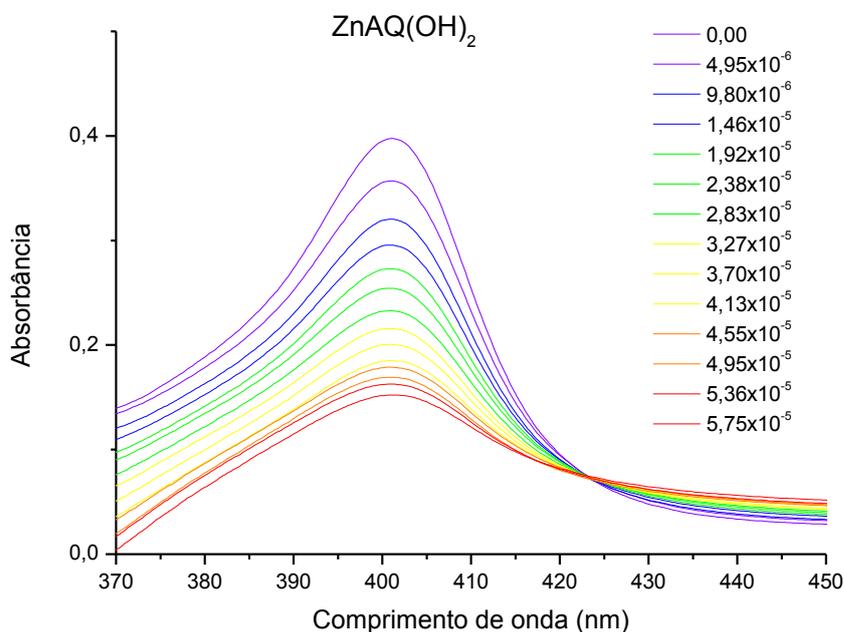
Como há resultados convincentes da relação entre a atividade biológica dos fármacos antimaláricos e a associação fármaco/hematina, é indicado a formação da hemozoína como alvo de ação. Assim, avaliou-se a interação dos complexos metálicos com a ferriprotoporfirina através da titulação espectroscópica, onde o espectro da ferriprotoporfirina apresenta um máximo de absorvância em 402 nm, característico da transição eletrônica $\pi \rightarrow \pi^*$. Mediante a adição de alíquotas dos complexos, observa-se um efeito hipocrômico, como pode-se observar na **Figura 47** e a magnitude da interação foi calculada a partir de um modelo teórico que assume uma complexação 1:1 complexo/hemina, através do programa SigmaPlot, e os valores obtidos são mostrados na **Tabela 13**.

Figura 47 - Espectro da titulação espectroscópica da ferriprotoporfirina adicionando o complexo **1** (40 %v/v DMSO pH 7,5)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

Figura 48 - Espectro da titulação espectroscópica da ferriprotoporfirina adicionando o complexo **2** (40 %v/v DMSO pH 7,5)



Fonte: Elaborada pela própria autora (2019).

Tabela 13 - Constantes de interação e valores de hipocromismo dos compostos com hemina.

| Composto | Log K | % hip |
|---|-------------|---------------|
| AQ | 4,34 ± 0,01 | 44 ± 3 |
| CQ | 4,97 ± 0,04 | 64 ± 1 |
| ZnAQCl ₂ (1) | 4,55 ± 0,06 | 61 ± 1 |
| ZnAQ(OH) ₂ (2) | 4,38 ± 0,10 | 63 ± 2 |
| CuPQCl ₂ (6) | 4,47 ± 0,07 | 62 ± 2 |
| CuPQ(Ac) ₂ (7) | 3,90 ± 0,22 | 63 ± 0 |
| CuPQ(NO ₃) ₂ (8) | 4,01 ± 0,23 | 59 ± 1 |
| AuCICQ* | 4,76 ± 0,20 | Não reportado |
| Ferroquina* | 4,95 ± 0,18 | Não reportado |

*valores obtidos em NAVARRO, *et al.*, 2004 e BIOT, *et al.*, 2012.

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

Observa-se que os complexos avaliados apresentam valores de constante de interação comparáveis com o da amodiaquina e menores que o da cloroquina, assim como apresentam valores maiores de hipocromismo que a amodiaquina e semelhantes à cloroquina. Isto sugere

que os complexos analisados apresentam interação similar a exibida pelos fármacos, sob as mesmas condições experimentais. Ao se comparar os valores obtidos para os compostos sintetizados neste trabalho com outros presentes na literatura (NAVARRO, *et al.*, 2004, BIOT, *et al.*, 2012) que apresentaram boa atividade antimalárica, pode-se observar que há uma interação similar e espera-se que possuam também uma boa atividade biológica.

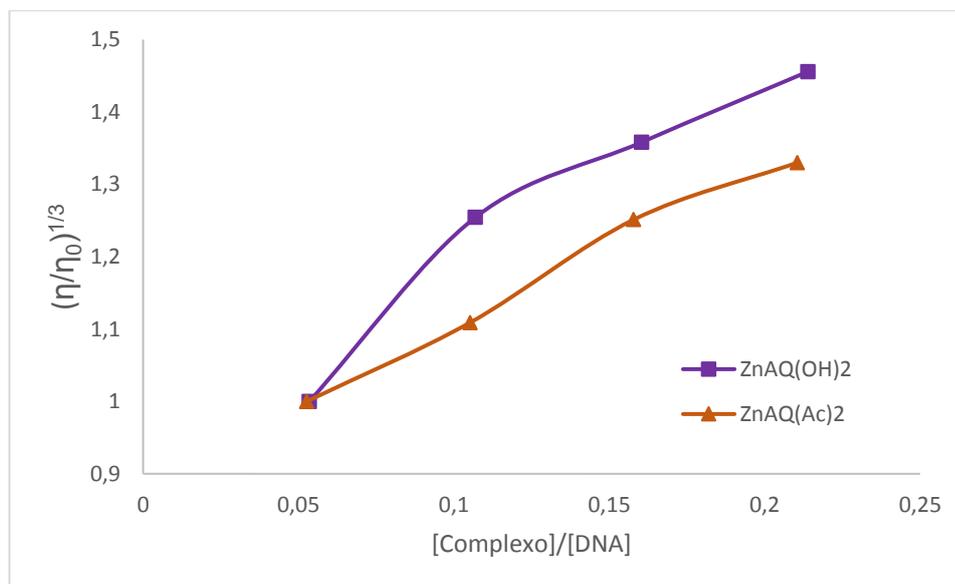
4.4 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO COM DNA

Os estudos para avaliação e quantificação da constante da interação com o DNA através de titulações espectroscópicas foram realizados, porém não se observou uma tendência clara de interação, possivelmente devido à problemas técnicos para o controle de temperatura da sala onde o experimento foi realizado. Desta forma, a realização desse estudo será realizada novamente para verificação dos resultados obtidos.

Outro estudo realizado foi a medida de viscosidade, onde é possível avaliar possíveis interações dos complexos metálicos com o DNA, visto que o mesmo é um polímero de peso molecular elevado e possui uma maior viscosidade em soluções aquosas.

Por falta de tempo para realização do experimento para os demais complexos metálicos, na **Figura 48** está representado o comportamento dos complexos **2** e **3**, onde é possível notar que estes causam um aumento na viscosidade relativa do DNA à medida que se aumenta a concentração dos complexos metálicos. Este comportamento é notado para diversos compostos intercaladores e o comportamento de intercalação observado nos complexos metálicos analisados é devido à planaridade do anel quinolínico da amodiaquina.

Figura 49 - Curva de viscosidade dos complexos 2 e 3



Fonte: Elaborado pela própria autora (2020).

4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA *IN VITRO*

O efeito antimalárico dos complexos metálicos **1** e **2** foi avaliado pelo grupo de pesquisa do Dr. Bruno Pradines, localizado na França.

Os estudos para avaliar a atividade antimalárica *in vitro* da cloroquina difosfato, amodiaquina, primaquina (usadas como fármacos de referências) e dos complexos ZnAQCl₂, ZnAQ(OH)₂, foram realizados no parasita *Plasmodium falciparum*, usando uma cepa suscetível à cloroquina (CQS) (3D7) e uma cepa resistente à cloroquina (CQR) (W2), os resultados são apresentados na **Tabela 14**. Os complexos de Zn-AQ exibiram uma atividade menor que a CQ contra a cepa CQS (3D7), sugerindo que o metal não conseguiu melhorar a atividade antiplasmodial deste fármaco nestas cepas. No entanto, essa tendência não foi observada quando os complexos metálicos estudados foram testados contra a cepa resistente a CQ (W2), os resultados revelaram que o ZnAQ(OH)₂ foi o composto mais ativo com IC₅₀ = 7 nM, seguido pelo ZnAQCl₂ que exibiu atividade antiplasmodial com IC₅₀ = 35 nM. Claramente, estes complexos metal-AQ foram mais ativos que os fármacos testados e assim pode-se concluir que nesta cepa o metal melhorou a atividade em até 12 vezes comparando com a amodiaquina e em até 26 vezes ao se comparar com a primaquina. Além disso, este composto teve uma inibição comparável com os complexos metálicos que obtiveram maior atividade

antiplasmodial até o momento, $[\text{AuCQ}(\text{PPh}_3)]\text{PF}_6$ com $\text{IC}_{50}=70$ nM (NAVARRO, *et al.*, 2004) e a ferroquina com $\text{IC}_{50}=13$ nM na cepa W2 (DIVE;BIOT, 2008).

Tabela 14 - Atividade antimalárica *in vitro* em cepas de *Plasmodium falciparum*

| Composto | Cepa 3D7 (IC₅₀ em nM) | Cepa W2 (IC₅₀ em nM) |
|-----------------------------|---|--|
| CQ | 18 ± 2 | 460 ± 20 |
| AQ | 18 ± 2 | 86 ± 9 |
| PQ | 1117 ± 62 | 182 ± 23 |
| ZnAQCl₂ | 36 ± 4 | 35 ± 5 |
| ZnAQ(OH)₂ | 38 ± 2 | 7 ± 1 |

Fonte: Elaborada pela própria autora (2020).

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados cinco complexos metálicos com amodiaquina através da complexação com sais de zinco, cobre e prata anteriormente mencionados. Além de três complexos metálicos com a primaquina através da complexação desta com sais de cobre com diferentes ligantes auxiliares. Estes complexos foram obtidos com rendimentos moderados.

Os ligantes (amodiaquina e primaquina) e seus derivados metálicos foram caracterizados por meio da utilização de técnicas espectroscópicas e analíticas, como espectroscopia de absorção na região do ultravioleta visível, espectroscopia de absorção no infravermelho, ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C e ^{31}P , análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio e condutividade.

Com as análises realizadas até o momento sugeriu-se para o complexo metálico **1** duas estruturas distintas, uma onde o zinco está coordenado de forma bidentada à amodiaquina e outra onde há a formação de um dímero, onde a coordenação da amodiaquina ao centro metálico de Zn(II) se dá apenas pelo grupo hidroxila da mesma. Para o complexo metálico **2** tem-se a proposta de uma estrutura tetraédrica, onde a AQ apresenta-se coordenada pela hidroxila e também há a coordenação de duas moléculas de hidroxila e uma molécula de água ao centro metálico.

Já para os complexos metálicos **3** e **4** propõe-se uma estrutura semelhante entre si, onde o Zn(II) e o Cu(II) apresentam-se pentacoordenados, com as moléculas de acetato coordenadas de forma bidentada e a amodiaquina coordenada pelo nitrogênio do anel quinolínico.

Em relação ao complexo metálico **5**, há a proposta da coordenação de duas moléculas de trifenilfosfina, uma molécula de amodiaquina por meio do nitrogênio do anel quinolínico e uma molécula de água à Ag(I), sugerindo que este se apresente com uma geometria tetraédrica. Além disso este é um complexo carregado positivamente apresentando uma molécula de nitrato como contra íon.

Por fim nos complexos metálicos **6**, **7** e **8** há a presença de uma molécula de primaquina e duas moléculas de ligantes auxiliares coordenadas ao íon de Cu(II). Assim, a estrutura proposta para os mesmos apresenta a coordenação da primaquina de forma bidentada, através do nitrogênio do anel quinolínico e do nitrogênio da amina secundária.

Adicionalmente, foram realizados os estudos de seus possíveis mecanismos de ação mediante a avaliação da interação dos complexos metálicos com a ferriprotoporfirina IX, onde

os valores de constante de interação foram comparáveis com os fármacos antimaláricos e outros complexos metálicos sintetizados presentes na literatura que tem a sua ação mediante a inibição deste essencial alvo para a sobrevivência do parasita.

Os compostos $ZnAQCl_2$ e $ZnAQ(OH)_2$ tiveram sua atividade biológica avaliada frente a cepas sensíveis e resistentes do *Plasmodium falciparum* e apresentaram atividade muito melhor que a cloroquina na cepa resistente. Em destaque temos o complexo $ZnAQ(OH)_2$ que apresentou valor de IC_{50} na faixa de concentração nanomolar, sendo até 12 vezes mais ativo que a amodiaquina e com atividade comparável aos complexos metálicos mais ativos estudados até o momento, o que levará a continuação da avaliação da atividade antiplasmodial *in vivo*.

5.1 PERSPECTIVAS FUTURAS

Pretende-se finalizar a avaliação da capacidade dos complexos metálicos sintetizados de inibir a formação da β -hematina e interagir com a hemina através do uso do UV-Vis e IV.

Pretende-se realizar os experimentos de interação com DNA dos complexos metálicos sintetizados por meio de titulação espectroscópica, ensaios de mudança eletroforética e absorção atômica. Além disso a realização de experimentos de viscosidade para os complexos metálicos que ainda não foram analisados.

Pretende-se complementar a caracterização dos complexos metálicos obtidos através da espectrometria de massas, espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica, entre outras técnicas.

Pretende-se enviar os complexos metálicos sintetizados com melhor atividade antimalárica *in vitro* para a avaliação da atividade antiplasmodial em estudos *in vivo* que serão realizados pelo Prof. Dr. Diogo Rodrigo de Magalhães Moreira e seu grupo de pesquisa, na Fiocruz de Salvador.

Além disso, pretende-se utilizar os resultados obtidos nesse trabalho na produção de artigos científicos com posterior publicação em revistas científicas especializadas e a apresentação em congressos da área.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO-FRANÇA, J. A.; GRANADO, R.; DE MACEDO SILVA, S. T.; SANTOS-SILVA, G. D.; SCAPIN, S.; BORBA-SANTOS, L. P.; ROZENTAL, S.; DE SOUZA, W.; MARTINS-DUARTE, É. S.; BARRIAS, E.; RODRIGUES, J. C. F.; NAVARRO, M. Synthesis and biological activity of novel zinc-itraconazole complexes in protozoan parasites and *Sporothrix* spp. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 64, n. 5, 2020.
- BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Interações entre complexos metálicos antitumorais e o DNA e suas ferramentas de análise: um enfoque nos metalointercaladores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.
- BIOT, C.; CASTRO, W.; BOTTÉ, C. Y.; NAVARRO, N. The therapeutic potential of metal-based antimalarial agents: implications for the mechanism of action. **Dalton Transactions**, v. 41, p. 6335-6349, 2012.
- BUTYKAI, A.; ORBÁN, A.; KOCSIS, V.; SZALLER, D.; BORDÁCS, S.; TÁTRAI-SZEKERES, E.; KISS, L. F.; BÓTA, A.; VÉRTESSY, B. G.; T. ZELLES, T.; KÉZSMÁRKI, I. Malaria pigment crystals as magnetic micro-rotors: key for high-sensitivity diagnosis. **Scientific Reports**, v. 3, n.1431, 2013.
- CASTRO, W.; NAVARRO, M. Complejos metálicos como potenciales antimaláricos con blanco de acción: hemozoína. **Avances en Química**, v. 7, n. 2, p. 135-144, 2012.
- CHUKWUMA, C. I.; MASHELE, S. S.; EZE, K. C.; MATOWANE, G. R.; ISLAM, S. MD.; BONNET, S. L.; NORELJALEEL, A. E. M.; RAMOROB, L. M. A comprehensive review on zinc(II) complexes as anti-diabetic agents: The advances, scientific gaps and prospects. **Pharmacological Research**, v. 155, 2020.
- DÁVALOS, J. Z.; GONZÁLEZ, J.; GUERRERO, A.; VALDERRAMA-NEGRÓN, A. C.; AGUIRRE MÉNDEZ, L. D.; CLARAMUNT, R. M.; SANTA MARIA, D.; ALKORTAD, I.; ELGUERO, J. A silver complex of chloroquine: synthesis, characterization and structural properties. **New Journal of Chemistry**, v. 37, n. 5, p.1391-1401, 2013.
- DIVE, D.; BIOT, C. Ferrocene Conjugates of Chloroquine and other Antimalarials: the Development of Ferroquine, a New Antimalarial. **ChemMedChem**, v. 3, p. 383-391, 2008.
- EGAN, T. J. **Biomimetic Approaches to Understanding the Mechanism of Haemozoin Formation**. On Biomimetics, IntechOpen, p. 373-394, 2011.
- FRANÇA, T.C.C.; DOS SANTOS, M. G.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Malária: Aspectos históricos e quimioterapia. **Química Nova** v. 31, n. 5. p. 1271-1278, 2008.
- GALANSKI, M.; ARION, V.; JAKUPEC, M.; KEPPLER, B. Recent Developments in the Field of Tumor-Inhibiting Metal Complexes. **Current Pharmaceutical Design**, v. 9, n.25, p. 2078-2089, 2003.
- GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the

characterization of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 7, p. 81-122, 1971.

GEMMA, S.; TRAVAGLI, V.; SAVINI, L.; NOVELLINO, E.; CAMPIANI, G.; BUTINI, S. Malaria Chemotherapy: Recent Advances in Drug Development. **Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery**, v. 5, n. 3, p. 195-225, 2010.

GOKHALE, N.H.; SHIRISHA, K.; PADHYE, S.B.; CROFT, S.L.; KENDRICK, H.D.; MCKEE, V. Metalloantimalarials: Synthesis, X-ray crystal structure of potent antimalarial copper (II) complex of arylazo-4-hydroxy-1,2-naphthoquinone. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, p. 430-432, 2006.

IAKOVIDIS, I.; DELIMARIS, I.; PIPERAKIS, S. M. Copper and its complexes in medicine: a biochemical approach. **Molecular biology international**, 2011.

KANTELE, A.; JOKIRANTA, T. S. Review of cases with the emerging fifth human malaria parasite, *Plasmodium knowlesi*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 11, p. 1356–1362, 2011.

KASCHULA, C. H.; EGAN, T. J.; HUNTER, R.; BASILICO, N.; PARAPINI, S.; TARAMELLI, D.; PASINI E.; MONTI, D. Structure–Activity Relationships in 4-Aminoquinoline Antiplasmodials. The Role of the Group at the 7-Position. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 16, p. 3531–3539, 2002.

KELLETT, A.; MOLPHY, Z.; SLATOR, C.; MCKEE, V.; FARRELL, N. P. Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug–DNA interactions. **Chemical Society Reviews**, v. 48, p. 971-988, 2019.

KREŻEL, A.; MARET, W. The biological inorganic chemistry of zinc ions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 611, p. 3–19, 2016.

MACEDO, T. S.; VILLARREAL, W.; COUTO, C. C.; MOREIRA, D. R. M.; NAVARRO, M.; MACHADO, M.; PRUDÊNCIO, M.; BATISTA, A. A.; SOARES, M. B. P. Platinum(II)–chloroquine complexes are antimalarial agents against blood and liver stages by impairing mitochondrial function. **Metallomics**, v. 9, p. 1548-1561, 2017.

MEDICI, S.; PEANA, M.; CRISPONI, G.; NURCHI, V. M.; LACHOWICZ, J. I.; REMELLI, M.; ZORODDU, M. A. Silver coordination compounds: A new horizon in medicine. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 327-328, p. 349-359, 2016.

MEDICINES FOR MALARIA VENTURES - ARTEFENOMEL/FERROQUINE. Disponível em: <https://www.mmv.org/newsroom/interviews/artefenomelferroquine>. Acesso em: 30 mar. 2020.

MIDDLEJ, V.; RUBIM, F.; VILLARREAL, W.; MARTINS-DUARTE, É. S.; NAVARRO, M.; DE SOUZA, W.; BENCHIMOL, M. Zinc-clotrimazole complexes are effective against *Trichomonas vaginalis*. **Parasitology**, p. 1-11, 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE- MALÁRIA. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/malaria>. Acesso em: 15 jun. 2019.

NAVARRO, M.; VÁSQUEZ, F.; SÁNCHEZ-DELGADO, R. A.; PÉREZ, H.; SINOU, V.; SCHRÉVEL, J. Toward a Novel Metal-Based Chemotherapy against Tropical Diseases. 7. Synthesis and in Vitro Antimalarial Activity of New Gold–Chloroquine Complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 21, p. 5204–5209, 2004.

NAVARRO, M.; HERNÁNDEZ, C.; VÁSQUEZ, F.; GOITIA, H.; OJEDA, L. E.; VELÁSQUEZ, M.; FRAILE, G. Syntheses, characterization, and biological evaluation of new zinc-and gold-chloroquine diphosphate complexes. **Transition Metal Chemistry**, v. 33, n. 7, p. 893-898, 2008.

NAVARRO, M. Gold complexes as potential anti-parasitic agentes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 1619–1626, 2009.

NAVARRO, M.; GABBIANI, C.; MESSORI, L.; GAMBINO, D. Metal-based drugs for malaria, trypanosomiasis and leishmaniasis: recent achievements and perspectives. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 23-24, p. 1070–1078, 2010.

NAVARRO, M.; CASTRO, W.; BIOT, C. Bioorganometallic Compounds with Antimalarial Targets: Inhibiting Hemozoin Formation. **Organometallics**, v. 31, n. 16, p. 5715–5727, 2012.

NAVARRO, M.; CASTRO, W.; GONZÁLEZ, S.; ABAD, M. J.; TAYLOR, P. Synthesis and anticancer activity of gold(I)-chloroquine complexes. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 57, n. 3, p. 220-229, 2013.

NAVARRO, M.; CASTRO, W.; MADAMET, M.; AMALVICT, R.; BENOIT, N.; PRADINES, B. Metal-chloroquine derivates as possible anti-malarial drugs: evaluation of anti-malarial activity and mode of action. **Malaria Journal**, 13:471, 2014.

OGUNNIRAN, K. O.; AJANI, O. O.; EHI-EROMOSELE, C. O.; OBALEYE, J. A.; ADEKOYA, J. A.; AJANAKU, C. O. Cu(II) and Fe(III) complexes of sulphadoxine mixed with pyramethamine: synthesis, characterization, antimicrobial and toxicology study. **International Journal of Physical Science**, v. 7, n.13, p.1998-2005, 2012.

PAGES, B. J.; ANG, D. L.; WRIGHT, E. P.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. Metal complex interactions with DNA. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 8, p. 3505–3526, 2015.

PAGOLA, S.; STEPHENS, P. W.; BOHLE, D. S.; KOSAR, A. D.; MADSEN, S. K. The structure of malaria pigment β -haematin. **Nature**, v. 404, p. 307, 2000.

PEÑA, W. J. V. **Complexos fosfínicos de platina(II) e paládio(II):** atividade farmacológica e interação com o DNA e com a Ferriprotoporfirina. 2017. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2017.

SULLIVAN, D. J.; GLUZMAN, I. Y.; RUSSELL, D. G.; GOLDBERG, D. E. On the molecular mechanism of chloroquine's antimalarial action. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 21, p. 11865–11870, 1996.

VELHO, R. G. **Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos:** um levantamento bibliográfico. 2006. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2006.

WHITE, N. J.; PUKRITTAYAKAMEE, S.; HIEN, T. T.; FAIZ, M. A.; MOKUOLU, O. A.; DONDORP, A. M. Malaria. **The Lancet**, v. 383, p. 723–735, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for the treatment of malaria. Third edition, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World malaria report. Geneva, 2019. Disponível em: <https://www.who.int/publications-detail/world-malaria-report-2019>. Acesso em: 30 dez. 2019.