



Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Química e Biotecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química e
Biotecnologia
www.iqb.ufal.br

Av. Lourival de Melo Mota, s/n
Cidade Universitária
Maceió-AL Brasil
57072-970
Tel. 55 82 3214-1373
Fax. 55 82 3214-1384



IOB

PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE DERIVADOS 4-AMINOQUINOLÍNICOS PARA A OBTENÇÃO DE COMPLEXOS METÁLICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMALÁRICA

Raquel de Meneses Santos

Maceió – Alagoas
Fevereiro de 2010



Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Química e Biotecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química e
Biotecnologia
www.iqb.ufal.br

Av. Lourival de Melo Mota, s/n
Cidade Universitária
Maceió-AL Brasil
57072-970
Tel. 55 82 3214-1373
Fax. 55 82 3214-1384



IOB

PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE DERIVADOS 4-AMINOQUINOLÍNICOS PARA A OBTENÇÃO DE COMPLEXOS METÁLICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMALÁRICA

Raquel de Meneses Santos

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti

Maceió – Alagoas
Fevereiro de 2010

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

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

S237p Santos, Raquel de Meneses.
Planejamento e síntese de derivados 4-aminoquinolínicos para a obtenção de complexos metálicos com potencial atividade antimalárica / Raquel de Meneses Santos, 2010.
xi, 108 f. : il., grafs.

Orientador: Mario Roberto Meneghetti.
Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2010.

Bibliografia. f. 103-104.
Anexos f. 132-180.

1. Antimaláricos. 2. Complexos e compostos orgânicos. I. Título.

CDU: 54.057:616.936



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1384, Fax: (82) 3214-1384
Email: cpgqb@qui.ufal.br

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de **Raquel de Meneses Santos**, intitulada: "**Planejamento e Síntese de Derivados 4-Aminoquinolínicos para a Obtenção de Complexos Metálicos com Potencial de Atividade Antimalárica**", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 12 de fevereiro de 2010, às 10h na Sala de Aulas do PPGQB/UFAL.

COMISSÃO JULGADORA

Prof.º Dr.º Mario Roberto Meneghetti
Orientador – PPGQB/IQB/UFAL

Prof.º Dr.º Brenno Amaro da Silveira Neto
IQ-UnB

Prof.ª Dr.ª Simone Margareti Pfentz Meneghetti
PPGQB/IQB/UFAL

Prof.º Dr.º Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana
PPGQB/IQB/UFAL

**Este trabalho foi realizado sob a orientação do
Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti.**

À minha mãe

Dedico

"É sábio olhar para trás , pois é avaliando a tortuosidade de nossas pegadas que poderemos garantir um caminho reto para o futuro. Se buscamos algo não importa o tempo para conseguí-lo. O que importa é a persistência, o emprego de todas as energias necessárias até alcançarmos nossos objetivos".

Autor Desconhecido

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre presente na minha vida, abençoando todos os meus passos.

A minha mãe, a pessoa mais importante da minha vida, que sempre me incentivou e proporcionou oportunidades de conquistar todos os meus objetivos. Tudo o que sou e o que sei devo a ela.

Ao meu irmão Wagner, muito companheiro, amigo e prestativo. Sempre me apoiou em todos os momentos da minha vida.

Ao meu namorado, Fabiano, muito companheiro que me deu força e incentivo em todos os momentos durante este trabalho.

Aos meus familiares (avós, tios, tias e primos) pela dedicação, proteção e ensinamentos.

Ao Prof. Mario Meneghetti, por me acolher, pela paciência, dedicação, confiança e ensinamentos ao longo deste trabalho. Um verdadeiro orientador!

Ao Giva pela grande amizade firmada, ensinamentos e companheirismo.

A Soraya, minha grande amiga farmacêutica, sempre companheira e dedicada.

A Roberta pela sua grande colaboração e dedicação neste trabalho, além companheira e amiga.

Ao Davi pela grande contribuição ao trabalho, pela paciência, amizade e pelos ensinamentos e discussões.

A todos os meus colegas do Laboratório de Catálise e Reatividade Química (GCAR) que contribuíram de alguma forma por este trabalho.

Aos meus amigos: Allani, Fabrícia, Sivaldo e Marcos por todos os ensinamentos compartilhados durante as aulas do mestrado, amizade e carinho.

A todos os professores do Instituto de Química e Biotecnologia que contribuíram na minha formação.

Ao Laboratório de Ressonância Nuclear Magnética (UFAL) pela contribuição na caracterização das minhas amostras.

Ao Laboratório de Produtos Naturais, especialmente Fernando, pela contribuição.

Ao Laboratório de Ressonância do Departamento de Física da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a coordenação do Prof. Dr. Klaus Krambrock que gentilmente contribuiu para a caracterização dos compostos.

À Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou, Laboratório de Malária da Profa. Dra. Antoniana Krettli da UFMG, pela realização dos ensaios biológicos dos compostos.

A CAPES pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	iii
Lista de Tabelas	v
Lista de Siglas e Abreviaturas	vii
Resumo	ix
Motivação e Objetivos	x
Capítulo 1. Metais Utilizados na Medicina	2
1.1 Histórico	2
1.2 Platina	4
1.2.1 A Descoberta das Propriedades Antitumorais da Cisplatina	4
1.3 Paládio	8
1.4 Ouro	9
1.5 Rutênio	10
1.5 Ferro	11
1.5.1 Química Bioinorgânica do Ferro	11
1.5.2 Química Bioorganometálica do Ferro	12
1.6 Referências Bibliográficas	15
Capítulo 2. Aspectos Gerais sobre a Malária	19
2.1 Histórico	19
2.2 Epidemiologia	20
2.3 Eritrócito	23
2.4. Ciclo de Vida do Parasito	24
2.4.1 Hospedeiro Invertebrado	25
2.4.2 Hospedeiro Vertebrado – Homem	26
2.5 Patogenia	27
2.6 Aspectos Clínicos	28
2.7. Diagnóstico Laboratorial	29
2.8. Formação da Hemozoína	29
2.9 Mecanismos de Desintoxificação do Heme	34
2.9.1 Processos de Desintoxificação	35
2.9.2.1 Desintoxificação por Glutathione reduzida	36
2.9.2.2 Desintoxificação da Heme pelas Proteínas Ligantes	37
2.9.2.3 Desintoxificação pelo H ₂ O ₂	37

2.10. Referências Bibliográficas	38
Capítulo 3. Fármacos Antimaláricos	42
3.1 História da Quimioterapia	42
3.2 Fármacos Utilizados no Tratamento da Malária	42
3.2.1 Quinina	44
3.2.2 Mefloquina	45
3.2.3 Primaquina	46
3.2.4 Antagonista do Folato	47
3.2.5. Artemisinina e derivados	49
3.2.6 Halofantrina	51
3.2.7 Cloroquina	51
3.2.7.1 Relação Estrutura –Atividade de Novos Análogos da Cloroquina	53
3.3. Propostas de Fármacos Antimaláricos Contendo Metais	61
3.3. Referências Bibliográficas	65
Capítulo 4. Parte Experimental	70
4.1. Considerações Iniciais	70
4.2. Reagentes, Solventes, Gases e Vidrarias	70
4.3. Equipamentos	71
4.3.1. Manipulações no Preparo das Amostras para Análises	72
4.3.1.1. Espectroscopia Infravermelho-Visível (IV-Vis)	72
4.3.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	72
4.3.1.3. Análise do Ponto de Fusão	72
4.3.1.4. Cálculos Computacionais	72
4.3.1.5 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica - EPR	73
4.4. Síntese e Preparação dos Materiais	74
4.4.1. Síntese dos Ligantes	74
4.4.1.1. Preparação da N ¹ -(2-aminoetil)-N ² -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (98)	74
4.4.1.2. Preparação da N ¹ -(7-cloroquinolin-4-il)-N ² -[2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina (99).	75
4.4.1.3. Síntese do complexo de ferro(III) derivado da N ¹ -(2-aminoetil)-N ² -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (100).	76
4.4.1.4. Síntese do complexo de ferro(III) derivado da N ¹ -(7-cloroquinolin-4-	77

ii)-N ² -[2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina – (101).	
.4.1.5 Síntese do complexo de paládio (II) derivado da N ¹ -(2-aminoetil)-N ² -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina – (102)	77
4.5. Preparação dos Testes Antimaláricos	78
4.5. Referências Bibliográficas	79
Capítulo 5. Resultados e Discussão	81
5.1. Introdução	81
5.2. Síntese dos compostos aminoquinolínicos	83
5.3. Caracterização dos compostos aminoquinolínicos	85
5.4. Síntese e caracterização dos complexos	94
5.4.1 Complexos de ferro	94
5.4.1.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	94
5.4.1.2. Estudos de Ressonância Paramagnética Eletrônica	98
5.4.1.3. Espectroscopia no UV-Vis	98
5.4.2 Complexos de paládio	100
5.5. Avaliação da Atividade Antimalárica	101
5.6. Referências Bibliográficas	103
Capítulo 6. Comentários Finais, Conclusões e Perspectivas	106

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Algumas áreas da química inorgânica medicinal	4
Figura 1.2. Complexos de platina, cisplatina e carboplatina.	5
Figura 1.3. Pt(II) – composto intercalativo	6
Figura 1.4. Complexos de platina (II) contendo ligantes diamino e dicarboxílicos.	7
Figura 1.5. Complexos organometálicos de Pd(II) contendo ligantes fenazínicos.	9
Figura 1.6. Auranofina e <i>Bis</i> [1,2- <i>bis</i> (difenilfosfina)etano]ouro(I)	9
Figura 1.7. Complexos de rutênio candidatos a fármacos antineoplásicos KP1019, NAMI-A, RAPTA-C, Ru-maltol.	10
Figura 1.8. Complexo de rutênio.	10
Figura 1.9. Estrutura da ferroquina	13
Figura 1.10. Exemplo de organometálico com atividade citotóxica <i>in vitro</i> - um hidroxiferroceno	14
Figura 2.1. Número de casos de malária, Amazônia Legal, 1999 a 2007.	21
Figura 2.2. Número de casos de malária e variação, por UF de notificação. Amazônia Legal 2006 e 2007.	22
Figura 2.3. Proporção de casos de malária, por espécie de plasmódio. Amazônia Legal, 2007	22
Figura 2.4. Eritrócitos normais	24
Figura 2.5. Ciclo de vida do parasito.	26
Figura 2.6. Mosquito vetor de malária, Anopheles.	27
Figura 2.7. Eritrócitos infectados pelo <i>Plasmodium</i> .	30
Figura 2.8. Representação esquemática da ingestão da hemoglobina e catabolismo do <i>P. falciparum</i>	30
Figura 2.9. Morfologia externa do cristal da hemozoína.	31
Figura 2.10. Representação da química das etapas de formação da hemozoína a partir do núcleo da heme.	32
Figura 2.12. Possível mecanismo de toxicidade da heme livre no parasito.	35
Figura 2.13. Sistemas de desintoxificação da heme no parasito.	36
Figura 3.1. Ciclo de vida do parasito destacando a ação dos fármacos.	43
Figura 3.2. Estrutura da quinina	44
Figura 3.3. Estrutura da mefloquina.	46
Figura 3.4. Estrutura da primaquina.	46

Figura 3.5. Estrutura do ácido fólico.	47
Figura 3.6. Estruturas: dapsona (30), sulfadoxina (31), sulfadiazina (32) e sulfaleno (33).	48
Figura 3.7. Estrutura da pirimetamina e proguanil.	48
Figura 3.8. Estrutura da artemisinina e derivados.	50
Figura 3.9. Estrutura da halofantrina	51
Figura 3.10. Estrutura da cloroquina.	52
Figura 3.11. Comparação entre a molécula da quinacrina e cloroquina.	52
Figura 3.12. Compostos sintetizados para análise do efeito da posição do grupo amino e do cloro.	54
Figura 3.13. Proposta para a relação estrutura-atividade da cloroquina baseados na constante de associação.	55
Figura 3.14. Núcleo 7-cloro-4-aminoquinolínico.	56
Figura 3.15. Possível mecanismo da atividade antimalárica da cloroquina.	57
Figura 3.16. Derivados da cloroquina com os pirazóis.	58
Figura 3.17. Compostos contendo dois núcleos quinolínicos combinado com ligantes alifáticos ou aromáticos – bisquinolinas.	59
Figura 3.18. Proposta de interação entre a hemozoína e a cloroquina.	59
Figura 3.19. Série de moléculas híbridas de 2-[3-(7-cloro-quinolin-4-ilamino)-alquil]-1-(fenil substituído)-2, 3, 4,9-tetraidro-1H- β carbolicinas.	60
Figura 3.20. Representação de (arilazo)-4-hidroxi-1,2-naftoquinona(L1H) e $[Cu(L1)_2]Cl$.	61
Figura 3.21. Estrutura de $[\{ 1,12\text{-bis}(2\text{-hidroxi-3-etil-benzil})\text{-}1,5,8,12\text{-tetraazadodecano} \} \text{metal (III)}]^+$, $[M\text{-}3\text{-Eadd}]^+$ $[M=Fe(III), \mathbf{85a}; Ga(III), \mathbf{85b}]$.	62
Figura 3.22. Estrutura do ligante etilenodiamina-bis[propil((R)-benzilimino)]hexadentado (N_4O_2) e os correspondentes complexos monocatiônico (R)-ENBPA-metal(III).	63
Figura 3.23. Complexos de Au com a molécula da cloroquina.	63
Figura 3.24. Complexos de CQ-irídio.	64
Figura 5.1. Possível mecanismo de ação da cloroquina.	82
Figura 5.2. Estrutura química da ferroquina.	82
Figura 5.3. Simulação indicando as energias de ativação necessárias para reações de SN_{Ar} sobre os carbonos C4 e C7 da 4,7-dicloroquinolina, empregando dietilenotriamina como nucleófilo.	84

Figura 5.4. Espectro de RMN de ^1H do composto 98 .	86
Figura 5.5. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 98 .	87
Figura 5.6. Espectro de HSQC para a molécula 98 .	88
Figura 5.7. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 98	89
Figura 5.8. Espectro de RMN de ^1H do composto 99 em CD_3OD .	90
Figura 5.9. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 99 em CD_3OD .	91
Figura 5.10. Espectro de HSQC para a molécula 99 em CD_3OD .	92
Figura 5.11. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 99 .	94
Figura 5.12. Espectro de RMN de ^1H do composto 100 $\text{DMSO-}d_6$	95
Figura 5.13. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 100 .	96
Figura 5.14. Espectro de RMN de ^1H do composto 101 $\text{DMSO-}d_6$.	97
Figura 5.15. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto 101 .	97
Figura 5.16. Estrutura provável para os complexos octaédricos para as estruturas 100 e 101 .	99
Figura 5.17. Espectro obtido após isolamento do produto de reação entre 98 e Li_2PdCl_4 .	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Valores médios das concentrações dos metais presentes na composição do corpo humano (referência: homem adulto de 70 kg). Ref. 4	3
Tabela 1.2. Complexos de platina (II) contendo ligantes diamino e dicarboxílicos <i>in vitro</i> (IC ₅₀ , µM) contra células cancerígenas em humanos.	7
Tabela 1.3. Complexos de platina e suas respectivas porcentagens de redução da proliferação de células cancerígenas cisplatina sensível (OV2008) em 5µM e cisplatina resistente (C13) em 140µM.	7
Tabela 1.4. Funções de algumas proteínas contendo ferro.	11
Tabela 1.5. Estruturas químicas que influenciam na atividade antimalárica <i>in vitro</i>	13
Tabela 2.1. Número de casos de malária, por área especial. Amazônia Legal, 2007	23
Tabela 3.1. Classificação dos antimaláricos segundo suas propriedades químicas e quanto sua ação contra os diferentes estágios do ciclo de vida do parasito.	43
Tabela 3.2. Aspectos farmacocinéticos e efeitos adversos dos principais fármacos antimaláricos.	45
Tabela 3.3. Constantes de associação dos compostos apresentados na Figura 3.14 com Fe(III)PPIX, atividade inibitória da β-hematina e a atividade antiplasmodial contra as cepas de D10 de <i>Plasmodium falciparum</i> .	54
Tabela 3.4. Atividade antimalárica de 4-(5-trifluorometil-5-hidroxi-4,5-diidropirazol-1-il)-7-cloroquinolinas 60a–h e 4-(pirazol-1-il)-7-cloroquinolinas 61a-j .	58
Tabela 3.5. Atividade antimalárica <i>in vitro</i> contra <i>P. falciparum</i> de substâncias químicas com estrutura química básica representada na Figura 3.21.	60
Tabela 4.1. Reagentes e solventes utilizados: pureza e origem.	70
Tabela 4.2. Equipamentos empregados nesse trabalho.	71
Tabela 5.1. Dados cinéticos, eletrônicos e estatísticos dos sistemas.	85
Tabela 5.2. Dados de RMN ¹ H do composto 98 .	85
Tabela 5.3. Dados de RMN ¹³ C do composto 98 .	87
Tabela 5.4. Dados referentes a correlação direta entre os núcleos ¹ H e ¹³ C do espectro de HSQC do composto 98 .	88
Tabela 5.5. Dados de RMN ¹ H do composto 103 .	89
Tabela 5.6. Dados de RMN ¹ H do composto 99 em CD ₃ OD.	90
Tabela 5.7. Dados de RMN ¹³ C do composto 99 em CD ₃ OD.	92
Tabela 5.8. Dados referentes a correlação direta entre os núcleos ¹ H e ¹³ C do espectro	93

de HSQC do composto **99** em CD₃OD.

Tabela 5.9. Deslocamentos químicos de RMN de ¹H e ¹³C obtidos por Girault e colaboradores para o composto **99** em CD₃OD. 93

Tabela 5.10. Bandas de absorção na região do Uv-Vis para os compostos **98, 99, 100** e **101** em DMSO. 98

Tabela 5.11. Deslocamentos químicos e multiplicidades de RMN de ¹H obtidos para a mistura de reação entre Li₂PdCl₄ e **98** em DMSO-*d*₆. 101

Tabela 5.12. Dados de atividade antimárica e citotoxicidade das substâncias moléculas **98, 99, 100** e da cloroquina. 102

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

□ _{máx.}	Comprimento máximo.
a.C.	Antes de Cristo
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ATP	Adenosina trifosfato
ATR	Refletância difusa atenuada
CQ	Cloroquina
CQDP	Cloroquina difosfato
CYP3A4	Citocromo P450 3A4
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DHFR-TS	Enzima di-hidrofolato redutase-timidilato sintase
DNA	Ácido desoxirribonucléico
F.M.	Fórmula molecular
Fe(III)PPIX	Ferriprotoporfirina IX
FP	Ferriprotoporfirina IX
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GSH	Glutationa reduzida
GST	Glutationa-S-transferase
HAT	Histona acetiltransferase
HDAC	Histona desacetilase
IC ₅₀	Concentração para inibição de 50% das atividades testadas.
MIC	Concentração inibitória mínima
MM	Massa molar.
NOS	Óxido nítrico sintetase
PABA	Ácido <i>para</i> -aminobenzóico
PfCRT	Transportador de cloroquina resistente <i>P. falciparum</i>
pH`	Potencial hidrogeniônico.
PKs	Proteínas quinases
pyrm	Pirimetamina
RMN	Ressonância magnética nuclear
t	Tripleto

TMP	Trimetropim
TNF	Fator de necrose tumoral
UV-Vis	Ultravioleta visível
VD	Vacúolo digestivo
IV-Vis	Infravermelho visível
OMS	Organização Mundial de Saúde
DMSO	Dimetilsulfóxido
P.F.	Ponto de fusão

RESUMO

Esse trabalho teve com objetivo sintetizar complexos metálicos com potencial atividade antimalárica. Como resultado prático, foram sintetizados dois compostos orgânicos com esqueleto aminoquinolínico, a saber: N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (**98**) e N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)- N^2 -[2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina (**99**). As duas substâncias são análogas a estrutura molecular da cloroquina, sendo que até nosso conhecimento, o composto **98** é inédito. Foram obtidos complexos derivados de Fe(III) tendo como ligante os compostos **98** e **99** e de Pd(II) com **98**. Os compostos orgânicos foram devidamente caracterizados por diversas técnicas espectroscópicas. Contudo a determinação estrutural dos complexos, todavia requer maiores investigações. A atividade antimalárica dos dois compostos orgânicos obtidos e de um complexo de Fe(III) foram realizadas. Os resultados mostram que todos os compostos avaliados apresentaram satisfatória atividade in vitro.

Palavras-chave: Antimaláricos; Complexo e Compostos Orgânicos.

OBJETIVOS E METAS

Desenvolver metalofármacos potencialmente ativos contra a malária a partir de compostos 4-aminoquinolínicos capazes de se coordenarem a centros metálicos como Fe (III) e Pd (II).

Dentro desse contexto, as metas para este trabalho são:

- i) Sintetizar e caracterizar derivados 4-aminoquinolínicos capazes de se coordenarem de forma eficaz a centros metálicos;
- ii) Sintetizar e caracterizar complexos de Fe(III) e Pd(II) com os derivados 4-aminoquinolínicos;
- iii) Avaliar a atividade antimalárica de forma isolada, tanto dos compostos orgânicos quanto dos complexos preparados.

CAPÍTULO 1

METAIS UTILIZADOS NA MEDICINA

CAPITULO 1. METAIS UTILIZADOS NA MEDICINA

1.1 Histórico

Nesses últimos anos, o emprego de compostos contendo átomos metálicos em sua estrutura vem recebendo a atenção de pesquisadores da área de química medicinal. De fato, apesar da elucidação dos mecanismos de ação dos metais no organismo serem relativamente recente, compostos metálicos ou mesmo metais vêm sendo utilizados na medicina há aproximadamente 5000 anos. Os egípcios usavam cobre para esterilizar a água já a cerca de 3000 anos antes de Cristo, e o ouro era empregado na fabricação de medicamentos na Arábia e na China há 3500 anos. Isso, claro, que muito mais pela fascinante natureza preciosa do metal do que suas propriedades medicinais, pois se acreditava que um metal nobre deveria trazer benefícios ao organismo. Contudo, outros metais não tão nobres foram também objeto de estudo. Medicamentos contendo ferro eram usados no Egito há 1500 anos antes de Cristo e já no século dezesseis o médico suíço Theophrastus Paracelsus (1493-1541) desenvolvia e usava medicamentos à base de mercúrio.¹²

Somente nos últimos cem anos, as propriedades medicinais de compostos inorgânicos começaram a ser investigadas de forma racional, com o emprego de compostos de ouro no tratamento da tuberculose, dos antimoniais para o tratamento de leishmaniose e de compostos à base de arsênio para o tratamento da sífilis.¹² Esses trabalhos pioneiros deram origem ao que hoje é conhecido como Química Medicinal.

A Química Medicinal, de fato, teve suas origens nos trabalhos de Paul Ehrlich, prêmio Nobel em Medicina e Fisiologia em 1908 e Alfred Werner, prêmio Nobel de Química em 1913. Erlich foi o fundador da quimioterapia e introduziu as primeiras idéias sobre relações estrutura-atividade e o conceito de índice terapêutico*.⁵

Apesar da Química Inorgânica estar comumente relacionada a processos bioquímicos e biomédicos, é reconhecido que elementos metálicos possuem funções cruciais nos processos biológicos. Alguns são ativados ou biotransformados por íons metálicos incluindo metaloenzimas.²²

* Índice Terapêutico: razão entre a média de dose mínima eficaz e a média de dose máxima tolerada por um grupo de indivíduos. O índice terapêutico pretende indicar a margem de segurança no uso de um fármaco, chamando a atenção para a relação entre a dose eficaz e a dose tóxica.

Uma característica dos metais que os tornam tão importantes como componentes (funcionais e estruturais) dos seres vivos é a sua propensão em se apresentarem na forma de íons positivos, permitindo suas estruturas se tornarem solúveis em fluidos biológicos, desempenhando assim, suas principais funções biológicas. Enquanto íons metálicos apresentam-se deficientes de elétrons, biomoléculas, tais como proteínas e DNA são ricas em elétrons. Isso permite que íons metálicos interajam com moléculas biológicas.⁴ Por esse motivo, a evolução natural incorporou os metais às funções essenciais à vida.¹² Cabe salientar que aproximadamente 24 elementos são essenciais à vida dos mamíferos, conforme pode ser destacado na Tabela 1.1.⁴

Tabela 1.1. Valores médios das concentrações dos metais presentes na composição do corpo humano (referência: homem adulto de 70 kg). Ref. 4

Metais	Corpo (massa – g)	Cérebro (massa - µg)
Calcio	1050	
Potássio	140	
Sódio	105	
Magnésio	35	
Ferro	4,2	
Zinco	2,3	
Rubídio	1,1	
Zircônio	0,3	
Estrôncio	0,14	
Cobre	0,11	
Alumínio	0,10	
Chumbo	0,08	
Antimônio	0,07	
Cádmio	0,03	
Estanho	0,03	
Manganês	0,02	500
Vanádio	0,02	45
Bário	0,02	
Arsênio	0,01	
Níquel	0,01	
Cromo	0,005	
Cobalto	0,003	
Molibdênio	<0,005	
Lítio	0,002	20

Os processos biológicos de interesse da Química Inorgânica Medicinal estão mostrados, de forma geral, na Figura 1.1, abrangendo terapias como a de quelação, diagnóstico, ou mesmo o uso de complexos metálicos como fármacos.²²

De fato, a coordenação dos cátions metálicos pode alterar significativamente o perfil fisiológico dos fármacos. A lipofilia pode ser modificada pela combinação metal-

fármaco, o complexo pode ser mais ativo do que o ligante livre, alguns efeitos colaterais podem diminuir pela complexação, o mecanismo de ação pode envolver ligação a um metal *in vivo*, como no caso da ligação aos sítios metálicos de enzimas, e o complexo metálico pode ser um veículo para a ativação do ligante como agente citotóxico, etc. Como exemplos ilustrativos, podem-se citar a captação celular de complexos de cobre de tiossemicarbazonas, que comparativamente, são mais biodisponíveis que em relação aos ligantes livres em razão de um aumento da lipofilia; ou o fato de que complexos de cobre e zinco podem exibir atividades similares a enzimas superóxido dismutases, que atuam como agentes tóxicos mediadores de inflamação, câncer e AIDS.¹²

Embora a grande maioria dos fármacos modernos seja puramente compostos orgânicos, o uso de metalo-fármacos está aumentando para finalidades terapêuticas e de diagnóstico. O exemplo mais proeminente do uso de metalo-fármaco em nível terapêutico é a cisplatina, $cis\text{-}[(\text{NH}_3)_2\text{PtCl}_2]$, que tem seu uso clínico no tratamento do câncer testicular e outros.^{1,23}

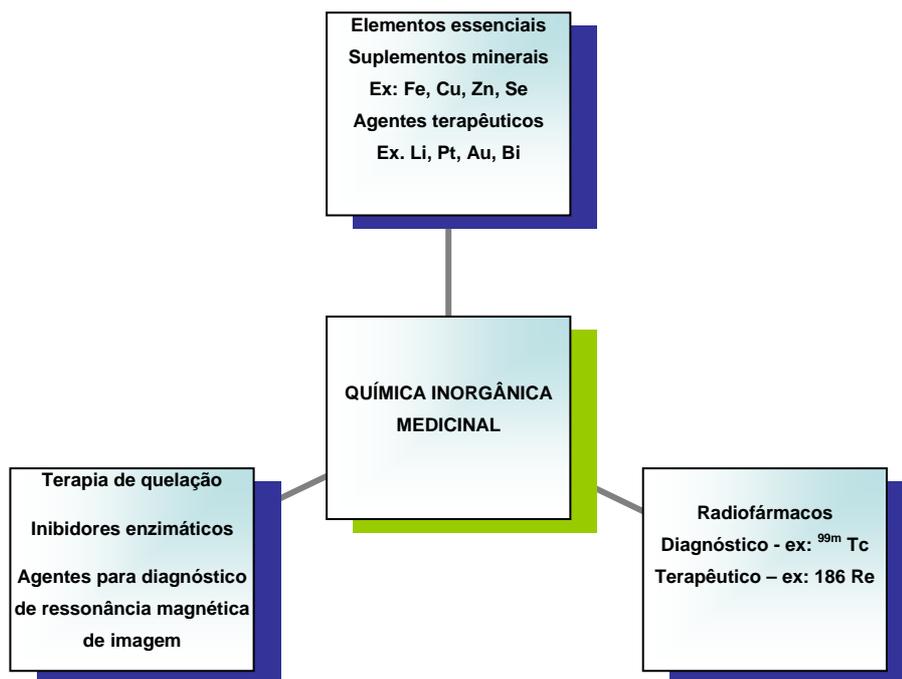


Figura 1.1. Algumas áreas da química inorgânica medicinal.²²

1.2 Platina

1.2.1 A Descoberta das Propriedades Antitumorais da Cisplatina

Devido a sua importância, cabe aqui dedicar um comentário sobre a descoberta das propriedades antitumorais da cisplatina. Apesar dos trabalhos pioneiros de Ehrlich e

Werner, a descoberta feita pelo físico Barnett Rosenberg em 1965, das propriedades antitumorais do *cis*[(diaminodicloro)platina(II)], $cis[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, o chamado “cisplatina” (Figura 1.2 ; 1) é um marco da Química Inorgânica Medicinal. O composto, que já era conhecido desde o final do século XIX, é um arquétipo de droga inorgânica, pois não contém um só átomo de carbono.⁵

O estudo de complexos metálicos para uso na quimioterapia teve grande impulso depois da descoberta das propriedades antitumorais do *cis*-diaminodicloroplatina(II). Esse complexo foi primeiramente descrito por Reiset em 1844 e, um ano após, Peyrone descreveu outro composto com a mesma fórmula molecular, sendo que apenas em 1893, Werner propôs serem os dois compostos isômeros: o complexo de Reiset correspondia ao isômero *trans* e o Peyrone à forma *cis*. Entretanto, as propriedades antitumorais de compostos contendo platina só foram descobertas mais de um século após a descrição dos compostos de Reiset e Peyrone.¹²

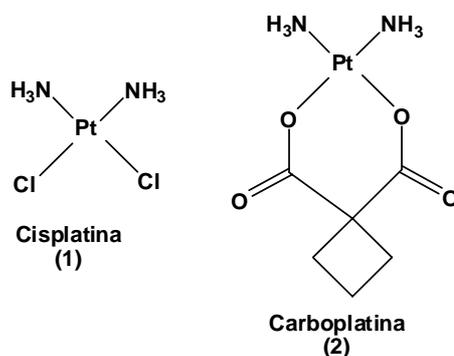


Figura 1.2. Complexos de platina, cisplatina e carboplatina.

Já no início da década de 70, a cisplatina começou a ser submetida a testes clínicos, inicialmente em pacientes terminais e posteriormente em tumores localizados como câncer de testículo e ovário, tendo sido lançado no mercado americano em 1979. O carcinoma testicular, que era quase sempre letal, tornou-se curável em cerca de 80% dos casos quando submetido ao tratamento com esse composto. Atualmente, a cisplatina é usada em vários outros tipos de neoplasias, como câncer de pulmão, cabeça, esôfago, estômago, linfomas, melanoma, osteossarcoma de mama e cérvix, sobretudo em associação com outras drogas, em vários esquemas terapêuticos.¹²

A observação em 1965 por Rosenberg da inibição da divisão bacteriana pela cisplatina formada durante experimentos de eletrólise com eletrodos de platina em meios nutritivos levou aos efeitos antiproliferativos dos compostos sendo aplicados para

a terapia de tumores humanos e hoje, fármacos com platina estão entre os mais ativos e difundidos utilizados como agentes clínicos para o tratamento de câncer avançado. Para o tratamento de câncer testicular, a adição de fármacos contendo platina levou ao aumento da taxa de sobrevivência. Os fármacos contendo platina têm utilidade clínica no tratamento do câncer de ovário, bexiga, cabeça e pescoço.¹

A cisplatina e a segunda geração alternativa, a carboplatina (Figura 1.2; 2), são ainda os agentes quimioterápicos para o câncer mais difundidos e utilizados, melhorando a sobrevivência dos pacientes em todo o mundo. O sucesso da cisplatina tem provocado muito interesse no desenvolvimento de novos complexos metálicos para diagnóstico e/ou para tratar doenças incluindo diabetes, Alzheimer e câncer.²² Ambos os compostos parecem agir formando adutos com DNA, desse modo interferindo com a transcrição e replicação do DNA para provocar apoptose da célula. Infelizmente, agentes contra o câncer baseados em platina não são específicos, resultando em toxicidade significativa. Vários tipos de câncer, incluindo pulmão, colorretal e ovário são intrinsecamente resistentes aos agentes de platina.²⁴

Modificações na estrutura do ligante têm resultado em compostos antitumorais potentes que são ativos em células cancerígenas resistentes à cisplatina, e também incluem características adicionais para permitir um entendimento maior do mecanismo de ação do fármaco. Como um exemplo, uma série de compostos de Pt (II) com fragmentos intercalados adicionais (Figura 1.3; 3). Este derivado mostrou maior atividade *in vitro* comparada à cisplatina em todas as células cancerígenas testadas.²⁴

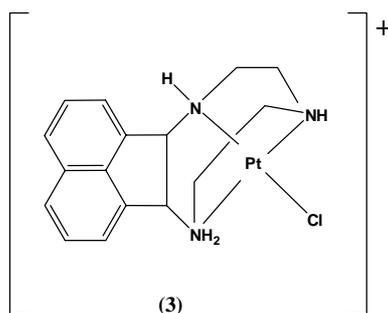


Figura 1.3. Pt(II) – composto intercalativo.²⁴

Os complexos 4, 5 e 6 (Figura 1.4) mostraram-se mais ativos que a cisplatina contra todas as células cancerígenas testadas (Tabela 1.2). Especialmente, o complexo 6 mostrou excelente atividade contra o câncer de estômago, YCC-3, que não é responsivo à cisplatina e carboplatina (Figura 1.3; 1 e 2 respectivamente)¹⁶.

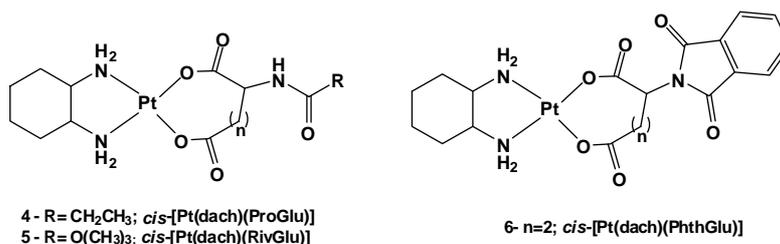

Figura 1.4. Complexos de platina (II) contendo ligantes diamino e dicarboxílicos

Tabela 1.2. Complexos de platina (II) contendo ligantes diamino e dicarboxílicos *in vitro* (IC₅₀, μM) contra células cancerígenas em humanos.

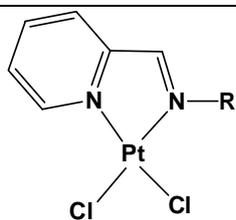
Células Cancerígenas ^a	4	5	6	Cisplatina	Carboplatina
AGS	3,72	7,42	46,8	22,9	>1000
MDA-MB-231	3,72	3,34	203,5	52,8	68,4
HT-29	9,79	12,99	248,9	15,0	104,8
YCC-3	137,1	29,71	2,22	105,5	902,0
A-549	3,7	3,34	19,1	6,22	65,3

AGS: câncer de estômago; MDA-MB-231: câncer de mama; HT-29: câncer de cólon; YCC-3: câncer de estômago Korean; A-549: células de câncer de pulmão.

A atividade citotóxica dos complexos de platina **7-13** foram testados contra células ovarianas de humanos ambos cisplatina sensível (OV2008) e resistente (C13) (Tabela 1.3). Os compostos **7-9** mostraram atividade considerável contra células OV2008 (cisplatina sensível). Para as células cancerígenas cisplatina resistente (C13), o composto 7 apresentou atividade considerável.⁸

Tabela 1.3. Complexos de platina e suas respectivas porcentagens de redução da proliferação de células cancerígenas cisplatina sensível (OV2008) em 5μM e cisplatina resistente (C13) em 140μM.

Complexo	OV2008	C13
Cisplatina	44±11	41±8
7	21±3	37±8
8	40±10	86±6
9	19±11	95±2
10	0	79±19
11	0	77±6
12	0	93±1
13	6±7	11±11



7 - R = fenil
 8 - R = 2,6-(CH₃)₂C₆H₃
 9 - R = 2,6-Et₂C₆H₃
 10 - R = 2,6-Pr₂C₆H₃
 11 - R = 2-MeC₆H₄
 12 - R = 2-naphtil
 13 - R = 2-antraceno

1.3 Paládio

Baseando-se na descoberta das propriedades antitumorais da cisplatina, cresceu o interesse em descobrir outros complexos mais eficientes de outros metais e ligantes¹³ Há alguns anos, foi mostrado que não apenas complexos com Pt(II) exibiam propriedades antitumorais, mas também outros compostos contendo rutênio, ródio ou paládio foram caracterizados pela sua atividade citostática.¹⁷

Os complexos metálicos de Pd(II) são extensivamente investigados há décadas e têm encontrado diversas aplicações como em catálise homogênea, química supramolecular, na área tecnológica como materiais líquido-cristalinos, na área médica como agentes antitumorais, entre outras. Estes compostos apresentam também uma rica reatividade química frente a compostos orgânicos e inorgânicos, originando espécies com de enorme variedade estrutural. Na química medicinal, complexos de Pd(II) foram alvo de grande destaque. Por exemplo, o complexo [Pd(C₉H₁₁N₃S)Cl₂], contendo o ligante derivado da tiossemicarbazona, apresentou atividade citotóxica *in vitro* frente a certos tipos de células cancerígenas, sendo a mesma superior àquela do análogo com Pt(II).³

As razões para a pesquisa de complexos com paládio em busca de novos agentes antitumorais pode ser justificada pela sua facilidade nas mudanças dos ligantes, bem como, a capacidade para formar predominantemente isômeros *trans*¹⁷. Os íons Pd (II) são capazes de interagir com o DNA, possibilitando a passagem de ligantes e inibindo sua síntese bem como induzindo a apoptose celular.¹⁴

Alguns estudos com complexos de tiossemicarbazonas com Pd(II) *in vitro* apresentaram-se ativos em células tumorais resistentes ao cisplatina. O complexo de Pd(II) exibiu maior atividade citotóxica sobre as células resistentes e formou mais ligações interfitas, provavelmente em razão da maior reatividade.⁵

Recentemente, em nosso grupo de pesquisa, foram sintetizados complexos organometálicos de Pd(II) contendo ligantes fenazínicos (Figura 1.5). Suas atividades biológicas foram avaliadas com resultados bastante promissores. Os resultados mostraram que todos os derivados apresentaram atividade frente ao *P. falciparum*. Particularmente, o composto de maior atividade (**15**) apresentou IC₅₀ de 4,01µM. Este valor é, contudo, moderado frente ao padrão cloroquina (0,40µM).²¹

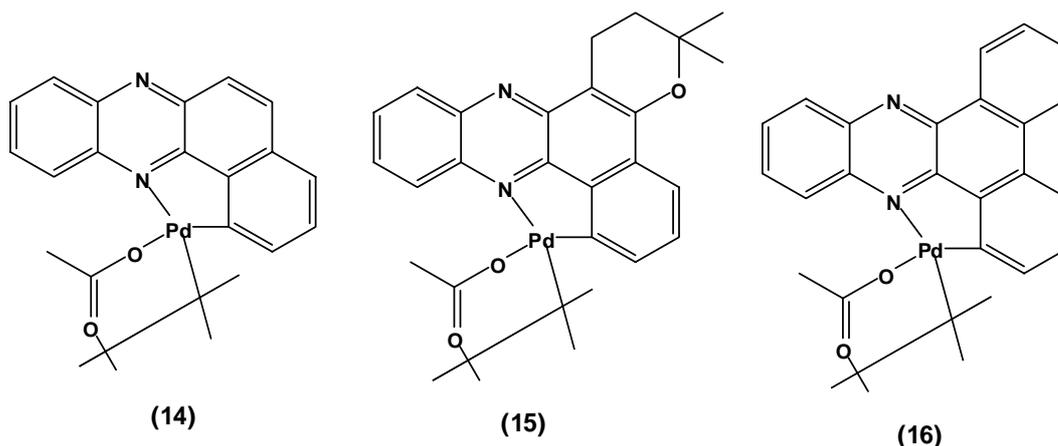


Figura 1.5. Complexos organometálicos de Pd(II) contendo ligantes fenazínicos.

1.4 Ouro

Apesar dos compostos de ouro terem sido utilizados na terapia desde 1920, inicialmente contra a tuberculose e depois contra a artrite, o mecanismo de ação e sua administração ainda não estão entendidos.

Compostos de ouro (Figura 1.6), como a auranofina (**17**), têm sido utilizados há muito tempo para o tratamento de artrite reumatóide, mas têm sido também investigados quanto às suas propriedades antitumorais. Podem se destacar ainda outros derivados de ouro (I) com fosfinas. O composto **18**, bis[1,2-bis(difenilfosfino)etano]ouro(I) também tem apresentado um grande espectro de atividade antitumoral *in vitro* (Figura 1.6).¹²

O interesse na utilização do ouro para o desenvolvimento de novos análogos com atividade biológica tem sido empregado na química inorgânica medicinal durante várias décadas. Isto pode ser exemplificado pela quantidade de relatos no uso de complexos de tiolatos poliméricos de Au(I) para o tratamento da artrite reumatóide e mais recentemente o uso da auranofina. Também complexos de ouro(III), isoeletrônico com complexos de platina anti-tumoral, tem sido avaliado *in vitro*, mostrando efeitos citotóxicos significantes. Os complexos com ouro também são avaliados contra doenças tropicais como, malária, tripanossomíase e leishmaniose¹⁹.

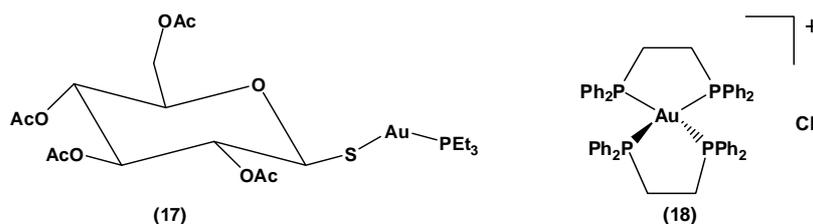


Figura 1.6. Auranofina e Bis[1,2-bis(difenilfosfino)etano]ouro(I)

1.5 Rutênio

Complexos de platina representam uma importante função no tratamento de câncer e está incluído em 50% dos esquemas terapêuticos. Mas devido aos seus efeitos colaterais, alta toxicidade, atividade limitada em vários tipos comuns de tumor, outros complexos, com base em outros metais, estão sendo sintetizados e testados como quimioterápicos. Complexos de Ru(III), como os mostrados na Figura 1.7, têm atraindo o interesse de vários grupos de pesquisa, pois vem demonstrando propriedades farmacológicas muito promissoras.^{15,20}

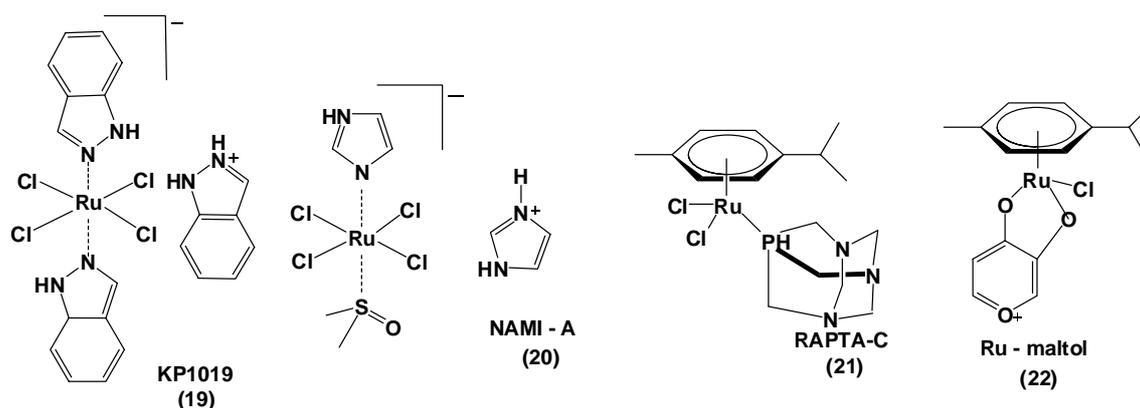


Figura 1.7. Complexos de rutênio candidatos a fármacos antineoplásicos KP1019, NAMI-A, RAPTA-C, Ru-maltol.¹⁵

O complexo **23** (Figura 1.8) age como um potente inibidor de certas proteínas quinases (PKs) em pequenas concentrações nanomolares, com uma afinidade duas vezes maior que certas PKs estabelecido puramente por inibidores orgânicos. As proteínas quinase são uma chave na modulação da atividade enzimática por transferência do grupo γ -fosfato do ATP (adenosina trifosfato) co-substrato para o grupo hidroxila da serina, treonina ou tirosina na proteína alvo. Esta fosforilação é especialmente importante no controle de sinais de transdução e atividade quinase regulada é uma causa freqüente de doenças.²³

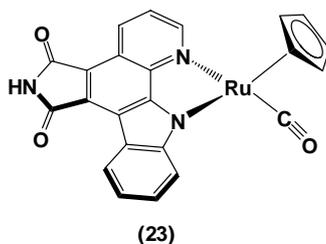


Figura 1.8. Complexo de rutênio.

1.5 Ferro

1.5.1 Química Bioinorgânica do Ferro

O ferro é extremamente abundante na crosta terrestre. Sua versatilidade é única, podendo ser interconvertido em dois estados de oxidação. Está nos centros ativos de moléculas responsáveis pelo transporte de oxigênio e de elétrons e é encontrado em diversas metaloenzimas como várias oxidases, hidrogenases, redutases, desidrogenases, desoxigenases contribuindo em vários processos vitais no ser humano (Tabela 1.4).⁹ Também é essencial para a síntese do DNA, respiração e reações metabólicas. Os níveis de ferro na célula devem ser balanceados, pois em excesso, conduzem à formação de radicais livres danosos ao corpo como pode ser observado pela reação de Fenton.¹⁰

Pequenas quantidades de ferro são essenciais tanto para animais como para vegetais. Contudo, como ocorre com o Cu e Se, é tóxico em quantidades maiores.¹⁰

Tabela 1.4. Funções de algumas proteínas contendo ferro.⁹

Proteína	Valor de proteína (g)	Valor de Fe (g)	Total de Fe no corpo (%)	Natureza do Fe hêmico (H) e não hêmico (N)	Nº de átomo de Fe ligados por molécula	Estado de oxidação	Função
Hemoglobina	750	2,60	65	H	4	Fe ²⁺	Transporte de oxigênio no plasma
Mioglobina	40	0,13	6	H	1	Fe ²⁺	Armazenamento de oxigênio no músculo
Transferrina	20	0,007	0,2	N	2	Fe ³⁺	Transporte de ferro via plasma
Ferritina	2,4	0,52	13	N	0-4, 500	Fe ³⁺	Armazenamento de ferro nas células
Hemossiderina	1,6	0,48	12	N	5,000	Fe ³⁺	Armazenamento de ferro nas células
Catalase	5,0	0,004	0,1	H	-	Fe ²⁺	Metabolismo de H ₂ O ₂
Citocromo c	0,8	0,004	0,1	H	1	Fe ²⁺ /Fe ³⁺	Oxidação terminal
Peroxidase	-	-	-	H	-	-	Metabolismo de H ₂ O ₂
Citocromos e oxidases	-	0,02	<0,5	H	-	Fe ²⁺ /Fe ³⁺	Oxidação terminal

Danos celulares induzidos por oxidações mediadas por radicais ocorrem em muitas condições patológicas, assim como isquemia, inflamação, doenças

neurodegenerativas, câncer e outras. Durante o processo oxidativo, a estrutura e a função celular podem ser dramaticamente afetadas, por envolvimento com o DNA, peroxidação lipídica, danos em proteínas, etc. Ambos os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos provém de uma proteção eficiente dos organismos contra o estresse oxidativo. A captura efetiva de ferro é uma das mais importantes defesas oxidantes naturais. Portanto, o ferro nunca está livre nos sistemas biológicos, sendo transportado e armazenado pelas proteínas transferrina e ferritina.¹³

O uso de fortes agentes quelantes de ferro é, portanto, uma estratégia de proteção contra danos oxidativo. Consequentemente, trabalhos *in vitro* mostram a capacidade de quelatos de ferro para proteger células deste dano. Agentes quelantes de ferro podem evitar dano oxidativo evitando a redução de Fe(III) ou reação de Fe(II) com O₂, O₂⁻ e H₂O₂. Isto pode ser conseguido alterando o potencial redox de ferro ou suprimindo sua acessibilidade para superóxido e/ou peróxido de hidrogênio.¹³

1.5.2 Química Bioorganometálica do Ferro

A química bioorganometálica é um campo dedicado à síntese e ao estudo de espécies organometálicas de interesse biológico e medicinal. Trabalhos promissores de química medicinal têm utilizando a estratégia de incorporar fragmentos moleculares contendo metais, recebendo particular interesse aqueles derivados ferroceno, devido às suas características lipofílica, redox, estabilidade química e baixa toxicidade. Exemplos de derivados ferrocenil biologicamente ativos como agentes terapêuticos antibacteriano, antifúngico, antimalárico e antineoplásico incluindo ferrocenos.¹⁸

A descoberta de candidatos a fármacos antimaláricos com fragmentos ferrocênicos (Figura 1.9) tem sido de grande interesse na área de bioorganometálicos, pois as propriedades da ferroquina auxiliam na acumulação no vacúolo digestivo do parasito via o núcleo 4-aminoquinolínico e a alta atividade antimalárica devido ao fragmento metalocênico. Os compostos **24a-e** e **25a-e** (Tabela 1.5) foram avaliados *in vitro* contra quatro diferentes cepas de *P. falciparum*. Os resultados indicam que nos compostos em que o núcleo 4-aminoquinolínico encontra-se ausente, foram observadas atividades antimaláricas promissoras, principalmente para **24b** e **25b**, cuja introdução do grupo amino na cadeia lateral deve facilitar seu transporte ao vacúolo digestivo ácido do parasito. Já os compostos **24c** e **25c** foram os mais ativos contra diferentes cepas de

P. falciparum, mas os compostos puramente orgânicos (24d, 24e, 25d e 25e) tiveram potência equivalente.⁶

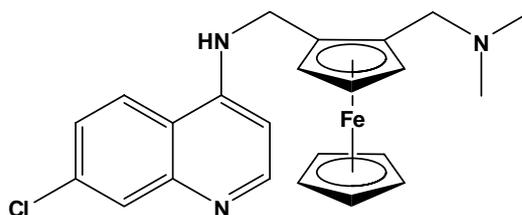


Figura 1.9. Estrutura da ferroquina

Tabela 1.5. Estruturas químicas que influenciam na atividade antimalárica *in vitro*.⁶

Composto	Ar X Y	R	Composto	Ar X Y	R
24a	Cl Cl		25a	Br H	
24b	Cl Cl		25b	Br H	
24c	Cl Cl		25c	Br H	
24d	Cl Cl		25d	Br H	
24e	Cl Cl		25e	Br H	
Estrutura geral		<p>(24)</p>			

Os metallocenos em particular têm numerosos exemplos de quimioterápicos potentes que agem via mecanismos diferentes que o da cisplatina. Um anel fenil do tamoxifeno, um fármaco anti-estrógeno usado amplamente para a terapia de hormônios para o câncer de mama, foi substituído pelo fragmento ferroceno para aumentar a

citotoxicidade. Um dos hidroxiferrocenos (Figura 1.10) exibiu atividade antiproliferativa excepcional no câncer de mama nas células *in vitro*.²⁴

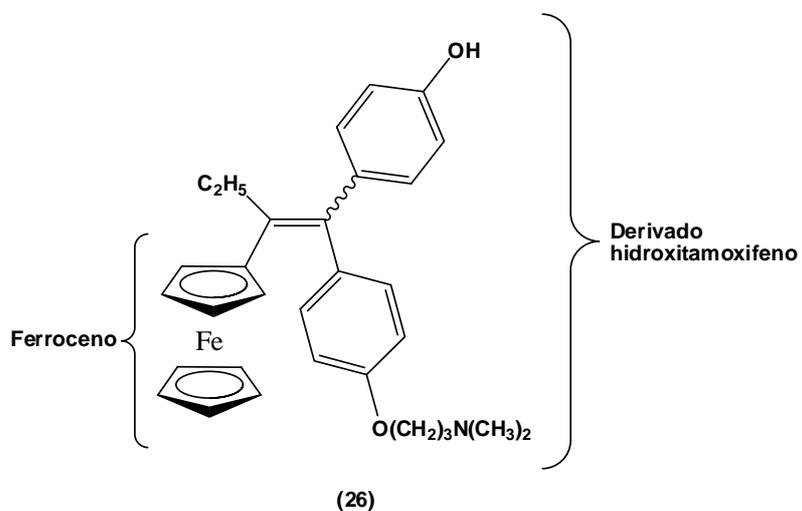


Figura 1.10. Exemplo de organometálico com atividade citotóxica *in vitro* - um hidroxiferroceno

1.6 Referências Bibliográficas

1. Abrams, M.J.; Murrer, B. A. Metal compounds in therapy and diagnosis. *Science*, **1993**, 261, 725-730.
2. Ajibade, P. A.; Kolawole, G. A. Synthesis, characterization and antiprotozoal studies of some metal complexes of antimalarial drugs. *Transation Metal Chemistry*, **2008**, 33, 493-497.
3. Almeida, E.T.; Mauro, A.E.; Santana, A.M.; Netto, A.V.G. Emprego de compostos organometálicos mononucleares de paládio (II) na ativação de macrófagos peritoneais de camundongos. *Química nova*, **2005**, 28, 3, 405-408.
4. Benite, A. M. C.; Machado, S. P.; Barreiro, E.J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. *Química Nova*, **2007**, 30, 8, 2062- 2067.
5. Beraldo, H. Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. *Química Nova*, **2004**, 27, 461-471.
6. Biot, C.; Pradines, B; Sergeant, M.H.; Gut, J.; Rosenthal, P.J.; Chibale, K. Design, synthesis, and antimalarial activity of structural chimeras of thiosemicarbazone and ferroquine analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2007**, 17, 6434-6438.
7. Blackie, M.A.L.; Beagley, P.; Croft, S.L.; Kendrick, H.; Moss, J. R.; Chibale, K. Metallocene-based antimalarials: an exploration into the influence of the ferrocenyl moiety on in vitro antimalarial activity in chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant strains of *Plasmodium falciparum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2007**,15, 6510-6516.
8. Conrad, M.L.; Emman, J.E.; Scales, S.J.; Zhang, H.; Vogels, C.M.; Saleh, M.T.; Decken, A.; Westcott, S.A. Synthesis, characterization, and cytotoxicities of platinum(II) complexes bearing pyridinecarboxaldimines containing bulky aromatic groups. *Inorganica Chimica Acta*, **2005**, 358, 63-69.
9. Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 6th ed., Wiley: Canadá, 1999.

10. Dunn, L. L.; Rahmanto, Y. S.; Richardson, D. R. Iron uptake and metabolism in the new millennium. *Trends in Cell Biology*, **2006**, 17, 93-100.
11. Faa, G; Crisponi, G. Iron chelating agents in clinical practice. *Coordination Chemistry Reviews*, **1999**, 184, 291-310.
12. Fontes, A. P. S.; César, E. T.; Beraldo, H. A química inorgânica na terapia do câncer. *Cadernos Temáticos de Química na Escola*, **2005**, nº 6.
13. Galey, J.B.; Dumats, J.; Genard, S.; Destree, O.; Pichaud, P.; Cctroux, P.; Marrot, L.; Beck, I.; Fernandez, B.; Barre, G.; Seite, M.; Hussler, G.; Hocquaux, M. N,N'-bis-(3,4,5-trimetoxybenzyl) ethylenediamine N,N'-diacetic acid as a new iron chelator with potential medicinal applications against oxidative stress. *Biochemical Pharmacology*, **1996**, 51, 103-115.
14. Garoufis, A.; Hadjikakou, S.K.; Hadjiliadis, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. *Coordination Chemistry Reviews*, **2009**, 253, 1384-1397.
15. Kandioller, W.; Hartinger, C. G.; Nazarov, A. A.; Kasser, J.; John, R.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Dyson, P.J.; Keppler, B. Tuning the cancer activity of maltol-derived ruthenium complexes by derivatization of the 3-hydroxy-4-pyrone moiety. *Journal of Organometallic Chemistry*, **2009**, 694, 922-929.
16. Kim, Y.S.; Song, R.; Chung, H.C.; Jun, M.J.; Sohn, Y.S. Coordination modes vs. antitumor activity: synthesis and antitumor activity of novel platinum (II) complexes os N-substituted amino dicarboxylic acids. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2004**, 98, 98-104.
17. Kuduk-Jaworska, J.; Puszko, A.; Kubiak, M.; Pelczynska, M. Synthesis, structural, physic-chemical and biological properties of new palladium (II) complexes with 2,6-dimethyl-4-nitropyridine. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2004**, 98, 1447-1456.
18. Mooney, A.; Corry, A.J.; O'Sullivan, D.; Rai, D.K.; Kenny, P.T.M. The synthesis, structural characterization and anti-cancer activity of novel N-(3-ferrocenyl-2-naphthoyl) dipeptide ethyl esters and novel N-(6-ferrocenyl-2-

- naphthoyl) dipeptide ethyl esters. *Journal of Organometallic Chemistry*, **2009**, 694, 886-894.
19. Navarro, M.; Hernández, C.; Colmenares, I.; Hernández, P.; Fernández, M.; Sierralta, A.; Marchán, E. Synthesis and characterization of [Au(dppz)₂]Cl₃. DNA interaction studies and biological activity against *Leishmania (L) mexicana*. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2007**, 101, 111-116.
20. Piccioli, F.; Sabatini, S.; Messori, L.; Orioli, P.; Hartinger, Ch. G.; Keppler, B. K. A comparative study of adduct formation between the cancer ruthenium (III) compound HInd trans-[RuCl₄ (Ind)₂] and serum proteins. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2004**, 98, 1135-1142.
21. Reys, J.R.M.; Tese de Doutorado – Desenvolvimento de Métodos Eletroquímicos e Espectrofotométricos para Avaliação de Antimaláricos. Organometálicos de Paládio: síntese, caracterização e análise de atividades biológicas. Universidade Federal de Alagoas, Brasil, 2009.
22. Ronconi, L.; Sadler, P.J. Using coordination chemistry to design new medicines. *Coordination Chemistry Reviews*, **2007**, 251, 1633-1648.
23. Schatzschneider, U.; Metzler-Nolte, N. New principles in medicinal organometallic chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 1504 – 1507.
24. Storr, T.; Thompson, K.H.; Orvig, C. Design of targeting ligands in medicinal inorganic chemistry. *Chemical Society Reviews*, **2006**, 35, 534-544.

CAPÍTULO 2

ASPECTOS GERAIS SOBRE A MALÁRIA

CAPITULO 2. ASPECTOS GERAIS SOBRE A MALÁRIA

2.1 Histórico

Devido a efeitos diretos na saúde, a malária tem sido um sério problema na história da humanidade há milhares de anos. Acredita-se que a malária tenha sido a principal causa de morte entre os primatas precursores do *Homo sapiens*, como os *Australopithecus*. Em 2700 a.C., o Cânon chinês de medicina, o Nei Ching, já discutia sintomas da malária e as relações entre febres e melancolias prolongadas. Da mesma forma, manuscritos do século VI a. C. encontrados na biblioteca real de Assurbanopoli em Nínive (atualmente Iraque) mencionam febres mortais semelhantes à malária que afligiam a população da antiga Mesopotâmia.¹¹ O grego Hipócrates foi o primeiro a fazer uma ligação entre a proximidade de corpos d'água estagnados e a ocorrência de febres na população local. Os romanos também faziam esta associação e foram os pioneiros na prevenção da doença com a drenagem de pântanos. O termo malária surgiu justamente desta relação entre a doença e os pântanos. Considerou-se que a malária surgia da terra pantanosa (daí o nome “mal ária” – ar ruim ou venenoso). De forma semelhante, os franceses criariam o termo paludismo, cuja raiz significa pântano, para se referir à malária.^{11,20} Atualmente, sabe-se que a doença é causada por parasitos pertencentes ao gênero *Plasmodium*.

Esta doença também foi disseminada na América do Norte, dificultando a colonização da região por alguns anos. Os ingleses introduziram na América duas espécies de agentes causadores de malária, *P. vivax* e *P. malariae*, quando fundaram Jamestown na atual Virgínia, em 1607, mas foi com a chegada de escravos da África, a partir de 1620, que o *P. falciparum* foi trazido para o continente.¹¹

No Brasil, a ocupação da região Amazônica levou a um aumento da transmissão da malária, intensificando-se no início da década de 1980, com o grande aumento da população.¹¹

Hoje a ameaça é maior em nações na América Latina, África, e grandes áreas da Ásia Meridional e Oceania, o que significa que aproximadamente 40% da população mundial corre o risco de desenvolver malária. A malária causa por ano muito mais mortes em valores absolutos que a AIDS. O maior número de casos ocorre na África,

onde crianças de até 5 anos de idade, cujo sistema imunológico está ainda em formação, são o grupo de maior probabilidade de morte devido à infecção. Fora da África, os países com maior número de casos da doença são Afeganistão, Bangladesh, Brasil, Bruma, Camboja, Colômbia, China, Irã, Índia, Indonésia, México e Filipinas¹¹.

A descoberta de que a malária é uma hemoparasitose aconteceu em 1880, quando o francês Louis Alphonse Laveran conseguiu observar organismos em movimento ao examinar o sangue de um paciente com a doença. A transmissão da doença, no entanto, só foi elucidada em 1897, por Ronald Ross, que identificou a participação de mosquitos como vetores da doença e descreveu o ciclo do parasito no hospedeiro invertebrado.¹⁰

Os parasitos causadores de malária pertencem ao filo Apicomplexa, família *Plasmodiidae* e ao gênero *Plasmodium*. Das 150 espécies causadoras de malária em diferentes hospedeiros, apenas quatro espécies parasitam o homem: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*, que ocorre apenas em regiões restritas do continente africano.¹⁰

2.2 Epidemiologia

As chamadas doenças parasitárias afetam hoje em dia uma grande parcela da população mundial, provocando muitas mortes e exercendo uma grande influência limitante na qualidade de vida e no desenvolvimento de muitos países. Estas doenças podem ser provocadas por seres unicelulares mais simples, como protozoários, ou por seres multicelulares mais desenvolvidos, como vermes.¹¹

Os protozoários são responsáveis pela maioria das infecções parasitárias que afetam os humanos. As denominadas protozooses são causadas por cerca de 10.000 espécies conhecidas de protozoários, das quais cerca de 30 infectam o homem, e são características das regiões menos desenvolvidas do planeta, onde os níveis de escolaridade e de saneamento básico são baixos. Nessas áreas, as protozooses geralmente são endêmicas, sendo por essa razão vulgarmente conhecidas como “doenças de gente pobre”.¹¹

Malária é uma das mais graves doenças infecciosas para humanos, particularmente em regiões tropicais do mundo. Segundo a OMS, anualmente existem

mais que 500 milhões de novos casos, resultando em pelo menos 1-2 milhões de morte.^{2,5}

A malária é endêmica na Amazônia Legal, com média de 500 mil casos por ano. No período de 2000 a 2002 (Figura 2.1) houve redução na notificação de casos. No entanto, essa queda não foi mantida e no período de 2003 a 2005 observou-se crescimento no registro da doença. Porém, nos dois últimos anos, 2006 e 2007, houve uma reversão desta tendência de crescimento, com uma importante redução de 9% em 2006, quando comparado com 2005, e de 17% em 2007 em relação a 2006.¹⁷

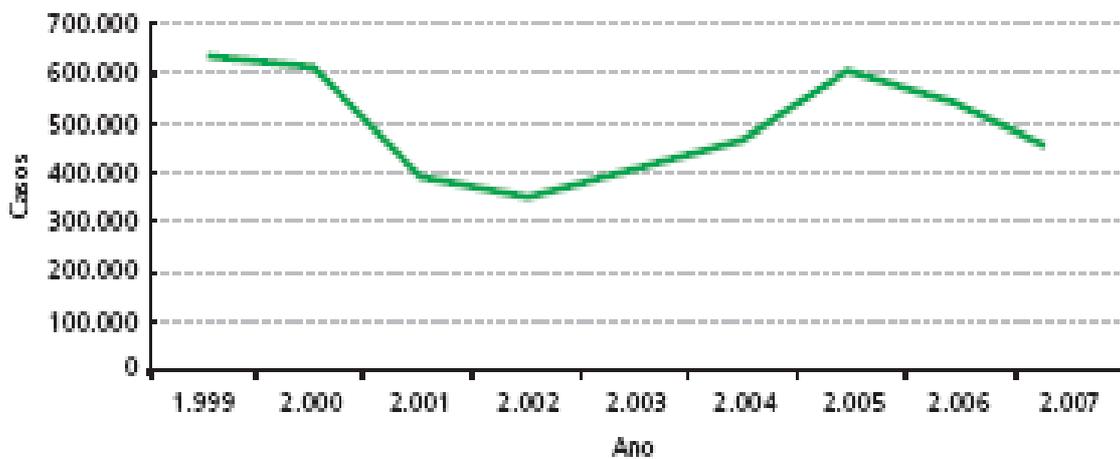


Figura 2.1. Número de casos de malária, Amazônia Legal, 1999 a 2007.¹⁷

Em 2007, apenas nos estados, Amazonas, Rondônia e Pará foram registrados cerca de 354 mil casos, o que corresponde a 78% das ocorrências. Nos municípios da Amazônia Legal, 641 (79%) apresentaram lâminas positivas para a malária. No entanto, na maioria dos estados da Amazônia Legal apresentou redução, em 2007 (Figura 2.2), na frequência de casos em relação ao ano anterior, exceto Amazonas e Mato Grosso.¹⁷

No Brasil, a malária é transmitida por três espécies de protozoários, *Plasmodium vivax*, *P. falciparum* e *P. malariae*. No entanto, as infecções causadas por *P. vivax* predominam. Houve redução nos casos de malária por *P. falciparum* em praticamente todos os estados (Figura 2.2), na Amazônia Legal este percentual passou de 25% em 2006, para 19% em 2007 (Figura 2.3). Esta redução pode em parte ser atribuída à mudança no tratamento por *P. falciparum*.¹⁷

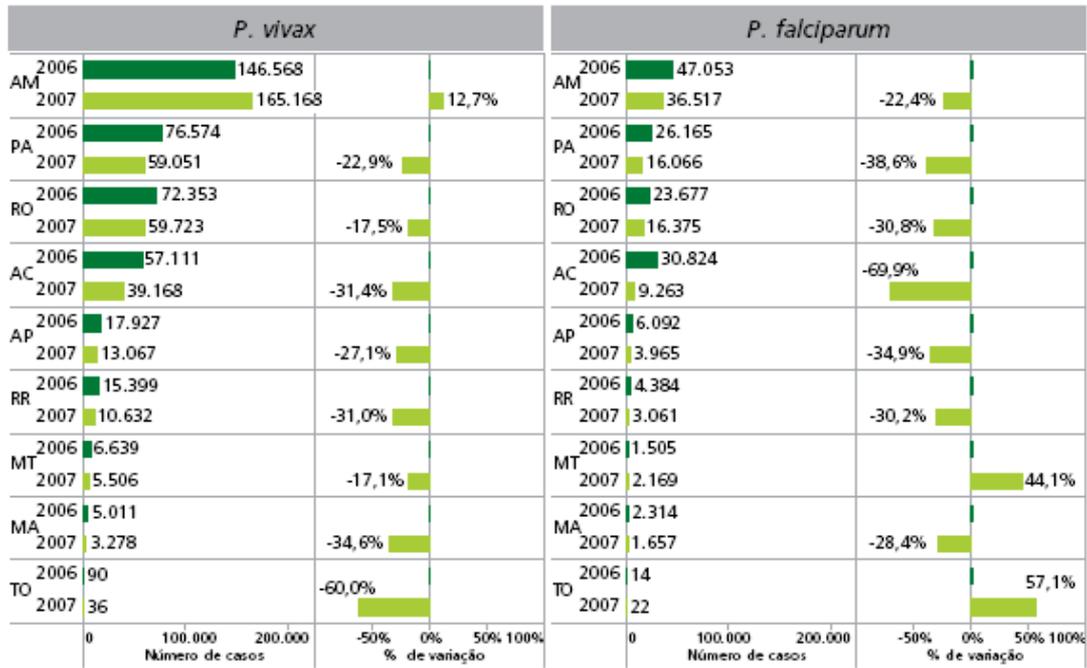


Figura 2.2. Número de casos de malária e variação, por UF de notificação. Amazônia Legal 2006 e 2007.¹⁷

A ocorrência de casos de malária, em 2007, em áreas especiais (assentamento, acampamento, reserva indígena e garimpo), representou 19% dos casos da Amazônia Legal. Dos casos de malária registrados em garimpo 53% ocorreram no estado do Pará, enquanto a maior parte da malária em assentamento/acampamento e área indígena ocorreu no Amazonas, 38% e 68% respectivamente (tabela 2.1).¹⁷

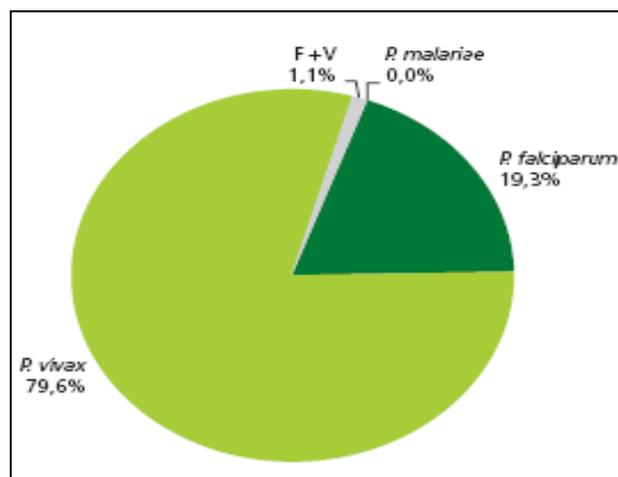


Figura 2.3. Proporção de casos de malária, por espécie de plasmódio. Amazônia Legal, 2007.¹⁷

Tabela 2.1. Número de casos de malária, por área especial. Amazônia Legal, 2007.¹⁷

UF	Garimpo		Assentamento/ Acampamento		Indígena		Total
	Casos	%	Casos	%	Casos	%	
AC	0	0	8.595	22	815	2	9.410
AM	1.471	11	14.761	38	22.955	68	39.187
AP	2.912	21	582	1	1.709	5	5.203
MA	10	0	314	1	89	0	413
MT	1.034	8	352	1	222	1	1.608
PA	7.230	53	9.576	25	4.686	14	21.492
RO	949	7	1.962	5	969	3	3.880
RR	3	0	2.723	7	2.215	7	4.941
TO	0	0	0	0	0	0	0
Total	13.609	100	38.865	100	33.660	100	86.134

2.3 Eritrócito

Antes de apresentar os aspectos fisiológicos, químicos e bioquímicos da infestação com os parasitos causadores da malária, é importante apresentar mais informações gerais sobre a fisiologia do eritrócito. O profundo conhecimento desses aspectos é que, sem dúvida, permitirão identificar os mecanismos de atuação de fármacos e o desenvolvimento planejado de novos.

De modo geral, a porção celular do sangue é composta de eritrócitos, leucócitos e plaquetas que se originam de uma célula-mãe única, denominada pluripotente, totipotente, *stem-cell* ou célula-tronco. O órgão central formador das células do sangue é a medula óssea. Nela se localizam as células pluripotentes que estão constantemente produzindo células adultas para serem lançadas no sistema periférico.¹⁶

O eritrócito (Figura 2.4) possui a forma de um disco bicôncavo tendo a borda mais corada e o centro bem mais claro. É uma célula com excesso de membrana citoplasmática para o conteúdo hemoglobínico que transporta. À medida que circula, perde porções de membrana citoplasmática, adquirindo a forma de esfera. Esta última é muito menos deformável e acaba sendo retida no baço e fagocitada pelos macrófagos.¹⁶

Em condições normais, um adulto produz cerca de 200 bilhões de hemácias por dia, substituindo número equivalente de células destruídas diariamente, para manter assim estável a massa total de hemácias do organismo. A proporção de hemácias produzidas e destruídas diariamente corresponde cerca de 0,83% do total, e em condições normais, esta produção ocorre exclusivamente na medula óssea.²¹

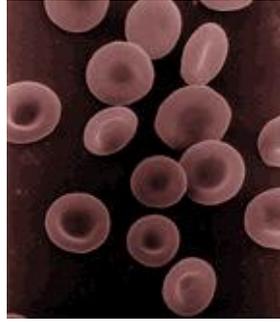


Figura 2.4. Eritrócitos normais.¹³

Após cerca de 120 dias em circulação, em virtude de seu esgotamento metabólico e alterações degenerativas, as hemácias são removidas e destruídas intracelularmente em células do sistema monocítico-macrofágico, especialmente no baço, fígado e medula óssea.²¹

Vários fatores contribuem para o mecanismo pelo qual as hemácias velhas são reconhecidas e eliminadas da circulação, em especial, a redução da atividade metabólica e oxidação da hemoglobina (Hb). Uma vez fagocitada, a hemácia é decomposta em seus componentes, sendo as mais importantes a membrana e a hemoglobina. As proteínas e os fosfolípidos de membrana são digeridos. A hemoglobina é decomposta em globina (que é metabolizada dando origem a aminoácidos) e o heme, que por sua vez, com a abertura do anel da protoporfirina, libera o ferro e forma a bilirrubina.²¹

O ferro permanece no macrófago e será reaproveitado para a síntese de hemoglobina. É válido ressaltar que não há no organismo via de excreção de ferro, de forma que a molécula passa a fazer parte do local de armazenamento e poderá ser utilizada novamente para a síntese de hemoglobina. Para voltar a um eritroblasto em desenvolvimento, o ferro pode ser liberado na superfície da célula e transportado para o eritroblasto por intermédio da transferrina.²¹

2.4. Ciclo de Vida do Parasito

Em 1846, o fisiopatologista italiano Giovanni Rasori propôs que um parasita seria o responsável pela febre e outros sintomas associados à malária, mas foi em 1880 que Charles Louis Alphonse Laveran, um oficial médico do exército francês, observou, pela primeira vez, parasitos vivos tirados do sangue de um soldado francês infectado com malária na Argélia. Além disso, foi o primeiro a descrever as quatro formas do

parasito: anel, trofozoíto, esquizonte e gametócito. Seis anos depois da descoberta de Laveran, Camillo Golgi observou o desenvolvimento assexuado do parasito e mostrou que o início da febre coincidia com a ruptura das hemácias e a liberação de novos parasitas. William George MacCallum e Eugene L. Opie, em 1897, encontraram o parasito da malária no estômago de mosquitos. No mesmo ano, Ronald Ross demonstrou definitivamente que a transmissão da malária se dava através do mosquito. Em 1898, Giovanni Battista Grass e Amico Bignami Guisepe Bastianeli documentaram a transmissão de parasitos da malária humana em *Anopheles claviger* e logo depois descreveram os estágios de desenvolvimento do *Plasmodium falciparum* e do *P. vivax*.¹¹

Os protozoários do gênero *Plasmodium* têm um ciclo de vida dividido entre um hospedeiro vertebrado e um inseto vetor. Os *Plasmodium falciparum*, *vivax* e *ovale* são parasitos exclusivos do homem enquanto que o *P. malariae* seria capaz também de infectar chimpanzés. O vetor é sempre a fêmea de mosquitos do gênero *Anopheles*, sendo que das 380 espécies conhecidas do gênero, apenas 60 podem transmitir a doença.¹¹

2.4.1 Hospedeiro Invertebrado

Durante o repasto sanguíneo, a fêmea do anofelino ingere as formas sanguíneas do parasito do hospedeiro vertebrado, mas somente os gametócitos são capazes de evoluir no inseto, dando origem ao ciclo sexuado ou esporogônico (Figura 2.5). No intestino médio do mosquito, ocorre o processo de gametogênese (gametócitos se transformam em gametas extracelulares).⁴

O gametócito feminino (Figura 2.5) transforma-se em macrogameta e o gametócito masculino, por um processo denominado exflagelação, dá origem a microgametas. Em poucos minutos, um microgameta fecundará o macrogameta formando o zigoto. Após 24 horas, o zigoto passa a movimentar-se por contrações do corpo, sendo denominado oocineto (ovo em movimento). Este atravessa a matriz peritrófica (membrana que envolve o alimento) e atinge a parede do intestino médio, onde se encista na camada epitelial do órgão, passando a ser chamado de oocisto. Posteriormente, ocorre a ruptura da parede do oocisto, sendo liberados os esporozoítos formados durante a esporogonia. Estes serão disseminados por todo o corpo do inseto

através da hemolinfa até atingir as células das glândulas salivares. Estes esporozoítos atingirão o canal central da glândula e ingressarão no ducto salivar para serem injetados no hospedeiro vertebrado, juntamente com a saliva, durante o repasto sanguíneo.⁴

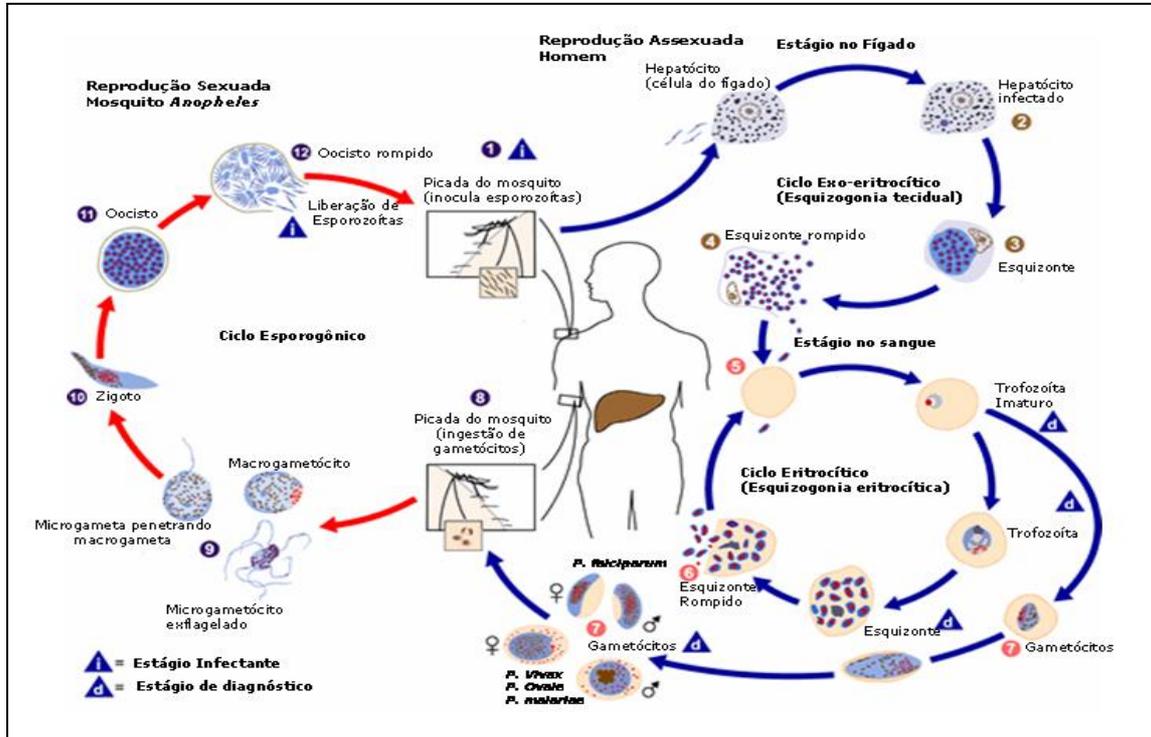


Figura 2.5. Ciclo de vida do parasito.¹¹

2.4.2 Hospedeiro Vertebrado – Homem

A infecção malárica (Figura 2.6) inicia-se com a picada de um mosquito fêmea infectado, inoculando os esporozoítos infectantes na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado.¹¹ Em 30 minutos, eles desaparecem do sangue e entram nas células parenquimatosas do fígado (Figura 2.5). Nesse local, durante os próximos 14-16 dias passam por um estágio pré-eritrocítico de desenvolvimento e multiplicação, onde os esporozoítos se diferenciam em trofozoítos pré-eritrocíticos.²⁰ Estes se multiplicam por reprodução assexuada do tipo esquizogonia, dando origem a dezenas de milhares de esquizontes teciduais e posteriormente a merozoítos que eclodem na ruptura de cada hepatócito, onde invadirão os eritrócitos.⁴



Figura 2.6. Mosquito vetor de malária, *Anopheles*.⁶

O desenvolvimento intra-eritrocítico do parasito se dá por esquizogonia, com conseqüente formação de merozoítos que invadirão novos eritrócitos (Figura 2.5). A duração do estágio eritrocítico depende da espécie do parasito, sendo de 48 horas para *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. ovale* e de 72 horas para o *P. malariae*.⁴ Em algumas formas de malária, alguns esporozoítos que entram nas células hepáticas formam os hipnozoítos, ou formas dormentes do parasito, que podem ser reativadas meses ou anos mais tarde para continuar um ciclo exoeritrocítico de multiplicação.²⁰

A hemoglobina do hospedeiro é digerida e transportada para o vacúolo alimentar do parasito, funcionando como fonte de aminoácidos. O fragmento heme restante livre, tóxico para o plasmódio, é transformado em uma forma polimérica conhecida como hemozoína.²⁰

2.5 Patogenia

A passagem do parasito pelo fígado (ciclo exo-eritrocítico) não é patogênica e não determina sintomas. Apenas o ciclo eritrocítico é responsável pelas manifestações clínicas e patologia da malária. A destruição dos eritrócitos e conseqüente liberação dos parasitos e de seus metabólitos na circulação provocam uma resposta no hospedeiro, determinando alterações morfológicas e funcionais observadas no indivíduo com malária.⁴

Os possíveis mecanismos determinantes das diferentes formas clínicas da doença baseiam-se, fundamentalmente, na interação dos seguintes fenômenos patogênicos:¹⁰

- *Destruição dos eritrócitos parasitados* – embora participe do desenvolvimento da anemia, esta não se correlaciona com a parasitemia, indicando a influência de outros fatores como: a destruição de eritrócitos não parasitados pelo sistema imune ou por aumento da eritrofagocitose esplênica; a participação de auto-anticorpos com afinidades tanto para o parasito como para o eritrócito; a disfunção da medula óssea estimulada por ação de citocinas (diseritropoiese).
- *Toxicidade resultante da liberação de citocinas* – células imunocompetentes produzem citocinas que agirão direta ou indiretamente sobre o parasito, mas que podem ser nocivas para o hospedeiro. A febre, por exemplo, é resultado da liberação de pirogênio endógeno pelos monócitos e macrófagos, ativados por produtos do parasito. Outras citocinas, como o fator de necrose tumoral (TNF) e as interleucinas 1,6 e 8, estão associadas a muitos dos sintomas da malária aguda e seus níveis estão geralmente elevados nos casos de malária grave.
- *Sequestro dos eritrócitos parasitados na rede capilar* – durante a esquizogonia sanguínea, o *P. falciparum* induz uma série de modificações na superfície da célula parasitada, que permite sua adesão à parede endotelial dos capilares. Este fenômeno de citoaderência ocorre principalmente na rede capilar de órgãos vitais, como cérebro, rins e fígado, podendo levar à obstrução da microcirculação e conseqüente redução do fluxo de oxigênio. Este mecanismo tem sido implicado na gênese da malária cerebral, insuficiência renal aguda e hepatite, tão comuns nos quadros de malária grave.
- *Lesão capilar por deposição de imunocomplexos* – em infecções crônicas por *P. malariae* é descrita a ocorrência de lesão renal, produzida pela deposição de imunocomplexos e componentes do complemento nos glomérulos, alterando sua permeabilidade e induzindo a perda maciça de proteína, a qual se apresenta clinicamente como síndrome nefrótica.

2.6 Aspectos Clínicos

O período de incubação da malária varia de acordo com a espécie de plasmódio, sendo de 8 a 12 dias para *P. falciparum*, 13 a 17 para *P. vivax* e 28 a 30 dias para *P. malariae*. Uma fase sintomática inicial, caracterizada por mal-estar, cefaléia, cansaço e mialgia, geralmente precede a clássica febre da malária. O ataque paroxístico agudo é

geralmente acompanhado do calafrio e sudorese, que dura de 15 minutos a uma hora e é seguido por uma fase febril, como temperatura corpórea, podendo atingir 41°C ou mais.¹⁰ Se não tratada adequadamente, a doença pode apresentar complicações renais, icterícia e obstrução de vasos sanguíneos no cérebro (nos casos graves da doença), situação que poderá levar à morte do indivíduo.¹¹

Depois de algumas horas, os sintomas desaparecem e o paciente sente-se melhor. Após esta fase inicial, a febre assume um caráter intermitente, com periodicidade dependente do tempo de duração dos ciclos eritrocíticos de cada espécie de plasmódio: 48 horas para *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* (malária terçã) e 72 horas para *P. malariae* (malária quartã). Entretanto, a constatação desta regularidade é pouco comum nos dias atuais, em decorrência de tratamento precoce, realizado ainda na fase de assincronismo das esquizogonias sanguíneas.¹⁰

Adultos não imunes, bem como crianças e gestantes, podem apresentar manifestações mais graves da infecção, podendo ser fatal no caso de *P. falciparum*. As formas de manifestação mais comuns da doença são a malária cerebral, a insuficiência renal aguda, o edema pulmonar agudo, a hipoglicemia, a icterícia e a hemoglobinúria maciça.¹⁰

2.7. Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial da malária é feito pela pesquisa do parasito no sangue periférico, pelo método da gota espessa ou pelo esfregaço sanguíneo.¹⁰ Este método é simples, eficaz, de baixo custo e realizável em qualquer lugar. Sua técnica baseia-se na visualização do parasito através da microscopia ótica, após a coloração com corante vital (azul de metileno e Giemsa), permitindo a diferenciação específica dos parasitos a partir da análise da sua morfologia e pelos estágios de desenvolvimento dos parasitos (Figura 2.7) encontrados no sangue periférico.¹⁸

2.8. Formação da Hemozoína

Durante o estágio intraeritrocítico, o parasito se aloja no eritrócito utilizando a hemoglobina como fonte de alimento.⁹ Esta hemoglobina é levada do eritrócito para o citoplasma do parasito via citóstomo por pinocitose e transportado para o vacúolo digestivo (VD) através de vesículas transportadoras. No vacúolo digestivo, a

hemoglobina é digerida pelas enzimas proteolíticas. Estas quebram a proteína em peptídeos que são finalmente hidrolizados a aminoácidos no citoplasma do parasito. Simultaneamente, heme é liberado e oxidado para produzir hematina (água/hidroxiferritoporfirina IX).⁷

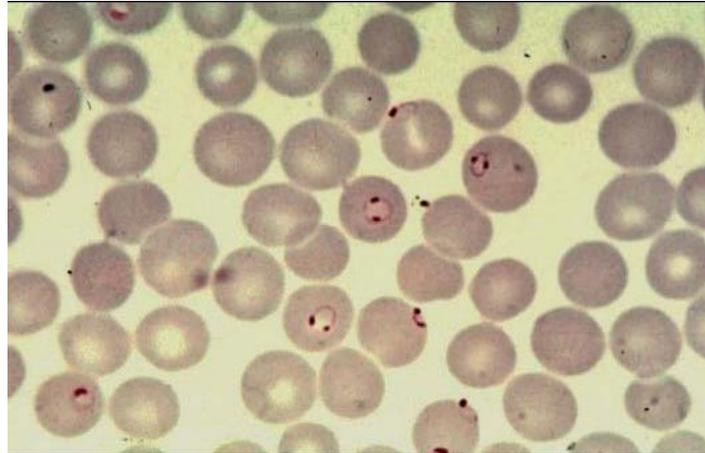


Figura 2.7. Eritrócitos infectados pelo *Plasmodium*.⁶

Apenas na última década, a natureza química e estrutural da hemozoína foi amplamente elucidada. É conhecida como um dímero cíclico de ferritoporfirina IX [Fe(III)PPIX]. A formação da hemozoína é um possível mecanismo de desintoxicação para o parasito (Figura 2.8).⁷

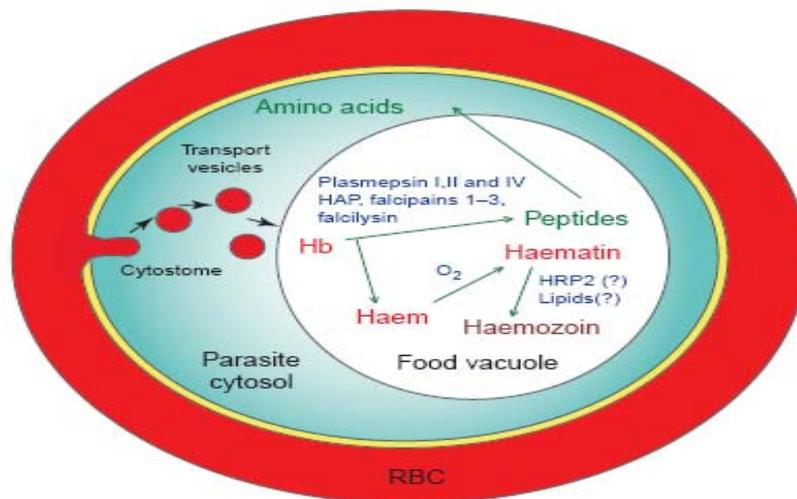


Figura 2.8. Representação esquemática da ingestão da hemoglobina e catabolismo do *P. falciparum*.⁷

A hematina dá origem a hemozoína ou pigmento malárico, um material microcristalino escuro observado no vacúolo digestivo de parasitos maduros (Figura 2.9). A célula unitária do dímero de heme cristalizado é aproximadamente 1nm^3 e os cristais de hemozoína isolados do parasito da malária humana têm uma morfologia com as dimensões de aproximadamente $100\text{nm} \times 100\text{nm} \times 500\text{nm}$ (Figura 2.9).¹⁹

Convertendo hematina para hemozoína, o parasito remove o heme permanentemente da solução e deposita o anel porfirínico numa forma sólida relativamente inócua⁷. A hemozoína é química e estruturalmente idêntica a hematina sintética conhecida como β -hematina, um dímero cíclico de ferriprotoporfirina IX⁹. Alguns estudos sugerem que 95% do ferro livre liberado durante a digestão da hemoglobina é encontrado na hemozoína.¹⁴

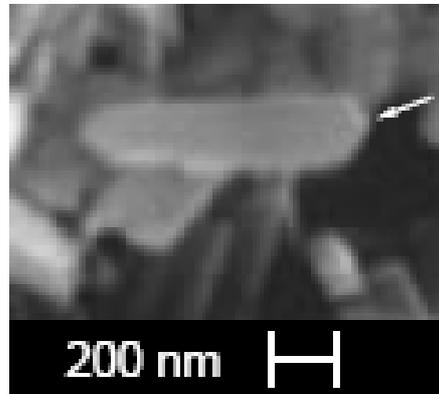


Figura 2. 9. Morfologia externa do cristal da hemozoína.⁷

O heme está presente na hemoglobina (onde Y representa o resíduo de histidina proximal da proteína e X é O_2 na oxihemoglobina, ou vacante na desoxihemoglobina, Figura 2.10a) e com a retirada da porção protéica, o íon ferroso na heme é rapidamente oxidado pelo O_2 para o estado férrico (Figuras 2.10a \rightarrow 2.10b).⁷

Devido à oxidação da heme, ocorre a produção de hematina (Figura 2.10b). As espécies mais protonadas, **A** e **B**, são as mais prováveis no vacúolo digestivo. A espécie não protonada (Figura 2.10c) dimeriza, formando uma ponte μ -oxo entre os dois íons Fe(III) pelo processo de desidratação. Este equilíbrio é favorecido por altas concentrações e valores de pH mais básicos.⁷

A hemozoína é um dímero cíclico de Fe(III)protoporfirina IX, com os dois grupos propionatos desprotonado de cada porfirina coordenada ao centro Fe(III) de

outros. Os dímeros interagem com ligações de hidrogênio entre os grupos propionatos protonados e interações de van der Waals.⁷ A β -hematina contém ligações entre o grupo propionato de um Fe(III)PPIX e o Fe(III) de outro (Figura 2.11). Supõe-se que esta substância é um polímero consistindo de cadeias infinitas da forma $[\text{Fe(III)PPIX}]_n$.⁸

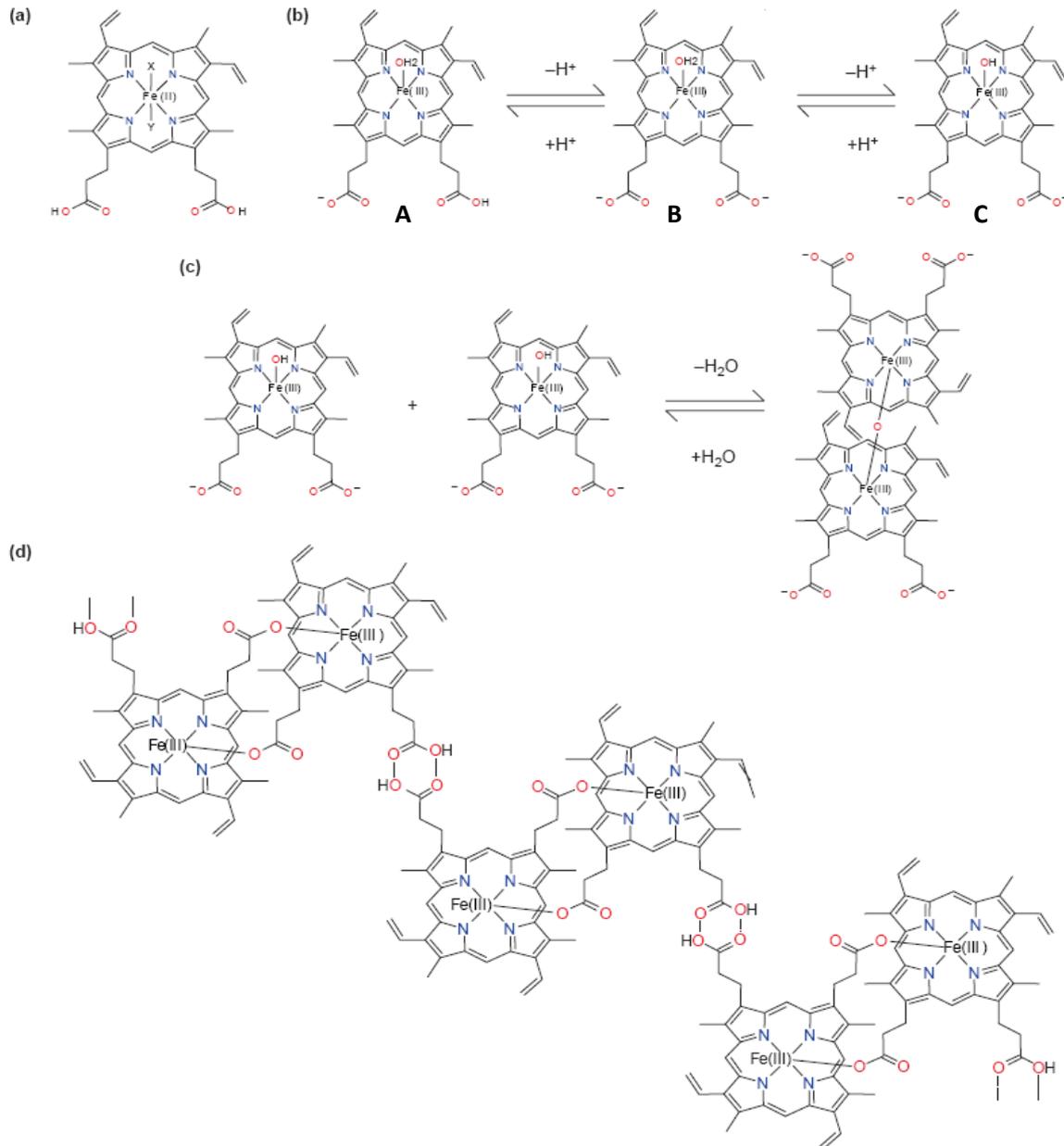


Figura 2.10. Representação da química das etapas de formação da hemozoina a partir do núcleo da heme.⁷

A hemoglobina representa a maior origem de aminoácidos para o *Plasmodium*, mas sua degradação no vacúolo digestivo ácido resulta na produção de heme livre tóxico (ferri/ferroprotoporfirina IX; FP) e estresse oxidativo. O alto metabolismo devido ao crescimento e multiplicação rápida do parasito gera grandes quantidades de subprodutos ativos e tóxico.³

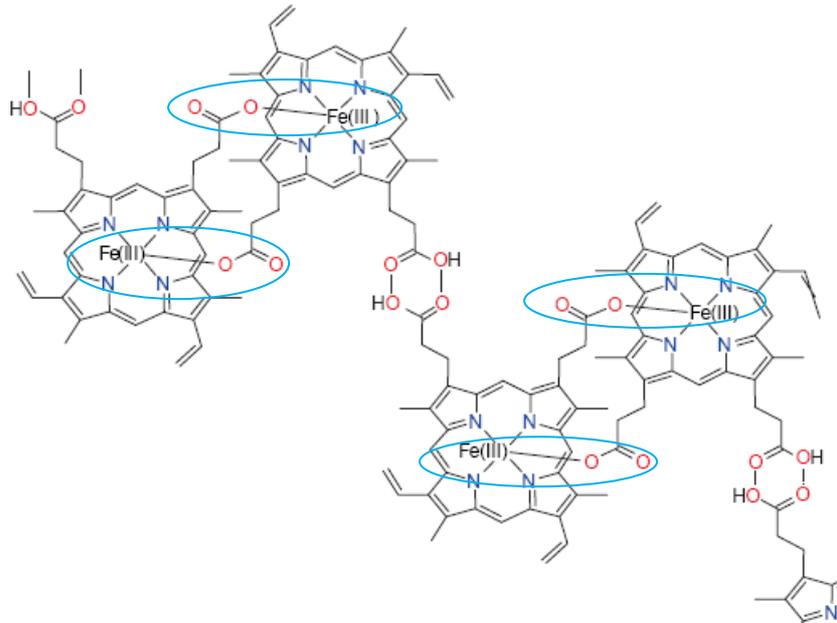
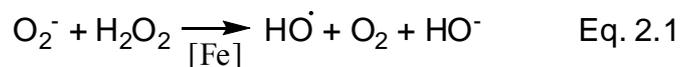


Figura 2.11. Ligações entre o grupo propionato de uma Fe(III)PPIX e o Fe(III) de outra.⁷

Os parasitos do gênero *Plasmodium* são expostos ao alto fluxo de espécies de oxigênio reativas, necessitando de uma correta atuação dos sistemas de antioxidantes intracelulares.¹² Este aumento do estresse oxidativo e produtos de peroxidação estão associados com a diminuição da fluidez da membrana da hemácia com probabilidade de ampliação da rigidez celular na célula eritrocítica parasitada.¹⁹

Heme livre catalisa a geração de produtos de peroxidação lipídica tóxica por vários mecanismos bioquímicos. O catabolismo da hemoglobina, liberando heme reativo e ferro, associado com a geração das substâncias reativas redox assim como, H_2O_2 , radicais superóxido e o radical hidroxil, é que provoca a forte peroxidação lipídica. A reação de Fenton (catalisada por ferro) é o mecanismo primário em que o radical hidroxil é formado no vacúolo digestivo como mostra a equação 2.1.¹⁹



As taxas da reação de Fenton são influenciadas pela disponibilidade da reação catalisar ferro e os substratos O_2^- e H_2O_2 . Hemoglobina intacta pode também mediar a formação de oxidantes por interações de peróxidos com hemoglobina férrica para produzir Fe (IV) reativo bem como proteína associada a radicais livres. Enquanto o heme funciona em reações enzimáticas, um número de efeitos deletérios são diretamente e indiretamente atribuíveis ao heme livre uma vez separado de seu componente protéico. Menos que 10-20 μM da heme pode inibir muitas enzimas do *Plasmodium* no vacúolo digestivo (plasmepsinas e falcipains) e também enzimas do citoplasma como gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase ou 6-fosfogluconato desidrogenase. A integração da molécula lipofílica da heme dentro de membranas biológicas diminui a deformabilidade de eritrócitos e induz hemólise. A membrana da heme também enfraquece a bicamada lipídica tornando-a mais susceptível ao H_2O_2 mediado pela lise. Integração do heme ou hemicromos também rompe a membrana do eritrócito, normalmente a partir da interação dinâmica com o seu citoesqueleto de proteínas.¹⁹

2.9 Mecanismos de Desintoxificação do Heme

Com a evolução, organismos que se alimentam de células sanguíneas têm desenvolvido diversos caminhos para metabolizar o heme tóxico liberado após ingestão e degradação da hemoglobina.¹⁹

Como já comentado, o heme livre é muito tóxico porque pode gerar espécies de oxigênio reativo e pode induzir o estresse oxidativo conduzindo a morte do parasito (Figura 2.12). O heme é uma molécula lipofílica que pode facilmente intercalar na membrana e pode causar mudanças na permeabilidade da membrana, organização lipídica e induzir a peroxidação lipídica da membrana do parasito. Oxidação de componentes da membrana induzida pela heme livre promove a lise celular levando a morte do parasito.¹⁵

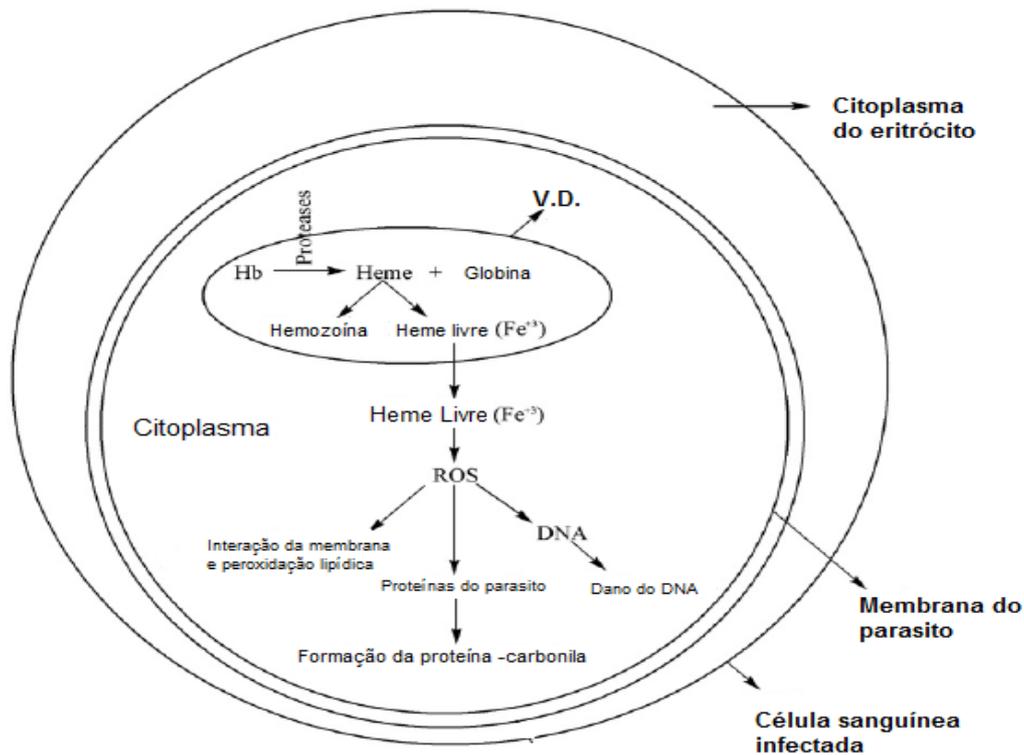


Figura 2.12. Possível mecanismo de toxicidade da heme livre no parasito.¹⁵

Para combater a toxicidade, o parasito é equipado com um sistema de desintoxificação da heme. Entre estes sistemas, a formação da hemozoína é considerada o principal.¹⁵

O parasito possui um mecanismo eficiente de desintoxificação do heme (Figura 2.13). Este mecanismo de desintoxificação pode ser classificado em: (a) primário, via formação da hemozoína no vacúolo digestivo do parasito e (b) secundário, a partir de sistemas situados principalmente no citoplasma, assim como a desintoxificação pela GSH, proteínas ligadas ao heme e degradação de heme livre pelo H₂O₂.¹⁵

2.9.1 Processos de Desintoxificação

Como visto, o parasito converte heme tóxica em hemozoína por um mecanismo conhecido como formação da hemozoína. Este processo é considerado o mais importante mecanismo pela desintoxificação da heme no *Plasmodium sp.* A heme livre liberado depois da digestão da hemoglobina é convertida em hemozoína (30 – 50%). A outra quantidade que permanece pode passar através da membrana do vacúolo digestivo

para alcançar o citoplasma do parasito. Dentro do citoplasma, a toxicidade é neutralizada pela GSH, heme ligadas às proteínas e H_2O_2 .¹⁵

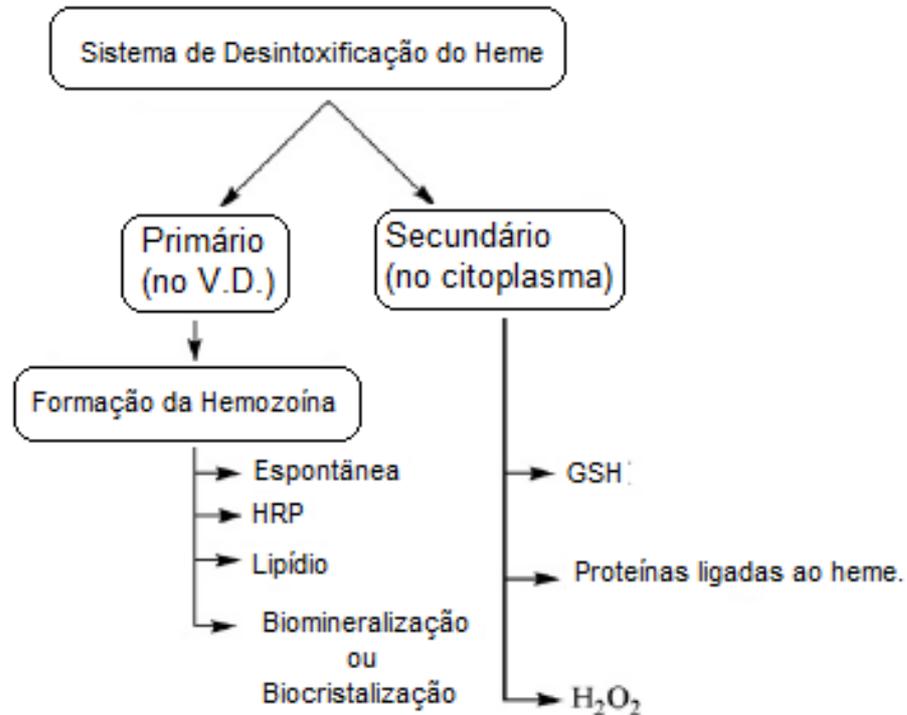


Figura 2.13. Sistemas de desintoxicação da heme no parasito.¹⁵

2.9.2.1 Desintoxicação por Glutathione reduzida

Os caminhos de desintoxicação alternativo, incluindo a degradação de FP, reação de glutathione pode também contribuir para desintoxicação de FP. Para manter um equilíbrio redox, o parasito é equiparado com antioxidantes de baixo peso molecular – sendo o mais proeminente o tripeptídeo glutathione (GSH) bem como enzimas antioxidantes.³

Durante a absorção da hemoglobina, o parasito leva uma pequena quantidade para o citoplasma do eritrócito através do processo de pinocitose e dentro do vacúolo digestivo GSH se liga à heme livre e reduz sua toxicidade. No entanto, GSH representa uma função na defesa antioxidante através da manutenção do estado redox de fragmentos de proteína-SH, reduz a peroxidação lipídica e a extrusão da heme.¹⁵

2.9.2.2 Desintoxificação da Heme pelas Proteínas Ligantes

Foram identificadas várias proteínas do *P. falciparum* que podem interagir com a heme livre e proteger o parasito do estresse oxidativo induzido pela heme, por exemplo, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (PfGAPDH), glutathiona redutase, dissulfido isomerase e glutathiona S-transferase.¹⁴ A glutathiona-S-transferase (GST) é uma importante enzima do ciclo da glutathiona, sendo considerada uma enzima essencial de desintoxificação.¹

2.9.2.3 Desintoxificação pelo H₂O₂

O heme passa por reações de peroxidação com H₂O₂, destruindo o anel porfirínico, formando um intermediário ferril [Fe(IV)] que se decompõe, resultando da destruição do anel porfirínico.¹⁵

2.10. Referências Bibliográficas

1. Ahmad, R.; Srivastava, A.K. Inhibition of glutathione-S-transferase from *Plasmodium yoelii* by protoporphyrin IX, cibacron blue and menadione: implications and therapeutic benefits. *Parasitol. Res.*, **2008**, *102*, 805-807.
2. Barazarte, A.; Camacho, J.; Domínguez, J.; Lobo, G.; Gamboa, N.; Rodrigues, J., Capparelli, M. V.; Álvarez-Larena, Á.; Andujar, S.N; Enriz, D.; Charris, J.. Synthesis, antimalarial activity, structure-activity relationship analysis of thieno-[3,2-b]benzothiazine S,S-dioxide analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, *18*, 3661-3674.
3. Becker, K.; Tilley, L.; Vennerstrom, J.L.; Roberts, D.; Rogerson, S.; Ginsburg, H. Oxidative stress in malaria parasite-infected erythrocytes: host-parasite interactions. *International Journal for Parasitology*, **2004**, *34*, 163-189.
4. Braga, E. M.; Fontes, C.J.F. Em *Plasmodium – Malária*. Neves, D.P., ed.; Atheneu: São Paulo, **2002**, cap. 17.
5. Chipeleme, A.; Gut, J.; Rosenthal, P.J.; Chibale, K. Synthesis and biological evaluation of phenolic Mannich bases of benzaldehyde and (thio)semicarbazone derivates against the cysteine protease falcipain-2 and a chloroquine resistant strain of *Plasmodium falciparum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2007**, *15*, 273-282.
6. Cravo,P.; Rosário, V.E. Aspectos de genética molecular da resistência aos fármacos antimaláricos. *Bio-Medicina e Saúde Pública – Boletim de Biotecnologia*, **2002**, *73*, 2-8.
7. Egan, T.J. Haemozoin (malaria pigment): a unique crystalline drug target. *Targets*, **2003**, *2*, 115-124.

8. Egan, T.J. Recent advances in understanding the mechanism of hemozoína (malaria pigment) formation. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2008**, *102*, 1288-1299.
9. Egan, T.J.; Ncokazi, K.K. Quinoline antimalarials decrease the rate of β -hematin formation. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2005**, *99*, 1532-1539.
10. Fontes, C.J.F. Em *Plasmodium spp.* De Carli, G.A. ed.; Atheneu: São Paulo, **2001**, cap. 15.
11. França, T.C.C.; Santos, M. G.; Figueroa-Villar, J. D. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. *Química Nova*, **2008**, *31*, 1271-1278.
12. Friebolin, W.; Jannack, B.; Wenzel, N.; Furrer, J.; Oeser, T.; Sanchez, C.P.; Lanzer, M.; Yardley, V.; Becker, K.; Davioud-Charvet, E. Antimalarial dual drugs based on potent inhibitors of glutathione reductase from *Plasmodium falciparum*. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2008**, *51*, 1260-1277.
13. <http://pt.wikipedia.org/wiki/hemacia>, acessado em agosto de 2009.
14. Kouznetsov, V.V.; Gómez-Barrio, A. Recent developments in the design and synthesis of hybrid molecules based on aminoquinoline ring and their antiplasmodial evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, *44*, 3091-3113.
15. Kumar, S.; Guha, M.; Choubey, V.; Maity, P.; Bandyopadhyay, U. Antimalarial drugs inhibiting hemozoin (β -hematina) formation: A mechanistic update. *Life Sciences*, **2007**, *80*, 813-828.
16. Lorenzi, T.F.; Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica, 2º ed., MEDSI, 1999.

17. Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância em Saúde (MS/SVS). <http://portal.saude.gov.br>, acessado em janeiro 2008.
18. Ministério da Saúde / Fundação Nacional de Saúde. Manual de Terapêutica da Malária. Brasília, 2001.
19. Pisciotta, J.M.; Sullivan, D. Hemozoin: oil versus water. *Parasitology International*, **2008**, 57, 89-96.
20. Rang, H.P.; Dale, M.M. *Farmacologia*. 6º ed., Elsevier: Rio de Janeiro, 2007.
21. Zago, M. A. Em *Eritropoiese e Eritropenia. Produção e Destruição de Hemácias*; Zago, M.A.; Falcão, R.P.; Pasquini, R., Eds.; Atheneu: São Paulo, 2005, cap. 3.

CAPÍTULO 3

FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

CAPÍTULO 3. FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

3.1 História da Quimioterapia

A moderna quimioterapia da malária tem como marco inicial a verificação da recuperação de Countess de Chinchon (século XVII) após ter ingerido um medicamento feito com a casca da árvore de origem peruana, posteriormente denominada de cinchona. Em 1820, Caventou e Pelletier isolaram o alcalóide quinina da casca da cinchona. Nas primeiras décadas do século XX, a Alemanha já havia sintetizado diversos compostos com atividade antimalárica, tal como a quinacrina e a cloroquina. Por muitos anos, a cloroquina foi então empregada como fármaco de primeira escolha contra a malária, porém com a resistência do parasito ao fármaco, a quinina foi reintroduzida em meados dos anos 1960.¹³

Apesar dos inúmeros fármacos e técnicas de prevenção da doença (inseticidas e vacinas) não foi possível atingir o controle eficaz da malária. Na década de 1950, as tentativas de erradicar esse flagelo da maior parte do mundo fracassaram, principalmente pelo desenvolvimento de resistência aos inseticidas e aos fármacos antimaláricos. Desde 1960, a transmissão da malária aumentou na maioria das regiões com infecção endêmica; cepas de *P. falciparum* resistentes à cloroquina e vários medicamentos se disseminaram e o grau de resistência aos medicamentos aumentou. Mais recentemente, também foram registradas cepas resistentes de *P. vivax* na Oceania.²⁴

A maioria dos fármacos antimaláricos são baseados em produtos naturais ou compostos sintéticos produzidos a partir da década de 40. Esses fármacos são específicos para cada etapa do ciclo de vida do *Plasmodium* (Figura 3.1). Em geral, eles são classificados como eritrocíticos (pontos A e C da Figura 3.1) e gametocíticos (pontos B e D da Figura 3.1), combatendo a doença e a transmissão, respectivamente.⁴

3.2 Fármacos Utilizados no Tratamento da Malária

Os fármacos antimaláricos podem ser classificados de diferentes maneiras de acordo com suas características químicas, farmacológicas e seu local de ação no ciclo biológico do parasito. A Tabela 3.1 mostra a classificação dos antimaláricos segundo suas propriedades químicas e ação contra os diferentes estágios do ciclo de vida do parasito.⁶

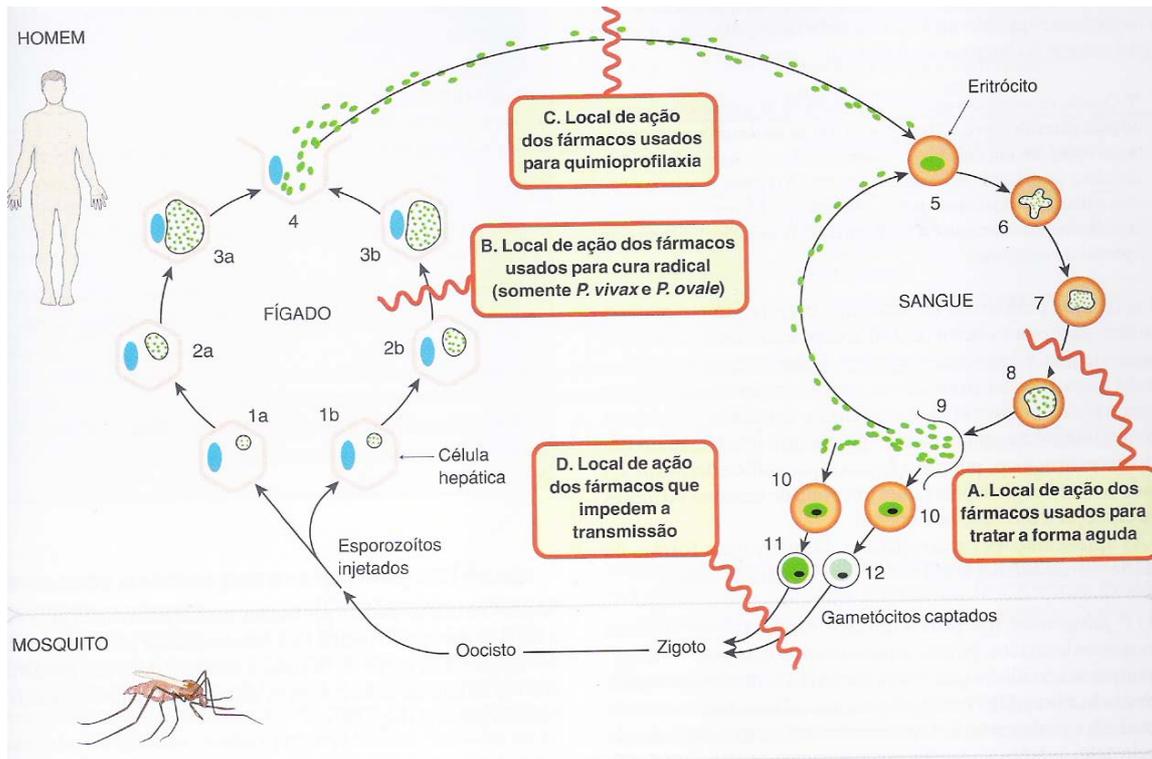


Figura 3.1. Ciclo de vida do parasito destacando à ação dos fármacos.²¹

Tabela 3.1. Classificação dos antimaláricos segundo suas propriedades químicas e quanto sua ação contra os diferentes estágios do ciclo de vida do parasito.^{6,21}

Classe Química	Fármaco	Ação contra os estágios do ciclo de vida do parasito
Quinolina-metanóis	Quinina	Esquizonticida sanguíneo
	Mefloquina	Esquizonticida sanguíneo e para quimioprofilaxia
4-aminoquinolinas	Cloroquina	Esquizonticida sanguíneo e para quimioprofilaxia
Alteram a síntese ou a utilização de folato	Amodiaquina	Esquizonticida sanguíneo
	Sulfonamidas e sulfonas (antifolatos tipo I)	Esquizonticida sanguíneo
Fenantreno-metanóis Lactona sesquiterpênica	Pirimetamina e proguanil (antifolatos tipo II)	Esquizonticida sanguíneo e para prevenir a transmissão pelo mosquito.
	Halofantrina	Esquizonticida sanguíneo
	Artemisinina (qinhaosu)	Esquizonticida sanguíneo
8-aminoquinolinas	Artesunato (derivado hemisuccinil de qinhaosu)	Esquizonticida sanguíneo
	Primaquina	Esquizonticida tecidual

3.2.1 Quinina

O uso medicinal da quinina data de mais de 350 anos. Todavia, como visto anteriormente, foi apenas em 1820 que os químicos franceses Pelletier e Caventou identificaram o alcalóide quinina (27) (Figura 3.2) como um ingrediente ativo da casca da cinchona. Logo após sua descoberta, a demanda e o uso da quinina espalharam-se rapidamente pela Europa, América do Norte e Ásia. Até meados do século passado, a quinina era o principal quimioterápico utilizado no combate à malária. Seu uso foi reduzido em função da sua alta toxicidade e o surgimento de cepas resistentes de *P. falciparum*, mas sua importância voltou a aumentar, em função do surgimento de resistência aos outros fármacos.⁴

A quinina caracteriza-se por conter um grupo quinolínico (Figura 3.2; vermelho) e um anel quinuclidino ligados por um fragmento $-\text{CH}(\text{OH})-$ (Figura 3.2; azul). Modificações na função álcool, através de oxidação, esterificação ou processos similares, diminui a atividade antimalárica.¹⁵ Na Tabela 3.2 estão mostrados alguns aspectos farmacocinéticos e efeitos adversos.

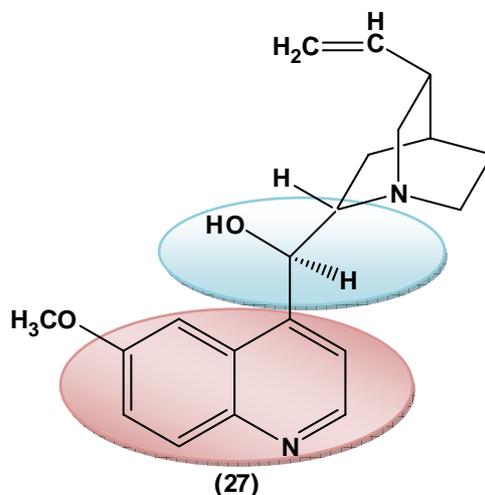


Figura 3.2. Estrutura da quinina

A quinina é um fármaco esquizonticida sanguíneo efetivo contra as formas eritrocíticas de todas as quatro espécies de plasmódios na forma aguda da doença (Figura 3.1, local A), mas não possui efeito nas formas exoeritrocíticas ou nos gametócitos do *P. falciparum*.²¹

Tabela 3.2. Aspectos farmacocinéticos e efeitos adversos dos principais fármacos antimaláricos.

Fármaco	Farmacocinética	Efeitos Adversos
Quinina	Adm.: VO (via oral) e IV (intravenosa) Meia vida: 10 horas. Metabolizado no fígado. Eliminação: urina em cerca de 24h (Rang & Dale, 2007).	É irritante para a mucosa gástrica e pode causar náuseas e vômitos (Rang & Dale, 2007). Cinchonismo (Jaeger, 2007) Hipotensão, disritmias cardíacas e distúrbios severos no SNC, tais como delírio e coma (Rang & Dale, 2007)
Mefloquina	Adm.: VO Meia vida: longa (até 30 dias). Metabolização: fígado Eliminação: urina (Rang <i>et al</i> , 2007).	Distúrbios gastrintestinais. Toxicidade temporária do SNC – desequilíbrio, confusão, disforia e insônia (Rang & Dale, 2007).
Primaquina	Adm.: VO Meia vida: 3-6h (Rang & Dale, 2007).	Distúrbios gastrintestinais. Pode causar metemoglobinemia, com cianose. Pode ocorrer hemólise em indivíduos com deficiência de glicose -6-fosfato desidrogenase nos eritrócitos (Rang & Dale, 2007).
Pirimetamina	Adm.: VO Meia-vida: 4 dias	Pirimetamina-dapsona: anemia hemolítica, agranulocitose e alveolite eosinofílica (Rang & Dale, 2007).
Artemisinina e derivados	Adm.: Artemisinina – VO,IM ou supositório / meia-vida: 4h. Arteméter – VO ou IM / meia-vida: 4-11h. Artesunato – IM e IV / meia-vida: 45min.	Poucos efeitos adversos relatados. Bloqueio cardíaco transitório, queda na contagem neutrofílica sanguínea e breves episódios de febre (Rang & Dale, 2007).
Cloroquina	Adm.: VO, IM ou Subcutânea (quando for malária falciparum severa) (Rang & Dale, 2007).	Náuseas e vômitos, visão turva, convulsões, disritmias (Jaeger, 2007).

3.2.2 Mefloquina

A mefloquina (Figura 3.3) existe como mistura racêmica de quatro isômeros ópticos com potencial antimalárico semelhantes. É um esquizonticida sanguíneo altamente eficaz (Figura 3.1; local A), em especial contra os trofozoítos maduros e esquizontes de parasitos da malária. Não tem atividade contra os estágios hepáticos e os gametócitos maduros do *P. falciparum* ou as formas tissulares latentes de *P. vivax*.²⁴ Requer-se menos que um décimo da dose de quinina para o tratamento da malária e tem sido utilizada no combate ao *P. falciparum* resistente à cloroquina. Apesar deste fármaco ser relativamente novo, já foram relatados casos de resistência.⁴ Dados farmacocinéticos do fármaco estão apresentados na Tabela 3.2.

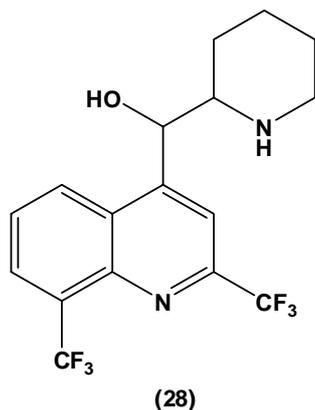


Figura 3.3. Estrutura da mefloquina.

A mefloquina foi utilizada pela primeira vez para tratamento contra malária *falciparum* resistente à cloroquina na Tailândia, onde foi formulada com a pirimetamina-sulfadoxina para retardar o desenvolvimento de parasitos resistentes aos medicamentos. A estratégia falhou, em grande parte, porque a eliminação lenta da mefloquina estimulou a seleção de parasitos resistentes em concentrações subterapêuticas do fármaco.²⁴

3.2.3 Primaquina

Dentre uma grande quantidade de derivados de quinolina sintetizados com substituições nos grupos metoxi e 8-amino, a pamaquina foi a primeira a ser introduzida na medicina em 1926 para o tratamento da malária.¹⁵ Durante a Segunda Guerra Mundial, a pesquisa de antimaláricos 8-aminoquinolínicos mais potentes e menos tóxicos levou à seleção de pentaquina, isopentaquina e primaquina, compostos que, ao contrário de outros antimaláricos, agem nos estágios tissulares (exoeritrocíticos) do *P. vivax* e do *P. ovale* para evitar e curar a malária recidivante. Apenas a primaquina (Figura 3.4), exaustivamente testada durante a Guerra da Coréia, é amplamente utilizada atualmente.²⁴

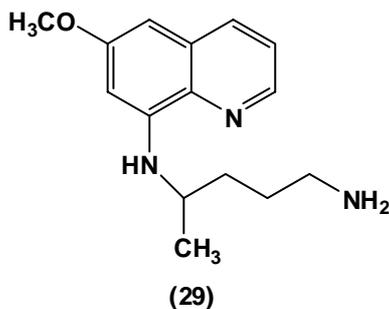


Figura 3.4. Estrutura da primaquina.

A ação antimalárica da primaquina é exercida contra os hipnozoítos hepáticos (Figura 3.1; local B) e pode efetuar a cura radical daquelas formas de malária nas quais os parasitos possuam um estágio dormente no fígado – *P. vivax* e *P. ovale*. A primaquina possui pouca ou nenhuma atividade contra o estágio eritrocítico do parasito. É o fármaco mais efetivo para a prevenção da transmissão da doença em todas as quatro espécies de plasmódios.²¹ Na Tabela 3.2 estão apresentados outros dados sobre o fármaco.

3.2.4 Antagonista do Folato

Os antagonistas do folato podem atuar como excelentes esquizotomicidas sanguíneos. Entretanto, os parasitos têm desenvolvido resistência a esses fármacos. Esses fármacos são divididos em dois grupos de acordo com seus mecanismos de ação. O primeiro grupo (antifolatos tipo I) inclui compostos que são competidores do ácido *para*-aminobenzóico (PABA) (Figura 3.5), interrompendo a formação do ácido dihidropteróico, necessário para a síntese de ácidos nucleicos, através da inibição da dihididroteroato sintase.⁴

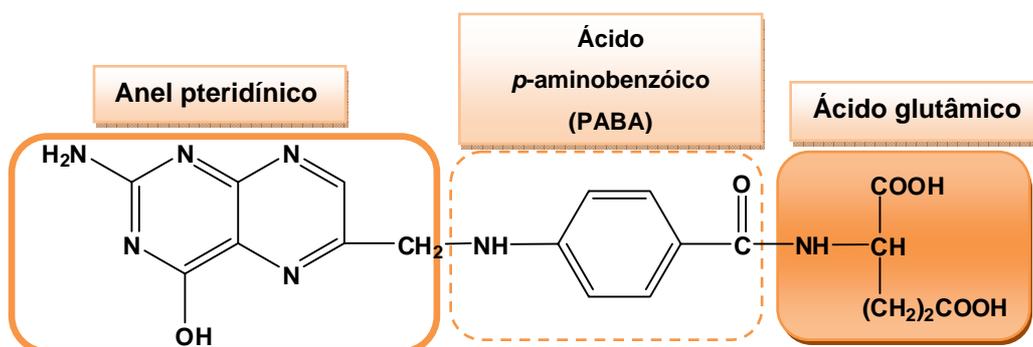


Figura 3.5. Estrutura do ácido fólico.

A dapsona (30) (Figura 3.6;) é a mais conhecida entre as sulfonas antimaláricas. Mas devido à sua toxicidade, tem sido pouco utilizada. As sulfonamidas antimaláricas (Figura 3.6) incluem a sulfadoxina (31), a sulfadiazina (32) e o sufaleno (33). Compostos desta família apresentam fácil absorção, mas difícil excreção pelo organismo.⁴

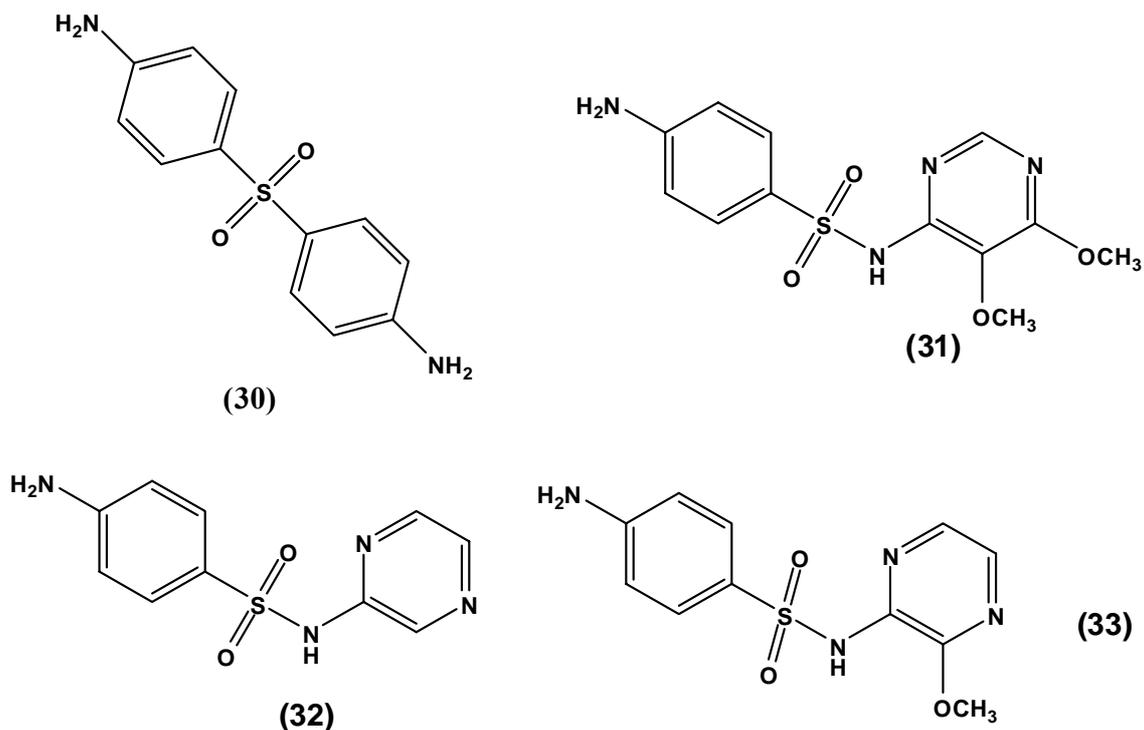


Figura 3.6. Estruturas: dapsona (30), sulfadoxina (31), sulfadiazina (32) e sulfaleno (33).⁴

Os antifolatos tipo II ligam-se preferencialmente à enzima di-hidrofolato redutase-timidilato sintase (DHFR-TS) do parasito. Esta inibição interfere na habilidade do *Plasmodium* em converter o ácido dihidrofólico em tetraidrofolato, cofator importante no processo de síntese de ácidos nucleicos e aminoácidos.⁴ Como exemplo desta classe, a pirimetamina (34) (Figura 3.7) é um esquizonticida sanguíneo de ação lenta com efeitos antimaláricos *in vivo* semelhantes aos do proguanil.

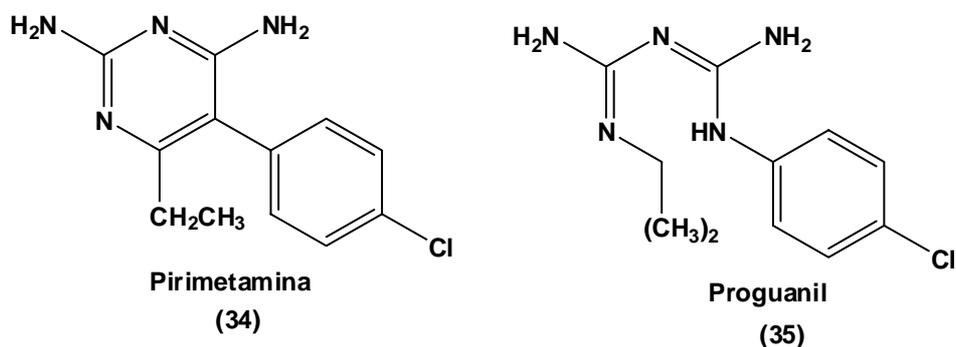


Figura 3.7. Estrutura da pirimetamina e proguanil.

Ambos os fármacos possuem afinidade maior pela enzima do *Plasmodium* do que pela humana. Eles possuem ação lenta contra as formas eritrocíticas do parasito e acredita-se que a proguanil possua efeito adicional no estágio hepático inicial.²¹

Diferente do proguanil, a pirimetamina não apresenta eficácia importante contra as formas hepáticas do *P. falciparum*. Em doses terapêuticas, a pirimetamina não consegue erradicar as formas tissulares latentes do *P. vivax* ou os gametócitos de qualquer espécie de plasmódio.²⁴

O proguanil (35) é um pró-fármaco que é metabolicamente ciclizado a cicloguanil. Este composto é pouco tóxico e é útil como agente profilático, destruindo parasitos durante a passagem para a corrente sanguínea antes que invadam as hemácias. Esse fármaco tem sido utilizado, juntamente com a cloroquina, principalmente em viajantes não-imunes à doença e em áreas onde o nível de resistência a essa última é moderado.²⁴

3.2.5. Artemisinina e derivados

A artemisinina (Figura 3.8A) é uma lactona sesquiterpenóide com endoperóxido derivada da semente *qing hao* (*Artemisia annua*), também denominada de absinto doce ou absinto anual. Os chineses atribuíram valor medicinal a essa planta há mais de 2000 anos. Em 1972, cientistas chineses extraíram e cristalizaram o principal ingrediente antimalárico, o *qinghaosu*, atualmente conhecido como artemisinina. Em 1979, os chineses descreveram que os fármacos da artemisinina (Figura 3.10) tinham ação rápida, eficaz e segura para o tratamento de pacientes com infecção pelo *P. vivax* ou pelo *P. falciparum*.²⁴

Além da artemisinina, foram sintetizados três derivados com potência antimalárica maior do que a da própria artemisinina. A diidroartemisinina (37), um produto reduzido, a arteméter (38), um metil éster solúvel em óleo e o artesunato (39), o sal hemissuccinato hidrossolúvel da diidroartemisinina.²⁴

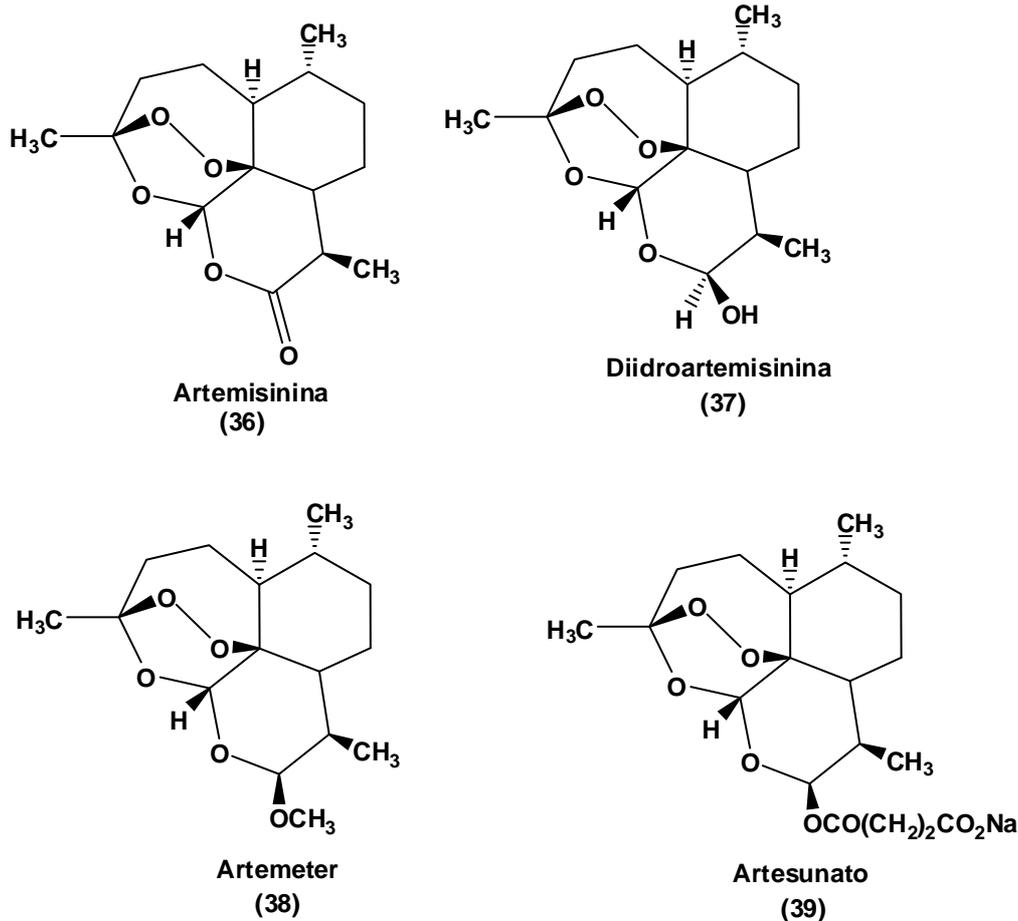


Figura 3.8. Estrutura da artemisinina e derivados.

Estes compostos sesquiterpênicos apresentam uma ponte de peróxido sobre o anel de sete membros e são esquizontocidas sanguíneos de rápida atuação e efetivo no tratamento da crise aguda da malária, concentrando-se nos eritrócitos infectados. Estes compostos também possuem atividade gametocida, que limita a transmissão para outros hospedeiros, reduzindo assim o espalhamento de formas resistentes. Todavia, ainda não se sabe se este efeito é devido à sua rápida ação sobre as formas sanguíneas do parasito, impedindo o surgimento dos gametócitos, ou se existe mesmo um efeito sobre a forma sexuada. Além disto, estas substâncias são ativas contra cepas de *Plasmodium* resistentes a todos os outros fármacos e têm aplicação crescente no tratamento de malária *falciparum* aguda, sobretudo no sudeste asiático. Na Tabela 3.2 tem outros dados relacionados a estes fármacos. Apesar do sucesso dessa família de fármacos, já há relatos da ocorrência de resistência a esses compostos em algumas províncias da China.⁴

Vários estudos mostram que a ponte de endoperóxido destes compostos pode ser clivado pela redução com íon ferroso presente no grupo heme da hemoglobina ou de

origem exógena. Esta clivagem forma um ou mais radicais livres que podem alquilar ou modificar covalentemente proteínas dos parasitos. Outros experimentos indicam que o mecanismo de ação é similar ao das quinolinas, onde os fármacos se acumulam no vacúolo digestivo do parasito e interferem na formação da hemozoína.⁴

3.2.6 Halofantrina

Um derivado do fenantreno, a halofantrina (40) (Figura 3.9), é efetiva contra a malária resistente à cloroquina¹⁵ e tem sido avaliado para o uso humano, apresentando distúrbios gastrintestinais como seus principais efeitos colaterais. Já foram observadas formas resistentes desse parasito a esse medicamento, além da ocorrência de casos de resistência cruzada com a mefloquina.⁴

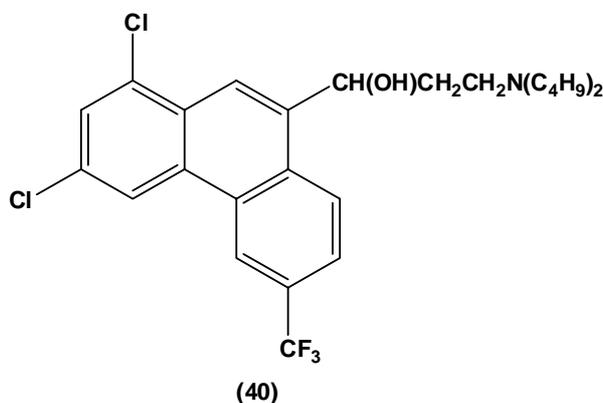


Figura 3.9. Estrutura da halofantrina

3.2.7 Cloroquina

A cloroquina (CQ) é uma das 4-aminoquinolinas pesquisadas como parte de um amplo programa de cooperação de pesquisa antimalárica nos EUA durante a Segunda Guerra Mundial. Desde 1943, milhares desses compostos foram sintetizados e tiveram sua atividade testada. A cloroquina acabou se mostrando mais promissora e foi liberada para os testes de campo. Quando as hostilidades cessaram, foi descoberto que o composto tinha sido sintetizado e estudado com o nome de resochin pelos alemães já em 1934.²⁴

A cloroquina (Figura 3.10) e outros antimaláricos quinolínicos têm sido empregados no tratamento da malária por mais de 40 anos. O sucesso destes fármacos baseia-se no fato de que os mesmos são eficazes no tratamento da doença, apresentam

baixa toxicidade sobre o hospedeiro, suas sínteses são relativamente fáceis e de baixo custo.^{1,22}

Durante as décadas de 1980 e 1990, o aumento da resistência aos fármacos tem severamente limitado a escolha do tratamento de combate da malária. Estudos bioquímicos da cloroquina e outros 4-aminoquinolínicos sugeriram que a acumulação de agentes quimioterápicos no vacúolo digestivo do parasito é crítico para a atividade antimalárica.²²

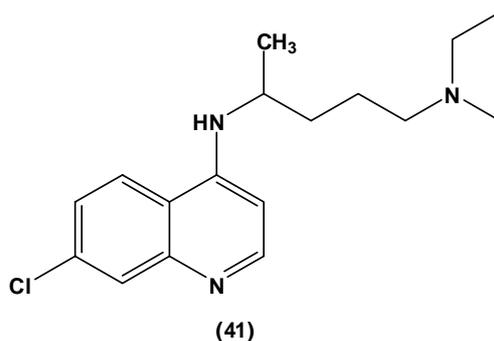


Figura 3.10. Estrutura da cloroquina.

A cloroquina se assemelha muito aos 8-aminoquinolinas, pamaquina e pentaquina. Contém a mesma cadeia lateral que a quinacrina (42), porém difere desse antimalárico por ter uma quinolina em vez de um núcleo de acridina e por não ter o grupo metoxi (Figura 3.1). Um átomo de cloro ligado à posição do anel da quinolina confere maior atividade antimalárica, tanto na malária em aves como na humana.²⁴

Quando não limitada pela resistência dos parasitos²⁰, a cloroquina é muito eficaz contra as formas eritrocíticas de *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* e *P. falciparum*, sendo ativa contra os gametócitos das três primeiras espécies de plasmódio, mas não contra os do *P. falciparum* nem contra as formas tissulares latentes de *P. vivax* ou *P. ovale*, portanto não podendo curar infecções por essas espécies.²⁴

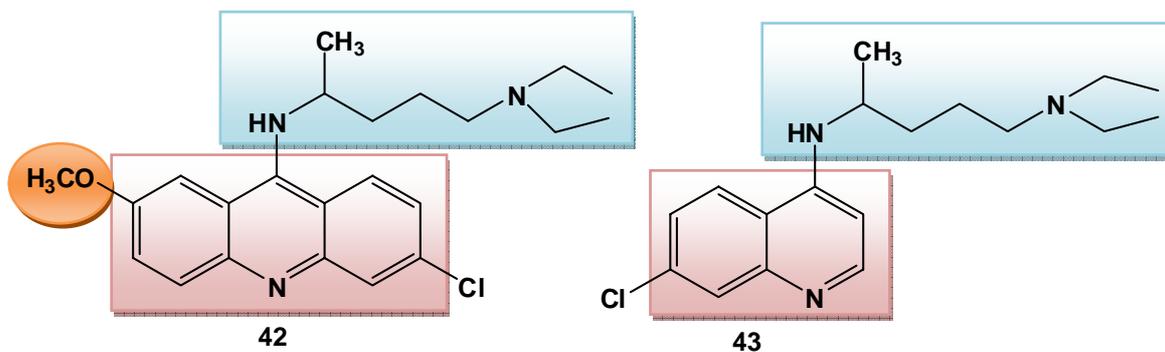


Figura 3.11. Comparação entre a molécula da quinacrina e cloroquina.

Tem-se relatado que a CQ aumenta os níveis de óxido nítrico, um mediador produzido a partir da L-arginina pela óxido nítrico sintetase (NOS). No entanto, não se descobriu o envolvimento de mudança de GSH (glutationa) e a relação entre NO e GSH nas células tratadas com CQ. O potencial redox celular é, em grande parte, determinado pelo GSH, um dos compostos intracelulares mais bem estudados que representa a chave fundamental na defesa celular contra o dano oxidativo. Recentes evidências mostraram que os níveis aumentados de NO consome a GSH celular formando um aduto S-nitroso-glutationa e com isso, observaram que a cloroquina aumentou a produção de NO coincidindo com o decréscimo drástico nos níveis de GSH e a morte celular.¹⁹

A resistência da cloroquina no *P. falciparum* está associada com mutações da proteína transmembrana PfCRT no vacúolo digestivo e com elevações de concentrações de glutatona redutase. O transportador de cloroquina resistente *P. falciparum* (PfCRT) age como transportador da cloroquina.⁵

A cloroquina e seus análogos são utilizados para o tratamento de outras doenças além da malária como fármacos secundários no tratamento de várias doenças crônicas. Portanto, altas doses desses compostos, frequentemente junto com outros agentes, apresentam eficácia clínica nos casos de artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico, lúpus discóide, sarcoidose e doenças de fotossensibilidade como porfiria cutânea tardia e fotoerupção polimórfica grave.²⁴

3.2.7.1 Relação Estrutura –Atividade de Novos Análogos da Cloroquina

Pesquisas sobre as relações entre estrutura e a atividade de derivados da cloroquina continuam sendo realizadas com o objetivo de elaborar antimaláricos mais eficazes, com melhores perfis de segurança e que possam ser utilizados contra as cepas resistentes de todos os tipos de *Plasmodium*, principalmente do *P. falciparum*. Por exemplo, foi verificado que modificações no grupo amino da molécula de cloroquina conduziram a um aumento comparativo da atividade antimalárica, pois se observou um aumento no acúmulo do fármaco no vacúolo digestivo, com maiores interações com a hematina.²²

Como já foi abordado no capítulo anterior, a desintoxicação de ferriprotoporfirina IX (Fe(III)PPIX) no vacúolo digestivo do parasito ocorre através da polimerização formando o pigmento malárico (hemozoína). A maior parte da

Fe(III)PPIX é transportada através da membrana vacuolar e degradado por processos redox de glutatona, com a redução de espécies reativas.

Foram comparados 14 aminoquinolinas (Figura 3.12) sustentando a hipótese que a cloroquina e antimaláricos análogos agem através de sua complexação com a Fe(III)PPIX, inibindo sua conversão a hemozoína. Foi avaliado o efeito da posição do grupo amino e a posição do cloro na atividade destes compostos.³

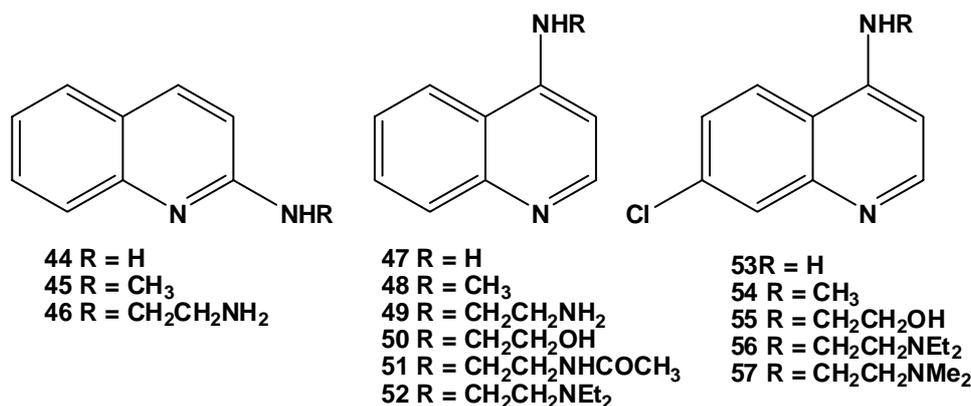


Figura 3.12. Compostos sintetizados para análise do efeito da posição do grupo amino e do cloro.³

Em todos os compostos estudados foram observadas poucas mudanças no valor da constante de complexação (Tabela 3.3). Exceção do composto **56** (Figura 3.12) e da cloroquina (Figura 3.10).³

A cadeia lateral aminoalquílica é responsável por sua forte atividade antiplasmodial. Mudanças no comprimento da cadeia aminoalquílica têm pouca influência na atividade contra cepas de cloroquina- sensível ao *P. falciparum*, mas tem uma profunda influência na atividade contra as cepas de cloroquina resistente.³

Tabela 3.3. Constantes de associação dos compostos apresentados na Figura 3.14 com Fe(III)PPIX, atividade inibitória da β-hematina e a atividade antiplasmodial contra as cepas de D10 de *Plasmodium falciparum*.

Composto	LogK ±SEM (n=3)	Inibição da β- hematina	IC50(nM) ±SEM (n=3)
44	4,23 ± 0,02	-	>10000
45	4,49 ± 0,01	-	>10000
46	4,43 ± 0,01	+	3800 ± 500
47	4,26 ± 0,03	-	>10000
48	4,38 ± 0,03	-	>10000
49	4,48 ± 0,02	+	4000 ± 2200
50	4,34 ± 0,06	-	>10000
51	4,59 ± 0,04	-	4700 ± 800

52	$4,928 \pm 0,003$	+	92 ± 12
53	$4,18 \pm 0,03$	-	>10000
54	$4,28 \pm 0,06$	-	>10000
55	$4,75 \pm 0,03$	-	799 ± 404
56	$5,81 \pm 0,01$	+	49 ± 14
57	$4,96 \pm 0,01$	+	$80,9 \pm 6,2$
Cloroquina	$5,52 \pm 0,03$	+	38 ± 14

Evidências conduziram à formulação de um modelo detalhado da relação estrutura-atividade da cloroquina, onde o núcleo 4-aminoquinolínico da cloroquina apenas promove uma das formas de complexação, não sendo suficiente para a inibição da formação da hemozoína (Figura 3.13); a introdução do grupo 7-cloro é responsável pela inibição da formação da hemozoína, mas provavelmente tem pouca influência na força de associação com Fe(III)PPIX; o átomo de nitrogênio da cadeia lateral aminoalquílica e do anel quinolínico (Figura 3.13) são uma exigência para a forte atividade antiplasmodial (provavelmente auxilia no acúmulo do fármaco no vacúolo digestivo e aumenta a força de associação com Fe(III)PPIX).³

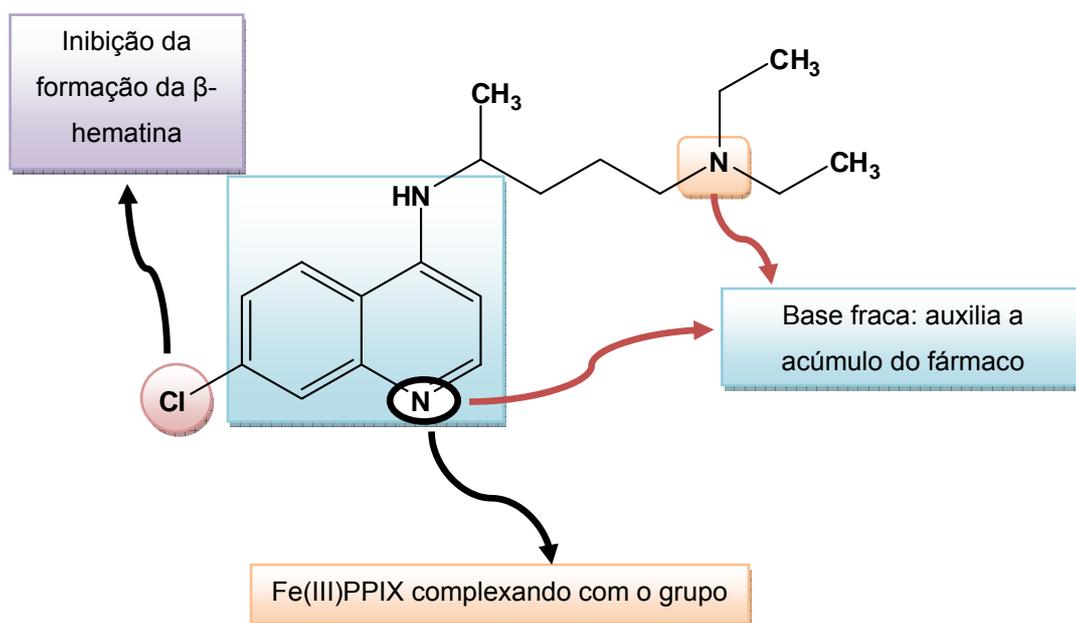


Figura 3.13. Proposta para a relação estrutura-atividade da cloroquina baseados na constante de associação.³

A relação estrutura/atividade dos compostos antimaláricos 4-aminoquinolínicos sugere que o núcleo 7-cloro-4-aminoquinolínico (Figura 3.14) é obrigatório para a atividade antimalárica, particularmente pela inibição da formação da β-hematina e a acumulação do fármaco no local de ação.²³

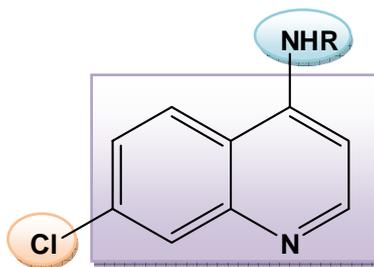


Figura 3.14. Núcleo 7-cloro-4-aminoquinolínico.²³

A cloroquina, uma base fraca anfipática, quando no interior do vacúolo digestivo do parasito, interage com a forma dimérica μ -oxo de heme oxidado e impede a formação da hemozoína. A interação π - π entre a cloroquina e o sistema eletrônico da hematina controla a formação da hemozoína, matando o parasito pela indução do estresse oxidativo via peroxidação da membrana lipídica, do DNA, e das proteínas do parasito. (Figura 3.15).^{7,14}

Sugere-se também que um mecanismo de ação alternativo da cloroquina é a geração de radicais altamente reativos devido a transferência de elétrons entre o acoplamento redox de heme Fe(II) / heme Fe(III) e o anel quinolínico.¹⁴

A introdução de um átomo de cloro ou outros grupos na posição 7 no anel parece ter efeito na força de associação de 4-aminoquinolínico com hematina. Fármacos quinolínicos com ausência do cloro na posição 7 não inibem a formação da hemozoína, mesmo tendo sido detectadas as formações dos respectivos complexos com o heme. Se o átomo for introduzido na posição 6 do anel, a interação com hematina é completamente desestabilizada¹⁴. No entanto, a substituição do cloro por bromo ou pelo grupo nitro mostra a inibição da formação da hemozoína. Por outro lado, se o cloro for substituído pelo grupo amino não se observa a inibição. Substituindo a cadeia lateral aminoalquílica pelo grupo hidroxil causa redução drástica na atividade.¹⁴

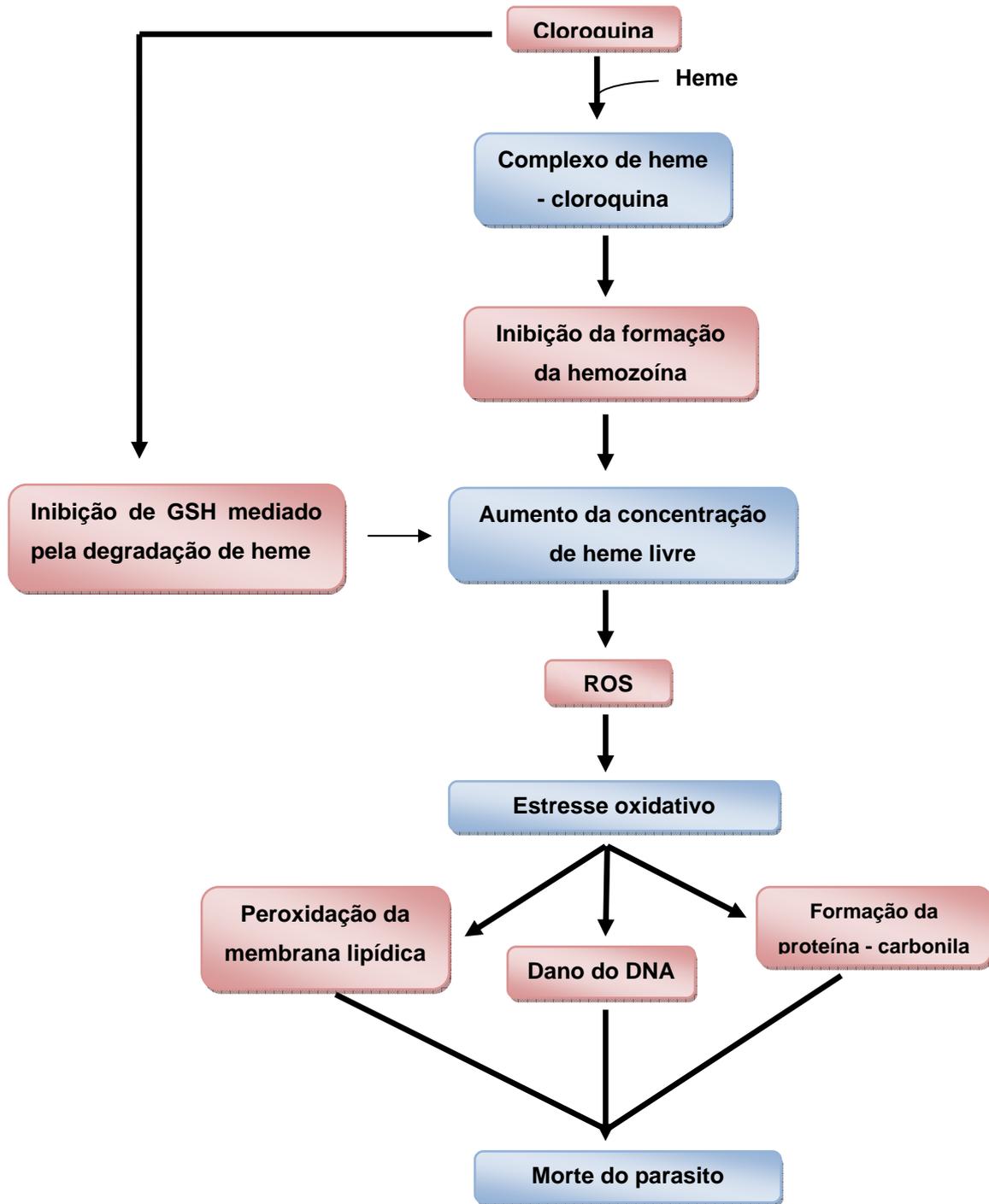


Figura 3.15. Possível mecanismo da atividade antimalárica da cloroquina.

Pirazóis e 4,5-diidropirazóis são importantes agentes biológicos com atividade antiinflamatória, antifúngica, antibacteriana, antitumoral e antiviral e também atividade agroquímica. Dessa forma, foram propostas modificações da estrutura base da cloroquina com a adição de grupos pirazóis (Figura 3.16). Neste caso, foi verificado que

alguns compostos mostraram atividade antimalárica, mas foram menos ativos que a cloroquina (Tabela 3.4).¹

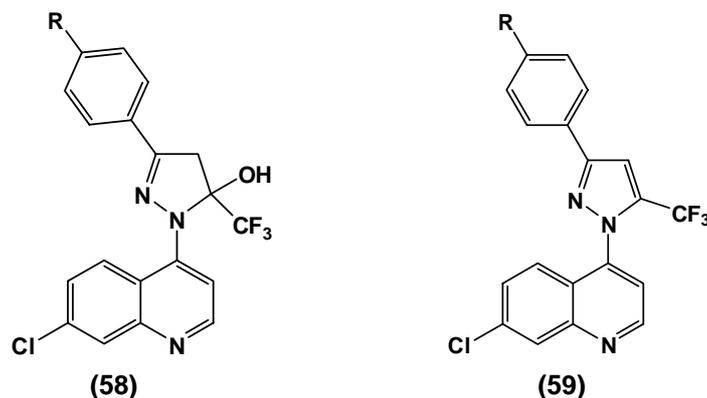


Figura 3.16. Derivados da cloroquina com os pirazóis.

Compostos contendo dois núcleos quinolínicos combinado com ligantes alifáticos ou aromáticos são chamados de bisquinolinas (p. ex.: piperaquina, hidroxipiperaquina) (Figura 3.17). Bisquinolinas foram mais potentes que a cloroquina contra ambas as cepas de cloroquina sensível e resistente de *P. falciparum*. A potência antimalárica está correlacionada com a inibição de formação da hemozoína; sugerindo que estas bisquinolinas exercem sua atividade antimalárica antagonizando o seqüestro de fragmentos de heme tóxica.¹⁴

Tabela 3.4. Atividade antimalárica de 4-(5-trifluorometil-5-hidroxi-4,5-diidropirazol-1-il)-7-cloroquinolinas **60a-h** e 4-(pirazol-1-il)-7-cloroquinolinas **61a-j**.¹

Composto	IC ₅₀ ^a (µg/mL)	Composto	IC ₅₀ ^a (µg/mL)
58a (R = H)	1,39	59a(R = H)	9,53
58b (R = CH₃)	3,04	59b (R = CH₃)	>50,0
58c (R = F)	2,13	59c (R = F)	27,62
58d (R = Cl)	1,69	59d (R = Cl)	>50,0
58e (R = Br)	1,55	59e (R = Br)	>50,0
58f (R = OCH₃)	>50,0	59f (R = OCH₃)	>50,0
58g (R = NO₂)	5,71	59g (R = NO₂)	>50,0
58h (R = FENIL)	2,12	59h (R = FENIL)	18,53
Cloroquina	0,19		

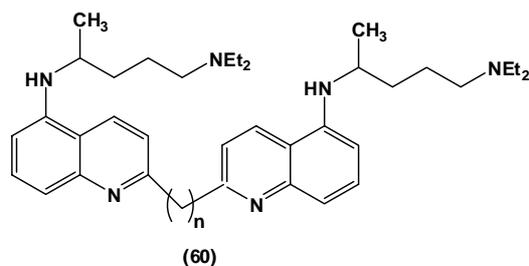


Figura 3.17. Compostos contendo dois núcleos quinolínicos combinado com ligantes alifáticos ou aromáticos – bisquinolinas.¹⁴

Estudos químico-computacionais de interações entre hemozoína-fármaco foram realizados para verificação de relações estrutura-atividade. Observou-se que a cloroquina se intercala muito bem em determinados locais, interagindo com três grupos porfirínicos (Figura 3.18, porfirinas 1, 2 e 3). Mais especificamente, o grupo 4-amino da cloroquina interage com o grupo vinil do fragmento porfirínico 1; o cloro no anel quinolínico interage com o grupo metil da porfirina 2; o anel N-quinolínico com um grupo vinil na porfirina 2; enquanto o grupo amino terminal carregado positivamente interage com o grupo propionato, carregado negativamente, da porfirina 3.²

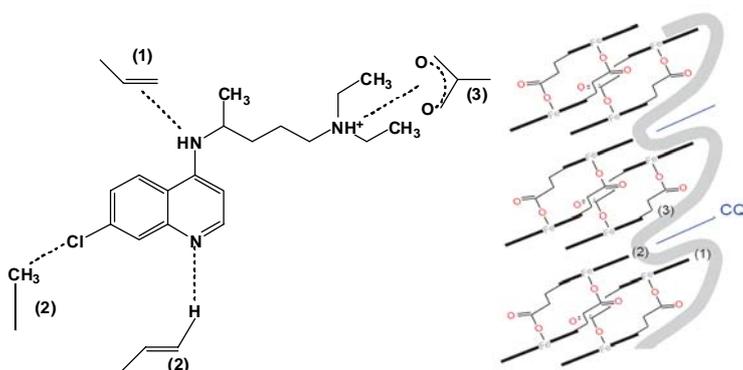


Figura 3.18. Proposta de interação entre a hemozoína e a cloroquina.²

Mais recentemente foram realizadas abordagens que visavam à aumentar a potência de antimaláricos quinolínico contra parasitos resistentes com a adição de alcalóides contendo fragmentos de β -carbólinas (representam importantes estruturas para o desenvolvimento de antiinfeciosos, inibidores) que poderiam reprimir a formação da hemozoína e outros alvos no *P. falciparum* (Figura 3.19). A atividade antimalárica de algumas dessas substâncias *in vitro* contra cepas de *P. falciparum* sensíveis à cloroquina são mostradas na Tabela 3.5. Dos 23 compostos sintetizados, três compostos (**61**, **62** e **63**) mostraram o MIC de 0,22 μM e três (**64**, **70** e **72**) apresentaram

uma faixa de 0,05-0,11 μM em que são mais ativos que o fármaco padrão (cloroquina). Estas moléculas híbridas podem ser úteis como novos candidatos à quimioterapia antimalárica.¹⁰

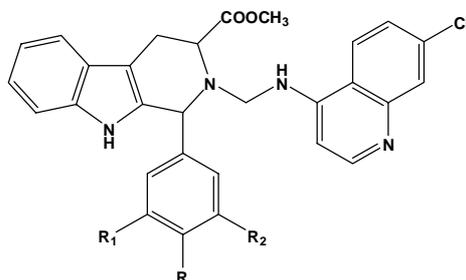


Figura 3.19. Série de moléculas híbridas de 2-[3-(7-cloro-quinolin-4-ilamino)-alquil]-1-(fenil substituído)-2, 3, 4,9-tetraidro-1H- β carbolinas

Tabela 3.5. Atividade antimalárica *in vitro* contra *P. falciparum* de substâncias químicas com estrutura química básica representada na Figura 3.21.

N.º do composto	n	R	R ₁	R ₂	MIC (μM)
61	3	-CH(CH ₃) ₂	H	H	0.22
62	3	-CH(CH ₃) ₂	H	H	0.22
63	3	-CH(CH ₃) ₂	H	H	0.22
64	3	-CH(CH ₃) ₂	H	H	0.05
65	2	-CH(CH ₃) ₂	H	H	18.12
66	2	-CH(CH ₃) ₂	H	H	18.12
67	2	-CH(CH ₃) ₂	H	H	18.12
68	2	-CH(CH ₃) ₂	H	H	18.12
69	3	-CH ₃	H	H	0.46
70	3	-CH ₃	H	H	0.06
71	2	-CH ₃	H	H	19.08
72	3	-CH ₂ CH ₃	H	H	0.11
73	3	-OCH ₃	H	H	3.61
74	3	-OCH ₃	H	H	3.61
75	3	-OCH ₃	H	H	3.61
76	3	-OCH ₃	H	H	18.05
77	3	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	16.28
78	3	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	16.28
79	3	-Br	H	H	16.58
80	3	-Cl	H	H	3.58
81	3	-Cl	H	H	1.79
82	3	-SCH ₃	H	H	17.54
83	3	-SCH ₃	H	H	17.54
Cloroquina					0.391

De acordo com o exposto até o momento, é possível concluir que, com a falta de sucesso no desenvolvimento na área de vacinas, a identificação e descoberta de

fármacos contra novos alvos parasitários parece ser a abordagem mais racional para suplantar a ameaça de parasitos que adquiriram resistência contra fármacos antimaláricos que inicialmente eram bastante eficazes.¹⁶

Cabe aqui abrir parênteses para comentar outro alvo de ação de terapias antimaláricas, mais especificamente as proteínas nucleares que atuam na regulação da transcrição e na progressão do ciclo celular pela acetilação e desacetilação do grupo ϵ -amino de resíduos de lisina específicas denominadas histonas. O processo de acetilação e desacetilação é controlado por duas famílias de enzimas; histonas acetiltransferase (HATs) e as histonas desacetilases (HDACs). A enzima histona desacetilase (HDAC) para o *P. falciparum* tem sido identificado como um novo alvo para o desenvolvimento na terapia antimalárica. Dois homólogos de histonas desacetilase para o *Plasmodium falciparum*, PfHDAC-1 e PfSir2 tem sido clonado e seqüenciado até agora.¹⁶

3.3. Propostas de Fármacos Antimaláricos Contendo Metais

Uma abordagem muito considerada para o desenvolvimento de fármacos antimaláricos é através da incorporação de metais na estrutura molecular do mesmo. Compostos metalofármacos antimaláricos são um arsenal recente de compostos para o tratamento da malária especialmente envolvendo organismos resistentes aos fármacos tradicionais. Neste item, são apresentadas algumas das abordagens que vêm sendo utilizadas no preparo de novos metalofármacos antimaláricos.

A complexação de uma classe de ligantes naftoquinonas (Figura 3.20) especialmente com cobre, tem sido promissor para a atividade antimalárica contra cepas de cloroquina sensível e resistente ao *Plasmodium falciparum*.⁸

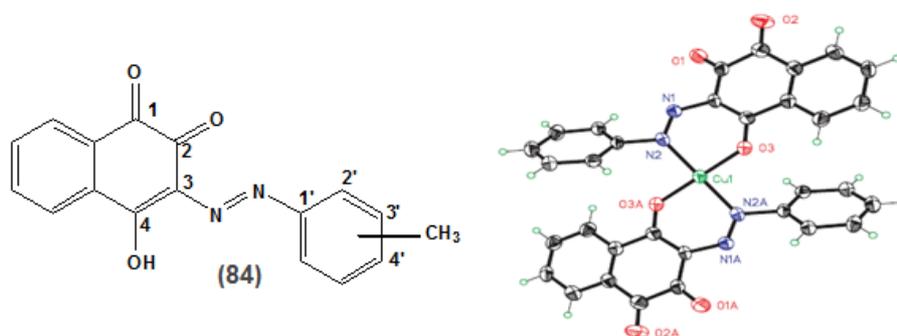


Figura 3.20. Representação de (arilazo)-4-hidroxi-1,2-naftoquinona(L1H) e [Cu(L1)₂]Cl.⁸

Uma nova classe de ligantes aminofenóis hexadentados pode se ligar eficientemente a vários metais para gerar complexos moderadamente hidrofóbicos e hidrofílicos. Devido a similaridade das propriedades químicas, foram utilizados os metais gálio e ferro para formar os complexos [$\{1,12\text{-bis(2-hidroxi-3-etil-benzil)-1,5,8,12-tetraazadodecano}\text{metal(III)}\}^+$, $[M\text{-3-Eadd}]^+$ [$M=\text{Fe(III)}$, 85a; Ga(III) , 85b] (Figura 3.21). Foi avaliada a atividade antimalárica desses complexos frente a cepas de HB3 CQ-sensível e Dd2 CQ-resistente, sugerindo mecanismos de ação semelhantes para estes complexos, ou seja, inibindo a formação da hemozoína.¹¹

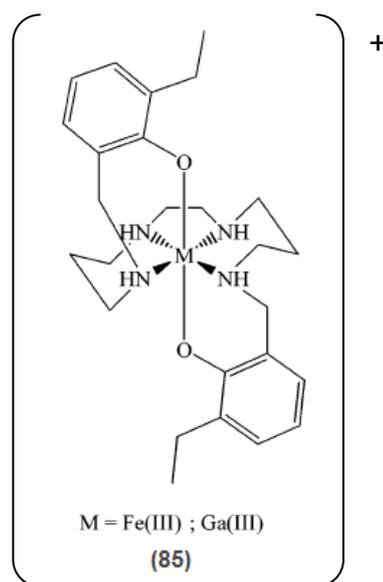


Figura 3.21. Estrutura de [$\{1,12\text{-bis(2-hidroxi-3-etil-benzil)-1,5,8,12-tetraazadodecano}\text{metal(III)}\}^+$, $[M\text{-3-Eadd}]^+$ [$M=\text{Fe(III)}$, 85a; Ga(III) , 85b].¹¹

Outros potentes agentes antimaláricos foram elaborados empregando-se ligantes hexadentados, como os mostrados na Figura 3.22. Tais ligantes mostram-se flexíveis para coordenação de diversos metais, incluindo Fe(III), formando complexos muito estáveis, impedindo sua decomposição do organismo.⁹

Novos complexos de Au(I) e Au(III) com a molécula da cloroquina (Figura 3.23) foram produzidos, caracterizados e avaliados em termos da atividade antimalárica *in vitro* contra várias cepas de *Plasmodium falciparum*. Todos os complexos mostraram-se ativos *in vitro* contra cepas CQ-sensíveis ou resistentes do *P. falciparum*. A maior atividade desta série de potenciais fármacos foi obtida pelo complexo 90, que foi cinco vezes mais ativo que a cloroquina difosfato (CQDP) contra a cepa de CQ-resistente FcB1.¹⁸

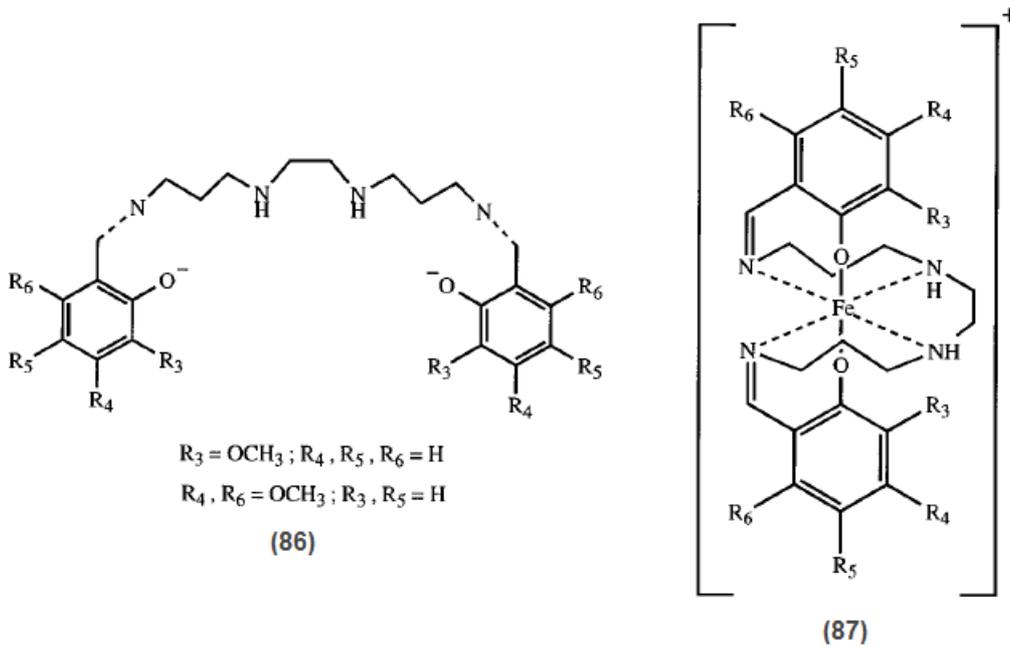


Figura 3.22. Estrutura do ligante etilenodiamina-bis[propil((R)-benzilimino)]hexadentado (N_4O_2) e os correspondentes complexos monocatiônico (R)-ENBPA-metal(III).⁹

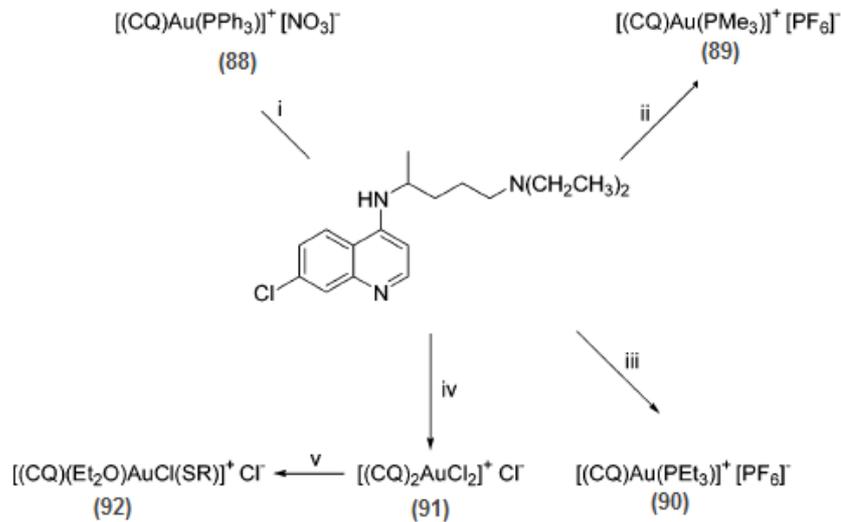


Figura 3.23. Complexos de Au com a molécula da cloroquina.¹⁸

Além de todos os metais com atividade antimalárica mencionados anteriormente, complexos de CQ-irídio (Figura 3.24) também apresentaram atividade. Comparando-se os valores de IC_{50} obtidos, o complexo **94** mostrou alta atividade, enquanto os complexos **93** e **95** apresentaram uma comparável baixa atividade.¹⁷

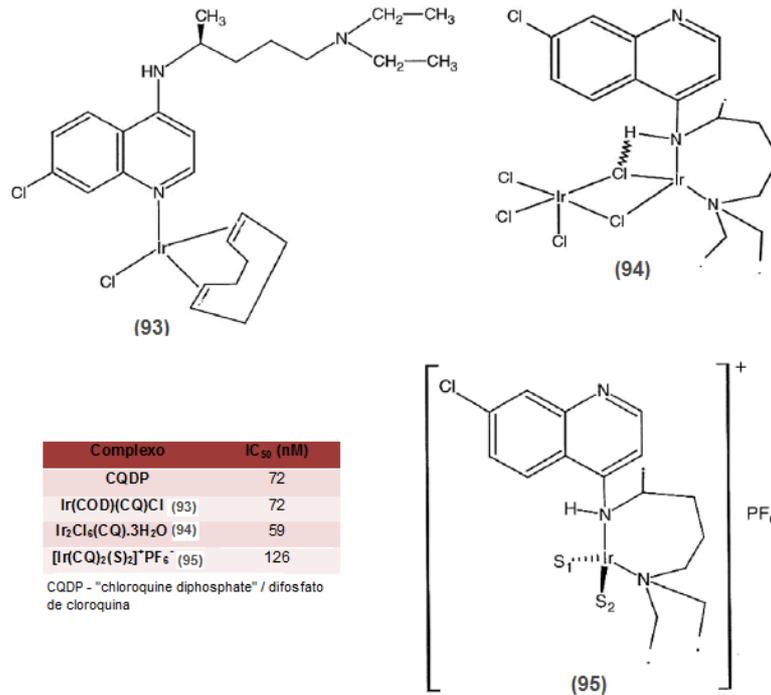


Figura 3.24. Complexos de CQ-irídio.¹⁷

3.3. Referências Bibliográficas

1. Cunico, W.; Cechinel, C.A.; Bonacorso, H.G.; Martins, M.A.P.; Zannata, N.; Souza, M.V.N.; Freitas, I.O.; Soares, R.P.P.; Krettli, A.U. Antimalarial activity of 4-(5-trifluoromethyl-1*H*-pyrazol-1-yl)-chloroquine analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2006**, *16*, 649-653.
2. Egan, T.J. Haemozoin (malaria pigment): a unique crystalline drug target. *Targets*, **2003**, *2*, 115-124.
3. Egan, T.J.; Hunter, R.; Kaschula, C.H.; Marques, H.M.; Misplon, A.; Walden, J. Structure-function relationships in aminoquinolinas: effect of amino and chloro groups on quinoline-hematin complex formation, inhibition of β -hematin formation, and antiplasmodial activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2000**, *43*, 283-291.
4. França, T.C.C.; Santos, M. G.; Figueroa-Villar, J. D. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. *Química Nova*, **2008**, *31*, 1271-1278.
5. Friebolin, W.; Jannack, B.; Wenzel, N.; Furrer, J.; Oeser, T.; Sanchez, C.P.; Lanzer, M.; Yardley, V.; Becker, K.; Davioud-Charvet, E. Antimalarial dual drugs based on potent inhibitors of glutathione reductase from *Plasmodium falciparum*. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2008**, *51*, 1260-1277.
6. Fundação Nacional de Saúde – FUNASA / Ministério da Saúde – MS. Vigilância Epidemiológica: Manual de Terapêutica da malária, **2001**.
7. Gemma, S.; Campiani, G.; Butini, S.; Kukreja, G.; Joshi, B.P.; Persico, M.; Catalanotti, B.; Novellino, E.; Fattorusso, E.; Nacci, V.; Savini, L.; Taramelli, D.; Basilio, N.; Morace, G.; Yardley, V.; Fattorusso, C. Design and synthesis of antimalarial agents based on clotrimazole scaffold: exploring an innovative pharmacophore. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2007**, *50*, 595-598.

8. 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*, **2006**, *16*, 430-432.
9. Goldberg, D.E.; Sharmas, V.; Oksman, A.; Gluzman, I.Y.; Wellems, T.E.; Piwnica-Worms, D. Probing the chloroquine resistance locus of Plasmodium falciparum with a novel class of multidentate metal(III) coordination complexes. *Journal of Biological Chemistry*, **1997**, *272*, 6567-6572.
10. Gupta, L.; Srivastava, K.; Singh, S.; Puri, S.K.; Chauhan, P.M.S. Synthesis of 2-[3-(7-chloro-quinolin-4-ylamino)-alkyl]-1-(substituted phenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H- β -carboniles as a new class of antimalarial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2008**, *18*, 3306-3309.
11. Harpstrite, S.E.; Beatty, A.A.; Collins, S.D.; Oksman, A.; Goldberg, D.E.; Sharma, V. Metalloantimalarials: Targeting of P. falciparum strains with novel iron(III) and gallium(III) complexes of an amine phenol ligand. *Inorganic Chemistry*, **2003**, *42*, 2294-2300.
12. Jaeger, A. Quinine and chloroquine. *Medicine*, **2007**, *35*, 652-653.
13. Khaw, M.; Panosian, C.B. Human antiprotozoal therapy: past, present and future. *Clinical Microbiology Reviews*, **1995**, *8*, 427-439.
14. Kumar, S.; Guha, M.; Choubey, V.; Maity, P.; Bandyopadhyay, U. Antimalarial drugs inhibiting hemozoína (β -hematin) formation: a mechanistic update. *Life Sciences*, **2007**, *80*, 813-828.
15. Lemke, T.L. In Antiparasitic Agents; Lemke, T.L.; Williams, D.A., eds.; Lippincott Williams & Wilkins: USA, **2008**, cap. 39.

16. Mukherjee, P.; Pradhan, A.; Shah, F.; Tekwani, B.L.; Avery, M.A. Structural insights into the Plasmodium falciparum histone deacetylase 1 (PfHDAC-1): A novel target for the development of antimalarial therapy. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, *16*, 5254-5265.
17. Navarro, M.; Pekerar, S.; Pérez, H.A. Synthesis, characterization and antimalarial activity of new iridium-chloroquine complexes. *Polyhedron*, **2007**, *26*, 2420-2424.
18. Navarro, M.; Vásquez, F.; Sánchez-Delgado, R.A.; Pérez, H.; Sinou, V.; Schrével, J. Toward a Novel Metal-based chemotherapy against tropical diseases. Synthesis and in vitro antimalarial activity of new gold-chloroquine complexes. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2004**, *47*, 5204-5209.
19. Park, B.C.; Park, S.H.; Paek, S.H.; Park, S.Y.; Kwak, M.K.; Choi, H.G.; Yong, C.S.; Yoo, B.K.; Kim, J.A. Chloroquine – induced nitric oxide increase and cell death is dependent on cellular GSH depletion in A172 human glioblastoma cells. *Toxicology Letters*, **2008**, *178*, 52-60.
20. Philip, J; Rosenthal, MD. Em Antiprotozoários; Katsung, B.G., ed.; Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, **2006**, cap. 53.
21. Rang, H.P.; Dale, M.M. *Farmacologia*. 6º ed., Elsevier: Rio de Janeiro, **2007**.
22. Solomon, V.R.; Puri, S.K.; Srivastava, K.; Katti, S.B. Design and synthesis of new antimalarial agents from 4-aminoquinoline. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2005**, *13*, 2157-2165.
23. Solomon, V.R.; Srivastava, K.; Puri, S. K.; Katti, S.B. Synthesis and antimalarial activity of side chain modified 4-aminoquinoline derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2007**, *50*, 394-398.

24. Tracy, J.W.; Webster, L.T. Em *Fármacos usados na Quimioterapia das Infecções por Protozoários: Malária*; Gilman, A.G., ed.; McGraw-Hill Interamericana: Rio de Janeiro, **2005**, cap. 40.

CAPÍTULO 4

PARTE EXPERIMENTAL

CAPÍTULO 4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Considerações Iniciais

A estratégia experimental desse projeto de dissertação foi concebida para ser dividida em quatro partes: i) síntese de derivados de cloroquina capazes de se coordenarem a metais; ii) síntese de complexos contendo ligantes a base de derivados da cloroquina; iii) caracterização dos compostos sintetizados; e iv) avaliação da atividade antimalárica dos mesmos.

As reações de síntese apresentados nesta dissertação foram realizadas junto ao Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCaR) do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos ligantes e complexos organometálicos foram realizados no Laboratório de Ressonância Nuclear Magnética do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

A atividade antimalárica, das estruturas orgânicas e dos respectivos complexos, foi realizada junto à Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou do Laboratório de Malária da Profa. Dra. Antoniana Krettli (UFMG).

4.2. Reagentes, Solventes, Gases e Vidrarias

As vidrarias foram pré-aquecidas em estufa a 80 °C e resfriadas antes do uso. O grau de pureza e origem de todos os reagentes, solventes e gases estão listados na Tabela 4.1. Solventes, como tolueno e dietiléter, foram secos sobre sódio/benzofenona. Todos os reagentes e gases foram utilizados como recebidos.

Tabela 4.1. Reagentes e solventes utilizados: pureza e origem.

Reagentes e Solventes	Fórmula Molecular	Pureza(%)	Origem
4,7-Dicloroquinolina	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Cl}_2$	98%	Alfa Aesar
Dietilenotriamina	$\text{C}_4\text{H}_{13}\text{N}_3$	$\geq 98\%$	Riedel-deHaen
Hidróxido de sódio	NaOH	P.A.	Dinâmica
Acetato de etila	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	P.A.	Quimis
Sulfato de magnésio	MgSO_4	P.A.	Dinâmica
Metanol	CH_4O	P.A.	Dinâmica
Cloreto de ferro (III)	FeCl_3	97%	Sigma Aldrich
Dietiléter	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$	P.A.	Quimis
2,6-bis(hidroximetil)piridina	$\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}_2$	98%	Sigma Aldrich
Ácido Bromídrico	HBr	-	Dinâmica

Hexametenotetramina	C ₆ H ₁₂ N ₄	-	Vetec
Ácido acético	C ₂ H ₄ O ₂	P.A.	Vetec
Etanol	C ₂ H ₆ O	P.A.	Dinâmica
Ácido clorídrico	HCl	P.A.	Dinâmica
Clorofórmio	CHCl ₃	P.A.	Quimis
Argônio	Ar	99,9	White Martins

4.3. Equipamentos

As análises para a caracterização dos ligantes e complexos metálicos foram realizadas no Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas e no Departamento de Física da Universidade Federal de Minas Gerais. Na Tabela 4.2, são apresentadas as técnicas utilizadas, os respectivos aparelhos e sua origem.

Tabela 4.2. Equipamentos empregados nesse trabalho.

Técnica Analítica	Aparelho	Local
Espectroscopia no Infravermelho	Espectrofotômetro FT-IR Varian 640-IR com ATR	GCaR/IQB/UFAL
Espectroscopia de Ressonância Nuclear Magnética (RMN).	Espectrômetro Bruker Avance 400, operando na frequência de 400,130 MHz para RMN de ¹ H e 100,613 MHz para RMN de ¹³ C.	IQB/UFAL
Ponto de Fusão	MQAPF – 302 – aparelho digital	IQB/UFAL
Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica - EPR	Aparelho montado em laboratório: Banda X (9-10 GHz) que consiste de uma fonte klystron (Varian) 500 mW, com cavidade cilíndrica da Bruker, eletroimã (Varian 0-800mT), fonte de eletroimã (Heinzinger). Usa-se modulação de 100kHz com detecção sensível a fase e aparelho Lock In (EG&G Princeton) com controle automático de frequência. Para baixas temperaturas um criosistema da Oxford (fluxo de He com temperaturas entre 6-300K)	DF/UFMG

4.3.1. Manipulações no Preparo das Amostras para Análises.

4.3.1.1. Espectroscopia Infravermelho-Visível (IV-Vis)

As análises por espectroscopia na região do infravermelho médio foram realizadas em um espectrofotômetro Varian (ver Tabela 4.2) empregando-se um acessório de refletância difusa atenuada (ATR). Os espectros abrangeram as regiões de 4500 a 500 cm^{-1} .

4.3.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

As análises por espectroscopia de ressonância magnética nuclear prótonica (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C , desacoplado) foram realizadas em um modelo Bruker Avance 400 MHz. As amostras foram preparadas em tubo para RMN e solubilizadas em metanol ou dimetilsulfóxido deuterado.

4.3.1.3. Análise do Ponto de Fusão

Os pontos de fusão das substâncias sintetizadas quimicamente foram obtidos em aparelho digital MQAPF – 302 pelo Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). As amostras sólidas foram previamente incorporadas em uma lamínula e observadas à temperatura na qual a substância passa do estado sólido ao estado líquido.

4.3.1.4. Cálculos Computacionais

Todos os cálculos foram realizados utilizando o pacote comercial de modelagem *Spartan 04* licenciado para o Grupo de Catálise e Reatividade (GCaR) do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. Estes cálculos foram realizados usando um computador Intel Core 2 Duo E4600 1 Gb de memória Ram e HD de 160 Gb, que fica nas instalações do GCaR.

O programa *Spartan '04*^{*} foi usado para a Modelagem de Estados de Transição, Análise Populacional de Arranjos de Estado de Transição (Distribuição de Boltzmann para os dois possíveis Estados de Transição – Substituição Nucleofílica em C4 e C7). Para a ilustração dos sistemas moleculares estudados foi usado o software ORTEP 3[†].

^{*} SPARTAN '04, Wavefunction Inc, 18401 Von Karman Avenue, Suite 370, Irvine, CA 92612, U.S.A., 2003.

[†] Farrugia, L. J. *J. Appl. Cryst.* **1997**, 30, 565.

O *Spartan`04* foi usado, primeiramente, por ter parâmetros de cálculo para todos os átomos presentes nos sistemas moleculares estudados (PM3 no método Semi-empírico), por ser de fácil manipulação na elaboração de estruturas que representam estados de transição e pelas várias opções de cálculo, o que permite um estudo computacionalmente barato e confiável.

Para a modelagem de todos os sistemas, usou-se o Método *Semi-empírico* com base PM3 buscando a Otimização da Geometria, postulando a molécula como neutra, no estado gasoso, a 298,15 K, 1atm e multiplicidade de spin *singleto*. As estruturas foram montadas individualmente e, desta forma, otimizadas. Para uma melhor análise de densidade eletrônica, a 4,7-dicloroquinolina e dietilenotriamina foram recalculadas através do Método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT), com base atômica 6-31G** via estratégia *Single Point Energy*[‡].

A partir dos cálculos de Otimização de Geometria, retirou-se dos *outputs* gerados dados que proporcionaram a análise da energia de ativação do processo, bem como a Análise Populacional pela Distribuição de Boltzmann[§] para as estruturas transientes calculadas.

4.3.1.5 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica - EPR

As análises por Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) foram realizadas no Laboratório de Ressonância do Departamento de Física da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a coordenação do Prof. Dr. Klaus Krambrock. Para tanto, empregou-se a banda X (9-10 GHz) que consiste de uma fonte klystron (Varian) 500 mW, com cavidade cilíndrica da Bruker, eletroímã (Varian 0-800mT), fonte de eletroímã (Heinzinger). Usa-se modulação de 100kHz com detecção sensível a fase e aparelho Lock In (EG&G Princeton) com controle automático de

[‡] Este tipo de cálculo é feito quando o objetivo é determinar as propriedades de um sistema molecular sem alterar as suas coordenadas cartesianas iniciais, ou seja, sem alterar a geometria e posições dos átomos do arranjo colocados como *input*.

[§] De acordo com a Teoria de Distribuição de Boltzmann, em um dado sistema de partículas em estudo contendo N arranjos possíveis, quanto menor a energia de um determinado arranjo, maior a possibilidade de este ser uma boa representação do sistema em estudo, em outras palavras, maior a sua contribuição na constituição populacional.

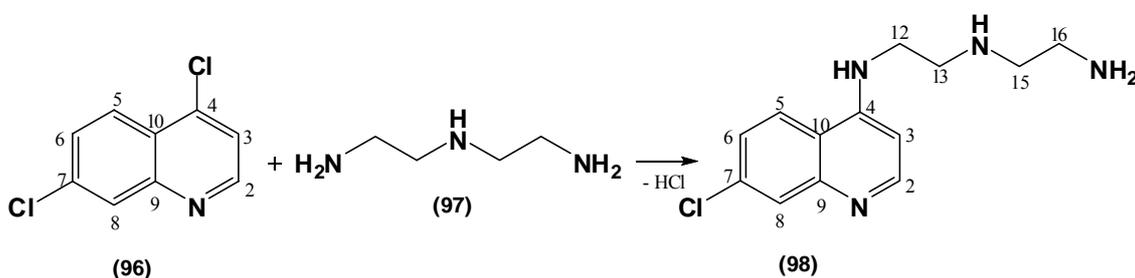
frequência. Para baixas temperaturas um criosistema da Oxford (fluxo de He com temperaturas entre 6-300K).

4.4. Síntese e Preparação dos Materiais

As reações de síntese de ligantes e complexos foram conduzidas sob atmosfera de argônio utilizando técnicas de Schlenk.

4.4.1. Síntese dos Ligantes

4.4.1.1. Preparação da *N*¹-(2-aminoetil)-*N*²-(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (**98**)

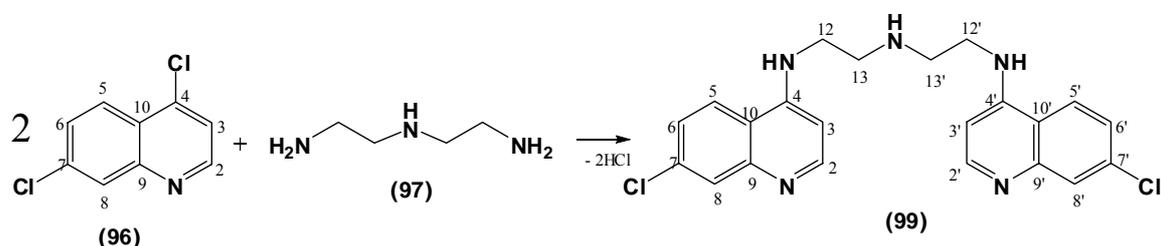


A preparação do composto **98** foi baseada na metodologia proposta por Musonda e colaboradores (2006). Num balão de fundo redondo de 50 mL foram introduzidos 4,7-dicloroquinolina (0,98g; 4,94 mmol) e dietilenotriamina (24,7 mmol). Esta mistura foi aquecida a 80 °C por 1h sem agitação até completa solubilização. Em seguida, a temperatura do sistema foi elevada para 135 °C e a mistura conservada sob agitação magnética por 3h. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente, basificada com NaOH(aq) 10% (30 mL) e extraída com acetato de etila quente (3x 50 mL). Os extratos foram reunidos e secos com MgSO₄ por 1 h. O solvente foi removido no evaporador rotativo e seco sob vácuo. O produto obtido apresenta-se como um sólido de coloração amarela, solúvel em metanol, que pode ser ainda purificado por recristalização em metanol/água e, posteriormente foi acondicionado em um refrigerador por 6h, formando um precipitado, que pode ser recuperado por filtração e seco sob alto vácuo, formando um sólido amorfo de coloração amarela (F.M.: C₁₃H₁₇ClN₄; M.M.: 264,75g/mol).

Rendimento total: 40%. P.F.: 99-100°C; I.V. ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3256 (Ar- NH); 3065 (CH anel quinolínico); 2929 e 2839 (as/s CH e CH₂); 1607 (C=N), 1577 e 1528 (C=C anel quinolínico); 1449 (CH₂); 1280 (Ar-C-N); 1133 (C-N); 874, 795 e 761 (δ =C-H aromático fora do plano). RMN ¹H (400MHz, CD₃OD): δ 1,93 (s, NH amínico), 2,78 (t,

$J= 5,76\text{Hz}$, 2H, CH₂-16), 2,85 (t, $J= 5,76\text{Hz}$, 2H, CH₂-15), 2,95 (t, $J= 6,38\text{Hz}$, 2H, CH₂-13), 3,47 (t, $J= 6,38\text{Hz}$, 2H, CH₂-12), 3,70 (sl, NH anilínico), 6,50(d, $J= 5,71\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-3), 7,35 (dd, $J= 9,01\text{ Hz}$, $J=2,14\text{ Hz}$, 1H, Ar-H C-6), 7,73 (d, $J= 2,14\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-8), 8,07 (d, $J= 9,01\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-5), 8,32 (d, $J= 5,62\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-2). RMN ¹³C(100MHz, CD₃OD): δ 151,1(C-2), 98,28 (C-3), 151,4(C-4), 124,6 (C-5), 123,1 (C-6), 134,9(C-7), 126,2 (C-8), 148,2(C-9), 117,32 (C-10), 42,10 (C-12), 47,00 (C-13), 40,10 (C-15), 50,10 (C-16).

4.4.1.2. Preparação da N¹-(7-cloroquinolin-4-il)-N²-[2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina (99).

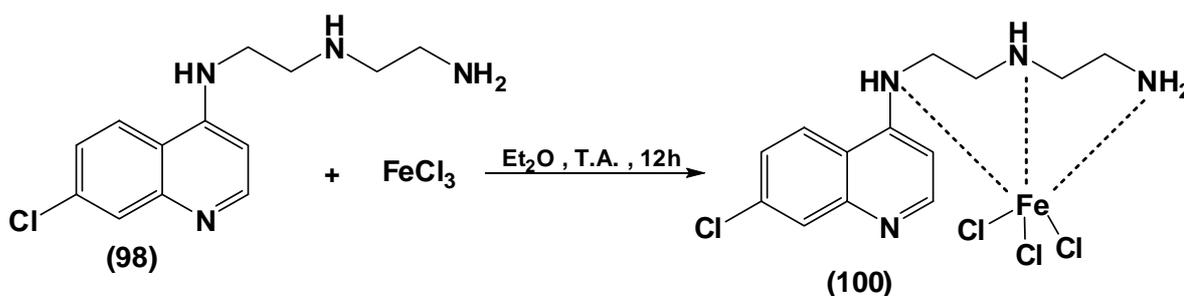


A preparação do composto (99) foi baseada na metodologia proposta por Zhang e colaboradores (2008). Num balão de fundo redondo de 50 mL foram introduzidos 4,7-dicloroquinolina (1,20g; 6,00 mmol) e dietilenotriamina (2,0 mmol). Esta mistura foi aquecida a 80 °C por 6 h sob agitação. A temperatura ambiente forma-se um sólido que é solubilizado com MeOH (10 mL) e resfriado a 0 °C. A adição de água (20 mL) nessas condições leva a formação de um precipitado que é separado por precipitação e seco sob vácuo. O produto obtido é recristalizado em metanol/água sob refrigeração por 6h formando um precipitado, que após seco, apresenta-se como um sólido amorfo de coloração branca (F.M.: C₂₂H₂₁Cl₂N₅; M.M.: 426,34g/mol).

Rendimento total: 7,4%. P.F.: 212-215°C; I.V. ($\nu_{\text{máx}}\text{cm}^{-1}$): 3272 (Ar- NH); 3071 (CH anel quinolínico); 2901 e 2843 ($\nu_{\text{as/s}}\text{ CH/CH}_2$); 1608 (C=N), 1576 e 1531 (C=C anel quinolínico); 1441 (CH₂); 1328 (Ar-CN); 1136(C-N); 865 e 798 (δ aromático fora do plano). ¹H RMN (400MHz, CD₃OD): δ 2,97 (t, $J=6,22\text{Hz}$, 2H, CH₂-13), 3,45 (t, $J=6,24\text{Hz}$, 2H, CH₂-12), 6,45 (d, $J= 5,69\text{ Hz}$, 1H, Ar-H C-3), 7,20 (dd, $J= 9,01\text{ Hz}$, $J=2,14\text{ Hz}$, 1H, Ar-H C-6), 7,67 (d, $J= 2,12\text{ Hz}$, 1H, Ar-H C-8), 7,87 (d, $J= 8,97\text{Hz}$, Ar-H C-5), 8,24 (d, $J= 5,61\text{Hz}$, 1H, Ar-H C-2). RMN ¹³C (100MHz, MeOD): δ 150,9(C-2),

98,3(C-3), 151,2 (C-4), 122,6(C-5), 124,6 (C-6), 134,9 (C-7), 126,2 (C-8), 148,14 (C-9), 117,3 (C-10), 41,8 (C-12), 46,8 (C-13).

4.4.1.3. Síntese do complexo de ferro(III) derivado da N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (**100**).

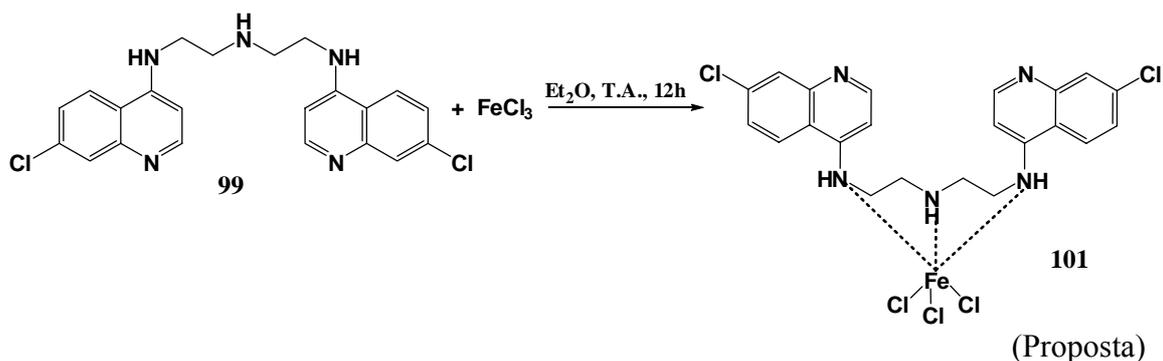


Proposta

A metodologia utilizada para a preparação do composto (**100**) foi adaptada de Mandon e colaboradores (2001). Em um balão de 100 mL de fundo redondo foi preparada uma solução de FeCl_3 anidro (0,226 g; 1,39 mmol) em dietiléter seco (30 mL). Essa solução foi adicionada, sob agitação, sobre uma solução do composto (**98**) (0,39 g; 1,5 mmol) em dietiléter (10mL). Imediatamente ocorre a formação de um precipitado de coloração amarela. Após 12 h sob agitação a temperatura ambiente, o sólido foi recuperado por filtração, lavado com dietiléter (3x 10 mL) e seco em alto vácuo. O material obtido tem a aparência de um sólido marrom claro (F.M.: $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{Cl}_4\text{FeN}_4$; M.M.: 426,96 g/mol, postula-se).

Rendimento total: 45 %. I.V. ($\nu_{\text{máx}}\text{cm}^{-1}$): 3335 (Ar- NH); 3071 (CH anel quinolínico); 2918 e 2850 ($\nu_{\text{as/s}}\text{CH/CH}_2$); 1624,1579 e 1600 (C=C anel quinolínico); 1440 (CH_2); 1338 (Ar-CN); 853 e 819 (δ aromático fora do plano). ^1H RMN (400MHz, DMSO-D_6): δ 8,6 (2H, Ar-H C-2 e C-5), 7,9 (1H, Ar-H C-8), 7,6 (1H, AR-H C-6), 6,8 (1H, Ar-H C-3).

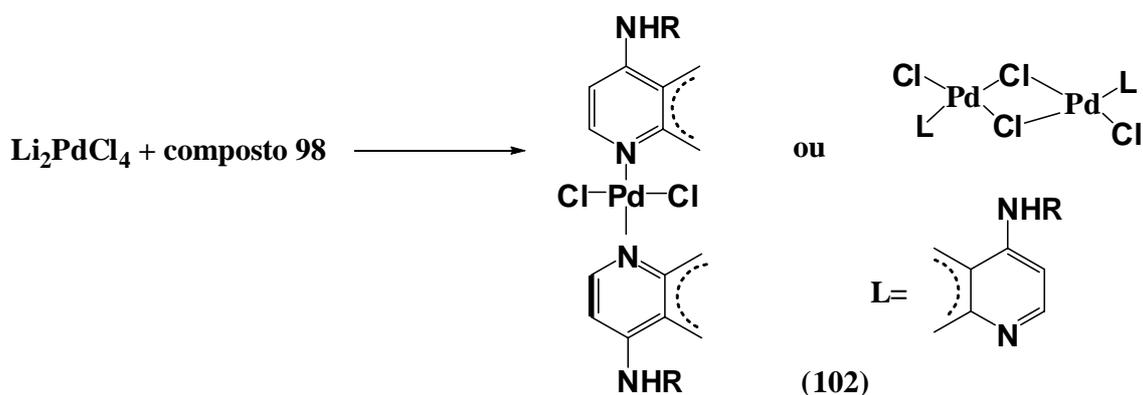
4.4.1.4. Síntese do complexo de ferro(III) derivado da N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)- N^2 -[2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)etil]etano-1,2-diamina – (**101**).



A metodologia utilizada para a preparação do composto **101** foi a mesma da molécula **100**. Em um balão de 100 mL de fundo redondo foi preparada uma solução de FeCl₃ anidro (0,227g; 1,4mmol) em dietiléter seco (30 mL). Essa solução foi adicionada, sob agitação, sobre uma solução do composto **99** (0,596g; 1,4 mmol) em dietiléter (10mL). Imediatamente ocorre a formação de um precipitado de coloração amarela. Após 12 h sob agitação a temperatura ambiente, o sólido foi recuperado por filtração, lavado com dietiléter (3x 10 mL) e seco em alto vácuo. O material obtido tem a aparência de um sólido marrom (F.M.: C₂₂H₂₁Cl₅FeN₅; M.M.: 585,96g/mol).

Rendimento total: 51%. P.F.: 170°C. I.V. (ν_{máx}cm⁻¹): 3356(Ar- NH);3019 (CH anel quinolínico); 2918 e 2785 (ν_{as/s} CH/CH₂); 1608,1579 e 1551 (C=C anel quinolínico); 1449(CH₂); 1337 (Ar-CN); 817 e 766 (δ aromático fora do plano).

4.4.1.5 Síntese do complexo de paládio (II) derivado da N¹-(2-aminoetil)-N²-(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina – (**102**)



(Proposta)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, foram introduzidos cloreto de paládio(0,177g; 1,0mmol) e cloreto de lítio (0,211g; 5,0 mmols) em 15mL de metanol.

Esta solução foi filtrada e resfriada a 0°C e conservada sob agitação por 20min. Em seguida, uma solução do composto **99** em metanol foi adicionada, sob gotejamento, por 24h. Após 24h sob agitação a temperatura ambiente, o sólido foi recuperado por filtração e seco em alto vácuo. O produto obtido é purificado em metanol formando um precipitado, que após seco, apresenta-se um sólido de coloração amarela.

4.5. Preparação dos Testes Antimaláricos

Para a atividade antimalárica contra *Plasmodium falciparum*, foram realizados testes de incorporação de hipoxantina tritiada e tradicional para os compostos **98**, **99** e **100**. Além da atividade antimalárica, foram realizados testes de citotoxicidade contra hepatócitos humanos (HepG2) e calculado o índice de seletividade (SI) para os mesmos compostos **98**, **99** e **100**.

4.6 Referências Bibliográficas

1. Mandon, D.; Nopper, A.; Litrol, T.; Goetz, S. Tridentate coordination of monosubstituted derivatives of the tris(2-pyridylmethyl)amine ligand to FeCl₃: structures and spectroscopic properties of [(2-bromopyridyl)methyl]bis(2-pyridylmethyl) amine Fe^{III}Cl₃ and {[2-p-methoxyphenyl]pyridylmethyl}bis(2-pyridylmethyl)amine Fe^{III}Cl₃ and comparison with the bis(2-pyridylmethyl)amine Fe^{III}Cl₃ complex. *Inorganic Chemistry*, **2001**, 40, 4803-4806.
2. Musonda, C.C.; Gut, J.; Rosenthal, P.J.; Yardley, V.; Souza, R.C.C.; Chibale, K. Application of multicomponent reactions to antimalarial drug discovery. Part 2: New antiplasmodial and antitrypanosomal 4-aminoquinoline α - and δ -lactams via a 'catch and release' protocol. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2006**, 14, 5605-5615.
3. Zhang, H.; Solomon, V.R.; Hu, C.; Ulibarri, G.; Lee, H. Synthesis and in vitro cytotoxicity evaluation of 4-aminoquinoline derivatives. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2008**, 62, 65-69.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CAPÍTULO 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Introdução

Como mencionado no capítulo 3, diversas classes de fármacos têm sido utilizadas para o tratamento da malária. No entanto, o surgimento de cepas de *Plasmodium* resistentes a esses fármacos antimaláricos está gerando graves problemas de saúde pública em todas as áreas tropicais do mundo.¹

Dos fármacos mais empregados, encontra-se a cloroquina que, infelizmente em muitas regiões, diminuiu sua capacidade como agente terapêutico frente à malária devido à resistência que muitas cepas de *Plasmodium* vêm adquirindo.

A cloroquina atua contra o *Plasmodium* no estágio sanguíneo agindo, provavelmente, evitando a formação da hemozoína pelo parasito. De fato, a hemoglobina é ingerida pelo parasito por fagocitose e, durante o processo de ingestão da hemoglobina no vacúolo digestivo do parasito, há a formação de um metabólito tóxico, ferriprotoporfirina IX, que é eliminado pelo parasito, principalmente na forma de um material muito estável conhecido como hemozoína (ver Capítulo 3).

Estruturalmente, a cloroquina é uma base que, na sua forma não protonada, pode passar através das membranas do eritrócito e acumular-se, em sua forma protonada, no interior do vacúolo digestivo do parasito, cujo pH é de aproximadamente 5 (Figura 5.1).² É nessas condições, que a cloroquina e derivados impedem a formação da hemozoína. Entretanto, a grande capacidade do parasito de adquirir resistência a atuação dos fármacos, desafia o meio científico a elaborar novas estratégias no combate a malária, sendo o desenvolvimento de novos fármacos um meio de debelar esse considerável problema de endemia.

Conforme visto no Capítulo 1, o desenvolvimento de metalofármacos antimaláricos pode ser uma excelente opção no combate a malária. Uma estratégia para a obtenção desses novos fármacos seria a incorporação de metais em estruturas químicas que já vem demonstrando atividade antimalárica. De fato, essa estratégia já foi adotada, modificando a estrutura básica da cloroquina com a incorporação de fragmentos moleculares contendo metais de transição.³ Blackie e colaboradores relatam que a presença de um fragmento ferrocenil na cadeia alquílica de análogos da cloroquina (Figura 5.2) tem um efeito positivo na eficácia destes compostos nas cepas de cloroquina resistentes ao *P. falciparum*, impedindo a formação da hemozoína.⁴

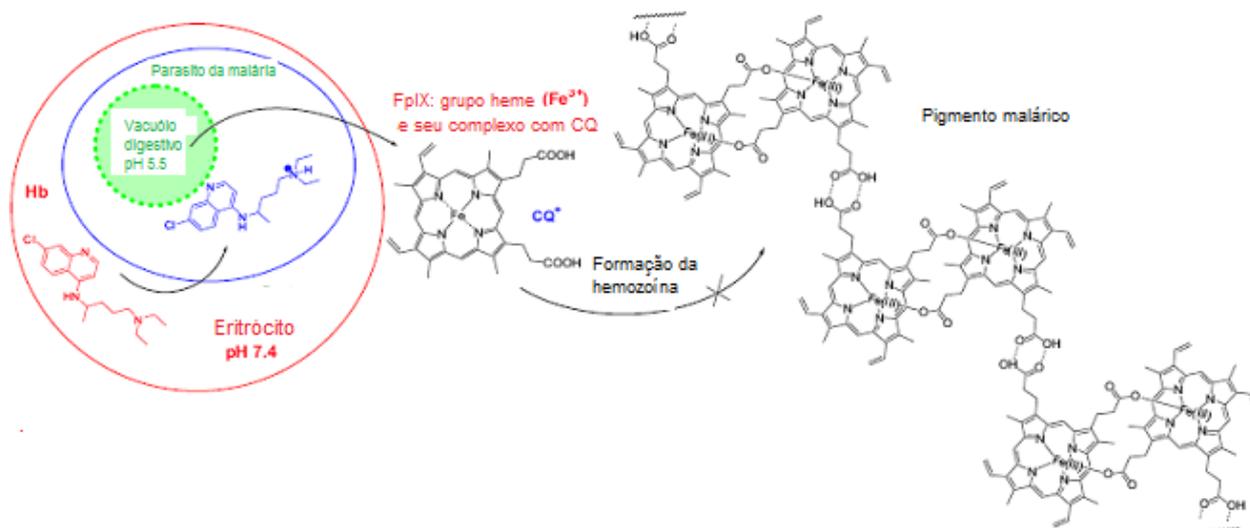


Figura 5.1. Possível mecanismo de ação da cloroquina.²

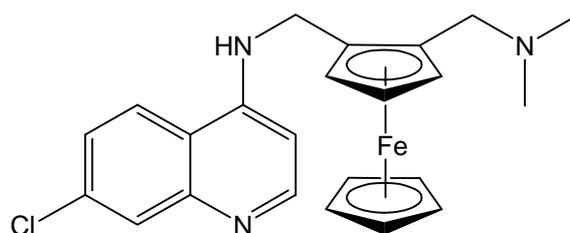


Figura 5.2. Estrutura química da ferroquina.⁴

Foi nesse contexto, que essa dissertação de mestrado foi concebida e para tanto, foram planejadas estruturas químicas que contivessem o grupo 4-aminoquinolínico e que, ao mesmo tempo, fossem capazes de se associarem, via coordenação, a metais de transição tais como Fe e Pd, que também já demonstraram potencializar a ação dos fármacos. Dessa forma, como na cloroquina, foram mantidas as características necessárias para a acumulação no vacúolo digestivo do parasito, em que se sugere a obrigatoriedade da presença do grupo aminoquinolínico e do átomo de cloro para a atividade antimalárica.⁵

Até o momento foram sintetizadas duas estruturas orgânicas aminoquinolínicas, além dos complexos metálicos aminoquinolínicos de Fe(III) e de Pd(II), que até o momento foram identificados, porém parcialmente caracterizados. Suas purificações, devido a suas características físico-químicas, mostraram-se difíceis de serem realizadas,

por esse motivo e com o intuito de obter um composto de maior pureza, outras metodologias de purificação estão em andamento.

De toda forma, foram realizados testes preliminares de avaliação da atividade antimalárica das estruturas orgânicas e dos respectivos complexos de Fe(III) e Pd(II) obtidos, junto à Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou, Laboratório de Malária da Profª. Dra. Antoniana Krettli da UFMG.

5.2. Síntese dos Compostos Aminoquinolínicos

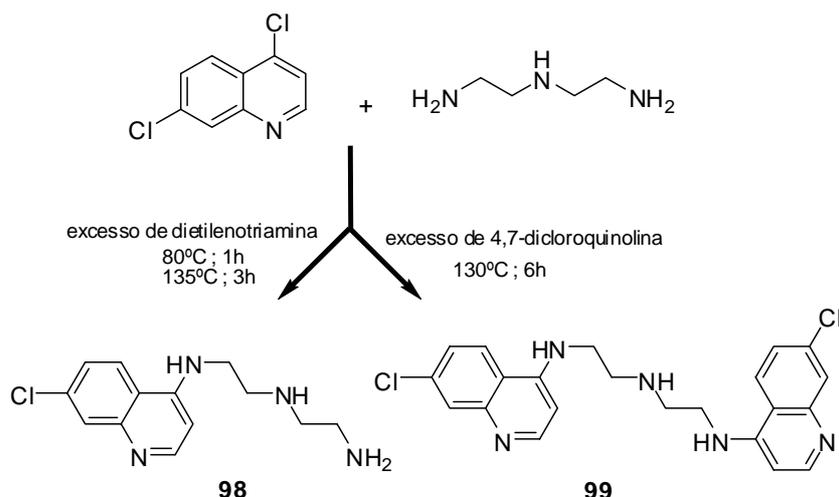
O objetivo desse projeto de dissertação de mestrado foi desenvolver novos derivados 4-aminoquinolínicos capazes, via quelação, de se coordenar a elementos metálicos tais como Fe e Pd, formando complexos com potencial atividade antimalárica. Tais complexos, devido a sua estrutura diferenciada poderiam, dessa forma, aumentar a ação antimalárica de substâncias 4-aminoquinolínicas, reduzir a toxicidade e debelar parte da resistência ao *Plasmodium*.

Todos os compostos aminoquinolínicos e seus respectivos complexos foram sintetizados no Grupo de Catálise e Reatividade Química do IQB/UFAL baseando-se em reações de substituição nucleofílica aromática ($S_{N_{Ar}}$) reportadas na literatura e adaptadas às condições de síntese do laboratório.

A estratégia sintética adotada para a síntese das substâncias N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (**98**) e N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)- N^2 -[2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)etil] etano-1,2-diamina (**99**) foi a mesma, diferenciando-se apenas em relação à proporção estequiométrica entre os reagentes (ver esquema 5.1).

Em nenhuma das reações foi empregado solvente e a interação entre os dois reagentes se dá por acoplamento C-N realizado a partir de uma reação de $S_{N_{Ar}}$ sobre o C-4 da porção piridínica da molécula que contem um átomo de Cl como substituinte. A reação é, de fato, regioseletiva, pois se observa apenas a substituição sobre o carbono aromático C-4 e não sobre o carbono aromático C-7 que também contem um átomo de cloro como substituinte. Vale lembrar que as 4-halopiridinas e derivados são capazes de sofrer reação de substituição seguindo, um mecanismo de adição-eliminação nucleofílica.⁶ Além disso, essa regioseletividade pode ser facilmente explicada pela ressonância sobre o C-4 em relação ao C-7. Isso foi comprovado por cálculos computacionais.

Esquema 5.1.



De acordo com dados teóricos (Figura 5.3 e Tabela 5.1), o carbono C-4 apresenta uma densidade eletrônica ligeiramente inferior à observada em C-7, evidenciada pela análise de carga natural. Esta sutil diferença nos informa acerca da possibilidade de ataque nucleofílico do carbono C-4, como descrito na literatura.⁶ Além disso, cálculos semi-empíricos apontaram energia de ativação para ataque nucleofílico cujos valores diferem entre si o bastante para proporcionar uma população de aproximadamente 96% de espécies transitientes oriundas de ataque sobre o carbono C-4, contra 4% sobre o carbono C-7.

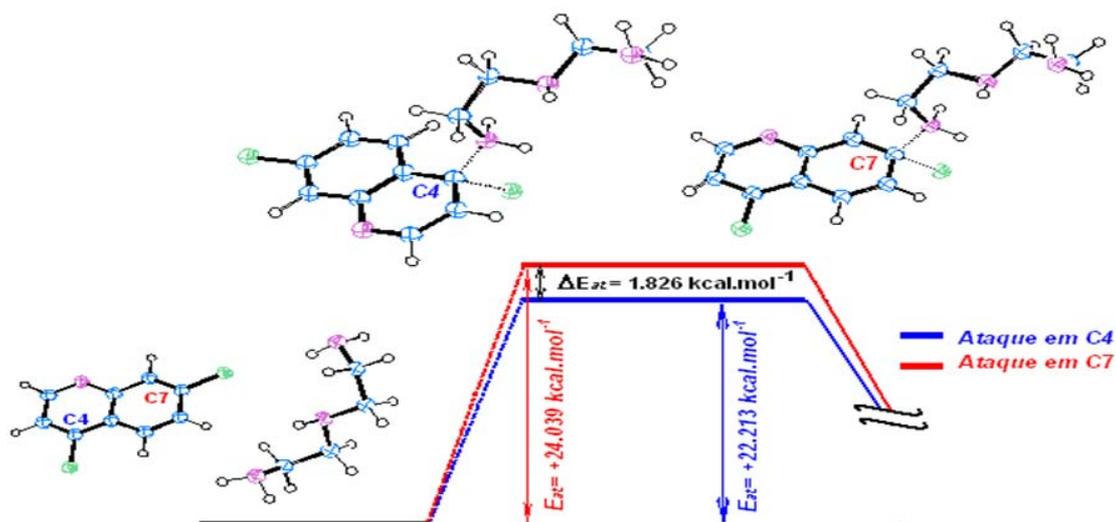


Figura 5.3. Simulação indicando as energias de ativação necessárias para reações de S_NAr sobre os carbonos C4 e C7 da 4,7-dicloroquinolina, empregando dietilenotriamina como nucleófilo.

Tabela 5.1. Dados cinéticos, eletrônicos e estatísticos dos sistemas.

Estrutura	Energia de Ativação (kcal.mol ⁻¹)	Carga Natural* (C4 e C7)	Distribuição de Boltzmann (População %)
Composto 98 – C4	+22,21	-0,031	95,62
Composto 98 – C7	+24,04	-0,074	4,38

*Cargas calculadas por Método DFT apenas para a 4,7-dicloroquinolina.

Recentemente, foi publicado um trabalho de Girault e colaboradores⁷ que reporta a síntese do composto **99** em que o mesmo foi sintetizado por estratégia semelhante, empregando DMF como solvente e K₂CO₃ como base.

5.3. Caracterização dos Compostos Aminoquinolínicos

O composto **98** foi identificado por técnicas de Espectroscopia de RMN. Dados de RMN ¹H (ver Figura 5.4 e Tabela 5.2) comprovam a formação do composto a partir dos cinco sinais para hidrogênios aromáticos, com deslocamentos químicos (entre $\delta=8,32$ e $6,5$ ppm), e quatro sinais para os hidrogênios metilênicos (entre $\delta=3,47$ e $2,78$ ppm). Os sinais dos hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio não apresentam integração equivalente, pois, há grande probabilidade de troca de H/D com o solvente deuterado. Os sinais que se encontram em $3,32$ e $4,95$ ppm são referentes ao solvente deuterado (CD₃OD) utilizado na preparação da amostra.

Tabela 5.2. Dados de RMN ¹H do composto **98**.

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição
8,32 (d)	1H	5,62	2
8,07 (d)	1H	9,01	5
7,73 (d)	1H	2,14	8
7,35 (dd)	1H	9,01 e 2,14	6
6,50 (d)	1H	5,71	3
3,70 (s)	-	-	NH amínico
3,47 (t)	2H	6,38	12
2,95 (t)	2H	6,38	13
2,85 (t)	2H	5,76	15
2,78 (t)	2H	5,76	16
1,93 (s)	-	-	NH amínico

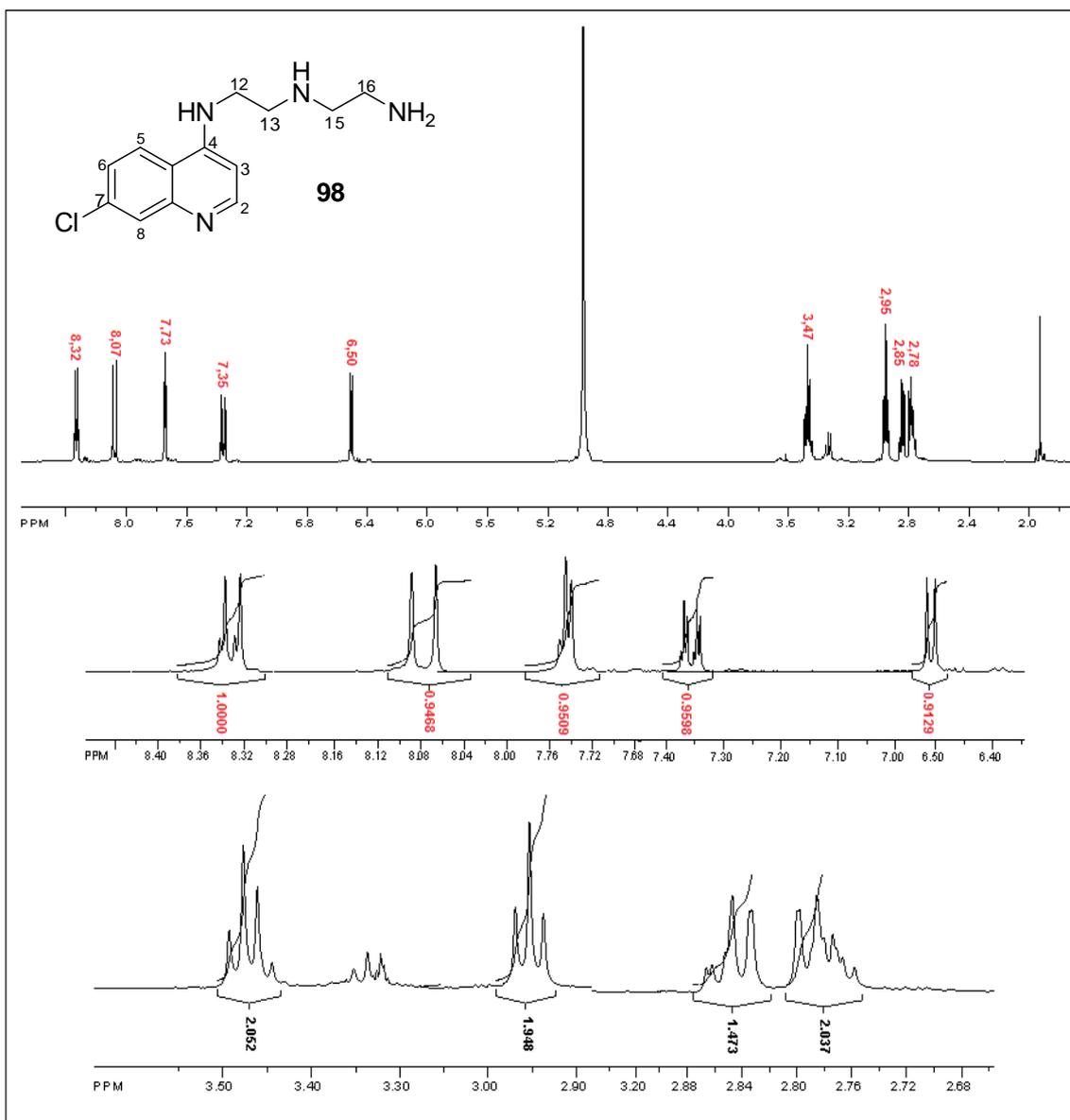


Figura 5.4. Espectro de RMN de ^1H do composto **98**.

Através de análise por RMN ^{13}C (CD_3OD) (ver Tabela 5.3 e Figura 5.5) é possível identificar os nove sinais dos carbonos do sistema aromático (entre $\delta = 151,5$ e $98,3$ ppm) e os quatro sinais dos carbonos metilênicos (entre $\delta=40,1$ e $50,1$ ppm).

Tabela 5.3. Dados de RMN ^{13}C do composto **98**.

δ	Atribuição	δ	Atribuição
151,5	4	50,1	16
151,1	2	47,0	13
148,2	9	42,1	12
134,9	7	40,1	15
126,2	8		
124,6	5		
123,1	6		
117,3	10		
98,3	3		

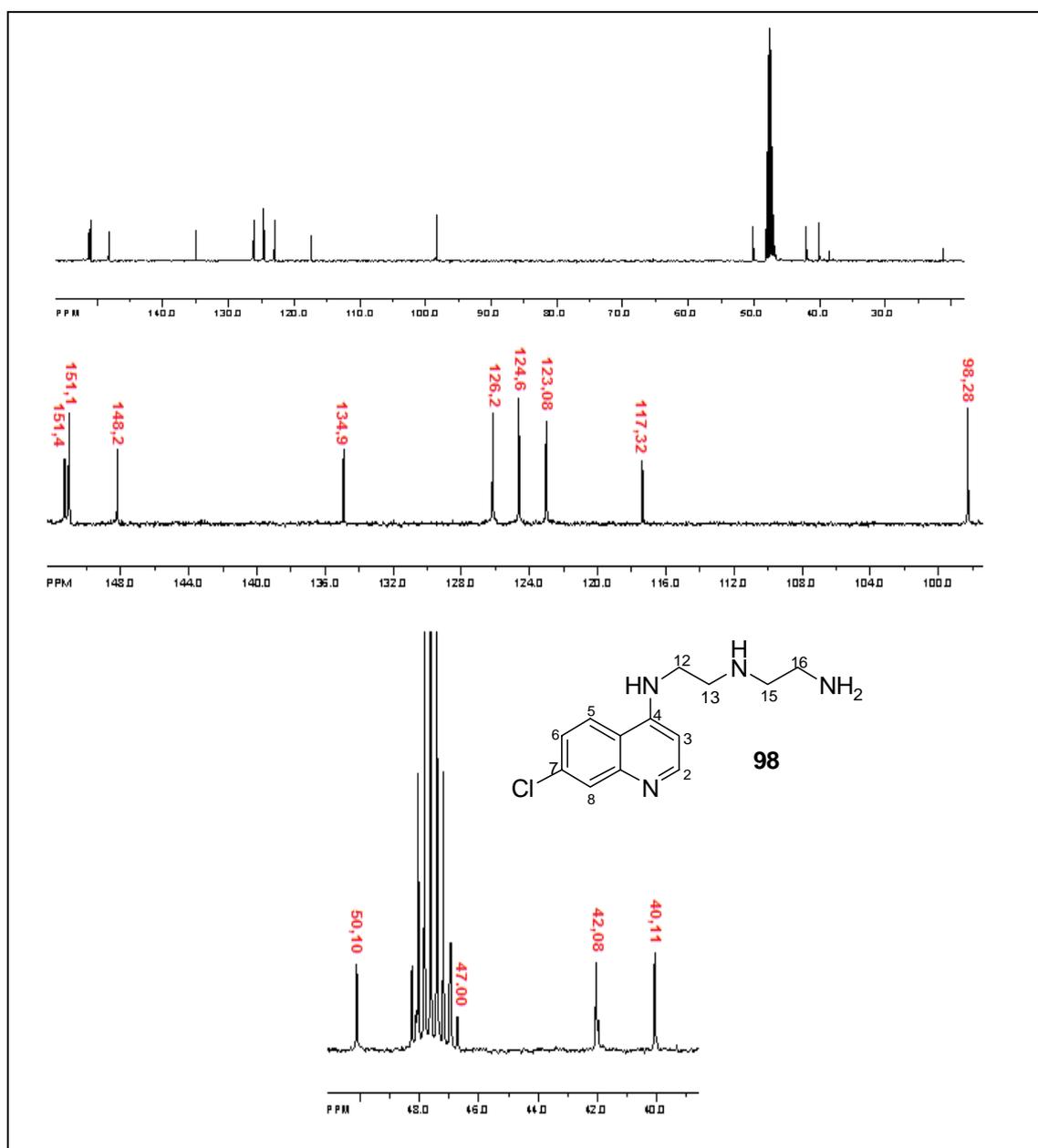


Figura 5.5. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **98**.

Através da análise do espectro HSQC (correlação heteronuclear $^1\text{H} / ^{13}\text{C}$) foram apresentadas nove correlações (ver Figura 5.6 e Tabela 5.4) indicando a presença de cinco sinais referentes aos hidrogênios ligados diretamente aos carbonos do sistema aromático e de quatro sinais dos hidrogênios e carbonos metilênicos. Pelo espectro HSQC foi possível verificar e confirmar as correlações do composto devido ao H estar ligado ao carbono de deslocamento característico.

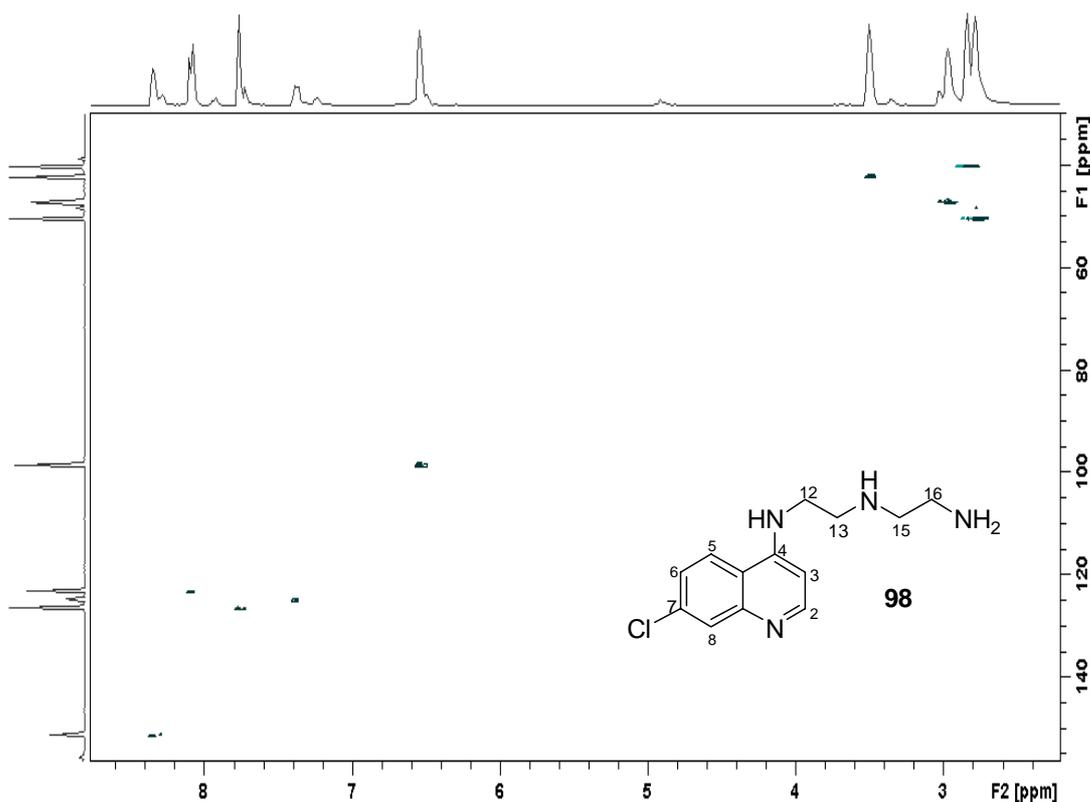


Figura 5.6. Espectro de HSQC para a molécula **98**.

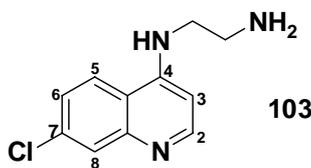
Tabela 5.4. Dados referentes a correlação direta entre os núcleos ^1H e ^{13}C do espectro de HSQC do composto **98**.

RMN ^1H Deslocamento (δ)	RMN ^{13}C Deslocamento (δ)	Atribuição
8,32	151,1	2
8,07	124,60	5
7,73	126,20	8
7,35	123,10	6
6,50	98,30	3
3,47	42,10	12
2,95	47,00	13
2,85	40,11	15
2,78	50,10	16

De toda forma, alguns deslocamentos químicos observados na estrutura **98** foram comparados com estruturas químicas semelhantes. Como exemplos são apresentados os respectivos deslocamentos e multiplicidades para os hidrogênios da molécula **103**, sintetizada por Musonda e colaboradores (ver Tabela 5.5).⁸

Neste caso, podemos verificar que o padrão de deslocamentos químicos e multiplicidades dos hidrogênios aromáticos para o composto **103** são coerentes com os observados para **98**.

Tabela 5.5. Dados de RMN ¹H do composto **103**.⁸

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição	Estrutura da Molécula
8,35 (d)	1H	5,4	2	
8,10 (d)	1H	9,0	5	
7,77 (d)	1H	2,1	8	
7,38 (dd)	1H	9,0 e 2,1	6	
6,60 (d)	1H	5,4	3	

O espectro de FT-IR, obtido por ATR, do composto **98** (Figura 5.7), mostra as bandas de absorção de estiramento em 3255 (N-H), ~ 3065 cm^{-1} (C-H), ~ 1607 (C=N), 1577 e 1528 cm^{-1} (C=C), e as bandas de deformação fora do plano em ~ 874 , 795 e 761 cm^{-1} característico da estrutura aromática (aminoquinolínica). Além destas, a banda de absorção em ~ 1449 cm^{-1} associada à absorção em 1133 cm^{-1} mostra a presença de estiramento CH_2 e C-N que confirmam a presença da cadeia alifática do composto **98**, respectivamente.

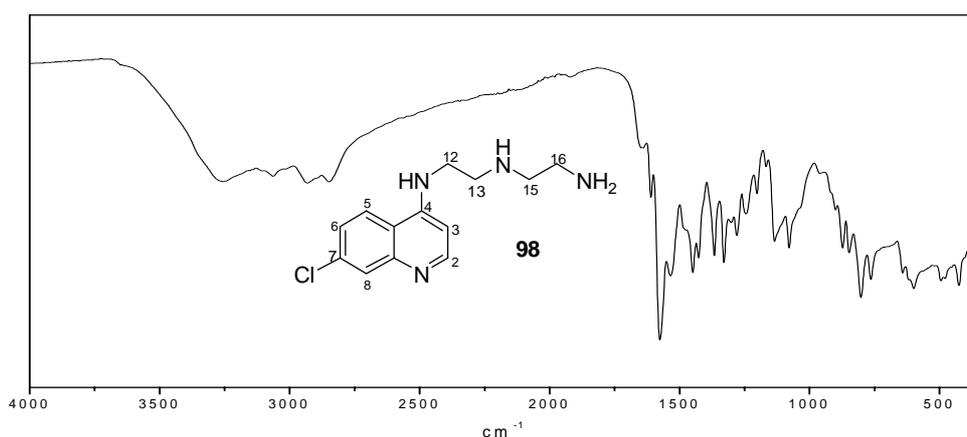


Figura 5.7. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto **98**.

Da mesma forma que no composto **98**, a caracterização do composto **99** foi feita através de RMN ^1H . No espectro (Figura 5.8 e Tabela 5.6) observou-se cinco sinais para os hidrogênios do anel aromático de multiplicidade dubleto (d) e duplo dubleto (dd) com deslocamentos químicos (entre $\delta = 8,25$ e $6,46$ ppm) e dois sinais para os hidrogênios metilênicos (entre $\delta = 3,45$ e $\delta = 2,95$ ppm). O menor número de sinais observados para os hidrogênios metilênicos deve-se a simetria da molécula.

Tabela 5.6. Dados de RMN ^1H do composto **99** em CD_3OD .

δ (multiplicidade)	Integral	J (Hz)	Atribuição, aos hidrogênios dos:
2,97 (t)	4H	6,22	13e 13'
3,45 (t)	4H	6,24	12 e 12'
6,45 (d)	2H	5,69	3 e 3'
7,20 (dd)	2H	9,01 e 2,14	6 e 6'
7,67 (d)	2H	2,14	8 e 8'
7,87 (d)	2H	9,01	5 e 5'
8,24 (d)	2H	5,61	2 e 2'

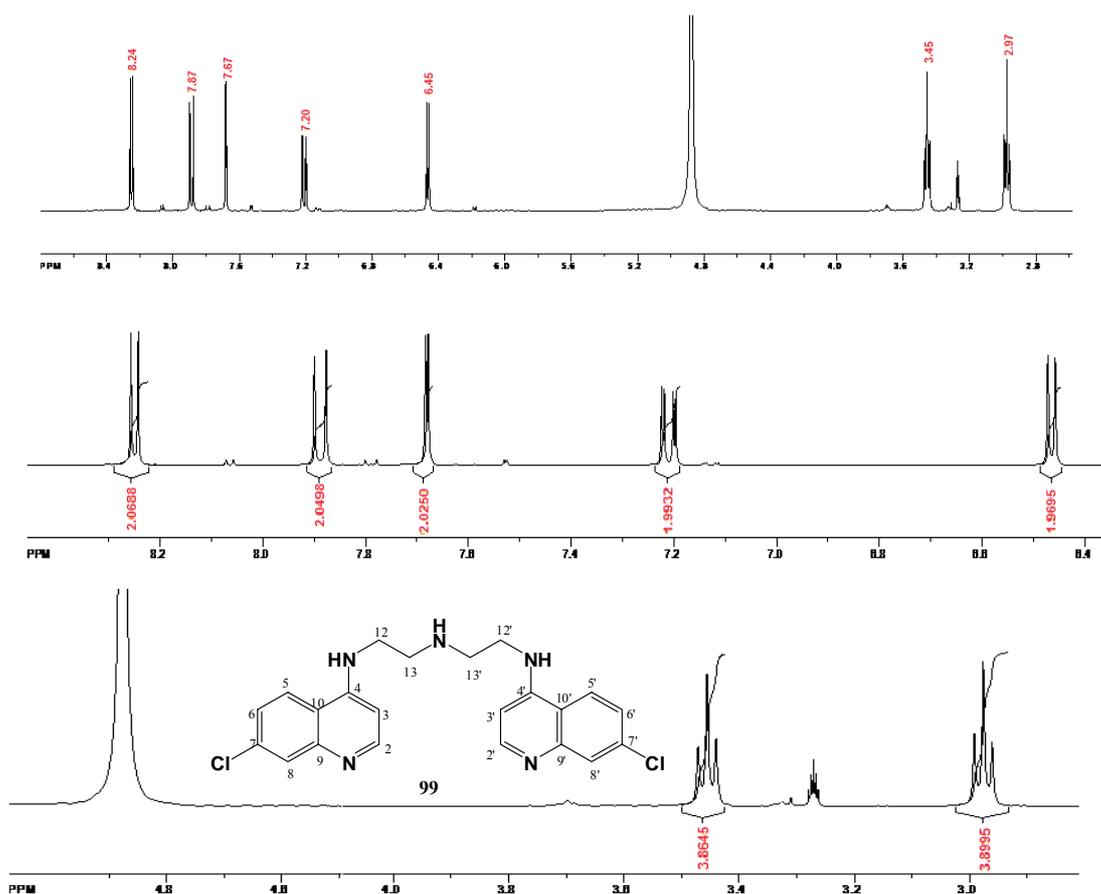


Figura 5.8. Espectro de RMN de ^1H do composto **99** em CD_3OD .

No espectro de RMN ^{13}C da estrutura **99** (Figura 5.9), também são observados deslocamentos químicos semelhantes aos encontrados para **98** (comparar Tabela 5.3 com Tabela 5.7). Os carbonos do anel quinolínico são observados entre $\delta = 98,3$ e $\delta = 151,2$ ppm. Já os carbonos metilênicos da cadeia lateral foram observados em $\delta = 41,8$ e $\delta = 46,8$ ppm.

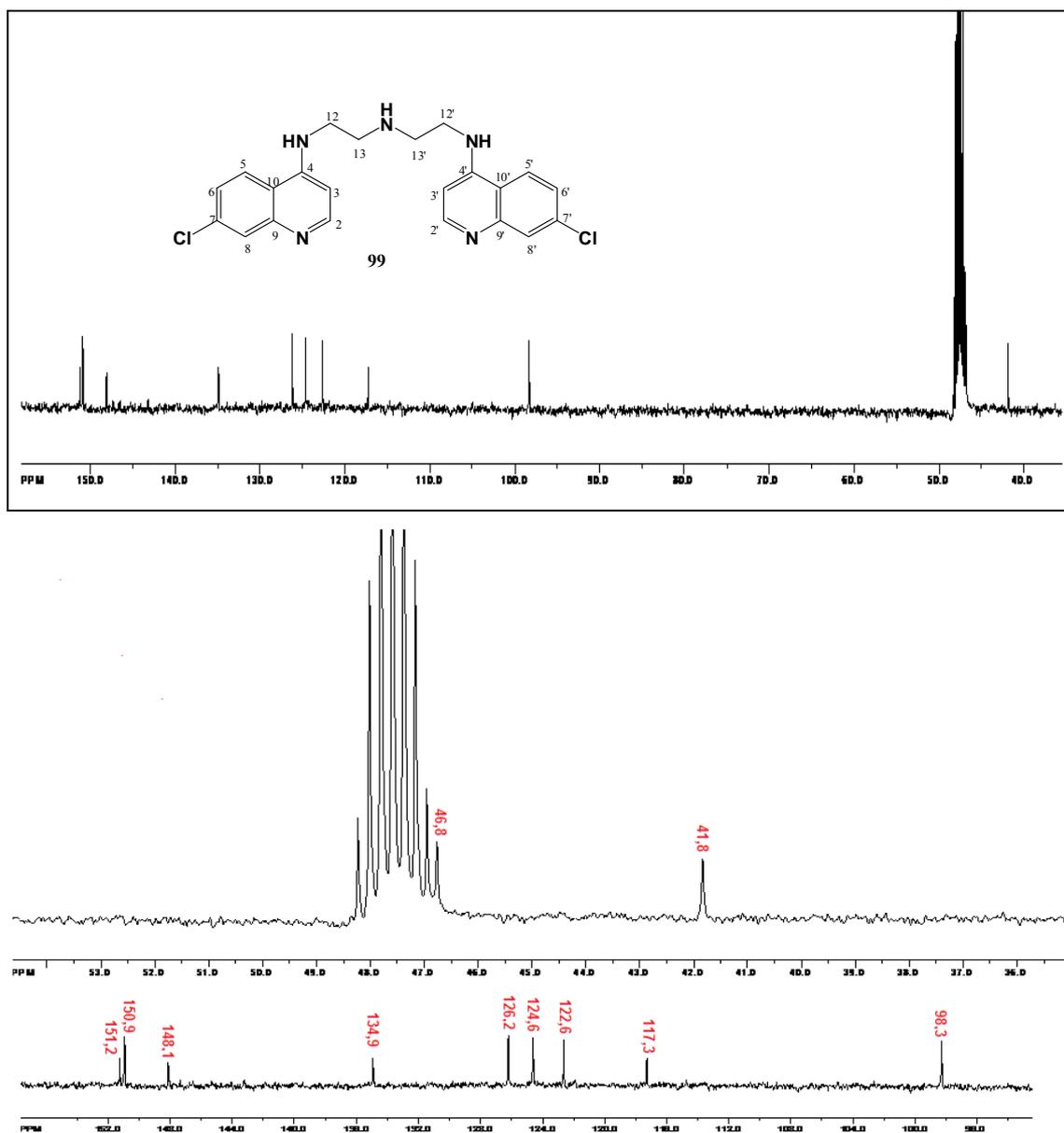


Figura 5.9. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **99** em CD_3OD .

Tabela 5.7. Dados de RMN ^{13}C do composto **99** em CD_3OD .

Deslocamento	Atribuição
150,9	2
98,3	3
151,2	4
122,6	5
124,6	6
134,9	7
126,2	8
148,14	9
117,32	10
41,8	12
46,8	13

A inspeção do espectro de HSQC (Figura 5.10 e Tabela 5.10) permitiu analisar as sete correlações apresentadas pelo composto **99**, além de distinguir os cinco sinais referentes aos hidrogênios que estão diretamente ligados aos carbonos do sistema aromático e os dois sinais dos hidrogênios e carbonos metilênicos. De posse destes resultados, foi possível concluir que os deslocamentos químicos dos H-12 e H-13 ($\delta=3,45$ e $\delta=2,97$ ppm) estão correlacionados com os C-12 e C-13 ($\delta=41,8$ e $\delta=46,8$ ppm), respectivamente.

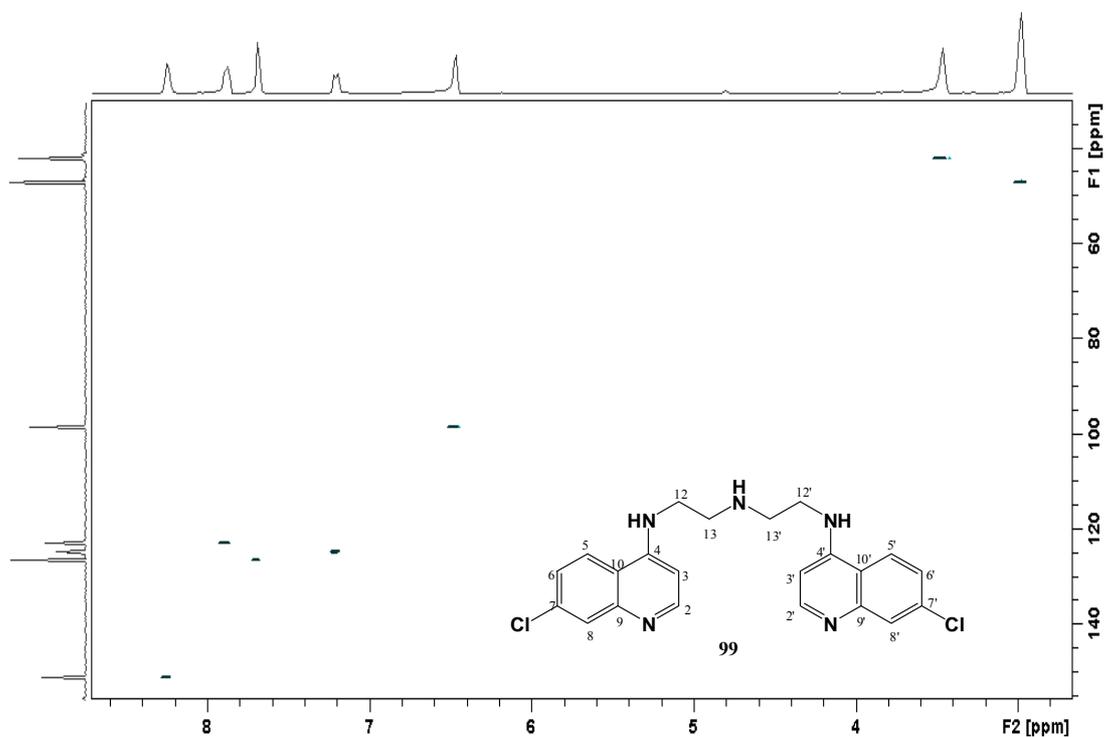
**Figura 5.10.** Espectro de HSQC para a molécula **99** em CD_3OD .

Tabela 5.8. Dados referentes a correlação direta entre os núcleos ^1H e ^{13}C do espectro de HSQC do composto **99** em CD_3OD .

RMN ^1H Deslocamento (δ)	RMN ^{13}C Deslocamento (δ)	Atribuição
8,24	150,9	2
6,45	98,3	3
7,87	122,6	5
7,20	124,6	6
7,67	126,2	8
3,45	41,8	12
2,97	46,8	13

Esses dados de RMN se enquadram aqueles encontrados por Girault e colaboradores (ver Tabela 5.9).⁷

Tabela 5.9. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos por Girault e colaboradores para o composto **99** em CD_3OD .⁷

RMN ^1H (DMSO- <i>d</i> 6) Deslocamento (δ)	RMN ^{13}C (DMSO- <i>d</i> 6) Deslocamento (δ)	Atribuição
8,38	152,7	2
6,46	99,56	3
8,20	--	5
7,45	124,83	6
7,75	128,35	8
3,35	43,44	12
2,85	47,90	13

O espectro de FT-IR, obtido por ATR, do composto **99** (Figura 5.11), é similar ao composto análogo **98**. São observadas as bandas de vibração referentes à estrutura aromática em ~ 3071 , 1608 ($\text{C}=\text{N}$), 1576 e 1531 cm^{-1} correspondente aos estiramentos dos grupos C-H , $\text{C}=\text{C}$ respectivamente. As bandas de absorção referentes aos grupos N-H ligados ao anel aromático e da cadeia alifática foram confirmadas pela presença de estiramentos em 3272 , 1136 e 1328 cm^{-1} .

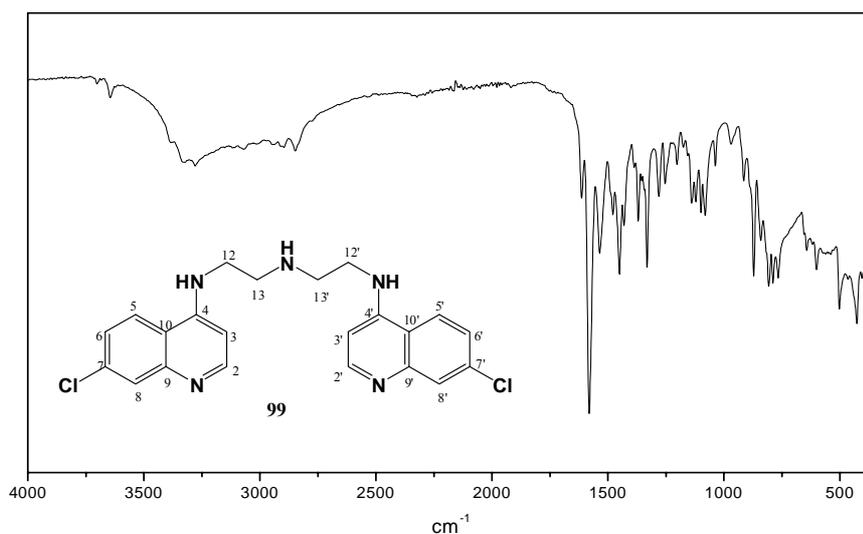


Figura 5.11. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto **99**.

5.4. Síntese e caracterização dos complexos

A estratégia sintética adotada para os complexos de Fe e Pd foram adaptadas de procedimentos relatados da literatura.^{9,10,11}

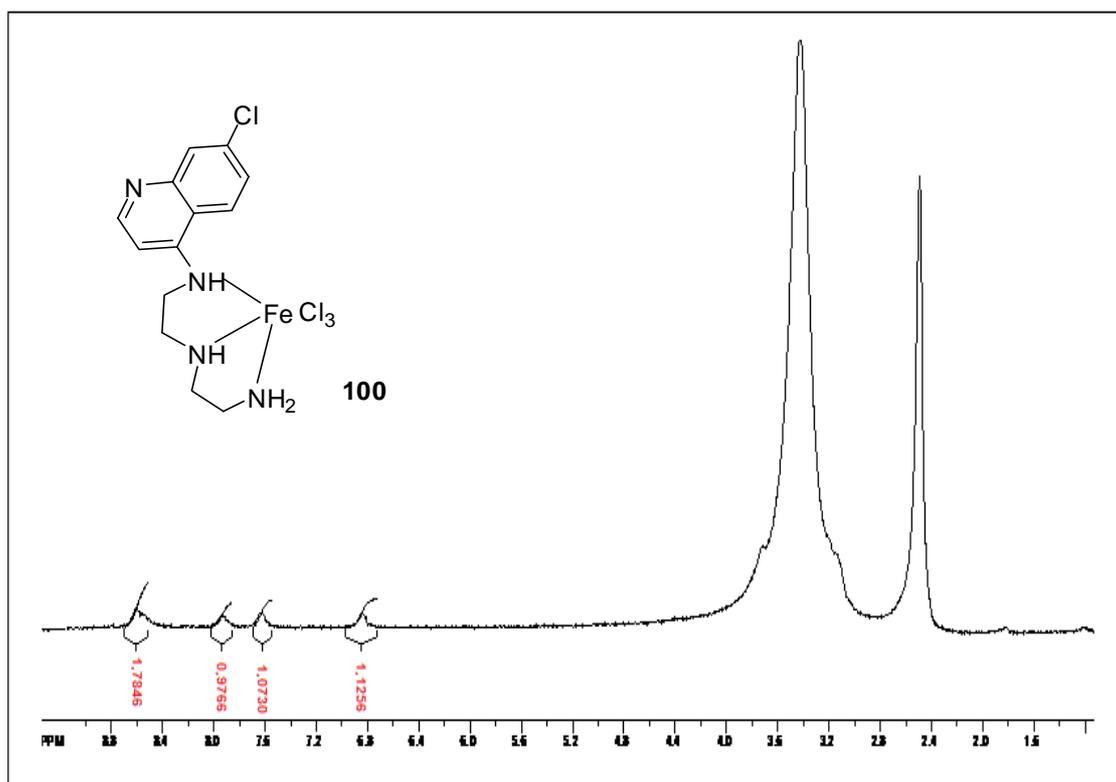
5.4.1 Complexos de Ferro

Os complexos de Fe(III) foram obtidos a partir da reação direta entre FeCl₃ anidro com o composto **98** ou **99** em éter etílico seco. Nos dois casos, o material obtido, foi de coloração marrom clara e insolúvel na maioria dos solventes, a exceção do DMSO e DMF. Ambos apresentam características paramagnéticas. Várias tentativas de obtenção de monocristais desses complexos foram infrutíferas até o momento. Tais propriedades dificultaram, em muito, a caracterização dos complexos por técnicas tradicionais, o que pode provocar discussões sobre a real estrutura dos complexos obtidos.

5.4.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Dados de RMN de ¹H para o composto **100** (Figura 5.12) em DMSO-*d*₆ mostram apenas quatro sinais alargados na região de hidrogênios aromáticos (entre δ= 8,6 e 6,8 ppm). A atribuição desses sinais, devido a suas características paramagnéticas do composto analisado, é enormemente dificultada. A homogeneidade do campo

magnético requerida no aparelho pode ser significativamente alterada. Por exemplo, são observadas mudanças de deslocamentos químicos de ligantes coordenados a centros metálicos paramagnéticos maiores que 100 *ppm*, quando comparados aos precursores não coordenados aos respectivos metais.⁹ Não obstante, os sinais de hidrogênio que mais sofrem alteração de deslocamento químico, são aqueles que estão mais próximos ao centro metálico. É possível supor, que os sinais que aparecem na região entre 9 e 6 *ppm* sejam os sinais relativos aos hidrogênios aromáticos do ligante **98**. Essa atribuição foi feita com base na região onde se encontram os sinais e na integração dos mesmos. Se por ventura a coordenação do composto **98** seja via os nitrogênios *sp*³, os deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos seriam pouco alterados. Além disso, é mais provável que sejam os nitrogênios *sp*³ que devam se coordenar a um centro como o de Fe(III), pois são mais duros que o nitrogênio *sp*² do grupo quinolínico.



Os sinais para os hidrogênios metilênicos não foram identificados. Neste caso, duas situações podem estar relacionadas a não observação desses sinais: i) estes estarem encobertos pelos sinais da água e do dimetilsufóxido; ou ii) estarem com deslocamentos químicos e alargamentos muito acentuados. Para tanto, foram feitas análises com

janelas de até 250 *ppm* e tais sinais não foram observados. Se realmente os nitrogênios *sp*³ estiverem coordenados ao metal, estes poderão sofrer fortes alterações dos deslocamentos químicos, bem como, alargamentos.

O espectro de FT-IR, obtido por ATR, do composto **100** (Figura 5.13), mostra as bandas de absorção de estiramento em 1338 cm^{-1} (C=C-N), 1624, 1579 e 1600 cm^{-1} (C=C), 3071 (C-H arom.) que confirmam a presença do grupo aminoquinolínico. A banda observada a 3335 cm^{-1} deve estar relacionada ao estiramento (FeN-H). Esse dado é importante pois mostra um deslocamento da banda N-H das formas não coordenadas para frequências mais elevadas. As bandas de estiramento em $\sim 1440 \text{ cm}^{-1}$ e $\sim 1142 \text{ cm}^{-1}$ indicam a presença de grupos CH_2 e C-N, respectivamente, estando relacionadas à cadeia alifática do complexo **100**.

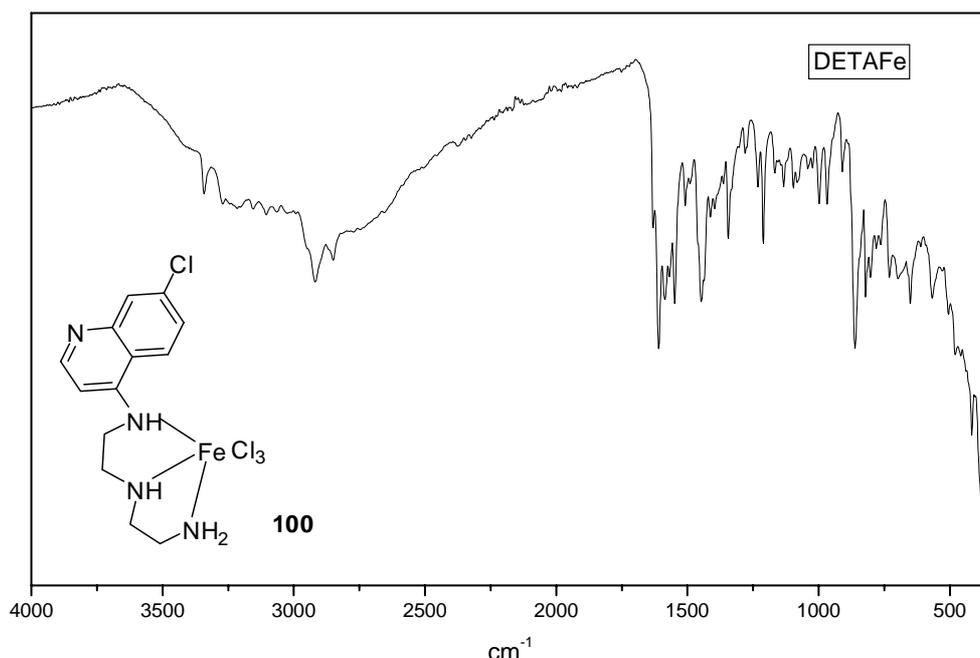


Figura 5.13. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto **100**.

Da mesma forma que o composto **100**, a caracterização do composto **101** (Figura 5.14) foi iniciada através da espectroscopia de RMN ¹H. O espectro apresenta as mesmas características observadas no espectro do composto **100** (Figura 5.12). Dados de RMN de ¹H para o composto **101** em DMSO-d₆ mostram apenas quatro sinais alargados na região de hidrogênios aromáticos (entre $\delta = 8,5$ e $6,8 \text{ ppm}$). A atribuição

desses sinais é dificultada, devido paramagnetismo do composto analisado. De fato, as explicações apresentadas para a interpretação do espectro do complexo **101** são as mesmas que aquelas apresentadas para o complexo **100**.

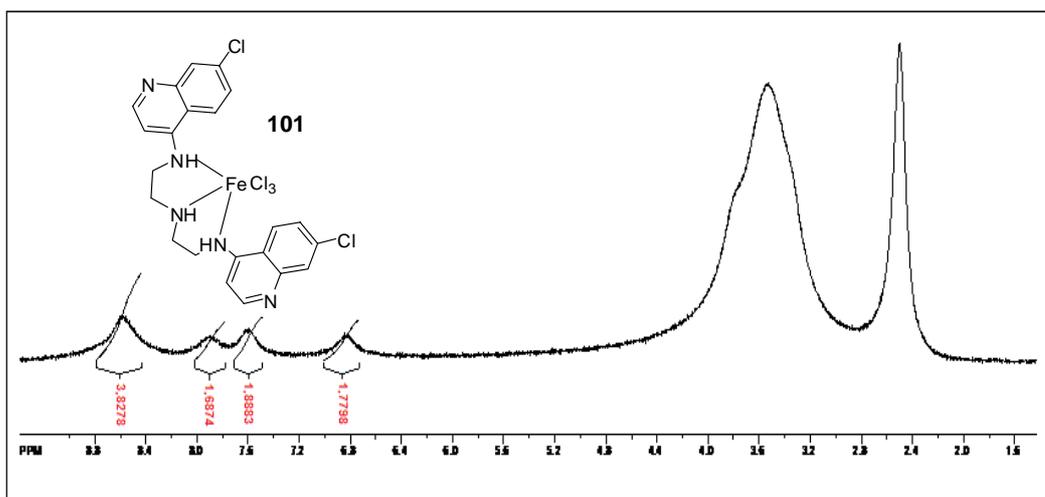


Figura 5.14. Espectro de RMN de ^1H do composto **101** DMSO-*d*₆.

O espectro de FT-IR, obtido por ATR, do composto **101** (Figura 5.15), mostra as bandas de absorção de estiramento em 1337 cm^{-1} (C=C-N), ~ 1608 (C=N), 1579 e 1551 cm^{-1} (C=C), 3019 (C-H arom.) que confirmam a presença do grupo aminoquinolínico. A banda observada a 3356 cm^{-1} deve estar relacionada ao estiramento (FeN-H). As bandas de estiramento em $\sim 1449\text{ cm}^{-1}$ e 1145 cm^{-1} indicam a presença de de grupos CH_2 e C-N, respectivamente.

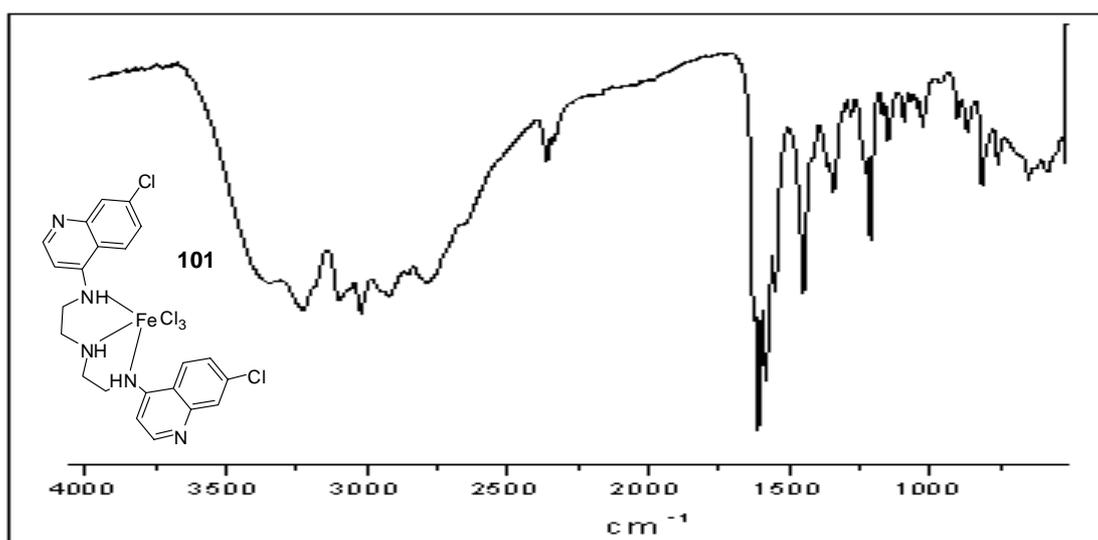


Figura 5.15. Espectro na região do infravermelho, medido por FTIR-ATR, do composto **101**.

5.4.1.2. Estudos de Ressonância Paramagnética Eletrônica

Os compostos de **100** e **101** foram analisados por Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR). Segundo interpretações do Prof. Dr. Klaus Krambrock do Departamento de Física da Universidade Federal de Minas Gerais, que gentilmente realizou a análise, ambos os compostos são de Fe(III) com configuração eletrônica de spin alto ($S= 5/2$) e simetria octaédrica distorcida. Além disso, observou-se a presença de pequenas quantidades de “impurezas” presentes no meio, provavelmente de Fe_2O_3 . Uma análise mais fina dos resultados seria possível diante de um material cristalino e não amorfo como foi encaminhado para a análise.

5.4.1.3. Espectroscopia no UV-Vis

A coordenação dos pré-ligantes **98** e **99** ao Fe(III) foi também comprovada por análise por espectroscopia no UV-Vis (ver Tabela 5.10). Todos os compostos apresentaram duas bandas de absorção em 260 nm e 336-339 nm, todas elas relativas ao ligante. A primeira banda, de menor comprimento de onda e de maior intensidade está relacionada a transições $\pi-\pi^*$. Por outro lado, a segunda banda observada deve estar relacionada às transições $n-\pi^*$. A primeira e a segunda banda de absorção, após coordenação, sofreram pouca ou nenhuma alteração. Isso se deve, muito provavelmente, a pouca participação de elétrons do anel aromático na coordenação. Com relação às transições d-d, que facilmente podem identificar a presença de metais de transição na estrutura analisada, não são observadas. Isso pode ser um indicativo da presença de um centro metálico Fe(III) de spin alto, onde as transições d-d são totalmente proibidas por Laporte e por spin, por isso, não são facilmente observadas.¹²

Tabela 5.10. Bandas de absorção na região do UV-Vis para os compostos **98**, **99**, **100** e **101** em DMSO.

Composto	1ª banda (nm)	2ª banda (nm)
98	260	336
99	260	336
100	260	338
101	260	339

Em função dos dados coletados e análises realizadas até o momento, acredita-se que a estrutura de **100** e **101** devam ser compostos octaédricos cuja espécie central é um íon de Fe(III). De acordo com os dados de RMN podemos supor que os grupos amino com estado de hibridização sp^3 que estão coordenados ao metal, formando quelatos que podem gerar uma mistura de dois isômeros geométricos, facial (*fac*) ou meridional (*mer*), conforme ilustrado na Figura 5.16.

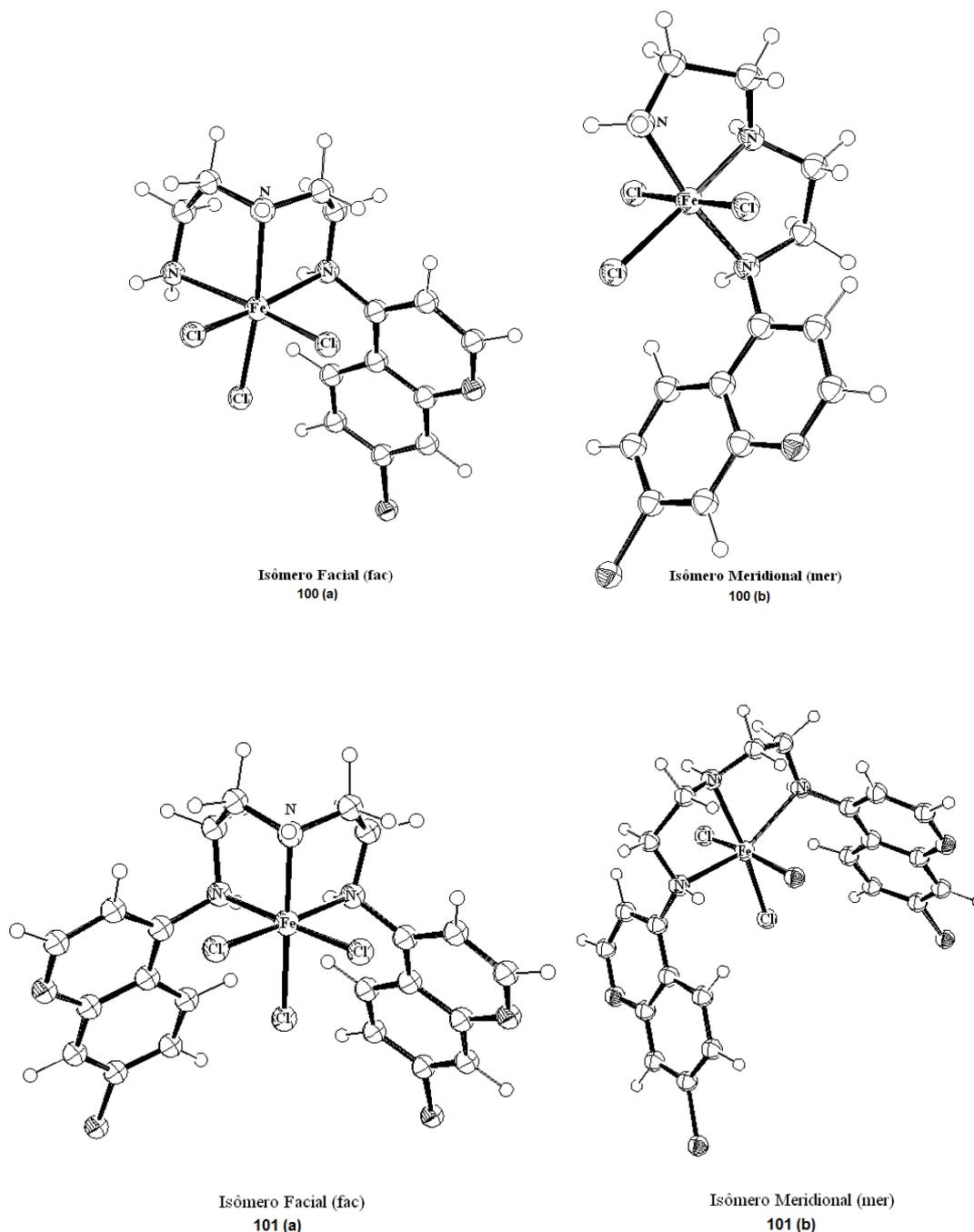


Figura 5.16. Estrutura provável para os complexos octaédricos para as estruturas **100** e **101**.

5.4.2 Complexos de Paládio

Foram realizadas diversas tentativas para se obter complexos de Pd a partir das substâncias **98** e **99**. Os compostos de Pd, então obtidos, mostraram-se como uma mistura bastante intrincada de complexos. Isso, muito provavelmente, deve-se à alta funcionalidade das moléculas de **98** e **99**, podendo interagir com o centro metálico de diversas maneiras. O espectro de RMN ^1H , de forma relativa, mais claro obtido foi a partir da reação entre **98** e Li_2PdCl_4 (ver Figura 5.17). Apesar do aspecto prolixo do espectro é possível destacar um grupo de sinais na região dos aromáticos indicando que houve a coordenação do composto **98** sobre o paládio. Esses dados estão resumidos na Tabela 5.11. Além disso, podemos ver sinais entre 3,30 e 2,27 ppm que podem ser relativos aos grupos CH_2 da cadeia lateral. Acredita-se o composto **98** esteja-se coordenando ao Pd(II), via o nitrogênio quinolínico. Isso pode ser dito, pois o deslocamento químico dos hidrogênios aromáticos é significativamente afetado, se comparados aos deslocamentos observados quando da não coordenação, ou seja, ligante livre (ver Figura 5.4 da página 86 e Tabela 5.2 da página 85).

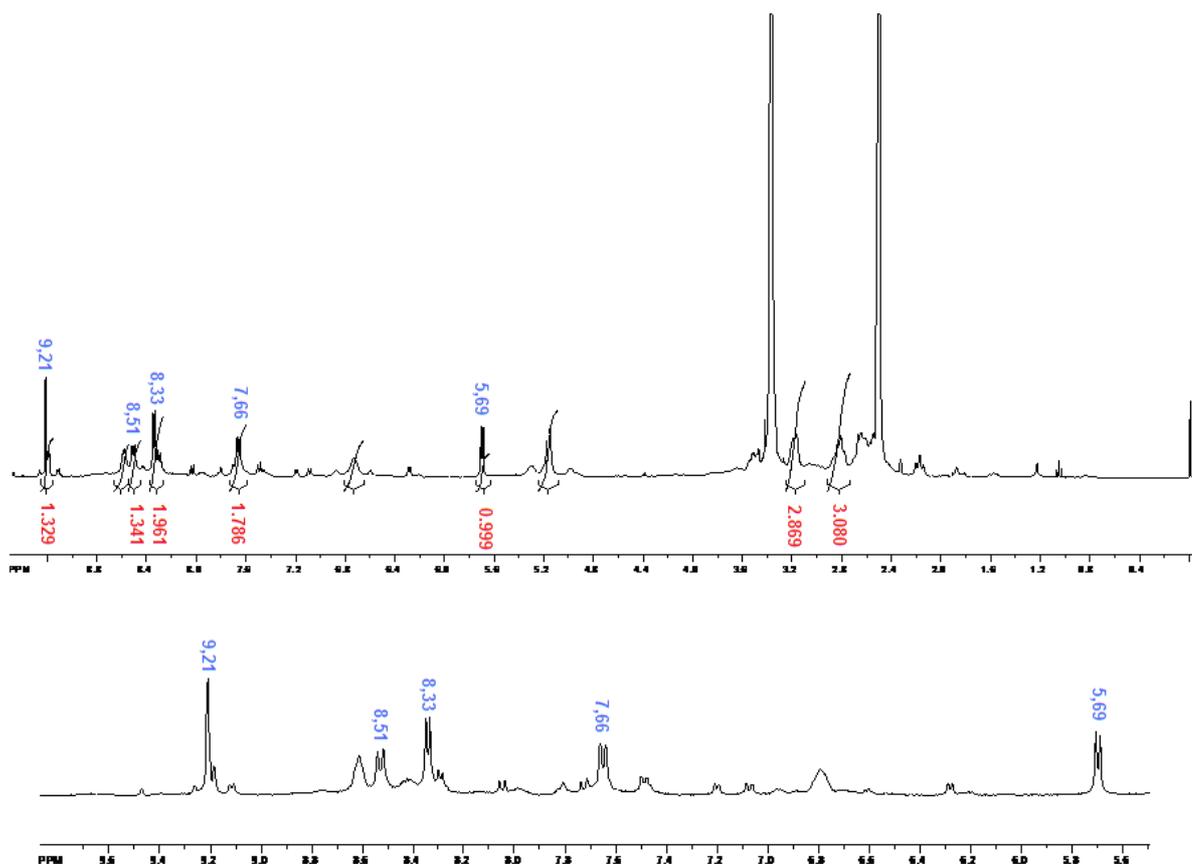
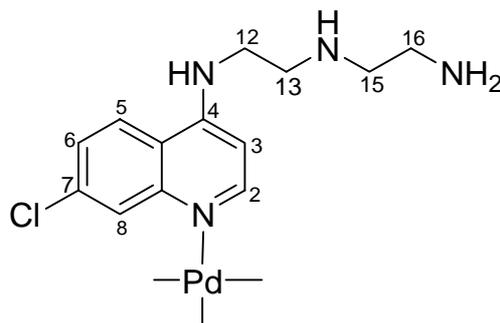


Figura 5.17. Espectro obtido após isolamento do produto de reação entre **98** e Li_2PdCl_4 .

Tabela 5.11. Deslocamentos químicos e multiplicidades de RMN de ^1H obtidos para a mistura de reação entre Li_2PdCl_4 e **98** em $\text{DMSO-}d_6$.

δ e J(Hz)	Atribuição
9,21 ($J=2,09\text{Hz}$)	8
8,51 ($J=8,90\text{Hz}$)	5
8,33 ($J=6,55\text{Hz}$)	2
7,66 ($J=8,90\text{Hz}$)	6
5,69 ($J=6,69\text{Hz}$)	3

Acredita-se o composto **98** esteja coordenado ao Pd(II), via o nitrogênio quinolínico, conforme apresentado no Esquema 5.2. Isso pode ser dito, pois o deslocamento químico dos hidrogênios aromáticos é significativamente afetado, se comparados aos deslocamentos observados quando da não coordenação, ou seja, ligante livre (ver Figura 5.4 e Tabela 5.2).

Esquema 5.2

Apesar da dificuldade para a caracterização dos complexos, verifica-se que com uma maior dedicação sobre esse assunto é possível obter compostos derivados com as substâncias **98** e **99** coordenadas a metais. Vale destacar que é possível empregar a porção da cadeia lateral, por exemplo da substância **98**, para a coordenação do metal [no caso Fe(III)] e o nitrogênio quinolínico como no caso observado para espécies de Pd(II).

5.5. Avaliação da Atividade Antimalárica

Para os compostos **98**, **99** e **100**, foram realizados ensaios biológicos preliminares pelo Laboratório de Malária do Centro de Pesquisas René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz – MG.

Os derivados 4-aminoquinolínicos e seus complexos foram avaliados quanto à sua atividade antimalárica *in vitro*. Os resultados mostraram que todos os derivados apresentaram atividade frente ao *P. falciparum*, com destaque para o **99**, que apresentou o menor IC₅₀ (Tabela 5.12), cujo valor (0,012 µg/mL) foi quatro vezes menor que o verificado para o padrão cloroquina (0,050 µg/mL). Essa atividade antimalárica foi abordada por Girault e colaboradores para compostos bis-aminoquinolínicos.⁷ Cabe também observar que, nas condições em que foram realizadas as análises, a atividade do complexo de coordenação **100** é maior se comparado ao mesmo sem a presença do fragmento metálico.

A citotoxicidade desses compostos foi avaliada frente à hepatócitos humanos (hepG2), cujos os resultados estão listados na Tabela 5.12. Verificou-se que o composto menos tóxico é o complexo **100**, com um valor de MLD₅₀= 315 µg/mL. De toda forma, é importante verificar o índice de seletividade (SI) dos compostos estudados. Esse estudo determina a relação entre atividade e toxicidade do composto, ou seja, a razão entre MLD₅₀ (µg/mL) e o IC₅₀ (µg/mL) (ver Tabela 5.12). Quando os valores de SI para as moléculas apresentam menores ou iguais a três, estas são consideradas tóxicas. Desta forma, todos os compostos analisados podem ser considerados não tóxicos.¹³

Tabela 5.12. Dados de atividade antimárica e citotoxicidade das substâncias moléculas **98, 99, 100** e da cloroquina.

Composto	IC ₅₀ (µg/mL) ^a	MLD ₅₀ (µg/mL) ^b	SI ^c
98	0,187	155	829
99	0,012	48	4000
100	0,479	315	658
CLOROQUINA	0,050	340	6800

^aAtividade antimalárica contra *P. falciparum* avaliados nos testes de incorporação de hipoxantina tritiada e tradicional; ^bCitotoxicidade contra hepatócitos humanos HepG2; ^cÍndice de seletividade.

5.6. Referências Bibliográficas

1. Sánchez-Delgado, R.A.; Navarro, M.; Pérez, H.; Urbina, J.A. Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases. Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of new ruthenium and rhodium-chloroquine complexes. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1996**, 39, 1095-1099,
2. Kouznetsov, V.V.; Gómez-Barrio, A. Recent developments in the design and synthesis of hybrid molecules based on aminoquinoline ring and their antiplasmodial evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, 44, 3091-3113.
3. Chibale, K.; Moss, J.R.; Blackie, M.; Schalkwyk, D.V.; Smith, P.J. New amine and urea analogs of ferrochloroquine: synthesis, antimalarial activity in vitro and electrochemical studies. *Tetrahedron Letters*, **2000**, 41,6231-6235
4. Blackie, M.A.L.; Beagley, P.; Croft, S.L.; Kendrick, H.; Moss, J. R.; Chibale, K. Metallocene-based antimalarials: an exploration into the influence of the ferrocenyl moiety on in vitro antimalarial activity in chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant strains of *Plasmodium falciparum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2007**,15, 6510-6516.
5. Kumar, S.; Guha, M.; Choubey, V.; Maity, P.; Bandyopadhyay, U. Antimalarial drugs inhibiting hemozoin (β -hematina) formation: a mechanistic update. *Life Sciences*, **2007**, 80,813-828.
6. Carey, F.A.; Sundberg, R. J. *Advanced Organic Chemistry Part B: Reactions and Synthesis*.3rd Ed, Plenum, 1990 New York pg 597.
7. Girault, S.G.; Grellier, P.; Berecibar, A.; Maes, L.; Lemièrre, P.; Mouray, E.; Davioud-Charvet, E.; Sergheraert, C. Antiplasmodial Activity and Cytotoxicity of Bis-, Tris-, and Tetraquinolines with Linear or Cyclic Amino Linkers *Journal of Medicinal Chemistry*, **2001**, 44, 1658-1665.

8. Musonda, C.C.; Gut, J.; Rosenthal, P.J.; Yardley, V.; Souza, R.C.C.; Chibale, K. Application of multicomponent reactions to antimalarial drug discovery. Part 2: New antiplasmodial and antitrypanosomal 4-aminoquinoline γ - and δ -lactams via a 'catch and release' protocol. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2006**, 14, 5605-5615.

9. Mandon, D.; Nopper, A.; Litrol, T.; Goetz, S. Tridentate coordination of monosubstituted derivatives of the tris(2-pyridylmethyl)amine ligand to FeCl_3 : structures and spectroscopic properties of [(2-bromopyridyl)methyl]bis-(2-pyridylmethyl) amine $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3$ and {[2-p-methoxyphenyl]pyridylmethyl]bis(2-pyridylmethyl)amine $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3$ and comparison with the bis(2-pyridylmethyl)amine $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_3$ complex. *Inorganic Chemistry*, **2001**, 40, 4803-4806.

10. Chibale, K.; Moss, J.R.; Blackie, M.; Schalkwyk, D.; Smith, P.J. New amine and urea analogs of ferrochloroquine: Synthesis, antimalarial activity in vitro and electrochemical studies. *Tetrahedron Letters*, **2000**, 41, 6231-6235.

11. Huq, F.; Tayyem, H.; Beale, P.; Yu, J.Q. Studies on the activity of three palladium (II) compounds of the form: $\text{trans-PdL}_2\text{Cl}_2$ where L=2-hidroxypyridine, 3-hidroxypyridine, and 4-hidroxypyridine. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2007**, 101, 30-35.

12. Huheey, J. E.; Keiter, E. A.; Keiter, R. L.; *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*. 4th Ed, HaperCollins, New York, pg 433.

13. Bézivin, C.; Tomasi, S.; Dévéhat, L.F.; Boustie, J. Cytotoxic activity of some lichen extracts on murine and human cancer cell lines. *Phytomedicine*, **2003**, 10, 499-503.

CAPÍTULO 6

*COMENTÁRIOS FINAIS, CONCLUSÕES E
PERSPECTIVAS*

CAPÍTULO 6. COMENTÁRIOS FINAIS, CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Este trabalho foi fruto de um projeto pioneiro dentro das linhas de pesquisa do Grupo de Catálise e Reatividade Química, abrindo caminho para o planejamento de complexos metálicos como protótipos de fármacos no combate a diversas doenças, principalmente, as ditas negligenciáveis. Iniciou-se, então, com a malária, que como visto no Capítulo 2, é um mal que aflige grande parte do território brasileiro, bem como de muitos países. A base de referências que fundamentaram os Capítulos 1 e 3 mostra que o planejamento de metalofármacos pode ser uma excelente alternativa para a obtenção de medicamentos mais eficazes e potentes no combate, por exemplo, a malária. Por esse motivo, foram por nós planejados e, em seguida, sintetizados compostos aminoquinolínicos, análogos à cloroquina, capazes de se coordenarem a metais como Fe e Pd. Um composto (mono)aminoquinolínico, N^1 -(2-aminoetil)- N^2 -(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (**98**) e um composto bisaminoquinolínico, N^1 -(7-cloroquinolin-4-il)- N^2 -[2-(7-cloroquinolin-4-ilamino)etil] etano-1,2-diamina (**99**), foram obtidos com rendimentos moderados e baixos e amplamente caracterizados por diversas técnicas espectroscópicas. Ambos compostos foram obtidos empregando-se a mesma estratégia, cuja etapa principal baseia-se em reações de substituição nucleofílica aromática (SN_{Ar}). Durante a síntese de ambas as substâncias, não foram necessárias o uso de bases auxiliares ou de solvente, além disso, a produção de um ou outro composto deve-se apenas à relação estequiométrica empregada entre os reagentes. Com a síntese das substâncias **98** e **99**, realizou-se o planejamento dos respectivos complexos de metais de transição. Neste trabalho deu-se prioridade à preparação de complexos contendo a base de Fe(III) e Pd(II), devido à reconhecida atividade biológica que complexos desses metais apresentam. O planejamento desses complexos foi baseado a partir de prováveis interações ácido-base de Lewis entre o fragmento orgânico e o precursor metálico.

Os complexos de Fe(III) foram obtidos (**100** e **101**) a partir da reação direta entre $FeCl_3$ anidro com o composto **98** ou **99** em éter etílico seco. Nos dois casos, o material obtido foi de coloração marrom clara e insolúvel na maioria dos solventes, a exceção do DMSO e DMF. Ambos apresentam características paramagnéticas, o que dificultou a caracterização dos complexos por espectroscopia de RMN. Não obstante, os sinais de hidrogênio aromáticos sofreram pouca alteração com relação ao seu deslocamento

químico. É possível supor, a coordenação dos compostos **98** e **99** seja via os nitrogênios sp^3 , o deslocamento químico dos hidrogênios aromáticos seria pouco alterado. Além disso, é mais provável que sejam realmente os nitrogênios sp^3 que devam se coordenar a um centro duro como o de Fe(III). Cabe mencionar que a formação de complexos octaédricos de Fe(III), alto spin, foi confirmada por espectroscopia de RPE, cujas medidas foram gentilmente realizadas pelo Prof. Dr. Klaus Krambrock do Departamento de Física da UFMG. Várias tentativas de obtenção de monocristais desses complexos foram, até o momento, infrutíferas. Tais propriedades dificultaram bastante a caracterização dos complexos por técnicas tradicionais, o que pode provocar discussões sobre a real estrutura dos complexos obtidos. Contudo, em função dos dados coletados e análises realizadas até o momento, acredita-se que as estruturas de **100** e **101** sejam octaédricas cuja espécie central é um íon de Fe(III), podendo se apresentar como um ou uma mistura de dois isômeros geométricos, facial (*fac*) ou meridional (*mer*).

Com relação aos complexos de Pd, foram realizadas diversas tentativas de obtenção a partir das substâncias **98** e **99**. Os compostos de Pd, então obtidos, mostraram-se como uma mistura bastante intrigante de substâncias. O espectro de RMN ^1H do produto da reação entre **98** e Li_2PdCl_4 é bastante prolixo, contudo é possível destacar um grupo de sinais na região dos aromáticos que indicam que houve a coordenação do composto **98** sobre o paládio. Acredita-se o composto **98** esteja coordenando ao Pd(II), via o nitrogênio quinolínico. Isso pode ser dito, pois o deslocamento químico dos hidrogênios aromáticos é significativamente afetado, se comparados aos deslocamentos observados quando da não coordenação, ou seja, ligante livre.

Todos os compostos preparados foram enviados para serem submetidos à bioensaios preliminares contra o *Plasmodium falciparum*, junto ao Laboratório de Malária do Centro de Pesquisas René Rachou – MG. Os compostos **98**, **99** e **100** mostraram-se ativos contra *P. falciparum*, destacando-se para o composto **99** que apresentou o menor IC_{50} (0,012 $\mu\text{g/mL}$). Cabe observar que, nas condições em que foram realizadas as análises, a atividade do complexo de coordenação **100** é maior se comparado ao mesmo sem a presença do fragmento metálico. A citotoxicidade desses compostos foi avaliada frente a hepatócitos humanos (hepG2). Verificou-se que o

composto menos tóxico é o complexo **100**, com um valor de $MLD_{50} = 315 \mu\text{g/mL}$. De toda forma, todos os compostos analisados podem ser considerados não tóxicos.

Ao término deste trabalho, conclui-se que uma ampla janela de atividade de investigação está aberta para a preparação e avaliação biológica de complexos metálicos contendo ligantes aminoquinolínicos como agentes antimaláricos. A interação de ligantes, potencialmente coordenantes, a centros metálicos mostrou-se a etapa mais sensível da síntese, o que requer maior controle de variáveis de reação ou mesmo elaboração de novos pré-ligantes que conduzam a reações mais específicas.