

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Caroline de Souza Pereira

**Síntese, Avaliação da atividade antimalárica e do mecanismo de ação de complexos
metálicos híbridos**

Juiz de Fora

2022

Caroline de Souza Pereira

Síntese, avaliação da atividade antimalárica e do mecanismo de ação de complexos metálicos híbridos

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Maribel Navarro

Juiz de Fora

2022

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

Pereira, Caroline de Souza.

Síntese, Avaliação da atividade antimalárica e do mecanismo de ação de complexos metálicos híbridos / Caroline de Souza Pereira. -- 2022.

174 f. : il.

Orientadora: Maribel Coromoto Navarro Acosta

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, ICE/Engenharia. Programa de Pós-Graduação em Química, 2022.

1. Malária. 2. Complexos de ouro(I). 3. Híbridos metálicos. 4. Complexos fosfínicos de ouro(I). 5. Fármacos antimaláricos. I. Acosta, Maribel Coromoto Navarro, orient. II. Título.

Caroline de Souza Pereira

SÍNTESE, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA E DO MECANISMO DE AÇÃO DE COMPLEXOS METÁLICOS HÍBRIDOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Química.

Aprovada em 07 de março de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maribel Coromoto Navarro Acosta - Orientadora

Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Ana Maria da Costa Ferreira

Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz

Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Alexandre Cuin

Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Flávia Cavalieri Machado

Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 04/03/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Maribel Coromoto Navarro Acosta, Professor(a)**, em 07/03/2022, às 17:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Flavia Cavaliere Machado, Professor(a)**, em 07/03/2022, às 17:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Von Poelhsitz, Usuário Externo**, em 07/03/2022, às 18:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Cuin, Professor(a)**, em 07/03/2022, às 18:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Maria da Costa Ferreira, Usuário Externo**, em 09/03/2022, às 14:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0698770** e o código CRC **993FD1F4**.

Dedico este trabalho aos meus pais, meus irmãos e minha filha do coração, Isabella, por serem a minha força. Obrigada por tanto apoio, confiança e amor. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser a minha certeza de que tudo iria dar certo, me mantendo forte frente as dificuldades e frustrações. Sou grata a Deus por todas as bênçãos derramadas em minha vida.

Aos meus pais, Maria Aparecida e Jorge, por acreditarem em mim mais do que eu mesma e por batalharem para que eu chegasse até aqui. Vocês são meu exemplo de dedicação e trabalho! Amo muito vocês!

Aos meus irmãos, Camilla e Caio, pelo amor e amizade a mim dedicados. Obrigada por sempre estarem ao meu lado e pelos momentos de descontração que tornaram esta caminhada mais leve.

À minha sobrinha Isabella, minha filha do coração, por ser meu mundo e minha força.

Ao Pedro Ivo pelos anos de companheirismo, por toda ajuda e compreensão durante esta jornada. Aprendo muito com você e essa vitória é nossa!

À professora Dra. Maribel Navarro por me confiar este projeto, que me fez acreditar que eu sou capaz de grandes coisas. Obrigada pela orientação, confiança e apoio durante todo o doutorado.

Ao professor Dr. Arquímedes Karam pelos ensinamentos compartilhados ao longo dos anos de convivência no grupo de pesquisa.

Ao Dr. Diogo Rodrigues de Magalhães Moreira e seu grupo de pesquisa pelos muitos ensaios biológicos realizados.

Ao Dr. Bruno Pradines e seu grupo pelos ensaios *in vitro*.

À Camila Kauany e Maria Eduarda pelo apoio e amizade durante os momentos difíceis.

Ao Paulo Víctor por dividir um pouco do seu talento comigo, me ajudando com o graphical abstract do artigo.

À Jaqueline e ao Maurício pela ajuda ao longo do trabalho.

Aos colegas que passaram pelo LAQBIC pelos anos de convivência compartilhando um único objetivo: aprender! Aprendi algo com cada um de vocês.

Aos colegas do NUPEQ por toda ajuda e momentos de descontração durante os anos de convivência.

A dona Gleuza pelos momentos de convivência e pelas orações.

A todos os professores do departamento de Química que contribuíram de alguma forma para a minha formação.

Aos técnicos e funcionários do DQ por toda a ajuda e presteza durante os anos do meu doutoramento.

À UFJF, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que, de alguma forma, me ajudaram a chegar até aqui.

“Pra quem tem pensamento forte o impossível é só questão de opinião.”

(ABRÃO, CASTANHO, 2009)

RESUMO

A malária é um dos mais graves problemas de saúde pública no mundo, matando cerca de 435 mil pessoas em todo mundo a cada ano. Dessa forma, é necessária a busca por novas estratégias antimaláricas. Diante disso, neste trabalho é relatada a síntese de novos compostos, capazes de serem ativos contra cepas resistentes e, portanto, serem potencialmente utilizados na monoterapia da malária. Nesse sentido, foram descritas duas classes de novos complexos de ouro(I): os complexos metálicos híbridos e os complexos fosfínicos de ouro(I). Os híbridos de ouro(I) ($[\text{AuCQPQ}]\text{PF}_6$ (**1**), $[\text{AuCQPQ}]\text{NO}_3$ (**2**), $[\text{AuAQPP}]\text{PF}_6$ (**3**) e $[\text{AuAQPP}]\text{NO}_3$ (**4**)) foram obtidos empregando os precursores AuPQCl e $[\text{AuAQ}_2]\text{Cl}$ com o respectivo fármaco aminoquinolínico. Já os complexos fosfínicos de ouro(I) ($[\text{AuPQPPh}_3]\text{NO}_3$ (**8**), $[\text{AuPQPPh}_3]\text{PF}_6$ (**9**), $[\text{AuAQPPPh}_3]\text{NO}_3$ (**10**) e $[\text{AuAQPPPh}_3]\text{PF}_6$ (**11**)) foram alcançados por meio da reação entre o AuPPh_3 com os fármacos antimaláricos primaquina e amodiaquina. Todos os complexos metálicos foram caracterizados por meio de técnicas analíticas e espectroscópicas, que compreendem: espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho, espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-vis, análise elementar de C, H e N, RMN de ^1H , ^{13}C , COSY, DEPT 135, HMBC, HSQC, condutividade molar e ESI-MS. Os complexos híbridos pertencem a uma nova classe de compostos, onde uniu-se por meio do íon metálico ouro(I), dois fármacos que atuam em diferentes fases do ciclo do parasita (eritrocítico, sanguíneo e gametócitos), o que os torna potencialmente multi-fase. Cada componente da estrutura dos complexos híbridos de ouro(I) possui um potencial alvo biológico, o que também os torna promissores compostos multi-alvo. De fato, os resultados obtidos mostraram que os híbridos de ouro(I) exibiram uma interação reversível moderada com o DNA, que pode ser por intercalação ou interação com o sulco menor e também foram capazes de inibir a formação da β -hematina e a enzima TrxR, comprovando a capacidade multi-alvo dos híbridos **1** e **3**. Os complexos metálicos híbridos (**1** e **3**) tiveram sua atividade antimalárica determinada por estudos *in vitro*, frente as cepas de *P. falciparum* sensíveis (3D7) e resistentes (W2) a cloroquina, e também por meio de estudos *in vivo*. O composto que mais se destacou frente aos estudos realizados foi o híbrido **3**, que foi cerca de 100 vezes mais ativo que a cloroquina na cepa resistente. Os estudos *in vivo* constataram, que a utilização de complexos híbridos de ouro(I) pode ser melhor que a terapia combinada. Além disso, os compostos híbridos tiveram seu potencial multi-fase avaliado frente aos três estágios do ciclo do parasita (sanguíneo, hepático e dos gametócitos). Foi possível comprovar a ação multi-alvo e multi-fase dos híbridos **1** e **3**. Finalmente, os compostos fosfínicos de ouro(I) tiveram seu mecanismo de ação avaliado frente

a inibição da formação da β -hematina e observou-se que o composto **11** foi o que exibiu melhor capacidade de inibição.

Palavras-chave: Malária. Complexos de ouro(I). Híbridos metálicos. Complexos fosfínicos de ouro(I). Fármacos antimaláricos.

ABSTRACT

Malaria is still one of the most severe public health problems; it kills about 435,000 people around the world every year. Then, it is necessary to search for new antimalarial strategies. In view of that, in this work is reported the synthesis of new compounds, capable of being active against resistant strains, therefore, they can be used in malaria monotherapy. In this sense, two classes of new gold(I) complexes have been described: the gold(I) hybrids and the gold(I) phosphinic complexes. The gold(I) hybrids ([AuCQPQ]PF₆ (**1**), [AuCQPQ]NO₃ (**2**), [AuAQPQ]PF₆ (**3**) and [AuAQPQ]NO₃ (**4**)) were achieved using the precursors AuPQCl and [AuAQ₂]Cl with the respective aminoquinoline, while the phosphinic gold(I) compounds ([AuPQPPh₃]NO₃ (**8**), [AuPQPPh₃]PF₆ (**9**), [AuAQPPPh₃]NO₃ (**10**) and [AuAQPPPh₃]PF₆ (**11**)) were obtained from the reaction between the AuPPh₃ with the antimalarial drugs primaquine and amodiaquine. All of these compounds were characterized by analytical and spectroscopic techniques, such as vibrational absorption spectroscopy in the infrared region, electron absorption spectroscopy in the UV-vis region, elemental analysis, ¹H, ¹³C, ³¹P NMR, COSY, DEPT 135, HMBC, HSQC, molar conductivity and ESI-MS. The metal hybrid **1-4** belong to a new class of compounds, in which two drugs that acts in different phases of the parasite cycle (erythrocytic, blood and gametocytes) were coordinated to gold(I), which makes possible that this single molecule acts as multi-phase drug. Additionally, each component of this gold(I) hybrid is able to interact or inhibit essential malaria parasite targets, which also makes that compounds **1-4** being promising multi-targets compounds. In fact, the results obtained showing that gold(I) hybrids exhibited a moderate reversible interaction with DNA, that can be by intercalation or interaction with minor groove, and they were capable inhibit the β-haematin formation and the TrxR enzyme, proving the multi-target action of hybrids **1** and **3**. The antimalarial activity of hybrid **1** and **3** were determined on *in vitro* studies (against chloroquine sensitive (3D7) and resistant (W2) strains of *P. falciparum*) and on *in vivo* studies. Hybrid **3** stood out as the most active compound the series studied, it was about 100 times more active than chloroquine in resistant (W2) strains of *P. falciparum*. *In vivo* studies were observed that the use of gold(I) hybrid complexes may be better than combination therapy. Furthermore, the gold(I) hybrids had their multi-phase potential evaluated against the three stages of the parasite cycle (blood, liver and gametocytes). Finally, the gold(I) phosphinic compounds had their mechanism of action evaluated against the inhibition of β-hematin formation and it was observed that compound **11** showed the best inhibition capacity.

Keywords: Malaria. Gold(I) complexes. Metallic hybrids. Gold(I) phosphinic compounds. Antimalarial drugs.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Ciclo de vida do parasita da malária.....	26
Quadro 1	- Reagentes utilizados ao longo do trabalho.....	47
Figura 2	- Fármacos aminoquinolínicos.....	27
Figura 3	- Cisplatina e Auranofina.....	28
Figura 4	- Complexos metálicos derivados da cloroquina.....	28
Figura 5	- Complexos áuricos contendo cloroquina como ligante.....	29
Figura 6	- Representação da estrutura do DNA.....	30
Figura 7	- Exemplos de tipos de interação de complexos metálicos com o DNA.....	31
Figura 8	- Processo de degradação da hemoglobina e processo de desintoxicação do <i>Plasmodium</i>	32
Figura 9	- Estrutura da hemozoína/ β -hematina.....	33
Figura 10	- Relação estrutura-atividade proposta para a cloroquina.....	34
Figura 11	- Esquema do funcionamento do sistema tiorredoxina.....	36
Figura 12	- Esquema de híbridos derivados da cloroquina e primaquina.....	37
Figura 13	- Estrutura da trioxaquina.....	38
Figura 14	- Exemplos de híbridos quinolínicos.....	39
Figura 15	- Estrutura da trioxaferroquina.....	39
Figura 16	- Híbridos metálicos.....	40
Figura 17	- Estrutura do aurotiomalato.....	41
Figura 18	- Exemplos de complexos $[AuYPPH_3]$ e sua reação com tíóis biológicos.....	43
Figura 19	- Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho da cloroquina.....	65
Figura 20	- RMN de 1H da cloroquina em DMSO- d_6	66
Figura 21	- RMN de ^{13}C da cloroquina em DMSO- d_6	67
Figura 22	- Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho da primaquina.....	68
Figura 23	- RMN de 1H da primaquina em DMSO- d_6	69
Figura 24	- RMN de ^{13}C da primaquina em DMSO- d_6	69
Figura 25	- Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho da amodiaquina.....	70
Figura 26	- RMN de 1H da amodiaquina em DMSO- d_6	71

Figura 27	- RMN de ^{13}C da amodiaquina em DMSO- d_6	72
Figura 28	- RMN de ^1H do complexo 2 em DMSO- d_6	74
Figura 29	- Espectro de absorção vibracional na região do IV para a amodiaquina e o complexo 3	75
Figura 30	- Espectro Raman da amodiaquina e do complexo 3	76
Figura 31	- Espectro de RMN de ^1H do ligante amodiaquina e do complexo 3 em DMSO- d_6	77
Figura 32	- RMN de ^{13}C do complexo 3 e da amodiaquina em DMSO- d_6	78
Figura 33	- ^1H - ^{15}N HMBC para a amodiaquina em DMSO- d_6	79
Figura 34	- ^1H - ^{15}N HMBC para o complexo 3 em DMSO- d_6	79
Figura 35	- Estrutura proposta para o complexo 3	80
Figura 36	- Espectro de absorção vibracional na região do IV para o híbrido 1 e para os ligantes de origem.....	82
Figura 37	- Espectro de RMN de ^1H para o híbrido 1 e para os ligantes de origem em DMSO- d_6	83
Figura 38	- RMN de ^{13}C do híbrido 1 e dos fármacos de origem em DMSO- d_6	85
Figura 39	- Espectro de RMN de ^{31}P para o híbrido 1 em DMSO- d_6	85
Figura 40	- ^1H - ^{15}N HMBC para a cloroquina em DMSO- d_6	86
Figura 41	- ^1H - ^{15}N HMBC para a primaquina em DMSO- d_6	87
Figura 42	- ^1H - ^{15}N HMBC para o híbrido 1 em DMSO- d_6	87
Figura 43	- Espectro de massas do híbrido 1	88
Figura 44	- Estrutura proposta para o híbrido 1	89
Figura 45	- Espectro de absorção vibracional na região do IV para o híbrido 1 e os fármacos que o originam.....	90
Figura 46	- RMN de ^1H do híbrido 1 e dos fármacos que o constituem.....	91
Figura 47	- Comparação do RMN de ^1H dos híbridos 1 e 2 em DMSO- d_6	91
Figura 48	- RMN de ^{13}C do híbrido 2 em DMSO- d_6	93
Figura 49	- Comparação do RMN de ^{13}C dos híbridos 1 e 2 em DMSO- d_6	93
Figura 50	- Estrutura proposta para o híbrido 2	95
Figura 51	- Espectro de absorção vibracional na região do IV do híbrido 3 e dos fármacos de origem.....	96

Figura 52	-	Espectro de RMN de ^1H do híbrido 3 e dos fármacos de origem em DMSO- d_6	97
Figura 53	-	RMN de ^{13}C do híbrido 3 e dos fármacos de origem em DMSO- d_6	97
Figura 54	-	Espectro de RMN de ^{31}P do híbrido 3 em DMSO- d_6	100
Figura 55	-	^1H - ^{15}N HMBC do híbrido 3 em DMSO- d_6	101
Figura 56	-	Estrutura proposta para o híbrido 3	102
Figura 57	-	Infravermelho obtido para o híbrido 4 e para os fármacos amodiaquina e primaquina.....	103
Figura 58	-	RMN de ^1H do híbrido 4 e dos fármacos que o originam em DMSO- d_6	104
Figura 59	-	Avaliação da estabilidade do híbrido 1 por RMN de ^1H em DMSO- d_6	106
Figura 60	-	Avaliação da estabilidade do híbrido 1 em propilenoglicol por UV-vis.....	107
Figura 61	-	Avaliação da estabilidade do híbrido 1 em meio de cultura por UV-vis.....	107
Figura 62	-	Interação dos híbridos 1 e 3 com a ferriprotoporfirina.....	109
Figura 63	-	Avaliação da inibição da formação da β -hematina pelos híbridos 1(a) e 3(b)	111
Figura 64	-	Titulação espectroscópicas dos fármacos primaquina, amodiaquina, cloroquina, híbrido 1 e do híbrido 3 , respectivamente.....	113
Figura 65	-	Avaliação da viscosidade relativa do DNA para os compostos AQ, PQ, CQ, híbrido 1 e híbrido 3	115
Figura 66	-	Micrografia das células Huh-7.....	120
Figura 67	-	Resultado da quantificação das espécies de heme no sangue dos camundongos após eutanásia.....	121
Figura 68	-	Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho da primaquina e do complexo 8	125
Figura 69	-	Espectro de RMN de ^1H do complexo 8 e da primaquina em DMSO- d_6	126
Figura 70	-	Espectro de RMN de ^{31}P do complexo 8	127
Figura 71	-	Espectro de RMN de ^{13}C da primaquina e do complexo metálico $[\text{AuPQPPH}_3]\text{NO}_3$	128
Figura 72	-	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C do complexo 8	130
Figura 73	-	Espectro de massas do complexo 8	130
Figura 74	-	Estrutura proposta para o complexo 8	131

Figura 75	-	Espectro de absorção vibracional na região do IV para o complexo 9 , complexo 8 e primaquina.....	132
Figura 76	-	RMN de ^1H da primaquina e do complexo 9	133
Figura 77	-	COSY do complexo 9	134
Figura 78	-	Espectro de RMN de ^{13}C do complexo 8 , do complexo 9 e primaquina.....	134
Figura 79	-	Espectro de RMN de ^{31}P do complexo 9	136
Figura 80	-	Espectro de massas do complexo 9	136
Figura 81	-	Estrutura proposta para o complexo 9	137
Figura 82	-	Espectro de absorção vibracional na região do IV para a amodiaquina e o complexo 10	138
Figura 83	-	Espectro RAMAN da amodiaquina e do complexo 10	139
Figura 84	-	RMN de ^1H para o complexo 10 e para a amodiaquina em DMSO- d_6	140
Figura 85	-	RMN de ^{13}C para o complexo 10 e para a amodiaquina em DMSO- d_6	141
Figura 86	-	Expansão do RMN de ^{13}C para o complexo 10 em DMSO- d_6	141
Figura 87	-	Espectro de RMN de ^{31}P do complexo 10	143
Figura 88	-	Espectro de massas do complexo 10	143
Figura 89	-	Estrutura proposta para o complexo 10	144
Figura 90	-	Espectro de absorção vibracional na região do IV para o complexo 10 , complexo 11 e amodiaquina.....	145
Figura 91	-	RMN de ^1H da primaquina e do complexo 11	146
Figura 92	-	Espectro de RMN de ^{31}P do complexo 11	147
Figura 93	-	Espectro de massas do complexo 11	147
Figura 94	-	Interação dos complexos 10 e 11 com a ferriprotoporfirina.....	149
Figura 95	-	Avaliação da inibição da formação da β -hematina por meio dos complexos 8 , 9 , 10 e 11	150
Figura 96	-	Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo 3	162
3Figura 97	-	Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis para o híbrido 1 e para os ligantes de origem.....	162
Figura 98	-	Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis para o híbrido 3 e para os fármacos que o originam.....	163
Figura 99	-	Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo 8 e da primaquina.....	163

Figura 100	-	Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo 9 e da primaquina.....	164
Figura 101	-	Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo 10 e da amodiaquina.....	164
Figura 102	-	Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo 11 e da amodiaquina.....	165
Figura 103	-	Espectro de correlação homonuclear (COSY) da amodiaquina.....	166
Figura 104	-	Espectro de RMN HMBC da amodiaquina.....	166
Figura 105	-	Espectro de correlação homonuclear (COSY) da primaquina.....	167
Figura 106	-	Espectro de RMN DEPT 135 da primaquina (125 MHz).....	167
Figura 107	-	Espectro de RMN HMBC da primaquina.....	168
Figura 108	-	Espectro de correlação homonuclear (COSY) do complexo 3	168
Figura 109	-	Espectro de RMN DEPT 135 do complexo 3 (125 MHz).....	169
Figura 110	-	Espectro de RMN de HMBC do complexo 3	169
Figura 111	-	Espectro de RMN DEPT 135 do híbrido 1 (125 MHz).....	170
Figura 112	-	Espectro de RMN de HSQC do híbrido 1	170
Figura 113	-	Espectro de correlação homonuclear (COSY) do híbrido 3	171
Figura 114	-	Espectro de RMN HMBC do híbrido 3	171
Figura 115	-	Espectro de RMN DEPT 135 do híbrido 3 (125 MHz).....	172
Figura 116	-	Espectro de RMN HMBC do complexo 10	172
Figura 117	-	Avaliação da estabilidade do híbrido 3 por espectroscopia de RMN de ^1H (500 MHz).....	173
Figura 118	-	Artigo publicado durante o doutoramento.....	174

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	- Obtenção da cloroquina base livre.....	64
Esquema 2	- Obtenção da primaquina base livre.....	67
Esquema 3	- Obtenção da amodiaquina base livre.....	70
Esquema 4	- Síntese do complexo AuCITHT.....	73
Esquema 5	- Síntese do complexo 2	73
Esquema 6	- Síntese do complexo 3	74
Esquema 7	- Síntese do híbrido 1	81
Esquema 8	- Síntese do híbrido 2	89
Esquema 9	- Síntese do híbrido 3	95
Esquema 10	- Síntese do híbrido 4	102
Esquema 11	- Síntese do complexo 8	124
Esquema 12	- Obtenção do complexo 9	131
Esquema 13	- Síntese do complexo 10	137
Esquema 14	- Obtenção do complexo 11	144
Esquema 15	- Esquema de obtenção dos complexos fosfínicos.....	148

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Deslocamento químico do complexo 3 com relação a amodiaquina.....	77
Tabela 2	- Deslocamento de ^{15}N para o complexo 3 em comparação com a amodiaquina.....	80
Tabela 3	- Valores de deslocamento químico para o híbrido 1 em relação aos ligantes.....	84
Tabela 4	- Deslocamento de ^{15}N para o híbrido 1 em comparação com os ligantes.....	88
Tabela 5	- Valores dos deslocamentos químicos para o híbrido 2 comparado com os ligantes.....	92
Tabela 6	- Valores de deslocamento químico encontrados para o híbrido 2 e para os ligantes.....	94
Tabela 7	- Valores de deslocamento químico para o híbrido 3 e para os ligantes.....	98
Tabela 8	- Valores de deslocamento químico observados no ^1H - ^{15}N HMBC para o híbrido 3 e para os ligantes.....	99
Tabela 9	- Valores de deslocamento químico para o híbrido 4 e para os ligantes.....	101
Tabela 10	- Valores de Log K para os híbridos e para os fármacos.....	105
Tabela 11	- Valores para 50% de inibição da formação da β -hematina (IC_{50}) em meio reduzido e oxidado.....	109
Tabela 12	- Valores obtidos para a constante de interação composto-DNA.....	112
Tabela 13	- Valores para 50% de inibição da enzima tiorredoxina redutase.....	113
Tabela 14	- Atividade antiparasitária dos complexos frente ao <i>Plasmodium falciparum</i>	116
Tabela 15	- Resultados obtidos para os estudos <i>in vivo</i>	117
Tabela 16	- Concentração inibitória de 50% do crescimento parasitário de esporozoítos de <i>P. berghei</i> em células Huh-7.....	118
Tabela 17	- Atividade <i>in vitro</i> dos compostos contra gametócitos do estágio V de <i>Plasmodium falciparum</i> na cepa 3D7.....	119

Tabela 18	-	Valores de deslocamento químico para o complexo 8 comparado com a primaquina.....	122
Tabela 19	-	Valores de deslocamento químico no RMN de ^{13}C para o híbrido 8 e para os ligantes.....	126
Tabela 20	-	Valores dos deslocamentos químicos da primaquina e do complexo 9	129
Tabela 21	-	Valores dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C da primaquina e do complexo 9	133
Tabela 22	-	Valores de deslocamento químico para o complexo 10 comparado com a amodiaquina.....	135
Tabela 23	-	Valores dos deslocamentos químicos da amodiaquina e do complexo 10	140
Tabela 24	-	Valores dos deslocamentos químicos da amodiaquina e do complexo 11	142
Tabela 25	-	Valores de Log K e de hipocromismo obtidos para os complexos 10 , e 11	146
Tabela 26	-	Concentração necessária para 50% de inibição da formação da β -hematina.....	149

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACT	Terapia combinada a base de artemisinina
AQ	Amodiaquina
ART	Artemisinina
BL	Base livre
CQ	Cloroquina
CQDF	Difosfato de cloroquina
CT-DNA	Ácido desoxirribonucleico de timo de vitela
d	duplete
dd	Dupleto duplo
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DNA	Ácido desoxirribonucleico
Fe(III)PPIX	Ferriprotoporfirina IX
Hb	Hemoglobina
Hz	Hemozoína
IC ₅₀	Concentração inibitória de 50%
IV	Infravermelho
O-BHIA	Ensaio de inibição da formação da β-hematina em meio oxidado
OMS	Organização Mundial de Saúde
HPfTrxR	Enzima tiorredoxina redutase oriunda de humanos
PfTrxR	Enzima tiorredoxina redutase oriunda do <i>Plasmodium</i>
PPh ₃	Trifenilfosfina
PQ	Primaquina
PTA	1,3,5-triazafosfoadamantano
q	quarteto

R-BHIA	Ensaio de inibição da formação da β -hematina em meio reduzido
RMN	Ressonância magnética nuclear
RTS,S	Vacina RTS,S/AS01
s	simpleto
t	tripleto
Trx	Proteína tiorredoxina
TrxR	Enzima tiorredoxina redutase
THT	Tetrahidrotiofeno
UV-vis	Ultravioleta - visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	25
1.1	MALÁRIA.....	25
1.2	COMPLEXOS METÁLICOS COMO POSSÍVEIS ANTIMALÁRICOS.....	27
1.3	BIOMOLÉCULAS ESSENCIAIS PARA A SOBREVIVÊNCIA DO <i>PLASMODIUM</i>	30
1.3.1	DNA.....	30
1.3.2	Heme.....	32
1.3.3	Tiorredoxina redutase.....	35
1.4	HÍBRIDOS ORGÂNICOS.....	36
1.5	HÍBRIDOS METÁLICOS.....	39
1.6	ESCOLHA DO METAL.....	40
1.7	COMPLEXOS AU-FOSFÍNICOS COM FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS.....	42
1.8	ESTRATÉGIA.....	44
2	OBJETIVOS.....	45
2.1	OBJETIVO GERAL.....	45
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	45
3	PARTE EXPERIMENTAL.....	46
3.1	ATMOSFERA INERTE: ARGÔNIO.....	46
3.2	SOLVENTES.....	46
3.3	REAGENTES QUÍMICOS EM GERAL.....	46
3.3.1	Espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho.....	47
3.3.2	Espectroscopia vibracional de espalhamento Raman.....	47
3.3.3	Espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV- vis).....	47
3.3.4	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	48
3.3.5	Análise Elementar.....	48
3.3.6	Espectrometria de massas.....	48
3.3.7	Condutimetria.....	48
3.4	EXTRAÇÃO DOS LIGANTES.....	48
3.4.1	Obtenção da cloroquina base livre (CQ).....	49
3.4.2	Obtenção da primaquina base livre (PQ).....	49
3.4.3	Obtenção da amodiaquina base livre (AQ).....	49
3.5	SÍNTESE DOS COMPLEXOS ÁURICOS HÍBRIDOS E SEUS PRECURSORES.....	49
3.5.1	Síntese dos complexos precursores de ouro(I).....	50
3.5.1.1	Síntese do complexo AuCITHT (Complexo 1).....	50
3.5.1.2	Síntese do complexo AuCIPQ (Complexo 2)	50
3.5.1.3	Síntese do complexo [AuAQ ₂]Cl (Complexo 3)	50
3.5.2	Síntese dos complexos híbridos.....	51
3.5.2.1	Síntese do complexo [AuCQPQ]PF ₆ (Complexo 4 ou Híbrido 1).....	51

3.5.2.2	Síntese do complexo [AuCQPQ]NO ₃ (Complexo 5 ou Híbrido 2).....	52
3.5.2.3	Síntese do complexo [AuAQPQ]PF ₆ (Complexo 6 ou Híbrido 3)	52
3.5.2.4	Síntese do complexo [AuAQPQ]NO ₃ (Complexo 7 ou Híbrido 4)	53
3.6	SÍNTESE DOS COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE OURO(I) COM FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS (COMPLEXOS DE 8-11).....	53
3.6.1	[AuQPPh₃]NO₃ (Complexo 8).....	54
3.6.2	[AuQPPh₃]PF₆ (Complexo 9).....	54
3.6.3	[AuAQPPh₃]NO₃ (Complexo 10).....	55
3.6.4	[AuAQPPh₃]PF₆ (Complexo 11).....	56
3.7	INTERAÇÃO COM A FERRIPROTOPORFIRINA.....	56
3.8	INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DA β-HEMATINA.....	57
3.9	INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DA B-HEMATINA EM TAMPÃO.....	57
3.10	ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM O DNA.....	58
3.10.1	Preparo da solução de DNA.....	58
3.10.2	Titulação espectrofotométrica.....	58
3.10.3	Viscosidade.....	59
3.11	ENSAIOS BIOLÓGICOS IN VITRO E IN VIVO EM PARASITAS DO GÊNERO <i>PLASMODIUM</i>	59
3.12	ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA (CITOSTÁTICA)	59
3.13	CITOTOXICIDADE.....	60
3.14	ESTUDOS IN VIVO.....	60
3.15	ATIVIDADE FRENTE AO <i>P. BERGHEI</i> EM ESTÁGIO DE FÍGADO.....	60
3.16	MICROSCÓPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DE <i>P. BERGHEI</i> EM ESTÁGIO DE FÍGADO.....	61
3.17	INIBIÇÃO DA BIOSÍNTESE DA HEMOZOÍNA.....	61
3.18	INIBIÇÃO DA ENZIMA TIORREDOXINA REDUTASE.....	62
3.19	ATIVIDADE IN VITRO DOS COMPOSTOS CONTRA GAMETÓCITOS DO ESTÁGIO V DE <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i> DA CEPA 3D7.....	62
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
4.1	LIGANTES.....	64
4.1.1	Cloroquina.....	64
4.1.2	Primaquina.....	67
4.1.3	Amodiaquina.....	70
4.2	COMPLEXOS METÁLICOS HÍBRIDOS E COMPLEXOS METÁLICOS PRECURSORES DOS HÍBRIDOS.....	72
4.2.1	Complexos metálicos precursores.....	72
4.2.1.1	Complexo 1.....	72
4.2.1.2	Complexo 2.....	73
4.2.1.3	Complexo 3.....	74
4.2.2	Complexos metálicos híbridos.....	80
4.2.2.1	Híbrido 1.....	81
4.2.2.2	Híbrido 2.....	89
4.2.2.3	Híbrido 3.....	95

4.2.2.4	Híbrido 4.....	102
4.2.2.5	Avaliação da estabilidade dos híbridos áuricos.....	105
4.2.3	Avaliação da interação dos híbridos áuricos com a ferriprotoporfirina.....	107
4.2.4	Estudo da inibição da formação da β-hematina pelos híbridos metálicos.....	110
4.2.5	Inibição da formação da β-hematina em tampão.....	112
4.2.6	Titulação espectrofotométrica com o DNA.....	112
4.2.7	Viscosidade.....	113
4.3	INIBIÇÃO DA ENZIMA TIORREDOXINA REDUTASE.....	115
4.4	ESTUDOS <i>IN VITRO</i>	116
4.5	ESTUDOS <i>IN VIVO</i>	117
4.6	ATIVIDADE FRENTE AO <i>P. BERGHEI</i> EM ESTÁGIO DE FÍGADO.....	119
4.7	MICROSCÓPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DE <i>P. BERGHEI</i> EM ESTÁGIO DE FÍGADO.....	119
4.8	INIBIÇÃO DA BIOSÍNTESE DA HEMOZOÍNA.....	120
4.9	ATIVIDADE <i>IN VITRO</i> DOS COMPOSTOS CONTRA GAMETÓCITOS DO ESTÁGIO V DE <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i> DA CEPA 3D7.....	121
5	COMPLEXOS FOSFÍNICOS.....	123
5.1	COMPLEXO 8.....	124
5.2	COMPLEXO 9.....	131
5.3	COMPLEXO 10.....	137
5.4	COMPLEXO 11.....	144
5.5	AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DOS COMPLEXOS FOSFÍNICOS COM A FERRIPROTOPORFIRINA.....	148
5.6	AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DA β -HEMATINA.....	150
5.7	INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DA β -HEMATINA EM TAMPÃO.....	151
6	CONCLUSÕES.....	152
	REFERÊNCIAS.....	155
	APÊNDICE A.....	162
	APÊNDICE B.....	166
	APÊNDICE C.....	173
	APÊNDICE D.....	174

1 INTRODUÇÃO

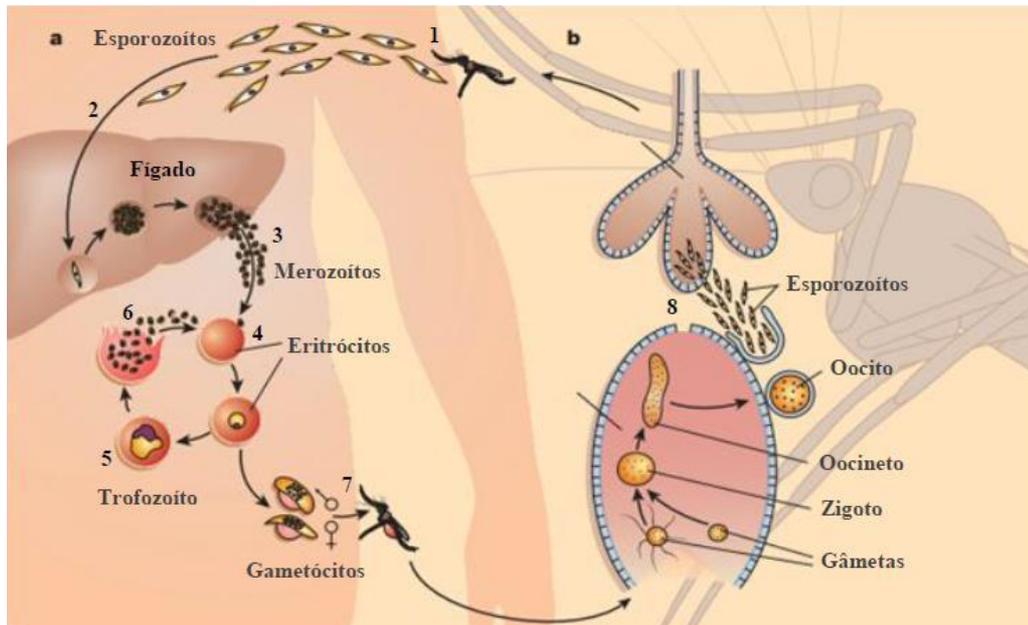
Ao longo deste tópico serão descritos os seguintes temas: Malária, complexos metálicos como possíveis antimaláricos, biomoléculas essenciais para a sobrevivência do *plasmodium*, híbridos orgânicos, híbridos metálicos, escolha do metal, complexos Au-fosfínicos com fármacos antimaláricos e estratégia.

1.1 MALÁRIA

A Malária é uma doença parasitária que pode ser causada por cinco protozoários do gênero *Plasmodium*: *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. knowlesi*. Dentre eles o *P. falciparum* é considerado o responsável pela maioria das mortes. Tal parasita é transmitido pela picada de mosquitos do gênero *Anopheles* infectados com o *Plasmodium* (BIOT et al., 2012). Ao entrar na corrente sanguínea se inicia um ciclo assexuado (Figura 1) do parasita, no qual o parasita inicialmente se encontra na forma de esporozoítos que circulam pelo sangue e invadem os hepatócitos, onde se multiplicam dando origem aos merozoítos (WHITE et al., 2014).

Os merozoítos infectam os glóbulos vermelhos, e se multiplicam até que ocorra a ruptura dos eritrócitos, liberando na corrente sanguínea os merozoítos que irão infectar novas células. Durante o processo de multiplicação parasitária dentro das hemácias também são formados os gametócitos, formas sexuais que são captados pelo mosquito, onde passarão por um ciclo de vida sexuado. Tal ciclo termina com a migração dos parasitas para as glândulas salivares do mosquito, onde aguardarão a inoculação na próxima alimentação do vetor (WHITE et al., 2014).

Figura 1 - Ciclo de vida do parasita da malária.



Fonte: MIRANDA (2011).

De acordo com estimativas mais recentes da organização mundial de saúde (OMS) em 2020 ocorreram cerca de 241 milhões de casos de malária em todo o mundo, e o número estimado de mortes foi de 627 mil (WHO). Mais especificamente, no caso do Brasil, a malária é uma das mais relevantes doenças infecciosas. No ano de 2019 foram registrados mais de 153 mil casos e 37 mortes no país. A maioria dos casos registrados no Brasil ocorre na bacia amazônica e o *P. vivax* é a espécie causadora da malária dominante na região (MAIA *et al.*, 2021; LANA *et al.*, 2021).

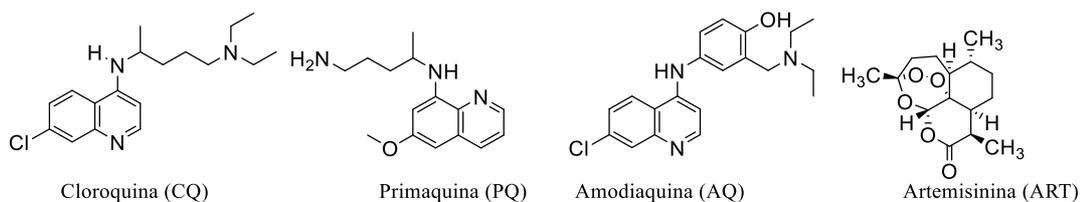
Nesse contexto algumas estratégias para controlar a doença são o uso de inseticidas (por pulverização ou em redes tratadas com os mesmos) e a possibilidade da descoberta de vacinas. No caso dos inseticidas, já existem relatos de resistência pelo mosquito *Anopheles* (WHO). Já no tocante as vacinas, a organização mundial da saúde recomendou o uso da vacina RTS,S/AS01(RTS,S) em crianças residentes em regiões que apresentam transmissão moderada a alta. A RTS,S apresentou redução de 40% nos casos de malária e de 30% do desenvolvimento da forma severa da doença em crianças com idade para se vacinar (WHO), o que significa um grande avanço no combate à malária, porém indica que ainda são necessárias novas ferramentas para o combate a malária.

Com relação ao tratamento da malária, um medicamento que foi muito utilizado e considerado um dos mais bem-sucedidos devido ao seu baixo custo, alta eficácia e ausência de

efeitos colaterais significativos foi a cloroquina (CQ) (Figura 2). No entanto, após anos de uso, os parasitas se tornaram resistentes à CQ, o que limitou sua utilização (NAVARRO *et al*, 2010).

Outro fármaco empregado no tratamento da malária é a amodiaquina (AQ) (Figura 2), que pertence à classe das 4-aminoquinolinas e apresenta estrutura relacionada a cloroquina. Este medicamento é eficaz contra *P. falciparum* com baixo nível de resistência a cloroquina, mas ineficaz contra cepas altamente resistentes (SCHLITZE, 2007; MOLTA *et al.*, 2003). Em adição, a primaquina (PQ) (Figura 2) também é utilizada no tratamento da malária, esta pertence à classe das 8-aminoquinolinas e é ativa contra todas as espécies de *Plasmodium* em desenvolvimento no fígado e frente a gametócitos de *P. vivax* e *falciparum* (NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING AND MEDICINE - NAS).

Figura 2 - Fármacos empregados no tratamento da malária.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

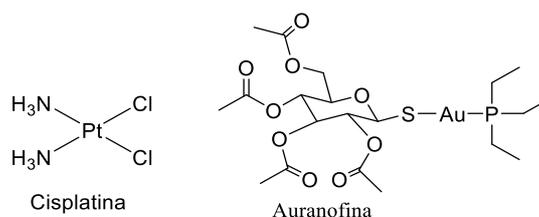
Atualmente o melhor tratamento para a malária, especialmente a causada por *P. falciparum*, é a terapia combinada a base de artemisinina (ACT) (WHO), que consiste no uso combinado da artemisinina (ART, Figura 2) ou um de seus derivados, com um ou mais fármacos antimaláricos e os componentes desta combinação possuem mecanismo de ação diferentes (ARYA *et al.*, 2021). No entanto, a utilização de mais de um medicamento em conjunto (coquetel), apresenta algumas desvantagens como má adesão do paciente e a possibilidade de interações medicamentosas que podem causar efeitos colaterais (BANSAL, SILAKARI, 2014). Portanto, torna-se necessário buscar novos medicamentos que possam ser efetivos contra o parasita em cepas sensíveis e resistentes, e superar os inconvenientes relacionados ao uso de coquetéis.

1.2 COMPLEXOS METÁLICOS COMO POSSÍVEIS ANTIMALÁRICOS

Uma alternativa para a obtenção de substâncias que possam agir eficazmente tanto em parasitas sensíveis quanto em parasitas resistentes aos medicamentos utilizados no tratamento

da malária, além de se evitar o uso de coquetéis, é a síntese de complexos metálicos, uma vez que existem metalofármacos utilizados no tratamento clínico de doenças como por exemplo no tratamento do câncer (cisplatina) (DASARI; TCHOUNWOU, 2014) e artrite reumatoide (auranofina) (FARRELL, 1989). Os mesmos estão representados na Figura 3.

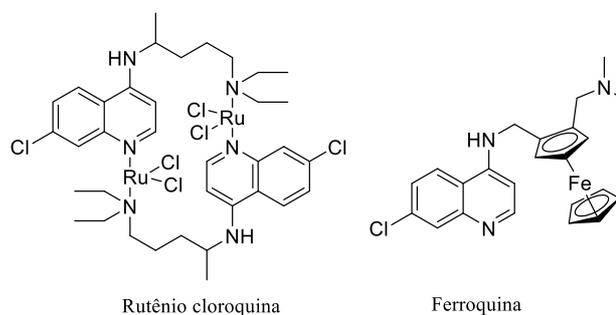
Figura 3 - Cisplatina e Auranofina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Em relação a malária, já existem complexos metálicos com excelente atividade em parasitas. Inclusive, o sinergismo metal-fármaco é uma estratégia bastante utilizada e que tem se mostrado bem-sucedida na busca por possíveis agentes antimaláricos metálicos. Na Figura 4, nós temos representados dois complexos derivados da cloroquina contendo ferro(II) e outro de rutênio(II). O complexo de ferro é também conhecido como ferroquina, e é o único complexo organometálico que está em fase de testes clínicos (fase II). Com respeito ao complexo de rutênio(II), este foi um dos primeiros complexos metálicos avaliados frente ao *Plasmodium* e foi bastante efetivo frente a cepas resistentes ao *P. falciparum* (FcB1 e FcB2), tendo sido cerca de quatro vezes mais ativo que a cloroquina na FcB1 (BIOT *et al.*, 2012).

Figura 4 - Complexos metálicos derivados da cloroquina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

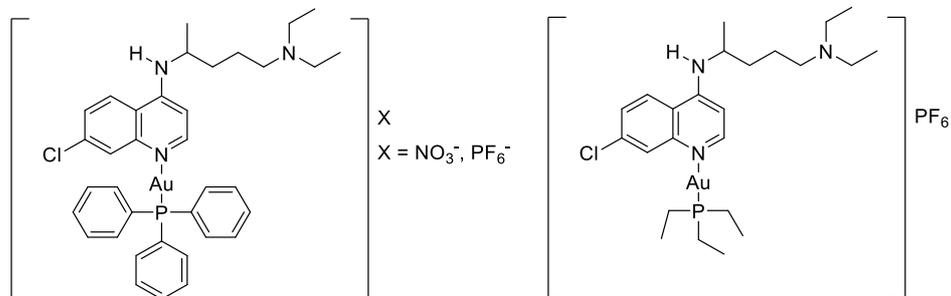
Além dos complexos metálicos mencionados, também foram sintetizados complexos de ouro(I) contendo a cloroquina como ligante, na Figura 5 é possível observar a estrutura de três

destes. Os complexos áuricos foram testados nas cepas FcB1, W2 e K1, que são resistentes a cloroquina e na cepa F32, sensível a CQ (NAVARRO et al., 2004; NAVARRO, 2009).

Dentre estes, o complexo $[\text{AuCQPPH}_3]\text{NO}_3$ foi mais ativo que a cloroquina difosfato em todas as cepas resistentes e apresentou o mesmo valor que esta droga na cepa sensível, já no caso do complexo áurico $[\text{AuCQPEt}_3]\text{PF}_6$ ressalta-se sua atividade frente a cepa FcB1, onde o $[\text{AuCQPEt}_3]\text{PF}_6$ foi cinco vezes mais ativo que a cloroquina difosfato (NAVARRO et al., 2004).

Por fim, com relação aos complexos ouro(I) citados, destaca-se o complexo $[\text{AuCQPPH}_3]\text{PF}_6$, que inibiu o crescimento *in vitro* do *P. berghei* e foi cerca de cinco a dez vezes mais efetivo que a cloroquina difosfato nas cepas resistentes FcB1 e FcB2. No modelo em camundongos, o complexo áurico foi capaz de aumentar a susceptibilidade do *P. berghei* a cloroquina. Adicionalmente, glóbulos vermelhos não infectados foram pré-incubados com tal complexo metálico, o que impediu que os eritrócitos fossem infectados por parasitas, demonstrando a capacidade do complexo $[\text{AuCQPPH}_3]\text{PF}_6$ de proteger as hemácias de uma infecção subsequente (NAVARRO, 2009).

Figura 5 - Complexos áuricos contendo cloroquina como ligante.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Além dos complexos metálicos mostrados existem complexo contendo outros metais em sua estrutura que apresentaram boa atividade antimalárica (NAVARRO *et al.*, 2014; NAVARRO, PEKERAR, PÉREZ, 2004; MACEDO *et al.*, 2017; MACEDO *et al.*, 2016). Desse modo com base nos resultados mostrados nota-se a eficácia dos complexos metálicos frente ao parasita causador da malária e pode-se concluir que tal estratégia é promissora.

1.3 BIOMOLÉCULAS ESSENCIAIS PARA A SOBREVIVÊNCIA DO *PLASMODIUM*

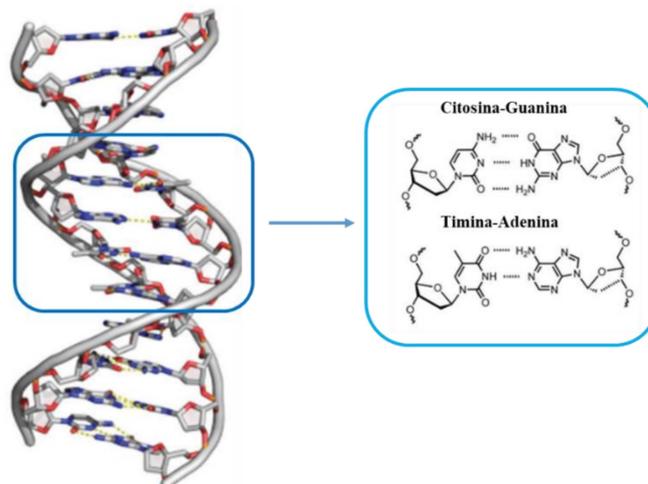
Ao longo deste subtópico serão relatadas as seguintes biomoléculas: DNA, Heme e enzima tiorredoxina redutase.

1.3.1 DNA

O DNA (Figura 6) é uma macromolécula em forma de dupla hélice, que é composta por blocos repetitivos, formados por uma base nitrogenada, um grupo fosfato e uma molécula de 2'-desoxi-D-ribose. As bases nitrogenadas são divididas em púricas e pirimídicas, sendo as púricas a guanina (G) e a adenina (A), e as pirimídicas a citosina (C) e a timina (T). A forma de dupla hélice é mantida por ligações de hidrogênio entre as bases complementares de fitas opostas (FONTES, ALMEIDA, 1997).

Esta biomolécula apresenta uma estrutura rica em possibilidades de interação com íon e complexos metálicos, uma vez que, em sua estrutura apresenta grupos fosfato ricos em elétrons, heteroátomos doadores em suas nucleobases e estruturas secundárias e terciárias intrincadas que formam ambientes de ligação (KELLETT *et al.*, 2019). Existem dois tipos de interação com o DNA, que são divididos em covalentes e não covalentes. As interações não covalentes podem ser: eletrostática, intercalação, interação de hidrogênio e interação com os sulcos (PAGES *et al.*, 2015).

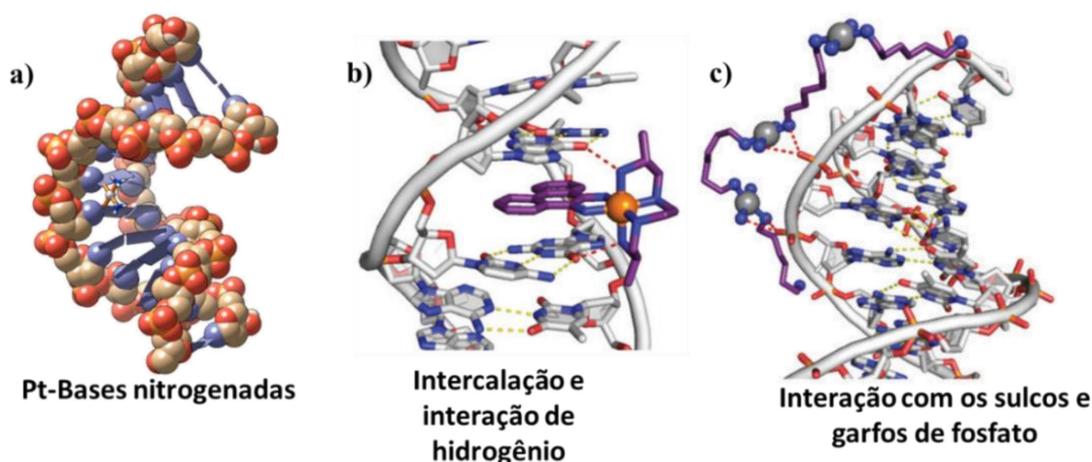
Figura 6 - Representação da estrutura do DNA.



Fonte: Adaptado de KELLETT *et al.*; 2019.

Na Figura 7, encontram-se alguns exemplos de interação com o DNA. Na Figura 7a é possível visualizar a interação covalente da cisplatina com o DNA por meio de suas bases nitrogenadas (DEO *et al.*; 2016), em 7b notam-se as interações intercalação e interação de hidrogênio, e finalmente em 7c estão presentes as interações com os sulcos e os chamados garfos de fosfato, que são estruturas cíclicas formadas por interações de hidrogênio entre um átomo de oxigênio de um grupo fosfato com dois átomos distintos de nitrogênio provenientes de grupos amino ligados a um único átomo de platina (KELLETT *et al.*, 2019) (ROSA *et al.*; 2019). Como é possível concluir, com base na análise da Figura 7, um único complexo metálico pode apresentar mais de um tipo de interação com o DNA.

Figura 7 - Exemplos de tipos de interação de complexos metálicos com o DNA.



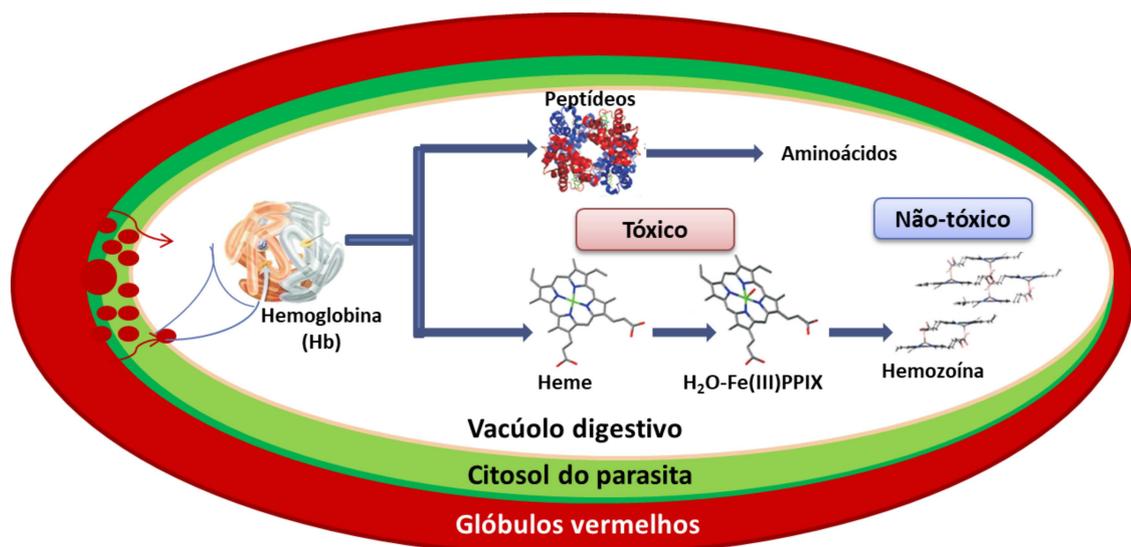
Fonte: Adaptado de DEO *et al.* (2016); KELLETT *et al.* (2019).

Em adição, existem relatos de complexos metálicos contendo a cloroquina em sua estrutura que apresentam interação com o DNA e boa atividade antimalárica como no trabalho do grupo de Batista, onde foi possível classificar o tipo de interação entre complexos de Ru(II) com a biomolécula relatada, como intercalativa tal como a cloroquina livre (COLINA-VEGAS *et al.*, 2015). Também foi relatado pelos grupos de Navarro e Sanchez-Delgado, um complexo de ouro(I) com excelente atividade frente a cepas resistentes a cloroquina e que apresentou interação com o DNA semelhante a cloroquina, do tipo intercalação e eletrostática (NAVARRO *et al.*; 2011; NAVARRO, PÉREZ, SÁNCHEZ DELGADO, 1997). Desse modo, o DNA torna-se um alvo importante para os nossos complexos metálicos e ao longo desse trabalho será descrita a avaliação da interação destes com o DNA.

1.3.2 Heme

Outro importante alvo para compostos com possível atividade antimalárica é o grupo heme, uma vez que, dentro dos glóbulos vermelhos o *Plasmodium* digere grande parte da hemoglobina, liberando o grupo heme ou ferriprotoporfirina (IX) e o centro de ferro deste composto é oxidado, provavelmente por auto-oxidação com O_2 produzindo a aquaferriprotoporfirina (IX) ou hematina. O grupo heme é tóxico para o parasita e como forma de evitar sua morte, o parasita desenvolveu um mecanismo de desintoxicação, por meio do qual a hematina é convertida em hemozoína, que não é tóxica ao parasita (Figura 8) (BIOT et al., 2012).

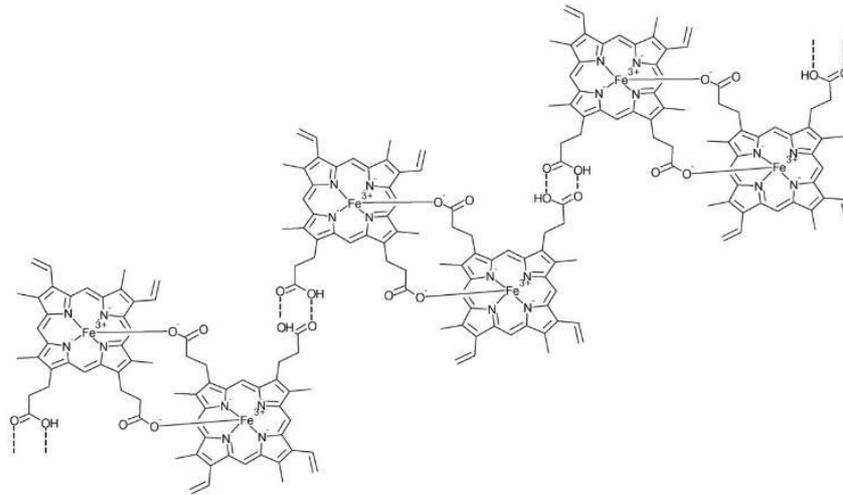
Figura 8 - Processo de degradação da hemoglobina e processo de desintoxicação do *Plasmodium*.



Fonte: Adaptado de NAVARRO, CASTRO, BIOT (2012).

A hemozoína apresenta o análogo sintético (β -hematina), que é quimicamente, espectroscopicamente e cristalograficamente idêntico. Sendo constituídos por dímeros de ferriprotoporfirina (Fe(III)PPIX), onde o grupo propionato de uma molécula de Fe(III)PPIX se coordena ao ferro da outra. Estes dímeros são unidos por meio de ligações de hidrogênio entre os grupos propiônicos das porfirinas, como é possível visualizar na Figura 9 (PAGOLA et al., 2000).

Figura 9 - Estrutura da hemozoína/ β -hematina.



Fonte: EGAN, 2008.

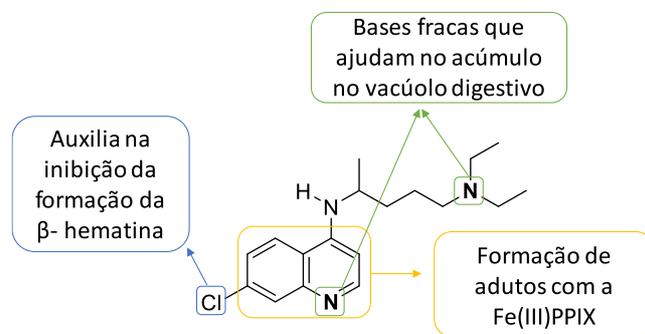
Apesar de possuir estrutura bem determinada, o mecanismo de formação da hemozoína *in vivo* ainda não é completamente elucidado. Entretanto, existem algumas propostas, como por exemplo, a de que lipídeos ou proteínas medeiam a formação deste dímero. Existem relatos que apoiam a hipótese de biocristalização da hemozoína mediada por lipídeos, tais como, lipídeos terem a capacidade de produzir a β -hematina *in vitro* sob condições biomiméticas aquosas, mesmo na ausência de proteínas e o fato de cristais de hemozoína terem sido encontrados próximos a superfícies lipídicas em *P. falciparum* (KUTER *et al.*, 2016).

Com relação a biomineralização mediada por proteínas, Matz e colaboradores mostraram que os parasitas do gênero *Plasmodium* secretam e internalizam uma proteína semelhante a lipocalina, chamada PV5, e que os parasitas com deficiência da PV5 geram menos hemozoína. Além disso, também se observou que tal desregulação tornou o *P. berghei* mais sensível aos medicamentos cloroquina, artesunato e atovaquona, o que ocasionou uma maior liberação do parasita após o tratamento com os fármacos (MARTZ *et al.*, 2020). Porém, a formação da hemozoína e a importância de proteínas e lipídeos nesse processo ainda precisa ser completamente esclarecida (DE VILLIERS, EGAN, 2021).

O mecanismo de ação mais aceito para a cloroquina e para alguns outros antimaláricos quinolínicos, como por exemplo amodiaquina e mefloquina, é a inibição da formação da hemozoína (EGAN, 2003). Não se sabe ao certo como essas drogas inibem a formação da hemozoína, mas uma hipótese é da formação de complexos com a hematina, por meio de interações do tipo π - π , impedindo então que esta seja convertida em hemozoína (EGAN *et al.*, 2000) (DORN *et al.*, 1998).

Egan e colaboradores propuseram uma relação estrutura-atividade para a cloroquina (Figura 10), onde relataram que o grupo 4-aminoquinolína é importante para a formação de adutos entre esta droga e a ferriprotoporfirina, porém não é responsável pela inibição da hemozoína. Já o grupo 7-cloro é responsável pela inibição da formação da hemozoína, mas provavelmente possui pouca influência na interação com a Fe(III)PPIX e por fim, o grupo aminoalquil possui grande relevância para a atividade frente ao *Plasmodium*, pois provavelmente auxilia no acúmulo do fármaco no vacúolo digestivo (EGAN et al., 2000). Tal relação é importante para o desenho racional de novos possíveis antimaláricos.

Figura 10 - Relação estrutura-atividade proposta para a cloroquina.



Fonte: Adaptado de EGAN, 2000.

Além dos fármacos aminoquinolínicos mencionados, que apresentam interação com a hematina e inibem a formação da hemozoína, existem complexos metálicos derivados da cloroquina, que também possuem a capacidade de inibir a formação da β-hematina como um de seus possíveis alvos. Um exemplo é o trabalho de Navarro e colaboradores, onde foram relatados complexos de Pt(II), Pd(II) e Au(I) com atividade antiplasmódica aumentada com relação a cloroquina, o que foi sugerido estar relacionado a capacidade dos complexos metálicos de inibir a formação da β-hematina (NAVARRO et al., 2014).

Outro exemplo interessante é reportado pela grupo liderado por Sánchez Delgado, onde é feita a avaliação do mecanismo de ação de um dímero de rutênio(II) e sugere-se que este atue principalmente por meio da inibição da formação da β-hematina (MARTÍNEZ et al., 2008). Logo, o grupo heme é um alvo muito importante para compostos com possível atividade antimalárica e será estudada a importância deste para o mecanismo de ação dos complexos metálicos híbridos descritos neste texto.

1.3.3 Tiorredoxina redutase

O sistema tiorredoxina é composto pela proteína tiorredoxina (Trx), pela enzima tiorredoxina redutase (TrxR) e NADPH como doador de elétrons. Este sistema é responsável por prevenir o estresse oxidativo e nitrosativo, bem como por outras funções biológicas, como por exemplo, proliferação celular, angiogênese, proteção de células contra a apoptose e atividade frente a fatores de transcrição (BRANCO, CARVALHO, 2018).

Em seres humanos existem três isoformas de tiorredoxina redutase: TrxR1, TrxR2 e TrxR3, que se localizam no citosol, mitocôndria e núcleo, respectivamente (JASTRZĄB, SKRZYDLEWSKA, 2021). As isoformas TrxR1 e TrxR2 de mamíferos possuem resíduos de selenocisteína no seu sítio ativo e ambas atuam na regulação do estado redox celular. A inibição desta enzima é correlacionada ao aumento da apoptose de células cancerígenas, o que torna a TrxR um alvo a ser considerado para o desenho de possíveis novos anticancerígenos (BERNERS-PRICE, FILIPOVSKA, 2011).

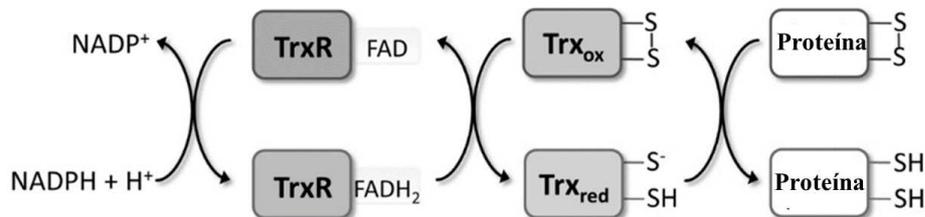
Além de ser um importante alvo para compostos empregados na quimioterapia do câncer, a tiorredoxina também apresenta extrema relevância em doenças causadas por bactérias, como por exemplo, frente ao patógeno *Staphylococcus aureus*, onde é crucial para a sua sobrevivência (LIAO et al.; 2017) e no caso da malária, em que de modo semelhante, a TrxR é essencial para a sobrevivência do *Plasmodium falciparum*, que é o responsável pela forma mais severa e letal da doença (FRITZ-WOLF et al., 2013).

A tiorredoxina redutase presente no *Plasmodium* (PfTrxR), apresenta em sua estrutura duas cisteínas na região do carbono terminal, o que a difere da enzima humana. Esta enzima é muito importante para manter a defesa antioxidante do *P. falciparum*, uma vez que, o *P. falciparum* não possui as enzimas catalase e glutatona peroxidase. Além disso, é especialmente importante para o estágio eritrocítico, já que, nas hemácias infectadas ocorre a digestão da hemoglobina, ocasionando a formação de ânions superóxido, que são reduzidos a H_2O_2 e posteriormente convertidos em água por meio da PfTrxR (JOARDAR, BABU, 2020).

Na Figura 11, encontra-se uma representação do funcionamento do sistema tiorredoxina, onde a PfTrxR, que possui três centros redox: o grupo prostético FAD e dois centros redox contendo cisteína, reduz a proteína tiorredoxina. Esta proteína é um doador de elétrons para alvos de proteínas vitais, porém, tal processo é dependente da redução de sua redução. Inicialmente ocorre a redução da TrxR por meio da transferência de elétrons do NADPH via FAD para a enzima, que por sua vez reduz a Trx (FRITZ-WOLF et al., 2013).

Uma vez reduzida, esta proteína sulfurada é capaz de reduzir várias outras proteínas, como por exemplo, a ribonucleotídeo redutase, a tiorredoxina peroxidase e a metionina sulfóxido redutase (MCCARTY *et al.*, 2015).

Figura 11 - Esquema do funcionamento do sistema tiorredoxina.



Fonte: JORTZIK, BECKER (2012).

Portanto, a TrxR pode ser considerada um alvo extremamente importante para possíveis novos antimaláricos. Neste contexto, o ouro foi escolhido para ser o metal empregado na síntese dos complexos metálicos propostos ao longo deste trabalho, uma vez que, estes têm se mostrado inibidores efetivos da enzima mencionada. Inclusive, os fármacos antiartríticos auranofina, ourotiomalato e ourotioglucose são um bom exemplo de compostos de ouro(I) capazes de inibir a TrxR (BERNERS-PRICE, FILIPOVSKA, 2011; CHUPAKHIN, KRAVASIN, 2021). Além de ser um potente inibidor da tiorredoxina redutase, a auranofina também apresentou atividade antimalárica, tendo ocasionado a apoptose dos glóbulos vermelhos que se encontram parasitados (SSEMAGANDA *et al.*, 2017).

1.4 HÍBRIDOS ORGÂNICOS

Outra alternativa para superar os inconvenientes relacionados ao uso de coquetéis é a obtenção de compostos híbridos, que são definidos como a combinação de dois ou mais farmacóforos, que são unidos por meio de um conector, em uma mesma molécula. A obtenção de híbridos pode apresentar algumas vantagens frente a utilização combinado de medicamentos, como por exemplo:

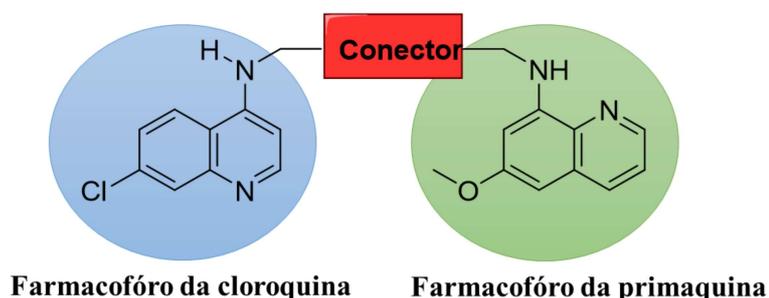
- a) Sinergismo: potencial sinergismo das ações terapêuticas dos componentes do híbrido;

- b) Solubilidade: se um dos componentes do híbrido possuir uma melhor solubilidade, este pode melhorar a biodisponibilidade da molécula híbrida. Além disso, a solubilidade da molécula pode ser melhorada por meio da utilização de conectores adequados;
- c) Resistência: acredita-se que a utilização de híbridos poderia diminuir a chance de desenvolvimento de resistência, devido a proteção mútua dos farmacóforos;
- d) Estratégia multi-estágio: descreve a possibilidade de obtenção de uma droga capaz de agir em diferentes estágios do ciclo de vida do parasita (AGARWAL, GUPTA, AWASTHI, 2017; TIBON, NG, CHEONG, 2020).

Nesse contexto, de estratégia multi-estágio acredita-se que para uma eliminação completa e eficaz do parasita, um composto deve ser ativo nos três estágios do ciclo de vida do parasita no organismo humano. Sendo eles no fígado, onde pode ocorrer uma redução no progresso da infecção; no sanguíneo, podendo ocorrer a cura dos sintomas clínicos e nos gametócitos, atuando como um possível profilático (LÖDIGE, HIERSCH, 2015).

No trabalho de Lödige e Hiersch, foram sintetizados compostos híbridos contendo em sua estrutura os farmacóforos da cloroquina e da primaquina com diferentes conectores (Figura 12). Os híbridos obtidos neste trabalho apresentaram de boa a excelente atividade biológica nos três estágios do parasita nos seres humanos, tendo sido, inclusive, melhores que a combinação das drogas que os originam (LÖDIGE, HIERSCH, 2015).

Figura 12 - Esquema de híbridos derivados da cloroquina e primaquina.

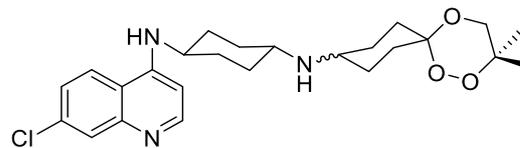


Fonte: LÖDIGE, HIERSCH, 2015.

Um outro híbrido que foi considerado promissor foi relatado pelo grupo de Meunier, que contém em sua estrutura os farmacóforos 1,2,4-trixano e 4-aminoquinolina, que estão presentes na estrutura dos fármacos artemisinina e cloroquina, respectivamente (BELLOT *et al.*, 2010). Este composto foi chamado de trioxaquina (PA1103/SAR116242) (Figura 13) e em

parceria com a Sanofi-Aventis foi o primeiro híbrido a alcançar testes clínicos. Tal híbrido foi equipotente a artemisinina em cepas de *P. falciparum* resistentes e sensíveis a cloroquina, curou 100 % dos camundongos em baixa concentração quando administrado oralmente (UDDIN *et al.*, 2020). Além disso, não foram observados efeitos desfavoráveis relacionados ao uso do composto. No entanto, não seguiu adiante em sua avaliação pré-clínica (AGARWAL, GUPTA, AWASTHI, 2017).

Figura 13 - Estrutura da trioxaquina.

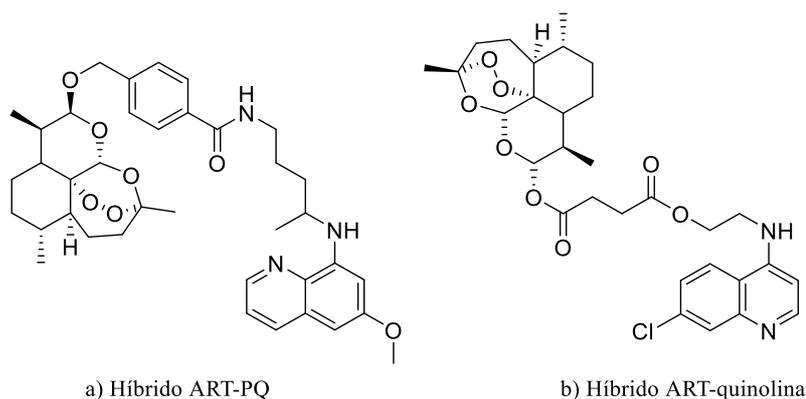


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Nos últimos anos o conceito de hibridação vem ganhando força e muitos híbridos vêm sendo sintetizados, dentre estes uma importante classe de híbridos é a dos quinolínicos. Tal classe é composta por um farmacóforo presente na estrutura de uma aminoquinolina, como por exemplo cloroquina, mefloquina e quinina, conectado a um farmacóforo característico de um outro fármaco (HU *et al.*, 2017).

Na Figura 14, encontram-se alguns exemplos de híbridos quinolínicos, onde em 14a observa-se um híbrido contendo os farmacóforos da primaquina e da artemisinina, o qual foi, respectivamente, 1,6 e 647 vezes mais potente que ambas as drogas contra a cepa de estágio sanguíneo resistente a cloroquina (CQR) W2 e 111 e 114 vezes mais potente que a primaquina e que uma mistura 1:1 PQ:ART na cepa de *P. berguei* presente no estágio do fígado (Hu *et al.*, 2017). Por fim, em 14b tem-se representada a estrutura de um dos 17 híbridos pertencentes as classes ART-quinolina e ART-isoquinolina sintetizados por Çapcı e colaboradores. Este composto foi um dos mais potentes contra *P. falciparum* e demonstrou eficácia superior ao fármaco artesunato em camundongos infectados por *P. berghei*, tendo sua eficácia comparável apenas a terapia combinada a base de artemisinina. A excelente atividade do híbrido é explicada pelo fato deste combinar as características das quinolinas (inibição potente da hemozoína) e das artemisininas (eliminação rápida do parasita) (Çapcı *et al.*, 2019).

Figura 14 - Exemplos de híbridos quinolínicos.



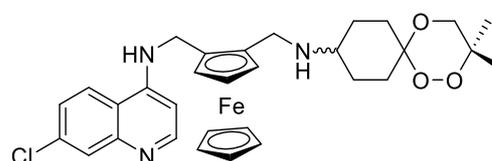
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Assim sendo, como é possível concluir com base nos exemplos acima, a síntese de compostos híbridos possui grande relevância na quimioterapia da malária. Entretanto, o fato dos farmacóforos que estão presentes na estrutura de um híbrido orgânico serem conectados por ligação covalente, pode ser uma limitação para que estes consigam alcançar alvos localizados (PEREIRA et al., 2021).

1.5 HÍBRIDOS METÁLICOS

Além dos híbridos orgânicos existem também compostos híbridos contendo metal, como por exemplo a trioxaferroquina (Figura 15), que apresentou atividade em *P. falciparum* resistente a cloroquina e foi administrada oralmente em ratos infectados com *P. vinckei petteri* abaixo da concentração detectável (BELLOT et al., 2010).

Figura 15 - Estrutura da trioxaferroquina.



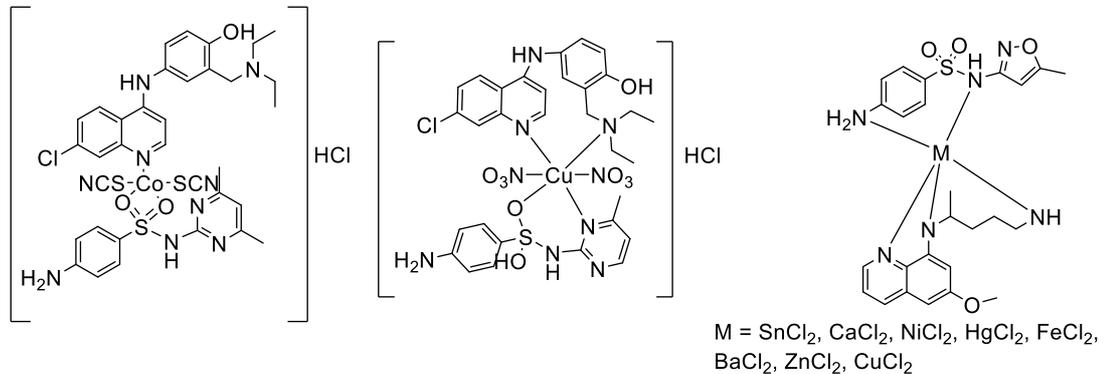
Trioxaferroquina

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Também foram relatados híbridos metálicos, nos quais quem conecta os farmacóforos é um íon metálico. Como por exemplo, no trabalho de Enemose e colaboradores, onde são reportadas a obtenção e caracterização de dois híbridos, em que os íons Cu(II) e Co(II) unem

os fármacos amodiaquina e sulfametazina (Figura 16) (ENEMOSE, AKPORHONOR, KPOMAH, 2018).

Figura 16 - Híbridos metálicos.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Um outro trabalho de Nandal et al., relata a síntese de oito híbridos metálicos, nos quais os íons metálicos Ba(II), Ca(II), Zn(II), Sn(II), Hg(II), Fe(III), Cu(II) e Ni(II) conectam o antibiótico sulfametoxazol e o antimalárico primaquina (Figura 16). Neste artigo, foi feita a avaliação da atividade antimalárica dos compostos frente a cepa 3D7 de *P. falciparum* e os compostos que mais se destacara continham zinco ($EC_{50} = 0,96 \mu\text{M}$) e níquel ($EC_{50} = 1,41 \mu\text{M}$) na sua estrutura, que foram um pouco menos ativos que a primaquina ($EC_{50} = 0,07 \mu\text{M}$) (NANDAL et al., 2019).

Por fim, Adediji e colaboradores descrevem a síntese de três híbridos metálicos onde Co(II), Ni(II) e Fe(III) ligam dois fármacos antimaláricos (mefloquina e cloroquina). Os autores relatam que tais complexos foram mais ativos, em concentrações mais altas, que os fármacos de origem em três cepas de bactéria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumonia*) e em duas espécies de fungos (*A. niger* and *A. flavus*) (ADEDIJI et al., 2009).

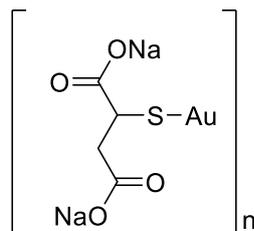
1.6 ESCOLHA DO METAL

O íon metálico escolhido para ser empregado como conector na estrutura dos híbridos propostos, como mencionado acima foi o ouro(I), devido a boa atividade antimalárica dos complexos de ouro derivados da cloroquina e também a possibilidade de inibição da enzima tiorredoxina redutase. O uso de complexos áuricos na medicina é muito antigo, onde no final do século XIX complexos do tipo $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ e tiolatos de ouro(I) tiveram sua eficácia frente a

tuberculose descoberta. Anos mais tarde, foi descoberta a eficácia dos complexos de ouro(I) contra artrite reumatóide e a auranofina (Figura 3), que é administrada por via oral, foi desenvolvida e empregada no tratamento desta doença (ZOU et al., 2015).

O uso do ouro na medicina, principalmente no tratamento da artrite reumatóide, é chamado de Crisoterapia, uma vez que inicialmente tais compostos foram empregados no tratamento desta doença. Porém, com o passar do tempo observou-se que os compostos de Au(I) e Au(III) também poderiam ser empregados no tratamento de câncer, inclusive os fármacos antiartríticos auranofina (Figura 3) e ourotiomalato (Figura 17) encontram-se em fase de testes clínicos para o tratamento do câncer. A obtenção de compostos de ouro como possíveis agentes anticancerígenos tem ganhado atenção devido a boa atividade destes e ao aumento do entendimento do metabolismo destes compostos (YEO, OOI, TIEKINK, 2018).

Figura 17 - Estrutura do ourotiomalato.



Aurotiomalato de sódio

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Além do interesse de complexos áuricos para o tratamento de câncer, tem aumentado o interesse na possível utilização destes para o tratamento da leishmaniose, uma vez que os resultados *in vivo* e *in vitro* têm se mostrado animadores. O primeiro relato do uso de compostos a base de ouro na leishmaniose aconteceu em 1989, quando dez pacientes infectados com *L. donovani* apresentaram uma recidiva após terem sido tratados com estibogluconato de sódio. Por isso, estes receberam tratamento a base de ourotiomalato de sódio, onde após três meses a medula óssea dos pacientes estava livre dos parasitas, o fígado e baço estavam em tamanho normal e não houveram recaídas (ROSA et al., 2021).

No caso da malária, foram sintetizados vários derivados ouro-CQ, variando-se os ligantes, contra-íons e estado de oxidação. Dentre os complexos de ouro pertencentes a esta série o que se mostrou mais ativo foi o complexo $[AuCQPET_3]PF_6$, que foi cinco vezes mais ativo que a cloroquina difosfato na cepa resistente a cloroquina FcB1. Também foram obtidos complexos heterobimetálicos unindo fragmentos contendo ouro com ferrocloroquina. No entanto, a junção de

dois centros metálicos apresentou pouco efeito sobre a eficácia geral dos complexos metálicos. Além dos derivados da cloroquina, a auranofina apresentou forte inibição do *Plasmodium falciparum*, provavelmente derivada da inibição da enzima tiorredoxina redutase (SANNELLA et al., 2008).

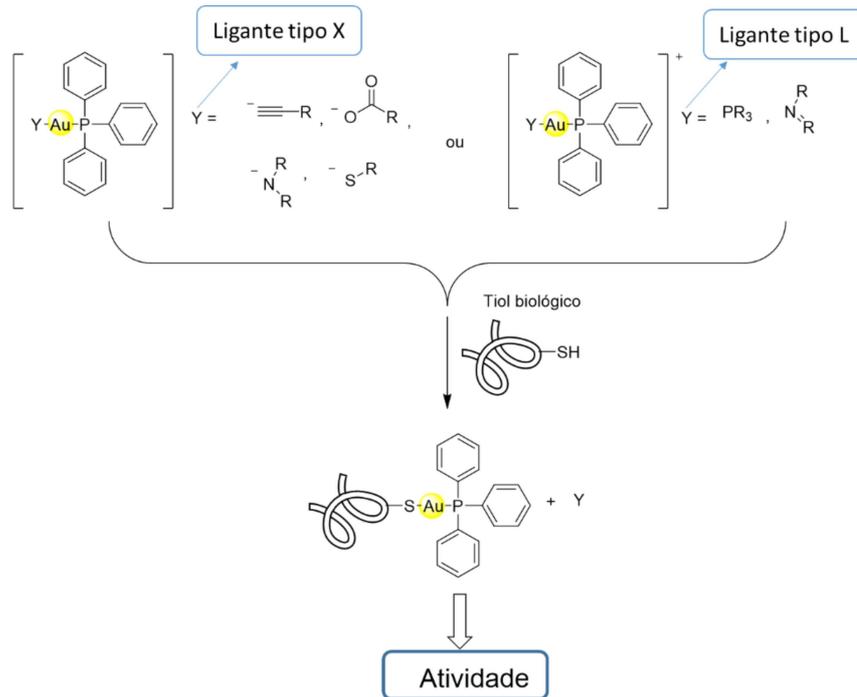
1.7 COMPLEXOS AU-FOSFÍNICOS COM FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

Tendo em vista a excelente atividade antiplasmodial do complexo $[\text{AuCQPPH}_3]\text{PF}_6$, é encorajadora a obtenção de complexos áuricos fosfínicos contendo outros fármacos como ligantes. Nesse contexto, será feito aqui uma breve introdução sobre o interesse na obtenção de complexos metálicos contendo fosfinas como ligantes. As fosfinas terciárias estão entre os ligantes mais utilizados na química de coordenação, estando presentes na estrutura de complexos metálicos com quase todos os metais de transição. A principal característica das fosfinas é a presença de um par de elétrons não ligante no fósforo, o que faz com que as fosfinas comportem-se como bases e como nucleófilos (BERNERS-PRICE, SADLER, 1988).

A ligação metal-fosfina é composta por dois componentes, um característico de doação ou componente σ , e um com caráter de retrodoação ou componente π . Inicialmente ocorre a doação do par de elétrons não ligante do átomo de fósforo para um orbital d vazio do metal (componente σ) e posteriormente ocorre a retrodoação, com um orbital d preenchido do metal transferindo carga para um orbital vazio da fosfina (componente π). A natureza dos substituintes pode por meio de efeitos estéricos e eletrônicos, causar mudanças nas propriedades físico-químicas dos complexos metálicos (COLINA-VEGAS, VILLAREAL, NAVARRO, 2019; HOUSECROFT, SHARPE, 2013; STENGER-SMITH, MASCHARAK, 2020).

O interesse por complexos do tipo $[\text{AuYPPH}_3]$, em que Y pode ser um ligante do tipo L (neutro) ou do tipo X (aniônico) e dessa forma a molécula poderá ser neutra ou carregada, veio após a descoberta das propriedades antiartríticas da auranofina. Tais complexos áuricos são estáveis em meio biológico, trocam seus ligantes Y, por biomoléculas sulfuradas e/ou contendo selênio em sua estrutura e a fração $[\text{AuPPH}_3]^+$, que é lipofílica, pode em alguns casos ajudar ao ligante Y a alcançar seu alvo e em adição exercer sua própria atividade (STENGER-SMITH, MASCHARAK, 2020). Como pode ser visualizado na Figura 18.

Figura 18 - Exemplos de complexos $[\text{AuYPPH}_3]$ e sua reação com tíóis biológicos.



Fonte: Adaptado de STENGER-SMITH, MASCHARAK (2020).

Um exemplo da vantagem de se empregar fosfinas é o caso do complexo $[\text{AuCQPPH}_3]\text{PF}_6$, onde atribuiu-se as altas atividades frente a parasitas resistentes a modificação estrutural da estrutura da cloroquina com a inserção do fragmento $[\text{AuPPH}_3]^+$ e ao aumento da lipofilicidade gerada pelo $[\text{AuPPH}_3]^+$. Dado que, uma causa para a resistência das cepas de *Plasmodium falciparum* a cloroquina é uma mutação na proteína de membrana pfert, que após a mutação passa a expulsar a cloroquina do vacúolo digestivo e que compostos mais lipofílicos são menos expelidos por tal carreador (NAVARRO et al., 2010).

Ainda com relação as vantagens de complexos metálicos contendo fosfinas em sua estrutura, frente a malária, Soares e colaboradores avaliaram a atividade antimalárica de quatro complexos de platina(II) contendo cloroquina e diferentes fosfinas como ligantes. Ao longo da publicação, observou-se que em comparação a cloroquina, os complexos de platina foram menos ativos na cepa de *Plasmodium falciparum* sensível a CQ (3D7) e comparáveis a este fármaco frente a cepa resistente (W2). Tais compostos foram considerados multifuncionais, pois foram ativos no estágio sanguíneo, onde a cloroquina também é ativa e no estágio hepático, no qual esta droga não apresenta atividade. Além disso, apresentaram efeitos curativos *in vivo* (MACEDO et al., 2017).

Com relação ao uso clínico de complexos metálicos contendo fosfinas em sua estrutura, além da auranofina, que é um fármaco antiartrítico e que também está em fase de testes clínicos para o tratamento do câncer (ZOPPI, MESSORI, PRATESI, 2020), existe outro complexo metálico

contendo um ligante fosfínico em sua estrutura que conseguiu alcançar fase de testes clínicos, o RAPTA C. Este é um complexo de rutênio (II), que apresenta a fosfina PTA (1,3,5-triazafosfoadamantano) em sua composição e que representa uma alternativa mais bem tolerada que os complexos de platina(II) para o tratamento do câncer (RAUSCH, DYSON, SLIWINSKA, 2019). Logo, podemos concluir que a utilização de ligantes fosfínicos para a obtenção de possíveis complexos metálicos com atividade biológica é bastante promissora.

1.8 ESTRATÉGIA

Conhecendo a excelente atividade do complexo $[\text{AuCQPPh}_3]\text{PF}_6$ contra a malária, ao longo deste trabalho objetivou-se sintetizar complexos de ouro(I) com atividade antimalárica semelhante ou melhorada, quando comparados ao derivado da cloroquina. Desse modo, modificou-se o fármaco empregado como ligante, de cloroquina para amodiaquina e primaquina. Assim como, além da obtenção dos complexos contendo PF_6^- foram obtidos os correspondentes contendo o NO_3^- como contra-íon. Tendo sido obtidos os complexos metálicos, foi feita a avaliação do mecanismo de ação e a determinação da atividade antiplasmodial dos complexos áuricos.

Além dos complexos áuricos contendo fosfina, planejou-se sintetizar complexos metálicos híbridos de modo diferente do que já foi relatado na literatura, uma vez que, nos híbridos sintetizados ao longo deste trabalho, conectou-se por meio do ouro(I) dois fármacos antimaláricos que atuam em diferentes estágios do ciclo de vida do parasita. Como a cloroquina ou a amodiaquina, que atuam no estágio intra-eritrocítico do ciclo do parasita (FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008) e a primaquina que é um fármaco que atua nos gametócitos e no estágio do fígado (*in vivo*) (SUTANTO et al., 2013; CAMARDA et al., 2019). Desse modo almejou-se que tais compostos fossem capazes atuar tanto no tratamento da doença quanto como agentes profiláticos.

Também planejou-se obter complexos que pudessem atuar em diferentes alvos, já que os fármacos cloroquina, amodiaquina e primaquina apresentam diferentes mecanismos de ação e além disso existem fortes relatos de que complexos de ouro têm apresentado a capacidade de inibir a enzima tiorredoxina redutase (TrxR) (BERNERS-PRICE, FILIPOVSKA, 2011; SSEMAGANDA et al., 2017). Por isso, esperou-se que os híbridos metálicos sintetizados pudessem atuar em pelo menos três alvos diferentes no parasita (inibição da formação da β -hematina, DNA e inibição da enzima TrxR). Portanto, presumiu-se que os compostos obtidos pudessem ser multialvo e multifásicos.

2 OBJETIVOS

Os objetivos irão descrever o objetivo geral e os objetivos específicos.

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter uma nova classe de híbridos metálicos como promissores candidatos antimaláricos, racionalmente desenhados, sendo potencialmente multi-alvo e multi-estágio, unidos por meio de um íon metálico, fármacos antimaláricos que atuem em diferentes fases do ciclo do parasita causador da malária e com diferentes mecanismos de ação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Sintetizar duas classes de complexos de ouro(I): os complexos híbridos de ouro(I) e os complexos fosfínicos de ouro(I);
- b) Caracterizar os complexos metálicos obtidos por meio de técnicas espectroscópicas apropriadas, que compreendem espectroscopia na região do UV-vis e o infravermelho, análise elementar de C, H e N, RMN de ^1H , ^{13}C , COSY, HMBC, HSQC, condutividade molar, ES-MS;
- c) Elucidar o mecanismo de ação dos novos híbridos de ouro(I) por meio de estudos para avaliar o comportamento destes frente a três possíveis alvos: DNA, β -hematina e a enzima TrxR;
- d) Avaliar a atividade antimalárica destes híbridos, empregando testes *in vitro* e *in vivo*.

3 PARTE EXPERIMENTAL

A parte experimental deste trabalho abordará todos os reagentes e equipamentos utilizados, o procedimento de obtenção dos fármacos sob a forma de base livre, a síntese dos complexos metálicos, a interação das biomoléculas com os complexos de ouro(I) e os ensaios biológicos realizados.

3.1 ATMOSFERA INERTE: ARGÔNIO

Todas as sínteses foram realizadas utilizando-se o método de Schlenk, empregando como gás inerte argônio ou nitrogênio de procedência da White Martins.

3.2 SOLVENTES

Grande parte dos solventes utilizados neste trabalho, foram submetidos a purificação prévia, segundo métodos descritos na literatura (WILLIAMS; LAWTON, 2010). Destaca-se que os solventes utilizados nas sínteses dos complexos foram previamente desaerados com o auxílio de argônio. Os principais solventes utilizados durante os procedimentos sintéticos foram acetonitrila, diclorometano, éter etílico e tetrahidrofurano. Já no caso dos experimentos de RMN os solventes utilizados foram DMSO- d_6 e $CDCl_3$, ambos de procedência da Sigma Aldrich.

3.3 REAGENTES QUÍMICOS EM GERAL

Os ligantes cloroquina e primaquina de procedência Sigma-Aldrich ou da farmacêutica Farmanguinhos foram submetidos a uma extração, pois estes se encontravam sob a forma de difosfato. Já o ligante amodiaquina, de mesma procedência, estava inicialmente sob a forma de cloridrato e por isso também foi submetido a um processo de extração, para a obtenção do ligante sob a forma de base livre. Os demais reagentes foram utilizados sem nenhuma purificação prévia. Todos os reagentes utilizados ao longo deste trabalho e sua procedência se encontram no quadro 1.

Quadro 1 - Reagentes utilizados ao longo do trabalho.

Reagentes	Procedência
Ácido desoxirribonucleico tipo I	Sigma Aldrich
Ácido tetracloridoaurato(III) tri-hidratado	Synth
Cloroouro(trifenilfosfino)ouro(I)	Acros Organics
Cloroquina Difosfato	Sigma Aldrich
Dicloridrato de amodiaquina di-hidratada	Sigma Aldrich ou Farmanguinhos
Hemin $\geq 97\%$	Sigma Aldrich
Hexafluorofosfato de amônio	Acros Organics
Hexafluorofosfato de potássio	Santa Cruz Biotechnology, Inc
Nitrato de prata	Santa Cruz Biotechnology, Inc
Primaquina difosfato	Sigma Aldrich ou Farmanguinhos
Tetrahidrotiofeno	Alfa Aesar

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

3.3.1 Espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho

Os espectros no infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro Brucker Alpha FT-IR Spectrometer, na região de 4000-400 cm^{-1} , resolução espectral de 4 cm^{-1} , com 64 varreduras, utilizando como suporte pastilhas de KBr.

3.3.2 Espectroscopia vibracional de espalhamento Raman

Os espectros Raman foram obtidos usando um espectrofotômetro Brucker RFS 100 FT-Raman instrumento equipado com detector de germânio refrigerado com nitrogênio líquido, com excitação de 1064 nm a partir de um laser Nd: YAG, no intervalo entre 4000 e 50 cm^{-1} e resolução espectral de 4 cm^{-1} , com uma média de 500 scans, com potência de 30 mW em fase sólida.

3.3.3 Espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV-vis)

Os espectros eletrônicos de absorção foram obtidos no espectrofotômetro UV-1800 Spectrophotometer Shimadzu. Os espectros foram obtidos utilizando cubetas de quartzo com

capacidade de 4 mL, 1 cm de caminho óptico, empregando como solvente DMSO e em concentração de cerca de 1×10^{-3} . Foram feitas varreduras na região de 190 a 1100 nm.

3.3.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, DEPT 135, COSY e HSQC foram obtidos utilizando como solvente dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6), em um equipamento de RMN modelo Avancer III HD, Bruker, 500 MHz.

3.3.5 Análise Elementar

A análise da porcentagem de C, H e N dos compostos foi feita em um analisador CHNS modelo Thermo scientific flash 2000, na Universidade Federal de Juiz de Fora.

3.3.6 Espectrometria de massas

Os espectros de massas foram obtidos pela Dra. Sandra Scapin, em um espectrômetro de massas modelo Synapt G1, no Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). A obtenção dos espectros foi feita no modo positivo de análise e o solvente utilizados foram acetonitrila ou metanol grau HPLC, contendo 0,1% de ácido fórmico. Os espectros foram obtidos na faixa de 50-2000 m/z.

3.3.7 Condutimetria

As medidas de condutividade molar foram realizadas em um condutivímetro MS Tecnopon Instrumentação, modelo Ni-cvm, utilizando-se soluções de concentração 1 mM dos complexos em DMSO. Os valores obtidos foram comparados com valores descritos na literatura (GEARY, 1970).

3.4 EXTRAÇÃO DOS LIGANTES

Ao longo deste subtópico serão descritos os procedimentos de obtenção dos fármacos sob a forma de base livre.

3.4.1 Obtenção da cloroquina base livre (CQ)

A cloroquina difosfato foi obtida, dissolvendo-se 5 g (9,7 mmol) de cloroquina difosfato (CQDF), em 60 mL de água destilada e adicionando-se 19 mL de NH_4OH . A mistura foi extraída com clorofórmio e o mesmo foi evaporado por meio de rota-evaporação, obteve-se um óleo amarelo, que foi dissolvido em 20 mL de acetonitrila e armazenado em geladeira durante a noite. Por fim, foi obtido um sólido branco que foi isolado por filtração. O sólido foi lavado com acetonitrila a frio e seco em bomba de vácuo (Modificado de SÁNCHEZ-DELGADO et al., 1996). Rendimento: 79%.

3.4.2 Obtenção da primaquina base livre (PQ)

A conversão da primaquina difosfato em primaquina base livre foi feita por meio da adição de NH_4OH (3,7 mL) a uma solução aquosa de primaquina difosfato (6,5 g, 14,3 mmol). A PQ livre foi extraída com clorofórmio e após remoção do solvente por meio de rota-evaporação, obteve-se um óleo marrom. Rendimento: 98%.

3.4.3 Obtenção da amodiaquina base livre (AQ)

A obtenção da amodiaquina base livre foi feita por meio da adição de uma solução aquosa de bicarbonato de sódio (0,286 g, 4 mmol) a uma solução contendo 1,08 mmol de dicloridrato de amodiaquina (0,502 g) em 50 mL de água, foi observada a formação de um sólido amarelo. Deixou-se a mistura em agitação por 1 hora, quando o sólido obtido foi filtrado, lavado com água e éter, e armazenado em um dessecador contendo pentóxido de fósforo como dessecante. Rendimento: 92%.

3.5 SÍNTESE DOS COMPLEXOS ÁURICOS HÍBRIDOS E SEUS PRECURSORES

O item 3.5 irá abordar o procedimento sintético dos complexos sintetizados ao longo desta tese de doutorado.

3.5.1 Síntese dos complexos precursores de ouro(I)

Inicialmente será reportado o procedimento de obtenção dos complexos metálicos precursores.

3.5.1.1 Síntese do complexo AuCITHT (Complexo 1)

A síntese de tal composto foi feita adicionando-se o tetrahidrotiofeno (1.6 mmol) a uma solução do ácido tetracloridoaurato(III) tri-hidratado (0.81 mmol) em metanol (2.4 mL) e água (500 μ L). Obteve-se assim um sólido amarelo que tornou-se branco. O precipitado obtido foi filtrado e lavado com etanol e metanol (USON et al., 2007). Rendimento: 70%.

3.5.1.2 Síntese do complexo AuCIPQ (Complexo 2)

A síntese do complexo AuCIPQ, foi feita por meio da adição de uma solução de primaquina (515 mg, 1,99 mmol) em diclorometano a uma solução de AuCITHT (1,25 mmol) também em diclorometano. A reação foi deixada em agitação a 0 °C por 4 horas, quando o solvente foi evaporado, obtendo-se um óleo marrom. Lavou-se com éter e secou-se em bomba de vácuo, obtendo-se um sólido marrom. Rendimento: 66%. RMN de ^1H (DMSO- d_6) 8,53 (d, $J = 3$ Hz, Hb); 8,06 (d, $J = 8$ Hz, Hd); 7,41 (dd, $J = 4$ Hz, $J = 8$ Hz, Hc); 6,47 (s, Hg); 6,26 (m, He); 6,11 (sl, NH); 5,35 (m, NH $_2$); 3,82 (s, HI); 3,6 (m, Ha'); 2,73 (m, Hd'), 1,52 (m, Hb', Hc'), 1,20 (m, Ha'').

3.5.1.3 Síntese do complexo [AuAQ $_2$]Cl (Complexo 3)

Adicionou-se uma suspensão de amodiaquina (252 mg, 0,71 mmol) em 10 mL THF a uma solução do complexo 1 (173 mg, 0,54 mmol) em 10 mL de THF. Deixou-se a reação em agitação e após 20 minutos observou-se a formação de um sólido verde. Deixou-se a reação em agitação por 4 horas, quando o sólido obtido foi lavado com éter, e seco em bomba de vácuo. Adicionou-se metanol ao sólido verde, observando-se a formação de uma solução laranja e um anel dourado ao redor do balão, filtrou-se e levou-se ao seco, obtendo-se um sólido laranja, que foi seco em bomba. Λ_M DMSO = $67,10 \pm 0,58 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3428 (O-H), 2879 (C-H alifático), 1621 (C=C), 1587 (C=N), 418 (Au-N). Raman [cm^{-1} (atribuição)]: 3062 (C-H aromático), 2983 e 2947 (C-H alifático), 1618 (C=C), 1550 (C=N). UV-vis (DMSO)

[λ (atribuição)]: 347 nm (π - π^* AQ). RMN de ^1H (DMSO- d_6) 10,95 (sl, NH); 8,87 (d, $J = 9\text{ Hz}$, H5); 8,45 (d, $J = 7\text{ Hz}$, H2); 8,15 (d, $J = 2,5\text{ Hz}$, H8); 7,78 (dd, $J = 2\text{ Hz}$, $J = 9\text{ Hz}$, H6); 7,66 (d, $J = 3\text{ Hz}$, H3'); 7,34 (dd, $J = 2,5\text{ Hz}$, $J = 8,5\text{ Hz}$, H6'); 7,20 (d, $J = 9\text{ Hz}$, H5'); 6,81 (d, $J = 7\text{ Hz}$, H3); 4,23 (s, H7'), 3,09 (q, $J = 7\text{ Hz}$, $J = 14\text{ Hz}$, H8'), 1,28 (t, $J = 7\text{ Hz}$, H9'). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6) 156,05 (C2'); 154,5 (C9); 143,3 (C2); 139,4 (C10); 138,1 (C7); 130,1 (C3'); 128,4 (C6'); 128,1 (C4'); 127,1 (C6); 126,1 (C5); 119,4 (C8); 117,7 (C1'); 116,9 (C5'); 115,8 (C4); 100,5 (C3); 49,2 (C7'); 46,3 (C8'); 8,5 (C9'). RMN $^{15}\text{N}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6) [ppm, atribuição] 59,14 (N3); 117,76 (N2); 170,73 (N1). ϵ_{DMSO} ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 30730. Análise elementar (%) calculado para: $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{AuCl}_3\text{N}_6\text{O}_2$: C 50,89; H 4,70; N 8,90; encontrado C 51,10; H 5,49; N 9,54.

3.5.2 Síntese dos complexos híbridos

Ao longo deste item serão descritos os procedimentos de obtenção dos complexos metálicos híbridos.

3.5.2.1 Síntese do complexo $[\text{AuCQPQ}]\text{PF}_6$ (Complexo 4 ou Híbrido 1)

A uma solução do complexo **2** (153 mg, 0,31 mmol) em acetonitrila (10 mL) adicionou-se 90 mg (0,56 mmol) de NH_4PF_6 . A mistura reacional permaneceu em agitação por 1 hora, quando filtrou-se com celite, adicionando-se em uma solução de cloroquina (0,40 mmol) em 10 mL de acetonitrila. A reação permaneceu a $0\text{ }^\circ\text{C}$ por 4 horas. Posteriormente, foi levada ao seco, obtendo-se um óleo marrom, que foi lavado com éter e seco em bomba de vácuo, obtendo-se um sólido marrom. Rendimento: 73%. $\Lambda_{\text{M DMSO}} = 39,18 \pm 0,06\text{ ohm}^{-1}\text{ cm}^2\text{ mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3634, 3422 e 3305 (N-H), 2971 e 2942 (C-H alifático), 1615 (C=C), 1580 (C=N), 844 (P-F), 557 (δ P-F). UV-vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 340 nm (π - π^* CQ). RMN de ^1H (DMSO- d_6) 8,54 (dd, $J = 1,5\text{ Hz}$, 4 Hz , Hb); 8,35 (m, H2, H5); 8,07 (dd, $J = 8\text{ Hz}$, $J = 1,5\text{ Hz}$, Hd); 7,77 (d, $J = 2$, H8); 7,42 (m, Hc, H6); 6,94 (d, $J = 7,5\text{ Hz}$, NH_{CQ}); 6,52 (d, $J = 5\text{ Hz}$, H3); 6,49 (d, $J = 2\text{ Hz}$, Hg); 6,29 (d, $J = 2\text{ Hz}$, He); 6,15 (NH_{PQ}); 3,82 (s, Hl); 3,76 (m, H1'); 3,67 (m, Ha'); 2,76 (m, Hd', H4', H5'); 1,57 (m, Hb', Hc', H2', H3'); 1,22 (m, Ha'', H1''); 1,05 (t, $J = 7\text{ Hz}$, H6'). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6) 158,99 (Cf); 151,75 (C2); 149,60 (C4); 149,07 (C9); 144,61 (Ci); 144,27 (Cb); 134,85 (Cd); 134,55 (Ch); 133,47 (C7); 129,61 (Cj); 127,30 (C8); 124,35 (C5); 123,90 (C6); 122,15 (Cc); 117,47 (C10); 98,88 (C3); 96,29 (Ce); 91,73 (Cg); 55,01 (Cl); 51,31 (C4'); 47,41 (C1'); 46,81 (Ca'); 46,25 (C5'); 39,51 (Cd'); 32,75 (C2', Cb');

24,01 (Cc'); 21,61 (C3'); 20,27 (Ca''); 19,83 (C1''); 9,80 (C6'). $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6) [ppm, (multiplicidade, atribuição)] -144,20 (septeto, PF_6^-). RMN $^{15}\text{N}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6) [ppm, atribuição] 52,35 (N3); 80,53 (Nb); 93,94 (N2); 265,16 (N1); 295,86 (Na). ϵ_{DMSO} ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 11767. Análise elementar (%) calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{AuClF}_6\text{N}_6\text{OP}\cdot 1,5\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}\cdot 1,5\text{CH}_3\text{CN}$: C 46,11; H 6,13; N 9,60; encontrado C 46,41; H 5,71; N 9,56. MS (MALDI) (m/z): $[\text{CQ} + \text{H}]^+$ 320,15; $[\text{AuPQ}]^+$ 456,14.

3.5.2.2 Síntese do complexo $[\text{AuCQPQ}]\text{NO}_3$ (Complexo 5 ou Híbrido 2)

Na síntese do híbrido metálico $[\text{AuCQPQ}]\text{NO}_3$, seguiu-se o procedimento descrito no tópico anterior, variando apenas o solvente (ao invés de acetonitrila, utilizou-se diclorometano), o sal (ao invés de NH_4PF_6 utilizou-se AgNO_3 (em acetonitrila)) e o tempo de agitação da mistura reacional contendo o sal (passou de 1 hora para 30 minutos). Sólido marrom. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3354 (N-H), 2968 e 2936 (C-H alifático), 1613 (C=C), 1578 (C=N), 1384 (N-O). RMN de ^1H (DMSO- d_6) 8,53 (dd, $J = 1,5$ Hz, 4 Hz, Hb); 8,36 (m, H2, H5); 8,07 (dd, $J = 8$ Hz, $J = 1,5$ Hz, Hd); 7,76 (d, $J = 2$, H8); 7,42 (m, Hc, H6); 6,91 (d, $J = 7,5$ Hz, NH_{CQ}); 6,51 (d, $J = 5$ Hz, H3); 6,49 (d, $J = 2$ Hz, Hg); 6,29 (d, $J = 2$ Hz, He); 6,15 (NH_{PQ}); 3,82 (s, Hl); 3,73 (m, H1'); 3,67 (m, Ha'); 2,81 (m, Hd'); 2,54 (m, H4', H5'); 1,52 (m, Hb', Hc', H2', H3'); 1,22 (m, Ha'', H1''); 0,95 (t, $J = 7$ Hz, H6'). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6) 158,99 (Cf); 151,86 (C2); 149,55 (C4); 149,24 (C9); 144,61 (Ci); 144,28 (Cb); 134,86 (Cd); 134,55 (Ch); 133,37 (C7); 129,62 (Cj); 127,39 (C8); 124,35 (C5); 123,81 (C6); 122,16 (Cc); 117,50 (C10); 98,84 (C3); 96,29 (Ce); 91,73 (Cg); 55,01 (Cl); 51,86 (C4'); 47,53 (C1'); 46,83 (Ca'); 46,20 (C5'); 39,51 (Cd'); 33,19 (C2'); 32,79 (Cb'); 24,11 (Cc'); 22,88 (C3'); 20,26 (Ca''); 19,84 (C1''); 11,11 (C6').

3.5.2.3 Síntese do complexo $[\text{AuAQPQ}]\text{PF}_6$ (Complexo 6 ou Híbrido 3)

Na síntese do híbrido **3**, dissolveu-se 153 mg (0,30 mmol) do complexo **2** em 10 mL de THF, adicionou-se 88 mg de NH_4PF_6 e a mistura reacional permaneceu em agitação por 1 hora. Posteriormente, filtrou-se a mistura reacional e o filtrado foi adicionado a uma solução de amodiaquina (140 mg, 0,39 mmol) em 20 mL de THF. A reação foi deixada em agitação a 0°C e ao abrigo da luz por 4 horas. Seguidamente, filtrou-se com celite, reduziu-se o solvente e adicionou-se 5 mL de acetonitrila para remover o excesso de amodiaquina. Foi feita uma nova filtração e o solvente foi removido, ocorrendo a formação de um óleo laranja. Por fim, o óleo

foi lavado com éter e seco em bomba, dando origem a um sólido laranja. Rendimento: 54 %. Λ_M DMSO = $49,30 \pm 0,12 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3632 (O-H), 3392 e 3278 (N-H), 2972 e 2942 (C-H alifático), 1615 (C=C), 1578 (C=N), 846 (P-F), 557 (δ P-F). UV-vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 345,8 nm (π - π^* CQ e AQ). RMN de ^1H (DMSO- d_6) 9,44 (sl, NH_{AQ}); 8,53 (m, $J = 1,5 \text{ Hz}$, $J = 4 \text{ Hz}$, Hb); 8,46 (d, $J = 9 \text{ Hz}$, H5); 8,42 (d, $J = 6 \text{ Hz}$, H2); 8,07 (d, $J = 8 \text{ Hz}$, Hd); 7,90 (m, H8); 7,62 (dd, $J = 1,5 \text{ Hz}$, $J = 9 \text{ Hz}$, H6); 7,42 (dd, $J = 4 \text{ Hz}$, $J = 8 \text{ Hz}$, Hc); 7,38 (m, H3'); 7,27 (dd, $J = 2 \text{ Hz}$, $J = 8,5 \text{ Hz}$, H6'); 7,02 (d, $J = 8,5 \text{ Hz}$, H5'); 6,63 (d, $J = 6 \text{ Hz}$, H3); 6,48 (m, Hg); 6,29 (m, He); 6,15 (d, 8,5 Hz, NH_{PQ}); 4,19 (s, H7'); 3,82 (s, Hl); 3,67 (m, Ha''); 3,05 (m, H8'); 2,81 (m, Hd'); 1,63 (m, Hb', Hc'); 1,23 (m, H9', Ha''). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6) 159,04 (Cf); 154,62 (C2'); 150,81 (C9); 149,83 (C2); 146,84 (C10); 144,66 (Ci); 144,34 (Cb); 135,09 (C7); 134,91 (Cd); 134,59 (Ch); 130,37 (C4'); 129,67 (Cj); 128,55 (C3'); 127,63 (C6'); 125,60 (C8); 125,51 (C6); 124,60 (C5); 122,21 (Cc); 118,47 (C1'); 117,28 (C4); 116,56 (C5'); 100,68 (C3); 96,34 (Ce); 91,78 (Cg); 55,05 (Cl); 50,79 (C7'); 46,88 (Ca'); 46,73 (C8'); 39,51 (Cd'); 32,81 (Cb'); 24,04 (Cc'); 20,31 (Ca''); 8,89 (C9'). $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6) [ppm,(multiplicidade, atribuição)] -144,21 (septeto, PF_6). RMN $^{15}\text{N}\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6) [ppm, atribuição] 56,82 (N3); 80,45 (Nb); 99,79 (N2); 240,24 (N1); 295,63 (Na). Análise elementar (%) calculado para $\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{AuClF}_6\text{N}_6\text{O}_2\text{P} \cdot 1,5\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$: C 46,23; H 5,20; N 7,89; encontrado C 46,16; H 4,64; N 7,53.

3.5.2.4 Síntese do complexo $[\text{AuAQPQ}]\text{NO}_3$ (Complexo 7 ou Híbrido 4)

O híbrido 4 foi obtido seguindo-se o procedimento relatado para a síntese do híbrido 2. Sólido marrom. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3402 (N-H), 2970 e 2937 (C-H alifático), 1614 (C=C), 1575 (C=N), 1384 (N-O). RMN de ^1H (DMSO- d_6) 8,98 (sl, NH_{aq}); 8,54 (d, $J = 3,5 \text{ Hz}$, Hb); 8,41 (d, $J = 8,5 \text{ Hz}$, H5); 8,37 (d, $J = 5 \text{ Hz}$, H2); 8,07 (d, $J = 8 \text{ Hz}$, Hd); 7,85 (s, H8); 7,64 (sl, OH); 7,53 (dd, $J = 9 \text{ Hz}$, $J = 1,5 \text{ Hz}$, H6); 7,42 (dd, $J = 8 \text{ Hz}$, $J = 4 \text{ Hz}$, Hc); 7,17 (s, H3'); 7,12 (m, H6'); 6,85 (d, $J = 8,5 \text{ Hz}$, H5'); 6,58 (d, $J = 5,5 \text{ Hz}$, H3); 6,49 (m, Hg); 6,29 (m, He); 6,15 (sl, NH_{PQ}); 3,88 (s, H7'); 3,82 (s, Hl); 3,67 (m, Ha'); 2,82 (t, $J = 7 \text{ Hz}$, Hd'); 2,72 (m, H8'); 1,61 (m, Hb', c'); 1,21 (d, $J = 6,5 \text{ Hz}$, Ha''); 1,10 (t, $J = 7 \text{ Hz}$, H9').

3.6 SÍNTESE DOS COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE OURO(I) COM FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS (COMPLEXOS DE 8-11)

Este subtópico irá expor a rota de obtenção dos complexos fosfínicos de ouro(I).

3.6.1 [AuPQPPH₃]NO₃ (Complexo 8)

Para a obtenção do complexo **8**, inicialmente solubilizou-se 382,8 mg (0,77 mmol) de AuClPPh₃ em 15 mL de diclorometano e 165,5 mg (0,97 mmol) de AgNO₃ em 10 mL de metanol. Adicionou-se a solução do precursor de ouro(I) a solução de nitrato de prata, ocorrendo a formação de um sólido branco. A mistura reacional foi mantida em agitação por 1 hora, quando filtrou-se com celite e o filtrado foi adicionado a uma solução de primaquina (318,3 mg, 1,23 mmol) em 10 mL de diclorometano. A reação permaneceu em agitação por 72 horas. Posteriormente, filtrou-se, reduziu-se o solvente, adicionou-se 5 mL de éter e armazenou-se na geladeira por 1 hora. Por fim, observou-se a formação de um óleo marrom, que foi filtrado, lavado com éter e seco em bomba, dando origem a um sólido marrom. Sólido marrom. Λ_M DMSO = $28,88 \pm 0,32 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 3371 (N-H), 2955 e 2862 (C-H alifático), 1615 (C=C), 1577 (C=N), 1384 (NO₃⁻), 503 (Au-N). UV-vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 366,2 nm (π - π^* PQ). RMN de ¹H (DMSO-d₆) 8,47 (m, Hb); 8,06 (m, Hd); 7,56 (m, PPh₃); 7,39 (m, Hc), 6,48 (m, Hg); 6,28 (m, He); 6,14 (d, J = 9 Hz, NH); 3,81 (s, Hl); 3,65 (m, Ha'); 2,97 (m, Hd'); 1,72 (Hb',c'); 1,20 (d, J = 6,5 Hz, Ha''). RMN de ¹³C {¹H} (DMSO-d₆) 158,96 (Cf); 144,59 (Ci); 144,21 (Cb); 134,80 (Cd); 134,53 (Ch); 133,78 (C_{orto}); 132,45 (C_{para}); 129,61 (Cj, C_{meta}); 127,37 (C-P); 122,10 (Cc); 96,23 (Ce); 91,69 (Cg); 54,98 (Cl); 47,05 (Ca'); 43,41 (Cd'); 33,04 (Cb') 27,99 (Cc'); 20,20 (Ca''). ³¹P {¹H} (DMSO-d₆) [ppm,(multiplicidade, atribuição)] 31,78 (s, PPh₃). ϵ_{DMSO} (M⁻¹cm⁻¹) 4454,7. Análise elementar (%) calculado para C₃₃H₃₆AuN₄O₄P.0,3CH₃CH₂OCH₂CH₃: C 51,16; H 4,90; N 6,98; encontrado C 51,44; H 4,48; N 7,29. ESI-MS (m/z): [PQ + H]⁺ 260,17; [AuPQPPH₃]⁺ 718,21.

3.6.2 [AuPQPPH₃]PF₆ (Complexo 9)

Dissolveu-se 150,3 mg (0,19 mmol) do complexo **8** em 10 mL de metanol, adicionou-se 71 mg (0,39 mmol) de NH₄PF₆ e deixou-se em agitação ao abrigo da luz por 4 horas. Seguidamente, filtrou-se com celite, evaporou-se o solvente e lavou-se com água e éter. Por fim, secou-se em bomba, obtendo-se um sólido marrom. Sólido marrom. Λ_M DMSO = $28,20 \pm 0,23 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IV [cm^{-1} (atribuição)]: 1614 (C=C), 1575 (C=N), 835 (P-F), 544 (δ P-F), 508 (Au-N). UV-vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 365,8 nm (π - π^* PQ). RMN de ¹H (DMSO-d₆) 8,45 (m, Hb); 8,06 (d, J = 8 Hz, Hd); 7,56 (m, PPh₃), 7,41 (m, Hc); 6,48 (m, Hg), 6,28 (m, He); 6,14 (d, J = 9 Hz, NH); 3,80 (s, Hl); 3,66 (m, Ha'); 3,06, 5,46 (m, Hd'); 1,67 (Hb',c'); 1,20 (d, J = 5 Hz, Ha''). RMN de ¹³C {¹H} (DMSO-d₆) 159,00 (Cf); 144,63 (Ci); 144,25 (Cb); 138,83

(C_{orto}); 132,48 (C_{para}); 134,84 (Cd); 134,57 (Ch); 129,67 (C_{meta}); 127,42 (C-P); 129,63 (Cj); 122,14 (Cc); 96,27 (Ce); 91,73 (Cg); 55,01 (Cl); 47,08 (Ca'); 43,32 (Cd'); 33,05 (Cb'); 27,77 (Cc'); 20,23 (Ca''). RMN ³¹P{¹H} (DMSO-d₆) [ppm,(multiplicidade, atribuição)] 30,81 (s, PPh₃); -144,19 (septeto, PF₆⁻). ε_{DMSO} (M⁻¹cm⁻¹) 4144,4. Análise elementar (%) calculado para C₃₃H₃₆AuF₆N₃OP₂.0,3CH₃CH₂OCH₂CH₃: C 46,37; H 4,44; N 4,74; encontrado C 47,00; H 3,78; N 5,71. ESI-MS (m/z): [AuPQPPh₃]⁺ 718,23.

3.6.3 [AuAQPPH₃]NO₃ (Complexo 10)

Para a síntese do complexo **10**, solubilizou-se 135,6 mg (0,27 mmol) de AuClPPh₃ em 20 mL de diclorometano e 47,7 mg (0,23 mmol) de AgNO₃ em 10 mL de metanol. Transferiu-se a solução do complexo de ouro(I) para o balão contendo a solução de prata, ocorrendo a formação de um sólido branco, característico da formação de AgCl. A mistura reacional foi deixada em agitação por 1 hora, quando foi feita uma filtração com celite e o filtrado foi adicionado a uma solução de (134 mg, 0,34 mmol) amodiaquina em 10 mL de diclorometano. A reação permaneceu em agitação por 72 horas, quando filtrou-se, reduziu-se o solvente e adicionou-se éter, ocorrendo a precipitação de um sólido amarelo. O complexo foi isolado por filtração, lavado com éter e seco em bomba. Sólido amarelo. Λ_M DMSO = 19,57 ± 0,07 ohm⁻¹ cm² mol⁻¹. IV [cm⁻¹ (atribuição)]: 3444 (O-H), 3249 (N-H), 2974 (C-H alifático), 1613 (C=C), 1567 (C=N), 1384 (NO₃⁻), 501 (Au-N). Raman [cm⁻¹ (atribuição)]: 3053 (C-H aromático), 1606 (C=C), 1597 (C=N), 1001 (NO₃⁻), 256 (Au-P). UV-vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 347,6 nm (π-π* AQ). RMN de ¹H (DMSO-d₆) 9,91 (sl, NH); 8,56 (m, H5); 8,56 (m, H2); 8,39 (s, H8); 7,65 (m, PPh₃); 7,65 (m, H6); 7,16 (s, H3'); 7,14 (m, H6'); 6,85 (d, J = 8 Hz, H5'); 6,66 (d, J = 6 Hz, H3); 3,80 (s, H7'); 2,62 (m, H8'), 1,06 (t, J = 7 Hz, H9'). RMN de ¹³C{¹H} (DMSO-d₆) 155,67 (C2'); 152,99 (C2); 151,06 (C9); 147,97 (C10); 135,03 (C7); 133,99 (C_{orto}); 132,51 (C_{para}); 129,66 (C_{meta}); 129,40 (C4'); 127,48 (C-P); 126,17 (C8); 125,99 (C6'); 125,56 (C6); 125,28 (C3'); 124,68 (C5); 123,70 (C1'); 117,67 (C4); 116,26 (C5'); 100,68 (C3); 54,26 (C7'); 46,03 (C8'); 10,95 (C9'). ³¹P{¹H} (DMSO-d₆) [ppm,(multiplicidade, atribuição)] 29,60 (s, PPh₃). ε_{DMSO} (M⁻¹cm⁻¹) 21270. Análise elementar (%) calculado para C₃₈H₃₇AuClN₄O₄P: C 52,04; H 4,25; N 6,39; encontrado C 51,85; H 4,10; N 6,21. ESI-MS (m/z): [AuAQPPH₃]⁺ 814,17.

3.6.4 [AuAQPPH₃]PF₆ (Complexo 11)

O complexo **11** foi sintetizado pela reação do complexo **10** com NH₄PF₆. Adicionou-se 41 mg (0,22 mmol) de NH₄PF₆ a uma solução do complexo **10** (98 mg, 0,11 mmol) em 10 mL de metanol. A reação permaneceu em agitação por 4 horas, quando filtrou-se, removeu-se o solvente e lavou-se com água e éter. Finalmente, secou-se em bomba, obtendo-se um sólido marrom. Sólido amarelo. Λ_M DMSO = $35,37 \pm 0,06 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IV [cm⁻¹ (atribuição)]: 1611 (C=C), 1585 (C=N), 835 (PF₆⁻), 543 (δ P-F), 507 (Au-N). UV-vis (DMSO) [λ (atribuição)]: 344,8 nm (π - π^* AQ). RMN de ¹H (DMSO-d₆) 9,92 (sl, NH); 8,61 (m, H5); 8,59 (m, H2); 8,43 (s, H8); 7,66 (m, PPh₃); 7,66 (m, H6); 7,16 (s, H3'); 7,21 (d, J = 8 Hz, H6'); 6,93 (d, J = 8,5 Hz, H5'); 6,68 (d, J = 6 Hz, H3); 3,94 (s, H7'); 2,78 (m, H8'), 1,13 (t, J = 6 Hz, H9'). ³¹P{¹H} (DMSO-d₆) [ppm,(multiplicidade, atribuição)] 29,75 (s, PPh₃); -144,10 (septeto, PF₆⁻). ϵ_{DMSO} (M⁻¹cm⁻¹) 15330. Análise elementar (%) calculado para C₃₈H₃₇AuClF₆N₃OP₂.0,5H₂O: C 47,10; H 3,95; N 4,34; encontrado C 46,59; H 3,87; N 4,91. ESI-MS (m/z): [AuAQPPH₃]⁺ 814,20.

3.7 INTERAÇÃO COM A FERRIPROTOPORFIRINA

Inicialmente, preparou-se uma solução estoque de hemina (3,5 mg de cloreto de hemina em 10 mL de DMSO), a partir da qual foi preparada uma solução 40 % DMSO de Fe(III)PPIX (pH 7,5), misturando-se 140 μ L da solução estoque, 3,86 mL de DMSO, 1 mL de tampão trizma 0,2 M e 5 mL de água. As soluções dos complexos e do branco também foram 40% DMSO, e a concentração dos complexos foi de 0,2 mM. Foram feitas adições de alíquotas das soluções dos complexos, tanto na cubeta contendo a hemina quanto na cubeta de referência com a finalidade de subtrair a absorbância dos complexos do espectro de absorção. Por fim, os dados obtidos foram tratados usando o programa Sigma Plot 11,0, empregando-se a seguinte equação:

$$A = \frac{A_0 + A_\infty K[C]}{1 + K[C]}$$

A qual assume um modelo de interação 1:1, ajustando a curva através do método não linear de mínimos quadrados, onde A_0 é a absorbância inicial sem a presença do complexo, A_∞ é a absorbância do aduto complexo-hemina na saturação, A é a absorbância de cada ponto na

titulação e K é a constante de associação. O valor de K é calculado empregando-se a equação *Rational: 3 Parameter I*, sendo finalmente o valor expresso como Log de K .

3.8 INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DA β -HEMATINA

Ao longo desse experimento avaliou-se a conversão da hemina em β -hematina. Para tal, a hemina (20 mg) foi dissolvida em 3 mL de NaOH 0,1 M e foram adicionados 0,3 mL de HCl 0,1 M e 1,7 mL de tampão acetato (10 M, pH 5). A mistura reacional foi mantida em agitação a 60 °C por 2 horas, quando removeu-se a agitação e a mistura foi armazenada por 10 minutos a 0 °C, sendo posteriormente centrifugada e o sólido obtido lavado com água e seco em estufa a 60 °C. Após o sólido ser seco foram obtidos espectros vibracionais na região do IV do mesmo, utilizando para isso pastilhas de KBr. Como controles positivo e negativo foram utilizando-se os fármacos cloroquina e primaquina, respectivamente. O efeito do complexo metálico de interesse foi avaliado na proporção de dois equivalentes (mol/mol) do composto para hemina.

3.9 INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DA β -HEMATINA EM TAMPÃO

Adicionou-se 10 μ L de uma solução 4 mM de cloreto de hemin em 80% de DMSO aos poços de uma placa de 96 poços e em seguida adicionou-se 10 μ L de NaOH 0,1 M. As placas foram seladas e incubadas a 37 °C por 2 horas. Foram adicionados 10 μ L dos compostos dissolvidos em DMSO e as placas foram incubadas por 2 horas. Após o tempo de incubação foram adicionados 180 μ L de tampão acetato (1 M, pH 5,2), 10 de uma solução do detergente não aniônico IGEPAL-CA-630 em metanol (10 mg/mL), as placas foram seladas e incubadas a 37 °C por 18 horas. Cada composto foi testado em uma faixa de 1000 a 17 μ M de concentração final. A reação foi finalizada pela adição de 50 μ L de uma solução de dodecilsulfato de sódio (5% v/v em tampão bicarbonato 0,1 M a pH 9). As placas foram centrifugadas a 3700 rpm por 5 minutos e 100 μ L de sobrenadante foram transferidos para cada poço de uma placa contendo 100 μ L/poço de uma solução de piridina (20 % v/v em HEPES 1 M). A absorbância foi medida a 405 nm e a % de inibição foi comparada com os controles não tratados e sem reagir (sem tampão fosfato). Os valores de IC_{50} foram calculados com base em uma curva de regressão não linear obtida no programa GraphPad Prism. Foram feitos dois experimentos independentes e cada concentração foi testada em quadruplicata.

3.10 ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM O DNA

O item 3.10 irá abordar todo o procedimento realizado nos estudos de interação dos complexos de ouro(I) com o DNA.

3.10.1 Preparo da solução de DNA

A solução de CT (*Calf Thymus*) DNA foi preparada em tampão Tris (0,5 mM tris base, 4,5 mM de tris HCl e 50 mM NaCl, pH 7,4) e a concentração da mesma foi determinada empregando-se espectroscopia de absorção na região do UV-vis, utilizando o máximo de absorvância em 260 nm, que tem absorvância molar de $6600 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$. Também foi possível calcular a porcentagem de proteína por meio da razão das absorvâncias em 260 e 280 nm, obtendo-se resultados no intervalo de 1,8-1,9.

3.10.2 Titulação espectrofotométrica

A avaliação da presença de interação com o DNA foi feita inicialmente por titulação espectrofotométrica, empregando-se, para isso, a espectroscopia de absorção na região do UV-vis, onde foram obtidos espectros eletrônicos do complexo de interesse na ausência de DNA e após sucessivas adições de DNA, tanto na cubeta contendo o complexo quanto na cubeta do branco. Após cada adição de DNA, o conteúdo das cubetas foi incubado por 1 minuto antes da obtenção dos espectros de absorção eletrônica na região do UV-Vis. Com os dados coletados foi possível construir uma curva, por meio da qual e em conjunto com a equação de Benesi-Hildebrand foi possível determinar a constante de interação complexo-DNA (MUDASIR, YOSHIOKA, INOUE, 1999).

$$\frac{[DNA]}{(\epsilon_a - \epsilon_f)} = \frac{[DNA]}{(\epsilon_b - \epsilon_f)} + \frac{1}{[Kb(\epsilon_b - \epsilon_f)]}$$

Equação 1: Equação de Benesi-Hildebrand.

Onde:

[DNA] = concentração do DNA;

ϵ_a = coeficiente de extinção aparente, que corresponde à razão entre a absorvância medida e a concentração do composto em estudo ($A_{\text{obs}}/[\text{composto}]$);

ϵ_b = coeficiente de extinção do composto totalmente ligado ao DNA;

ϵ_f = coeficiente de extinção do composto livre em solução (na ausência de DNA);

K_b = constante de interação composto-DNA.

3.10.3 Viscosidade

Para a determinação da viscosidade dos compostos utilizou-se um viscosímetro de Ostwald, imerso em um banho a 25 °C, onde mediu-se o tempo de escoamento de soluções contendo distintas relações complexo/DNA, bem como soluções do DNA e do tampão. Com os dados obtidos plotou-se um gráfico $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ por [composto]/[DNA], onde η é a viscosidade do CT-DNA na presença do composto e η_0 é a viscosidade do DNA na ausência de composto. Tais valores foram medidos e corrigidos restando os tempos de fluxo dos solventes.

3.11 ENSAIOS BIOLÓGICOS *IN VITRO* E *IN VIVO* EM PARASITAS DO GÊNERO *PLASMODIUM*

Os estudos biológicos foram feitos pelo Dr. Diogo R. M. Moreira na Fundação Oswaldo Cruz em Salvador-BA e pelo Dr. Bruno Pradines no Centre National de Référence du Paludisme em Marselha na França. O *P. falciparum* em eritrócitos humanos O⁺ foi cultivado em meio RPMI-1640 suplementado e contendo soro e plasma. A manutenção da cultura foi realizada diariamente ou a cada dois dias. Cinco dias antes da avaliação antiparasitária, o meio foi trocado sem hipoxantina. Células HepG2 foram cultivadas em meio RPMI e mantidas por passagens semanais, enquanto que J774 foi cultivada em meio DMEM.

3.12 ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA (CITOSTÁTICA)

Cerca de 100 mL de eritrócitos humanos O⁺ parasitados por *P. falciparum* da cepa W2 ou cepa 3D7 (1% de parasitemia) sincronizados na forma de anel usando sorbitol foram distribuídos em placas de 96 poços em meio RPMI-1640 sem hipoxantina. Os compostos foram solubilizados em DMSO e a concentração desejável obtida após diluição seriada em meio RPMI-1640, em triplicata. Como controle positivo foi testada a Cloroquina, enquanto como controle negativo, os poços receberam somente meio RPMI-1640 e DMSO. Após adição dos compostos na placa, a mesma foi então cultivada por 24 horas na temperatura de 37 °C com 5% de CO₂, 3% de O₂ e 91% de N₂. Em seguida, [³H]-hipoxantina foi adicionada em cada poço e a placa incubada por mais 24 horas. A placa foi congelada, o lisado foi coletado em um coletor

de células e transferido para a placa contendo filtro. Após secagem, a placa foi lida no contador de partículas beta e a porcentagem de incorporação de hipoxantina tritiada foi quantificada. Valores de c. p. m. para controle não tratado foi de 2500. Ao menos sete concentrações diferentes foram utilizadas para determinar a concentração inibitória para 50 % (IC₅₀) calculada usando equação logística após regressão não-linear no Prism versão 5.01.

3.13 CITOTOXICIDADE

Células HepG2 ou J774 foram plaqueadas em placas de 96 poços (100 µL/poço de uma solução 1x10⁴ células/mL). Após 24 horas de incubação, os compostos dissolvidos em DMSO foram adicionados em cada poço e incubados por 72 horas. A violeta genciana foi utilizada como controle positivo. O controle negativo recebeu a mesma quantidade de DMSO (máximo 2 % v/v), 20 µL da solução estoque (0,3 mg/mL) de Alamarblue (resazurina) foram adicionados a cada poço e incubados entre 6-24 h. As absorbâncias foram medidas nos comprimentos de onda de 570 nm (reduzido) e 600 nm (oxidado) utilizando uma leitora de placas. A concentração citotóxica para 50% (CC₅₀) foi determinada usando equação logística após regressão não-linear no Prism versão 5,01.

3.14 ESTUDOS *IN VIVO*

Camundongos Swiss Webster (n=5/grupo) foram infectados por via intraperitoneal com eritrócitos parasitados por *P. berghei* da cepa NK65. 3 h após infecção, os animais foram tratados por via oral ou intraperitoneal diariamente por quatro dias consecutivos. A parasitemia foi determinada em esfregaços sanguíneos nos dias 4, 5, 6, 7 e 8 após a infecção. A sobrevivência foi monitorada por 30 dias após infecção.

3.15 ATIVIDADE FRENTE AO *P. BERGHEI* EM ESTÁGIO DE FÍGADO

Os parasitas transgênicos *P. berghei*, que expressam a proteína fluorescente verde (GFP) a luciferase do vagalume (*Luc*), foram obtidos por meio da ruptura das glândulas salivares de mosquitos fêmeas do *Anopheles stephensi* infectadas. A linhagem celular de hepatoma humano Huh-7 foi cultivada em meio de RPMI completo (RPMI 1640 suplementado com 1% (v/v) de aminoácidos não essenciais, 1% (v/v) de penicilina/estreptomicina, 1% (v/v) de glutamina e 10 mM de HEPES). A inibição da infecção foi determinada medindo-se a intensidade da

luminescência em células Huh-7 infectadas com *P. berghei* que expressam luciferase de vagalume, conforme mencionado acima. Resumidamente, para ensaios de infecção, as células Huh-7 (1×10^4 por poço) foram semeadas em placas de 96 poços um dia antes da infecção e do tratamento com as drogas.

O meio de cultura foi substituído por meio contendo a concentração apropriada dos compostos estudados, aproximadamente 1 hora antes da infecção com esporozoítos. Como controle foi usada uma quantidade de DMSO equivalente a presente no poço contendo a maior concentração de composto. A adição dos esporozoítos foi seguida de uma centrifugação a $1800 \times g$ por 5 minutos. A carga de infecção parasitaria foi medida 48 horas após a infecção por um ensaio de bioluminescência. O efeito dos compostos na viabilidade das células Huh-7 foi avaliado pelo ensaio AlamarBlue, usando o protocolo do fabricante.

3.16 MICROSCÓPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DE *P. BERGHEI* EM ESTÁGIO DE FÍGADO

Células Huh-7 foram semeadas em placas de 24 poços (1×10^5 por poço). Os compostos foram adicionados as células e incubados por 1 hora, quando foram infectados com esporozoítos frescos. Após 24 horas, as células foram removidas com tripsina, lavadas com PBS e fixadas com formaldeído 2% e 2,5% de glutaraldeído em tampão cacodilato de sódio (0,1 M, pH 7,2) por 40 minutos a temperatura ambiente. Após a fixação, as células foram lavadas três vezes com tampão cacodilato e pós fixadas com uma solução 1% de tetróxido de ósmio contendo 0,8 % de ferrocianeto de potássio por 1 hora. Subsequentemente, estas foram desidratadas com concentrações crescentes de acetona (30, 50, 70, 90 e 100%) por 10 minutos em cada etapa e incorporadas em resina Polybed. Seções ultrafinas em grades de cobre foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo. As micrografias foram tiradas usando microscópio JEM1230.

3.17 INIBIÇÃO DA BIODISSÍNTese DA HEMOZOÍNA

Camundongos da linhagem Swiss Webster, machos, com peso de 18-22 g foram infectados pelo *P. berghei* com até 10% de parasitemia e divididos em grupos de três ($n=3$ /grupo). O tratamento com os compostos avaliados foi realizado em dose única, com cada composto sendo administrado por via subcutânea. Após 24 horas de tratamento, os camundongos foram anestesiados com 70 mg/kg de cetamina e 12,5 mg/kg de xilazina

(intraperitoneal), o sangue foi aspirado suavemente no plexo braquial, usando pontas revestidas com heparina e transferidos para frascos heparinizados.

O sangue foi centrifugado a 2.500 rpm por 500 g a 4 °C por 5 minutos, o plasma foi descartado e o sedimento celular foi lavado com solução salina. Volumes iguais do sedimento remanescente foram transferidos para novos tubos, suspensos em 1 mL de saponina a 0,05% e congelados durante a noite. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 2500 g a 4 °C por 10 minutos, adicionou-se 0,5 mL de solução salina e a centrifugação foi repetida duas vezes. Os pellets de células foram processados para determinar as espécies hemoglobina, heme livre e hemozoína de acordo com método reportado na literatura. Foram realizados pelo menos dois experimentos independentes (VANAERSCHOT et al., 2017).

3.18 INIBIÇÃO DA ENZIMA TIORREDOXINA REDUTASE

Foram preparadas e incubadas misturas contendo 3 μ M da respectiva enzima (hTrxR ou pfTrxR) e 8 μ M de cada composto avaliado em 100 μ L de NADPH em 50 mM de tampão Tris a pH 7,4 e 100 mM de NaCl. Alíquotas de 85 μ L tiveram sua atividade testada no ensaio de ácido ditiobisnitrobenzóico (DTNB) em cubetas de 0,5 mL. O experimento foi iniciado pela adição de DTNB, que ocasionou o aumento da absorbância em 412 nm. As medidas foram feitas em 0, 30, 60, 120 e 240 minutos após o início da incubação. Também mediu-se na ausência de composto (controle) e a atividade inibitória de cada amostra foi expressa como uma porcentagem do controle.

3.19 ATIVIDADE *IN VITRO* DOS COMPOSTOS CONTRA GAMETÓCITOS DO ESTÁGIO V DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* DA CEPA 3D7

Além da avaliação da atividade dos híbridos frente aos parasitas no estágio sanguíneo, estes também foram testados frente a formas sexuadas (gametócitos) de *P. falciparum*. A cepa transgênica 3D7 foi mantida em eritrócitos humanos tipo O⁺ a 5% de hematócrito em meio completo, consistindo em RPMI 1640 contendo 24 mM de bicarbonato de sódio, com adição de 10% (v/v) de soro humano O⁺ inativado pelo calor, hipoxantina 0,37 mM, L-glutamina 2 mM e HEPES 20 mM. As culturas foram mantidas a 37 °C numa mistura de gás padrão consistindo em 1-3% de O₂, 5% de CO₂ e 92-94% de N₂. Com o objetivo de iniciar a gametogênese, as culturas foram diluídas para 0,5% de parasitemia e o meio foi trocado diariamente sem adição de glóbulos vermelhos frescos. Quando a cultura atingiu mais de 5%

de parasitemia, adicionou-se N-acetilglucosamina (NAG) 50 mM e incubou-se por 48-96 h para eliminar os parasitos assexuados residuais e obter uma cultura de gametócitos pura. Os compostos avaliados foram dissolvidos em DMSO e diluídos em meio de cultura para atingir a concentração necessária, quando foram diluídos em série em placas de 96 poços, cujo volume final de cada poço era de 100 μ L. Em seguida, adicionou-se a estas placas 100 μ L de gametócitos a 0,5-1% de parasitemia e 2% de hematócrito. Cada composto foi testado em triplicada e em sete concentrações. A dihidroartemisinina foi usada como controle positivo. As placas foram incubadas por 72 horas a 37 °C sob 3% O₂, 5% de CO₂, 91% de atmosfera de N₂. A atividade da luciferase foi tomada como a medida da viabilidade dos gametócitos, conforme já relatado na literatura (CEVENINE et al., 2014). 100 μ L de meio de cultura foram removidos de cada poço para aumentar o hematócrito; 70 μ L de cultura ressuspensa foram transferidos para placa preta de 96 poços e 70 μ L de D-luciferina (1 mM em tampão citrato 0,1 M, pH 5,5) foram adicionados. As medidas de luminescência foram realizadas após 10 min com tempo de integração de 500 ms. O IC₅₀ foi extrapolado da análise de regressão não linear da curva concentração-resposta.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este tópico irá abordar todos os resultados obtidos ao longo desta tese, sendo eles relacionados a síntese, caracterização, interação com biomoléculas e estudos biológicos.

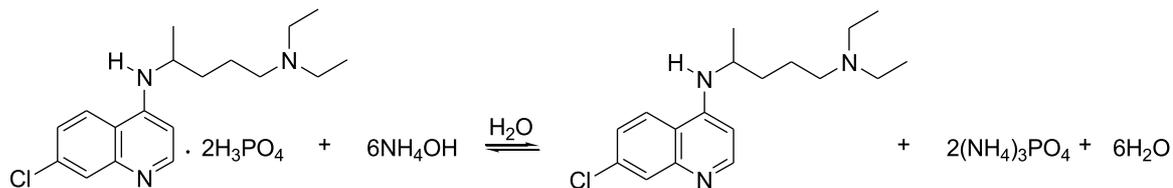
4.1 LIGANTES

Inicialmente serão expostos os resultados referentes aos fármacos empregados como ligantes.

4.1.1 Cloroquina

A da cloroquina base livre foi obtida por meio do tratamento da cloroquina difosfato com NH_4OH , como pode ser visto no esquema 1.

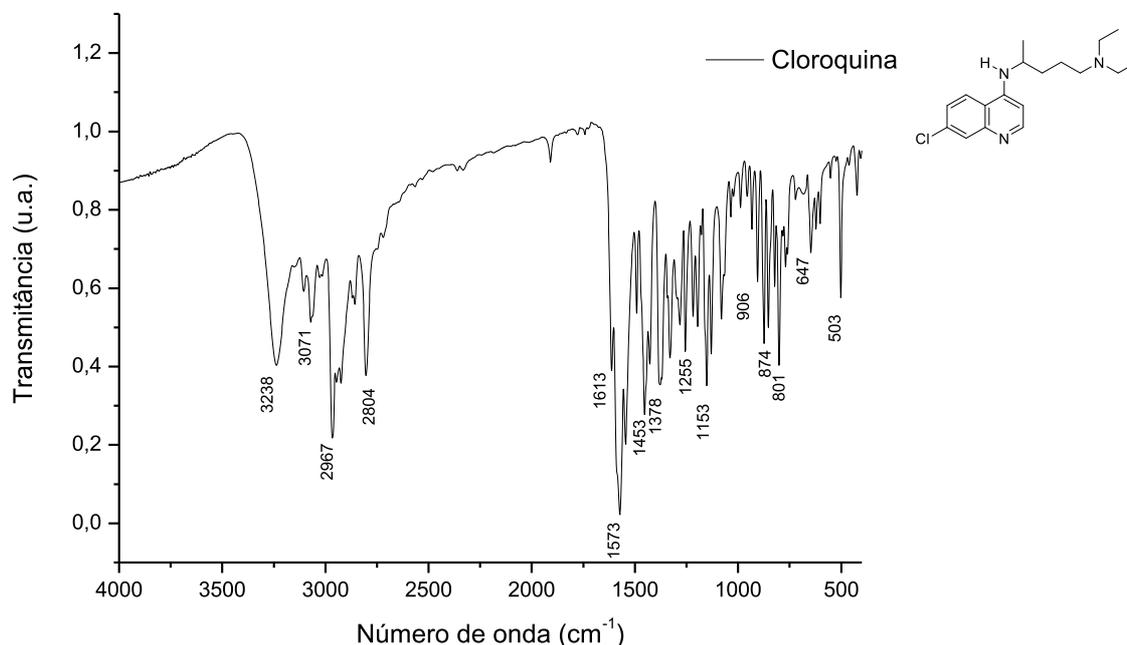
Esquema 1 - Obtenção da cloroquina base livre.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

A cloroquina base livre foi inicialmente caracterizada por espectroscopia vibracional na região do infravermelho. O espectro obtido encontra-se na Figura 19, onde é possível observar as bandas características dos estiramentos $\nu(\text{NH})$ 3238 cm^{-1} , $\nu(\text{C-H alifático})$ 2967 e 2804 cm^{-1} , $\nu(\text{C=C})$ 1612 cm^{-1} e $\nu(\text{C=N})$ 1573 cm^{-1} .

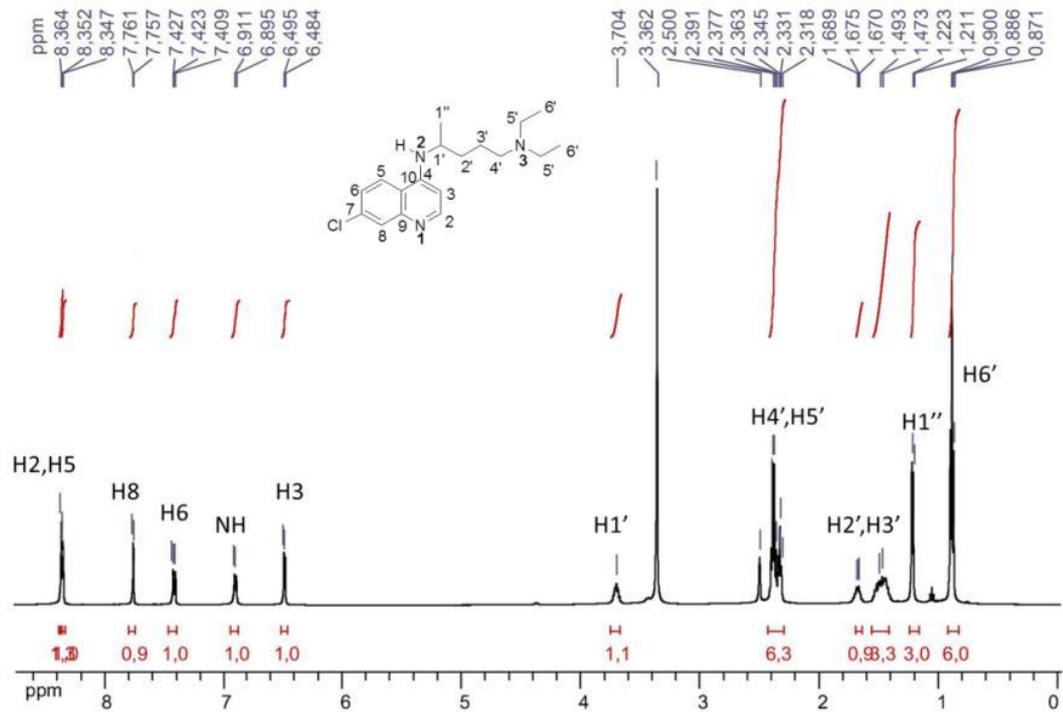
Figura 19 - Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho da cloroquina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Também foi obtido o espectro de RMN de ^1H da cloroquina base livre (Figura 20), onde é possível observar na região característica de hidrogênios de grupos alifáticos, um sinal com seis hidrogênios em 0,87 ppm, que é referente aos dois grupos metila 6', que por serem simétricos aparecem juntos. Seguidamente observa-se um sinal em 1,21 ppm, com integral para três hidrogênios que é atribuído aos hidrogênios do grupo CH_3 ($\text{H1}''$) que se liga ao CH ($\text{H1}'$) e ainda na região do espectro característica de hidrogênios de grupos alifáticos, notam-se três multipletos que são atribuídos aos hidrogênios dos dois grupos CH_2 ($\text{H2}'$ e $\text{H3}'$, $\text{H4}'$ e $\text{H5}'$) e ao grupo CH da molécula, respectivamente. Por fim, na região entre 6,48 a 8,36 ppm são observados os sinais dos hidrogênios do anel aromático e do NH da molécula.

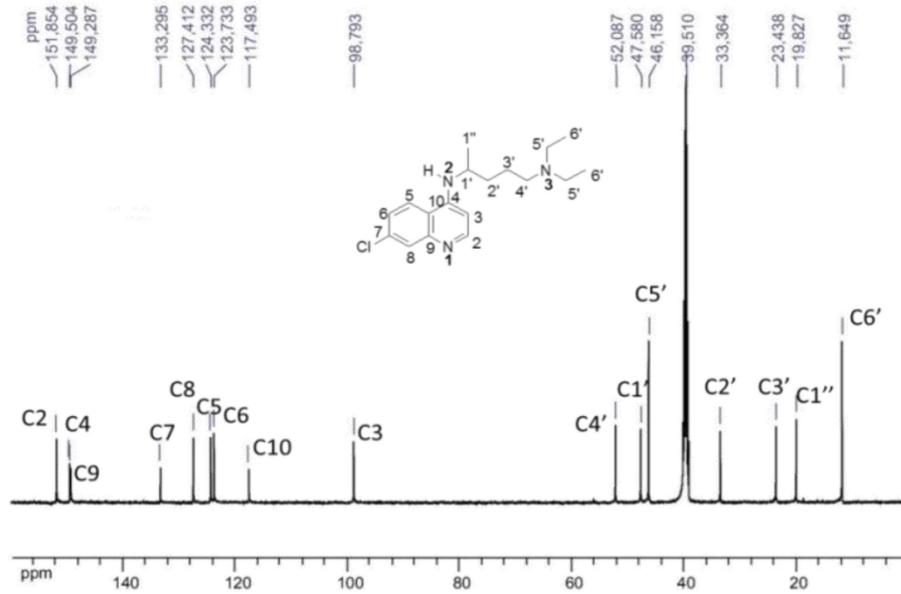
Figura 20 - Espectro de RMN de ^1H da cloroquina em DMSO-d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Na Figura 21, encontra-se o espectro de RMN de ^{13}C da cloroquina, o qual foi atribuído com o auxílio de experimentos de RMN de duas dimensões, que mostram as correlações entre os átomos de carbonos e os hidrogênios a que se ligam. Onde é possível perceber que os carbonos alifáticos encontram-se na região entre 11,65 e 52,09 ppm, e os carbonos aromáticos na região entre 98,79 e 151,85 ppm.

Figura 21 - Espectro de RMN de ^{13}C da cloroquina em DMSO-d_6 (125 MHz).

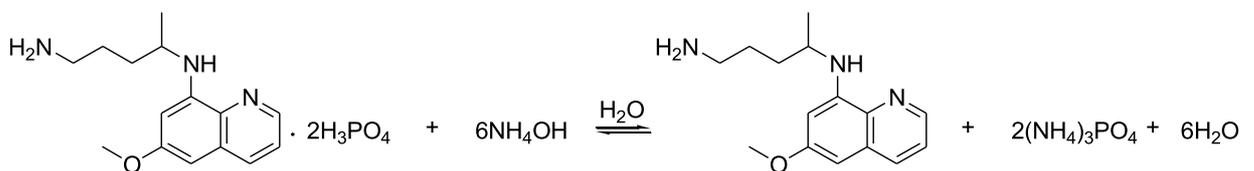


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.1.2 Primaquina

A primaquina base livre foi obtida pela neutralização da primaquina difosfato com NH_4OH , de maneira semelhante a cloroquina (esquema 2), porém o produto final obtido foi um óleo marrom, que foi caracterizado por espectroscopia vibracional na região do infravermelho e por RMN de ^1H e ^{13}C .

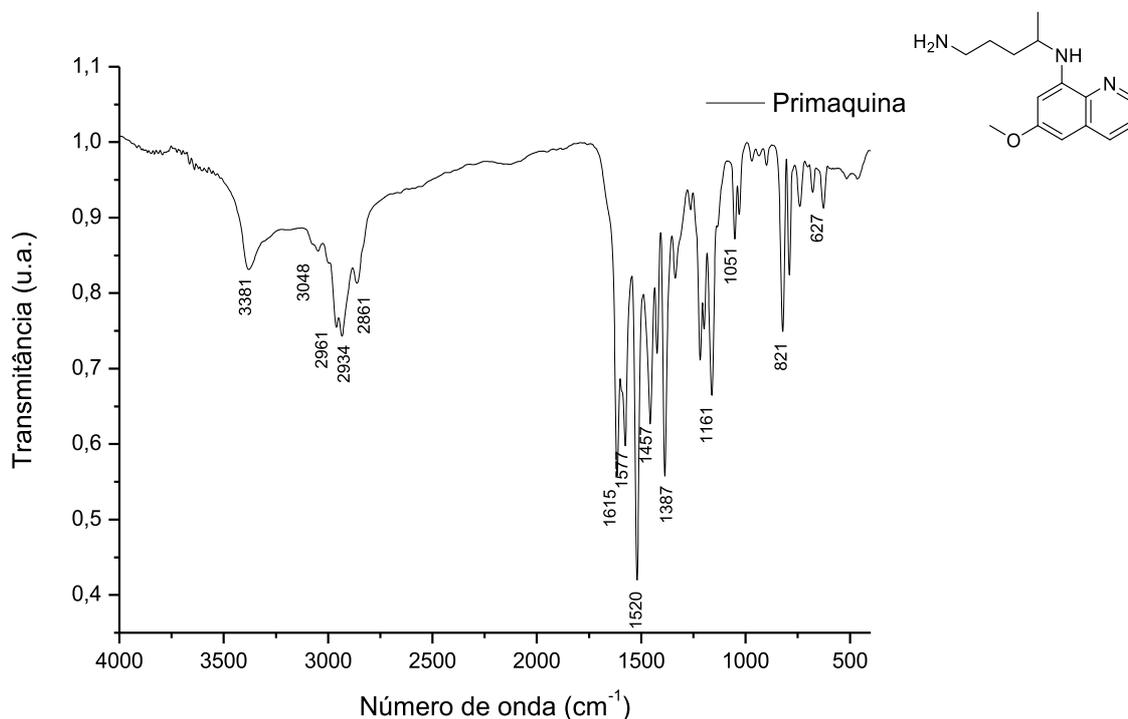
Esquema 2 - Obtenção da primaquina base livre.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Na Figura 22, encontra-se o Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho obtido para a primaquina, onde é possível observar as bandas características dos estiramentos ν (NH) 3381 cm^{-1} , ν (C-H alifático) 2961 e 2861 cm^{-1} , ν (C=C) 1615 cm^{-1} e ν (C=N) 1577 cm^{-1} .

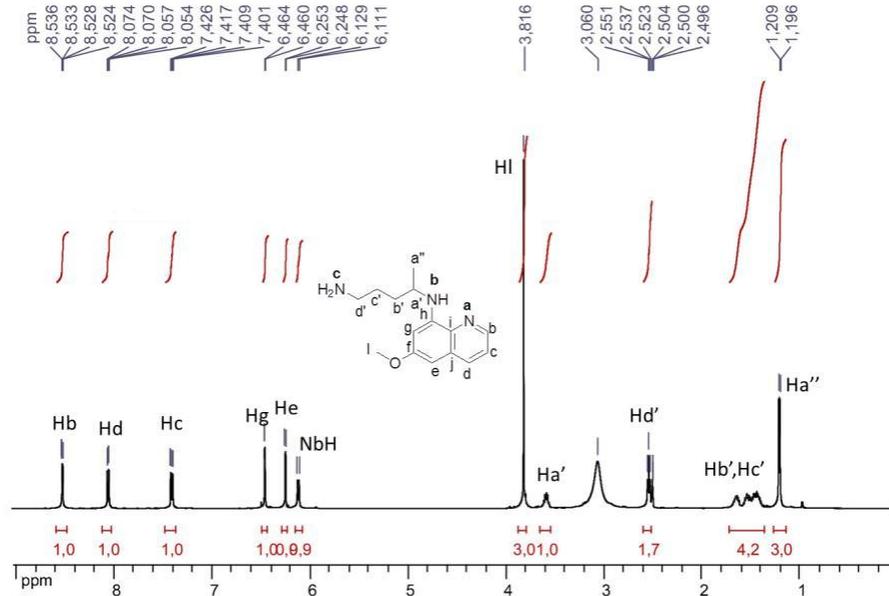
Figura 22 - Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho da primaquina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

No RMN de ¹H da primaquina (Figura 23) é possível observar um sinal em 1,97 ppm com integral de três hidrogênios, referente aos hidrogênios do grupo metila a''. Os hidrogênios dos grupos CH₂ Cb' e Cc', e Cd' são evidenciados como dois multipletos em 1,43 e 2,54 ppm. Ainda na região alifática, notam-se dois outros sinais: um multipletto e um simpleto que são atribuídos hidrogênios dos grupos CH Ca' e ao CH₃ da metoxila. Por fim, na região entre 6,11 e 8,54 ppm percebem-se os sinais dos hidrogênios do anel quinolínico e do NH.

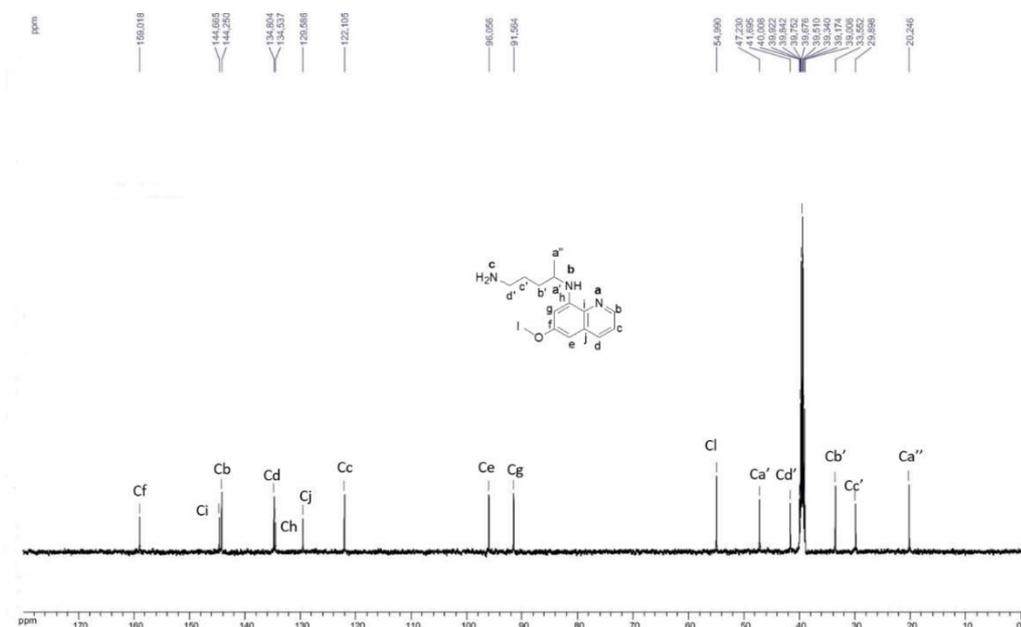
Figura 23 - RMN de ^1H da primaquina em DMSO-d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O espectro de RMN de ^{13}C da primaquina encontra-se na Figura 24. As atribuições foram feitas com o auxílio de espectros de RMN de duas dimensões (Apêndice B). No espectro, é possível visualizar sinais na região entre 20,73 e 55,47 ppm que são atribuídos aos carbonos alifáticos da molécula e na região entre 92,04 e 159,50 ppm notam-se os carbonos aromáticos.

Figura 24 - Espectro de RMN de ^{13}C da primaquina em DMSO-d_6 (125 MHz).

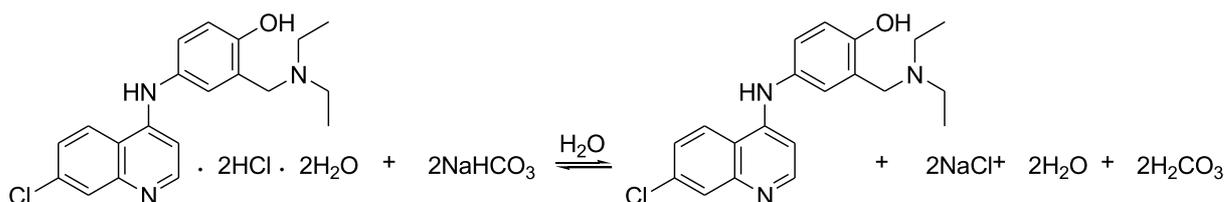


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.1.3 Amodiaquina

A amodiaquina base livre, foi obtida após o tratamento da amodiaquina dicloridrato com bicarbonato de sódio, como pode ser visto no esquema 3.

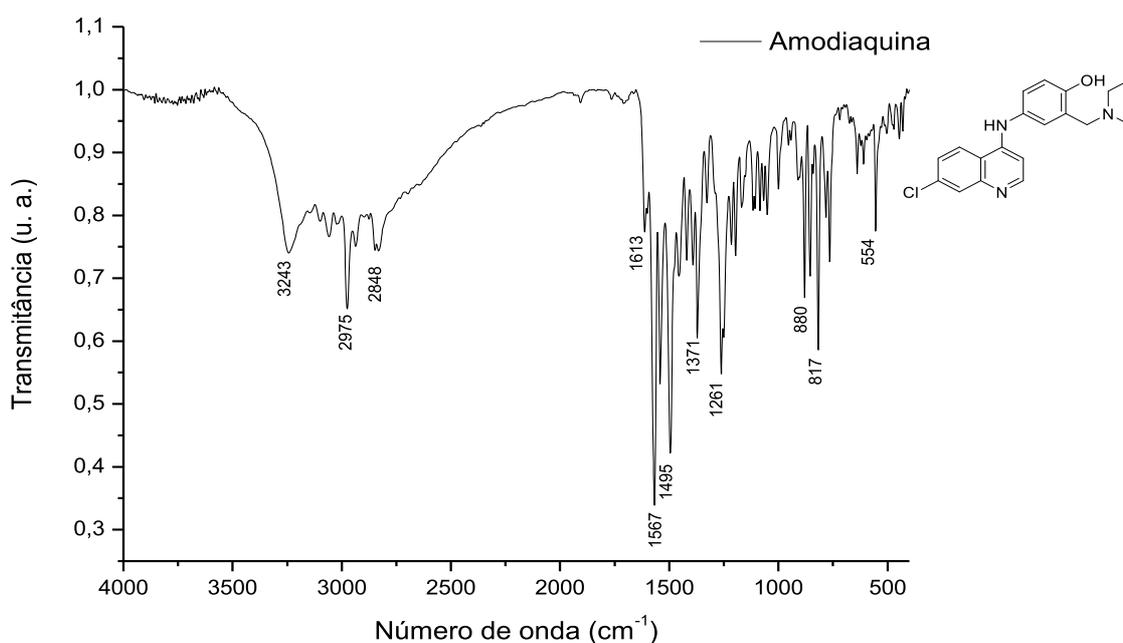
Esquema 3 - Obtenção da amodiaquina base livre.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho se encontra na Figura 25, onde é possível observar as bandas características dos estiramentos ν (NH) 3243 cm⁻¹, ν (C-H alifático) 2975 e 2848 cm⁻¹, ν (C=C) 1613 cm⁻¹ e ν (C=N) 1567 cm⁻¹.

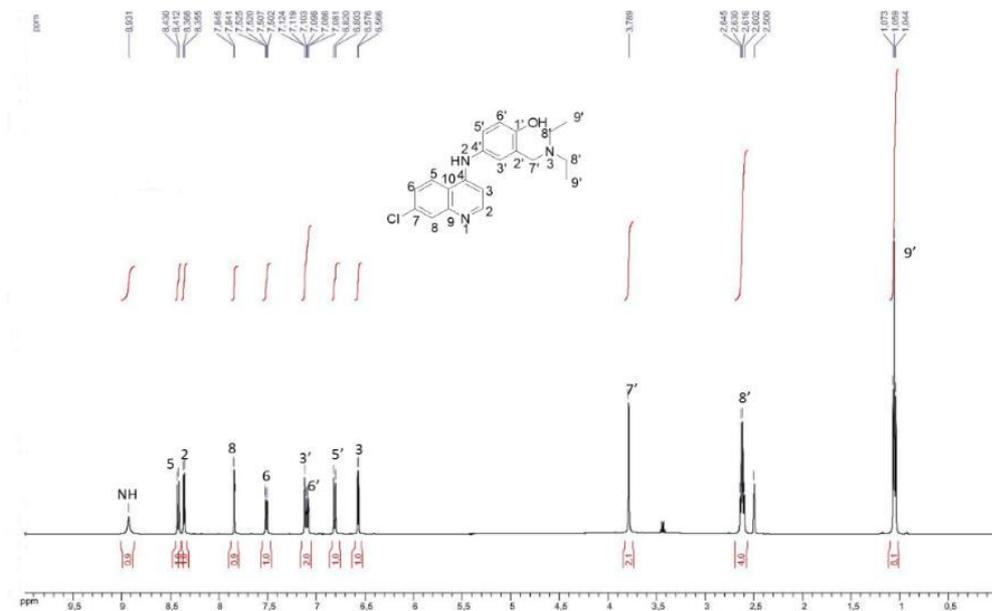
Figura 25 - Espectro de absorção vibracional na região do infravermelho da amodiaquina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

No espectro de RMN de ^1H da amodiaquina (Figura 26), nota-se na região característica de hidrogênios oriundos de grupos alifáticos um sinal em 1,06 ppm com valor de integral igual a seis, que é atribuído aos hidrogênios dos grupos CH_3 da molécula. Seguidamente, observam-se dois sinais em 2,60 e 3,77 ppm, que são referentes aos hidrogênios dos grupos CH_2 da molécula. Por fim, na região entre 6,57 e 8,93 ppm notam-se os sinais atribuídos aos hidrogênios dos anéis aromáticos.

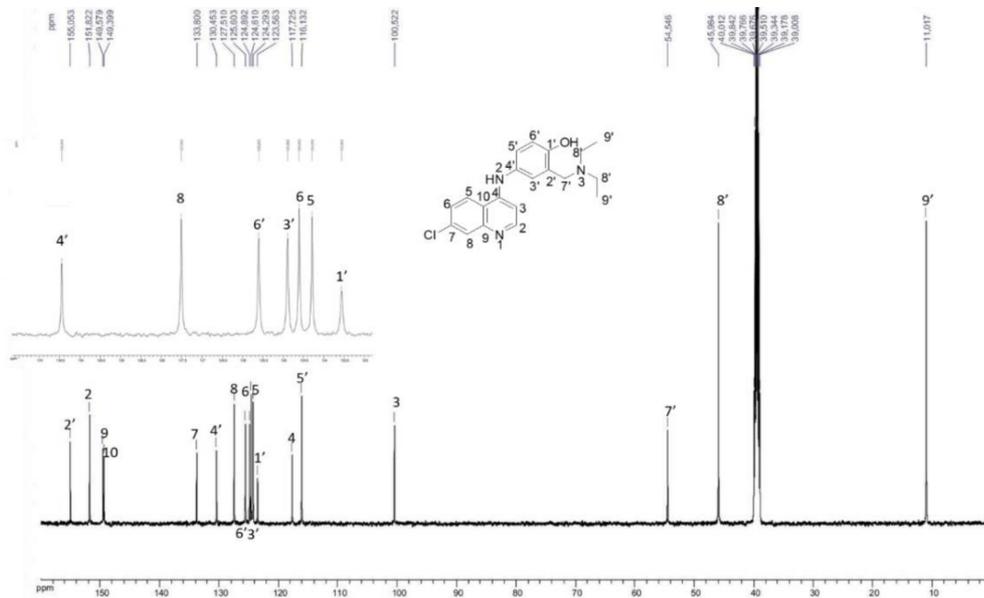
Figura 26 - Espectro de RMN de ^1H da amodiaquina em DMSO-d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

No espectro de RMN de ^{13}C da amodiaquina (Figura 27), nota-se na região entre 11,46 e 54,99 ppm, os sinais dos carbonos dos grupos CH_2 e CH_3 da amina alifática e na região entre 100,97 e 155,5 ppm os carbonos dos anéis aromáticos presentes na estrutura da amodiaquina.

Figura 27 - Espectro de RMN de ^{13}C da amodiaquina em DMSO- d_6 (125 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2 COMPLEXOS METÁLICOS HÍBRIDOS E COMPLEXOS METÁLICOS PRECURSORES DOS HÍBRIDOS

Também serão mostrados os resultados obtidos para os precursores dos híbridos áuricos e para os híbridos.

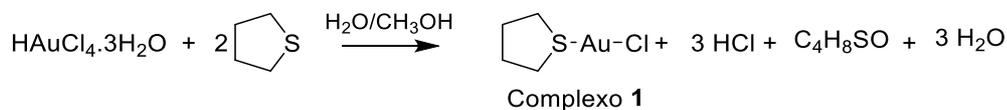
4.2.1 Complexos metálicos precursores

Inicialmente serão descritos os resultados obtidos para os complexos metálicos precursores.

4.2.1.1 Complexo 1

Com o objetivo de se obter complexos contendo em sua estrutura dois fármacos antimaláricos diferentes, inicialmente foi sintetizado um complexo precursor que contém em sua estrutura dois ligantes lábeis, como pode ser observado no esquema 4. O complexo obtido foi o cloro(tetrahidrotiofeno)ouro(I) (AuClTHT), que foi caracterizado por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C e está de acordo com o esperado.

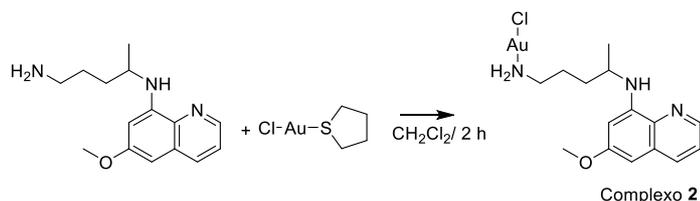
Esquema 4 - Síntese do complexo AuCITHT.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2.1.2 Complexo 2

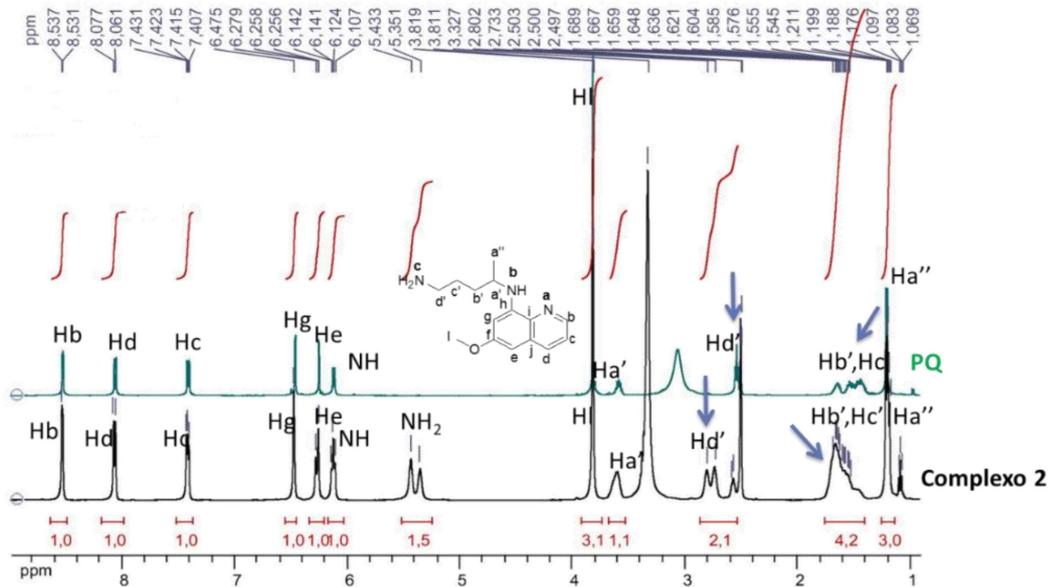
O complexo **2**, precursor dos complexos metálicos híbridos, foi obtido por meio da reação do complexo metálico **1** (AuCITHT) com a primaquina base livre (esquema 5), onde ocorre a substituição do ligante tetrahidrotiofeno pelo fármaco em questão, obtendo-se então o composto AuCIPQ.

Esquema 5 - Síntese do complexo **2**.

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Na Figura 28, encontra-se o espectro de RMN de ^1H do complexo **2** (complexo precursor) em comparação com o espectro de RMN de ^1H da primaquina. Não foram observados deslocamentos nos sinais referentes aos hidrogênios do anel aromático e nem no sinal atribuído ao hidrogênio do NH. No entanto, nota-se o deslocamento do sinal dos hidrogênios do grupo CH_2 que se encontra diretamente ligado ao grupo NH_2 , o que sugere a coordenação da primaquina ao ouro(I) por meio do NH_2 .

Figura 28 - Espectro de RMN de ^1H do complexo **2** e da primaquina em DMSO- d_6 . As setas indicam o deslocamento dos hidrogênios (500 MHz).

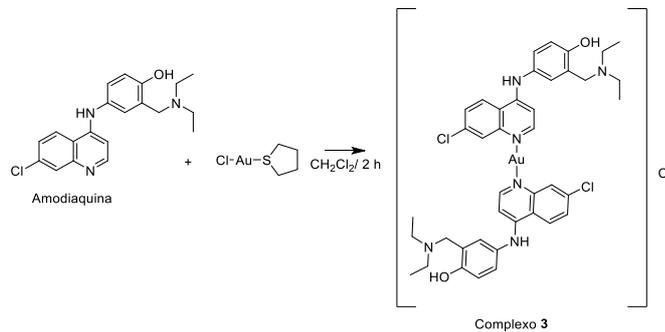


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2.1.3 Complexo 3

O complexo **3** foi obtido por meio da reação do complexo **1** com o fármaco amodiaquina como um sólido laranja, conforme pode ser observado no esquema 6.

Esquema 6 - Síntese do complexo **3**.

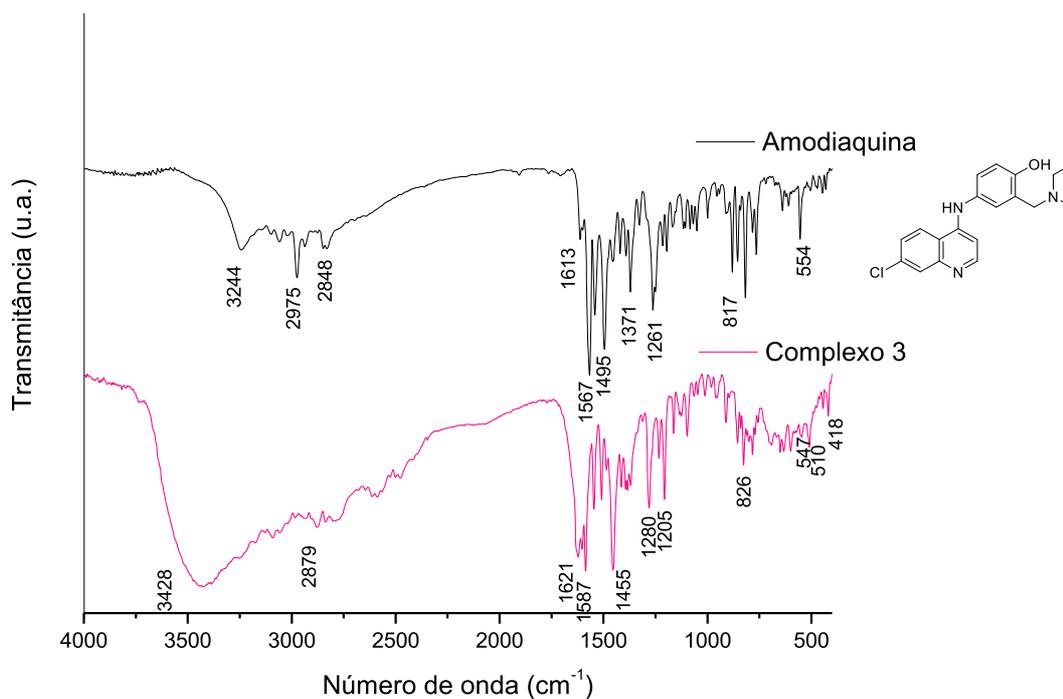


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

No espectro de infravermelho do complexo **3** (Figura 29) é possível observar uma banda larga em 3428 cm^{-1} que é atribuída aos estiramentos OH e NH. Também nota-se uma banda em 2879 cm^{-1} referente ao estiramento CH alifático e por fim, percebe-se em 1621 cm^{-1} e 1587 cm^{-1}

¹ duas bandas que são atribuídas aos estiramentos C=C e C=N (NAVARRO et al., 2013). Comparando-se os espectros do complexo **3** e do ligante, tais bandas encontram-se deslocadas.

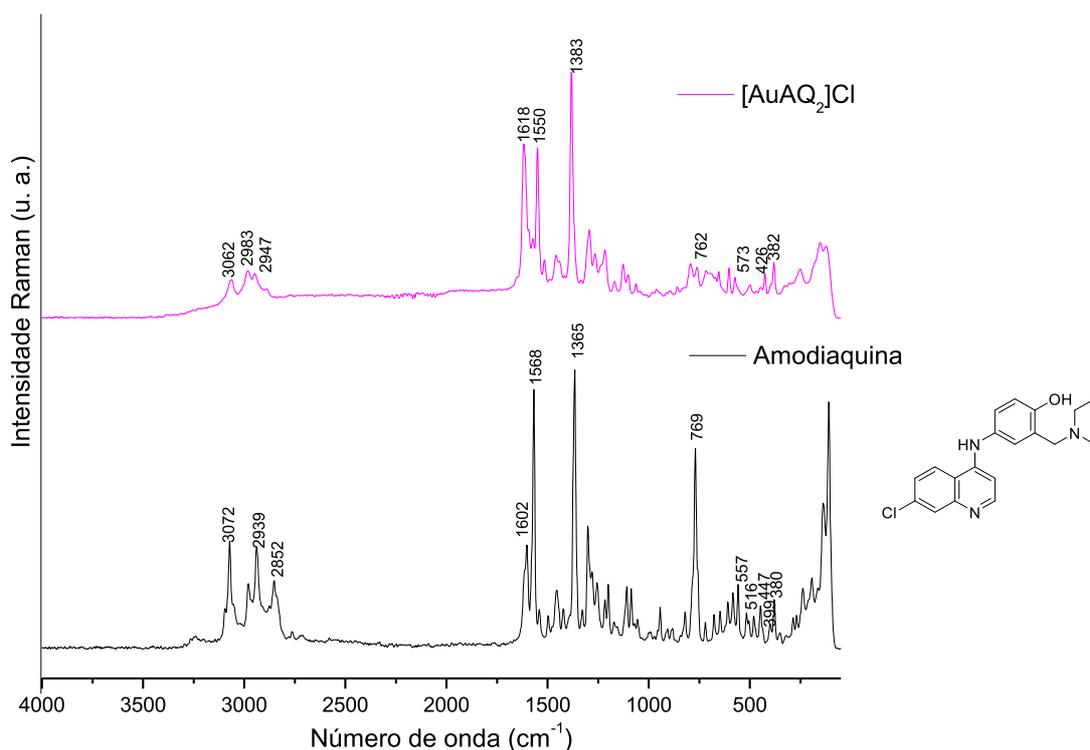
Figura 29 - Espectro de absorção vibracional na região do IV para a amodiaquina e o complexo **3**.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Conjuntamente a obtenção do espectro de IV, foi obtido o espectro RAMAN do complexo **3**. Observando-se o espectro Raman (Figura 30), é possível visualizar bandas características do fármaco aminoquinolínico que origina o complexo em 3062 cm^{-1} (CH de alifático), 2983 cm^{-1} e 2947 cm^{-1} (CH de alifático), 1618 cm^{-1} (C=C) e 1550 cm^{-1} (C=N). As bandas mencionadas encontram-se deslocadas com relação ao ligante livre. Além disso, houve o surgimento de uma banda em 426 cm^{-1} , que pode ser atribuída ao estiramento Au-N, sugerindo a formação do complexo metálico.

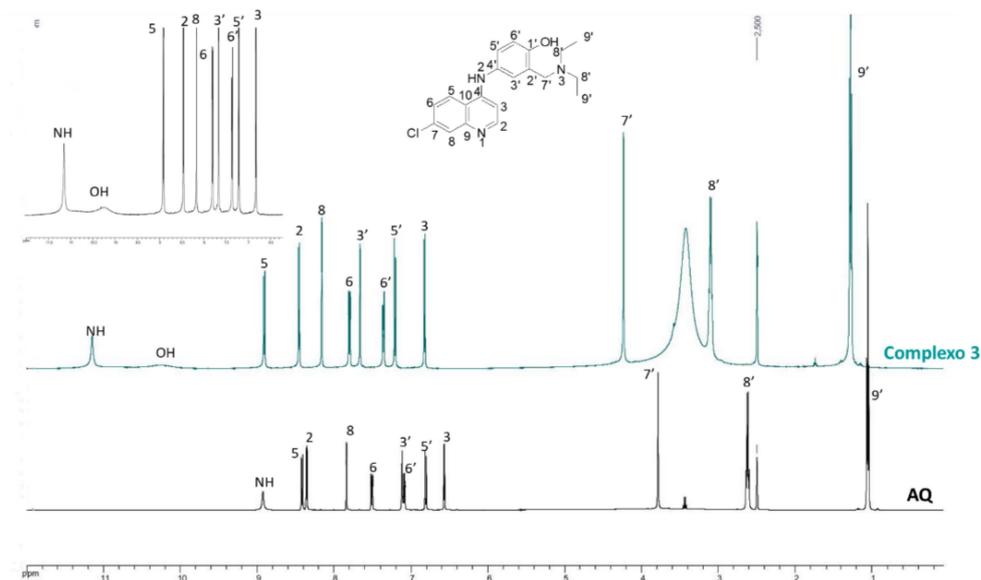
Figura 30 - Espectro Raman da amodiaquina e do complexo 3.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O complexo **3** também foi caracterizado por espectroscopia de RMN de 1H (Figura 31), onde é possível perceber o deslocamento de todos os sinais da molécula, porém, como pode ser visto na tabela 1, os sinais que mais se deslocaram foram o sinal hidrogênios dos grupos CH_2 ($H8'$ e $H7'$) da amina alifática, o sinal hidrogênio do NH e dos hidrogênios aromáticos $H3'$, $H5'$, $H8$ e $H5$, o que indica que a coordenação da amodiaquina ao ouro(I) pode estar ocorrendo por meio do nitrogênio quinolínico e que o hidrogênio do NH pode estar sendo afetado pela ressonância da molécula, bem como os hidrogênios do outro anel aromático. No tocante ao deslocamento de sinais próximos a amina terciária, acredita-se que o principal fator que causa tais deslocamentos é a possibilidade de interação de hidrogênio entre o nitrogênio da amina com o grupo hidroxila. A presença de interação de hidrogênio pode ser evidenciada pelo surgimento de um sinal atribuído ao OH no espectro do complexo quando comparado ao da amodiaquina, dado que em razão da presença de tal interação, o hidrogênio do referido grupo não é trocado pelo deutério do solvente utilizado no experimento sob as condições de temperatura e tempo empregadas.

Figura 31 - Espectros de RMN de ^1H do ligante amodiaquina e do complexo **3** em DMSO-d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

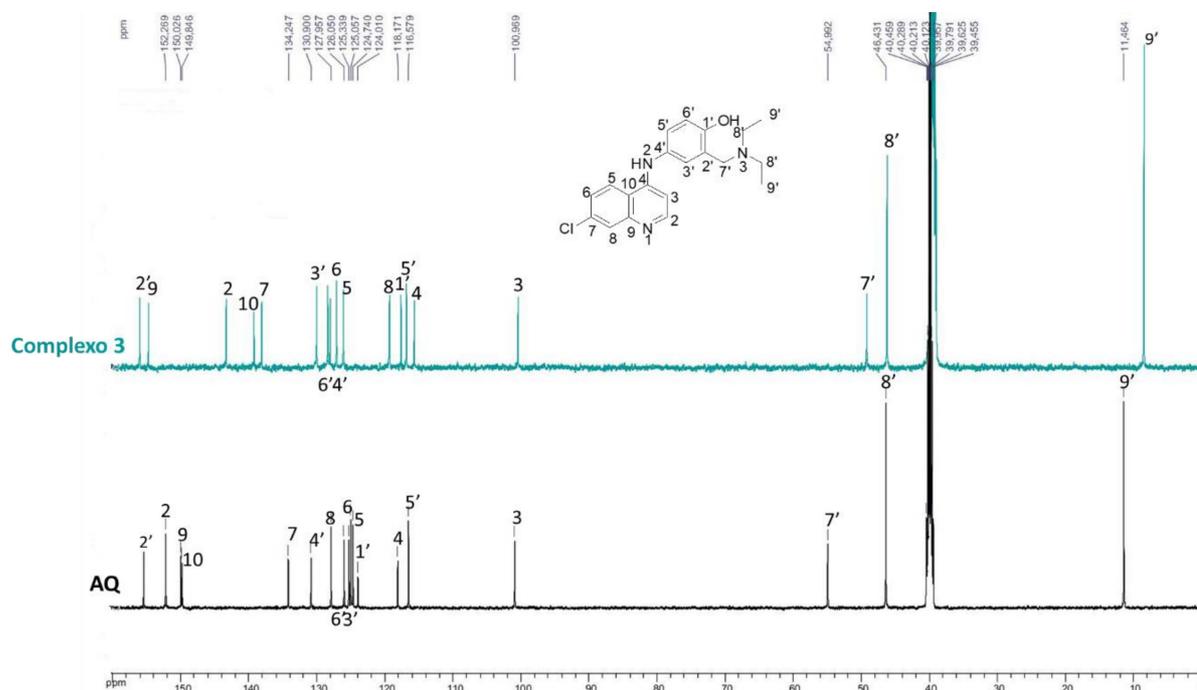
Tabela 1 - Deslocamento químico do complexo **3** com relação a amodiaquina.

Amodiaquina δ (ppm)	Complexo 3 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
H9' - 1,06	H9' - 1,28	0,22
H8' - 2,61	H8' - 3,09	0,48
H7' - 3,79	H7' - 4,23	0,44
H3 - 6,57	H3 - 6,81	0,24
H5' - 6,80	H5' - 7,20	0,4
H6' - 7,08	H6' - 7,34	0,26
H3' - 7,12	H3' - 7,66	0,54
H6 - 7,50	H6 - 7,78	0,28
H8 - 7,84	H8 - 8,15	0,31
H2 - 8,35	H2 - 8,45	0,1
H5 - 8,41	H5 - 8,87	0,46
NH - 8,93	NH - 10,95	2,02

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O espectro RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ encontra-se na Figura 32, onde é possível perceber deslocamentos tanto na região alifática, quanto na região aromática, o que está de acordo com o observado por meio do RMN de ^1H .

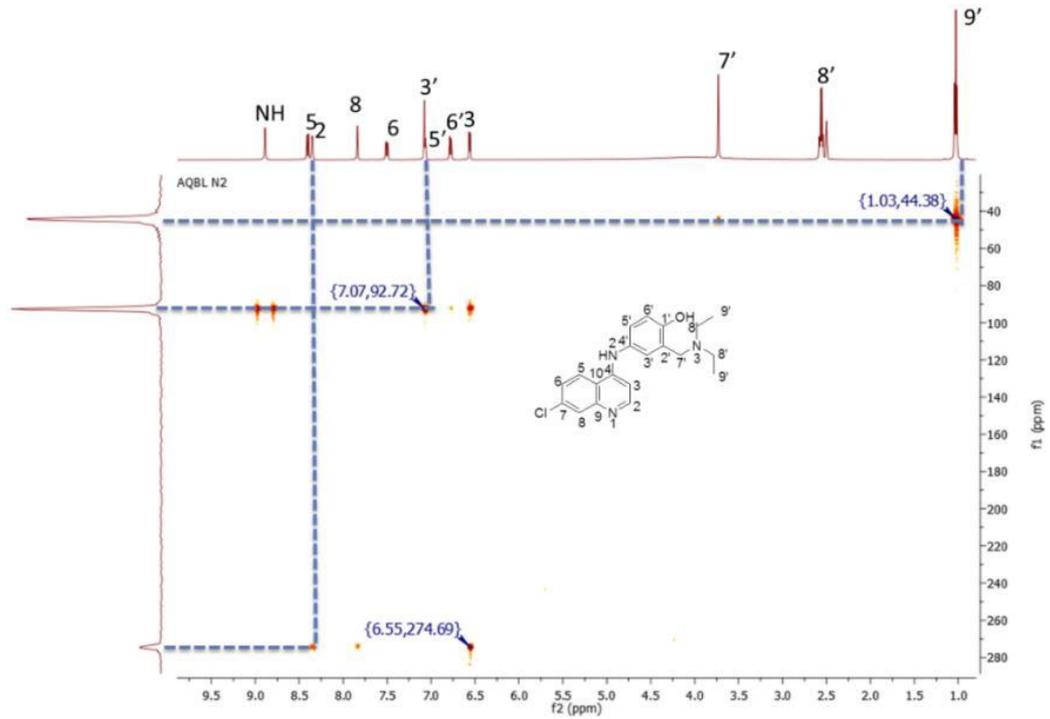
Figura 32 - Espectros de RMN de ^{13}C do complexo **3** e da amodiaquina em DMSO- d_6 (125 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

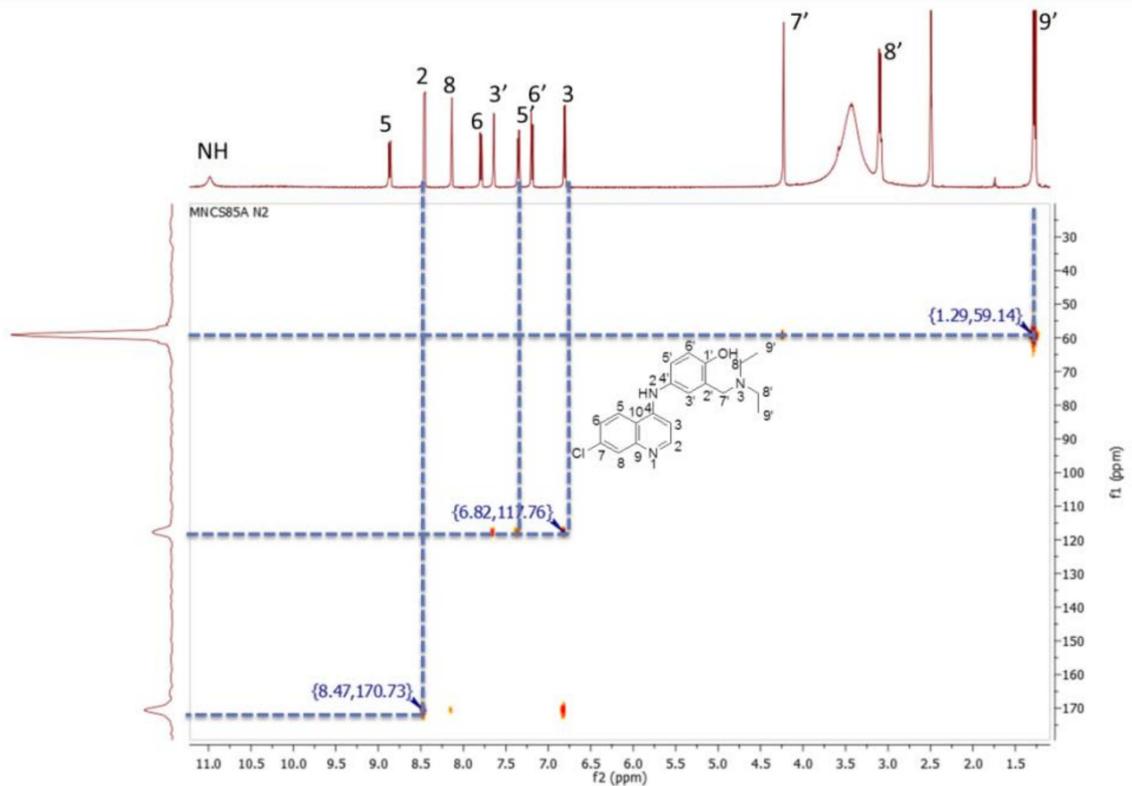
A fim de confirmar a coordenação proposta foi feito o experimento ^1H - ^{15}N HMBC para a amodiaquina base livre (Figura 33) e para o complexo **3** (Figura 34), nos quais foi possível perceber que os três nitrogênios apresentaram deslocamento, sendo de -103,96, 25,04 e 14,76 ppm para os nitrogênios N1, N2 e N3, respectivamente, conforme pode ser visto na tabela 2. De acordo com os resultados obtidos neste experimento, sugere-se a coordenação da amodiaquina ao íon metálico por meio do nitrogênio quinolínico, visto que o sinal deste nitrogênio foi o que apresentou maior deslocamento. Tal resultado concorda com os dados obtidos por meio das demais técnicas empregadas. Os valores de deslocamento químico obtidos por meio do experimento de ^1H - ^{15}N HMBC concordam com valores presentes na literatura (SILVERSTEIN, 2006).

Figura 33 - Espectro de ^1H - ^{15}N HMBC para a amodiaquina em DMSO- d_6 .



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 34 - Espectro de ^1H - ^{15}N HMBC para o complexo **3** em DMSO- d_6 .



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

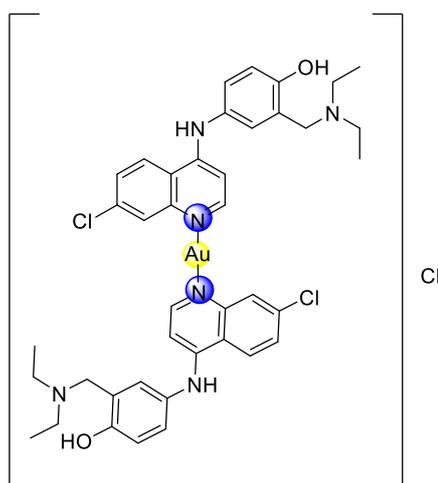
Tabela 2 - Deslocamento de ^{15}N para o complexo **3** em comparação com a amodiaquina.

AQ δ (ppm)	Complexo 3 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
N1 274,69	N1 170,73	-103,96
N2 92,72	N2 117,76	25,04
N3 44,38	N3 59,14	14,76

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Com base nos resultados de porcentagem de carbono, hidrogênio e nitrogênio (item 3.5.3), propõe-se a presença de dois ligantes amodiaquina para cada ouro(I) na fórmula molecular do complexo **3**, tendo o íon cloreto como contra-íon. De acordo com a espectroscopia de RMN sugere-se a coordenação dos ligantes ao íon metálico, por meio do nitrogênio do anel aromático (Figura 35).

Com relação a condutividade, o valor obtido foi de $67,10 \pm 0,58 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$, que se encontra no intervalo de eletrólitos 1:1 (GEARY, 1971). O resultado da determinação da condutividade concorda com a estrutura proposta, onde o complexo obtido apresenta carga +1 e o cloreto atua como contra-íon.

Figura 35 - Estrutura proposta para o complexo **3**.

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

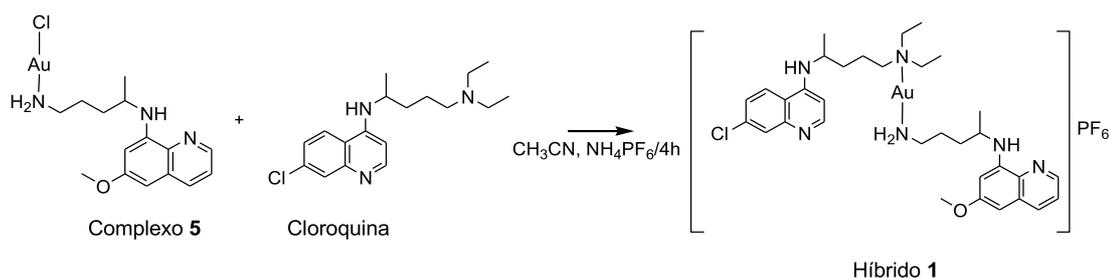
4.2.2. Complexos metálicos híbridos

Em seguida, ao longo do item 4.2.2 serão descritos os resultados referentes aos híbridos de ouro(I).

4.2.2.1 Híbrido 1

O híbrido áurico [AuCQPQ]PF₆ foi obtido por meio da reação de substituição do ligante cloreto pela cloroquina (esquema 7), onde utilizou-se o NH₄PF₆ com a finalidade de facilitar a saída do ligante cloreto e obter um complexo metálico contendo o PF₆⁻ como contra-íon.

Esquema 7 - Síntese do híbrido 1.

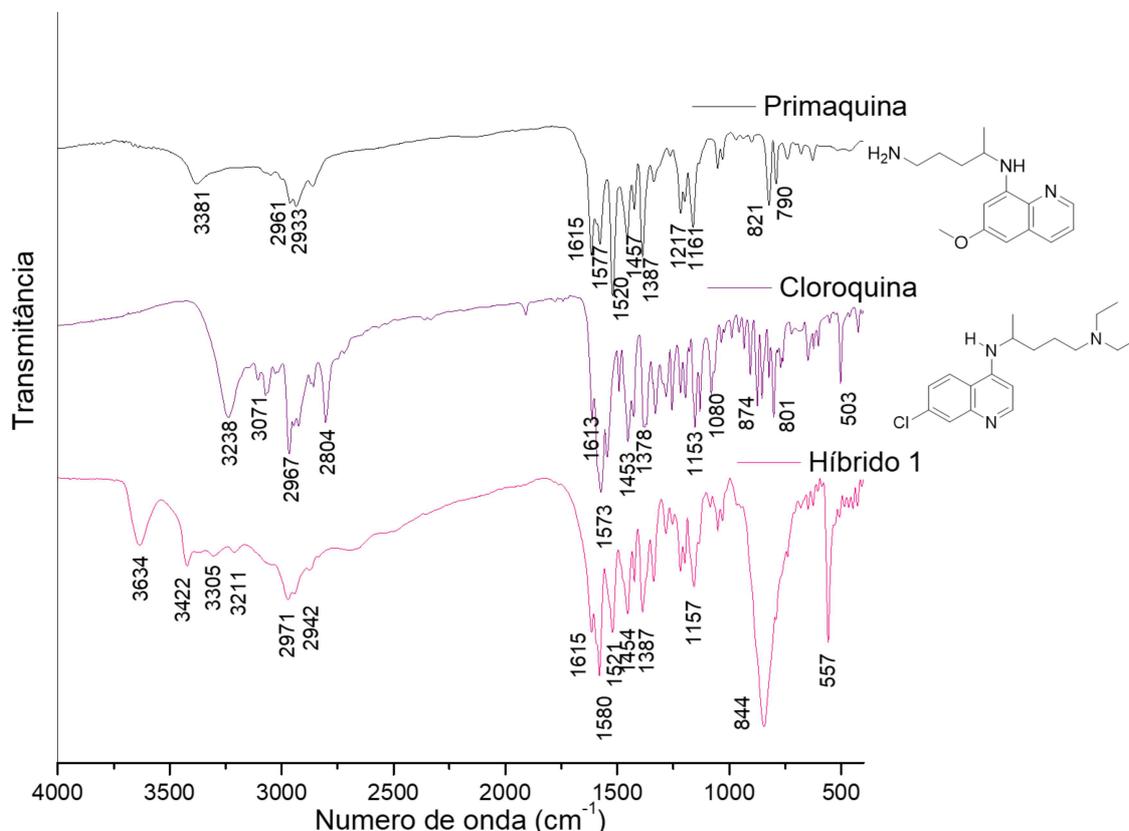


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Com o intuito de elucidar a estrutura do híbrido áurico **1** foram utilizadas as técnicas espectroscópicas já mencionadas. Inicialmente foi obtido o espectro de absorção na região do infravermelho, que se encontra na Figura 36. No espectro de infravermelho é possível perceber bandas em 3634, 3422 e 3305 cm⁻¹, que são atribuídas aos estiramentos NH da molécula e comparando o espectro do híbrido de ouro(I) com o da primaquina nota-se um deslocamento de 41 cm⁻¹, para maiores números de onda, do referido estiramento. Também observam-se bandas em 2971 e 2942 cm⁻¹ que são características do estiramento CH alifático (SILVERSTEIN, 2006).

Seguidamente, se observa em 1615 e em 1580 cm⁻¹ bandas referentes aos estiramentos C=N e C=C cm⁻¹, e que em comparação com os espectros dos fármacos não apresentam deslocamentos significativos. Finalmente, é possível perceber o surgimento de duas bandas em 844 e 557 cm⁻¹ no espectro do híbrido metálico, que são atribuídas, respectivamente, ao estiramento e deformação angular do PF₆, confirmando assim a presença do contra-íon (COLINA-VEGAS et al., 2016).

Figura 36 - Espectros de absorção vibracional na região do IV para o híbrido **1** e para os ligantes de origem.

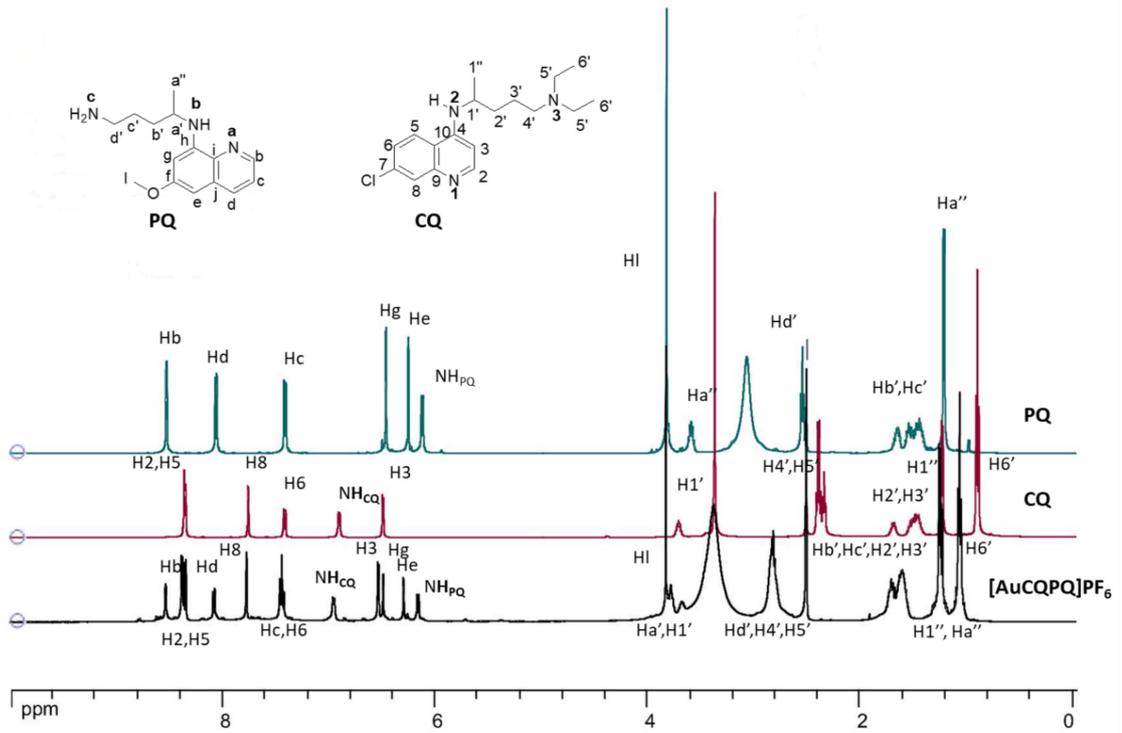


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

No apêndice A, encontram-se os espectros eletrônicos do híbrido **1** e dos fármacos que o compõem. Com base nos espectros de absorção vibracional na região do infravermelho híbrido **1**, observa-se uma banda intensa em 340 nm seguida de um ombro, correspondente as transições π - π^* dos ligantes.

Os espectros de RMN de hidrogênio do híbrido **1** e dos ligantes encontram-se na Figura 37. Com base no espectro do híbrido áurico pode-se perceber apresenta os sinais de hidrogênio dos seus respectivos precursores. Como pode-se perceber com base no espectro e na tabela 3, após a coordenação da cloroquina ao metal os sinais que mais se deslocaram foram aqueles atribuídos aos hidrogênios dos grupos CH₂ 4' e 5', que apresentaram um deslocamento de 0,44 ppm para uma região de menor blindagem. Tal fato sugere a coordenação da cloroquina ao metal por meio do nitrogênio da amina terciária. Comparando os espectros do complexo metálico e da primaquina, nota-se uma desblindagem de 0,22 ppm no sinal referente aos hidrogênios do grupo CH₂ que está diretamente ligado ao NH₂, o que é um indício da coordenação da primaquina ao metal por meio do NH₂.

Figura 37 - Espectros de RMN de ^1H para o híbrido **1** e para os ligantes de origem em DMSO- d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

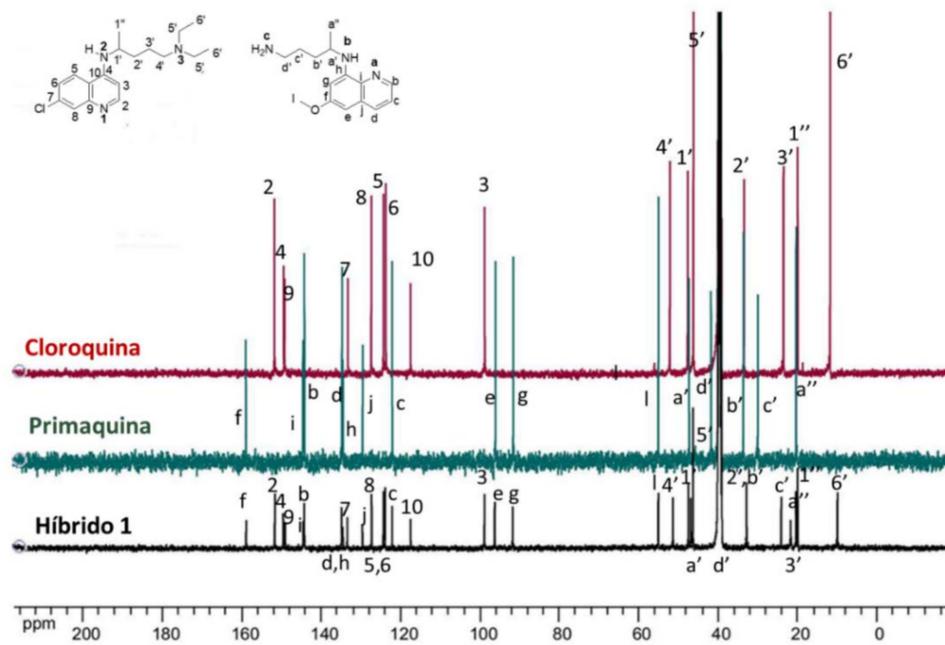
Tabela 3 - Valores de deslocamentos químicos para o híbrido **1** em relação aos ligantes,

CQ δ (ppm)	PQ δ (ppm)	Híbrido 1 δ (ppm)	Δδ (ppm)
H6' - 0,89	Ha'' - 1,20	H6' - 1,05	H6' - 0,16
H1'' - 1,21	H b',c' -1,43	Ha'',1'' - 1,22	Ha'' - 0,02 H1'' - 0,01
H 2',3' -1,44	Hd' - 2,54	Hb',c',2',3'- 1,57	Hb',c' - 0,14 H2',3' - 0,13
H4' - 2,32	Ha' - 3,58	Hd',4',5' - 2,76	Hd' - 0,22 H4' - 0,44 H5' - 0,40
H5' - 2,36	Hl - 3,82	Ha' - 3,67	Ha' - 0,09
H1' - 3,70	NHPQ - 6,11	H1' - 3,76	H1' - 0,06
H3 - 6,48	He - 6,25	Hl - 3,82	Hl - 0
NHCQ - 6,89	Hg - 6,46	NHPQ - 6,15	NHPQ - 0,04
H6 - 7,40	Hc - 7,40	He - 6,29	He - 0,05
H8 - 7,76	Hd - 8,05	Hg - 6,49	Hg - 0,03
H5 - 8,35	Hb - 8,52	H3 - 6,52	H3 - 0,04
H2 - 8,36		NHCQ - 6,94	NHCQ - 0,05
		Hc,6 - 7,42	Hc,6 - 0,02
		H8 - 7,77	H8 - 0,01
		Hd - 8,07	Hd - 0,02
		H2,5 - 8,35	H2 - 0,01 H5 - 0
		Hb - 8,54	Hb - 0,02

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Os espectros de RMN de carbono do híbrido **1** e dos ligantes encontram-se na Figura 38, e a partir da comparação de tais espectros, nota-se o deslocamento dos sinais dos carbonos 4' (0,78 ppm) e 6' (1,84 ppm), provenientes da cloroquina e do sinal referente ao carbono d' (2,18 ppm) oriundo do fármaco primaquina. Tais deslocamentos estão de acordo com a coordenação proposta por meio da análise do espectro de RMN de ¹H.

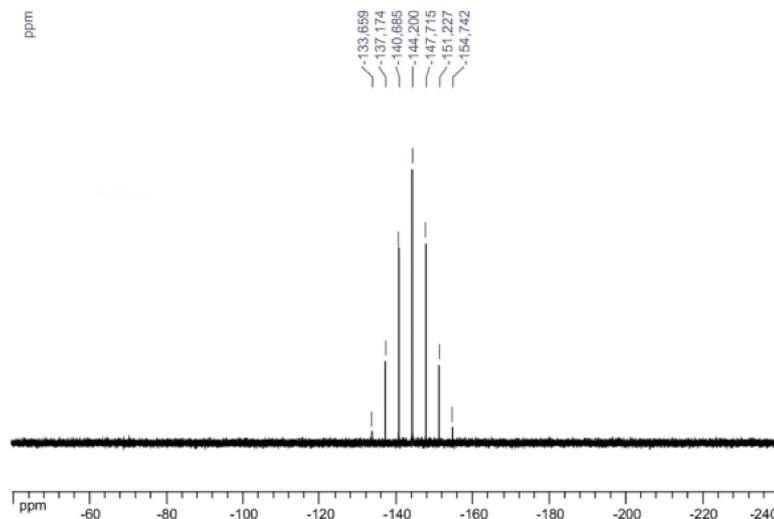
Figura 38 - Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **1** e dos fármacos de origem em DMSO- d_6 (125 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Encontra-se na Figura 39, o espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do híbrido de ouro(I). Onde é possível evidenciar um septeto em -144,2 ppm correspondente ao contra-íon PF_6^- , confirmando sua presença.

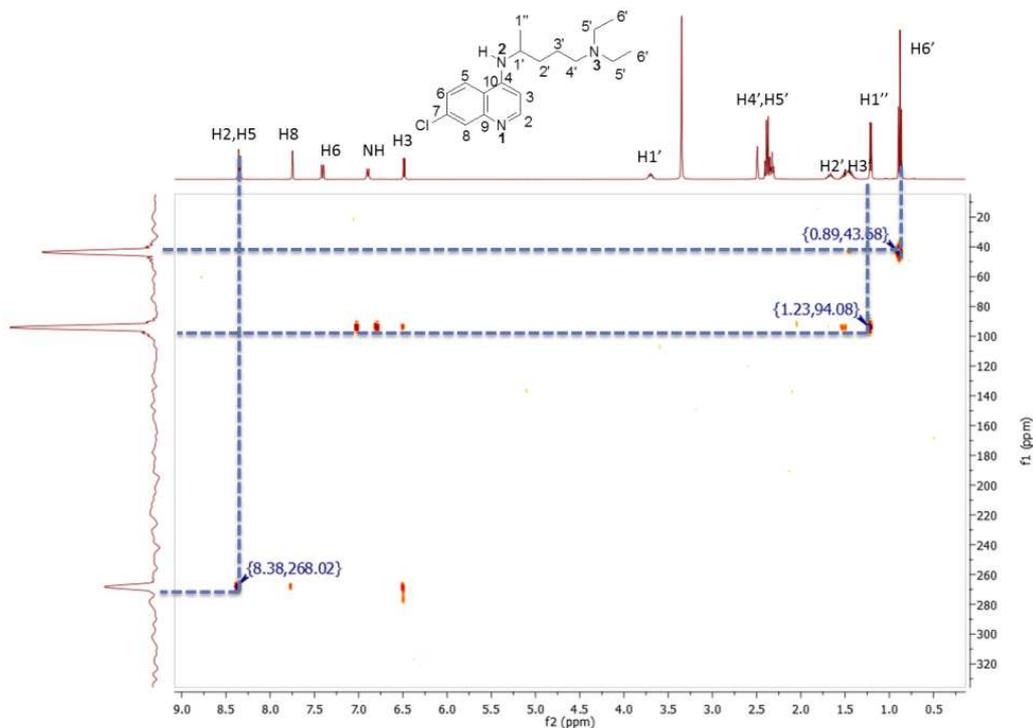
Figura 39 - Espectro de RMN de ^{31}P para o híbrido **1** em DMSO- d_6 (202 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

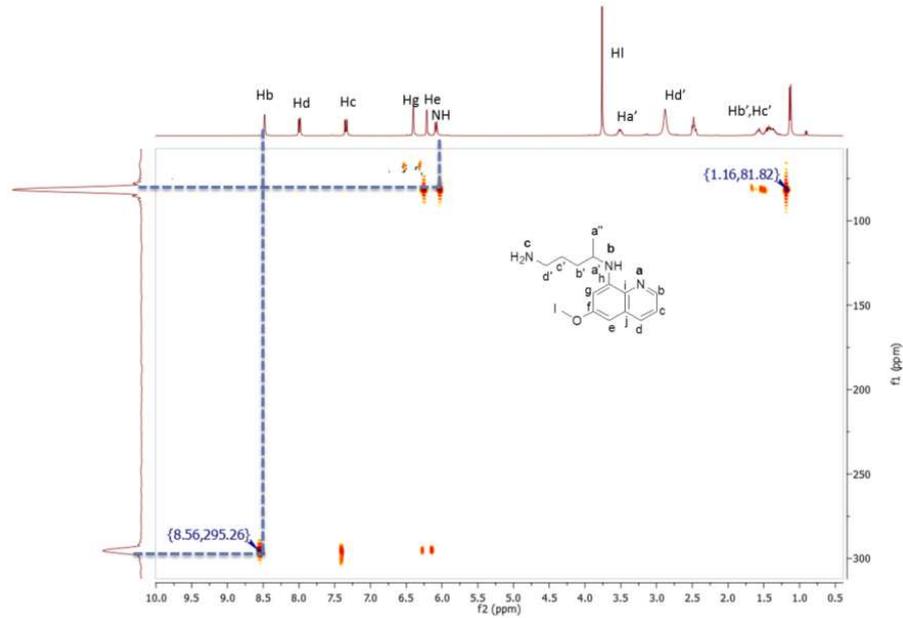
Com o objetivo de confirmar o modo de coordenação do metal aos ligantes, foram obtidos espectros comparativos de RMN de ^1H - ^{15}N HMBC para os ligantes livres (Figuras 40 e 41) e para o híbrido metálico (Figura 42). Os deslocamentos químicos dos nitrogênios podem ser observados na tabela 4. Comparando-se o espectro do híbrido com o do fármaco cloroquina, nota-se um deslocamento de 8 ppm no sinal referente ao nitrogênio da amina terciária, o que sugere a coordenação proposta. Já com relação a primaquina, o sinal referente ao nitrogênio do NH_2 não foi visualizado. Portanto, não foram obtidas evidências da coordenação do ouro(I) a primaquina por meio do RMN de nitrogênio. Os valores de deslocamento químico obtidos por meio do experimento de ^1H - ^{15}N HMBC concordam com valores presentes na literatura (SILVERSTEIN, 2006).

Figura 40 - Espectro de ^1H - ^{15}N HMBC para a cloroquina em DMSO-d_6 .



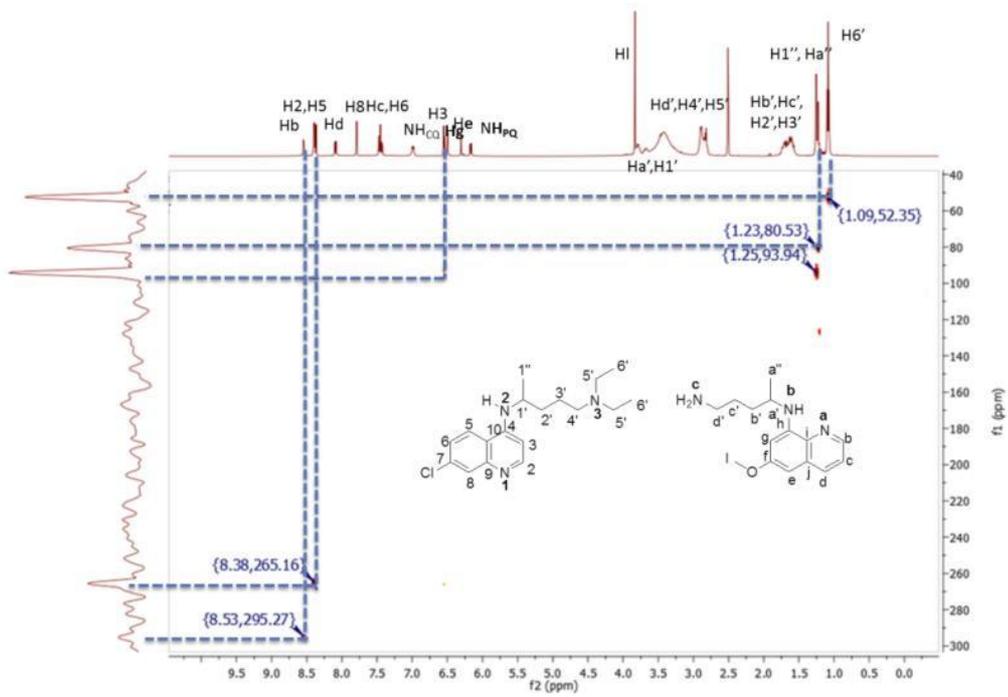
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 41 - Espectro de ^1H - ^{15}N HMBC para a primaquina em DMSO- d_6 .



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 42 - Espectro de ^1H - ^{15}N HMBC para o híbrido 1 em DMSO- d_6 .



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

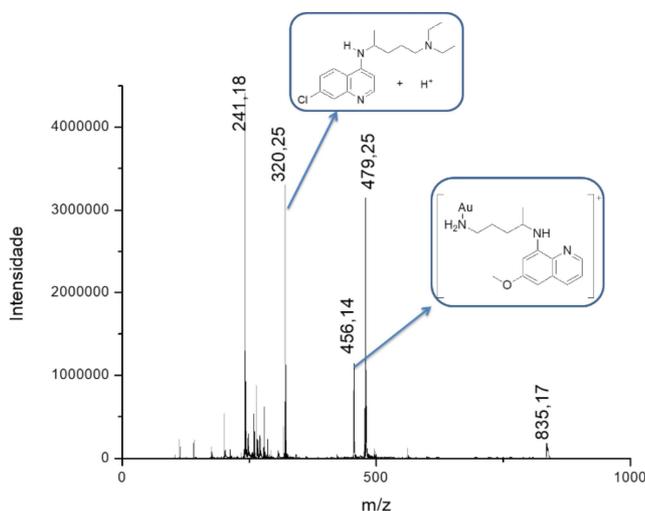
Tabela 4 - Deslocamentos químicos de ^{15}N para o híbrido **1** em comparação com os ligantes.

CQ δ (ppm)	PQ δ (ppm)	Híbrido 1 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
N1 268,02	Na 295,26	N1 265,16	-2,86
N2 94,08	Nb 81,82	N2 93,94	-0,14
N3 43,68	Nc ---	N3 52,35	8,67
		Na 295,27	0,01
		Nb 80,53	-1,29
		Nc ----	-----

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

A condutividade do composto foi medida a partir de uma solução de concentração 1 mM do híbrido áurico em DMSO. O valor obtido ($39,18 \pm 0,06 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$) se encontra dentro da faixa de eletrólitos 1:1 neste solvente (VELHO, 2006), o que está em conformidade com a estrutura proposta e se assemelha ao obtido para complexos de cloroquina do mesmo tipo (DÁVALOS et al., 2013). Os dados de análise elementar de carbono, hidrogênio e de nitrogênio (item 3.5.4) apresentaram uma diferença inferior a 0,5%, o que confirma a fórmula molecular do complexo.

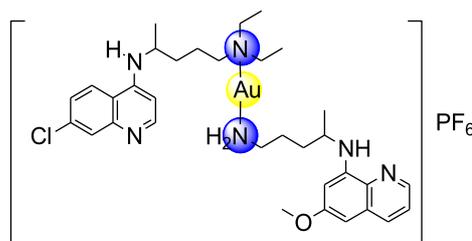
Por fim, foi obtido um espectro de massas para o híbrido **1** (Figura 43), onde é possível observar a presença de fragmentos em 320,25 e em 456,14, que são atribuídos, respectivamente, a cloroquina protonada e ao fármaco primaquina coordenado ao íon metálico ouro(I), o que confirma a formação do complexo metálico de interesse.

Figura 43 - Espectro de massas do híbrido **1**.

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Portanto, com base nos resultados obtidos por meio das técnicas espectroscópicas, pode-se concluir que o híbrido almejado foi obtido e que a coordenação do fármaco cloroquina ao metal ocorre por meio do nitrogênio da amina terciária e a coordenação da primaquina ao ouro ocorre por meio do nitrogênio da amina primária, como pode ser observado na Figura 44.

Figura 44 - Estrutura proposta para o híbrido 1.

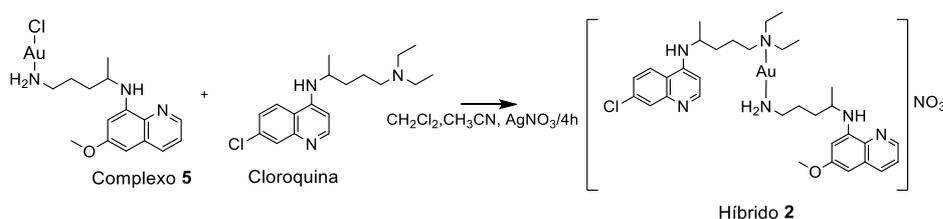


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2.2.2 Híbrido 2

Com o objetivo de se avaliar a contribuição do contra-íon para a solubilidade do complexo metálico, o que pode possivelmente, refletir em um aumento da atividade antiparasitária do híbrido metálico, sintetizou-se um híbrido áurico com estrutura semelhante ao híbrido 1, porém, contendo como contra-íon o nitrato. Para isso substituiu-se o hexafluorofosfato de amônio pelo nitrato de prata, como pode ser visto no esquema 8.

Esquema 8 - Síntese do híbrido 2.

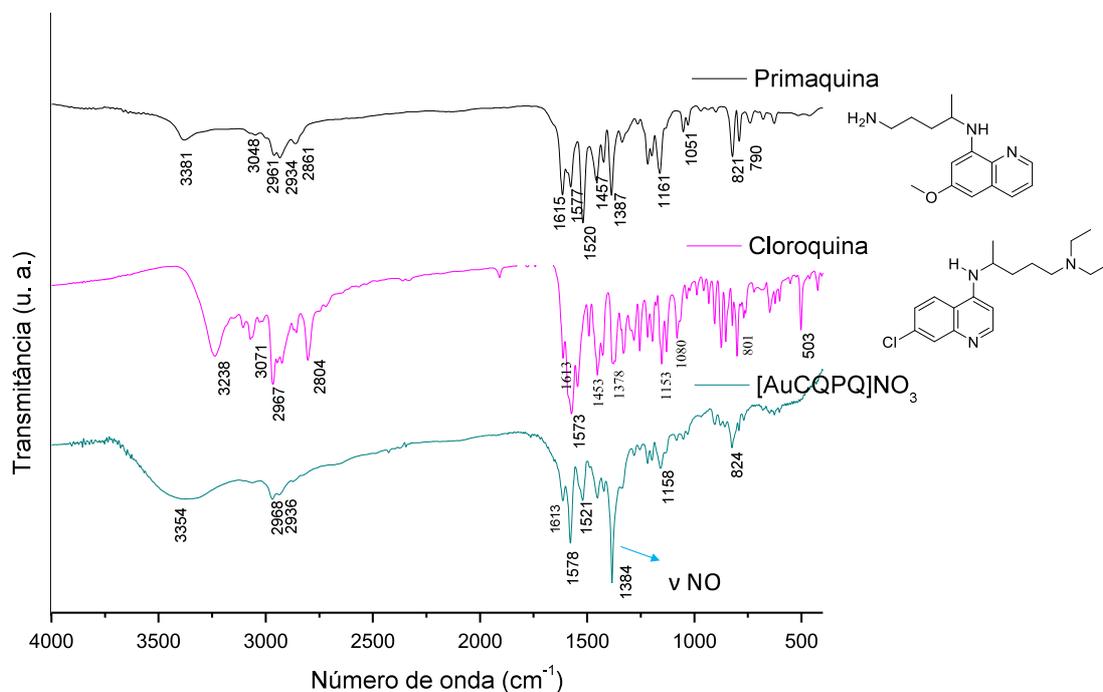


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Os híbridos contendo o NO_3^- como contra-íon (híbrido 2 e 4) foram obtidos sob a forma de óleo e com rendimento baixo, por isso foi feita apenas uma caracterização inicial e a rota sintética será otimizada futuramente, com o objetivo de se encontrar condições que conduzam a melhores rendimentos. Inicialmente o híbrido de ouro(I) foi caracterizado por espectroscopia de absorção vibracional na região do IV (Figura 45) onde é possível perceber a presença das bandas referentes aos fármacos que compõem a estrutura do complexo de ouro(I) e do contra-

íon nitrato (1384 cm^{-1}), confirmando a formação do híbrido análogo ao híbrido **1**, porém, contendo como contra-íon o nitrato ao invés de hexafluorofosfato (SILVERSTEIN, 2006).

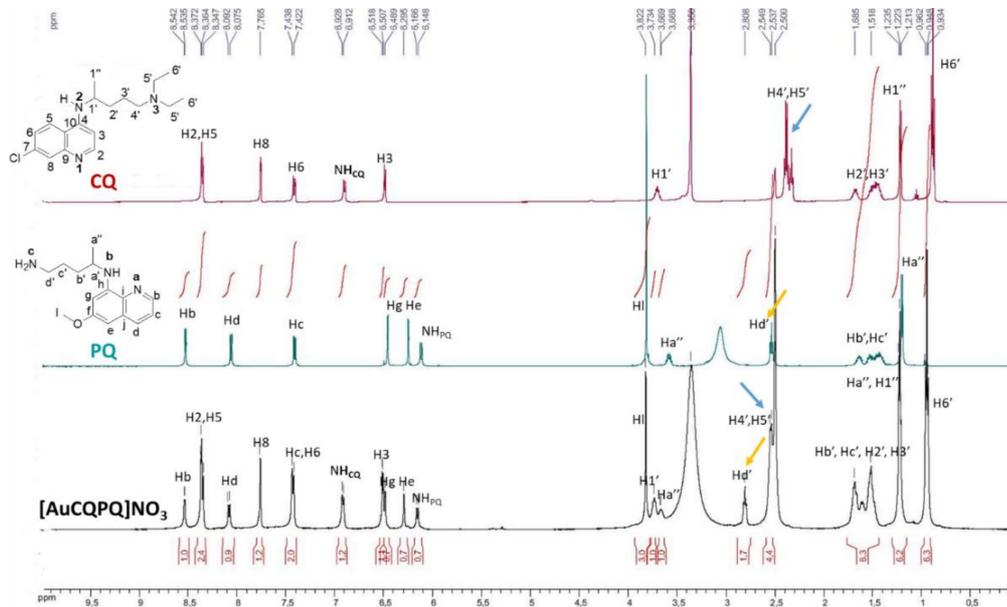
Figura 45 - Espectros de absorção vibracional na região do IV para o híbrido **2** e os fármacos que o originam.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

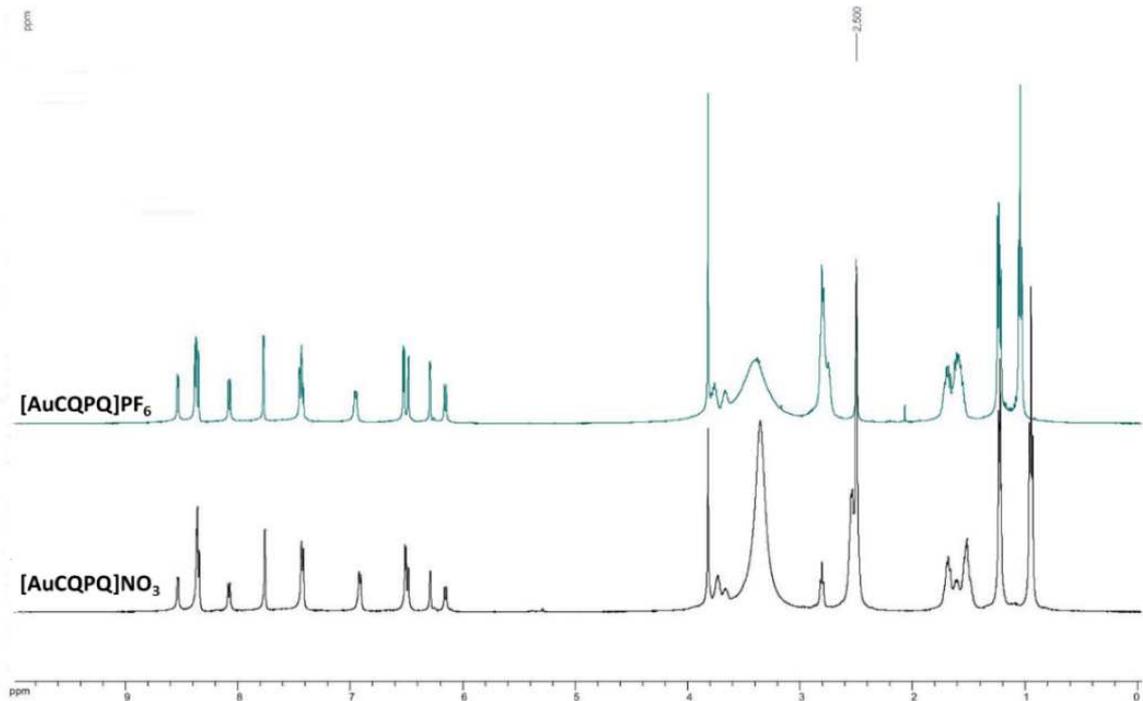
Os espectros de RMN de ^1H dos precursores do híbrido **2** e do híbrido **2** foram obtidos, e como pode ser observado nas Figuras 46 e 47. O espectro do híbrido **2** é equivalente ao obtido para o híbrido contendo PF_6^- (híbrido **1**) como contra-íon, como pode ser observado na Figura 47.

Figura 46 - Espectros de RMN de ^1H do híbrido **2** e dos fármacos que o constituem. As setas indicam o deslocamento dos hidrogênios (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 47 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H dos híbridos **1** e **2** em DMSO- d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Na tabela 5, encontram-se os valores de deslocamento químico de cada sinal em comparação com os ligantes de origem. Com base nesses dados, é possível observar que os sinais que mais se deslocam são os atribuídos aos hidrogênios dos grupos CH₂ que estão diretamente ligados ao NH₂ na primaquina e ao nitrogênio da amina terciária na cloroquina.

Tabela 5 - Valores dos deslocamentos químicos para o híbrido **2** comparado com os ligantes.

CQ δ (ppm)	PQ δ (ppm)	Híbrido 2 δ (ppm)	Δδ (ppm)
H6' - 0,89	Ha'' - 1,20	H6' - 0,95	H6' - 0,06
H1'' - 1,21	H b',c' -1,43	Ha'',1'' - 1,22	Ha'' - 0,02 H1'' - 0,01
H 2',3' -1,44	Hd' - 2,54	Hb',c',2',3' - 1,52	Hb',c' - 0,09 H2',3' - 0,08
H4' - 2,32	Ha' - 3,58	H4',5' - 2,54	H4' - 0,22 H5' - 0,18
H5' - 2,36	Hl - 3,82	Hd' - 2,81	Hd' - 0,27
H1' - 3,70	NHPQ - 6,11	Ha' - 3,67	Ha' - 0,09
H3 - 6,48	He - 6,25	H1' - 3,73	H1' - 0,03
NHCQ - 6,89	Hg - 6,46	Hl - 3,82	Hl - 0
H6 - 7,40	Hc - 7,40	NHPQ - 6,15	NHPQ - 0,04
H8 - 7,76	Hd - 8,05	He - 6,29	He - 0,04
H5 - 8,35	Hb - 8,52	Hg - 6,49	Hg - 0,03
H2 - 8,36		H3 - 6,51	H3 - 0,03
		NHCQ - 6,91	NHCQ - 0,02
		Hc,6 - 7,42	Hc,6 - 0,02
		H8 - 7,76	H8 - 0
		Hd - 8,07	Hd - 0,02
		H2,5 - 8,36	H2 - 0 H5 - 0,01
		Hb - 8,53	Hb - 0,01

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O híbrido **2** também foi caracterizado por RMN de ¹³C, como pode ser observado nas Figuras 48 e 49, e com base na análise dos espectros nota-se comportamento semelhante ao do híbrido **1**. Em que, os carbonos que mais se deslocaram foram os referentes aos grupos CH₂ que se encontram mais próximos ao grupo NH₂, Cc' e Cd', que se deslocaram 5,79 ppm e 2,18 ppm, respectivamente. Em relação ao fármaco cloroquina, os sinais que apresentaram maiores deslocamentos foram os referentes ao grupo CH₂ C3' (0,56) e ao grupo CH₃ C6' (0,54 ppm) que se encontram próximos ao nitrogênio da amina terciária. Por isso, a análise do RMN de ¹³C

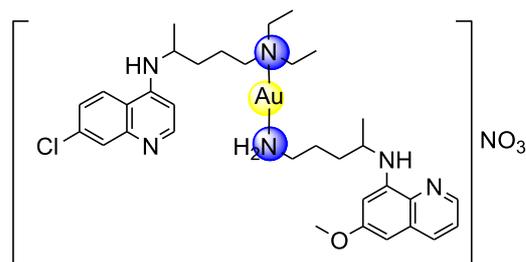
Tabela 6 - Valores de deslocamentos químicos encontrados para o híbrido **2** e para os ligantes.

CQ δ (ppm)	PQ δ (ppm)	Híbrido 2 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
C6' – 11,65	Ca'' – 20,25	C6' – 11,11	C6' – 0,54
C1'' – 19,83	Cc' – 29,90	C1'' – 19,84	C1'' – 0,01
C3' – 23,44	Cb' – 33,55	Ca'' – 20,26	Ca'' – 0,01
C2' – 33,36	Cd' – 41,69	C3' – 22,88	C3' – 0,56
C5' – 46,15	Ca' – 47,23	Cc' – 24,11	Cc' – 5,79
C1' – 47,58	Cl – 54,99	Cb' – 32,79	Cb' – 0,76
C4' – 52,09	Cg – 91,56	C2' – 33,19	C2' – 0,17
C3 – 98,79	Ce – 96,06	Cd' – 39,51	Cd' – 2,18
C10 – 117,49	Cc – 122,10	C5' – 46,20	C5' – 0,05
C6 – 123,73	Cj – 129,59	Ca' – 46,83	Ca' – 0,4
C5 – 124,33	Ch – 134,54	C1' – 47,53	C1' – 0,05
C8 – 127,41	Cd – 134,80	C4' – 51,86	C4' – 0,23
C7 – 133,29	Cb – 144,25	Cl – 55,01	Cl – 0,02
C9 – 149,29	Ci – 144,66	Cg – 91,73	Cg – 0,17
C4 – 149,50	Cf – 159,02	Ce – 96,29	Ce – 0,23
C2 – 151,85		C3 – 98,84	C3 – 0,05
		C10 – 117,50	C10 – 0,01
		Cc – 122,16	Cc – 0,06
		C6 – 123,81	C6 – 0,08
		C5 – 124,35	C5 – 0,02
		C8 – 127,39	C8 – 0,02
		Cj – 129,62	Cj – 0,03
		C7 – 133,37	C7 – 0,08
		Ch – 134,55	Ch – 0,01
		Cd – 134,86	Cd – 0,06
		Cb – 144,28	Cb – 0,03
		Ci – 144,61	Ci – 0,05
		C9 -149,24	C9 – 0,05
		C4 – 149,55	C4 – 0,05
		C2 - 151,86	C2 – 0,01
		Cf – 158,99	Cf – 0,03

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Portanto, é possível concluir que os ligantes presentes na estrutura do híbrido **2** (contendo NO_3^- como contra-íon), se coordenam ao metal do mesmo modo que na estrutura do híbrido **1** (contendo PF_6^-), como pode ser visto na Figura 50.

Figura 50 - Estrutura proposta para o híbrido 2.

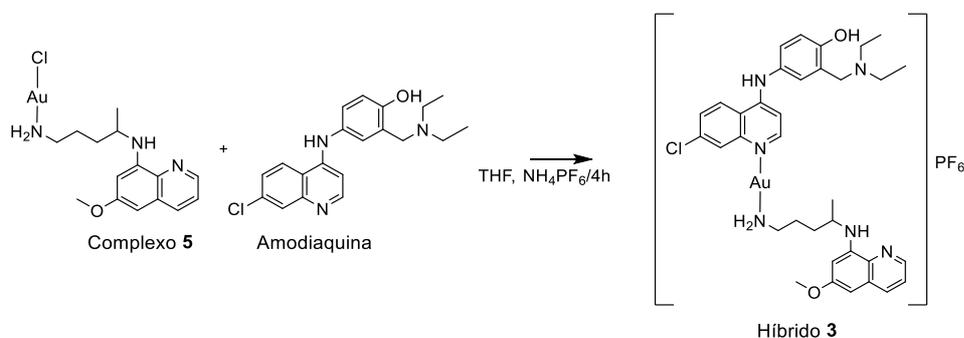


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2.2.3 Híbrido 3

Ainda com o objetivo de avaliar a atividade de complexos metálicos contendo dois fármacos antimaláricos que atuem em diferentes alvos e que apresentem diferentes mecanismos de ação, optou-se por utilizar o fármaco amodiaquina, que assim como a cloroquina também atua inibindo a conversão da ferriprotoporfirina em hemozoína. A síntese do híbrido 3 seguiu o mesmo procedimento do híbrido 1, variando-se apenas o solvente de acetonitrila para tetrahidrofurano (esquema 9) e o fármaco de cloroquina para amodiaquina.

Esquema 9 - Síntese do híbrido 3.

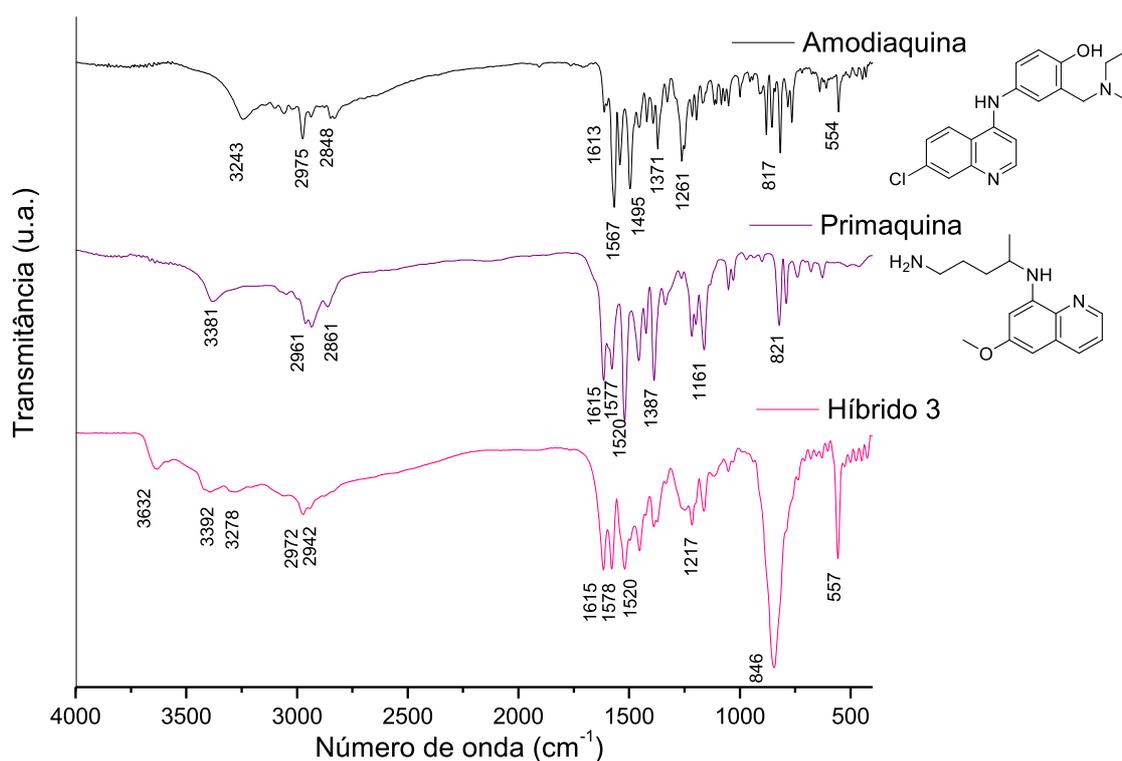


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O híbrido foi caracterizado por meio de técnicas espectroscópicas, onde a princípio foi obtido o espectro de absorção vibracional na região do Infravermelho, que se encontra na Figura 51. Baseando-se na comparação dos espectros do complexo metálico com o dos ligantes, nota-se bandas em 3392 e 3278 cm^{-1} que são referentes aos estiramentos NH da molécula, que se encontram deslocadas com relação aos fármacos. Também é possível visualizar em 3632 cm^{-1} uma banda que é característica do estiramento da ligação O-H proveniente da amodiaquina (SILVERSTEIN, 2006).

Em conjunto, destaca-se a presença de bandas em 2972, 2942, 1615 e 1578 cm^{-1} que são atribuídas aos estiramentos simétrico e assimétrico de CH_2 e CH_3 de alifático, e dos estiramentos $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$, respectivamente, tais bandas, exceto o estiramento CH_2 de alifático, não apresentaram deslocamentos significativos com relação a primaquina. Porém, com relação a amodiaquina a banda referente a $\text{C}=\text{N}$ aparecem deslocadas, 11 cm^{-1} para uma região de maior número de onda. Nota-se o surgimento de bandas em 846 cm^{-1} e em 557 cm^{-1} que são referentes ao estiramento e a deformação angular P-F do contra-íon PF_6^- , demonstrando a presença do PF_6^- na estrutura do híbrido **3**. (NAVARRO, PEREZ, SANCHEZ-DELGADO, 1997; COLINA-VEGAS et al., 2016).

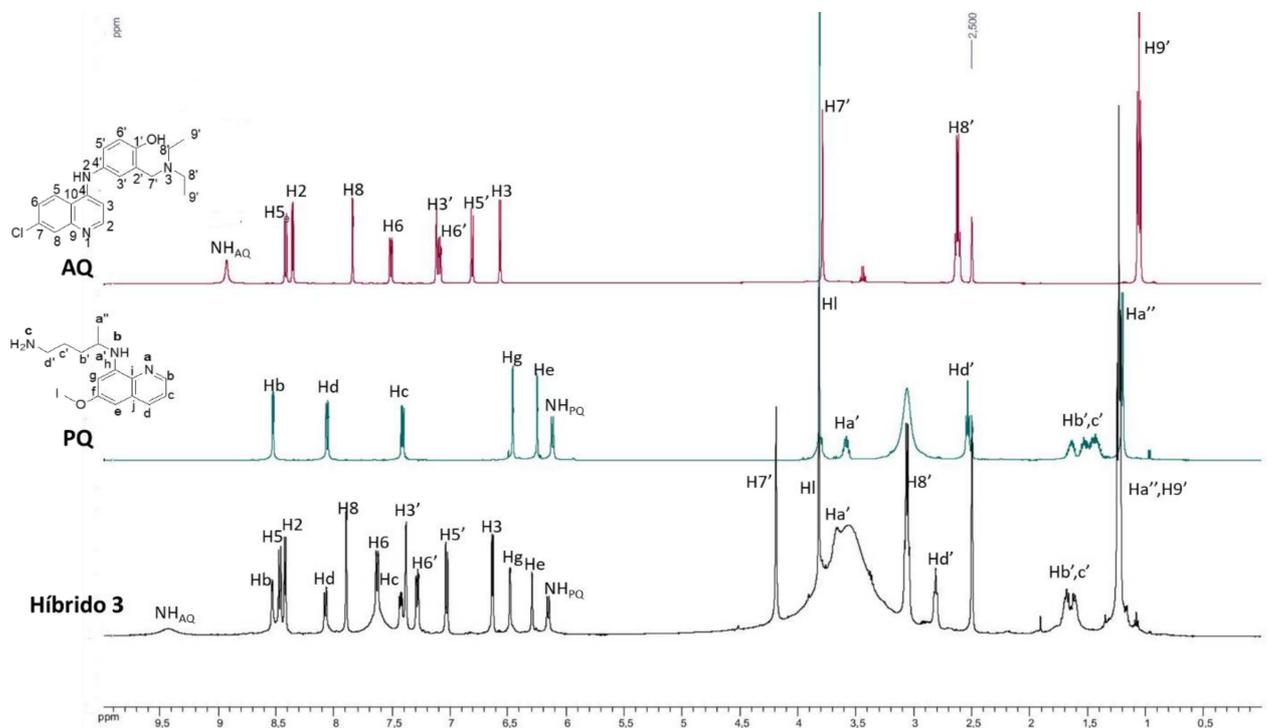
Figura 51 - Espectros de absorção vibracional na região do IV do híbrido **3** e dos fármacos de origem.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

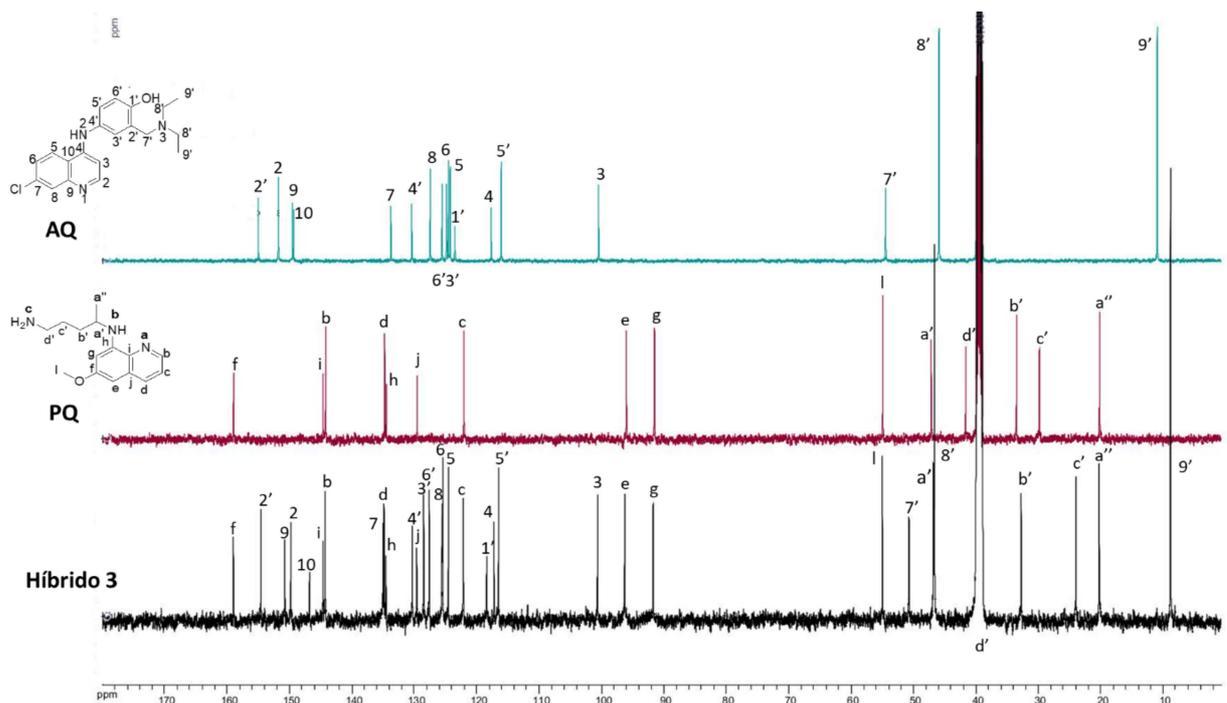
Posteriormente, foram obtidos os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Figuras 52 e 53), e por meio da análise do deslocamento químico de cada sinal com relação aos fármacos empregados como ligantes (tabelas 7 e 8), propõe-se a coordenação do fármaco amodiaquina ao ouro por meio do nitrogênio quinolínic e do fármaco primaquina pelo nitrogênio da amina secundária.

Figura 52 - Espectros de RMN de ^1H do híbrido **3** e dos fármacos de origem em DMSO- d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 53 - Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **3** e dos fármacos de origem em DMSO- d_6 (125 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Tabela 7 - Valores de deslocamentos químicos para o híbrido **3** e para os ligantes.

AQ δ (ppm)	PQ δ (ppm)	Híbrido 3 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
H9' - 1,06	Ha'' - 1,20	H9' - 1,23	0,17
H8' - 2,61	H b',c' -1,43	Ha'' - 1,23	0,03
H7' - 3,79	Hd' - 2,54	H b',c' - 1,63	0,20
H3 - 6,57	Ha' - 3,58	Hd' - 2,81	0,27
H5' - 6,80	Hl - 3,82	H8' - 3,05	0,44
H6' - 7,08	NHPQ - 6,11	Ha'' - 3,67	0,09
H3' - 7,12	He - 6,25	Hl - 3,82	0
H6 - 7,50	Hg - 6,46	H7' - 4,19	0,4
H8 - 7,84	Hc - 7,40	NHPQ - 6,15	0,04
H2 - 8,35	Hd - 8,05	He - 6,29	0,04
H5 - 8,41	Hb - 8,52	Hg - 6,48	0,02
NHAQ - 8,93		H3 - 6,63	0,06
		H5' - 7,02	0,06
		H6' - 7,27	0,47
		H3' - 7,38	0,26
		Hc - 7,42	0,02
		H6 - 7,62	0,12
		H8 - 7,90	0,06
		Hd - 8,07	0,02
		H2 - 8,42	0,07
		H5 - 8,46	0,05
		Hb - 8,53	0,01
		NHAQ - 9,44	0,51

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

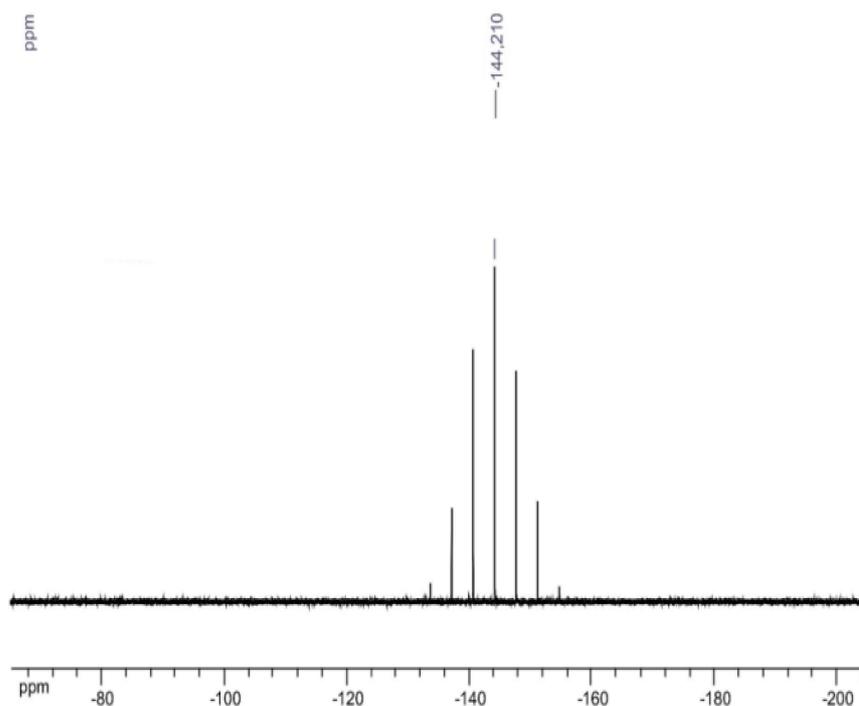
Tabela 8 - Valores de deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C para o híbrido **3** e para os ligantes.

AQ δ (ppm)	PQ δ (ppm)	Híbrido 3 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
C9' – 11,02	Ca'' – 20,25	C9' – 8,89	2,13
C8' – 45,98	Cc' – 29,90	Ca'' – 20,31	0,06
C7' – 54,55	Cb' – 33,55	Cc' – 24,04	5,86
C3 – 100,52	Cd' – 41,69	Cb' – 32,81	0,74
C5' – 116,13	Ca' – 47,23	Cd' – 39,51	2,18
C4 – 117,72	Cl – 54,99	C8' – 46,73	0,75
C1' – 123,56	Cg – 91,56	Ca' – 46,88	0,35
C5 – 124,29	Ce – 96,06	C7' – 50,79	3,76
C6 – 124,61	Cc – 122,10	Cl – 55,05	0,06
C3' – 124,89	Cj – 129,59	Cg – 91,78	0,22
C6' – 125,60	Ch – 134,54	Ce – 96,34	0,28
C8 – 127,51	Cd – 134,80	C3 – 100,68	0,16
C4' – 130,45	Cb – 144,25	C5' – 116,56	0,43
C7 – 133,80	Ci – 144,26	C4 – 117,28	0,44
C10 – 149,40	Cf – 159,02	C1' – 118,47	5,09
C9 – 149,58		Cc – 122,21	0,11
C2 – 151,82		C5 – 124,60	0,31
C2' – 155,05		C6 – 125,51	0,9
		C8 – 125,60	1,91
		C6' – 127,63	2,06
		C3' – 128,55	3,66
		Cj – 129,67	0,05
		C4' – 130,37	0,08
		Ch – 134,59	0,05
		Cd – 134,91	0,11
		C7 – 135,09	1,29
		Cb – 144,34	0,09
		Ci – 144,66	0
		C10 – 146,84	2,56
		C2 – 149,83	0,25
		C9 – 150,81	1,01
		C2' – 154,62	0,43
		Cf – 159,04	0,02

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

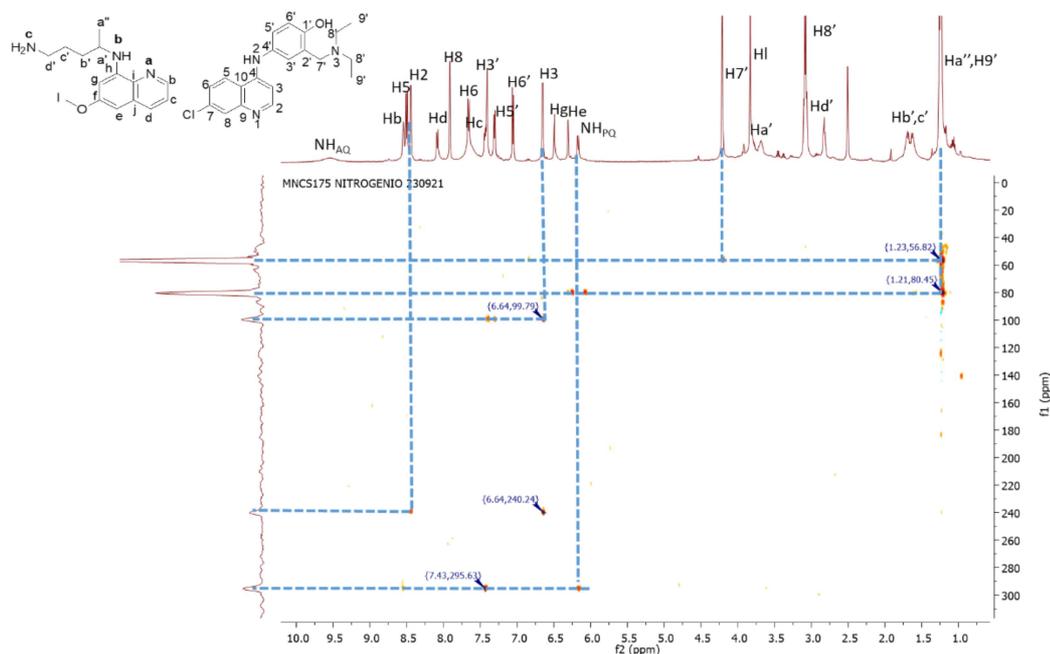
Com a finalidade de confirmar a presença do contra-íon PF_6^- foi feito o RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, descrito na Figura 54, onde é possível observar um septeto que é característico do PF_6^- , o que confirma sua presença.

Figura 54 - Espectro de RMN de ^{31}P do híbrido **3** em DMSO-d_6 (202 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Na Figura 55 encontra-se o espectro de RMN de ^1H - ^{15}N HMBC obtido para o híbrido **3** e na tabela 9, é possível encontrar os valores de deslocamento químico deste híbrido em comparação com os fármacos que o originam. Com base na avaliação dos valores, percebe-se que o nitrogênio quinolínico foi o que mais se deslocou, confirmando a coordenação proposta por meio dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Também notam-se os deslocamentos do nitrogênio do NH, que é devido a modificações na ressonância da molécula e do nitrogênio da amina alifática, que possivelmente está envolvido em uma interação de hidrogênio com a hidroxila. Os valores de deslocamento químico obtidos por meio do experimento de ^1H - ^{15}N HMBC concordam com valores presentes na literatura (SILVERSTEIN, 2006).

Figura 55 - Espectro de RMN de ^1H - ^{15}N HMBC do híbrido **3** em DMSO- d_6 .

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Tabela 9 - Valores de deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^1H - ^{15}N HMBC para o híbrido **3** e para os ligantes.

AQ δ (ppm)	PQ δ (ppm)	Híbrido 3 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
N1 274,69	Na 295,26	N1 240,24	-34,52
N2 92,72	Nb 81,82	N2 99,79	6,98
N3 44,38	Nc ---	N3 56,82	12,55
		Na 295,63	0,36
		Nb 80,45	-1,42
		Nc ---	

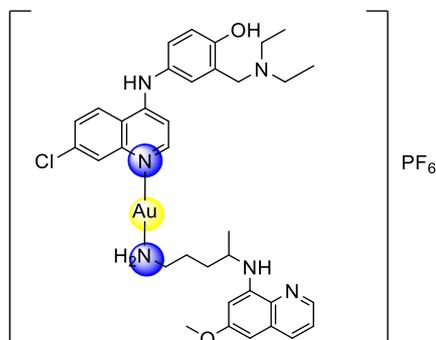
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Com base nos valores de porcentagem de carbono, hidrogênio e nitrogênio presentes no híbrido **3** (item 3.5.6) confirmou-se a fórmula molecular proposta, o valor obtido para a condutividade do híbrido **3**, em DMSO, está em conformidade com a estrutura proposta.

Baseado nos dados obtidos, pode-se concluir que o fármaco amodiaquina se coordena ao metal por meio do nitrogênio da quinolina e a primaquina, se coordena por meio do

nitrogênio do NH₂, da mesma forma que no híbrido **1**. A estrutura proposta para o híbrido obtido se encontra na Figura 56.

Figura 56 - Estrutura proposta para o híbrido **3**.

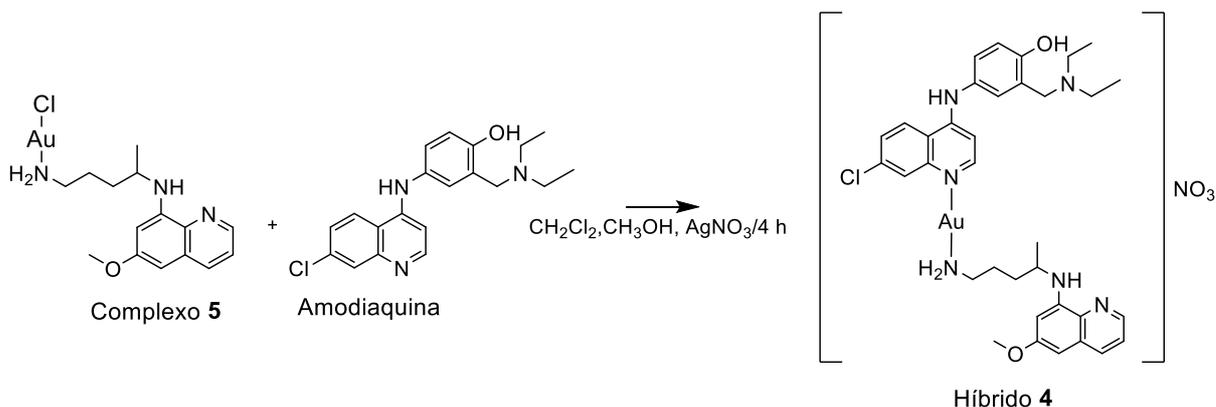


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2.2.4 Híbrido 4

Por meio da rota sintética representada no esquema 10 obteve-se o híbrido **4**, análogo ao híbrido **3**, porém contendo o nitrato como contra-íon.

Esquema 10 - Síntese do híbrido **4**.

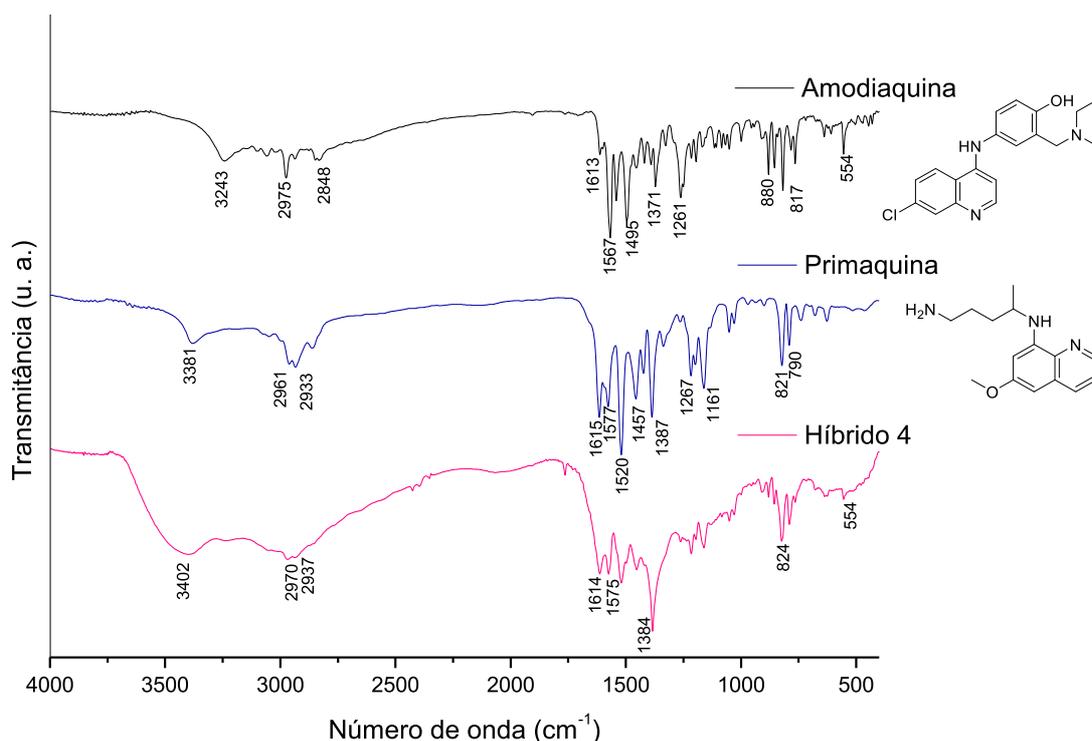


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Conforme já mencionado na discussão dos resultados obtidos para o híbrido **2**, o híbrido **4** também foi obtido em baixo rendimento e será estudado novamente em breve. O híbrido **4** foi inicialmente caracterizado por espectroscopia de absorção vibracional na região do Infravermelho (Figura 57), onde pode-se perceber em 3402 cm⁻¹, 2970 cm⁻¹ e 2937 cm⁻¹, bandas atribuídas aos estiramentos NH e CH de alifático, respectivamente. Também notam-se bandas em 1614 cm⁻¹ e em 1575 cm⁻¹ que são referentes aos estiramentos C=C e C=N. Por fim, percebe-

se o surgimento de uma banda intensa em 1384 cm^{-1} , que é referente ao estiramento assimétrico do contra-íon NO_3^- , confirmando assim a presença do contra-íon de interesse (SILVERSTEIN, 2006).

Figura 57 - Espectros de absorção vibracional na região do infravermelho do híbrido **4** e dos fármacos amodiaquina e primaquina.

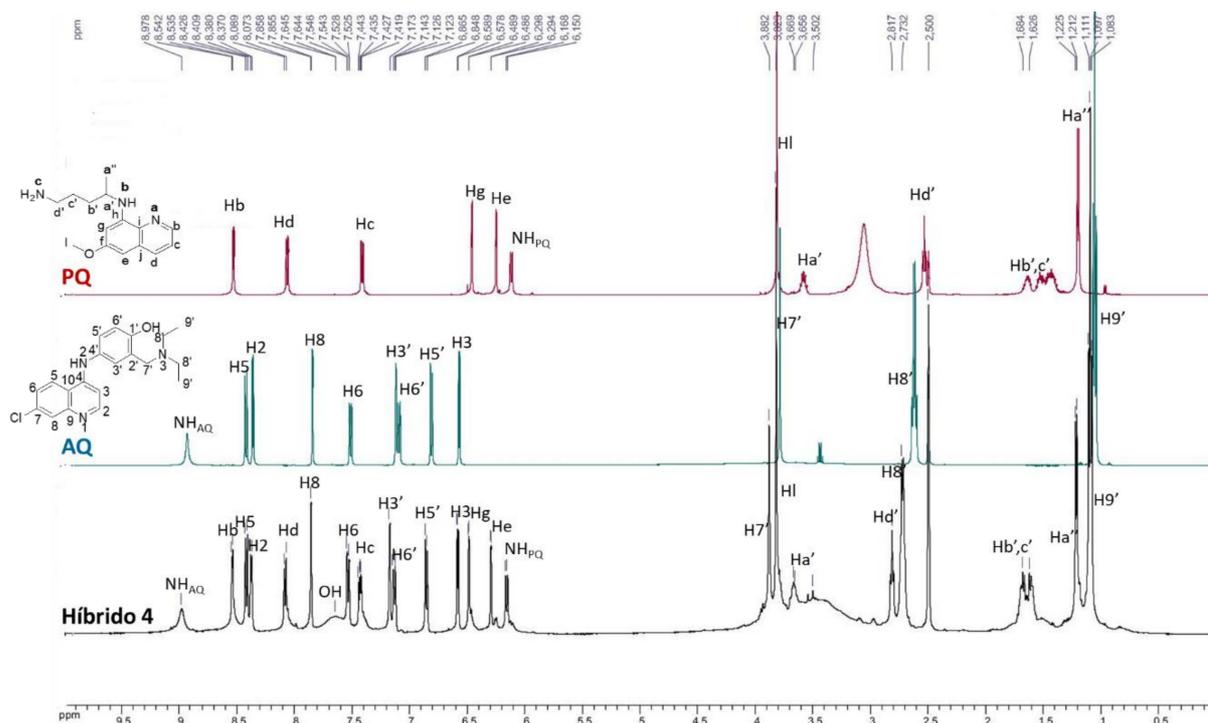


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O híbrido obtido também foi caracterizado por espectroscopia de RMN de ^1H (Figura 58), onde nota-se a presença dos dois fármacos que o originam. O deslocamento dos sinais referentes aos hidrogênios dos grupos CH_2 (Hb', Hc' e Hd'), que são próximos ao grupo NH_2 da molécula, indicam a coordenação da primaquina ao ouro por meio do nitrogênio deste grupo. No caso da amodiaquina, nota-se que os hidrogênios dos grupos CH_2 (H8') da amina alifática tiveram os maiores deslocamentos, o que pode ser justificado pela possibilidade da presença de interação de hidrogênio entre o nitrogênio da amina terciária e o OH. Um indício da presença da interação mencionada é o surgimento do sinal do hidrogênio do OH no RMN do híbrido **4** quando comparado ao do ligante. Apesar da ausência de deslocamentos significativos na região aromática, por analogia ao híbrido **3**, propõe-se a coordenação da amodiaquina ao ouro por meio do nitrogênio quinolínico. No entanto, é necessária a obtenção de espectros de RMN de

HMBC de ^1H - ^{15}N para confirmar a coordenação proposta. O deslocamento químico de cada sinal do híbrido **4** com relação aos fármacos que compõem sua estrutura, podem ser visualizados na tabela 10.

Figura 58 - Espectros de RMN de ^1H do híbrido **4** e dos fármacos que o originam em DMSO-d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Tabela 10 - Valores de deslocamentos químicos para o híbrido **4** e para os ligantes.

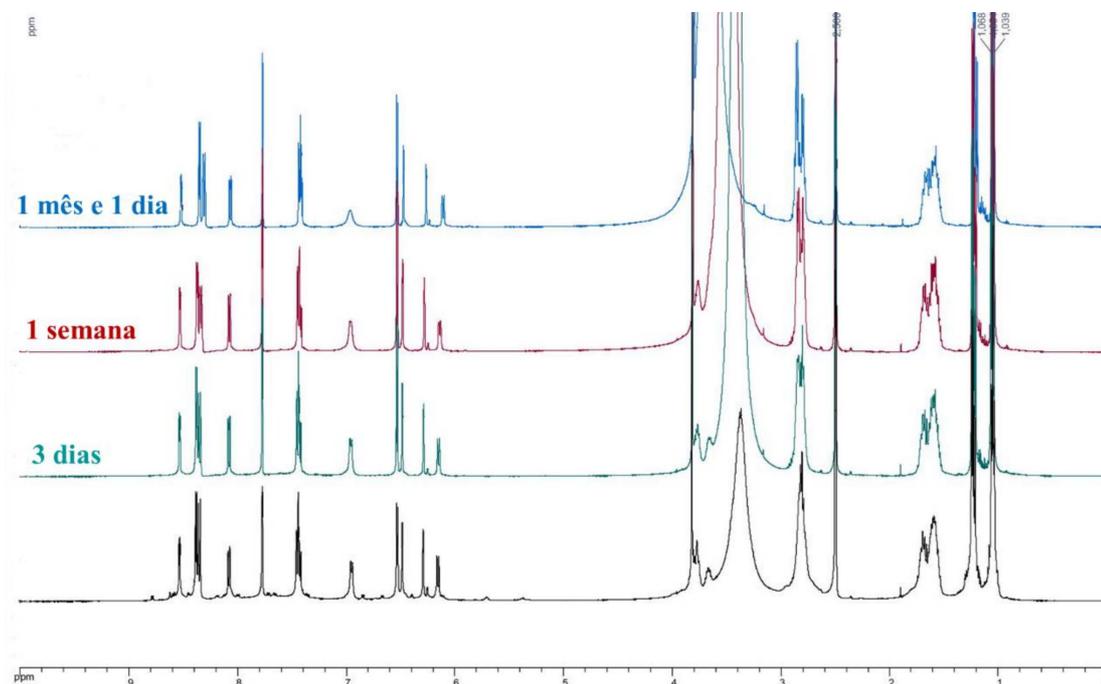
AQ δ (ppm)	PQ δ (ppm)	Híbrido 4 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
H9' - 1,06	Ha'' - 1,20	H9' - 1,10	0,04
H8' - 2,61	H b',c' -1,43	H a'' - 1,21	0,01
H7' - 3,79	Hd' - 2,54	H b',c' - 1,61	0,18
H3 - 6,57	Ha' - 3,58	Hd' - 2,82	0,28
H6' - 6,80	Hl- 3,82	H8' - 2,72	0,11
H5' - 7,08	NHPQ - 6,11	Ha' - 3,67	0,09
H3' - 7,12	He - 6,25	Hl - 3,82	0
H6 - 7,50	Hg - 6,46	H7' - 3,88	0,09
H8 - 7,84	Hc - 7,40	NHPQ - 6,15	0,04
H2 - 8,35	Hd - 8,05	He - 6,29	0,04
H5 - 8,41	Hb - 8,52	Hg - 6,49	0,03
NH _{AQ} - 8,93		H3 - 6,58	0,02
		H5' - 6,85	0,05
		H6' - 7,12	0,04
		H3' - 7,17	0,05
		Hc - 7,42	0,02
		H6 - 7,53	0,03
		H8 - 7,85	0,01
		Hd - 8,07	0,02
		H2 - 8,37	0,02
		H5 - 8,41	0
		Hb - 8,54	0,02
		NH _{AQ} - 8,98	0,05

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2.2.5 Avaliação da estabilidade dos híbridos áuricos

A fim de se conhecer a estabilidade dos complexos híbridos em DMSO, que é o solvente utilizado nos testes *in vitro*, os espectros de RMN de ¹H foram obtidos em diferentes tempos. Na Figuras 59, encontram-se os espectros obtidos para o híbrido **1**, onde pode-se inferir que esse híbrido é estável em DMSO no tempo avaliado. O híbrido **3**, também teve sua estabilidade avaliada (apêndice C) e apresentou comportamento semelhante ao do híbrido **1**.

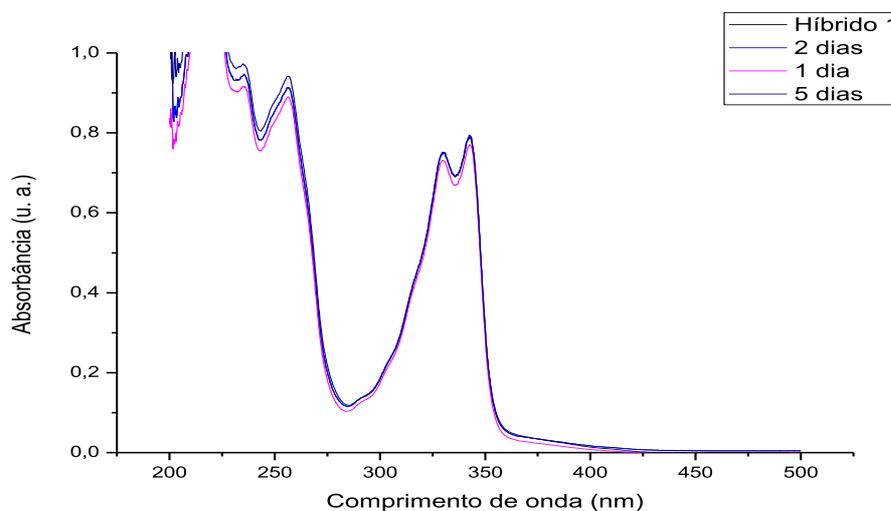
Figura 59 - Avaliação da estabilidade do híbrido **1** por espectroscopia de RMN de ^1H em DMSO-d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

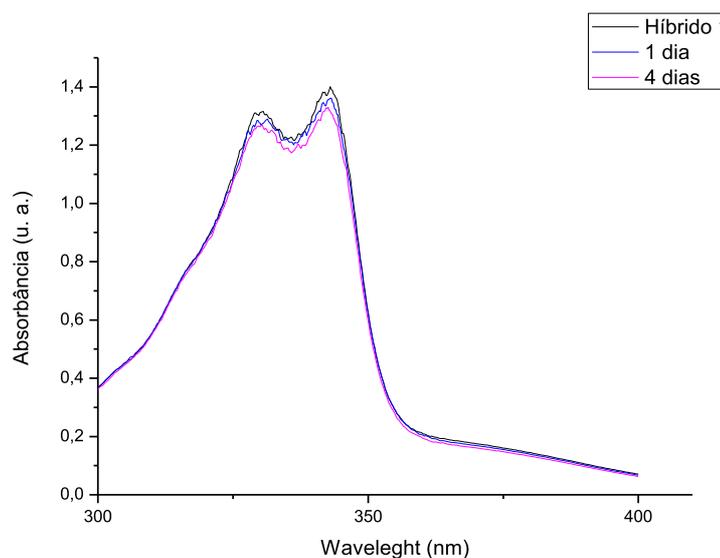
Além da avaliação da estabilidade no solvente empregado nos testes *in vitro*, foi feita a avaliação no solvente empregado nos testes *in vivo* (propilenoglicol) e no meio de cultura dos parasitas, Figuras 60 e 61, respectivamente. Neste caso a avaliação foi feita empregando a espectroscopia de absorção eletrônica na região do ultravioleta e do visível. Ao analisar os espectros obtidos ao longo do tempo, nota-se que em ambos os casos, houve apenas uma pequena variação da absorbância, o que indica que o híbrido **1** é estável em propilenoglicol e em meio de cultura.

Figura 60 - Avaliação da estabilidade do híbrido 1 em propilenoglicol por UV-vis.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 61 - Avaliação da estabilidade do híbrido 1 em meio de cultura por UV-vis.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2.3 Avaliação da interação dos híbridos áuricos com a ferriprotoporfirina

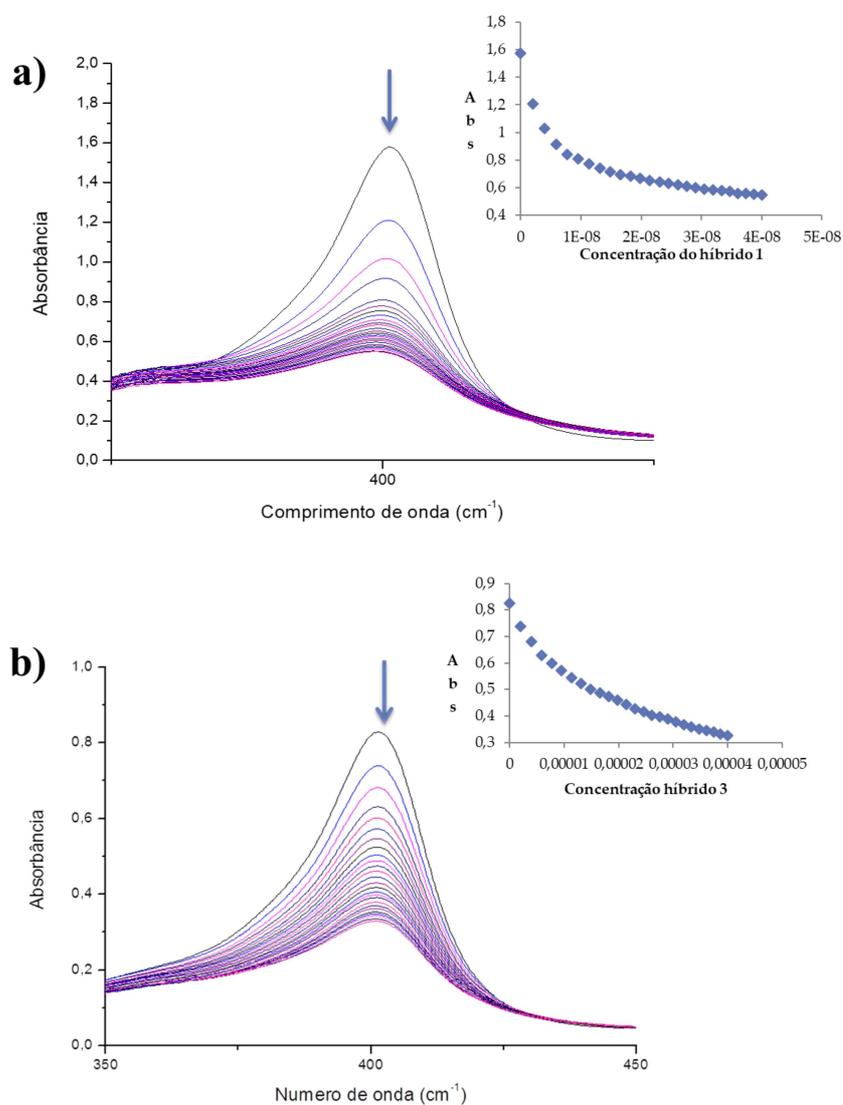
Conforme mencionado na introdução, como forma de sobreviver, o *Plasmodium* converte a ferriprotoporfirina(IX) (tóxico ao parasita) em cristais insolúveis e inertes de hemozoína (não-tóxico). Dessa maneira, a inibição dessa conversão torna-se um alvo atrativo e seletivo para os antimaláricos. O mecanismo de ação das 4-aminoquinolinas ainda não está

completamente elucidado, porém, uma proposta é que estes atuem inibindo a formação da hemozoína (NAVARRO, CASTRO, BIOT, 2012). Sabe-se que a cloroquina e outros antimaláricos formam complexos com a hematina (OH-FePPIX), e existe uma proposta de que a formação deste complexo poderia evitar a conversão em hemozoína (EGAN et al., 2000).

Portanto, a avaliação da presença de interação entre novos compostos potencialmente antimaláricos e a hematina, passa a ser muito relevante. Diante disso, foi feita a avaliação da interação dos híbridos áuricos obtidos ao longo deste trabalho com a hematina, utilizando para isso a espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-vis. Ao longo deste experimento é feita a análise da presença de perturbações na banda de Soret da porfirina (402 nm) com a adição de sucessivas alíquotas do composto de interesse e a determinação de uma constante de interação do composto com a ferriprotoporfirina.

Na Figura 62, encontra-se os espectros de UV-Vis obtidos para a titulação da hematina com o híbrido **1** (Figura 62a) e com o **3** (Figura 62b), onde é possível visualizar que houve um hipocromismo bastante relevante da banda de Soret (65% e 60%, respectivamente), indicando assim a presença de interação entre os híbridos metálicos e a hematina. Além do monitoramento da absorbância em 402 nm, foi determinada a constante de interação dos híbridos áuricos com a Fe(III)PPIX-OH (Log K), empregando o programa SigmaPlot 12, que assume a complexação 1:1 composto/hematina. Os valores obtidos para os híbridos e para os fármacos que os originam encontram-se na tabela 11 e ao analisar estes, nota-se que os valores de constante obtidos para os híbridos de ouro(I) assemelham-se bastante aos obtidos para os medicamentos antimaláricos amodiaquina e cloroquina, indicando assim que a interação apresentada pelos híbridos é semelhante a apresentada pelos fármacos que compõem suas estruturas. Esse comportamento também foi observado por outros complexos metálicos contendo o fármaco cloroquina em sua estrutura (NAVARRO et al., 2014), inclusive a ferroquina apresenta valor de Log K próximo ao do fármaco mencionado (BIOT et al., 2012).

Figura 62 - Espectros de UV-Vis demonstrando a interação dos híbridos **1** e **3** com a ferriprotoporfirina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Tabela 11 - Valores de Log K para os híbridos e para os fármacos. *Não detectável.

Composto	Log K
Híbrido 1 [AuCQPQ]PF ₆	$5,20 \pm 0,03$
Híbrido 3 [AuAQPQ]PF ₆	$4,7 \pm 0,03$
CQDF	$5,12 \pm 0,01$
PQDF	N.D*
AQDF	$4,84 \pm 0,03$

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

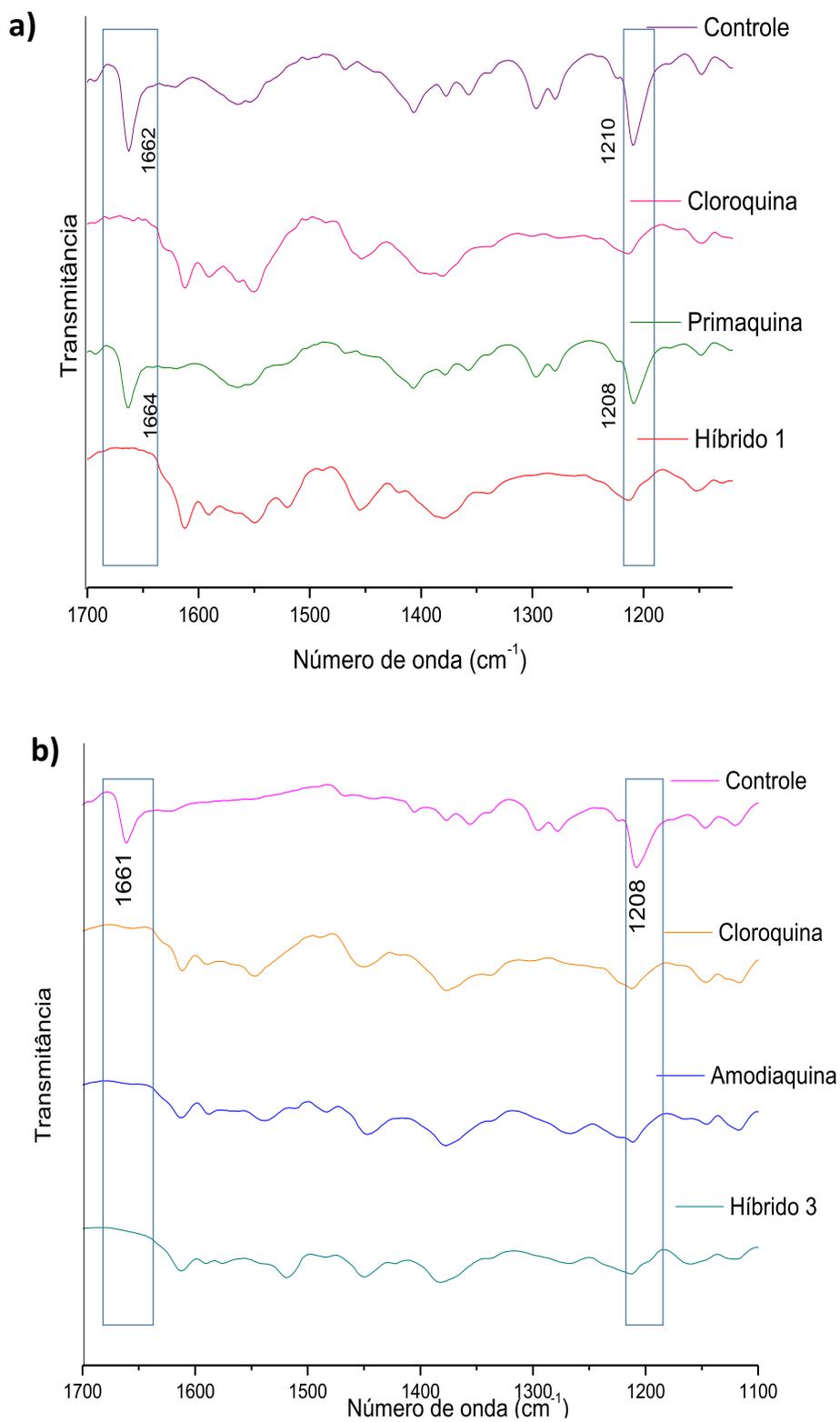
4.2.4 Estudo da inibição da formação da β -hematina pelos híbridos metálicos

Ao longo desse experimento é possível observar se ocorre a inibição da formação da β -hematina, que é um dímero da ferriprotoporfirina, onde os grupos propionato ionizados da Fe(III)PPIX interagem entre si formando a β -hematina. Tal formação é evidenciada pelo surgimento de duas bandas no infravermelho: uma em 1663 cm^{-1} referente ao estiramento C=O e outra em 1210 cm^{-1} referente ao estiramento C-O do grupo carboxilato coordenado ao átomo de Fe(III) (EGAN, ROSS, ADAMS, 1994). Desse modo, o experimento foi feito para avaliar se os híbridos **1** ([AuCQPQ]PF₆) e **3** ([AuAQPQ]NO₃) apresentam a capacidade de inibir a formação da β -hematina, assim como os fármacos que os originam (cloroquina e amodiaquina, respectivamente).

Os espectros de absorção vibracional na região do infravermelho obtidos para os sólidos formados na presença dos híbridos áuricos, na presença dos fármacos que originam os híbridos e na ausência de fármacos (controle), encontram-se na Figura 63(a, b). Na Figura 63a, é possível observar a presença de bandas em 1210 cm^{-1} e 1662 cm^{-1} para os espectros do sólido formado na ausência de fármaco e na presença de primaquina, indicando a formação da β -hematina, o que já era esperado, uma vez que tal medicamento não apresenta a capacidade de inibir a formação deste dímero. Entretanto, no caso da cloroquina e do híbrido **1** as bandas mencionadas não foram observadas, demonstrando assim que estes foram capazes de inibir a formação da β -hematina. Já era aguardado este resultado para a cloroquina, que atua por meio da inibição da formação da hemozoína. No caso do híbrido **1**, foi possível demonstrar que este conservou a capacidade da cloroquina de inibir a formação da β -hematina e que este é um de seus possíveis mecanismos de ação.

Por fim, foi feita a avaliação do híbrido **3** (Figura 63b) em comparação com os fármacos amodiaquina e cloroquina. Neste experimento, foi confirmada a capacidade da cloroquina e da amodiaquina de inibirem a formação da β -hematina, devido a ausência das bandas em 1210 cm^{-1} e 1662 cm^{-1} . Também foi possível concluir que o híbrido **3**, conserva essa característica oriunda da amodiaquina, que está presente em sua constituição. Portanto, assim como o híbrido **1**, pode-se afirmar de maneira qualitativa que a inibição da hemozoína é um dos mecanismos de atuação possíveis para o híbrido metálico **3**.

Figura 63 - Espectros de infravermelho demonstrando avaliação da inibição da formação da β -hematina pelos híbridos 1(a) e 3(b).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2.5 Inibição da formação da β -hematina em tampão

Além da avaliação qualitativa da capacidade dos híbridos de ouro(I) inibirem a formação da β -hematina, também foi feita a determinação quantitativa, por meio do cálculo da concentração necessária para 50% de inibição da formação da β -hematina (IC_{50}). Os valores obtidos encontram-se na tabela 12. Ao observar os resultados, nota-se que os híbridos apresentaram a capacidade de inibir a formação da β -hematina de maneira semelhante ao fármaco cloroquina, conhecido por atuar inibindo a formação da hemozoína. Portanto, os resultados obtidos neste experimento concordam com os obtidos ao longo do experimento anterior, demonstrando que a inibição da hemozoína é um dos possíveis alvos dos híbridos de ouro(I).

Tabela 12 - Valores para 50% de inibição da formação da β -hematina (IC_{50}).

Composto	$IC_{50} \pm S. D. \text{ mM}$
AQ(BL)	0,089 \pm 0,037
CQ(BL)	0,18 \pm 0,047
AuCIPPh₃	>8
Híbrido 1 [AuCQPQ]PF₆	0,13 \pm 0,06
Híbrido 3 [AuAQPQ]PF₆	0,16 \pm 0,05

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

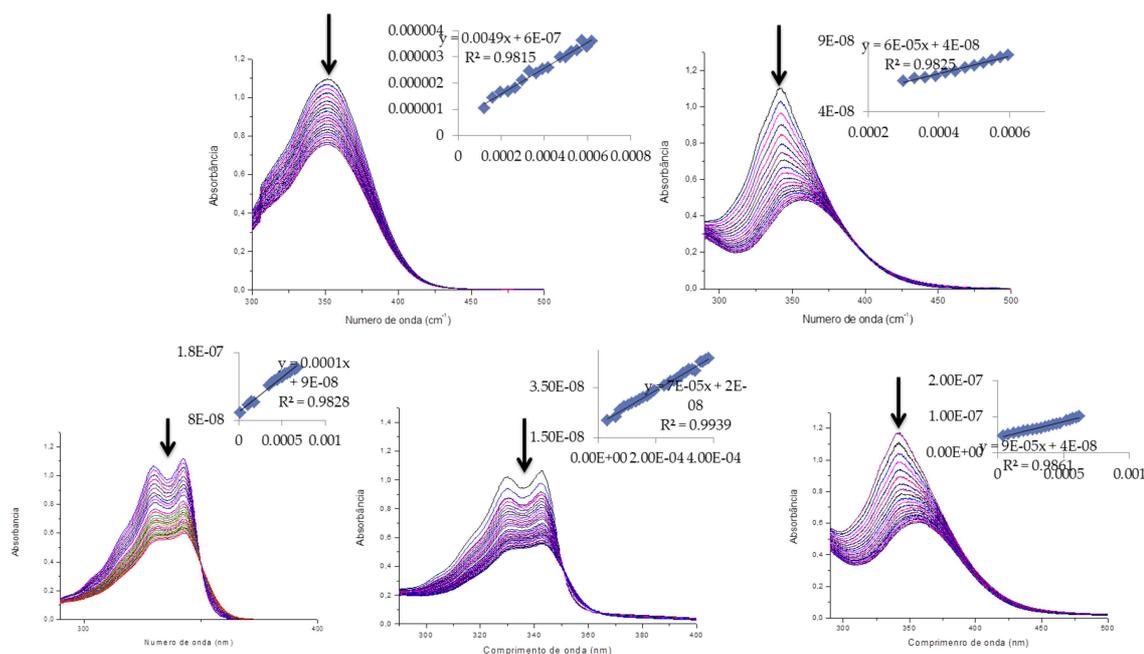
4.2.6 Titulação espectrofotométrica com o DNA

Tendo em vista que o DNA é um importante alvo para os compostos obtidos ao longo deste trabalho, a interação híbridos-DNA foi avaliada. Inicialmente, o teste utilizado para isso foi a titulação espectrofotométrica com o DNA, que é um dos métodos mais utilizados. Ao longo deste, são obtidos espectros de absorção eletrônica na região do UV-Vis na ausência e na presença do DNA e variações na absorbância são indícios da presença de interação. Por fim, com os resultados obtidos é possível determinar uma constante que indica se há interação (BARRA, NETTO, 2015).

Como pode ser visto na Figura 64, tanto os híbridos de ouro(I) quanto os ligantes que os originam apresentaram um hipocromismo, que é um forte indício da presença de interação do tipo reversível. Com os dados obtidos foi possível por meio do método de Neighbor-exclusion determinar a constante de interação composto-DNA (K_b), e como pode ser visto na

tabela 13, os híbridos apresentaram constante de interação da ordem de 10^3 , que indica uma interação reversível moderada (NAVARRO et al., 2006; VAFAZADEH; WILLIS, 2015). Os valores de K_b obtidos para os híbridos são semelhantes aos valores obtidos para cloroquina difosfato.

Figura 64 - Titulações espectroscópicas dos fármacos primaquina, amodiaquina, cloroquina e dos híbrido 1 e 3, respectivamente.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Tabela 13 - Valores obtidos para a constante de interação composto-DNA.

Composto	K_b (10^3 mol/L)	λ (nm)	Hipocromismo (%)
AQDF	$0,69 \pm 0,08$	341,6	61,94
CQDF	$1,27 \pm 0,19$	340	51,84
PQDF	$5,52 \pm 0,23$	352	31,53
Híbrido 1	$2,60 \pm 0,90$	342	47,36
Híbrido 3	$2,02 \pm 0,18$	343	53,14

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2.7 Viscosidade

Um outro experimento capaz de indicar a interação do complexo estudado com o DNA é a viscosidade, que é um método simples e de baixo custo. Esta técnica é sensível a mudanças no comprimento da cadeia do DNA e o modo de interação pode ser facilmente identificado. Por

exemplo no caso de interação por intercalação, os pares de bases se afastam para acomodar o composto, resultando em aumento da viscosidade. Compostos que interagem com os sulcos provocam pouca ou nenhuma distorção na estrutura do DNA, o que acarreta em pequena variação da viscosidade relativa do DNA. Também existem casos onde ocorre a diminuição da viscosidade do DNA, que podem ser devido a presença de um agente condensante ou devido a uma interação do tipo covalente (KELLETT et al., 2019). Dessa forma, escolheu-se este método para se avaliar a presença de interação dos nossos compostos com o DNA.

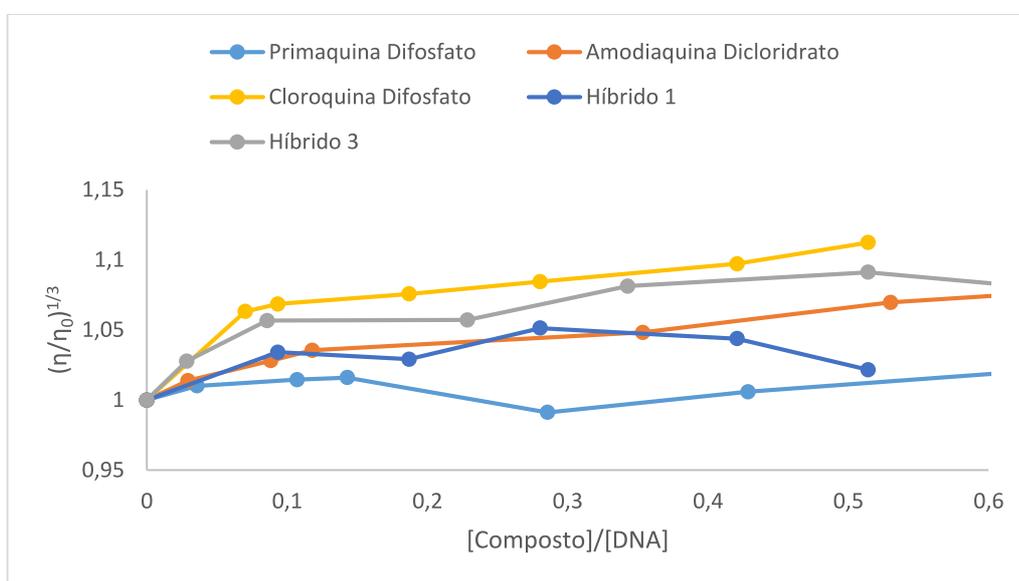
Neste experimento, avaliou-se o comportamento da viscosidade relativa do CT-DNA frente ao aumento da concentração dos seguintes compostos: cloroquina difosfato, amodiaquina dicloridrato, primaquina difosfato e dos híbridos **1** e **3** (Figura 65). No caso da cloroquina, com o aumento da relação [composto]/[DNA], houve um aumento da viscosidade relativa do CT-DNA e sabendo que compostos intercaladores clássicos como o brometo de etídio apresentam este mesmo efeito sob a viscosidade relativa do DNA (KELLETT et al., 2019). pode-se concluir que a cloroquina atua como um intercalador, o que já era esperado, visto que a cloroquina livre realmente se intercala no DNA (COLINA-VEGAS et al., 2015).

Além da cloroquina, também se avaliou o efeito dos fármacos amodiaquina e primaquina frente a viscosidade relativa do DNA, foi possível perceber que a primaquina demonstrou apenas uma pequena variação desta característica do DNA, o que indica que tal fármaco não apresenta interação do tipo intercalativa com o DNA, exprimindo possivelmente a interação com os sulcos. Tal resultado concorda com um trabalho publicado por Viola e colaboradores, onde foi relatada a presença de interação da PQ com o DNA, porém foi relatado que não foram demonstrados indícios de interação do tipo intercalativa (VIOLA et al., 2007).

Observando-se o perfil da viscosidade relativa do CT-DNA obtido com o aumento da relação [amodiaquina]/[DNA] pode-se perceber um aumento, porém, menos acentuado que o observado na presença da cloroquina. Desse modo, acredita-se que o modo de interação da amodiaquina com o DNA pode ser influenciado pela concentração. Tal observação apresenta boa concordância com trabalhos publicados na literatura, como por exemplo o artigo de Arguelho e colaboradores, onde os autores propõem interação da amodiaquina com o DNA por meio da formação de um aduto com a base nitrogenada guanina (ARGUELHO et al., 2010). E o trabalho publicado por Viola *et al*, que reporta a interação da amodiaquina com o DNA e relatam indícios de uma interação por intercalação (VIOLA et al., 2007). Portanto, devido a possibilidade de diferentes tipos de interação amodiaquina-DNA e ao comportamento observado para a viscosidade relativa do DNA em presença da AQ, nós sugerimos que o tipo de interação pode ser dependente da concentração.

Por fim, referente aos híbridos **1** e **3**, houve um ligeiro aumento da viscosidade do DNA em menores relações [composto]/[DNA] e em maiores proporções apenas pequena variação da viscosidade relativa do DNA foi observada. Tais dados sugerem que os compostos podem interagir com o DNA por meio de interação reversível, que pode ser interação com o sulco menor ou intercalativa, podendo o modo de interação ser dependente da concentração. Portanto, os estudos de interação com o DNA confirmam a capacidade dos híbridos de atuarem frente a mais de um alvo.

Figura 65 - Avaliação da viscosidade relativa do DNA para os compostos AQ, PQ, CQ, híbrido **1** e híbrido **3**.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.3 INIBIÇÃO DA ENZIMA TIORREDOXINA REDUTASE

Posto que os complexos de ouro apresentam conhecida capacidade de inibir a enzima tiorredoxina redutase e que tal enzima é essencial para o *Plasmodium*, avaliou-se a capacidade dos híbridos de inibi-la. Assim sendo, determinou-se a concentração necessária dos compostos para 50% de inibição da TrxR (humana e do parasita). Os valores obtidos estão representados na tabela 14 e com base na análise destes resultados, nota-se que todos os compostos testados apresentaram preferência pela enzima humana (hTrxR), o que pode ser justificado com base em diferenças estruturais entre hTrxR e pfTrxR (JORTZIK, BECKER, 2012). O híbrido **1** foi mais ativo que o híbrido **3** nas duas enzimas, tendo sido melhor que a auranofina na enzima humana e tendo apresentado valor similar a outros complexos de ouro(I) contendo cloroquina como ligante

(NAVARRO et al., 2013). Em relação a enzima do *Plasmodium*, novamente o híbrido **1** se destacou, sendo pelo menos 90 vezes mais ativo que a amodiaquina e que o híbrido **3**. Porém, quando comparado com a Auranofina e o AuClPP₃, foi muito menos potente. Apesar da potência reduzida quando comparados aos complexos de ouro(I) também testados, os híbridos são capazes de inibir a enzima pfTrxR. Demonstrando assim que os híbridos de ouro(I) são multi-alvo.

Tabela 14 - Valores para 50% de inibição da enzima tiorredoxina redutase.

Composto	TrxR IC ₅₀ (μM)	
	Humana	<i>P. falciparum</i>
Híbrido 1	0,0068	0,73
Híbrido 3	4,9	66,40
Amodiaquina	26,5	>66,70
AuClPP ₃	0,00065	0,0020
Auranofina	0,020	0,062

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.4 ESTUDOS *IN VITRO*

A atividade antiparasitária dos complexos foi avaliada frente a cepas de *Plasmodium falciparum* sensíveis (3D7) e resistentes (W2) a cloroquina. Também foi determinada a atividade citotóxica dos complexos em células de mamíferos contra macrófagos J774 e células hepatocelulares HepG2. Os resultados obtidos são mostrados na tabela 15.

No caso da cepa sensível a cloroquina (3D7), os complexos metálicos quando comparados a cloroquina e primaquina na forma de base livre, foram mais ativos. Porém, quando comparados aos fármacos na forma difosfato, foram mais ativos somente em relação a primaquina. Quando avaliados na cepa resistente a cloroquina os complexos foram mais ativos que os fármacos cloroquina e primaquina, sendo o híbrido **1** cerca de 3 vezes mais ativo que a cloroquina. No entanto, o híbrido **3** foi o que mais se destacou, apresentando um valor de IC₅₀ inferior a 5 nM, sendo mais de 100 vezes mais ativo que a cloroquina e quase 30 vezes mais ativo que a amodiaquina. No tocante a primaquina, foi mais de 50 vezes mais potente. O complexo AuClPP₃ não foi testado na cepa resistente, mas na cepa sensível foi necessária uma concentração muito alta do mesmo para inibir o crescimento parasitário.

Tabela 15 - Atividade antiparasitária dos complexos frente ao *Plasmodium falciparum*.

Composto	<i>P. falciparum</i> , IC ₅₀ ± S.D. nM) ^a		CC ₅₀ ±S.E.M. (µM) ^b		SI ^c	
	3D7	W2	J774	HepG2	3D7	W2
PQ(BL) ^d	90 ± 100	-	27 ± 1,0	26,5 ± 2,65	± 30	-
CQ(BL)	61 ± 11	-	51,5 ± 1,8	>80	850	-
PQ(DF) ^e	1117,3 ± 50,2	182,3 ± 18,9	24,6 ± 1,05	25,4 ± 2,65	± 22	135
CQ(DF)	18 ± 1,7	460 ± 17,4	51,5 ± 1,8	~80	2861	112
AQ(DF)	20 ± 1,0	90 ± 10,0	23,8 ± 0,7	>80	1190	265
Híbrido 1	28 ± 3,9	166 ± 25,7	20,9 ± 1,05	21,4 ± 7,5	753	126
[AuCQPQ]PF₆						
Híbrido 3	40 ± 2,0	3 ± 1,0	16,4 ± 0,7	14,4 ± 2,7	410	5467
[AuAQPQ]PF₆						
AuCIPPh₃	>2000	-	14,8 ± 0,27	4,4 ± 0,13	-	-

^aDeterminado após 48 h de incubação. ^bDeterminado após 72 h de incubação. Valores determinados em dois experimentos distintos. IC₅₀ = concentração inibitória de 50 %. CC₅₀ = concentração citotóxica de 50 %. S. D. Desvio padrão. S. E. M. = Desvio padrão da média. ^cDeterminado por CC₅₀ (J774)/IC₅₀. ^dBL = base livre. ^eDF = difosfato. J774 = células de macrófagos. HepG2 = células de carcinoma hepatocelular.

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Conforme também pode ser observado na tabela 15, o composto que apresentou o maior índice de seletividade foi o híbrido **3** (5467), o que indica que a concentração necessária para que o composto seja citotóxico aos macrófagos (da ordem de µM) é muito maior que a concentração necessária para inibir o crescimento parasitário (da ordem de nM). Desse modo, pode-se concluir que o híbrido **3** além de ser eficaz contra o *Plasmodium falciparum*, apresenta um perfil de segurança com relação aos macrófagos.

4.5 ESTUDOS *IN VIVO*

Com a finalidade de aprofundar o estudo da atividade antimalárica destes complexos, foi avaliada inicialmente a atividade antiparasitária dos híbridos **1** e **3** *in vivo*, frente à camundongos Suíços infectados pela cepa NK65 do *Plasmodium berghei*. Os resultados obtidos são mostrados na tabela 16, onde pode-se observar que na mesma concentração que a cloroquina, o híbrido **1**, foi capaz de reduzir a parasitemia em mais de 99%, tendo, porém, uma média de sobrevivência dos camundongos maior que a da cloroquina. Em uma dosagem menor

do que a da cloroquina (11 $\mu\text{mol/kg}$), o híbrido **1** apresentou uma porcentagem de inibição da parasitemia de cerca de 72% e novamente a média de sobrevivência foi maior quando comparada com a cloroquina.

Ainda com base na tabela 16, nota-se que o composto que apresentou melhor resultado foi o híbrido **3**, que foi capaz de curar todos os camundongos na menor concentração avaliada (10,8 $\mu\text{mol/kg}$), tendo sido melhor que os fármacos cloroquina e primaquina, e também que a combinação de seus constituintes (amodiaquina e primaquina). Comparando-se os dois híbridos percebe-se o híbrido **3** foi cerca de três vezes melhor que o híbrido **1** na cura dos camundongos. Ressalta-se que o fato dos híbridos terem sido capazes de curar 100% dos camundongos, ao contrário dos fármacos avaliados na mesma concentração ou em concentração mais baixa, indica que estes foram mais seletivos que os fármacos antimaláricos que os constituem.

Por fim, com base nos dados obtidos, é possível concluir que os híbridos **1** e **3** foram melhores que a combinação das drogas que os constituem, o que nos indica a importância da presença do metal na composição dos híbridos metálicos e suporta a ideia de que o emprego de compostos híbridos de ouro(I) pode ser melhor que a terapia combinada.

Tabela 16 - Resultados obtidos para os estudos *in vivo*.

Composto	Dose $\mu\text{mol/kg}$ (mg/kg)	% de inibição da parasitemia ^a	Média de sobrevivência (dias)	Sobrevivência (n=5)
Salina (veículo)	-	-, -	20,3	0/15 (0)
CQ (BL)	33 (11)	> 99	27	1/5 (20)
PQ (BL)	77 (20)	> 99	>41	3/5 (60)
CQPQ ^b	66	> 99	>41	4/5 (80)
AQPQ ^b	10 (5)	Não inibiu	20	0/5
	30 (15)	74,4	34	0/5
	33 (30)	> 99	>41	5/5 (100)
Híbrido 1	11 (10)	71,8 \pm 4,9	40	5/10 (50)
[AuCQPQ]PF ₆	3,6 (3,3)	5 \pm 3,9	N. D.	0/5 (0)
Híbrido 3 [AuAQPQ]PF ₆	10,8 (10)	> 99	>41	5/5 (100)

^aValores comparados ao grupo de veículo. ^bProporção de 1:1 das drogas que constituem a combinação.

BL: Base livre.

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.6 ATIVIDADE FRENTE AO *P. BERGHEI* EM ESTÁGIO DE FÍGADO

Após a determinação da atividade dos híbridos metálicos ao longo do estágio sanguíneo, avaliou-se a possibilidade dos parasitas em estágio hepático. Dessa forma, determinou-se a concentração necessária dos compostos para inibir 50% do crescimento parasitário de esporozoítos de *P. berghei* em células Huh-7 (tabela 17).

Neste estágio a cloroquina possui baixa eficácia e a primaquina tem atividade moderada, como pode ser confirmado com base nos valores obtidos. No entanto, os híbridos **1** e **3** demonstraram ser muito potentes, sendo cerca de dez vezes mais ativos que a primaquina. Tal resultado confirma a capacidade multi-estágio dos híbridos.

Tabela 17 - Concentração inibitória de 50% do crescimento parasitário de esporozoítos de *P. berghei* em células Huh-7.

Composto	IC₅₀ ± SD (µM)
AQ	1,47 ± 0,11
CQ	~15
PQ	~10
Híbrido 1	0,63 ± 0,07
Híbrido 3	~0,5

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

De posse do excelente resultado apresentado pelos híbridos **1** e **3** frente ao estágio hepático, também avaliou-se o curso da infecção e a morfologia do parasita após o tratamento.

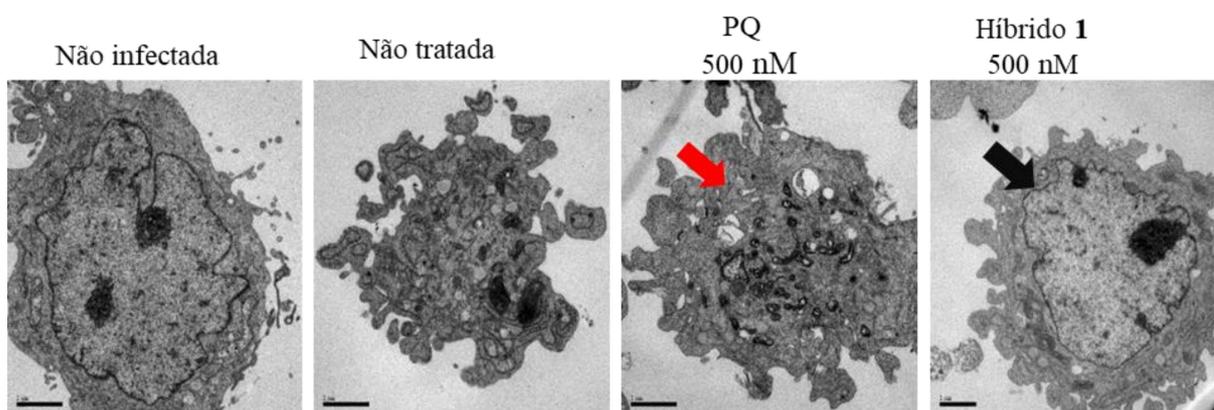
4.7 MICROSCÓPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DE *P. BERGHEI* EM ESTÁGIO DE FÍGADO

Para este estudo, células Huh-7 foram infectadas com esporozoítos de *P. berghei* e tratados com primaquina ou com o híbrido **1**. Após 24 horas de tratamento os parasitas foram fotografados por microscopia eletrônica de transmissão, onde a morfologia e a carga parasitaria foram analisadas. Na Figura 66 encontram-se as micrografias obtidas após o tratamento das células com a PQ e o híbrido **1**, e também para células não infectadas e células não tratadas. Com base na análise da micrografia obtida para a PQ e para o híbrido **1** em comparação com a

referente as células não tratadas, nota-se uma redução da parasitemia e destaca-se que a redução na presença do híbrido **1** foi cerca de duas vezes maior que para as células em presença da primaquina.

Adicionalmente, ao avaliar-se a morfologia das células, nota-se que as células não infectadas apresentam núcleos grandes e intactos, ao passo que as células infectadas, mas não tratadas apresentam núcleos fragmentados. Ao observar as células tratadas com a primaquina e com o híbrido **1**, as células tratadas com este último são as que apresentam maior semelhança com as células não infectadas, possuindo núcleos intactos e membrana bem definida.

Figura 66 - Micrografia das células Huh-7. A seta vermelha indica ausência de membrana bem delimitada, já a seta preta a presença de membrana bem delimitada.



Fonte: PEREIRA et al. (2021).

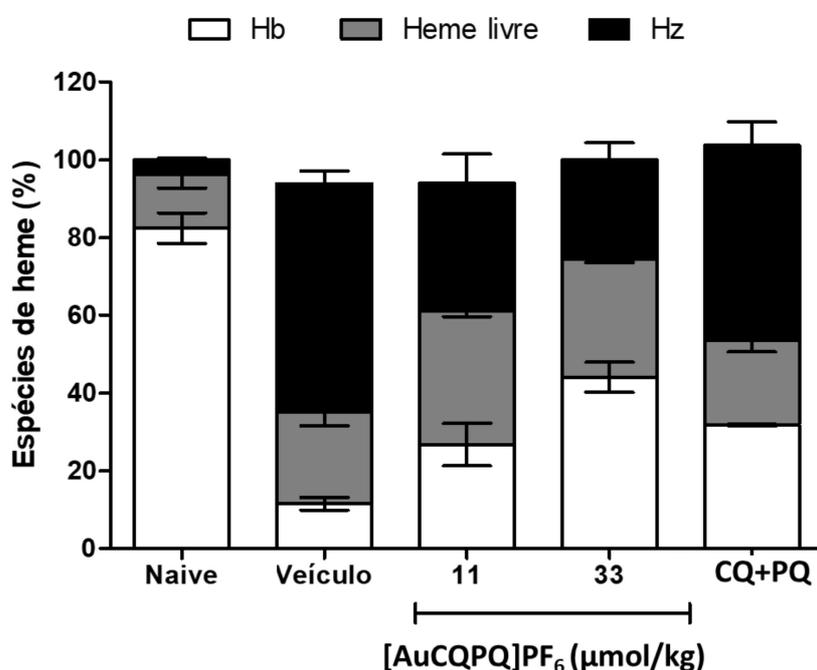
Portanto, o presente estudo confirma a boa atuação do híbrido **1** no estágio do fígado, o que demonstra a capacidade deste complexo metálico de atuar em pelo menos duas fases do ciclo de vida do *Plasmodium*.

4.8 INIBIÇÃO DA BIOSÍNTESE DA HEMOZOÍNA

Como observado nos experimentos de inibição da formação da β -hematina, este é um dos possíveis mecanismos de ação dos híbridos sintetizados ao longo deste trabalho, por isso foi feita a quantificação das espécies contendo heme (hemoglobina, heme e hemozoína) no sangue de camundongos após o tratamento com o híbrido **1**. Na Figura 67 encontram-se os resultados obtidos para camundongos infectados com o parasita, mas que não receberam tratamento (veículo), para camundongos saudáveis (naive) e para os que receberam tratamento

com o híbrido **1** e com uma mistura equimolar (66 $\mu\text{mol/kg}$) de cloroquina e primaquina. Com base na Figura, percebe-se que o tratamento tanto com o híbrido **1** quanto com a mistura, diminuiu significativamente a quantidade de hemozoína formada e aumentou a quantidade de heme livre. Portanto, por meio dos resultados obtidos pode-se concluir que o híbrido **1** atua, significativamente, por meio da inibição da biossíntese da hemozoína, conforme previsto por meio dos estudos *in vitro* de inibição da β -hematina.

Figura 67 - Resultado da quantificação das espécies de heme no sangue dos camundongos após eutanásia.



Fonte: PEREIRA et al. (2021).

4.9 ATIVIDADE *IN VITRO* DOS COMPOSTOS CONTRA GAMETÓCITOS DO ESTÁGIO V DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* DA CEPA 3D7

Diante da importância de se obter compostos ativos nos três estágios do ciclo de vida do parasita e da possibilidade dos híbridos de ouro(I) serem ativos frente aos gametócitos, devido a presença do fármaco primaquina em sua estrutura, estes compostos foram testados em parasitas no estágio sexuado, como pode ser visto por meio dos resultados contidos na tabela 18.

Como pode-se perceber por meio da análise dos dados, a primaquina apresentou um valor de IC_{50} bem maior que o composto usado como referência (azul de metileno), o que pode

ser explicado pelo fato deste fármaco ser ativo nos gametócitos, *in vivo*, somente após ser metabolizado. No caso dos complexos metálicos, nota-se que estes apresentaram um valor menor que o apresentado pela primaquina, mas significativamente maior que o valor encontrado para a o azul de metileno. Este resultado indica que os compostos foram melhores que a primaquina no modelo *in vitro*, mas não descarta a possibilidade de um melhor resultado *in vivo*, após serem metabolizados.

Tabela 18 - Atividade *in vitro* dos compostos contra gametócitos do estágio V de *Plasmodium falciparum* na cepa 3D7.

Composto	IC₅₀ ± S. D. (µM)
Primaquina	43,2 ± 10,6
Amodiaquina	23,6 ± 5,0
Híbrido 1	8,4 ± 0,9
Híbrido 3	9,5 ± 3,1
Azul de metileno	0,038 ± 0,014

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

5 COMPLEXOS FOSFÍNICOS

Nós fomos motivados a sintetizar complexos fosfínicos de ouro(I) contendo fármacos antimaláricos como ligantes devido a excelente atividade antimalárica do complexo $[\text{AuCQPPH}_3]\text{PF}_6$. Posto que, este apresentou alta eficácia em duas cepas resistentes de *P. falciparum* (FcB1 e FcB2). Tendo-se destacado na cepa FcB1, na qual apresentou um valor de IC_{50} da ordem de nanomolar e foi 9,2 vezes mais ativo que a cloroquina difosfato. O referido complexo de ouro também foi promissor nos testes *in vivo*, onde o nível de parasitemia em camundongos tratados com o complexo metálico foi menor do que o dos animais tratados com a CQDF (NAVARRO, PÉREZ, SANCHÉZ-DELGADO, 1997).

Adicionalmente, após a descoberta das propriedades antiartríticas da auranofina, muitos complexos de ouro vêm sendo sintetizados, dentre estes um grande número de compostos do tipo $[\text{AuYPPH}_3]$, onde Y pode ser um ligante do tipo X ou do tipo L, têm sido sintetizados e apresentado boa atividade biológica. A síntese destes complexos metálicos é feita por meio da substituição do ligante cloreto do mais simples destes compostos (AuClPPH_3), por outro ligante doador, podendo resultar em uma espécie neutra ou carregada. Tal substituição do cloreto, pode ser feita por meio da adição de um sal de prata, ocorrendo então a precipitação de AgCl e a coordenação do ligante de interesse ao íon ouro(I), ocasionando a formação de uma espécie carregada. Adicionalmente, outra forma de remoção do cloreto pode ser por meio da adição do ligante de interesse e de uma base para desprotoná-lo, produzindo então uma espécie neutra (STENGER-SMITH, MASCHARAK, 2020).

Neste sentido, os complexos fosfínicos de ouro(I) (que contém o NO_3^- como contra-íon) foram sintetizados por meio da adição de uma solução metanólica de AgNO_3 a uma solução de AuClPPH_3 em diclorometano, ocorrendo a precipitação de AgCl . A mistura foi deixada em agitação por 1 hora, e após a filtração com celite, adicionou-se o filtrado a uma solução do respectivo fármaco, também em diclorometano. Após 72 horas reduziu-se o solvente e adicionou-se éter. No caso do complexo **10**, houve a formação de um sólido, já o complexo **8**, formou um óleo no fundo do balão. Isolou-se os produtos obtidos por meio de filtração, lavou-se com éter e secou-se em bomba. Após o processo de lavagem o complexo **8** passou para a forma sólida.

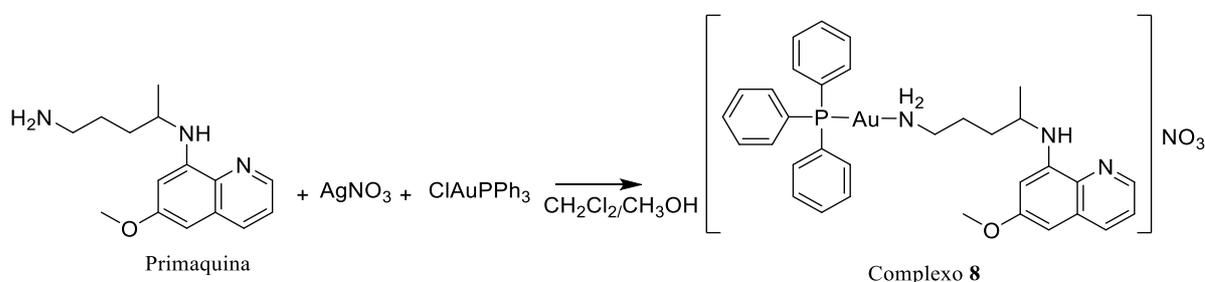
Com o intuito de avaliar a influência do contra-íon na atividade dos complexos de ouro(I), foi feita a obtenção dos complexos fosfínicos correspondentes aos complexos **8** e **10**, porém contendo o hexafluorofosfato como contra-íon. Para tal, adicionou-se o KPF_6 a 10 ml de uma solução do respectivo complexo em metanol. Deixou-se em agitação por 4 horas, filtrou-

se, evaporou-se o solvente e lavou-se o sólido obtido com água e éter. A proporção empregada foi de dois equivalentes do hexafluorofosfato de potássio para um equivalente do respectivo complexo.

5.1 COMPLEXO 8

De maneira semelhante ao que foi descrito para a cloroquina, sintetizou-se o novo complexo fosfínico de ouro(I) com o fármaco primaquina (esquema 11), onde foi obtido um sólido marrom que foi caracterizado por meio de técnicas espectroscópicas adequadas.

Esquema 11 - Síntese do complexo **8**.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

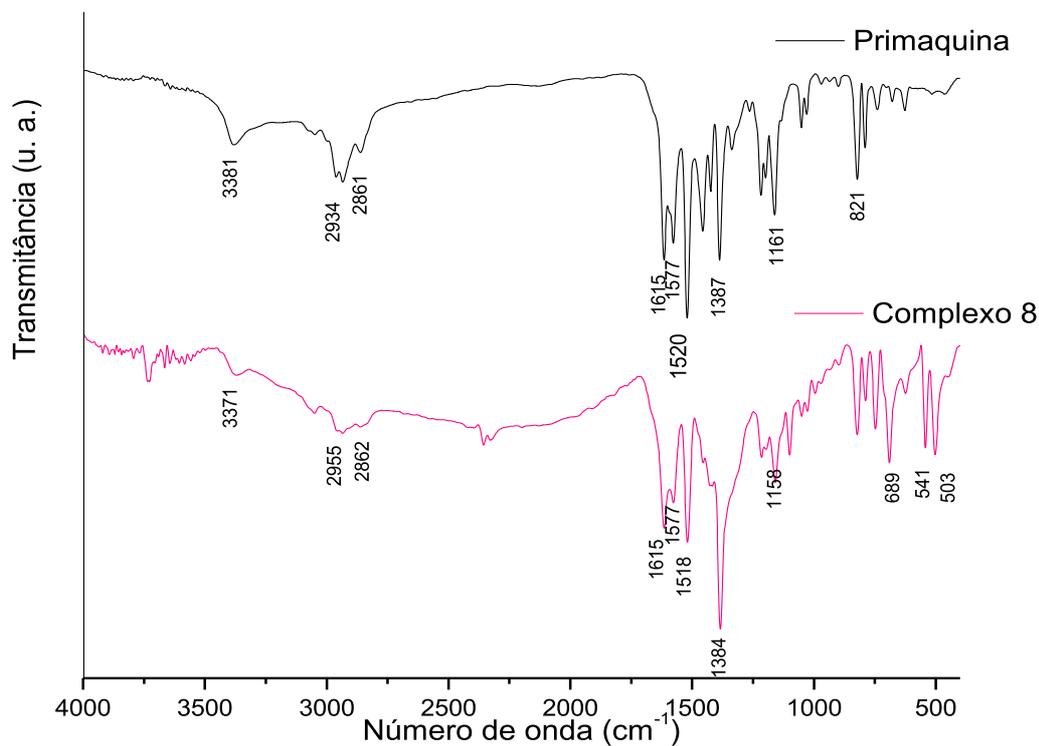
Inicialmente, o complexo metálico foi caracterizado por espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho, vide Figura 68, em conjunto com o espectro da primaquina base livre. Observando-se o espectro de absorção vibracional na região do infravermelho do complexo **8** nota-se uma banda em 3371 cm^{-1} , referente ao estiramento NH além de bandas em 2955 e 2862 cm^{-1} que são características dos estiramentos simétrico e assimétrico de CH_2 da cadeia alifática. As três bandas mencionadas encontram-se ligeiramente deslocadas em relação a PQ. Em 1615 e 1577 cm^{-1} podem ser visualizadas duas bandas que são atribuídas, aos estiramentos $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$, respectivamente (SILVERSTEIN, 2006).

Com base na comparação dos espectros obtidos nota-se uma banda intensa em 1384 cm^{-1} referente ao estiramento assimétrico do nitrato, confirmando a presença do contra-íon e o surgimento de uma banda em 503 cm^{-1} , que é atribuída ao estiramento Au-N, confirmando a coordenação do ligante ao metal (SILVERSTEIN, 2006; CHAVES et al., 2015).

O complexo **8** também foi caracterizado por espectroscopia de RMN de ^1H , que se encontra na Figura 69, onde é possível perceber o surgimento de um sinal intenso com valor de integral igual a quinze, referente aos hidrogênios da trifenilfosfina. Nota-se também o

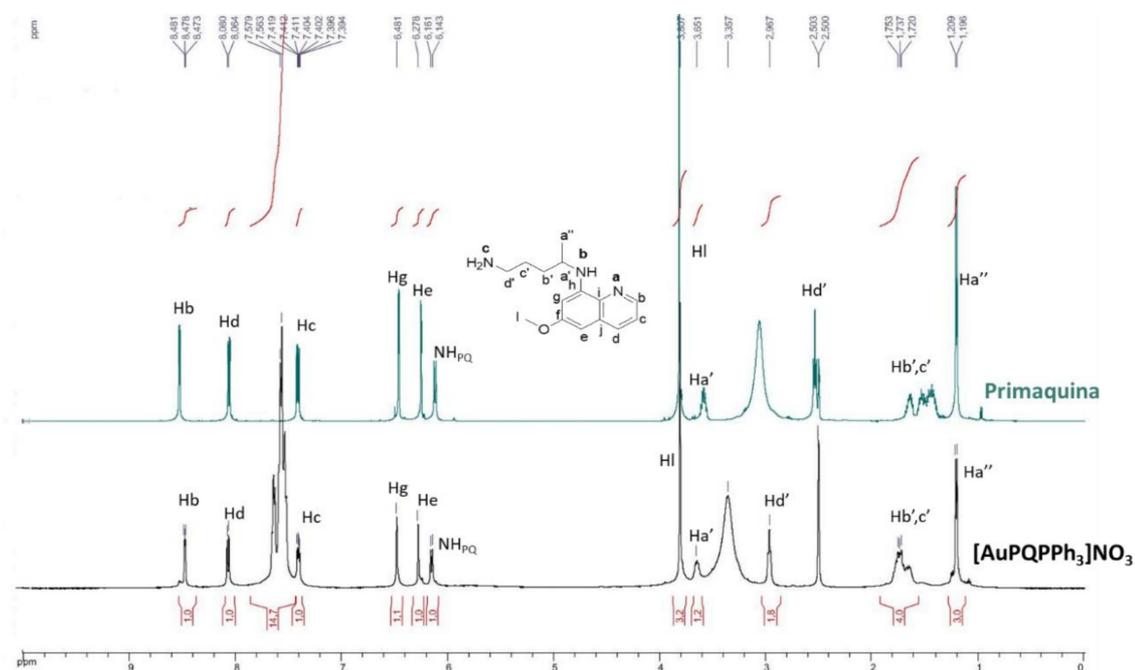
deslocamento do sinal referente aos hidrogênios do grupo CH_2 que se encontra diretamente ligado ao NH_2 , o que sugere então a formação do complexo metálico e a coordenação da primaquina ao ouro por meio do nitrogênio da amina primária. Os valores dos deslocamentos químicos podem ser observados na tabela 19.

Figura 68 - Espectros de absorção vibracional na região do infravermelho da primaquina e do complexo **8**.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 69 - Espectros de RMN de ^1H do complexo **8** e da primaquina em DMSO- d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

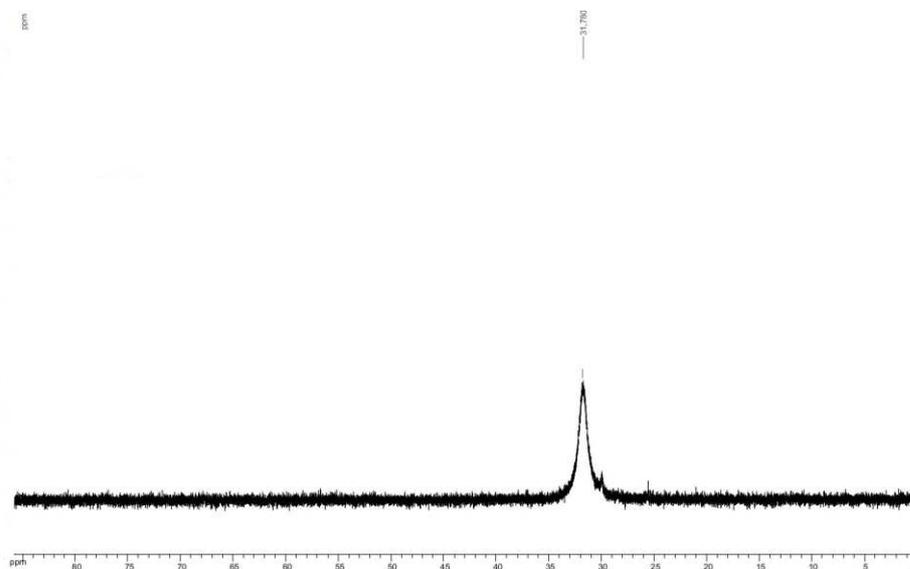
Tabela 19 - Valores de deslocamentos químicos para o complexo **8** comparado com a primaquina.

Primaquina δ (ppm)	Complexo 8 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
Ha'' – 1,20	Ha'' – 1,20	0
H b',c' – 1,43	H b',c' -1,72	0,29
Hd' – 2,54	Hd' – 2,97	0,43
Ha' – 3,59	Ha' – 3,65	0,06
Hl – 3,82	Hl– 3,81	0,01
NH – 6,11	NH – 6,14	0,03
He – 6,25	He – 6,28	0,03
Hg – 6,46	Hg – 6,48	0,02
Hc – 7,40	Hc – 7,39	0,01
Hd – 8,05	Hd – 8,06	0,01
Hb – 8,52	Hb – 8,47	0,05

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O complexo **8** também foi caracterizado por RMN de ^{31}P , que se encontra na Figura 70, onde pode-se observar um sinal em 31,78 ppm, deslocado em relação ao precursor (32,69 ppm), o que sugere então a formação do complexo metálico.

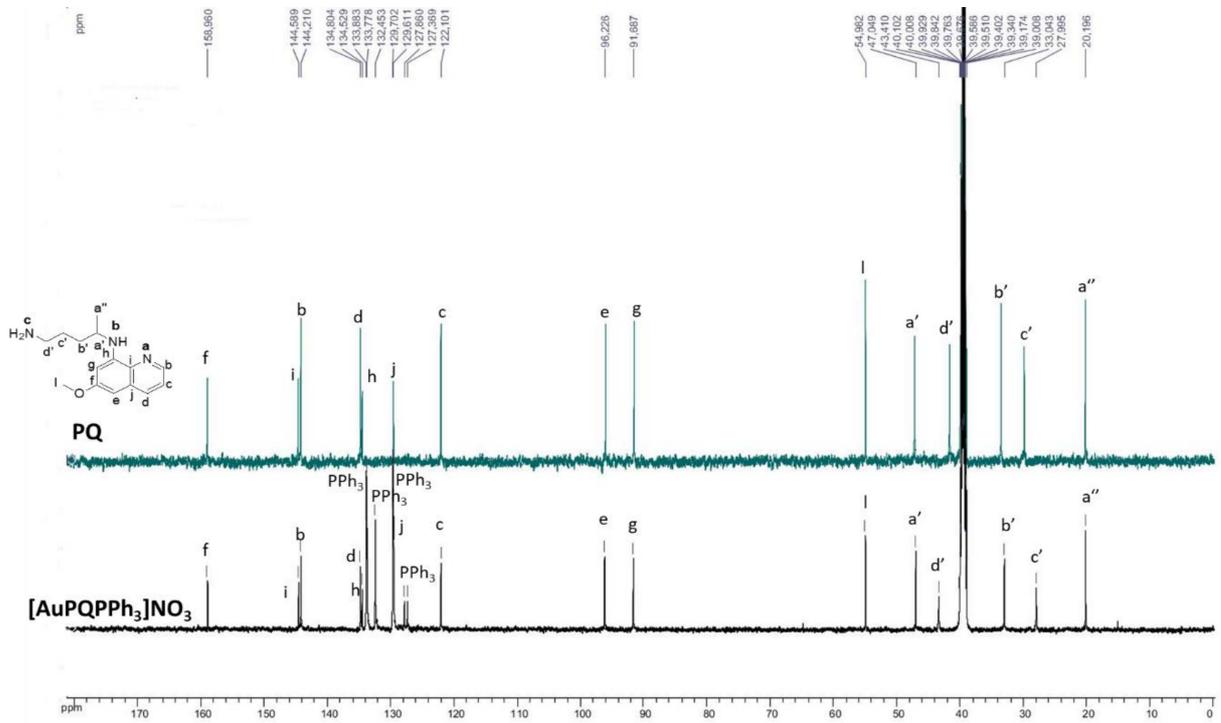
Figura 70 - Espectro de RMN de ^{31}P do complexo **8** (202 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O espectro de RMN de ^{13}C também foi obtido e encontra-se na Figura 71, e os deslocamentos químicos, encontram-se na tabela 20, por meio destes resultados pode-se concluir que a coordenação ocorre por meio do nitrogênio da amina alifática. Tal atribuição pode ser feita devido ao fato de que os sinais que apresentaram maiores deslocamentos serem referentes aos carbonos Cb', Cc' e Cd, que são os mais próximos ao NH_2 . Adicionalmente, é possível perceber o surgimento de sinais na região entre 127,37 e 133,69 ppm, que são característicos da presença da trifenilfosfina na estrutura da molécula. Nota-se que estes sinais aparecem como dupletos devido ao acoplamento com o átomo de fósforo.

Figura 71 - Espectros de RMN de ^{13}C da primaquina e do complexo metálico $[\text{AuQPPh}_3]\text{NO}_3$ (125 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

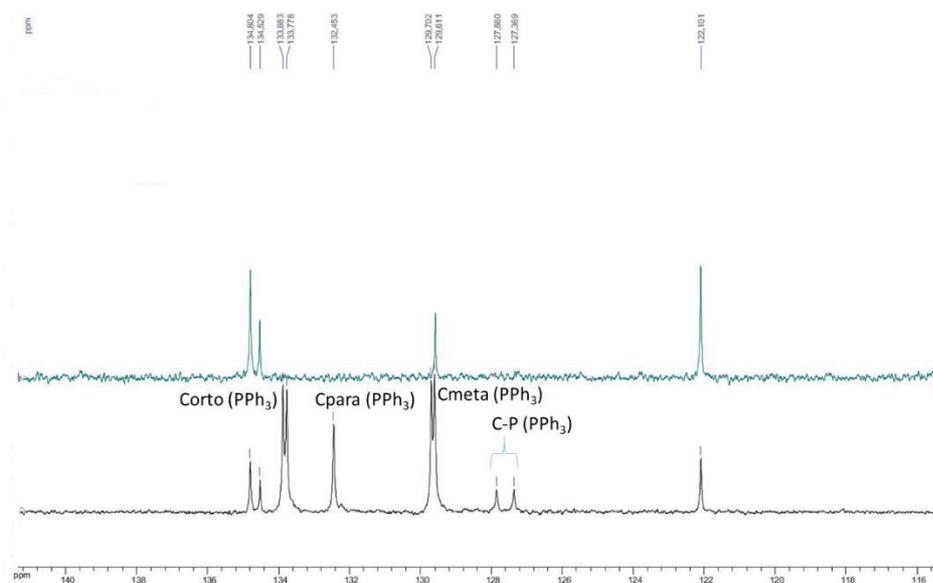
Tabela 20 - Valores de deslocamentos químicos nos espectros de RMN de ^{13}C do híbrido **8** e dos ligantes.

PQ δ (ppm)	Complexo 8 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
Ca'' – 20,25	Ca'' – 20,20	Ca'' - 0,05
Cc' – 29,90	Cc' – 27,99	Cc' - 1,91
Cb' – 33,55	Cb' – 33,04	Cb' - 0,51
Cd' – 41,69	Cd' – 43,41	Cd' - 1,72
Ca' – 47,23	Ca' – 47,05	Ca' – 0,18
Cl – 54,99	Cl – 54,98	Cl - 0,01
Cg – 91,56	Cg – 91,69	Cg - 0,13
Ce – 96,06	Ce – 96,23	Ce – 0,17
Cc – 122,10	Cc – 122,10	Cc – 0
Cj – 129,59	Cj – 129,61	Cj - 0,02
Ch – 134,54	Ch – 134,53	Ch – 0,01
Cd – 134,80	Cd -134,80	Cd - 0
Cb – 144,25	Cb – 144,21	Cb - 0,04
Ci – 144,66	Ci – 144,59	Ci - 0,07
Cf – 159,02	Cf – 158,96	Cf - 0,06
	C-P – 127,37	
	C _{meta} – 129,61	
	C _{para} – 132,45	
	C _{orto} – 133,78	

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Na Figura 72 encontra-se a expansão da região aromática do espectro de RMN de ^{13}C obtido para o complexo **8**. Em tal expansão percebe-se o surgimento, mencionado anteriormente, dos carbonos provenientes da trifenilfosfina, sendo eles: os carbonos diretamente ligados ao fósforo, que podem ser observados como um duplete em 127,37 ppm com constante de acoplamento de 85,92 Hz; os carbonos em meta ao fósforo em 129,51 ppm, que também se desdobram em um duplete e apresentam valor de constante de acoplamento de 15,75 Hz e por fim, os carbonos em para e orto ao fósforo em 132,45 ppm e 133,78 ppm, respectivamente. Os carbonos em orto ao fósforo são um duplete e possuem constante de acoplamento de 18,37 Hz.

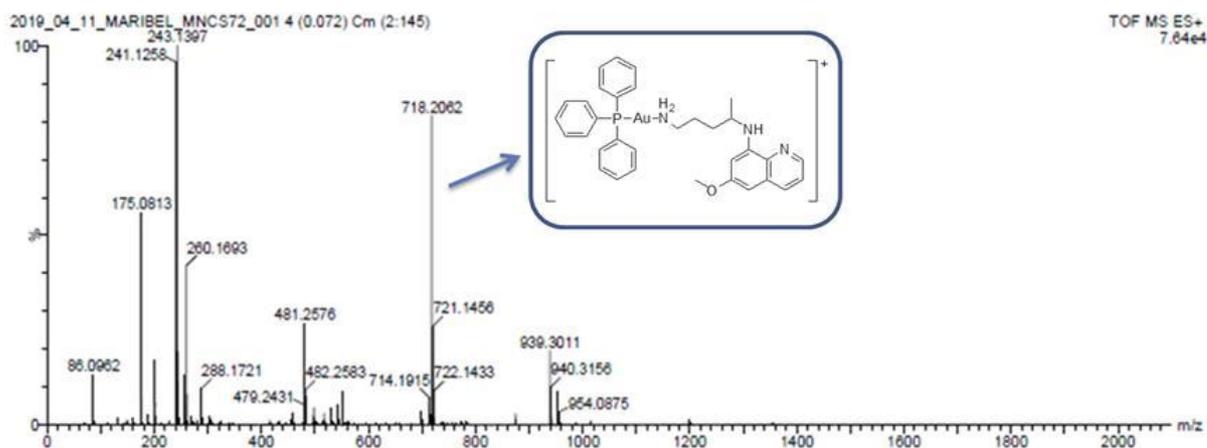
Figura 72 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C do complexo **8** (125 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Finalmente, o complexo **8** também foi caracterizado por espectroscopia de massas (Figura 73), onde foi possível observar um pico em 260,17 característico da primaquina protonada, que é idêntico ao valor calculado (260,17), e um pico em 718,21 referente a $[\text{AuPQPPH}_3]^+$. Tal pico concorda com o esperado (718,23), confirmando a formação do complexo de interesse.

Figura 73 - Espectro de massas do complexo **8**.

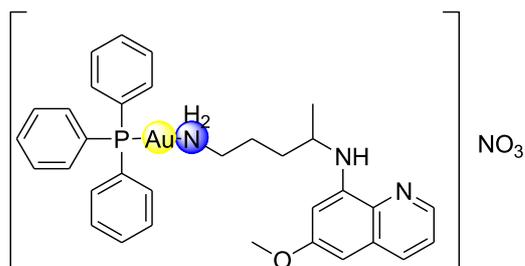


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O resultado obtido para análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio, apresentaram boa correlação com o esperado (item 3.6.1), confirmando assim a fórmula molecular proposta. O valor obtido para condutividade molar em DMSO ($28,88 \pm 0,32 \text{ ohm}^{-1}$

$\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$) se encontra dentro da faixa de eletrólitos 1:1, indicando que o complexo **8** é catiônico (VELHO, 2006). Com base nos dados obtidos a estrutura proposta para o complexo **8** encontra-se na Figura 74 e como pode-se observar, é um complexo metálico catiônico de geometria linear.

Figura 74 - Estrutura proposta para o complexo **8**.

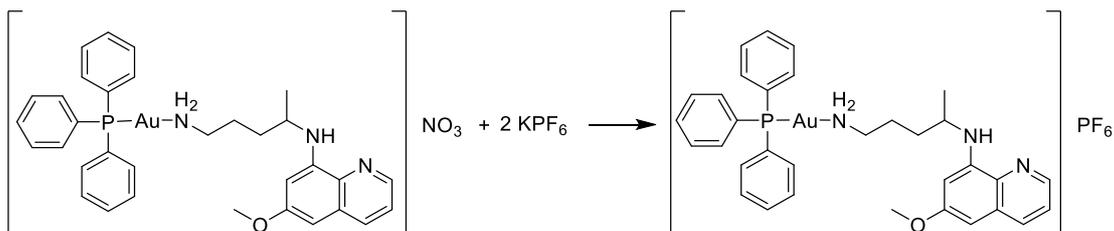


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

5.2 COMPLEXO 9

Para a obtenção do complexo $[\text{AuPQPPh}_3]\text{PF}_6$ foi feita a reação do complexo **8** com o hexafluorofosfato de potássio (esquema 12). Foi obtido um sólido marrom, que foi caracterizado por meio de técnicas espectroscópicas adequadas.

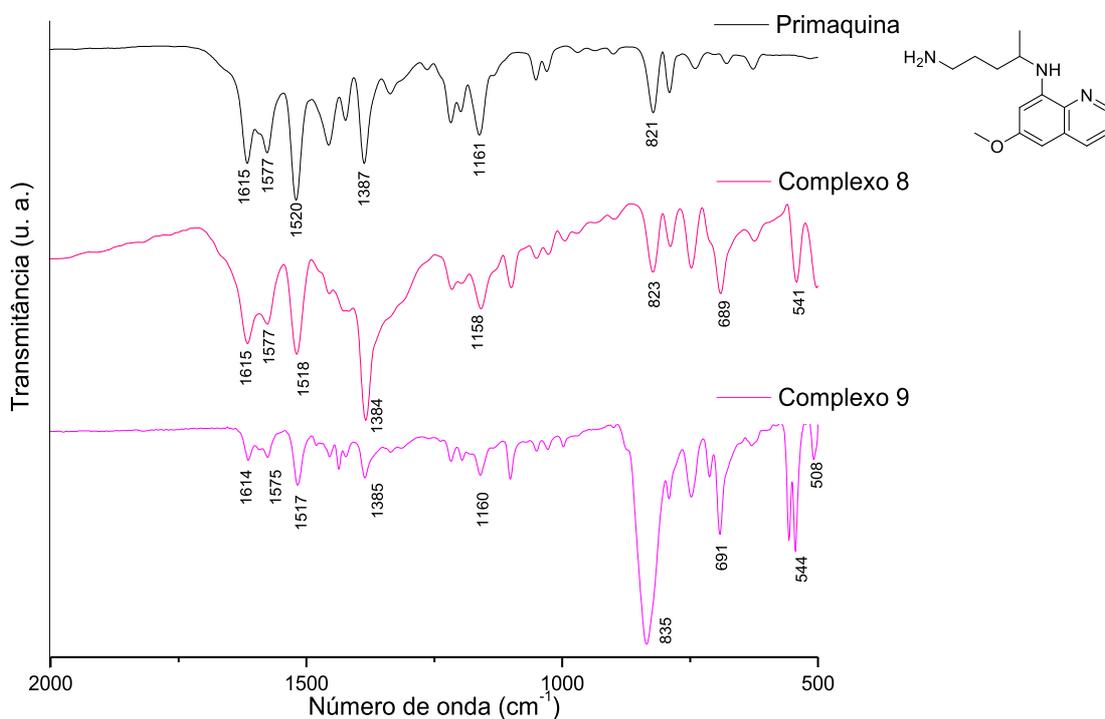
Esquema 12 - Obtenção do complexo **9**.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Observando-se o espectro de IV obtido para o complexo **9** em comparação com os espectros da primaquina livre e do complexo **8** (Figura 75), nota-se a diminuição da banda em 1384 cm^{-1} , passando a apresentar a mesma intensidade observada no espectro da primaquina livre, o que indica a remoção do nitrato. Adicionalmente, nota-se o surgimento de uma banda intensa em 835 cm^{-1} , característica do estiramento P-F, o que demonstra que ocorreu a troca do contra-íon de nitrato para hexafluorofosfato (NAVARRO et al., 2004).

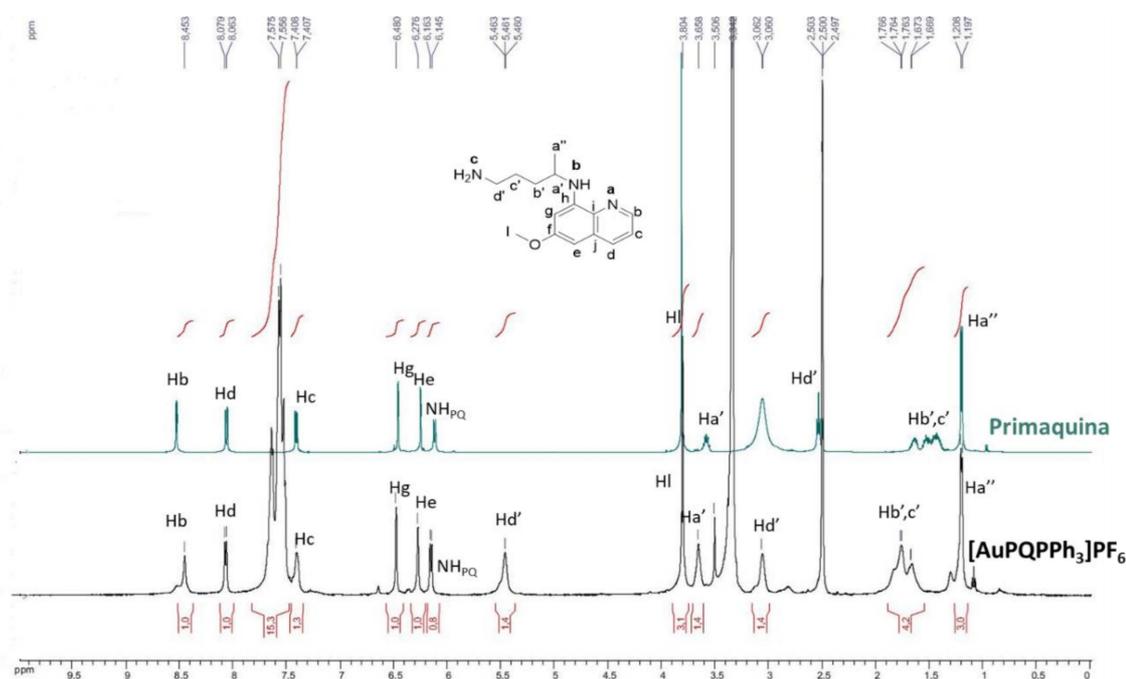
Figura 75 - Espectros de absorção vibracional na região do IV para o complexo **9**, complexo **8** e primaquina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Após a obtenção do espectro de IV para o complexo **9**, foi feita a aquisição de um espectro de RMN de ¹H, que se encontra na Figura 76 em conjunto com o espectro da primaquina. Com base na análise dos espectros, nota-se o deslocamento do sinal referente aos hidrogênios dos grupos CH₂, Hb' e Hc' e também que os hidrogênios do CH₂ Hd' se separam, passando a serem observados em 3,06 e 5,46 ppm, conforme é possível se observar na tabela 21. Tais variações indicam a coordenação do ouro ao nitrogênio do NH₂, o que sugere que a esfera de coordenação do complexo foi mantida após a troca de contra-íon. As atribuições foram confirmadas com o auxílio da espectroscopia de correlação homonuclear (COSY) (Figura 77).

Figura 76 - Espectros de RMN de ^1H da primaquina e do complexo **9** (500 MHz).

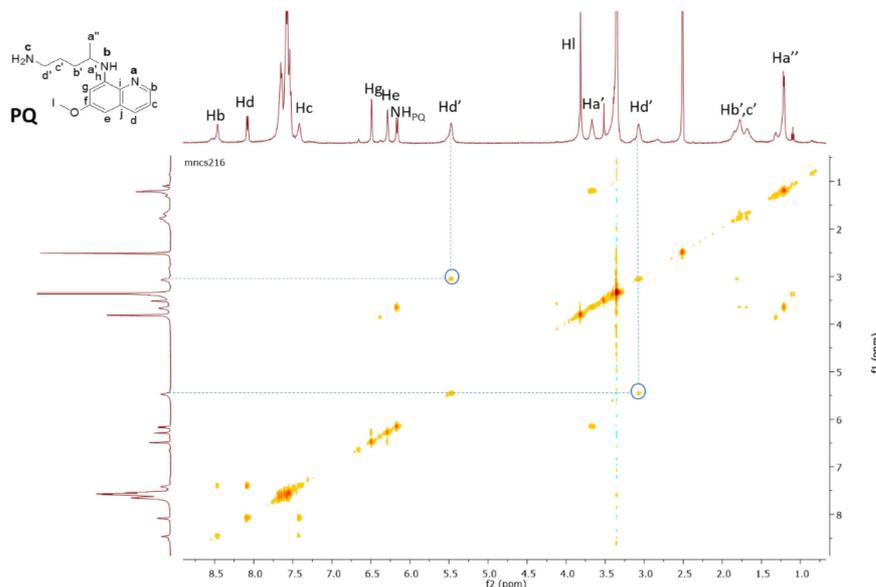


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Tabela 21 - Valores dos deslocamentos químicos da primaquina e do complexo **9**.

Primaquina δ (ppm)	Complexo 9 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
Ha'' – 1,20	Ha'' – 1,20	0
H b',c' – 1,43	H b',c' – 1,67	0,24
Hd' – 2,54	Hd' – 3,06; 5,46	0,52;2,92
Ha' – 3,59	Ha' – 3,66	0,07
HI – 3,82	HI – 3,80	0,02
NH – 6,11	NH – 6,14	0,03
He – 6,25	He – 6,28	0,03
Hg – 6,46	Hg – 6,48	0,02
Hc – 7,40	Hc – 7,41	0,01
Hd – 8,05	Hd – 8,06	0,01
Hb – 8,52	Hb – 8,45	0,07

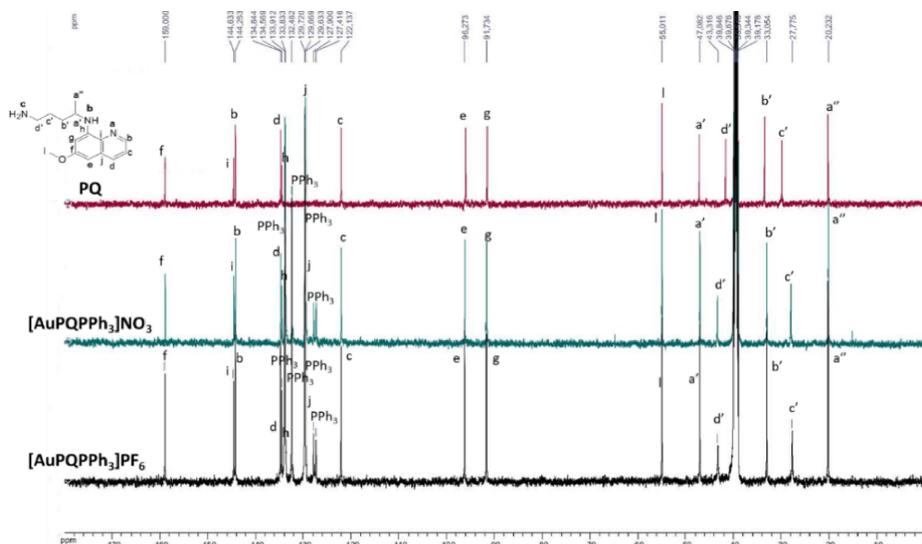
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 77 - Espectro de RMN COSY do complexo **9**.

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Em adição, também foi obtido o espectro de RMN de ^{13}C para o complexo **9**, que se encontra na Figura 78, que também representa os espectros da primaquina e do complexo **8**. Com base no espectro e nos valores de deslocamentos químicos (tabela 22), nota-se que o espectro obtido para o complexo **9** apresenta um perfil bastante semelhante ao obtido para o complexo **8**, com os sinais que mais sofreram deslocamento sendo os sinais referentes aos carbonos Cc' e Cd'. Dessa forma, é possível concluir que a coordenação foi mantida.

Figura 78 - Espectros de RMN de ^{13}C do complexo **8**, do complexo **9** e primaquina (125 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

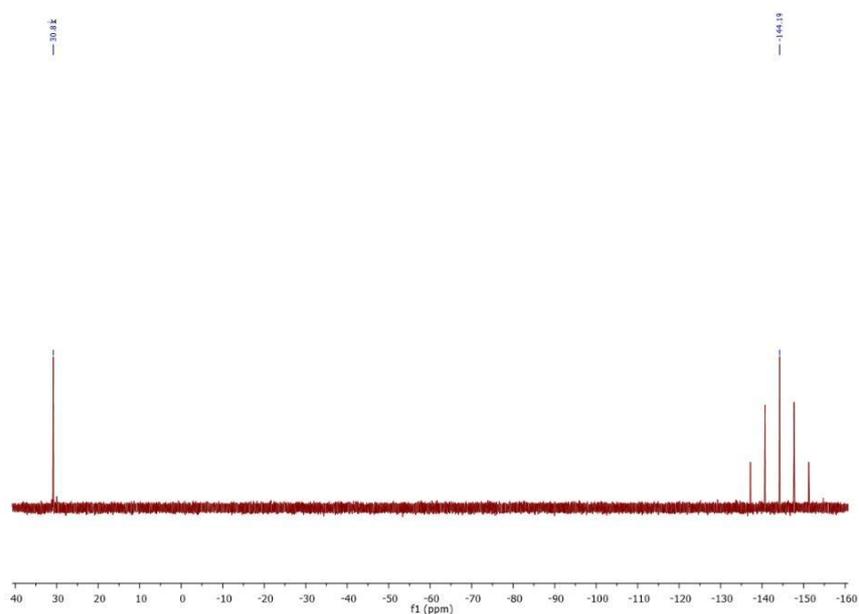
Tabela 22 - Valores dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C da primaquina e do complexo **9**.

PQ δ (ppm)	Complexo 9 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
Ca'' – 20,25	Ca'' – 20,23	Ca'' - 0,02
Cc' – 29,90	Cc' – 27,77	Cc' - 2,13
Cb' – 33,55	Cb' – 33,05	Cb' - 0,5
Cd' – 41,69	Cd' – 43,32	Cd' - 1,63
Ca' – 47,23	Ca' – 47,08	Ca' – 0,15
Cl – 54,99	Cl – 55,01	Cl – 0,02
Cg – 91,56	Cg – 91,73	Cg – 0,17
Ce – 96,06	Ce – 96,27	Ce – 0,21
Cc – 122,10	Cc – 122,14	Cc – 0,04
Cj – 129,59	Cj – 129,63	Cj – 0,04
Ch – 134,54	Ch – 134,57	Ch – 0,03
Cd – 134,80	Cd – 134,84	Cd – 0,04
Cb – 144,25	Cb – 144,25	Cb – 0
Ci – 144,66	Ci – 144,63	Ci – 0,03
Cf – 159,02	Cf – 159,00	Cf – 0,02
	C-P – 127,42	
	C _{meta} - 129,67	
	C _{para} – 132,48	
	C _{orto} – 138,83	

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Outro experimento realizado foi a obtenção do RMN de ^{31}P (Figura 79), para confirmar a presença do novo contra-íon. Com base no espectro obtido, notam-se dois sinais, um referente a presença do fósforo da trifetilfosfina e o outro atribuído ao fósforo do PF_6^- , confirmando a troca do contra-íon.

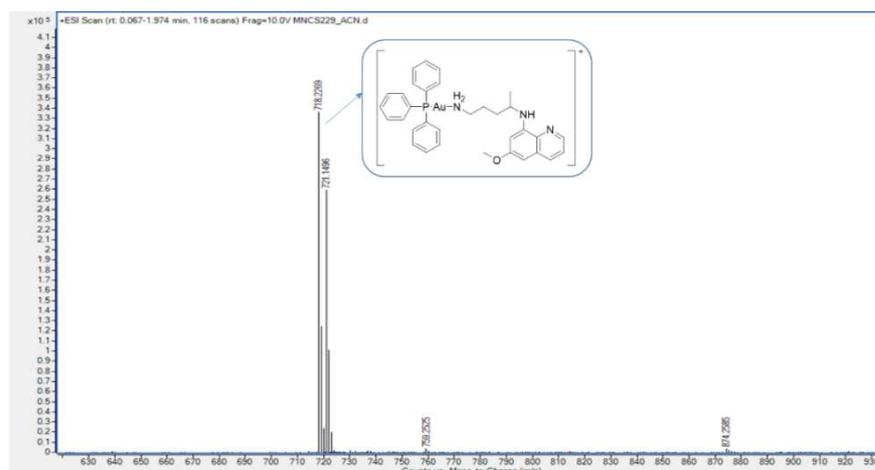
Figura 79 - Espectro de RMN de ^{31}P do complexo **9** (202 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Além das técnicas mencionadas, o composto também foi caracterizado por espectrometria de massas, onde por meio da análise do espectro obtido (Figura 80) nota-se um sinal em 218,23 Da que é atribuído a espécie $[\text{AuPQPPh}_3]^+$, confirmando a fórmula molecular do complexo **9**.

Figura 80 - Espectro de massas do complexo **9**.

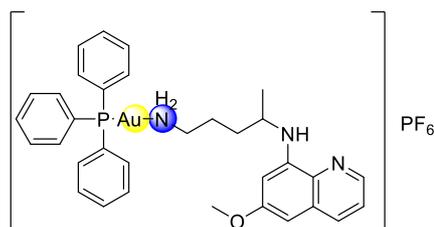


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

As porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidas experimentalmente apresentaram uma boa correlação com os valores teóricos (diferença inferior a 1%), sugerindo

que a fórmula molecular proposta é adequada. O resultado obtido por meio da condutimetria ($28,20 \pm 0,23 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$), indica que o composto obtido é catiônico (VELHO, 2006). Assim sendo, por meio da análise dos dados obtidos, na Figura 81 encontra-se uma proposta estrutural para o complexo **9**, onde o complexo sintetizado é linear e catiônico contendo como contra-íon o PF_6^- . Destaca-se que a coordenação do ligante ao metal ocorre por meio da amina primária.

Figura 81 - Estrutura proposta para o complexo **9**.

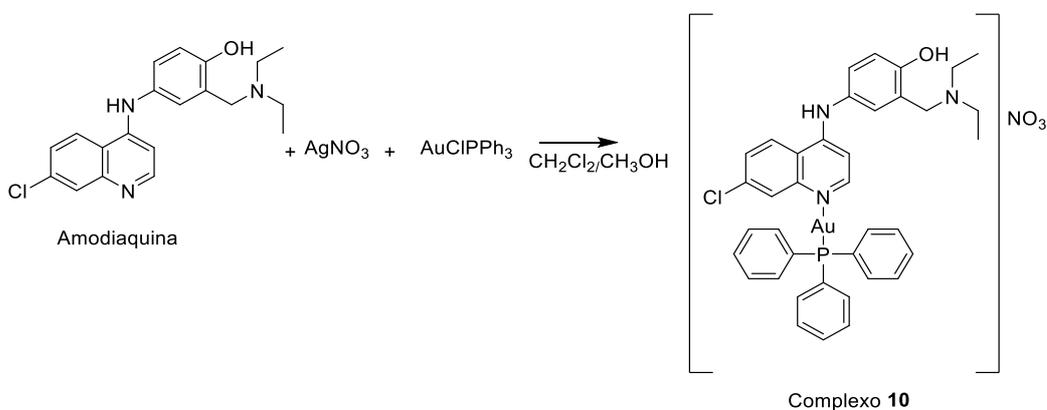


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

5.3 COMPLEXO 10

O complexo **10**, foi obtido pela substituição do ligante cloreto do precursor fosfínico de ouro(I) pelo fármaco amodiaquina (esquema 13), e com a finalidade de facilitar a saída do íon cloreto e de se obter como contra-íon o nitrato, utilizou-se AgNO_3 . Obteve-se um sólido amarelo que foi caracterizado por meio de técnicas espectroscópicas adequadas.

Esquema 13 - Síntese do complexo **10**.

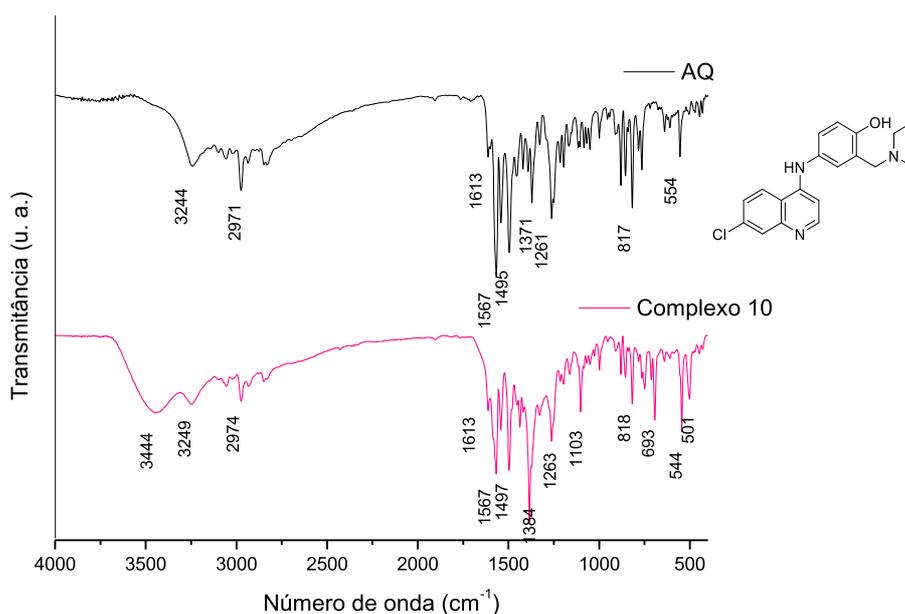


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O complexo **10** foi caracterizado inicialmente por espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho, Figura 82, onde é possível perceber que quando

comparado ao espectro do ligante livre, ocorre o surgimento de uma banda em 1384 cm^{-1} que é referente ao estiramento NO do grupo nitrato. Também percebe-se o surgimento de uma banda em 501 cm^{-1} , que é atribuída ao estiramento Au-N (SILVERSTEIN, 2006; VANČO et al., 2014).

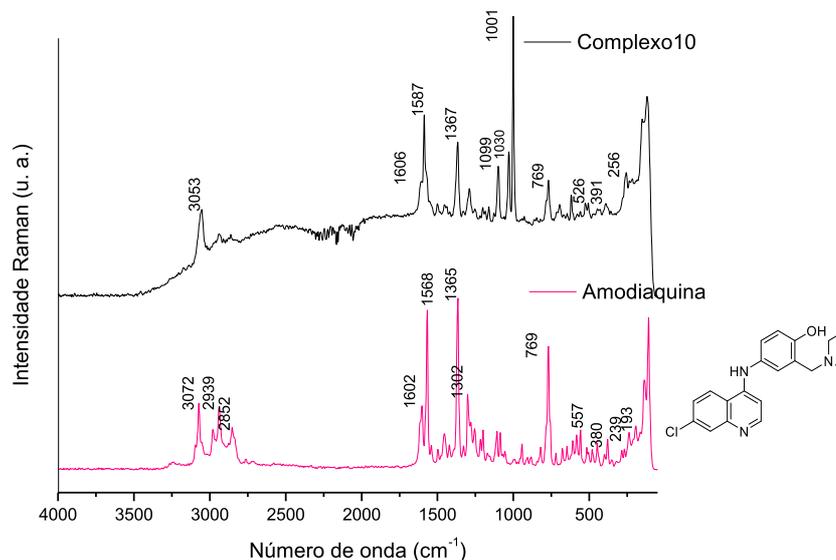
Figura 82 - Espectros de absorção vibracional na região do IV para a amodiaquina e o complexo **10**.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Na Figura 83, pode ser observado o espectro Raman obtido para o complexo **10** em conjunto com o espectro da amodiaquina, e com base na comparação desses espectros, nota-se o surgimento de uma banda intensa em 1001 cm^{-1} que é atribuída ao estiramento simétrico do nitrato e de uma banda em 256 cm^{-1} , que é referente ao estiramento Au-P (NAKAMOTO, 2009; VANČO et al., 2014). As bandas observadas no espectro Raman, em conjunto com as observadas no espectro de infravermelho, indicam a formação do complexo metálico de interesse.

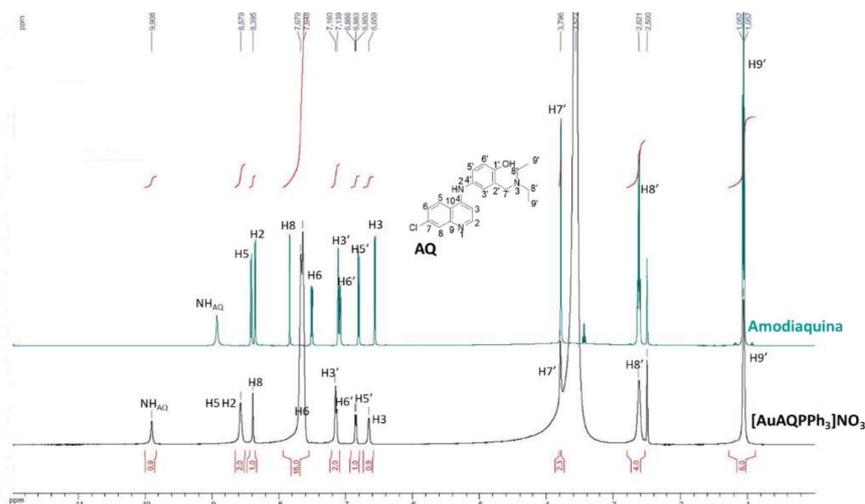
Figura 83 - Espectros RAMAN da amodiaquina e do complexo **10**.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

O complexo **10** foi caracterizado também por espectroscopia de RMN de ¹H, como pode ser visto na Figura 84, onde é possível perceber o surgimento de um sinal em 7,65 ppm, com valor de integral igual a quinze na região aromática, referente aos hidrogênios da trifenilfosfina. Em adição, com base na comparação dos espectros e na tabela 23, pode-se perceber que os sinais que apresentaram maior deslocamento foram os hidrogênios H8 e NH, o que indica que a coordenação do metal ao fármaco está acontecendo por meio do nitrogênio quinolínico. Com o NH sendo afetado devido a ressonância cujos elétrons não ligantes presentes no átomo de nitrogênio estão envolvidos.

Figura 84 - Espectro de RMN de ^1H para o complexo **10** e para a amodiaquina em DMSO- d_6 (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Tabela 23 - Valores de deslocamentos químicos para o complexo **10** comparado com a amodiaquina.

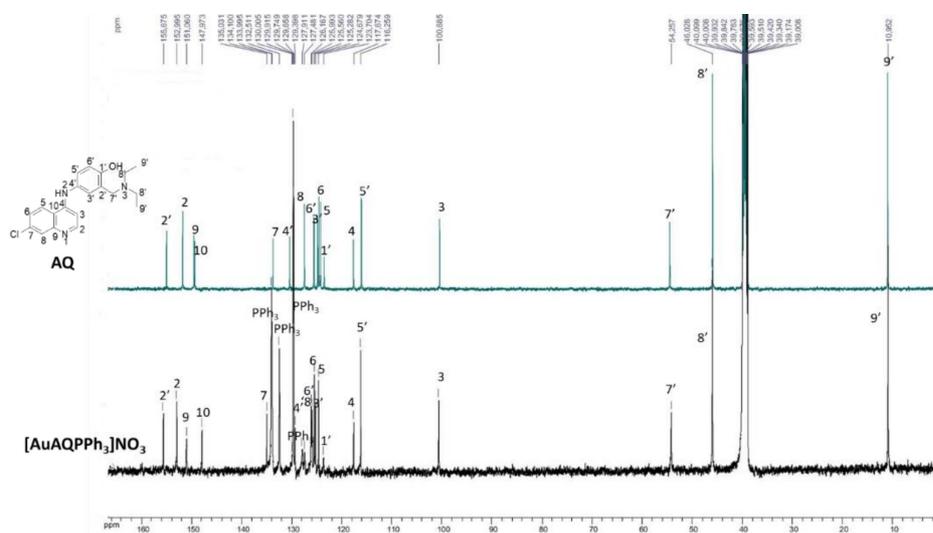
Amodiaquina δ (ppm)	Complexo 10 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
H9' - 1,03	H9' - 1,06	0,03
H8' - 2,50	H8' - 2,62	0,12
H7' - 3,77	H7' - 3,80	0,03
H3 - 6,56	H3 - 6,66	0,10
H5' - 6,79	H5' - 6,85	0,06
H6' - 7,07	H6' - 7,14	0,07
H3' - 7,09	H3' - 7,16	0,07
H6 - 7,50	H6 - 7,65	0,15
H8 - 7,84	H8 - 8,39	0,55
H2 - 8,35	H2 - 8,56	0,21
H5 - 8,40	H5 - 8,56	0,16
NH - 6,93	NH - 9,91	2,98

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Na Figura 85 encontram-se os espectros de RMN de ^{13}C do complexo **10** e do fármaco amodiaquina e com base na comparação dos espectros nota-se o surgimento de sinais na região entre 125,99 e 134,10 ppm, referentes aos carbonos da trifenilfosfina. Ainda comparando tais

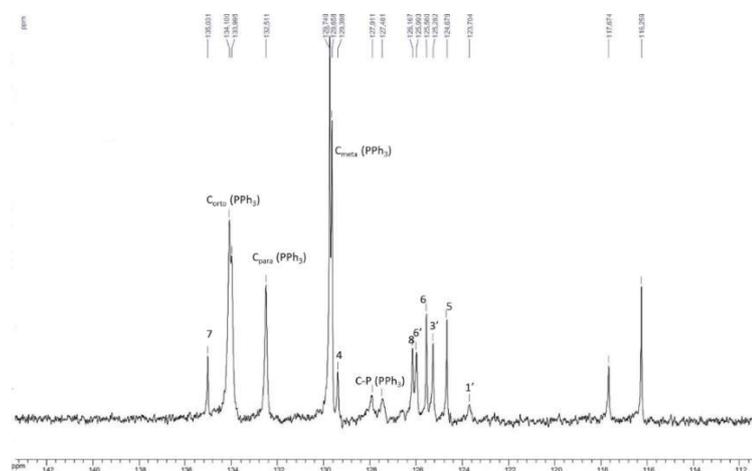
espectros e com base na tabela 24, nota-se que os sinais que mais se deslocaram foram os sinais referentes aos carbonos do anel quinolínico. O sinal referente ao carbono C4' presente no anel aromático que se liga ao NH também se deslocou, possivelmente devido ao fato de haver uma modificação na ressonância da molécula após a coordenação. Os deslocamentos confirmam a coordenação proposta com base no RMN de ^1H . Para facilitar a interpretação do espectro pode-se observar uma expansão do RMN de ^{13}C na região onde aparecem os carbonos da trifenilfosfina (Figura 86).

Figura 85 - Espectro de RMN de ^{13}C para o complexo **10** e para a amodiaquina em DMSO- d_6 (125 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 86 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C para o complexo **10** em DMSO- d_6 (125 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

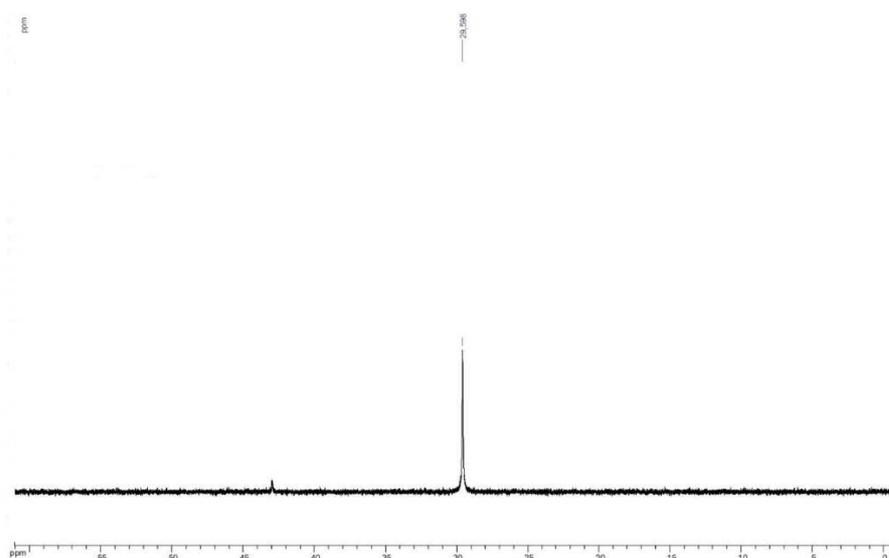
Tabela 24 - Valores dos deslocamentos químicos da amodiaquina e do complexo **10**.

AQ δ (ppm)	Complexo 10 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
C9' – 11,02	C9' – 10,95	C9' – 0,07
C8' – 45,98	C8' – 46,03	C8' – 0,05
C7' – 54,55	C7' – 54,26	C7' – 0,29
C3 – 100,52	C3 – 100,68	C3 – 0,16
C5' – 116,13	C5' – 116,26	C5' – 0,13
C4 – 117,72	C4 – 117,67	C4 – 0,05
C1' – 123,56	C1' – 123,70	C1' – 0,14
C5 – 124,29	C5 – 124,68	C5 – 0,39
C6 – 124,61	C6 – 125,56	C6 – 0,95
C3' – 124,89	C3' – 125,28	C3' – 0,39
C6' – 125,60	C6' – 125,99	C6' – 0,39
C8 – 127,51	C8 – 126,17	C8 – 1,34
C4' – 130,45	C4' – 129,40	C4' – 1,05
C7 – 133,80	C7 – 135,03	C7 – 1,23
C10 – 149,40	C10 – 147,97	C10 – 1,43
C9 – 149,58	C9 – 151,06	C9 – 1,48
C2 – 151,82	C2 – 152,99	C2 – 1,17
C2' – 155,05	C2' – 155,67	C2' – 0,62
	C-P – 127,48	
	C _{meta} – 129,66	
	C _{para} – 132,51	
	C _{orto} – 133,99	

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Na Figura 87, encontra-se o espectro de RMN de ^{31}P do complexo **10**, onde pode-se perceber um sinal em 29,60 ppm, que se encontra deslocado com relação ao precursor metálico (3,09 ppm), o que é mais um indício da formação do complexo metálico de interesse.

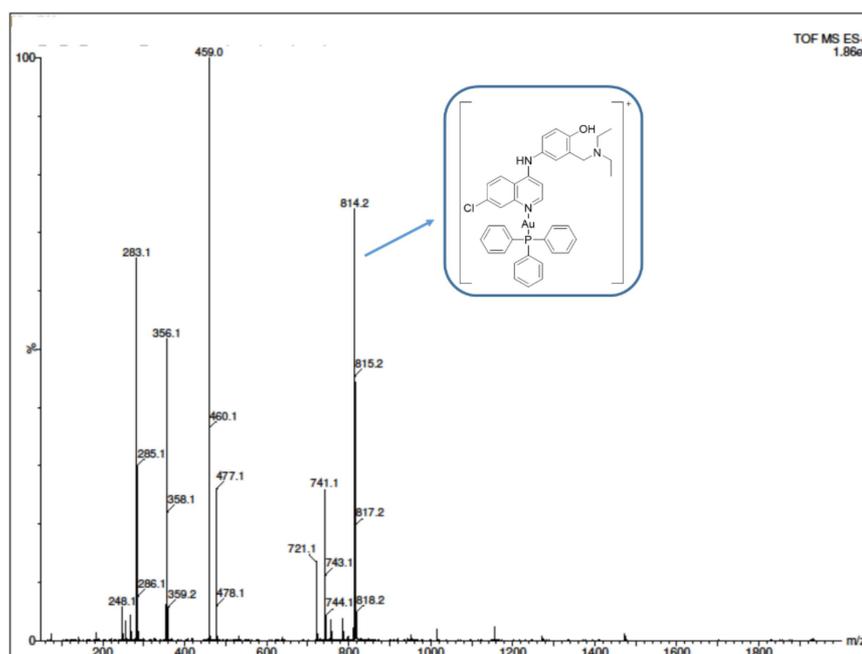
Figura 87 - Espectro de RMN de ^{31}P do complexo **10** (202 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Adicionalmente, na Figura 88, nota-se o espectro de massas do complexo fosfínico, onde é possível observar um sinal em 814,17, atribuído a espécie $[\text{AuAQPPH}_3]^+$, tal sinal concorda com o valor esperado (814,20), confirmando a obtenção do complexo áurico almejado.

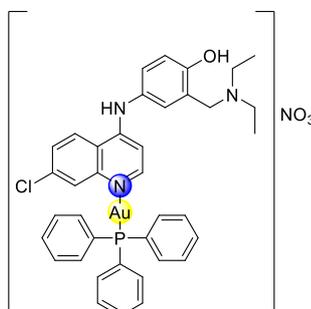
Figura 88 - Espectro de massas do complexo **10**.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Os resultados da análise elementar de C, H e N apresentam uma diferença inferior a 0,5% quando comparados aos valores calculados, indicando assim que a fórmula molecular proposta foi alcançada. Adicionalmente, o valor de condutividade molar obtido ($19,57 \pm 0,07 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$) indica que o composto é um eletrólito 1:1 (VELHO, 2006). Em base à análise dos resultados obtidos por meio de todas as técnicas empregadas, propõe-se a formação de um complexo fosfínico de ouro(I) com o fármaco amodiaquina coordenado ao metal por meio do nitrogênio da quinolina, formando uma estrutura de geometria linear, com 14 elétrons, conforme é característico dos complexos de ouro(I) (Figura 89).

Figura 89 - Estrutura proposta para o complexo **10**.

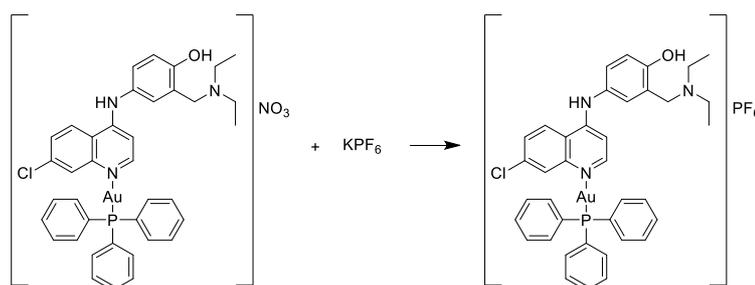


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

5.4 COMPLEXO 11

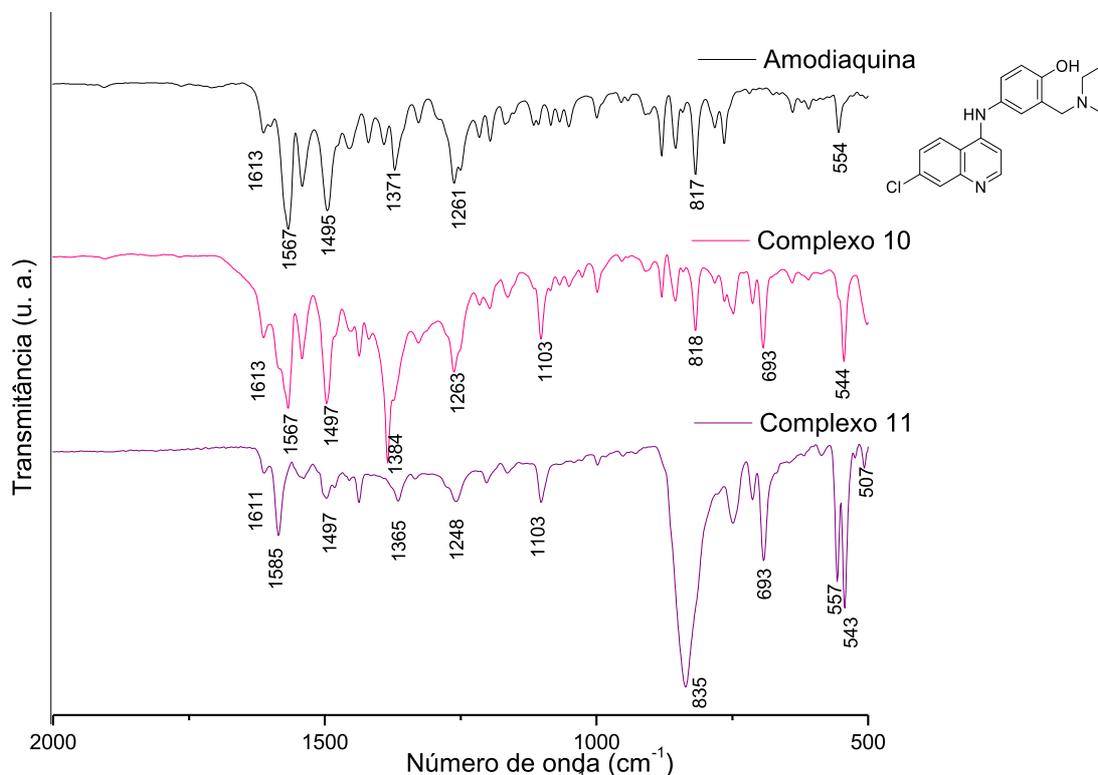
Também foi feita a troca do contra-íon de NO_3^- para PF_6^- do complexo **11** (esquema 14), obtendo-se um sólido amarelo, que foi inicialmente caracterizado por espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho (Figura 90). Ao analisar o espectro obtido para o complexo **11** em comparação com o espectro de infravermelho do complexo **10**, notam-se o surgimento de uma banda intensa em 835 cm^{-1} e o desaparecimento da banda em 1384 cm^{-1} , o que demonstra a troca do contra-íon de NO_3^- para PF_6^- (NAVARRO et al., 2004).

Esquema 14 - Obtenção do complexo **11**.



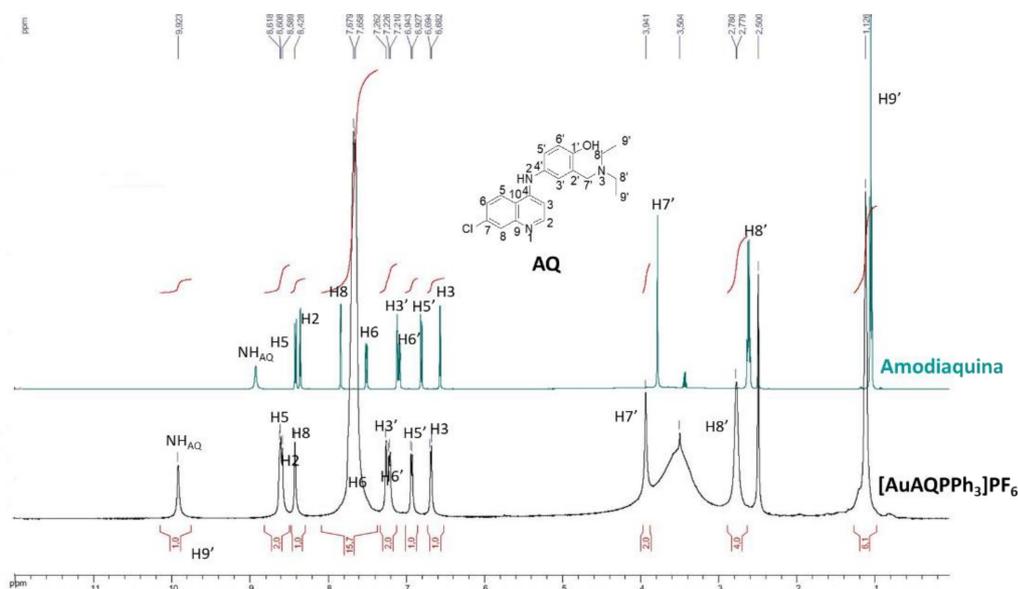
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 90 - Espectros de absorção vibracional na região do IV para o complexo **10**, complexo **11** e amodiaquina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Na Figura 91, encontram-se os espectros referentes a amodiaquina e ao complexo fosfinico [AuAQPPH₃]₆PF₆ (complexo 11). Analisando-se os espectros é possível constatar o surgimento de um sinal entre 7,4 e 8 ppm, com valor de integral de 16 hidrogênios que é atribuído aos hidrogênios da trifenilfosfina e ao H6 da amodiaquina, que se encontram sobrepostos. Os valores de deslocamentos químicos do complexo **10** e da amodiaquina encontram-se na tabela 25, e por meio da análise dos valores é possível perceber que, assim como o complexo **10**, no caso do complexo **11**, os hidrogênios que mais se deslocaram foram o hidrogênio quinolínico H8 e o NH. Por isso, sugere-se a coordenação da amodiaquina ao ouro por meio do nitrogênio quinolínico, com o NH sendo deslocado devido a ressonância de seus elétrons com os dos anéis aromáticos presentes na estrutura do fármaco aminoquinolínico.

Figura 91 - Espectro de RMN de ^1H da primaquina e do complexo **11** (500 MHz).

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

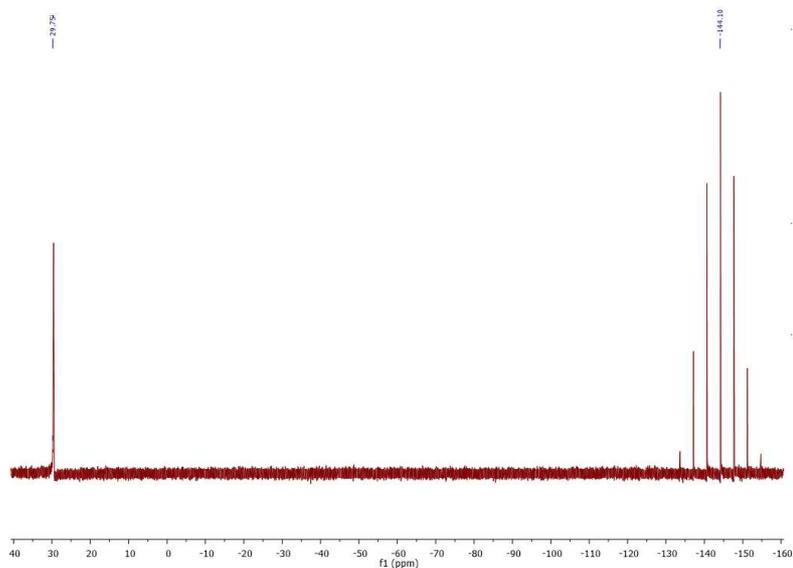
Tabela 25 - Valores dos deslocamentos químicos da amodiaquina e do complexo **11**.

Amodiaquina δ (ppm)	Complexo 11 δ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
H9' – 1,03	H9' – 1,13	0,10
H 8' - 2,50	H 8' – 2,78	0,28
H7' – 3,77	H7' – 3,94	0,17
H3 – 6,56	H3 – 6,68	0,12
H5' – 6,79	H5' – 6,93	0,14
H6' - 7,07	H6' - 7,21	0,14
H3' – 7,09	H3' – 7,16	0,07
H6 – 7,50	H6 – 7,66	0,16
H8 – 7,84	H8 – 8,43	0,59
H2 – 8,35	H2 – 8,59	0,24
H5 – 8,40	H5 – 8,61	0,21
NH – 6,93	NH – 9,92	2,99

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Além do espectro de RMN de ^1H também foi obtido o espectro de RMN de ^{31}P (Figura 92), onde além do sinal referente a fosfina (29,79) pode-se perceber o surgimento de um septeto em -144,10 ppm, referente ao fósforo do hexafluorofosfato, confirmando a troca do contra-íon.

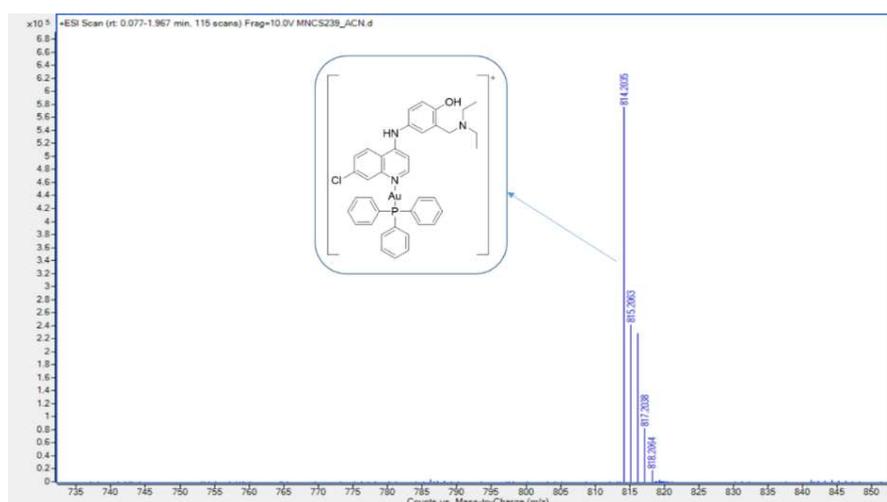
Figura 92 - Espectro de RMN de ^{31}P do complexo **11** (202 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Em adição, o complexo **11** foi caracterizado por espectrometria de massas (Figura 93), onde é possível perceber um sinal em 814,20, que é referente a $[\text{AuAQPPH}_3]^+$. O valor encontrado no espectro de massas está de acordo com o valor calculado (814,20), confirmando assim a obtenção do composto de interesse.

Figura 93 - Espectro de massas do complexo **11**.



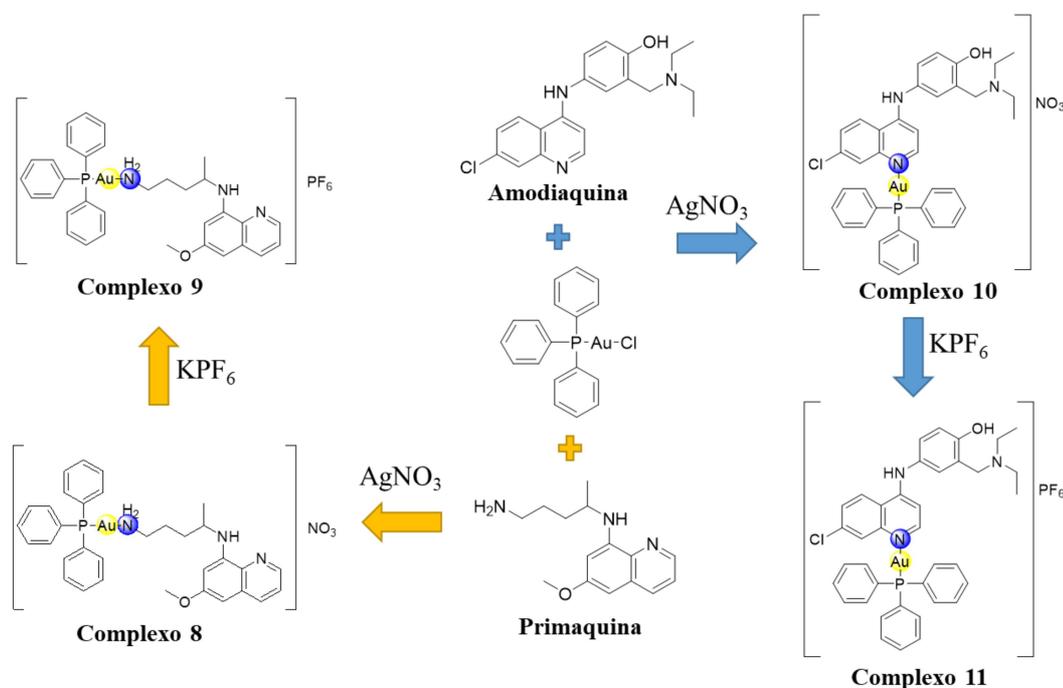
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Por meio dos resultados obtidos a partir de todas as técnicas empregadas é possível propor a coordenação da amodiaquina ao ouro por meio do nitrogênio quinolínico, conforme a estrutura representada no esquema 15. O valor de condutividade obtido em uma solução de

concentração 1mM em DMSO foi de $35,37 \pm 0,06 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$, que está na faixa de eletrólitos 1:1 (VELHO, 2006), o que indica que assim como proposto o complexo **11** é catiônico, como proposto no esquema 15.

No esquema 15 estão representadas as estruturas dos quatro complexos fosfínicos derivados dos fármacos amodiaquina e primaquina. Como pode-se observar nos complexos derivados de primaquina (complexo **8** e complexo **9**) a coordenação ocorre por meio do nitrogênio do grupo NH_2 e quanto aos obtidos a partir da amodiaquina (complexo **10** e complexo **11**), a coordenação acontece através do nitrogênio quinolínico. Os complexos obtidos são catiônicos, possuem geometria linear e hibridação sp.

Esquema 15 - Esquema de obtenção dos complexos fosfínicos.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

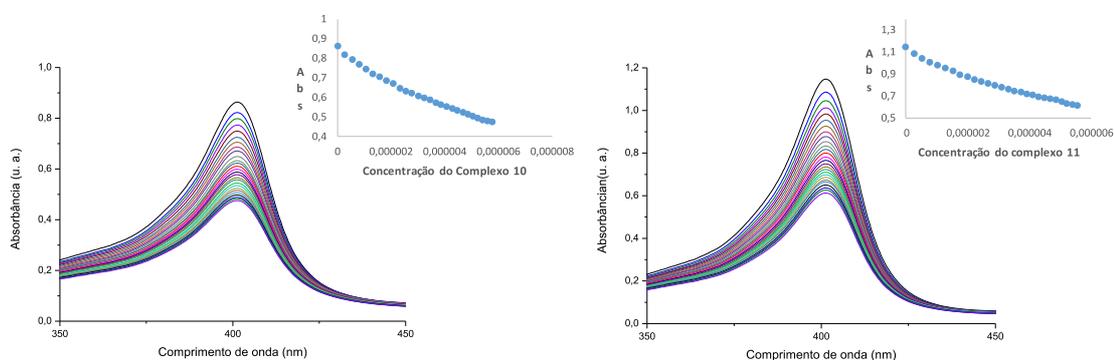
5.5 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DOS COMPLEXOS FOSFÍNICOS COM A FERRIPROTOPORFIRINA

A avaliação da interação com a ferriprotoporfirina para os complexos áuricos contendo fosfina em sua estrutura foi realizada, porém a solução dos complexos foi preparada dez vezes mais diluída por questões de solubilidade. Os espectros eletrônicos obtidos após cada adição do complexo de interesse às cubetas contendo as soluções do branco e da hematina encontram-se na Figura 94. A interação dos complexos metálicos derivados do fármaco primaquina (**8** e **9**)

com a ferritoporfirina foi avaliada e foi possível constatar a ausência de interação entre os compostos mencionados. Em contrapartida, ao se observar o efeito da adição dos complexos Au(I) derivados da amodiaquina (complexos **10** e **11**) sob a banda de Soret, notou-se um hipocromismo acima de 40% (tabela 26), semelhante ao observado para os fármacos antimaláricos amodiaquina e cloroquina, indicando, portanto que os complexos de ouro(I) interagem com a ferritoporfirina de modo análogo a estes fármacos nas condições utilizadas neste experimento.

Além da determinação do hipocromismo, também foi calculado o valor da constante de interação entre os compostos e a ferritoporfirina (tabela 26). Com base nos valores obtidos percebe-se que os complexos áuricos derivados do fármaco amodiaquina, apresentaram valores de Log K semelhante aos fármacos amodiaquina e cloroquina, indicando assim que estes atuam de maneira semelhante a tais fármacos antimaláricos nas condições empregadas neste experimento. Tal resultado era esperado, uma vez que, é conhecida a interação entre a amodiaquina e a ferritoporfirina. (EGAN et al., 1997).

Figura 94 - Interação dos complexos **10** e **11** com a ferritoporfirina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Tabela 26 - Valores de Log K e de hipocromismo obtidos para os complexos **10**, e **11**.

Composto	Log K	Hipocromismo (%)
[AuAQPPH ₃]PF ₆	5,57 ± 0,03	47
[AuAQPPH ₃]NO ₃	5,73 ± 0,14	43
CQDF	5,80 ± 0,06	53
AQDC	5,69 ± 0,08	45

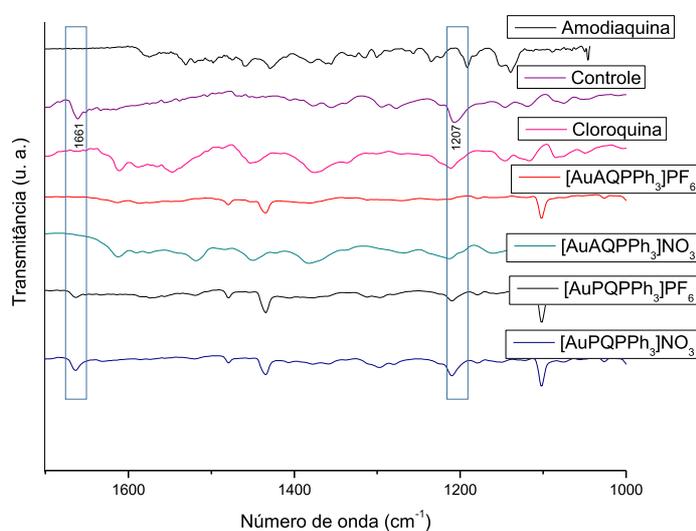
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

5.6 AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DA B-HEMATINA

Além da avaliação da interação com a ferriprotoporfirina, os compostos **10** e **11** foram submetidos a verificação da inibição da formação da β -hematina. Ao longo de tal experimento, foram empregados como controles positivos a amodiaquina e a cloroquina, que apresentam conhecida capacidade de inibição da formação da β -hematina (EGAN, MARQUES, 1999). Como é possível observar na Figura 95, os espectros obtidos para os sólidos provenientes dos experimentos na presença dos fármacos, como esperado, não apresentaram a presença das bandas em 1660 cm^{-1} e 1210 cm^{-1} , confirmando a capacidade de inibição da formação da β -hematina pelos complexos **10** e **11**. De modo diferente, para o branco observou-se as bandas características da β -hematina, o que confirma a formação deste composto ao longo de tal estudo.

Ao examinar os espectros de IV obtidos para os sólidos sintetizados na presença dos complexos, percebe-se que no caso dos derivados da amodiaquina, as bandas em 1660 cm^{-1} e 1210 cm^{-1} não são observadas, indicando que estes complexos metálicos conservam a capacidade de inibição da formação da β -hematina do fármaco que os originam. Desse modo, a inibição da formação da hemozoína pode ser considerada um dos possíveis mecanismos de ação destes compostos. Entretanto, os espectros de infravermelho obtidos para os sólidos conseguidos na presença dos complexos áuricos derivados da primaquina apresentam tais bandas, o que demonstra que estes, assim como a primaquina, não possuem a capacidade de inibir a formação da β -hematina (EGAN, MARQUES, 1999).

Figura 95 - Avaliação da inibição da formação da β -hematina por meio dos complexos **8**, **9**, **10** e **11**.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

5.7 INIBIÇÃO DA FORMAÇÃO DA B-HEMATINA EM TAMPÃO

Uma vez obtidos os resultados indicativos da presença ou ausência da interação com a ferriprotoporfina e da inibição da formação da β -hematina, foi feito um experimento para determinar quanto cada composto inibe a formação da β -hematina. Dessa forma determinou-se o valor da concentração necessária dos compostos fosfínicos para inibir a formação da β -hematina. Ao analisar os valores obtidos para os compostos (tabela 27), nota-se que o complexo de ouro(I) que mais inibiu a formação da espécie mencionada foi o complexo $[\text{AuAQPPH}_3]\text{PF}_6$ (complexo **11**), que apresentou o mesmo valor de IC_{50} que o obtido para a amodiaquina e menor valor quando comparado a cloroquina. Por isso, é possível concluir que o complexo **11** apresenta capacidade de inibição similar ao fármaco que o origina e melhor que a cloroquina.

No tocante aos complexos derivados da primaquina observou-se que o complexo $[\text{AuPQPPH}_3]\text{NO}_3$ (complexo **8**) exibiu um resultado ligeiramente menor que a cloroquina e o $[\text{AuPQPPH}_3]\text{PF}_6$ (complexo **9**) um valor um pouco maior, logo pode-se constatar que, apesar dos resultados qualitativos indicarem a ausência de inibição, os valores de IC_{50} obtidos demonstram a capacidade, surpreendente, dos compostos avaliados de inibir a formação da β -hematina e destaca-se o complexo **8**, que foi capaz de inibir a formação da β -hematina de maneira semelhante ao fármaco cloroquina. Os resultados obtidos neste estudo evidenciam a importância da formação do complexo metálico, uma vez que o fármaco livre não atua inibindo a formação da β -hematina.

Tabela 27 - Concentração necessária para 50% de inibição da formação da β -hematina.

Composto	$\text{IC}_{50} \pm \text{S.D. (mM)}$
AQ(BL)	$0,089 \pm 0,037$
CQ(BL)	$0,18 \pm 0,047$
AuCIPPh₃	>8
Complexo 8 $[\text{AuPQPPH}_3]\text{NO}_3$	$0,11 \pm 0,066$
Complexo 9 $[\text{AuPQPPH}_3]\text{PF}_6$	$0,39 \pm 0,10$
Complexo 11 $[\text{AuAQPPH}_3]\text{PF}_6$	$0,089 \pm 0,021$

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

6 CONCLUSÕES

Ao longo desta tese foram sintetizados e caracterizados dez complexos de ouro(I), que podem ser divididos em duas classes: a dos complexos metálicos híbridos, que compreende os híbridos áuricos (híbrido **1** [AuCQPQ]PF₆, híbrido **2** [AuCQPQ]NO₃, híbrido **3** [AuAQPQ]PF₆ e híbrido **4** [AuAQPQ]NO₃) e seus precursores (AuPQCl e [AuAQ₂]Cl). E a classe dos complexos fosfínicos de ouro(I) que apresentam fármacos antimaláricos como ligantes (complexo **8** [AuPQPPh₃]NO₃, complexo **9** [AuPQPPh₃]PF₆, complexo **10** [AuAQPPh₃]NO₃ e complexo **11** [AuAQPPh₃]PF₆). Os híbridos metálicos reportados pertencem a uma nova classe de compostos, visto que, nós fomos os primeiros a obter compostos híbridos contendo dois fármacos que atuam em diferentes fases do ciclo do parasita, unidos por meio de um metal. Foram aqui reportados quatro híbridos de ouro(I): dois contendo o PF₆⁻ como contra-íon e dois com NO₃⁻. Dentre os híbridos, os que possuem NO₃⁻ como contra-íon foram obtidos em baixos rendimentos, por isso foram apenas parcialmente caracterizados e futuramente a rota de síntese empregada na obtenção dos mesmos será otimizada em breve.

Foi feito o estudo do mecanismo de ação dos complexos híbridos (**1** e **3**) frente a três alvos: DNA, hemozoína e a enzima TrxR. Inicialmente avaliou-se a presença de interação dos híbridos com o DNA por meio da titulação espectrofotométrica e do estudo de viscosidade. Por meio dos resultados alcançados foi possível concluir que os híbridos **1** e **3** interagem com o DNA de maneira reversível, possivelmente por meio de interação com o sulco menor ou intercalação. Também foi feito o estudo do potencial dos compostos frente a inibição da hemozoína, uma vez que este é o principal mecanismo de ação dos fármacos amodiaquina e cloroquina. A princípio avaliou-se a interação dos complexos híbridos com a hematina e observou-se que estes interagem com a espécie mencionada de maneira semelhante aos fármacos que os originam. Posteriormente foram feitos os estudos de inibição da formação da β-hematina (análogo sintético da hemozoína), onde demonstrou-se que os híbridos inibem a formação deste dímero de maneira similar a AQ. O último alvo avaliado foi a enzima tiorredoxina redutase (humana e do parasita), onde demonstrou-se que os híbridos **1** e **3** inibem as duas enzimas, mas apresentam preferência pela humana. Tal comportamento pode ser devido a diferenças estruturais entre as enzimas, uma vez que, de modo diferente da enzima do parasita, que apresenta duas cisteínas em seu sítio ativo, a enzima humana possui uma cisteína e uma selenocisteína.

Também avaliou-se a atividade antiparasitária dos compostos frente a cepas do *P. falciparum*, onde observou-se que o híbrido que mais se destacou foi o **3**, que apresentou um IC₅₀ de 3 nM, sendo muito melhor e seletivo que os fármacos antimaláricos empregados como ligantes

ao longo desta tese. Adicionalmente, foram feitos estudos *in vivo* em camundongos infectados com *P. berghei* e os híbridos foram capazes de reduzir a parasitemia em mais de 99%, com todos os camundongos sobrevivendo. Novamente quem demonstrou melhores resultados foi o híbrido **3**, que reduziu a parasitemia (>99%) em concentrações menores que os fármacos aminoquinolínicos testados, inclusive foi melhor que os fármacos administrados em conjunto, o que reforça a importância da formação do complexo metálico.

Além destes estudos, foi executado o experimento de inibição da biossíntese da hemoína por meio da dosagem das espécies contendo heme no sangue de camundongos tratados com o híbrido **1**, que foi o primeiro a ser sintetizado. Os resultados mostraram que após o tratamento com o híbrido **1** houve uma diminuição da quantidade de hemozoína formada e um aumento da quantidade de heme livre, o que confirma a atuação do híbrido neste alvo. Em adição foi testada a capacidade do híbrido **1** de atuar frente a outros estágios do parasita como no fígado e nos gametócitos. No estágio hepático o híbrido **1** foi muito potente, sendo cerca de dez vezes melhor que a primaquina, que tem atividade moderada. Por fim, com relação aos gametócitos os dois híbridos (**1** e **3**) foram melhores que a PQ, que tem bons resultados apenas *in vivo*, mas menos ativos que o azul de metileno, usado como composto de referência. Tal resultado não descarta a possibilidade dos híbridos (**1** e **3**) apresentarem resultados mais promissores *in vivo*. Em vista de todos os dados reportados ao longo deste texto, pode-se afirmar que os híbridos obtidos (**1** e **3**) são multi-alvo e multi-fase, posto que atuaram, em pelo menos, três alvos (inibindo a formação da hemozoína, interagindo com o DNA e inibindo a TrxR) e dois estágios do parasita (sanguíneo e hepático).

No tocante aos complexos fosfínicos de ouro(I), iniciou-se o estudo do mecanismo de ação destes, pois devido a limitações de tempo foram feitos somente os estudos de interação com a hematina e de inibição da formação da β -hematina. Ao estudar a interação dos complexos fosfínicos de ouro(I) contendo fármacos antimaláricos como ligante com a hematina, foi constatado que os derivados da amodiaquina (complexos **10** e **11**) apresentam interação semelhante a observada para o fármaco que os origina e que os oriundos do fármaco primaquina não interagem nas condições empregadas (complexos **8** e **9**). No entanto, por meio da determinação da concentração necessária para inibir em 50% da formação da β -hematina foi demonstrado que os complexos metálicos derivados da primaquina inibem tal formação, inclusive o complexo $[\text{AuPQPPh}_3]\text{NO}_3$ (complexo **8**) apresentou valores de IC_{50} ligeiramente menores que os observados para a cloroquina, indicando que este complexo de ouro(I) inibe a formação da β -hematina de modo parecido a cloroquina. Comparando os resultados de IC_{50} obtidos para todos os complexos fosfínicos de ouro(I) com fármacos antimaláricos, percebe-se que o que mais se destacou foi o

complexo de ouro derivado da amodiaquina ($[\text{AuAQPPH}_3]\text{NO}_3$), que apresentou valores menores que os observados para CQ e semelhantes aos calculados para a AQ, indicando que é mais eficiente na inibição da formação da β -hematina que a CQ e similar a AQ.

Por fim, é importante ressaltar a importância da síntese dos novos híbridos metálicos, que conforme proposto foram multi-alvo, multi-fase e apresentaram bons resultados *in vitro* e *in vivo*, dando origem assim a uma nova classe de promissores compostos antimaláricos. Evidencia-se que os experimentos de interação com a hematina e de inibição da formação da β -hematina foram estabelecidos no departamento de química da UFJF ao longo desta tese e que parte dos resultados obtidos no doutoramento foram publicados em um artigo científico (Apêndice D). Como perspectivas futuras a este trabalho, almeja-se finalizar o estudo do mecanismo de ação dos complexos fosfínicos de ouro(I) derivados de fármacos antimaláricos aminoquinolínicos, que já estão sendo testados e reportar tais resultados em um artigo.

REFERÊNCIAS

- ADEDIJI, J. F.; OLAYINKA, E. T.; ADEBAYO, M. A.; BABATUNDE, O. **International Journal of Physical Sciences**, v. 4, p. 529-534, 2009.
- AGARWAL, D.; GUPTA, R. D.; AWASTHI, S. K. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, p. e00249-17, 2017.
- ABRÃO, A. M.; CASTANHO, T. **Só os loucos sabem**. Rio de Janeiro: Sony Music, 2009. 1 CD. Faixa 3 (3:31 minutos).
- ARYA, A.; FOKO, L. P. K.; CHAUDHRY, S.; SHARMA, A.; SINGH, V. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 15, p. 43-56, 2021.
- BANSAL, Y.; SILAKARI, O. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 76, p. 31-42, 2014.
- BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.
- BASSO, L. G. M.; RODRIGUES, R. Z.; NAAL, R. M. Z. G.; COSTA-FILHO, A. J. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1808, n. 1, p. 55-64, 2011.
- BELLOT, F.; COSLÉDAN, F.; VENDIER, L.; BROCARD, J.; MEUNIER, B.; ROBERT, A. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4103-4109, 2010.
- BERNERS-PRICE, S. J.; FILIPOVSKA, A. **Metalomics**, v. 3, n. 9, p. 863-873, 2011.
- BERNERS-PRICE, S. J.; SADLER, P. J. Phosphines and metal phosphine complexes: relationship of chemistry to anticancer and other biological activity. In: **Bioinorganic Chemistry. Structure and bonding**. Heidelberg: Springer, 1988, v. 70, p. 27-102.
- BINDOLI, A.; RIGOBELLO, M. P.; SCUTARI, G.; GABBIANI, C.; CASINI, A.; MESSORI, L. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 1692-1707, 2009.
- BIOT, C.; CASTRO, W.; BOTTÉ, C. Y.; NAVARRO, M. **Dalton Transactions**, v. 41, n. 21, p. 6335-6349, 2012.
- BRANCO, V.; CARVALHO, C. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1863, p. 129255, 2019.
- CAMARDA, G.; JIRAWATCHARADECH, P.; PRIESTLEY, R. S.; SAIF, A.; MARCH, S.; WONG, M. H. L.; LEUNG, S.; MILLER, A. B.; BAKER, D. A.; ALANO, P.; PAINE, M. J. I.; BHATIA, S. N.; O'NEILL, P. M.; WARD, S. A.; BIAGINI, G. A. **Nature Communications**, v. 10, p. 3226, 2019.
- ÇAPCI, A.; LORION, M. M.; WANG, H.; SIMON, N.; LEIDENBERGER, M.; SILVA, M. C. B.; MOREIRA, D. R. M.; ZHU, Y.; MENG, Y.; CHEN, J. Y.; LEE, Y. M.; OLIVER, F.; KAPPES, B.; WANG, J.; ACKERMANN, L.; TSOGOEVA, S. B.; **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 58, p. 13066-13079, 2019.
- CEVENINI, L.; CAMARDA, G.; MICHELINI, E.; SICILIANO, G.; CALABRETTA, M. M.;

- BONA, R.; KUMAR, T. R. S.; CARA, A.; BRANCHINI, B. R.; FIDOCK, D. A.; RODAM, A.; ALANO, P. **Anal. Chem.** v. 86, p. 8814-8821, 2014.
- CHAVES, J. D. S.; DAMASCENO, J. L.; PAULA, M. C. F.; OLIVEIRA, P. F.; AZEVEDO, G. C.; MATOS, R. C.; LOURENÇO, M. C. S.; TAVARES, D. C.; SILVA, H.; FONTES, A. P. S.; ALMEIDA, M. V. **BioMetals**, v. 28, n. 5, p. 845–860, 2015.
- CHUPAKHIN, E.; KRAVASIN, M. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 31, p. 745-758, 2021.
- COLINA-VEGAS, L.; DUTRA, J. L.; VILLARREAL, W.; NETO, J. H. A.; COMINETTI, M. R.; PAVAN, F.; NAVARRO, M.; BATISTA, A. A. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 162, p. 135-145, 2016.
- COLINA-VEGAS, L.; VILLAREAL, W.; NAVARRO, M. Copper(I) phosphine complexes: a promising approach in the search for antitumor agents. In: Maravani S. Balakrishna. **Copper(I) Complexes of Phosphines, Functionalized Phosphines and Phosphorus Heterocycles**. Amsterdam: Elsevier, 2019, p. 109-143.
- COLINA-VEGAS, L.; VILLAREAL, W.; NAVARRO, M.; OLIVEIRA, C. R.; GRAMINHA, A. E.; MAIA, P. I. S.; DEFLON, V. M.; FERREIRA, A.G.; COMINETTI, M. R.; BATISTA, A. A. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 153, p. 150-161, 2015.
- DASARI, S.; TCHOUNWOU, P. B. **European Journal of Pharmacology**, v. 740, p. 364–378, 2014.
- DÁVALOS, J. Z.; GONZÁLEZ, J.; GUERRERO, A.; VALDERRAMA-NEGRÓN, A. C.; MÉNDEZ, L. D. A.; CLARAMUNT, R. M.; MARÍA, D. S.; ALKORTA, I.; ELGUERO, J. **New Journal of Chemistry**, v. 37, p. 1391-1401, 2013.
- DEO, K. M.; PAGES, B. J.; ANG, D. L.; GORDON, C. P.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, p. 1818, 2016.
- DE VILLIERS, K. A.; EGAN, T. J. **Acc Chem Res**, v. 54, p. 2649-2659, 2021.
- DEVI, C. S.; THULASIRAM, B.; SATYANARAYANA, S.; NAGABABU, P. **Journal of Fluorescence**, v. 27, n. 6, p. 2119–2130, 2017.
- DORN, A.; VIPPAGUNTA, S. R.; MATILE, H.; JAQUET, C.; VENNERSTROM, J. L.; RIDLEY, R. G. **Biochemical Pharmacology**, v. 55, p. 727-736, 1998.
- EGAN, T. J. **Molecular & Biochemical Parasitology**, v. 157, p. 127-136, 2008.
- EGAN, T. J. **Targets**, v. 2, n. 3, p. 115-124, 2003.
- EGAN, T. J.; HUNTER, R.; KASCHULA, C. H.; MARQUES, H. M.; MISPLON, A.; WALDEN, J. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 283-291, 2000.
- EGAN, T. J.; MARQUES, H. M. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 190-192, p. 493-517, 1999.
- EGAN, T. J.; MAVUSO, W. W.; ROSS, D. C.; MARQUES, H. M. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.68, p. 137-145, 1997.

- EGAN, T. J.; ROSS, D. C.; ADAMS, P. A. **FEBS Letters**, v. 352, p. 54–57, 1994.
- ENEMOSE, E. A.; AKPORHONOR, E. E.; KPOMAH, B. J. **Appl. Sci. Environ. Manage**, v. 22, p. 933-936, 2018.
- FARRELL, N. **Transition Metal Complexes as Drug and Chemotherapeutic Agents**, 1. ed, Holanda: Springer, 1989.
- FONTES, A. P. S.; ALMEIDA, S. G.; NADER, L. A. **Química Nova**, v. 20, p. 398–406, 1997.
- FRANÇA, T. C. C.; DOS SANTOS, M. G.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1271–1278, 2008.
- FRANCISCO, A. I.; VARGAS, M. D. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 2, p. 118–129, 2014.
- FRITZ-WOLF, K.; JORTZIK, E.; STUMPF, M.; PREUSS, J.; IOZEF, R.; RAHLFS, S.; BECKER, K. **Journal of Molecular Biology**, v. 425, n. 18, p. 3446–3460, 2013.
- GEARY, W. J. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 7, p. 81-122, 1970.
- HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **Química Inorgânica**. 4. ed. LTC: Rio de Janeiro, 2013.
- HU, Y. Q.; GAO, C.; ZHANG, S.; XU, L.; XU, Z.; FENG, L. S.; WU, X.; ZHAO, F. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 139, p. 22-47, 2017.
- JASTRZAB, A.; SKRZYDLEWSKA, E. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 36, p. 362-371, 2021.
- JOARDAR, N.; BABU, S. P. S. **Int J Biol Macromol**, v. 142, p. 125-141, 2020.
- JORTZIK, E.; BECKER, K. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 302, p. 187-194, 2012.
- KELLETT, A.; MOLPHY, Z.; SLATOR, C.; MCKEE, V.; FARRELL, N. P. **Chemical Society Reviews**, v. 48, n. 4, p. 971–988, 2019.
- KUTER, D.; MOHUNLAL, R.; FITZROY, S.; ASHER, C.; SMITH, P. J.; EGAN, T. J.; VILLIERS, K. A. **CrystEngComm**, v. 18, p. 5177, 2016.
- LANA, R.; NEKKAB, N.; SIQUEIRA, A. M.; PETERKA, C.; MARCHESINI, P.; LACERDA, M.; MUELLER, I.; WHITE, M.; VILLELA, D. **Malaria Journal**, v. 20, p. 87, 2021.
- LIAO, X.; YANG, F.; LI, H.; SO, P. K.; YAO, Z.; XIA, W.; SUN, H. **Inorganic Chemistry**, v. 56, p. 14823-14830, 2017.

- LODIGE, M.; HIERSCH, L. **International Journal of Medicinal Chemistry**, v. 2015, p. 1-23, 2015.
- MACEDO, T. S.; COLINA-VEGAS, L.; DA PAIXÃO, M.; NAVARRO, M.; BARRETO, B. C.; OLIVEIRA, P. C. M.; MACAMBIRA, S. G.; MACHADO, M.; PRUDÊNCIO, M.; D'ALESSANDRO, S.; BASILICO, N.; MOREIRA, D. R. M.; BATISTA, A. A.; SOARES, M. B. P. **Parasitology**, v. 143, p. 1543-1556, 2016.
- MACEDO, T. S.; VILLAREAL, W.; COUTO, C. C.; MOREIRA, D. R. M.; NAVARRO, M.; MACHADO, M.; PRUDÊNCIO, M.; BATISTA, A. A.; SOARES, M. B. P. **Metallomics**, v. 9, p. 1548-1561, 2017.
- MAIA, V. S.; CARLOS, B. C.; ARRUDA, N. M.; BELUZO, C. E.; ALVES, L. C. **Center for Open Science**, 2021.
- MARTÍNEZ, A.; RAJAPAKSE, C. S. K.; NAOULOU, B.; KOPKALLI, Y.; DAVENPORT, L.; SÁNCHEZ-DELGADO, R. A. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 13, p. 703-702, 2008.
- MATZ, J. M.; DREPPER, B.; BLUM, T. B.; GENDEREN, E. V.; BURRELL, A.; MARTIN, B.; STACH, T.; COLLINSON, L. M.; ABRAHAMS, J. P.; MATUSCHEWSKI, K.; BLACKMAN, M. J. **PNAS**, v. 117, p. 16546-16556, 2020.
- MCCARTHY, J. S.; RUCKLER, T.; CANTALLOUBE, C.; TER-MINASSIAN, D.; BAKER, M.; O'ROURKE, P.; GRIFFIN, P.; MARQUART, L.; VAN HUIJSDUIJNEN, R. H.; MOHRLE, J. J. **Malaria Journal**, v. 15, n. 1, p. 1-9, 2016.
- MCCARTY, S. SCHELLENBERGER, A.; GOODWIN, D. C.; FUANTA, N. R.; TEKWANI, B. L.; CALDERÓN, A. I. **Molecules**, v. 20, p. 11459-11473, 2015.
- MIRANDA, Daniela Filipa Pintassilgo. 2011. Dissertação (Mestrado em Química Farmacêutica e Terapêutica) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2011.
- MISHRA, M.; MISHRA, V. K.; KASHAW, V.; IYER, A. K.; KASHAW, S. K. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 125, p. 1300-1320, 2016.
- MOLTA, N. B.; OGUCHE, S.; PAM, S. D.; OMALU, I. C. J.; AFOLABI, B. M.; ODUJOKO, J. B.; AMAJOH, C. N.; ADENIJI, B.; WUYEP, V. P.; EKANEM, O. J. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 97, p. 663-669, 2003.
- MUDASIR.; YOSHIOKA, N.; INOUE, H. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.77, p. 239-247, 1999.
- NAKAMOTO KAZUO. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry**. 6 ed. Wiley-Interscience, 2009.
- NANDAL, R.; DEEP, A.; SINGH, I.; KAUSHIK, M.; HOTI, S. L.; NARASIMHAN, B.; MARWAHA, R. K.; SHARMA, A. K. **Current Bioactive Compounds**, v.15, p. 631-636, 2019.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING AND MEDICINE (NAS). **Assessment of Long-Term Health Effects of Antimalarial Drugs when Used for Prophylaxis**, Washington DC: The National Academies Press, 2020.

NAVARRO, M. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 1619-1626, 2009.

NAVARRO, M.; BETANCOURT, A.; HERNÁNDEZ, C.; MARCHÁN, E. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 7, p. 1355–1360, 2008.

NAVARRO, M.; CASTRO, W.; BIOT, C. **Organometallics**, v. 31, p. 5715-5727, 2012.

NAVARRO, M.; CASTRO, W.; MADAMET, M.; AMALVICT, R.; BENOIT, N.; PRADINES, B. **Malaria Journal**, v. 13, p. 1-8, 2014.

NAVARRO, M.; CASTRO, W.; MARTÍNEZ, A.; SÁNCHEZ-DELGADO, R. A. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 105, n. 2, p. 276–282, 2011.

NAVARRO, M.; CASTRO, W.; GONZÁLEZ, S.; ABAD, M. J.; TAYLOR, P. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 57, n. 3, p. 220–229, 2013.

NAVARRO, M.; GABBIANI, C.; MESSORI, L.; GAMBINO, D. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 23–24, p. 1070–1078, 2010.

NAVARRO, M.; PEKERAR, S.; PÉREZ, H. A. **Polyhedron**, v. 26, p. 2420-2424, 2007.

NAVARRO, M.; PEREZ, H.; SANCHEZ-DELGADO, R. A. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 12, p. 1937–1939, 1997.

NAVARRO, M.; VÁSQUEZ, F.; SÁNCHEZ-DELGADO, R. A.; PÉREZ, H.; SINOUE, V.; SCHRÉVEL, J. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 21, p. 5204–5209, 2004.

NEVES, A. P.; VARGAS, M. D. **Revista Virtual de Química**, v. 3, p. 196-209, 2011.

OLIVEIRA, R.; MIRANDA, D.; MAGALHÃES, J.; CAPELA, R.; PERRY, M. J.; O'NEIL, P. M.; MOREIRA, R.; LOPES, F. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 5120-5130, 2015.

PAGES, P. J.; DANG, D. L.; WRIGHT, E. P.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. **Dalton Transactions**, v. 44, p. 3505-3526, 2015.

PAGOLA, S.; STEPHENS, P. W.; BOHLE, D. S.; KOSAR, A. D.; MADSEN, S. K. **Nature**, v. 404, p. 307-310, 2000.

PEREIRA, C. S.; QUADROS, H. C.; MOREIRA, D. R. M.; CASTRO, W.; DA SILVA, R. I. S. D.; SOARES, M. B. P.; FONTINHA, D.; PRUDÊNCIO, M.; SCHMITZ, V.; DOS SANTOS, H. F.; GENDROT, M.; FONTE, I.; MOSNIER, J.; PRADINES, B.; NAVARRO, M. **ChemMedChem**, v. 17, p. 662-678, 2021.

RAJAPAKSE, C. S. K.; MARTÍNEZ, A.; NAOULOU, B.; JARZECKI, A. A.; SUARÉZ, L.; DEREGNAUCOURT, C.; SINOUE, V.; SCHRÉVEL, J.; MUSI, E.; AMBROSINI, G.; SCHWARTZ, G. K.; SÁNCHEZ-DELGADO, R. A. **Inorganic Chemistry**, v. 48, n. 3, p.

1122–1131, 2009.

RAUSCH, M.; DYSSON, P. J.; NOWAK-SLIWINSKA, P. **Adv. Therap.** v. 2, p. 1900042, 2019.

RIBBISO, K. A.; HELLER, L. E.; TAYE, A.; JULIAN, E.; WILLEM, A. V.; ROEPE, P. D. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 65, p. e02137-20, 2021.

ROSA, L. B.; AIRES, R. L.; OLIVEIRA, L. S.; FONTES, J. V.; MIGUEL, D. C.; ABBEHAUSEN, C. **ChemMedChem**, v. 16, p. 1682-1696, 2021.

ROSA, N. M. P.; FERREIRA, F. H. C.; FARRELL, N. P.; COSTA, L. A. S. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, p. 307, 2019.

SÁNCHEZ-DELGADO, R. A.; NAVARRO, M.; PÉREZ, H.; URBINA, J. A. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, p. 1095-1099, 1996.

SANNELLA, A. R.; CASINI, A.; GABBIANI, C.; MESSORI, L.; BILIA, A. R.; VINCIERI, F. F.; MAJORI, C.; SEVERINI, C. **FEBS Letters**, v. 582, p. 844-847, 2008.

SCHLITZE, M. **ChemMedChem**, v. 2, p. 944-986, 2007.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, M.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**, 7. ed, Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 124, p. 1–19, 2013.

SSEMAGANDA, A.; LOW, L. M.; VERHOEFT, K. R.; WAMBUZI, M.; KAWOOZO, B.; NABASUMBA, S. B.; MPENDO, J.; BAGAYA, B. S.; KIWANUKA, N.; STANISIC, D. I.; BERNERS-PRICE, S. J.; GOOD, M. F. **Metallomics**, v. 10, p. 444-454, 2018.

STENGER-SMITH, J. R.; MASCHARAK, P. K. **ChemMedChem**, v.15, p. 2136-2145, 2020.

SUTANTO, I.; SUPRIJANTO, S.; KOSASIH, A.; DAHLAN, M. S.; SYAFRUDDIN, D.; KUSRIASTUTI, R.; HAWLEY, W. A.; LOBO, N. F.; TER KUILE, F. O. **Clinical Infectious Diseases**, v. 56, n. 5, p. 685–693, 2012.

THOMAS, D.; TAZEROUNI, H.; SUNDARARAJ, K. G. S.; COOPER, J. C. **Acta Tropica**, v. 160, p. 35–38, 2016.

TIBON, N. S.; NG, C. H.; CHEONG, S. L. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 188, p. 111983, 2020.

UDDIN, A.; CHAWLA, M.; IRFAN, I.; MAHAJAN, S.; SINGH, S.; ABID, M. **RCS Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 24-42, 2021.

USON, R.; LAGUNA, A.; LAGUNA, M.; BRIGGS, D. A.; MURRAY, H. H.; JR., J. P. F. **Inorganic Synthesis**, v. 26, p. 85–91, 1989.

VAFAZADEH, R.; WILLIS, A. C. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 68, n. 13, p. 2240–2252, 2015.

VANAERSCHOT, M.; LUCANTONI, L.; LI, T.; COMBRINCK, J. M.; RUECKER, A.; KUMAR, T. R. S.; RUBIANO, K.; FERREIRA, P. E.; SICILIANO, G.; GULATI, S.; HENRICH, P. P.; NG, C. L.; MURITHI, J. M.; COREY, V. C.; DUFFY, S.; LIEBERMAN, O. J.; VEIGA, M. I.; SINDEN, R. E.; ALANO, P.; DELVES, M. J.; SIM, K. L.; WINZELER, E. A.; EGAN, T. J.; HOFFMAN, S. L.; AVERY, V. M.; FIDOCK, D. A. **Nat. Microbiol**, v. 2, p. 1403–1414, 2017.

VANČO, J.; GÁLIKOVÁ, J.; HOSEK, J.; DVORÁK, Z.; PARÁKOVA, L.; TRÁVNÍCEK, Z. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. 1-15, 2014.

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

VIOLA, G.; SALVADOR, A.; CECCONET, L.; BASSO, G.; VEDALDI, D.; DALL'ACQUA, ALOISI, G. G.; AMELIA, M.; BARBAFINA, A.; LATTERINI, L.; ELISEI, F. **Photochemistry and Photobiology**, v. 83, p. 1415-1427, 2007.

WALSH, J.; BELL, A. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, n. 25, p. 2970–2985, 2009.

WHITE, N. J.; PUKRITTAYAKAMEE, S.; HIEN, T. T.; FAIZ, M. A.; MOKUOLO, O. A.; DONDORP, A. M. **The Lancet**, v. 383, n. 9918, p. 723-735, 2013.

WHO recommends groundbreaking malaria vaccine for children at risk. In WHO - World Health Organization. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/06-10-2021-who-recommends-groundbreaking-malaria-vaccine-for-children-at-risk>. Acesso em: 06 nov. 2021.

WILLIAMS, D. B. G.; LAWTON, M. **Journal of Organic Chemistry**, v. 75, n. 24, p. 8351–8354, 2010.

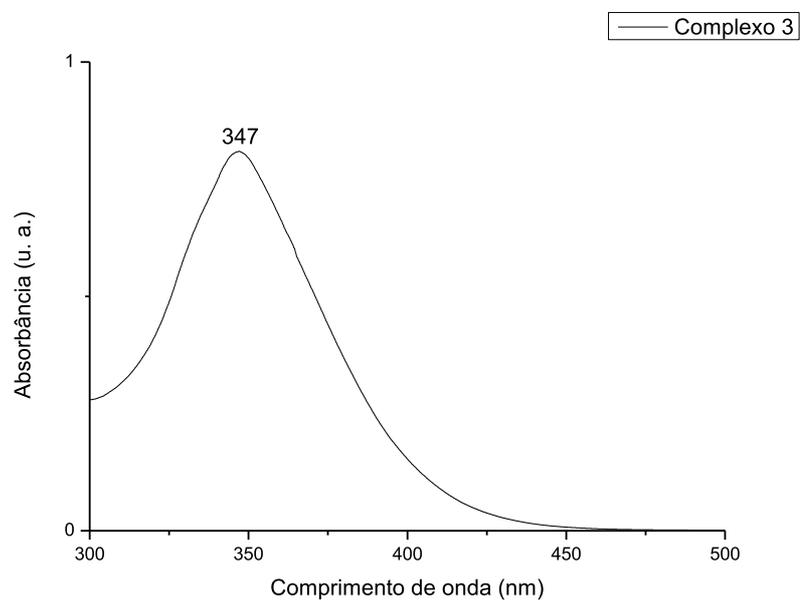
YEO, C. I.; OOI, K. K.; TIEKINK, E. R. T. **Molecules**, v. 23, p. 1410, 2018.

ZOPPI, C.; MESSORI, L.; PRATESI, A. **Dalton Transactions**, v. 49, p. 5906-5913, 2020.

ZOU, T.; LUM, C, T.; LOK, C. N.; ZHANG, J. J.; CHE, C. M. **Chem Soc. Reviews**, v. 44, p. 8786, 2015.

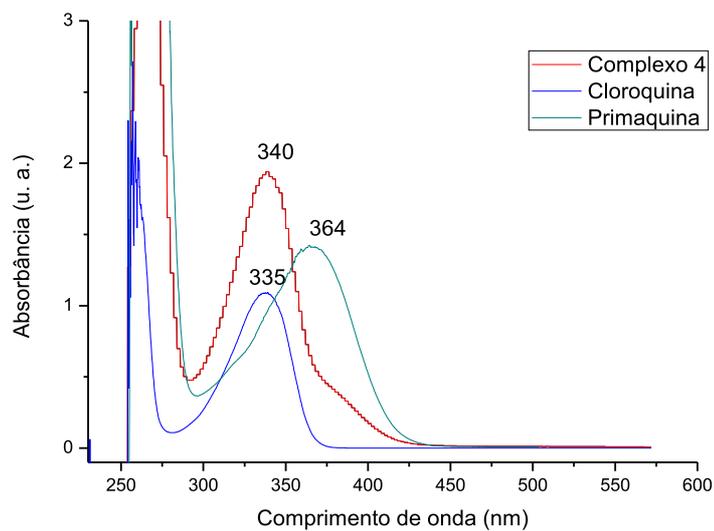
APÊNDICE A - Espectros UV dos complexos de ouro(I)

Figura 96 - Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo 3.



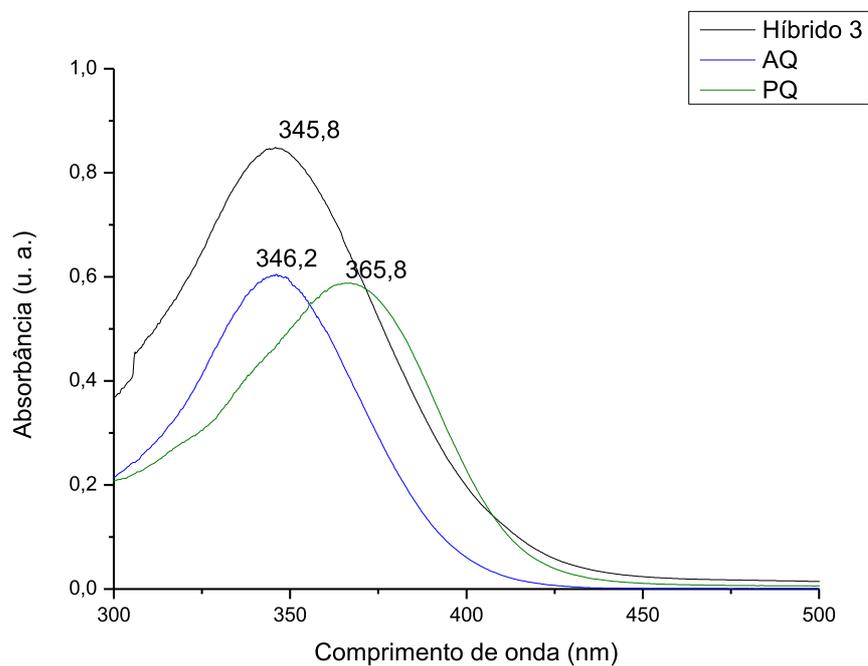
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 97 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis para o híbrido 1 e para os ligantes de origem.



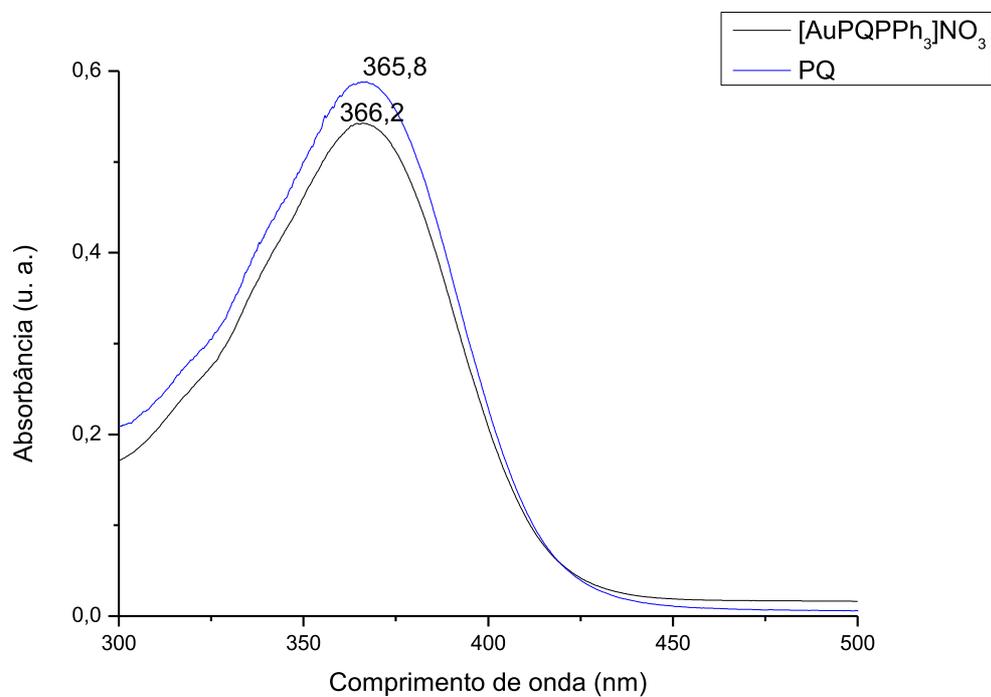
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 98 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis para o híbrido **3** e para os fármacos que o originam.



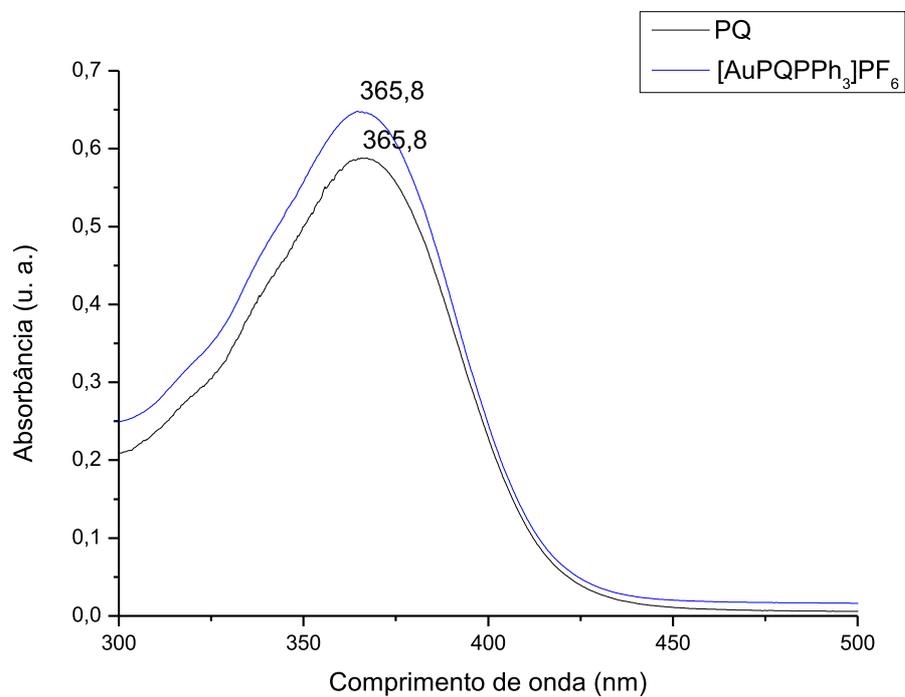
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 99 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo **8** e da primaquina.



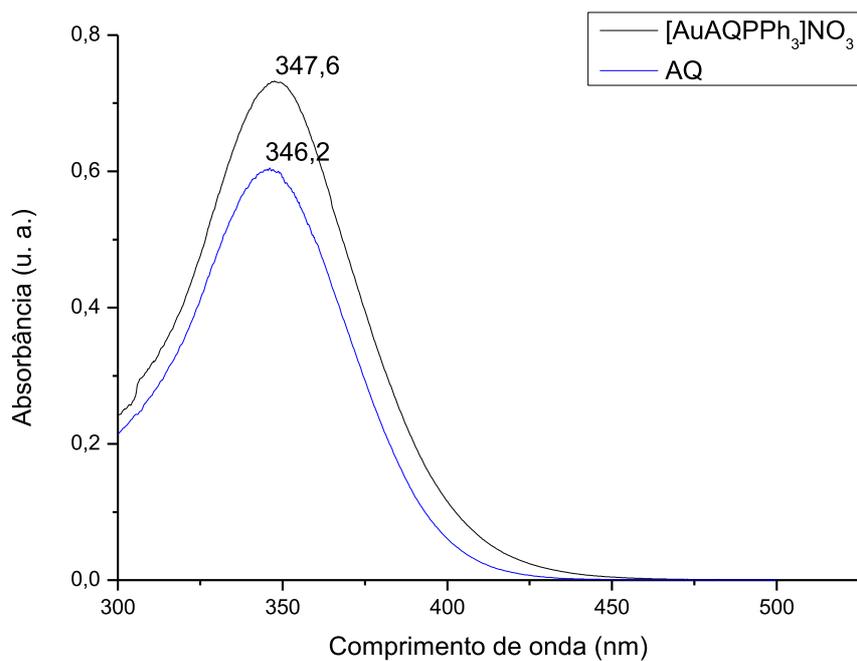
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 100 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo **9** e da primaquina.



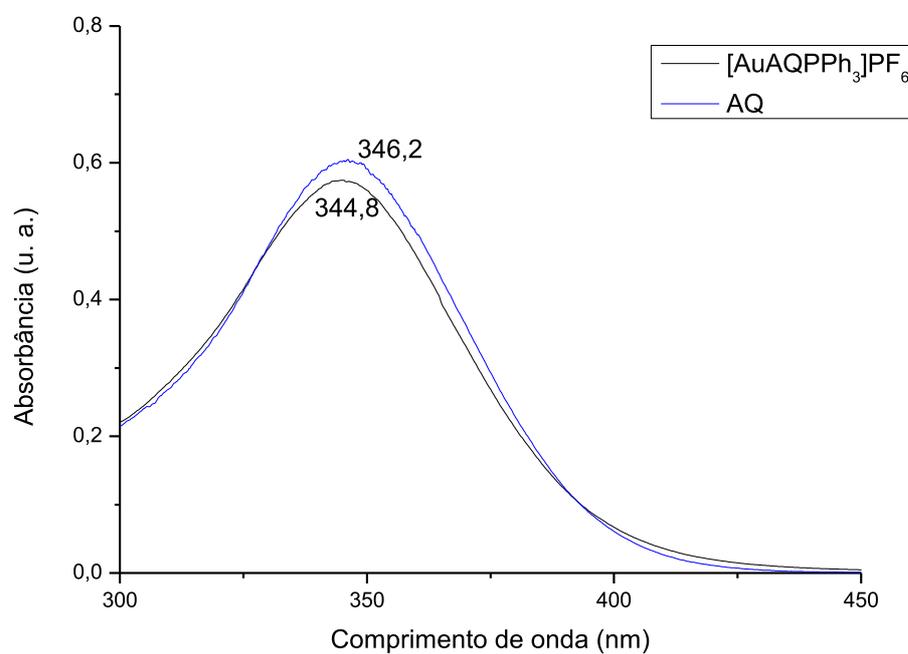
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 101 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo **10** e da amodiaquina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

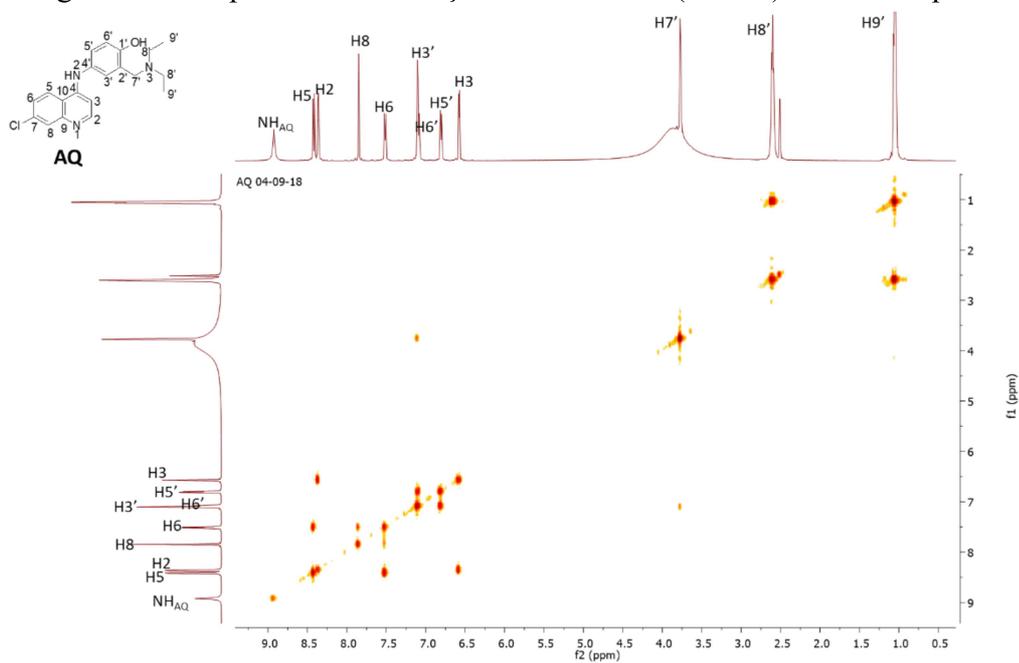
Figura 102 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo **11** e da amodiaquina.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

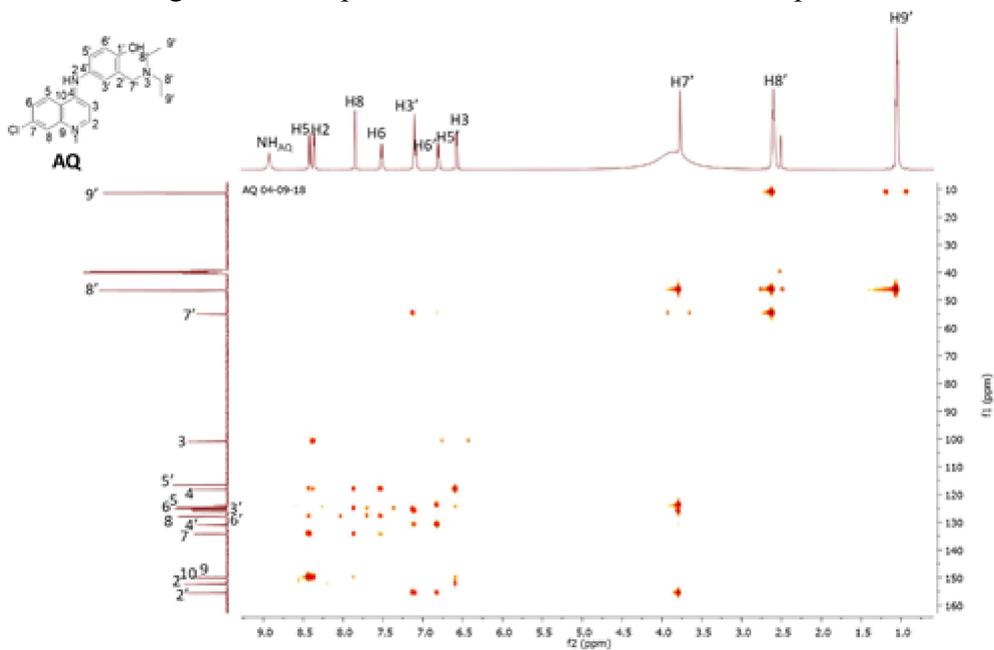
APÊNDICE B - Espectros de DEPT 135 e de duas dimensões

Figura 103 - Espectro de correlação homonuclear (COSY) da amodiaquina.



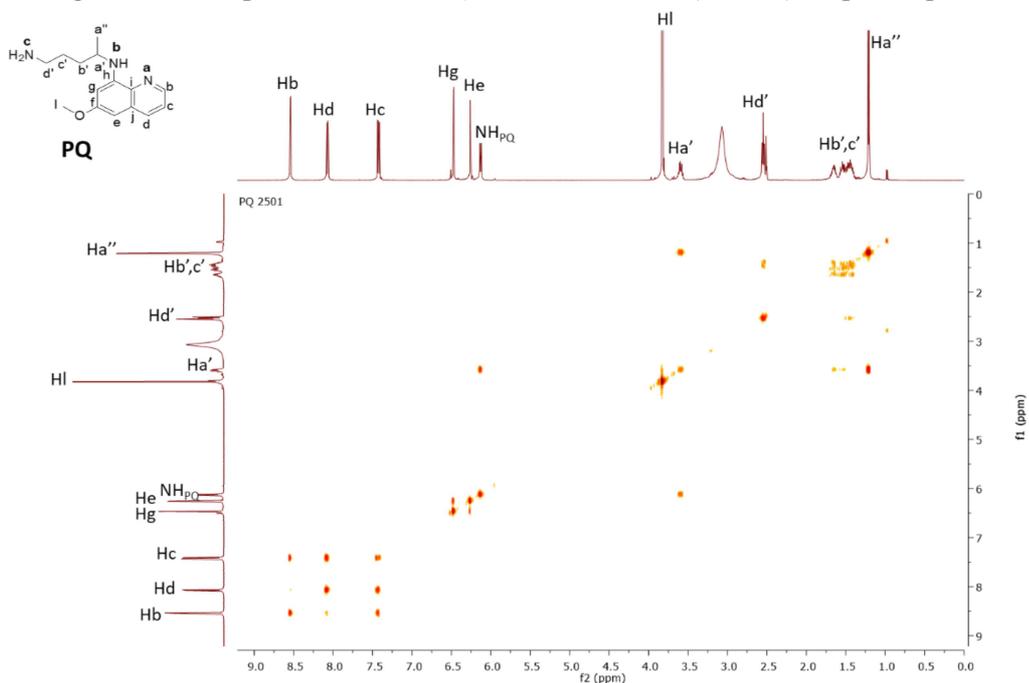
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 104 - Espectro de RMN HMBC da amodiaquina.



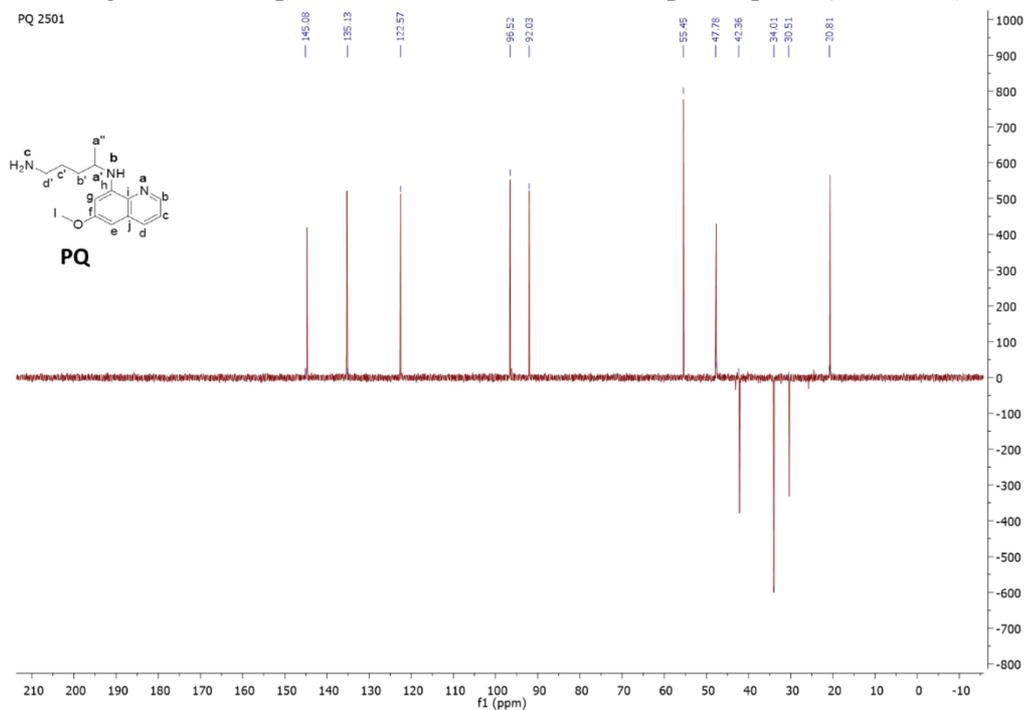
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 105 - Espectro de correlação homonuclear (COSY) da primaquina.



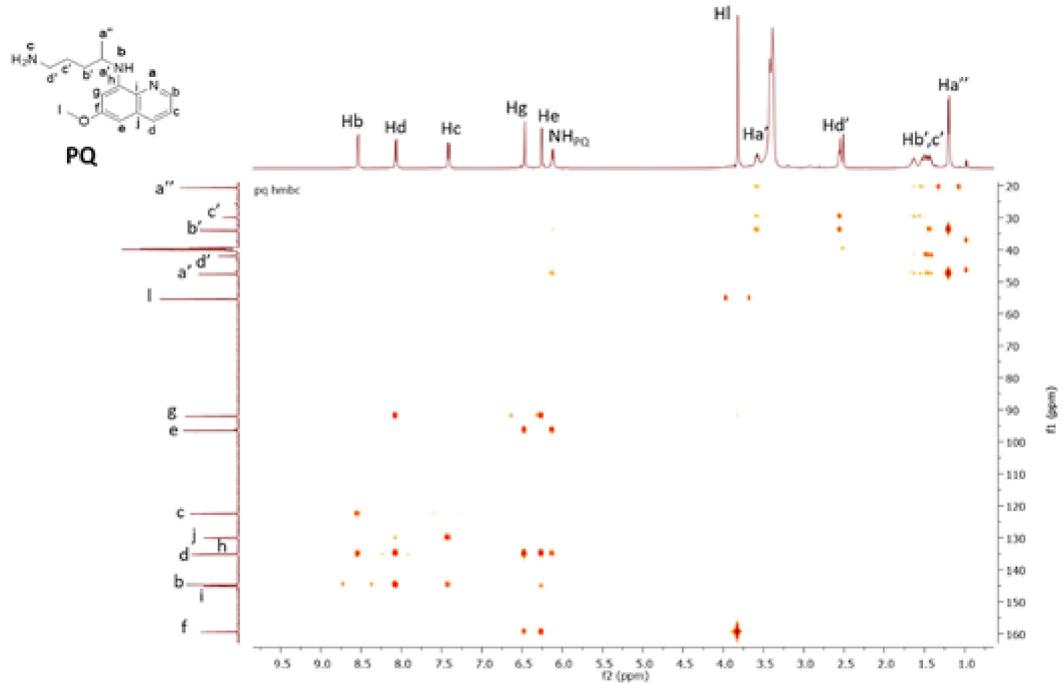
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 106 - Espectro de RMN DEPT 135 da primaquina (125 MHz).



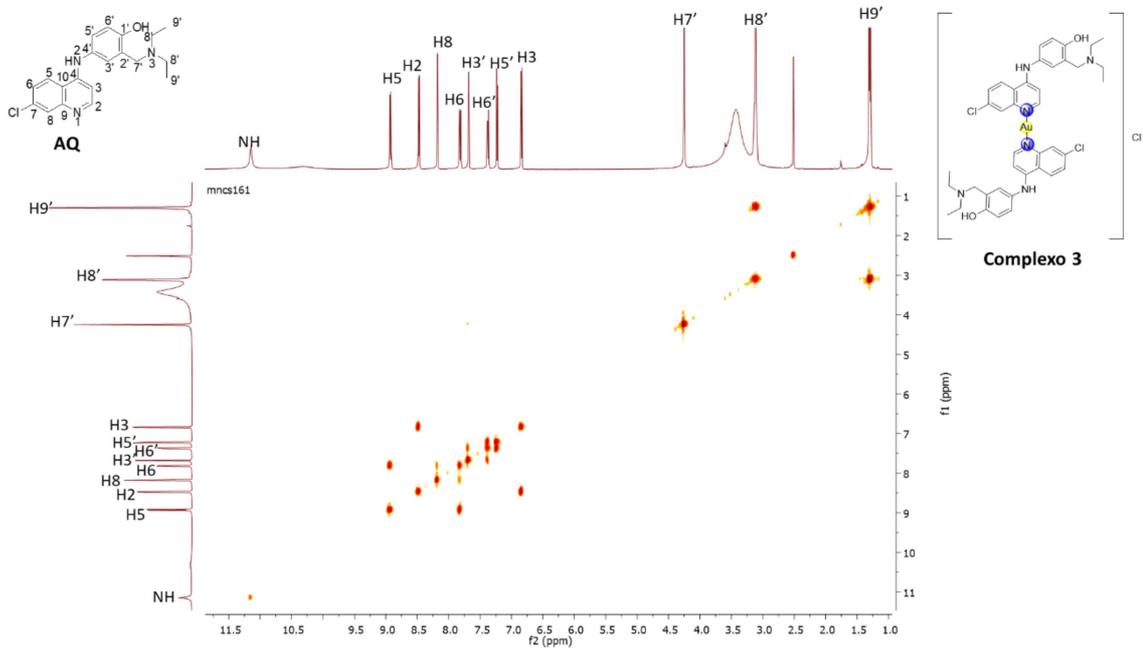
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 107 - Espectro de RMN HMBC da primaquina.



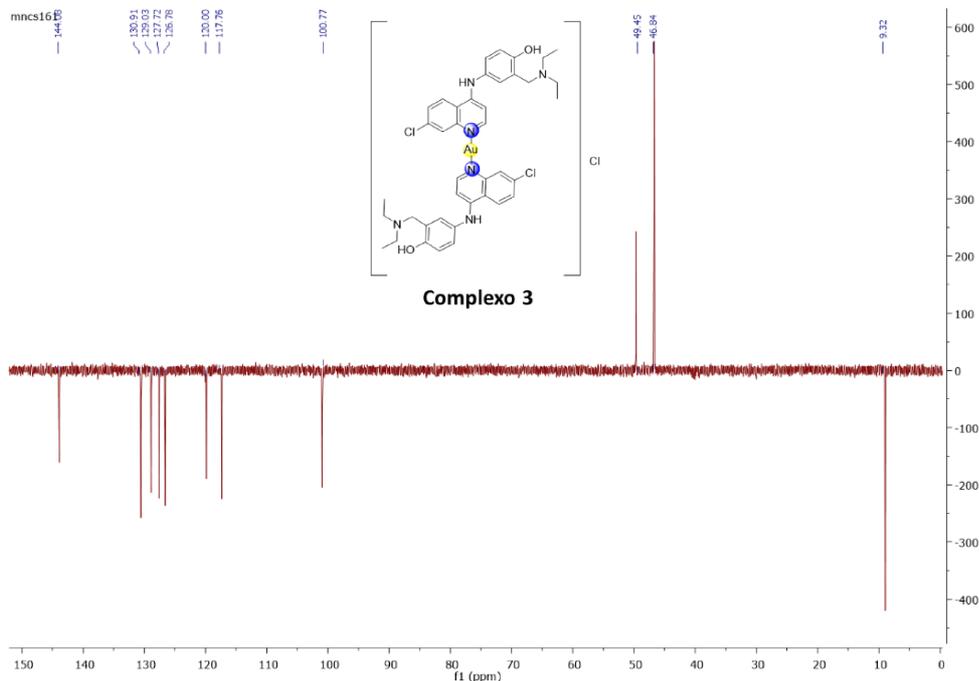
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 108 - Espectro de correlação homonuclear (COSY) do complexo 3.



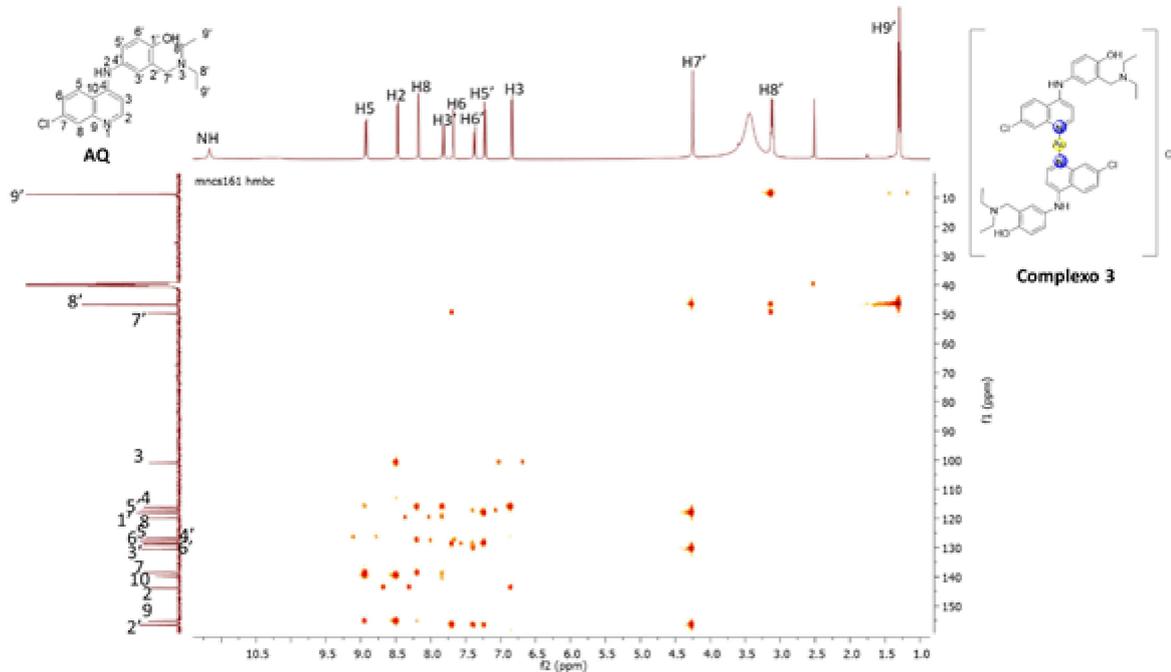
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 109 - Espectro de RMN DEPT 135 do complexo 3 (125 MHz).



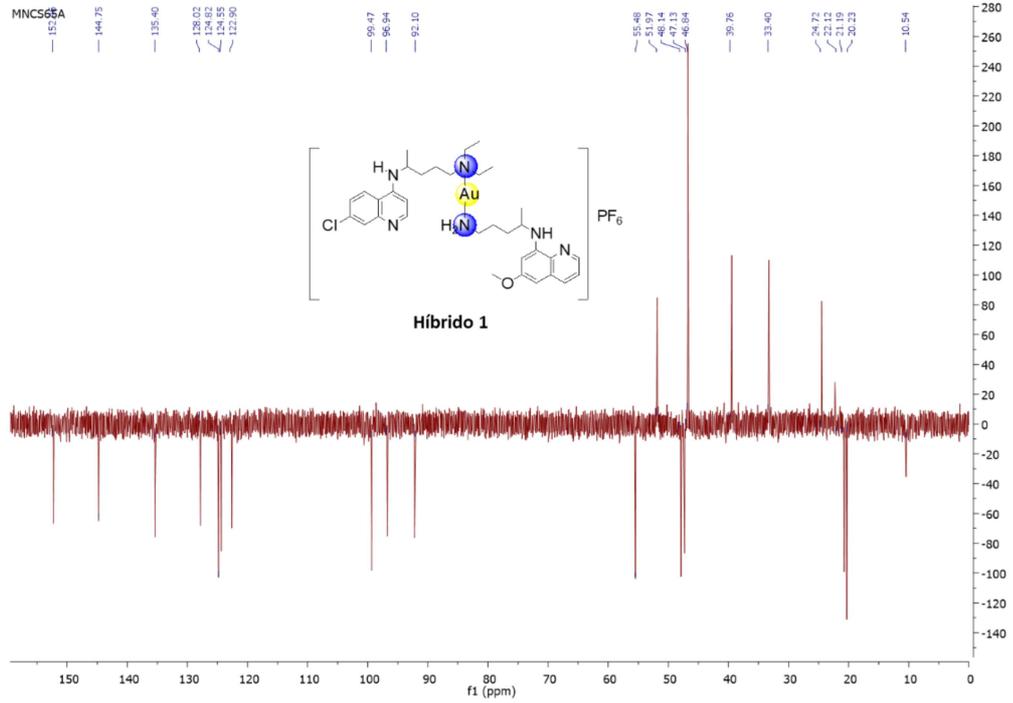
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 110 - Espectro de RMN de HMBC do complexo 3.



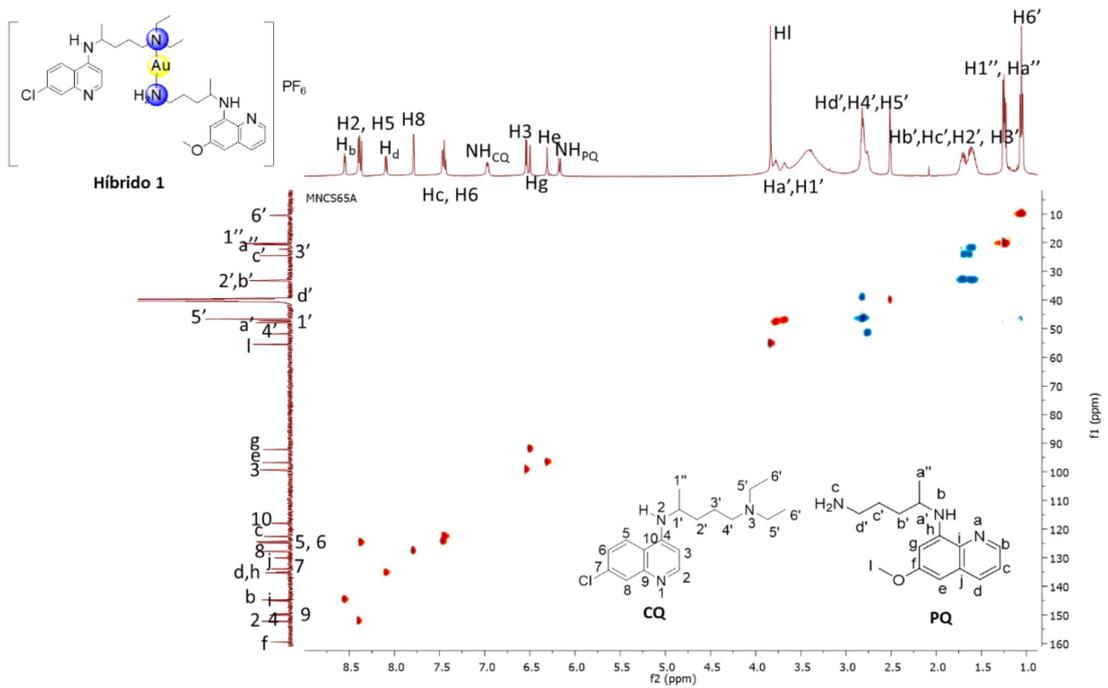
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 111 - Espectro de RMN DEPT 135 do híbrido 1 (125 MHz).



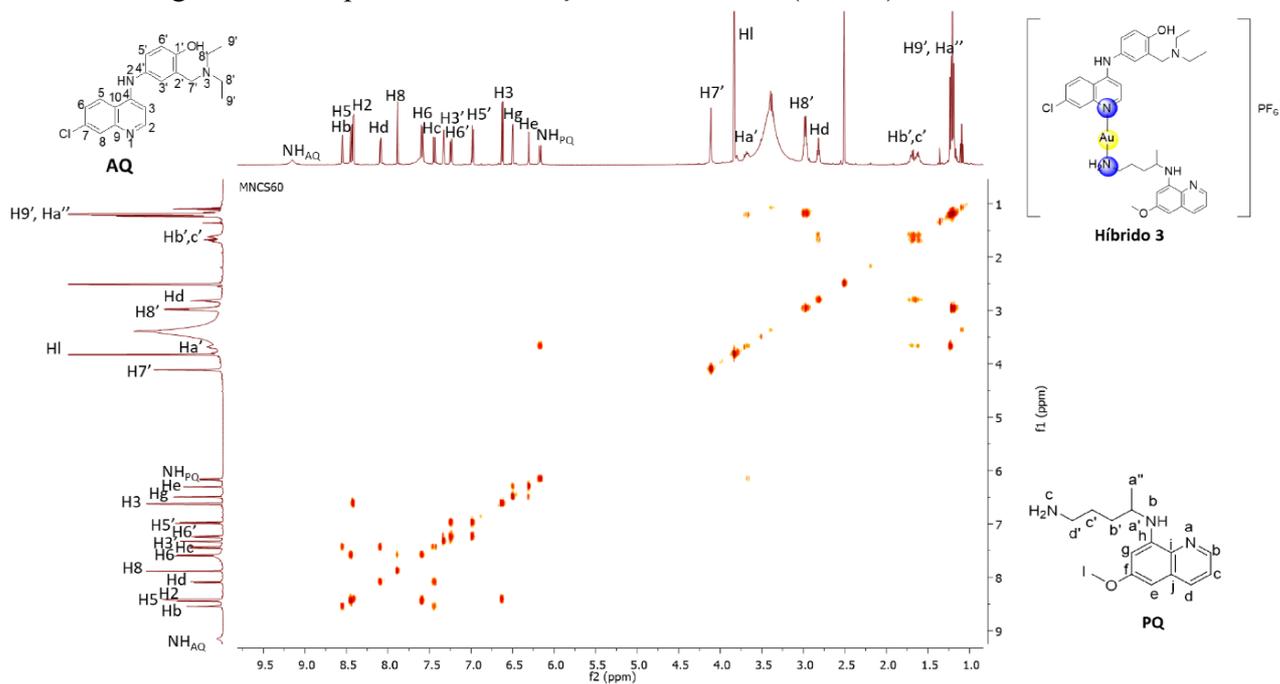
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 112 - Espectro de RMN de HSQC do híbrido 1.



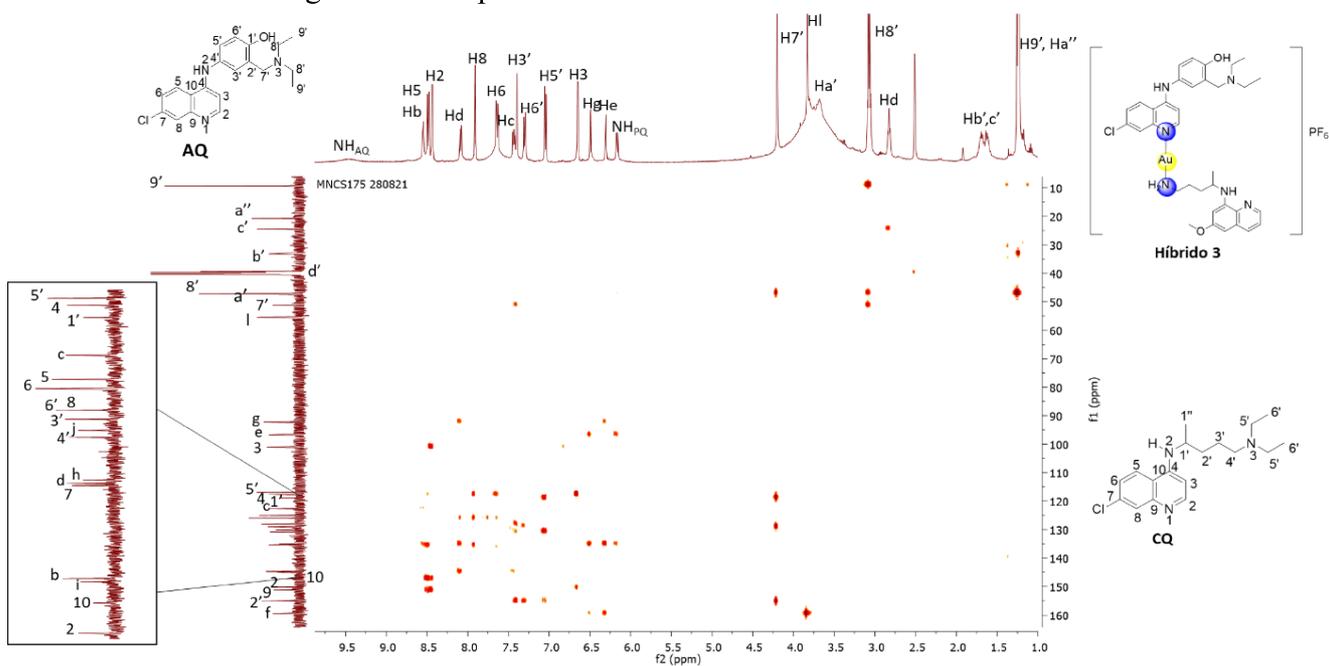
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 113 - Espectro de correlação homonuclear (COSY) do híbrido 3.

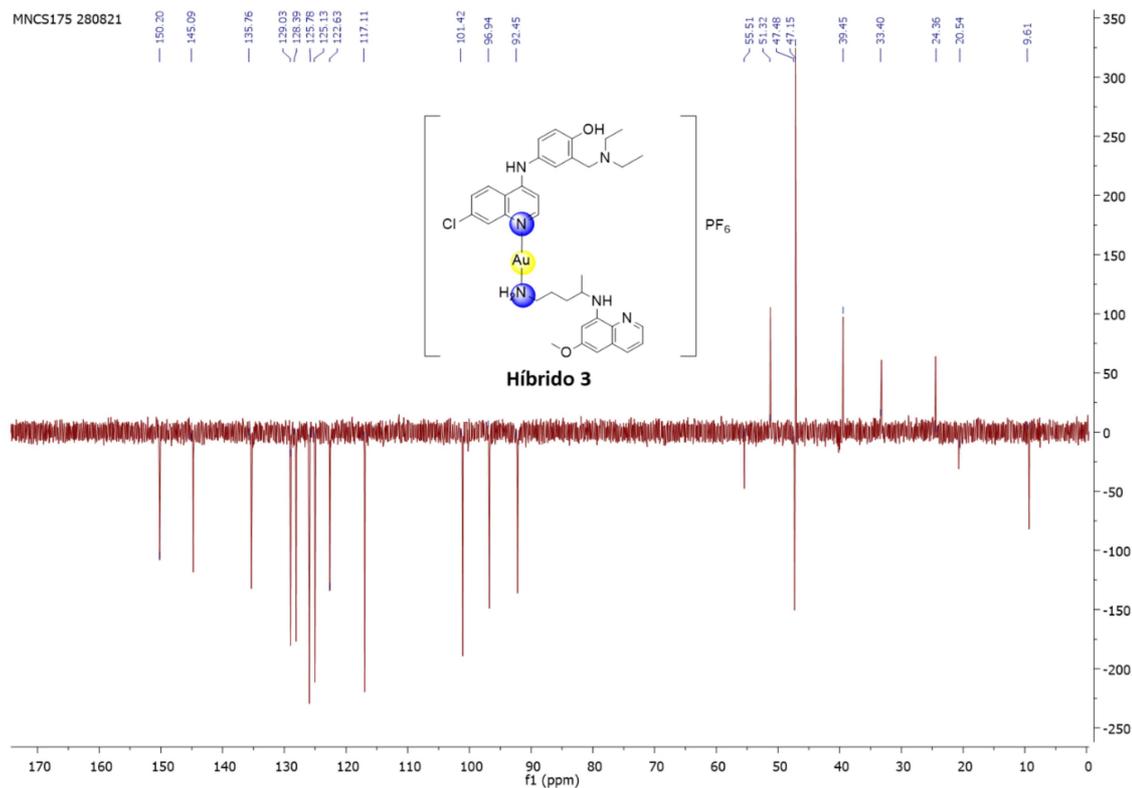


Fonte: Elaborado pela autora (2022).

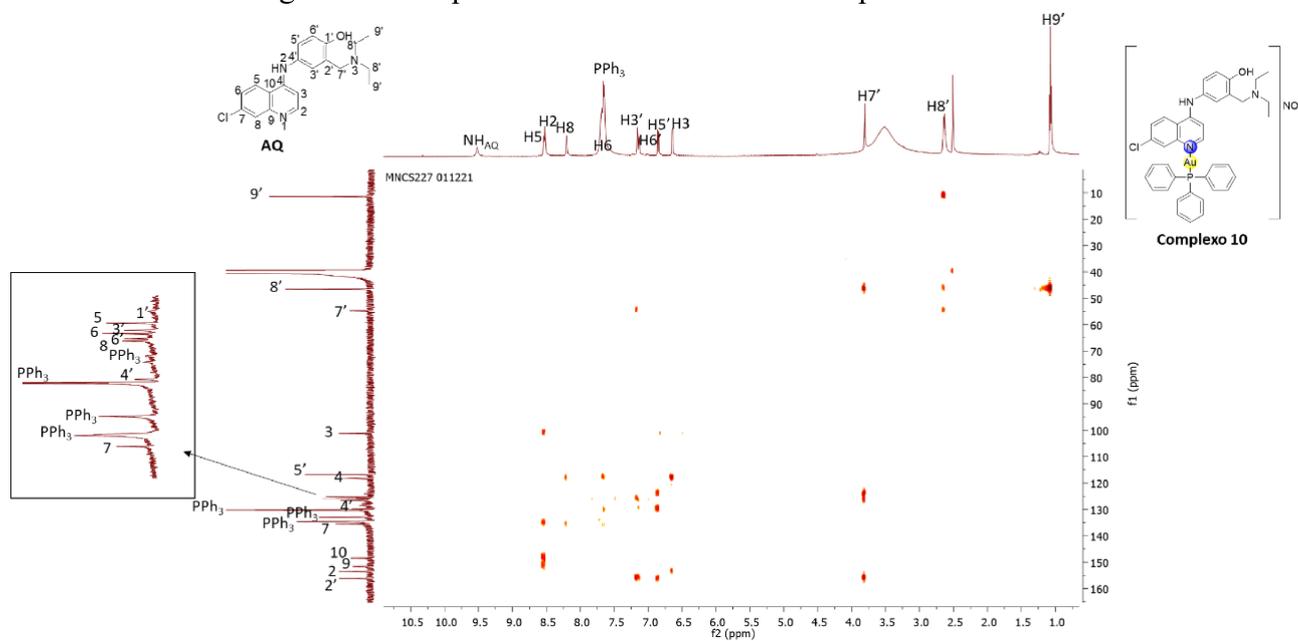
Figura 114 - Espectro de RMN HMBC do híbrido 3.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 115 - Espectro de RMN DEPT 135 do híbrido **3** (125 MHz).

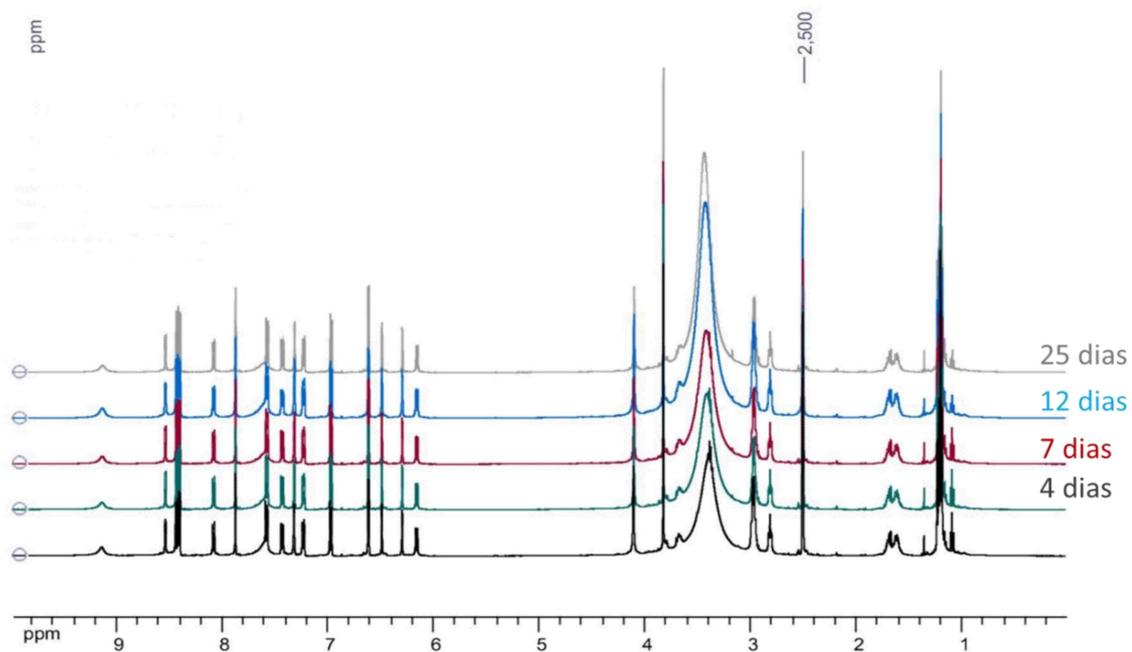
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Figura 116 - Espectro de RMN HMBC do complexo **10**.

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

APÊNDICE C - Avaliação da estabilidade do híbrido 3

Figura 117 - Avaliação da estabilidade do híbrido 3 por espectroscopia de RMN de ^1H (500 MHz).



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

APÊNDICE D - Artigo publicado durante o doutoramento

Figura 118 - Artigo publicado durante o doutoramento.

ChemMedChem

Full Papers
doi.org/10.1002/cmdc.202000653



A Novel Hybrid of Chloroquine and Primaquine Linked by Gold(I): Multitarget and Multiphase Antiplasmodial Agent

Caroline de Souza Pereira,^[a] Helenita Costa Quadros,^[b] Diogo Rodrigo Magalhaes Moreira,^[b] William Castro,^[c] Romulo Ivisson Santos De Deus Da Silva,^[b] Milena Botelho Pereira Soares,^[b] Diana Fontinha,^[d] Miguel Prudêncio,^[d] Vinicius Schmitz,^[a] Hélio F. Dos Santos,^[a] Mathieu Gendrot,^[e, f, g] Isabelle Fonta,^[e, f, g, h] Joel Mosnier,^[e, f, g, h] Bruno Pradines,^[e, f, g, h] and Maribel Navarro^{*[a]}

Plasmodium parasites kill 435 000 people around the world every year due to unavailable vaccines, a limited arsenal of antimalarial drugs, delayed treatment, and the reduced clinical effectiveness of current practices caused by drug resistance. Therefore, there is an urgent need to discover and develop new antiplasmodial candidates. In this work, we present a novel strategy to develop a multitarget metallic hybrid antimalarial agent with possible dual efficacy in both sexual and asexual erythrocytic stages. A hybrid of antimalarial drugs (chloroquine and primaquine) linked by gold(I) was synthesized and characterized by spectroscopic and analytical techniques. The

CQPQ-gold(I) hybrid molecule affects essential parasite targets, it inhibits β -hematin formation and interacts moderately with the DNA minor groove. Its interaction with PFTxR was also examined in computational modeling studies. The CQPQ-gold(I) hybrid displayed an excellent *in vitro* antimalarial activity against the blood-stage of *Plasmodium falciparum* and liver-stage of *Plasmodium berghei* and efficacy *in vivo* against *P. berghei*, thereby demonstrating its multiple-stage antiplasmodial activity. This metallic hybrid is a promising chemotherapeutic agent that could act in the treatment, prevention, and transmission of malaria.

Fonte: PEREIRA et al., 2021.