



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA



PROGRAMA PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

Estudo Cristalográfico de Quatro Derivados Fenazínicos **Utilizando a Difração de Raios X**

ISABELLE KARINE DA COSTA NUNES

Dissertação apresentada ao Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, para obtenção do título de Mestre em Química e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto de Simone

Maceió, Abril de 2008

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- N972e Nunes, Isabelle Karine da Costa.
Estudos cristaloquímico de quatro derivados fenazínicos utilizando a difração de raios X / Isabelle Karine da Costa Nunes. – Maceió, 2008.
164 f. : il. tabs., graf.
- Orientador: Carlos Alberto de Simone.
Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Exatas. Instituto de Química. Maceió 2008.
- Bibliografia: f. 142-149.
Anexos: f. [150]-164.
1. Malária. 2. Fenazinas. 3. Antimaláricos. 4. Difração de raios X. 5. Kappa CCD. I. Título.

CDU: 544.228



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

Instituto de Química e Biotecnologia
Universidade Federal de Alagoas
Tel. 55 82 3214-1384 Fax. 55 82 3214-1389
www.cpgqb@qui.ufal.br

Campus A. C. Simões
Tabuleiro dos Martins
57072-970
Maceió-AL
Brasil

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de Isabelle Karine da Costa Nunes intitulada: "**Estudo Cristalquímico de 4 Derivados Fenazínicos Utilizando a Difração de Raios X**", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 24 de abril de 2008, às 9hs na sala de Reuniões do IQB da UFAL.

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Carlos Alberto De Simone
Orientador - PPGQB/IQB/UFAL

Prof. Dr. Silyana Guilardi
IQ/UFU

Prof. Dr. Sergio Modesto Vechi
UFAL - Arapiraca

Prof. Dr. Dennis de Oliveira Imbroisi
PPGQB/IQB/UFAL

Este trabalho contou com o apoio das seguintes instituições:

UFAL

FAPEAL

CNPq

CAPES

IM-INOVAR

**A DEUS, FORÇA MAIOR EM NÓS.
DEDICO.**

Aos meus familiares, avós, tios, irmãos, pais e minha filha Bruna.

**Ao Professor Dr. Carlos Alberto de Simone, meus sinceros agradecimentos, pela
confiança, orientação, amizade e paciência. Por todos os ensinamentos e
motivação que me foram dados, Mestre como poucos.**

Obrigada.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Sergio Vecchi, por toda a ajuda, paciência, e orientação no desenvolvimento final deste trabalho.

Aos professores do LaboCriMM, Prof. Mariano Alves Pereira e Prof^a. Valéria Rodrigues Santos Malta por todo incentivo e amizade.

Aos Professores da Universidade Federal de Alagoas, Prof. Nivaldo, Prof^a. Marília Goulart , Prof. Denis Imbroisi e Prof. Edson Souza, pela colaboração dada em determinados momentos do trabalho.

Ao Prof. Antonio Ventura Pinto (UFRJ) e seu aluno Raphael Silva pelo envio das amostras estudadas, pela colaboração, por sua dedicação a ciência e pesquisa de fármacos.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Cristalografia do Instituto de Química da UFAL.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
OBJETIVOS	xi
CAPITULO 1	
1- Introdução	2
1.1 – Uso de Drogas	4
1.2 – Considerações Gerais sobre as Fenazinas	5
1.3 – Complexos com Metais e Atividade Biológica	9
1.4 – Organometálicos no Tratamento da Malária	10
1.5 – A Tuberculose	11
CAPITULO 2	
2– Considerações Gerais Sobre a Malaria	13
2.1 – Ciclo Biológico dos Plasmódios em Seres Humanos e Anofelinos	15
2.2 – A Situação Da Malária no Mundo e no Brasil	18
2.3 – Tratamento	21
2.4 – Considerações Gerais Sobre A Tuberculose	26
2.4.1 – Controle Da Tuberculose – Prioridade Nacional	26
2.4.2 – Etiologia, Transmissão e Patogênese	26
2.4.3 – Tratamento	30
CAPITULO 3	
3– Fundamentações Teóricas	33
3.1 – Raios X	33
3.2 – Cristal	34
3.3 – Conceito de Periodicidade e Simetria	35
3.4 – Cella Unitária, Simetria e Retículo de Bravais	38
3.5 – Difração dos Raios X por um Cristal	42

3.6 – Equação de Bragg	43
3.7 – As Equações de Laue	44
3.8 – Fator de Espalhamento Atômico	46
3.9 – Espalhamento por um Conjunto de Átomos	49
3.10 – Densidade Eletrônica	52
3.11 – Obtenção de Monocristais	54
3.12 – A Coleta de Dados	55
3.13 – Redução dos Dados	57
3.14 – Escala Absoluta e Fatores de Temperatura	60
3.15 – O Problema da Fase	61
CAPITULO 4 – Resultados e Discussões	
4.1 – Origem das Amostras	63
4.2 – Resolução das Estruturas	66
4.3 – Resultados para o Composto Fena-3244	68
4.3.1 – Discussão dos Resultados de Fena-3244	77
4.4 - Resultados para o Composto Fena-3243	84
.4.1 – Discussão dos Resultados de Fena-3243	92
4.5 – Resultados para o Composto Fena-3279	97
4.4.1 – Discussão dos Resultados de Fena-3279	111
4.6 - Resultados para o Composto Fena-3245	116
4.6.1 – Discussão dos Resultados de Fena-3245	124
4.6.2 – Cálculos Teóricos Efetuados para Fena- 3245.	130
CONSIDERAÇÕES FINAIS	137
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	139
Anexos:	
Anexo-1	150

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estruturas bidimensionais dos AINES a) Celecoxibe e b) Rofecoxibe.	03
Figura 2	a) Estrutura plana do núcleo fenazínico; b) Simulação da superfície de densidade total de cargas.	07
Figura 3	Estruturas bidimensionais de algumas Fenazinas Naturais.	08
Figura 4	Fêmea do mosquito <i>Anopheles darlingi</i> .	16
Figura 5	Ciclo evolutivo dos plasmódios humanos.	17
Figura 6	Classificação das áreas de risco para malária, segundo a incidência parasitária anual (IPA).	20
Figura 7	Estrutura bidimensional da cloroquina e primaquina.	23
Figura 8	Estrutura bidimensional da quinina.	24
Figura 9	Estrutura bidimensional da artemisinina.	24
Figura 10	Estrutura bidimensional das drogas de uso no tratamento de sepas resistentes de <i>P. falciparum</i> .	25
Figura 11	Esquema de transmissão da tuberculose.	27
Figura 12	Condições de moradia desfavoráveis aumentam a possibilidade de contágio.	27
Figura 13	Detalhes do sistema pulmonar.	28
Figura 14	Vista dos granulomas tuberculosos.	28
Figura 15	Principais órgãos acometidos pela tuberculose doença.	29
Figura 16	Estruturas bidimensionais das principais drogas utilizadas no tratamento da tuberculose.	31
Figura 17	Espectro eletromagnético.	33
Figura 18	Os espectros dos raios X: a) Contínuo; b) Característico.	34

Figura 19	Aspecto interno do cristal de cloreto de sódio.	35
Figura 20	Diagrama de Laue ou lauegrama.	38
Figura 21	a) Retículo Cristalino; b) Cella unitária.	39
Figura 22	Os quatorze retículos de Bravais.	41
Figura 23	a) Interferência construtiva; b) Interferência destrutiva.	42
Figura 24	Diagrama ilustrando a Equação de Bragg.	43
Figura 25	Cones de Laue.	45
Figura 26	Cones de Laue nas três direções.	46
Figura 27	Modelo atômico simplificado e os raios espalhados por um átomo.	47
Figura 28	Curvas típicas de fatores de espalhamento atômico.	49
Figura 29	Resultante de N ondas.	50
Figura 30	Difratômetro Automático KappaCCD.	55
Figura 31	Goniômetro de geometria Kappa com detector tipo CCD.	56
Figura 32	Esquema de um Detector do Tipo CCD.	56
Figura 33	Representação do CCD.	57
Figura 34	Conversão do lapachol nos isômeros α e β -Lapachona.	64
Figura 35	1) Lapachol; 2) β -Lapachona.	64
Figura 36	Esquemas com as estruturas planas propostas por outros métodos de resolução estrutural evidenciando o anel benzofenazínico.	66
Figura 37	Síntese da Fena-3244 (3) a partir da fenazina derivada da β -lapachona (3,3-Dimetil-2,3-dihidro-1H-benzo[a]pirano[2,3-c]fenazina) (2a) .	68

Figura 38	Representação Ortep-3 para FENA-3244.	71
Figura 39	Dados da consulta ao CCDC para C-Cl, Csp ² -O e Csp ³ - O da FENA-3244.	79
Figura 40	Projeção da molécula da Fena-3244, com destaque para os anéis C e E.	80
Figura 41	Contatos <u>Intermoleculares</u> do Empacotamento Cristalino com a Projeção da cela unitária na direção do Eixo \vec{a} , para Fena-3244.	82
Figura 42	Vista do Empacotamento Cristalino ao longo do eixo \vec{b} , para Fena-3244.	82
Figura 43	Interações de hidrogênio intramoleculares da Fena-3244.	83
Figura 44	Síntese da Fena-3243 a partir da fenazina derivada da nor β -lapachona.	84
Figura 45	Representação Ortep-3 para FENA-3243.	87
Figura 46	Dados da consulta ao CCDC para Csp ² -O e Csp ³ - O para FENA-3243.	93
Figura 47	Projeção da molécula da FENA-3243 paralela ao plano dos anéis (A-B) benzofenazínico.	94
Figura 48	Interações de hidrogênio intramoleculares para FENA-3243.	95
Figura 49	Interações de hidrogênio intermoleculares das moléculas da FENA-3243 no empacotamento cristalino e interações π - π stacking.	96
Figura 50	Empacotamento cristalino da molécula FENA-3243 projetado na direção de \vec{c} .	96
Figura 51	Síntese da Fena-3249 a partir da quinona semi sintética (3).	97
Figura 52	Vista das 4 moléculas contidas na cela unitária geradas pelas 2 moléculas independentes, na projeção do eixo cristalográfico \vec{c} .	100
Figura 53	Representação ORTEP3 das moléculas 1 e 2 da FENA-3279 .	101
Figura 54	Dados da consulta ao CCDC para Csp ² -O e Csp ³ -O para Fena-3279.	112
Figura 55	a) Projeção da Molécula Paralela aos Anéis A, B, C e D; b) Vista da conformação dos anéis E (meia cadeira) e F (cadeira).	113

Figura 56	Interações de hidrogênio intramoleculares na molécula FENA-3279.	114
Figura 57	Interações de hidrogênio intermoleculares na molécula FENA-3279.	115
Figura 58	Síntese da Fena-3245 a partir da reação da 3-alil-2-hidroxo-1,4-naftoquinona com fenilenodiamina em ácido acético.	116
Figura 59	Representação ORTEP3 das 4 moléculas independentes da FENA-3245.	119
Figura 60	Dados da consulta ao CCDC para C = O para Fena-3245.	125
Figura 61	Projeção paralela ao plano do anél benzofenazínico da molécula 1 da FENA-3245.	126
Figura 62	Projeção paralela ao plano do anél benzofenazínico da molécula 4 da Fena-3245	126
Figura 63	a – interações de hidrogênio para Fena-3245; b – interações de hidrogênio para FENA-3245.	128
Figura 64	Vista do empacotamento cristalino projetado ao longo da direção cristalográfica \vec{C} para FENA-3245.	129
Figura 65	Visão paralela ao plano dos anéis A-D evidenciando conformação dos grupos alila : (a) em A1 e C1 (voltado para direita); (b) em B1 e D1 (voltado para esquerda).	131
Figura 66	Visão paralela ao plano dos anéis A-D evidenciando conformação dos grupos alila : (a) em A2 e B2, com geometrias semelhantes a A1 e C1, B1 e D1; (b) em B1 e D1, com o grupo alila torcionado em C13-C14.	132
Figura 67	Sobreposição das geometrias otimizadas das quatro moléculas independentes do composto Fena-3245. (a) Visão perpendicular ao plano dos anéis A-D; (b) Visão paralela ao plano dos anéis A-D. Em ambos os casos as moléculas estão sobrepostas duas a duas.	133
Figura 68	Sobreposição das geometrias otimizadas das moléculas B2 e D2, com destaque para os grupos alila em verde e amarelo. (a) Visão perpendicular ao plano dos anéis A-D; (b) Visão paralela ao plano dos anéis A-D.	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Número de casos de malária e variação do período, por Unidade Federativa (UF) de notificação. Amazônia Legal, 1999 a 2006.	21
Tabela 2	Uso das drogas no tratamento da malária.	25
Tabela 3	Antibióticos utilizados no Tratamento da Tuberculose.	30
Tabela 4	Duração recomendada da Terapia da Tuberculose.	31
Tabela 5	Os sete sistemas cristalinos com os respectivos parâmetros cristalográficos.	40
Tabela 6	Resultados do cristal e da coleta de dados para FENA-3244.	70
Tabela 7	Principais dados do refinamento da estrutura FENA-3244.	71
Tabela 8	Parâmetros posicionais para FENA-3244.	72
Tabela 9	Distâncias Interatômicas (Å) para o composto FENA-3244.	74
Tabela 10	Ângulos Interatômicos (°) para o composto FENA-3244.	75
Tabela 11	Ângulos de Torção (°) para as Ligações Interatômicas do composto FENA-3244.	76
Tabela 12	Distâncias (Å) e Ângulos (°) das Interações de Hidrogênio.	83
Tabela 13	Principais dados do cristal e da coleta de dados para FENA-3243.	85
Tabela 14	Principais dados da resolução e do refinamento da estrutura da FENA-3243.	86
Tabela 15	Parâmetros posicionais para FENA-3243.	87
Tabela 16	Distâncias Interatômicas (Å) para a FENA-3243.	89
Tabela 17	Ângulos Interatômicos (°) para a FENA-3243.	90
Tabela 18	Ângulos de Torção (°) para FENA-3243.	91

Tabela 19	Distâncias (Å) e Ângulos (°) das Interações de Hidrogênio da FENA- 3243.	95
Tabela 20	Principais dados do cristal e da coleta dos dados para FENA-3279.	98
Tabela 21	Principais dados da resolução e do refinamento da estrutura da FENA-3279.	99
Tabela 22	Parâmetros posicionais para FENA-3279.	101
Tabela 23	Distâncias interatômicas (Å) para a molécula 1 da FENA-3279.	104
Tabela 24	Distâncias interatômicas (Å) para a molécula 2 da FENA-3279.	105
Tabela 25	Ângulos interatômicos (°) para a molécula 1 da FENA-3279.	105
Tabela 26	Ângulos interatômicos (°) para a molécula 2 da FENA-3279.	107
Tabela 27	Ângulos de Torção (°) para as ligações interatômicas da molécula 1 da FENA-3279.	108
Tabela 28	Ângulos de Torção (°) para as ligações interatômicas da molécula 2 da FENA-3279.	109
Tabela 29	Distâncias (Å) e Ângulos (°) das Interações de Hidrogênio para FENA-3279.	115
Tabela 30	Principais dados do cristal e da coleta dos dados para FENA-3245.	117
Tabela 31	Principais dados da resolução e do refinamento da estrutura da FENA-3245.	118
Tabela 32	Parâmetros posicionais para FENA-3245.	120
Tabela 33	Distâncias interatômicas (Å) para a molécula 1 da FENA-3245.	121
Tabela 34	Ângulos interatômicos (°) para a molécula 1 da Fena-3245.	122
Tabela 35	Ângulos de Torção (°) para as ligações interatômicas da molécula 1 da FENA-3245.	123
Tabela 36	Distâncias (Å) e Ângulos (°) das Interações de Hidrogênio para FENA-3245.	129

Tabela 37	Momentos de dipolo, μ , em Debye(D) e valores de energias em fase gasosa em unidades atômicas calculados para os compostos A1, B1, C1 e D1.	133
Tabela 38	Momentos de dipolo, μ , em Debye(D) e valores de energias em fase gasosa em unidades atômicas calculados para os compostos A2, B2, C2 e D2.	134

RESUMO

Em geral, fenazinas naturais e sintéticas têm atraído muita atenção devido às suas atividades biológicas interessantes, como agentes antitumorais antimaláricos, antibióticos entre outros. As fenazinas naturais são isoladas como metabólitos secundários de microorganismos terrestres e marinhos, principalmente de *Pseudomonas spp.* e *Streptomyces spp.*

O presente trabalho tem por objetivo a determinação das estruturas cristalinas e moleculares de 4 compostos fenazínicos derivados do Lapachol, que apresentam bioatividade para o tratamento da tuberculose e da malária, empregando o método de difração de raios X.

Os compostos fenazínicos estudados neste trabalho foram: **(Fena-3244)**: 14b-Cloro-4a-metoxi-3,3-dimetil-2,3,4a,14b-tetrahidro-1H-benzo[a]-pirano [2,3-c]fenazina **(Fena-3243)**: 1,5-Dioxa-3-dimetil-benzo[g']oxanana[e'-b]quinoxalina **(Fena-3279)**: 2,5,5-Trimetil-benzo[c]-ciclohexano[c']piran[e',a]fenazina **(Fena-3245)**: 1-allil-2-oxa-10-hidro-2H, 10H-benzo[c]fenazina. Todos os dados das intensidades difratadas foram obtidos num difratômetro automático KappaCCD, utilizando radiação monocromatizada por um cristal de grafite, de comprimento de onda igual a 0,71073 Å (molibdênio). O composto **(Fena-3244)** cristaliza no sistema monoclinico e grupo espacial $P12_1/n1$, tendo como parâmetros de rede: $a = 15,5498(6)$ Å, $b = 6,9700(10)$ Å, $c = 17,4872(7)$ Å, $\beta = 92,488(2)^\circ$ e um volume, $V = 1893,51(11)$ Å³. O composto **(Fena-3243)** cristaliza no sistema monoclinico e grupo espacial $P12_1/c1$, tendo como parâmetros de rede: $a = 8,3700(5)$ Å, $b = 11,5120(9)$ Å, $c = 18,5370(10)$ Å, $\beta = 110,223(4)^\circ$, com um volume, $V = 1676,03(19)$ Å³. O composto **(Fena-3279)** cristaliza no sistema triclinico e grupo espacial P-1, tendo como parâmetros de rede: $a = 10,9810(4)$ Å, $b = 12,6080(7)$ Å, $c = 16,0080(6)$ Å, $\alpha = 88,45(3)^\circ$, $\beta = 71,118(2)^\circ$, $\gamma = 87,203(2)^\circ$ com um volume, $V = 1047,18(8)$ Å³. O composto **(Fena-3245)** cristaliza no sistema triclinico e grupo espacial P-1, tendo como parâmetros de rede: $a = 9,4880(5)$ Å, $b = 17,7650(13)$ Å,

$c = 18,0760(12) \text{ \AA}$, $\alpha = 112,321(3)^\circ$, $\beta = 90,267(4)^\circ$, $\gamma = 90,077(4)^\circ$ com um volume, $V = 2818,4(3) \text{ \AA}^3$.

Os resultados obtidos para os compostos Fena-3244, Fena-3243 confirmaram as respectivas estruturas propostas por diferentes técnicas espectroscópicas (RMN, Ultravioleta). Os resultados para Fena-3279 elucidaram a dúvida existente quanto à aromaticidade do anel C. Para Fena-3245 evidenciaram a discordância do modelo estrutural comparado ao modelo proposto quanto ao grupo funcional ligante em C5. Foram determinadas também todas as possíveis interações de hidrogênio nos empacotamentos cristalinos das moléculas, permitindo que fossem estabelecidos os seus respectivos arranjos.

Palavras-chaves: difração de raios X, malária, tuberculose, fenazinas, KappaCCD, derivados do lapachol.

ABSTRACT

In general, natural and synthetic phenazines have attracted much attention because of their biological activities, like antitumour agents antimalarials, antibiotics, among others. The natural phenazines are isolated as secondary metabolites of terrestrial and marine microorganisms, mainly of *Pseudomonas spp.* and *Streptomyces spp.*

This work aiming the structural determination of phenazinic compounds, derivatives that present bioactivity for the treatment of malaria and tuberculosis, using the X-ray diffraction method.

The phenazinic compounds had been: **(Fena-3244)**: 14b-Chloro-4a-methoxy-3,3-dimethyl-2,3,4a,14b-tetrahydro-1H-benzo[a]-pyrano[2,3-c]phenazine, **(Fena-3243)**: 1,5-Dioxa-3-dimethyl-benzo[g']oxanane[e'-b]quinoxaline **(Fena-3279)**: 2,5,5-Trimethyl-benzo[c]-cyclohexan[c']pyran[e',a]phenazine **(Fena-3245)**: 1-allyl-2-oxa-10-hydro-2H, 10H-benzo[c]phenazine. All the data collection had been obtained in one automatic KappaCCD, diffractometer using monocromatizada radiation for a graphite crystal, of wave length of 0.71073 Å (molybdenum). The compound **Fena-3244** crystallize in the Monoclinic system and belongs to space group $P12_1/n1$, with cell parameters $a = 15.5498$ (6) Å, $b = 6.97000$ (10) Å, $c = 17.4872$ (7) Å, $\beta = 92.488$ (2) Å, with a volume, $V = 1893.51$ (11) Å³. The compound **Fena-3243**, crystallize in the Monoclinic system and belongs to the space group $P12_1/C1$, with cell parameters of $a = 8.3700$ (5) Å, $b = 11.5120$ (9) Å, $c = 18.5370$ (10) Å, $\beta = 110.223$ (4)°, with a volume, $V = 1676.03$ (19) Å³. The compound **Fena-3279**, crystallize in the crystalline system Triclinic, belongs to the space group $P - 1$, with parameters of $a = 10.9810$ (4), $b = 12.6080$ (7), $c = 16.0080$ (6) Å, $\alpha = 88.449$ (3)°, $\beta = 71.118$ (2)°, $\gamma = 87.203$ (2)°, $V = 1047.18$ (8) Å³. The compound **Fena-3245**, crystallize in the Triclinic system and belongs to the space group $P - 1$, with cell parameters of $a = 9.4880$ (5) Å, $b = 17.7650$ (13) Å, $c = 18.0760$ (12) Å, $V = 2818.4$ (3) Å³.

The results for the compound Fena-3244 and Fena-3243 confirmed their proposed structures for different spectroscopic techniques (NMR, Ultraviolet).

The results for Fena-3279 show the existing doubts about the aromaticity of ring C. For Fena-3245 revealed the discrepancy structural model of the proposed model as compared to the functional binder group in C5. There were also certain all possible interactions of hydrogen in the bundling of crystalline molecules, allowing them to be established their respective arrangements.

Key- Words: X ray diffraction, phenazine, malaria, tuberculosis, KappaCCD.